

Prognostički značaj morfologije invazivne tumorske fronte u karcinomu pločastih stanica usne šupljine

Prognostic value of invasive tumor front grading in squamous cell carcinoma of oral cavity

Manuela Avirović^{1*}, Koviljka Matušan-Ilijaš¹, Mirna Juretić², Robert Cerović², Nives Jonjić¹, Ksenija Lučin¹

¹Zavod za patologiju i patološku anatomiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

²Klinika za oralnu i maksilofacijalnu kirurgiju, KBC Rijeka, Rijeka

Sažetak. Cilj: Utvrditi gradus invazivne tumorske fronte (GITF) u karcinomu pločastih stanica usne šupljine (KPSUŠ), usporediti ga s tradicionalnim histološkim gradusom te ispitati prognostičku vrijednost obaju načina gradiranja. **Materijali i metode:** Na HE-obojanim mikroskopskim preparatima 86 KPSUŠ-a, odstranjenim na Klinici za maksilofacijalnu kirurgiju KBC-a Rijeka, određen je gradus invazivne tumorske fronte i ispitana njeno povezanost s kliničkopatološkim prognostičkim parametrima kao što su patološki T stadij (pT stadij), patološki N stadij limfnih čvorova (pN stadij), klinički stadij bolesti (TNM stadij) te dužina preživljavanja pacijenata. Podatci o tradicionalnom histološkom gradusu dobiveni su iz patohistološkog nalaza.

Rezultati: Tradicionalni histološki gradus nije bio značajno povezan s kliničkim parametrima niti preživljavanjem pacijenata ($P = 0,906$). Visoki GITF bio je povezan s pozitivnim limfnim čvorovima ($P = 0,006$) i kliničkim stadijem bolesti ($P = 0,025$), dok s patološkim T stadijem nije dobivena statistička povezanost ($P = 0,086$). U univarijantnoj analizi visoki GITF bio je povezan s kraćim preživljavanjem pacijenata ($P = 0,001$), a u multivarijantnoj analizi se pokazao prognostičkim čimbenikom ($P = 0,006$). Za pojedinačne parametre koji određuju GITF poput upalnog infiltrata, načina invazije te stupnja keratinizacije također je utvrđena prognostička vrijednost u univarijantnoj ($P < 0,001$, $P = 0,013$, tj. $P = 0,009$) i multivarijantnoj analizi. **Zaključak:** GITF ima veću prognostičku vrijednost u odnosu na tradicionalni histološki gradus. Njegovo određivanje može pomoći u prepoznavanju pacijenata s većim rizikom za povrat bolesti nakon kirurškog odstranjenja tumora, kojima bi koristile dodatne metode liječenja.

Ključne riječi: analiza preživljavanja; gradiranje tumora; karcinom pločastih stanica glave i vrata

Abstract. Aim: To establish invasive tumor front grade (ITFG) in squamous cell carcinoma of the oral cavity (OCSCC), compare it with traditional histological grade and to investigate the prognostic value of both. **Materials and methods:** The whole tumor-tissue sections, stained with HE of 86 OCSCC cases were evaluated for the invasive tumor front grade and compared with the clinicopathological prognostic parameters such as pathological stage (pT stage), pathological lymph node stage (pN stage), clinical stage (TNM stage) and length of survival of patients. Tissue has been disposed at the Department of Maxillofacial Surgery, University Hospital Rijeka. Data of traditional histological grade were obtained from previous histological findings. **Results:** Traditional histological grade was not significantly associated with clinical parameters or survival of patients ($P = 0.906$). High ITFG was associated with positive lymph nodes ($P = 0.006$) and clinical stage of disease ($P = 0.025$), but not to pathological T stage ($P = 0.086$). In univariate analysis high ITFG was associated with shorter survival of patients ($P = 0.001$), and multivariate analysis showed it as the independent prognostic factor ($P = 0.006$). For individual parameters that determine ITFG like inflammatory infiltrate, way of invasion and degree of keratinization was also established statistically significant prognostic value in univariate ($P < 0.001$, $P = 0.013$, i.e., $P = 0.009$) and multivariate analysis. **Conclusion:** ITFG has greater prognostic value than the traditional histological grade. Determination of ITFG may help identify patients with a higher risk of disease recurrence after surgical removal of the tumor, which would use additional methods of treatment.

Key words: squamous cell carcinoma of the head and neck; survival analysis; tumor grading

***Dopisni autor:**

Dr. sc. Manuela Avirović
Zavod za patologiju i patološku anatomiju,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci
B. Branchetta 20, 51 000 Rijeka
e-mail: manuela.avirovic@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Karcinom pločastih stanica usne šupljine (KPSUŠ) invazivna je epitelna novotvorina agresivnog lokalnoinvazivnog rasta, karakterizirana učestalim metastazama u regionalnim limfnim čvorovima koje značajno smanjuju preživljavanje pacijenata¹⁻². Standardni prognošički čimbenici ne daju pouzdane informacije o biološkom ponašanju tumora i mogućnosti povrata bolesti te vrlo često tumori istog kliničkog stadija i lokalizacije bolesti progrediraju različitom brzinom i intenzitetom²⁻⁵. Unatoč moderniziranju terapijskih protokola i multidisciplinarnom terapijskom pristupu, koji se zasniva na određivanju stadija proširenosti bolesti, 30 % – 50 % pacijenata doživi relaps bolesti lokalno, regionalno ili, rjeđe, na udaljenom mjestu⁶⁻⁷. Za sada nije u potpunosti razrađen pristup kojim bi se moglo sa sigurnošću predvidjeti agresivnije ponašanje tumora i izdvojiti skupina pacijenata s većom vjerojatnošću lokoregionalnog povrata bolesti, kojoj bi koristili dodatni terapijski zahvati. Za većinu zloćudnih novotvorina poznata je povezanost između stupnja diferenciranosti tumora, tzv. histološkog gradusa i biološkog ponašanja tumora koje određuje prognozu bolesti⁸⁻⁹. Tradicionalni histološki gradus dio je standardiziranog patohistološkog nalaza za KPSUŠ, a određuje se na temelju morfoloških osobina tumorskih stanica promatrajući tumor u cjelini. Tijekom posljednjeg desetljeća pojavile su se studije koje su pokazale da morfologija dubokih dijelova tumora, tj. onih koji su u neposrednom kontaktu sa stromom „domaćina“, tj. morfologija invazivne tumorske fronte (ITF), ima veću prognošičku vrijednost u odnosu na morfološke parametre koji se odnose na tumor u cjelini¹⁰⁻¹⁷. Ovaj sustav gradiranja, pored morfoloških osobina tumorskih stanica u području ITF-a, poput stupnja keratinizacije i nuklearnog pleomorfizma, uključuje i parametre koji odražavaju međudnos tumorskih stanica i stanica strome, kao što su način invazije i upalni odgovor domaćina. ITF predstavlja najdublji, najnapredniji dio tumora, a uključuje tumorske stanice, tj. parenhim tumora i tumorsku stromu. Područje invazivne tumorske fronte razlikuje se morfološki, biološki i klinički od centralnog i površinskog dijela tumora.

Eksperimentalne studije potvrdile su da ITF sadrži agresivnije klonove stanica s većom sposobnošću invazije okolnih struktura i krvnih žila, što određuje ukupno biološko ponašanje tumora¹⁸. Cilj našeg istraživanja bio je utvrditi ima li morfologija ITF-a veću prognošičku vrijednost u odnosu na tradicionalni histološki gradus u KPSUŠ-u.

Morfologija dubokih dijelova tumora, onih koji su u neposrednom kontaktu sa stromom „domaćina“, tj. gradus invazivne tumorske fronte (GITF), ima veću prognošičku vrijednost u odnosu na morfološke parametre koji se odnose na tumor u cjelini.

MATERIJALI I METODE

U istraživanje je uključeno 86 pacijenata kojima je u periodu od 2000. – 2007. godine dijagnosticiran i kirurški odstranjen KPSUŠ na Klinici za maksilofacijalnu kirurgiju KBC-a Rijeka. Iz arhive Zavoda za Patologiju izvađeni su i pregledani histološki preparati tumora te sakupljeni klinički i patohistološki podaci o pacijentima kao što su pT stadij, stadij regionalnih limfnih čvorova, klinički stadij i histološki gradus. Za određivanje tradicionalnog histološkog gradusa korištena je modifikacija stupnjevanja po Broderu⁸⁻⁹. Podatci o dužini preživljavanja pacijenata uključenih u istraživanje prikupljeni su iz dokumentacije Registra za rak Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo. GITF je određen prema M. Bryne i sur.¹⁰⁻¹¹. Analizirani su morfološki parametri kao što su stupanj keratinizacije, polimorfizam stanica, način invazije i upalni infiltrat te bodovani s 1 do 4 boda, a zbrajanjem dobivene skupine s ukupno 4 – 16 bodova svrstane su u kategorije niskog (4 – 7 bodova), umjerenog (8 – 11 bodova) i visokog (12 – 16 bodova) GITF-a. Statistička analiza napravljena je pomoću softvera Statistica 10 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Za usporedbu kategorijskih vrijednosti korišten je Pearsonov hi-kvadrat test. Procjena utjecaja GITF-a na preživljavanje pacijenata učinjena je pomoću *log rank* testa. Statistički značajan rezultat postavljen je uz vjerojatnost statističke pogreške $P \leq 0,05$.

REZULTATI

Kliničkopatološka obilježja pacijenata

U studiju je uključeno ukupno 86 pacijenata, od čega 72 muškarca (82 %) i 14 žena (18 %), srednje životne dobi 62 godine, s rasponom godina od 37 do 92 godine (tablica 1).

Prognostička vrijednost tradicionalnog histološkog gradusa

Usporedbom tradicionalnog histološkog gradusa i prognostičkih čimbenika poput TNM stadija ($P = 0,967$), stadija limfnih čvorova ($P = 0,576$) te patološkog T stadija ($P = 0,336$, χ^2 test) nije uočena statistički značajna povezanost. Nije nađena niti razlika u vjerojatnosti petogodišnjeg preživljavanja pacijenata s tumorima različitog tradicionalnog histološkog gradusa ($P = 0,906$, *log rank* test).

Prognostička vrijednost gradusa invazivne tumorske fronte

Bodovanjem morfoloških karakteristika i načina rasta tumora u području invazivne tumorske fronte dobivena je brojčana vrijednost GITF-a koja je pravilne raspodjele, raspona od 6 do 15, srednje vrijednosti 10. Pri tome je 6 slučajeva (7 %) u skupini niskog GITF-a, 57 slučajeva (66 %) u skupini umjerenog GITF-a, dok su preostala 23 slučaja (27 %) odgovarala skupini visokog GITF-a. Prikazana je histološka slika KPSUŠ-a iz područja invazivne tumorske fronte. Pod malim povećanjem uočava se prije svega različit način invazije tumorskih stanica kao jedan od parametara koji određuju GITF (slika 1). Usporedbom GITF-a i kliničkih parametara uočena je statistički značajna povezanost između visokog GITF-a i pozitivnih limfnih čvorova ($P = 0,006$) kao i TNM stadija bolesti ($P = 0,025$), dok s patološkim T stadijem nije dobivena statistička povezanost ($P = 0,086$, χ^2 test) (slika 2).

Procjena utjecaja GITF-a na preživljavanje pacijenata

Uočena je statistički značajna razlika u vjerojatnosti petogodišnjeg preživljavanja pacijenata s tumorima različitog GITF-a (slika 3). Pri tome je vjerojatnost petogodišnjeg preživljavanja za skupinu pacijenata s tumorima niskog gradusa iznosila 60 %, za skupinu pacijenata s tumorima umjerenog gradusa 44 %, dok je za skupinu pacijenata s tumorima visokog

Tablica 1. Kliničko-patološke karakteristike pacijenata

Varijabla	N (%) 86
Spol	
Ž	14 (18)
M	72 (82)
Dob	
< 60	33 (38)
≥ 60	53 (62)
pT*	
pT1-pT2	57 (66)
pT3-pT4	29 (34)
pN**	
Negativan	35 (41)
Pozitivan	51 (59)
TNM***	
I-II	26 (30)
III-IV	60 (70)
Tradicionalni histološki gradus	
Dobra	9 (11)
Umjerena	55 (65)
Slaba	18 (24)
GITF	
Nizak	6 (7)
Umjeren	57 (66)
Visok	23 (27)

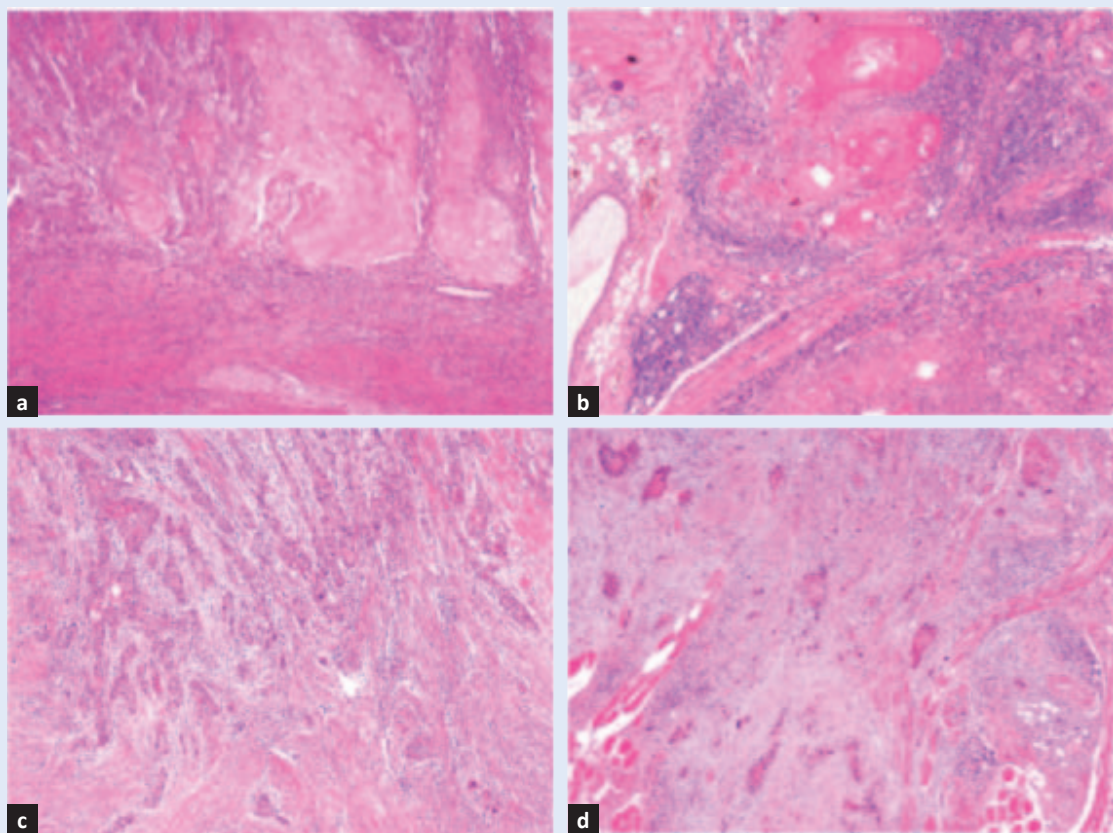
* pT – patološki T stadij, ** pN – patološki N stadij limfnih čvorova, *** TNM – klinički stadij bolesti, */**/** WHO pT, N i TNM klasifikacija tumora, 2005.

kog gradusa vjerojatnost preživljavanja iznosila svega 17 % ($P < 0,001$, *log rank* test).

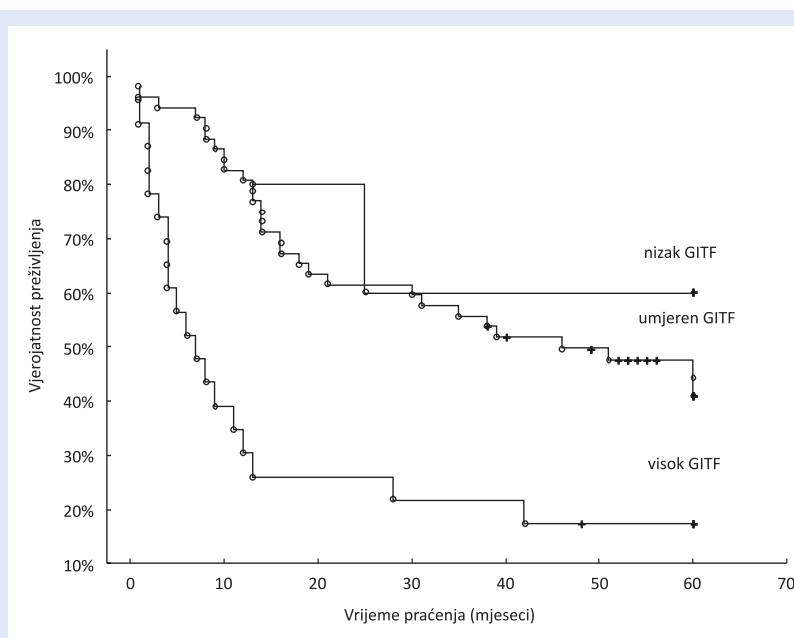
U multivarijantnoj analizi GITF se pokazao prognostičkim čimbenikom petogodišnjeg preživljavanja ($P = 0,006$, Coxov test multiple regresije) (tablica 2).

Odnos parametara GITF-a prema prognostičkim parametrima i preživljavanju pacijenata

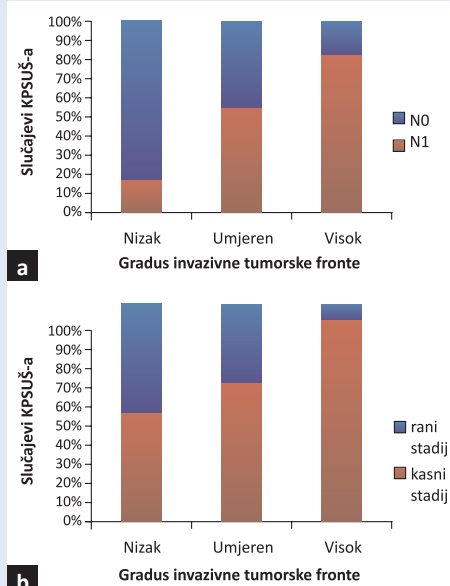
Usporedbom povezanosti pojedinih parametara GITF-a i kliničkih parametara te procjenom njihove povezanosti s preživljavanjem pacijenata nađen je proporcionalan odnos između načina invazije i TNM stadija bolesti ($P = 0,054$, χ^2 test). Naime, slučajevi s tumorima gurajućeg načina invazije pridruženi su slučajevima nižeg kliničkog stadija bolesti i obrnuto. Statistička značajnost između odnosa ostalih parametara GITF-a i kliničkopatoloških parametara nije nađena. U univarijantnoj analizi način invazije ($P = 0,013$), stupanj upalnog infiltrata ($P < 0,001$) i stupanj keratinizacije ($P = 0,015$,



Slika 1. Histološka slika karcinoma pločastih stanica usne šupljine u području invazivne tumorske fronte s različitim oblicima invazivnog rasta (HE): a) „gurajući“ način rasta, b) invazija u obliku većih otočića stanica, c) invazija u obliku manjih otočića i tračaka tumorskih stanica i d) invazija pojedinačnih tumorskih stanica i manjih grupica stanica. Povećanje 100 ×.



Slika 3. Kaplan-Meierova krivulja preživljavanja u ovisnosti o gradusu invazivne tumorske fronte u karcinomu pločastih stanica usne šupljine



Slika 2. Grafički prikaz odnosa gradusa invazivne tumorske fronte prema (a) stadiju limfnih čvorova vrata i (b) TNM stadiju bolesti.

Tablica 2. Multivarijatna analiza standardnih prognošičkih čimbenika i GIFT-a u karcinomu pločastih stanica usne šupljine

Varijabla	Relativni rizik	95 %-tne granice pouzdanosti	*P vrijednost
Patološki N stadij limfnih čvorova	1,5	0,62 – 3,51	0,385
Patološki T stadij	2,7	1,34 – 5,35	0,005
TNM klinički stadij bolesti	1,4	0,41 – 4,97	0,583
GIFT	2,2	1,25 – 3,81	0,006

* Coxov test multiple regresije

Tablica 3. Multivarijatna analiza standardnih prognošičkih čimbenika i parametara GIFT-a u karcinomu pločastih stanica usne šupljine

Varijabla	Relativni rizik	95%-tne granice pouzdanosti	*P – vrijednost
Patološki N stadij limfnih čvorova	1,7	0,69 – 4,04	0,255
Patološki T stadij	2,3	1,12 – 4,84	0,024
TNM klinički stadij bolesti	1,6	0,48 – 5,64	0,430
Stupanj keratinizacije tumora	2,5	1,19 – 5,10	0,015
Način invazije	2,0	1,08 – 3,51	0,026
Upalni infiltrat	3,9	1,90 – 7,97	< 0,001

* Coxov test multiple regresije

Određivanje gradusa invazivne tumorske fronte ima veću prognošičku vrijednost u odnosu na određivanje tradicionalnog histološkog gradusa karcinoma pločastih stanica usne šupljine te omogućuje prepoznavanje skupine pacijenata koja ima veći rizik za povratak bolesti nakon kirurškog odstranjenja primarnog tumora, a kojoj bi koristile dodatne metode liječenja.

log rank test) pokazali su se statistički značajnim čimbenicima petogodišnjeg preživljavanja (slika 3). Razlika u vjerojatnosti duljine petogodišnjeg preživljavanja pacijenata s obzirom na stupanj nuklearnog polimorfizma tumorskih stanica nije nađena ($P = 0,253$, *log rank test*).

U multivarijatnoj analizi parametri GIFT-a kao što je upalni infiltrat ($P < 0,001$), način invazije ($P = 0,026$) i stupanj keratinizacije tumora ($P = 0,015$) istaknuli su se uz patološki T stadij ($P = 0,021$) kao prognošički čimbenici petogodišnjeg preživljavanja u oboljelih od KPSUŠ-a (Coxov test multiple regresije) (tablica 3).

RASPRAVA

Određivanje histološkog gradusa tumora dio je standardne patohistološke obrade KPSUŠ-a. Najveći broj tumora u našoj studiji bio je umjerenog

histološkog gradusa, što je u skladu s rezultatima većine prethodnih studija karcinoma pločastih stanica usne šupljine⁸⁻¹⁰. Tradicionalni histološki gradus, koji se temelji isključivo na morfološkim osobinama tumorskih stanica, ali ne i načinu invazije tumora, nije bio povezan s prognošičkim parametrima i preživljavanjem pacijenata. Iako ovaj način histološkog stupnjevanja ima prognošičku važnost u nekim vrstama tumora, sve više studija ističe njegovu ograničenu prognošičku vrijednost u karcinomu pločastih stanica usne šupljine¹⁰⁻¹⁷. Nasuprot tome, visoki gradus invazivne tumorske fronte bio je praćen većom učestalošću pozitivnih limfnih čvorova ($P = 0,006$) te uznapredovalim kliničkim stadijem bolesti ($P = 0,025$). Ovakav rezultat podudara se s najnovijim studijama koje prikazuju proporcionalan odnos između GIFT-a i kliničkih parametara u KPSUŠ-u, pri čemu se u većini istraživanja visoki GIFT pokazao kao značajan prediktor nodalnih metastaza¹⁰⁻¹⁷. Veća prognošička vrijednost GIFT-a u odnosu na tradicionalni histološki gradus opisana je kod karcinoma pločastih stanica usne šupljine, grkljana, jednjaka i vrata maternice, ali i adenokarcinoma želuca, kolorektuma, dojke kao i vrata maternice¹⁸⁻²⁴. U radu Yuena i sur. izostala je povezanost GIFT-a s kliničkim parametrima u nižem stadiju bolesti, što upućuje na značaj promjene morfolologije invazivne tumorske

fronte u kasnijem stadiju bolesti¹⁷. U našoj studiji uočava se značajno kraće preživljavanje u skupini pacijenata koji su imali tumor visokog gradusa invazivne fronte ($P < 0,001$, *log rank test*). Visoki GIFT se u multivarijantnoj analizi pokazao čimbenikom kraćeg preživljavanja pacijenata. Pored morfoloških osobina tumorskih stanica GIFT uzima u obzir i način rasta, odnosno način invazije tumorskih stanica te zastupljenost upalnog infiltrata u stromi tumora. Prognošička vrijednost GIFT-a stoga upućuje na potencijalnu ulogu strome u biološkom ponašanju tumora, tj. na značaj interakcija tumorskih stanica s proteinima izvanstaničnog matriksa i stanicama strome, a koje utječu na proliferaciju, rast, invaziju i metastaziranje tumora¹⁸. Ove interakcije posredovane su brojnim citokinima kao što su IL6, TGF- β , HGF, OPN i brojni drugi, a o kojima ovisi sinteza i aktivacija proteaza matriksa, proliferacijska aktivnost i migracijska svojstva tumorskih stanica. Navedene aktivnosti parehinskih tumorskih stanica te stanica strome odražavaju se na morfološkoj razini kroz različiti način invazije tumorskih stanica te zastupljenost upalnog infiltrata. Ovi parametri GIFT-a, uključujući i stupanj keratinizacije, u univarijantnoj analizi su također bili udruženi s čimbenicima loše prognoze, a u multivarijantnoj pokazali značaj nezavisnih prognošičkih čimbenika. Stoga se može zaključiti da određivanje GIFT-a ima veću prognošičku vrijednost u odnosu na tradicionalni histološki gradus. Pritom treba imati na umu da se on ne može određivati na malim bioptičkim uzorcima koji sadrže samo površinske dijelove tumora, već na uzorku koji sadrži najdublje dijelove tumora, tj. granicu prema okolnom, zdravom tkivu.

ZAKLJUČAK

Jednostavnost određivanja parametara GIFT-a, niska cijena i visoka korelacija s ključnim parametrima progresije tumora čine gradiranje invazivne tumorske fronte korisnim dijelom patohistološkog izvješća za PKUŠ. Određivanje GIFT-a u dijagnostici karcinoma pločastih stanica usne šupljine omogućuje prepoznavanje skupine pacijenata koja ima veći rizik za povratak bolesti nakon kirurškog odstranjenja primarnog tumora, a kojoj bi koristile dodatne metode liječenja.

Izjava o sukobu interesa: Autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Barnes L, Eveson Jw, Reichart P, Sidransky D. WHO Classification of tumours, Pathology and genetics of head and neck tumours. Lyon: IARC Press, 2005;165-75.
2. Bänkfalvi A, Piffkò J. Prognostic and predictive factors in oral cancer: the role of the invasive tumour front. *J Oral Pathol Med* 2000;29:291-8.
3. Capote-Moreno A, Naval L, Muñoz-Guerra MF, Sastre J, Rodríguez-Campo FJ. Prognostic factors influencing contralateral neck lymph node metastases in oral and oropharyngeal carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg* 2010; 68:268-75.
4. Sutton DN, Brown JS, Rogers SN, Vaughan ED, Woolgar JA. The prognostic implications of the surgical margin in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003;32:30-4.
5. Mukherji SK, Armao D, Joshi VM. Cervical nodal metastases in squamous cell carcinoma of the head and neck: what to expect. *Head Neck* 2001;23:995-1005.
6. Dünne AA, Folz BJ, Kurokat C, Werner JA. Extent of surgical intervention in case of N0 neck in head and neck cancer patients: an analysis of data collection of 39 hospitals. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004;261: 295-303.
7. Wolff KD, Follmann M, Nast A. The diagnosis and treatment of oral cavity cancer. *Dtsch Arztebl Int* 2012; 109:829-35.
8. Broder AC. Carcinoma of the mouth: Types and degrees of malignancy. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1927;17:90-3.
9. Warren S. The grading of carcinoma of the cervix uteri as checked at autopsy. *Arch Pathol* 1931;12:783-6.
10. Bryne M. Is the invasive front of an oral carcinoma the most important area for prognostication? *Oral Dis* 1998;4:70-7.
11. Bryne M, Koppang HS, Lilleng R, Kjaerheim A. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. *J Pathol* 1992;166:375-81.
12. Kurokawa H, Zhang M, Matsumoto S, Yamashita Y, Tomoyose T, Tanaka T et al. The high prognostic value of the histologic grade at the deep invasive front of tongue squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2005;34:329-33.
13. Watanabe S, Watanabe R, Oton-Leite AF, Alencar Rde C, Oliveira JC, Leles CR et al. Analysis of cell proliferation and pattern of invasion in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Sci* 2010;52:417-24.
14. Ivkić M, Bedeković V, Kalogjera L, Čupić H, Ferenčić Ž. Invasive cell grading – an overview. *Acta clin Croat* 2002;41:233-6.
15. Sandu K, Nisa L, Monnier P, Simon C, Andrejevic-Blant S, Bron L. Clinicobiological progression and prognosis of oral squamous cell carcinoma in relation to the tumor invasive front: impact on prognosis. *Acta Otolaryngol* 2014;134:416-24.
16. Li Y, Bai S, Carroll W, Dayan D, Dort JC, Heller K et al. Validation of the risk model: high-risk classification and tumor pattern of invasion predict outcome for patients with low-stage oral cavity squamous cell carcinoma. *Head Neck Pathol* 2013;7:211-23.

17. Po Wing Yuen A, Lam KY, Lam LK, Ho CM, Wong A, Chow TL et al. Prognostic factors of clinically stage I and II oral tongue carcinoma-A comparative study of stage, thickness, shape, growth pattern, invasive front malignancy grading, Martinez-Gimeno score, and pathologic features. *Head Neck* 2002;24:513-20.
18. Koontongkaew S, Amornphimoltham P, Yapong B. Tumor-stroma interactions influence cytokine expression and matrix metalloproteinase activities in paired primary and metastatic head and neck cancer cells. *Cell Biol Int* 2009;33:165-73.
19. Sarbia M, Bittinger F, Porschen R, Dutkowski P, Willers R, Gabbert HE. Prognostic value of histopathologic parameters of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 1995;76:922-7.
20. Ambrosio EP, Silveira CG, Drigo SA, Sacomano Vde S, Mollck MC, Rocha RM et al. Chromosomal imbalances exclusively detected in invasive front area are associated with poor outcome in laryngeal carcinomas from different anatomical sites. *Tumour Biol* 2013;34:3015-26.
21. Muller W, Schneiders S, Meier S, Hommel G, Gabbert HE. Immunohistochemical study on the prognostic value of MIB-1 in gastric carcinoma. *British Journal of Cancer* 1996;74:759-65.
22. Teixeira CR, Tanaka S, Haruma K, Yoshihara M, Sumii K, Kajiyama G. Proliferating cell nuclear antigen expression at the invasive tumor margin predicts malignant potential of colorectal carcinomas. *Cancer* 1994;73:575-9.
23. Verhoeven D, Bourgeois N, Derde MP, Kaufman L, Buysens N. Comparison of cell growth in different parts of breast cancers. *Histopathology* 1990;17:505-9.
24. Kristensen GB, Abeler VM, Risberg B, Trop C, Bryne M. Tumor size, depth of invasion, and grading of the invasive tumor front are the main prognostic factors in early squamous cell cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1999;74:245-51.