

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Jakub Stanczak

Analiza morfologiczno-kliniczna mięsaków głowy i szyi

Praca napisana celem uzyskania stopnia doktora nauk medycznych w Katedrze Patomorfologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Kierownik Katedry: Prof. dr hab. n. med. Przemysław Majewski

Promotor pracy: Prof. dr hab. n. med. Wiesława Salwa-Żurawska

Poznań 2010

Składam serdeczne podziękowania

Pani Profesor Wiesławie Salwie-Żurawskiej

za zainteresowanie mnie biologią mięsaków,

poświęcony czas oraz życzliwą opiekę naukową

w trakcie pisania tej pracy.

Dziękuję Pani Doktor Agnieszce Wiesiołowskiej

za pomoc w przeprowadzeniu analiz statystycznych,

Koleżankom i Kolegom z Katedry Patomorfologii Klinicznej

Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, którzy pomogli

mi w wykonaniu reakcji immunohistochemicznych

oraz Panu Docentowi Piotrowi Mileckiemu

za cenne rady dotyczące aspektów klinicznych.

SPIS TREŚCI

1. Wstęp	2
2. Cel pracy	14
3. Materiał i metody	15
4. Wyniki	24
5. Omówienie	64
6. Wnioski	70
7. Piśmiennictwo	71
8. Streszczenie	83

Załącznik nr 1

Załącznik nr 2

Załącznik nr 3

1. WSTĘP

Mięsaki (*sarcomata*) są heterogenną grupą złośliwych nowotworów tkanek miękkich oraz tkanki kostnej i chrzęstnej. Do tkanek miękkich należą nienabłonkowe tkanki pozaszkieletowe (z wyłączeniem układu siateczkowo-śródbłonkowego, neurogleju oraz zrębu narządów wewnętrznych, jednak nowotwory wywodzące się ze zrębu mają taki sam charakter jak nowotwory tkanek miękkich). Guzy obwodowego układu nerwowego (pni nerwowych, zwojów współczulnych i tkanki przyzwojowej) są również zaliczane do nowotworów tkanek miękkich. Mięsaki wywodzą się więc z mezodermy i częściowo z ektodermy [1, 2].

Nazwę „mięsaki” związane z obrazem makroskopowym większości tych guzów, przypominających surowe mięso wołowe lub rybne [3].

Rudolf Virchow użył nazwy mięsak w 1858 roku przedstawiając teorię patologii komórkowej „*omnis cellula e cellula*” [4]. Uważał on, że punktem wyjścia wszystkich nowotworów są komórki tkanki łącznej. Pewne wątpliwości budził tu fakt, że nowotwory różnią się swoją budową, podczas gdy tkanka łączna ma mniej lub bardziej jednolity wygląd niezależnie od lokalizacji. Problem ten Virchow rozwiązał przedstawiając proces nowotworzenia w kilku etapach. Twierdził, iż początkowo komórki tkanki łącznej mnożąc się przyjmują kształt okrągły i stopniowo zmniejszają swoją objętość. Następnie przyjmują własności indyferentności, czyli obojętności tkankowej i rozwijając się mogą przyjmować postać komórek dojrzałej tkanki łącznej, ale także tkanki nabłonkowej, nerwowej itp. Oznacza to, iż komórki omawianej fazy są niezróżnicowane i może się z nich rozwinąć dowolny rodzaj nowotworu, np. mięsak, rak.

Pierwsze próby klasyfikacji nowotworów tkanek miękkich zostały opracowane przez Adamiego w 1898 r. oraz Borsta w 1902 r. [5]. Natomiast system klasyfikacji mięsaków tkanek miękkich wg nasilenia ich złośliwości (*grading system*) został po raz pierwszy zaproponowany w 1939 roku przez Brodersa, który podkreślił znaczenie zróżnicowania komórkowego [6]. Broders również sugerował, że np. włókniakomięsak mógłby być podzielony na kilka podtypów (włókniasty, włóknistokomórkowy, komórkowy), oraz że postaci z wysoką komórkowością powinny być klasyfikowane jako 4 stopień, bez względu na aktywność mitotyczną. Te zasady klasyfikacji złośliwości utrzymały się do dnia dzisiejszego.

Milowym krokiem w poznaniu mięsaków, było wprowadzenie do diagnostyki transmisyjnego mikroskopu elektronowego. Pomimo że pierwsza użyteczna wersja takiego mikroskopu powstała w 1938 roku, dopiero od lat pięćdziesiątych znalazł on zastosowanie w patomorfologii.

Badania elektronowo-mikroskopowe pozwalają w większości przypadków określić histogenezę guzów oraz stopień ich dojrzałości. W oparciu o wyniki tych badań skonfrontowanych z obrazem świetlno-mikroskopowym pojawiły się podziały histogenetyczne. Pomimo wprowadzenia tych technik, pewną trudność w ocenie mięsaków stanowiło wówczas i nadal stanowi określenie stopnia ich złośliwości oraz zaawansowania.

W połowie XX wieku stosowany był szeroko podział nowotworów uwzględniający tkanki macierzyste, z których powstawały dane guzy. Na tej podstawie odróżniono trzy grupy nowotworów: nienabłonkowe, nabłonkowe oraz mieszane.

W grupie nowotworów nienabłonkowych wyróżniono guzy wywodzące się z tkanki łącznej, naczyniowej, krwiotwórczej, mięśniowej, nerwowej oraz z komórek melaninotwórczych. Niedojrzałe nowotwory wywodzące się z tkanki łącznej dzielono na dwie zasadnicze grupy: mięsaki bardzo niedojrzałe i mięsaki bardziej dojrzałe. Odróżniano trzy postaci mięsaków bardzo niedojrzałych: mięsaka okrągłokomórkowego (*sarcoma globocellulare*), mięsaka różnokomórkowego (*sarcoma variocellulare seu polymorphocellulare*) i mięsaka wrzecionowatokomórkowego (*sarcoma fusocellulare*). W każdej z tych postaci zależnie od wielkości komórek odróżniano trzy odmiany: drobnokomórkową (*microcellulare*), wielkokomórkową (*macrocellulare*) i olbrzymiokomórkową (*gigantocellulare*). Mięsaka okrągłokomórkowego uważano za najmniej dojrzałego i najbardziej złośliwego, którego komórki odpowiadały komórkom wczesnego okresu rozwoju zarodkowej tkanki łącznej. Drugie miejsce pod względem dojrzałości zajmował mięsak różnokomórkowy a trzecie wrzecionowatokomórkowy. Uważano również, iż komórki mięsaka zarówno w guzie pierwotnym jak i w przerzutach zachowują swe właściwości morfologiczne i nie zdradzają cech dojrzewania. Do grupy mięsaków bardziej dojrzałych, wywodzących się z właściwej tkanki łącznej i jej pochodnych, zaliczono włókniaka mięsakowego, śluzaka mięsakowego, tłuszczaka mięsakowego, chrząstniaka mięsakowego i kostniaka mięsakowego. Do mięsaków, które powstały z tkanki naczyniowej należał naczyniak krwionośny mięsakowy, naczyniak limfonośny mięsakowy, obłoniak oraz oblak. Nienabłonkowce złośliwe wywodzące się z tkanek krwiotwórczych były reprezentowane przez chłoniaka mięsakowego, szpiczaka mięsakowego i zieloniaka.

Do nowotworów niedojrzałych wywodzących się z tkanki mięśniowej zaliczono mięśniaka prążkowanokomórkowego mięsakowego oraz mięśniaka gładkokomórkowego mięsakowego. Czerniak złośliwy reprezentował nowotwory nienabłonkowe niedojrzałe, które powstają z komórek melaninotwórczych. Ostatnią grupą złośliwych nienabłonkowców były nowotwory niedojrzałe wywodzące się z tkanki nerwowej, a mianowicie: nerwiak złośliwy i glejak złośliwy [3].

Do nowotworów mieszanych zostały zaliczone w niniejszej klasyfikacji mieszańce proste, mieszańce narządowe i mieszańce ustrojowe, przy czym w postaciach niedojrzałych tych nowotworów możliwa jest obecność utkania mięsaka [3].

W 1965 roku Van der Werf-Messing i Van Unnik zaproponowali stopniowanie włókniakomięsaka według aktywności mitotycznej, uznając tylko to kryterium za istotne dla określenia stopnia zagrożenia przerzutami.

W późniejszych opracowaniach różnych autorów zajmujących się tematyką guzów tkanek miękkich (Steven I. Hajdu w 1979 r., Monique Trohiani w 1984 r., Jan A.M. Van Unnik w 1988 r.), pojawiały się kolejne propozycje kryteriów morfologicznych w odniesieniu do stopnia złośliwości. Brano tu pod uwagę przede wszystkim wielkość guza, rozległość martwicy, stopień aktywności mitotycznej, w tym liczbę mitoz atypowych [5, 7, 8].

Doskonałe opracowanie nowotworów tkanek miękkich autorstwa Franza M. Enzinger i Sharon W. Weiss, ukazało się w podręczniku „Soft tissue tumors” z 1983 roku. Wykorzystano tu wyniki badań świetlno-mikroskopowych i elektronowo-mikroskopowych, wiążąc je z obserwacjami klinicznymi. Informacje te były modyfikowane w późniejszych wydaniach powyższej monografii (1988 r., 1995 r., 2001 r., 2008 r.).

Kolejnym wielkim postępem w poznawaniu biologii mięsaków było wprowadzenie do diagnostyki reakcji immunohistochemicznych. Zostały one upowszechnione pod koniec XX wieku. Zastosowanie w tych badaniach przeciwciał względem określonych wewnątrzkomórkowych białek charakterystycznych dla poszczególnych tkanek oraz określenie aktywności mitotycznej komórek nowotworowych, pomaga w rutynowej diagnostyce właściwie rozpoznać typ mięsaka.

Obowiązującą od 2002 roku do chwili obecnej klasyfikację mięsaków (wg WHO), opublikowali Christopher D.M. Fletcher, K. Krishnan Unni i Fredrik Mertens w monografii „Pathology and Genetics of Tumors of Soft Tissue and Bone”. Zaproponowano tu podział nowotworów tkanek miękkich, który obejmuje następujące grupy guzów: z tkanki tłuszczowej, fibroblastyczne/miofibroblastyczne, tzw. fibrohistiocytarne, z mięśni gładkich, z mięśni szkieletowych, periwaskularne, naczyniowe, chrzęstno-kostne, guzy o niepewnym

pochodzeniu. Występujące w powyższych grupach nowotwory zostały podzielone na guzy łagodne, guzy o pośredniej złośliwości (rzadko dające przerzuty) oraz guzy złośliwe.

W klasyfikacji nowotworów kości wyróżniono guzy: chrzęstne, kostne, fibrogenne, fibrohistiocytarne, prymitywne neuroektodermalne (*sarcoma Ewingi*), krwiotwórcze, olbrzymiokomórkowe, ze struny grzbietowej, naczyniowe, z mięśni gładkich, z tkanki tłuszczowej, nerwowe i tzw. różne [9].

W 2008 roku ukazała się monografia „Enzinger and Weiss’s soft tissue tumors” autorstwa Sharon W. Weiss i Johna R. Goldbluma. Umieszczono w niej histologiczną klasyfikację nowotworów tkanek miękkich, zawierającą następujące grupy guzów: fibroblastyczno/miofibroblastyczne, o typie GIST występujące poza żołądkiem i jelitami, z tkanki tłuszczowej, z mięśni gładkich, z mięśni szkieletowych, z naczyń krwionośnych i naczyń limfatycznych, okołonaczyniowe, maziówkowe, z międzybłonna, z osłonek nerwów obwodowych, prymitywne neuroektodermalne, z tkanki przyzwojowej, pozaszkieletowe kostne i chrzęstne oraz tzw. różne.

Częste zmiany poglądów oraz bardzo powolny rozwój wiedzy o mięsakach, wynikają ze skomplikowanej biologii oraz morfologii tych nowotworów.

Co roku rozpoznaje się około 30 przypadków mięsaków tkanek miękkich na 1000000 populacji, co stanowi mniej niż 1,0 % wszystkich złośliwych nowotworów [1, 10, 11]. W obliczeniach tych należy jednak uwzględnić fakt, iż niektóre złośliwe guzy tkanek miękkich bywają przyporządkowywane do innych grup nowotworów, np. międzybłoniak opłucnej, zaliczany bywa czasami do grupy guzów układu oddechowego, a międzybłoniak otrzewnej i inne mięsaki zlokalizowane zaotrzewnowo, w krezce i w sieci, do grupy nowotworów przewodu pokarmowego.

Mięsaki tkanek miękkich mogą pojawiać się we wszystkich okolicach ciała, ale zdecydowana większość (ok. 75%) umiejscawia się w obrębie kończyn (najczęściej na udzie). Drugą okolicą pod względem częstości występowania (ok. 10%) jest tułów oraz przestrzeń zaotrzewnowa. Około 10% mięsaków występuje w okolicy głowy i szyi [12]. Nowotwory te występują w nieznaczej przewadze u płci męskiej. Obserwowana jest duża zależność odsetka zachorowalności od wieku. Guzy te częściej występują w późniejszych dekadach życia. Średni wiek chorych wynosi 65 lat [9].

Mięsaki kostno-pochodne i chrzęstno-pochodne z kolei charakteryzują się stosunkowo częstym występowaniem w drugiej i szóstej dekadzie życia [9].

Osteosarcoma występuje często poniżej 20 roku życia, przy czym 80% stanowią tu guzy zlokalizowane w kościach długich (z predyspozycją do okolic przynasadowych, głównie

w rejonie kolana). Rzadziej występują w okolicy czaszkowo-twarzowej, w kręgosłupie oraz w miednicy. U chorych powyżej 50 roku życia 50% kostniakomięsaków jest zlokalizowanych w obrębie kończyn oraz po 20% występuje w obrębie kości okolicy czaszkowo-twarzowej i miednicy [9]. Podobne występowanie jest charakterystyczne dla mięsaka Ewinga [9].

Chondrosarcoma cechuje się wzrostem częstości zachorowań z wiekiem, aż do 75 roku życia. Ponad 50% tych guzów umiejscawia się w obrębie długich kości kończyn. Na drugim miejscu wymienia się lokalizację w obrębie żeber i miednicy [9].

Mięsaki stanowią ok. 1% wszystkich guzów złośliwych okolicy głowy i szyi [13]. Zarówno płeć jak i wiek mają odmienną przewagę w różnych typach mięsaków. Większość mięsaków zlokalizowanych w obrębie głowy i szyi pojawia się u osób starszych. Niektóre z nich powstają także, a niektóre wyłącznie w wieku dziecięcym. *Rhabdomyosarcoma embrionale* występuje wyłącznie u małych dzieci, a mięsaki polimorficzne (grupa tzw. *histiocytoma fibrosum malignum*) głównie u osób starszych, wyjątkowo rzadko poniżej 10 roku życia.

Obserwowany obecnie wzrost liczby zachorowań na mięsaki może świadczyć z jednej strony o rzeczywiście częstszym ich występowaniu, z drugiej strony jest wynikiem znacznego postępu diagnostyki.

Etiopatogeneza mięsaków nie jest w pełni ustalona. Przemiana złośliwa nowotworów łagodnych tkanek miękkich, kości oraz chrząstek zdarza się wyjątkowo rzadko. Najlepiej udokumentowano to w odniesieniu do nerwiakowłókniaków, zwłaszcza w przebiegu choroby Recklinghausena (nerwiakowłókniak → guz złośliwy osłonek nerwów obwodowych). Większość mięsaków tkanek miękkich powstaje *de novo*. Próbuje się jednak łączyć ich powstawanie z czynnikami genetycznymi, środowiskowymi, promieniowaniem, infekcjami wirusowymi i utratą odporności. Mięsaki tkanek miękkich pojawiają się wyjątkowo rzadko w bliznach pooperacyjnych, bliznach po oparzeniach kwasami i po oparzeniach termicznych, w miejscu złamań kości, w sąsiedztwie protez plastikowych i metalowych [14]. Stwierdzono zależność niektórych nowotworów od czynników chemicznych, np. międzybłoniaka od azbestu, mięsaka naczyniowego wątroby od chlorku winylu. Zawarty w herbicydach dioxin, wiązany jest z powstawaniem mięsaków u rolników i leśniczych [9, 15, 16].

Udowodniono wpływ promieniowania na rozwój mięsaków. Najwięcej znanych przypadków dotyczy chorych z rakiem piersi po radioterapii [17], przy czym najczęściej (powyżej 50%) rozpoznaje się tu guzy z grupy mięsaków polimorficznych (tzw. *histiocytoma fibrosum malignum*). Ponadto występują u tych chorych pozakostne mięsaki kostne oraz włókniakomięsaki. Udowodniono również pojawianie się mięsaków po długotrwałej immunosupresji,

głównie u biorców przeszczepów. Sugeruje się, iż niektóre mięsaki mogą mieć związek z infekcją wirusową. Przykładem jest wirus Epstein-Barr, związany z guzami mięśni gładkich u pacjentów z utratą odporności [9, 18]. Z kolei wirus herpes simplex typu 8 (HSV 8) odgrywa rolę w rozwoju mięsaka Kaposiego. Powstanie tego nowotworu (niezależnie od formy) wiąże się ze spadkiem odporności [9, 19].

Coraz częściej w etiopatogenezie mięsaków bierze się pod uwagę rolę czynników genetycznych. Przykładem jest nerwiakowłókniakowatość (typ 1 i 2). U ok. 2% chorych z nerwiakowłókniakowatością typu 1, rozwijają się w guzach łagodnych nowotwory złośliwe osłonek nerwów obwodowych (*malignant peripheral nerve sheath tumours*) [9, 20]. Kolejnym przykładem genetycznych uwarunkowań jest postać obustronna lub postać dziedziczna *retinoblastoma*, która jest związana z mutacją *locus RB1*. Uważa się również, iż w powstawaniu mięsaków odgrywa rolę charakterystyczna dla zespołu Li-Fraumeni mutacja supresorowego genu P53 [9, 21]. W połowie przypadków tego zespołu, trzydziestoletni chorzy posiadają rozwinięte nowotwory złośliwe, spośród których 30% to mięsaki tkanek miękkich, kości i chrząstek.

Większość nowotworów złośliwych kości oraz chrząstek powstaje *de novo*. W odniesieniu do niektórych z nich coraz częściej są wymieniane jako czynniki przyczynowe, choroba Pageta, uszkodzenia po napromieniowaniu, martwica kości, przewlekłe zapalenie kości, dysplazja oraz genetycznie uwarunkowane zespoły chorobowe [9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27]. Zauważono również zależność pomiędzy mięsakami kostnymi a implantami ze stopów żelaza i połączeniami protetycznymi [9, 28, 29, 30].

Określenie mięsak nie definiuje jednoznacznie zdolności do wznów i przerzutów. Ten sam rodzaj mięsaka może różnie przebiegać, w zależności od stopnia dojrzałości. Niektóre histologicznie łagodne nowotwory tkanek miękkich mogą naciekać otoczenie (naczyniak krwionośny, naczyniak limfatyczny, nerwiakowłókniak). Z kolei niektóre złośliwe guzy tkanek miękkich robią wrażenie dobrze ograniczonych, a nawet bywają „częściowo otorebkowane” (włókniakomięsak, tłuszczakomięsak, guz złośliwy osłonek nerwów obwodowych), co jest jednak złudnym wrażeniem, gdyż zawsze w otoczeniu znajdują się drobne ogniska naciekania.

Dla rokowania istotne znaczenie mają: typ utkania histologicznego (*typus – typing*), stopień złośliwości histologicznej (*gradus – grading*) oraz stopień zaawansowania klinicznego (*stadium – staging*).

Typ utkania histologicznego, a więc histogeneza danego mięsaka pozwala w niektórych przypadkach ustalić rokowanie w chwili rozpoznania. Zależy ono oczywiście także

od rodzaju podjętej terapii. Na przykład większość przypadków *rhabdomyosarcoma embrionale* cechuje się dobrymi wynikami leczenia przy zastosowaniu chemioterapii.

Stopień złośliwości histologicznej jest bardzo ważnym czynnikiem rokowniczym, który jest oceniany przy badaniu świetlno-mikroskopowym. Wyższy stopień oznacza większe prawdopodobieństwo wznowy miejscowej i przerzutów odległych oraz rokuje krótsze przeżycie. Zaobserwowano jednak lepszą początkową odpowiedź na chemioterapię u chorych z guzami o wyższym stopniu złośliwości histologicznej [31, 32, 33, 34, 35].

Wśród propozycji oceny i stopniowania mięsaków bardzo przydatnym okazał się system opracowany przez Hajdu [5]. Stopień złośliwości histologicznej jest tu określany w oparciu o liczbę komórek (komórkowość), ilość zrębu, obecność martwicy, stopień dojrzałości komórek oraz liczbę figur podziału. Niski stopień złośliwości histologicznej oznacza, że nowotwór jest ubogokomórkowy (hipocelularny), ma obfity zrąb, jego komórki przypominają dojrzałe komórki macierzyste, liczba figur podziału nie przekracza 5 w 10 polach widzenia przy dużym powiększeniu (HPF – *High Power Field*, obejmujące $0,1734 \text{ mm}^2$). Utkanie takiego nowotworu charakteryzuje się brakiem martwicy lub jej znikomą ilością. Powyższe cechy uważa się za rokowniczo korzystne. Z kolei wysoki stopień złośliwości wiąże się ze znaczną przewagą komórek nad zrębem, niewielkim stopniem ich dojrzałości, liczbą figur podziału większą niż 5 w 10 polach widzenia przy dużym powiększeniu (HPF) oraz rozległymi zmianami martwiczymi. Wymienione cechy są rokowniczo niepomyślne (tabela 1).

Tabela 1. Cechy histologiczne decydujące o stopniu złośliwości histologicznej mięsaków według klasyfikacji Hajdu.

Cechy niskiego stopnia złośliwości histologicznej	Cechy wysokiego stopnia złośliwości histologicznej
Ubogokomórkowość	Bogatokomórkowość
Obfity zrąb	Mała ilość zrębu
Niewielkie zmiany martwiczne	Rozległa martwica
Wysoka dojrzałość	Niska dojrzałość
Liczba mitoz <5 w 10 HPF	Liczba mitoz >5 w 10 HPF

Systemem stopniowania złośliwości histologicznej mięsaków, rekomendowanym przez WHO jest trójstopniowy system FNCLCC (*French Federation Nationale des Centres de Lutte Contre Cancer*) [36, 37] będący modyfikacją klasyfikacji Trojaniego [38] (tabela 2).

Tabela 2. Cechy histologiczne definiujące stopień złośliwości histologicznej mięsaków według klasyfikacji FNCLCC.

Dojrzałość guza

- 1 punkt - mięsaki znacznie upodabniające się do normalnej dojrzałej tkanki mezenchymalnej;
- 2 punkty - mięsaki, które mają pewny typ utkania histologicznego;
- 3 punkty - mięsaki embrionalne i niezróżnicowane, mięsaki o niepewnym typie, mięsak maziówki, kostniakomięsak, PNET.

Liczba mitoz

- 1 punkt - 0-9 mitoz widocznych w 10 HPF;
- 2 punkty - 10-19 mitoz widocznych w 10 HPF;
- 3 punkty - ≥ 20 mitoz widocznych w 10 HPF.

Martwica guza

- 0 punktów - brak martwicy w guzie
- 1 punkt - martwica zajmująca <50% guza
- 2 punkty - martwica zajmująca $\geq 50\%$ guza

Stopień złośliwości histologicznej

(suma punktów oceniających dojrzałość guza, liczbę mitoz, martwicę guza)

G1 – suma punktów: 2-3

G2 – suma punktów: 4-5

G3 – suma punktów: 6-8

Stopień zaawansowania klinicznego mięsaków jest trudny do ustalenia, gdyż większość z nich nie daje przerzutów do węzłów chłonnych.

W grupie czynników rokowniczych decydujących o zaawansowaniu procesu nowotworowego wg stopniowania Hajdu, są uwzględniane: wielkość guza, umiejscowienie (powierzchnowe, głębokie), stopień złośliwości histologicznej. Małe rozmiary guza (≤ 5 cm średnicy), powierzchowne umiejscowienie oraz niski stopień złośliwości histologicznej uznaje się za cechy pomyślne rokowniczo. Rozmiary duże (> 5 cm średnicy), głębokie umiejscowienie i wysoki stopień złośliwości histologicznej to czynniki rokowniczo niepomyślne. Powyższe cechy decydują o 0, I, II lub III stopniu, natomiast przy obecności przerzutów (regionalnych lub odległych) proces nowotworowy ma IV stopień zaawansowania (tabela 3).

Tabela 3. Czynniki rokownicze oceniające mięsaki tkanek miękkich oraz definiujące stopień zaawansowania procesu nowotworowego według klasyfikacji Hajdu.

Stopień zaawansowania procesu nowotworowego	Czynniki rokownicze
0	Wszystkie czynniki rokownicze (dotyczące: średnicy guza, umiejscowienia, stopnia złośliwości histologicznej) są pomyślne
I	Jeden czynnik rokowniczy (spośród cech: średnica guza, umiejscowienie, stopień złośliwości histologicznej) jest niepomyślny
II	Dwa czynniki rokownicze (spośród cech: średnica guza, umiejscowienie, stopień złośliwości histologicznej) są niepomyślne
III	Trzy czynniki rokownicze (dotyczące: średnicy guza, umiejscowienia, stopnia złośliwości histologicznej) są niepomyślne
IV A	Obecność przerzutów regionalnych
IV B	Obecność przerzutów odległych

Polecana obecnie przez WHO klasyfikacja zaawansowania choroby nowotworowej w przebiegu mięsaka, jest również czterestopniowa. Klasyfikacja ta została utworzona przez *International Union against Cancer (UICC)* [39], oraz *American Joint Communittee on*

Cancer (AJCC) [40]. Wykorzystywana w tym podziale ocena złośliwości histologicznej została uproszczona do dwustopniowej, w której niskiemu stopniowi złośliwości histologicznej odpowiada G1 podziału trzystopniowego oraz G1 i G2 podziału czterostopniowego, natomiast wysokiemu stopniowi złośliwości histologicznej odpowiada G2 i G3 podziału trzystopniowego oraz G3 i G4 podziału czterostopniowego (tabela 4).

Tabela 4. Cechy kliniczne i morfologiczne mięsaka tkanek miękkich, określające stopień zaawansowania procesu nowotworowego według klasyfikacji WHO.

Stopień zaawansowania procesu nowotworowego	TNM	Stopień złośliwości histologicznej
IA	T1a N0,NX M0 T1b N0,NX M0	NISKI STOPIEŃ
IB	T2a N0,NX M0 T2b N0,NX M0	NISKI STOPIEŃ
IIA	T1a N0,NX M0 T1b N0,NX M0	WYSOKI STOPIEŃ
IIB	T2a N0,NX M0	WYSOKI STOPIEŃ
III	T2b N0,NX M0	WYSOKI STOPIEŃ
IV	N1 M0 (bez względu na ocenę T) M1 (bez względu na ocenę T oraz N)	NISKI STOPIEŃ LUB WYSOKI STOPIEŃ

TNM w guzach tkanek miękkich

Guz pierwotny (T):

TX – nie można ocenić guza pierwotnego
T0 – brak dowodu na obecność guza pierwotnego
T1 – guz o średnicy ≤5 cm w największym wymiarze
T1a – guz zlokalizowany powierzchownie
T1b – guz zlokalizowany głęboko
T2 – guz o średnicy >5 cm w największym wymiarze
T2a – guz zlokalizowany powierzchownie
T2b – guz zlokalizowany głęboko

Przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych (N):

NX – nie można ocenić przerzutów w węzłach chłonnych
N0 – węzły chłonne bez przerzutów
N1 – obecne przerzuty do węzłów chłonnych

Przerzuty odległe (M):

M0 – brak przerzutów odległych
M1 – obecne przerzuty odległe

W powyższych klasyfikacjach (tabela 3, tabela 4) nie wzięto pod uwagę anatomicznej okolicy, w której powstał nowotwór, lecz umiejscowienie względem powięzi powierzchownej (umiejscowienie powierzchowne - nad powięzią, umiejscowienie głębokie – pod powięzią). Wiadomo jednak, że mięsaki, które są zlokalizowane w obrębie dystalnych części kończyn, rokują lepiej niż takie same guzy umiejscowione w odcinkach bliższych tułowiu. Gorsze rokowanie jest przy mięsakach tułowia a najgorsze przy lokalizacji w obrębie głowy i szyi.

Przerzuty do węzłów chłonnych (poza przerzutami drogą naczyń krwionośnych) dają we wczesnym okresie choroby: *sarcoma epithelioids*, *sarcoma synoviale*, *rhabdomyosarcoma*, *sarcoma clarocellulare* i niektóre nowotwory pochodzenia naczyniowego. Węzły chłonne w przypadku pozostałych mięsaków zajęte są pod koniec życia, przy uogólnieniu sprawy nowotworowej. Przerzuty odległe występują najczęściej w płucach.

Ważną cechą mięsaków tkanek miękkich jest tendencja do naciekania wzdłuż pni nerwowych, powięzi, naczyń i pęczków mięśniowych. Nowotwory te rzadko naciekają kości. Jeśli zmiana nowotworowa zajmuje równocześnie kość i otaczające tkanki miękkie, to wskazuje to raczej na pierwotny guz kości. Pomimo, że mięsaki często robią wrażenie dobrze odgraniczonych lub otorebkowanych, zawsze stwierdza się naciekanie otoczenia, czasami odległe. Należy przy tym pamiętać, iż nacieków drobnoogniskowych nie udaje się wykryć makroskopowo.

Diagnostyka mięsaków należy do najtrudniejszych w ocenie histologicznej. Związane jest to z charakterystycznymi cechami tych guzów. Około 30% stanowią nowotwory, które mają niski stopień dojrzałości [1]. Znaczna ich część ma odmienne utkanie w różnych obszarach guza. Ponadto mięsaki wykazują zdolność upodabniania się do innych nowotworów oraz nawzajem do siebie. Rozpoznanie utrudniają także zmiany wsteczne, martwica, wylewy krwi oraz obrzęki.

Charakterystyczna dla mięsaków ogromna różnorodność form rozrostów nowotworowych oraz wspomniane powyżej trudności w diagnostyce morfologicznej, zadecydowały o upowszechnieniu reakcji immunohistochemicznych, jako rutynowej diagnostyki uzupełniającej. Reakcje immunohistochemiczne pozwalają na określenie histogenezy mięsaków oraz ich aktywności proliferacyjnej.

Leczeniem z wyboru u chorych z mięsakiem okolicy głowy i szyi jest chirurgiczne usunięcie guza. Wyjątkiem od tej reguły jest leczenie niektórych mięsaków u dzieci (*rhabdomyosarcoma*), gdzie poza szerokim usunięciem chirurgicznym stosuje się chemioterapię lub radiochemioterapię [41]. Uzyskanie negatywnego marginesu jest niejednokrotnie

niemożliwe ze względu na bezpośrednie sąsiedztwo ważnych dla życia narządów i tkanek (lub ich naciekanie).

2. CEL PRACY

Celem pracy była analiza cech morfologicznych oraz ocena wyników leczenia chorych z mięsakami tkanek miękkich głowy i szyi, leczonych operacyjnie w okresie od 1994 roku do 2003 roku w Klinice Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej oraz w Klinice Chirurgii Szcękowo-Twarzowej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

W realizacji powyższych zadań postanowiono:

1. Dokonać ponownej oceny histologicznej guzów rozpoznanych jako mięsaki, dla potwierdzenia wcześniejszych rozpoznań lub ustalenia nowych, w oparciu o aktualną klasyfikację tych nowotworów, uzupełniając w miarę potrzeby dodatkowymi badaniami.
2. Ocenić złośliwość histologiczną według dwóch klasyfikacji - Hajdu oraz FNCLCC.
3. Ocenić ekspresję markera proliferacji Ki-67 i białka p53.
4. Dokonać analizy rodzaju i radykalności zastosowanego leczenia.
5. Zbadać zależności długości remisji oraz długości przeżycia od następujących cech histologicznych i klinicznych: płeć, wiek, średnica guza, przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych (rozpoznane na etapie planowania leczenia lub na etapie leczenia chirurgicznego), margines chirurgiczny usuniętego guza, stopień złośliwości histologicznej (klasyfikacja Hajdu oraz klasyfikacja FNCLCC), stopień ekspresji Ki-67, stopień ekspresji p53, pooperacyjna uzupełniająca radioterapia.

3. MATERIAŁ I METODY

Materiał

Przedmiotem analizy było 21 chorych leczonych z powodu mięsaka tkanek miękkich okolicy głowy i szyi. Materiał tkankowy był archiwizowany w Katedrze Patomorfologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu oraz pochodził od chorych z guzami pierwotnymi, którzy byli leczeni operacyjnie w okresie od 1994 roku do 2003 roku w Klinice Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej oraz w Klinice Chirurgii Szcękowo-Twarzowej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. U 3 chorych leczonych w obydwu klinikach usunięto mięsaki kościopochodne. Nie podjąłem się ich analizy, z uwagi na brak możliwości uzyskania informacji o dalszych losach 2 chorych.

Materiałem pozwalającym na przeanalizowanie przebiegu klinicznego u badanych chorych były księgi operacyjne i historie choroby, zachowane w archiwach obu klinik.

Metody

Pierwszym etapem badania była analiza histopatologiczna, którą przeprowadzono w Katedrze Patomorfologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Następnie prześledzono przebieg kliniczny oraz wyniki leczenia (ustalono daty wznów, przyczyny pojawiających się niepowodzeń w leczeniu oraz ewentualne daty zgonów chorych).

Analiza histologiczna

Ponownie przebadano materiał archiwalny, na który składały się preparaty histologiczne (barwione HE, impregnowane solami srebra wg Jones'a, barwione wg innych metod, np. trójbarwnej Massona, van Giesona, wykonywanych zależnie od potrzeb) oraz preparaty immunohistochemiczne. W zależności od ich jakości, oraz aktualnych potrzeb w poszczególnych przypadkach uzupełniono barwienia histologiczne i/lub reakcje immunohistochemiczne. Tak uzupełniony materiał archiwalny został poddany po raz kolejny analizie.

Badania immunohistochemiczne

Wycinki przeznaczone do reakcji immunohistochemicznych, skrojono na 4 μm skrawki, osadzono na szkiełka pokryte silanem (3-aminopropyltriethoxysilane, Sigma), odparafinowywano i uwadniano. Do przeprowadzenia oznaczeń immunohistochemicznych posłużono się metodą ABC (Avidin - Biotin Complex) z wykorzystaniem zestawów LSAB PLUS firmy DakoCytomation (LSAB Plus Kit/Hrp) [42]. Aby ułatwić reakcję antygen-przeciwciała, stosowano w większości przypadków (Ki-67, p53, alfa-1-antychymotrypsyna, CD68, desmina, SMA, CD34, S100, NSE, synaptofizyna, PGP9.5, bcl2, melan A, cytokeratyna, EMA) odsłanianie odpowiednich determinant antygenowych w łaźni wodnej (temperatura bliska 100°C), w buforze cytrynianowym o pH 6,0 przez okres 45 minut. W przypadku jednego antygeny (alfa-1-antytirypsyna) odkrywano epitopy enzymatycznie przy użyciu peroksydazy K. W pozostałych przypadkach pomijano etap odkrywania epitopów (F XIIIa, mioglobina, chromogranina A, wimentyna, melanosomy). Aktywność endogennej peroksydazy blokowano za pomocą 3% H_2O_2 . Następnie preparaty inkubowano 60 minut w temperaturze pokojowej z przeciwciałami dla oznaczenia markerów komórek pochodzenia histiocytarnego, markerów mięśniowych, markerów naczyńnych, markerów nerwowych, markerów neuroendokrynnych, wimentyny, bcl2, markerów występujących w komórkach czerniaka, markerów charakterystycznych dla komórek nabłonkowych, markera proliferacji Ki-67 i białka p53.

I. Dla oznaczenia markerów komórek pochodzenia histiocytarnego wykonano badanie:

- alfa-1-antytirypsyny (w reakcji użyto przeciwciała anti Alpha-1-Antitrypsin - Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Antitrypsin, DAKO - w rozcieńczeniu 1:100);
- alfa-1-antychymotrypsyny (przeciwciała anti Alpha-1-Antichymotrypsin - Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Antichymotrypsin, DAKO – w rozcieńczeniu 1:400);
- CD68 (w reakcji użyto przeciwciała anti CD68 - Monoclonal Mouse Anti-Human CD68 clone PG-M1, DAKO - w rozcieńczeniu 1:100);
- czynnika XIIIa (w reakcji użyto przeciwciała anti Factor XIIIa - Mouse Monoclonal Antibody Factor XIIIa Ab-1 clone AC-1a1, NeoMarkers - w rozcieńczeniu 1:50).

II. Dla oznaczenia komórek pochodzenia mięśniowego wykonano badania:

- desminy (w reakcji użyto przeciwciała anti Desmin - Monoclonal Mouse Anti-Human

Desmin clone D33, DAKO - w rozcieńczeniu 1:100);

- aktyny mięśni gładkich (SMA) (w reakcji użyto przeciwciała anti SMA - Monoclonal Mouse Anti-Human Smooth Muscle Actin clone 1A4, DAKO - w rozcieńczeniu 1:50);
- mioglobiny (w reakcji użyto przeciwciała anti Myoglobin - Polyclonal Rabbit Anti-Myoglobin, DAKO - w rozcieńczeniu 1:300).

III. Celem wykazania komórek pochodzenia naczyniowego oznaczono:

- CD34 (w reakcji użyto przeciwciała anti CD34 - Monoclonal Mouse Anti-Human CD34 Class II, clone QBEnd 10 - w rozcieńczeniu 1:50).

IV. Spośród markerów nerwowych oznaczono:

- S100 (w reakcji użyto przeciwciała anti S100 - Polyclonal Rabbit Anti-S100, DAKO - w rozcieńczeniu 1:400);
- enolazę neuronospecyficzną (NSE) (w reakcji użyto przeciwciała anti NSE – Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase clone BBS/NC/VI-H14, DAKO - w rozcieńczeniu 1:100).

V. Dla oznaczenia markerów neuroendokrynnych wykonano reakcje przeciwciał:

- białkowemu produktowi genu 9.5 (PGP9.5) (w reakcji użyto przeciwciała anti PGP9.5 - Polyclonal Rabbit Anti-PGP9.5, DAKO - w rozcieńczeniu 1:200);
- synaptofizynie (w reakcji użyto przeciwciała anti Synaptophysin - Polyclonal Rabbit Anti-Human Synaptophysin, DAKO);
- chromograninie (w reakcji użyto przeciwciała anti Chromogranin A - Polyclonal Rabbit Anti-Human Chromogranin A, DAKO).

VI. Ponadto wykonano badanie innych markerów, a mianowicie:

- wimentyny (w reakcji użyto przeciwciała anti Vimentin - Monoclonal Mouse Anti-Vimentin clone V9, DAKO);
- bcl2 (w reakcji użyto przeciwciała anti bcl2 - Monoclonal Mouse Anti-Human bcl2 Oncoprotein clone 124, DAKO - w rozcieńczeniu 1:100).

VII. W celu wykluczenia czerniaków, wykonano reakcje przeciw:

- melanosomom (ciałka melaninowe) (w reakcji użyto przeciwciała anti Melanosome - Monoclonal Mouse Anti-Human Melanosome clone HMB45, DAKO);
- melanowi A (w reakcji użyto przeciwciała anti Melan-A - Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A clone A103, DAKO - w rozcieńczeniu 1:50).

VIII. Dla wykluczenia postaci wrzecionowatokomórkowych raków, przeprowadzono reakcje przeciw:

- cytokeratynom (w reakcji użyto przeciwciała anti Cytokeratin - Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin clone MNF116, DAKO - w rozcieńczeniu 1:100);
- antygenowi błon komórkowych nabłonka (EMA) (w reakcji użyto przeciwciała anti EMA - Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen clone E29, DAKO – w rozcieńczeniu 1:100).

IX. Celem zbadania aktywności proliferacyjnej komórek nowotworowych wykonano we wszystkich przypadkach reakcję przeciw markerowi proliferacji Ki-67 (w reakcji użyto przeciwciała anti Ki-67 - Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen clone MIB-1, DAKO - w rozcieńczeniu 1:100).

X. Wszystkie mięsaki zostały poddane reakcji immunohistochemicznej przeciw białku p53 (w reakcji użyto przeciwciała anti p53 - Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein clone DO-7, DAKO – w rozcieńczeniu 1:25).

W odniesieniu do każdego przeciwciała użyto kontroli pozytywnej i negatywnej. Kontrolę pozytywną stanowiły wcześniej sprawdzone, odpowiednie dla danego przeciwciała preparaty z materiałem tkankowym zalecanym przez producenta. Kontrolą negatywną był w każdym przypadku dodatkowo skrojony preparat, w którym podczas wykonywania badania immunohistochemicznego pomijano podawanie pierwszego przeciwciała. Po inkubacji preparatów z pierwszym przeciwciałem nakrapiano na każde szkiełko drugie przeciwciało, znakowane biotyną oraz inkubowano przez 15 minut. Następnym krokiem było podanie kompleksu streptoawidyna - peroksydaza chrzanowa oraz inkubowanie skrawków przez kolejne 15 minut. Pomiędzy poszczególnymi inkubacjami preparaty płukano w buforze TBS

pH 7,6. Peroksydazę lokalizowano w reakcji barwnej, stosując jako chromogen DAB (3,3-diaminobenzzydinę, Sigma). Preparaty kontrastowano za pomocą hematoksyliny Mayer'a, odwadniano i zatapiano w balsamie kanadyjskim.

W ocenie nasilenia reakcji immunohistochemicznych w tkance nowotworowej zastosowano pięciostopniową skalę:

- reakcja ujemna;
- + reakcja dodatnia dotycząca $\leq 20\%$ komórek nowotworowych leżących w rozproszeniu;
- ++ reakcja dodatnia dotycząca 21% - 50% komórek nowotworowych (ogniskowo możliwa dodatnia reakcja w większości komórek);
- +++ reakcja dodatnia dotycząca 51% - 80% komórek nowotworowych w całym obszarze;
- ++++ reakcja dodatnia dotycząca $>80\%$ komórek nowotworowych w całym obszarze.

We wszystkich przypadkach oceniono złośliwość histologiczną, wykorzystując stosowaną w wielu ośrodkach dwustopniową klasyfikację Hajdu [5] i rekomendowaną przez WHO trzystopniową klasyfikację FNCLCC (*French Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer*) [39, 40].

Analiza kliniczna

Analizie poddano dane obejmujące badanie podmiotowe (wywiad onkologiczny, schorzenia dodatkowe, leki przyjmowane na stałe przez chorego), badanie przedmiotowe (stan ogólny chorego, badanie określające zaawansowanie kliniczne nowotworu), wyniki diagnostyki obrazowej i laboratoryjnej, leczenie operacyjne, leczenie uzupełniające oraz późniejszą obserwację kliniczną. Powyższe informacje, pochodzące z historii chorób i ksiąg operacyjnych, zostały uzupełnione pod koniec 2008 roku badaniem kontrolnym żyjących chorych. W tym czasie ustalono również, dokładne daty i przyczyny zgonów chorych nieżyjących (uzyskując tu pomoc ze strony rodzin chorych oraz Oddziałów Ewidencji Ludności Urzędów Miast lub Gmin).

Radykalność leczenia chirurgicznego oceniono w oparciu o cechy makroskopowe oraz mikroskopowe marginesu tkanek usuniętych „w bloku” z mięsakiem (margines chirurgiczny) (tabela 5).

Tabela 5. Cechy negatywnego i pozytywnego marginesu chirurgicznego.

Rodzaj marginesu chirurgicznego	Kryteria decydujące o rodzaju marginesu chirurgicznego
Negatywny margines chirurgiczny	- brak nowotworu w badaniu makroskopowym - brak komórek nowotworowych w badaniu mikroskopowym
Pozytywny margines chirurgiczny	- obecny nowotwór w badaniu makroskopowym - obecne komórki nowotworowe w badaniu mikroskopowym

Efektywność leczenia oceniono w oparciu o trzy zmienne zależne:

- 1) Przeżycie wolne od nawrotu choroby (RFS – *relapse-free survival*)**, które zdefiniowano jako czas liczony (w miesiącach) od leczenia wstępnego (leczenie chirurgiczne) do rozpoznania miejscowego, regionalnego lub odległego nawrotu choroby. Chorym, u których nie stwierdzono remisji przypisywano RFS wynoszące 0 miesięcy.
- 2) Przeżycie swoiste dla choroby (DSS – *disease-specific survival*)**, którym nazwano czas liczony (w miesiącach) od rozpoznania wstępnego nowotworu do zgonu z powodu choroby nowotworowej lub zgonu związanego z leczeniem onkologicznym.
- 3) Przeżycie całkowite (OS – *overall survival*)**, które zdefiniowano jako czas liczony (w miesiącach) od rozpoznania wstępnego nowotworu do zgonu chorego, bez względu na jego przyczynę.

Tak obliczone RFS, DSS, OS oznaczono jako „kompletne”. Z kolei dla przypadków, w których do czasu zakończenia obserwacji nie nastąpił nawrót choroby lub zgon, zmienne RFS, DSS, OS oznaczono jako „ucięte”.

Badanie statystyczne

Badania statystyczne wykonano przy użyciu programu STATISTICA PL wersja 8.0 (StatSoft, Inc.).

Dla badanych cech ilościowych (RFS, DSS, OS, wiek chorych) wyznaczono podstawowe parametry statystyki opisowej, takie jak: średnia arytmetyczna, mediana, dolny oraz górny kwartył, odchylenie standardowe, błąd standardowy średniej, rozstęp kwartyłowy, współczynnik zmienności oraz wartość minimalna i maksymalna.

Średnia arytmetyczna ($\bar{x}$) jest najlepszą miarą charakteryzującą rozkład cechy. Obliczana jest na podstawie wszystkich pomiarów i definiowana następującym wzorem:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i.$$

Mediana (Me) jest wartością znajdującą się dokładnie w środku uporządkowanej zbiorowości. „Na lewo” od mediany jest 50% wartości mniejszych lub równych medianie, „na prawo” 50% wartości większych lub równych medianie.

Dolny kwartył (Q_1) jest to wartość jednostki dzieląca zbiorowość w ten sposób, że 25% ma wartości nie większe od Q_1 , natomiast 75% ma wartości nie mniejsze.

Górny kwartył (Q_3) jest to wartość jednostki dzieląca zbiorowość w ten sposób, że 75% ma wartości nie większe od Q_3 , natomiast 25% ma wartości nie mniejsze.

Odchylenie standardowe (S) jest miarą rozrzutu pomiarów wokół średniej arytmetycznej i jest wyznaczane w oparciu o wszystkie pomiary. Odchylenie standardowe jest definiowane następującym wzorem:

$$S = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}.$$

Błąd standardowy średniej (SEM) jest miarą rozrzutu średniej i jest wyznaczany ze wzoru:

$$SEM = \sqrt{\frac{S}{\sqrt{n}}}.$$

Rozstęp (R) jest najprostszą miarą zmienności, czyli różnicą pomiędzy wartościami skrajnymi. $R = \max - \min$.

Rozstęp kwartyłowy (R_k) jest to różnica pomiędzy kwartylami, czyli $R_k = Q_3 - Q_1$.

Współczynnik zmienności (V) jest to względna miara rozproszenia wyznaczana ze wzoru:

$$V = \sqrt{\frac{S}{\bar{x}}} \times 100\%.$$

Wartość minimalna jest najmniejszym pomiarem w całej zbiorowości.

Wartość maksymalna jest największym pomiarem w całej zbiorowości.

Analizę cech jakościowych (płeć, wiek, średnica guza, przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych, margines chirurgiczny usuniętego guza, stopień złośliwości histologicznej mięsaka wg klasyfikacji Hajdu oraz wg klasyfikacji FNCLCC, ekspresja markera proliferacji

Ki-67 oraz białka p53, radioterapia) rozpoczęto od wyznaczenia liczebności poszczególnych kategorii, liczebności skumulowanych* oraz odpowiadających im wielkości procentowych**.

* Liczebność skumulowana jest to liczba pomiarów od końca danego przedziału do początku pierwszego przedziału.

** Procent skumulowany jest wielkością procentową, odpowiadającą konkretnej liczebności skumulowanej.

Następnie zbadano zależność RFS, DSS, OS od cech jakościowych (zmiennych niezależnych) (tabela 6, 7).

Tabela 6. Analizowane cechy jakościowe, reprezentowane przez dwie kategorie.

Cechy jakościowe (zmienne niezależne)	Kategorie cech	
	Żeńska	Męska
Płeć	Żeńska	Męska
Wiek	≤50 lat	>50 lat
* Średnica guza mającego głęboką lokalizację (Tb)	T1b (≤5 cm)	T2b (>5 cm)
Przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych	N0	N1
Margines chirurgiczny usuniętego guza	Negatywny	Pozytywny
Stopień złośliwości histologicznej mięsaka według klasyfikacji Hajdu	Niski stopień	Wysoki stopień
** Stopień złośliwości histologicznej mięsaka według klasyfikacji FNCLCC	G2	G3

* Chorzy z mięsakami zlokalizowanymi powierzchownie (Ta) mają lepsze rokowanie od chorych, u których mięsaki cechują się głęboką lokalizacją (Tb). Zdecydowało to o wyłączeniu z analizy jednocechowej jednego przypadku, dotyczącego mięsaka o powierzchniowej lokalizacji.

** Mięsaki o złośliwości histologicznej G1 według skali FNCLCC, miały niski stopień złośliwości histologicznej według skali Hajdu. Z kolei mięsaki mające złośliwość histologiczną G2 lub G3 według skali FNCLCC, miały jednocześnie wysoki stopień złośliwości histologicznej według skali Hajdu, co wpływało na odmienne rokowania dla tych samych pacjentów, w zależności od zastosowanej klasyfikacji złośliwości histologicznej. Dlatego w analizie jednocechowej, przy badaniu zależności RFS, DSS, OS od zmiennej „złośliwość histologiczna wg skali FNCLCC” skoncentrowano się na zbadaniu kategorii G2 i G3.

Tabela 7. Analizowane cechy jakościowe, reprezentowane przez trzy kategorie.

Cechy jakościowe (zmienne niezależne)	Kategorie cech		
Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych	0%	≤20%	>20%
Ekspresja p53 w komórkach nowotworowych	0%	≤20%	>20%
Radioterapia pooperacyjna	Brak	Obecna-dawka: <60 Gy	Obecna-dawka: ≥60 Gy

Wyznaczone cechy stanowiły funkcje przeżycia, które oszacowano metodą Kaplana-Meiera oraz porównano za pomocą testu log-rank. Pozwoliło to na wybranie tych zmiennych niezależnych, które według analizy jednocechowej miały istotny wpływ na RFS, DSS oraz OS. Wyselekcjonowane w ten sposób zmienne niezależne poddano analizie wielocechowej, w której za pomocą modelu proporcjonalnego hazardu Coxa określono zależność RFS, DSS, OS od niniejszych cech jakościowych. Analiza wielocechowa miała na celu wskazanie tych zmiennych, które niezależnie od innych cech jakościowych, były istotnymi czynnikami ryzyka krótkiego okresu remisji (lub braku remisji) oraz krótkiego przeżycia po leczeniu chirurgicznym.

4. WYNIKI

Wyniki badań świetlno-mikroskopowych

W przebadanym materiale tkankowym (n=21) rozpoznano 11 rodzajów mięsaków tkanek miękkich głowy i szyi. Trzy guzy były reprezentowane przez mięsaki o pośredniej złośliwości (postać naczyniowa guza fibrohistiocytarnego – dwa przypadki oraz obłoniak – jeden przypadek), w przebiegu których rzadko występują przerzuty [10]. Pozostałe guzy posiadały histogenezę, która jest związana z gorszym rokowaniem. Przeanalizowano dane morfologiczne i kliniczne dotyczące:

1. Sześciu chorych z **mięśakiem polimorficznym niezróżnicowanym** (łac. tzw. *histiocyoma fibrosum malignum polymorphum*) – wg WHO (ang.) *undifferentiated pleomorphic sarcoma (pleomorphic MFH)* (3 załącznik – tabela 20 a).
2. Dwóch chorych z **postacią naczyniową guza fibrohistiocytarnego** (łac. tzw. *histiocyoma fibrosum malignum angiomatodes*) – wg WHO (ang.) *angiomatoid fibrous histiocyoma (angiomatoid MFH)* (3 załącznik – tabela 20 b).
3. Pięciu chorych z **guzem złośliwym osłonek nerwów obwodowych**, nazywanym w przeszłości **nerwiakomięsakiem** (łac. *neurosarcoma*) – wg WHO (ang.) *malignant peripheral nerve sheath tumor* (3 załącznik – tabela 21).
4. Jednego chorego z **mięśakiem mięśni poprzecznie prążkowanych zarodkowym** (łac. *rhabdomyosarcoma embryonale*) – wg WHO (ang.) *embryonal rhabdomyosarcoma* (3 załącznik – tabela 22 a).
5. Jednego chorego z **mięśakiem mięśni poprzecznie prążkowanych pęcherzykowym** (łac. *rhabdomyosarcoma alveolare*) – wg WHO (ang.) *alveolar rhabdomyosarcoma* (3 załącznik – tabela 22 b).
6. Jednego chorego z **włókniakomięsakiem dorosłych** (łac. *fibrosarcoma*) – wg WHO (ang.) *adult fibrosarcoma* (3 załącznik – tabela 23).
7. Jednego chorego z **nerwiakiem węchowym niedojrzałym** (łac. *esthesioneuroblastoma*) – wg WHO (ang.) *olfactory neuroblastoma (esthesioneuroblastoma)* (3 załącznik – tabela 24).
8. Jednego chorego z **przyzwojakiem złośliwym** (łac. *paraganglioma malignum*) - wg WHO *malignant paraganglioma* (3 załącznik – tabela 25).

9. Jednego chorego z **obłoniakiem (obłoniak złośliwy)** (łac. *haemangiopericytoma*) - wg WHO (ang.) *haemangiopericytoma* (3 załącznik – tabela 26).
10. Jednego chorego z **mięśakiem Ewinga** (łac. *sarcoma Ewingi*) - wg WHO (ang.) *Ewing sarcoma* (3 załącznik – tabela 27).
11. Jednego chorego z **mięśakiem maziówkowym** (łac. *sarcoma synoviale*) - wg WHO (ang.) *synovial sarcoma* (3 załącznik – tabela 28).

Wyniki badań immunohistochemicznych

Rozpoznanie typu mięsaka ustalono we wszystkich przypadkach w oparciu o badania histologiczne i immunohistochemiczne.

W 8 przypadkach rozpoznanie mięsaków z grupy fibrocytarno-histiocytarnej ustalono na podstawie dodatkowych wyników reakcji z przeciwciałami przeciw następującym markerom: alfa-1-antytrypsyna, alfa-1-antychymotrypsyna, CD68, F XIIIa, NSE, melanosomy, melan A. Reakcję z przeciwciałem przeciw alfa-1-antytrypsynie wykonano w 6 przypadkach (w 1 przypadku wynik ujemny), przeciw alfa-1-antychymotrypsynie w 6 przypadkach (w 1 przypadku wynik ujemny), przeciw CD68 w 8 przypadkach (wszystkie wyniki dodatnie), przeciw F XIIIa w 8 przypadkach (w 1 przypadku wynik ujemny), oraz przeciw NSE w 2 przypadkach (wyniki dodatnie). Ostateczne rozpoznanie guza fibrocytarno-histiocytarnego ustalono na podstawie co najmniej 2 wyraźnie dodatnich wyników reakcji.

Dla wykluczenia czerniaka w 1 przypadku wykonano reakcje przeciw melanosomom (wynik ujemny) i przeciw melanowi A (wynik ujemny).

Mięsaka osłonek nerwów obwodowych (n=5) rozpoznano po zbadaniu ekspresji: S100, NSE, PGP9.5, F XIIIa. Dla wykluczenia innych nowotworów wykonano reakcje z przeciwciałem przeciw następującym markerom: CD68, CD34, SMA, cytokeratyny, EMA, melanosomy. Reakcję z przeciwciałem przeciw S100 przeprowadzono w 5 przypadkach (wszystkie wyniki dodatnie), przeciw NSE w 4 przypadkach (wszystkie wyniki dodatnie), przeciw PGP9.5 w 1 przypadku (wynik dodatni), przeciw F XIIIa w 3 przypadkach (wszystkie wyniki dodatnie), przeciw CD68 w 3 przypadkach (wszystkie wyniki ujemne), przeciw CD34 w 4 przypadkach (wszystkie wyniki ujemne), przeciw SMA w 1 przypadku (wynik ujemny). Ostateczne rozpoznanie guzów złośliwych osłonek nerwów obwodowych ustalono na podstawie co najmniej 2 wyraźnie dodatnich wyników reakcji.

Celem wykluczenia raka wrzecionowatokomórkowego w 2 przypadkach wykonano reakcje z przeciwciałem przeciw cytokeratynom (wyniki ujemne) i przeciw EMA (wyniki ujemne). Z kolei dla wykluczenia czerniaka w 1 przypadku wykonano reakcje przeciw melanosomom (wynik ujemny).

W 2 przypadkach rozpoznanie mięśniakomięśaka potwierdzono po wykonaniu dodatkowych reakcji immunohistochemicznych przeciw desminie (wyniki dodatnie) i przeciw mioglobinie (wyniki dodatnie).

Włókniakomięśaka dorosłych rozpoznano po wykonaniu reakcji z przeciwciałem przeciw wimentynie (wynik dodatni), przeciw SMA (wynik dodatni), przeciw F XIIIa (wynik ujemny) oraz po wykluczeniu innych mięsaków wrzecionowatokomórkowych, ponieważ dotąd nie jest znany swoisty marker fibrocytów.

Nerwiaka węchowego niedojrzałego rozpoznano w oparciu o wynik badania synaptofizyny (wynik dodatni), chromograniny (wynik dodatni), S100 (wynik dodatni) oraz NSE (wynik dodatni). Dla wykluczenia czerniaka wykonano reakcję przeciw melanosomom (wynik ujemny).

Przyzwojaka złośliwego rozpoznano po wykonaniu reakcji immunohistochemicznych przeciw synaptofizynie (wynik dodatni), przeciw chromograninie (wynik dodatni) oraz przeciw S100 (wynik dodatni).

Rozpoznanie obłoniaka ustalono po zbadaniu ekspresji CD34 (wynik dodatni), wimentyny (wynik dodatni), SMA (wynik dodatni), desminy (wynik ujemny) i bcl2 (wynik dodatni).

Mięsaka Ewinga rozpoznano po wykonaniu reakcji immunohistochemicznych przeciwko wimentynie (wynik dodatni) i przeciwko NSE (wynik dodatni).

Mięsaka maziówkowego zidentyfikowano po wcześniejszym zbadaniu ekspresji bcl2 (wynik dodatni), cytokeratyn (wynik dodatni), EMA (wynik dodatni) i białka S100 (wynik dodatni).

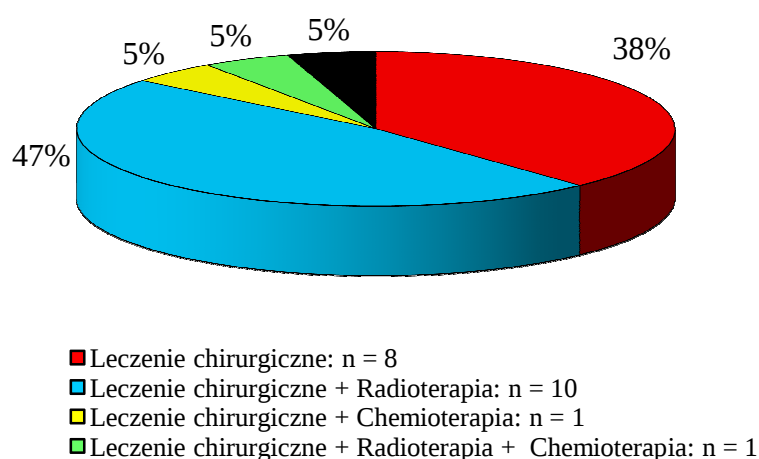
Wyniki badania klinicznego

Analizowane mięsaki były zlokalizowane w twarzoczaszce (n=14) i w szyi (n=7) (tabela 8).

Tabela 8. Umieszczenie mięsaków tkanek miękkich głowy i szyi u 21 chorych.

Struktury anatomiczne objęte procesem nowotworowym			Liczba chorych mających mięsaka o danej lokalizacji
Twarzoczaszka	Nasada nosa		1
	Masyw szczękowo-sitowy	Górne i dolne piętro masywu szczękowo-sitowego	3
		Górne piętro masywu szczękowo-sitowego	6
	Język	Nasada i trzon języka	1
		Nasada języka	1
	Trzon żuchwy		2
Szyja	Okolica trójkąta podżuchwowego		1
	Gardło i przestrzeń okołogardłowa	Gardło i przestrzeń bocznogardłowa	1
		Przestrzeń pozagardłowa	1
	Krtień		3
	Kłębek szyjny		1

U dwudziestu chorych leczeniem z wyboru było chirurgiczne usunięcie guza. W jednym przypadku leczenie zostało ograniczone do radioterapii (3 załącznik - tabela 20 a, l.p. przypadku: 4). 50% chorych leczonych chirurgicznie (n=10), zostało poddanych uzupełniającej radioterapii. W pojedynczych przypadkach leczenie chirurgiczne było połączone z radiochemioterapią lub z chemioterapią (rycina 1).



Rycina 1. Leczenie przeprowadzone u 21 chorych z mięsakiem tkanek miękkich okolicy głowy i szyi.

Statystyka opisowa

Zmienne ilościowe

Mediana wieku badanych chorych wyniosła 51 lat. W momencie rozpoznania mięsaka najmłodszy chory miał 5 lat a najstarszy 78 lat.

Do analizy ilościowej włączono RFS (przeżycie wolne od nawrotu choroby), DSS (przeżycie swoiste dla choroby), OS (przeżycie całkowite) o charakterze „kompletnym” i „uciętym”.

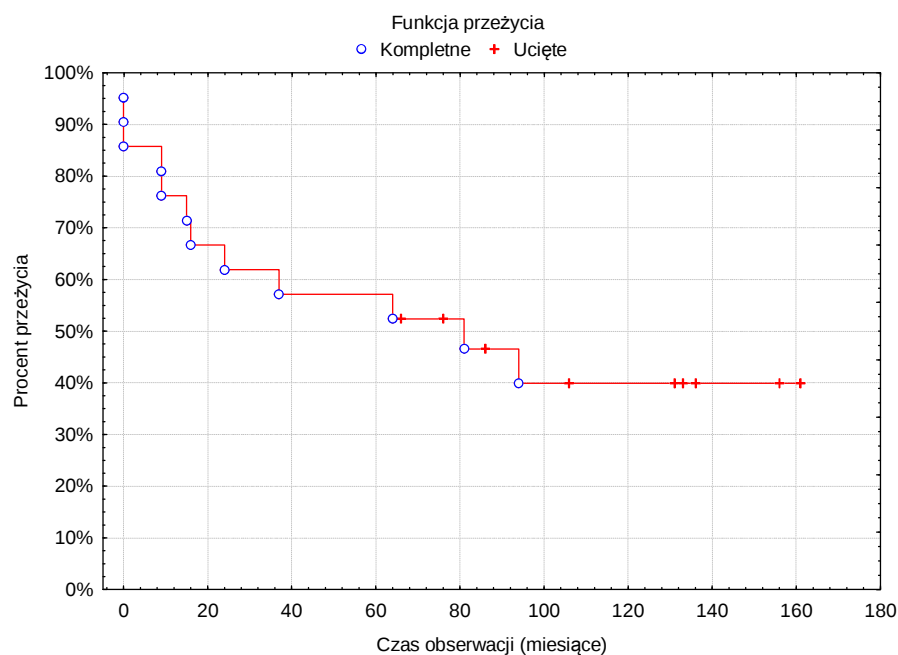
Mediana RFS miała wartość 66 miesięcy, przy czym minimalny czas przeżycia wolnego od nawrotu choroby to 0 miesięcy (trzech chorych, u których nie nastąpiła remisja choroby) a wartość maksymalna równała się 161 miesiącom.

DSS i OS charakteryzowały się tymi samymi wielkościami mediany (76 miesięcy) oraz takimi samymi wartościami minimalnymi (6 miesięcy) i wartościami maksymalnymi (164 miesiące) (tabela 9).

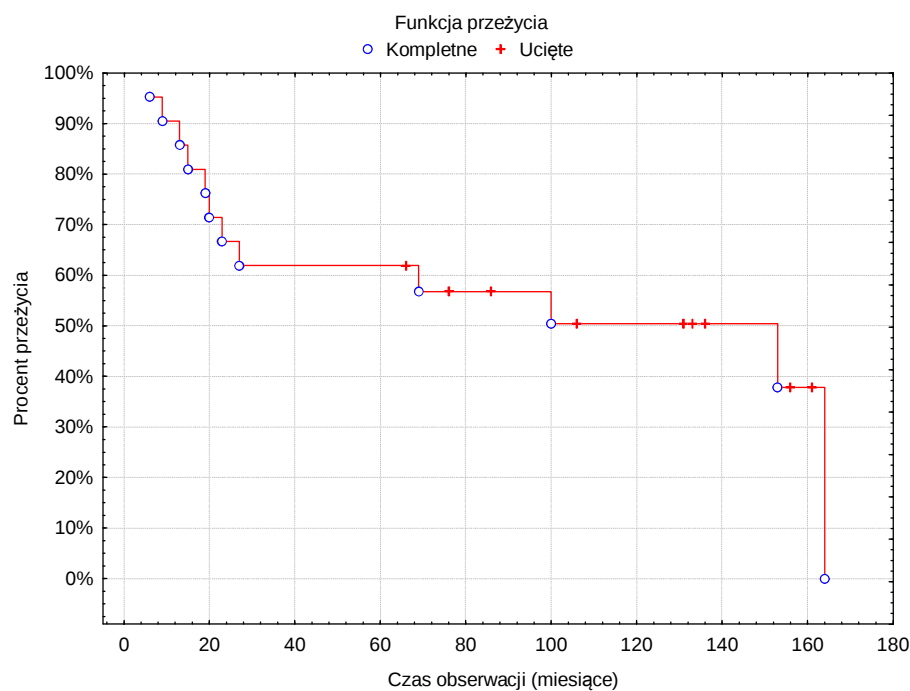
Tabela 9. Wyniki analizy zmiennych ilościowych (reprezentowanych przez 1 zmienną niezależną – „wiek” oraz przez 3 zmienne zależne – „przeżycie wolne od nawrotu choroby”, „przeżycie swoiste dla choroby”, „przeżycie całkowite”), u 21 chorych leczonych z powodu mięsaka tkanek miękkich okolicy głowy i szyi.

Parametry statystyki opisowej	Zmienne ilościowe			
	Zmienna niezależna	Zmienne niezależne		
	Wiek (zmienna niezależna)	Przeżycie wolne od nawrotu choroby (RFS)	Przeżycie swoiste dla choroby (DSS)	Przeżycie całkowite (OS)
Średnia arytmetyczna	45,38 lat	66,67 miesięcy	79,48 miesięcy	79,48 miesięcy
Mediana	51 lat	66 miesięcy	76 miesięcy	76 miesięcy
Wartość minimalna	5 lat	0 miesięcy	6 miesięcy	6 miesięcy
Wartość maksymalna	78 lat	161 miesięcy	164 miesiące	164 miesiące
Odchylenie standardowe	22,54 lata	55,28 miesięcy	58,02 miesięcy	58,02 miesięcy
Współczynnik zmienności	49,67 %	82,92 %	73,00 %	73,00 %

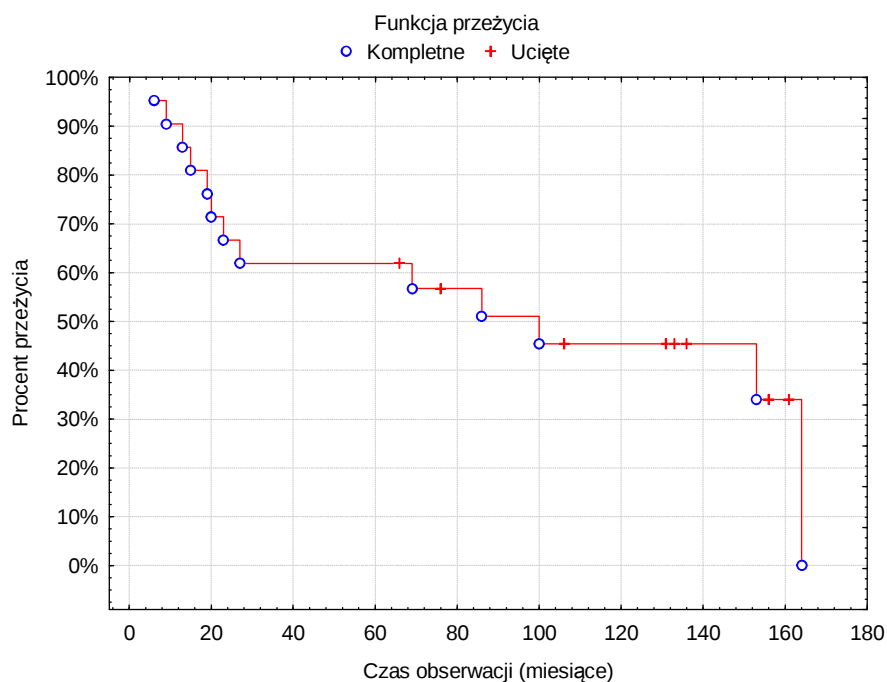
Dla badanej grupy wyznaczono krzywą „przeżycia wolnego od nawrotu choroby” (rycina 2), krzywą „przeżycia swoistego dla choroby” (rycina 3) oraz krzywą „przeżycia całkowitego” (rycina 4).



Rycina 2. Czas „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” u 21 chorych z mięsakiem tkanek miękkich głowy i szyi.



Rycina 3. Czas „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” u 21 chorych z mięsakiem tkanek miękkich głowy i szyi.



Rycina 4. Czas „przeżycia całkowitego (OS)” u 21 chorych z mięsakiem tkanek miękkich głowy i szyi.

Po upływie 5 lat od chirurgicznego usunięcia mięsaka, który został najpóźniej rozpoznany i leczony, zakończono obserwację badanej grupy chorych.

U 1 chorego, u którego nie usunięto chirurgicznie guza, a jedynym postępowaniem leczniczym była radioterapia, nastąpił rozsiew procesu nowotworowego. W 2 przypadkach nie doszło do remisji choroby nowotworowej po przeprowadzonym leczeniu chirurgicznym. U 9 chorych wystąpiły wznowy miejscowe, przy czym w 2 przypadkach po wcześniejszym rozpoznaniu wznowy stwierdzono rozsiew procesu nowotworowego.

Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) trwało 6 miesięcy, z kolei najdłuższy okres przeżycia (DSS, OS) trwał 13 lat i 8 miesięcy.

W trakcie obserwacji klinicznej zmarło 62% chorych (n=13). Zgon 57% chorych (n=12) był związany z chorobą nowotworową.

Zmienne jakościowe

W analizie zmiennych jakościowych wyznaczono liczebności badanych kategorii, następnie liczebności skumulowane oraz odpowiadające im wielkości procentowe (tabela 10).

Tabela 10. Zmienne jakościowe (reprezentowane przez 11 zmiennych niezależnych) analizowane jako czynniki ryzyka nawrotu choroby lub czynniki ryzyka zgonu u 21 chorych leczonych z powodu mięsaka tkanek miękkich okolicy głowy i szyi.

Zmienne jakościowe (zmienne niezależne)	Kategorie zmiennych niezależnych	Liczebność	Liczebność skumulowana	Procent	Procent skumulowany
Płeć	Żeńska	12	12	57,14	57,14
	Męska	9	21	42,86	100
Wiek	≤50 lat	10	10	47,62	47,62
	>50 lat	11	21	52,38	100
Średnica guza	Zlokalizowanego powierzchownie: ≤5 cm (T1a)	1	1	4,76	4,76
	Zlokalizowanego powierzchownie: >5 cm (T1a)	0	1	0	4,76
	Zlokalizowanego głęboko: ≤5 cm (T1b)	5	6	23,81	28,57
	Zlokalizowanego głęboko: >5 cm (T2b)	15	21	71,43	100
Przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych (przed rozpoczęciem leczenia)	Nie (N0)	18	18	85,71	85,71
	Tak (N1)	3	21	14,29	100
Przerzuty odległe (przed rozpoczęciem leczenia)	Nie (M0)	21	21	100	100
	Tak (M1)	0	21	0	100
Charakter postępowania chirurgicznego	Wycinek	1	1	4,76	4,76
	Usunięcie guza z negatywnym marginesem chirurgicznym	11	12	52,38	57,14
	Usunięcie guza z pozytywnym marginesem chirurgicznym	9	21	42,86	100
Stopień złośliwości histologicznej mięsaka według klasyfikacji Hajdu	Niski stopień	2	2	9,52	9,52
	Wysoki stopień	19	21	90,48	100,00
Stopień złośliwości histologicznej mięsaka według klasyfikacji FNCLCC	G 1	2	2	9,52	9,52
	G 2	11	13	52,38	61,90
	G 3	8	21	38,09	100
Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych	0 %	-	-	-	-
	≤20 %	14	14	66,67	66,67
	>20 %	7	21	33,33	100
Ekspresja p53 w komórkach nowotworowych	0 %	9	9	42,86	42,86
	≤20 %	5	14	23,81	66,67
	>20 %	7	21	33,33	100
Radioterapia	Brak	9	9	42,86	42,86
	Obecna – dawka: <60 Gy	3	12	14,29	57,14
	Obecna – dawka: ≥60 Gy	9	21	42,85	100

Spośród wszystkich analizowanych przypadków (n=21) u 2 chorych stwierdzono cechy rokowniczo odmienne. W jednym przypadku, rozległość procesu nowotworowego wykluczyła możliwość leczenia chirurgicznego. Po pobraniu wycinka i ustaleniu rozpoznania histopatologicznego, zastosowano tu radioterapię (3 załącznik - tabela 20 a, l.p. przypadku: 4). Drugi chory, jako jedyny z badanej grupy, miał mięsaka o powierzchniowej lokalizacji (Ta) (3 załącznik - tabela 24, l.p. przypadku: 17), co jest związane z lepszym rokowaniem, w odróżnieniu od mięsaków o lokalizacji głębokiej (Tb).

Celem obiektywizacji wyników wyłączono powyższe 2 przypadki z analizy jednocechowej, badającej zależności RFS, DSS, OS od zmiennych niezależnych (tabela 11, rycina 5-37).

Tabela 11. 2-letnie i 5-letnie „przeżycie wolne od nawrotu choroby (RFS)”, „przeżycie swoiste dla choroby (DSS)”, „przeżycie całkowite (OS)” u chorych poddanych analizie jednocechowej.

Zmienne jakościowe (zmienne niezależne)	Kategorie zmiennych niezależnych	Liczba chorych poddanych analizie jednocechowej	Przeżycie 2-letnie			Przeżycie 5-letnie		
			RFS	DSS	OS	RFS	DSS	OS
Płeć	Żeńska	12	9 (75%)	9 (75%)	9 (75%)	8 (67%)	9 (75%)	9 (75%)
	Męska	7	3 (43%)	4 (57%)	4 (57%)	3 (43%)	3 (43%)	3 (43%)
Wiek	≤50 lat	9	7 (78%)	7 (78%)	7 (78%)	6 (67%)	7 (78%)	7 (78%)
	>50 lat	10	5 (50%)	6 (60%)	6 (60%)	5 (50%)	5 (50%)	5 (50%)
Średnica guza (w największym wymiarze), mającego głęboką lokalizację	T1b (guz umiejscowiony głęboko o średnicy ≤5 cm)	4	4 (100%)	4 (100%)	4 (100%)	4 (100%)	4 (100%)	4 (100%)
	T2b (guz umiejscowiony głęboko o średnicy >5 cm)	15	8 (53%)	9 (60%)	9 (60%)	7 (47%)	8 (53%)	8 (53%)
Przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych	Nie (N0)	16	10 (62,5%)	11 (69%)	11 (69%)	9 (56%)	10 (62,5%)	10 (62,5%)
	Tak (N1)	3	2 (67%)	2 (67%)	2 (67%)	2 (67%)	2 (67%)	2 (67%)
Stopień złośliwości histologicznej mięsaka według Hajdu	Niski	2	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)
	Wysoki	17	10 (59%)	11 (65%)	11 (65%)	9 (53%)	10 (59%)	10 (59%)
Stopień złośliwości histologicznej mięsaka według FNCLCC	G1	2	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)
	G2	10	9 (90%)	9 (90%)	9 (90%)	8 (80%)	9 (90%)	9 (90%)
	G3	7	1 (14%)	2 (29%)	2 (29%)	1 (14%)	1 (14%)	1 (14%)
Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych	0%	0	-	-	-	-	-	-
	≤20%	9	9 (100%)	9 (100%)	9 (100%)	9 (100%)	9 (100%)	9 (100%)
	>20%	10	3 (30%)	4 (40%)	4 (40%)	2 (20%)	3 (30%)	3 (30%)
Ekspresja p 53 w komórkach nowotworowych	0%	8	3 (37,5%)	3 (37,5%)	3 (37,5%)	3 (37,5%)	3 (37,5%)	3 (37,5%)
	≤20%	5	4 (80%)	4 (80%)	4 (80%)	3 (30%)	4 (80%)	4 (80%)
	>20%	6	5 (83%)	6 (100%)	6 (100%)	5 (83%)	5 (83%)	5 (83%)
Margines chirurgiczny usuniętego guza	Margines negatywny	10	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)
	Margines pozytywny	9	2 (22%)	3 (33%)	3 (33%)	1 (11%)	2 (22%)	2 (22%)
Radioterapia pooperacyjna	Nie	8	5 (62,5%)	5 (62,5%)	5 (62,5%)	5 (62,5%)	5 (62,5%)	5 (62,5%)
	Tak - <60 Gy	3	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)
	Tak - ≥60 Gy	8	4 (50%)	5 (62,5%)	5 (62,5%)	3 (37,5%)	4 (50%)	4 (50%)

Analiza zmiennych jakościowych przy użyciu krzywych przeżycia Kaplana-Meiera oraz testów log-rank

W dalszej części analizy jednocechowej, wyznaczono krzywe przeżycia metodą Kaplana-Meiera. Następnie używając testu log-rank, zbadano istotność różnic pomiędzy funkcjami przeżycia (dwoma lub trzema, w zależności od analizowanej zmiennej jakościowej). Dla potrzeb niniejszej analizy uwzględniono „kompletne” oraz „ucięte” RFS, DSS, OS. Badanie dotyczyło zależności RFS, DSS, OS od następujących zmiennych niezależnych:

1. Płeć - 2 kategorie:
 - „płeć żeńska” (n=12);
 - „płeć męska” (n=7).
2. Wiek - 2 kategorie:
 - „ ≤ 50 lat” (n=9);
 - „ > 50 lat” (n=10).
3. Średnica guza - 2 kategorie:
 - „T1b” - guz zlokalizowany głęboko o średnicy ≤ 5 cm (n=4) ;
 - „T2b” - guz zlokalizowany głęboko o średnicy > 5 cm (n=15).
4. Przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych - 2 kategorie:
 - „N0” - brak przerzutów (n=16);
 - „N1” - obecne przerzuty (n=3).
5. Złośliwość histologiczna mięsaka według skali Hajdu - 2 kategorie:
 - „niski stopień” (n=2);
 - „wysoki stopień” (n=17).
6. Złośliwość histologiczna mięsaka według skali FNCLCC* - 2 kategorie:
 - „G2” (n=10);
 - „G3” (n=7).
7. Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza - 2 kategorie:
 - „ $> 0\%$ i $\leq 20\%$ ” (n=9);
 - „ $> 20\%$ ” (n=10).

8. Ekspresja p53 w komórkach nowotworowych guza - 3 kategorie:

- „0%” (n=8);
- „>0% i ≤20%” (n=5);
- „>20%” (n=6).

9. Margines chirurgiczny usuniętego guza - 2 kategorie:

- „margines negatywny” (n=10);
- „margines pozytywny” (n=9).

10. Radioterapia** - 2 kategorie:

- „brak radioterapii” (n=8);
- „obecna radioterapia” (11);

- 3 kategorie:

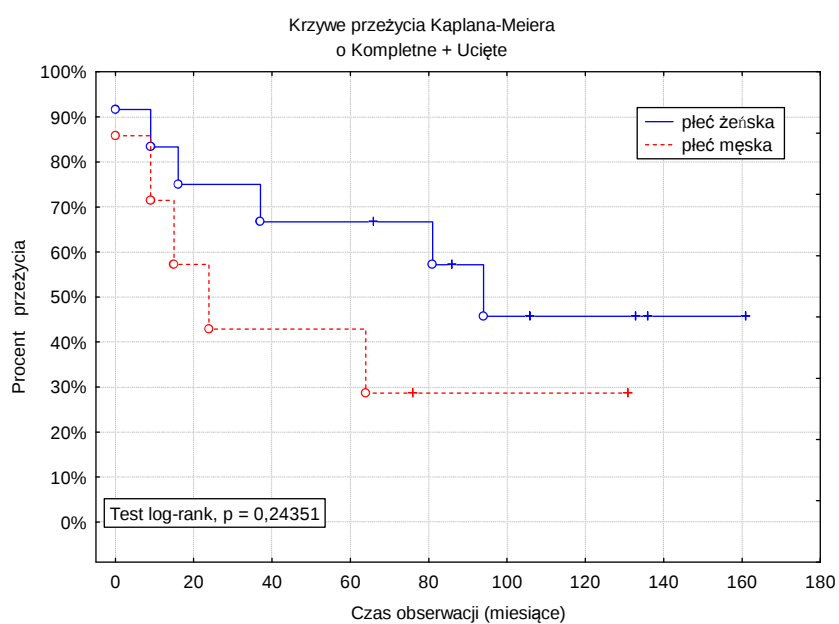
- „brak radioterapii” (n=8);
- „obecna radioterapia – dawka <60 Gy” (n=3);
- „obecna radioterapia – dawka ≥60 Gy” (n=8).

* Złośliwość histologiczna G1 według klasyfikacji FNCLCC dotyczyła tych samych przypadków (n=2), które miały „niski stopień” złośliwości histologicznej według klasyfikacji Hajdu. Z kolei mięsaki o „wysokim stopniu” złośliwości histologicznej według Hajdu (n=17) miały złośliwość G2 (n=10) lub G3 (n=7) według skali FNCLCC. Dlatego badając wpływ „złośliwości histologicznej według klasyfikacji FNCLCC” na długość remisji oraz na długość przeżycia, skupiono się na analizie kategorii „G2” i „G3”.

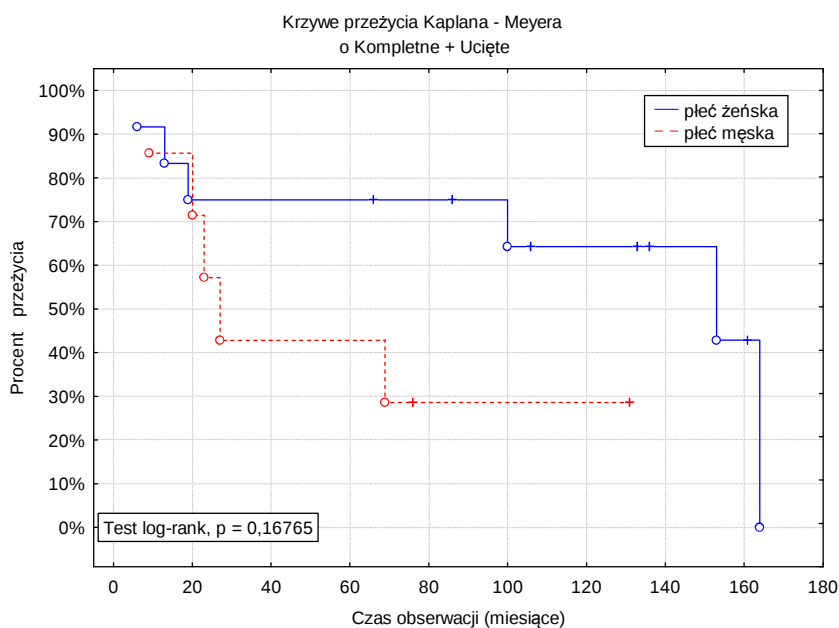
** Zbadano dwukrotnie wpływ radioterapii na długość remisji i czas przeżycia. W pierwszej analizie wygenerowano krzywe przeżycia Kaplana-Meiera i wykonano testy log-rank dla kategorii „brak radioterapii”, „obecna radioterapia”. Takie samo badanie wykonano dla kategorii „brak radioterapii”, „obecna radioterapia – dawka <60 Gy”, „obecna radioterapia – dawka ≥60 Gy”.

Wyniki analizy jednocechowej badającej wpływ zmiennych niezależnych na RFS, DSS i OS (krzywe przeżycia Kaplana-Meiera i wyniki testów log-rank) były następujące:

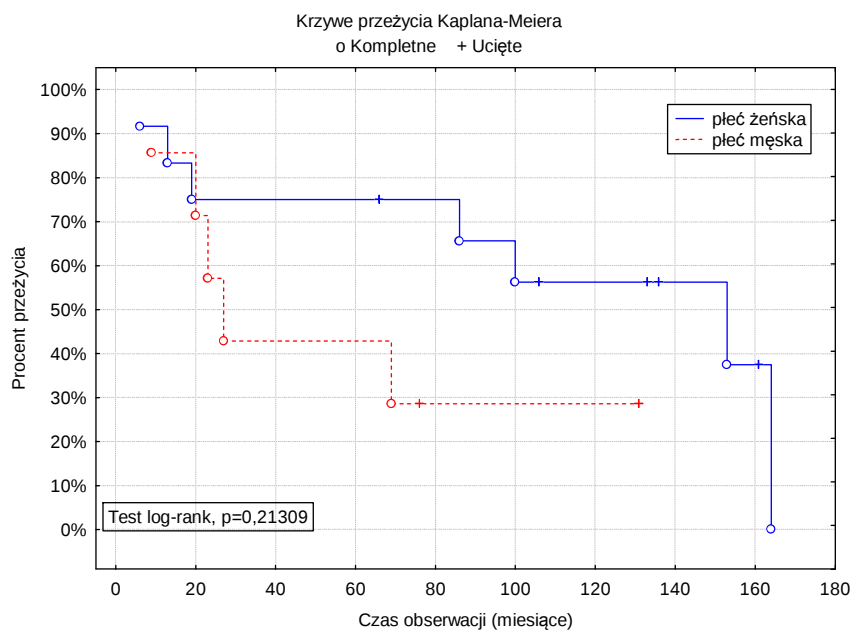
1. Zmienna „płeć” (rycina 5, 6, 7).



Rycina 5. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według płci.



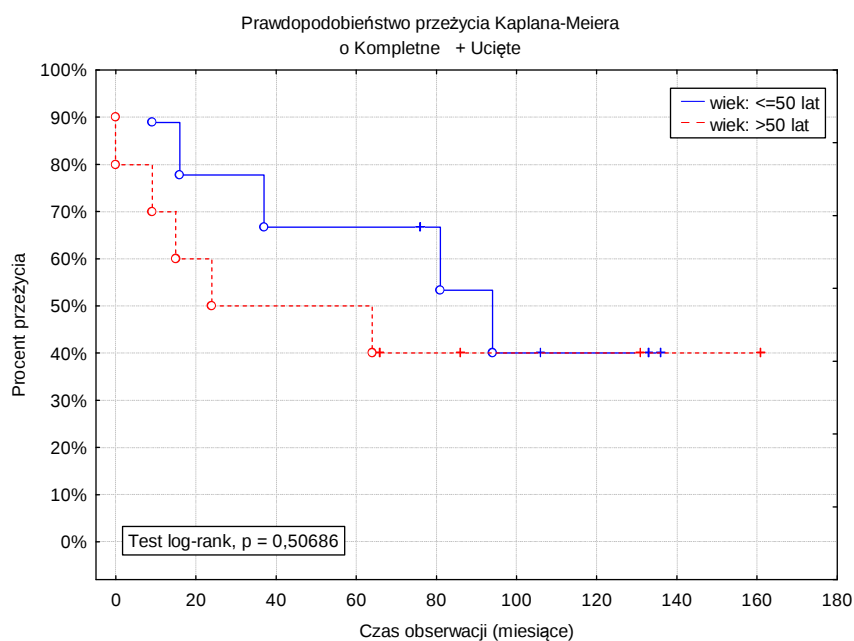
Rycina 6. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według płci.



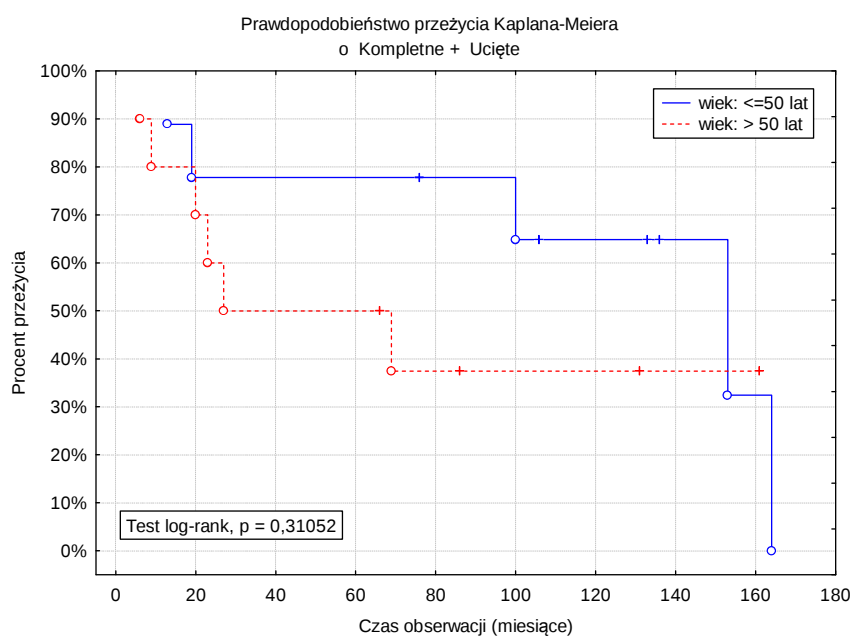
Rycina 7. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według płci.

W analizowanej grupie chorych nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy funkcjami przeżycia ze względu na płeć dla następujących punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,24351$), DSS (test log-rank, $p=0,16765$), OS (test log-rank, $p=0,21309$). Mediana remisji miała wartość 83,5 miesięcy u chorych płci żeńskiej oraz 24 miesiące u chorych płci męskiej. Dla kategorii „płeć żeńska” oraz „płeć męska” najkrótsze okresy remisji trwały 0 miesięcy (dla każdej kategorii), natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 161 miesięcy i 131 miesięcy. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” i „przeżycia całkowitego” miała wartość 103 miesięcy dla chorych płci żeńskiej oraz 27 miesięcy dla chorych płci męskiej. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) u chorych płci żeńskiej trwało 6 miesięcy, a u chorych płci męskiej 9 miesięcy. Z kolei najdłuższe przeżycie (DSS, OS) u chorych płci żeńskiej trwało 164 miesiące oraz u chorych płci męskiej 131 miesięcy.

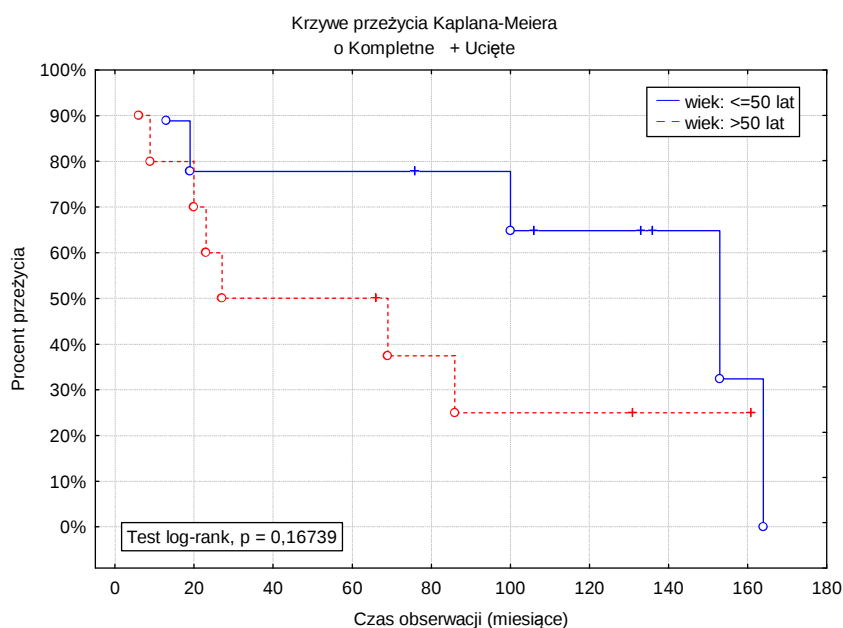
2. Zmienna „wiek” (rycina 8, 9, 10).



Rycina 8. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według wieku.



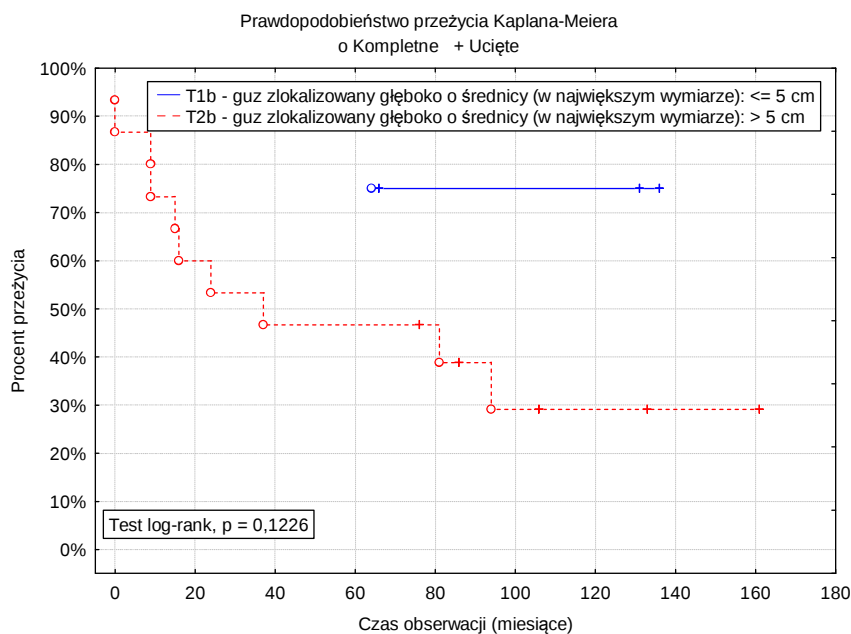
Rycina 9. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według wieku.



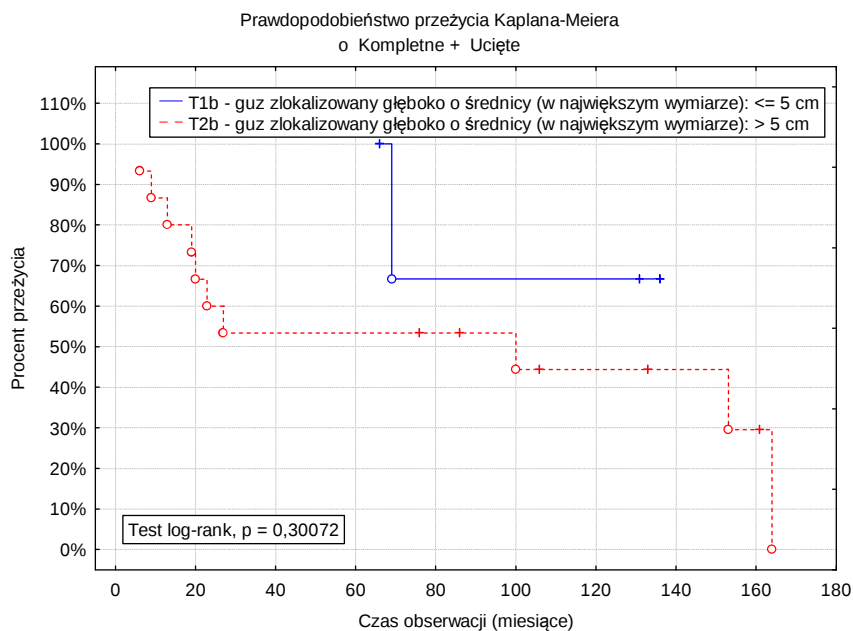
Rycina 10. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według wieku.

Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy krzywymi przeżycia ze względu na wiek (kategorie: „wiek ≤ 50 lat”, „wiek > 50 lat”) dla punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,50686$), DSS (test log-rank, $p=0,31052$), OS (test log-rank, $p=0,16739$). Mediana remisji miała wartość 81 miesięcy u chorych w wieku ≤ 50 lat oraz 44 miesiące u chorych w wieku > 50 lat. Dla kategorii „wiek ≤ 50 lat” oraz „wiek > 50 lat” najkrótsze okresy remisji trwały odpowiednio 9 miesięcy i 0 miesięcy, natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 136 miesięcy i 161 miesięcy. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” oraz „przeżycia całkowitego” miała wartość 106 miesięcy dla chorych w wieku ≤ 50 lat i 46,5 miesięcy dla chorych w wieku > 50 lat. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) u chorych w wieku ≤ 50 lat trwało 13 miesięcy, a u chorych w wieku > 50 lat 6 miesięcy. Z kolei najdłuższe przeżycie (DSS, OS) u chorych w wieku ≤ 50 lat trwało 164 miesiące oraz u chorych w wieku > 50 lat 161 miesięcy.

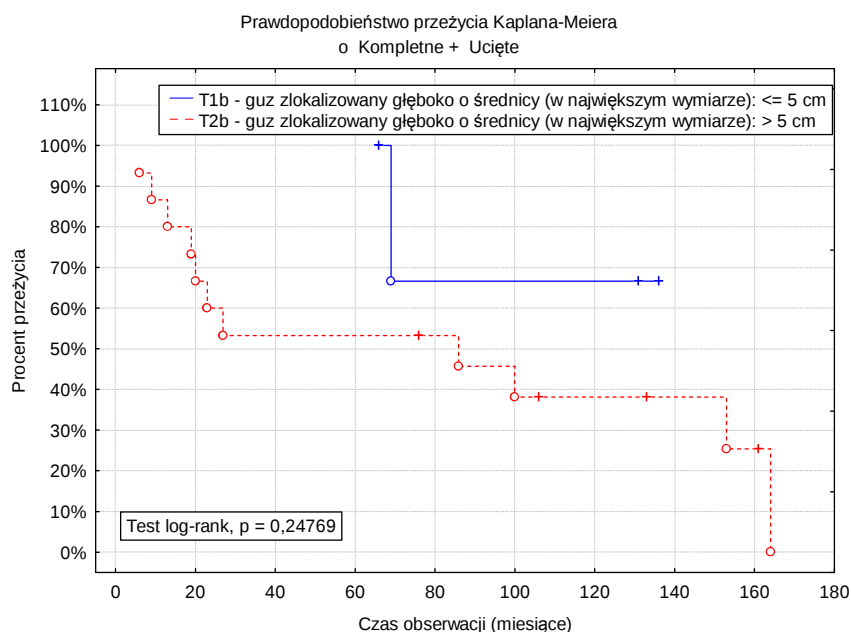
3. Zmienna „średnica guza” (rycina 11, 12, 13).



Rycina 11. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według wielkości guza.



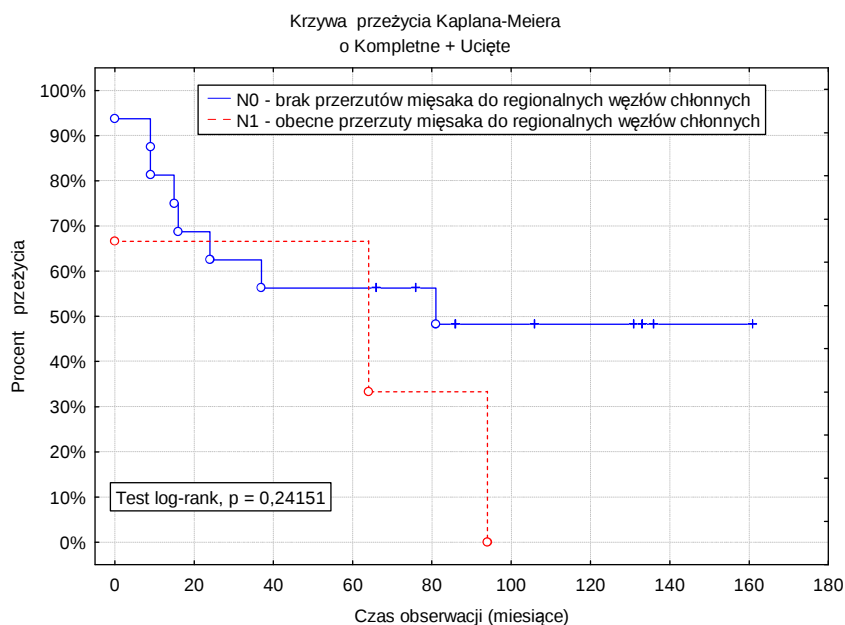
Rycina 12. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według wielkości guza.



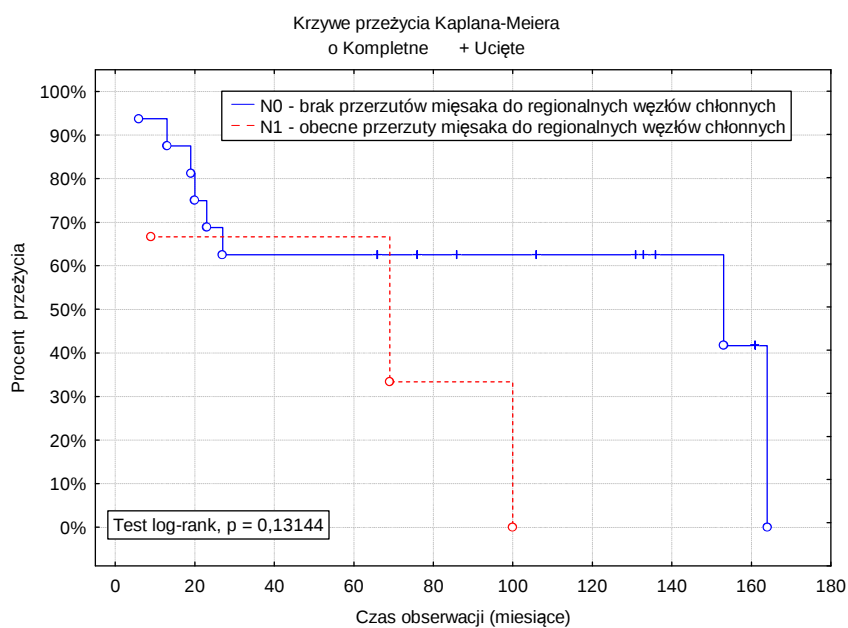
Rycina 13. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według wielkości guza.

Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy funkcjami przeżycia ze względu na średnicę zlokalizowanych głęboko guzów (kategorie: „guz o średnicy ≤ 5 cm”, „guz o średnicy > 5 cm”) dla punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p = 0,1226$), DSS (test log-rank, $p = 0,30072$), OS (test log-rank, $p = 0,24769$). Mediana remisji miała wartość 98,5 miesięcy u chorych z mięsakiem o średnicy ≤ 5 cm oraz 37 miesięcy u chorych, których mięsak miał średnicę > 5 cm. Dla kategorii „średnica guza ≤ 5 cm” oraz „średnica guza > 5 cm” najkrótsze okresy remisji trwały odpowiednio 64 miesiące i 0 miesięcy, natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 136 miesięcy i 161 miesięcy. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” i „przeżycia całkowitego” miała wartość 100 miesięcy dla chorych z guzem o średnicy ≤ 5 cm oraz 76 miesięcy dla chorych, u których mięsak miał średnicę > 5 cm. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) u chorych z guzem o średnicy ≤ 5 cm trwało 66 miesięcy, a u chorych z guzem o średnicy > 5 cm 6 miesięcy. Z kolei najdłuższe przeżycie (DSS, OS) u chorych z mięsakiem o średnicy ≤ 5 cm trwało 136 miesięcy oraz u chorych z mięsakiem o średnicy > 5 cm 164 miesiące.

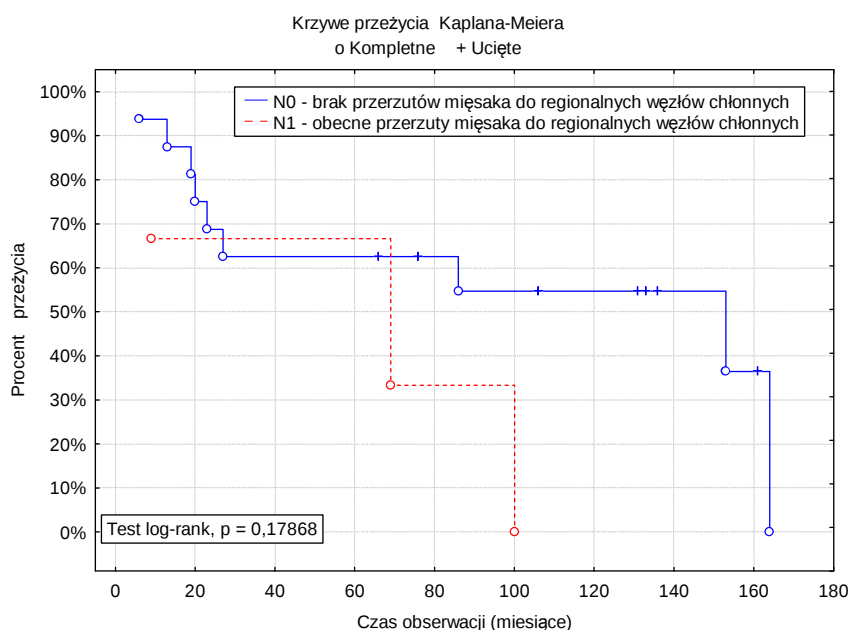
4. Zmienna „przerzuty mięsaka do regionalnych węzłów chłonnych” (rycina 14, 15, 16).



Rycina 14. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według zmiennej - przerzuty mięsaka do regionalnych węzłów chłonnych.



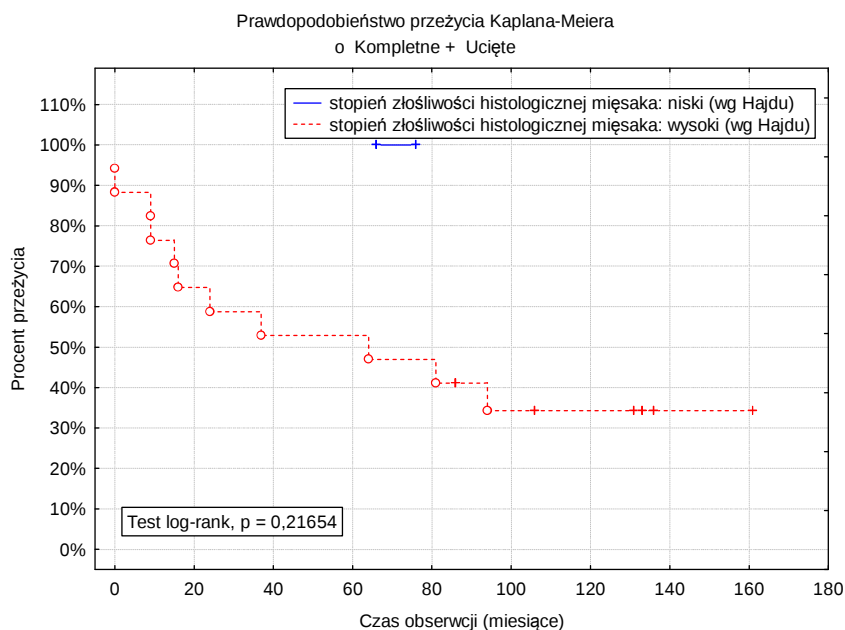
Rycina 15. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według zmiennej - przerzuty mięsaka do regionalnych węzłów chłonnych.



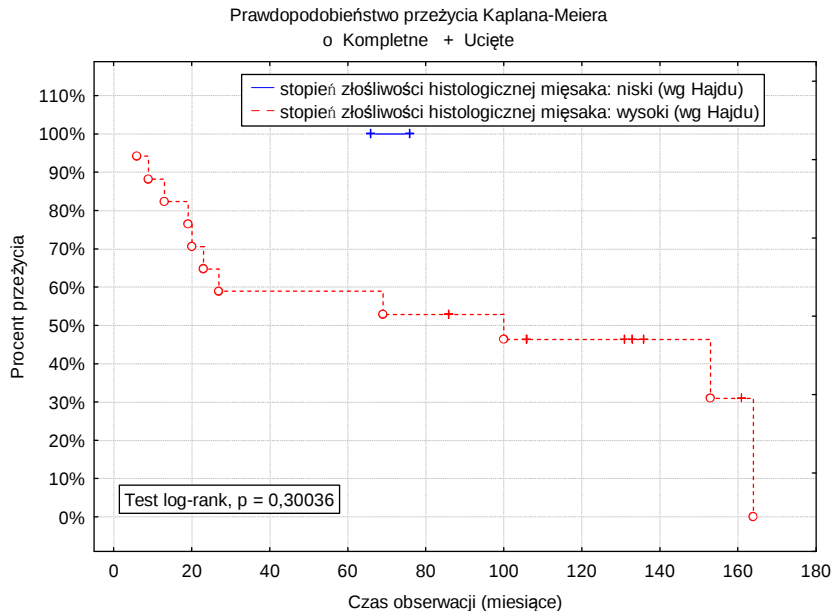
Rycina 16. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według zmiennej - przerzuty mięsaka do regionalnych węzłów chłonnych.

Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy krzywymi przeżycia ze względu na przerzuty mięsaka do regionalnych węzłów chłonnych (kategorie: „N0 - brak przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych”, „N1 - obecność przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych”) dla następujących punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,24151$), DSS (test log-rank, $p=0,13144$), OS (test log-rank, $p=0,17868$). Mediana remisji miała wartość 71 miesięcy u chorych charakteryzujących się brakiem przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych oraz miała wartość 64 miesięcy u chorych, u których były obecne przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych. Dla kategorii „N0” oraz „N1” najkrótsze okresy remisji trwały 0 miesięcy (dla każdej kategorii), natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 161 i 94 miesiące. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” i „przeżycia całkowitego” miała wartość 81 miesięcy dla chorych nie mających przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych oraz 69 miesięcy dla chorych mających przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) u chorych cechujących się kategorią „N0” trwało 6 miesięcy, a u chorych reprezentujących kategorię „N1” 9 miesięcy. Z kolei najdłuższe przeżycie (DSS, OS) u chorych nie mających przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych trwało 164 miesiące oraz u chorych mających przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych 100 miesięcy.

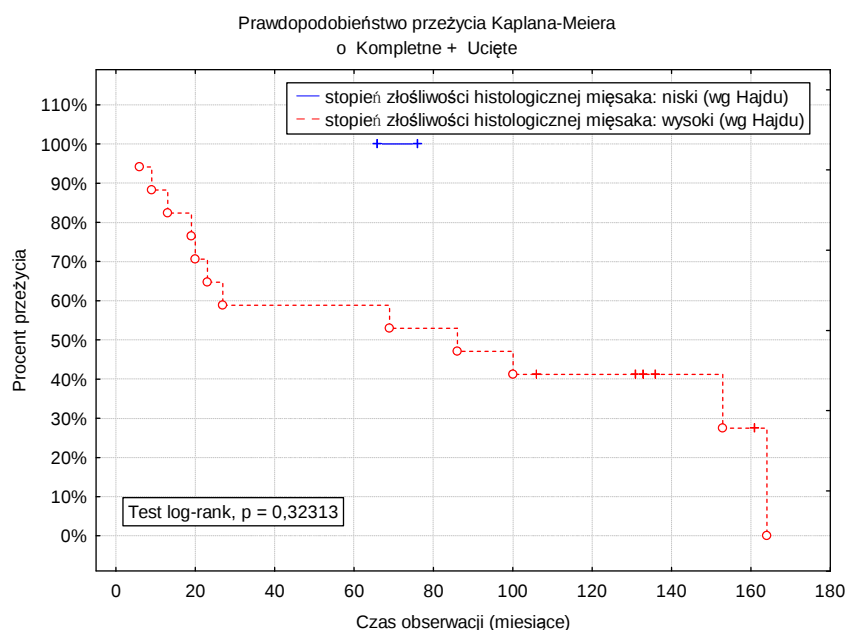
5. Zmienna „złośliwość histologiczna wg skali Hajdu” (rycina 17, 18, 19).



Rycina 17. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według złośliwości histologicznej mięsaków (klasyfikacja Hajdu).



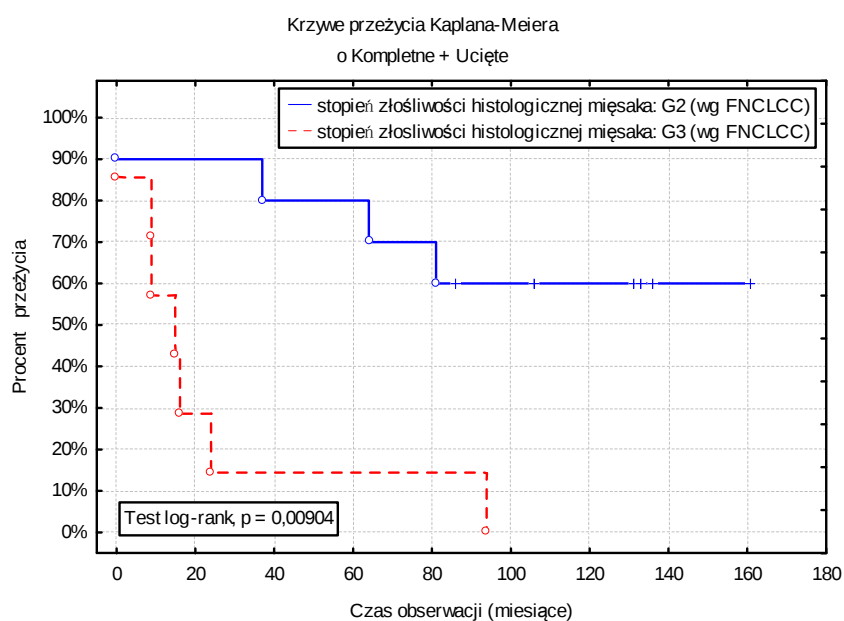
Rycina 18. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według złośliwości histologicznej mięsaków (klasyfikacja Hajdu).



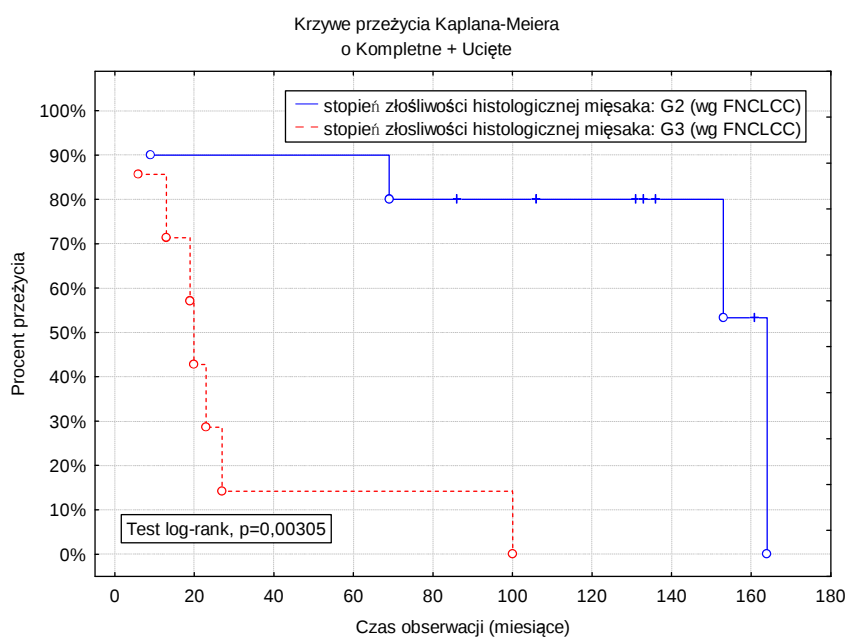
Rycina 19. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według złośliwości histologicznej mięsaków (klasyfikacja Hajdu).

Do czasu zakończenia obserwacji, u chorych na mięsaka o „niskim stopniu” złośliwości histologicznej wg klasyfikacji Hajdu ($n=2$), nie doszło do nawrotu choroby (długość remisji: 66 i 76 miesięcy) oraz nie doszło do zgonu (długość przeżycia: 66 i 76 miesięcy). Mała liczebność guzów, które miały „niski stopień” złośliwości histologicznej nie pozwoliła jednak na stwierdzenie istotnej różnicy ze względu na „stopień złośliwości histologicznej wg klasyfikacji Hajdu” dla punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,21654$), DSS (test log-rank, $p=0,30036$), OS (test log-rank, $p=0,32313$). Mediana długości remisji dla chorych na mięsaka mającego „wysoki stopień” złośliwości histologicznej wg klasyfikacji Hajdu miała wartość 64 miesięcy. Najkrótsza remisja miała tu wartość 0 miesięcy, natomiast najdłuższa 161 miesięcy. Mediana przeżycia swoistego dla choroby i przeżycia całkowitego miała wartość 86 miesięcy dla chorych z mięsakiem o „wysokim stopniu” złośliwości histologicznej wg klasyfikacji Hajdu. U tych samych chorych najkrótsze przeżycie (DSS, OS) trwało 6 miesięcy, a najdłuższe 164 miesiące.

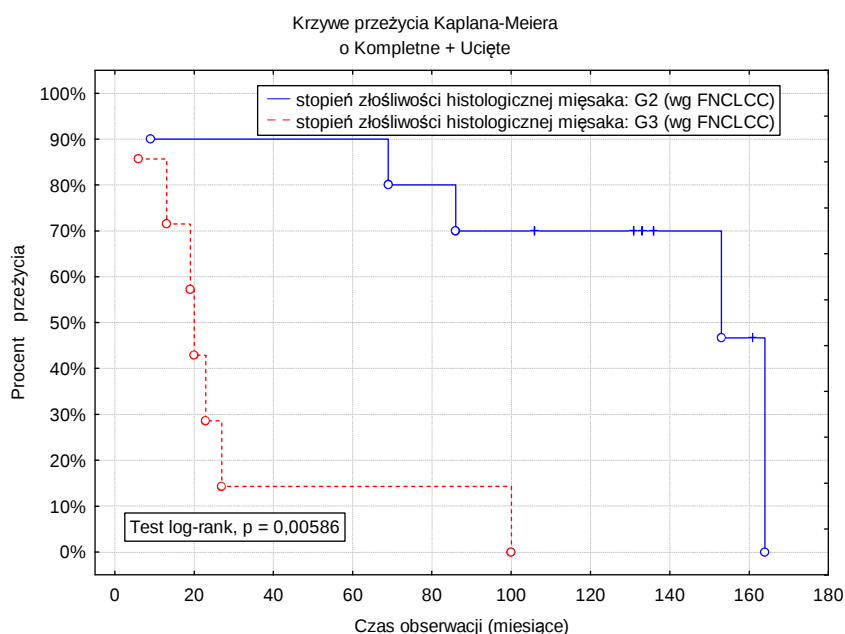
6. Zmienna „złośliwość histologiczna wg skali FNCLCC” (rycina 20, 21, 22).



Rycina 20. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według złośliwości histologicznej mięsaków (stopień G2 i G3 klasyfikacji FNCLCC).



Rycina 21. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według złośliwości histologicznej mięsaków (stopień G2 i G3 klasyfikacji FNCLCC).

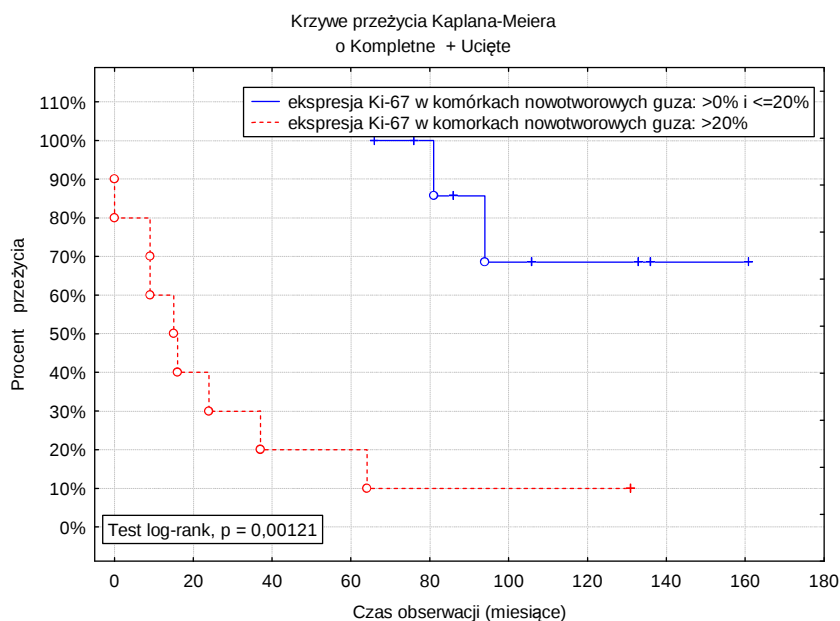


Rycina 22. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według złośliwości histologicznej mięsaków (stopień G2 i G3 klasyfikacji FNCLCC).

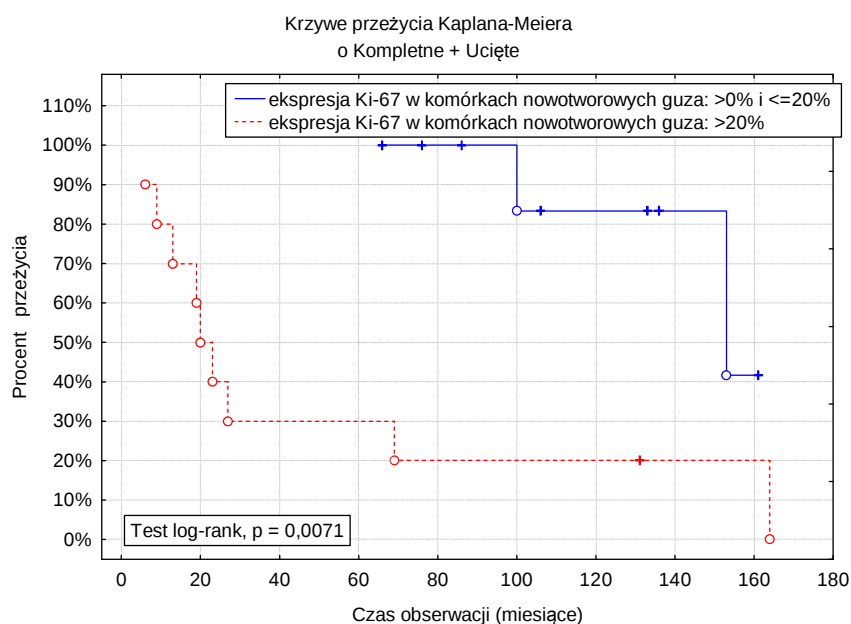
Stwierdzono istotną różnicę pomiędzy funkcjami przeżycia ze względu na stopień złośliwości histologicznej wg klasyfikacji FNCLCC (kategorie: „G2”, „G3”) dla punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,00904$), DSS (test log-rank, $p=0,00305$), OS (test log-rank, $p=0,00586$). Mediana remisji miała wartość 96 miesięcy u chorych z mięsakiem o złośliwości histologicznej G2 oraz 15 miesięcy u chorych z mięsakiem o złośliwości histologicznej G3. Dla kategorii G2 oraz G3 najkrótsze okresy remisji trwały 0 miesięcy (dla każdej kategorii), natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 161 i 94 miesiące. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” i „przeżycia całkowitego” miała wartość 132 miesięcy dla chorych z mięsakiem o złośliwości histologicznej G2 oraz 20 miesięcy dla chorych z mięsakiem o złośliwości histologicznej G3. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) u chorych z mięsakiem mającym złośliwość histologiczną G2 trwało 9 miesięcy, a u chorych z mięsakiem o złośliwości histologicznej G3 trwało 6 miesięcy. Z kolei najdłuższe przeżycie (DSS, OS) wyniosło 164 miesiące dla chorych z mięsakiem o złośliwości histologicznej G2 i 100 miesięcy dla chorych z mięsakiem o złośliwości histologicznej G3.

U 100% chorych z mięsakiem o złośliwości histologicznej G3 ($n=7$) doszło do nawrotu choroby i do zgonu, przy czym aż u 85,71% z nich nawrót choroby i zgon nastąpiły w okresie ok. 2 lat po leczeniu. Do czasu zakończenia obserwacji stwierdzono zgon związany z chorobą nowotworową (DSS) u 40% chorych mających mięsaka o złośliwości histologicznej G2 ($n=10$).

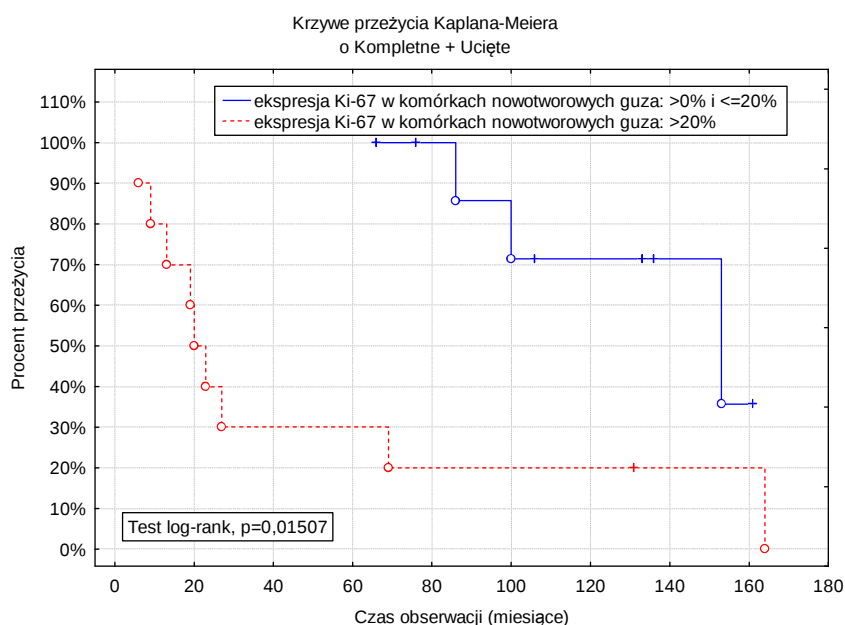
7. Zmienna „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza” (rycina 23, 24, 25).



Rycina 23. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według ekspresji Ki-67 w komórkach nowotworowych guza.



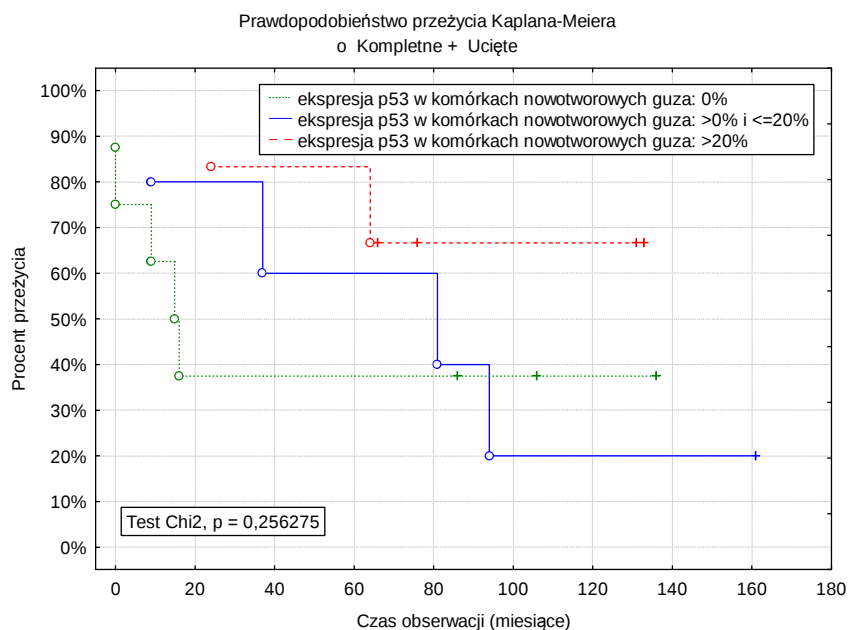
Rycina 24. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według ekspresji Ki-67 w komórkach nowotworowych guza.



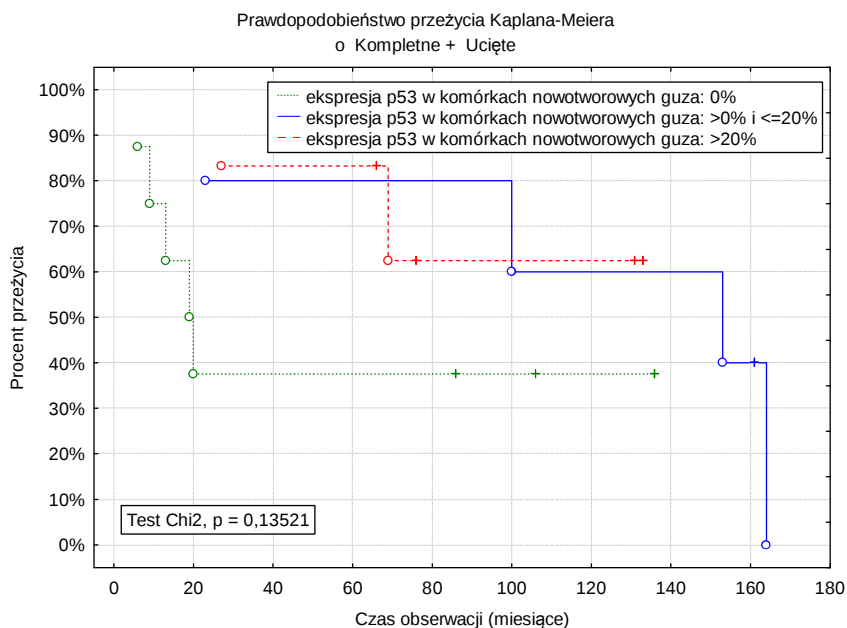
Rycina 25. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według ekspresji Ki-67 w komórkach nowotworowych guza.

Stwierdzono istotną różnicę pomiędzy funkcjami przeżycia ze względu na ekspresję Ki-67, dla punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,00121$), DSS (test log-rank, $p=0,0071$), OS (test log-rank, $p=0,01507$). Mediana remisji miała wartość 94 miesiące u chorych z mięsakiem cechującym się ekspresją Ki-67 w „ $>0\%$ i $\leq 20\%$ komórek nowotworowych” oraz 15,5 miesiące u chorych z mięsakiem, który miał ekspresję Ki-67 w „ $>20\%$ komórek nowotworowych”. Dla kategorii „Ki-67 w $>0\%$ i $\leq 20\%$ komórek nowotworowych” oraz „Ki-67 w $>20\%$ komórek nowotworowych” najkrótsze okresy remisji trwały odpowiednio 66 miesięcy i 0 miesięcy, natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 161 i 131 miesięcy. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” i „przeżycia całkowitego” miała wartość 106 miesięcy dla chorych z mięsakiem cechującym się ekspresją Ki-67 w „ $>0\%$ i $\leq 20\%$ komórek nowotworowych” oraz 21,5 miesięcy u chorych z mięsakiem mającym ekspresję Ki-67 w „ $>20\%$ komórek nowotworowych”. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) u chorych z mięsakiem charakteryzującym się ekspresją Ki-67 w „ $>0\%$ i $\leq 20\%$ komórek nowotworowych” trwało 66 miesięcy, natomiast u chorych z mięsakiem mającym ekspresję Ki-67 w „ $>20\%$ komórek nowotworowych” trwało 6 miesięcy. Najdłuższe przeżycie (DSS, OS) dla tych samych kategorii miało długość odpowiednio 161 i 164 miesięcy. Spośród przypadków, w których Ki-67 miało ekspresję w $>20\%$ komórek nowotworowych ($n=10$), tylko 1 chory (10%) przeżył z nieprzerwaną remisją choroby do czasu zakończenia obserwacji.

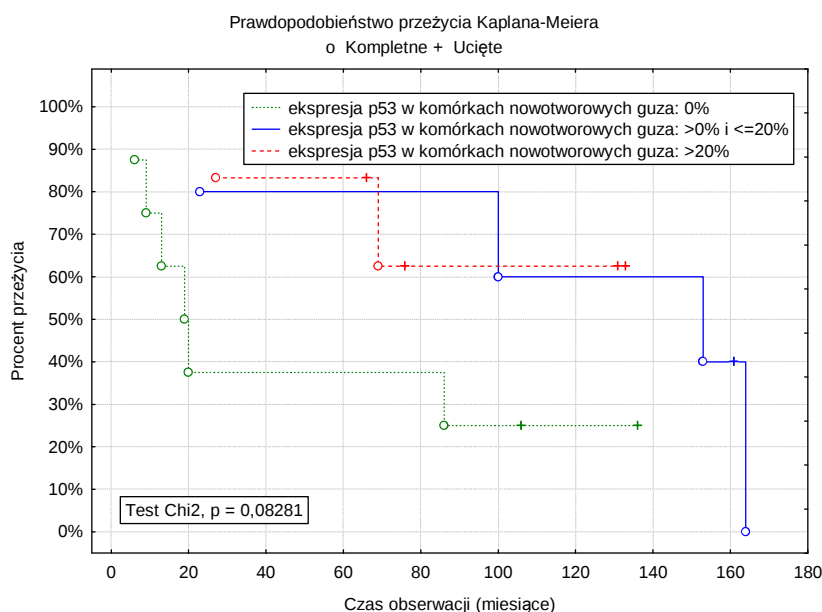
8. Zmienna „ekspresja p53 w komórkach nowotworowych guza” (rycina 26, 27, 28).



Rycina 26. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według ekspresji p53 w komórkach nowotworowych guza.



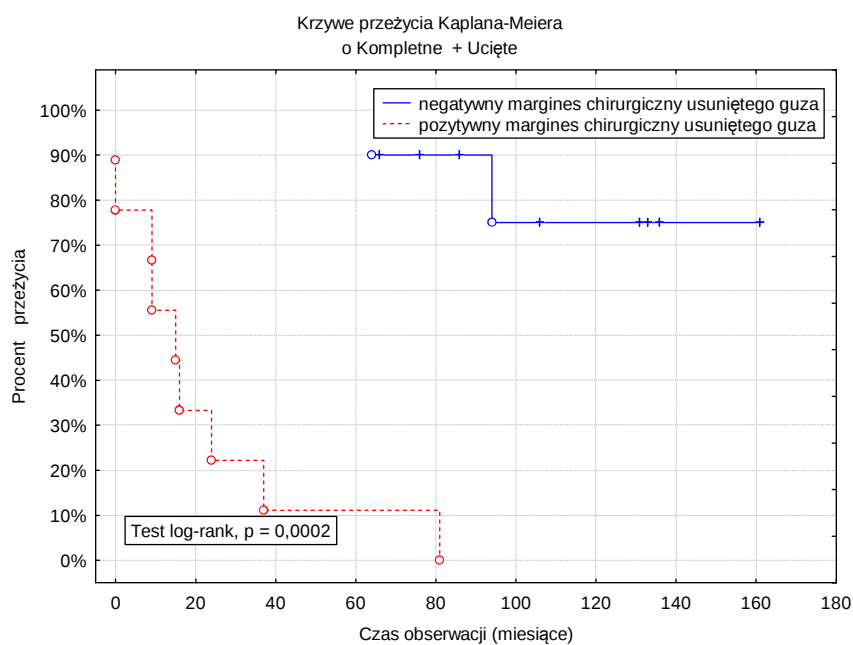
Rycina 27. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według ekspresji p53 w komórkach nowotworowych guza.



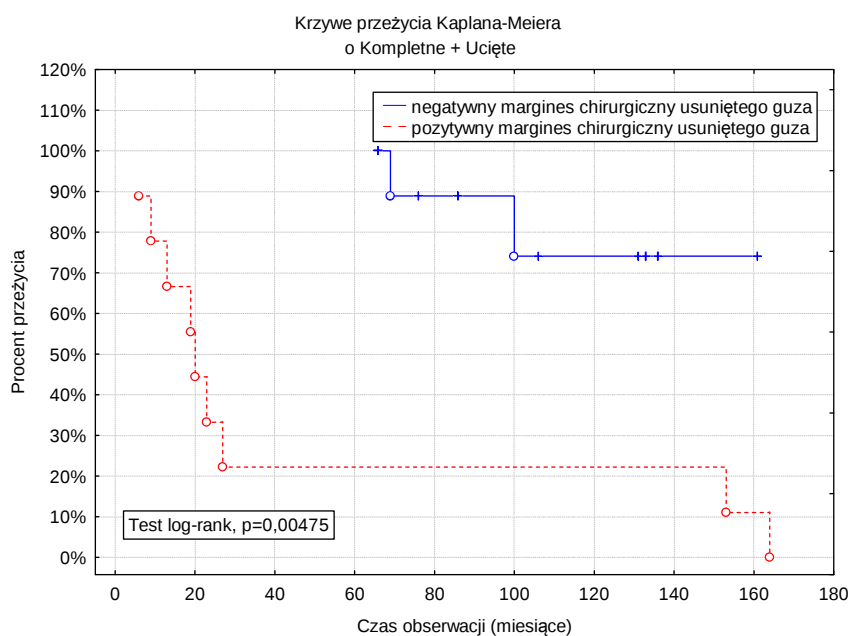
Rycina 28. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według ekspresji p53 w komórkach nowotworowych guza.

Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy krzywymi przeżycia ze względu na ekspresję p53 w mięsaku, dla punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,256275$), DSS (test log-rank, $p=0,13521$), OS (test log-rank, $p=0,08281$). Mediana remisji miała wartość 15,5 miesięcy u chorych z mięsakiem o ekspresji p53 w „0% komórek nowotworowych”, 81 miesięcy u chorych z mięsakiem o ekspresji p53 w „>0% i ≤20% komórek nowotworowych” i 71 miesięcy u chorych z mięsakiem mającym ekspresję p53 w „>20% komórek nowotworowych”. Dla kategorii „p53 w 0% komórek nowotworowych”, „p53 w >0% i ≤20% komórek nowotworowych” oraz „p53 w >20% komórek nowotworowych” najkrótsze okresy remisji trwały odpowiednio 0 miesięcy, 9 miesięcy i 24 miesiące, natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 136, 161 oraz 133 miesiące. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” i „przeżycia całkowitego” miała wartość 19,5 miesięcy dla chorych z mięsakiem o ekspresji p53 w „0% komórek nowotworowych”, 153 miesiące dla chorych z mięsakiem o ekspresji p53 w „>0% i ≤20% komórek nowotworowych” oraz 72,5 miesiące u chorych z mięsakiem mającym ekspresję p53 w „>20% komórek nowotworowych”. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) u chorych z mięsakiem mającym ekspresję p53 w „0% komórek nowotworowych” trwało 6 miesięcy, u chorych z mięsakiem mającym ekspresję p53 w „>0% i ≤20% komórek nowotworowych” trwało 23 miesiące oraz u chorych z mięsakiem mającym ekspresję p53 w „>20% komórek nowotworowych” 27 miesięcy. Najdłuższe przeżycie (DSS, OS) dla tych samych kategorii miało długość odpowiednio 136, 164 i 133 miesiące.

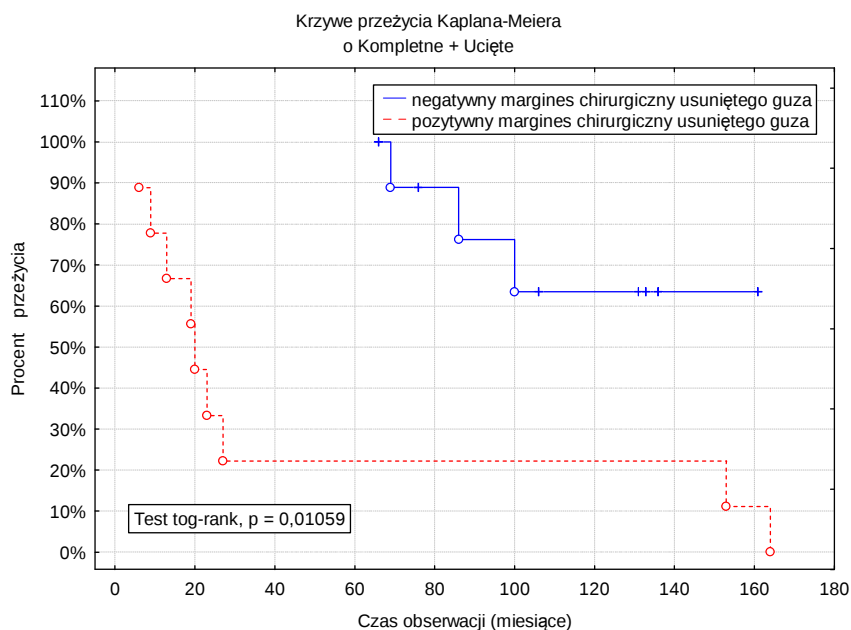
9. Zmienna „margines chirurgiczny” (rycina 29, 30, 31).



Rycina 29. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według marginesu chirurgicznego usuniętego guza.



Rycina 30. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według marginesu chirurgicznego usuniętego guza.

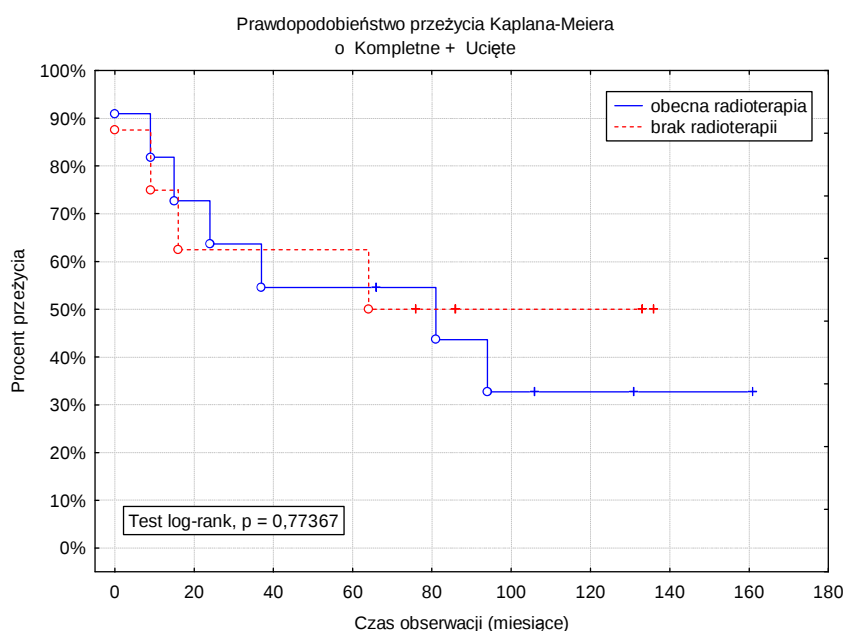


Rycina 31. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według marginesu chirurgicznego usuniętego guza.

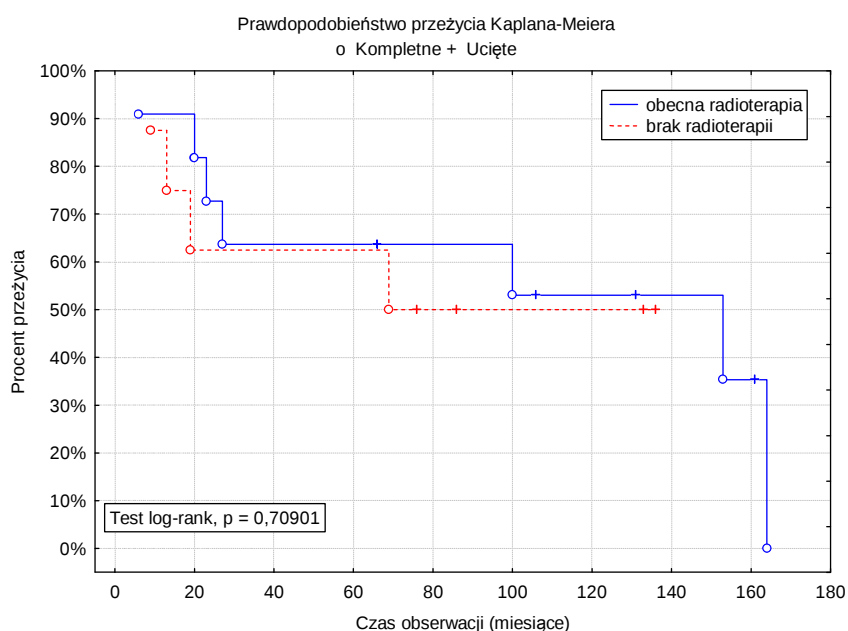
Stwierdzono istotną różnicę pomiędzy funkcjami przeżycia ze względu na margines usuniętego guza (kategorie: „negatywny margines chirurgiczny”, „pozytywny margines chirurgiczny”) dla punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,0002$), DSS (test log-rank, $p=0,00475$), OS (test log-rank, $p=0,01059$). Mediana remisji miała wartość 100 miesięcy u chorych cechujących się negatywnym marginesem usuniętego guza oraz 15 miesięcy u chorych cechujących się pozytywnym marginesem usuniętego guza. Dla kategorii „negatywny margines chirurgiczny” oraz „pozytywny margines chirurgiczny” najkrótsze okresy remisji trwały odpowiednio 64 miesiące i 0 miesięcy, natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 161 oraz 81 miesięcy. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” oraz „przeżycia całkowitego” miała wartość 103 miesięcy w przypadkach cechujących się „negatywnym marginesem” usuniętego guza oraz 20 miesięcy w przypadkach charakteryzujących się „pozytywnym marginesem” usuniętego guza. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) w grupie chorych, u których usunięto mięsaka z „negatywnym marginesem” trwało 66 miesięcy, a u chorych, którzy mieli usuniętego mięsaka z „pozytywnym marginesem” 6 miesięcy. Z kolei najdłuższe przeżycie (DSS, OS) dla tych samych kategorii miało długość odpowiednio 161 i 164 miesiące. U 80% chorych, u których usunięto guz z „negatywnym marginesem” ($n=10$), nie doszło do nawrotu choroby ani do zgonu związanego z mięsakiem.

10. Zmienna „radioterapia”:

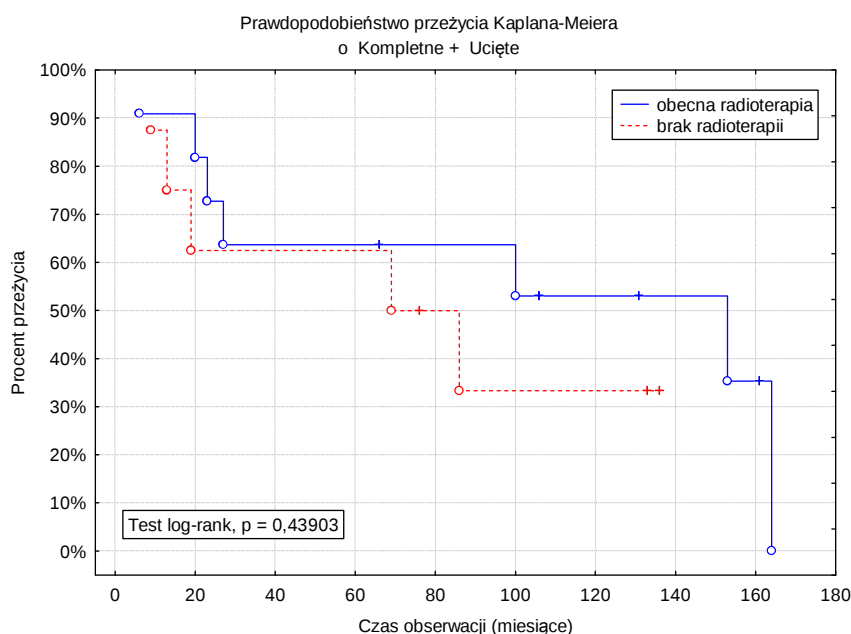
- a. Dwie kategorie zmiennej niezależnej „radioterapia” („brak radioterapii”, obecna radioterapia”) (rycina 32, 33, 34).



Rycina 32. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według 2 kategorii zmiennej „radioterapia” („brak radioterapii”, „obecna radioterapia”).



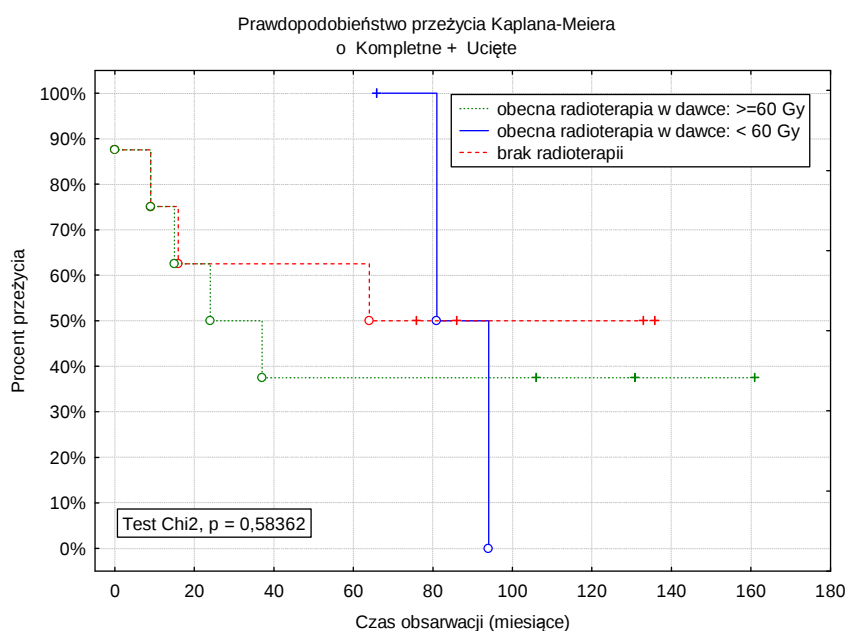
Rycina 33. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według 2 kategorii zmiennej „radioterapia” („brak radioterapii”, „obecna radioterapia”).



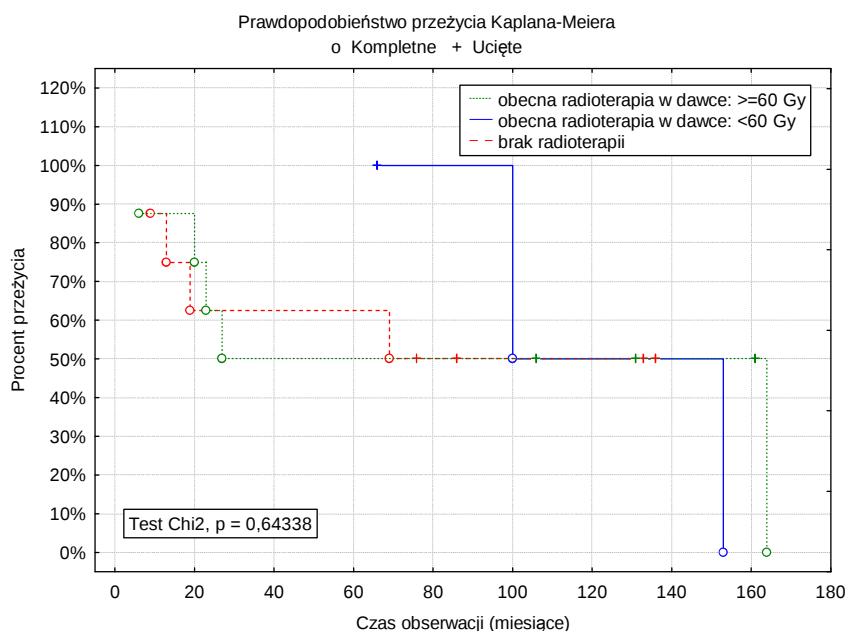
Rycina 34. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według 2 kategorii zmiennej „radioterapia” („brak radioterapii”, „obecna radioterapia”).

Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy krzywymi przeżycia ze względu na radioterapię uzupełniającą leczenie chirurgiczne (kategorie: „brak radioterapii”, „obecna radioterapia”) dla punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,77367$), DSS (test log-rank, $p=0,70901$), OS (test log-rank, $p=0,43903$). Mediana remisji miała wartość 70 miesięcy u chorych nie leczonych uzupełniającą radioterapią oraz 66 miesięcy u chorych poddanych uzupełniającej radioterapii. Dla kategorii „brak radioterapii” oraz „obecna radioterapia” najkrótsze okresy remisji trwały 0 miesięcy (dla każdej kategorii), natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 136 i 161 miesięcy. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” i „przeżycia całkowitego” miała wartość 72,5 miesiące dla chorych nie leczonych uzupełniającą radioterapią oraz 100 miesięcy u chorych, którzy zostali poddani uzupełniającej radioterapii. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) u chorych nie leczonych uzupełniającą radioterapią trwało 9 miesięcy, z kolei u chorych leczonych uzupełniającą radioterapią trwało 6 miesięcy. Najdłuższe przeżycie (DSS, OS) w grupie chorych nie leczonych i leczonych uzupełniającą radioterapią trwało odpowiednio 136 i 164 miesiące.

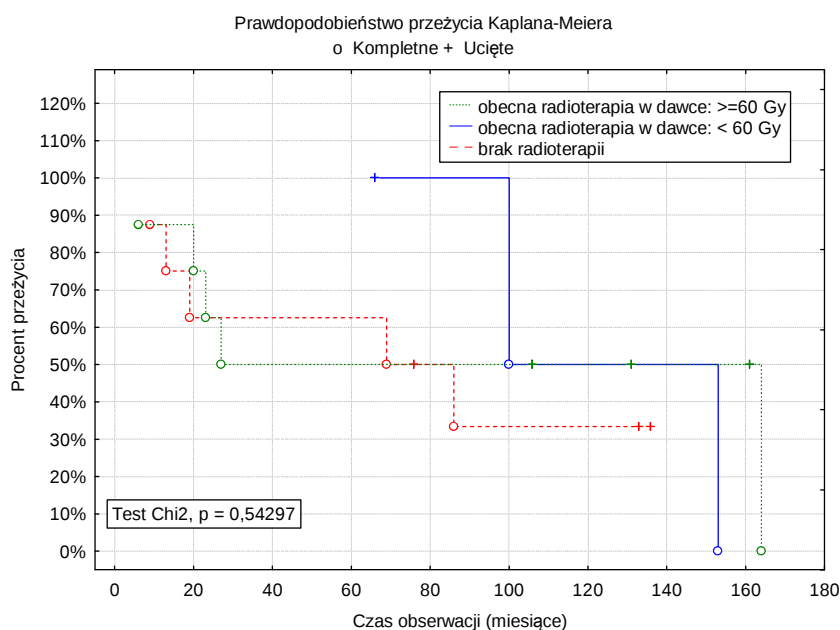
- b. Trzy kategorie zmiennej niezależnej „radioterapia” („brak radioterapii”, „obecna radioterapia w dawce < 60 Gy”, „obecna radioterapia w dawce ≥ 60 Gy”) (rycina 35, 36, 37).



Rycina 35. Porównanie krzywych „przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS)” według 3 kategorii zmiennej „radioterapia” („brak radioterapii”, „obecna radioterapia w dawce < 60 Gy”, „obecna radioterapii w dawce ≥ 60 Gy”).



Rycina 36. Porównanie krzywych „przeżycia swoistego dla choroby (DSS)” według 3 kategorii zmiennej „radioterapia” („brak radioterapii”, „obecna radioterapia w dawce < 60 Gy”, „obecna radioterapii w dawce ≥ 60 Gy”).



Rycina 37. Porównanie krzywych „przeżycia całkowitego (OS)” według 3 kategorii zmiennej „radioterapia” („brak radioterapii”, „obecna radioterapia w dawce < 60 Gy”, „obecna radioterapii w dawce ≥ 60 Gy”).

Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy funkcjami przeżycia u chorych ze względu na radioterapię uzupełniającą leczenie chirurgiczne (kategorie: „brak radioterapii”, „obecna radioterapia w dawce < 60 Gy”, „obecna radioterapia w dawce ≥ 60 Gy”) dla punktów końcowych: RFS (test log-rank, $p=0,58362$), DSS (test log-rank, $p=0,64338$), OS (test log-rank, $p=0,54297$). Mediana remisji miała wartość 70 miesięcy u chorych nie leczonych uzupełniającą radioterapią, 81 miesięcy u chorych poddanych uzupełniającej radioterapii w dawce < 60 Gy oraz 30,5 miesięcy u chorych poddanych uzupełniającej radioterapii w dawce ≥ 60 Gy. Dla kategorii „brak radioterapii” „obecna radioterapia w dawce < 60 Gy” oraz „obecna radioterapia w dawce ≥ 60 Gy” najkrótsze okresy remisji trwały odpowiednio 0, 66 i 0 miesięcy, natomiast najdłuższe remisje trwały odpowiednio 136, 94 i 161 miesięcy. Mediana „przeżycia swoistego dla choroby” i „przeżycia całkowitego” miała wartość 72,5 miesięcy dla chorych nie leczonych uzupełniającą radioterapią, 100 miesięcy u chorych poddanych uzupełniającej radioterapii w dawce „ < 60 Gy” oraz 66,5 miesięcy u chorych poddanych uzupełniającej radioterapii w dawce „ ≥ 60 Gy”. Najkrótsze przeżycie (DSS, OS) u chorych nie leczonych uzupełniającą radioterapią trwało 9 miesięcy, u chorych leczonych uzupełniającą radioterapią w dawce „ < 60 Gy” trwało 66 miesięcy oraz u chorych leczonych uzupełniającą radioterapią w dawce „ ≥ 60 Gy” 6 miesięcy. Najdłuższe przeżycie (DSS, OS) wyniosło dla tych samych kategorii 136, 153 i 164 miesiące.

Estymacje funkcji przeżycia metodą Kaplana-Meiera i testy log-rank dla RFS, DSS, OS, wykazały istotną różnicę pomiędzy kategoriami następujących zmiennych:

1. Margines chirurgiczny usuniętego mięsaka (kategorie: „negatywny margines chirurgiczny”, „pozytywny margines chirurgiczny”).

Badane kategorie w przeanalizowanej grupie 19 przypadków miały dla RFS, DSS, OS istotność różnic na poziomie prawdopodobieństwa:

→ $p = 0,00020$ dla RFS,

→ $p = 0,00475$ dla DSS,

→ $p = 0,01059$ dla OS.

2. Złośliwość histologiczna mięsaka według klasyfikacji FNCLCC (kategorie: „G2”, „G3”). Badane kategorie w przeanalizowanej grupie 17 przypadków miały dla RFS, DSS, OS istotność różnic na poziomie prawdopodobieństwa:

→ $p = 0,00904$ dla RFS,

→ $p = 0,00305$ dla DSS,

→ $p = 0,00586$ dla OS.

3. Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza (kategorie: „ $>0\%$ i $\leq 20\%$ ”, „ $>20\%$ ”).

Badane kategorie w przeanalizowanej grupie 19 przypadków miały dla RFS, DSS, OS istotność różnic na poziomie prawdopodobieństwa:

→ $p = 0,00121$ dla RFS,

→ $p = 0,00710$ dla DSS,

→ $p = 0,01507$ dla OS.

Spośród trzech zmiennych niezależnych, wyselekcjonowanych w powyższej analizie, stopień złośliwości histologicznej i ekspresja Ki-67 są tymi dwoma, które w diagnostyce świetlno-mikroskopowej pozwalają na wstępną ocenę biologii nowotworu.

U chorych poddanych analizie jednocechowej ($n=19$), zbadano również zależność 2-letniego i 5-letniego RFS, DSS, OS od współwystępujących ze sobą różnych stopni złośliwości histologicznej (wg klasyfikacji Hajdu i wg klasyfikacji FNCLCC) oraz różnych stopni ekspresji Ki-67 (tabela 12).

Tabela 12. 2-letnie i 5-letnie RFS, DSS, OS 19 chorych, u których mięsaki cechowały się współwystępowaniem różnych stopni złośliwości histologicznej (wg Hajdu i wg FNCLCC) oraz różnie nasilonej ekspresji Ki-67.

Współwystępujące w danym przypadku „złośliwość histologiczna mięsaka wg Hajdu i wg FNCLCC” oraz „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza”	Liczba przypadków poddanych badaniu	Liczba przypadków cechujących się 2-letnim			Liczba przypadków cechujących się 5-letnim		
		RFS	DSS	OS	RFS	DSS	OS
„Niski stopień” + „Ki-67 = 0%”	0	-	-	-	-	-	-
„Niski stopień” + „Ki-67 >0% i ≤20%”	2	2	2	2	2	2	2
„Niski stopień” + „Ki-67 >20%”	0	-	-	-	-	-	-
„Wysoki stopień” + „Ki-67 = 0%”	0	-	-	-	-	-	-
„Wysoki stopień” + „Ki-67 >0% i ≤20%”	7	7	7	7	7	7	7
„Wysoki stopień” + „Ki-67 >20%”	10	3	4	4	3	3	3
„G1 wg FNCLCC” + „Ki-67 = 0%”	0	-	-	-	-	-	-
„G1 wg FNCLCC” + „Ki-67 >0% i ≤20%”	2	2	2	2	2	2	2
„G1 wg FNCLCC” + „Ki-67 >20%”	0	-	-	-	-	-	-
„G2 wg FNCLCC” + „Ki-67 = 0%”	0	-	-	-	-	-	-
„G2 wg FNCLCC” + „Ki-67 >0% i ≤20%”	6	6	6	6	6	6	6
„G2 wg FNCLCC” + „Ki-67 >20%”	4	3	3	3	3	3	3
„G3 wg FNCLCC” + „Ki-67 = 0%”	0	-	-	-	-	-	-
„G3 wg FNCLCC” + „Ki-67 >0% i ≤20%”	1	1	1	1	1	1	1
„G3 wg FNCLCC” + „Ki-67 >20%”	6	0	1	1	0	0	0

Ekspresja Ki-67 była obecna we wszystkich mięsakach. Z kolei ekspresję Ki-67 występującą w >20% komórek nowotworowych guza zaobserwowano wyłącznie w mięsakach o złośliwości histologicznej G2 i G3 - według klasyfikacji FNCLCC, oraz w odpowiadającym im mięsakach o „wysokim stopniu” złośliwości histologicznej - według klasyfikacji Hajdu.

Najgorsze wyniki leczenia zaobserwowano u chorych z mięsakiem o złośliwości histologicznej G3, przy jednoczesnej ekspresji Ki-67 w >20% komórek nowotworowych guza.

Na 7 mięsaków o złośliwości histologicznej G3, w 6 przypadkach występowały guzy mające ekspresję Ki-67 w >20% komórek nowotworowych. U chorych tych nie stwierdzono 5-letniej remisji oraz 5-letniego przeżycia, a przyczyną śmierci była choroba nowotworowa. Z kolei 2-letni okres pooperacyjnej obserwacji przeżył w powyżej grupie 1 chory, u którego jednak wystąpiła w tym czasie wznova.

Złośliwość histologiczna G3 z jednoczesną ekspresją Ki-67 w >0 % i ≤20% komórek nowotworowych guza wystąpiła tylko u jednego chorego. W 5-letniej obserwacji tego przypadku, stwierdzono nieprzerwaną remisję choroby nowotworowej.

W tych samych przypadkach zbadano zależność 2-letniego i 5-letniego RFS, DSS, OS od współwystępujących ze sobą różnych stopni złośliwości histologicznej (wg klasyfikacji Hajdu i wg klasyfikacji FNCLCC) oraz różnych stopni ekspresji p53 (tabela 13).

Tabela 13. 2-letnie i 5-letnie RFS, DSS, OS 19 chorych, u których mięsaki cechowały się współwystępowaniem różnych stopni złośliwości histologicznej (wg Hajdu i wg FNCLCC) oraz różnie nasilonej ekspresji p53.

Współwystępujące w danym przypadku „złośliwość histologiczna mięsaka wg Hajdu i wg FNCLCC” oraz „ekspresja p53 w komórkach nowotworowych guza”	Liczba przypadków poddanych badaniu	Liczba przypadków cechujących się 2-letnim			Liczba przypadków cechujących się 5-letnim		
		RFS	DSS	OS	RFS	DSS	OS
„Niski stopień” + „p53 = 0%”	0	-	-	-	-	-	-
„Niski stopień” + „p53 >0% i ≤20%”	0	-	-	-	-	-	-
„Niski stopień” + „p53 > 20%”	2	2	2	2	2	2	2
„Wysoki stopień” + „p53 = 0%”	8	3	3	3	3	3	3
„Wysoki stopień” + „p53 >0% i ≤20%”	5	4	4	4	3	4	4
„Wysoki stopień” + „p53 >20%”	4	3	4	4	3	3	3
„G1 wg FNCLCC” + „p53 = 0%”	0	-	-	-	-	-	-
„G1 wg FNCLCC” + „p53 >0% i ≤20%”	0	-	-	-	-	-	-
„G1 wg FNCLCC” + „p53 >20%”	2	2	2	2	2	2	2
„G2 wg FNCLCC” + „p53 = 0%”	4	3	3	3	3	3	3
„G2 wg FNCLCC” + „p53 >0% i ≤20%”	3	3	3	3	2	3	3
„G2 wg FNCLCC” + „p53 >20%”	3	3	3	3	3	3	3
„G3 wg FNCLCC” + „p53 = 0%”	4	0	0	0	0	0	0
„G3 wg FNCLCC” + „p53 ≤20%”	2	1	1	1	1	1	1
„G3 wg FNCLCC” + „p53 >20%”	1	0	1	1	0	0	0

Powyższa analiza nie wykazała zależności pomiędzy nasileniem ekspresji p53 w komórkach nowotworowych a stopniem złośliwości histologicznej mięsaków. Nie wykazała również wartości rokowniczej współwystępujących ze sobą różnych stopni złośliwości histologicznej i ekspresji p53, dla 2-letniej i 5-letniej remisji (RFS) oraz dla 2-letniego i 5-letniego przeżycia (DSS, OS).

Analiza zmiennych jakościowych za pomocą modelu proporcjonalnego hazardu Coxa

Za pomocą modelu proporcjonalnego hazardu Coxa (analiza wielocechowa) określono zależność RFS, DSS, OS od trzech zmiennych, które według przeprowadzonej wcześniej analizy jednocechowej były istotne rokowniczo. Do zmiennych tych należały: „margines chirurgiczny usuniętego guza” (kategorie: „margines negatywny”, „margines pozytywny”), „złośliwość histologiczna mięsaka według klasyfikacji FNCLCC” (kategorie: „G2”, „G3”), „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza” (kategorie: „>0% i ≤20%”, „>20%”). Spośród 19 przypadków poddanych analizie jednocechowej, do analizy wielocechowej włączono tylko te 17 przypadków, które charakteryzowały się złośliwością histologiczną mięsaka G2 lub G3 według klasyfikacji FNCLCC.

Model proporcjonalnego hazardu Coxa potwierdził istotną wartość rokowniczą 2 zmiennych niezależnych, a mianowicie: „marginesu chirurgicznego usuniętego guza” oraz „złośliwości histologicznej mięsaka według klasyfikacji FNCLCC”.

Dla przeżycia wolnego od nawrotu choroby, istotnym prognostycznie był „margines chirurgiczny” ($p = 0,016384$) (tabela 14, 15).

Tabela 14. Zależność RFS (przeżycie wolne od nawrotu choroby) od 3 zmiennych niezależnych („margines chirurgiczny usuniętego guza”, „złośliwość histologiczna mięsaka wg FNCLCC - kategorie: G2, G3”, „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza”) wg modelu proporcjonalnego hazardu Coxa.

Zmienne niezależne analizowane w 17 przypadkach	Wyniki zależności „przeżycia wolnego od nawrotu choroby” od zmiennych niezależnych					
	Beta	Błąd standardowy	Wartość t	Współczynnik ryzyka HR (wykładnik beta)	Statystyka Walda	Poziom istotności (p)
Margines chirurgiczny usuniętego guza (kategorie: „margines negatywny”, „margines pozytywny”)	3,601686	1,500472	2,400368	36,65999	5,761766	0,016384
Złośliwość histologiczna mięsaka wg klasyfikacji FNCLCC (kategorie: „G2”, „G3”)	1,840853	1,188603	1,548754	6,30191	2,398639	0,121451
Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza (kategorie: „>0% i ≤20%”, „>20%”)	2,566818	1,339071	1,916865	13,02432	3,674370	0,055264

Tabela 15. Współczynniki ryzyka nawrotu choroby (obserwacja RFS) oraz ich 95% przedziały ufności dla zmiennych niezależnych: „margines chirurgiczny usuniętego guza”, „złośliwość histologiczna mięsaka wg FNCLCC - kategorie: G2, G3”, „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza”.

Zmienne niezależne analizowane w 17 przypadkach	Współczynnik ryzyka HR	95% przedział ufności
Margines chirurgiczny usuniętego guza	36,65999	(1,9362654; 694,09658)
Złośliwość histologiczna mięsaka wg klasyfikacji FNCLCC (2 kategorie: „G2”, „G3”)	6,30191	(0,6133565; 64,748781)
Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza (2 kategorie: „>0% i ≤20%”, „>20%”)	13,02433	(0,9438754; 179,71947)

Powyższa analiza wykazała, iż obecność „pozytywnego marginesu chirurgicznego” zwiększyła 36,66–krotnie ryzyko nawrotu choroby w porównaniu z obecnością „negatywnego marginesu chirurgicznego” (współczynnik ryzyka HR – tabela 15).

Dla przeżycia związanego z chorobą nowotworową i dla przeżycia całkowitego istotną prognostycznie była „złośliwość histologiczna mięsaka według klasyfikacji FNCLCC” ($p = 0,023789$ dla DSS; $p = 0,019362$ dla OS) (tabela 16, 17, 18, 19).

Tabela 16. Zależność DSS (przeżycie swoiste dla choroby) od 3 zmiennych niezależnych („margines chirurgiczny usuniętego guza”, „złośliwość histologiczna mięsaka wg FNCLCC - kategorie: G2, G3”, „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza”) wg modelu proporcjonalnego hazardu Coxa.

Zmienne niezależne analizowane w 17 przypadkach	Wyniki zależności „przeżycia swoistego dla choroby” od zmiennych niezależnych					
	Beta	Błąd standardowy	Wartość t	Współczynnik ryzyka HR (wykładnik beta)	Statystyka Walda	Poziom istotności (p)
Margines chirurgiczny usuniętego guza (kategorie: „margines negatywny”, „margines pozytywny)	0,928719	1,205452	0,770432	2,531265	0,593566	0,441049
Złośliwość histologiczna mięsaka wg klasyfikacji FNCLCC (kategorie: „G2”, „G3”)	2,247569	0,994224	2,260627	9,464701	5,110433	0,023789
Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza (kategorie: „>0% i ≤20%”, „>20%”)	1,083926	1,167374	0,928517	2,956263	0,862143	0,353147

Tabela 17. Współczynniki ryzyka zgonu związanego z mięsakiem (obserwacja DSS) oraz ich 95% przedziały ufności dla zmiennych niezależnych: „margines chirurgiczny usuniętego guza”, „złośliwość histologiczna mięsaka wg FNCLCC”, „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza”.

Zmienne niezależne analizowane w 17 przypadkach	Współczynnik ryzyka HR	95% przedział ufności
Margines chirurgiczny usuniętego guza	2,531265	(0,2383615; 26,88061)
Złośliwość histologiczna mięsaka wg klasyfikacji FNCLCC (2 kategorie: „G2”, „G3”)	9,464701	(1,3483612; 66,43660)
Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza (2 kategorie: „>0% i ≤20%”, „>20%”)	2,956263	(0,2999537; 29,13613)

Tabela 18. Zależność OS (przeżycie całkowite) od 3 zmiennych niezależnych („margines chirurgiczny usuniętego guza”, „złośliwość histologiczna mięsaka wg FNCLCC - kategorie: G2, G3”, „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza”) wg modelu proporcjonalnego hazardu Coxa.

Zmienne niezależne analizowane w 17 przypadkach	Wyniki zależności „przeżycia całkowitego” od zmiennych niezależnych					
	Beta	Błąd standardowy	Wartość t	Współczynnik ryzyka HR (wykładnik beta)	Statystyka Walda	Poziom istotności (p)
Margines chirurgiczny usuniętego guza (kategorie: „margines negatywny”, „margines pozytywny)	0,790694	1,013717	0,779994	2,204926	0,608391	0,435400
Złośliwość histologiczna mięsaka wg klasyfikacji FNCLCC (kategorie: „G2”, „G3”)	1,959842	0,838041	2,338600	7,098204	5,469050	0,019362
Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza (kategorie: „>0% i ≤20%”, „>20%”)	0,873796	0,992785	0,880146	2,395988	0,774656	0,378787

Tabela 19. Współczynniki ryzyka zgonu (obserwacja OS) oraz ich 95% przedziały ufności dla zmiennych niezależnych: „margines chirurgiczny usuniętego guza”, „złośliwość histologiczna mięsaka wg FNCLCC”, „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza”.

Zmienne niezależne analizowane w 17 przypadkach	Współczynniki ryzyka HR	95% przedział ufności
Margines chirurgiczny usuniętego guza	2,204926	(0,3023435; 16,08004)
Złośliwość histologiczna mięsaka wg klasyfikacji FNCLCC (2 kategorie: „G2”, „G3”)	7,098204	(1,373390; 36,686234)
Ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza (2 kategorie: „>0% i ≤20%”, „>20%”)	2,395988	(0,3423014; 16,77107)

W przeanalizowanej grupie 17 przypadków, obecność mięsaka o złośliwości histologicznej G3 w porównaniu ze złośliwością G2 (wg klasyfikacji FNCLCC), zwiększyła 9,46-krotnie ryzyko zgonu związanego z chorobą nowotworową (współczynnik ryzyka HR – tabela 17) oraz zwiększyła 7,1-krotnie ryzyko zgonu, bez względu na jego przyczynę (współczynnik ryzyka HR – tabela 19).

5. OMÓWIENIE

Mięsaki tkanek miękkich głowy i szyi są niejednorodną grupą nowotworów. Większość z nich powstaje z tkanek pochodzenia mezenchymalnego, a niektóre mają pochodzenie ektodermalne.

Rozpoznanie histogenezy tych nowotworach jest często bardzo trudne. W obecnym opracowaniu ustalając typ histologiczny mięsaków we wszystkich przypadkach (n=21) wykonano badania immunohistochemiczne. Największy odsetek rozpoznanych nowotworów stanowiły mięsaki polimorficzne niezróżnicowane (28,57%) i guzy złośliwe osłonek nerwów obwodowych (23,81%). Żaden z mięsaków neurogennych nie był związany z nerwiakowłóknikowatością.

Guzy zlokalizowane były przeważnie w obrębie twarzoczaszki (66,67%), wyraźnie rzadziej w obrębie szyi (33,33%). Najczęstszą lokalizacją był masyw szczękowo-sitowy (42,86%).

Greager i wsp. [43] zaobserwowali dłuższe przeżycie u chorych z mięsakami zlokalizowanymi w obrębie szyi. Z kolei Wharam i wsp. [44] stwierdzili największą liczbę wznów po chirurgicznym leczeniu mięsaków szyi. W badanej przeze mnie grupie nie znalazłem istotnego znaczenia lokalizacji guza dla DSS (przeżycia swoistego dla choroby) i dla OS (przeżycia ogólnego). Niewątpliwie znaczenie miała tu niewielka liczba przypadków oraz przewaga liczebna guzów masywu szczękowo-sitowego nad nielicznymi (w większości pojedynczymi) mięsakami występującymi w różnych innych okolicach głowy i szyi.

Wymiary guza są traktowane przez wielu autorów jako ważny czynnik prognostyczny [45, 46]. Rekomendowana przez WHO klasyfikacji zaawansowania choroby nowotworowej (według *International Union against Cancer* oraz według *American Joint Committee on Cancer*) wskazuje pięciocentymetrową średnicę guza jako rozmiar decydujący o ocenie stopnia zaawansowania mięsaka tkanek miękkich. W przeprowadzonej przeze mnie analizie jednocechowej, zbadano wpływ średnicy mięsaka (19 guzów o głębokiej lokalizacji (Tb)) na wyniki leczenia. U chorych, których guzy miały średnicę ≤ 5 cm (n=4) 2-letnie i 5-letnie remisje (RFS) oraz 2-letnie i 5-letnie przeżycia (DSS, OS) wystąpiły w 100% przypadków. Z kolei u chorych z guzami o średnicy >5 cm (n=15) 2-letnia i 5-letnia remisja występowała odpowiednio w 53% i 47% przypadków, a 2-letnie i 5-letnie przeżycie (DSS, OS), dotyczyło odpowiednio 60% i 53% chorych. Przeprowadzone przez nas estymacje funkcji RFS, DSS

i OS metodą Kaplana-Meiera, uzupełnione testami log-rank nie potwierdziły w analizowanej grupie wartości rokowniczej zmiennej niezależnej „średnica guza” dla RFS ($p=0,12260$), DSS ($p=0,30072$) i OS ($p=0,24769$).

Mięsaki rzadko dają przerzuty do węzłów chłonnych [47]. Spośród chorych zakwalifikowanych przez nas do analizy jednocechowej, w 15,79% stwierdzono zmiany nowotworowe w węzłach chłonnych poddanych wraz z marginesem guza badaniom histologicznym. Przerzuty do węzłów chłonnych stwierdzono u chorej na mięsaka polimorficznego niezróżnicowanego, u chorego z guzem złośliwym osłonek nerwów obwodowych oraz u chorego z mięsakiem pęcherzykowym mięśni poprzecznie prążkowanych.

W diagnostyce przedoperacyjnej nie stwierdzono przerzutów odległych u żadnego z badanych chorych.

Histogeneza guza ma duże znaczenie rokownicze, jednak w opracowanym przeze mnie materiale nieliczne lub pojedyncze guzy reprezentujące poszczególne typy histologiczne nie dały możliwości oceny statystycznej. Stąd nie można było odnieść się do ich znaczenia rokowniczego.

Dłuższe przeżycie odnotowano u chorych z mięsakami o niższym stopniu złośliwości histologicznej. W przypadkach tych guzy były najczęściej usunięte z negatywnym marginesem chirurgicznym.

Guzy o niskim stopniu złośliwości histologicznej cechują się małą zdolnością do dawania przerzutów. Dużo gorzej rokują mięsaki o bardzo wysokiej złośliwości histologicznej. Wykazują one dużą inwazyjność, zajmując większe nerwy, naczynia krwionośne i kości, co zwiększa ryzyko wystąpienia wznów miejscowych oraz przerzutów odległych (najczęściej do płuc, kości, mózgu) i rzadziej przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych [48, 49]. Zależność taka wystąpiła również u badanych przez nas pacjentów. Spośród 19 chorych poddanych analizie jednocechowej, 17 (89,5% przypadków) miało mięsaka o wysokim stopniu złośliwości histologicznej według skali Hajdu. W tych samych 17 przypadkach złośliwość histologiczna miała stopień G2 (52,6% przypadków) lub G3 (36,8% przypadków) według trzystopniowej skali FNCLCC. Po 5-letniej obserwacji odsetek nawrotów choroby wyniósł 85,71% dla przypadków mających złośliwość histologiczną G3 oraz 20% dla przypadków mających złośliwość histologiczną G2. Natomiast w 5-letniej obserwacji zgony (DSS, OS) wystąpiły u 85,71% chorych z mięsakami o złośliwości histologicznej G3 oraz u 10% chorych z mięsakami o złośliwości histologicznej G2. Odmienne przedstawiały się te wyniki przy stopniowaniu złośliwości histologicznej według klasyfikacji Hajdu. Po 5-letniej obserwacji chorych z mięsakami o „wysokim stopniu” złośliwości histologicznej wg skali

Hajdu, stwierdzono miejscową wznowę w 47,06% przypadków oraz zgon związany z chorobą nowotworową w 41,18%.

W wykonanej przez nas estymacji funkcji RFS, DSS, OS metodą Kaplana-Meiera oraz w uzupełniających testach lok-rang, zmienna niezależna „złośliwość histologiczna mięsaka wg skali Hajdu” (2 kategorie: „niski stopień” (n=2), „wysoki stopień” (n=17)) nie miała znaczenia prognostycznego (dla RFS $p=0,21654$; dla DSS $p=0,30036$; dla OS $p=0,32313$). Z kolei przy analizie zmiennej niezależnej „złośliwość histologiczna mięsaka wg skali FNCLCC” stwierdzono istotną zależność RFS ($p=0,00904$), DSS ($p=0,00305$), OS ($p=0,00586$) od kategorii „G2” (n=10) i „G3” (n=7), które reprezentowały te same przypadki co kategoria „wysoki stopień” zmiennej niezależnej „złośliwość histologiczna mięsaka wg skali Hajdu”.

W analizie wielocechowej (model proporcjonalnego hazardu Coxa) potwierdzono istotną zależność przeżycia swoistego dla choroby (DSS) i przeżycia całkowitego (OS) od kategorii „G2” i „G3” zmiennej niezależnej „złośliwość histologiczna wg skali FNCLCC” (dla DSS $p=0,023789$; dla OS $p=0,019362$). Współczynnik ryzyka (wykładnik beta) zmiennych niezależnych DSS i OS wyniósł odpowiednio 9,5 i 7,1. Oznaczało to, iż w przypadku obecności mięsaka o złośliwości histologicznej G3 (wg FNCLCC) ryzyko względne zgonu wzrosło 9,5-krotnie dla zmiennej zależnej DSS (95% przedział ufności: 1,3–66,4) oraz wzrosło 7,1-krotnie dla zmiennej zależnej OS (95% przedział ufności: 1,4–36,7).

Korelację pomiędzy wysokim współczynnikiem ekspresji markera proliferacji Ki-67 w komórkach nowotworowych a gorszymi wynikami leczenia mięsaków tkanek miękkich opisali Clover i wsp. oraz Levine i wsp. [50, 51]. Heslin i wsp. [52] udokumentowali, że współwystępowanie w mięsakach wysokiego stopnia złośliwości histologicznej oraz ekspresji Ki-67 w $>20\%$ komórek nowotworowych guza, ma znaczący związek z nawrotem choroby oraz z krótszym przeżyciem.

W opracowanym przeze mnie materiale estymacje funkcji RFS, DSS, OS metodą Kaplana-Meiera oraz uzupełniające testy log-rank wykazały, iż ekspresja Ki-67 w $>20\%$ komórek nowotworowych guza ma istotną wartość rokowniczą dla krótszego okresu remisji (w RFS $p=0,00121$) oraz dla krótszego przeżycia (w DSS $p=0,00710$; w OS $p=0,01507$). Z kolei model proporcjonalnego hazardu Coxa nie potwierdził wartości rokowniczej kategorii „ $>0\%$ i $\leq 20\%$ ” i „ $>20\%$ ” zmiennej niezależnej „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza”. Zależność RFS od współczynnika ekspresji Ki-67 była tu na granicy poziomu istotności ($p=0,055364$), co można interpretować jako zależność słabą, nie tak mocną jak zależność RFS od zmiennej niezależnej „margines chirurgiczny usuniętego guza”. Model proporcjonalnego hazardu Coxa wykazał brak zależności DSS i OS od badanych kategorii

zmiennej „ekspresja Ki-67 w komórkach nowotworowych guza” (dla DSS $p=0,353147$; dla OS $p=0,378787$). Ekspresja Ki-67 w $>20\%$ komórek nowotworowych guza, nie była więc istotnym czynnikiem rokowniczym długości przeżycia (DSS i OS), niezależnym od innych cech guza oraz od postępowania chirurgicznego. Jednak w tych przypadkach, w których złośliwość histologiczna miała stopień G3 wg skali FNCLCC, towarzysząca ekspresja Ki-67 w $>20\%$ komórek nowotworowych guza „wzmacniała” złe rokowanie względem przeżycia (DSS, OS).

Zwiększona ekspresja p53 w mięsakach tkanek miękkich występuje z częstością 9%-41% [52, 53, 54, 55]. Pomimo korelacji pomiędzy nasileniem ekspresji p53 a wysokim stopniem złośliwości histologicznej i gorszym wynikiem leczenia, nie udowodniono znaczenia prognostycznego ekspresji p53, które byłoby niezależne od stopnia złośliwości histologicznej mięsaków [52, 54, 55]. W przeprowadzonych przez nas estymacjach funkcji RFS, DSS, OS metodą Kaplana-Meiera, uzupełnionych testami log-rank, nie stwierdzono zależności RFS, DSS, OS od zmiennej niezależnej „ekspresja 53 w komórkach nowotworowych guza” (rozpatrywanej w kategoriach: „0%”, „ $>0\%$ i $\leq 20\%$ ”, „ $>20\%$ ”). Nie zaobserwowano również zależności pomiędzy nasileniem ekspresji p53 w komórkach nowotworowych a stopniem złośliwości histologicznej mięsaków.

W leczeniu mięsaków głowy i szyi, postępowaniem z wyboru jest chirurgiczne usunięcie guza z marginesem wolnym od zmian nowotworowych [56, 57].

Resekcja w bloku w rejonie głowy i szyi jest trudna, gdyż w niewielkiej odległości od siebie występują struktury anatomiczne, których uszkodzenie może skutkować bardzo dużym kalectwem lub zgonem. Z tego powodu radykalne usunięcie guza oraz zachowanie negatywnego marginesu chirurgicznego jest tu niejednokrotnie niemożliwe. Takie niebezpieczeństwo wzrasta przy dużych rozmiarach guza. Wiąże się to z większą częstością miejscowych wznów i odległych przerzutów oraz krótszym przeżyciem [58, 59, 60]. Według Balma i wsp. [61], bezpiecznym marginesem chirurgicznym jest szerokość 2 cm. Zachowanie takiego marginesu przy usuwaniu większości mięsaków głowy i szyi jest bardzo trudne lub niemożliwe.

Spośród chorych poddanych analizie jednocechowej ($n=19$) 14 miało mięsaka o źle rokującej lokalizacji (masyw szczękowo-sitowy, nasada języka i dno jamy ustnej, gardło oraz przestrzeń okołogardłowa, kłębek szyjny). U 9 chorych z powyższej grupy usunięto nowotwór z pozytywnym marginesem chirurgicznym. Było to spowodowane bardzo dużą inwazyjnością mięsaków szerzących się ku przedniemu dołowi podstawy czaszki, zajęciem kanału nerwu wzrokowego lub złożoną budową struktur anatomicznych zajętych przez guz

(błądźnik sitowy, przestrzeń okołogardłowa). Radykalniejsze postępowanie chirurgiczne przy resekcji niniejszych guzów, groziłoby bardzo dużymi powikłaniami okołoperacyjnymi, włączając w to zgon. W grupie tej 5-letnie przeżycie zaobserwowano tylko u 2 pacjentów (22,2%) a 5-letnią nieprzerwaną remisję u 1 pacjenta (11,1%).

Spośród 19 chorych poddanych analizie jednocechowej, w 10 przypadkach mięsak został usunięty z negatywnym marginesem chirurgicznym. U każdego z powyższych 10 chorych zaobserwowano 5-letnie przeżycie i nieprzerwaną remisję choroby. Estymacje funkcji RFS, DSS, OS metodą Kaplana-Meiera oraz testy log-rank wykazały, iż zmienna niezależna „margines chirurgiczny” ma istotną wartość rokowniczą dla RFS ($p=0,00020$), DSS ($p=0,00475$), OS ($p=0,01059$).

Analiza wieloczechowa oparta na modelu proporcjonalnego hazardu Coxa potwierdziła istotną zależność długości remisji od marginesu chirurgicznego ($p=0,016384$). Współczynnik ryzyka (wykładnik beta) miał tutaj wartość „36,6”, co oznaczało iż ryzyko względne wystąpienia nawrotu choroby wzrosło 36,6-krotnie przy „pozytywnym marginesie chirurgicznym usuniętego guza” (95% przedział ufności: 1,9–694,1). Model proporcjonalnego hazardu Coxa nie potwierdził w badanej grupie przypadków istotnego wpływu zmiennej niezależnej „margines chirurgiczny” na przeżycie swoiste dla choroby ($p=0,441049$) oraz na przeżycie całkowite ($p=0,435400$).

Radioterapia jest wskazana po resekcji wszystkich mięsaków z wysokim stopniem złośliwości histologicznej oraz w tych przypadkach, w których margines resekcyjny był mały lub obecne w nim były komórki nowotworowe. Celem pooperacyjnej radioterapii w takich przypadkach jest minimalizacja ryzyka wystąpienia miejscowej wznowy. Colville i wsp. [13] udowodnili, że zastosowanie pooperacyjnej radioterapii u 60 chorych leczonych z powodu mięsaka okolicy głowy i szyi, zwiększyło odsetek 5-letnich przeżyć o 29%. W analizowanej grupie 21 przypadków, radioterapię przeprowadzono u 12 chorych (57.14%), przy czym w 1 przypadku był to jedyny rodzaj zastosowanego leczenia. Radioterapia wykonana u pozostałych 11 chorych jako leczenie uzupełniające wcześniejsze chirurgiczne usunięcie guza, nie miała wpływu na okres remisji i na długość przeżycia. Zaznaczam jednak, że badana grupa ze względu na małą liczebność nie może być uznana za reprezentatywną.

W przypadkach mięsaków głowy i szyi nie stosuje się standardowego leczenia (chirurgiczne usunięcie, radioterapia i chemioterapia), tak jak ma to miejsce u chorych z mięsakami kończyn.

W żadnym z analizowanych przez nas przypadków nie wykorzystano w leczeniu uzupełniającym brachyterapii. U 2 chorych przeprowadzono chemioterapię. U jednego z nich została

ona zastosowana przy połączeniu z leczeniem chirurgicznym i radioterapią, natomiast w drugim przypadku uzupełniała leczenie chirurgiczne.

U chorych poddanych analizie jednocechowej (19 przypadków), 5-letnie RFS, DSS, OS, wystąpiły odpowiednio w 57,9%, 63,2%, 63,2%, co jest porównywalne z danymi cytowanymi przez innych autorów [48, 62].

Według wykonanej przez nas analizy wielocechowej (modelu proporcjonalnego hazardu Coxa), istotnym czynnikiem ryzyka nawrotu choroby (zmienna zależna RFS) był pozytywny margines chirurgiczny oraz istotnym czynnikiem ryzyka zgonu (zmienne zależne DSS i OS) była złośliwość histologiczna G3 (wg FNCLCC).

Duży wpływ na margines chirurgiczny i pośrednio na RFS, miała lokalizacja guza. Mięsaki usunięte z pozytywnym marginesem, występowały w obrębie masywu szczękowo-sitowego (górne i dolne piętro: n=2; górne piętro: n=5) i w obrębie przestrzeni okołogardłowej (n=2). Resekcja guzów o tej lokalizacji należy do najtrudniejszych w chirurgii onkologicznej głowy i szyi.

Spośród przebadanych w analizie wielocechowej 17 przypadków (o złośliwości G2 lub G3 według klasyfikacji FNCLCC), 9 guzów zostało usuniętych z pozytywnym marginesem chirurgicznym. Większość z nich (66,67%) miała złośliwość histologiczną G3. Z kolei spośród guzów usuniętych z negatywnym marginesem chirurgicznym (n=8), zdecydowana większość (87,5%) miała złośliwość histologiczną G2. Te fakty potwierdzają przydatność rokowniczą klasyfikacji FNCLCC.

6. WNIOSKI

Przedstawione wyniki upoważniają do wyciągnięcia następujących wniosków:

1. Czas przeżycia chorych z mięsakami głowy i szyi zależy w głównej mierze od stopnia złośliwości histologicznej.
2. Nasilenie ekspresji Ki-67 (w ponad 20% komórek nowotworowych) wiąże się z długością przeżycia.
3. Okres pooperacyjnej remisji w znacznym stopniu zależy od radykalności zabiegu (wielkości negatywnego marginesu tkanek otaczających).
4. Nie stwierdzono zależności między długością remisji i długością przeżycia a: średnicą guza, przerzutami do regionalnych węzłów chłonnych, ekspresją p53 w komórkach nowotworowych, płcią i wiekiem chorych.
5. Nie stwierdzono istotnego wpływu radioterapii na dalszy przebieg choroby.
6. Ustalenie histogenezy mięsaków jest trudne przede wszystkim z uwagi na fakt, że są to bardzo często nowotwory o niskim stopniu dojrzałości a większość markerów oznaczanych w badaniach immunohistochemicznych dla ich identyfikacji, występuje w różnych typach mięsaków. Stąd konieczność wykonywania niekiedy wielu różnych oznaczeń.

7. PIŚMIENNICTWO

1. Weiss SW, Goldblum JR. Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. 2008, Wyd. 5, Mosby Elsevier.
2. Schmidt-Matthiesen A, Hovy L, Encke A. Soft tissue sarcoma in adulthood. Zentrbl Chir. 1992, 117: 374-88.
3. Paszkiewicz L, Anatomia patologiczna. 1953, Tom 2, Część 2, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa.
4. Virchow R. Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre. 1858, A. Hirschwald, Berlin.
5. Hajdu SI. Pathology of soft tissue tumors. 1979, Lea&Febiger, Philadelphia.
6. Broders AC, Hargave R, Meyerding HW. Pathological features of soft tissue fibrosarcoma: with special reference to the grading of its malignancy. Surg Gynecol Obstet. 1939, 69: 267-74.
7. Trojani A, Contesso G, Coindre JM, Rouesse J, Bui NB, de Mascarel A, Goussot JF, David M, Bonichon F, Lagarde C. Soft-tissue sarcomas of adults; study of pathological prognostic variables and definition of a histopathological grading system. Int J Cancer. 1984, 33: 37-42.
8. Van Unnik JA, Coindre JM, Contesso C, Albus-Lutter CE, Schiodt T, Sylvester R, Thomas D, Bramwell V, Mouridsen HT. Grading of soft tissue sarcomas: experience of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. Eur J Cancer. 1993, 29A: 2089-93.
9. Fletcher CDM, Unni KK, Mertens FE. World Health Organisation Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Soft Tissue and Bone. 2002, IARC Press, Lyon.
10. Gustafson P. Soft tissue sarcoma. Epidemiology and prognosis in 508 patients. Acta Orthop Scand Suppl. 1994, 259: 1-31.
11. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics. CA Cancer J Clin. 1996, 46: 5-27.
12. Mendenhall WM, Mendenhall CM, Werning JW, Riggs CE, Mendenhall NP. Adult head and neck soft tissue sarcomas. Head Neck. 2005, 27: 916-22.

13. Colville RJ, Charlton F, Kelly CG, Nicoll JJ, McLean NR. Multidisciplinary management of head and neck sarcomas. *Head Neck*. 2005, 27: 814-24.
14. Kirkpatrick CJ, Alves A, Kochler H, Kriegsmann J, Bittinger F, Otto M, Williams DF, Eloy R. Biomaterial-induced sarcoma: A novel model to study preneoplastic change. *Am J Pathol*. 2000, 156: 1455-67.
15. Eriksson M, Hardell L, Adami HO. Exposure to dioxins as a risk factor for soft tissue sarcoma: a population-based case control study. *J Natl Cancer Inst*. 1990, 82: 486-90.
16. Eriksson M, Hardell L, Berg NO, Möller T, Axelson O. Soft-tissue sarcomas and exposure to chemical substances: a case-referent study. *Br J Ind Med*. 1981, 38: 27-33.
17. Karisson P, Holmberg E, Samuelsson A, Johansson KA, Wallgren A. Soft tissue sarcoma after treatment for breast cancer – a Swedish population-based study. *Eur J Cancer*. 1998, 34: 2068-75.
18. McClain KL, Leach CT, Jenson HB, Joshi VV, Pollock BH, Parmley RT, DiCarlo FJ, Chadwick EG, Murphy SB. Association of Epstein-Barr Virus with leiomyosarcoma in children with AIDS. *N Engl J Med*. 1995, 332: 12-8.
19. Weiss RA, Whitby D, Talbot S, Kellam P, Boshoff C. Human herpesvirus type 8 and Kaposi's sarcoma. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1998, (23): 51-4.
20. Sorensen SA, Mulvihill JJ, Nielsen A. Long-term follow-up of von Recklinghausen neurofibromatosis. Survival and malignant neoplasms. *N Engl J Med*. 1986, 314: 1010-5.
21. Hisada M, Garber JE, Fung CV, Fraumeni JF Jr., Li FP. Multiple primary cancers in families with Li-Fraumeni syndrome. *J Natl Cancer Inst*. 1998, 90: 606-11.
22. Barry HC. Paget's Disease of Bone. 1969, Livingstone, Edinburgh.
23. Haibach H, Farrell C, Dittrich FJ. Neoplasms arising in Paget's disease of bone: a study of 82 cases. *Am J Clin Pathol*. 1985, 83: 594-600.
24. Wick MR, Siegal GP, Unni KK, McLeod RA, Greditzer HG 3rd. Sarcomas of bone complicating osteitis deformans (Paget's disease): fifty years' experience. *Am J Surg Pathol*. 1981, 5: 47-59.
25. Akbarnia BA, Wirth CR, Colman N. Fibrosarcoma arising from chronic osteomyelitis. Case report and review of the literature. *J Bone Joint Surg AM*. 1976, 58: 123-25.
26. Giunti A, Laus M. Malignant tumours in chronic osteomyelitis. (A report of thirty nine cases, twenty six with long term follow up). *Ital J Orthop Traumatol*. 1978, 4: 171-82.
27. Johnson LL, Kempson RL. Epidermoid carcinoma in chronic osteomyelitis: diagnostic problems and management. *J Bone Joint Surg*. 1965, 47A: 133-44.

28. Hamblen DL, Carter RL. Sarcoma and joint replacement. *J Bone Joint Surg Br.* 1984, 66: 625-7.
29. Penman HG, Ring PA. Osteosarcoma in association with total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br.* 1984, 66: 632-4.
30. Keel SB, Jaffe KA, Petur NG, Rosenberg AE. Orthopaedic implantrelated sarcoma: a study of twelve cases. *Mod Pathol.* 2001, 14: 969-77.
31. Bell RS, O'Sullivan B, Liu FF, Powell J, Langer F, Fornasier VL, Cummings B, Miceli PN, Hawkins N, Quirt I. The surgical margin in soft-tissue sarcoma. *J Bone Joint Surg Am.* 1989, 71: 370-5.
32. Markhede G, Angervall L, Stender B. A multivariate analysis of the prognosis after surgical treatment of malignant soft-tissue tumors. *Cancer.* 1982, 49: 1721-33.
33. Alvegard TA, Berg NO, Baldetorp B, Ferno M, Killander D, Ranstam J, Rydholm A, Akerman M. Cellular DNA content and prognosis of high-grade soft tissue sarcoma: the Scandinavian Sarcoma Group experience. *J Clin Oncol.* 1990, 8: 538-47.
34. Coindre JM, Terrier P, Bui NB, Bonichon F, Collin F, Le Doussal V, Mandard AM, Vilain MO, Jacquemier J, Duplay H, Sastre X, Barlier C, Henry-Amar M, Macé-Lesech J, Contesso G. Prognostic factors in adult patients with locally controlled soft tissue sarcoma. A study of 546 patients from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. *J Clin Oncol.* 1996, 14: 869-77.
35. Saddegh MK, Lindholm J, Lundberg A, Nilsson U, Kreicbergs A. Staging of soft-tissue sarcomas. Prognostic analysis of clinical and pathological features. *J Bone Joint Surg Br.* 1992, 74: 495-500.
36. Coindre JM, Terrier P, Guillou L, Le Doussal V, Collin F, Ranchère D, Sastre X, Vilain MO, Bonichon F, N'Guyen Bui B. Predictive value of grade for metastasis development in the main histologic types of adult soft tissue sarcomas: a study of 1240 patients from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. *Cancer.* 2001, 91: 1914-26.
37. Guillou L, Coindre JM, Bonichon F, Nguyen BB, Terrier P, Collin F, Vilain MO, Mandard AM, Le Doussal V, Leroux A, Jacquemier J, Duplay H, Sastre-Garau X, Costa J. Comparative study of the National Cancer Institute and French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group grading systems in a population of 410 adult patients with soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol.* 1997, 15: 350-62.

38. Coindre JM, Trojani M, Contesso G, David M, Rouesse J, Bui NB, Bodaert A, De Mascarel I, De Mascarel A, Goussot JF. Reproducibility of a histopathologic grading system for adult soft tissue sarcoma. *Cancer*. 1986, 58: 306-9.
39. Sobin LH, Wittekind C. UICC TNM Classification of Malignant Tumours. 2000, Wyd. 6, Wiley, New York.
40. Green FL, Page DL, Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG, Morrow M. AJCC Cancer Staging Manual. 2002, Wyd. 6, Springer, New York.
41. Dudhat SB, Mistry RC, Varughese T, Fakih AR, Chinoy RF. Prognostic factors in head and neck soft tissue sarcomas. *Cancer*. 2000, 89: 868-72.
42. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem*. 1981, 29: 577-80.
43. Greager JA, Minu KP, Briele HA, Walker MJ, Das Gupta TK. Soft tissue sarcomas of the adult head and neck. *Cancer*. 1985, 56: 820-4.
44. Wharam MD Jr, Foulkes MA, Lawrence W Jr, Lindberg RD, Maurer HM, Newton WA Jr, Ragab AH, Raney RB Jr, Tefft M. Soft tissue sarcoma of the head and neck in childhood: nonorbital and nonparameningeal sites. A report of the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study (IRS). *Cancer*. 1984, 53: 1016-9.
45. Russell WO, Cohen J, Enzinger F, Hajdu S, Heise H, Martin R. A clinical and pathological staging system for soft tissue sarcomas. *Cancer*. 1977, 40: 1562-70.
46. Willers H, Hug EB, Spiro IJ, Efird JT, Rosenberg AG, Wang CC. Adult soft tissue sarcomas of the head and neck treated by radiation and surgery or radiation alone: patterns of failure and prognostic factors. *Int J Radiat Oncol Bio Phys*. 1995, 33: 585-93.
47. Blitzer A, Lawson W, Zak FG, Biller HF, Som ML. Clinical pathological determinants in prognosis of fibrous histiocytomas of head and neck. *Laryngoscope*. 1981, 91: 2053-69.
48. Kraus DH, Dubner S, Harrison LB, Strong EW, Hajdu SI, Kher U, Begg C, Brennan MF. Prognostic factors for recurrence and survival in head and neck soft tissue sarcomas. *Cancer*. 1994, 74: 697-702.
49. Wanebo HJ, Koness RJ, MacFarlane JK, Eilber FR, Byers RM, Elias EG, Spiro RH. Head and neck sarcoma: report of the Head and Neck Sarcoma Registry. Society of Head and Neck Surgeons Committee on Research. *Head Neck*. 1992, 14: 1-7.

50. Clover J, Oates J, Edwards C. Anti-cytokeratin 5/6: a positive marker for epithelioid mesothelioma. *Histopathology*. 1997, 31: 140-3.
51. Levine EA, Holzmayer T, Bacus S, Mechetner E, Mera R, Bolliger C, Roninson IB, Das Gupta TK. Evaluation of newer prognostic markers for adult soft tissue sarcomas. *J Clin Oncol*. 1997, 15: 3249-57.
52. Heslin MJ, Cordon-Cardo C, Lewis JJ, Woodruff JM, Brennan MF. Ki-67 detected by MIB-1 predicts distant metastasis and tumor mortality in primary, high grade extremity soft tissue sarcoma. *Cancer*. 1998, 83: 490-7.
53. Golouh R, Bracko M, Novak J. Predictive value of proliferation-related markers, p53, and DNA ploidy for survival in patients with soft tissue spindle-cell sarcomas. *Mod Pathol*. 1996, 9: 919-24.
54. Latres E, Drobnjak M, Pollack D, Oliva MR, Ramos M, Karpeh M, Woodruff JM, Cordon-Cardo C. Chromosome 17 abnormalities and TP53 mutations in adult soft tissue sarcomas. *Am J Pathol*. 1994, 145: 345-55.
55. Toffoli G, Doglioni C, Cernigoi C, Frustaci S, Perin T, Canal B, Boiocchi M. P53 overexpression in human soft tissue sarcomas: relation to biological aggressiveness. *Ann Oncol*. 1994, 5: 167-72.
56. Tran LM, Mark R, Meier R, Calcaterra TC, Parker RG. Sarcomas of the head and neck: prognostic factors and treatment strategies. *Cancer*. 1992, 70: 169-77.
57. Farhood AI, Hajdu SI, Shiu MH, Strong EW. Soft tissue sarcomas of the head and neck in adults. *Am J Surg*. 1990, 160: 365-9.
58. Suit HD, Mankin HJ, Schiller AL, Wood WC, Tepper JE. Staging systems for sarcoma of soft tissue and sarcoma of bone. *Cancer Treat Symp*. 1985, 3: 29-36.
59. Enneking WF, Spanier SS, Goodman MA. The surgical staging of musculoskeletal sarcoma. *J Bone Joint Surg*. 1980, 62A: 1027-30.
60. Malone JP, Levin RJ. Second malignant tumors after treatment of nasopharyngeal carcinoma: four case reports and literature review. *Skull Base*. 2002, 12: 87-91.
61. Balm AJ, Vom Coevorden F, Bos KE, Fletcher CD, Gortzak E, Gregor RT, Hilgers FJ, Keus RB, Koops W, Kroon BB. Report of a symposium on diagnosis and treatment of adult soft tissue sarcomas in the head and neck. *Eur J Surg Oncol*. 1995, 21: 287-9.
62. Kowalski LP, San CI. Prognostic factors in head and neck soft tissue sarcomas. *J Surg Oncol*. 1994, 56: 83-8.

63. Clausen PP. Immunohistochemical demonstration of alpha-1-antitrypsin in liver tissue. A methodological investigation. *Acta path microbial scand Sect A* 1980, 88: 299-306.
64. Berninger R. Alpha-1-antitrypsin. *J Med*. 1985, 16: 23-99.
65. Mornex JF, Chytil-Weir A, Martinet Y, Martinet Y, Courtney M, LeCocq JP, Crystal RG. Expressio of the alpha-1-antitripsin gene in mononuclear phagocytes of normal and alpha-1-antitrypsin-deficient individuals. *J Clin Invest*. 1986, 77: 1952-61.
66. Isaacson P, Jones DB, Millward-Sadler GH, Judd MA, Payne S. Alpha-1-antitrypsin in human macrophages. *J Clin Pathol*. 1981, 34: 982-90.
67. Soini Y, Miettinen M. Alpha-1-antitrypsin and lysozyme. Their limited significance in fibrohistiocytic tumors. *Am J Clin Pathol*. 1989, 91: 515-21.
68. Binder SW, Said JW, Shintaku IP, Pinkus GS. A histiocyte-specific marker in the diagnosis of malignant fibrous histiocytoma. Use of monoclonal antibody KP-1 (CD68). *Am J Clin Pathol* 1992, 97: 759-63.
69. Soini Y, Miettinen M. Widespread immunoreactivity for alpha-1-antichymotrypsin in different types of tumors. *Am j Clin Pathol*. 1988, 89: 131-6.
70. Motoi M, Stein H, Lennert K. Demonstration of lysozyme, α_1 -antichymotrypsin, α_1 -antitrypsin, albumin, and transferrin with the immunoperoxidase method in lymph node cells. *Virchows Arch B Cell Path*. 1980, 35: 73-82.
71. Meis JM, Osborne BM, Butler JJ. A comparative marker study of large cell lymphoma, Hodgkin's disease, and true histiocytic lymphoma in paraffin-embedded tissue. *Am J Clin Pathol*. 1986, 86: 591-9.
72. Falini B, Flenghi L, Pileri S, Gambacorta M, Bigerna B, Durkop H, Eitelbach F, Thiele J, Pacini R, Cavaliere A, Martelli M, Cardarelli N, Sabattini E, Poggi S, Stein H. PG-M1: a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule. *Am J Pathol*. 1993, 142: 1359-72.
73. Smith ME, Costa MJ, Weiss SW. Evaluation of CD68 and other histiocytic antigens in angiomatoid malignant fibrous histiocytoma. *Am J Surg Pathol*. 1991, 15: 757-63. Comment in: *Am J Surg Pathol*. 1992, 16: 426-7.
74. Gloghini A, Rizzo A, Zanette I, Canal B, Rupolo G, Bassi P, Carbone A. KP1/CD68 expression in malignant neoplasms including lymphomas, sarcomas, and carcinomas. *Am J Clin Pathol*. 1995, 103: 425-31.

75. Nemes Z, Thomazy V. Factor XIIIa and the classic histiocytic markers in malignant fibrous histiocytoma: a comparative immunohistochemical study. *Hum Pathol.* 1988, 19: 822-29.
76. Szollosi Z, Nemeth T, Egervari K, Nemes Z. Histiocyte-like cells expressing factor XIIIa do not belong to the neoplastic cell population in malignant fibrous histiocytoma. *Pathol Res Pract.* 2005, 201: 369-77.
77. Altman DA, Nickoloff BJ, Fivenson DP. Differential expression of factor XIIIa and CD34 in cutaneous mesenchymal tumors. *J Cutan Pathol.* 1993, 20: 154-8.
78. Cerio R, Spaul J, Oliver GF, Jones WE. A study of factor XIIIa and MAC 387 Immunolabeling in normal and pathological skin. *Am J Dermatopathol.* 1990, 12: 221-33.
79. Goebel HH, Warlo IAP. Progress in desmin-related myopathies. *J Child Neurol.* 2000, 15: 565-72.
80. Chang TK, Li CY, Smithson WA. Immunocytochemical study of small round cell tumors in routinely processed specimens. *Arch Pathol Lab Med.* 1989, 113: 1343-8.
81. Pollock L, Rampling D, Greenwald SE, Malone M. Desmin expression in rhabdomyosarcoma: influence of the desmin clone and immunohistochemical method. *J Clin Pathol.* 1995, 48: 535-8.
82. Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Sobin LH, Lasota J. Esophageal stroma tumors. A clonicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 17 cases and comparison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas. *Am J Surg Pathol.* 2000, 24: 211-22.
83. Oliva E, Young RH, Clement PB, Bhan AK, Scully RE. Cellular benign mesenchymal tumors of the uterus. A comparative morphologic and immunohistochemical analysis of 33 highly cellular leiomyomas and six endometrial stromal nodules, two frequently confused tumors. *Am J Surg Pathol.* 1995, 19: 757-68.
84. Hurlimann J. Desmin and neural marker expression in mesothelial cells and mesotheliomas. *Hum Pathol.* 1994, 25: 753-7.
85. Middleton LP, Duray PH, Merino MJ. The histological spectrum of hemangiopericytoma: application of immunohistochemical analysis including proliferative markers to facilitate diagnosis and predict prognosis. *Hum Pathol.* 1998, 29: 636-40.

86. Roholl PJM, Elbers HRJ, Prinsen I, Claessens JAJ, van Unnik JAM. Distribution of actin isoforms in sarcomas: an immunohistochemical study. *Hum Pathol.* 1990, 21: 1269-74.
87. Schmitt-Gräff A, Krüger S, Bochar F, Gabbiani G, Denk H. Modulation of alpha smooth muscle actin and desmin expression in perisinusoidal cells of normal and diseased livers. *Am J Pathol.* 1991, 138: 1233-42.
88. Brennan PA, Umar T, Zaki GA, Langdon JD, Spedding A, Buckley J, Downie IP. Are myoepithelial cells responsible for the widespread expression of inducible nitric oxide synthase in pleomorphic adenoma? An immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med.* 2000, 29: 279-83.
89. Ramani P, Bradley NY, Fletcher CDM. QBEND/10, a new monoclonal antibody to endothelium: assessment of its diagnostic utility in paraffin sections. *Histopathology.* 1990, 17: 237-42.
90. Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type. *Biochim Biophys Acta.* 1999, 1450: 191-231.
91. Gould VE, Moll R, Moll I, Lee I, Schwechheimer K, Franke WW. The intermediate filament complement of the spectrum of nerve sheath neoplasms. *Lab Invest.* 1986, 55: 463-74.
92. Wick MR, Swanson PE, Rocamora A. Recognition of malignant melanoma by monoclonal antibody HMB-45. An immunohistochemical study of 200 paraffin-embedded cutaneous tumors. *J Cutan Pathol.* 1988, 15: 201-7.
93. Ye F, Huang SW, Dong HJ. Histiocytosis X. S-100 protein, peanut agglutinin, and transmission electron microscopy study. *Am J Clin Pathol.* 1990, 94: 627-31.
94. Edel G, Ueda Y, Nakanishi J, Brinker KH, Roessner A, Blasius S, Vestring T, Müller-Miny H, Erlemann R, Wuisman P. Chondroblastoma in bone. A clinical, radiological, light and immunohistochemical study. *Virchows Arch A Pathol Anat.* 1992, 421: 355-66.
95. Herrera GA, Turbat-Herrera EA, Lott RL. S-100 protein expression by primary and metastatic adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol.* 1988, 89: 168-76.
96. Coindre JM, de Mascarel A, Trojani M, de Mascarel I, Pages A. Immunohistochemical study of rhabdomyosarcoma. Unexpected staining with S100 protein and cytokeratin. *J Pathol.* 1988, 155: 127-32.

97. Soler-Federspiel BS, Cras P, Gheuens J, Andries D, Lowenthal A. Human gamma gamma-enolase: two-site immunoradiometric assay with a single monoclonal antibody. *J Neurochem.* 1987, 48: 22–8.
98. Kang JL, Meyts ER, Skakkebaek NE. Immunoreactive neuron-specific enolase (NSE) is expressed in testicular carcinoma-in-situ. *J Pathol.* 1996, 178: 161–5.
99. Cras P, Martin JJ, Gheuens J. Gamma-enolase and glial fibrillary acidic protein in nervous system tumors. An immunohistochemical study using specific monoclonal antibodies. *Acta Neuropathol.* 1988, 75: 377–84.
100. Piccinini M, Merighi A, Bruno R, Cascio P, Curto M, Mioletti S, Ceruti C, Rinaudo MT. Affinity purification and characterization of protein gene product 9.5 (PGP9.5) from retina. *Biochem J.* 1996, 318: 711-6.
101. Gould VE, Wiedenmann B, Lee I, Schwechheimer K, Dockhorn-Dworniczak B, Radosevich JA, Moll R, Franke WW. Synaptophysin expression in neuroendocrine neoplasms as determined by immunocytochemistry. *Am J Pathol.* 1987, 126: 243-57.
102. Navone F, Jahn R, Di Gioia G, Stukenbrok H, Greengard P, De Camilli P. Protein p38: An integral membrane protein specific for small vesicles of neurons and neuroendocrine cells. *J Cell Biol.* 1986, 103: 2511-27.
103. Portela-Gomes GM. Chromogranin A immunoreactivity in neuroendocrine cells in the human gastrointestinal tract and pancreas. *Adv Exp Med Biol.* 2000, 482: 193-203.
104. Lloyd RV, Cano M, Rosa P, Hille A, Huttner WB. Distribution of chromogranin A and secretogranin I (chromogranin B) in neuroendocrine cells and tumors. *Am J Pathol.* 1988, 130: 296-304.
105. Degorce F. Assessment of chromogranin A using two-site immunoassay. Selection of a monoclonal antibody pair unaffected by human chromogranin A processing. *Adv Exp Med Biol.* 2000, 482: 339-50.
106. Schmid KW, Schröder S, Dockhorn-Dworniczak B, Kirchmair R, Tötsch M, Böcker W, Fischer-Colbrie R. Immunohistochemical demonstration of chromogranin A, chromogranin B, and secretogranin II in extra-adrenal paragangliomas. *Mod Pathol.* 1994, 7: 347-53.
107. Moorghen M, Carpenter F. Peanut lectin: a histochemical marker for pheochromocytomas. *Virchows Arch A Pathol Anal Histopathol.* 1991, 419: 203-7.
108. Herrmann H, Aebi U. Intermediate filaments and their associates: multi-talented structural elements specifying cytoarchitecture and cytodynamics. *Curr Opin Cell Biol.* 2000, 12: 79-90.

109. Osborn M, Debus E, Weber K. Monoclonal antibodies specific for vimentin. *Eur J Cell Biol.* 1984, 34: 137-43.
110. Kivelä T, Fuchs U, Tarkkanen A. Cytoskeleton in neuroectodermally derived epithelial and muscle cells of the human iris and ciliary body. *J Histochem Cytochem.* 1992, 40: 1517-26.
111. Kusenda J. Bcl-2 family proteins and leukaemia. *Neoplasma.* 1998, 45: 117-22.
112. Adams JM, Cory S. The bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science.* 1998, 281: 1322-6.
113. Yang E, Korsmeyer SJ. Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death. *Blood.* 1996, 88: 386-401.
114. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL, Pulford KAF, Gatter KC, Mason DY. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *Am J Pathol.* 1990, 137: 225-32.
115. Hirakawa N, Naka T, Yamamoto I, Fukuda T, Tsuneyoshi M. Overexpression of bcl-2 protein in synovial sarcoma: A comparative study of other soft tissue spindle cell sarcomas and an additional analysis by fluorescence in situ hybridization. *Hum Pathol.* 1996, 27: 1060-5.
116. Soini Y, Pääkkö P. bcl-2 is preferentially expressed in tumours of muscle origin but is not related to p53 expression. *Histopathology.* 1996, 28: 141-5.
117. Haralambieva E, Boerma EJ, van Imhoff GW, Rosati S, Schuurin E, Müller-Hermelink HK, Kluin PM, Ott G. Clinical, immunophenotypic, and genetic analysis of adult lymphomas with morphologic features of Burkitt lymphoma. *Am J Surg Pathol.* 2005, 29: 1086-94.
118. Kapur RP, Bigler SA, Skelly M, Gown AM. Anti-melanoma monoclonal antibody HMB45 identifies an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanosomes. *J Histochem Cytochem.* 1992, 40: 207-12
119. Esclamado RM, Gown AM, Vogel AM. Unique proteins defined by monoclonal antibodies specific for human melanoma. *Amer J Surg.* 1986, 152: 376-85
120. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A, Tsang S, Coplan KA, Scanlan MJ, Old LJ. Serological analysis of Melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proc Natl Acad Sci.* 1996, 93: 5915-9.
121. Coulie PG, Brichard V, Van Pel A, Wölfel T, Schneider J, Traversari C, Mattei S, De Plaen E, Lurquin C, Szikora JP, Renauld JC, Boon T. A new gene coding for a

- differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. *J Exp Med.* 1994, 180: 35-42.
122. Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, Robbins PF, Rivoltini L, Topalian SL, Miki T, Rosenberg SA. Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor. *Proc Natl Acad Sci, USA.* 1994, 91: 3515-9.
 123. Goddard MJ, Wilson B, Grant JW. Comparison of commercially available cytokeratin antibodies in normal and neoplastic adult epithelial and non-epithelial tissues. *J Clin Pathol.* 1991, 44: 660–3.
 124. Prieto VG, Lugo J, McNutt NS. Intermediate- and low-molecular-weight keratin detection with the monoclonal antibody MNF 116. An immunohistochemical study on 232 paraffin-embedded cutaneous lesions. *J Cutan Pathol.* 1996, 23: 234–41.
 125. Heyderman E, Strudley I, Powell G, Richardson TC, Cordell JL, Mason DY. A new monoclonal antibody to epithelial membrane antigen (EMA) – E29. A comparison of its immunocytochemical reactivity with polyclonal anti-EMA antibodies and with another monoclonal antibody, HMFG-2. *Br J Cancer.* 1985, 52: 355-61.
 126. Sloane JP, Ormerod MG. Distribution of epithelial membrane antigen in normal and neoplastic tissues and its value in diagnostic tumor pathology. *Cancer* 1981, 47: 1786-95.
 127. Felgar RE, Salhany KE, Macon WR, Pietra GG, Kinney MC. The expression of TIA-1+ cytolytic-type granules and other cytolytic lymphocyte-associated markers in CD30+ anaplastic large cell lymphomas (ALCL): correlation with morphology, immunophenotype, ultrastructure, and clinical features. *Hum Pathol.* 1999, 30: 228-36.
 128. Kagami Y, Suzuki R, Taji H, Yatabe Y, Takeuchi T, Maeda S, Kondo E, Kojima M, Motoori T, Mizoguchi Y, Okamoto M, Ohnishi K, Yamabe H, Seto M, Ogura M, Koshikawa T, Takahashi T, Kurita S, Morishima Y, Suchi T, Nakamura S. Nodal cytotoxic lymphoma spectrum. A clinicopathologic study of 66 patients. *Am J Surg Pathol.* 1999, 23: 1184-200.
 129. Pinkus GS, Kurtin PJ. Epithelial membrane antigen – a diagnostic discriminant in surgical pathology. Immunohistochemical profile in epithelial, mesenchymal, and hematopoietic neoplasms using paraffin sections and monoclonal antibodies. *Hum Pathol.* 1985, 16: 929-40.

130. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker H-H, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol.* 1984, 133: 1710-5.
131. Gerdes J, Li L, Schlueter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach C, Stahmer I, Kloth S, Brandt E, Flad HD. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol.* 1991, 138: 867-73.
132. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000, 182: 311-22.
133. Key G, Kubbutat MH, Gerdes J. Assessment of cell proliferation by means of an enzyme-linked immunosorbent assay based on the detection of the Ki-67 protein. *J Immunol Methods.* 1994, 177: 113-7.
134. Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D, Vogelstein B, Craig RW. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res.* 1991, 51: 6304-11.
135. Pollock RE. Molecular determinants of soft tissue sarcoma proliferation. *Semin Surg Oncol.* 1994, 10: 315-22.
136. Nieder C, Petersen S, Petersen C, Thames HD. The challenge of p53 as prognostic and predictive factor in Hodgkin's or non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol.* 2001, 80: 2-8.
137. Vojtěšek B, Bártek J, Midgley CA, Lane DP. An immunochemical analysis of the human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *J Immunol Methods.* 1992, 151: 237-44.
138. Bártek J, Bártková J, Vojtěšek B, Stasková Z, Lukás J, Rejthar A, Kovarik J, Midgley CA, Gannon JV, Lane DP. Aberrant expression of the p53 oncoprotein is a common feature of a wide spectrum of human malignancies. *Oncogene.* 1991, 6: 1699-703.
139. Ramael M, Lemmens G, Eerdeken C, Buysse C, Deblier I, Jacobs W, van Marck E. Immunoreactivity for p53 protein in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium. *J Pathol.* 1992, 168: 371-5.

8. STRESZCZENIE

Mięsaki są nowotworami złośliwymi, wywodzącymi się z mezodermy (tkanka łączna, tkanka tłuszczowa, tkanka mięśniowa, naczynia krwionośne i limfatyczne, błona maziowa, międzybłonek, tkanka kostna, tkanka chrzęstna) i częściowo z ektodermy (obwodowy układ nerwowy).

Duża heterogenność i skomplikowana biologia tych nowotworów była przez długie lata przyczyną zmian w nomenklaturze oraz w klasyfikacjach, co do tej pory jest w niejednolity sposób traktowane przez różnych autorów.

Celem pracy było sprawdzenie zależności okresów remisji i czasów przeżycia od następujących cech badanych przypadków: płeć, wiek, średnica guza, przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych, margines chirurgiczny, stopień złośliwości histologicznej (wg Hajdu i wg FNCLCC), ekspresja p53 i Ki-67 w komórkach nowotworowych guza, pooperacyjna radioterapia.

Materiał tkankowy stanowiły mięsaki głowy i szyi leczone operacyjnie w latach 1994-2003 w Katedrze i Klinice Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej oraz w Katedrze i Klinice Chirurgii Szcękowo-Twarzowej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Nowotwory te zostały rozpoznane w Pracowni Biopsyjnej Katedry Patomorfologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Rozpoznane w tym okresie guzy ($n = 24$) były reprezentowane przez mięsaki tkanek miękkich ($n = 21$) oraz przez mięsaki kości i chrząstek ($n = 3$). Analizie morfologiczno-klinicznej zostały poddane mięsaki tkanek miękkich, natomiast mięsaki kości i chrząstek zostały z przyczyn obiektywnych wykluczone z dalszej analizy (brak danych na temat okresów remisji i czasów przeżycia w 2 przypadkach).

Wykonano powtórny ocenę histologiczną poprzednio rozpoznanych mięsaków, uzupełniając w miarę potrzeby badania histologiczne i immunohistochemiczne.

Rozpoznano następujące rodzaje mięsaków: mięsak polimorficzny niezróżnicowany ($n=6$), postać naczyniowa guza fibrohistiocytarnego ($n=2$), guz złośliwy osłonek nerwów obwodowych ($n=5$), mięsak mięśni poprzecznie prążkowanych zarodkowy ($n=1$), mięsak mięśni poprzecznie prążkowanych pęcherzykowy ($n=1$), włókniakomięsak dorosłych ($n=1$), nerwiak węchowy niedojrzały ($n=1$), przyzwojak złośliwy ($n=1$), obłoniak ($n=1$), mięsak

Ewinga (n=1), mięsak maziówkowy (n=1). Najczęstszą lokalizacją guzów był masyw szczękowo-sitowy.

Oceniono złośliwość histologiczną mięsaków (wg skali Hajdu i wg skali FNCLCC) oraz oceniono ekspresję markerów Ki-67 i p53 w komórkach nowotworowych. Przeanalizowano również rodzaj zastosowanego leczenia i jego skuteczność.

Wykazano trzy zmienne niezależne, które były rokowniczo niepomyślne w analizie jednocechowej RFS (przeżycie wolne od nawrotu choroby), DSS (przeżycie swoiste dla choroby), OS (przeżycie całkowite). Do zmiennych tych należały: pozytywny margines chirurgiczny, złośliwość histologiczna G3 (wg FNCLCC) oraz ekspresja Ki-67 w >20% komórek nowotworowych guza.

W przeprowadzonej następnie analizie wielocechowej (model proporcjonalnego hazardu Coxa) zbadano równoczesny wpływ każdej z powyższych trzech zmiennych na RFS, DSS, OS. Bardzo dużą wartość rokowniczą względem długości pooperacyjnej remisji miał margines chirurgiczny usuniętego „w bloku” guza. W analizie wielocechowej potwierdzono również istotną zależność przeżycia (DSS, OS) od złośliwości histologicznej wg klasyfikacji FNCLCC.

Na uwagę zasługuje prognostyczne znaczenie markera proliferacji Ki-67. Zależność długości pooperacyjnej remisji od ekspresji Ki-67 w >20% komórek nowotworowych guza, była w naszym materiale na granicy poziomu istotności. Natomiast współwystępowanie tak nasilonej ekspresji Ki-67 ze stopniem G3 złośliwości histologicznej mięsaka (wg FNCLCC), korelowało z krótszymi okresami remisji i z krótszymi czasami przeżycia.

Summary

Morphological-clinical analysis of head and neck soft tissue sarcomas

Sarcomas are malignant neoplasm deriving from mesoderm (connective tissue, adipose tissue, muscular tissue, blood and lymph vessels, synovial membrane, mesothelium, bone tissue, cartilaginous tissue) and partly from ectoderm (peripheral nervous system). Their highly heterogeneous and complex biology has for a long time been a frequent root of changes in both the nomenclature as well as the classification systems, which is still treated with high degree of diversity by numerous authors.

The primary aim of this paper was to check the dependence of remission periods and survival times on the following characteristics of the cases studied: gender, age, tumor diameter, metastases into regional lymph nodes, surgical margin, histological grading of soft tissue sarcomas (according to Hajdu and FNCLCC grading systems), expression p53 and Ki-67 in the tumor neoplastic cells and, finally, post-surgical radiotherapy.

Tissue material constituted of head and neck soft tissue sarcomas, which were treated surgically between the years of 1994 and 2003 in the Chair and Department of Otolaryngology and Laryngological Oncology and the Chair and Department of Maxillo-Facial Surgery, both based in Poznan Medical University. The sarcomas were diagnosed in the Biopsy Laboratory of the Chair of Clinical Pathomorphology of the Poznan Medical University.

The tumors diagnosed in this period (n=24) were represented by head and neck soft tissue sarcomas (n=21) and bone and cartilage sarcomas (n=3). The soft tissue sarcomas have undergone a morphological-clinical analysis; the bone and cartilage sarcomas, however, have been excluded from further analysis for objective reasons (there was no data on remission periods and survival times in 2 cases).

Second histological diagnosis of the previously diagnosed sarcomas was carried out; this time, in some cases, additionally reinforced with histological and immunohistochemical examination.

The following types of sarcomas were recognized: undifferentiated pleomorphic sarcoma (pleomorphic MFH) (n=6), angiomatoid fibrous histiocytoma (angiomatoid MFH) (n=2), malignant peripheral nerve sheath tumor (n=5), embryonal rhabdomyosarcoma (n=1),

alveolar rhabdomyosarcoma (n=1), adult fibrosarcoma (n=1), olfactory neuroblastoma (n=1), malignant paraganglioma (n=1), haemangiopericytoma (n=1), Ewing sarcoma (n=1), synovial sarcoma (n=1). The tumors were most frequently located in the maxillo-ethmoidal region.

Histological grading of soft tissue sarcomas (according to Hajdu and FNCLCC grading systems), as well as marker expression p53 and Ki-67 in the neoplastic cells were estimated. Thorough analysis of applied treatment and its effectiveness was also conducted.

Three independent variables, which are prognostically unsuccessful in the univariate analysis RFS (relapse-free survival), DSS (disease-specific survival), OS (overall survival) have been identified. These are: positive surgical margin, histological grading of sarcomas G3 (according to FNCLCC) and expression Ki-67 in >20% of tumor neoplastic cells.

In the subsequent multivariate analysis (model of proportional hazard by Cox) the simultaneous influence of the above variables on the RFS, DSS and OS was examined.

Surgical margin of the excision tumor “in the block” exhibited a very high prognostic value with respect to the length of post-surgical treatment remission. Multivariate analysis has also proven an essential dependence of survival (DSS, OS) on histological grading according to FNCLCC.

Prognostic importance of the proliferation marker Ki-67 must also be emphasized. The dependence of post-surgical treatment remission on expression Ki-67 in >20% of tumor neoplastic cells was present in our research material, but on the borderline significance level. On the other hand, however, coincidence of this expression Ki-67 along with histological grading of sarcomas G3 (according to FNCLCC) correlated with shorter remission periods and shorter survival times.

ZAŁĄCZNIK NR 1:

**CHARAKTERYSTYKA MARKERÓW OCENIANYCH W BADANIACH
IMMUNOHISTOCHEMICZNYCH**

I. Markery komórek pochodzenia histiocytarnego:

1) Alfa-1-antytrypsyna.

Glikoproteina o masie 51 kDa, produkowana i wydzielana do osocza przez hepatocyty. Jej synteza odbywa się również w monocytach i w limfocytach [63, 64, 65, 66]. Obecna jest w komórkach wątroby, w histiocytach i w monocytach oraz w różnych guzach zróżnicowanych w kierunku komórek nabłonkowych i mezenchymalnych [63, 64, 65, 66, 67, 68].

Dla komórek znakowanych przeciwciałem przeciw alfa-1-antytrypsynie charakterystyczny jest cytoplazmatyczny wzór ekspresji.

2) Alfa-1-antychymotrypsyna.

Glikoproteina o masie cząsteczkowej 68 kDa, produkowana przez hepatocyty. Jako enzym proteolityczny neutralizuje działanie katepsyny G pochodzącej z leukocytów. Występuje w komórkach gruczołu pęcherzykowego trzustki, w hepatocytach, w komórkach nabłonka przewodów żółciowych wątroby, w komórkach nabłonkowych błony śluzowej żołądka, w gruczołach Brunnera dwunastnicy, w komórkach nabłonka kanalików bliższych nerek, w komórkach gruczołów ślinowych i komórkach nabłonkowych przewodów ślinianek [69].

W węzłach chłonnych glikoproteina ta obecna jest również w histiocytach miazgi, w histiocytach zatokowych, w komórkach wyściełających zatok, w komórkach nabłonkowych i w komórkach tłuszczowych [70]. Do tkanek patologicznych, znakowanych przez przeciwciało przeciw α -1-antychymotrypsynie należą głównie guzy pochodzenia histiocytarnego [71]. Marker ten występuje również w nowotworach o niehistiocytarnym pochodzeniu, w wielu mięsakiach, chłoniakach i rakach [68, 69, 71].

Komórki znakowane przeciwciałem przeciw alfa-1-antychymotrypsynie wykazują cytoplazmatyczny wzór ekspresji.

3) CD68.

Silnie glikolizowana, lizosomalna proteina błonowa o masie cząsteczkowej 110 kDa. Jest plazmatycznym białkiem przechodzącym przez błonę i biorącym udział w procesie endocytozy i/lub przemieszczaniu lizosomów. Występuje w monocytach krwi obwodowej, w granulocytach obojętnochłonnych i zasadochłonnych, w komórkach NK, we wszystkich makrofagach tkankowych i mastocytach. CD68 jest charakterystyczne dla ostrych białaczek szpikowych typu M4 i M5, dla mięsaka histiocytarnego, dla guza ziarnistokomórkowego Abrikosowa, dla olbrzymiokomórkowych nowotworów kości oraz dla mastocytozy [72, 73, 74]. Rzadziej występuje w raku jasnokomórkowym nerki, w glejakach i w oponiakach oraz bardzo rzadko w czerniakach [72].

Komórki znakowane przeciwciałem przeciw CD68 wykazują cytoplazmatyczny wzór ekspresji.

4) Czynniki XIIIa (F XIIIa).

F XIIIa (dimer o masie cząsteczkowej 160 kDa) jest aktywowaną postacią czynnika XIII, obecnego w osoczu krwi. Poza osoczem F XIIIa występuje w histiocytych, w komórkach dendrytycznych oraz może być obecny w komórkach nowotworowych [75, 76, 77, 78].

Komórki znakowane przeciwciałem przeciw czynnikowi XIIIa wykazują cytoplazmatyczny wzór ekspresji.

II. Markery mięśniowe:

1) Desmina.

Białko o ciężarze cząsteczkowym 53 kDa, należące do klasy III filamentów pośrednich, które tworzą sieć cytoszkieletową w poprzek włókna mięśniowego [79]. Desmina jest bardzo charakterystycznym markerem dla mięśniaków i mięsaków gładkokomórkowych [80, 81, 82, 83]. Rzadziej występuje w mięśniakach z mięśni poprzecznie prążkowanych [80] oraz w międzybłoniakach [84]. Rzadko jest obecna w nowotworach zrębu przewodu pokarmowego (GIST) [82] i w obłoniakach [85]. Komórki znakowane przeciwciałem przeciw desminie wykazują cytoplazmatyczny wzór ekspresji, która może mieć charakter włókienkowy.

2) SMA (aktyna mięśni gładkich).

Aktyny należą do układu cytoplazmatycznych mikrofilamentów białek cytoszkieletu. Występują trzy następujące izoformy alfa aktyny: izoforma alfa mięśnia szkieletowego, izoforma alfa mięśnia sercowego oraz izoforma alfa mięśnia gładkiego [86]. Aktyny beta i gamma mogą występować w większości innych typów komórek organizmu (w komórkach niemięśniowych). Charakterystyczna jest obecność SMA w mięśniakach gładkokomórkowych, mięśniakomięśniakach gładkokomórkowych [87] oraz w komórkach nabłonkowych niektórych gruczolaków [88]. Występuje rzadziej w mięśniakomięśniakach prążkowano-komórkowych i bardzo rzadko w mięśniakach z tzw. grupy HFM [86]. Rzadko stwierdza się ogniskową ekspresję aktyn w obłoniakach [85].

Komórki znakowane przeciwciałem przeciw SMA wykazują cytoplazmatyczny wzór ekspresji.

3) Mioglobina.

Białko o ciężarze cząsteczkowym 17053 Da, które występuje we włóknach mięśniowych typu 1 i 2.

III. Marker naczyniowy:

1) CD34.

Jednołańcuchowe białko przezbłonowe o ciężarze cząsteczkowym ok. 116 kDa. Ekspresja tego markera może być wykazana na niedojrzałych komórkach hematopoetycznych pnia/progenitorowych, w komórkach śródbłónki naczyniowej, w embrionalnych fibroblastach i rzadko na komórkach glejowych. CD34 jest obecne na powierzchni komórek tkanek zdrowych, takich jak: naczynia włosowate większości tkanek, żyła i tętnice pępkowe. Białko to występuje również na powierzchni komórek tkanek patologicznych, a mianowicie: proliferujących naczyń, naczynek, mięsaków naczyniowych oraz większości komórek mięsaka Kaposiego. CD34 stwierdza się również na komórkach guzów wrzecionowato-komórkowych nie wywodzących się z naczyń [89].

Komórki znakowane przeciwciałem przeciw CD34 wykazują ekspresję ograniczoną do powierzchni błony komórkowej.

IV. Markery nerwowe:

1) S100.

S 100 jest grupą białek o masie cząsteczkowej 9-13 kDa, obejmującą 19 białek wykazujących zróżnicowaną ekspresję w wielu rodzajach komórek. Białka S100 biorą udział w proliferacji komórek (w tym w transformacji nowotworowej) oraz w różnicowaniu się komórek [90]. S100B (uprzednio S100β) cechuje się wyraźną ekspresją w komórkach neurogleju centralnego i obwodowego układu nerwowego, w melanocytach, w chondrocytach oraz w adipocytach. Ponadto S100B występuje w komórkach nowotworowych. Natomiast S100A1 (uprzednio S100A/S100α) wykazuje silniejszą ekspresję w kardiomiocytach, w komórkach mięśni szkieletowych wolno kurczących się oraz w komórkach nabłonka ślinianek. S100A1 zostało również wykryte w neuronach zakrętu hipokampa. Ekspresję S100A6 wykazują fibroblasty oraz komórki mięśni gładkich i mięśnia sercowego [91]. Charakterystyczna jest obecność S100 w komórkach czerniaka złośliwego [92], w histiocytozie Langerhansa [93], w chrzęstniakach zarodkowych [94], w guzach osłonek nerwów obwodowych [91] oraz we

włókniakonerwiakach [91]. S100 występuje również ze zmienną częstotliwością w gruczolakorakach [95] oraz rzadko w mięśniakomięsakach prążkowanokomórkowych [96]. Komórki znakowane przeciwciałem przeciw białkom S100 wykazują ekspresję ograniczoną do cytoplazmy.

2) NSE (enolaza neuron-specyficzna).

Enolaza neuron-specyficzna (gamma-enolaza) ma masę cząsteczkową 46 kDa. Występuje w neuronach ludzkiej kory mózgowej, w jądrach komórek pnia mózgu, w komórkach zwojów nerwowych, we włóknach nerwowych mielinowych i niemyelinowych [97]. Występuje również u mężczyzn w spermatogoniach jąder [98]. Oznakowanie przez przeciwciała przeciw NSE jest charakterystyczne dla nowotworów wywodzących się z lub zawierających neurony, komórki zwojów nerwowych i nerwy obwodowe. NSE jest również charakterystycznym markerem nowotworów, które nie pochodzą z neuronów, a mianowicie: oponiaków, skąpodrzewiaków, gruczolaków przysadki mózgowej, nerwiaków, wyściółczaków, oponiakomięsaków, glejakomięsaków, czerniaków, drobnokomórkowych nowotworów płuc, nowotworów zarodkowych (np. potworniaki jąder *in situ*, nasieniaki, raki zarodkowe) [97, 98, 99].

Komórki znakowane przez przeciwciała przeciw NSE wykazują cytoplazmatyczny oraz jądrowy wzór ekspresji. W neuronach do znakowania dochodzi zarówno w cytoplazmie, jak i w wypustkach.

V. Markery neuroendokrynne:

1) PGP9.5 (białkowy produkt genu 9.5).

Białko cytoplazmatyczne o masie cząsteczkowej 24,8 kDa. Cechuje się wysoką ekspresją w neuronach kręgowych i komórkach neuroendokrynnych, gdzie stanowi 1-5% wszystkich rozpuszczalnych białek. Charakterystyczna jest obecność PGP9.5 w tkance nerwowej mózgu, w komórkach wysp trzustkowych i w komórkach neuroendokrynnych okrężnicy.

PGP9.5 występuje w drobnokomórkowych rakach płuc, w międzybłoniakach, w raku rdzeniastym tarczycy, w nowotworach z komórek wysp trzustkowych, w gruczolakach przysadki mózgowej, w nerwiakach, w guzach złośliwych osłonek nerwów obwodowych, w gwiaździakach, w przyzwojakach, w nerwiakach niedojrzałych, w rakowiakach oraz czasami w guzach zrębu przewodu pokarmowego (GIST) [100].

Komórki znakowane przeciwciałem przeciw PGP9.5 wykazują cytoplazmatyczny wzór ekspresji.

2) Synaptofizyna.

Błonowa glikoproteina o masie cząsteczkowej 38 kDa, będąca składnikiem małych synaptycznych pęcherzyków (SSV - *Small Synaptic Vesicles*) zakończeń nerwowych oraz małych pęcherzyków wielopostaciowych zlokalizowanych w komórkach neuronendokrynych. Charakterystyczne jest występowanie synaptofizyny w presynaptycznych pęcherzykach mózdzku, w podśluzówkowych splotach nerwów błony mięśniowej okrężnicy, w komórkach neuronendokrynych rdzenia nadnerczy, trzustki i błony śluzowej okrężnicy [101, 102]. Synaptofizyna jest również obecna w nerwiakach przyzwojowych a także w rakowiakach [101].

Komórki znakowane przeciwciałem przeciw synaptofizynie, wykazują ekspresję cytoplazmatyczną, czasami ze wzorem nakrapianym lub ziarnistym.

3) Chromogranina.

Chromogranina A jest prohormonem białkowym o masie cząsteczkowej 48 kDa. Jest obecna w ziarnistościach wydzielniczych komórek wydzielania wewnętrznego większości narządów neuroendokrynych. Jest ważnym markerem histochemicznym, mającym szerokie spektrum działania oraz wykorzystywanym przy identyfikacji komórek i guzów neuroendokrynych [103, 104, 105]. Charakterystyczne jest występowanie chromograniny w chromochłonnych guzach rdzenia nadnerczy, w nerwiakach przyzwojowych, w rakach rdzeniastych tarczycy oraz w rakowiakach [106]. Rzadziej występuje w nerwiakach niedojrzałych oraz w guzach z komórek wysp trzustkowych [107].

Komórki znakowane przeciwciałem przeciw chromograninie wykazują cytoplazmatyczny (ziarnisty) wzór ekspresji.

VI. Inne markery występujące w mięsach:

1) Wimentyna.

Jest białkiem włókna pośredniego (IF) o masie 57 kDa, które jest częścią struktur podporowych komórek [108]. Występuje w większości komórek mezenchymalnych (fibroblasty, adipocyty, komórki mięśni gładkich, komórki śródbłonna naczyń), w komórkach nerwów obwodowych (komórki Schwanna), w astrocytach, w makrofagach, w mięśniowo-nabłonkowych komórkach gruczołów potowych, ślinowych, sutkowych, w komórkach pęcherzykowych tarczycy, w komórkach trzustki, w komórkach cewek nerkowych dalszych, w mezangialnych i śródbłonkowych komórkach kłębuszków nerkowych, w komórkach kory nadnerczy, [108, 109]. Wimentyna jest również obecna w tylnych i przednich nabłonkach

pigmentowanych tęczówki [110]. Charakterystyczne jest występowanie niniejszego markera w mięsakach, w czerniakach, w oponiakach. Rzadziej występuje w rakach (w tym w rakach neuroendokrynnych), w niedojrzałych nerwiakach, w grasiczakach oraz w międzybłonniakach [109]. Najbardziej charakterystyczna jest obecność wimentyny w prawidłowych oraz nowotworowo zmienionych komórkach pochodzenia mezenchymalnego.

Komórki oznakowane przez przeciwciała przeciwko wimentynie wykazują cytoplazmatyczny wzór ekspresji.

2) Bcl2.

Onkoproteina o masie cząsteczkowej 26 kDa, blokująca apoptotyczną śmierć komórek [111]. Znajduje się po stronie cytoplazmatycznej zewnętrznej błony mitochondriów, siateczki endoplazmatycznej i otoczki jądrowej [112, 113]. Bcl2 występuje w limfocytach krwi obwodowej, w tkankach limfatycznych (w niewielkich limfocytach stref płaszczu i obszarów komórek T oraz w nielicznych komórkach ośrodków rozmnażania), w limfocytach grasicy, w komórkach miazgi czerwonej oraz w obszarach T i B śledziony [114]. Występuje również w migdałkach (limfocyty w obwodowej strefie płaszczu, limfocyty w przestrzeni międzygrudkowej oraz w komórkach nabłonka warstwy przypodstawnej). Charakterystyczna jest obecność bcl2 w obłoniakach, w mięsakach maziówkowych [115], w guzach pochodzenia mięśniowego [116], w przewlekłej białaczce limfatycznej i w chłoniakach [114, 117].

Komórki znakowane przez przeciwciała przeciw bcl2 wykazują cytoplazmatyczny wzór ekspresji.

VII. Markery charakterystyczne dla czerniaka:

1) Melanosomy (ciałka melaninowe).

Są to organelle melanocytów występujące w prawidłowych melanocytach oraz w zmianach znamieniowych i w czerniakach [118, 119].

2) Melan A

Białko przezbłonowe, składające się ze 118 aminokwasów [120]. Jego ekspresja jest charakterystyczna dla komórek barwnikowych. Występuje również w skórze i w siatkówce. Jest swoistym antygenem dla czerniaka złośliwego, jednak jego ekspresja jest również charakterystyczna dla angiomyolipoma [120, 121, 122].

VIII. Markery nabłonkowe:

1) Cytokeratyny.

Białka złożone z wielogenowej rodziny polipeptydów o masie cząsteczkowej od 40 do 68 kDa. Należą do włókien pośrednich tworzących cytoszkielet komórek eukariotycznych. Są najważniejszym markerem nabłonkowym, wykorzystywanym przy diagnostyce zdrowych i nowotworowych komórek pochodzenia nabłonkowego [123, 124]. Komórki znakowane przeciwciałem przeciwko cytokeratynom wykazują cytoplazmatyczny wzór ekspresji.

2) EMA (antygen błon komórkowych nabłonka).

Antygen błony nabłonkowej należący do heterogennej populacji białek kulek tłuszczu ludzkiego mleka (HMFG) [125]. Białka te występują również w komórkach nabłonkowych i mezotelialnych [126]. Charakterystyczne jest występowanie EMA w nowotworach nabłonkowych oraz w międzybłoniakach. Rzadziej występuje w nowotworach tkanek miękkich, w nowotworach wewnątrzczaszkowych (z większością pozytywnych reakcji w przypadkach maziówczaków, międzybłoniaków, nowotworów naczyńówki oka) oraz w chłoniakach [127, 128].

W prawidłowych nabłonkach wydzielniczych reakcja występuje głównie na powierzchni. W nowotworach najbardziej powszechnym jest barwienie cytoplazmatyczne i wierzchołkowe błony luminalnej, rzadziej występuje barwienie błony obwodowej części komórek [129].

IX. Marker aktywności mitotycznej:

1) Ki-67.

Białko jądrowe posiadające dwie izoformy o masach cząsteczkowych 345 i 395 kDa [130, 131]. Ekspresja antygeny Ki-67 występuje w czasie wszystkich faz aktywnych cyklu komórkowego (G1, S, G2, M) oraz nie występuje w komórkach nieaktywnych (faza G0) [130]. W okresach pomiędzy fazami antygen może być wykrywany wyłącznie w obrębie jądra, natomiast w trakcie mitozy większość białka jest przemieszczona na powierzchnię chromosomów i do cytoplazmy. Antygen ulega szybkiemu rozkładowi w okresie, w którym komórka wchodzi w stan nieproliferacyjny [132]. Brak ekspresji Ki-67 jest również charakterystyczny dla okresu naprawy DNA [133].

Stopień ekspresji Ki-67 jest proporcjonalny do intensywności proliferacji w badanym materiale tkankowym (tkanek zdrowych oraz patologicznych). Komórki oznaczone przez przeciwciało przeciw Ki-67 wykazują jądrowy wzór ekspresji, z wyjątkiem komórek mitotycznych, w których znakowane są chromosomy i cytoplazma.

X. Marker transformacji nowotworowej.

1) Białko p53.

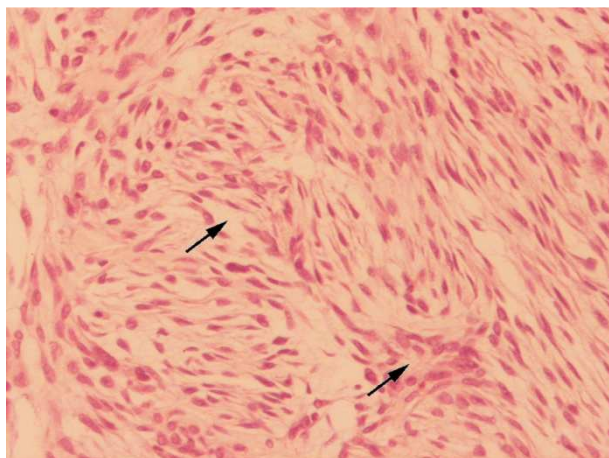
Fosfoproteina jądrowa o masie cząsteczkowej 53 kDa, która w zdrowych komórkach nazywana jest białkiem p53 „typu dzikiego”. Posiada funkcję kofaktora transkrypcji, tzn. jest modulatorem, który może włączać lub wyłączać transkrypcję ważnych genów poprzez zahamowanie w fazie G1 komórek z uszkodzonym DNA [134, 135]. Poza hamowaniem replikacji DNA i regulacją apoptozy, jest również cząsteczką dającą sygnał ku przejściu do kolejnego etapu cyklu komórkowego [136]. W badaniach z użyciem transfekcji białko p53 „typu dzikiego” zachowuje się jak supresor rozwoju guza, natomiast zmutowane P53 zachowuje się jak dominujący onkogen powodujący transformację nowotworową [137]. „Typ dziki” p53 cechuje się bardzo krótkim okresem półtrwania i z tego powodu występuje w komórce w bardzo małych ilościach, zwykle poniżej progu wykrywalności metodami immunocytochemicznymi [137].

Mutacje somatyczne genu kodującego białko p53, są częste w ludzkich nowotworach i powodują translację nieprawidłowego białka p53, które cechuje się znacznie większą stabilnością niż p53 „typu dzikiego”. Następstwem tego jest akumulacja w komórce patologicznego białka p53, wykrywanego metodami immunocytochemicznymi [53, 136, 137, 138, 139].

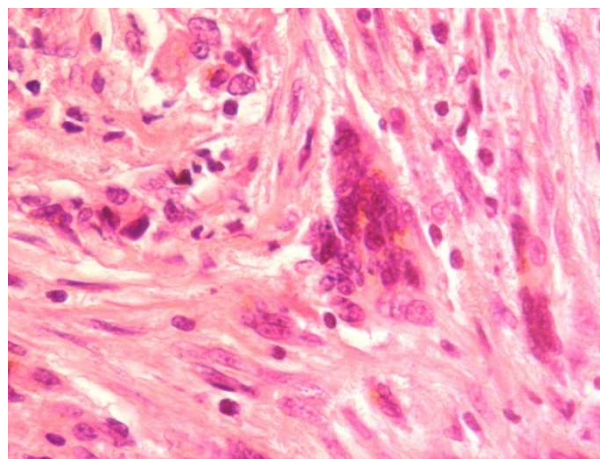
Komórki znakowane przeciwciałem przeciwko białku p53 prezentują zwykle jądrowy wzór ekspresji, ale możliwa jest również ekspresja cytoplazmatyczna [137].

ZAŁĄCZNIK NR 2:

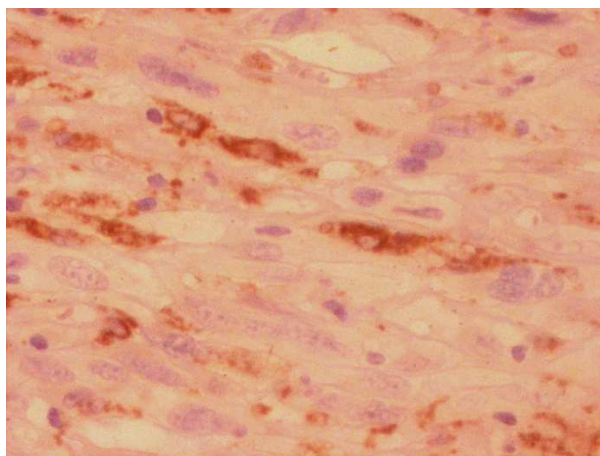
DOKUMENTACJA FOTOGRAFICZNA



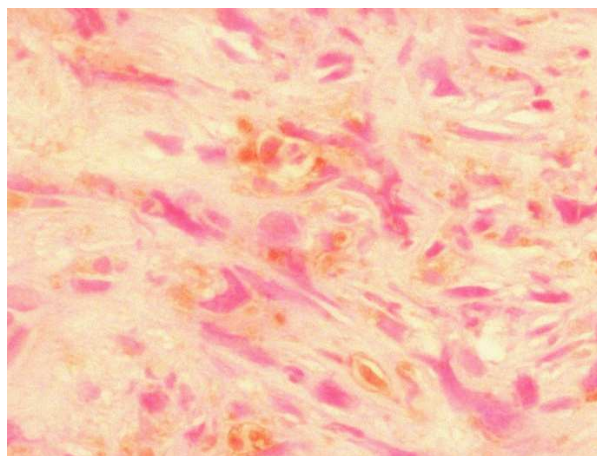
Fot. 1



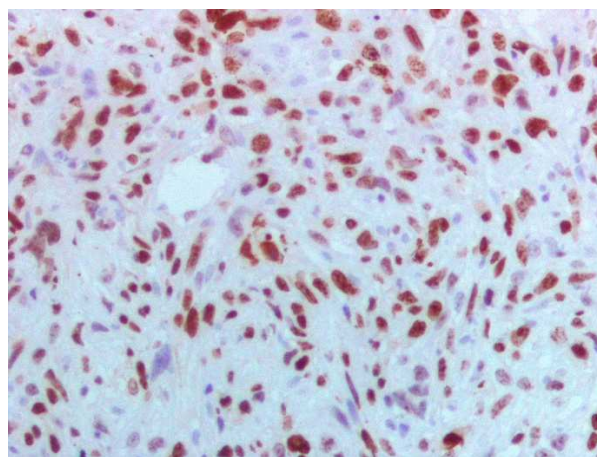
Fot. 2



Fot. 3



Fot. 4



Fot. 5

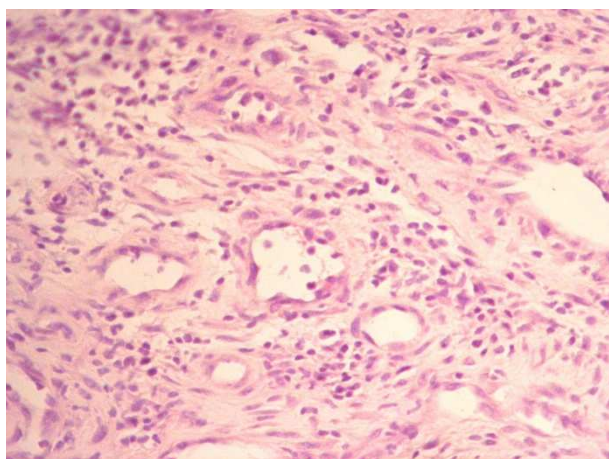
Fot. 1. Mięsak polimorficzny niezróżnicowany (łac. tzw. *histiocyoma fibrosum malignum polymorphum*) – wg WHO (ang.) *undifferentiated pleomorphic sarcoma*. Widoczny układ wirowy (strzałki). HE, x20.

Fot. 2. Mięsak polimorficzny niezróżnicowany (łac. tzw. *histiocyoma fibrosum malignum polymorphum*) – wg WHO (ang.) *undifferentiated pleomorphic sarcoma*. Komórki nowotworowe z cechami polimorfizmu, pojedyncze, olbrzymie wielojądrzaste. HE, x80.

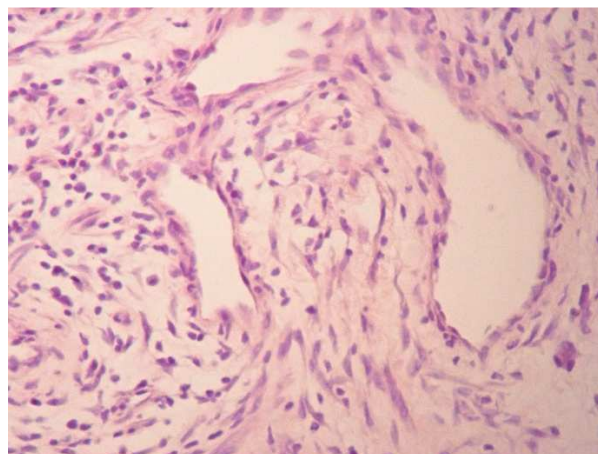
Fot. 3. Mięsak polimorficzny niezróżnicowany (łac. tzw. *histiocyoma fibrosum malignum polymorphum*) – wg WHO (ang.) *undifferentiated pleomorphic sarcoma*. Ekspresja CD68 (oceniona na: ++), x80.

Fot. 4. Mięsak polimorficzny niezróżnicowany (łac. tzw. *histiocyoma fibrosum malignum polymorphum*) – wg WHO (ang.) *undifferentiated pleomorphic sarcoma*. Ekspresja alfa-1-antychymotrypsyny (oceniona na: ++), x80.

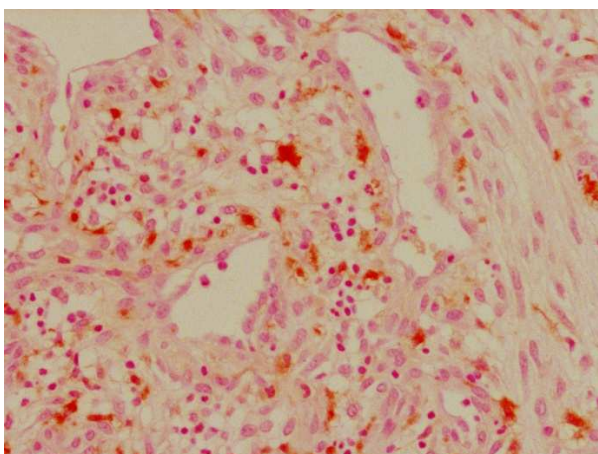
Fot. 5. Mięsak polimorficzny niezróżnicowany (łac. tzw. *histiocyoma fibrosum malignum polymorphum*) – wg WHO (ang.) *undifferentiated pleomorphic sarcoma*. Ekspresja Ki-67 w licznych komórkach nowotworowych (oceniona na: ++++), x80.



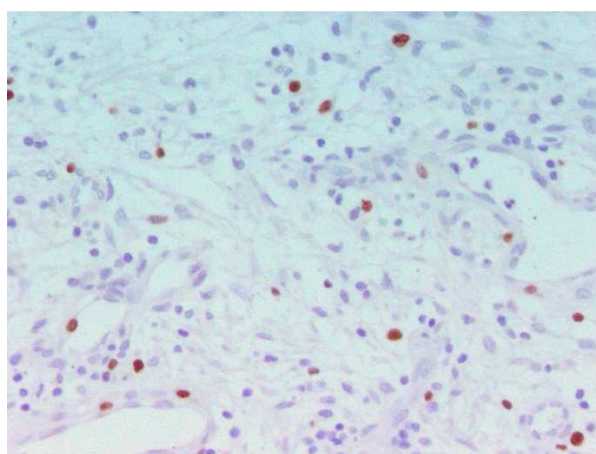
Fot. 6



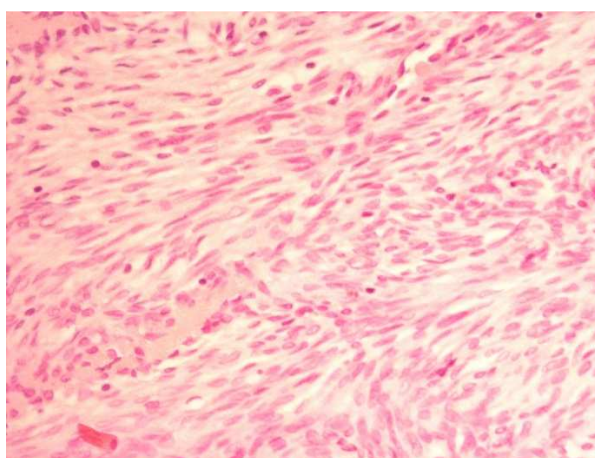
Fot. 7



Fot. 8



Fot. 9



Fot. 10

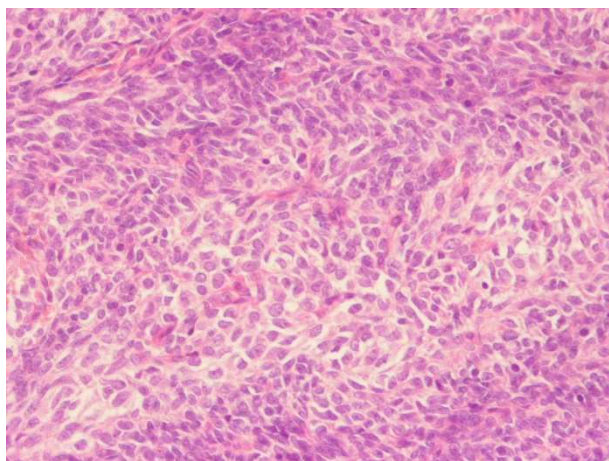
Fot. 6. Postać naczyniowa guza fibrohistiocytarnego (łac. tzw. *histiocytoma fibrosum malignum angiomatodes*) – wg WHO (ang.) *angiomatoid fibrous histiocytoma*. Światła naczyń wyścielone prawidłowym śródbłonkiem, w otoczeniu naczyń nowotworowe komórki. HE, x20.

Fot. 7. Postać naczyniowa guza fibrohistiocytarnego (łac. tzw. *histiocytoma fibrosum malignum angiomatodes*) – wg WHO (ang.) *angiomatoid fibrous histiocytoma*. Światła naczyń wyścielone prawidłowym śródbłonkiem, w otoczeniu naczyń nowotworowe komórki. HE, x40.

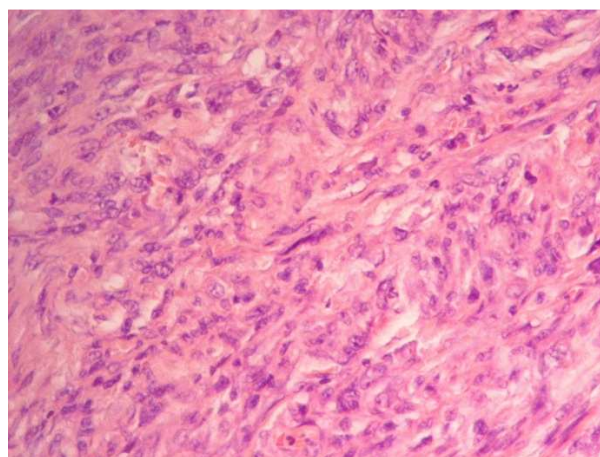
Fot. 8. Postać naczyniowa guza fibrohistiocytarnego (łac. tzw. *histiocytoma fibrosum malignum angiomatodes*) – wg WHO (ang.) *angiomatoid fibrous histiocytoma*. Ekspresja F XIIIa w licznych komórkach nowotworowych (oceniona na: +++), x40.

Fot. 9. Postać naczyniowa guza fibrohistiocytarnego (łac. tzw. *histiocytoma fibrosum malignum angiomatodes*) – wg WHO (ang.) *angiomatoid fibrous histiocytoma*. Ekspresja Ki-67 w pojedynczych komórkach nowotworowych (oceniona na: +), x40.

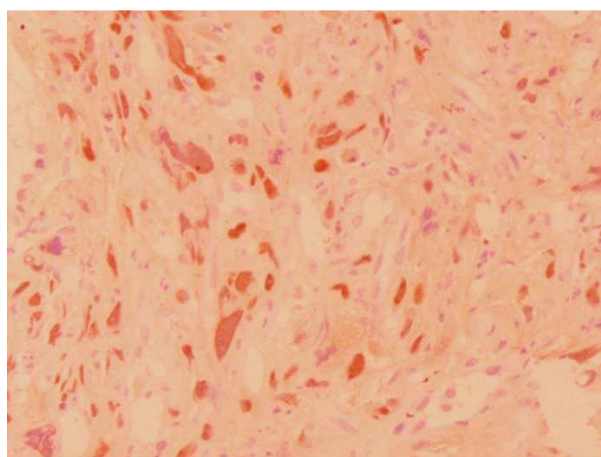
Fot. 10. Włókniakomięsak dorosłych (łac. *fibrosarcoma*) – wg WHO (ang.) *adult fibrosarcoma*. Przekroje podłużne oraz poprzeczne komórek ułożonych w wiązki. Na przekrojach podłużnych wrzecionowate komórki nowotworowe o wydłużonych jądrach. HE, x40.



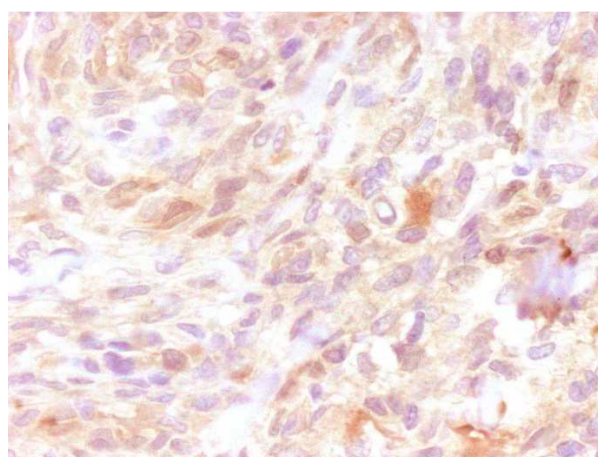
Fot. 11



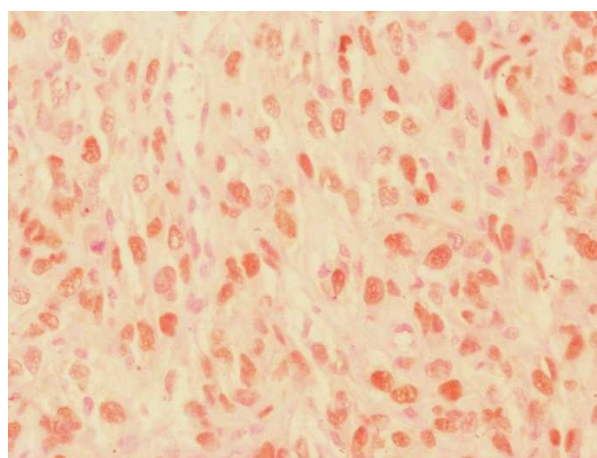
Fot. 12



Fot. 13



Fot. 14



Fot. 15

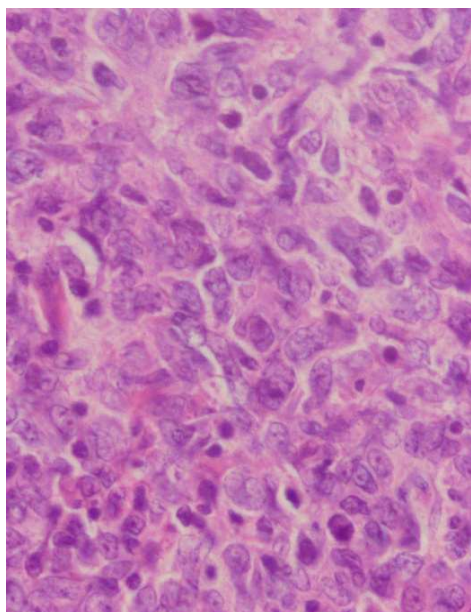
Fot. 11. Guz złośliwy osłonek nerwów obwodowych, nazywany w przeszłości nerwiakomięśakiem (łac. *neurosarcoma*) – wg WHO (ang.) *malignant peripheral nerve sheath tumor*. HE, x20.

Fot. 12. Guz złośliwy osłonek nerwów obwodowych, nazywany w przeszłości nerwiakomięśakiem (łac. *neurosarcoma*) – wg WHO (ang.) *malignant peripheral nerve sheath tumor*. Chaotyczny układ komórek z wyraźnymi cechami polimorfizmu. HE, x40.

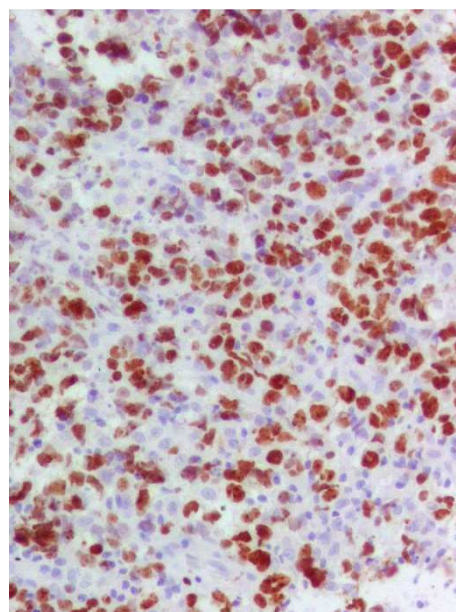
Fot. 13. Guz złośliwy osłonek nerwów obwodowych, nazywany w przeszłości nerwiakomięśakiem (łac. *neurosarcoma*) – wg WHO (ang.) *malignant peripheral nerve sheath tumor*. Ekspresja białka S100 (oceniona na: ++), x40.

Fot. 14. Guz złośliwy osłonek nerwów obwodowych, nazywany w przeszłości nerwiakomięśakiem (łac. *neurosarcoma*) – wg WHO (ang.) *malignant peripheral nerve sheath tumor*. Ekspresja PGP9.5 (oceniona na: ++), x40.

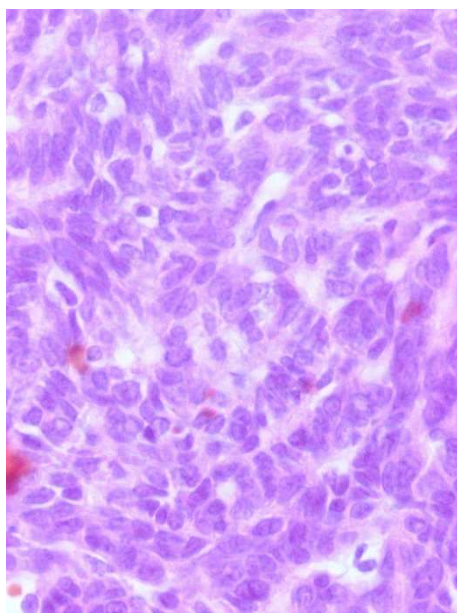
Fot. 15. Guz złośliwy osłonek nerwów obwodowych, nazywany w przeszłości nerwiakomięśakiem (łac. *neurosarcoma*) – wg WHO (ang.) *malignant peripheral nerve sheath tumor*. Ekspresja p53 w licznych komórkach nowotworowych (oceniona na: +++), x40.



Fot. 16



Fot. 17

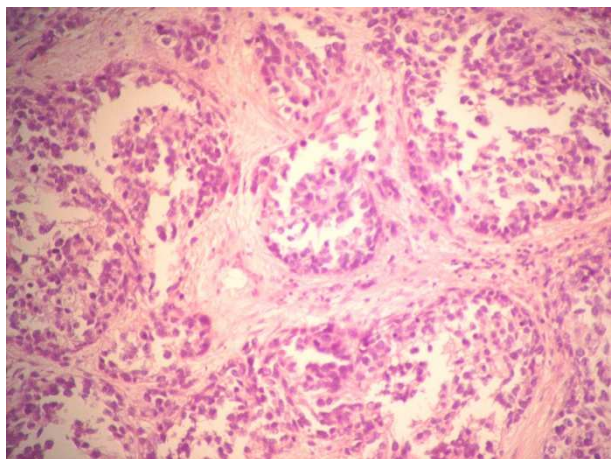


Fot. 18

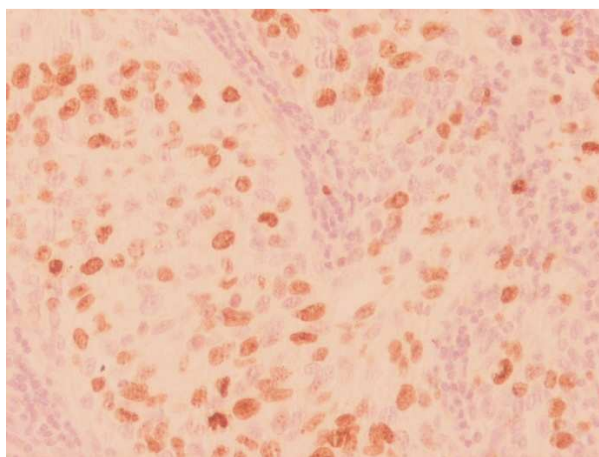
Fot. 16. Nerwiak węchowy niedojrzały (łac. *esthesioneuroblastoma*) – wg WHO (ang.) *olfactory neuroblastoma (esthesioneuroblastoma)*. Komórki o dużych jądrach oraz skąpej cytoplazmie. W niektórych jądrach komórkowych widoczne jąderka. HE, x80.

Fot. 17. Nerwiak węchowy niedojrzały (łac. *esthesioneuroblastoma*) – wg WHO (ang.) *olfactory neuroblastoma (esthesioneuroblastoma)*. Ekspresja Ki-67 (oceniona na: ++), x40.

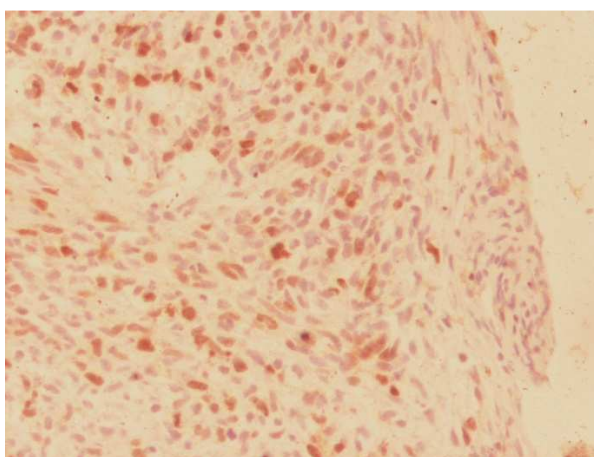
Fot. 18. Mięsak maziówkowy (łac. *sarcoma synoviale*) - wg WHO (ang.) *synovial sarcoma*. Utkanie o stosunkowo małej dojrzałości, miejscami z tendencją do wytwarzania cewek (postać epitelioidna). HE, x80.



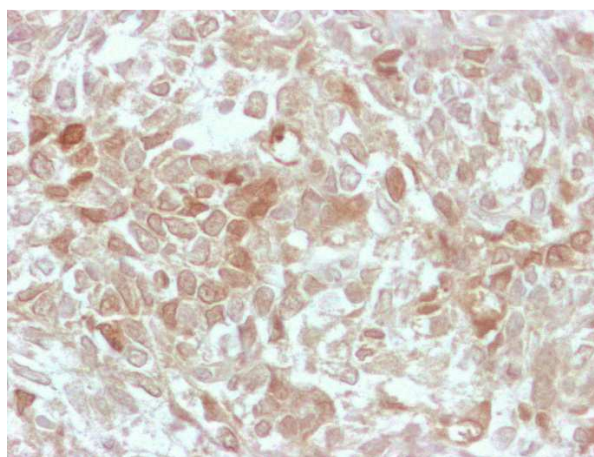
Fot. 19



Fot. 20



Fot. 21



Fot. 22

Fot. 19. Mięsak mięśni poprzecznieprążkowanych pęcherzykowy (łac. *rhabdomyosarcoma alveolare*) – wg WHO (ang.) *alveolar rhabdomyosarcoma*. Komórki ułożone w ogniska otoczone pasmami tkanki łącznej. HE, x40.

Fot. 20. Mięsak mięśni poprzecznieprążkowanych pęcherzykowy (łac. *rhabdomyosarcoma alveolare*) – wg WHO (ang.) *alveolar rhabdomyosarcoma*. Ekspresja Ki-67 (oceniona na: ++), x40.

Fot. 21. Mięsak mięśni poprzecznieprążkowanych zarodkowy (łac. *rhabdomyosarcoma embryonale*) – wg WHO (ang.) *embryonal rhabdomyosarcoma*. Ekspresja Ki-67 (oceniona na: ++), x40.

Fot. 22. Obloniak (łac. *haemangiopericytoma*) - wg WHO (ang.) *haemangiopericytoma*. Ekspresja bcl 2 (oceniona na: ++), x40.

ZAŁĄCZNIK NR 3:

DANE KLINICZNE I WYBRANE DANE MORFOLOGICZNE

Tabela 20 a. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorych, u których rozpoznano **mięsaka polimorficznego nie zróżnicowanego** – wg WHO *undifferentiated pleomorphic sarcoma (pleomorphic MFH)*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY			ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU		
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA	
1.	874007	58 lat	Ż	Nasada języka po stronie prawej	Usunięcie guza (margines negatywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G2	III	III	Dodatni – nasilenie: „+”	Dodatni – nasilenie: „+”	Jedna	Radioterapia – 1 miesiąc po operacji (fot. 9 MeV): - okolica migdałka podniebiennego i nasady języka: 60 Gy/T, - pole szyjno- obojczykowe prawe: 46 Gy/T.	+				161			
2.	966460	59 lat	Ż	Piętro górne masywu szczękowo- sitéowego po stronie lewej: - sitowie, - szczęka.	Usunięcie guza (margines pozytywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G3	III	III	Dodatni – nasilenie: „+++”	Ujemny	Jedna	Radioterapia – 1 miesiąc i 2 tygodnie po operacji (fot. 9 MeV): - okolica zatoki szczękowej lewej: 60 Gy/T.			+		6			
3.	922339	14 lat	Ż	Gardło górne, gardło środkowe, przestrzeń przygardłowa po stronie lewej.	Usunięcie guza (margines pozytywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G3	III	III	Dodatni – nasilenie: „+++”	Ujemny	Jedna	Brak		9				13		
4.	960818	51 lat	M	Krtąń.	Pobranie wycinka	+		T1b N0 M0	Wysoki	G3	II	II A	Dodatni – nasilenie: „++++”	Dodatni – nasilenie: „++++”	Jedna	Radioterapia – 2 miesiące i 3 tygodnie po pobraniu wycinka do badania histopatologicznego (prom. Co-60): - okolica krtani: 60 Gy/T.			11 (przerzuty do płuc)	+		15		
5.	886554	37 lat	Ż	Trzon i nasada języka po stronie lewej.	Usunięcie guza (margines negatywny)		+	T2b N1 M0	Wysoki	G3	IV A	IV	Dodatni – nasilenie: „+”	Dodatni – nasilenie: „+”	Jedna	Radioterapia – 1 miesiąc i 2 tygodnie po operacji (prom. Co-60): - okolica gardła środkowego: 5980 c Gy/T.		94				100		

Tabela 20 a. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorych, u których rozpoznano **mięsaka polimorficznego niezróżnicowanego** – wg WHO *undifferentiated pleomorphic sarcoma (pleomorphic MFH)*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		BRAK REMISJI	PRZEŻYĆIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY		ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU		
																		WZNOWA MIEJSCOWA			PRZERZUTY ODLEGŁE	NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA
6.			Ż	Piętro górne masywu szczękowo- sitowego po stronie lewej:	Usunięcie guza (margines pozytywny)								Dodatni – nasilenie:	Dodatni – nasilenie:	Sześć:	Radioterapia – 1 miesiąc po operacji (prom.Co 60, Fot. 6 MeV, el. 9 MeV): - okolica jamy nosa i zatoki szczękowej prawej: 65 Gy/T, - obustronnie węzły chłonne szyjno-obończykowe: 50 Gy, - okolica ślinianki podżuchwowej prawej: 18 Gy.		37	154 (przerzuty do mózgowia)			164	
	458818	12 lat	- jama nosowa,	+		T2b N0 M0	Wysoki	G2	II	II A	„++”	„+”	Pierwsza										
	564362	15 lat	- szczęką, - jama nosowa,	+		r T2b N0 M0	Wysoki	G2	II	II A	„++”	„+”	Druga: 37 mies. po pierwszej operacji										
	788961	21 lat	- jama nosowa,	+		r T2b N0 M0	Wysoki	G2	II	II A	„++”	„+”	Trzecia: 108 mies. po pierwszej operacji										
	824565	22 lata	- sitowie, - jama nosowa,	+		r T2b N0 M0	Wysoki	G2	II	II A	„++”	„+”	Czwarta: 125 mies. po pierwszej operacji										
	867913	24 lata	- sitowie, - jama nosowa,	+		r T2b N0 M0	Wysoki	G2	II	II A	„++”	„+”	Piąta: 144 mies. po pierwszej operacji										
	885112	25 lat	- jama nosowa.	+		r T2b N0 M0	Wysoki	G2	II	II A	„++”	„+”	Szósta: 152 mies. po pierwszej operacji										

Tabela 20 b. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorych, u których rozpoznano **postać naczyniową guza fibrohistiocytarnego** – wg WHO *angiomatoid fibrous histiocyoma (angiomatoid MFH)*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY			ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU	
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA
7.	930386	46 lat	Ż	Trzon żuchwy po stronie lewej.	Usunięcie guza (margines negatywny)	+		T1b N0 M0	Wysoki	G2	II	II A	Dodatni – nasilenie: „+”	Ujemny	Jedna	Brak	+				136		
8.	990801	31 lat	Ż	Piętro górne masywu szczękowo- sitowego po stronie prawej: - sitowie, - szczęka, - jama nosowa.	Usunięcie guza (margines negatywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G2	III	III	Dodatni – nasilenie: „+”	Ujemny	Jedna	Radioterapia – 1 miesiąc i 1 tydzień po operacji (prom. Co-60): - okolica zatoki szczękowej prawej: 66 Gy/T, - okoliczne węzły chłonne: 50 Gy/max.	+				106		

Tabela 21. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorych, u których rozpoznano **guza złośliwego osłonek nerwów obwodowych** – wg WHO *malignant peripheral nerve sheath tumor*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	KI-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY			ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU	
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA
9.	892363	71 lat	M	Krtąń.	Usunięcie guza (margines negatywny)	+		T1b N1 M0	Wysoki	G2	IV A	IV	Dodatni – nasilenie: „++”	Dodatni – nasilenie: „++”	Jedna	Brak		64				69	
10.	934097	71 lat	M	Krtąń.	Usunięcie guza (margines negatywny)	+		T1b N0 M0	Wysoki	G2	II	II A	Dodatni – nasilenie: „++”	Dodatni – nasilenie: „+++”	Jedna	Radioterapia – 1 miesiąc po operacji (prom. Co-60): - okolica łoży krtani: 64 Gy/T, - pole szyjno-nadobojczy- kowe: 51 Gy/T.	+				131		
11.	929481	68 lat	M	Piętro górne i dolne masywu szczękowo- sitowego po stronie prawej: - sitowie, - szczęką.	Usunięcie guza (margines pozytywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G3	III	III	Dodatni – nasilenie: „++”	Ujemny	Jedna	Radioterapia – 1 miesiąc i 2 tygodnie po operacji (prom. Co-60): - 67 Gy/T.		15				20	
12.	952664 971144 987763	59 lat 59 lat 60 lat	M	Piętro górne i dolne masywu szczękowo- sitowego po stronie prawej: - sitowie, - szczęką, - szczęką.	Usunięcie guza (margines pozytywny)		+	T2b N0 M0 rT2b N0 M0 rT2b N0 M0	Wysoki Wysoki Wysoki	G3 G3 G3	III III III	III	„++” „++” „++”	„+” „+” „+”	Trzy: 1 2: 9 mies. po 1 operacji 3: 12 mies. po 1 operacji	Radioterapia – 2 miesiące po pierwszej operacji (prom. Co-60, fot. 9MeV): - okolica jamy nosowej i zatoki szczękowej prawej: 60 Gy/max.		9	18 (przerzuty do płuc i mózgowia)			23	
13.	1061111	63 lata	M	Przestrzeń pozagardłowa.	Usunięcie guza (margines pozytywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G3	III	III	Dodatni – nasilenie: „++”	Dodatni – nasilenie: „++”	Jedna	Radioterapia – 2 lata po pierwszej operacji (prom. Co-60 fot. 6 MeV): - okolica gardła dolnego: 68 Gy/T, - węzły chłonne szyjne: 50 Gy/max.		24				27	

Tabela 22 a. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorej, u której rozpoznano **mięsaka zarodkowego mięśni poprzecznie prążkowanych - wg WHO *embryonal rhabdomyosarcoma*.**

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY		ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU		
																		WZNOWA MIEJSCOWA			PRZERZUTY ODLEGŁE	NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA
14.	908712	5 lat	Ż	Piętro górne masywu szczękowo- sitowego po stronie prawej: - szczęka.	Usunięcie guza (margines pozytywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G3	III	III	Dodatni – nasilenie: „++”	Ujemny	Jedna	Chemioterapia – 2 tygodnie po operacji: - program CWS-91 (EVALA – VII bloków), - dwukrotnie: MTX 12mg, Cytosar 24 mg, Soludecortin 10mg, - dwukrotnie: 4 dni CDDP i DTIC.	16			19			

Tabela 22 b. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorego, u którego rozpoznano **mięsaka pęcherzykowego mięśni poprzecznie prążkowanych** - wg WHO *alveolar rhabdomyosarcoma*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY			ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU	
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA
15.	930027	67 lat	M	Piętro górne masywu szczękowo- sitowego po stronie lewej: - sitowie, - szczęka.	Usunięcie guza (margines pozytywny)		+	T2b N1 M0	Wysoki	G2	IV A	IV	Dodatni – nasilenie: „++”	Ujemny	Jedna	Brak				+		9	

Tabela 23. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorej, u której rozpoznano **włókniakomięsaka dorosłych** - wg WHO *adult fibrosarcoma*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY			ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU	
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA
16.	942253	31 lat	Ż	Trzon żuchwy po stronie prawej.	Usunięcie guza (margines negatywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G2	III	III	Dodatni – nasilenie: „+”	Dodatni – nasilenie: „++”	Jedna	Brak	+				133		

Tabela 24. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorego, u którego rozpoznano **nerwiaka węchowego niedojrzałego** - wg WHO *olfactory neuroblastoma (esthesioneuroblastoma)*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY			ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU	
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA
17.	881931	45 lat	M	Nasada nosa.	Usunięcie guza (margines negatywny)	+		T1a N0 M0	Wysoki	G2	I	IIA	Dodatni – nasilenie: „+++”	Ujemny	Jedna	Brak	+				156		

Tabela 25. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorej, u której rozpoznano przyzwojaka złośliwego - wg WHO malignant paraganglioma.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)				BRAK REMISJI	PRZEŻYĆIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY		ŻYJE		NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU		
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA	
18.	1056803	53 lata	Ż	Kłębek szyjny lewy.	Usunięcie guza (margines negatywny)	+		T1b N0 M0	Niski	G1	I	IA	Dodatni – nasilenie: „+”	Dodatni – nasilenie: „+++”	Jedna	Radioterapia – 2 miesiące po operacji (prom. Co-60, fot. i el. 6 MeV); - łoża po usuniętym guzie szyi 56 Gy/T.	+				66			

Tabela 26. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorego, u którego rozpoznano **oblioniaka** – wg WHO *haemangiopericytoma*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)				BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY		ŻYJE		NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU		
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA	
19.	1039541	22 lata	M	Piętro górne i dolne masywu szczękowo- sitowego po stronie prawej: - szczęką, - jama nosowa.	Usunięcie guza (margines negatywny)		+	T2b N0 M0	Niski	G1	II	IB	Dodatni – nasilenie: „+”	Dodatni – nasilenie: „+++”	Jedna	Brak	+				76			

Tabela 27. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorej, u której rozpoznano **mięśaka Ewinga** - wg WHO *Ewing sarcoma*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY			ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU	
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA
20.	855552	12 lat	Ż	Piętro górne masywu szczękowo- sitowego po stronie lewej:	Usunięcie guza (margines pozytywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G2	III	III	„+”	„+”	Trzy:	Chemioterapia – 1miesiąc po operacji : - EVAIA – IV bloki, - VACA II – 10 tyg. Radioterapia – 4 miesiące po operacji (prom. Co-60, 6 MeV): - zatoka szczękowa lewa: 48 Gy/T.		81				153	
	1019427	19 lat		- sitowie, - jama nosowa,			+	rT2b N0 M0	Wysoki	G2	III	III	„+”	„+”	Pierwsza								
	1043086	20 lat		- jam nosowa.			+	rT2b N0 M0	Wysoki	G2	III	III	„+”	„+”	Druga: 86 mies. po pierwszej operacji Trzecia: 95 mies. po pierwszej operacji								

Tabela 28. Dane morfologiczne i kliniczne dotyczące chorej, u której rozpoznano **mięsaka maziówkowego** – wg WHO *synovial sarcoma*.

L. P.	NR BAD.	WIEK	PŁEĆ	MIEJSCE LOKALIZACJI GUZA	POSTĘPOWANIE CHIRURGICZNE	WIELKOŚĆ GUZA (ŚREDNICA)		TNM	STOPIEŃ ZŁOSLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ		STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA		WYNIK REAKCJI IMMUNOHISTO- CHEMICZNEJ		LICZBA OPERACJI	LECZENIE UZUPEŁNIAJĄCE	REMISJA PO LECZENIU (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)			BRAK REMISJI	PRZEŻYCIE (CZAS LICZONY W MIESIĄCACH OD DATY OPERACJI)		
						≤5 CM	>5 CM		WG HAJDU	WG FNCLCC	WG HAJDU	WG UICC, AJCC	Ki-67	p53			NIE- PRZERWANA	PRZERWANA NAWROTEM CHOROBY			ŻYJE	NIE ŻYJE - PRZYCZYNA ZGONU	
																		WZNOWA MIEJSCOWA	PRZERZUTY ODLEGŁE			NOWO- TWOROWA	NIENOWO- TWOROWA
21.	939246	78 lat	Ż	Okolica podżuchwowa prawa.	Usunięcie guza (margines negatywny)		+	T2b N0 M0	Wysoki	G2	III	III	Dodatni – nasilenie: „+”	Ujemny	Jedna	Brak	+						86