



Narodowy Instytut Onkologii

im. Marii Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy

dr n. med. Anna Mucha-Małecka

A U T O R E F E R A T

**W postępowaniu w sprawie nadania stopnia
doktora habilitowanego**

Zakład Radioterapii
Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej – Curie
Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Krakowie

Kraków 2022

Załącznik numer 3 do wniosku habilitacyjnego

AUTOREFERAT

Imię i nazwisko.

Anna Mucha-Małecka

Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- Dyplom Lekarza medycyny, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Lekarski w Zabrze, uzyskany w 1997 roku
- Dyplom doktora nauk medycznych w dziedzinie medycyna, na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej pod tytułem „Ocena czynników prognostycznych skojarzonego leczenia chorych na raka krtani z wykorzystaniem własnej skali ryzyka nawrotu” nadany uchwałą Rady Naukowej Centrum Onkologii-Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie w 2004 roku.

Promotor: dr hab. n. med. Krzysztof Skłodowski,

Recenzenci: dr hab. n. med. Maria Mazurkiewicz

prof. dr hab. n. med. Jan Skołyszewski

- Dyplom specjalisty w dziedzinie radioterapii onkologicznej, uzyskany po odbyciu specjalizacji pod kierunkiem dr hab. n. med. Krzysztofa Skłodowskiego wydany przez Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi w 2005 roku

1. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

- staż podyplomowy w Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Gliwicach z oddelegowaniem do Szpitala Miejskiego nr 4 w Gliwicach w latach 1997-1998
- I Klinika Radioterapii Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Gliwicach, asystent naukowo-badawczy w latach 1998-2003
- Wydział Lekarski w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach, nauczyciel akademicki w latach 1998-2001
- Medyczne Studium Zawodowe Nr1 im. prof. Antoniego Cieszyńskiego w Zabrzu, wykładowca w latach 1999-2001
- Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie - Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Krakowie:
 - 01.01.2004 – 30.06.2006 - asystent naukowo-badawczy w Klinice Radioterapii
 - 01.07.2006 – 31.10.2008 - adiunkt w Klinice Radioterapii
 - 01.11.2008 – 31.03.2014 - adiunkt, Zastępca Kierownika Kliniki Nowotworów Głowy

i Szyi

- 01.04.2014 - 31.12.2015 - adiunkt, Kierownik Oddziału Nowotworów Głowy i Szyi
- 01.01.2016 - 31.05.2019 - adiunkt, koordynator ds. szkolenia lekarzy, Klinika Radioterapii
- 04.06.2020 do nadal – adiunkt, Zastępca Kierownika Zakładu Radioterapii
- Szpital Uniwersytecki w Krakowie od 1.11.2007 do 31.12.2013 – starszy asystent w O/KK Okulistyki i Onkologii Okulistycznej
- Krakowska Medyczna Szkoła Policealna im. Stanisławy Leszczyńskiej w Krakowie, wykładowca od 2009 roku do nadal
- Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, kierunek Fizyka Medyczna, nauczyciel akademicki od 2013 roku do nadal

2. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

Cykl publikacji pod tytułem:

„Ocena czynników prognostycznych u chorych na raka krtani leczonych napromienianiem.”

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 7 prac dotyczących oceny czynników prognostycznych u chorych na raka krtani leczonych napromienianiem. Sumaryczny Impact Factor cyklu publikacji wynosi 15,618, a punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki 377 (analiza bibliometryczna wykonana przez Bibliotekę NIO-PIB Oddział w Krakowie znajduje się w załączniku numer 5). Oświadczenia współautorów o ich indywidualnym wkładzie autorskim znajdują się w załączniku numer 6, a kopie publikacji cyklu w załączniku numer 7. Wszystkie prace z cyklu zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych. W pięciu publikacjach jestem głównym autorem i autorem korespondencyjnym, w pozostałych dwóch współautorem.

A. Autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy

	Praca: autorzy, tytuł wydawca, rok wydania	IF/ MEiN*
1.	Mucha-Małecka A, Składowski K High-dose radiotherapy alone for patients with T4-stage laryngeal cancer Strahlentherapie und Onkologie 2013; 189(8): 632-638, DOI: 10.1007/s00066-013-0396-0 <i>Udział własny w powstaniu pracy polegał na: zebraniu materiału klinicznego, analizie danych, analizie statystycznej przy użyciu program Statistica, interpretacji wyników analizy statystycznej, napisaniu manuskryptu i przygotowaniu do druku, wyborze piśmiennictwa wykorzystanego w dyskusji, wysłaniu pracy do publikacji, korespondencji z redakcją (jako autor</i>	IF: 2,733 MEiN: 30

	<i>korespondencyjny)</i>	
2.	Mucha-Małecka A, Składowski K, Lange D Histopathological factors influencing results of combined treatment in patients with laryngeal cancer <i>Polish Journal of Pathology, 2015; 66(3): 260-268. DOI: 10.5114/pjp.2015.54960</i> <i>Udział własny w powstaniu pracy polegał na: zebraniu i analizie materiału klinicznego, zebraniu preparatów histopatologicznych do analizy i badania histopatologicznego, analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica, interpretacji wyników, wyborze piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, wysłaniu pracy do publikacji oraz korespondencji z jej recenzentami i redakcją (jako autor korespondencyjny)</i>	IF: 1,240 MEiN: 15
3.	Skóra T, Nowak-Sadzikowska J, Mucha-Małecka A, Szyszka-Charewicz B, Jakubowicz J, Gliński B Postoperative irradiation in patients with pT3-4N0 laryngeal cancer: results and prognostic factors <i>European Arch Otorhinolaryngol 2015; 272(3): 673-679. DOI: 10.1007/s00405-014-3333-7</i> <i>Udział własny w powstaniu pracy polegał na: zbieraniu materiału klinicznego, interpretacji wyników, doboru piśmiennictwa wykorzystanego w dyskusji, przygotowaniu i korekcie manuskryptu</i>	IF: 1,627 MEiN: 25
4.	Mucha-Małecka A, Chrostowska A, Urbanek K, Małecki K Prognostic factors in patients with T1 glottic cancer treated with radiotherapy <i>Strahlentherapie und Onkologie 2019; 195(9): 792-804, DOI: 10.1007/s00066-019-01481-2</i> <i>Udział własny w powstaniu pracy polegał na: zebraniu i analizie materiału klinicznego, analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica, interpretacji wyników, wyborze i analizie piśmiennictwa wykorzystanego w dyskusji, przygotowaniu manuskryptu, wysłaniu pracy do publikacji oraz korespondencji z jej recenzentami i redakcją (jako autor korespondencyjny)</i>	IF: 2,899 MEiN:100
5.	Mucha-Małecka A, Małecki K, Amrogowicz N, Biesaga B, Modrzejewski M Prognostic factors in elderly patients with T1 glottic cancer treated with radiotherapy. <i>Sci Rep 2021; 11(1): 17717, doi: 10.1038/s41598-021-96146-5.</i> <i>Udział własny w powstaniu pracy polegał na: zebraniu i analizie materiału klinicznego, analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica, interpretacji wyników, wyborze i analizie piśmiennictwa wykorzystanego w dyskusji, przygotowaniu manuskryptu, wysłaniu pracy do publikacji oraz korespondencji z jej recenzentami i redakcją (jako autor korespondencyjny)</i>	IF: 4,996 MEiN:140
6.	Snietura M, Pigłowski W, Jaworska M, Mucha-Małecka A, Wozniak G, Lange D, Suwiński R Impact of HPV infection on the clinical outcome of p-CAIR trial in head and neck cancer <i>Eur Arch Otorhinolaryngol 2011; 268(5): 721-6. DOI: 10.1007/s00405-010-1396-7</i>	IF: 1,214 MEiN: 27

	<i>Udział własny w powstaniu pracy polegał na: zbieraniu materiału klinicznego, obserwacji chorych oraz aktualizowaniu danych dotyczących przeżycia i stanu lokoregionalnego u chorych, doborze piśmiennictwa wykorzystanego w dyskusji, pisaniu i korekcie manuskryptu</i>	
7.	Mucha-Małecka A , Biesaga B, Janecka-Widła A, Przewoźnik M, Małecki K Assessment of HPV16 infection in patients with laryngeal cancer Polish Journal of Pathology 2021; 72(1): 64-74. DOI: 10.5114/pjp.2021.104659 <i>Udział własny w powstaniu pracy polegał na: zebraniu i analizie materiału klinicznego, zebraniu materiału histopatologicznego do oceny stanu infekcji HPV, przeprowadzeniu analizy statystycznej przy użyciu programu Statistica, interpretacji wyników, wyborze i analizie piśmiennictwa wykorzystanego w dyskusji, przygotowaniu manuskryptu, wysłaniu pracy do publikacji oraz korespondencji z jej recenzentami i redakcją (jako autor korespondencyjny)</i>	IF: 0,909 MEiN:40
	SUMA	IF 15,618 MEiN: 377

*IF/MEiN – Wartość wskaźnika oddziaływania Impact Factor / MEiN – Punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki

B. Omówienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Rak krtani jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym regionu głowy i szyi, w Polsce stanowi około 2,7% nowotworów złośliwych u mężczyzn i 0,4% u kobiet. Ryzyko zachorowania na raka krtani wzrasta z wiekiem osiągając szczyt u mężczyzn w siódmej dekadzie życia (45/105), a u kobiet na przełomie piątej i szóstej dekady życia (6/105). W 1980 roku w Polsce zanotowano 2086 nowych zachorowań na raka krtani, natomiast w 2015 roku już 2526, w tym 587 (23%) stanowili chorzy w wieku 70 i więcej lat [1].

W etiologii płaskonabłonkowego raka krtani u ponad 90% chorych główną rolę odgrywa palenie tytoniu i nadużywanie alkoholu, zwłaszcza wysokoprocentowego [2]. Najbardziej narażone na działanie dymu tytoniowego są górne powierzchnie fałdów przedsionkowych i głosowych, a ryzyko zachorowania na raka krtani u palaczy jest nawet 7-krotnie większe niż u osób niepalących [3,4]. Syrjanen i wsp. w 1982 roku po raz pierwszy opisali wpływ zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV – Human Papilloma Virus) na powstawanie raka krtani [5]. Od tego czasu przeprowadzono liczne badania dotyczące zakażenia HPV u chorych na nowotwory regionu głowy i szyi. Wykazano, że w przypadku infekcji HPV chorzy na nowotwory jamy ustnej i ustnej części gardła mają lepsze rokowanie niż chorzy bez infekcji [6-8]. W przypadku raka krtani doniesienia odnośnie wpływu infekcji HPV na powstawanie raka oraz wyniki leczenia chorych nie są jednoznaczne [9,10].

U chorych na niezaawansowanego raka krtani istnieją dwie równoważne metody leczenia,

radioterapia i chirurgia (operacje endoskopowe przezustne, w tym również laserem CO₂ lub operacje z dojścia zewnętrznego). Brak jest prospektywnych badań randomizowanych, które wskazywałyby jednoznacznie na przewagę jednej z metod, a wybór postępowania terapeutycznego opiera się głównie na doświadczeniu ośrodka i preferencjach pacjenta. Wyniki leczenia pochodzą najczęściej z badań retrospektywnych i są porównywalne dla obydwu metod, 5-letnie wyleczenia miejscowe wahają się od 80% do 95% dla radioterapii i od 82 do 100 % dla przezustnych zabiegów laserowych [11-16]. W większości ośrodków preferowana jest radioterapia ze względu na możliwość zachowania lepszej jakości głosu [17-19].

Podstawowymi metodami leczenia u chorych na zaawansowanego raka krtani są chirurgia, radioterapia i chemioterapia stosowane najczęściej w sposób skojarzony [20]. Wybór metody leczenia u każdego chorego powinien być zindywidualizowany i obejmować czynniki związane z nowotworem, takie jak: lokalizacja guza w krtani, stopień zaawansowania guza (T), obecność przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych (N), typ histopatologiczny raka i jego stopień zróżnicowania oraz czynniki związane z chorym: wiek, stan sprawności. Ważne są również preferencje chorego odnośnie możliwości zachowania narządu głosu. Większość wskazań do radioterapii uzupełniającej opiera się na informacjach uzyskanych z opisu zabiegu oraz wyniku pooperacyjnego badania histopatologicznego [21]. W licznych doniesieniach przedstawiono korelacje między różnymi parametrami klinicznymi i patologicznymi a ryzykiem nawrotu raka krtani [21-23]. Podstawowym celem terapii jest zapewnienie chorym jak największej szansy na wyleczenie przy równoczesnym maksymalnym obniżeniu ryzyka powikłań i zapewnieniu jak najlepszego efektu funkcjonalnego narządu [24].

Pomimo wprowadzenia multidyscyplinarnego podejścia do diagnostyki i leczenia chorych na płaskonabłonkowe nowotwory regionu głowy i szyi, w tym na raka krtani, rokowanie nie poprawiło się znacząco w ciągu ostatnich dekad. Dlatego po obronie doktoratu kontynuowałam badania mające na celu poszukiwanie nowych czynników prognostycznych u chorych na raka krtani w różnych stopniach zaawansowania, które mogą mieć wpływ na poprawę wyników leczenia i zaoszczędzenie narządu.

U chorych na raka krtani w stopniu zaawansowania T4, najczęściej rekomendowane jest leczenie operacyjne z uzupełniającą radioterapią. Chorzy nie kwalifikujący się do leczenia operacyjnego są z reguły napromieniani paliatywnie, chociaż w indywidualnych przypadkach podejmuje się próby radykalnej radioterapii. Samodzielna radioterapia w tej grupie chorych jest stosowana najczęściej w przypadku braku zgody na usunięcie krtani lub z powodu dyskwalifikacji od zabiegu operacyjnego z przyczyn innych niż zaawansowanie nowotworu oraz od leczenia systemowego (np. choroby współistniejące, chorzy niekwalifikujący się do znieczulenia ogólnego). Wyniki leczenia zaawansowanego raka krtani samodzielnym napromienianiem są na ogół gorsze niż po leczeniu skojarzonym. Jest to jednak grupa przypadków klinicznie bardzo

niejednorodna pod względem promieniouleczałości, bowiem w piśmiennictwie obserwuje się szeroki zakres wyleczeń od 10% do nawet 80%, co sugeruje wpływ wielu czynników prognostycznych [25,26].

W pierwszej pracy cyklu analizie poddano czynniki prognostyczne pochodzenia klinicznego u chorych na zaawansowanego raka krtani leczonych samodzielnym napromienianiem.

1. Mucha-Małecka A, Składowski K

High-dose radiotherapy alone for patients with T4-stage laryngeal cancer

Strahlentherapie und Onkologie 2013; 189(8): 632-638. DOI: 10.1007/s00066-013-0396-0

Oceniono skuteczność samodzielnego, radykalnego leczenia napromienianiem chorych na raka krtani w stopniu zaawansowania miejscowego T4 oraz rokownicze znaczenie wielkości i umiejscowienia nowotworowych nacieków pozakrtaniowych i tracheostomii wykonanej przed leczeniem. Podjęto również próbę oceny wydolności klasyfikacji TNM.

Analizę retrospektywną przeprowadzono w grupie 114 chorych na płaskonabłonkowego raka krtani w stopniu zaawansowania T4, leczonych radykalnie samodzielnym napromienianiem w Centrum Onkologii w Gliwicach. Stopień zaawansowania raka oceniono zgodnie z obowiązującą wówczas klasyfikacją TNM UICC z 1984 roku. Według tej klasyfikacji jako T4 klasyfikowano guzy wychodzące poza granice krtani, naciekające tkanki miękkie szyi lub gardło środkowe lub przełyk lub powodujące destrukcję chrząstki tarczowatej lub pierścieniowatej. W analizowanej grupie przeprowadzono reklasyfikację w celu oceny wydolności nowej klasyfikacji TNM AJCC z 1998. Według nowej klasyfikacji raki krtani naciekające śluzówkę korzenia języka, dołek językowo-nagłośniowy oraz przyśrodkową ścianę zachyłka gruszkowatego bez unieruchamiania strun głosowych klasyfikowano jako guzy w stopniu zaawansowania T2. Natomiast głębokie nacieki podstawy języka z unieruchomieniem lub bez unieruchomienia strun głosowych klasyfikowano jako T3.

U wszystkich chorych przeprowadzono radioterapię konwencjonalną do dawki całkowitej od 60 do 77,6 Gy (średnio 68 Gy) w średnim czasie 49 dni.

Ogółem w 3-letnim okresie obserwacji wyleczenie miejscowe (LC) zanotowano u 42% chorych, przeżycie bezobjawowe (DFS) u 35%, a przeżycie całkowite (OS) u 40%.

Stwierdzono, że zajęcie węzłów chłonnych zmniejsza szansę 3-letniego LC z 50% u chorych z cechą N0, do 0% w przypadku cechy N3 oraz 3-letniego OS z 54% do 0%.

Wykazano, że u chorych na raka krtani w stopniu zaawansowania T4 wyleczenie miejscowe zależy od lokalizacji i wielkości nacieku pozakrtaniowego. Najlepsze rokowanie wykazano u pacjentów z podejrzeniem naciekania zrębu chrzęstnego krtani, u których 3-letnie LC wynosiło 56%, najgorsze wyniki zanotowano w przypadku rozległych nacieków szerzących się z krtani poprzez gardło dolne do gardła środkowego, 3-letnie LC wynosiło 13%. Odsetek 3-letnich

LC u chorych z naciekaniem zachyłka gruszkowatego, w przypadkach zreklasyfikowanych wg klasyfikacji TNM AJCC z 1998 roku jako T2, wynosił 80% natomiast dla pozostałych chorych tej grupy klasyfikowanych jako T4 – 26%. W grupie chorych z naciekaniem dołka językowo – nagłośniowego i nasady języka reklasyfikowanych jako T2 odsetek 3 – letnich LC wynosił 84%, a w przypadku pozostałych chorych tej grupy klasyfikowanych jako T4 – 23%. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, stwierdzono, że reklasyfikacja zgodnie z nową klasyfikacją TNM AJCC z 1998 roku do stopnia T2 i T3 niektórych guzów, wcześniej klasyfikowanych jako T4, w sposób właściwy prognozuje przeżycie.

W analizowanej grupie wykonanie tracheostomii przed radioterapią było znamienne związane z najgorszymi wynikami leczenia, 3 -letnie LC u chorych z tracheostomią wynosiło 0% w porównaniu do 48% u chorych bez tracheostomii. Konieczność wcześniejszego wykonania tracheostomii jest z reguły związana z większym zaawansowaniem guza pierwotnego, głębokim naciekaniem i zniszczeniem struktur sąsiednich (co oznacza większą promieniooporność) oraz złym stanem ogólnym i może nie wykazywać niezależnego wpływu prognostycznego.

Uzyskane wyniki wskazują na konieczność wykonywania badań obrazowych przed rozpoczęciem leczenia (tomografia komputerowa i rezonans magnetyczny) celem precyzyjnego ustalenia stopnia zaawansowania raka oraz identyfikacji tych chorych, którzy mają tzw. korzystną makroskopową postać guza (egzofityczny i powierzchownie naciekający krtań), dający stosunkowo dużą szansę na wyleczenie z zachowaniem narządu głosu po samodzielnej radioterapii.

W pracy zwróciliśmy również uwagę na małą liczbę chorych, którzy przeszli operację ratunkową w przypadku niepowodzenia napromieniania (14 chorych, 20%).

Analiza wieloczynnikowa wykazała, że na złe rokowanie w wysoce znamienny i niezależny sposób wpływa tracheostomia wykonana przed leczeniem oraz obecność przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych.

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdziliśmy, że konwencjonalna radioterapia chorych na zaawansowanego raka krtani jest metodą leczenia o ograniczonej skuteczności. Na wyniki terapii w sposób znamienny statystycznie wpływa obecność przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych oraz tracheostomia wykonana przed leczeniem. Skuteczność leczenia chorych na raka krtani o zaawansowaniu T4 jest ściśle związana z lokalizacją i wielkością nacieków pozakrtaniowych. U wszystkich chorych przed podjęciem decyzji o wyborze leczenia powinny być wykonane badania obrazowe celem precyzyjnej oceny wielkości guza oraz jego kierunków szerzenia się.

Pomimo ograniczonej skuteczności samodzielnej radioterapii u chorych na raka krtani w stopniu zaawansowania T4, udało się zachować krtań u 42% chorych w 3- letnim okresie obserwacji. Taki sposób leczenia może być rekomendowany, zamiast leczenia paliatywnego

u chorych, którzy nie godzą się na usunięcie krtani i/lub mają przeciwwskazania do leczenia operacyjnego i systemowego.

W kolejnych dwóch pracach (2 i 3) zwróciliśmy uwagę na czynniki prognostyczne pochodzenia histopatologicznego, mające wpływ na wyniki leczenia u chorych na raka krtani.

2. Mucha-Małecka A, Składowski K, Lange D

Histopathological factors influencing results of combined treatment in patients with laryngeal cancer

Polish Journal of Pathology 2015; 66(3): 260-268. DOI: 10.5114/pjp.2015.54960

Kryteria kwalifikacji do pooperacyjnej radioterapii nowotworów regionu głowy i szyi są od dawna znane i zdefiniowane, jednakże rozpatrywane pojedynczo nie zawsze mają znaczenie prognostyczne. Peters i wsp. w przeprowadzonym badaniu potwierdzili, że kombinacja kilku czynników ryzyka wznowy węzłowej i/lub miejscowej ma wpływ na wyniki leczenia skojarzonego [23]. Badania te zostały następnie wykorzystane w randomizowanym badaniu III fazy prowadzonym przez Anga i wsp., w którym między innymi oceniano przydatność wskaźnika ryzyka nawrotu dla wyboru odpowiedniego sposobu frakcjonowania i wysokości dawki całkowitej uzupełniającej radioterapii [27]. Doniesienia z piśmiennictwa stały się podstawą do podjęcia próby opracowania podobnego wskaźnika ryzyka pooperacyjnego nawrotu raka krtani oraz zbadania jego przydatności klinicznej [23,27].

Celem badania była ocena czynników histopatologicznych, które wpływają na wyniki leczenia u chorych na raka krtani oraz ocena przydatności własnej modyfikacji wskaźnika ryzyka wznowy.

Retrospektywnej analizie poddano grupę 197 chorych na płaskonabłonkowego raka krtani operowanych, a następnie napromienianych w Centrum Onkologii w Gliwicach.

Wszyscy chorzy byli leczeni w sposób skojarzony, operacyjnie z uzupełniającą radioterapią. U 29 chorych (15%) przed leczeniem operacyjnym, z powodu duszności wykonano w trybie nagłym tracheotomię. Brak radykalności makroskopowej zabiegu zanotowano u 15 chorych (7%), natomiast brak radykalności mikroskopowej u 44 chorych (22%). U 16 chorych (28%) z 58, u których stwierdzono w badaniu histopatologicznym zajęcie węzłów chłonnych, ujawniono obecność przejścia nacieku poza torebkę węzła chłonnego.

Do oszacowania wskaźnika ryzyka wznowy miejscowej oraz węzłowej raka krtani po leczeniu operacyjnym wykorzystano kryteria zaproponowane przez Petersa (radykalność makroskopowa i mikroskopowa zabiegu, stopień złośliwości histopatologicznej, liczba zajętych węzłów chłonnych z uwzględnieniem ilości usuniętych węzłów, przejście nacieku poza torebkę węzła chłonnego), dokonując modyfikacji własnej, polegającej na włączeniu do oceny ryzyka wznowy miejscowej wykonanie tracheostomii przed leczeniem operacyjnym. Wyodrębniono trzy grupy ryzyka wznowy miejscowej i węzłowej: I grupa - małe ryzyko, II grupa - średnie ryzyko, III

grupa - duże ryzyko. Pooperacyjne ryzyko wznowy miejscowej oceniono w całej grupie chorych, natomiast ryzyko wznowy węzłowej oszacowano u 103 chorych (52%), u których przeprowadzono operacje usunięcia węzłów chłonnych. Chorych napromieniano w sposób konwencjonalny do średniej dawki całkowitej 63 Gy (zakres od 50 do 72 Gy).

W analizowanej grupie pacjentów w 5-letnim okresie obserwacji zanotowano: 88% LC, 68% DFS oraz 73% OS.

Stopień ryzyka wznowy guza w sposób wysoce znamieny statystycznie korelował z wynikami leczenia. Prawdopodobieństwo 5-letniego LC obniżyło się o 30% w grupie chorych z dużym ryzykiem wznowy (III) w porównaniu do grupy z ryzykiem małym (I), a 5-letnie DFS i OS o 34%. Stwierdzono również, że ryzyko wystąpienia przerzutów odległych wzrosło do 15% dla grupy o ryzyku dużym (III) w porównaniu do 4% dla grupy o małym ryzyku wznowy miejscowej (I).

Podobnie stopień ryzyka wznowy węzłowej w sposób znamieny statystycznie korelował z odsetkiem DFS i OS, 5-letnie DFS obniżyło się z 78% dla grupy o małym ryzyku wznowy węzłowej (I) do 11% dla grupy o dużym ryzyku (III), natomiast 5-letnie OS, w powyższych grupach zmniejszyło się z 85% do 11%. Zaobserwowano korelację pomiędzy ryzykiem wznowy węzłowej, a ryzykiem wystąpienia przerzutów odległych; ryzyko to wzrosło z 4% dla grupy małego ryzyka wznowy węzłowej (I) do 12% dla grupy dużego ryzyka (III).

Analizę wielowariantową przeprowadzono oddzielnie dla dwóch grup chorych: I grupa - bez operacji węzłów chłonnych; II grupa - w której oprócz operacji krtani przeprowadzono również usunięcie regionalnych węzłów chłonnych.

W grupie bez operacji węzłów chłonnych niezależnymi czynnikami prognostycznymi były: stopień ryzyka wznowy miejscowej, brak radykalności makroskopowej zabiegu oraz obecność przerzutów w węzłach chłonnych. Wykazano, że w grupie dużego ryzyka wznowy miejscowej (III) szanse na 5-letnie LC i DFS były, odpowiednio 5,37 i 5,02 razy mniejsze niż w grupie małego (I) i pośredniego ryzyka (II). W przypadku przerzutów w węzłach chłonnych szanse na 5-letnie DFS były, odpowiednio 17,3 i 6,05 razy mniejsze, niż w grupie bez przerzutów w węzłach chłonnych. Brak radykalności makroskopowej zabiegu operacyjnego wiązał się z 3,67 razy większym ryzykiem zgonu.

W grupie, u której oprócz operacji krtani przeprowadzono również usunięcie węzłów chłonnych, niezależnymi czynnikami rokowniczymi były: stan ogólnej sprawności, stopień ryzyka wznowy węzłowej i miejscowej oraz wykonanie tracheostomii przed leczeniem operacyjnym. Szansa na 5-letnie LC była 5,47 razy mniejsza u chorych w dobrym stanie sprawności w porównaniu do chorych w bardzo dobrym stanie. W grupie dużego ryzyka nawrotu miejscowego (III) szansa na 5-letnie LC była 5,79 razy mniejsza niż w grupie małego (I) i pośredniego ryzyka (II), natomiast szansa na 5-letnie DFS odpowiednio 4,17 razy mniejsza. W grupie chorych z dużym

ryzykiem wznowy węzłowej (III) 5-letnie DFS było 5,80 razy mniejsze niż w grupie chorych z małym (I) i pośrednim ryzykiem (II), natomiast 5-letnie OS odpowiednio 5,91 razy mniejsze.

Wykonanie tracheostomii ze wskazań życiowych przed leczeniem operacyjnym wiązało się z 3,73 razy mniejszą szansą na 5-letnie OS w porównaniu do grupy, u której tracheostomię wykonano podczas operacji. Niekorzystne znaczenie tego czynnika wykazano także w pierwszej pracy cyklu. Należy pamiętać, że podczas wykonania tego zabiegu może dojść do wszczepienia komórek nowotworowych i w następstwie do rozwoju wznowy, co powinno być uwzględnione przy planowaniu leczenia napromienianiem.

Podsumowując uzyskane wyniki stwierdzono, że pooperacyjna radioterapia u chorych na raka krtani zapewnia wysoką miejscową skuteczność leczenia. Do najważniejszych, negatywnych czynników prognostycznych należy zaliczyć gorszy stan sprawności chorych, brak radykalności makroskopowej zabiegu, obecność przerzutów raka w regionalnych węzłach chłonnych oraz wykonanie tracheostomii przed leczeniem operacyjnym.

Przedstawione wyniki potwierdziły wcześniejsze sugestie o wpływie kilku czynników prognostycznych na efekt skojarzonego leczenia chorych na raka krtani. Jednoczesna ocena tych czynników wyrażona oszacowaniem ryzyka nawrotu raka po leczeniu operacyjnym może znaleźć zastosowanie praktyczne w indywidualnym doborze fizyczno-geometrycznych parametrów uzupełniającej radioterapii w celu poprawy wyników leczenia.

3. Skóra T, Nowak-Sadzikowska J, Mucha-Małecka A, Szyszka-Charewicz B, Jakubowicz J, Gliński B

Postoperative irradiation in patients with pT3-4N0 laryngeal cancer: results and prognostic factors

European Arch Otorhinolaryngol 2015; 272(3): 673-679. DOI: 10.1007/s00405-014-3333-7

Według danych literaturowych około 70-80% chorych na zaawansowanego raka krtani po leczeniu operacyjnym ma wskazania do uzupełniającej radioterapii. W większości doniesień przeważają chorzy z cechą pN+, podgrupy chorych, u których pomimo znacznego zaawansowania choroby w materiale pooperacyjnym nie stwierdza się zajęcia regionalnych węzłów chłonnych są rzadkie [28,29]. Dlatego przeprowadzono własne badania w tej rzadkiej grupie chorych. Ich celem była ocena skuteczności leczenia oraz identyfikacja prognostycznych czynników histopatologicznych.

Retrospektywnej analizie poddano grupę 138 chorych na płaskonabłonkowego raka krtani w stopniu zaawansowania pT3-4N0, którzy byli operowani, a następnie napromieniani w Centrum Onkologii w Krakowie. Brak przerzutów w węzłach chłonnych ustalono na podstawie badania histopatologicznego. Wskazania do uzupełniającej radioterapii obejmowały: pT3 z niekorzystnymi czynnikami (rozległe naciekanie otaczających tkanek, naciekanie podgłośniowe, dodatnie marginesy chirurgiczne, niski stopień zróżnicowania histopatologicznego raka) i

wszystkie przypadki pT4. Średni czas pomiędzy operacją i rozpoczęciem radioterapii wynosił 56 dni, przeprowadzono radioterapię konwencjonalną do średniej dawki całkowitej 60 Gy.

Uzyskano 5-letnie DFS u 76% leczonych, a OS u 59%. Wznowę procesu nowotworowego zanotowano u 34 (24%) chorych, u 28 (82%) miała ona charakter lokalny, u 5 (15%) zanotowano przerzuty odległe, a u jednego (3%) wznowa miejscowa współistniała z przerzutami odległymi.

Wykazano, że zaawansowanie miejscowe guza ocenione zgodnie z klasyfikacją patologiczną najsilniej determinuje rokowanie chorych. Ryzyko zgonu pacjentów z cechą pT4 było blisko dwu i półkrotnie wyższe w porównaniu do guzów pT3, 5-letnie DFS wynosiło odpowiednio 69% i 92%. W piśmiennictwie nie ma jednoznacznego potwierdzenia związku między wyższym stopniem zaawansowania guza pT i gorszym rokowaniem u chorych na raka krtani. Brak korelacji można wytłumaczyć dużą niejednorodnością porównywanych grup pacjentów. Dotyczy ona stopnia różnicowania histopatologicznego guza, metody oceny lokalnego zaawansowania (TNM vs pTNM) i różnego postępowania terapeutycznego dotyczącego pierwotnego leczenia chirurgicznego i uzupełniającej radioterapii.

W omawianym badaniu istotne rokowniczo znaczenie miał status marginesów chirurgicznych, 5-letnie DFS w przypadku zabiegów radykalnych mikroskopowo (R0) wynosiło 82%, w porównaniu do 72% w przypadku guzów usuniętych bez marginesu zdrowych tkanek potwierdzonych histologicznie (R1). Ryzyko zgonu u chorych, u których zabieg był nieradykalny mikroskopowo było 2,31 razy większe w porównaniu do chorych po radykalnym leczeniu operacyjnym.

Wykazano, że przejście nacieku na gardło obniżyło odsetek 5-letniego DFS z 80% do 59%. Zajęcie struktur gardła zwiększało ryzyko zgonu o 2,15 razy. Rak krtani przechodząc poza granice tego narządu, nabiera cech guzów w lokalizacji, które zajmuje. Rokowanie u chorych na raka gardła dolnego jest niekorzystne, co może wpływać na pogorszenie wyników leczenia u chorych z zajęciem tej okolicy.

Podsumowując, stwierdzono, że pooperacyjna radioterapia u chorych na raka krtani w stopniu zaawansowania pT3-T4N0 jest skuteczną metodą leczenia, a główną przyczyną niepowodzenia jest wznowa miejscowa. Zidentyfikowano niezależne czynniki rokownicze takie jak: zaawansowanie pT4, dodatnie marginesy operacyjne, przejście nacieku na gardło, które niekorzystnie wpływają na wyniki pooperacyjnej radioterapii u chorych na raka krtani w stopniu pT3-T4N0 i powinny być uwzględnione przy kwalifikacji i planowaniu leczenia napromienianiem.

Wnioski z wcześniejszych badań zasugerowały, że dla powodzenia leczenia chorych polegającego na zaoszczędzeniu krtani i kontroli lokoregionalnej raka kluczowa może być selekcja chorych oparta nie tylko o kryteria związane z zaawansowaniem raka, ale też i o kryteria wcześniej pomijane pod tym względem – jak np. wiek, odżywienie chorych przed leczeniem, stan sprawności, palenie papierosów, stężenie hemoglobiny (Hb), czas od diagnozy do rozpoczęcia

leczenia. W tym celu do dalszych badań wybrałam model kliniczny raka głośni (569 przypadków), który w pierwszym stopniu zaawansowania jest w miarę jednorodnym nowotworem pod względem patologii (wielkość guza) i histologii (rak dojrzały, dobrze zróżnicowany). W przeprowadzonej pracy chcieliśmy ograniczyć wpływ na wyniki leczenia chorych na raka krtani czynników powszechnie uznanych za decydujące dla rokowania w radioterapii, czyli odzwierciedlających liczbę i radiobiologię komórek klonogennych poddawanych napromienianiu.

4. Mucha-Małecka A, Chrostowska A, Urbanek K, Małecki K

Prognostic factors in patients with T1 glottic cancer treated with radiotherapy

Strahlentherapie und Onkologie 2019; 195(9): 792-804. DOI: 10.1007/s00066-019-01481-2

W pracy oceniono odległe wyniki leczenia napromienianiem chorych na raka głośni w stopniu zaawansowania T1 leczonych w jednym ośrodku oraz poszukiwano czynników prognostycznych mających wpływ na wyniki leczenia chorych z możliwością zaoszczędzenia narządu głosu.

Retrospektywnej analizie poddano grupę 569 chorych na raka głośni w stopniu zaawansowania T1N0M0, którzy byli leczeni napromienianiem w Centrum Onkologii w Krakowie.

Wszystkich chorych napromieniano przez 5 dni w tygodniu 1 dawką frakcyjną dziennie do dawki całkowitej od 60 Gy do 70 Gy (średnia 61 Gy), dawką frakcyjną od 2 Gy do 2,5 Gy. Czas leczenia napromienianiem wynosił średnio 36 dni (zakres od 32 do 58). Tolerancja leczenia napromienianiem była dobra, u 549 chorych (96%) leczenie przeprowadzono zgodnie z planem.

W analizowanej grupie odsetki 5- i 10-letnich OS, przeżyć specyficznych dla raka (DSS) oraz LC wynosiły odpowiednio: 85% i 68%, 88% i 86%, 89% i 87%. U 72 chorych (13%) stwierdzono wznowę miejscową, najwięcej niepowodzeń leczenia zanotowano w ciągu pierwszych 2 lat po napromienianiu - u 48 chorych (67%). U 53 chorych (74%) ze wznową zastosowano ratujące leczenie operacyjne, a u 1 (1%) powtórna radioterapię. U 18 chorych (25%) nie przeprowadzono leczenia ratującego ze względu na zaawansowanie procesu nowotworowego, zły stan sprawności lub brak zgody na leczenie. Prawdopodobieństwo 5- i 10-letniego LC w analizowanej grupie po leczeniu niepowodzeń wynosiło 94% i 90%. Odsetek zachowanych krtani po 5-latach obserwacji wynosił 92%, a po 10-latach 88%.

W analizowanym materiale własnym naciekanie spoidła przedniego zanotowano u 179 chorych (31%), wiązało się to ze znamienym obniżeniem 5-i 10-letnich LC z 92% do 77% oraz z 89% do 70%, jak również 5- i 10-letnich DSS, odpowiednio: z 90% do 75% i z 88% do 73%. W analizie wielowariantowej wykazano niezależny wpływ tego czynnika na LC, w przypadku zajęcia spoidła ryzyko wznowy miejscowej było 3,21 razy większe niż u chorych bez zajęcia spoidła. Powyższe wyniki wskazują, że przejście nacieku na spoidło przednie powinno być uwzględnione przy planowaniu leczenia. Zajęcie spoidła przedniego może wiązać się z ryzykiem przejścia nacieku na chrząstkę tarczowatą, co wpływa na zmianę stopnia zaawansowania nowotworu, a co

za tym idzie również w znacznym stopniu może pogorszyć rokowanie chorych. Istotne jest wykonanie nawet w przypadku niezaawansowanych nowotworów w krtani badań obrazowych przed rozpoczęciem leczenia, aby dokładnie ustalić stopień zaawansowania nowotworu i właściwie dobrać postępowanie terapeutyczne.

W analizowanym materiale ponad połowę pacjentów stanowili chorzy powyżej 60 roku życia. Wykazano niezależny wpływ wieku oraz stanu sprawności na OS. W grupie chorych po 60 roku życia ryzyko zgonu było 2,61 razy większe niż u chorych młodszych. Ryzyko zgonu było 1,47 razy większe u chorych w gorszym stanie sprawności (Zubrod 2 i 3). Skuteczność miejscowa radioterapii u chorych na raka głośni w stopniu T1 jest wysoka i leczenie takie jest dobrze tolerowane nawet u osób starszych, ponieważ obszar napromieniania jest niewielki. U starszych chorych na niezaawansowanego raka głośni gorszy stan sprawności często jest związany z chorobami współistniejącymi, a nie z chorobą nowotworową, co było przedmiotem kolejnej pracy cyklu.

W analizowanej grupie tylko 80 chorych (14%) nie paliło papierosów, pozostali palili średnio 33 sztuki dziennie (zakres od 2 do 60) przez okres od 10 do 67 lat. Wykazano, że u chorych którzy palili poniżej 20 papierosów dziennie przed leczeniem, w trakcie i po jego zakończeniu ryzyko wznowy miejscowej było 1,76 razy większe niż w grupie niepalącej, a w grupie palącej powyżej 20 papierosów dziennie - 3,25 razy większe. Palenie wiązało się również z obniżeniem szans na DSS, było ono 1,64 razy mniejsze w grupie, która paliła poniżej 20 papierosów dziennie w porównaniu do grupy niepalącej i 3,22 razy mniejsze, jeśli chory palił powyżej 20 papierosów dziennie.

Wykazano, że stężenie Hb przed radioterapią jest niezależnym czynnikiem prognostycznym wyleczenia niezaawansowanego raka głośni. Przy poziomie Hb ≥ 13 g/dl, 5-letnie LC wynosiło 92%, a 10-letnie - 91%, natomiast dla poziomu Hb < 13 g/dl odpowiednio: 75% i 70%. Podobnie 5- i 10-letnie DSS. W analizie wielowariantowej w grupie chorych z poziomem Hb < 13 g/dl ryzyko wznowy miejscowej było 2,86 razy większe niż w grupie z wyższym poziomem, a szansa na przeżycie specyficzne dla raka 2,65 razy mniejsza.

U chorych na nowotwory głowy i szyi często stwierdza się niedożywienie, co ma niekorzystny wpływ na wyniki leczenia i jakość życia chorych. Utrata masy ciała przed leczeniem często wiąże się z większym zaawansowaniem nowotworu w chwili rozpoznania i gorszym rokowaniem. Do oceny stanu odżywienia zastosowano, powszechnie stosowany wskaźnik masy ciała (BMI), przyjmując następujące normy: $< 18,5$ kg/m² - niedowaga, $\geq 18,5$ kg/m² < 25 kg/m² - norma, ≥ 25 kg/m² - nadwaga. W analizowanej grupie u 114 (20%) chorych zanotowano niedowagę, u 91 (16%) - nadwagę, a u 364 (64%) waga była prawidłowa. Wykazano, że niedożywienie przed rozpoczęciem leczenia w sposób znamieny statystycznie wpływa na pogorszenie 5- i 10-letnich LC, DSS i OS w porównaniu do grupy chorych dobrze i nadmiernie

odżywionych. W analizie wielowariantowej w grupie niedożywionej ryzyko zgonu było o 1,87 razy większe niż w prawidłowo odżywionej. Wykazano, że niski poziom BMI przed leczeniem może być czynnikiem, który wskazuje na złe rokowanie u chorych na raka krtani. Dobre odżywienie chorych przed rozpoczęciem leczenia, wpływa na poprawę wyników leczenia.

W analizowanej grupie chorych na niezaawansowanego raka głośni zastosowanie wyższych dawek frakcyjnych wpłynęło na poprawę wyników radioterapii, dla dawki frakcyjnej ≤ 2 Gy ryzyko niewyleczenia miejscowego było 2,96 razy większe, a ryzyko zgonu z powodu raka było 3,09 razy większe. Stosując wyższe dawki frakcyjne skracamy całkowity czas leczenia, co przekłada się na zmniejszenie ryzyka wystąpienia zjawiska repopulacji i poprawę wyników leczenia.

Kolejny niekorzystny czynnik w materiale własnym to czas oczekiwania na rozpoczęcie radioterapii od momentu pobrania wycinka do badania histopatologicznego, średnio wynosił on 56 dni (zakres od 16 do 145 dni). U chorych oczekujących na radioterapię powyżej 30 dni ryzyko zgonu z powodu raka było 1,74 razy większe. Wydłużenie czasu oczekiwania na leczenie może prowadzić do wzrostu nowotworu i tym samym do zmniejszenia szans na jego wyleczenie.

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że radioterapia jest skuteczną metodą leczenia chorych na raka głośni w stopniu zaawansowania T1N0M0. Ryzyko niewyleczenia raka głośni w stopniu T1 jest większe u chorych palących, z niskim poziomem hemoglobiny, przejściem nacieku na spoidło przednie, którzy oczekiwali na rozpoczęcie radioterapii powyżej 30 dni i u których zastosowano dawkę frakcyjną równą lub mniejszą od 2Gy. Na przeżycie całkowite chorych w sposób niekorzystny wpływa wiek chorych powyżej 60 lat, gorszy stan sprawności oraz niedożywienie przed rozpoczęciem leczenia.

Ryzyko zachorowania na nowotwory złośliwe rośnie z wiekiem. Wraz ze starzeniem się społeczeństwa, rośnie liczba chorych w podeszłym wieku, którzy wymagają leczenia onkologicznego, w tym chorych na raka krtani. W 2015 roku w Polsce prawie co czwarty chory u którego rozpoznano raka krtani miał 70 i więcej lat [1]. W czwartej pracy cyklu chorzy po 60 rż, stanowili ponad połowę, a wiek chorych miał niezależny wpływ na wyniki leczenia. Dlatego w kolejnej pracy postanowiliśmy zbadać jakie czynniki mogą mieć wpływ na wyniki leczenia raka krtani u starszych chorych. Analiza tej grupy chorych ma bardzo istotne znaczenie dla codziennej praktyki klinicznej.

5. Mucha-Małecka A, Małecki K, Amrogowicz N, Biesaga B, Modrzejewski M.

Prognostic factors in elderly patients with T1 glottic cancer treated with radiotherapy

Sci Rep. 2021 Sep 6;11(1):17717, doi: 10.1038/s41598-021-96146-5

Celem pracy była ocena wyników leczenia napromienianiem starszych chorych na raka głośni w stopniu T1 oraz czynników prognostycznych, ze szczególnym uwzględnieniem chorób współistniejących.

Retrospektywnej analizie poddano grupę 131 chorych w wieku 70 i więcej lat na płaskonabłonkowego raka głośni w stopniu zaawansowania T1N0M0 leczonych napromienianiem w Centrum Onkologii w Krakowie. Większość chorych 98 (75%) była w bardzo dobrym i dobrym stopniu sprawności (ZUBROD 0-1). Poziom hemoglobiny oznaczony przed leczeniem wynosił średnio 14,6 g/dl (zakres od 9,8 do 16,7g/dl). Stan odżywienia chorych określono jak we wcześniejszej pracy. U 25 chorych (19%) zanotowano niedowagę, u 23 (18%) nadwagę, a u pozostałych chorych waga była prawidłowa. W analizowanej grupie paliło 73% chorych od 2 do 50 sztuk papierosów dziennie, przez średni czas 39 lat. Nadmierne spożywanie alkoholu wysokoprocentowego zgłosiło 44% chorych.

U wszystkich chorych występowały choroby współistniejące; u 32 chorych (24%) jedna, u 47 chorych (36%) dwie, u 28 chorych (22%) trzy, u 17 chorych (13%) cztery, a u 7 chorych (5%) pięć. Najczęściej zanotowano: nadciśnienie tętnicze, chorobę niedokrwienną serca oraz przewlekłą obturacyjną chorobę płuc. W analizie własnej do oceny wpływu chorób współistniejących na OS użyto skali Charlsona (Charlson Comorbidity Index) [30]. Skala Charlsona stanowi listę 19 chorób, których rozpoznanie zwiększa ryzyko zgonu o co najmniej 20%. Każdej z nich, w zależności od wpływu na przeżycie, przypisanych jest od 1 do 6 punktów. Wskaźnik wiek-choroby współistniejące (age-comorbidity score) określa prawdopodobieństwo przeżycia kolejnych 10 lat. Uzyskano następujące wyniki: 5 pkt - 48 chorych (37%), 6 pkt - 35 chorych (27%), 7 pkt - 26 chorych (20%), 8 pkt - 13 chorych (10%), 9 punktów - 9 chorych (7%).

Średni czas oczekiwania na napromienianie liczony od pobrania wycinka do badania histopatologicznego do dnia rozpoczęcia radioterapii wynosił 51 dni (zakres od 8 do 145 dni). Wszystkich chorych napromieniano konwencjonalnie do dawki całkowitej od 60 Gy do 70 Gy, dawką frakcyjną 2 Gy lub 2,5 Gy. Czas leczenia napromienianiem wynosił średnio 38 dni (zakres od 31 do 57 dni).

W analizowanej grupie mediana okresu obserwacji wynosiła 75 miesięcy. W czasie obserwacji zmarło 80 chorych (61%), w tym 73 chorych (91%) z przyczyn nienowotworowych. W pozostałej grupie 7 chorych (9%) przyczyną zgonu był rak krtani. Odsetki 5-letnich OS, DSS, LC wynosiły odpowiednio: 59%, 91%, 93%. Uzyskane wyniki LC oraz DSS w grupie starszych chorych są podobne jak prezentowane w grupie młodszych chorych leczonych napromienianiem z powodu raka głośni w stopniu T1. Natomiast prawdopodobieństwo OS w analizowanej grupie starszych chorych było znacznie niższe niż u chorych młodszych z tym rozpoznaniem i zaawansowaniem.

Wykazano, że u starszych chorych niska masa ciała (poziom BMI <18,5 kg/m²) przed rozpoczęciem leczenia wiązała się z 1,9 razy większym ryzykiem niewyleczenia, 1,7 razy większym ryzykiem zgonu z powodu raka oraz 2,4 razy większym ryzykiem zgonu. Righini i wsp. wykazali, że u chorych na nowotwory regionu głowy i szyi czynnikiem ryzyka niedożywienia jest

spożywanie alkoholu [31]. W analizowanej grupie, aż 44% chorych zgłosiło nadużywanie alkoholu co mogło sprzyjać niedożywieniu. Stan odżywienia ma istotne znaczenie przy podejmowaniu decyzji o sposobie postępowania terapeutycznego. U starszych chorych często spotyka się zaburzenia odżywiania, dlatego Całościowa Ocena Geriatryczna (CGA) ocenia również odżywienie chorych posługując się kwestionariuszem Mini Nutritional Assessment (MNA). Zastosowanie w praktyce MNA pozwala wykryć zaburzenia w odżywianiu, zanim dojdzie do spadku masy ciała lub pojawi się niedobór białka oraz na zastosowaniu wczesnej interwencji żywieniowej [32].

Wykazano, że zastosowanie dawki frakcyjnej 2 Gy zwiększa ryzyko niewyleczenia miejscowego 3,68 razy, a ryzyko zgonu z powodu raka 2,95 razy, w porównaniu do chorych u których zastosowano dawkę frakcyjną 2,5 Gy. U chorych na raka głowy w stopniu zaawansowania T1 wyższe dawki frakcyjne są dobrze tolerowane również u osób starszych, ze względu na mały obszar znajdujący się w polu napromieniania. Tolerancja leczenia napromienianiem była dobra, u 96% leczenie przeprowadzono zgodnie z planem. Zastosowanie hypofrakcjonowania u chorych na niezaawansowanego raka głowy skraca całkowity czas leczenia o 2 do 3,5 tygodni, dlatego zjawisko repopulacji, które rozpoczyna się około 4 tygodnia radioterapii ma mniejszy wpływ na wyniki leczenia. Yamazaki i wsp. zwrócili również uwagę na aspekt finansowy wynikający ze skrócenia czasu leczenia napromienianiem chorych na raka głowy w stopniu T1 [33]. U starszych chorych istotny jest również krótszy czas leczenia, który niejednokrotnie wiąże się z krótszym czasem hospitalizacji.

W analizowanej grupie wykazano, że wraz ze wzrostem liczby chorób współistniejących zmniejsza się odsetek 5-letnich OS z 98% dla 1 choroby do 82% dla 2 chorób, 29% dla 3 chorób, 5% dla 4 chorób i 0% dla 5 chorób. W analizie wielowariantowej potwierdzono niezależny wpływ liczby chorób współistniejących na OS. U chorych z 3 i więcej chorobami współistniejącymi ryzyko zgonu było 2,55 razy większe niż w grupie z mniejszą liczbą chorób. Występowanie chorób współistniejących niezależnie od ich ilości nie miało wpływu na wyniki LC i DSS. W grupie chorych z Indekssem Charlsona 5-6 pkt szansa na 5-letnie OS wynosiła 89%, natomiast w grupie, której zanotowano 7-9 pkt - 17%. Indeks Charlsona >6 pkt w analizie wielowariantowej wiązał się z 1,64 razy większym ryzykiem zgonu. W materiale własnym wykazano, że im częstsze jest współwystępowanie chorób towarzyszących, tym większe jest prawdopodobieństwo, że chory umrze z przyczyn innych niż nowotwór. Niektórzy autorzy wykazali również większe ryzyko nawrotu raka oraz zgonu z powodu raka u chorych z licznymi chorobami współistniejącymi [34,35]. W materiale własnym nie wykazano takiej zależności. Można to tłumaczyć tym, że chorzy z licznymi chorobami współistniejącymi otrzymują suboptymalne leczenie w obawie przed toksycznością i w związku z tym uzyskują gorsze wyniki leczenia lub tym, że w przypadku intensywnego leczenia jest ono źle tolerowane przez chorych i wymaga przerw w leczeniu,

dlatego zmniejsza się jego skuteczność. Leczenie przeciwnowotworowe często nasila objawy chorób współistniejących, co może doprowadzić do ograniczenia korzyści z terapii i wzrostu ryzyka wystąpienia poważnych powikłań [36]. Intensyfikacja leczenia powinna być przeprowadzona tylko u wybranych starannie chorych, gdy jest niezbędnie konieczna. Nasi chorzy dobrze tolerowali leczenie, ponieważ obszar do napromieniania u chorych na niezaawansowanego raka głowy jest niewielki.

U chorych z cukrzycą 5-letnie LC, DSS oraz OC uległo obniżeniu odpowiednio o: 20%, 19% i 33% w porównaniu do chorych bez cukrzycy. W analizie wielowariantowej wykazano, że występowanie cukrzycy typu 2 u chorych po 70 rż. wiązało się z 4,77 krotnie większym ryzykiem niewyleczenia miejscowego oraz 4,05 krotnie większym ryzykiem zgonu z powodu raka w porównaniu do chorych bez cukrzycy. Komórki nowotworowe cechują się zwiększoną aktywnością metaboliczną, a glukoza jest ich podstawowym źródłem energetycznym, dlatego jest duże prawdopodobieństwo, że wzrost guza zależy od jej dostępności w ustroju. Obecność cukrzycy przyspiesza progresję miażdżycy, zwiększa ryzyko wystąpienia incydentu sercowo-naczyniowego, co wpływa na skrócenie przeżycia chorych. Występują również zaburzenia mikrokrążenia, co może być przyczyną gorszego unaczynienia guza nowotworowego i co za tym idzie jego mniejszej promieniowrażliwości, czyli szans na wyleczenie napromienianiem.

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że radioterapia jest skuteczną metodą leczenia raka głowy w stopniu zaawansowania T1 u chorych w podeszłym wieku. Występowanie cukrzycy, niedożywienia oraz zastosowanie konwencjonalnego sposobu frakcjonowania dawki promieniowania zmniejsza szansę na wyleczenie raka głowy w tej grupie chorych, a współwystępowanie dużej liczby chorób towarzyszących zmniejsza szansę na przeżycie odległe.

Równocześnie z głównym nurtem prowadzonych przeze mnie badań realizowałam we współpracy z naukowcami z Zakładu Patomorfologii Nowotworów w Gliwicach i Krakowie badania na temat znaczenia infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV) w raku krtani w populacji pacjentów poddawanych leczeniu w tym samym czasie, którego dotyczy analizowany cykl prac. Od kiedy wykryto związek między zakażeniem HPV, a nowotworami regionu głowy i szyi przeprowadzono wiele badań, które wykazały lepsze rokowanie u chorych na raka jamy ustnej i ustnej części gardła, którzy byli HPV dodatni, co znalazło odzwierciedlenie w nowej klasyfikacji TNM [37]. W nowotworach HPV dodatnich prowadzone są liczne badania, których celem jest deeskalacja leczenia, dlatego istotne jest, żeby również w raku krtani zbadać, czy infekcja wirusem HPV może mieć wpływ na wyniki leczenia, w tym również z zaoszczędzeniem narządu. Doniesienia literaturowe dotyczące znaczenia infekcji HPV w etiologii raka krtani oraz jej wpływu na wyniki leczenia są nadal niejednoznaczne, dlatego podjęto własne badania dotyczące tego zagadnienia (praca 6 i 7).

6. Snietura M, Piglowski W, Jaworska M, Mucha-Małecka A, Wozniak G, Lange D, Suwiński R

Impact of HPV infection on the clinical outcome of p-CAIR trial in head and neck cancer

Eur Arch Otorhinolaryngol 2011; 268(5): 721-6. DOI: 10.1007/s00405-010-1396-7

Celem pracy była ocena wpływu zakażenia wirusem HPV na wynik randomizowanego badania klinicznego, w którym porównano konwencjonalną radioterapię (p-CF – napromienianie przez 5 dni w tygodniu do dawki całkowitej 63 Gy, dawką frakcyjną 1,8 Gy) z ciągłym pooperacyjnym napromienianiem (p-CAIR - napromienianie przez 7 dni w tygodniu do dawki całkowitej 63 Gy, dawką frakcyjną 1,8 Gy) u chorych na płaskonabłonkowe nowotwory regionu głowy i szyi, w tym raka krtani.

Obecność DNA HPV oceniono w 131 archiwalnych bloczkach parafinowych za pomocą multipleksowej ilościowej PCR w czasie rzeczywistym przy użyciu starterów i sond molekularnych specyficznych dla konserwatywnego regionu L1 dla 14 podtypów HPV wysokiego ryzyka. Po przeprowadzeniu procedury qPCR można było określić obecność HPV16, HPV18 oraz pozostałych 12 rzadszych podtypów onkogennych. Dokładny opis metody znajduje się w publikacji. Spośród 131 próbek w 9 (6,9%) stwierdzono infekcje HPV, wszystkie z nich były zakażone podtypem HPV16. Żaden spośród 65 raków krtani nie był HPV pozytywny.

U pacjentów HPV-dodatnich 5-letnie wyleczenie lokoregionalne (LRC) wyniosło 100% w porównaniu do 58% w grupie HPV-ujemnej, niezależnie od sposobu frakcjonowania dawki promieniowania. Wśród 122 pacjentów z guzami HPV-ujemnymi 5-letnie LRC wyniosło 50,3% w ramieniu p-CF w porównaniu z 65,2% w ramieniu p-CAIR. Zakażenie HPV było związane z niską ekspresją EGFR i cykliny D. W analizowanej grupie u chorych z infekcją wirusem HPV uzyskano bardzo dobre wyniki pooperacyjnej radioterapii.

Wykazano, że u chorych HPV (+) napromienianych pooperacyjnie wystarczające jest zastosowanie radioterapii konwencjonalnej, nie ma potrzeby narażania chorych z tej grupy na bardziej nasilone ostre odczyny popromienne, towarzyszące radioterapii przyspieszonej. Jednakże, w analizowanej grupie, zakażenie wirusem HPV stwierdzono w niewielkiej grupie chorych, dlatego uzyskane wyniki należy traktować ostrożnie i wymagają one dalszych badań na większej grupie chorych. Uzyskane wyniki nie mają również zastosowania u chorych na raka krtani, ponieważ w analizowanej grupie u żadnego chorego na raka krtani nie stwierdzono obecności wirusa HPV.

7. Mucha-Małecka A, Biesaga B, Janecka-Widła A, Przewoźnik M, Małecki K
Assessment of HPV16 infection in patients with laryngeal cancer
Polish Journal of Pathology 2021; 72(1): 64-74. DOI: 10.5114/pjp.2021.104659

Celem pracy było zbadanie występowania infekcji HPV16 i jej typu (zintegrowany vs episomalny vs mieszany) u chorych na raka krtani oraz ocena wyników leczenia w zależności od tej infekcji oraz czynników klinicznych, histopatologicznych i parametrów napromieniania.

Retrospektywnej analizie poddano grupę 60 chorych na płaskonabłonkowego raka krtani, którzy byli operowani i uzupełniająco napromieniani w Centrum Onkologii w Krakowie. W analizowanej grupie przeważali mężczyźni (95%), średni wiek chorych to 56 lat. Po zabiegu operacyjnym u 87% chorych ustalono stopień zaawansowania na pT3-T4, a u 53% chorych stwierdzono obecność przerzutów w węzłach chłonnych szyi (pN+). U wszystkich chorych rozpoznano raka płaskonabłonkowego, najczęściej u 58% chorych o pośrednim stopniu zróżnicowania (G2). Brak radykalności mikroskopowej zanotowano u 30% chorych. U 22% chorych zanotowano niedożywienie (stan odżywienia oceniono jak w pracy numer 4 cyklu). W analizowanej grupie aż 97% chorych paliło papierosy, średnio 21 sztuk na dzień przez 33 lata, a nadmierne spożywanie alkoholu wysokoprocentowego zgłosiło 62% chorych. Poziom hemoglobiny oznaczony przed leczeniem w analizowanej grupie wynosił średnio 13,2g/dl. Chorzy byli napromieniani w sposób konwencjonalny do średniej dawki całkowitej nałożącej 61 Gy (zakres od 60 do 70 Gy), a średni czas leczenia napromienianiem wynosił 43 dni. Czas oczekiwania na napromienianie liczony od operacji do dnia rozpoczęcia radioterapii wynosił średnio 76 dni.

W analizowanej grupie chorych uzyskano w 5-letnim okresie obserwacji 69% wyleczeń miejscowych (LC), 61% przeżyć bezobjawowych (DFS) i 45% przeżyć całkowitych (OS).

W analizowanej grupie brak radykalności mikroskopowej zabiegu operacyjnego zanotowano u 30% chorych. Wykazano, że w przypadku braku radykalności mikroskopowej zabiegu obniżyła się szansa na 5-letnie LC z 79% do 49% i 5-letnie DFS z 68% do 43%. Nieradykalność mikroskopowa operacji wiązała się z 3.84 razy większym ryzykiem niewyleczenia miejscowego raka oraz z 2.93 razy większym ryzykiem zgonu z powodu raka. Również, we wcześniej omówionej 3 pracy cyklu potwierdzono niekorzystny wpływ tego parametru na wyniki leczenia chorych na raka krtani.

Stwierdzono, że w grupie chorych niedożywionych 5-letnie LC wynosiło 38% w porównaniu do 77% w grupie prawidłowo odżywionej i 87% w grupie nadmiernie odżywionej, natomiast 5-letnie DFS odpowiednio: 38%, 63% i 87%. 5-letnie OS w grupie chorych niedożywionych wynosiło 23% w porównaniu do 46% w grupie prawidłowo odżywionej i 75% w grupie nadmiernie odżywionej. Niedożywienie chorych przed rozpoczęciem leczenia napromienianiem wiązało się z 2,84 razy większym ryzykiem niewyleczenia, 2,11 razy większym ryzykiem zgonu z powodu raka oraz 2,55 razy większym ryzykiem zgonu. Uzyskane wyniki są zgodne z przedstawionymi wynikami w pracy 4 i 5 prezentowanego cyklu. Te Riele i wsp. w grupie 788 chorych na raka krtani wykazali, niekorzystny wpływ niedożywienia na przeżycie całkowite. Stwierdzili, że BMI może być czynnikiem predykcyjnym do prognozowania przeżycia

całkowitego [38]. Wykazano również, że chorzy na nowotwory regionu głowy i szyi z utratą masy ciała powyżej 10% w ciągu 6 miesięcy przed leczeniem są narażeni na duże ryzyko poważnych powikłań pooperacyjnych [39].

W badanym materiale ocenę zakażenia HPV16 oraz jego typu przeprowadzono metodą qPCR na podstawie DNA wyizolowanego z archiwalnych bloczków zawierających fragmenty raka krtani uzyskane podczas operacji. Infekcję HPV16 można było ocenić u 59 chorych, dla których uzyskano DNA podczas procedury ekstrakcji. Zakażenie HPV16 stwierdzono u 4 chorych na raka krtani (6,8%). W tej grupie oceniono typ genomu HPV16 na podstawie stosunku CtE2/CtE6(Ct – cykl, w którym przekroczony zostaje progowy poziom fluorescencji w qPCR), który u wszystkich chorych wynosił powyżej 1,0. Na tej podstawie u 4 HPV16 pozytywnych chorych rozpoznano episomalny typ infekcji. U żadnego chorego nie zanotowano zintegrowanego typu infekcji HPV16, czyli takiego który ma znaczenie w procesie kancerogenezy.

W literaturze podawany jest szeroki zakres częstości występowania infekcji HPV w płaskonabłonkowym raku krtani i wynosi on od 0% do 75% [40-43]. Istnieje ponad 100 typów wirusa HPV sklasyfikowanych w grupie niskiego lub wysokiego ryzyka, najczęściej rozpoznawanym w nowotworach głowy i szyi, w tym również w raku krtani jest typ HPV16, znacznie rzadziej HPV18 [44,45]. W naszym materiale oznaczaliśmy obecność HPV16. W analizach dotyczących populacji polskiej częstość infekcji HPV w raku krtani wynosiła od 0% do 36% [6 praca cyklu,46,47]. Różnice w prezentowanych wynikach mogą być spowodowane różną metodyką wykrywania HPV. Tylko w badaniu przeprowadzonym przez Golusinskiego i wsp. oceniono aktywną infekcję HPV, tj. taką podczas której dochodzi do ekspresji wirusowych białek onkogennych E6 i E7 [46]. Według naszej najlepszej wiedzy w żadnej polskiej pracy dotyczącej zakażenia HPV u chorych na raka krtani nie oceniono typu infekcji HPV (episomalny, mieszany, zintegrowany). Nasze badanie jest pierwszym polskim projektem, w którym oceniono typ infekcji HPV16 u chorych na raka krtani, u wszystkich chorych stwierdzono typ episomalny, natomiast u żadnego chorego nie rozpoznano infekcji zintegrowanej. Warunkiem progresji zmian śródnabłonkowych w krtani jest ekspresja wirusowych onkogenów E6 i E7, a co za tym idzie produkcja onkogennych białek E6 i E7. Wirusowe onkoproteiny mają zdolność wiązania się z komórkowymi produktami genów supresorowych P53 i PRb co prowadzi, między innymi do zaburzenia cyklu komórkowego i blokowania procesu apoptozy, a następnie transformacji komórek nabłonkowych [48-50]. W większości zakażeń wysokoonkogennymi typami HPV wzrost ekspresji E6 i E7 występuje po integracji wirusa z genomem komórki gospodarza. W tym procesie następuje przerwanie otwartej ramki odczytu (open reading frame) wirusowego genu E2, co wpływa na zahamowanie ekspresji tego genu, a co za tym idzie na niekontrolowaną ekspresję wirusowych onkogenów E6 i E7. Identyfikację zintegrowanej postaci genomu wirusa oparto zatem na założeniu, że stosunek liczbowy kopii E2/E6 wynosi zero. Natomiast episomalna postać

wirusowego DNA miałyby zawierać przynajmniej taką samą ilość kopii *E2* i *E6*, co pozwoliło na ustalenie stosunku $E2/E6 \geq 1$. Wartość $CtE2/CtE6$ mieszcząca się w przedziale 0,0 – 1,0 wskazuje zatem na obecność obu postaci genomu wirusa: zintegrowanej i episomalnej w badanym materiale (postać mieszana).

Duży odsetek wykrytych infekcji HPV w raku krtani w niektórych badaniach może być dodatkowo zawyżony z powodu wykrycia jedynie DNA HPV i nieaktywnej infekcji wirusowej [47,51,52].

Szeroki zakres raportowania częstości zakażenia HPV w nowotworach regionu głowy i szyi, w tym również w raku krtani może wynikać również: z odmienności zakażenia w różnych regionach geograficznych, umiejscowienia guza, liczebności badań, niskiej jakości badanych próbek, różnic w metodach przechowywania próbek [43,45,53]. W naszej analizie nie przeprowadziliśmy analizy przeżycia ze względu na obecność HPV z powodu braku zintegrowanej postaci HPV w analizowanej grupie chorych. Wymaga to dalszych badań w dużych grupach chorych.

Na podstawie naszych obserwacji można przypuszczać, że infekcja HPV nie odgrywa większej roli w etiologii raka krtani. Jednak konieczne są dalsze badania na większej grupie chorych oraz ustalenie optymalnej metodologii wykrywania infekcji HPV. Po raz kolejny wykazaliśmy, że brak radykalności mikroskopowej zabiegu operacyjnego wpływa znamienne na pogorszenie wyników leczenia, a niedożywienie chorych przed radioterapią zmniejsza szansę na wyleczenie oraz przeżycie chorych na raka krtani.

Własne rekomendacje dla leczenia chorych na raka krtani z zachowaniem narządu na podstawie powyższych prac:

Kliniczne znaczenie prezentowanych wyników przedstawionych prac:

1. Pomimo faktu, że radioterapia konwencjonalna u chorych na zaawansowanego raka krtani jest metodą leczenia o ograniczonej skuteczności, pozwala ona na uzyskanie 3-letnich wyleczeń miejscowych u około 42% chorych z możliwością zachowania narządu. Taki sposób leczenia może być rekomendowany zamiast leczenia paliatywnego u chorych, którzy nie godzą się na usunięcie krtani i/lub mają przeciwwskazania do leczenia operacyjnego i systemowego.
2. U wszystkich chorych na raka krtani przed rozpoczęciem leczenia należy wykonać badania obrazowe (tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny) celem precyzyjnego ustalenia stopnia zaawansowania raka oraz identyfikacji chorych z korzystną makroskopową odmianą guza (czyli z rakiem o egzofitycznym typie wzrostu naciekającym krtań jedynie powierzchownie), dającą stosunkowo wysoką szansę na

- wyleczenie z zachowaniem narządu głosu po samodzielnej radioterapii.
3. Wykonanie tracheostomii ze wskazań życiowych jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym, co należy uwzględnić podczas planowania leczenia napromienianiem.
 4. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze sugestie o wpływie kilku czynników prognostycznych na wyniki skojarzonego leczenia chorych na raka krtani. Jednoczesna ocena tych czynników wyrażona oszacowaniem ryzyka nawrotu raka po leczeniu operacyjnym może znaleźć zastosowanie praktyczne w indywidualnym doborze fizyczno-geometrycznych parametrów uzupełniającej radioterapii w celu poprawy wyników leczenia.
 5. Brak radykalności makroskopowej i mikroskopowej zabiegu operacyjnego niekorzystnie wpływa na wyniki leczenia raka krtani, dlatego powinno być to uwzględnione przy kwalifikacji i planowaniu radioterapii.
 6. Przejście nacieku poza krtań np. na gardło, niekorzystnie wpływa na wyniki radioterapii, dlatego czynnik ten należy uwzględnić przy kwalifikacji i planowaniu leczenia napromienianiem.
 7. Przejście nacieku na spoidło przednie wiąże się z gorszym rokowaniem, dlatego powinno być uwzględnione przy planowaniu leczenia. Istotne jest wykonanie nawet w niezaawansowanych nowotworach w krtani (T1) badań obrazowych przed rozpoczęciem leczenia, aby dokładnie ustalić stopień zaawansowania nowotworu.
 8. Chorzy przed rozpoczęciem radioterapii powinni mieć prawidłowy poziom hemoglobiny. Obniżony poziom hemoglobiny przed radioterapią należy uwzględnić przy planowaniu leczenia i zrekompensować np. podaniem wyższej dawki promieniowania w celu uzyskania takiego samego efektu w komórkach niedotlenowanych jak i w prawidłowo utlenowanych.
 9. Niski poziom BMI przed leczeniem może być czynnikiem, który wskazuje na złe rokowanie u chorych na raka krtani. Dlatego u chorych przed rozpoczęciem leczenia napromienianiem konieczne jest uzupełnienie masy ciała, ponieważ wpływa to na poprawę wyników leczenia.
 10. U chorych na raka głośni w stopniu zaawansowania T1 wyższe dawki frakcyjne są dobrze tolerowane również u osób starszych, ze względu na mały obszar znajdujący się w polu napromieniania. Stosując wyższe dawki frakcyjne skracamy całkowity czas leczenia, co przekłada się na zmniejszenie ryzyka występowania zjawiska repopulacji i poprawę wyników leczenia. U starszych chorych istotny jest również krótszy czas leczenia, który niejednokrotnie wiąże się z krótszym czasem hospitalizacji.

11. Należy skrócić czas oczekiwania na radioterapię, ponieważ wydłużenie czasu oczekiwania na leczenie może prowadzić do wzrostu nowotworu i tym samym do zmniejszenia szans na jego wyleczenie.
12. Chorzy po leczeniu napromienianiem wymagają częstych kontroli, w tym również badań obrazowych szczególnie w okresie pierwszych 24 miesięcy po leczeniu, w celu możliwości szybkiego wykrycia niepowodzenia leczenia.
13. Wykazano, że wiek chorych oraz stan sprawności wpływają na przeżycie całkowite. Skuteczność miejscowa radioterapii u chorych na raka głośni w stopniu T1 jest wysoka i leczenie takie jest dobrze tolerowane nawet u osób starszych, ponieważ obszar napromieniania jest niewielki. Dlatego również starsi chorzy na raka krtani mogą być leczeni napromienianiem z intencją zachowania narządu.
14. Wykazano, że im większa liczba chorób współistniejących, tym większe jest prawdopodobieństwo, że chory umrze z przyczyn innych niż nowotwór. Leczenie przeciwnowotworowe często nasila objawy chorób współistniejących, co może doprowadzić do ograniczenia korzyści z terapii i wzrostu ryzyka wystąpienia poważnych powikłań, dlatego intensyfikacja leczenia powinna być przeprowadzona, tylko u wybranych starannie chorych i przeprowadzana, gdy jest niezbędnie konieczna.
15. U starszych chorych na raka krtani ze współwystępowaniem cukrzycy należy rozważyć inną metodę leczenia niż leczenie napromienianiem, ponieważ cukrzyca może prowadzić do zaburzenia mikrokrążenia, co może być również przyczyną gorszego unaczynienia guza nowotworowego i co za tym idzie zmniejszenia jego promieniowrażliwości, czyli szans na wyleczenie napromienianiem.
16. Na podstawie naszych obserwacji można przypuszczać, że infekcja HPV nie odgrywa dominującej roli w etiologii raka krtani. Jednak konieczne są dalsze badania na większej grupie chorych oraz ustalenie optymalnej metodologii wykrywania infekcji HPV.

Wyniki prac powyższego cyklu były prezentowane podczas 8 międzynarodowych i 10 krajowych kongresów, zjazdów i sympozjów naukowych (załącznik numer 4).

W 2022 roku Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych im. Marii Skłodowskiej-Curie przyznał mi nagrodę I stopnia w dziedzinie radioterapii za trzy prace naukowe, które wchodziły w skład powyższego cyklu – praca numer 4, 5 i 7, dotyczące poszukiwania czynników prognostycznych i predykcyjnych u chorych na raka krtani leczonych napromienianiem w celu możliwości zaoszczędzenia narządu.

Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Po ukończeniu w 1997 roku Wydziału Lekarskiego, Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze, rozpoczęłam pracę w Centrum Onkologii-Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Gliwicach. W czasie studiów przez trzy lata brałam czynny udział w pracach Koła Onkologicznego Studenckiego Towarzystwa Naukowego przy Centrum Onkologii Instytucie w Gliwicach. W 1997 roku otrzymałam pierwszą nagrodę podczas konferencji Studenckiego Towarzystwa Naukowego w Katowicach za prezentację pracy pod tytułem „Brachyterapia wewnątrzmaczyniowa w leczeniu choroby wieńcowej”. W latach 1997-2003 byłam zatrudniona jako asystent naukowo-badawczy w I Klinice Radioterapii Centrum Onkologii-Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Gliwicach. W tym czasie rozpoczęłam specjalizację z radioterapii onkologicznej pod kierownictwem prof. dr hab. n. med. Krzysztofa Skłodowskiego.

Moja działalność naukowa w tym okresie była skupiona na poszukiwaniu czynników o znaczeniu prognostycznym, które mogą mieć wpływ na wyniki leczenia napromienianiem głównie u chorych na nowotwory regionu głowy i szyi m.in. klinicznych, patologicznych oraz związanych z radioterapią (sposoby frakcjonowania dawki promieniowania, znaczenie przerw w radioterapii, skuteczność i toksyczność chemioradioterapii). Wyniki badań z tego okresu zostały opublikowane w 5 pracach naukowych oraz zaprezentowane na 6 międzynarodowych i 33 krajowych konferencjach, sympozjach i zjazdach (załącznik numer 4).

Pracując w I Klinice Radioterapii Centrum Onkologii w Gliwicach brałam udział jako współbadacz w badaniu klinicznym oceniającym skuteczność i toksyczność hiperfrakcjonowanego napromieniania chorych na zaawansowane nowotwory regionu głowy i szyi. Wyniki tego badania zostały przedstawione podczas 2 konferencji międzynarodowych (Edynburgu, Anglia i Pradze, Czechy) oraz 4 krajowych (załącznik numer 4).

W tym czasie brałam również udział jako współbadacz w badaniu II fazy oceniającym skuteczność i tolerancję jednoczesnej ciągłej radioterapii z chemioterapią z zastosowaniem Taxanów (CAIR+Taxol) w leczeniu zaawansowanych nowotworów regionu głowy i szyi. Wyniki przeprowadzonego badania zostały przedstawione na konferencji międzynarodowej w Kopenhadze, Dania i 3 krajowych (załącznik numer 4).

Brałam czynny udział w zbieraniu materiału klinicznego i tworzeniu bazy danych u chorych na nowotwory regionu głowy i szyi leczonych w sposób ciągły napromienianiem po leczeniu operacyjnym w ramach badania randomizowanego III fazy. Jestem współautorem doniesienia zjazdowego z tego zakresu przedstawionego na międzynarodowej konferencji w USA: *ASTRO 49th Annual Meeting, 28.10-1.11.2007, Los Angeles, USA i opublikowane w: International Journal of Radiation Oncology Biology Physics 2006; 69(3Suppl.): S202, Suwiński R, Jaworska M,*

*Nikiel B, Białas M, Bankowska-Woźniak M, **Mucha-Małecka A**, Majewski W, Składowski K, Maciejewski A, Lange D, The molecular and pathological predictors of loco-regional tumor control and distant metastases in a randomized clinical trial on 7-days-a-week postoperative radiotherapy for squamous-cell head and neck cancer.*

W latach 1998 – 2001 prowadziłam również wykłady z Onkologii dla studentów VI roku wydziału lekarskiego Śląskiej Akademii Medycznej oraz z anatomii dla słuchaczy Medycznego Studium Zawodowego Nr 1 im. prof. A. Cieszyńskiego w Zabrze.

W tym okresie pracy uczestniczyłam w licznych szkoleniach, kursach i konferencjach zagranicznych i krajowych, najważniejsze z nich to:

- 1997 r - Poznań, Polska - III-rd spring seminar "Treatment planning in radiotherapy"
- 1998 r - Dublin, Irlandia "Molecular Oncology for Radiotherapy" organizowany przez European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) – tygodniowy kurs
- 1998 r - Gliwice, Polska - 3rd Radiation Oncology Conference "Progress in Radiation Biology and Therapy"
- 1998 r - Gdańsk, Polska "Evidence-Based Radiation Oncology: Principles and Methods" organizowany przez European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) – tygodniowy kurs
- 1999 r - Como, Włochy "Teaching Course on Methodology of Clinical Research" organizowany przez European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) – tygodniowy kurs
- 1999 r - Gdańsk, Polska "Basic Clinical Radiobiology" organizowany przez European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) – tygodniowy kurs
- 1999 r - Kielce, Polska - VIII Międzynarodowe Sympozjum „Onkologia w otolaryngologii”
- 2000 r – Poznań, Polska - Międzynarodowe Sympozjum „Stan obecny i przyszłość onkologii w oto-patologii”
- 2000 r – Istambuł, Turcja – 19 ESTRO Meeting, organizowane przez European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO)
- 2001 r - Kraków, Polska "Teaching Course in Imaging for Target Volume Determination in Radiotherapy" organizowany przez European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) – tygodniowy kurs
- 2001 r – Poznań, Polska - Międzynarodowe Sympozjum "Advances in Radiation Oncology: Diagnosis-Treatment Planning- Clinical Outcome"
- 2001 r - Szczecin, Polska - IX Międzynarodowe Sympozjum „Onkologia w Otolaryngologii”
- 2002 r – Praga, Czechy – 21 ESTRO Meeting, organizowane przez European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO)
- 2003 r – Poznań, Polska - Konferencja „Współczesne osiągnięcia w onkologii”

Od roku 2004 pracuję w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie - Państwowym Instytucie Badawczym w Krakowie, aktualnie jako adiunkt, pełniąc funkcję zastępcy kierownika Zakładu Radioterapii. Pracę doktorską obroniłam w 2004 roku przed Radą Naukową Centrum Onkologii-Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie. Dyplom specjalisty w dziedzinie radioterapii onkologicznej uzyskałam w 2005 roku.

W latach 2007-2013 byłam zatrudniona również na stanowisku asystenta w Klinice Okulistyki i Onkologii Okulistycznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

Od 2009 roku jestem wykładowcą Krakowskiej Medycznej Szkoły Policealnej im. S. Leszczyńskiej w Krakowie. Od 2013 roku jestem również wykładowcą na Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie na kierunku Fizyka Medyczna.

Pracując w Gliwicach, a później w Krakowie przez wiele lat brałam czynny udział w pracach Zespołu Nowotworów Głowy i Szyi (pełniłam również funkcje kierownika Kliniki Nowotworów Głowy i Szyi do czasu jej likwidacji w NIO-PBI w Krakowie). Aktualnie jestem członkiem zespołu Breast Unit, aktywnie biorę udział w cyklicznych konsyliach chorych na raka piersi i ich kwalifikacjach do leczenia.

Pracując w Krakowie odbyłam liczne szkolenia krajowe i zagraniczne. Najważniejsze z nich to:

- 2004 r – Zakopane, Polska - XXI Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Nowotwory złośliwe regionu głowy i szyi”
- 2004 r – Amsterdam, Holandia – 23 ESTRO Meeting, organizowane przez European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO)
- 2006 r – Amsterdam, Holandia - I Międzynarodowe Sympozjum szkoleniowe dotyczące nowotworów głowy i szyi
- 2006 r – Lugano, Szwajcaria - Third International Conference on Translational Research and Pre-Clinical Strategies in Radiation Oncology
- 2008 r – Barcelona, Hiszpania – 8 Meeting of the European Association of NeuroOncology (EANO)
- 2008 r – Warszawa, Polska - Global Continuing Education Program „Current Concepts in Head&Neck Surgery and Oncology” prowadzonego pod patronatem The International Federation of Head and Neck Oncologic Societies
- 2009 r - Budapeszt, Węgry „Trends in Central Nervous System Malignancies” konferencja szkoleniowa EORTC-EANO
- 2009 r - Katowice, Polska - XIII Sympozjum „Onkologia w laryngologii”
- 2009 r – Łódź, Polska - II Sympozjum Sekcji Neuroonkologii Polskiego Towarzystwa Neurochirurgów
- 2009 r – Szczyrk, Polska - IV International Symposium on Medical Physics

- 2010 r – Barcelona, Hiszpania – 29 ESTRO Meeting, organizowane przez European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO)
- 2010 r – Białowieża, Polska - III Białowieskie Sympozjum „Nowotwory głowy i szyi – interdyscyplinarna diagnostyka i leczenie skojarzone”
- 2011 r - kurs zorganizowany przez StatSoft Polska pt.: „Wybrane metody opracowywania wyników badań medycznych w programie STATISTICA”
- 2011 r – Rzym, Włochy – konferencja Trends in Head and Neck Oncology (THNO)
- 2011 r – Sztokholm, Szwecja - European Cancer Conference ECCO 16
- 2012 r - kurs zorganizowany przez StatSoft Polska pt.: „Zastosowanie zaawansowanych metod statystycznych w medycynie”
- 2012 r – kurs z opieki paliatywnej
- 2012 r – Marsylia, Francja - 10 Congress of European Association of NeuroOncology (EANO)
- 2014 r - Madryt, Hiszpania - European Society for Medical Oncology (ESMO)
- 2015 r – ukończyłam kursu leczenia żywieniowego dla członków zespołów żywieniowych zorganizowany przez Polskie Towarzystwo Żywienia Pozajelitowego, Dojelitowego i Metabolizmu (Polska Szkoła Żywienia Klinicznego i Metabolizmu)
- 2015 r – Kazimierz Dolny, Polska - „Nowotwory Głowy i Szyi – narastający problem epidemiologiczny i terapeutyczny” – organizator Uniwersytet Medyczny w Lublinie oraz Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej
- 2016 r - warsztaty dermatoskopowe zorganizowane przez Akademię Czerniaka i Centrum Onkologii -Instytut w Krakowie
- 2016 r - warsztaty szkoleniowe z zakresu wdrażania standardów akredytacyjnych w ramach projektu z Funduszy Europejskich - Projekt Akredytacja Szpitali w latach 2016-2019
- 2018 r - Warszawa, Polska, konferencja naukowo-szkoleniowa „Radioterapeuci radioterapeutom mówią o radioterapii”
- 2019 r - Łódź, Polska, Sympozjum „Wewnątrzczaszkowa i pozaczaszkowa radioterapia stereotaktyczna”

2006 r – Christie Hospital, Manchester, Wielka Brytania – wizyta kliniczna

2011 r – General Hospital Gemelli, Rzym – wizyta kliniczna

2015 r – Zakład Radioterapii Centrum Onkologii w Bydgoszczy – 2-tygodniowy staż w z zakresu nowoczesnych technik radioterapii.

2019 r – Zakład Wirusologii Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie – 2-tygodniowy staż w z metodologii wykrywania infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego.

Byłam współwykonawcą grantu badawczego, nr umowy 263/18 otrzymanego z Fundacji im. Jakuba hr. Potockiego pt.: „Wpływ infekcji HPV16 na biologiczne cechy nowotworowych komórek macierzystych i ich potencjał prognostyczny u chorych na raka płaskonabłonkowego narządów głowy i szyi”, realizowanego w latach 2018-2021 (kierownik projektu: dr hab. n. med. Beata Biesaga). Efektem grantu są 2 publikacje w impaktowanych czasopismach oraz 5 doniesień zjazdowych przedstawionych na międzynarodowych i krajowych konferencjach. Publikacje zostaną omówione w dalszej części autoreferatu.

Jestem kierownikiem grantu badawczego otrzymanego z Fundacji im. Jakuba hr. Potockiego, nr umowy 731/21, pt. „Zależność między infekcją HPV i ekspresją wybranych parametrów funkcjonowania układu immunologicznego oraz ich potencjałem prognostycznym u chorych na raka płaskonabłonkowego narządów głowy i szyi”. Grant otrzymany na lata 2021-2022.

Brałam udział w charakterze głównego badacza lub współwykonawcy w 44 badaniach statutowych wpisanych do Planu Naukowego Narodowego Instytutu Onkologii -PIB (załącznik numer 4).

Jestem promotorem pomocniczym 2 doktoratów otworzonych przez Radę Naukową Centrum Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie. Opis tematyki doktoratów znajduje się w dalszej części autoreferatu. Jeden z doktoratów został obroniony z wyróżnieniem w lipcu 2022 roku, obrona kolejnego jest planowana również w 2022 roku.

W ramach współpracy międzynarodowej na zaproszenie redakcji pełnię funkcję Redaktora wydania specjalnego w czasopiśmie Biomedicines (IF: 4,757, ISSN 2227-9059).

Oprócz powyżej przedstawionych 7 prac cyklu jestem autorem i współautorem 61 prac, opublikowanych w całości w międzynarodowych i krajowych czasopismach naukowych, w tym 41 prac oryginalnych, 13 prac poglądowych, 7 opisów przypadków. Ponadto dorobek swojej działalności naukowej jako pierwszy autor lub współautor zaprezentowałam w 123 doniesieniach zjazdowych. Trzydzieści trzy z powyższych zostało zaprezentowanych w formie ustnej podczas renomowanych zjazdów zagranicznych i krajowych, pozostałe 90 w formie plakatowej (załącznik nr 4).

	Dla wszystkich prac	Dla cyklu prac zgłoszonych jako dorobek habilitacyjny
Impact Factor wg WoS*	76,608	15,618
Punktacji Ministerstwa	1672	377

	WoS*	Scopus
Liczba cytowań	306 276 (bez autocytowań)	327 308 (bez autocytowań)
Index Hirscha	10	10

*Web of Science Core Collection

Prezentowane osiągnięcia naukowe powstały we współpracy z Centrum Onkologii w Bydgoszczy, Zakładem Wirusologii Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, Katedrą Patomorfologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, Zakładem Radioterapii Dzieci i Dorosłych Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie, Kliniką Otolaryngologii i Chirurgii Onkologicznej Głowy i Szyi oraz Kliniką Chirurgii Onkologicznej 5 Wojskowego Szpitala Klinicznego w Krakowie oraz z naukowcami z Narodowego Instytutu Onkologii Oddziału w Gliwicach.

Moje zainteresowania badawcze po obronie doktoratu skupiają się głównie na kilku kierunkach takich jak:

1. Ocena mechanizmów molekularnych i tkankowych działania promieniowania jonizującego na guz nowotworowy oraz możliwości zastosowania w praktyce klinicznej markerów oksydacyjnych uszkodzeń DNA.

Prace powstały dzięki współpracy z badaczami z Centrum Onkologii w Bydgoszczy.

W pracy: *Odpowiedź tkankowa i molekularna na działanie promieniowania jonizującego*, Roszkowski K, **Mucha-Małecka A**, *Onkologia i Radioterapia* 2009; 3(9): 27-32, opisano mechanizmy, w których zostały zidentyfikowane czynniki niekomórkowe, modyfikujące odpowiedź guza na cytotoksyczne działanie promieniowania jonizującego lub chemioterapii. Opisano również odpowiedź molekularną na uszkodzenia DNA wywołane promieniowaniem jonizującym, które indukuje procesy komórkowe prowadzące do zatrzymania cyklu komórkowego lub apoptozy, zapewniając, że uszkodzenia genomu nie będą przekazane dla komórek potomnych. Analizując zawartości oksydacyjnych uszkodzeń DNA w moczu można ocenić skalę naprawy na poziomie całego organizmu. Wysokie poziomy wydalanych z moczem oksydacyjnych uszkodzeń DNA są wskaźnikiem nasilonego poziomu stresu oksydacyjnego, ale mogą również odzwierciedlać wysoką sprawność systemów naprawy tychże uszkodzeń (stres oksydacyjny może być wysoki, a mechanizmy naprawy usuwają jego skutki). Natomiast połączenie danych o poziomie podstawowym właściwym dla każdego pacjenta, z analizą wydalanych w moczu 8-oksyGua i 8-oksydG, może wyraźnie obrazować informacje o mechanizmach naprawy DNA. Poznanie mechanizmów odpowiedzi komórkowej i molekularnej

na promieniowanie jonizujące stosowane w radioterapii nowotworów, daje możliwości opracowania nowych obszarów dla terapii celowanej i skutecznego podejścia terapeutycznego w odniesieniu do guza nowotworowego.

W kolejnej publikacji: *Oxidative damage DNA: 8-oxoGua as and 8-oxodG as molecular markers of cancer*, Roszkowski K, Jóźwicki W, Błaszczak P, **Mucha-Małecka A**, Siomek A, *Med. Sci Monit* 2011; 17(6): CR329-CR333, u 222 chorych na raka i 134 zdrowych ochotników przeanalizowano spektrum biomarkerów uszkodzeń oksydacyjnych DNA: wydalanie z moczem 8-oxodG (8-okso-7,8-dihydro-2'-deoksyguanozyny), 8-oksoGua (8-okso-7,8-dihydroguaniny) oraz 8-oxodG jako poziom uszkodzenia oksydacyjnego DNA w leukocytach krwi obwodowej. Dla pacjentów chorych na raka (n=222) mediany wartości 8-oxoGua i 8-oxodG w próbkach moczu wynosiły odpowiednio: 12,44 (zakres międzykwartylowy: 8,14-20,33) [nmol/24 h] i 6,05 (3,12-15,38) [nmol/24 godz.]. Mediany wartości 8-oxoGua i 8-oxodG w próbkach moczu z grupy kontrolnej (n=85) wynosiły odpowiednio: 7,7 (4,65-10,15) [nmol/24 h] i 2,2 (1,7-2,8) [nmol/24 h]. Poziom 8-oxodG w DNA izolowanym z leukocytów populacji pacjentów chorych na raka i grupy kontrolnej wynosił odpowiednio: 4,93 (3,46-9,27) na 10⁶ dG i 4,46 (3,82-5,31) na 10⁶ dG. Uzyskane wyniki sugerują, że stres oksydacyjny u chorych na nowotwory, przejawiający się zwiększonymi ilościami tych modyfikacji w moczu, może być typowy nie tylko dla zaatakowanej tkanki, ale także dla innych tkanek, a nawet całego organizmu. Test pozwalający na określenie poziomu podstawowych markerów stresu oksydacyjnego może znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej jako dodatkowy, pomocny marker w diagnostyce nowotworów.

W pracy: *Roszkowski K, Filipiak J, Wiśniewska M, Mucha-Małecka A, Basta P, Potential survival markers in cancer patients undergoing chemotherapy". Clinical and Experimental Medicine* 2015; 15(3): 381-7, zbadano, czy podanie chemioterapii opartej na pochodnych platyny u chorych na nowotwory odpowiada za układowe uszkodzenie oksydacyjne DNA i czy biomarkery uszkodzenia, takie jak 8-okso-7,8-dihydro-20-deoksyguanozyna (8-okso-dG) i zmodyfikowana zasada 8-okso-7,8-dihydroguanina (8-oxo-Gua) w moczu, a także poziom uszkodzonego oksydacyjnie DNA w leukocytach może być stosowany jako czynnik prognostyczny dla oceny działania chemioterapii. Wśród wszystkich analizowanych parametrów, istotnie obniżony poziom 8-oxo-Gua w moczu pobranym od podgrupy pacjentów 24 h po pierwszym wlewie leku, w porównaniu z poziomem wyjściowym korelował ze znacznie dłuższym przeżyciem całkowitym (OS) (60 miesięcy po terapii) w porównaniu do podgrupy bez zmniejszenia tego parametru po chemioterapii. Ponadto, istotnie dłuższy OS zaobserwowano również w grupie z podwyższonym poziomem 8-oxo-dG w moczu po chemioterapii. Wyniki naszego badania sugerują, że pacjenci z obniżonym poziomem 8-okso-Gua i podwyższonym poziomem 8-okso-dG w moczu 24 h po podaniu pierwszej dawki chemioterapii lepiej reagują na podawanie chemioterapii i mają mniejsze ryzyko zgonu. W podsumowaniu stwierdzono, że analizowane parametry mogą być

przydatne w codziennej praktyce klinicznej do prognozowania efektu chemioterapii opartej na pochodnych platyny.

Wyniki powyższych badań zostały również zaprezentowane na międzynarodowej konferencji w USA: *ASCO Annual Meeting, 30.05-3.06.2014, Chicago, USA* i opublikowane w: *Journal of Clinical Oncology 2014; 32(Suppl. 15): e13525, Roszkowski K, Błaszczyk P, Mucha-Małecka A, Bak A, Karczewska G, Makowska P, Oxidative DNA damage repair products as molecular markers of cancer.*

2. Poszukiwanie czynników prognostycznych u chorych na nowotwory Ośrodkowego Układu Nerwowego (OUN) leczonych napromienianiem.

Kolejnym obszarem moich zainteresowań związanych z codzienną praktyką kliniczną było poszukiwanie czynników prognostycznych mogących mieć wpływ na poprawę wyników leczenia napromienianiem u chorych na nowotwory ośrodkowego układu nerwowego.

2A. Badania nad poprawą wyników leczenia u chorych na guzy mózgu o dużej złośliwości

Przeprowadzono prospektywne badanie kliniczne w grupie 118 chorych na glejaka wielopostaciowego mózgu. Porównano skuteczność dwóch metod pooperacyjnego napromieniania w warunkach hiperfrakcjonacji. W obu grupach stosowano 3 serie napromieniania, w każdej z nich podawano na teren łoży pooperacyjnej z odpowiednim marginesem dawkę całkowitą 20 Gy w 5 frakcjach w czasie 5 dni. W jednej grupie przerwa między seriami wynosiła dwa tygodnie, a w drugiej – cztery tygodnie. Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że skuteczność pooperacyjnego hipofrakcyjnego napromieniania dwoma opisanymi metodami była porównywalna. Najistotniejszymi czynnikami rokowniczymi był wiek chorych oraz ich stan neurologiczny, najlepsze wyniki uzyskano u chorych w wieku do 40 rż w dobrym stanie neurologicznym. Wyniki badania przedstawiono w pracy: *Gliński B, Szpytma T, Urbański J, Pluta E, Mucha-Małecka A, Ząbek M, Skołyszewski J, Postoperative hypofractionated radiotherapy of patients with glioblastoma: three courses of irradiation separated by 2- or 4-week intervals. A preliminary report on a randomized trial. Nowotwory Journal of Oncology 2006; 56(4): 401-406.*

W dużej grupie 308 dorosłych chorych na nadnamiotowe nowotwory OUN o dużej złośliwości oceniono wartość prognostyczną czasu od operacji do rozpoczęcia radioterapii w korelacji z niektórymi parametrami histopatologicznymi i klinicznymi. Chorzy byli operowani, a następnie pooperacyjnie napromieniani do dawki całkowitej 60 Gy w 30 frakcjach w ciągu 6 tygodni. Czas oczekiwania na radioterapię po operacji wynosił od 15 do 124 dni. Prawdopodobieństwo 2-letniego przeżycia całkowitego w grupie chorych czekających na rozpoczęcie radioterapii 37 i mniej dni wynosiło 24%, a w grupie rozpoczynającej radioterapię po 37 dni od operacji 14%. W analizie wielowariantowej wykazano, że szanse na przeżycie

całkowite pogarsza starszy wiek chorych i przedłużony o ponad 37 dni czas oczekiwania na rozpoczęcie radioterapii. Wyniki powyższego badania opublikowano w pracy: *Gliński B, Urbański J, Hetnał M, Małecki K, Jarosz M, Mucha-Małecka A, Chrostowska A, Jakubowicz E, Frączek-Błachut B, Dymek P, Prognostic value of the interval from surgery to initiation of radiation therapy in correlation with some histoclinical parameters in patients with malignant supratentorial gliomas. Współczesna Onkologia-Contemporary Oncology 2012; 16(1): 34-37.*

W kolejnej pracy porównano skuteczność 3 schematów leczenia pooperacyjnego u 101 dorosłych chorych na skąpodrzewiaki anaplastyczne. Chorzy otrzymali: konwencjonalną radioterapię i chemioterapię (CRT/CH) lub konwencjonalną radioterapię (CRT) lub hipofrakcjonowaną radioterapię o podzielonym kursie (SCHRT). Przeżycia całkowite po dwóch i pięciu latach wynosiły odpowiednio 38% i 10% dla pacjentów leczonych CRT/CH, 36% i 11% dla grupy CRT oraz 23% i 6% dla opcji SCHRT. Analiza wielowariantowa wykazała, że niezależnym czynnikiem prognostycznym był wiek chorych, najlepsze rokowanie mieli pacjenci do 45 rż. Nie wykazano znamienych statystycznie różnic dla poszczególnych schematów leczenia uzupełniającego. Wyniki opublikowano w pracy: *Ząbek M, Gliński B, Urbański J, Szpytma T, Mucha-Małecka A, Pluta E, Frączek-Błachut B, Postoperative treatment of patients with anaplastic oligodendrogliomas. Thirty years' experience of the Maria Skłodowska-Curie Memorial Centre in Kraków, 1975-2000. Reports of Practical Oncology and Radiotherapy 2007; 12(4): 217-223.*

W następnej pracy oceniono skuteczność pooperacyjnej radioterapii do dawki całkowitej 50-60 Gy podanej w ciągu 5-6 tygodni w grupie 40 dorosłych chorych na skąpodrzewiaki mózgu po nieradykalnych zabiegach operacyjnych. Przy dobrej tolerancji leczenia, 5-letnie przeżycie wynosiło 65%. Rokowanie w sposób znamieny pogarszało przejście guza poza linię środkową oraz jego umiejscowienie w płatach potylicznych. Wyniki przedstawiono w pracy: *Urbański J, Gliński B, Radkowski P, Dymek P, Pluta E, Mucha-Małecka A, Walasek T, Ząbek M, Frączek-Błachut B, Wyniki pooperacyjnej radioterapii dorosłych chorych na skąpodrzewiaka mózgu po nieradykalnych zabiegach chirurgicznych. Analiza czynników rokowniczych. Onkologia i Radioterapia 2009; 1(7): 37-44.*

2B. Badania nad poprawą wyników leczenia u chorych na guzy mózgu o małej złośliwości

U chorych na glejaki o niskim stopniu złośliwości WHO II, nie ma jednoznacznych wytycznych odnośnie optymalnego sposobu postępowania po zabiegu operacyjnym. Radioterapia jest jedną z opcji, podczas gdy inne obejmują pooperacyjną obserwację. Przedstawiono 10-letnie wynik leczenia operacyjnego z uzupełniającym napromienianiem u 180 chorych na glejaki o niskim stopniu złośliwości (WHO II). Chorzy po nieradykalnym zabiegu z histologicznie potwierdzoną obecnością gwiazdziaka włókienkowatego (FA), protoplazmatycznego (PA) lub gemistocytarnego (GA) byli uzupełniająco napromieniani do dawki całkowitej 50-60 Gy przez 5-6

tygodni. 10-letnie przeżycie bez progresji choroby dla całej grupy wyniosło 19%, natomiast dla GA, PA i FA odpowiednio: 10%, 18% i 22%. Wykazano, że najlepsze rokowanie mają chorzy z wariantem włókienkowym, najgorsze z gemistocytarnym. Wyniki opublikowano w pracy: **Mucha-Małecka A, Gliński B, Hetnał M, Jarosz M, Urbański J, Frączek-Błachut B, Dymek P, Małecki K, Chrostowska A, Long-term follow-up in adult patients with low-grade gliomas (WHO II) postoperatively irradiated. Analysis of prognostic factors. Reports of Practical Oncology and Radiotherapy 2012; 17: 141-145.**

2C. Leczenie rzadkich postaci guzów mózgu oraz opisy przypadków o istotnym znaczeniu klinicznym

U chorych na obłoniaki (hemangiopericytoma) śródczaszkowe wykazano niską skuteczność pooperacyjnego napromieniania. Stwierdzono, że do tego postępowania należy kwalifikować jedynie chorych z niewielkimi deficytami neurologicznymi, odpowiadającymi pierwszemu i drugiemu stopniowi w skali EORTC/MRC. Wyniki przedstawiono w pracy: *Gliński B, Pluta E, Dymek P, Mucha-Małecka A, Frączek-Błachut B, Urbański J, Jarosz M, Martynów D, Wyniki pooperacyjnej radioterapii chorych na obłoniaki śródczaszkowe. Trzydzieści lat doświadczeń Centrum Onkologii w Krakowie, 1975-2005. Onkologia i Radioterapia 2009; 2(8): 11-17.*

W pracy poglądowej opisano aktualne zagadnienia związane z leczeniem czaszokogardlaków u dorosłych chorych: *Gliński, Mucha-Małecka A, Pluta E, Walasek T, Rola radioterapii w leczeniu dorosłych chorych na czaszokogardlaka. Onkologia info 2008; 5(3): 105-108.*

W opisach przypadków poruszono również ważne kwestie dotyczące leczenia nowotworów OUN jak:

Wtórne nowotwory w obrębie OUN wyindukowane promieniowaniem jonizującym i możliwości ich leczenia: **Mucha-Małecka A., Wojton-Dziewońska D., Adamek D., Urbanek K., Małecki K, Radiation-induced anaplastic astrocytoma following treatment of medulloblastoma. Folia Neuropathologica 2019; 57(1): 80-86.**

Dostęp do nowoczesnych sposobów leczenia dla wszystkich chorych pomimo niekorzystnego rokowania: *Grela-Wojewoda A, Kruczała M, Pacholczak-Madej R, Łuczyńska E, Niemiec J, Mucha-Małecka A, Eight-year follow-up of a patient with glioblastoma multiforme who completed radical treatment. J Case Rep Images Med 2021; 7: 100060Z09AW2021.*

2D. Zastosowanie radioterapii stereotaktycznej w leczeniu zmian zlokalizowanych w OUN

Radiochirurgia stereotaktyczna jest nieinwazyjną metodą terapeutyczną, którą możemy wykorzystać do leczenia śródczaszkowych zmian nowotworowych i nienowotworowych. W pracy: **Mucha-Małecka A, Gliński B, Jakubowicz E, Radiochirurgia stereotaktyczna w praktyce klinicznej. Oncology in Clinical Practice 2013; 9(4): 123-127** omówiono podstawowe warunki

fizyczne i techniczne radiochirurgii stereotaktycznej oraz główne wskazania nowotworowe i nienowotworowe do takiego sposobu leczenia.

W kolejnej pracy: **Mucha-Małecka A, Gliński B, Wójtowicz M, Małecki K, Radiochirurgia stereotaktyczna śródczaszkowych malformacji tętniczo-żylnych. Onkologia i Radioterapia 2013; 2(24): 11-18** omówiono na podstawie aktualnych danych literaturowych skuteczność radiochirurgii stereotaktycznej w leczeniu śródczaszkowych malformacji tętniczo-żylnych w najczęściej spotykanych sytuacjach klinicznych.

2E. Zastosowanie nowoczesnych technik radioterapii w leczeniu guzów OUN

Kolejne zagadnienie, którym się zajmowałam było związane z wprowadzeniem do kliniki napromieniania z intensywną modulacją natężenia wiązki promieniowania (IMRT) w leczeniu skojarzonym złośliwych glejaków mózgu. Do badania włączono 60 chorych na złośliwe glejaki mózgu operowanych, a następnie napromienianych techniką IMRT do dawki całkowitej 60 Gy w 30 frakcjach z równoczesnym podaniem temozolamidu. Dla wszystkich chorych leczonych techniką IMRT przygotowano alternatywne plany napromieniania 3D CRT. Wykazano, że rozkłady dawek w obszarach tarczowych były korzystniejsze w planach IMRT. Technika ta pozwoliła na ograniczenie dawek maksymalnych w narządach krytycznych oraz zmniejszyła objętość mózgu napromienianą wysokimi dawkami. Wyniki przeprowadzonego badania zaprezentowano w formie ustnej na międzynarodowej konferencji w Szwecji: *European Cancer Conference ECCO 16, 23-28.09.2011, Sztokholm, Szwecja i opublikowano w: European Journal of Cancer 2011; 47, Suppl.1: S580, Mucha-Małecka A, Śladowska A, Małecki K, Gliński B, Application of IMRT Techniques in Treatment of Malignant Gliomas. Assessment of Treatment Tolerance* oraz w Francji: *10th Congress of European Association of NeuroOncology, 6-9.09.2012, Marsylia, Francja i opublikowano w: Neuro-Oncology 2012; 14(Suppl. 3): S89, Mucha-Małecka A, Śladowska A, Małecki K, Gliński B, Kisielewicz K, Application of IMRT technique in treatment of malignant gliomas. Assessment of treatment tolerance*. Wyniki przedstawiono również w formie plakatowej na międzynarodowej konferencji we Włoszech: *ESTRO 35, 29.04-3.05.2016, Turyn, Włochy i opublikowano w: Radiotherapy and Oncology 2016; 119(Suppl. 1): S542-543, Urbanek K, Mucha-Małecka A, Hebza P, Kisielewicz K, Małecki K, Góra E, Jakubowicz J, Application on IMRT technique in treatment of malignant gliomas: assessment of treatment tolerance. Radiotherapy and Oncology 2016; 119 (Suppl. 1): S542-543*, oraz na kongresie krajowym: *4. Kongres Onkologii Polskiej, 12-15.10.2016, Łódź i opublikowano w: Nowotwory Journal of Oncology, 2016; 66, (Suppl. 2): S107, Mucha-Małecka A, Sas-Korczyńska B, Urbanek K, Chrostowska A, Kisielewicz K, Góra E, Jakubowicz J. Zastosowanie techniki IMRT w leczeniu skojarzonym złośliwych glejaków mózgu - ocena wyników i tolerancji leczenia*.

Wyniki dotyczące zagadnień związanych z leczeniem chorych na nowotwory Ośrodkowego Układu Nerwowego zostały zaprezentowane na 6 konferencjach międzynarodowych i 5 krajowych (załącznik numer 4).

2F. Ustalenie roli i miejsca leczenia uzupełniającego napromienianiem u chorych na żółtakogwiaździaka wielopostaciowego mózgu (pleomorphic xantoastrocytoma – PXA)

Żółtakogwiaździak wielopostaciowy (pleomorphic xantoastrocytoma – PXA) jest rzadkim nowotworem glejowym mózgu. U około 9-20% chorych z tym rozpoznaniem występuje niekorzystny układ czynników histologicznych i genetycznych, dlatego w nowej klasyfikacji WHO z 2016 roku obok guzów WHO II wyodrębniono guzy w stopniu złośliwości WHO III, określając je jako anaplastyczny żółtakogwiaździak wielopostaciowy. Podstawową metodą leczenia jest całkowite wycięcie guza, a rola leczenia adiuwantowego nie jest w pełni zdefiniowana, głównie ze względu na rzadkość występowania guza. Tematem tym zajęłam się z przyczyn praktycznych, kiedy pierwszy pacjent z tym rozpoznaniem trafił do mnie do konsultacji do poradni radioterapii i pojawił się problem, czy i których chorych z PXA kwalifikować do uzupełniającej radioterapii.

Badania nad tym guzem prowadziłam we współpracy wieloośrodkowej z naukowcami z Katedry Patomorfologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie oraz z Zakładu Radioterapii Dzieci i Dorosłych Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie.

W 2005 roku opisano przebieg choroby u 28 letniej kobiety, u której wykonano subtotalne usunięcie dużego, torbielowatego guza. W badaniu histopatologicznym rozpoznano: żółtakogwiaździaka wielopostaciowego z ogniskami atypii WHO II/III. Wobec niekorzystnych czynników rokowniczych (nieradykalny zabieg chirurgiczny, cechy anaplazji w badaniu morfologicznym) u chorej przeprowadzono uzupełniającą radioterapię do dawki całkowitej 50,4 Gy w 30 frakcjach (napromienianie dwa razy dziennie). W wykonanej po leczeniu tomografii komputerowej głowy nie stwierdzono obecności wznowy. Pacjentka w stanie ogólnym dobrym pozostaje w kontroli bez pogorszenia stanu neurologicznego: **Mucha-Małecka A, Urbański J, Gliński B, Wielopostaciowy żółtakogwiaździak – opis przypadku. Współczesna Onkologia-Contemporary Oncology 2005; 9(1): 23-25.**

W kolejnej pracy: **Mucha-Małecka A, Gliński B, Małecki K, Roszkowski K, Urbańska-Gąsiorowska M, Żółtakogwiaździak wielopostaciowy: obraz kliniczny, leczenie, rokowanie. Przegląd literatury. Onkologia i Radioterapia 2009; 3(9): 41-47** dokonano przeglądu dostępnej literatury i przedstawiono aktualne wiadomości na temat przebiegu choroby, jej rozpoznawania oraz leczenia.

W 2021 roku według naszej najlepszej wiedzy po raz pierwszy raportowano o PXA związanym z zespołem stwardnienia guzowego (Zespół Bourneville-Pringle - TSC): **Mucha-**

Małecka A, Małecki K, Kurzyński M, Adamek D, Biesaga B, Urbanek K, Grela-Wojewoda A, Pluta E, Patla A, Modrzejewski M, Blecharz P, Amrogowicz N, Complex grade III astrocytoma with granular cells and PXA features in a patient with tuberous sclerosis complex (Bourneville-Pringle syndrome) - case report and review of literature. Pol J Pathol 2021; 72(2): 180-184. Opisany przypadek pokazuje, jak zmienny może być przebieg kliniczny TSC i dlatego tak ważne jest uwzględnienie możliwości rozwoju guzów OUN u pacjentów z tym zespołem. Chory po zabiegu operacyjnym z powodu rozpoznania anaplastycznej postaci PXA otrzymał pooperacyjną radioterapię do dawki całkowitej 60 Gy w 30 frakcjach. Pozostaje od 5- lat w obserwacjach bez nawrotu nowotworu.

W ostatniej pracy: **Mucha-Małecka A., Małecki K., Adamek D., Wróbel-Radecka R., Patla A., Amrogowicz N., Madej P., Pluta E.: Pooperacyjna radioterapia u chorych na żółtakogwiazdziaka wielopostaciowego, w: Biuletyn PTO Nowotwory, 2021, 6, Supl. 2: 48 (praca w całości wysłana do publikacji)**, która była realizowana w ramach programu badawczego Planu Naukowego Narodowego Instytutu Onkologii analizie poddano grupę 11 chorych na PXA, u których po operacji przeprowadzono uzupełniającą radioterapię. W badanej grupie uzyskano 5- i 10-letnie przeżycie całkowite odpowiednio u: 72,7% i 60,6% chorych, natomiast 5- i 10-letnie przeżycie bezobjawowe u 60,6%. Wszystkie wznovy pojawiły się do 2 lat po leczeniu. W analizie jednowymiarowej wykazano, że na przeżycie całkowite w sposób zmienny statystycznie wpływa: radykalność makroskopowa i mikroskopowa zabiegu operacyjnego, proliferacja śródbłonna, przeprowadzenie reoperacji wznovy, objętość guza oraz niski indeks proliferacji MIB-1. Natomiast na przeżycie bezobjawowe w sposób znamieny statystycznie wpływa: obecność padaczki w wywiadzie, nieradykalność makroskopowa i mikroskopowa zabiegu, brak martwicy w guzie, brak konieczności pobierania sterydów przed RT, oraz niski indeks mitotyczny i niski indeks proliferacji MIB-1.

Podsumowując dotychczas przeprowadzone obserwacje własne oraz dane literaturowe nie można jednoznacznie określić roli i miejsca leczenia uzupełniającego w PXA. Przy małej liczbie pacjentów oraz wolnej dynamice rozwoju większości z tych guzów, nie można jednoznacznie odpowiedzieć na pytanie w jakiej mierze korzystne wyniki leczenia są efektem naturalnego przebiegu schorzenia, a jaki jest w tym udział terapii adjuwantowej. Zagadnienie to wymaga dalszych badań na większej grupie chorych.

Prace dotyczące tego zagadnienia zaprezentowaliśmy na 1 konferencji międzynarodowej i 5 krajowych (załącznik numer 4).

3. Ocena znaczenia prognostycznego wybranych parametrów biologicznych u chorych na raka piersi

Za pomocą markerów immunohistochemicznych możemy określić poszczególne podtypy raka piersi, ale nadal mamy mało informacji na temat tego, jaką rolę odgrywa podścielisko nowotworu w progresji poszczególnych podtypów raka. Nadal nie poznano wszystkich markerów

o znaczeniu prognostycznym/predykcyjnym dla poszczególnych rodzajów leczenia (chemioterapii, hormonoterapii, terapii celowanej – trastuzumab) stosowanego w różnych podtypach raka piersi. Nie wiemy również, czy we wszystkich podtypach molekularnych, prawdopodobieństwo wystąpienia zmiany immunofenotypu komórek raka piersi w jego ogniskach wtórnych jest jednakowe.

W pracy: Niemiec J, Adamczyk A, Ambicka A, **Mucha-Małecka A**, Wysocki W, Mituś J, Ryś J, *Lymphangiogenesis assessed using three methods is related to tumour grade, breast cancer subtype and expression of basal marker. Pol J Pathol 2012; 63(3): 165-71*, w grupie 156 chorych na inwazyjnego raka przewodowego piersi w stopniu T1N+M0, uwidoczono, używając barwień immunohistochemicznych i przeciwciał przeciwko podoplaninie i CD34, naczynia limfatyczne i krwionośne. Na podstawie ekspresji tych markerów oceniono cztery parametry: rozmieszczenie naczyń z ekspresją podoplaniny – odsetek pól z co najmniej jednym naczyniem limfatycznym (proponowana przez nas prosta metoda), gęstość naczyń limfatycznych (LVD), stosunek LVD do gęstości mikronaczyń (LVD/MVD) oraz ekspresję podoplaniny w fibroblastach związanych z rakiem. Następnie oceniono zależności pomiędzy powyższymi parametrami a podtypem raka piersi, stopniem złośliwości nowotworu oraz ekspresją markerów komórek podstawnych (CK5/6, SMA). Wykazaliśmy, że intensywna limfangiogeneza jest związana z wysokim stopniem złośliwości guza, podtypami: potrójnie ujemnym oraz HER2+ i ekspresją markerów podstawnych. Natomiast brak ekspresji podoplaniny w fibroblastach zrębu nowotworu był związany z podtypem luminalnym A, niskim stopniem złośliwości guza a także brakiem ekspresji markerów podstawnych. Rozmieszczenie naczyń zabarwionych podoplaniną, oceniane za pomocą zaproponowanej przez nas prostej metody, wskazującej procent pól z co najmniej jednym naczyniem limfatycznym można zastosować zamiast bardziej pracochłonnej metody „hot-spot”.

W kolejnej pracy: Niemiec J, Adamczyk A, Ambicka A, **Mucha-Małecka A**, Wysocki W, Ryś J, *Triple negative, basal marker expressing, and high grade breast carcinomas are characterised by high lymphatic vessel density and expression of podoplanin in stromal fibroblasts. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2014; 22(1): 10-6*, przeprowadzonej na tej samej grupie chorych, oceniliśmy gęstość naczyń limfatycznych (LVD), gęstość naczyń krwionośnych i ekspresję podoplaniny w fibroblastach związanych z podścieliskiem raka. Następnie oceniliśmy związek pomiędzy powyższymi parametrami, a podtypem raka piersi (luminalny vs. HER2+ vs. potrójnie ujemny), stopniem złośliwości nowotworu (G1 vs. G2 vs. G3), ekspresją cytokeratyny (CK) 5/6, P-kadheryny, aktyny mięśni gładkich (SMA) oraz wzorem/intensywnością nacieku limfocytów zrębu. Stwierdziliśmy znacznie wyższy poziom LVD i wyższą ekspresję podoplaniny w fibroblastach zrębu w guzach G3, rakach potrójnie ujemnych, guzach z ekspresją CK5/6, SMA lub P-kadheryny oraz w nowotworach ze znacznym naciekiem limfocytarnym w podścielisku

nowotworu. Intensywny naciek limfocytarny odnotowaliśmy także częściej wśród raków G3. Raki piersi o różnym stopniu zaawansowania, podtypach i ekspresji markerów podstawnych charakteryzują się różnym składem zrębu, tj. zróżnicowanym LVD, ekspresją podoplaniny w fibroblastach podścieliska oraz intensywnością nacieku limfocytarnego.

W publikacji: Adamczyk A, Niemiec J, Ambicka A, **Mucha-Małecka A**, Mituś J, Ryś J, *CD44/CD24 as potential prognostic markers in node-positive invasive ductal breast cancer patients treated with adjuvant chemotherapy. J Mol Histol 2014; 45(1): 35-45* przyjęto, że fenotyp CD44(+)/CD24(-)/low jest jedną z cech charakteryzujących komórki macierzyste raka piersi. Celem badania była ocena prognostycznego znaczenia ekspresji CD44/CD24 oraz związku między powyższym fenotypem a podtypami raka piersi [określonymi na podstawie ekspresji receptorów estrogenowych (ER), progesteronowych (PR), HER2 i Ki67] oraz ekspresją wybranych markerów, takich jak: fascyna, łańcuch gamma-2 lamininy-5, cytokeratyn CK5/6 i CK8/18, receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR), aktyny mięśni gładkich (SMA), P- kadheryny i nacieku limfocytarnego u chorych na inwazyjnego raka przewodowego piersi (T ≥ 1, N ≥ 1, M0), u których wykonano mastektomię, a następnie zastosowano chemioterapię (z taksanami i/lub antracyklinami) i/lub hormonoterapię. Zauważyliśmy, że większość nowotworów o fenotypie CD44-/CD24- i CD44-/CD24+ charakteryzowała się ekspresją ER. Większość guzów CD44-/CD24-, CD44-/CD24+ i CD44+/CD24- charakteryzowała się brakiem ekspresji CK5/6 i EGFR. W analizie jednoczynnikowej wykazaliśmy, że pacjenci z nowotworami pN1/pN2 i CD44+/CD24- mieli istotnie niższe ryzyko progresji lub zgonu z powodu raka niż pacjenci z pN3 lub guzami charakteryzującymi się innymi wzorcami ekspresji CD44/CD24. Zanotowaliśmy również 100% DFS u 12 pacjentów z fenotypem CD44+/CD24-/CK5/6+/ER-. Otrzymane dane sugerują, że nowotwory o immunofenotypach: CD44+/CD24- i CD44+/CD24-/CK5/6+/ER- mogą być bardziej wrażliwe na chemioterapię opartą na taksanach i/lub antracyklinach.

W kolejnej pracy: Niemiec J, Adamczyk A, Ambicka A, **Mucha-Małecka A**, Wysocki MW, Ryś J, *Distribution of podoplanin-positive tumour vessels predicts disease-specific survival of node-positive breast cancer patients treated with anthracyclines and/or taxanes.* Cancer Invest 2014; 32(5): 168-77, w grupie 102 chorych na inwazyjnego przewodowego raka piersi z przerzutami w węzłach chłonnych, leczonych operacyjnie i uzupełniająco (chemioterapia oparta na antracyklinach i/lub taksanach) przeanalizowano przeżycie w zależności od: parametrów kliniczno-patologicznych, indeksu wiązania MIB-1 (LI), rozmieszczenia naczyń z ekspresją podoplaniny (DPV), ekspresją markerów podstawnych oraz fascyny. Mniejsze ryzyko progresji zanotowano u pacjentów z guzami: pN1 i pN2, MIB-1LI ≤ 28%, brakiem naczyń limfatycznych lub wysokim DPV niż u pacjentów z: pN3, MIB-1LI > 28 % i niskim DPV. Analiza wieloczynnikowa Coxa wykazała, że pN3 i niski DPV były niezależnymi negatywnymi czynnikami prognostycznymi.

W powyższych pracach przedstawiono wyniki, które uzyskano podczas realizacji dwóch grantów przyznanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego: Nr N N401 2344 33, pt.: "Immunofenotypowa charakterystyka klonów komórek przewodowego naciekającego raka piersi (typ "luminalny" i "bazalny") i ocena jej wartości predykcyjnej w ustaleniu wskazań do uzupełniającego leczenia chemicznego" realizowanego w latach 2007-2010 i Nr NN 401 096 137 pt.: „Porównanie immunofenotypu komórek guza pierwotnego z immunofenotypem komórek przerzutów w węzłach chłonnych oraz próba wyróżnienia komórek macierzystych i ocena ich biologicznego znaczenia w podtypach raka piersi różniących się immunofenotypowo” realizowanego w latach 2009 -2012.

Brałam udział w zbieraniu materiału klinicznego, tworzeniu bazy danych oraz jej aktualizacji i w pisaniu powyższych artykułów. Wyniki powyższych badań zostały również zaprezentowane w formie ustnej na międzynarodowej konferencji w USA: *International Conference on OMICS Studies, 4-5.09.2013, Orlando, USA*, i opublikowane w: *Journal Proteomics Bioinform, 2013, 6: 8*, Adamczyk A, Niemiec J, Ambicka A, **Mucha-Matecka A**, Wysocki WM, Mituś J, Ryś J, *A comparative immunohistochemical analysis of steroid receptors, basal markers, breast stem cell markers, adhesion molecules and Ki67 expression in primary breast cancer and in lymph node metastases.*

Kolejne prace dotyczące leczenia chorych na raka piersi poruszają następujące problemy:

W pracy: Adamczyk A, Niemiec J, Ambicka A, **Mucha-Matecka A**, Ryś J, Mituś J, Wysocki WM, Cichocka A, Jakubowicz J, *Survival of breast cancer patients according to changes in expression of selected markers between primary tumor and lymph node metastases. Biomark Med 2016; 10(3): 219-28*, u 156 chorych na inwazyjnego przewodowego raka piersi ($T \geq 1$, $N \geq 1$, M0) oznaczono immunohistochemicznie poziom ekspresji ER, PR, HER2, cytokeratyny 5/6 (CK5/6), EGFR, Ki-67, Ep-CAM, P-kadheryny, CD24, CD44, ALDH w guzie pierwotnym i w synchronicznych przerzutach w węzłach chłonnych, a następnie porównano poziom ekspresji tych markerów w obu lokalizacjach. Niezależnymi negatywnymi czynnikami prognostycznymi dla przeżycia wolnego od choroby były: zajęte węzły chłonne w stopniu pN3, ekspresja ALDH w przerzucie w węzłach chłonnych, inny niż luminalny A podtyp przerzutu raka w węzłach chłonnych, zmniejszenie ekspresji Ep-CAM w przerzucie w węzłach chłonnych, stały poziom lub zwiększenie ekspresji CK5/6 i/lub ALDH w przerzucie w węzłach chłonnych. Uzyskane wyniki sugerują, że w niektórych przypadkach ocena ekspresji markerów w przerzutach w węzłach chłonnych może wnieść dodatkowe informacje prognostyczne w stosunku do tych uzyskanych z guza pierwotnego.

W kolejnej publikacji: Niemiec J, Adamczyk A, Ambicka A, **Mucha-Matecka A**, Wysocki WM, Majchrzyk K, Ryś J, *BGX-Ki-67 Index as Supplementary Marker to MIB-1 Index, Enabling More Precise Distinction Between Luminal A and B Subtypes of Breast Carcinoma and Eliminating the Problem of Membranous/Cytoplasmic MIB-1 Staining. America Journal of Clinical Pathology 2015; 143(3): 419-*

429 porównano kliniczne zastosowanie klonów MIB-1 i BGX-Ki-67 przeciwciała anti-Ki-67 w grupie 156 pacjentów z inwazyjnym rakiem przewodowym piersi. Indeks wiązania MIB-1 (MIB-1LI) i indeks wiązania BGX (BGXLI) oceniano immunohistochemicznie zarówno w guzach pierwotnych (T) jak i w synchronicznych przerzutach w węzłach chłonnych (LNM). Oprócz jądrowego barwienia MIB-1, odpowiednio w 23 ze 145 guzów pierwotnych i w 19 ze 144 przerzutów w węzłach chłonnych stwierdzono barwienie błonowe/cytoplazmatyczne. We wszystkich tych przypadkach BGX-Ki-67 wykazywał wyłącznie barwienie jądrowe i znacznie wyższy indeks wiązania niż MIBLI. Wysoki BGXLI(T) był istotnym niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym dla przeżycia wolnego od choroby. Ponadto pacjentów z wysokim MIB-1LI(T), na podstawie BGXLI(T)/BGXLI(LNM) podzielono na dwie grupy różniące się przeżyciem wolnym od choroby. W podsumowaniu stwierdzono, że w rakach z błonowym/cytoplazmatycznym barwieniem MIB-1 zalecana jest dodatkowa ocena BGXLI, ponieważ może ona pomóc w określeniu podtypu raka piersi oraz w doborze chorych, którzy pomimo odpowiedniej terapii odnieśliby korzyści z częstszych kontroli mających na celu wcześniejsze wdrożenie leczenia drugiej linii.

W kolejnej pracy: Niemiec J, Adamczyk A, Ambicka A, **Mucha-Małecka A**, Wysocki WM, Biesaga B, Ziobro M, Cedrych I, Grela-Wojewoda A, Domagała-Haduch M, Wysocka J, Ryś J, Sas-Korczyńska B, *Prognostic role of lymphatic vessel density and lymphovascular invasion in chemotherapy-naïve and chemotherapy-treated patients with invasive breast cancer. American Journal of Translational Research* 2017; 9(3): 1435-1447 przeanalizowano przeżycie w zależności od gęstości naczyń limfatycznych (LVD), naciekania naczyń limfatycznych (LVI) oraz innych cech kliniczno-patologicznych w grupie 358 chorych na inwazyjnego raka przewodowego piersi: 139 nieleczonych chemioterapią (pT1-2/pN0/M0) i 219 chorych leczonych chemioterapią pT1-4/pN1-3/M0). Analiza jednoczynnikowa wykazała, że wysoki LVD był związany z niekorzystnym przeżyciem wolnym od choroby (DFS) u pacjentów bez zajętych węzłów chłonnych nieleczonych wcześniej chemioterapią/trastuzumabem. Natomiast w grupie pacjentów z zajętymi węzłami chłonnymi, leczonych chemioterapią/trastuzumabem wysoki LVD był związany z dłuższym przeżyciem wolnym od choroby. Istotnymi niezależnymi niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi dla DFS były następujące parametry: u pacjentów pN0 nieleczonych wcześniej chemioterapią/trastuzumabem: wysoki LVD, LVI i wysoki stopień złośliwości (G3 vs. G1 + G2); u chorych pN+ leczonych chemioterapią/trastuzumabem: niski LVD, liczba zajętych węzłów chłonnych (pN3 vs. pN1-2) oraz podtyp raka piersi (ekspresja receptorów steroidowych wraz z brakiem ekspresji HER2 i wysokim indeksem proliferacji vs. inne immunofenotypy raka piersi). Wysoki LVD może wskazywać na wysokie ryzyko progresji u pacjentów pN0 nieleczonych chemioterapią/trastuzumabem i niskie ryzyko progresji u pacjentów pN+ leczonych chemioterapią. Zjawisko to można tłumaczyć potencjalnym udziałem limfangiogenezy w dwóch

procesach związanych z eliminacją nowotworów: stymulowaną chemioterapią aktywnością układu odpornościowego skierowaną przeciwko komórkom nowotworowym lub zwiększonemu drenażowi guza, który wpływa na skuteczność leków cytotoksycznych.

Wyniki powyższych prac były zaprezentowane w postaci ustnej na międzynarodowej konferencji w Australii: *World Congress on Controversies in Breast Cancer (CoBRA)*, 22-24.10. 2015, Melbourne, Australia, Niemiec JA, Adamczyk A, Ambicka A, **Mucha-Małecka A**, Wysoki WM, Grela-Wojewoda A, Cedrach I, Domagała-Haduch M, Majchrzyk K, Rys J, Jakubowicz J, *Prognostic significance of lymphatic vessel density in breast cancer patients receiving different treatment Schedule* oraz w Gliwicach: na XXI Gliwice scientific Meetings, 17-18.11.2017, Niemiec J, Adamczyk A, Ambicka A, **Mucha-Małecka A**, Wysoki WM, Majchrzyk K, Ryś J: *The phenomenon of membranous/cytoplasmic MIB-1 immunopositivity in breast cancer*.

Przedstawiono również dwa doniesienia w formie plakatowej na międzynarodowej konferencji w Gliwicach: *Technological and Biological Sunrise for Radiation Oncology*, Gliwice, Polska, 16-17.05.2014: Niemiec J, Adamczyk A, Ambicka A, **Mucha-Małecka A**, Wysocki WM, Majchrzyk K, Ryś J, *Prognostic value of lymphatic vessel density in invasive ductal breast cancer for patients treated with different schedules* oraz: Adamczyk A, Niemiec J, Ambicka A, **Mucha-Małecka A**, Wysocki WM, Cichocka A, Mituś J, Ryś J, *Differences in protein expression between primary tumor and synchronous lymph node metastases in invasive ductal breast cancer*.

Pięć z powyżej omówionych prac wchodziło w skład cyklu prac dotyczących molekularnych czynników rokowniczych w leczeniu raka piersi, za który wraz z zespołem otrzymałam w 2016 roku Nagrodę im. Hilarego Koprowskiego przyznaną przez Polskie Towarzystwo Onkologiczne za najlepszy cykl prac naukowych w dziedzinie onkologii.

4. Znaczenie występowania infekcji HPV w nowotworach złośliwych

4.A. Badania nad metodami wykrywania wirusa w nowotworach złośliwych

Badania nad opracowaniem wiarygodnych metod oceny infekcji HPV w nowotworach złośliwych, w które byłam zaangażowana, koncentrowały się na oznaczaniu obecności wirusa w archiwalnym materiale, jakim były utrwalone w formalinie i zatapiane w parafinie (FFPE) fragmenty tkanek nowotworowych. W pierwszym etapie porównano wykrywanie HPV16 metodą łańcuchowej reakcji polimerazy z detekcją w czasie rzeczywistym (qPCR) w odniesieniu do ilości i jakości DNA izolowanego z 21 fragmentów tkanek FFPE raka regionu głowy i szyi. DNA ekstrahowano za pomocą trzech dostępnych na rynku zestawów: (1) DNA EX-WAX™ (M) (Merck Millipore, Darmstadt, Niemcy), (2) QIAamp (®) DNA FFPE Tissue (Q) (Qiagen, Hilden, Niemcy) i (3) ReliaPrep™ FFPE gDNA Miniprep System (P) (Promega, Madison, USA). Ilość wyekstrahowanego DNA została oceniona spektrofotometrycznie i fluorometrycznie, a jego jakość analizowano na podstawie dwóch wskaźników spektrofotometrycznych: A260/280 i A260/230 oraz amplifikacji fragmentu genu β -aktyny w qPCR. Obecność HPV16 wykrywano metodą qPCR,

stosując startery i sondę typu TaqMan specyficzne dla fragmentu genu *E6* HPV16. Zakażenie stwierdzono w 8 próbkach DNA wyekstrahowanych zestawem M (38,1%) i 7 (33,3%) izolowanych zestawami Q i P. Trzy próbki DNA izolowane zestawami M i Q charakteryzowały się dodatnim wynikiem HPV16 i brakiem amplifikacji β -aktyny. Ponadto próbki te charakteryzowały się istotnie mniejszym wskaźnikiem A260/280 (M: $1,6 \pm 0,0$, $p=0,044$ i Q: $1,7 \pm 0,0$, $p=0,016$) w porównaniu z próbkami z amplifikacją fragmentów β -aktyny i wirusowego genu *E6* (M: $1,7 \pm 0,0$ i Q: $1,9 \pm 0,0$). W świetle uzyskanych wyników, do izolacji DNA z tkanek FFPE celem wykrywania HPV metodą qPCR, zalecamy zestaw ReliaPrep™ FFPE gDNA Miniprep System. Omawiane wyniki zaprezentowano w pracy: Biesaga B, Janecka A, **Mucha-Małecka A**, Adamczyk A, Szostek S, Słonina D, Halaszka K, Przewoźnik M, HPV16 detection by qPCR method in relation to quantity and quality of DNA extracted from archival formalin fixed and paraffin embedded head and neck cancer tissues by three commercially available kits. *Journal of Virological Methods* 2016, 236: 157-166. Praca ta powstała we współpracy z naukowcami z Zakładu Wirusologii Katedry Mikrobiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

W kolejnym etapie prac dotyczących tego podkierunku badań, w grupie 155 chorych na płaskonabłonkowe raki narządów głowy i szyi porównano obecność infekcji HPV oznaczoną trzema metodami: (1) gniazdowym PCR (ang. *nested PCR*) z dwiema grupami starterów: PGMY09/PGMY11 i GP5+/GP6+, (2) qPCR ze starterami i sondami specyficznymi dla 14 typów HPV z podgrupy dużego ryzyka i (3) immunohistochemiczną oceną ekspresji p16. W badaniu wykazano obecność infekcji HPV oznaczaną metodą gniazdowego PCR (pozytywny wynik w co najmniej jednej reakcji z trzech przeprowadzonych dla każdej próbki izolowanego DNA) w 61 nowotworach (39,5%), a wśród nich amplifikację wirusowego DNA w qPCR w 38 rakach, a nadekspresję p16 w 39 guzach. Jednoczesną amplifikacją DNA i nadekspresją p16 charakteryzowało się 32 nowotworów (20,6%). Zaproponowano strategię oceny aktywnej infekcji HPV (podczas której dochodzi do ekspresji wirusowych białek E6 i E7, które są odpowiedzialne za uruchomienie procesu kancerogenezy) z wykorzystaniem gniazdowego PCR jako metody przesiewowej, a następnie qPCR i immunohistochemicznej analizy białka p16. O aktywnej infekcji dowodzi jednoczesna amplifikacja wirusowego DNA i nadekspresja p16. Omawiane wyniki są zaprezentowane w publikacji: Janecka-Widła A, **Mucha-Małecka A**, Majchrzyk K, Halaszka K, Przewoźnik M, Słonina D, Biesaga B, Active HPV infection and its influence on survival in head and neck squamous-cell cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2020; 146(7): 1677-1692, doi: 10.1007/s00432-020-03218-6.

4B. Występowanie infekcji HPV w różnego typu nowotworach złośliwych w południowo-centralnej Polsce

Prace dotyczące występowania infekcji HPV w różnego typu nowotworach złośliwych w południowo-centralnej Polsce (w województwach małopolskim i śląskim), których jestem współautorem, koncentrowały się na:

- płaskonabłonkowych rakach narządów głowy i szyi (w tym nowotworach ustnej części gardła, krtani oraz jamy ustnej)
- złośliwych nowotworach piersi

Podsumowując wyniki badań dotyczących częstości występowania infekcji HPV w płaskonabłonkowych rakach narządów głowy i szyi (HNSCC) w regionie południowo-centralnej Polski (131 chorych z Górnego Śląska oraz 155 chorych z Małopolski), należy zauważyć, że w grupie tej wykazano, że zakażenie wirusem występuje najczęściej w płaskonabłonkowych rakach gardła środkowego (Górny Śląsk - 6,9%, Małopolska - 40,9%). Statystycznie istotnie mniejsze odsetki infekcji zanotowano w płaskonabłonkowych rakach jamy ustnej (Górny Śląsk - 2,0%, Małopolska - 16,0%) i krtani (Śląsk - 0,0%, Małopolska - 6,8%). Mniejsze odsetki zakażeń HPV u chorych na HNSCC z Górnego Śląska można wytłumaczyć poprzez fakt, że grupę z tego regionu stanowili wyselekcjonowani chorzy na HNSCC o dużym ryzyku nawrotu, zakwalifikowani do leczenia ciągłym przyspieszonym napromienianiem (CAIR - ang. *continuous accelerated irradiation*), podczas gdy do grupy z regionu Małopolski weszli chorzy niesekcjonowani. Dwie prace dotyczące tego zagadnienia w HNSCC wchodzą w skład cyklu prac zaprezentowanego powyżej i zostały wcześniej szczegółowo omówione (praca 6 i 7 cyklu). W kolejnej pracy związanej z tym tematem, w grupie 155 chorych na HNSCC z rejonu Małopolski wykazano po raz pierwszy w Polsce, według najlepszej wiedzy autorki, aktywną infekcję HPV35 u 6 chorych (3,9%) na HNSCC. Wyniki te są szczegółowo przedstawione w publikacji *Janecka-Widła A, Mucha-Małecka A, Majchrzyk K, Halaszka K, Przewoźnik M, Słonina D, Biesaga B, Active HPV infection and its influence on survival in head and neck squamous-cell cancer. J Cancer Res Clin Oncol 2020; 146(7): 1677-1692. doi: 10.1007/s00432-020-03218.*

W kolejnej pracy: *Biesaga B, Janecka-Widła A, Kołodziej-Rzepa M, Mucha-Małecka A, Słonina D, Ziobro M, Wysocka J, Adamczyk A, Majchrzyk K, Niemiec J, Ambicka A, Grela-Wojewoda A, Harazin-Lechowska A, Low frequency of HPV positivity in breast tumors among patients from south-central Poland. Infect Agent Cancer 2021; 16(1): 67* oceniono częstość występowania aktywnej infekcji HPV w rakach piersi u pacjentek z Polski południowo-środkowej. Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem archiwalnych tkanek FFPE w grupie 383 chorych na raka piersi. Aktywną infekcję HPV oceniano za pomocą: (1) gniazdowego PCR (z dwiema grupami starterów: PGMY09/PGMY11 i GP5+/GP6+), (2) qPCR ze starterami i sondami specyficznymi dla 14 typów HPV z podgrupy dużego ryzyka i (3) immunohistochemicznej ekspresji p16. W grupie 383 raków zanotowano aktywną infekcję HPV 16 w dwóch guzach (0,5%).

Podsumowując wyniki uzyskane w trzech powyższych publikacjach stwierdzano, że w centralno-południowej Polsce, w płaskonabłonkowych rakach gardła środkowego zakażenie HPV 16 występuje w znaczącym odsetku guzów, co sugeruje istotną rolę tej infekcji jako czynnika etiologicznego w rozwoju tego typu nowotworów. W tym regionie geograficznym zakażenie HPV nie ma znaczenia w kancerogenezie raka krtani i raka piersi.

4C. Zróżnicowania rokowania chorych na HPV16 dodatnie nowotwory narządów głowy i szyi

Infekcja HPV16 u pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym części ustnej gardła (OPSCC) wiąże się z lepszym rokowaniem, jednak pomimo tego u ponad 40% chorych na tego typu nowotwory zakażonych HPV obserwuje się progresję choroby nowotworowej, co sugeruje obecność komórek nowotworowych opornych na terapię [54-57]. Biorąc pod uwagę, że obecnie toczą się liczne badania kliniczne dotyczące możliwości deintensyfikacji leczenia przeciwnowotworowego u chorych na OPSCC, istnieje pilna konieczność opracowania nowych czynników prognostycznych i predykcyjnych, które powinny pomóc w różnicowaniu rokowania chorych na HPV dodatnie OPSCC, a także identyfikować chorych odnoszących korzyść z deeskalacji leczenia i chorych, u których nie powinno się deintensyfikować terapii [58]. Badania dotyczące zróżnicowania rokowania chorych na HPV16 dodatnie nowotwory narządów głowy i szyi, w których byłam zaangażowana, koncentrowały się na możliwości wyróżniania chorych z lepszą i gorszą prognozą na podstawie:

- liczby kopii HPV16 w pojedynczej komórce (VL- ang. *viral load*),
- mutacji w genach kodujących białka i/lub ekspresji białek szlaku EGFR/PI3K/AKT/mTOR (EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu, ang. *epidermal growth factor receptor*, PI3K - 3-kinaza fosfatydylinozytolu, ang. *phosphatidylinositol 3-kinase*, mTOR – ssaczy cel rapamycyny, ang. *mammalian target of rapamycin*),
- ekspresji wybranych markerów nowotworowych komórek macierzystych (CSCs - ang. *cancer stem cells*).

W odniesieniu do VL, w podgrupie HPV16-dodatnich HNSCC wykazaliśmy istotne różnice w OS i DFS ($p = 0,008$ i $0,004$) na podstawie tego parametru, przy czym 100% DFS stwierdzono u pacjentów z wyższą VL. W analizie wieloczynnikowej VL ($p = 0,045$; HR = 2,795; CI 0,121-1,060) i poziom palenia ($p = 0,023$, HR = 2,253; CI 1,124-4,514) były niezależnymi czynnikami wpływającymi na DFS pacjentów HPV16-dodatnich. Wyniki te są zawarte w pracy: *Biesaga B, Mucha-Małecka A, Janecka-Widła A, Kołodziej-Rzepa M, Szostek S, Słonina D, Kowalczyk A, Halaszka K, Przewoźnik M, Differences in the prognosis of HPV16-positive patients with squamous cell carcinoma of head and neck according to viral load and expression of P16. J Cancer Res Clin Oncol 2018; 144(1): 63-7. doi: 10.1007/s00432-017-2531-2.*

Badania dotyczące szlaku EGFR/PI3K/AKT/mTOR miały na celu porównanie ekspresji wybranych białek tego szlaku oraz białek regulujących ten szlak: EGFR, AKT (kinaza białkowa B, *ang. protein kinase B*), ufosforylowanej postaci AKT (pAKT(Ser473, pAKT(Thr308), mTOR, PTEN (ludzkie białko kodowane przez gen supresorowy *PTEN* zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 10, *ang. phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten*), ufosforylowanej postaci PTEN (pPTEN) i APOBEC3B (podjednostka katalityczna 3B enzymu edytującego mRNA apoliproteiny B, *ang. apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic subunit 3B*), a także częstości występowania mutacji genu *PIK3CA* między podgrupą HNSCC z aktywną infekcją HPV16 i HPV16 ujemnych oraz zbadanie potencjału prognostycznego wymienionych markerów. W grupie 155 chorych na HNSCC, w guzach z aktywną infekcją HPV16 istotnie częściej odnotowywano wysoką ekspresję całkowitego Akt (67,86%) i obniżony poziom pAkt (Ser473) (64,29%) w porównaniu do nowotworów HPV16 negatywnych, które istotnie częściej cechowała niska ekspresja Akt (55,46%) i wysoka pAkt (Ser473) (79,83%). Ponadto zdecydowana większość (89,29%) guzów z aktywną infekcją wirusową charakteryzowała się niską ekspresją EGFR, podczas gdy w guzach HPV negatywnych odsetek ten wyniósł 58,82%. Analiza przeżyć wykazała, że spośród badanych białek pozytywny potencjał rokowniczy, zarówno w przypadku OS jak i DFS, miały: mała ekspresja pAKT (Ser473), pAKT (Thr308) i EGFR. Dłuższy DFS charakteryzował dodatkowo chorych z małą ekspresją APOBEC3B. Otrzymane wyniki sugerują występowanie istotnych różnic w funkcjonowaniu szlaku EGFR/PI3K/AKT/mTOR u pacjentów z aktywną infekcją HPV16 i chorych HPV16 negatywnych, co z kolei może wpływać na przeżycie chorych po leczeniu w tych dwóch podgrupach. Omawiane badania i ich wyniki są szczegółowo opisane w następujących pracach:

1. Janecka-Widła A, **Mucha-Małecka A**, Majchrzyk K, Halaszka K, Przewoźnik M, Słonina D, Biesaga B, Active HPV infection and its influence on survival in head and neck squamous-cell cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2020; 146(7): 1677-169., doi: 10.1007/s00432-020-03218-6.
2. Janecka-Widła A, Majchrzyk K, **Mucha-Małecka A**, Słonina D, Biesaga B, Prognostic potential of Akt, pAkt (Ser473) and pAkt (Thr308) immunoreactivity in relation to HPV prevalence in head and neck squamous cell carcinoma patients. *Pathol Res Pract* 2022; 229: 153684. doi: 10.1016/j.prp.2021.153684.
3. Janecka-Widła A, Majchrzyk K, **Mucha-Małecka A**, Biesaga B, EGFR/PI3K/Akt/mTOR pathway in head and neck squamous cell carcinoma patients with different HPV status. *Pol J Pathol* 2021; 72(4): 296-314. doi:10.5114/pjp.2021.113073.

Powyższe prace były realizowane i finansowane w ramach grantu badawczego NCN PRELUDIUM 11(2016/21/N/NZ5/00227) i stanowiły podstawę rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Janeckiej-Widły, w której pełniłam rolę promotora pomocniczego. Doktorat został obroniony w lipcu 2022 roku i uzyskał rekomendacje do wyróżnienia.

Praca pt. „EGFR/PI3K/Akt/mTOR pathway in head and neck squamous cell carcinoma patients with different HPV status” została uznana za najlepszą publikację w czasopiśmie polskim na XXV Kongresie Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej we wrześniu 2022 roku.

Niektóre badania sugerują, że rolę czynników prognostycznych i predykcyjnych, na podstawie których będzie można różnicować rokowanie chorych na HPV dodatnie i ujemne mogą odegrać niektóre markery nowotwory komórek macierzystych [59].

Celem badań, w których brałam udział, była analiza wpływu ekspresji wybranych markerów CSC (CD44, CD98, ALDH1/2) i czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za zjawisko samoodnowy i pluripotencji (Nanog, Oct3/4 i Sox-2) na przeżycia całkowite i bezobjawowe w zależności od występowania infekcji HPV16 w grupie 63 chorych na OPSCC. W analizowanej grupie 63 chorych, zakażenie HPV16 stwierdzono w 25 przypadkach (39,7%), nadekspresję CD44, CD98, ALDH1/2, Nanog, Oct3/4 i Sox-2 stwierdzono w, odpowiednio: 43 (68,2%), 30 (47,6%), 33 (52,4%), 53 (84,1%), 0 (0,0%) i 27 (42,9%) nowotworach. Płaskonabłonkowe raki ustnej części gardła HPV16 dodatnie istotnie częściej charakteryzowały się nadekspresją białka Nanog oraz brakiem nadekspresji białek CD98 i Sox-2 w porównaniu do guzów HPV16 ujemnych, co sugeruje oddziaływanie wirusowej infekcji na subpopulację nowotworowych komórek macierzystych. W podgrupie HPV16-dodatniej odnotowaliśmy także 100% DFS u chorych z guzami charakteryzującymi się brakiem nadekspresji CD44 i niezależnie brakiem nadekspresji Sox-2 oraz leczonych równocześnie chemioradioterapią z cisplatyną. W analizie wieloczynnikowej przeprowadzonej dla podgrupy z dodatnim wynikiem HPV16, brak nadekspresji CD44 i brak nadekspresji Sox-2 były pozytywnymi niezależnymi czynnikami prognostycznymi. W podgrupie HPV16-ujemnej żaden z ocenianych biomarkerów CSCs nie miał wpływu na OS i DFS. Omawiane wyniki są szczegółowo przedstawione w następujących publikacjach:

1. Biesaga B, Kołodziej-Rzepa M, Janecka-Widła A, Słonina D, Halaszka K, Przewoźnik M, **Mucha-Małecka A**, Lack of CD44 overexpression and application of concurrent chemoradiotherapy with cisplatin independently indicate excellent prognosis in patients with HPV-positive oropharyngeal cancer. *Tumour Biol* 2021; 43(1): 99-113. doi: 10.3233/TUB-200049.
2. Kołodziej-Rzepa M, Biesaga B, Janecka-Widła A, **Mucha-Małecka A**, Lack of CD44 and Sox-2 Overexpression as Two Independent Favourable Prognostic Factors in HPV Positive Patients with Oropharyngeal Cancers. *Pathobiology* 2022; Jan 25:1-9. doi: 10.1159/000521292.
3. Kołodziej-Rzepa M, Biesaga B, Słonina D, **Mucha-Małecka A**, Nanog expression in patients with squamous cell carcinoma of oropharynx in relation to immunohistochemical score. *Pol J Pathol*. 2022;73(1):60-71. doi: 10.5114/pjp.2021.115662. PMID: 35848482.

Powyższe prace były realizowane i finansowane w ramach grantu badawczego otrzymanego z Fundacji im. Jakuba hr. Potockiego (nr umowy 263/18) i stanowią podstawę przygotowanej rozprawy doktorskiej lek. med. M. Kołodziej-Rzepy, w której pełnię rolę promotora pomocniczego.

Wyniki przeprowadzonych badań zostały zaprezentowane również na 4 konferencjach międzynarodowych i 15 krajowych (załącznik numer 4).

Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Osiągnięcia dydaktyczne:

- W latach 1997 - 2003 prowadziłam wykłady i ćwiczenia z onkologii dla studentów VI roku Wydziału Lekarskiego Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
- W latach 1999 - 2001 prowadziłam wykłady i ćwiczenia z anatomii dla słuchaczy wydziału fizjoterapii Medycznego Studium Zawodowego Nr 1 im. prof. A. Cieszyńskiego w Zabrze
- W 2000 roku prowadziłam w CO-I w Gliwicach ćwiczenia dla lekarzy specjalizujących się w radioterapii onkologicznej w ramach kursu: „Nowotwory głowy i szyi”
- Od 2009 roku prowadzę wykłady i ćwiczenia z fizyki medycznej, radiobiologii i radioterapii dla słuchaczy drugiego i trzeciego roku kierunku elektroradiologii Krakowskiej Medycznej Szkoły Policealnej im. S. Leszczyńskiej w Krakowie
- W latach 2009 – 2014 prowadziłam wykłady i ćwiczenia dla lekarzy w trakcie specjalizacji z radioterapii onkologicznej z zakresu radioterapii nowotworów głowy i szyi i radioterapii nowotworów ośrodkowego układu nerwowego w ramach kursu: „Standardowe metody radioterapii” organizowanego przez CMKP
- W latach 2009 - 2016 przeprowadziłam liczne wykłady i szkolenia w ramach kursów specjalizacyjnych dla pielęgniarek specjalizujących się w opiece paliatywnej oraz pielęgniarstwie onkologicznym organizowane przez Centrum Kształcenia Pielęgniarek, Małopolską Izbę Pielęgniarek i Położnych oraz Okręgową Izbę Lekarską w Krakowie
- W latach 2011 i 2014 przeprowadziłam wykład dla fizyków medycznych w ramach szkolenia specjalizacyjnego pt:” Sposoby frakcjonowania dawki promieniowania. Wyniki badań klinicznych” oraz „Teleradioterapia: planowanie leczenia” w ramach kursów organizowanych przez CMKP
- W latach 2011 - 2014 prowadziłam wykłady dla lekarzy w trakcie specjalizacji z radioterapii onkologicznej z zakresu „Sposoby frakcjonowania dawki promieniowania. Wyniki badań klinicznych” oraz „Nowoczesne techniki radioterapii (radioterapia

stereotaktyczna, radiochirurgia)” w ramach kursu: „Radiobiologia doświadczalna i kliniczna, sposoby frakcjonowania dawki promieniowania” organizowanego przez CMKP

- W latach 2013 - 2018 prowadziłam wykłady dla lekarzy specjalizujących się w chorobach wewnętrznych z zakresu „Nowotworów regionu głowy i szyi” oraz „Nowotworów złośliwych ośrodkowego układu nerwowego” w ramach kursu - Onkologia Kliniczna organizowanego przez Okręgową Izbę Lekarską w Krakowie
- Od 2013 roku prowadzę wykłady z radioterapii dla studentów kierunku fizyki medycznej Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie
- Byłam egzaminatorem na egzaminie praktycznym z radioterapii onkologicznej przeprowadzonym w Centrum Onkologii w Krakowie
- W 2018 roku przeprowadziłam wykłady dla lekarzy w trakcie specjalizacji z onkologii klinicznej pt.: „Sposoby frakcjonowania dawki promieniowania. Wyniki badań klinicznych” i „Radioterapia stereotaktyczna i radiochirurgia. Zastosowanie kliniczne” w ramach kursu: „Podstawy radioterapii i radiobiologii w onkologii klinicznej” organizowanego przez CMKP
- Prowadziłam wykłady w ramach zebrań naukowych w Centrum Onkologii w Krakowie

Opieka nad lekarzami w trakcie specjalizacji:

- Byłam i nadal jestem kierownikiem rezydentów w trakcie specjalizacji z radioterapii onkologicznej
- Byłam opiekunem szkolenia z radioterapii onkologicznej lekarzy chirurgów w trakcie specjalizacji z chirurgii onkologicznej

Osiągnięcia organizacyjne:

- W 2002 r brałam czynny udział w organizacji I Kongresu Onkologii Polskiej w Katowicach
- W latach 2008 – 2015 byłam zastępcą kierownika Kliniki Nowotworów Głowy i Szyi i następnie kierownikiem kliniki. W tym czasie opracowałam protokoły leczenia nowotworów regionu głowy i szyi oraz nowotworów ośrodkowego układu nerwowego i wprowadziłam do kliniki nowoczesne metody radioterapii w tych nowotworach takie jak: IMRT, VMAT, radioterapia stereotaktyczna. W tym czasie rozpoczęliśmy również stosować jako pierwsi w Polsce południowo-wschodniej leczenie skojarzone - radioterapia z temozolamidem u chorych na glejaka wielopostaciowego mózgu.
- Trzykrotnie byłam samodzielnym autorem programu nauczania z przedmiotu Radioterapia dla zawodu technik elektroradiolog zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Edukacji Narodowej z dnia 7.02.2012, 31.03.2017, 16.05.2019

- W 2014 roku zostałam powołana do Zespołu Konsultanta Wojewódzkiego w dziedzinie radioterapii onkologicznej ds. szkolenia specjalizacyjnego. Brałam udział w opracowaniu standardów szkolenia w ramach specjalizacji z radioterapii onkologicznej.
- W latach 2015 - 2019 pełniłam funkcję koordynatora do spraw szkolenia specjalizacyjnego z radioterapii onkologicznej w Centrum Onkologii w Krakowie
- W 2016 roku zostałam powołana przez Prezesa Polskiej Grupy Badań Nowotworów Głowy i Szyi na stanowisko Koordynatora Programu Profilaktyki Nowotworów Głowy i Szyi „Zrozumieć Nowotwory Głowy i Szyi” na terenie województwa małopolskiego w związku z zainicjowaniem w Polsce I Ogólnopolskim Programem Profilaktyki Nowotworów Głowy i Szyi
- W 2016 roku brałam udział w spotkaniu Koordynatorów Ogólnopolskiego Programu Profilaktyki Nowotworów Głowy i Szyi w Warszawie oraz przygotowaniu Tygodnia Profilaktyki Nowotworów Głowy i Szyi w województwie małopolskim
- W latach 2016-2018 byłam liderem grupy zajmującej się ciągłością opieki w ramach opracowywania standardów akredytacyjnych w Centrum Onkologii w Krakowie
- Brałam czynny udział (udzielanie porad onkologicznych) w wydarzeniach „Biała Sobota” organizowanych w związku ze Światowym Dniem Walki z Rakiem
- W 2021 roku brałam udział w pracach Komisji Wyborczej oraz organizacji wyborów do Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie - Państwowego Instytutu Badawczego kadencji 2021-2025
- W 2021 roku byłam członkiem komitetu organizacyjnego X Krakowskiej Konferencji Onkologicznej w Krakowie
- W 2021 roku byłam członkiem komitetu organizacyjnego obchodów konferencji z okazji 70-lecia NIO-BIP Oddziału w Krakowie
- W 2022 roku byłam autorem pytań testowych do Państwowego Egzaminu Specjalizacyjnego w dziedzinie radioterapii onkologicznej
- Jestem promotorem pomocniczym 2 doktoratów otworzonych przez Radę Naukową NIO-PIB im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie
- W 2022 roku pełniłam rolę recenzenta w konkursie Granty na granty europejskie, realizowanego w ramach programu Inicjatywa Doskonałości - Uczelnia Badawcza, projekt do Horizon Europe Framework Programme (HORIZON)
- W 2022 roku zostałam powołana przez Komisję do spraw procedur i audytów klinicznych zewnętrznych w zakresie radioterapii, na audytora wiodącego zespołu audytorskiego
- Na zaproszenie redakcji pełnię funkcję Redaktora w czasopiśmie Biomedicines (IF: 4,757, ISSN 2227-9059)

Popularyzujących naukę:

- W dniu 26.06.1998 roku wygłosiłam wykład w Domu Lekarza w Katowicach na konferencji szkoleniowo-naukowej pt.: „Koncepcja badania klinicznego nad skutecznością Ethyolu w leczeniu zaawansowanych raków regionu głowy i szyi”
- W dniach 15-16.12.2007 wygłosiłam wykłady w ramach Ogólnopolskiego Programu dla Młodzieży „Mam Haka na Raka” organizowanego przez Polską Unię Onkologii, Polskie Towarzystwo Oświaty Zdrowotnej, Międzynarodowe Stowarzyszenie Studentów Medycyny (IFMSA Poland), Stowarzyszenie Zdrowych Miast Polskich. Celem szkolenia było przygotowanie młodych ludzi do podejmowania aktywności prozdrowotnych wśród najbliższych, która przełoży się na systematyczne przeprowadzenie badań profilaktycznych.
- W dniu 6.06.2011 wygłosiłam wykład dla pielęgniarek podstawowej opieki zdrowotnej z Małopolski pt.: „Epidemiologia, diagnostyka i leczenie najczęstszych nowotworów. Minimum onkologiczne dla pielęgniarek podstawowej opieki zdrowotnej”
- W dniu 16.04.2012 w Rzeszowie wygłosiłam wykład dla techników elektroradiologii z regionu Polski południowej pt.: „Nowotwory OUN. Nowotwory regionu głowy i szyi. Nowoczesne techniki radioterapii w leczeniu nowotworów”
- W dniu 9.10.2016 brałam udział w „Śniadaniu z dziennikarzami” – debacie środowiska naukowego z mediami jako promocji Ogólnopolskiego Programu Profilaktyki Nowotworów Głowy i Szyi
- W dniu 16.09.2020 w telewizji regionalnej TVP3 wypowiedziałam się na temat nowoczesnych metod radioterapii (napromienianie na wstrzymanym wdechu) u chorych na raka piersi
- W czerwcu 2021 wygłosiłam wykład pt.: „Pacjent Onkologiczny w gabinecie stomatologicznym” w ramach szkolenia online organizowanego dla lekarzy stomatologów z całej Polski. Wykład ten był również udostępniony słuchaczom kierunku higienistka stomatologiczna w Medycznych Szkołach Policealnych w całej Polsce.
- W dniu 18.09.2021 wygłosiłam wykład pt.: „Rola farmaceuty w leczeniu działań niepożądanych chemioterapii i radioterapii” na Ogólnopolskim Kongresie Polskiego Towarzystwa Studentów Farmacji w Lublinie
- W dniu 7.10.2021 w mediach, w 12 odcinku TVP „Moja Historia” wypowiedziałam się na temat czynników etiologicznych nowotworów głowy i szyi oraz możliwości szybkiej diagnostyki tych nowotworów
- W dniu 23.04.2022 wygłosiłam wykład pt.: „Nowotwory regionu głowy i szyi – rola stomatologa w diagnostyce i leczeniu” na Ogólnopolskiej konferencji DentEast3 organizowanej przez Polskie Towarzystwo Studentów Stomatologii w Lublinie

Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

Nagrody:

- W 1997 roku otrzymałam I-wszą nagrodę podczas konferencji Studenckiego Towarzystwa Naukowego w Katowicach za prezentację pracy pod tytułem „Brachyterapia wewnątrzmaczyniowa w leczeniu choroby wieńcowej”.
- W 1999 roku zdobyłam nagrodę za Najlepszą Prezentację Młodego Pracownika Nauki za przedstawienie pracy pt. „Radioterapia chorych na zaawansowanego raka krtani w materiale klinicznym Instytutu Onkologii w Gliwicach w latach 1990 – 96” na I Zjeździe Polskiego Towarzystwa Radioterapii Onkologicznej w Krakowie.
- W 2002 roku otrzymałam I-wszą nagrodę Polskiego Towarzystwa Radioterapii Onkologicznej w kategorii radioterapii i leczenia paliatywnego za przedstawienie pracy pt. „Zbadanie klinicznej przydatności wskaźnika ryzyka wznowy według Petersa dla oceny radykalności operacyjnej i wskazań do uzupełniającej radioterapii chorych na raka krtani” na I Kongresie Onkologii Polskiej w Katowicach.
- W 2016 roku otrzymałam Nagrodę im. Hilarego Koprowskiego przyznaną przez Polskie Towarzystwo Onkologiczne za najlepszą polską pracę naukową w dziedzinie onkologii za rok 2016 dla zespołu za cykl 12 prac dotyczących molekularnych czynników rokowniczych w leczeniu raka piersi – za pracę w zespole badawczym.
- W 2019 roku Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych im. Marii Skłodowskiej-Curie przyznał mi wyróżnienie w dziedzinie radioterapii za cykl 2 oryginalnych prac naukowych nt. „Wykrywania i występowania wirusów brodawczaka ludzkiego (HPV) w nowotworach terenu głowy i szyi oraz znaczenia infekcji HPV dla wyników leczenia (w tym radioterapii) chorych na tego typu nowotwory”
- W 2022 roku uzyskałam pozytywną rekomendację Rady Naukowej NIO-PIB wniosku o Nagrodę Naukową Wydziału Nauk Medycznych PAN za wyróżniające się prace naukowe, które mają szczególne znaczenie dla postępu nauk medycznych, klinicznych i podstawowych. Rekomendacja dotyczy cyklu 5 prac pod tytułem „Wskazanie nowych klinicznych i biologicznych czynników prognostycznych dla chorych na nowotwory regionu głowy i szyi”
- W 2022 roku Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych im. Marii Skłodowskiej-Curie przyznał mi nagrodę zespołową I stopnia w dziedzinie radiobiologii za cykl 3 oryginalnych prac dotyczący poszukiwania nowych biologicznych czynników prognostycznych i predykcyjnych dla radioterapii i jednoczesnej chemioradioterapii u chorych na HPV16 zależne nowotwory narządów głowy i szyi

- W 2022 roku Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych im. Marii Skłodowskiej-Curie przyznał mi nagrodę I stopnia w dziedzinie radioterapii za cykl trzech prac naukowych, dotyczący poszukiwania czynników prognostycznych i predykcyjnych u chorych na raka krtani leczonych napromienianiem w celu możliwości zaoszczędzenia narządu
- W 2022 roku na XXV Kongresie Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej praca, której jestem współautorem pt. „EGFR/PI3K/Akt/mTOR pathway in head and neck squamous cell carcinoma patients with different HPV status” została uznana za najlepszą publikację w czasopiśmie polskim w 2021 roku.

Odznaczenia:

- W 2011r otrzymałam Odznakę za Zasługi dla Związku Kombatantów Rzeczypospolitej Polskiej
- W 2016r otrzymałam Srebrny Krzyż Zasługi
- W 2021r otrzymałam Medal Srebrny za Długoletnią Służbę

Pełniłam funkcję recenzenta w następujących czasopismach na zaproszenie ich redakcji:

- OncoTargets and Therapy (IF 3,337)
- Archives of Case Reports (ISSN: 2637-3793)
- Journal of Hematology and Oncology Research (ISSN: 2372-6601)
- Cancers (IF 6,639, ISSN: 2072-6694)
- Current Oncology (IF 3,677)
- Journal of Clinical Medicine (IF 4,964, ISSN: 2077-0383)
- Radiation Oncology (IF 4,306)

Napisałam recenzję książki autorstwa Joanny Stefan, Krzysztofa Roszkowskiego pt. „Nowoczesne metody badań przedklinicznych” dla wydawnictwa CeDeWu.

Członkostwo w towarzystwach naukowych:

- Polskie Towarzystwo Radioterapii Onkologicznej (PTRO)
- Polskie Towarzystwo Onkologiczne (PTO)
- Polskie Towarzystwo Nowotworów Głowy i Szyi (PTNGiSz)
- Polskie Towarzystwo Badań Radiacyjnych (PTBR)
- European Society for Radiotherapy and Oncology (ESTRO)

Anna Mucha-Małecka
(podpis wnioskodawcy)

Piśmiennictwo:

1. Wojciechowska U, Didkowska J. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy. Dostępne na stronie <http://onkologia.org.pl/raporty/> dostęp z dnia 22/12/2021.
2. Warren GW, Alberg AJ, Kraft AS, Cummings KM. The 2014 Surgeon General's report: "The Health Consequences of Smoking – 50 Years of Progress". A Paradigm Shift in Cancer Care. *Cancer* 2014; DOI: 10.1002/cncr.28695.
3. Gandini S, Botteri E, Iodice S, Boniol M, Lowenfels AB, et al. Tobacco smoking and cancer: a meta-analysis. *Int J Cancer* 2008; 122:155–64.
4. Warren GW, Kasza KA, Reid ME, Cummings KM, Marshall JR. Smoking at diagnosis and survival in cancer patients. *Int J Cancer* 2013; 132:401–10.
5. Syrjanen K, Syrjanen S, Pyrhonen S. Human papilloma virus (HPV) antigens in lesions of laryngeal squamous cell carcinomas. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1982; 44: 323–34.
6. Meng HX, Miao SS, Chen K, et al. Association of p16 as prognostic factors for oropharyngeal cancer: Evaluation of p16 in 1470 patients for a 16 year study in Northeast China. *Biomed Res Int* 2018; 9594568.
7. Biesaga B, Mucha-Małecka A, Janecka-Widła A, et al. Differences in the prognosis of HPV16-positive patients with squamous cell carcinoma of head and neck according to viral load and expression of p16. *J Cancer Res Clin Oncol* 2018; 144(1):63–73.
8. D'Souza G, Anantharaman D, Gheit T, et al. Effect of HPV on head and neck cancer patient survival, by region and tumor site: A comparison of 1362 cases across three continents. *Oral Oncol* 2016; 62:20–27.
9. Li X, Gao L, Li H, et al. Human papillomavirus infection and laryngeal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 2013; 207(3): 479488.
10. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 2014; 15(12):1319–1331.
11. Taylor SM, Kerr P, Fung K, Aneeshkumar MK, Wilke D, Jiang Y, et al. Treatment of T1b glottic SCC: laser vs. radiation: a Canadian multicenter study. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 42: 22.
12. Chera BS, Amdur RJ, Morris CG, Kirwan JM, Mendenhall WM T1N0 to T2N0 squamous cell carcinoma of the glottic larynx treated with definitive radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 78(2): 46.
13. Abdurehim Y, Hua Z, Yasin Y, Xukurhan A, Imam I, Yuqin F. Transoral laser surgery versus radiotherapy: systematic review and meta-analysis for treatment options of T1a glottic cancer. *Head Neck* 2012; 34: 23–33.

14. Warner L, Chudasama J, Kelly CG et al. Radiotherapy versus open surgery versus endolaryngeal surgery (with or without laser) for early laryngeal squamous cell cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 12(12): CD002027.
15. De Santis RJ, Poon I, Lee J, Karam I, Enepekides DJ, Higgins KM. Comparison of survival between radiation therapy and trans-oral laser microsurgery for early glottic cancer patients; a retrospective cohort study. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2016; 45(1): 42.
16. Yoo J, Lacchetti C, Hammond JA, Gilbert RW, Head and Neck Cancer Disease Site Group Role of endolaryngeal surgery (with or without laser) versus radiotherapy in the management of early (T1) glottic cancer: a systematic review. *Head Neck* 2014; 36: 1807–19.
17. Aaltonen LM, Rautiainen N, Sellman J, Saarilahti K, Makitie A, Rihkanen H, et al. Voice quality after treatment of early vocal cord cancer: a randomized trial comparing laser surgery with radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2014; 90: 255–60.
18. Laoufi S, Mirghani H, Janot F, Hartl DM. Voice quality after treatment of T1a glottic cancer. *Laryngoscope* 2014; 124: 1398–401.
19. Higgins KM, Shah MD, Ogaick MJ, Enepekides D. Treatment of early-stage glottic cancer: meta-analysis comparison of laser excision versus radiotherapy. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 38(6): 603–612.
20. Forastiere AA, Maor M, Weber RS, Pajak T, Glisson B, Trotti A, Ridge J, Ensley J, Chao C, Cooper J. Long-term results of Intergroup RT0G 91–11: A phase III trial to preserve the larynx - Induction cisplatin/5-FU and radiation therapy versus concurrent cisplatin and radiation therapy versus radiation therapy. *J Clin Oncol* 2006; 24:18 (suppl). Abstract 5517.
21. Hinerman RW, Morris CG, Amur MJ, et al. Surgery and postoperative radiotherapy for squamous cell carcinoma of the larynx and pharynx. *Am J Clin Oncol* 2006; 29: 613–621.
22. Akman FC, Dag N, Ataman OU, et al. The impact of treatment center on the outcome of patients with laryngeal cancer treated with surgery and radiotherapy. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008; 265: 1245–1255.
23. Peters LJ, Goepfert H, Ang KK, et al. Evaluation of the dose for postoperative radiation therapy of head and neck cancer: first report of a prospective randomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; 26(1): 3–11.
24. Pfister DG, Laurie SA, Weinstein GS, Mendenhall WM, Adelstein DJ, et al. American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline for the use of larynx-preservation strategies in the treatment of laryngeal cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3693–704.
25. Mendenhall WM, Million RR, Cassisi NJ et al. Squamous cell carcinoma of the supraglottic larynx treated with radical irradiation: Analysis of treatment parameters and results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1984; 10: 2223–2230.
26. Mendenhall WM. T3-4 squamous cell carcinoma of the larynx treated with radiation

therapy alone. *Semin Radiat Oncol* 1998; 8(4): 262-269.

27. Ang KK, Trotti A, Brown BW i wsp. Randomized trial addressing risk features and time factors of surgery plus radiotherapy in advanced head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 51,3: 571-578.

28. Layland MK, Sessions GE, Lenox J. The influence of lymph node metastases in the treatment of squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx, larynx and hypopharynx: N0 versus N+ *Laryngoscope* 2005; 115: 629-639.

29. Wieczorek A, Fijuth J, Michalski W. The results of postoperative irradiation for locally advanced carcinoma of the larynx. *Nowotwory* 2002; 52: 287-294.

30. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *J ChronicDis* 1987; 40: 373-383.

31. Righini CA, Timi N, Junet P, Bertolo A, Rey E, Atallah I. Assessment of nutritional status at the time of diagnosis in patients treated for head and neck cancer. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis* 2013; 130: 8-14.

32. Guigoz Y, Vellas B.: Assessing the nutritional status of the elderly: The Mini Nutritional Assessment as part of the geriatric evaluation. *Nutr Rev* 1998; 54: S59-65.

33. Yamazaki H, Suzuki G, Nakamura S, Yoshida K, Konishi K, Teshima T, Ogawa K. Radiotherapy for laryngeal cancer-technical aspects and alternate fractionation. *J Radiat Res* 2017; 58(4): 495-508.

34. Paleri V, Wight RG, Davies GR. Impact of comorbidity on the outcome of laryngeal squamous cancer. *Head Neck* 2003; 25: 1019-1026.

35. Paleri V, Wight RG, Silver CE, et al. Comorbidity in head and neck cancer: A critical appraisal and recommendations for practice. *Oral Oncol* 2010; 46: 712-719.

36. Łacko A. Specificities of the treatment in elderly cancer patients. *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2012; 8(1): 1-6.

37. Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The eighth edition AJCC cancer staging manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin* 2017; 67(2): 93-99.

38. Te Riele RJLM, Dronkers EAC, Wieringa MH, et al. Influence of anemia and BMI on prognosis of laryngeal squamous cell carcinoma: Development of an updated prognostic model. *Oral Oncol* 2018; 78: 25-30.

39. van Bokhorst-de van der Schueren MA, van Leeuwen PA, Sauerwein HP, et al. Assessment of malnutrition parameters in head and neck cancer and their relation to postoperative complications. *Head Neck* 1997; 19: 419-425.

-
40. Ozlem Onerci Celebi, Ebru Sener, Sefik Hosal, Mustafa Cengiz, Ibrahim Gullu, Gaye Guler Tezel. Human papillomavirus infection in patients with laryngeal carcinoma. *BMC Cancer* 2018; 18:1005.
 41. Duray A, Descamps G, Arafa M, et al. High incidence of high-risk HPV in benign and malignant lesions of the larynx. *Int J Oncol* 2011; 39(1): 51–59.
 42. Torrente MC, Rodrigo JP, Haigentz M, et al. Human papillomavirus infections in laryngeal cancer. *Head Neck* 2011; 33(4): 581-586.
 43. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2005; 14(2): 467–475.
 44. de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer* 2017; 141(4): 664-670.
 45. Castellsagué X, Alemany L, Quer M, et al. HPV involvement in head and neck cancers: Comprehensive assessment of biomarkers in 3680 patients. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108(6): 403.
 46. Golusiński P, Lamperska K, Braakhuis BJM, et al. Prevalence of active HPV infection in head and neck cancer patients. *Pol Przegląd Otorynolaryngol* 2012; 3(1): 244-251.
 47. Morshed K. Association between human papillomavirus infection and laryngeal squamous cell carcinoma. *J Med Virol* 2010; 82(6): 1017-1023.
 48. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 342-350.
 49. Ganguly N, Parihar SP. Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. *J Biosci* 2009; 34(1): 113-123.
 50. Narisawa-Saito M, Kiyono T. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: roles of E6 and E7 proteins. *Cancer Sci* 2007; 98(10): 1505-1511.
 51. Li X, Gao L, Li H, et al. Human papillomavirus infection and laryngeal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 2013; 207(3): 479-488.
 52. Polz-Gruszka D, Stec A, Dworzański J, Polz-Dacewicz M. EBV, HSV, CMV and HPV in laryngeal and oropharyngeal carcinoma in Polish patients. *Anticancer Res* 2015; 35(3): 1657-1661.
 53. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 2014; 15(12): 1319-1331.
 54. Ragin CC, Taioli E. Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 2007; 121(8): 1813–1820.

-
55. Dayyani F, Etzel CJ, Liu M, Ho CH, Lippman SM, Tsao AS. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol* 2010; 29: 2–15.
56. O'Rorke MA, Ellison MV, Murray LJ, Moran M, James J, Anderson LA. Human papillomavirus related head and neck cancer survival: a systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol* 2012; 48(12): 1191–1201. doi: 10.1016/j.oraloncology.2012.06.019.
57. Liu H, Li J, Zhou Y, Hu Q, Zeng Y, Mohammadreza MM. Human papillomavirus as a favorable prognostic factor in a subset of head and neck squamous cell carcinomas: a meta-analysis. *J Med Virol* 2016; 89(4): 710–725.
58. Rosenberg AJ, Vokes EE. Optimizing Treatment De-Escalation in Head and Neck Cancer: Current and Future Perspectives. *Oncologist* 2021; 26(1): 40-48.
59. Zhang M, Kumar B, Piao L, Xie X, Schmitt A, Arradaza N, Cippola M, Old M, Agrawal A, Ozer E, Schuller DE, Teknos TN, Pan Q. Elevated intrinsic cancer stem cell population in human papillomavirus-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer* 2014; 120(7): 992-1001.