T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ

LARİNGEAL SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLARDA FASCİN-1 VE CD44 EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ, PREDİKTİF VE PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Çiğdem Öztürk

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL-2019





T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ

LARİNGEAL SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLARDA FASCİN-1 VE CD44 EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ, PREDİKTİF VE PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Çiğdem Öztürk

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hüsniye Esra Paşaoğlu

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL-2019

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
KISALTMALAR ii
TABLO LİSTESİ iii
ŞEKİL LİSTESİ iv
RESİM LİSTESİ v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. EMBRİYOLOJİ 2
2.2. ANATOMİ 2
2.3. HİSTOLOJİ 4
2.4. LARİNGEAL SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM 4
2.4.1. EPİDEMİYOLOJİ VE İNSİDANS 6
2.4.2. ETİYOLOJİ 6
2.4.3. LOKALİZASYON 6
2.4.4. KLİNİK ÖZELLİKLER 7
2.4.5. HİSTOPATOLOJİ 7
2.4.6. PROGNOZ VE PREDİKTİF FAKTÖRLER 8
2.4.7. LARİNKS KANSERİNDE TEDAVİ 10
2.5.CD44 12
2.6. FASCİN-1 13
3. GEREÇ VE YÖNTEM 14
3.1. OLGU SEÇİMİ VE KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLER 14
3.2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME 14
3.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL YÖNTEM 15
3.4. İMMÜNREAKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ 15
4. BULGULAR 17
4.1. DEMOGRAFİK VE KLİNİK BULGULAR 17
4.2. HİSTOMORFOLOJİK ÖZELLİKLERİN DAĞILIMI 18
4.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR 20
4.3.1. CD44 20
4.3.2. FASCİN-1 28
5. RESİMLER 48
6. TARTIŞMA 56
7. SONUÇLAR 66
8.KAYNAKLAR 69
EK 1. ÖZGEÇMİŞ ÖRNEĞİ 74
EK 2. TEZ KONUSU ONAY FORMU 77

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen, patoloji eğitimim süresince kendisinden çok şey öğrendiğim, patolojiye olan ilgi ve sevgisini kendime örnek aldığım, değerli hocam klinik eğitim sorumlumuz Doç. Dr. Esra Paşaoğlu'na,

Uzmanlık eğitimimin her aşamasında yol göstericim olan, iyi ve erdemli bir patolog olabilmem adına akademik bilgi ve tecrübelerini özveriyle paylaşan, kendisiyle çalışabilmiş olma şansına sahip olduğum değerli hocam eski klinik eğitim sorumlumuz Prof. Dr. Ümit Seza Tetikkurt'a,

Gerek tez hazırlık sürecimde gerekse asistanlığım süresince karşılaştığım her sorunumu paylaşabildiğim, bana larinksin anatomisini sevdiren Uzm. Dr. Funda Emre'ye,

Uzmanlık eğitimim süresince çalışma fırsatı bulduğum, eğitimime katkıları olan Uzm. Dr. Şule Özsoy, Uzm. Dr.Bilgen Özcan, Uzm. Dr. Ali Muhammedoğlu, Uzm. Dr.Tuğçe Çay, Uzm. Dr. Neslihan Berker, Uzm. Dr. Nilsen Erdoğan, Uzm. Dr.Selva Kabul, Uzm. Dr. Şenay Yalçın, Uzm. Dr. Aysel Çağlar, Uzm. Dr. Yiğit Ülgen, Uzm. Dr. Aslı Kahraman, Uzm. Dr. Bahar Elezoğlu, Uzm. Dr. Pelin Demirtürk, Uzm. Dr. Atay Uludokumacı'ya,

Asistanlık hayatımın en güzel anılarını paylaştığım, dostluklarını her zaman hissettiğim, her birini tanımaktan büyük mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım Dr.Elif Çelik, Dr. Tuğçe Bölme Şavlı, Dr. Hazal Taş Solak, Dr. Evrim Erel, Dr. İrem Demir, Dr. Emel Cengiz Ceylan, Dr.Cumhan Şavlı, Dr. Tuğçe Yıldız, Dr. Mahmut Çelebi ve kıdemlilerim Uzm. Dr. Uğur İzol, Uzm. Dr. Gonca Kavşut, Uzm. Dr. Deniz Tolga, Uzm. Dr.Yazgı Köy'e,

Tezimin hazırlanmasında teknik aşamalarda yardımcı olan Damla Bulut'a,

Laboratuvar ve sekreterlikte çalışan arkadaşlarıma ve yardımcı personelimize,

Rotasyonum süresince bilgi ve birikimlerinden faydalanma şansı bulduğum İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, asistan arkadaşlarıma ve çalışanlarına,

Çalışmamın istatistik danışmanlığını yapan Rana Konyalıoğlu'na,

Hayatımın her anında fedakarlıklarıyla yanıbaşımda olan, bana önce insan olabilmenin erdemini öğreten, hayattaki en değerli varlıklarım, en güzel şansım canım annem, canım babam, canım ablam, abim ve ailemin diğer üyelerine,

Karşılaştığım her zorlukta yanımda olduğunu bildiğim sevgili yol arkadaşım, Canım eşim Dr.Ahmet Emin Öztürk'e,

Ailemizin yeni üyesi biricik oğlum Ali Asaf'ıma,

Sonsuz teşekkür ederim.

Dr.Çiğdem Öztürk, İstanbul, 2019

KISALTMALAR

AJCC: American Coint Committe on Cancer

BBA: Büyük Büyütme Alanı

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

HE: Hematoksilen Eozin

İHK: İmmünhistokimya

İRS: İmmün Reaktivite Skoru

KT: Kemoterapi

LVİ: Lenfovasküler İnvazyon

LSHK: Laringeal Skuamöz Hücreli Karsinom

PNİ: Perinöral İnvazyon

SHK: Skuamöz Hücreli Karsinom

PSHK: Papiller Skuamöz Hücreli Karsinom

TNM: Tümör/Nod/Metastaz

yG: Yeni Grade

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Laringeal tümörlerin histolojik alt tipleri(DSÖ 2017)……..5

Tablo 2: Laringeal Karsinomlar TNM Evreleme(AJCC 2017 8. Baskı)……...10

Tablo 3: Olguların T, N, AJCC evre gruplarına dağılımı……..19

Tablo 4: CD44 ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi…….....23

Tablo 5: CD44 ve Fascin-1 ekspresyonunun olgulara göre dağılımı……25

Tablo 6: CD44 ekspresyonunun yıllara göre LogRank genel yaşam analizi……26

Tablo 7: CD44 ekspresyonunun yıllara göre LogRank hastalıksız yaşam analizi……27

Tablo 8: Fascin-1 ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi……32

Tablo 9: Fascin-1 ekspresyonunun yıllara göre LogRank genel yaşam analizi……34

Tablo 10: Fascin-1 ekspresyonun yıllara göre LogRank hastalıksız yaşam analizi……..35

Tablo 11: Tümör tomurcuklanması yoğunluğunun evre ve patolojik parametreler ile ilişkisi.....37

Tablo 12: Tümör tomurcuklanma yoğunluğunun yıllara göre LogRank genel yaşam analizi……..38

Tablo 13: Tümör tomurcuklanma yoğunluğunun yıllara göre LogRank hastalıksız yaşam analizi…….40

Tablo 14: Olguların tümör hücre yuva boyutuna göre T,N evreleri, LVİ, PNİ, lenfosit isfiltrasyonu, büyüme paterni, DSÖ derece gruplarına dağılımı……..42

Tablo 15: Laringeal SHK'de tümör tomurcuklanması ve tümör hücre yuva boyutuna göre önerilen yeni derecelendirme sistemi……...45

Tablo 16: Yeni Grade gruplarının T,N evreleri, LVİ, PNİ, lenfosit infiltrasyonu, büyüme paterni, DSÖ derece gruplarına dağılımı……..…46

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Olguların lokalizasyona göre dağılımı…….17

Şekil 2: Olguların lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, nekroz ve kıkırdak İnvazyonuna göre dağılımı……..18

Şekil 3: Olguların CD44 ekspresyonuna göre DSÖ gradelerine dağılımı…….20

Şekil 4: Olguların tümör lokalizasyonuna göre CD44 ekspresyon dağılımı…….21

Şekil 5: CD44 ekspresyonunun genel sağ kalım ile ilişkisi (Kaplan Meier)…… 27

Şekil 6: CD44 ekspresyonunun hastalıksız sağ kalım ile ilişkisi (Kaplan Meier)…….28

Şekil 7: Olguların Fascin-1 ekspresyonuna göre DSÖ gradelerine dağılımı…….29

Şekil 8: Olguların tümör lokalizasyonuna göre Fascin-1 ekspresyon dağılımı…….30

Şekil 9: Fascin-1 ekspresyonunun genel sağ kalım ile ilişkisi (Kaplan Meier)…….35

Şekil 10: Fascin-1 ekspresyonunun hastalıksız sağ kalım ile ilişkisi (Kaplan Meier)……36

Şekil 11: Olgularda tümör tomurcuklanması ve lenfositik infiltrasyon arasındaki ilişki……..37

Şekil 12: Tümör tomurcuklanması ile genel sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)…….39

Şekil 13: Tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)……40

Şekil 14: Tümör hücre yuvalarının boyutuna göre genel sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)……43

Şekil 15: Tümör hücre yuvalarının boyutuna göre hastalıksız sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)……..44

Şekil 16: Yeni grade grupları ile genel sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)……47

Şekil 17: Yeni grade grupları ile hastalıksız sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)……48

RESİM LİSTESİ

Resim 1: İnvaziv kenarda yoğun tümör tomurcuklanma aktivitesi (H&E x100)……49

Resim 2: Resim 1'de izlenen olguda büyük büyütme görüntüsünde tek hücre invazyonları ve daha büyük tümör hücre yuvaları (H&E x200)……49

Resim 3 ve 4: Düşük lenfositik yanıt gösteren DSÖ derece 1 SHK olgusunda tümör tomurcuklanması (Resim 3:H&Ex20, Resim 4: H&E x200)……50

Resim 5 ve 6: Yoğun lenfositik infiltrasyonun eşlik ettiği tomurcuklanma aktivitesi göstermeyen DSÖ derece 2 SHK olgusu (Resim 5:H&Ex100, Resim 6:H&E x400)……..51

Resim 7: Yoğun lenfositik infiltrasyonun eşlik ettiği tümör tomurcuklanması izlenmeyen, ekspansif büyüme gösteren DSÖ derece 2 SHK olgusu (H&E x100)……..52

Resim 8: Bazaloid tip SHK olgusu (H&E x40)……..52

Resim 9 ve 10: İnvaziv kenarda ana tümör kitlesine kıyasla daha şiddetli CD44 ekspresyonu (Resim 8:CD44x40; Resim 9: CD44 x100)……..53

Resim 11: SHK'de yüksek şiddet ve yaygınlıkta CD44 immünreaktivitesi (CD44 x40)…...54

Resim 12: SHK'de orta şiddet ve yaygınlıkta CD44 immünreaktivitesi (CD44 x100)……..54

Resim 13: SHK'de düşük şiddette CD44 immünreaktivitesi(CD44 x200)……55

Resim 14: SHK'de Fascin-1 ile tümörün tamamında şiddetli immünreaktivite (Fascin-1 x40)……...55

Resim 15: SHK'de Fascin-1 ile orta şiddette immünreaktivite(Fascin-1 x100)…….56

Resim 16: SHK'de Fascin-1 ile düşük şiddet ve yaygınlıkta immünreaktivite (Fascin-1)….56

ÖZET

Amaç: Fascin-1 aktin bağlayıcı bir proteindir ve hücrenin motilitesinde rol alır. CD44 bir kanser kök hücre belirtecidir. Bazı karsinomlarda prognoz ile ilişkili bulunan tümör tomurcuklanması ise ana tümör kitlesinden ayrılarak stromaya invaze olan izole tümör hücreleri ya da 5 hücreyi geçmeyen küçük tümör grupları olarak tanımlanmaktadır. Çalışmamızda tüm dünyada ve ülkemizde oldukça sık görülen laringeal skuamöz hücreli karsinomlarda (SHK) CD44 ve Fascin-1 ekspresyonunun yanısıra tümör tomurcuklanmasının klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini, klinik davranışın belirlenmesi ve prognozun öngörülmesindeki rolünü araştırmak amaçlanmıştır.

Yöntem: Kliniğimizde 2012-2018 yılları arasında laringeal SHK tanısı alan 130 olgunun parsiyel ve total larinjektomi materyalleri retrospektif olarak değerlendirildi. Tümörlere ait parafin bloklara immünhistokimyasal olarak Fascin-1 ve CD44 boyaları uygulandı. Boyaların boyanma yaygınlığı ve şiddeti üzerinden verilen skorlar toplanarak immünreaktivite skoru (İRS) elde edildi. Olgular İRS'ye göre düşük ve yüksek olarak iki gruba ayrıldı. Tümör tomurcuklanması ise yok, düşük, yoğun olarak derecelendirildi. İnvaziv kenarda tümör tomurcuklanmasına ek olarak invaziv tümör hücre grupları izole tümör hücreleri, küçük, orta, geniş yuva şeklinde 4 gruba ayrılarak değerlendirildi.

Her iki belirtece ait İRS, tümör tomurcuklanması ve invaziv tümör hücre grupları klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldı

Bulgular: Fascin-1, CD44 ekspresyonları ve tümör hücre yuva boyutu ile klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$). Tümör tomurcuklanması izlenen hastaların hastalıksız ve genel sağ kalım süreleri anlamlı olarak daha kısa bulundu ($p=0,008$). Ayrıca tümör tomurcuklanması izlenen olgularda tümöre eşlik eden lenfositik infiltrasyon daha az oranda saptandı ($p<0,05$).

Sonuç: Laringeal SHK'lerde prognoz tahmininde CD44 ve Fascin-1 ekspresyonunun yeri sınırlıdır ancak tümör tomurcuklanması bu hastalarda anlamlı bir prognostik parametre olabilir. Prognoz tahmini ve tedavi yönetiminde önemi nedeniyle tüm morfolojik bulgular dikkatle incelenmeli, tümör tomurcuklanması izlenen olgular gizli lenf nodu metastazı ve uzak metastaz açısından gerekirse ek tetkikler ile yakın takip edilmelidir.

Anahtar sözcükler: Laringeal skuamöz hücreli karsinom, CD44, Fascin-1, tümör tomurcuklanması, hücre yuva boyutu

ABSTRACT

Objective: Fascin-1 is an actin-binding protein and is involved in the motility of the cells. CD44 is a cancer stem cell marker. Tumor budding, which is associated with prognosis in some carcinomas, is defined as isolated tumor cells invading the stroma from the main tumor mass or small tumor groups not exceeding 5 tumor cells. Here, we aimed to investigate the relationship between CD44 and Fascin-1 expression, tumor budding, and clinicopathological parameters in laryngeal squamous cell carcinomas (SCC), to determine the clinical behavior and predict the prognosis.

Subject and methods: Partial and total laryngectomy materials of 130 patients diagnosed as laryngeal SCC between 2012-2018 in our clinic were evaluated retrospectively. Fascin-1 and CD44 stains were applied immunohistochemically to the paraffin blocks of the tumors. A total immunoreactivity score (IRS) was obtained by adding the staining percentage and intensity. Patients were divided into two groups as low and high according to the IRS. Tumor budding was grouped as no budding, low and high. Also, the invasive tumor cell groups were evaluated as isolated tumor cells, small, medium and large nests. IRS of both markers, tumor budding and cell nest size were compared with clinicopathological parameters

Results: There was no statistically significant relationship between clinicopathologic parameters and Fascin-1, CD44 expressions, tumor cell nest size and ($p > 0,05$). Disease-free and overall survival were significantly lower in patients with tumor budding ($p=0,008$). Tumor budding was also associated with low lymphocytic infiltration($p < 0,05$).

Conclusions: CD44 and fascin-1 expression are limited in predicting prognosis in laryngeal SCCs, but tumor budding may be a significant prognostic parameter in these patients. Morphological findings should be carefully examined for predicting prognosis. Especially, the patients with tumor budding should be followed closely for occult lymph node metastasis and distant metastasis.

Keywords: laryngeal squamous cell carcinoma, CD44, Fascin-1, tumor budding, cell nest size

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Baş- boyun bölgesinin skuamöz hücreli karsinomları tüm dünyada kanser sıklığı açısından 6.sıradadır ve her yıl 350.000 ölümden sorumlu tutulmaktadır [1]. Amerikan Kanser Topluluğu'nun verilerine göre 2019 yılı için öngörülen yeni tanı larinks karsinomu olgu sayısı 12.410, kansere bağlı beklenen ölüm sayısı 3.760'tır [2]. Ülkemizde ise Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü'nün kanser kayıtçılığı komisyonunun verilerine göre insidans erkeklerde 6,6/100.000, kadınlarda ise 0,5/100.000 olarak bildirilmiştir[3]. Larinks karsinomları tüm vücut karsinomlarının %1-2,5'nu oluşturmaktadır ve baş boyun karsinomlarının en sık görülenidir [4]. Bu tümörlerin büyük çoğunluğunu skuamöz hücreli karsinomlar oluşturmaktadır [4][5].

Larinks skuamöz hücreli karsinomunun histopatolojik tanısı, morfolojik bulgulara dayanarak çoğu zaman kolaylıkla konulabiliyorsa da; morfolojik bulguların ve özelliklerin prognoz açısından sahip olduğu önem henüz net değildir [6]. Genel olarak tümörün derecesinin, lenfovasküler ve perinöral invazyonun olup / olmamasının, cerrahi sınır durumunun prognozda etkili olduğu düşünülmektedir [7]. Bu morfolojik bulguların dışında lenf nodu metastazı, lenf nodunda ekstrakapsüler yayılım, tümörün infiltrasyon paterni, tümörün boyutu ve inflamatuar infiltrasyonun karakterinin de önemli olduğunu destekleyen çalışmalar mevcuttur [8]. Ayrıca tümörün invazyon derinliğinin de prognostik öneme sahip olduğu bildirilmiştir [9].

Laringeal kanserlerin cerrahi ve radyoterapi tekniklerinde son derece önemli gelişmeler kaydedilse de hastaların prognozlarında anlamlı değişiklik saptanmamıştır ve beş yıllık yaşam beklentisi yaklaşık %60'tır [10].

Larinksin skuamöz hücreli karsinomları ile ilişkili çeşitli sitogenetik ve moleküler anormallikler tanımlanmıştır. Bu bulguların bazılarının prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir [11]. Yeni belirteçlerin kullanılması, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine ve sonuçta hastaların prognozlarında iyileşmeye katkı sağlayabilir [12]. Bu belirteçlerden CD44 bir kanser kök hücre belirtecidir [13]. Kanser hücrelerinin yenilenme, progresyon, invazyon, lokal rekürrens, kemoterapi ve radyoterapiye direnç gibi özelliklerini programlayan ve kök hücrelerden salınan bir yüzey adezyon molekülüdür [14]. CD44 ekspresyonu birçok tümörde, tümörün kötü gidişiyle ilişkilendirilmiştir [15].

Aktin bağlayıcı bir protein olan ve hücrenin birçok fizyolojik fonsiyonunda rol alan, hücrenin motilitesini sağlayan Fascin-1'in ekspresyonunun, birçok tümörde metastaz riskini belirlemede yardımcı olduğunu destekleyen araştırmalar mevcuttur [16]. Laringeal kanserlerde

Fascin-1 ekspresyonu ile tümörün evresi, differansiyasyonun azalması ve lenf nodu tutulumu arasında pozitif koreleasyon saptanmıştır [17]. Tüm dünyada ve ülkemizde oldukça sık görülen laringeal skuamöz hücreli karsinomların klinik davranışını belirlemede, morfolojik bulguların yanı sıra CD44 ve Fascin-1 ekspresyonunun araştırılması hastaların klinik takip ve tedavisinde, prognozun saptanmasında anlamlı sonuçlar sağlayabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EMBRİYOLOJİ

4. haftada median laringotrakeal yarık şeklinde farinks ventral duvarından larinks ve trakeobronşial ağacın embriyolojik gelişimi başlar. Oluşan yarık derinleşerek laringotrakeal tüpü oluşturur. Laringotrakeal tüp respiratuvar epitelin gelistiği endoderm ile kaplanır. Kranial uçtan larinks ve trakea gelişirken, kaudal uçtan iki lateral çıkıntı oluşarak bronşlar ve akciğer lobları gelişir.

Larinksi döşeyen epitel endoderm kökenli olmasına karşılık, kıkırdak ve kasları mezenşim kaynaklıdır. Bu mezenşimin hızla prolifere olması sonucu, laringeal orifisin görünümü, sagittal bir yarıktan T seklinde bir açıklığa dönüşür. Daha sonra bu iki arkusun mezenşimi tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdaklara dönüştüğünde laringeal orifisin erişkin yapı halini alır. Larinks kıkırdakları 4. ve 6. faringeal arkustan farklılaşır. Kıkırdakların oluşumu sırasında, laringeal epitel hızla çoğalarak lümenin geçici olarak tıkanmasına neden olur. Larinks rekanalizasyonu 10. hafta civarında gerçekleşir. Vakuolizasyon ve rekanalizasyonun ardından, laringeal ventrikül adı verilen bir çift lateral çukur oluşur. Bu çukurlar, ilerde yalancı ve gerçek vokal kordlara farklılaşacak olan doku katlantılarıyla çevrelenmiştir. Epiglottis 3. ve 4. faringeal arkusların proliferasyonu sonucu gelişen hipobrankial kabarıntıdan farklılaşır. Larinks ve epiglottis gelişimlerini doğumdan sonra üç yaşına kadar devam ettirir [18].

2.2. ANATOMİ

Larinks orofarinks ve trakea arasında, hipofarinksin önünde yerleşmiş, kıkırdaklar ve kıkırdakları birbirine bağlayan eklem, bağ ve kaslardan oluşan öncelikli olarak alt solunum yollarının korunması, solunum ve fonasyon görevlerini üstlenen bir organdır. Yetişkinlerde 3. ve 6. servikal vertebra, çocuklarda 1.ve 4.servikal vertebralar arasında yer alır [19].

Larinksin asıl iskeleti üçü tek ve üçü çift olmak üzere dokuz adet kıkırdaktan oluşur. Tek kıkırdaklar; tiroid, krikoid ve epiglot kıkırdaklardır. Çift kıkırdaklar; aritenoid, kuneiform ve kornikulat kıkırdaklardır.

Tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdaklar hiyalin kıkırdak yapısında olup özellikle erkeklerde yaşla birlikte kemikleşme gösterir. Epiglot ise elastik kıkırdak yapısındadır ve kemikleşme görülmez, nadiren fokal kalsifikasyonlar görülebilir. İkinci dekattan itibaren larinks kıkırdakları kemikleşmeye baslar. Sadece elastik kıkırdaktan yapılmış olan epiglottis ve aritenoid kıkırdağın vokal prosesleri kemikleşmez ki bu durum sesin oluşumu bakımından fonksiyonel bir öneme sahiptir.

Vokal ligamanlar önde tiroid kıkırdağa, arkada aritenoid kıkırdakların vokal proseslerine yapışır.

Larinksin ekstrensek kasları komşu yapılardan köken alarak tiroid, krikoid veya hiyoid kıkırdaklar üzerine yapışır. Bunlar omohiyoid, sternohiyoid, tirohiyoid kaslar olup çiğneme sırasında bir bütün halinde hareket ederler.

Larinksin intrensek kasları 5 tanedir: krikotiroid, krikoaritoneides posterior, krikoaritenoides lateralis, tiroaritenoides kasları çift, aritenoid kas ise tektir. Larinks kaslarının yabancı cisimlerin solunum yollarına geçişini engellemek ve larinks kıkırdaklarının durumunu değiştirerek ses plikalarını ses oluşturacak şekle sokmak gibi iki önemli görevi vardır.

Larinksin motor ve duyusal sinirleri n.vagus'tan gelir.

Larinks arterlerini süperior ve inferior tiroid arterden alır. Aynı isimli venler arterleri izler.

Larinksin lenf damarları mukozal ve submukozal olmak üzere iki sistemden oluşur. Mukozal sistem tüm mukoza boyunca yayılırken submukozal sistem birbirinden bağımsız kompartmanlara ayrılmıştır. Gerçek kordun lenfatik kanalları az sayıdadır; bu sayede glottik bölge tutulumu izlenen laringeal karsinomların metastazı daha az sıklıktadır. Glottik bölge lenfatikleri krikotiroid membranı delerek servikal lenfatiklere ulaşır. Supraglottik bölge ise lenfatiklerden zengindir; lenfatikleri tirohiyoid membranı delerek üst servikal ve anterosuperior lenf nodlarına dökülür. Piriform sinüslerde de bol lenfatik bulunur. Lateralde derin servikal lenf nodlarına bazen de paratrakeal lenf nodlarına dökülürler. Subglottik bölgenin ise lenfatik drenajı prelarengeal, paratrakeal, pretrakeal ve supraklavikuler lenf nodlarına drene olur.

Larenks üç bölgeye ayrılarak incelenebilir:

1-Supraglottik bölüm: Epiglotun ucundan gercek korda kadar uzanır. Epiglot, ventrikuler bandlar (yalancı kordlar), areoepiglottik plikalar, aritenoid kıkırdaklar ve ventriküller bu bölümde yer alır.

2-Glottik bölüm: Bu bölüm vokal kordlar ve onları önde birleştiren anterior komissuru içine alır.

3-Subglottik bölüm: Gerçek kordların alt sınırı ile birinci trakea kıkırdağı arasında yer alan bölümdür [6].

2.3. HİSTOLOJİ

Larinksi döşeyen epitel bölgelere göre stratifiye skuamöz epitel ile respiratuar tip silli epitel arasında değişir. Epiglotun lingual yüzü stratifiye skuamöz epitel ile döşeliyken laringeal yüzü respiratuar epitel ile döşelidir. Larinksin supraglottik bölgesi respiratuar epitel ile, glottik bölgesi stratifiye skuamöz epitel ile infraglottik bölgesi ise respiratuar tip epitel ile döşelidir.

Stratifiye skuamöz epitel ile respiratuar tip epitel arasındaki geçiş keskin veya 1-2 mm'lik bir transizyonel zon içerecek şekilde olur.

Erişkinlerde sigara maruziyetine bağlı olarak respiratuar tip epitel tamamen skuamöz epitele yer değiştirebilir. Sigara kullanmayan erişkinlerin bir kısmında ise supraglottik ve infraglottik bölgelerdeki respiratuar tip epitelin içinde de skuamöz epitel alanları bulunabilir.

Larinksin çoğu alanında serömüsinöz glandlar bulunur. Bu glandlarda 8 yaşından sonra onkositik metaplazi başlar.

Gerçek vokal kordların L. propria'sına 'Reinke alanı' adı verilir. Bu alan stratifiye skuamöz epitel ile vokal ligamanlar arasında kalır ve lenfatik içermediği icin ödem ve poliplerin en sık geliştiği bölgedir [18][20].

2.4. LARİNGEAL SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM

Laringeal tümörlerin Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2017 baş boyun tümörleri sınıflamasına göre histolojik alt tipleri Tablo 1'de gösterilmiştir [21].

Tablo 1:Laringeal tümörlerin histolojik alt tipleri(DSÖ 2017)

HİSTOLOJİK TİP	ICD-O Kodu
❖ Malign Yüzey Epiteli Tümörleri	
➢ Konvansiyonel Skuamöz Hücreli Karsinom	8070/3
➢ Verrüköz Skuamöz Hücreli Karsinom	8051/3
➢ Bazaloid Skuamöz Hücreli Karsinom	8083/3
➢ Papiller Skuamöz Hücreli Karsinom	8052/3
➢ İğsi Hücreli Skuamöz Hücreli Karsinom	8074/3
➢ Adenoskuamöz Karsinom	8560/3
➢ Lenfoepitelyal Karsinom	8082/3
❖ Prekürsör Lezyonlar	
➢ Düşük Dereceli Displazi	8077/0
➢ Yüksek Dereceli Displazi	8077/2
➢ Skuamöz Hücreli Papillom	8052/0
➢ Skuamöz Hücreli Papillomatozis	8060/0
❖ Nöroendokrin Tümörler	
➢ İyi Differansiye Nöroendokrin Karsinom	8240/3
➢ Orta Differansiye Nöroendokrin Karsinom	8249/3
➢ Az Differansiye Nöroendokrin Karsinom	
▪ Küçük Hücreli Nöroendokrin karsinom	8041/3
▪ Büyük Hücreli Nöroendokrin karsinom	8013/3
❖ Tükrük Bezi Tümörleri	
➢ Adenoid Kistik Karsinom	8200/3
➢ Pleomorfik Karsinom	8940/0
➢ Onkositik Papiller Kistadenom	8290/0
❖ Yumuşak Doku Tümörleri	
➢ Granüler Hücreli Tümör	9580/0
➢ Liposarkom	8850/3
➢ İnflamatuar Myofibroblastik Tümör	8825/1
❖ Kıkırdak tümörleri	
➢ Kondrom	9220/0
➢ Kondrosarkom	9220/3
▪ Kondrosarkom, Grade 1	9220/1
▪ Kondrosarkom, Grade 2/3	9220/3
❖ Hematolenfoid Tümörler	

2.4.1. EPİDEMİYOLOJİ VE İNSİDANS

Laringeal skuamöz hücreli karsinom (SHK) akciğer karsinomlarından sonra solunum sisteminin en sık görülen karsinomudur [22]. Amerikan Kanser Topluluğu'nun verilerine göre 2019 yılı için öngörülen yeni tanı larinks karsinomu olgu sayısı 12.410, kansere bağlı beklenen ölüm sayısı 3.760'tır [2]. Ülkemizde ise Halk Sağlığı Genel Müdürlüğünün kanser kayıtçılığı komisyonunun verilerine göre erkeklerde insidans 6,6/100.000, kadınlarda 0,5/100.000 olarak bildirilmiştir [3]. Larinks karsinomları tüm vücut karsinomlarının %1-2,5'nu oluşturmaktadır ve baş boyun karsinomlarının en sık görülenidir [23]. Bu tümörlerin büyük çoğunluğunu skuamöz hücreli karsinomlar oluşturmaktadır [5]. Laringeal skuamöz hücreli karsinomun coğrafik dağılımı ülkelere ve aynı ülkenin farklı şehirlerine göre farklılık göstermektedir. Sıklıkla yaşamın 6. ve 7. dekatlarında görülmekte, çocuklarda nadiren izlenmektedir [24][25]. Erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmektedir [22][26]. Bu oran son yirmi yılda bazı bölgelerde kadınlarda artan sigara kullanımına bağlı olarak azalmaktadır [26].

2.4.2. ETİYOLOJİ

Sigara ve daha az oranda alkol kullanımı laringeal skuamöz hücreli karsinom gelişimi için en önemli risk faktörleridir [27]. Sigara ve alkol kullanımının engellenmesiyle laringeal skuamöz hücreli karsinom gelişimi %90'a varan oranda azalmaktadır [28]. Gastroözefagial reflü, sebze meyve ve antioksidanlardan fakir diyet, kötü beslenme alışkanlıkları ve sosyoekonomik durum karsinom gelişme riskini arttıran diğer faktörlerdir [29][30][31]. Ayrıca laringeal karsinomlu olguların yakın aile bireylerinde aynı gen ürünü olan yüksek enzim düzeylerinin tespit edildiği gösterilmiştir [32]. Orofarinksin skuamöz hücreli karsinomunun aksine etiyolojide viral etkenler minimal rol oynar. Yapılan çalışmalarda orofarinks karsinomlarında yüksek oranda saptanan HPV, larinks karsinomlarının %4-15'inde tespit edilmiştir [33][34][35].

2.4.3. LOKALİZASYON

Laringeal skuamöz hücreli karsinomun larinkste topografik dağılımı coğrafik değişiklik göstermektedir. Bazı ülkelerde supraglottik tutulum sık iken bazı ülkelerde glottik tutulum daha sık izlenir [36]. En az subglottik tutulum görülür [37]. Genel olarak supraglottik tutulum vakaların %30-35'inde izlenirken, glottik tutulum %60-65'inde izlenir. Subglottik tutulum %5'ten az vakada görülür [38].

2.4.4. KLİNİK ÖZELLİKLER

Özellikle glottik ve supraglottik tutulumlu karsinomlarda ses kısıklığı ön planda izlenirken subglottik tutulumlu karsinomlarda ön planda solunum güçlüğü ve stridor izlenir. Ayrıca disfaji, ses kalitesinde bozulma, boğazda yabancı cisim hissi, hemoptizi ve odinofaji görülebilir [39].

Direk yayılım, kan ve lenf damarlarının tutulumu ile laringeal SHK metastazlarını yapar. Bölgesel lenf nodlarına yayılım eğilimi yüksektir. Tutulan lenf nodlarının lokalizasyonu ve tutulum sıklığı primer tümörün lokalizasyonuna bağlıdır. Hematojen yayılım nadirdir; ancak hastalığın ileri evrelerinde başta akciğer, karaciğer ve kemiklere olmak üzere hematojen yayılım gösterebilir [40].

Larinks tümörleri makroskopik olarak ekzofitik, düz veya nodüler polipoid veya endofitik deprese lezyonlar şeklinde görülebilir. Santralinde sıklıkla nekroz izlenir [21].

2.4.5. HİSTOPATOLOJİ

Larinks karsinomlarının hemen tamamını skuamöz hücreli karsinomlar oluşturur. En sık konvansiyonel SHK izlenir [38].

SHK'nin ana özelliklerini skuamöz differansiasyon ve invazyon belirler. Skuamöz differansiasyonun derecesine keratinizasyon ve intersellüler köprülerin varlığı ile karar verilir. İnvazyon bazal membranı aşan tek hücreler veya tümör adaları şeklinde izlenir ve sıklıkla desmoplastik bir reaksiyon invazyona eşlik eder [21].

Differansiasyonun derecesi, pleomorfizm ve mitotik aktiviteye göre SHK klasik olarak iyi, orta ve kötü differansiye şeklinde üç gruba ayrılır. İyi differansiye SHK normal skuamöz epiteli taklit eder tarzda izlenir. İntersellüler köprüler ve keratinizasyon klasik olarak izlenirken mitoz çok nadir görülür. Orta derece differansiye SHK'de ise daha fazla nükleer pleomorfizm ve bazıları atipik olabilen mitozlar görülür, keratinizasyon daha azdır. Kötü differansiye SHK'de ise bazal benzeri hücreler yoğunluktadır, intersellüler köprüler zar zor görülebilir, keratinizasyon ya minimaldir ya da yoktur. Keratinizasyon dfferansiasyonu belirlemede önemli olsa da en önemli kriter olarak düşünülmemelidir.

İnvaziv kenarda tümör ekspansif veya infiltratif patern sergileyebilir [21].

Verrüköz Skuamöz Hücreli Karsinom: Skuamöz hücreli karsinomun yavaş seyirli, metastaz yapmayan ve SHK'nin malign nükleer özelliklerini barındırmayan bir varyantıdır. Çoğunlukla glottik bölge yerleşimli ve belirgin polipoid yapıdadır. Kesitinde geniş parakeratotik ya da keratotik tabakalarla ayrılan, projeksiyonlar ve invajinasyonlar şeklindedir [21].

Bazaloid Skuamöz Hücreli karsinom: SHK'nin konvansiyonel özelliklerinin yanı sıra baskın lolarak bazaloid özellikler içeren bir varyantıdır. Çoğunlukla supraglottik bölge yerleşimlidir. Histolojisinde sınırları belirgin, periferal palizatlanma gösteren, dar sitoplazmalı, hiperkromatik nükleuslu hücre adalarından oluşur, nekroz ve iltihabi infiltrasyon sıklıkla eşlik eder. Prognozu klasik SHK'den daha kötüdür, daha fazla lenf nodu metastazı ve uzak metastaz izlenir [21].

Papiller Skuamöz Hücreli Karsinom(PSHK): Karakteristik olarak santralinde fibrovasküler bir kor içeren papilller projeksiyonlardan oluşan nadir bir SHK varyantıdır. PSHK olgularının prognozu klasik SHK'den daha iyidir, boyun metastazı ve uzak metastaz daha az sıklıkta izlenir [21].

İğsi Hücreli Skuamöz Hücreli Karsinom: Baskın olarak iğsi ve/veya pleomorfik hücrelerden oluşan sarkomatoid karsinom olarak da adlandırılabilen nadir bir SHK varyantıdır. Özellikle glottik bölgede polipoid kitle şeklinde prezente olur. Kötü differansiye görünümüne rağmen polipoid büyüme paterni ve sıklıkla glottik bölge lokalizasyonundan dolayı hastalar daha erken evrelerde tanı alır ve bu nedenle prognozu klasik SHK ile benzerdir [21].

Adenoskuamöz hücreli karsinom: Hem skuamöz hem glandüler differansiasyon gösteren bifazik morfolojili yüzey epiteli kaynaklı nadir bir SHK varyantıdır. Beraberinde izlenen skuamöz displazi varlığında yüzey epitelinden kaynaklandığı kanıtlanabilir [21]. Prognozu klasik SHK'den daha kötüdür, boyun metastazı uzak yayılım ve lokal rekürrens riski yüksektir [41].

Lenfoepitelyal Karsinom: Histopatolojik olarak nazofarenksin nonkeratinize andifferansiye karsinomu ile benzerlik gösteren oldukça nadir bir larinks tümörüdür. Epstein-Barr virüsü ile ilişkisi nazofarenks karsinomlarından daha az olmakla birlikte saptanmıştır [21].

2.4.6. PROGNOZ VE PREDİKTİF FAKTÖRLER

Glottik yerleşimli laringeal SHK hastalarının 5 yıllık yaşam beklentisi %80-85, supraglottik yerleşimli laringeal SHK hastalarının %65-75, subglottik yerleşimli olanların ise %40'tır [36].

Klinik prognostik faktörler:

Evre: Prognozu belirleyen en önemli parametredir, tümör değerlendirilmesi ve tedavi planlanmasında evrelendirme çok önemlidir [21]. Bugün American Joint Comittee on Cancer (AJCC) esaslarını temel alarak modifiye edilen Tümör/Nod/Metastaz (TNM) evreleme sistemi kullanılmaktadır (Tablo 2).

Lokalizasyon: Prognozu belirleyen önemli bir faktördür. Glottik yerleşimli SHK'lerde en iyi prognoz beklenirken, subglottik yerleşimli olanlar en kötü prognoza sahiptir [36].

Diğer faktörler: Hastanın yaşı, eşlik eden hastalıkları ve performans durumu prognoza etki eden diğer faktörlerdir [42].

Histopatolojik prognostik faktörler

Differansiasyon: Geleneksel olarak tümörün differansiasyon derecesine göre iyi, orta, kötü differansiye şeklinde yapılan derecelendirme sisteminin prognozu belirlemedeki yeri tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar tarafından yeni derecelendirme sistemleri önerilmiş olsa da bu sistemler henüz tam olarak kabul görmemiştir [43]. Geleneksel derecelendirme sistemi üzerindeki tartışmaların esas nedeni geleneksel sistemin objektif kriterlere dayanmamasıdır [43][44].

İnvaziv kenar: Prognozu belirlemede tümörün merkezinden ve yüzey kısmından daha çok invaziv kenarındaki histolojik özellikleri önem kazanmaktadır. Literatürde invaziv kenardaki tümörün keratinizasyon derecesi, nükleer pleomorfizm, tümörün invazyon paterni ve inflamatuar yanıt kriterleri değerlendirilerek farklı bir derecelendirme sistemi önerilmiştir [9][45][46].

Vasküler ve Perinöral İnvazyon: Lenfatik damar ve/veya kan damarları duvarına penetre olan tümör hücrelerinin varlığı lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz gelişme riskini belirler. Agresif gidişli SHK'lerde vasküler invazyon görülme eğilimindedir, lokal rekürrens ve kötü prognoz ile ilişkilidir [8][47]. Benzer olarak perinöral invazyon da lokal rekürrens, bölgesel lenf nodu metastazı ve kötü prognozla ilişkilidir [43][47].

Lenf nodu metastazında ekstrakapsüler yayılım: Baş boyun bölgesinin SHK'lerinde lenf nodu metastazı varlığı tek başına kötü prognostik göstergedir[48]. Ayrıca metastatik lenf nodunda izlenen ekstrakapsüler yayılım gerek lokal rekürrens gerekse uzak metastaz riskini gösterdiğine yönelik görüşler mevcut olsa da bazı çalışmalar bunu desteklememiştir [49].

Cerrahi sınırlar: Cerrahi sınırda invaziv SHK, karsinoma in situ veya displazi izlenmeyen hastalarda düşük rekürrens ve daha iyi prognoz beklentisi vardır. Rezeksiyonda güvenli cerrahi sınır net olarak tanımlanmamıştır ancak genel olarak 5mm uzaklık güvenli kabul edilmektedir [50]. Bazı çalışmalar özelllikle glottik yerleşimli kanserlerde 1-2 mm'yi güvenli sınır olarak önermektedir [51].

Moleküler faktörler: Literatürde yapılan derleme çalışmaları laringeal SHK'de P53 ekspresyonunun prognoz tahmininde değerli olmadığını göstermiştir [52].

2.4.7. LARİNKS KANSERİNDE TEDAVİ

Larinks kanserinde tedavinin şekli tümörün histolojik tanısı, yerleşim yeri ve evresine göre verilmektedir. Evre 1 ve 2 larinks tümörleri cerrahi tedavi veya radyoterapi (RT) ile tedavi edilirken; evre 3 ve 4 tümörlerde cerrahi sonrası RT veya kemoterapi (KT) uygulanır. Bu olgularda öncelikli olarak KT/RT sonrası cerrahi seçeneği de vardır [5].

Tablo 2: Laringeal Karsinomlar TNM Evreleme(AJCC 2017 8. Baskı)

T – Primer Tümör
TX: Primer tümör değerlendirilemiyor
T0: Primer tümör bulgusu yok
Tis: Karsinoma in situ
Supraglottis
T1: Tümör supraglottisin bir alt odağına sınırlı; vokal kordun hareketleri normal
T2: Tümör supraglottisin, glottisin veya supraglottis dışındaki bölgenin (ör; dil tabanı mukozası, vallekula, piriform sinüsün medial duvarı) birden fazla komşu odağında mukozaya infiltre; larinks fiksasyonu yok
T3: Tümör larinkse sınırlı ve vokal kord fikse ve/veya şu yapılardan herhangi birine invaze: postkrikoid alan, pre-epiglottik dokular, paraglottik boşluk ve/veya tiroid kıkırdağın iç korteksi
T4: Orta veya ileri derecede ilerlemiş hastalık
T4a: Orta derecede ilerlemiş hastalık. Tümör tiroid kıkırdağa tümüyle invaze ve/veya larinks dışındaki dokulara invaze, ör; trakea, boyun yumuşak dokuları, dilin derin/ekstrinsik kası (genioglossus, hyoglossus, palatoglossus ve styloglossus), infrahyoid(strap) kaslar, tiroid, özofagusu içeren
T4b: İleri derecede ilerlemiş hastalık. Tümör prevertebral boşluğu invaze eder, karotid arteri veya mediastinal yapıları sarar.
Glottis

T1: Tümör vokal kord(lar)la sınırlı (anterior veya posterior komissürleri tutabilir); vokal kord hareketleri normal

T1a: Tümör bir vokal kordda sınırlı

T1b: Tümör her iki vokal kordda

T2: Tümör supraglottise ve/veya subglottise yayılım göstermekte ve/veya vokal kord hareketleri bozulmuş

T3: Tümör larinkse sınırlı ve vokal kord fikse ve/veya paraglottik boşluğa ve/veya tiroid kıkırdağın iç korteksine invaze

T4: Orta veya ileri derecede ilerlemiş hastalık

T4a: Tümör tiroid kıkırdağın dış korteksi boyunca invaze ve/veya larinks dışındaki dokulara invaze, ör; trakea, boyun yumuşak dokuları; dilin derin/ekstrinsik kası (genioglossus, hyoglossus, palatoglossus ve styloglossus), infrahoid (strap) kaslar, tiroid, özofagusu içeren

T4b: Tümör prevertebral boşluğu invazeeder, karotid arteri veya mediastinal yapıları sarar

Subglottis

T1: Tümör subglottise sınırlı

T2: Tümör vokal kord(lar)a yayılım göstermekte; vokal kord hareketleri normal ya da bozulmuş

T3: Tümör larinkse sınırlı ve vokal kord fikse

T4: Orta veya ileri derecede ilerlemiş hastalık

T4a: Tümör krikoid veya tiroid kıkırdağa invaze ve/veya larinks dışındaki dokulara invaze, ör; trakea, boyun yumuşak dokuları; dilin derin/ekstrinsik kası (genioglossus, hyoglossus, palatoglossus ve styloglossus), infrahyoid kaslar, tiroid, özofagusu içeren

T4b: Tümör prevertebral boşluğu invazeeder, karotid arteri veya mediastinal yapıları sarar

pN – Bölgesel Lenf Nodları

pNX: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor

pN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

pN1:İpsilateral tek lenf noduna metastaz, en büyük çapı ≤3cm ve ENY(-)

pN2:İpsilateral tek lenf noduna metastaz, en büyük çapı ≤3cm ve ENY(+); veya en büyük çapı 3cm'den büyük 6 cm'den küçük ancak ENY(-) ipsilateral tek lenf noduna metastaz; veya en büyük çapı 6cm'den küçük, ENY(-) multiple ipsilateral lenf nodlarına metastaz veya en büyük çapı 6 cm'den küçük, ENY(-) bilateral veya kontralateral lenf nodlarına metastaz

pN2a: İpsilateral tek lenf noduna metastaz, en büyük çapı ≤3cm ve ENY(+); veya en büyük çapı 3cm'den büyük 6 cm'den küçük ancak ENY(-) ipsilateral tek lenf noduna metastaz

pN2b: En büyük çapı 6cm'den küçük, ENY(-) multiple ipsilateral lenf nodlarına metastaz

pN2c: En büyük çapı 6 cm'den küçük, ENY(-) bilateral veya kontralateral lenf nodlarına metastaz

pN3: En büyük çapı 6 cm'den büyük, ENY(-) lenf nodu metastazı; veya en büyük çapı 3cm'den büyük, ENY(+) ipsilateral lenf nodu metastazı; veya ENY (+) multiple ipsilateral, kontralateral veya bilateral lenf nodlarına metastaz; veya ≤3cm ENY(+) konrtalateral tek lenf noduna metastaz **pN3a**: En büyük çapı 6 cm'den büyük, ENY(-) lenf nodu metastazı **pN3b**: En büyük çapı 3cm'den büyük, ENY(+) ipsilateral lenf nodu metastazı; veya ENY (+) multiple ipsilateral, kontralateral veya bilateral lenf nodlarına metastaz; veya ≤3cm ENY(+) konrtalateral tek lenf noduna metastaz
pM – Uzak Metastaz **pMX**: Uzak metastaz bilinmiyor **pM0**: Uzak metastaz yok **pM1**: Uzak metastaz

Patolojik Evre	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3 T1,T2,T3	N0 N1	M0 M0
IVA	T4a T1,T2,T3,T4a	N0,N1 N2	M0 M0
IVB	T4b Herhangi bir T	Herhangi bir N N3	M0 M0
IVC	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

2.5.CD44

CD44 mezenşimal ve nöroektodermal kökenli çeşitli hücrelerden salınan Tip 1 transmembran glikoproteinidir. Çoğunluğu tümör hücre yüzeylerinde saptanmış olan kanser kök hücre markerı olarak bilinen CD44'ün 30'a yakın varyantı tanımlanmıştır [11]. Hücreler arası etkileşim ve adezyonda rol oynar. Ekstrasellüler matriksin adezyondan sorumlu hyalüronik asit yapısındaki diğer molekülleri ile etkileşerek agregasyon, hücre proliferasyonu, migrasyon ve anjiogenezi düzenler [53]. Normal hücre fizyolojisinde önemli bir role sahip olan CD44 bazı durumlarda kanser hücrelerinden salınarak patolojik sürecin ilerlemesine neden olabilir. Tümör hücrelerinden salınan CD44'ün hyalüronik asite bağlanması ile büyüme faktörleri aktive olur anjiogenez, damar yoluyla yayılım gerçekleşir ve metastazlar gelişir.

Ayrıca fibronektin, major histokompatibilite kompleksi klas II, yüksek molekül ağırlıklı proteoglikanlar gibi ekzonlar üzerine ligand bağlanmasında görevli proteinlere bağlanarak genomu etkiler [11].

CD44 hyalüronik asite bağlanarak PI3K-Akt yolağında Akt proteininin fosforilasyonunun stimüle edilmesine yol açar. Fosforile Akt proteininin hücrenin ölümsüzlük kazanmasında, kemoterapi rezistansında rol oynadığı düşünülmektedir [15]. Gastrik karsinomlu fareler üzerinde yapılan hayvan deneylerinde Wnt ve prostoglandin sinyal yolağında da aktivasyona yol açarak tümörogeneze katkı sağladığı bulunmuştur [15]. CD44 ayrıca lenfositlerin lenf noduna göçünde, lenfositik epitelyal etkileşimde rol oynamaktadır; bu nedenle CD44 ekspresyonunun lenf nodu metastazı, T hücreli lösemi/lenfoma gelişiminde role sahip olduğu düşünülmektedir [11].

Laringeal karsinomlu hastalarda yapılan bazı çalışmalarda CD44 pozitifliği gösteren tümörlerin lenf nodu metastazını daha çok yaptığı ve sonuç olarak CD44 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu bulunmuştur [54].

2.6. FASCİN-1

Fascin, aktin filamanlarını birbirine bağlayan 55 kilodalton ağırlığında bir proteindir [55]. Tanımlanmış 3 formu vardır. Fascin-1 (veya Fascin), mezenkimal dokularda ve sinir dokularında eksprese edilen form iken; Fascin-2 ve Fascin-3 ise retinal fotoreseptör hücrelerde ve testiste eksprese edilen formdur. Fascin 7. kromozomun kısa kolunda kodlanır [56]. Aktin temelli hücre yüzey çıkıntılarının ve sitoplazmik mikrofilaman demetlerinin düzenlenmesinde gereklidir. Bu yapılar hücre göçünde, hücre-hücre etkileşiminde, hücre-matriks tutunmasında rol oynar [55]. Fascin proteini gibi hücresel hareketliliği düzenleyen önemli faktörlerin değerlendirilmesi; hücresel hareketlilik kapasitesinin, dolayısıyla bazı tümörlerin progresyon ve metastaz kapasitelerinin tahmin edilmesinde kullanılabilir [17]. Fascin; safra yolları, kolon, meme, over, mide ve pankreas normal epitelyal hücrelerinde saptanamayacak düzeydedir. Deri ve özefagus skuamöz epitelinin bazal tabakasında düşük düzeylerde mevcuttur [57]. Antijen prezente eden dendritik hücreler, vasküler endotel hücreleri, glial ve nöronal hücreler gibi hücre-hücre etkileşimi konusunda özelleşmiş fonksiyona sahip olan normal hücrelerde ise artmış ekspresyonları mevcuttur.

Yapılan çalışmalarda küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında, meme, kolon, over, pankreas, özefagus ve prostat kanserlerinde artmış Fascin ekspresyonları bildirilmiştir. Bu çalışmaların çoğunda Fascin ekspresyon düzeylerinin tümör derecesi, evresi ve metastaz sıklığı

ile korele olduğu ve kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmektedir [58]. Laringeal karsinomlarda yapılan bazı çalışmalarda da Fascin ekspresyonunun tümörün pT ve pN evresi ve klinik evreleriyle ilişkili bulunmuştur. Yüksek Fascin ekspresyonunun tümörün kötü davranış göstereceğine işaret ettiği ileri sürülmüştür [17][59][60].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. OLGU SEÇİMİ VE KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLER

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi hastane bilgi kayıt sisteminde, 1 Ocak 2012-1 Haziran 2018 tarihleri arasında Laringeal Skuamöz Hücreli Karsinom tanısı alan ve parsiyel veya total larinjektomi uygulanmış, Tıbbi Patoloji Kliniği'nde değerlendirilmiş 133 olgu çalışma kapsamına alındı. 2 olgu nüks olarak değerlendirildiği, 1 olguya ait parafin blok ve Hematoksilen & Eozin (H&E) boyalı lamlar arşivde bulunamadığı için çalışma dışına alındı. 130 olguya ait arşivden çıkarılan H&E boyalı preparatların tümü retrospektif olarak yeniden değerlendirildi.

Olgulara ait demografik özellikler, tümör lokalizasyonu, tümör çapı, lenf nodu durumu, toplam takip süresi, nüks varlığı, metastaz gibi bilgiler orijinal patoloji raporlarındaki bilgilerden, hasta dosyalarından ve hastalarla/ hasta yakınlarıyla telefonla görüşülerek elde edildi.

3.2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

H&E ve immünhistokimya (İHK) boyalı preparatların değerlendirilmesi iki patolog tarafından (ÇÖ, HP) tarafından hasta bilgileri ve önceki patoloji raporları bilinmeksizin Olympus marka U-MDOB3 model 8H16329 seri nolu mikroskopta yapıldı.

Differansiasyon derecesi, hücresel pleomorfizm ve mitotik aktiviteye dayanan DSÖ derecelendirmesine göre olgular iyi differansiye (G1), orta differansiye (G2), az differansiye (G3) olmak üzere 3 kategoriye ayrıldı. Ayrıca olgular keratinizasyon esas alınarak Keratinize, Nonkeratinize ve Bazaloid şeklinde alt gruplara ayrıldı. Tümörde izlenen invazyon paterni ekspansif ve infiltratif olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kıkırdak invazyonu, perinöral invazyon (PNİ), lenfovasküler invazyon (LVİ), tümör nekrozu parametreleri var/yok şeklinde belirtildi. Lenf nodu metastazı olan olgularda ekstranodal yayılım varlığı 2017 AJCC'ye göre yeniden değerlendirildi.

Olgularda tümör tomurcuklanması ve hücre yuva boyutu değerlendirilirken Boxberg ve arkadaşlarının tanımlaması esas alındı [61]. İzole kanser hücreleri veya 5 hücreyi geçmeyen kanser hücre kümeleri tümör tomurcuklanması olarak değerlendirildi. Tümör tomurcuklanması saptanan olgularda 10'luk objektifte tomurcuklanmanın en yoğun olduğu alanlar seçilerek ve her olgu için aynı ışık mikroskopu kullanılarak ardışık 10 büyük büyütme alanında (BBA) 40'lık objektifte tümör tomurcuğu sayımı yapıldı. 10 BBA'da 1-15 tomurcuk düşük tomurcuklanma aktivitesi; 15'ten fazla tomurcuk yüksek tomurcuklanma aktivitesi olarak değerlendirildi. Hücre yuva boyutu değerlendirilirken izole tümör hücreleri, 2-4 hücreden oluşan tümör yuvaları küçük yuva, 5-15 hücreden oluşan tümör yuvaları orta boyutlu yuva, 15'ten fazla hücreden oluşan tümör yuvaları geniş yuva şeklinde değerlendirildi [61].

Olgularda tümörün stromal içeriği Kappathıou ve arkadaşları tarafından önerildiği şekilde stromanın en yoğun izlendiği alan seçilerek stromanın oranı %50'nin altında olduğu olgular stroma-fakir; %50'nin üzerindeki olgular stroma-zengin olarak değerlendirildi. Lenfositik yanıt değerlendirmesi aynı çalışma örnek alınarak yapıldı. Tümör çevresinde lenfositik infiltrasyon yokluğu veya tek tük lenfosit varlığı düşük (Skor 1); bazı alanlarda lenfoid folikül yapan ancak her alanda izlenmeyen lenfositik infiltrasyon varlığı orta (Skor 2); tüm alanlarda yoğun lenfositik infiltrasyon şiddetli (Skor 3) olarak değerlendirildi [62].

3.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

Tümörün invaziv kenarının net seçilebildiği patoloji arşivinde bulunan 130 adet olguya ait tüm morfolojik bulgularının seçilebildiği, tümörü temsil eden parafin bloklar seçildi. Bu bloklardan mikrotom ile 2 mikron kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Kesitler 60°C sıcaklıktaki etüvde 1 saat bekletilerek deparafinize edildi. Etüvden alınan kesitler oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra Ventana BenchMark XT otomatik boyama cihazında multimer teknolojiye dayalı XT DAB V3 protokolü ile boyandı. Primer antikorlar olarak CD44 (Mouse monoclonal antibody, kullanıma hazır, Genetex), Fascin (Mouse monoclonal antibody, FCN01-SSK2, kullanıma hazır, Thermo Scientific) kullanıldı. Boyama işlemi bittikten sonra cihazdan alınan kesitler 5-10 dakika sabunlu suda yıkandı. Kurutularak %96'lık alkol ve ksilenden geçirilen lamlar, otomatik film kapama cihazında (Sakura, Tissue-Tek Film) kapatıldı.

3.4. İMMÜNREAKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hazırlanan immünhistokimya preparatları ışık mikroskobunda iki patolog tarafından değerlendirildi. Neoplastik hücrelerde CD44 için membranöz boyanma, Fascin için sitoplazmik

boyanma pozitif olarak kabul edildi [63][56]. CD44 boyalı preparatlarda tümöre eşlik eden inflamatuar hücreler pozitif kontrol olarak kabul edilirken, Fascin için vasküler endotelde izlenen boyanma pozitif kontrol olarak kabul edildi.

CD44 ve Fascin immünreaktivitesi boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti üzerinden değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı açısından %5'in altındaki boyanma 1+; %5-25 oranında boyanma 2+; %25-50 oranında boyanma 3+, %50-75 oranında boyanma 4+; %75-100 oranında boyanma 5+ olarak skorlandı. Boyanma şiddetine göre zayıf boyanma 1+, orta kuvvette boyanma 2+, kuvvetli boyanma 3+ olarak skorlandı. Her iki immünhistokimya antikoru için elde edilen skorlar toplanarak İmmünreaktivite skoru (İRS) elde edildi. İRS 4 ve altındaki olgular düşük CD44/Fascin ekspresyonu, 5-8 arasındaki olgular yüksek CD44/Fascin ekspresyonu olarak değerlendirildi.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmada istatistiksel analizler NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 Statistical Software (Utah, USA) paket programı ile yapılmıştır.

Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (sıklık ve yüzde dağılımları) yanı sıra nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi kullanılmıştır. CD44, Fascin, tümör tomurcuklanması, hücre yuva boyutu gruplarının sağkalım analizi Kaplan Meier ve Log Rank testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde, %95'lik güven aralığında değerlendirilmiştir.

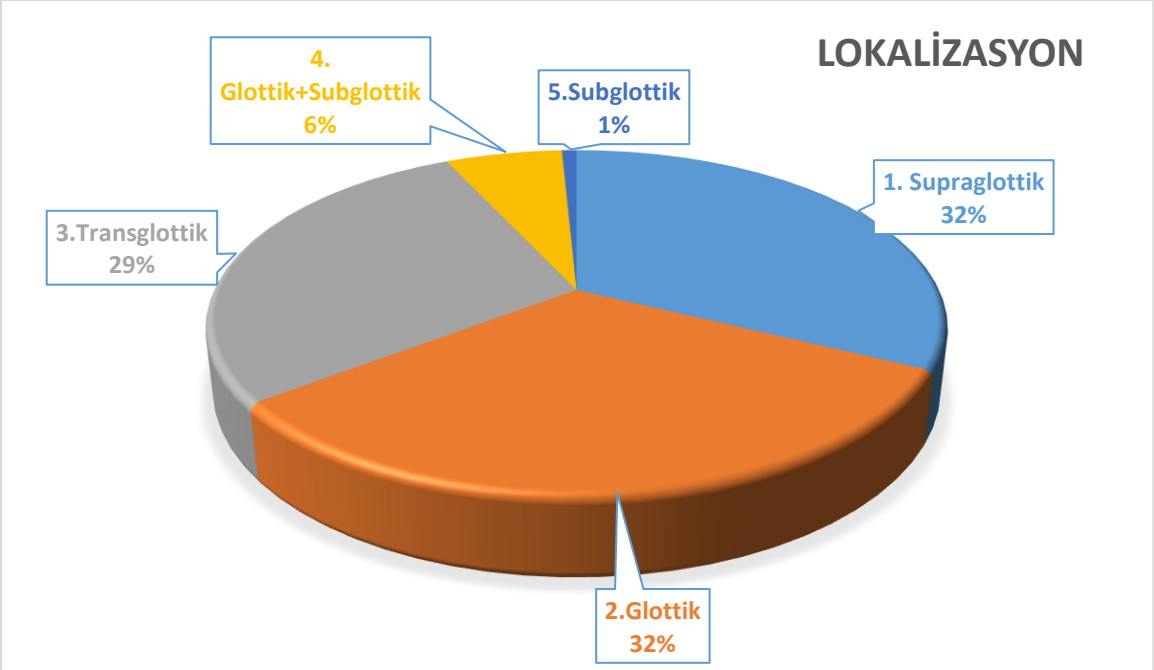
4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK VE KLİNİK BULGULAR

Araştırmaya alınan 130 hastanın 128'i erkek (%98,46), 2'si kadın (%6,2) hastadır. Hastaların yaşları 42-89 arasında değişmekte olup medyan yaş 65 bulunmuştur. Hastaların %70'i 65 yaşından küçük iken %30'u 65 yaşın üzerindedir. Tümör boyutu 0,4 cm-5,5 cm arasında değişmekte olup medyan boyut 4 cm olarak bulunmuştur. Tümör yerleşim yerine göre sınıflandığında 42 olgu (%32,31) supraglottik, 42 olgu (%32,31) glottik, 1 olgu subglottik (%0,77), 37 olgu (%28,46) transglottik, 8 olgu (%6,15) glottik+subglottik yerleşimlidir (Şekil 1).

Olguların 82'sinde (%63,08) boyun metastazı izlenmemiş olup, 48'inde (%36,92) boyun metastazı mevcuttur. Boyun metastazı olan olguların 27'sinde (%54,00) ekstrakapsüler yayılım görülmüştür, 23'ünde (%46,00) ekstrakapsüler yayılım izlenmemiştir.

Olguların 12-86 ay arasında takip süreleri mevcuttur ve istatiksel analizin yapıldığı anda hastaların 90'ı (%69,23) nüks veya metastaz görülmeksizin hayattadır, 13'ü (%10,00) nüks veya metastaz ile yaşamaktadır, 20 (%15,38) hasta hastalık nedeniyle; 7 (%5,38) hasta başka nedenle kaybedilmiştir.

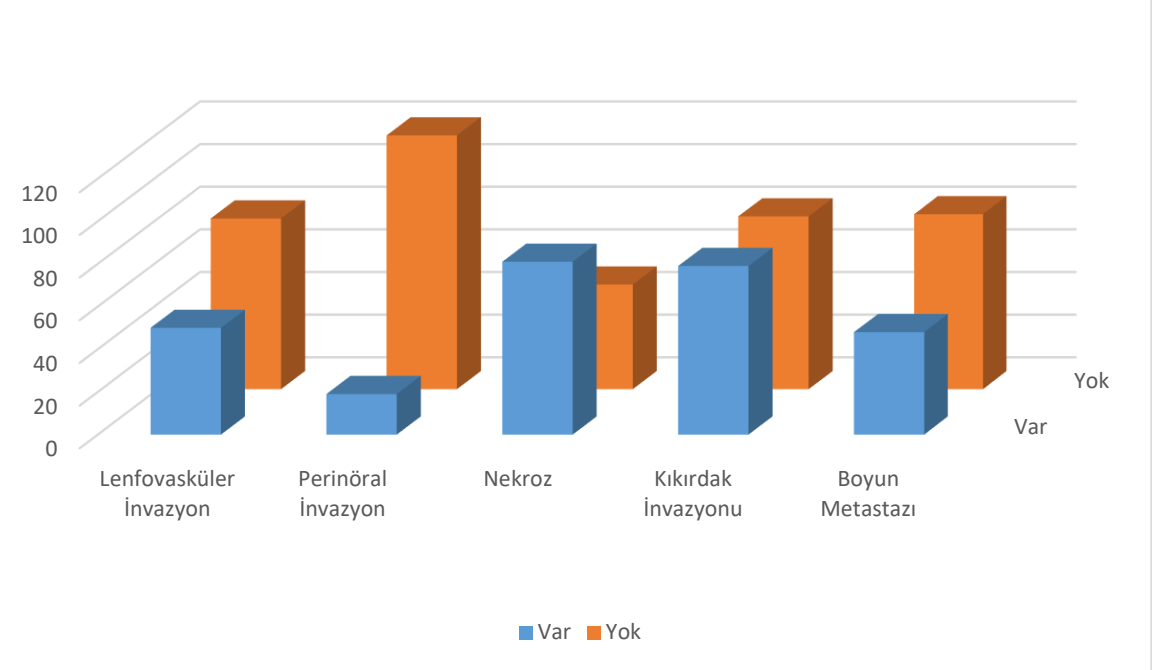


Şekil 1: Olguların lokalizasyona göre dağılımı

4.2. HİSTOMORFOLOJİK ÖZELLİKLERİN DAĞILIMI

Olguların 90'ı (%69,23) keratinize tip SHK, 26'sı (%20,00) nonkeratinize tip SHK, 14'ü (%10,77) bazaloid tip SHK'dir. DSÖ kriterlerine göre derecelendirme yapıldığında olguların büyük çoğunluğu G2 (91, %70,00), 22 olgu (%16,92) G1, 17 olgu (%13,08) G3 olarak değerlendirilmiştir.

Olguların 50'sinde (%38,46) lenfovasküler invazyon, 19'unda (%14,62) perinöral invazyon saptanmıştır. 81 olguda (%62,31) nekroz mevcuttur.49 olguda (%37,69) kıkırdak invazyonu görülmüştür (Şekil 2).



Şekil 2: Olguların lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, nekroz ve kıkırdak İnvazyonuna göre dağılımı

Tümörlerin stroma durumu değerlendirildiğinde; 82 olgu (%63,08) stroma-fakir olarak değerlendirilirken, 48 olgu (%36,92) stroma-zengin olarak bulunmuştur. Tümöre eşlik eden şiddetli lenfositik yanıt 39 olguda (%30,00) izlenirken, orta düzeyde lenfositik yanıt 65 olguda (%50,00), hafif düzeyde lenfositik yanıt 26 olguda (%20,00) izlenmiştir. Tümörlerin büyüme paterni büyük oranda (102, %78,46) infiltratif özellikte olmak üzere, 28 vakada (%21,54) ekspansif özellikte izlenmiştir. Olguların 48'inde (%36,92) tümörlere granülom eşlik etmektedir. Keratinizasyon değerlendirildiğinde 98 olgu (%75,38) keratinize izlenmiştir.

Patolojik T evrelerine bakıldığında 10 olgu (%7,69) T1; 70 olgu (%53,85) T2; 40 olgu (%30,77) T3 ve 10 olgu (%7,69) T4 olarak değerlendirilmiştir. Lenf nodu tutulum evrelerine

bakıldığında 82 olguda (%63,08) lenf nodu tutulumu izlenmemiştir. 9 olgu (%6,92) N1 evresinde; 16 olgu (%12,31) N2 evresinde; 23 olgu (%17,69) N3 evresinde bulunmuştur.

Olgular AJCC evreleme sistemine göre değerlendirildiğinde 9 olgu (%6,92) Evre I, 44 olgu (%33,85) Evre II, 33 olgu (%25,38) Evre III, 21 olgu (%16,15) Evre IVa, 23 olgu (%17,69) Evre IVb olarak bulunmuştur. Bulgular Tablo 3'te özetlenmiştir.

Tablo 3: Olguların T, N, AJCC evre gruplarına dağılımı

T Evresi	**T1**	10	7,69%
	T2	70	53,85%
	T3	40	30,77%
	T4	10	7,69%
N Evresi	**N0**	82	63,08%
	N1	9	6,92%
	N2	16	12,31%
	N3	23	17,69%
AJCC Evre	**Evre I**	9	6,92%
	Evre II	44	33,85%
	Evre III	33	25,38%
	Evre IVa	21	16,15%
	Evre IVb	23	17,69%

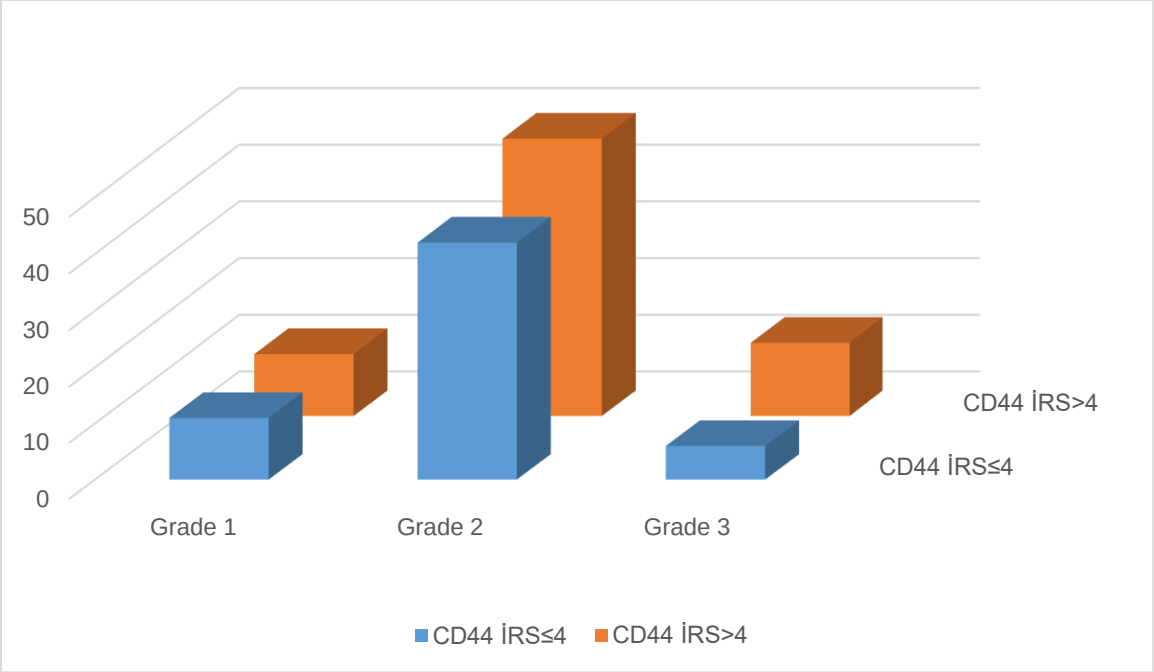
Olguların 82'sinde tümör tomurcuklanması görülmüştür. Bu olguların 61'inde (%46,92) tomurcuklanma 10 BBA'da 15'ten az bulunurken; 21'inde (%16,15) 10 BBA'da 15'in üzerinde bulunmuştur.

4.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

4.3.1. CD44

Olgular immünreaktivite skoruna(İRS) göre gruplandırıldığında olguların 59'unda CD44'ün immünreaktivite skoru 4 ve altında; 71'inde 4'ün üzerindedir. CD44 İRS düşük grupta olguların 42'si 65 yaşın altındayken, 17 olgu 65 yaşın üzerindedir. CD44 İRS yüksek izlenen 71 olgunun 49'u 65 yaşın altındayken, 22'si 65 yaşın üzerindedir. Çalışmamızda hastaların sadece 2'si kadındır ve bu hastaların birinde CD44 İRS düşük izlenirken, diğerinde CD44 İRS yüksek izlenmiştir. Buna göre düşük ve yüksek CD44 İRS gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05).

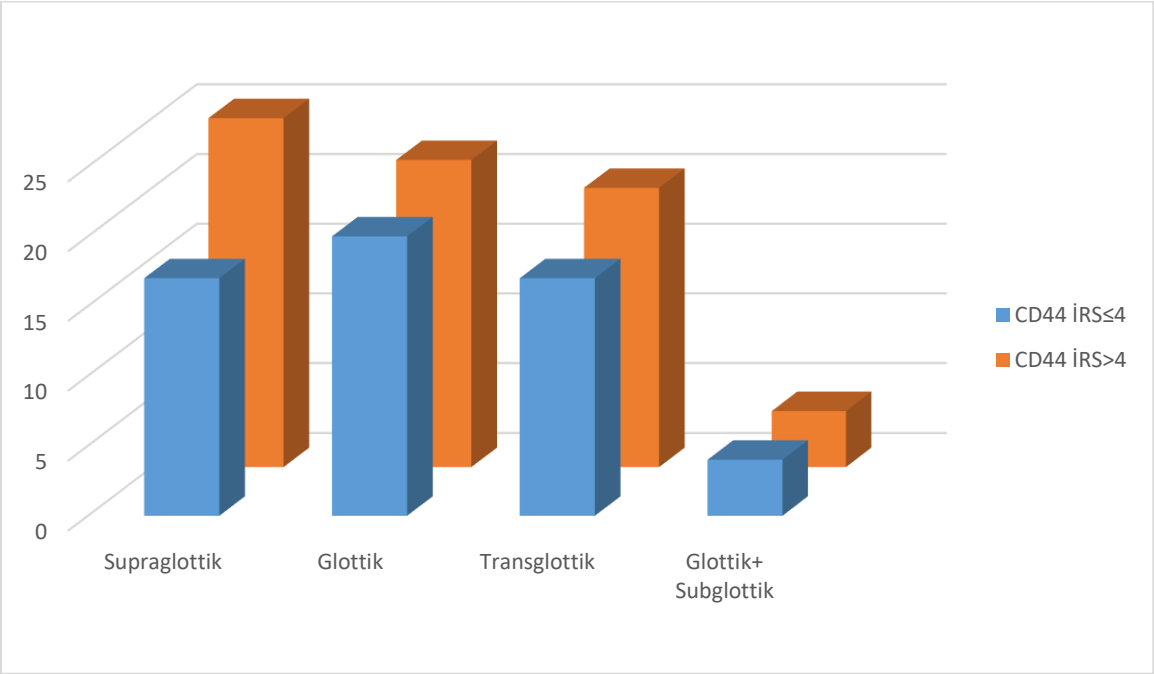
DSÖ derecelendirme sistemine göre grade 1 olan 11 olgu (%18,64), grade 2 olan 42 olgu (%71,19), grade 3 olan 6 olgu (%10,17) CD44 İRS düşük grupta yer alırken; grade 1 olan 11 olgu (%15,49), grade 2 olan 49 olgu (%69,01), grade 3 olan 11 olgu (%15,49) CD44 İRS yüksek grupta yer almıştır. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05) (Şekil 3).



Şekil 3: Olguların CD44 ekspresyonuna göre DSÖ gradelerine dağılımı

CD44 İRS düşük izlenen olguların 17'sinde (%28,81) tümör supraglottik, 20'sinde (%33,90) glottik, 1'inde (%1,69) subglottik, 17'sinde (%28,81) transglottik, 4'ünde (%6,78) glottik+subglottik yerleşimli izlenmiştir. CD44 İRS yüksek izlenen 25 (%35,21) olguda tümör supraglottik, 22 (%30,99) olguda glottik, 20 (%28,17) olguda transglottik ve 4 (%5,63) olguda

glottik+subglottik yerleşimlidir. Olguların tümör lokalizasyonu açısından dağılımında istatistiksel anlamlı farklılık görülmemiştir (p>0,05) (Şekil 4).



Şekil 4: Olguların tümör lokalizasyonuna göre CD44 ekspresyon dağılımı

CD44 İRS düşük olan bulunan 59 olgunun 42'sinde (%71,19) tümör boyutu 4 cm'den küçük; 17'sinde (%28,81) 4 cm'den büyük izlenmiştir. CD44 İRS yüksek bulunan 71 olgunun 52'sinde (%73,24) tümör boyutu 4 cm'den küçük, 19'unda (%26,76) 4 cm'den büyük görülmüştür. Tümör boyutu ile CD44 İRS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir (p>0,05).

Histolojik alt tipler ve CD44 İRS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. Keratinize olarak izlenen 43 (%72,88) olgu, nonkeratinize izlenen 11 (%18,64) olgu ve bazaloid izlenen 5 (%8,47) olgunun CD44 İRS düşük izlenirken; keratinize tip 47 (%66,20) olgu, nonkeratinize 15 (%21,13) ve bazaloid tip 9 (%12,68) olgunun CD44 İRS yüksek izlenmiştir (p>0,05).

CD44 İRS düşük görülen 59 olgunun 33'ünde (%55,93) lenfovasküler invazyon izlenmezken, 26'sında (%44,07) lenfovasküler invazyon izlenmiştir. CD44 İRS yüksek olan 71 olgunun 47'sinde (%66,20) lenfovasküler invazyon izlenmezken, 24'ünde (%33,80) lenfovasküler invazyon görülmüştür. CD44 İRS düşük olan olguların 50'sinde (%84,75) perinöral invazyon görülmezken, 9'unda perinöral invazyon mevcuttur. CD44 İRS yüksek olan olguların 61'inde (%85,92) perinöral invazyon görülmezken, 10 (%14,08) olguda perinöral

invazyon görülmüştür. CD44 İRS düşük ve yüksek gruplar arasında lenfovasküler ve perinöral invazyon açısından istatistiksel anlamlı farklılık görülmemiştir (p>0,05).

CD44 İRS düşük olan 59 olgunun 41'inde (%69,49) nekroz izlenirken; CD44 İRS yüksek olan 71 olgunun 40'ında (%61,97) nekroz görülmüştür. 22 (%37,29) CD44 İRS düşük olgusunda ve 27 CD44 İRS yüksek olgusunda kıkırdak invazyonu görülmüştür.

CD44 İRS düşük 59 olgunun 25'i stromadan zengin, CD44 İRS yüksek 71 olgunun 23'ü (%32,39) stromadan zengin olarak bulunmuştur. CD44 İRS düşük olan 47 olgu (%79,66), CD44 İRS yüksek olan 51 (%71,83) olgu keratinize izlenmiştir. CD44 İRS düşük olan 24 (%40,68) olguda ve CD44 İRS yüksek olan 24 (%33,80) olguda granülom yapısı izlenmiştir. CD44 İRS düşük olan 46 (%77,9) olgu ve CD44 İRS yüksek olan 56 (%78,87) olgu infiltratif tümöral büyüme göstermiştir. CD44 İRS düşük ve yüksek gruplar arasında nekroz varlığı, kıkırdak invazyonu, stroma durumu, keratinizasyon ve granülom varlığı açısından benzer dağılım mevcuttur; istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05).

Olgular lenfosit infiltrasyonu açısından değerlendirildiğinde CD44 İRS düşük grupta yer alan 59 olgunun 10'unda (%16,95) hafif, 30'unda (%50,85) orta, 19'unda (%32,20) yoğun lenfositik infiltrasyon izlenmiştir. CD44 İRS yüksek grupta yer alan 71 olgunun 16'sında (%22,54) hafif, 35'inde (%49,30) orta, 20'sinde (%28,17) yoğun lenfositik infiltrasyon görülmüştür. Gruplar arasında lenfositik infiltrasyon yoğunluğu açısından anlamlı farklılık görülmemiştir (p>0,05).

6 T1 (%10,17), 31 T2 (%52,54), 20 T3 (%33,90), 2 T4 (%3,39) olgusunda CD44 İRS düşük bulunurken, 4 T1 (%5,63), 39 T2 (%54,93), 20 T3 (%28,17), 8 T4 (%11,27) olgusunda CD44 İRS yüksek bulunmuştur. 35 N0 (%59,32), 5 N1 (%8,47), 6 N2 (%10,17), 13 N3 (%22,03) olgusunda CD44 İRS düşük izlenirken; 47 N0 (%66,20), 4 N1 (%5,63), 10 N2 (%14,08), 10 N3 (%14,08) olgusunda CD44 İRS yüksek bulunmuştur. Bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05).

AJCC'ye göre evre I 5 (%8,47), evre II 17 (%28,81) olgu, evre III 17 (%28,81), evre IVa 7 (%11,86) olgu ve evre IVb 13 (%22,03) olgu CD44 İRS düşük grupta yer alırken, evre I 4 (%5,63) , evre II 27 (%38,03) olgu, evre III 16 (%22,54), evre IVa 14 (%19,72) olgu ve evre IVb 10 (%14,08) olgu CD44 İRS yüksek grupta yer almıştır. Evre I, II, III, IVa, IVb grupları arasında CD44 İRS dağılımı açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05).

Tümör tomurcuklanmasının izlenmediği 25 olguda (%42,37) CD44 İRS düşük bulunurken, 23 olguda (%32,39) CD44 İRS yüksek bulunmuştur. Tümör tomurcuklanması

görülen 34 olgu (%57,64) CD44 İRS düşük grupta yer alırken, 48 olgu (%67,61) CD44 İRS yüksek grupta yer almıştır. Tümör tomurcuklanması görülen olgularda CD44 ekspresyonu tümör tomurcuklanması görülmeyen olgulardan daha yüksek oranda saptanmakla birlikte bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

CD44 İRS düşük ve yüksek gruplar boyun metastazı ve boyun metastazı varlığında ekstrakapsüler yayılım dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05).

Gruplar arasında tek hücre invazyonunun izlendiği 19 olguda (%32,20) CD44 İRS düşük bulunurken, 26 olguda (%36,62) CD44 İRS yüksek bulunmuştur. Tümör yuva hücre grupları ile İRS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05) (Tablo 4).

Tablo 4: CD44 ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi

		≤4 CD44 n:59		**>4 CD44 n:71**		**p**
Yaş	**<65 Yaş**	42	71,19%	49	69,01%	0,788
	>65 Yaş	17	28,81%	22	30,99%	
Cinsiyet	**Kadın**	1	1,69%	1	1,41%	0,895
	Erkek	58	98,31%	70	98,59%	
Lokalizasyon	**Supraglottik**	17	28,81%	25	35,21%	0,778
	Glottik	20	33,90%	22	30,99%	
	Subglottik	1	1,69%	0	0,00%	
	Transglottik	17	28,81%	20	28,17%	
	Glottik+Subglottik	4	6,78%	4	5,63%	
TM Volümü	**< 4 cm**	42	71,19%	52	73,24%	0,795
	>4 cm	17	28,81%	19	26,76%	
Lenfovasküler invazyon	**Yok**	33	55,93%	47	66,20%	0,231
	Var	26	44,07%	24	33,80%	
Perinöral invazyon	**Yok**	50	84,75%	61	85,92%	0,851
	Var	9	15,25%	10	14,08%	
Boyun metastazı	**Yok**	35	59,32%	47	66,20%	0,419
	Var	24	40,68%	24	33,80%	

Boyun metastazı olan hastalarda ekstra kapsüler yayılım	**Yok**	11	42,31%	12	50,00%	
	Var	15	57,69%	12	50,00%	0,586
Tümör tipi	**Keratinize**	43	72,88%	47	66,20%	
	Nonkeratinize	11	18,64%	15	21,13%	
	Bazaloid	5	8,47%	9	12,68%	0,659
Grade	**Grade 1**	11	18,64%	11	15,49%	
	Grade 2	42	71,19%	49	69,01%	
	Grade 3	6	10,17%	11	15,49%	0,635
Nekroz	**Yok**	18	30,51%	31	43,66%	
	Var	41	69,49%	40	56,34%	0,123
Kıkırdak invazyonu	**Yok**	37	62,71%	44	61,97%	
	Var	22	37,29%	27	38,03%	0,931
T Evresi	**T1**	6	10,17%	4	5,63%	
	T2	31	52,54%	39	54,93%	
	T3	20	33,90%	20	28,17%	
	T4	2	3,39%	8	11,27%	0,279
N Evresi	**N0**	35	59,32%	47	66,20%	
	N1	5	8,47%	4	5,63%	
	N2	6	10,17%	10	14,08%	
	N3	13	22,03%	10	14,08%	0,538
AJCC evreleme	**Evre 1**	5	8,47%	4	5,63%	
	Evre 2	17	28,81%	27	38,03%	
	Evre 3	17	28,81%	16	22,54%	
	Evre 4a	7	11,86%	14	19,72%	
	Evre 4b	13	22,03%	10	14,08%	0,397
Stroma	**Fakir**	34	57,63%	48	67,61%	
	Zengin	25	42,37%	23	32,39%	0,241
Lenfosit infiltrasyonu	**Hafif**	10	16,95%	16	22,54%	
	Orta	30	50,85%	35	49,30%	
	Şiddetli	19	32,20%	20	28,17%	0,707
Büyüme paterni	**Ekspansif**	13	22,03%	15	21,13%	
	İnfiltratif	46	77,97%	56	78,87%	0,900

	Yok	35	59,32%	47	66,20%	
Granülom	**Var**	24	40,68%	24	33,80%	0,419
	Yok	12	20,34%	20	28,17%	
Keratinizasyon	**Var**	47	79,66%	51	71,83%	0,302
	Yok	25	42,37%	23	32,39%	
	Düşük	27	45,76%	34	47,89%	
TM Tomurcuklanması	**Yoğun**	7	11,86%	14	19,72%	0,345
	>15 Hücre	17	28,81%	14	19,72%	
	5-15 Hücre	7	11,86%	9	12,68%	
	2-3 Hücre	16	27,12%	22	30,99%	
Hücre yuva	**Tek Hücre**	19	32,20%	26	36,62%	0,687

Ki Kare Testi

Çalışmamızda prognostik önemlerini araştırdığımız proteinlerin immünreaktivite düzeylerinin birbiri ile ilişkileri de değerlendirilmiştir. ≤4 CD44 İRS ve >4 CD44 İRS gruplarının Fascin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir. >4 CD44 İRS grubunda >4 Fascin İRS varlığı ≤4 CD44 İRS grubundan yüksek bulunmuştur (p=0,0001) (Tablo 5).

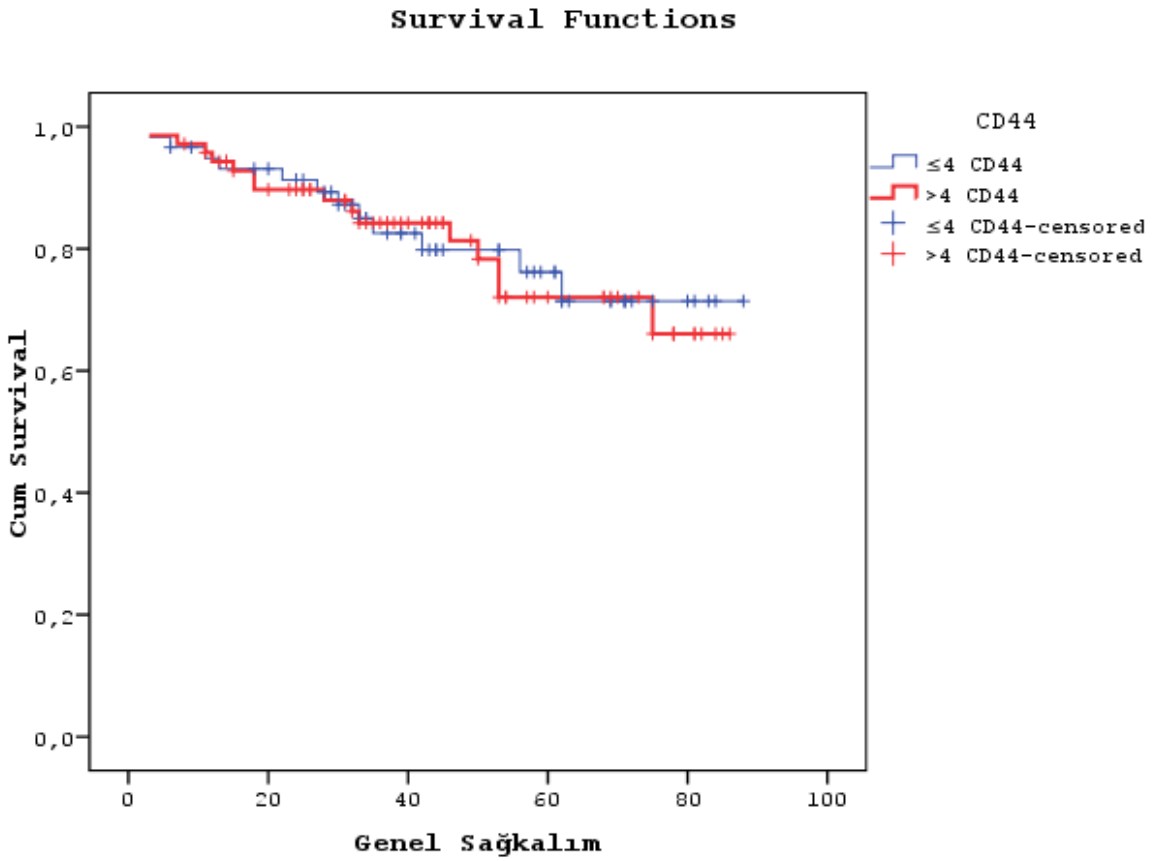
Tablo 5: CD44 ve Fascin-1 ekspresyonunun olgulara göre dağılımı

	CD44 İRS≤4	**CD44 İRS>4**
Fascin İRS≤4	**31 %52,54**	**8 %11,27**
Fascin İRS>4	**28 %47,46**	**63 %88,73**

CD44 İRS düşük grubun 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı %65,11-80,29 bulunmuş, CD44 İRS yüksek grubun 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı %63,57-77,27 bulunmuştur. Ayrıca CD44 İRS düşük grubun 5 yıllık genel sağ kalımı %64,41-80,12 bulunmuş, CD44 İRS yüksek grubun 5 yıllık genel sağ kalımı %62,65-76,92 bulunmuş olup grupların sağ kalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05). Olgulara ait sağ kalım eğrisi şekil 5 ve 6'da, yıllara göre yaşam analizi Tablo 6 ve 7'de izlenmektedir

Tablo 6: CD44 ekspresyonunun yıllara göre LogRank genel yaşam analizi

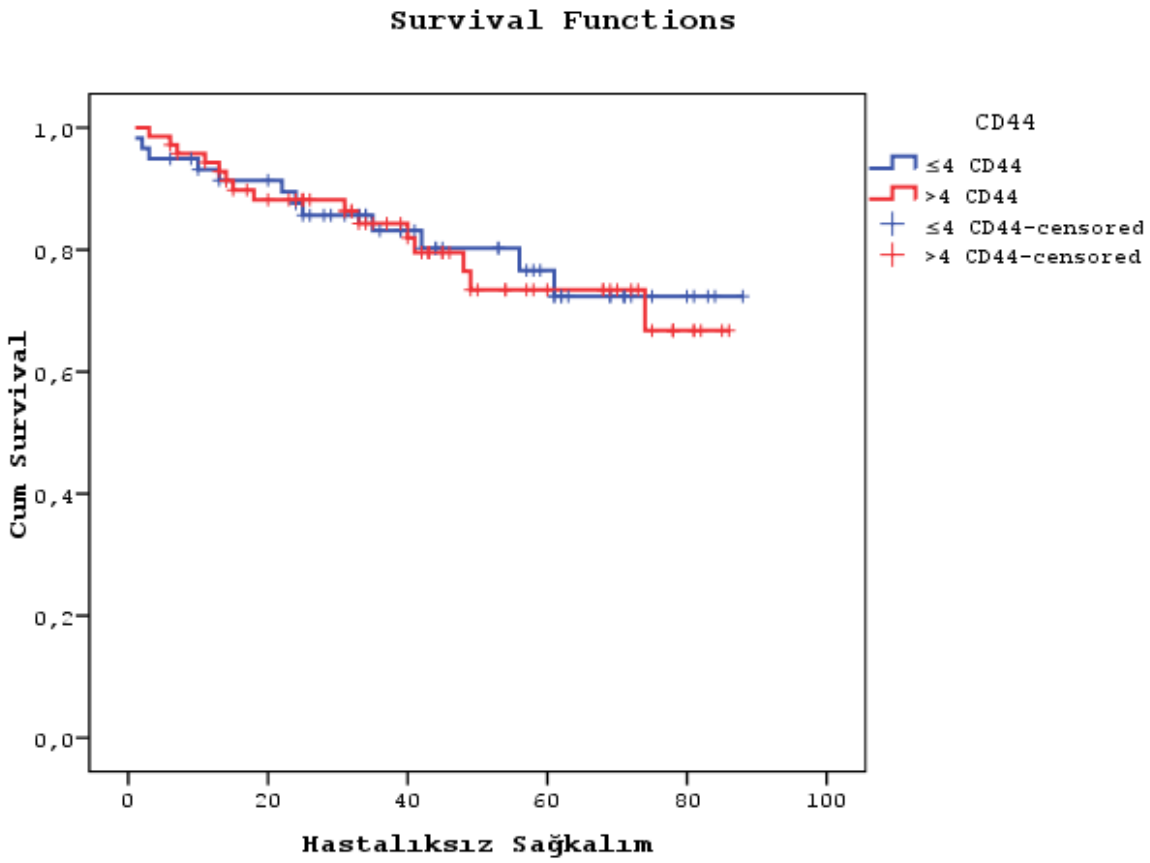
	CD44	
Overall Sürvi	**≤4 CD44**	**>4 CD44**
1 Yıl	0,938	0,943
2 Yıl	0,916	0,882
3 Yıl	0,863	0,843
5 Yıl	0,795	0,734
Median±SE Yaşam Süresi	72,26±4,01	69,79±3,63
%95 GA	64,41-80,12	62,65-76,92
	LogRank:0,24 p=0,877	



Şekil 5: CD44 ekspresyonunun genel sağ kalım ile ilişkisi (Kaplan Meier)

Tablo 7: CD44 ekspresyonunun yıllara göre LogRank hastalıksız yaşam analizi

	CD44	
Disease-Free Sürvi	**≤4 CD44**	**>4 CD44**
1 Yıl	0,949	0,958
2 Yıl	0,913	0,897
3 Yıl	0,825	0,842
5 Yıl	0,762	0,720
Median±SE Yaşam Süresi	72,69±3,87	70,41±3,49
%95 GA	65,11-80,29	63,57-77,27
	LogRank:0,32 p=0,826	

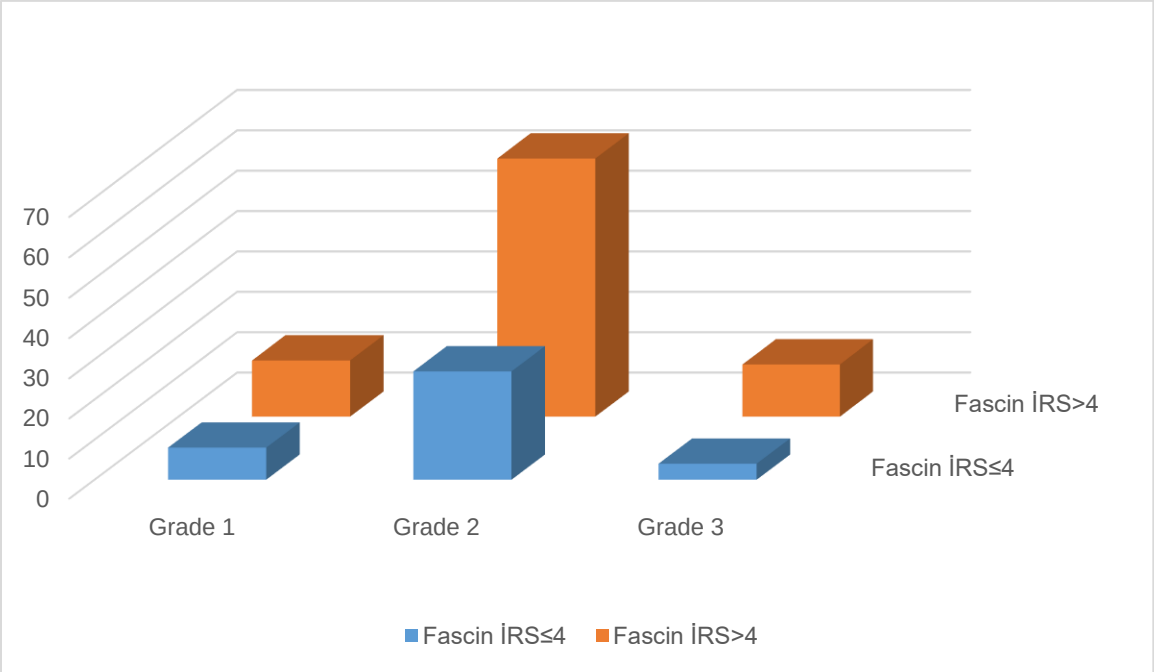


Şekil 6: CD44 ekspresyonunun hastalıksız sağ kalım ile ilişkisi (Kaplan Meier)

4.3.2. FASCİN-1

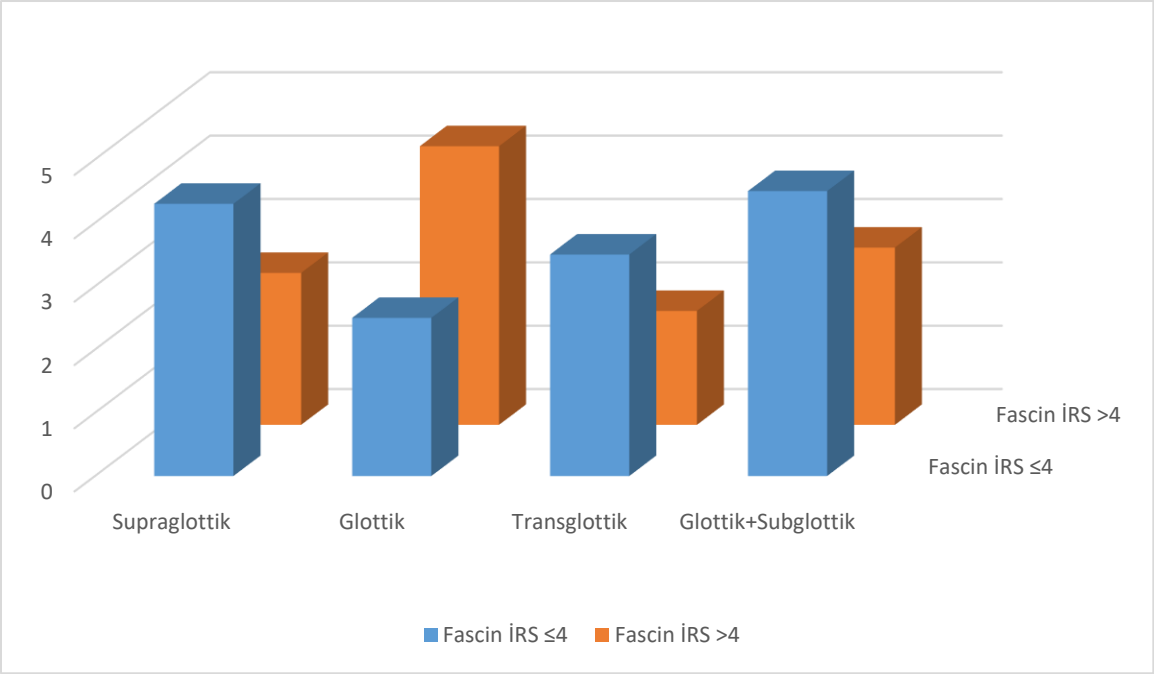
Olgular immünreaktivite skoruna(İRS) göre gruplandırıldığında olguların 39'unda Fascin'in immünreaktivite skoru 4 ve altında; 91'inde 4'ün üzerindedir. Fascin İRS düşük grupta olguların 29'u 65 yaşın altındayken, 10 olgu 65 yaşın üzerindedir. Fascin İRS yüksek izlenen 91 olgunun 62'si 65 yaşın altındayken, 29'u 65 yaşın üzerindedir. Çalışmamızda hastaların sadece 2'si kadındır ve bu hastaların birinde Fascin İRS düşük izlenirken, diğerinde Fascin İRS yüksek izlenmiştir. Buna göre düşük ve yüksek Fascin İRS gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05).

DSÖ derecelendirme sistemine göre grade 1 olan 8 olgu (%20,51), grade 2 olan 27 olgu (%69,23), grade 3 olan 4 olgu (%10,26) Fascin İRS düşük grupta yer alırken; grade 1 olan 14 olgu (%15,38), grade 2 olan 64 olgu (%70,33), grade 3 olan 13 olgu (%14,29) Fascin İRS yüksek grupta yer almıştır. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05) (Şekil 7).



Şekil 7: Olguların Fascin-1 ekspresyonuna göre DSÖ gradelerine dağılımı

Fascin İRS düşük izlenen olguların 10'unda (%25,64) tümör supraglottik, 12'sinde (%30,77) glottik, 1'inde (%2,56) subglottik, 11'inde (%28,21) transglottik, 5'inde (%12,82) glottik+subglottik yerleşimli izlenmiştir. Fascin İRS yüksek izlenen 32 (%35,16) olguda tümör supraglottik, 30 (%32,97) olguda glottik, 26 (%28,57) olguda transglottik ve 3 (%3,30) olguda glottik+subglottik yerleşimlidir. Olguların tümör lokalizasyonu açısından dağılımında istatistiksel anlamlı farklılık görülmemiştir (p>0,05) (Şekil 8).



Şekil 8: Olguların tümör lokalizasyonuna göre Fascin-1 ekspresyon dağılımı

Fascin İRS düşük olan bulunan 39 olgunun 27'sinde (%69,23) tümör boyutu 4 cm'den küçük; 12'sinde (%30,77) 4 cm'den büyük izlenmiştir. Fascin İRS yüksek bulunan 91 olgunun 67'sinde (%73,63) tümör boyutu 4 cm'den küçük, 24'ünde (%26,37) 4 cm'den büyük görülmüştür. Tümör boyutu ile Fascin İRS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir (p>0,05).

Histolojik alt tipler ve Fascin İRS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. Keratinize olarak izlenen 24 (%61,54) olgu, nonkeratinize izlenen 10 (%25,64) olgu ve bazaloid izlenen 5 (%12,82) olgunun Fascin İRS düşük izlenirken; keratinize tip 66 (%72,53) olgu, nonkeratinize 16 (%17,58) ve bazaloid tip 9 (%9,89) olgunun Fascin İRS yüksek izlenmiştir (p>0,05).

Fascin İRS düşük görülen 39 olgunun 23'ünde (%58,97) lenfovasküler invazyon izlenmezken, 16'sında (%41,03) lenfovasküler invazyon izlenmiştir. Fascin İRS yüksek olan 91 olgunun 57'sinde (%62,64) lenfovasküler invazyon izlenmezken, 34'ünde (%37,36) lenfovasküler invazyon görülmüştür. Fascin İRS düşük olan olguların 35'inde (%89,74) perinöral invazyon görülmezken, 4'ünde perinöral invazyon mevcuttur. Fascin İRS yüksek olan olguların 76'sında (%83,52) perinöral invazyon görülmezken, 15 (%16,48) olguda perinöral invazyon görülmüştür. Fascin İRS düşük ve yüksek gruplar arasında lenfovasküler ve perinöral invazyon açısından istatistiksel anlamlı farklılık görülmemiştir (p>0,05).

Fascin İRS düşük olan 59 olgunun 24'ünde (%61,54) nekroz izlenirken; Fascin İRS yüksek olan 71 olgunun 57'sinde (%62,64) nekroz görülmüştür. 16 (%41,03) Fascin İRS düşük olgusunda ve 33 (%36,26) Fascin İRS yüksek olgusunda kıkırdak invazyonu görülmüştür.

Fascin İRS düşük 59 olgunun 15'i stromadan zengin, Fascin İRS yüksek 71 olgunun 33'ü (%36,26) stromadan zengin olarak bulunmuştur. Fascin İRS düşük olan 28 olgu (%71,79), Fascin İRS yüksek olan 70 (%76,92) olgu keratinize izlenmiştir. Fascin İRS düşük olan 17 (%43,59) olguda ve Fascin İRS yüksek olan 31 (%34,07) olguda granülom yapısı izlenmiştir. Fascin İRS düşük olan 31 (%79,49) olgu ve Fascin İRS yüksek olan 70 (%76,92) olgu infiltratif tümöral büyüme göstermiştir. Fascin İRS düşük ve yüksek gruplar arasında nekroz varlığı, kıkırdak invazyonu, stroma durumu, keratinizasyon ve granülom varlığı açısından benzer dağılım mevcuttur; istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Olgular lenfosit infiltrasyonu açısından değerlendirildiğinde Fascin İRS düşük grupta yer alan 59 olgunun 6'sında (%15,38) hafif, 20'sinde (%52,28) orta, 13'ünde (%33,33) yoğun lenfositik infiltrasyon izlenmiştir. Fascin İRS yüksek grupta yer alan 71 olgunun 20'sinde (%21,98) hafif, 45'inde (%49,45) orta, 26'sında (%28,57) yoğun lenfositik infiltrasyon görülmüştür. Gruplar arasında lenfositik infiltrasyon yoğunluğu açısından anlamlı farklılık görülmemiştir. ($p>0,05$)

3 T1 (%7,69), 20 T2 (%51,28), 13 T3 (%33,33), 3 T4 (%7,69) olgusunda Fascin İRS düşük bulunurken, 7 T1 (%7,69), 50 T2 (%54,95), 27 T3 (%29,67), 7 T4 (%7,69) olgusunda Fascin İRS yüksek bulunmuştur; ancak bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. 25 N0 (%64,10), 3 N1 (%7,69), 3 N2 (%7,69), 8 N3 (%20,51) olgusunda Fascin İRS düşük izlenirken; 57 N0 (%62,64), 6 N1 (%6,59), 13 N2 (%14,29), 15 N3 (%16,48) olgusunda Fascin İRS yüksek bulunmuştur. Bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

AJCC 7.baskıya göre evre I 2 (%5,13) olgu, evre II 14 (%35,90) olgu, evre III 10 (%25,64), evre IVa 5 (%12,82) olgu ve evre IVb 8 (%20,51) olgu Fascin İRS düşük grupta yer alırken, evre I 7 (%7,69) olgu, evre II 30 (%32,97) olgu, evre III 23 (%25,27), evre IVa 16 (%17,58) olgu ve evre IVb 15 (%16,48) olgu Fascin İRS yüksek grupta yer almıştır. Evre I, II, III, IVa, IVb grupları arasında Fascin İRS dağılımı açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Tümör tomurcuklanmasının izlenmediği 15 olguda (%38,46) Fascin İRS düşük bulunurken, 33 olguda (%36,26) Fascin İRS yüksek bulunmuştur. Tümör tomurcuklanması

görülen 24 olgu (%64,54) Fascin İRS düşük grupta yer alırken, 58 olgu (%63,74) Fascin İRS yüksek grupta yer almıştır; bu gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05).

Fascin İRS düşük ve yüksek gruplar boyun metastazı ve boyun metastazı varlığında ekstrakapsüler yayılım dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05).

Gruplar arasında tek hücre invazyonunun izlendiği 15 olguda (%38,46) Fascin İRS düşük bulunurken, 30 olguda (%32,97) Fascin İRS yüksek bulunmuştur. Tümör yuva hücre grupları ile Fascin İRS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05) (Tablo 8).

Tablo 8: Fascin-1 ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi

		≤4 Fascin n:39		**>4 Fascin n:91**		**p**
Yaş	**<65 Yaş**	29	74,36%	62	68,13%	0,478
	>65 Yaş	10	25,64%	29	31,87%	
Cinsiyet	**Kadın**	1	2,56%	1	1,10%	0,534
	Erkek	38	97,44%	90	98,90%	
Lokalizasyon	**Supraglottik**	10	25,64%	32	35,16%	0,127
	Glottik	12	30,77%	30	32,97%	
	Subglottik	1	2,56%	0	0,00%	
	Transglottik	11	28,21%	26	28,57%	
	Glottik+Subglottik	5	12,82%	3	3,30%	
TM Volümü	**< 4 cm**	27	69,23%	67	73,63%	0,608
	>4 cm	12	30,77%	24	26,37%	
Lenfovasküler invazyon	**Yok**	23	58,97%	57	62,64%	0,694
	Var	16	41,03%	34	37,36%	
Perinöral invazyon	**Yok**	35	89,74%	76	83,52%	0,357
	Var	4	10,26%	15	16,48%	
Boyun metastazı	**Yok**	25	64,10%	57	62,64%	0,874
	Var	14	35,90%	34	37,36%	

Boyun metastazı olan hastalarda ekstra kapsüler yayılım	**Yok**	7	46,67%	16	45,71%	
	Var	8	53,33%	19	54,29%	0,951
Tümör tipi	**Keratinize**	24	61,54%	66	72,53%	
	Nonkeratinize	10	25,64%	16	17,58%	
	Bazaloid	5	12,82%	9	9,89%	0,454
Grade	**Grade 1**	8	20,51%	14	15,38%	
	Grade 2	27	69,23%	64	70,33%	
	Grade 3	4	10,26%	13	14,29%	0,681
Nekroz	**Yok**	15	38,46%	34	37,36%	
	Var	24	61,54%	57	62,64%	0,906
Kıkırdak invazyonu	**Yok**	23	58,97%	58	63,74%	
	Var	16	41,03%	33	36,26%	0,608
T Evresi	**T1**	3	7,69%	7	7,69%	
	T2	20	51,28%	50	54,95%	
	T3	13	33,33%	27	29,67%	
	T4	3	7,69%	7	7,69%	0,980
N Evresi	**N0**	25	64,10%	57	62,64%	
	N1	3	7,69%	6	6,59%	
	N2	3	7,69%	13	14,29%	
	N3	8	20,51%	15	16,48%	0,736
AJCC evreleme	**Evre 1**	2	5,13%	7	7,69%	
	Evre 2	14	35,90%	30	32,97%	
	Evre 3	10	25,64%	23	25,27%	
	Evre 4a	5	12,82%	16	17,58%	
	Evre 4b	8	20,51%	15	16,48%	0,915
Stroma	**Fakir**	24	61,54%	58	63,74%	
	Zengin	15	38,46%	33	36,26%	0,812
Lenfosit infiltrasyonu	**Hafif**	6	15,38%	20	21,98%	
	Orta	20	51,28%	45	49,45%	
	Şiddetli	13	33,33%	26	28,57%	0,664
Büyüme paterni	**Ekspansif**	8	20,51%	20	21,98%	
	İnfiltratif	31	79,49%	71	78,02%	0,852

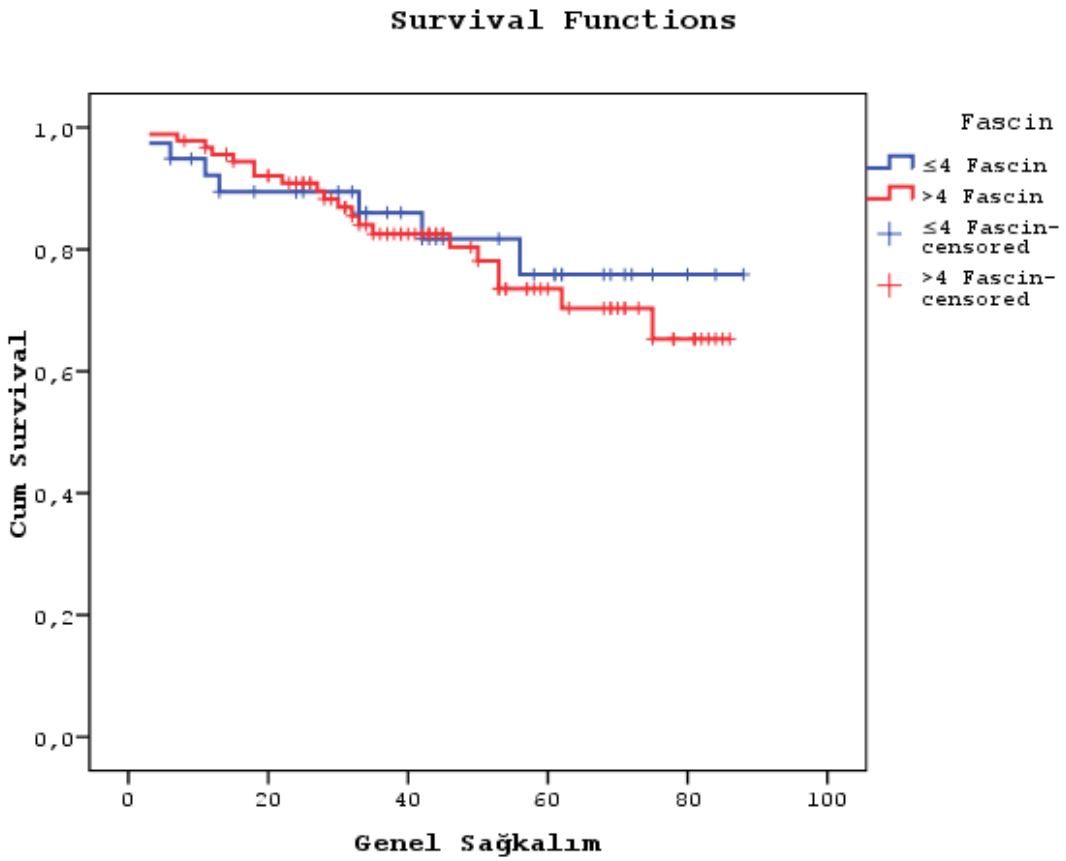
	Yok	22	56,41%	60	65,93%	
Granülom	**Var**	17	43,59%	31	34,07%	0,302
	Yok	11	28,21%	21	23,08%	
Keratinizasyon	**Var**	28	71,79%	70	76,92%	0,534
	Yok	15	38,46%	33	36,26%	
	Düşük	18	46,15%	43	47,25%	
TM Tomurcuklanması	**Yoğun**	6	15,38%	15	16,48%	0,969
	>15 Hücre	9	23,08%	22	24,18%	
	5-15 Hücre	6	15,38%	10	10,99%	
	2-3 Hücre	9	23,08%	29	31,87%	
Hücre yuva	**Tek Hücre**	15	38,46%	30	32,97%	0,705

Ki Kare Testi

Fascin İRS düşük grubun 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı %63,29-83,03 bulunmuş, fascin İRS yüksek grubun 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı %63,39-75,79 bulunmuştur. Ayrıca fascin İRS düşük grubun 5 yıllık ortalama sağ kalımı %64,48-83,23, fascin İRS yüksek grubun 5 yıllık ortalama sağ kalımı %64,33-76,21 bulunmuş olup grupların sağ kalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05). Olgulara ait hastalıksız ve genel sağ kalım eğrileri Şekil 9 ve 10'da, yıllara göre genel yaşam analiz tablosu Tablo 9 ve 10'da izlenmektedir.

Tablo 9: Fascin-1 ekspresyonunun yıllara göre LogRank genel yaşam analizi

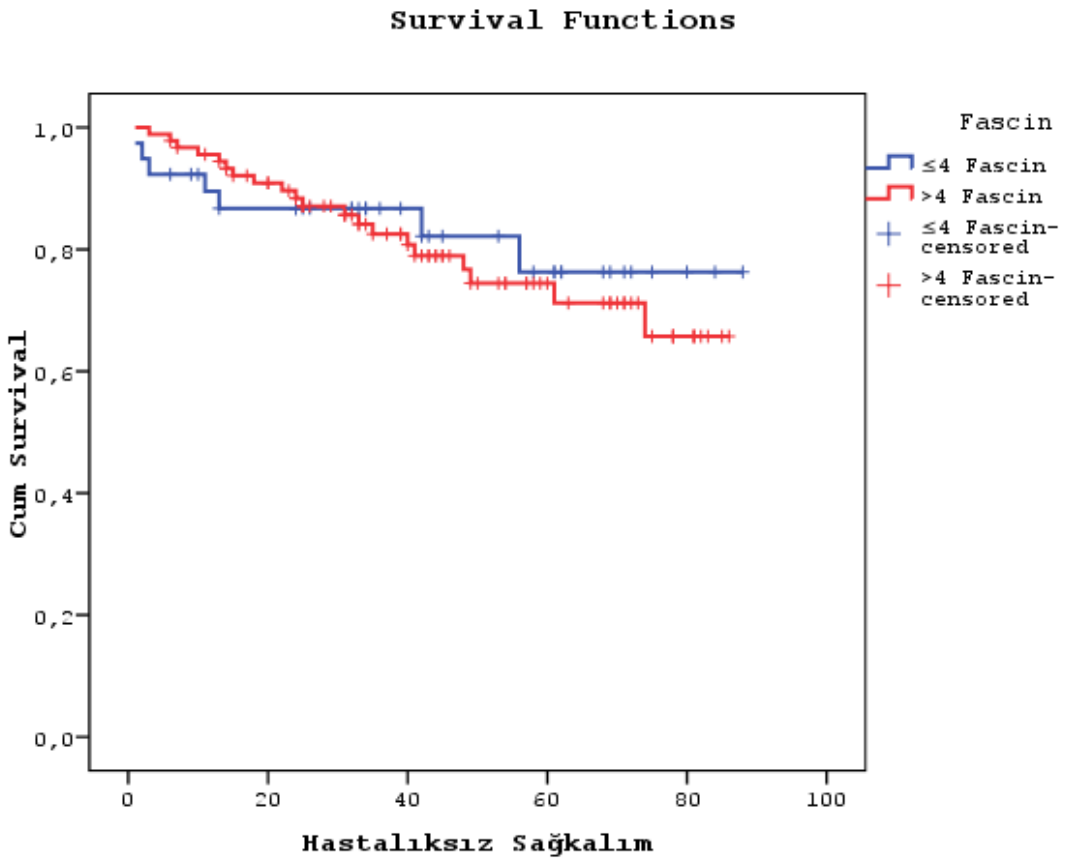
	Fascin	
Overall Sürvi	**≤4 Fascin**	**>4 Fascin**
1 Yıl	0,922	0,956
2 Yıl	0,895	0,909
3 Yıl	0,860	0,840
5 Yıl	0,759	0,735
Median±SE Yaşam Süresi	73,86±4,78	70,27±3,03
%95 GA	64,48-83,23	64,33-76,21
	LogRank:0,14 p=0,707	



Şekil 9 : Fascin-1 ekspresyonunun genel sağ kalım ile ilişkisi (Kaplan Meier)

Tablo 10: Fascin-1 ekspresyonun yıllara göre LogRank hastalıksız yaşam analizi

	Fascin	
Disease-Free Sürvi	**≤4 Fascin**	**>4 Fascin**
1 Yıl	0,895	0,933
2 Yıl	0,867	0,896
3 Yıl	0,821	0,825
5 Yıl	0,763	0,744
Median±SE Yaşam Süresi	73,15±5,03	69,59±3,16
%95 GA	63,29-83,03	63,39-75,79
	LogRank:0,13 p=0,715	



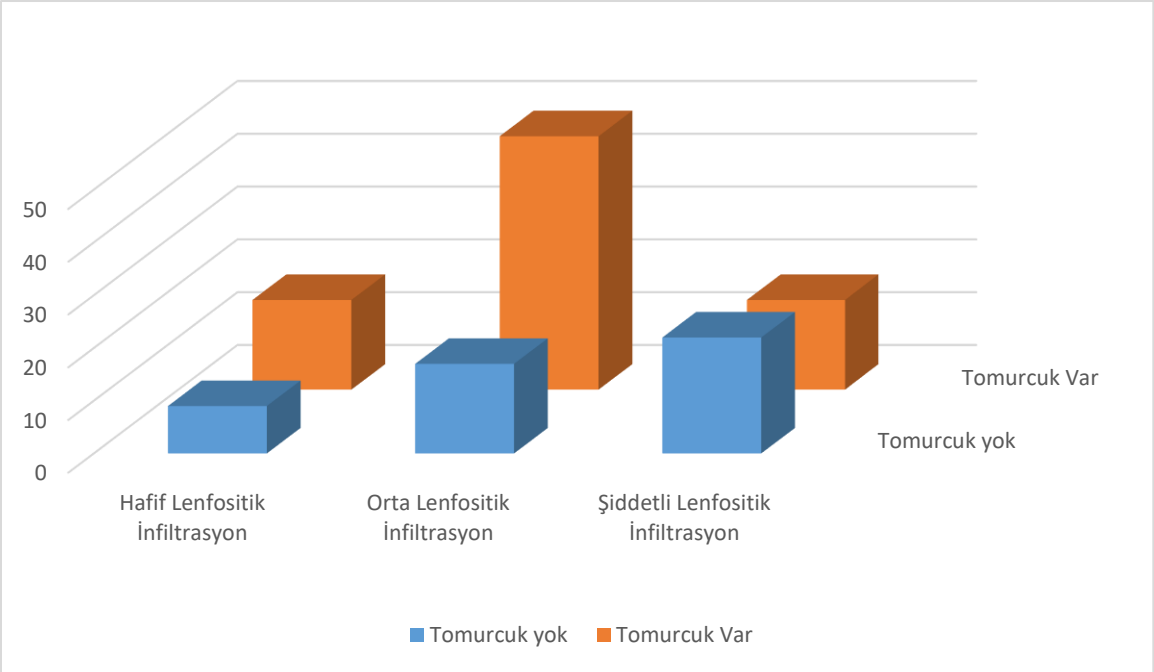
Şekil 10: Fascin-1 ekspresyonunun hastalıksız sağ kalım ile ilişkisi (Kaplan Meier)

4.4. TÜMÖR TOMURCUKLANMASI VE DİĞER HİSTOMORFOLOJİK BULGULAR

Tümör tomurcuklanması ile T ve N evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05). Ayrıca lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05). Tümörün stroma durumu zengin ve fakir olarak değerlendirildiğinde tümör tomurcuklanması ile stroma arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05) (Tablo 11).

Tümör tomurcuklanması ile büyüme paterni arasında anlamlı farklılık gözlenmiştir (p<0,05). Buna göre infiltratif büyüme paterninin tümör tomurcuklanması ile ilişkili izlenmiştir.

Tümör tomurcuklanması ile tümöre eşlik eden lenfositik infiltrasyon arasında anlamlı farklılık saptanmıştır (p<0,05). Lenfosit infiltrasyonunun düşük olduğu grupta tümör tomurcuklanması daha yüksek oranda bulunmuştur (Şekil 11).



Şekil 11: Olgularda tümör tomurcuklanması ve lenfositik infiltrasyon arasındaki ilişki

Tablo 11: Tümör tomurcuklanması yoğunluğunun evre ve patolojik parametreler ile ilişkisi

		Tümör Tomurcuklanması						p
		Yok		Düşük		Yoğun		
T Evresi	**T1**	7	14,58%	1	1,64%	2	9,52%	0,148
	T2	26	54,17%	36	59,02%	8	38,10%	
	T3	11	22,92%	20	32,79%	9	42,86%	
	T4	4	8,33%	4	6,56%	2	9,52%	
N Evresi	**N0**	33	68,75%	37	60,66%	12	57,14%	0,299
	N1	2	4,17%	7	11,48%	0	0,00%	
	N2	4	8,33%	7	11,48%	5	23,81%	
	N3	9	18,75%	10	16,39%	4	19,05%	
Lenfovasküler invazyon	**Yok**	29	60,42%	38	62,30%	13	61,90%	0,979
	Var	19	39,58%	23	37,70%	8	38,10%	
Perinöral invazyon	**Yok**	40	83,33%	53	86,89%	18	85,71%	0,872
	Var	8	16,67%	8	13,11%	3	14,29%	
Grade	**Grade 1**	8	16,67%	12	19,67%	2	9,52%	0,071
	Grade 2	29	60,42%	46	75,41%	16	76,19%	
	Grade 3	11	22,92%	3	4,92%	3	14,29%	

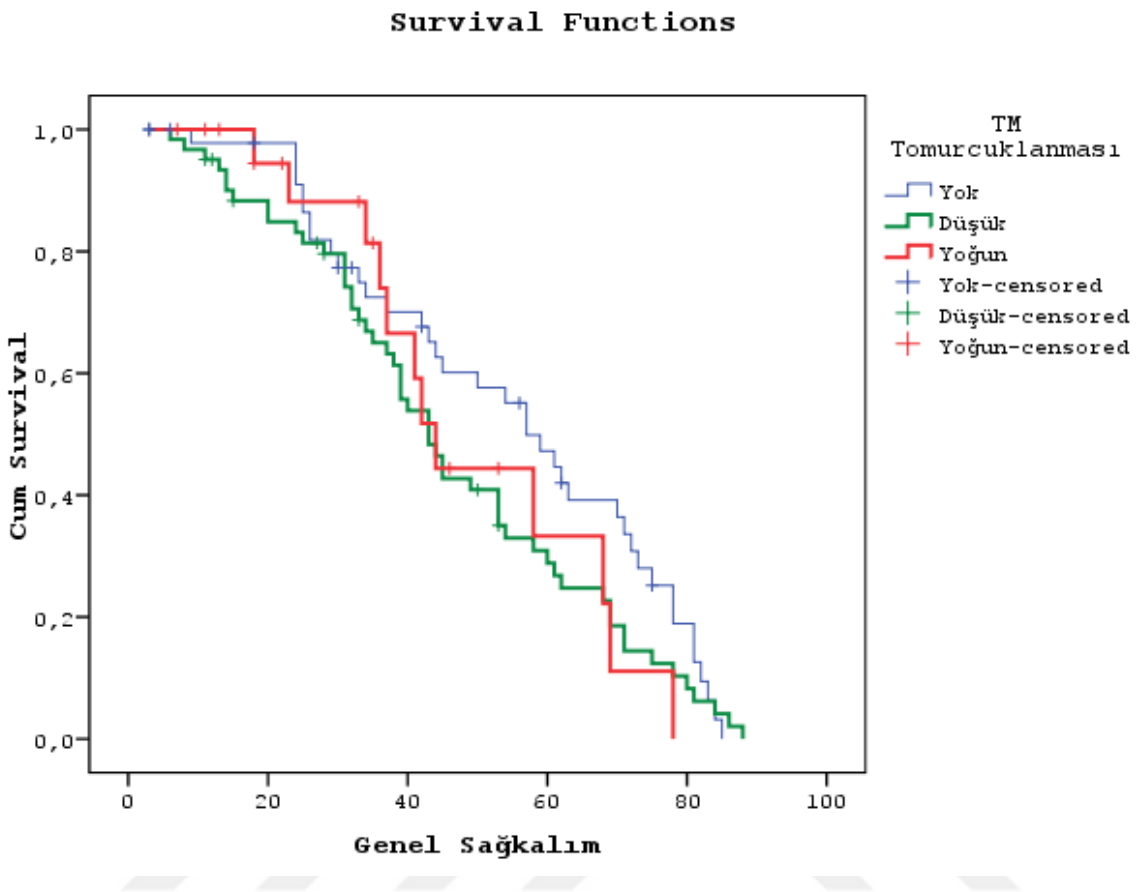
	Hafif	9	18,75%	10	16,39%	7	33,33%	
	Orta	17	35,42%	37	60,66%	11	52,38%	
Lenfosit infiltrasyonu	**Şiddetli**	22	45,83%	14	22,95%	3	14,29%	**0,014**
	Ekspansif	20	41,67%	8	13,11%	0	0,00%	
Büyüme paterni	**İnfiltratif**	28	58,33%	53	86,89%	21	100,00%	**0,0001**
	Fakir	34	70,83%	37	60,66%	11	52,38%	
Stroma	**Zengin**	14	29,17%	24	39,34%	10	47,62%	0,297

Ki Kare testi

Tümör tomurcuklanması olmayan grubun genel sağ kalım süresi 71,44±3,86 ay bulunmuş, tomurcuklanma düşük ve yoğun olarak ayrıldığında düşük grubun genel sağ kalım süresi 77,40±3,44 ay, yoğun grubun genel sağ kalım süresi 51,54±6,39 ay bulunmuştur. Tümör tomurcuklanması olmayan grubun 5 yıllık genel sağ kalımı %63,87-79,01, tomurcuklanmanın düşük izlendiği grubun 5 yıllık genel sağ kalımı % 70,66-84,13, tomurcuklanmanın yoğun olarak izlendiği grubun 5 yıllık genel sağ kalımı %39,01-64,07 izlenmiş olup grupların genel sağ kalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna göre tümör tomurcuklanmasının yoğun (>15/10 BBA) olduğu olguların genel sağkalım süresi belirgin olarak düşmektedir. Bulgular Tablo 12'de özetlenmiştir (Şekil 12).

Tablo 12: Tümör tomurcuklanma yoğunluğunun yıllara göre LogRank genel yaşam analizi

	TM Tomurcuklanması		
Overall Sürvi	**Yok**	**Düşük**	**Yoğun**
1 Yıl	0,938	0,966	0,905
2 Yıl	0,916	0,948	0,759
3 Yıl	0,863	0,884	0,646
5 Yıl	0,795	0,804	0,431
Median±SE Yaşam Süresi	71,44±3,86	77,40±3,44	51,54±6,39
%95 GA	63,87-79,01	70,66-84,13	39,01-64,07
		LogRank:8,83 p=0,012	

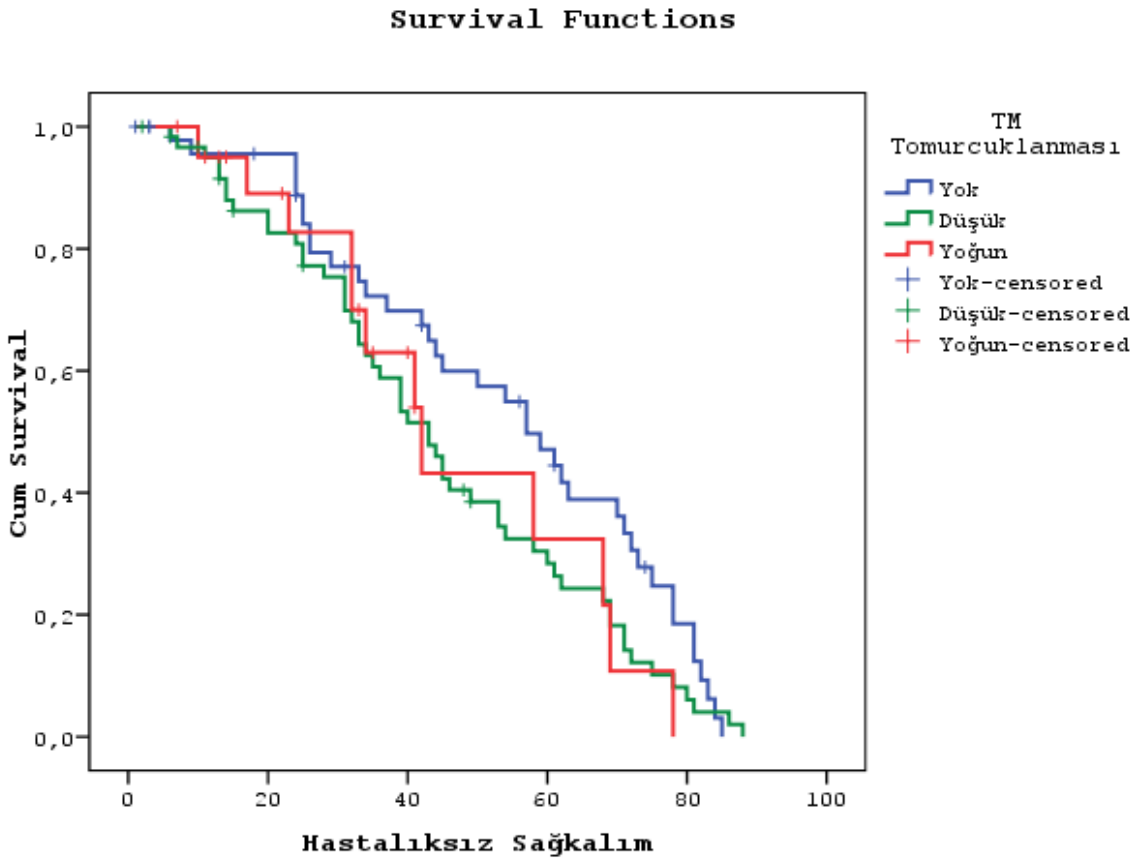


Şekil 12: Tümör tomurcuklanması ile genel sağ kalım arasındaki ilişki, p<0,05 (Kaplan Meier).

Tümör tomurcuklanması olmayan grubun hastalıksız sağ kalım süresi 71,29±3,90 ay, tomurcuklanma düşük ve yoğun olarak ayrıldığında düşük grubun hastalıksız sağ kalım süresi 76,77±3,66 bulunmuş, yoğun grubun hastalıksız sağ kalım süresi 36,73-62,89 ay bulunmuştur. Tümör tomurcuklanması olmayan grubun 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı %63,64-78,95, tomurcuklanmanın düşük izlendiği grubun 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı % 69,59-83,95, tomurcuklanmanın yoğun olarak izlendiği grubun 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı %39,01-64,07 izlenmiş olup grupların hastalıksız sağ kalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p<0,05). Buna göre tümör tomurcuklanmasının yoğun (>15/10 BBA) izlendiği olguların hastalıksız sağkalım süresi belirgin olarak kısadır. Bulgular Tablo 13'te özetlenmiştir (Şekil 13).

Tablo 13: Tümör tomurcuklanma yoğunluğunun yıllara göre LogRank hastalıksız yaşam analizi

Disease-Free Sürvi	Yok	Düşük	Yoğun
1 Yıl	0,956	0,950	0,902
2 Yıl	0,894	0,914	0,749
3 Yıl	0,867	0,894	0,680
5 Yıl	0,799	0,813	0,529
Median±SE Yaşam Süresi	71,29±3,90	76,77±3,66	49,81±6,67
%95 GA	63,64-78,95	69,59-83,95	36,73-62,89
		LogRank:9,74 p=0,008	



Şekil 13: Tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım arasındaki ilişki, p<0,05. (Kaplan Meier)

İnvaziv alanda izlenen tümör hücre yuvaları değerlendirildiğinde 45 olguda (%34,62) tek hücre invazyonu görülmüştür. 38 olguda (%29,23) 2-4 hücre şeklinde tümör hücre yuvası, 16 olguda (%12,31) 5-15 hücre şeklinde tümör hücre yuvası izlenmiştir. 31 olguda (%23,85) tümör hücre yuvalarının 15 hücreden fazla kümelerden oluştuğu görülmüştür.

Tümör hücre yuvaları boyutlarına göre sınıflandırıldığında, hücre yuva boyutu ile tümörün T ve N evreleri, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

DSÖ derecelendirme sistemi esas alınarak yapılan sınıflandırmada G2 olarak izlenen 91 olgunun 35'inde tek hücre invazyonu izlenmiştir. 28'inde tümör hücre yuvaları 2-3 hücre şeklindeyken; 9'unda 5-15 hücre; 19'unda 15'ten fazla hücre şeklinde görülmüştür. 22 G1 olgusunun ise 5'inde tek hücre invazyonu, 9'unda 2-3 hücreden oluşan tümör hücre yuvası, 4'ünde 5-15 hücreden oluşan tümör hücre yuvası, 4'ünde 15'ten fazla hücreden oluşan tümör hücre yuvası izlenmiştir. 17 G3 olgusunun 5'inde tek hücre invazyonu, 1'inde 2-3 hücreden oluşan tümör hücre yuvası, 3'ünde 5-15 hücreden oluşan tümör hücre yuvası, 8'inde 15'ten fazla hücreden oluşan tümör hücre yuvası görülmüştür. Olguların DSÖ derece gruplarına dağılımı istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmamıştır ($p>0,05$).

Lenfosit infiltrasyon değerlendirildiğinde hafif düzeyde lenfositik infiltrasyon izlenen 22 olgunun 10'unda tek hücre invazyonu görülmüştür. Hafif düzeyde lenfositik infiltrasyonun görüldüğü 7 olguda 2-3 hücreden oluşan tümör yuvası, 4 olguda 5-15 hücreden oluşan tümör hücre yuvası, 5 olguda 15'ten fazla hücreden oluşan tümör hücre yuvası görülmüştür. Şiddetli lenfositik infiltrasyon görülen 39 olgunun 11'inde tek hücre invazyonu, 7 olguda 2-3 hücreden oluşan tümör hücre yuvası, 9 olguda 5-15 hücreden oluşan tümör hücre yuvası, 12 olguda 15'ten fazla hücreden oluşan tümör hücre yuvası izlenmiştir. Bulgular tek hücre invazyonu görülen olgularda lenfositik infiltrasyonun hafif düzeyde görüldüğünü düşündürmüştür, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olmaya yakındır ($p=0,064$).

Büyüme paterni infiltratif olan olgularda tek hücre invazyonu ve 2-3 hücreden oluşan küçük tümör hücre yuvası görülme oranı anlamlı olarak artmıştır ($p<0,05$). Tek hücre invazyonunun görüldüğü 45 olgunun 43'ünde infiltratif büyüme izlenirken, 2'sinde ekspansif büyüme görülmüştür. 2-3 hücreden oluşan küçük tümör hücre yuvası izlenen 38 olgunun 32'sinde infiltratif, 6'sında ekspansif büyüme izlenmiştir.

Tümörün stromasının zengin görüldüğü 48 olguda en yüksek oranda (22 olgu) tek hücre invazyonu görülmüş olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 14).

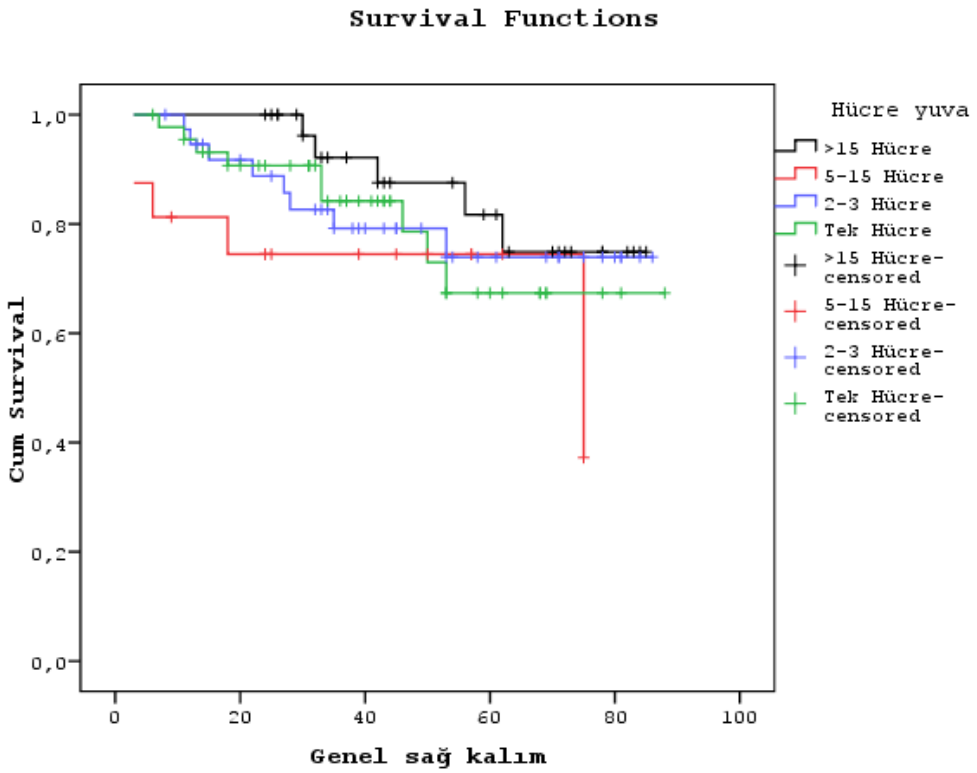
Tablo 14: Olguların tümör hücre yuva boyutuna göre T,N evreleri, LVİ, PNİ, lenfosit isfiltrasyonu, büyüme paterni, DSÖ derece gruplarına dağılımı

		Tek Hücre		2-3 Hücre		5-15 Hücre		>15 Hücre		p
T Evresi	**T1**	3	6,67%	0	0,00%	2	12,50%	5	16,13%	
	T2	21	46,67%	25	65,79%	7	43,75%	17	54,84%	
	T3	17	37,78%	11	28,95%	5	31,25%	7	22,58%	
	T4	4	8,89%	2	5,26%	2	12,50%	2	6,45%	0,317
N Evresi	**N0**	26	57,78%	22	57,89%	11	68,75%	23	74,19%	
	N1	4	8,89%	3	7,89%	1	6,25%	1	3,23%	
	N2	7	15,56%	5	13,16%	3	18,75%	1	3,23%	
	N3	8	17,78%	8	21,05%	1	6,25%	6	19,35%	0,691
Lenfovasküler invazyon	**Yok**	28	62,22%	22	57,89%	8	50,00%	22	70,97%	
	Var	17	37,78%	16	42,11%	8	50,00%	9	29,03%	0,515
Perinöral invazyon	**Yok**	38	84,44%	33	86,84%	12	75,00%	28	90,32%	
	Var	7	15,56%	5	13,16%	4	25,00%	3	9,68%	0,555
DSÖ Grade	**Grade 1**	5	11,11%	9	23,68%	4	25,00%	4	12,90%	
	Grade 2	35	77,78%	28	73,68%	9	56,25%	19	61,29%	
	Grade 3	5	11,11%	1	2,63%	3	18,75%	8	25,81%	0,071
Lenfosit infiltrasyonu	**Hafif**	10	22,22%	7	18,42%	4	25,00%	5	16,13%	
	Orta	24	53,33%	24	63,16%	3	18,75%	14	45,16%	
	Şiddetli	11	24,44%	7	18,42%	9	56,25%	12	38,71%	0,064
Büyüme paterni	**Ekspansif**	2	4,44%	6	15,79%	3	18,75%	17	54,84%	
	İnfiltratif	43	95,56%	32	84,21%	13	81,25%	14	45,16%	**0,0001**
Stroma	**Fakir**	23	51,11%	25	65,79%	10	62,50%	24	77,42%	
	Zengin	22	48,89%	13	34,21%	6	37,50%	7	22,58%	0,131

Ki Kare testi

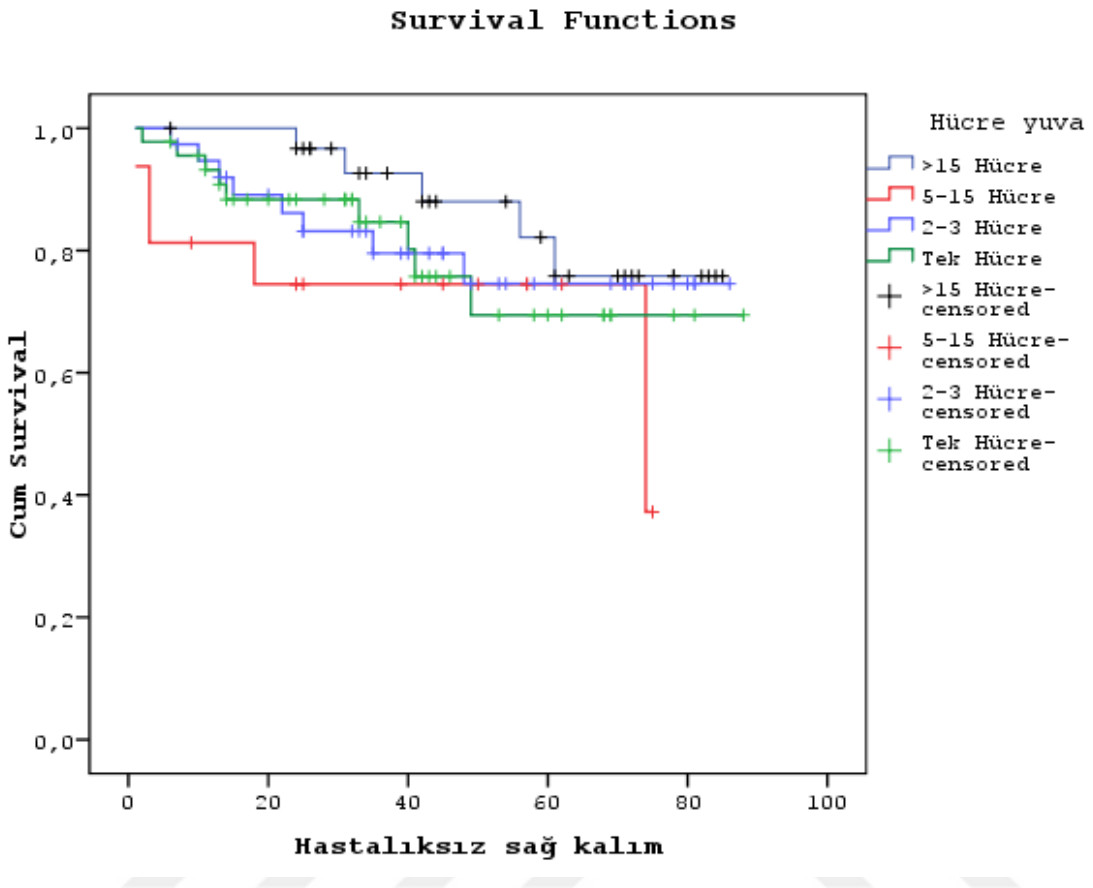
Tümör hücre yuvalarına göre sağ kalım değerlendirildiğinde tek hücre invazyonunun bulunduğu hastalarda ortalama yaşam süresi 70,93 ay, 5 yıllık genel sağ kalım %61,36-80,49 bulunmuştur. 2-3 hücreden oluşan tümör hücre yuvası varlığında ortalama yaşam süresi 70,96 ay, 5 yıllık genel sağ kalım %61,81-80,11 olarak izlenmiştir. 5-15 hücreden oluşan tümör hücre yuvası varlığında ortalama yaşam süresi 57,83 ay, 5 yıllık genel sağ kalım süresi %41,51-74,15 izlenirken; 15'ten fazla hücreden oluşan tümör hücre yuvası varlığında ortalama yaşam süresi

75,52 ay, 5 yıllık genel sağ kalım süresi %68,10-82,94 olarak bulunmuştur. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05). Tümör hücre yuvalarına ait genel sağ kalım eğrisi şekil 14'deki gibidir.



Şekil 14: Tümör hücre yuvalarının boyutuna göre genel sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)

Tek hücre invazyonunun bulunduğu hastalarda ortalama hastalıksız yaşam süresi 70,12 ay, 5 yıllık hastalıksız sağ kalım %59,99-80,26 bulunmuştur. 2-3 hücreden oluşan tümör hücre yuvası varlığında ortalama hastalıksız yaşam süresi 70,13 ay, 5 yıllık hastalıksız sağ kalım %59,99-80,26 olarak izlenmiştir. 5-15 hücreden oluşan tümör hücre yuvası varlığında hastalıksız yaşam süresi 57,14 ay, 5 yıllık hastalıksız sağ kalım süresi %42,36-71,91 izlenirken; 15'ten fazla hücreden oluşan tümör hücre yuvası varlığında ortalama hastalıksız yaşam süresi 75,58 ay, 5 yıllık hastalıksız sağ kalım süresi %68,15-83,04 olarak bulunmuştur. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05). Tümör hücre yuvalarına ait hastalıksız sağ kalım eğrisi şekil 15'deki gibidir.



Şekil 15: Tümör hücre yuvalarının boyutuna göre hastalıksız sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)

Literatürde ilk olarak Weichert ve arkadaşları tarafından pulmoner SHK'de tümör hücre yuvalarının boyutu ve tümör tomurcuklanmasının hasta prognozunda önemine değinilen çalışma baz alınarak Boxberg ve arkadaşları tarafından yeni bir sınıflandırma önerilmiştir[64]. Tümörde gözlenen tek hücre invazyonu 4 puan, 2-4 hücreden oluşan yuva şeklinde ise 3 puan, 5-15 hücreden oluşan yuva şeklinde ise 2 puan ve 15 hücreden fazla hücreden oluşuyorsa 1 puan; tümör tomurcuklanması izlenmiyorsa 1, 10BBA'da 15'in altında tomurcuk varlığında 2 puan ve 15'in üzerinde tomurcuk varlığında 3 puan almaktadır. Tümör hücre yuvası ve tümör tomurcuklanmasından alınan puanlar toplanarak yeni bir skor elde edilmiştir. Buna göre skor 2-3 yeni grade 1 (yG1), 4-6 yeni grade 2 (yG2) ve skor 7 yeni grade 3 (yG3) olarak değerlendirilmiştir [65]. Yeni derecelendirme sistemine ait skor tablosu Tablo 15'de gösterilmiştir.

Tablo 15: Laringeal SHK'de tümör tomurcuklanması ve tümör hücre yuva boyutuna göre önerilen yeni derecelendirme sistemi

Tümör tomurcuklanma aktivitesi/10BBA	Skor
Tomurcuklanma yok	1
<15/10 BBA tümör tomurcuklanması	2
≥15/10 BBA tümör tomurcuklanması	3
Tümör hücre yuva boyutu	
>15 hücreden oluşan yuva	1
5-15 hücreden oluşan yuva	2
2-4 hücreden oluşan yuva	3
Tek hücre invazyonu	4
Önerilen yeni grade	Toplam skor
İyi differansiye (yG1)	2-3
Orta differansiye (yG2)	4-6
Az differansiye (yG3)	7

Boxberg ve arkadaşları tarafından yapılan bu yeni derecelendirme sistemine göre olgular değerlendirildiğinde yeni Grade 1 (yG1), yeni Grade 2 (yG2), yeni Grade 3 (yG3) grupları ile T, N evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

DSÖ derecelendirme sistemine göre derece 1 olarak değerlendirilen 22 olgu yeni derecelendirme sistemine göre değerlendirildiğinde 8 olgu yG1, 12 olgu yG2, 2 olgu yG3 bulunmuştur. DSÖ derece 2 olan 91 olgu yeni derecelendirme sisteminde 28 olgu yG1, 49 olgu yG2, 14 olgu yG3; DSÖ derece 3 olan 17 olgu yeni derecelendirme sisteminde 11 olgu yG1, 3 olgu yG2, 3 olgu yG3 şeklinde dağılmıştır.

Yeni grade grupları ile lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir ($p>0,05$).

Yeni grade grupları ile tümörün stromal içeriği karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$).

Tümörün büyüme paterni yeni grade gruplarına göre değerlendirildiğinde yG1 olarak sınıflanan 47 olgunun 27'sinde ekspansif büyüme izlenirken; yG2 olarak sınıflanan 64 olgunun 8'inde ekspansif büyüme görülmüştür. yG3 olarak sınıflanan 19 olgunun hiçbirinde ekspansif büyüme görülmemiştir. Bulgulara göre önerilen yeni derecelendirme sisteminde grade arttıkça tümörde ekspansif büyüme görülme oranı istatistiksel olarak anlamlı olarak azalmaktadır ($p<0,05$).

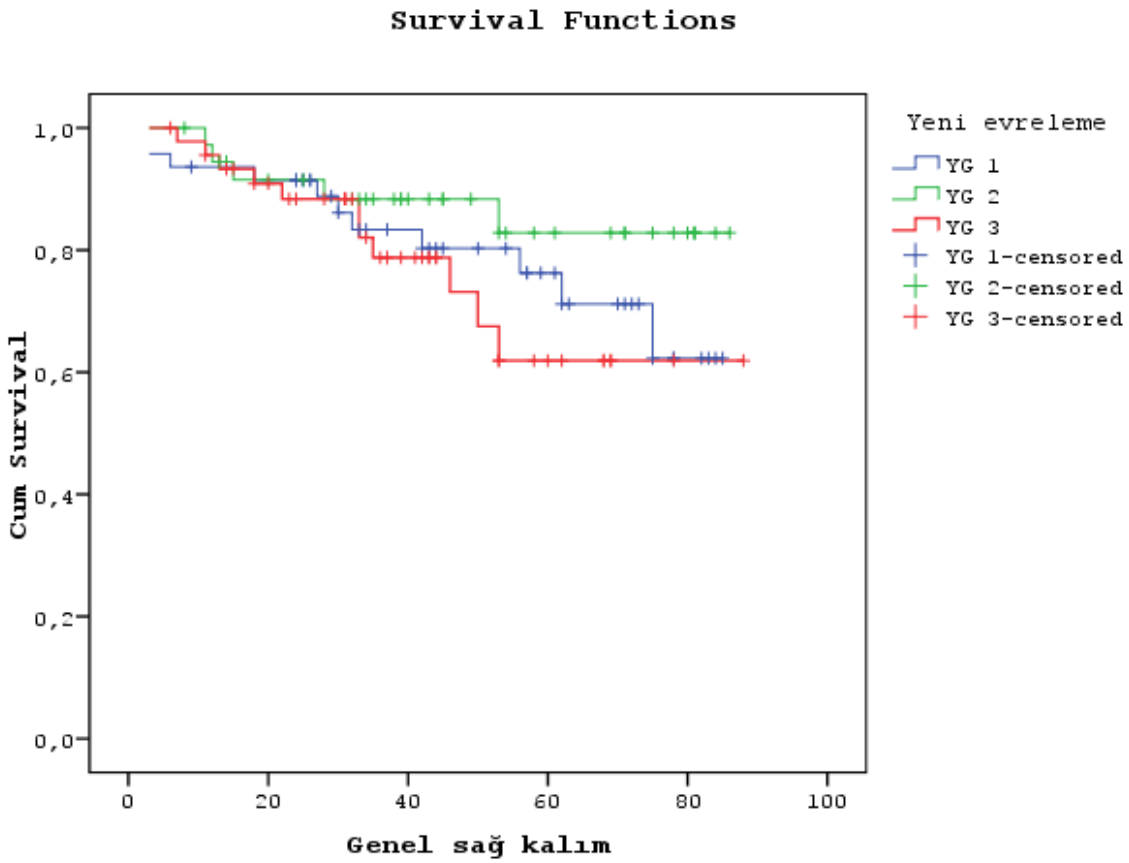
Tümöre eşlik eden lenfositik infiltrasyonun şiddetli düzeyde izlendiği 39 olgu yeni grade gruplarına dağıldığında 21 olgu yG1, 15 olgu yG2, 3 olgu yG3 olarak izlenmiştir. Olguların dağılımı incelendiğinde yeni grade sistemine göre grade düştükçe lenfositik infiltrasyonun şiddetli izlenmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05) (Tablo 16).

Tablo 16: Yeni Grade gruplarının T,N evreleri, LVİ, PNİ, lenfosit infiltrasyonu, büyüme paterni, DSÖ derece gruplarına dağılımı

		yG 1		yG 2		yG 3		p
T Evresi	**T1**	7	14,89%	1	1,56%	2	10,53%	0,067
	T2	25	53,19%	39	60,94%	6	31,58%	
	T3	11	23,40%	20	31,25%	9	47,37%	
	T4	4	8,51%	4	6,25%	2	10,53%	
N Evresi	**N0**	33	70,21%	37	57,81%	12	63,16%	0,208
	N1	2	4,26%	7	10,94%	0	0,00%	
	N2	4	8,51%	7	10,94%	5	26,32%	
	N3	8	17,02%	13	20,31%	2	10,53%	
Lenfovasküler invazyon	**Yok**	29	61,70%	38	59,38%	13	68,42%	0,776
	Var	18	38,30%	26	40,63%	6	31,58%	
Perinöral invazyon	**Yok**	39	82,98%	56	87,50%	16	84,21%	0,791
	Var	8	17,02%	8	12,50%	3	15,79%	
Grade	**Grade 1**	8	17,02%	12	18,75%	2	10,53%	0,058
	Grade 2	28	59,57%	49	76,56%	14	73,68%	
	Grade 3	11	23,40%	3	4,69%	3	15,79%	
Lenfosit infiltrasyonu	**Hafif**	9	19,15%	11	17,19%	6	31,58%	**0,039**
	Orta	17	36,17%	38	59,38%	10	52,63%	
	Şiddetli	21	44,68%	15	23,44%	3	15,79%	
Büyüme paterni	**Ekspansif**	20	42,55%	8	12,50%	0	0,00%	**0,0001**
	İnfiltratif	27	57,45%	56	87,50%	19	100,00%	
Stroma	**Fakir**	34	72,34%	38	59,38%	10	52,63%	0,223
	Zengin	13	27,66%	26	40,63%	9	47,37%	

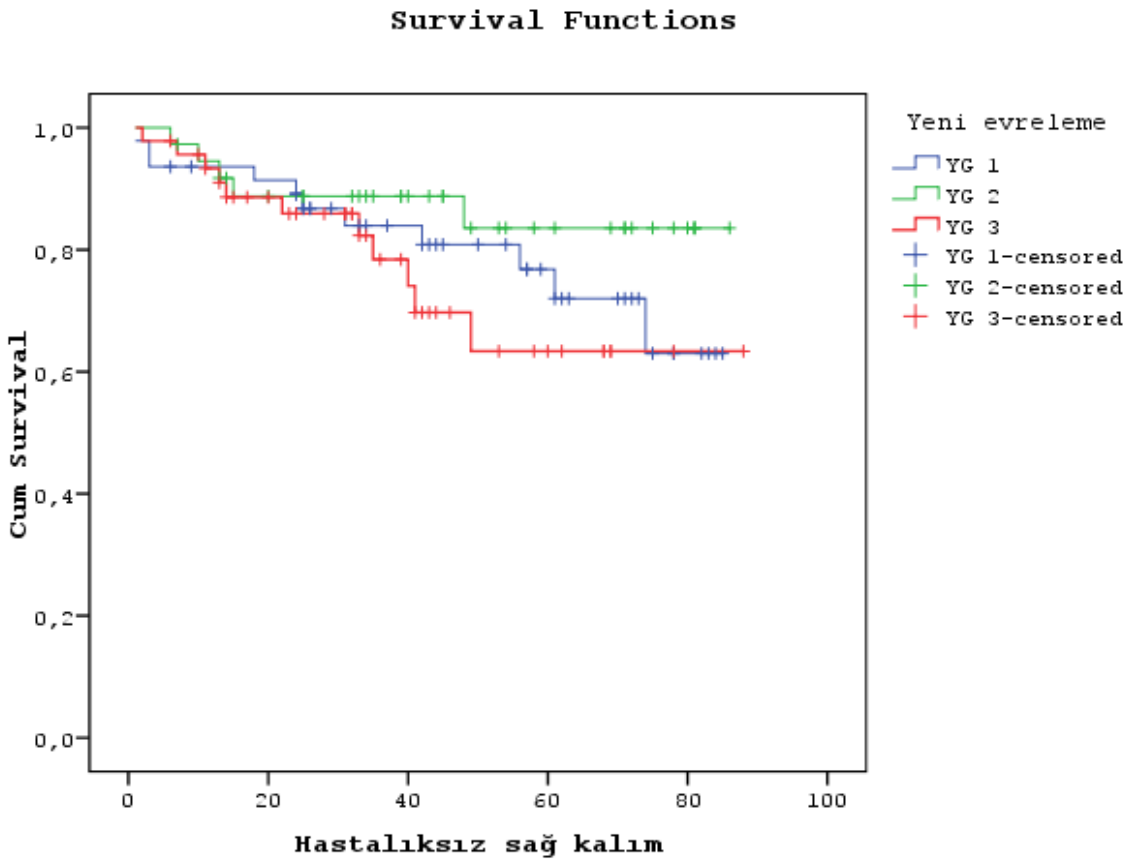
Ki Kare Testi

yG1 grubunun sağ kalım süresi ortalama 69,35 ay, 5 yıllık genel sağ kalımı %61,28-77,41 bulunmuştur. yG2 grubunun sağ kalım süresi ortalama 76,11 ay, 5 yıllık genel sağ kalımı %68,09-84,13 bulunmuş olup; yG3 grubunun sağ kalım süresi ortalama 67,76 ay, 5 yıllık genel sağ kalımı %57,84-77,68 bulunmuştur. Grupların sağ kalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05) (Şekil 16).



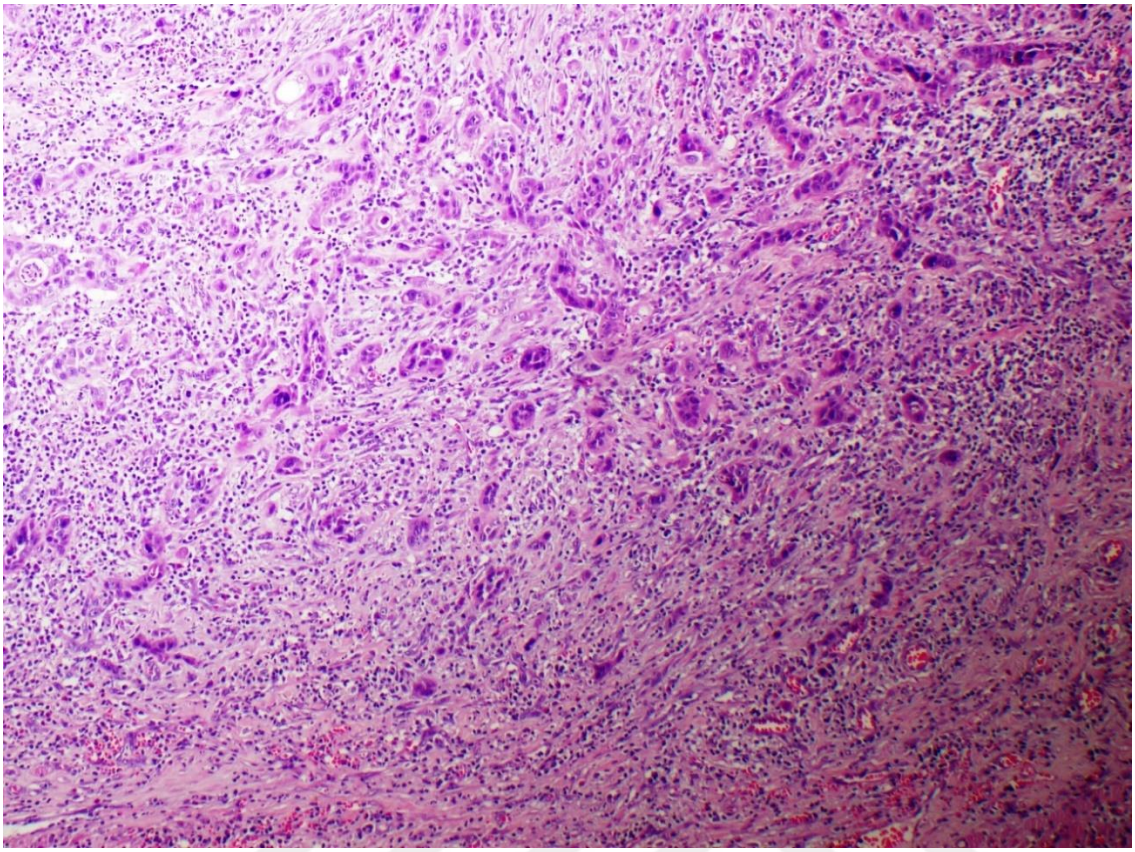
Şekil 16: Yeni grade grupları ile genel sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)

yG1 grubunun hastalıksız yaşam süresi ortalama 69,22 ay, 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı %61,13-77,39 bulunmuştur. yG2 grubunun hastalıksız yaşam süresi ortalama 75,61 ay, 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı %67,18-84,04 bulunmuş olup; yG3 grubunun hastalıksız yaşam süresi ortalama 66,62 ay, 5 yıllık hastalıksız sağ kalımı %56,06-77,18 bulunmuştur. Grupların sağ kalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05) (Şekil 17).

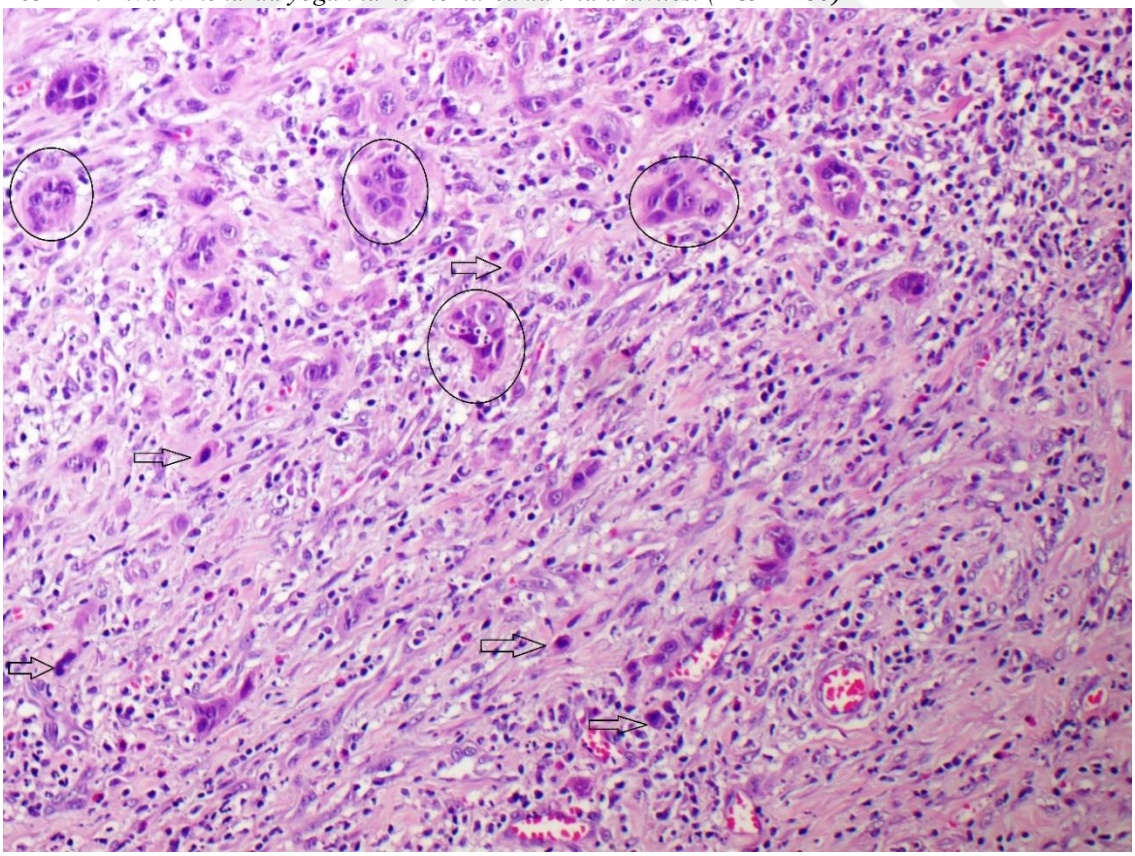


Şekil 17: Yeni grade grupları ile hastalıksız sağ kalım arasındaki ilişki (Kaplan Meier)

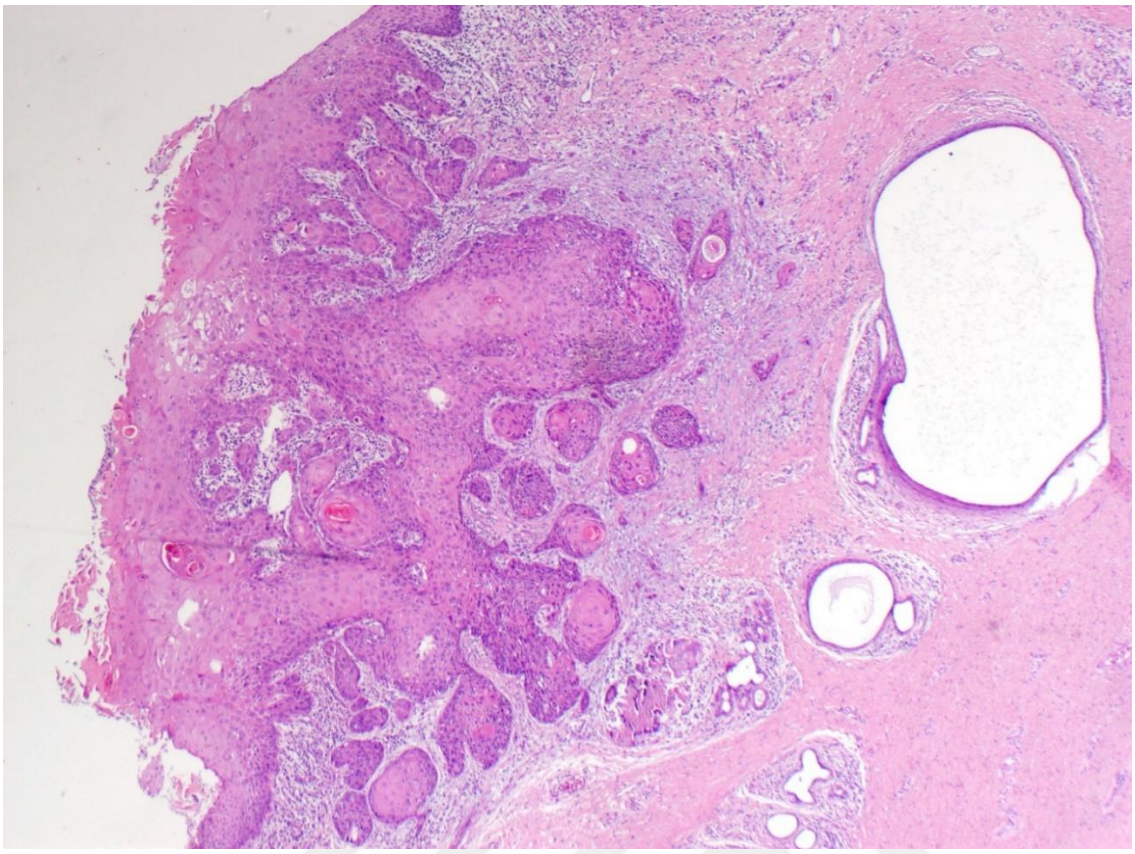
5. RESİMLER

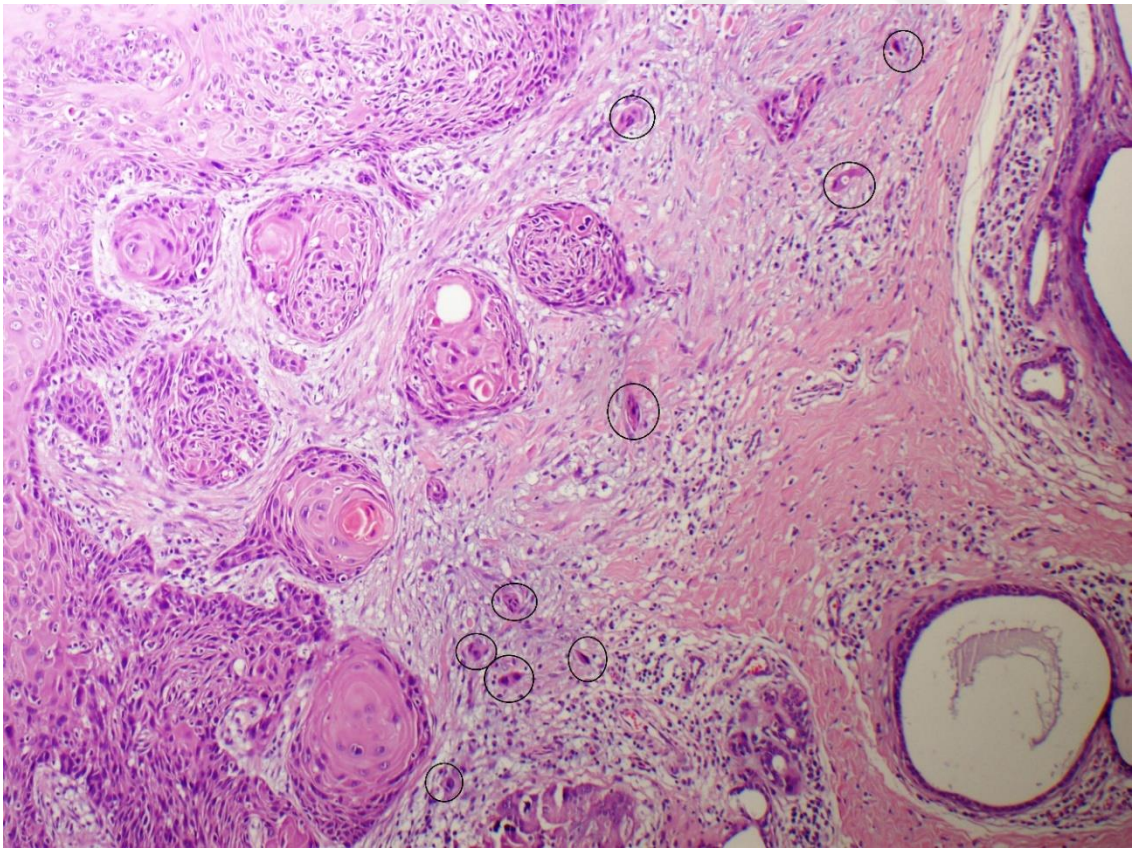


Resim 1: İnvaziv kenarda yoğun tümör tomurcuklanma aktivitesi (H&E x100)

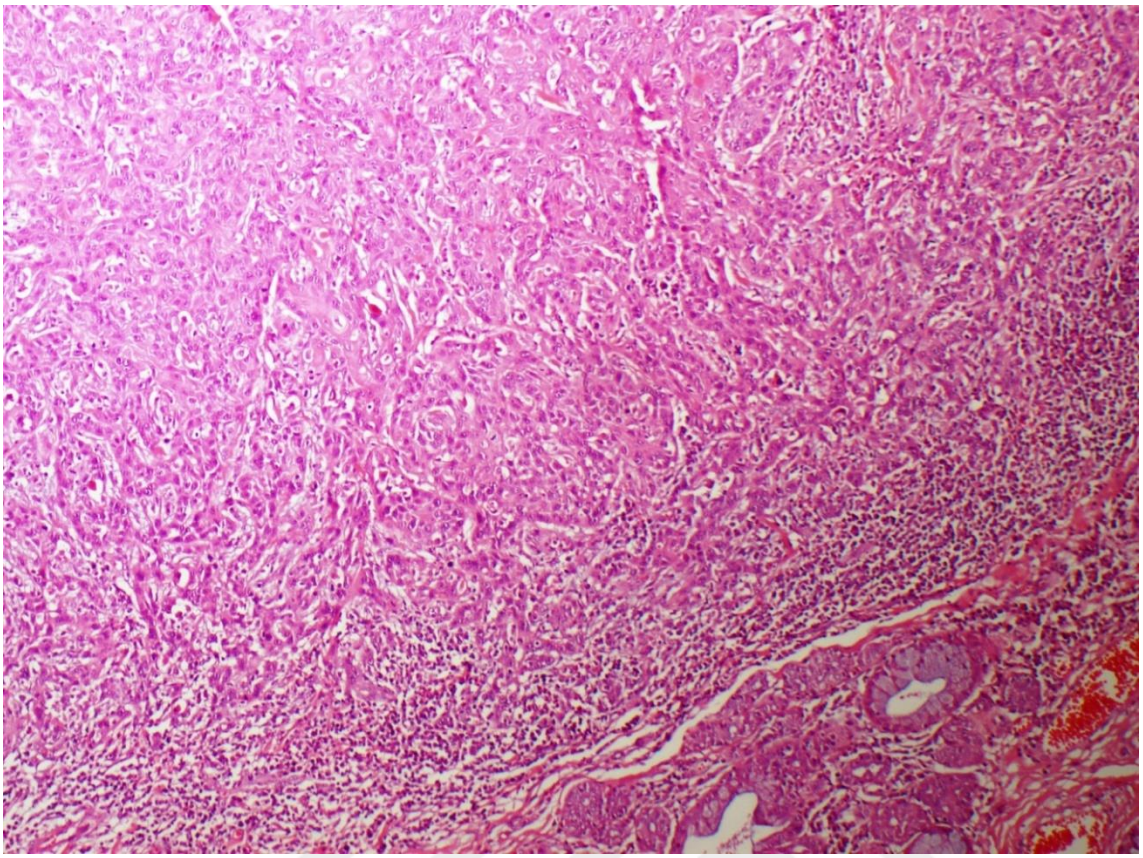


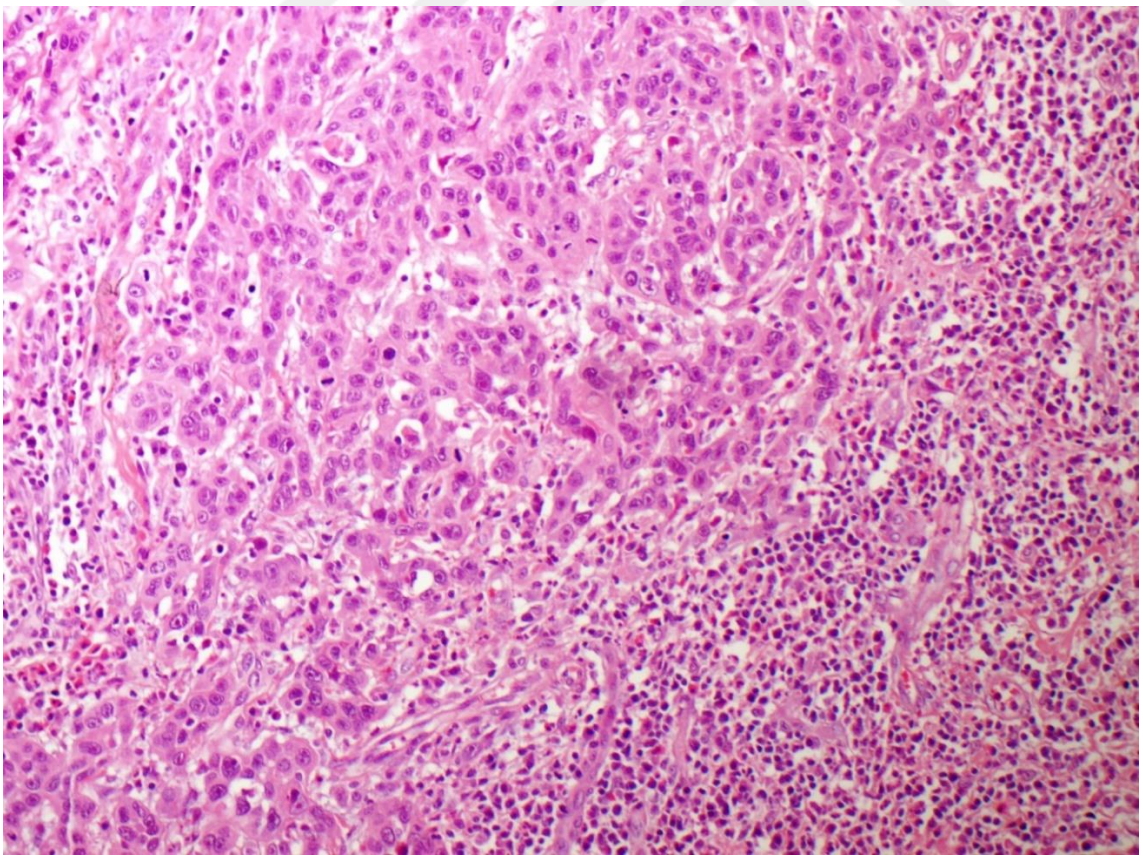
Resim 2: Resim 1'de izlenen olguda büyük büyütme görüntüsünde tek hücre invazyonları (oklar) ve daha büyük tümör hücre yuvaları (ovaller) (H&E x200)



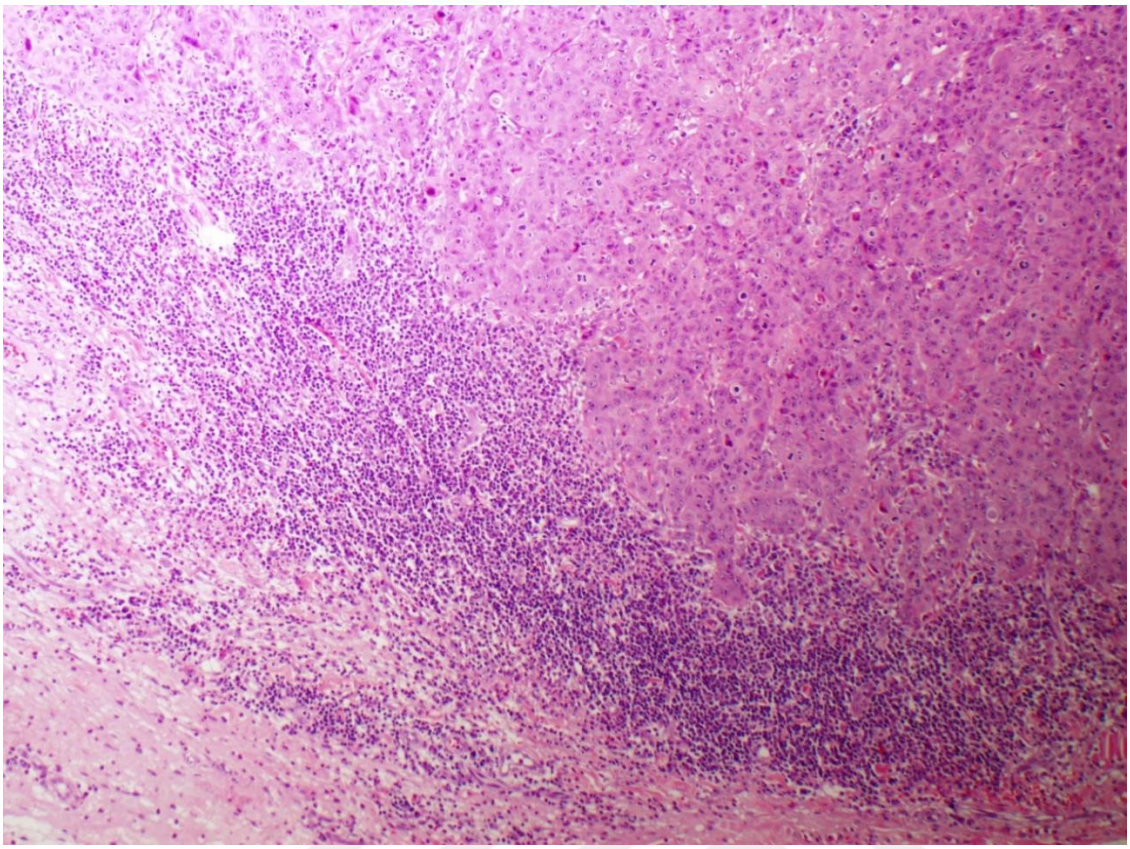


Resim 3 ve 4: Düşük lenfositik yanıt gösteren DSÖ derece 1 SHK olgusunda tümör tomurcuklanması (ovaller) (Resim 3:H&Ex20, Resim 4: H&E x200)

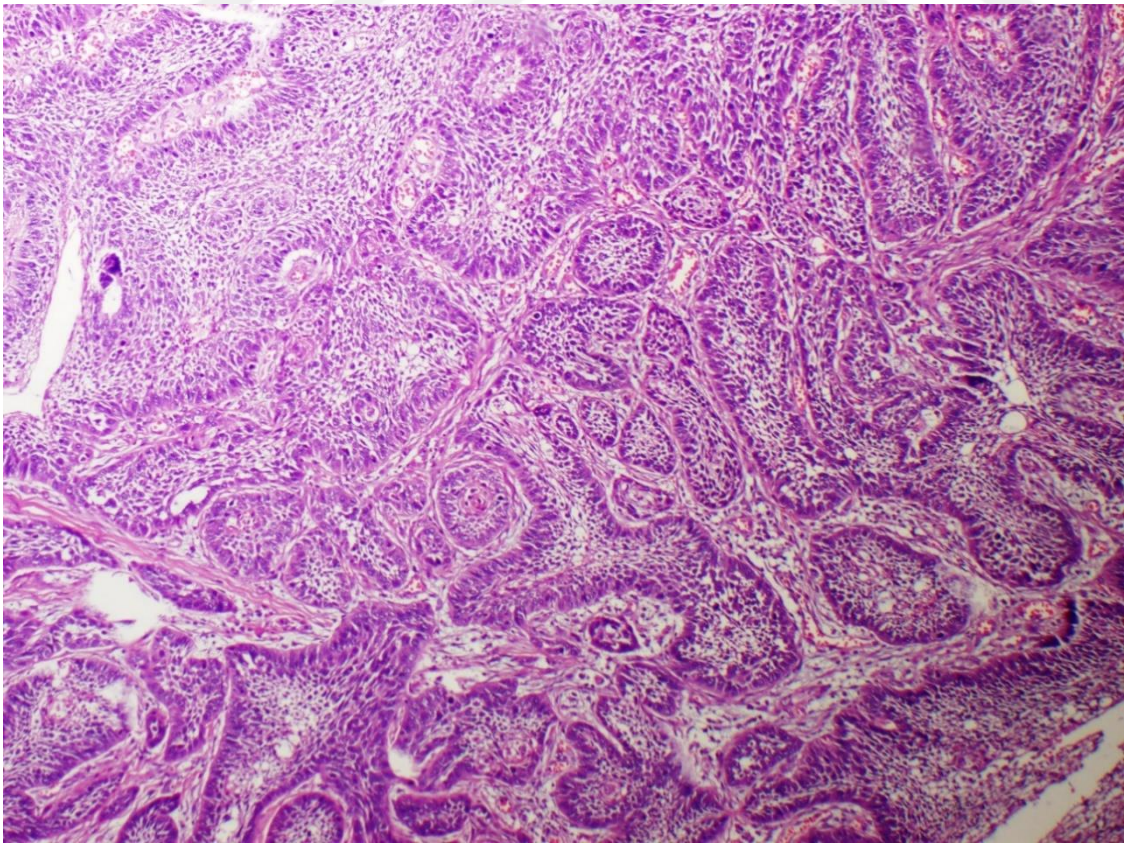




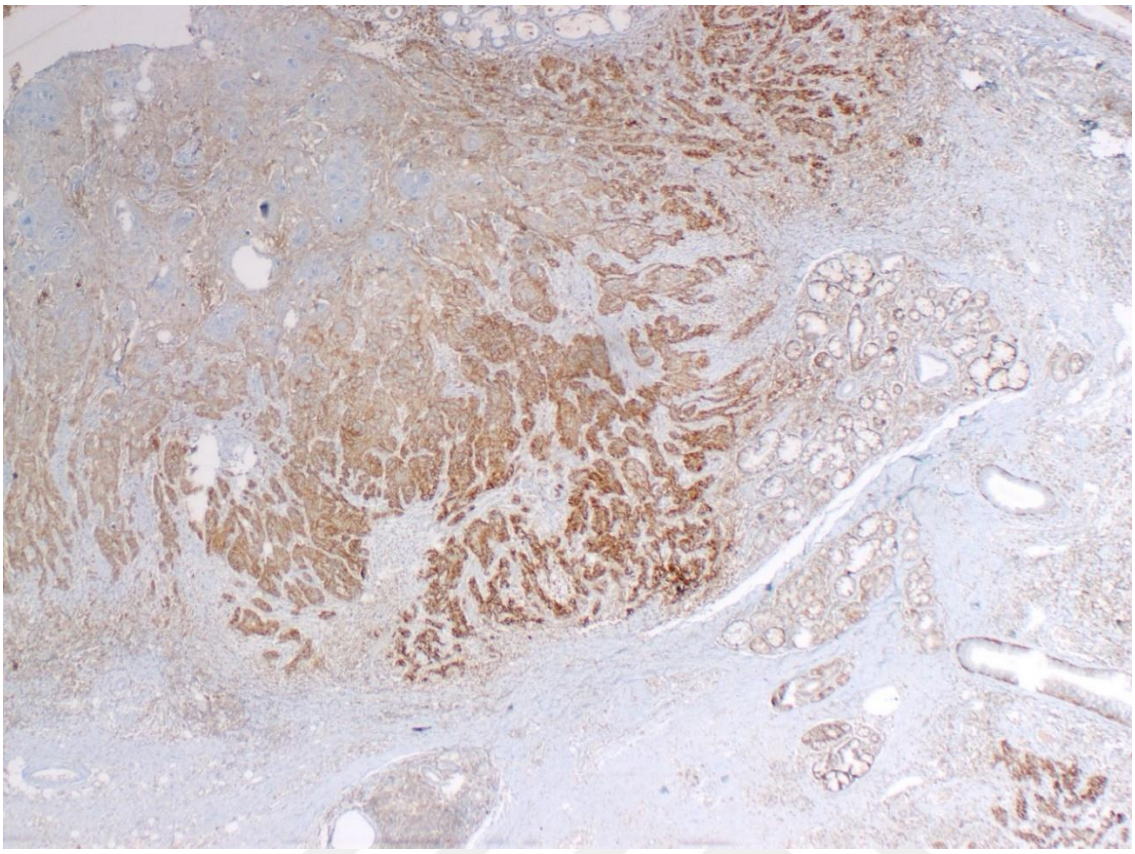
Resim 5 ve 6: Yoğun lenfositik infiltrasyonun eşlik ettiği tomurcuklanma aktivitesi göstermeyen DSÖ derece 2 SHK olgusu (Resim 5:H&Ex100, Resim 6:H&E x400)

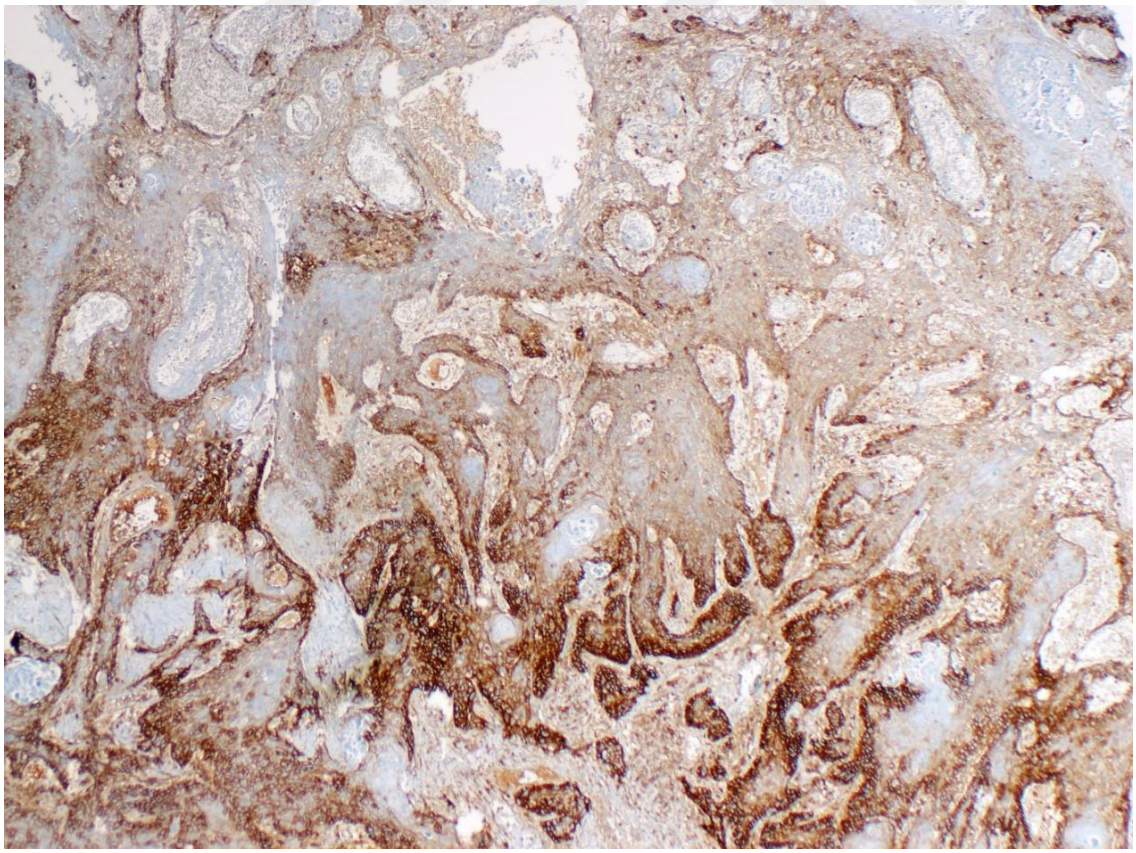


Resim 7: Yoğun lenfositik infiltrasyonun eşlik ettiği tümör tomurcuklanması izlenmeyen, ekspansif büyüme gösteren DSÖ derece 2 SHK olgusu (H&E x100)

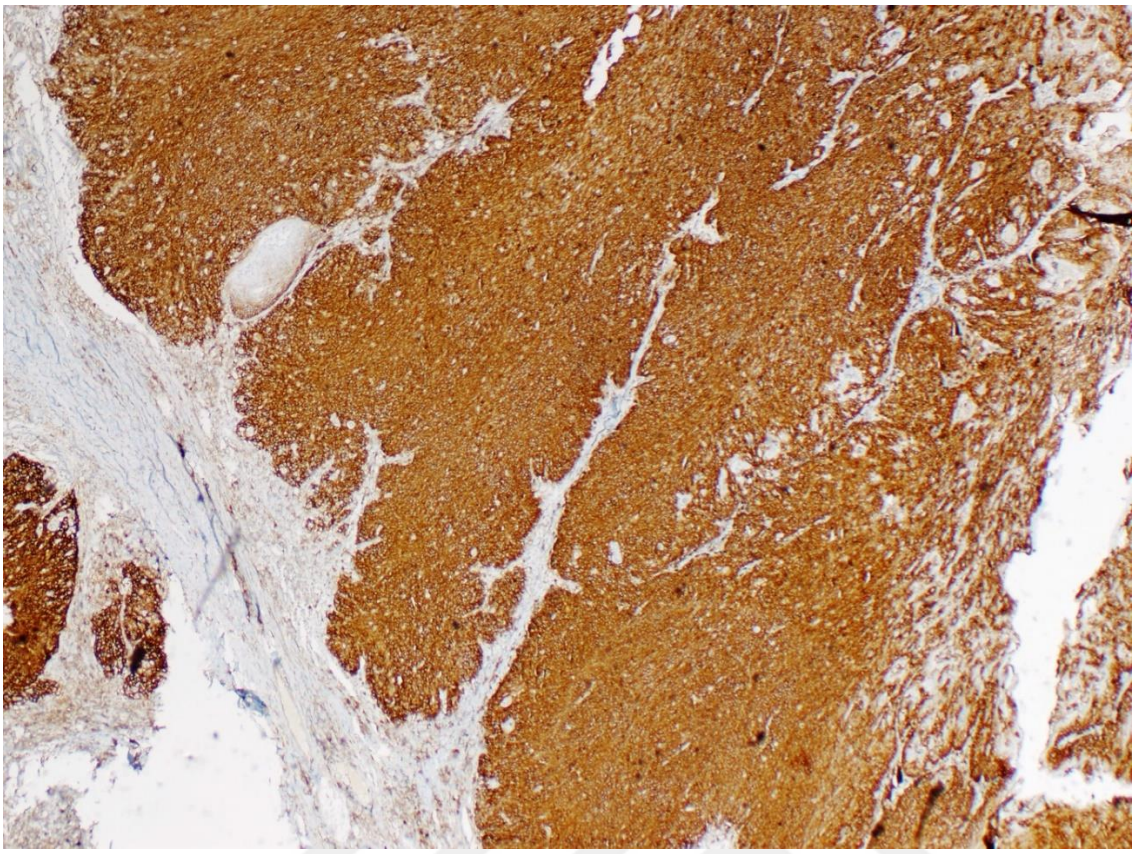


Resim 8: Bazaloid tip SHK olgusu (H&Ex40)

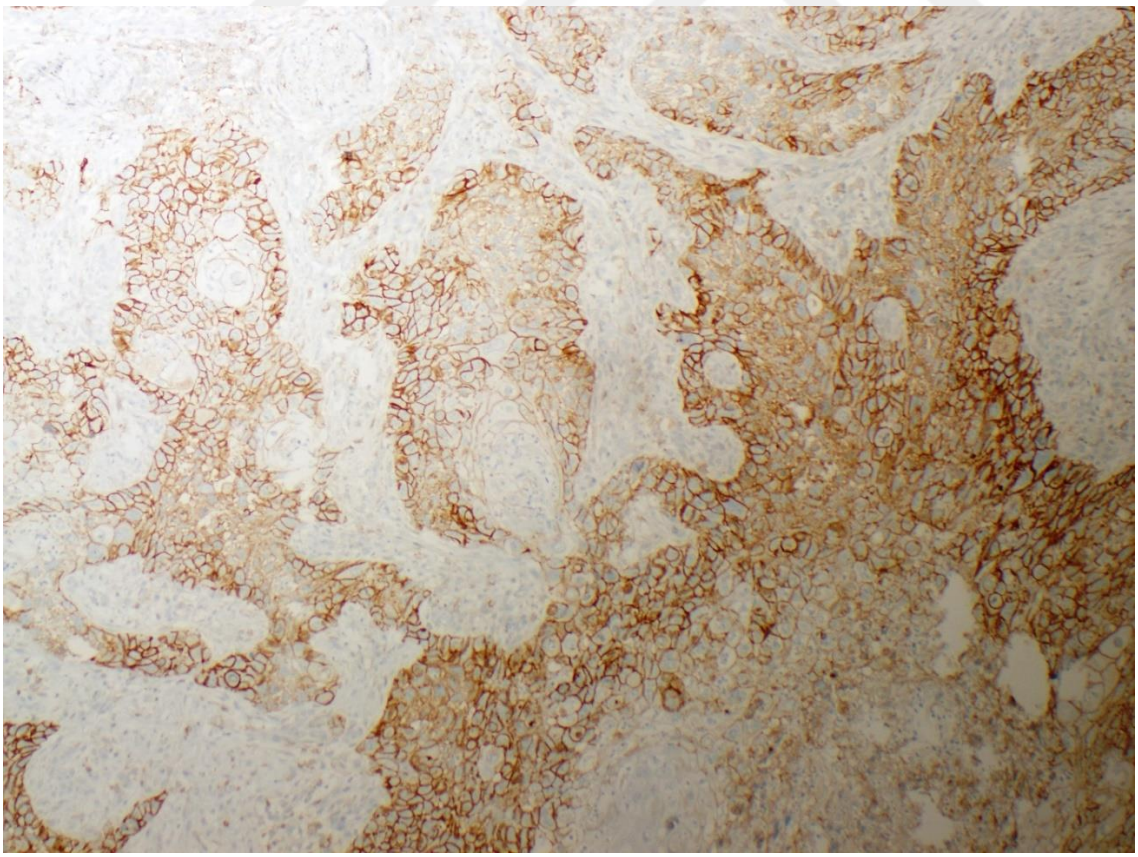




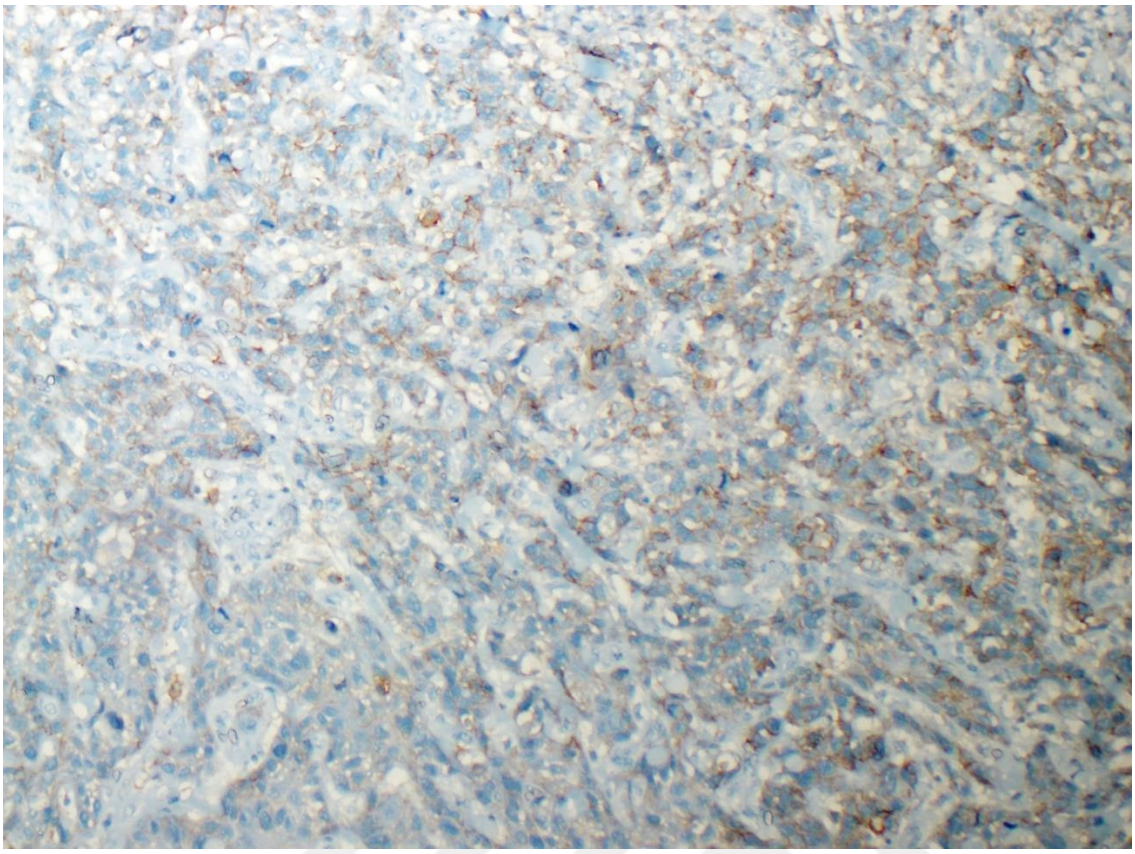
Resim 9 ve 10: İnvaziv kenarda ana tümör kitlesine kıyasla daha şiddetli CD44 ekspresyonu (Resim 8:CD44x40; Resim 9: CD44 x100)



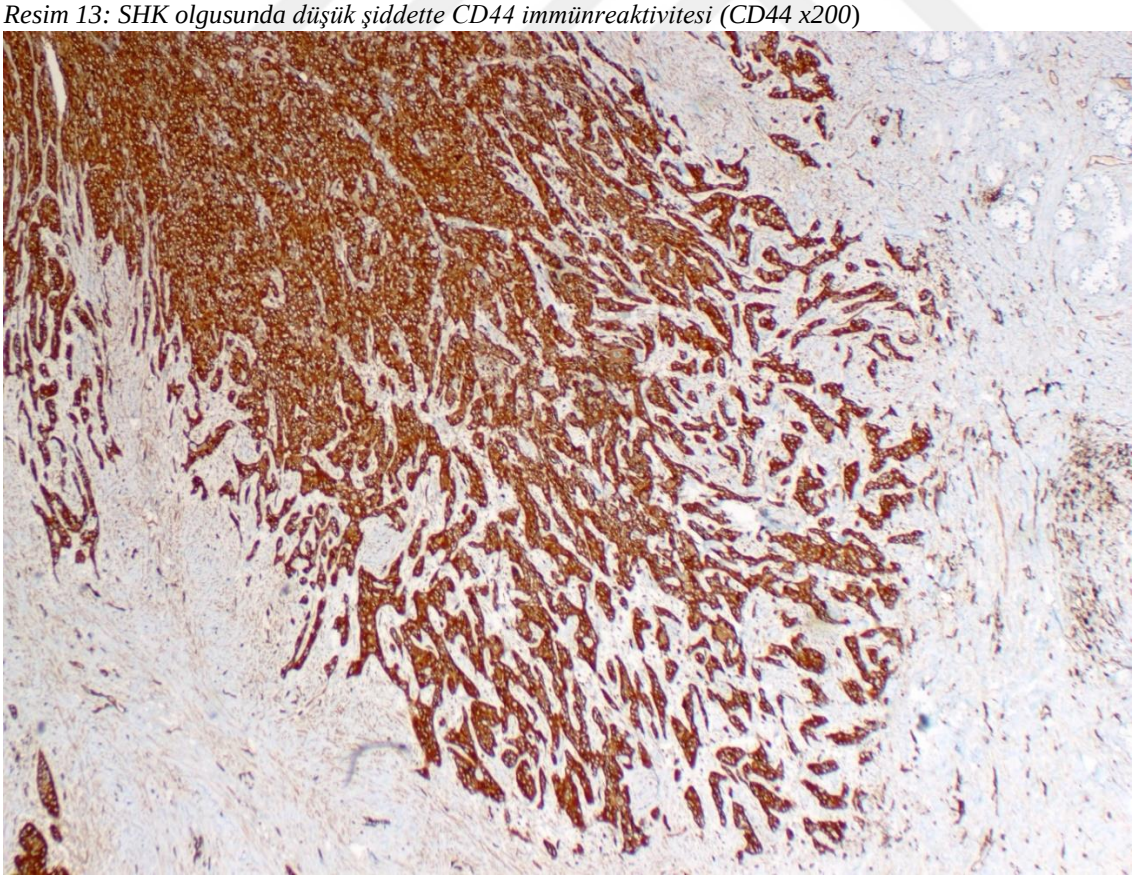
Resim 11: SHK olgusunda yüksek şiddet ve yaygınlıkta CD44 immünreaktivitesi (CD44 x40)



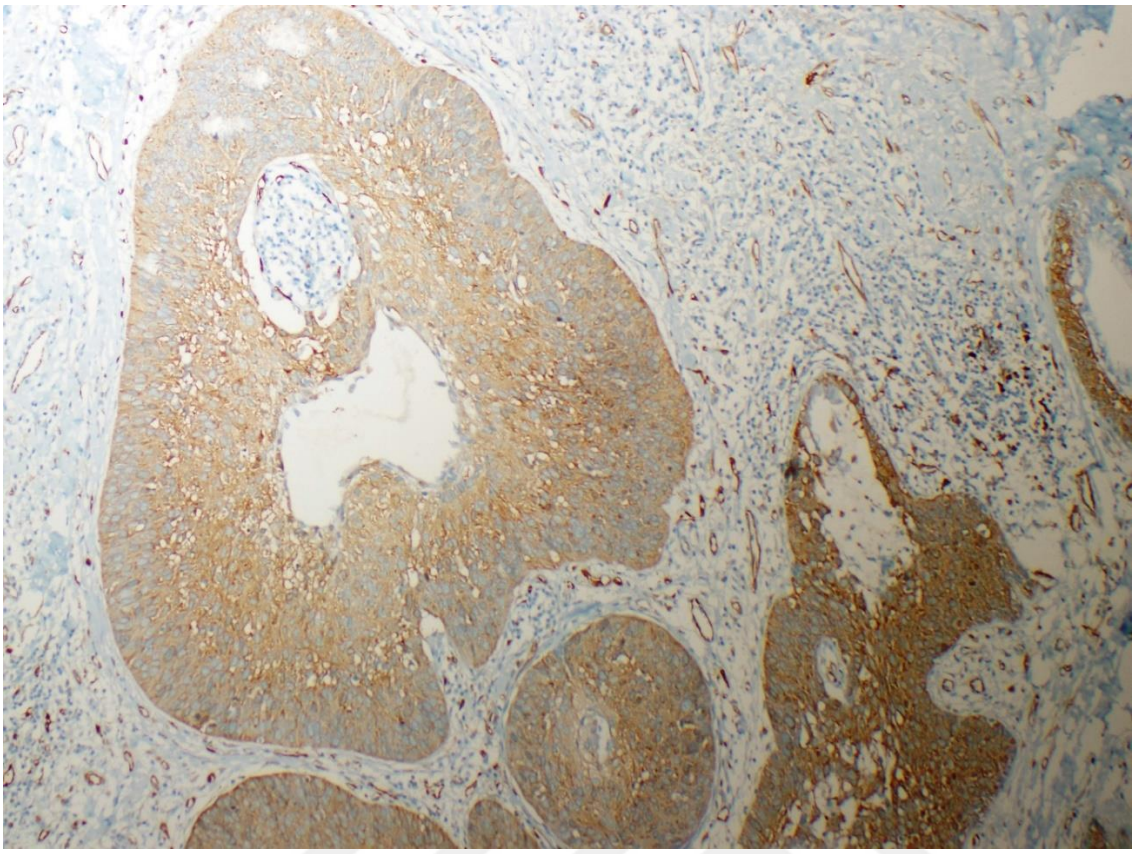
Resim 12: SHK olgusunda orta şiddet ve yaygınlıkta CD44 immünreaktivitesi (CD44 x100)



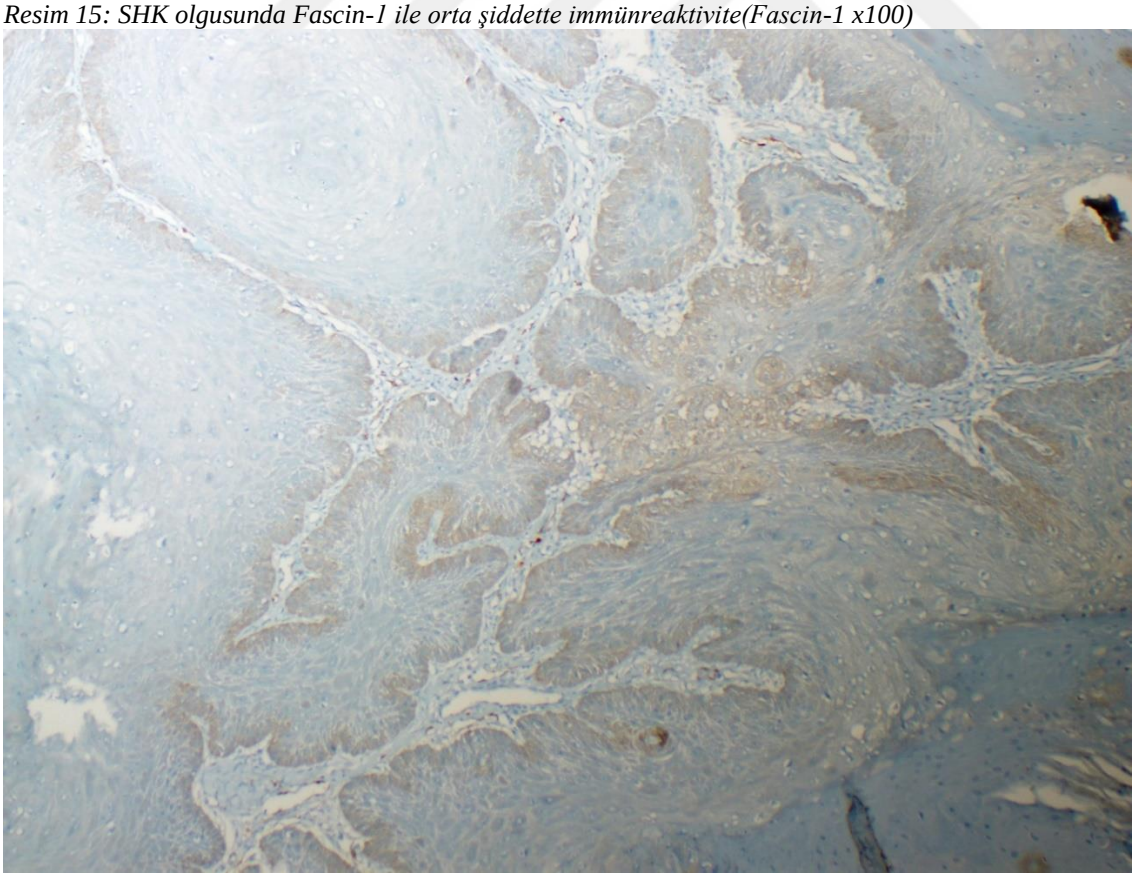
Resim 13: SHK olgusunda düşük şiddette CD44 immünreaktivitesi (CD44 x200)



Resim 14: SHK olgusunda Fascin-1 ile tümörün tamamında şiddetli immünreaktivite (Fascin-1 x40)



Resim 15: SHK olgusunda Fascin-1 ile orta şiddette immünreaktivite(Fascin-1 x100)



Resim 16: SHK olgusunda Fascin-1 ile düşük şiddet ve yaygınlıkta immünreaktivite (Fascin-1x40)

6. TARTIŞMA

Larinks karsinomları tüm vücut karsinomlarının %1-2,5'nu oluşturmaktadır ve baş boyun karsinomlarının en sık görülenidir [23]. Bu tümörlerin büyük çoğunluğunu skuamöz hücreli karsinomlar oluşturmaktadır [5]. Laringeal skuamöz hücreli karsinomun coğrafik dağılımı ülkelere ve aynı ülkenin farklı şehirlerine göre farklılık göstermektedir. Sıklıkla yaşamın 6. ve 7. dekatlarında görülmekte, çocuklarda nadiren izlenmektedir [24][25]. Erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmektedir [22][26]. Bu oran son yirmi yılda bazı bölgelerde kadınlarda artan sigara kullanımına bağlı olarak azalmaktadır [26]. Çalışmamızdaki hastaların ortalama yaşı 65 yaş olarak bulunmuştur. Yaş ortalaması olarak bulgularımız literatür ile uyumludur. Larinks karsinomları erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmektedir [22][26]. Bu oran son yirmi yılda bazı bölgelerde kadınlarda artan sigara kullanımına bağlı olarak azalmaktadır [26]. Çalışmamızda olguların sadece 2'si kadın olup, erkek cinsiyet olguların %98,46'sını oluşturmaktadır. Bu oran dünya genelindeki orana göre daha yüksek olarak izlenmiştir. Bu durumun sigara kullanım oranları, diğer çevresel etkenler ve genetik etkenlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, çalışmamız insidans veya prevelans saptamaya yönelik epidemiyolojik bir çalışma olarak planlanmamış; retrospektif olarak, tek merkeze başvuran hastalar üzerinde yapılmıştır.

Laringeal skuamöz hücreli karsinomunun larinkste topografik dağılımı coğrafik değişiklik göstermektedir. Bazı ülkelerde supraglottik tutulum sık iken bazı ülkelerde glottik tutulum daha sık izlenir [36]. En az subglottik tutulum görülür [37]. Çalışmamızda olgular tümörün lokalizasyonuna göre ayrıldığında supraglottik ve glottik tutulum eşit oranda izlenmiştir (% 32,31). Subglottik tutulum sadece 1 hastada görülmüştür, bulgularımız literatür ile uyumludur.

Larinksin skuamöz hücreli karsinomu DSÖ tarafından iyi differansiye (G1), orta differansiye (G2) ve az differansiye olmak üzere 3 gruba ayrılarak derecelendirilmiştir [21]. Bu derecelendirme sisteminin temeli 1920 yılında Broders tarafından önerilen normal skuamöz epitele benzerlik, hücresel pleomorfizm kullanılarak yapılan derecelendirme sistemine dayanmaktadır [66]. Broders'in tanımladığı bu sistem uzun yıllar boyunca kullanılsa da prognoz ile korelasyon göstermemesi, patologlar arasında tekrarlanabilirliğinin düşük olması nedeniyle yıllar içinde yeni sınıflama arayışına girilmiştir. Morfolojik bulgular temel alınarak önerilen yeni sistemlerde değişen oranlarda prognozla korelasyon bildirilmiştir [9][44][67].

Çalışmamıza alınan hastaların takiplerinde %10 hastada boyun lenf nodu metastazı ve/veya lokal nüks gelişmiş olup; %15,38'i hastalık nedeniyle ölmüştür. Rekürrensin görüldüğü hasta grubunda agresif seyrin tahmin edilememesinin nedeni raporlamada kullanılan mevcut morfolojik parametrelerin prognozu öngörmede yetersiz kalmasına bağlı olabilir. Bu nedenle prognoz tayininde morfolojik bulguların yanı sıra immünhistokimyasal ve moleküler patoloji yöntemleri kulanılarak yeni belirteç arayışı sürmektedir [68]. Tümörün agresif bir seyir gösterip kötü prognozla seyredeceği yeni yöntemlerle saptanabilirse hastaların tedavi yönetiminde farklı uygulamalar denenebilir. Biz de çalışmamızda kanser kök hücre belirteci olan CD44 ve hücrenin hareket kabiliyetinde rolü olan Fascin proteinlerinin immünhistokimyasal yöntem ile tümör dokusundaki ekspresyon düzeyini araştırdık.

Literatürde oral skuamöz hücreli karsinom ve pulmoner skuamöz hücreli karsinomlarda tümör tomurcuklanması ve hücre yuva boyutunun TNM ve AJCC sistemlerine ek olarak hastanın prognoz tayininde yardımcı bilgiler sunduğuna dair kanıtlar sunan çalışmalar mevcuttur [61]. Tümör tomurcuklanması gösteren hücreler epitelyal mezenşimal geçiş gösteren hücrelerdir [69]. Epitelyal hücreler tümörden ayrılıp epitelyal özelliklerini kaybederek mezenkimal özellikler göstererek kanser kök hücre özelliği kazanmaktadır. Kanser kök hücre özelliği kazanan bu hücreler aynı tümörün diğer hücrelerinden farklı olarak yenilenme ve metastaz kabiliyetine sahiptir. Bu nedenle kanser kök hücreleri tümörün büyümesinden, invazyon yapabilmesinden, rekürrensinden sorumlu tutulmaktadır. Melanom, akciğer, meme, kolon ve mide kanseri gibi çeşitli kanserlerde kanser kök hücrelerinin varlığı saptanmıştır [70]. CD44 bir kanser kök hücre belirtecidir ve ekspresyonu kanser kök hücrelerinin özelliğine benzer olarak tümör progresyonu, rekürrens, kemoterapi rezistansı ile korele bulunmuştur [15]. Literatürde CD44'ün birçok kanserde prognostik bir belirteç olarak kullanılabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur [71][72]. CD44 ekspresyonu birçok tümörde kötü prognozla ilişkili bulunsa da baş boyun tümörlerinde prognostik değeri henüz açık değildir [73].

Elisa, RT-PCR, mRNA analizi ve immünhistokimya gibi çok çeşitli yöntemlerle CD44'ü tespit etmek mümkündür. İmmünhistokimyasal yöntem basit, tekrarlanabilir ve maliyet etkin bir yöntem olduğundan çalışmamız immünhistokimyasal yöntem üzerine kurulmuştur.

Boxberg ve arkadaşları oral SHK'lerde CD44 ekspresyonunun histomorfolojik parametreler ve klinikopatolojik faktörlerle ilişkisini araştırmışlar; CD44 ekspresyonu ile tümör tomurcuklanması, küçük tümör hücre yuvası ve kötü differansiyasyon arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır [69]. Bu çalışmada CD44 ekspresyonu tümörün ana kitlesi ve invaziv kenarında

ayrı ayrı değerlendirilmiş; ana kitledeki CD44 ekspresyonu kötü prognozla ilişkili bulunurken invaziv kenarda izlenen CD44 ekspresyonunun prognozla ilişkisi bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda CD44 ekspresyonu tümörün ana kitlesinde boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti baz alınarak elde edilen immünreaktivite skoruna (İRS) göre düşük ve yüksek olarak gruplandırılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca tümörün invaziv kenarında CD44 ekspresyonunun bazı olgularda daha kuvvetli olduğu görülmüş bu nedenle tüm olgularda invaziv kenardaki CD44 ekspresyon şiddeti ayrıca değerlendirilmiştir. Vakalarda invaziv kenarda daha kuvvetli boyanma izlenmesinin nedeni CD44'ün invaziv özellik kazanan tümör hücresinde daha yüksek eksprese edilmesine bağlı olabilir.

Olgular pT evreleri baz alınarak düşük ve yüksek CD44 İRS'ye göre değerlendirildiğinde pT evresi arttıkça CD44 İRS skoru yüksek grupta daha fazla hastanın yer aldığı izlenmiş, ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. pT4 evresindeki 10 olgudan 8'i CD44 İRS yüksek grupta yer almaktadır ancak çalışmamızda incelediğimiz hastaların büyük çoğunluğu (pT1:10 hasta, pT2:70 hasta, pT3:40 hasta, pT4:10 hasta) pT2 evresine kümelenmiştir. Tüm evrelerde daha fazla hasta sayısı ile yapılacak çalışmalar ile CD44 ekspresyonu daha güvenilir olarak değerlendirilebilir.

Olgular tümörün stromal içeriğine göre değerlendirildiğinde küçük bir kısmının (n:48) stromadan zengin olduğu görülmüştür. Literatürde Karpathiou ve arkadaşlarının %50 cut off değerini kullanarak tümör stroması ile pT evresini değerlendirdikleri çalışmada stromadan zengin tümörlerin daha ileri evre tümörler olduğunu görmüşlerdir [62]. Çalışmamızda T3/T4 evresinde bulunan hasta sayısı 50 olup stromadan zengin tümörlerin çoğunlukla ileri evre tümörler olduğu görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmemiştir.

Tümör tomurcuklanması izlenmeyen olgular İRS'ye göre değerlendirildiğinde CD44 İRS düşük ve yüksek gruplar arasında olgu dağılımı açısından farklılık görülmemektedir; ancak tomurcuklanma izlenen olguların büyük çoğunluğu (n:48) CD44 İRS yüksek grupta yer almaktadır. Bu veriler tomurcuklanma görülen olgularda CD44 ekspresyonunun yüksek olduğunu düşündürse de istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. Tomurcuklanma ile benzer olarak tümör hücre yuva boyutu değerlendirildiğinde; CD44 İRS yüksek grupta tümör hücre yuvası boyutu düşük bulunmuştur; ancak bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

Taniguchi ve arkadaşlarının özefagus SHK'larında epitelyal mezenşimal geçiş ve CD44 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri çalışmada CD44 ekspresyonunu epitelyal mezenşimal geçişi yüksek oranda gösteren tümörlerde daha yüksek bulmuştur [74]. Okuyama

ve arkadaşları mandibular gingival SHK'lı hastalarda yüksek CD44 ekspresyonunu boyun lenf nodu tutulumu ile korele bulmuşken, larinks karsinomunda da birçok çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir [53][75][76].

Literatürde yüksek CD44 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkilendirildiği çalışmaların aksine baş boyunun farklı lokalizasyonlarında düşük CD44 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu savunan çalışmalar da vardır [13,14] [54][76-78]. Bazı çalışmalarda ise CD44 ekspresyonu ile prognoz arasında ilişki bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda da CD44 ekspresyonu ile prognostik faktörler arasında ilişki saptanmamıştır. Gerek literatürdeki çelişkili sonuçlar gerekse çalışmamız nedeniyle CD44 ekspresyonunun prognozla ilişkisi yeni ve daha yüksek hasta sayısından oluşan kapsamlı çalışmalarla tekrar gözden geçirilmelidir.

Fascin-1 (Fascin) ilk olarak 1970 yılında tanımlanmış hücre motilitesinde rol oynayan aktin bağlayıcı bir proteindir [57]. Literatürde insan kanser hücrelerinin tespiti ve tedavide yeni bir biyomarker olarak kullanılıp kullanılmayacağı üzerine çok sayıda çalışma mevcuttur. Hashimoto ve arkadaşlarının insan kanser hücrelerinde Fascinin rolünü araştırdıkları bir derleme çalışmasında, Fascinin sadece malign hücrelerden salınmadığı normal hücre yapısında da yer aldığı için hedefli tedavilerde yerinin sınırlı olduğu ancak agresif klinik gidişli tümörlerin erken evrelerinde tespitinde yol gösterici olabileceği bildirilmiştir [55]. Literatürde Jawhari ve arkadaşları in vitro ortamda kolonik kanser hücrelerinde Fascin molekülünü yüksek oranda eksprese eden hücrelerin daha yüksek oranda adezyon kabiliyeti kazandığı, daha invaziv özellikler gösterdiğini saptamıştır [58].

Cao ve arkadaşları özefagusun SHK'lerinde aralarında Fascinin de olduğu 15 hücre iskelet proteininin ekspresyonu ile sağ kalım arasındaki ilişkiyi immünhistokimyasal olarak araştırmışlar; tek başına Fascin molekülünün hastanın sağ kalımında anlamlı olmadığını bulmuşlardır. Aynı çalışmada hücre iskeletini oluşturan tüm proteinlerin bir kokteyl halinde kullanılmasının prognoz tayininde anlamlı sonuçlar verdiği bulunmuştur [78].

Zhang ve arkadaşları ise Fascin ekspresyonunun normal epitel, hiperplazik epitel, atipik hiperplazi gösteren epitel, karsinoma in situ ve invaziv karsinomlu dokular arasındaki dağılımını incelemişler; Fascin ekspresyonunun hücrenin proliferatif aktivitesine bağlı olarak arttığını bulmuşlardır. Normal epitelden invaziv karsinoma progresyonda artan Fascin ekspresyonunun erken evre özefagus SHK'nın tanınması açısından değerli olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ancak aynı çalışmada Fascin ekspresyonu ve prognostik belirteçler arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır [56]. Zhang ve arkadaşlarının çalışmalarının aksine özefagusta, küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında, meme, kolon, over, pankreas ve prostat

kanserlerinde artmış Fascin ekspresyon düzeylerinin tümör derecesi, evresi ve metastaz sıklığı ile korele olduğu ve kötü prognozla ilişkili olduğunu savunan çalışmalar mevcuttur [58][79][80].

Durmaz ve arkadaşları 30 vakadan oluşan laringeal SHK'lı bir olgu grubunda Fascin ekspresyonunu değerlendirmiş ve yüksek Fascin ekspresyonu izlenen hastaların daha kötü prognoz gösterdiği, T, N ve klinik evre arttıkça Fascin ekspresyonunun arttığı sonucuna varmışlardır [59]. Bizim çalışmamızda pT1, pT2, pT3, pT4 evreleri arasında Fascin ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bu sonucun Durmaz ve arkadaşlarının çalışması ile çelişmesinin nedeni Durmaz ve arkadaşlarının çalışmasının daha küçük bir hasta grubunda yapılması olabilir.

Gao ve arkadaşlarının 216 hastadan oluşan laringeal SHK'de Fascin, Ezrin ve Paxillin immünhistokimyasal olarak ekspresyonunun prognozla ilişkisini araştırdığı çalışmasında yüksek Fascin ekspresyonunun ileri evre (pT3, pT4), kötü differansiyasyon, lenf nodu tutulumu ve ileri klinik evreler ile (III, IV) korelasyon gösterdiği bulunmuştur [17]. Çalışmamızda Fascin ekspresyonu ile pT, pN evresi ve differansiyasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. Bulgularımızın Gao ve arkadaşlarının çalışması ile uyuşmamasının nedeni hastalarımızın erken evrelere kümelenme eğiliminden kaynaklı olabilir. Tüm evreleri temsil edecek daha geniş vaka serileri ile daha güvenilir sonuçlar elde edilebilir.

Gao ve arkadaşları çalışmalarında ayrıca supraglottik yerleşimli laringeal SHK'li hastalarda glottik tutuluma oranla daha fazla Fascin ekspresyonu izlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 42 supraglottik yerleşimli laringeal SHK olgusunun 32'sinde Fascin İRS yüksek bulunurken; benzer şekilde glottik yerleşimli 42 vakanın 30'unda Fascin İRS yüksek bulunmuştur. Laringeal SHK'nin lokalizasyonunun dağılımı coğrafik farklılık göstermektedir; bu nedenle Fascin ekspresyonunun lokalizasyona göre değişiklik gösterip göstermediği çok merkezli yeni verilerle desteklenmelidir. Ayrıca larinksin lenfatik drenajı lokalizasyona göre farklılık gösterdiğinden güvenilir sonuçlar için aynı lokalizasyondaki tümörlerin kıyaslanması daha uygun olabilir.

Papaspryrou ve arkadaşları paranazal sinüs, hipofarinks, larinks ve orofarinks SHK'li hastalardan oluşan çalışmasında Fascin ekspresyonu ile pT evresi, pM evresi, cinsiyet, lokalizasyon, hastalıksız sağ kalım ve genel sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlar; ancak hastaların pN evresi ile Fascin ekspresyonunun ilişkili olduğu sonucunu elde etmişlerdir [81]. Bizim çalışmamızda da Fascin ekspresyonu ile hastaların yaş, cinsiyet, lokalizasyon, pT, pM evreleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Zou ve arkadaşları ise laringeal SHK'li hastalarda Fascin ve E-kadherin ekspresyonunu araştırmışlar; Fascin ekspresyonunu pT evresi, lenf nodu metastazı ve histolojik derece ile ilişkili bulmuşlardır [60]. Bizim çalışmamızda boyun metastazı izlenen 48 hastanın 34'ünde Fascin İRS yüksek bulunmuş olup bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca DSÖ derecelendirme sistemine göre olgular değerlendirilmiş Fascin İRS düşük ve yüksek gruplar arasında grade dağılımı açısından farklılık görülmemiştir. Olgularımızın grade 2'de kümelenme göstermesi ve DSÖ derecelendirme sisteminin patologlar arasında tekrarlanabilirliğinin düşük olması nedeniyle bulgularımız Zou ve arkadaşlarının sonuçları ile örtüşmemiş olabilir.

Literatürde Fascin ekspresyonu ile tümörde izlenen lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, kıkırdak invazyonu, nekroz, stroma oranı, tümöre eşlik eden lenfosit infiltrasyonu ve tümörün büyüme paterni gibi prognozda yeri olabilecek diğer parametreler arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar bulunmamaktadır. Çalışmamızda tüm bu parametreler ile Fascin ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Literatürde laringeal SHK'lerde hücrenin motilitesinde rolü olduğu bilinen Fascin proteininin epitelyal mezenşimal geçişi gösteren tümör tomurcuklanmasında ekspresyonunu araştıran bir çalışma mevcut değildir; ancak Roseweir ve arkadaşları evre 2-3 kolorektal karsinomlu hastalarda tümörün içindeki tomurcuklanma ile epitelyal mezenşimal geçişle ilişkili olduğu düşünülen Fascin, Snail, E-kadherin, β-catenin ve Zeb-1 proteinleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır [82]. Bu proteinlerin her biri ile tümörün evresi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamış olup, proteinlerin kokteyl halinde kullanılması durumunda evre ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızda ise tümörün invaziv kenarındaki tomurcuklanma araştırılmış olup; tümör tomurcuklanması izlenen 82 hastadan 58'i yüksek Fascin İRS skoruna sahiptir; ancak bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Literatürde tek başına Fascin ekspresyonunun anlamlı sonuçlar vermediği başka çalışmalar da mevcuttur [78][82]. Bu nedenle Fascin proteinin hücre iskeletinde rolü olan diğer proteinlerlerle kombine olarak kullanılması daha yararlı sonuçlar verebileceği düşünülebilir.

Çalışmamızda ekspresyonlarını araştırdığımız CD44 ve Fascin proteinleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Her iki proteinin birbiri ile korele artış gösterdiği görülmüştür; diğer değişkenler ile anlamlı sonuçlar elde edilememesinin nedeni hastaların homojen dağılım göstermemesinden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca immünhistokimyasal olarak kullanılan antikor klonları teknik uygulama ve değerlendirmedeki farklılıklar literatürdeki farklı sonuçların nedeni olabilir.

İmmünhistokimyasal yöntemler diğer yöntemlere göre her ne kadar pratik ve tekrarlanabilir olsa da patologlar için morfolojik değerlendirme önceliğini güvenilirliğini ve maliyet etkinliğini korumaktadır. Bu nedenle yeni bir derecelendirme sistemi arayışına histomorfolojik bulgular ile katkı sağlayabilmek için çalışmamızda tümör tomurcuklanması ve invaziv alandaki tümör hücre yuvalarının varlığını araştırdık.

Literatürde larinkste tümör tomurcuklanması ilk olarak Sarıoğlu ve arkadaşları tarafından çalışılmış olup, bu çalışmada belirgin tümör tomurcuklanmasının hastalıksız sağ kalım ile ilişkili bulunmuştur [83]. Sarıoğlu ve arkadaşlarının çalışmasına benzer olarak Ekmekçi ve arkadaşları ise çalışmalarında tümör tomurcuklanması ile boyun metastazı, LVİ ve PNİ arasında anlamlı ilişki saptamışlardır [84]. Sarıoğlu ve Ekmekçi bu çalışmalarında tomurcuklanmayı 5 ve daha az sayıdaki dedifferansiye tümör hücreleri olarak tanımlamışlar; tümör tomucuklanma aktivitesini ise invaziv sınırdaki tomurcuk yaygınlığına göre hafif/orta/belirgin şeklinde semikantitatif olarak belirlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda ise tomurcuklanma aktivitesi daha kantitatif ve tekrarlanabilir olması nedeniyle Boxberg ve arkadaşlarının önerdiği şekilde 10 BBA'da 15'in altı düşük tümör tomurcuklanması; 15 ve üzeri ise yoğun tümör tomurcuklanması olarak değerlendirilmiştir. Tomurcuklanma izlenmeyen hastaların 5 yıllık hastalıksız sağ kalımları %63,64-78 bulunurken; düşük tomurcuklanma olan grupta %69,59-83,95, yoğun tomurcuklanma izlenen grupta %36,73-62,89 bulunmuştur. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlıdır. Tümör tomurcuklanması yoğun olan hasta grubunun hastalıksız sağ kalımı belirgin olarak düşmektedir. Ayrıca hastaların genel sağ kalımları değerlendirildiğinde tomurcuklanma izlenmeyen grubun 5 yıllık genel sağ kalımı %63,87-79,01; düşük tomurcuklanma izlenen grubun genel sağ kalımı %70,66-84,13; yoğun tomurcuklanma izlenen grubun genel sağ kalımı %39,01-64,07 olarak bulunmuştur. Hastalarda tomurcuklanma aktivitesi arttıkça genel sağ kalım süresi de anlamlı olarak düşmektedir. Tümör tomurcuklanmasının hasta prognozunda önemli bir yere sahip olduğu bulunmuştur. Hastanın sürvi tahmininde önemli bir yeri olduğu birçok çalışma ile desteklenen tümör tomurcuklanması yeni bir derecelendirme sistemi çalışmalarının bir parametresi olma yönünde umut vadetmektedir.

Çalışmamızda yoğun tümör tomurcuklanması varlığında tümöre eşlik eden lenfositik infiltrasyonun hafif düzeyde olduğu bulunmuştur. Literatürde Schneider ve arkadaşları tarafından baş boyunun skuamöz hücreli karsinomlarında immün yanıtın değerlendirildiği bir çalışmada düşük lenfositik yanıt kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur [85].

377 hastadan oluşan bir çalışmada Özefagus skuamöz hücreli karsinomunda tümöre eşlik eden lenfositik yanıtın bağımsız bir prognostik parametre olduğu gösterilmiştir[86]. Benzer olarak özefagus ve gastroözefagial bileşke tümörlerinde düşük lenfositik yanıt ve tümör tomurcuklanmasının kötü prognozla ilişkili olduğunu bildiren başka bir çalışma daha mevcuttur [87]. Tümör tomurcuklanmasının kötü prognozla ilişkili olduğu göz önüne alındığında düşük lenfositik yanıta sahip hastalarda hastalıksız sağ kalımın düştüğü öngörülebilir.

Olgular tümörün stromal içeriğine göre değerlendirildiğinde küçük bir kısmının (n:48) stromadan zengin olduğu görülmüştür. Literatürde Karpathiou ve arkadaşlarının %50 cut off değerini kullanarak tümör stroması ile pT evresini değerlendirdikleri çalışmada stromadan zengin tümörlerin daha ileri evre tümörler olduğu görülmüştür [62]. Çalışmamızda pT3/T4 evresinde bulunan hasta sayısı 50 olup stromadan zengin tümörlerin çoğunlukla ileri evre tümörler olduğu görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmemiştir. Ayrıca stromadan zengin olarak değerlendirilen 48 hastanın 34'ünde tümör tomurcuklanması görülmüştür, ancak istatistiksel olarak tümör tomurcuklanması ve stroma arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Tümörün stromal yanıtının bağımsız bir prognostik parametre olarak değerlendirilebilmesi için histomorfolojik bulgular yeterli olmayabilir; bu nedenle Shin ve arkadaşlarının önerdiği gibi fibroblastik aktiviteyi gösteren ek moleküler çalışmalar stromal yanıtı belirlemede yarar sağlayabilir [88].

Literatürde tümör tomurcuklanmasının yanı sıra verilerin prognostik değerini arttırmak ve gözlemciler arası değişkenliği azaltmak amacıyla ek sistemler önerilmiştir. Bunlardan biri olan tümör tomurcuklanması ve invazyon derinliği ölçümünün birlikte kullanıldığı sistemin bağımsız prognostik bir parametre olduğu çok sayıda çalışma ile doğrulanmıştır[67][89]. Ancak invazyon derinliği tümörün derecesinden çok evreyle ilgili bilgi vermektedir ve yalnızca rezeksiyon materyalinde değerlendirilebildiğinden yeni sistem arayışı sürmektedir. Bu nedenle ilk olarak akciğerin SHK'larında önerilen ve T, N, klinik evreler ile anlamlı ilişkisi saptanan tümör hücre yuva boyutu baş boyun kanserlerinde araştırılmaktadır [64].

Boxberg ve arkadaşları oral skuamöz hücreli karsinomlarda hücre yuva boyutu ve tümör tomurcuklanmasını skorladıktan sonra skorları toplayarak yeni bir skor elde etmişler ve bu skorlara göre yeni bir derecelendirme sistemi önermişlerdir. Önerilen bu yeni derecelendirme sistemi hastalıksız sağ kalım ile ilişkili bulunmuştur. Benzer olarak aynı derecelendirme sistemi Jesinghaus ve arkadaşları tarafından özefagial SHK'lerde önerilmiş, yeni oluşturulan derece grupları ile hastalıksız sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptamışlardır [90].

Boxberg ve arkadaşları tarafından önerilen aynı derecelendirme sistemi laringeal ve hipofaringeal SHK'lı hastalarda değerlendirilmiş ve hastaların hastalıksız ve genel sağ kalım süreleri ile anlamlı ilişkiye sahip olduğu izlenmiştir [61]. Çalışmamızda önerilen bu yeni derecelendirme sistemi esas alınarak olgular üç yeni grade grubuna ayrılmış; bu grupların T,N evreleri; LVİ, PNİ, DSÖ derecelendirme sistemi, lenfositik infiltrasyon, stroma, büyüme paternine göre dağılımı ve sağ kalım süreleri ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Olgularımızı sınıflandırdığımızda 47 olgu (%36,15) yeni sınıflamaya göre G1, 64 olgu (%49,23) G2, 46 olgu (%14,61) G3 olarak değerlendirilmiştir.

Gruplar pT ve pN evresi, LVİ, PNİ ve stroma durumuna göre değerlendirildiğinde dağılımlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. DSÖ derecelendirme sistemine göre grade 1 olarak değerlendirilen 22 olgunun yeni derecelendirme sistemine göre 8'i yG1, 12'si yG2, 2'si yG3 olarak bulunmuştur. DSÖ'ye göre Grade 2 olarak değerlendirilen 91 olgunun 28'i yG1, 49'u yG2, 14'ü yG3 olarak; DSÖ grade 3 olan 17 olgunun 11'i yG1, 3'ü yG2, 3'ü yG3 olarak izlenmiştir. Bu sonuçlara göre DSÖ grade 2 olarak değerlendirilen olguların bir kısmı yeni sınıflamada gradeler arasında daha homojen dağılmıştır.

Yeni derecelendirme sisteminin tümöre eşlik eden lenfositik infiltrasyonun yoğunluğuna göre dağılımı incelendiğinde şiddetli lenfositik infiltrasyonun görüldüğü 39 olgunun 21'i yG1 olarak bulunmuştur. Orta düzeyde lenfositik infiltrasyon görülen 75 olgunun 49'u yG2, hafif lenfositik infiltrasyon görülen 26 olgunun 9'u yG1, 11'i yG2, 6'sı yG3 olarak izlenmiştir. Buna göre olguların derecesi arttıkça eşlik eden lenfositik infiltrasyon istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmaktadır ($p<0,05$). Bu bulgular düşük lenfositik yanıtın kötü prognozla ilişkili olduğu görüşünü destekler niteliktedir. Tümöre eşlik eden lenfositik infiltrasyon hastaların prognoz tayininde kullanılabilecek önemli bir parametredir.

Çalışmamızda yeni derecelendirme sistemi ile hastalıksız ve genel sağ kalım süreleri arasındaki ilişki de araştırılmıştır. Grade arttıkça sağ kalım sürelerinin düştüğü izlense de istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmemiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar Boxberg ve arkadaşlarının sonuçları ile örtüşmemektedir. Bu nedenle önerilen bu yeni derecelendirme sistemi; hasta prognozunda etkili olabilen tedavi yönetimi, coğrafya, sosyoekonomik koşullar gibi diğer nedenlerin etkisini minimalize eden yeni çalışmalarla desteklenmelidir.

Boxberg ve arkadaşlarının bu çalışmasında da öne sürdüğü üzere larinkste en fazla tek hücre invazyonu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da en yüksek oranda tek hücre invazyonu

izlenmiştir. Olgular T evrelerine göre değerlendirildiğinde T1 evresindeki tümörlerde izlenen tümör hücre yuvası en çok büyük yuva (>15) şeklinde, T2 evresindeki tümörlerde en çok 2-3 hücreden oluşan yuva, T3 ve T4 evresinde en çok tek hücre invazyonu şeklinde izlenmiştir. T evresi arttıkça hücre yuvalarının boyutu küçülmektedir, ancak bu değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmamaktadır ($p>0,05$). Ayrıca olgularda boyun metastazı varlığında N2 ve N3 evresinde N1 evresine kıyasla daha çok tek hücre invazyonu izlenmiştir.

Çalışmamızda tümöre eşlik eden lenfositik infiltrasyon tümör hücre yuvalarına göre dağılımı değerlendirildiğinde tek hücre invazyonunun görüldüğü olgularda eşlik eden lenfositik infiltrasyon daha düşük düzeyde bulunmuştur. Bu sonuçlar tümöre eşlik eden yüksek lenfositik infiltrasyonun iyi prognozla ilişkili olduğuna dair bir kanıt olabilir. Ayrıca yüksek lenfositik infiltrasyon durumunda tek hücre invazyonunun zorlaştığı göz önüne alındığında immün yanıtın desteklenmesi yoluyla tümör invazyonunun önüne geçilebilir.

Boxberg ve arkadaşları önerilen yeni derecelendirme sisteminin patologlar arasında ve aynı patoloğun yineleyen bakıları arasındaki uyumunu araştırmak üzere oral skuamöz hücreli 108 vakayı tekrar değerlendirmişlerdir [65]. Bu çalışma patologlar arasındaki uyumun düşük olduğu DSÖ derecelendirme sisteminin aksine yeni önerilen sistemin daha tekrarlanabilir olduğunu gösterse de tüm dünyada daha çok merkezde daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamız retrospektif olarak kurgulanmıştır ve belli bir zaman diliminde hastanemize başvurmuş hastalar üzerinden yapılmıştır, bu nedenle bulgularımız genel popülasyonu yansıtmıyor olabilir. Benzer şekilde literatürde yer alan çalışmaların çoğu da retrospektif olarak tek merkezli kurgulanmıştır. Geriye yönelik tekrar değerlendirilen olgularda ilk makroskopik inceleme ve örnekleme sayısı yetersiz kalabilmektedir. Çalışmamızda olgulara ait tüm lamlar incelenmiştir, tüm morfolojik bulguları temsil eden bloklar seçilerek immünhistokimyasal çalışmalar uygulanmıştır. Diğer morfolojik bulguların değerlendirilmesi tüm lamlar üzerinden yapılmış olup örnek sayısı olguların büyük çoğunluğunda yeterlidir.

Laringeal karsinomlarda halihazırda kullanılan DSÖ derecelendirme sistemi, sübjektif kriterlere dayanmaktadır ve patologlar arası tekrarlanabilirliği düşüktür. Bu nedenle prognoz tahmininde yeni bir marker ya da morfolojik bulgu arayışı doğmuştur. Çalışmamızda CD44 ve Fascin ekspresyonu prognozla ilişkili bulunmamıştır. Prognoz tahmininde ve tedavi yönetiminde etkili olabilecek yeni belirteçlerin bulunabilmesi için yeni ve kapsamlı immünhistokimyasal ve moleküler çalışmalara bu alanda ihtiyaç vardır. Bu çalışmaların yanı sıra patologlar için morfolojik bulgu değerlendirmesi önceliğini ve önemini hala korumaktadır.

Morfolojik bulgulardan tümör tomurcuklanması hastaların yaşam beklentisini öngörmede anlamlı ipuçları vermektedir. Tümör tomurcuklanmasına ek olarak farklı morfolojik bulguların kullanımı ile oluşturulan yeni derecelendirme sistemleri önerilmektedir. Bu sistemlerin yaygın olarak kullanıma girebilmesi için daha geniş hasta serilerinden oluşan kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. SONUÇLAR

Çalışmamızda laringeal skuamöz hücreli karsinomlarda Fascin-1 ve CD44 ekspresyonlarının klinikopatolojik parametreler ve hastaların sürvileri ile ilişkileri araştırılmıştır.

Şu sonuçlara ulaşılmıştır:

1. Hastaların yaşı ortalama 65 olup literatür ile uyumludur ve erkek cinsiyet literatüre göre daha baskın izlenmektedir.
2. Olgular tümörün lokalizasyonuna göre ayrıldığında supraglottik ve glottik tutulum eşit oranda izlenmiş, subglottik tutulum yalnızca bir olguda görülmüştür.
3. Olguların büyük çoğunluğu pT2 evresinde kümelenmiştir.
4. Stromadan zengin tümörler çoğunlukla pT3/T4 evresinde izlenmiştir ancak hastaların evresi ve tümör stroması arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.
5. CD44 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.
6. CD44 ekspresyonu ile hastaların genel ve hastalıksız yaşam süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir.
7. CD44 bazı olgularda tümörün invaziv kenarında, ana tümör kitlesine kıyasla daha kuvvetli ekspresyon göstermektedir.
8. Yüksek CD44 ekspresyonu gösteren hastaların ileri pT evresinde bulunma olasılığı yüksektir ancak T evresi ve CD44 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir.
9. Tümör tomurcuklanması izlenen olgular daha yüksek CD44 ekspresyonu göstermektedir ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
10. Hücre yuva boyutu düştükçe CD44 ekspresyonunun daha yüksek olduğu izlenmiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

11. Fascin-1 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.
12. Fascin-1 ekspresyonu ile hastaların genel ve hastalıksız yaşam süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir.
13. pN evresi arttıkça Fascin ekspresyonu daha yüksek oranda izlenmektedir ancak bu istatistiksel anlamlı farklılık oluşturmamıştır.
14. Tümör tomurcuklanması izlenen hastalarda daha yüksek oranda Fascin-1 ekspresyonu izlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.
15. Yoğun tümör tomurcuklanması varlığında tümöre eşlik eden lenfositik infiltrasyon düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düşüş göstermektedir.
16. Tümör tomurcuklanması yoğun olan hasta grubunun (15>10/BBA) hastalıksız ve genel sağ kalım süresi tümör tomurcuklanmasının izlenmediği hastalara göre belirgin olarak kısa düşük izlenmektedir.
17. Tümör tomurcuklanması ile diğer klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.
18. Hücre yuva boyutu değerlendirildiğinde en yüksek oranda tek hücre invazyonu izlenmiştir.
19. pN2 ve pN3 evresinde pN1 evresine kıyasla daha çok tek hücre invazyonu izlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir.
20. Tümör hücre yuvalarının boyutları ile diğer klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.
21. Stromadan zengin tümörlerde tek hücre invazyonu görülme oranı yüksektir ancak tümör stroması ve tümör hücre yuva boyutu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmemiştir.
22. Önerilen yeni gradeleme sistemi ile pT, pN, LVİ, PNİ, stroma, DSÖ derecelendirme sistemi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.
23. Yeni gradeleme sistemine göre yG2 olan olguların DSÖ derece 2, yG3 olan olguların DSÖ derece 3 olma oranı yüksektir.
24. Yeni gradeleme sisteminde olgular yG1, yG2 ve yG3 gruplarına daha homojen dağılım göstermiştir.
25. Yeni gradeleme sistemine göre grade arttıkça tümöre eşlik eden lenfositik infiltrasyon istatistiksel olarak anlamlı olarak düşmektedir.
26. Yeni grade sistemi ile hastaların genel ve hastalıksız yaşam süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktur.

Laringeal SHK'larda DSÖ derecelendirme sistemi prognoz tahmininde yetersiz kaldığından prognoz tahmininde yeni bir marker ya da morfolojik bulgu arayışı doğmuştur. Çalışmamızda CD44 ve Fascin ekspresyonu prognozla ilişkili bulunmamıştır. Morfolojik bulgulardan tümör tomurcuklanması hastaların yaşam beklentisini öngörmede anlamlı ipuçları vermektedir. Prognoz tahmininde ve tedavi yönetiminde etkili olabilecek yeni belirteçlerin bulunabilmesi için yeni ve kapsamlı immünhistokimyasal ve moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmalar ışığında hastanın prognozu öngörülebilirse gizli lenf nodu ve uzak metastazların önüne geçilebilir, hastaların daha uzun bir yaşam sürmesi sağlanabilir.

8.KAYNAKLAR

[1] O. Stasikowska-Kanicka, M. Wagrowska-Danilewicz, and M. Danilewicz, "Immunohistochemical study on ADAM33 in sinonasal inverted papillomas and squamous cell carcinomas of the larynx," *Arch. Med. Sci.*, vol. 12, no. 1, pp. 89–94, 2016.

[2] American cancer society, "Key Statistics for Laryngeal and Hypopharyngeal Ca," 2019. [Online]. Available: https://www.cancer.org/cancer/laryngeal-and-hypopharyngeal-cancer/about/key-statistics.html. [Accessed: 18-Jun-2019].

[3] "Türkiye Kanser istatistikleri," *Türkiye cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (2018).* [Online]. Available: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdb/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2015.pdf. [Accessed: 17-Jul-2019].

[4] K. Markou *et al.*, "Laryngeal cancer: Epidemiological data from Northern Greece and review of the literature," *Hippokratia*, vol. 17, no. 4, pp. 313–318, 2013.

[5] C. E. Steuer, M. El-Deiry, J. R. Parks, K. A. Higgins, and N. F. Saba, "An update on larynx cancer," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 67, no. 1, pp. 31–50, 2016.

[6] M. E. Stacey, *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*, 6th editio. New York: Lippincott Williams and Wilkins, 2015.

[7] C. R. Bradford, G. T. Wolf, S. G. Fisher, and K. D. McClatchey, "Prognostic importance of surgical margins in advanced laryngeal squamous carcinoma," *Head Neck*, vol. 18, no. 1, pp. 11–16, 2002.

[8] A. Ozdek, S. Sarac, M. U. Akyol, O. F. Unal, and A. Sungur, "Histopathological predictors of occult lymph node metastases in supraglottic squamous cell carcinomas," *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngology*, vol. 257, no. 7, pp. 389–392, 2000.

[9] M. Bryne, N. Jenssen, and M. Boysen, "Histological grading in the deep invasive front of T1 and T2 glottic squamous cell carcinomas has high prognostic value," *Virchows Arch.*, vol. 427, no. 3, pp. 277–281, 2004.

[10] "Genetic differences detected by comparative genomic hybridization in head and neck squamous cell carcinomas from different tumor sites: construction of oncogenetic trees for tumor," *Genes Chromosom. Cancer.*, vol. 34(2), pp. 224–33, 2002.

[11] S. Trapasso and E. Allegra, "Role of CD44 as a marker of cancer stem cells in head and neck cancer," *Biol. Targets Ther.*, vol. 6, pp. 379–383, 2012.

[12] S. Sun, X. Pan, L. Zhao, J. Zhou, H. Wang, and Y. Sun, "The expression and relationship of cd68-tumor-associated macrophages and microvascular density with the prognosis of patients with laryngeal squamous cell carcinoma," *Clin. Exp. Otorhinolaryngol.*, vol. 9, no. 3, pp. 270–277, 2016.

[13] L. L. Kokko *et al.*, "Significance of site-specific prognosis of cancer stem cell marker CD44 in head and neck squamous-cell carcinoma," *Oral Oncol.*, vol. 47, no. 6, pp. 510–516, 2011.

[14] F. Esteban, J. J. Bravo, M. A. González-Moles, M. Bravo, I. Ruiz-Ávila, and J. A. Gil-Montoya, "Adhesion molecule CD44 as a prognostic factor in laryngeal cancer," *Anticancer Res.*, vol. 25, no. 2 A, pp. 1115–1121, 2005.

[15] Y. Yan, X. Zuo, and D. Wei, "Concise Review: Emerging Role of CD44 in Cancer Stem Cells: A Promising Biomarker and Therapeutic Target," *Stem Cells Transl. Med.*, vol. 4, no. 9, pp. 1033–1043, 2015.

[16] Z. P. Du *et al.*, "Network analyses of gene expression following fascin knockdown in esophageal squamous cell carcinoma cells," *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 16, no. 13, pp. 5445–5451, 2015.

[17] W. Gao *et al.*, "Fascin-1, Ezrin and Paxillin Contribute to the Malignant Progression and Are Predictors

of Clinical Prognosis in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma," *PLoS One*, vol. 7, no. 11, 2012.

[18] Stacey E Mills, "Histology For Pathologists.," 4th editio., M. E. Stacey, Ed. Philadelphia: Lippincott – Raven, 2012, pp. 465–469.

[19] I. Hizalan, "Larenks Kanserleri. Anatomik özellikler ve klinik gidiş," in *Bas-Boyun Kanserleri*, Engin K. Erişen L., Ed. istanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2003, pp. 345–352.

[20] J. Rosai, "Rosai Ackerman's Surgical Pathology," in *Rosai Ackerman's Surgical Pathology*, 10th editi., Toronto-Mosby, 2011, pp. 319–330.

[21] G. J. R. Slootweg P J, "Tumours of the hypopharynx,larynx,trachea and parapharyngeal space," in *Who Classification of Head and Neck*, 4th editio., S. P. Naggar A K, Chan J, Grandis J, Takata T, Ed. Lyon, 2017, pp. 78–104.

[22] M. Cattaruzza MS and B. P. M., "epidemiology of laryngeal cancer," *Eur J Cancer B Oral Oncol*, vol. 32B, no. 5, pp. 393–305, 1996.

[23] Y. Bai, Y. Shao, H. Li, W. Xue, F. Quan, and S. Wu, "Ki-67 is overexpressed in human laryngeal carcinoma and contributes to the proliferation of HEp2 cells," *Oncol. Lett.*, vol. 12, no. 4, pp. 2641–2647, 2016.

[24] W. K. Barnes C, Sexton M, Sizeland A, Tiedeman K, Berkowitz RG, "Laryngo-pharyngeal carcinoma in childhood," *Int J Pediatr OtoRhinolaryngol*, vol. 61, no. 6, pp. 61–83, 2001.

[25] H. G. Ohlms LA, McGill T, "Malignant laryngeal tumors in children: a 15-year experience with four patients," *Ann Otol Rhinol Laryngol.*, vol. 103, pp. 686–92, 1994.

[26] M. A. Rafferty, J. E. Fenton, and A. S. Jones, "The history, aetiology and epidemiology of laryngeal carcinoma," *Clin. Otolaryngol. Allied Sci.*, vol. 26, no. 6, pp. 442–446, 2001.

[27] M. Hashibe *et al.*, "Alcohol drinking in never users of tobacco, cigarette smoking in never drinkers, and the risk of head and neck cancer: Pooled analysis in the international head and neck cancer epidemiology consortium," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 99, no. 10, pp. 777–789, 2007.

[28] F. G, "Estimation of the impact of cigarette smoking reduction on mortality from tumors of the lung and larynx," *Ann Ist Super Sanita.*, vol. 28, no. 1, pp. 147–53, 1992.

[29] D. I. Conway *et al.*, "Socioeconomic factors associated with risk of upper aerodigestive tract cancer in Europe," *Eur. J. Cancer*, vol. 46, no. 3, pp. 588–598, 2010.

[30] J. Estève *et al.*, "Diet and cancers of the larynx and hypopharynx: The IARC multi-center study in southwestern Europe," *Cancer Causes Control*, vol. 7, no. 2, pp. 240–252, 1996.

[31] S. M. Langevin *et al.*, "Gastric Reflux Is an Independent Risk Factor for Laryngopharyngeal Carcinoma," *Cancer Epidemiol Biomarkers*, vol. 6, no. 22, pp. 1061–1068, 2014.

[32] O. C. Elci, M. Akpinar-Elci, F. Berrino, L. Richiardi, and F. Merletti, "Occupational exposures, anatomic location, and geographic distribution of laryngeal cancer [1] (multiple letters)," *Cancer Causes Control*, vol. 15, no. 4, pp. 429–431, 2004.

[33] J. S. Lewis *et al.*, "Transcriptionally-active high-risk human papillomavirus is rare in oral cavity and laryngeal/hypopharyngeal squamous cell carcinomas - a tissue microarray study utilizing E6/E7 mRNA in situ hybridization," *Histopathology*, vol. 60, no. 6, pp. 982–991, 2012.

[34] G. Halec *et al.*, "Biological evidence for a causal role of HPV16 in a small fraction of laryngeal squamous cell carcinoma," *Br. J. Cancer*, vol. 109, no. 1, pp. 172–183, 2013.

[35] N. F. Schlecht *et al.*, "A comparison of clinically utilized human papillomavirus detection methods in head and neck cancer," *Mod. Pathol.*, vol. 24, no. 10, pp. 1295–1305, 2011.

[36] L. Barnes, "Diseases of the Larynx, Hypopharynx, and Trachea," in *Surgical Pathology of the Head and Neck*, 3rd editio., L. Barnes, Ed. New York: CRC Press Inc, 2009, pp. 109–201.

[37] R. Santoro, M. Turelli, and G. Polli, "Primary carcinoma of the subglottic larynx," *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngology*, vol. 257, no. 10, pp. 548–551, 2000.

[38] R. M. Slootweg P J, “Squamos Cell Carcinoma of Upper Aerodigestive System,” in *Diagnostic surgical pathology head and neck*, 2th editio., G. D. R, Ed. China: Saunders Elsevier, 2009, pp. 45–110.

[39] A. Ferlito and A. Rinaldo, “The pathology and management of subglottic cancer,” *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngology*, vol. 257, no. 3, pp. 168–173, 2000.

[40] J. G. Spector *et al.*, “Delayed regional metastases, distant metastases, and second primary malignancies in squamous cell carcinomas of the larynx and hypopharynx,” *Laryngoscope*, vol. 111, no. 6, pp. 1079–1087, 2001.

[41] L. Alos *et al.*, “Adenosquamous carcinoma of the head and neck : criteria for diagnosis in a study of 12 cases,” pp. 570–579, 2004.

[42] F. Chiesa *et al.*, “Surfing prognostic factors in head and neck cancer at the Millennium,” *Oral Oncol.*, vol. 35, no. 6, pp. 590–596, 1999.

[43] W. M. Sethi S, Lu M, Kapke A, Benninger MS, “Patient and Tumor Factors at Diagnosis in a Multi-Ethnic Primary Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Cohort,” *J Surg Oncol*, vol. 99, pp. 104–8, 2009.

[44] G. Wiernik, P. R. Millard, and J. L. Haybittle, “The predictive value of histological classification into degrees of differentiation of squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx compared with the survival of patients,” *Histopathology*, vol. 19, no. 5, pp. 411–417, 1991.

[45] B. A. Bryne M, Boysen M, Alfsen CG, Abeler VM, Sudbø J, Nesland JM, Kristensen GB, Piffko J, “The invasive front of carcinomas. The most important area for tumour prognosis?,” *Anticancer Res.*, vol. 18(6B), pp. 4757–64, 1998.

[46] T. Yilmaz, A. Ş. Hoşal, G. Gedikoğlu, and S. Kaya, “Prognostic significance of histopathological parameters in cancer of the larynx,” *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngology*, vol. 256, no. 3, pp. 139–144, 1999.

[47] N. A. Brandwein-Gensler M, Smith RV, Wang B, Penner C, Theilken A, Broughel D, Schiff B, Owen RP, Smith J, Sarta C, Hebert T, Nason R, Ramer M, DeLacure M, Hirsch D, Myssiorek D, Heller K, Prystowsky M, Schlecht NF, “Validation of the histologic risk model in a new cohort of patients with head and neck squamous cell carcinoma.,” *Am J Surg Pathol.*, vol. 34, no. 5, pp. 676–88.

[48] A. Ferlito *et al.*, “Prognostic significance of microscopic and macroscopic extracapsular spread from metastatic tumor in the cervical lymph nodes,” *Oral Oncol.*, vol. 38, no. 8, pp. 747–751, 2002.

[49] M. K. Layland, D. G. Sessions, and J. Lenox, “The influence of lymph node metastasis in the treatment of squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx, larynx, and hypopharynx: N0 versus N+,” *Laryngoscope*, vol. 115, no. 4, pp. 629–639, 2005.

[50] M. L. H. et al. All, “Surgical margins in head and neck cancer: A contemporary review,” *Head Neck*, vol. 35, pp. 1362–70, 2012.

[51] M. Nakayama *et al.*, “Clinicopathological analyses of fifty supracricoid laryngectomized specimens: Evidence base supporting minimal margins,” *Orl*, vol. 71, no. 6, pp. 305–311, 2010.

[52] S. Tandon, C. Tudur-Smith, R. D. Riley, M. T. Boyd, and T. M. Jones, “A systematic review of p53 as a prognostic factor of survival in squamous cell carcinoma of the four main anatomical subsites of the head and neck,” *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 19, no. 2, pp. 574–587, 2010.

[53] J. Chen, J. Zhou, J. Lu, H. Xiong, X. Shi, and L. Gong, “Significance of CD44 expression in head and neck cancer: A systemic review and meta-analysis,” *BMC Cancer*, vol. 14, no. 1, pp. 1–9, 2014.

[54] G. Güler, S. Saraç, A. Üner, E. Karabulut, A. Ayhan, and O. Hiroshi, “Prognostic value of CD44 variant 6 in laryngeal epidermoid carcinomas,” *Arch. Otolaryngol. - Head Neck Surg.*, vol. 128, no. 4, pp. 393–397, 2002.

[55] Y. Hashimoto, M. Skacel, and J. C. Adams, “Roles of fascin in human carcinoma motility and signaling : Prospects for a novel biomarker ?,” *Int J Biochem Cell Biol.*, vol. 37, pp. 1787–1804, 2005.

[56] L. E. Zhang H, Xu L, Xiao D, Xie J, Zeng H, Cai W, Niu Y, Yang Z, Shen Z, “Fascin is a potential biomarker for early-stage oesophageal squamous cell carcinoma,” *J Clin Pathol.*, pp. 958–965, 2006.

[57] N. Kureishy, V. Sapountzi, S. Prag, N. Anilkumar, and J. C. Adams, “Fascins , and their roles in cell structure and function,” pp. 350–361, 2002.

[58] A. U. Jawhari *et al.*, “Fascin , an Actin-Bundling Protein , Modulates Colonic Epithelial Cell Invasiveness and Differentiation in Vitro,” *Am. J. Pathol.*, vol. 162, no. 1, pp. 69–80, 2003.

[59] A. Durmaz, B. Kurt, O. Ongoru, S. Karahatay, M. Gerek, and S. Yalcn, “Significance of fascin expression in laryngeal squamous cell carcinoma,” *J. Laryngol. Otol.*, vol. 124, no. 2, pp. 194–198, 2010.

[60] J. Zou *et al.*, “Prognostic significance of fascin-1 and E-cadherin expression in laryngeal squamous cell carcinoma,” *Eur. J. Cancer Prev.*, vol. 19, no. 1, pp. 11–17, Jan. 2010.

[61] M. Boxberg *et al.*, “Tumor Budding and Cell Nest Size are Highly Prognostic in Laryngeal and Hypopharyngeal Squamous Cell Carcinoma Further Evidence for a Unified Histopathologic Grading System for Squamous Cell Carcinomas of the Upper Aerodigestive Tract,” *Am J Surg Pathol*, vol. 00, no. 00, pp. 1–11, 2018.

[62] G. Karpathiou *et al.*, “Prognostic significance of tumor budding, tumor-stroma ratio, cell nests size, and stroma type in laryngeal and pharyngeal squamous cell carcinomas,” *Head Neck*, no. May 2018, pp. 1–10, 2019.

[63] L. Chai *et al.*, “CD44 Expression Is Predictive of Poor Prognosis in Pharyngolaryngeal Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis,” *Tohoku J. Exp. Med.*, vol. 232, no. 1, pp. 9–19, 2014.

[64] W. Weichert *et al.*, “Proposal of a prognostically relevant grading scheme for pulmonary squamous cell carcinoma,” pp. 938–946.

[65] M. Boxberg *et al.*, “Novel prognostic histopathological grading system in oral squamous cell carcinoma based on tumour budding and cell nest size shows high interobserver and intraobserver concordance,” pp. 1–10, 2018.

[66] B. AC, “Squamous cell epithelioma of the lip,” *J Am Med Assoc.*, vol. 74, pp. 656–664, 1920.

[67] A. Almangush, I. O. Bello, H. K. S, and K. M. Laura, “Depth of invasion , tumor budding , and worst pattern of invasion : Prognostic indicators in early-stage oral tongue cancer,” no. June, pp. 811–818, 2014.

[68] M. Beauchemin and R. C. K. Jordan, “Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck,” pp. 445–453, 2006.

[69] M. Boxberg *et al.*, “Immunohistochemical expression of CD44 in oral squamous cell carcinoma in relation to histomorphologic parameters and clinicopathological factors,” *Histopathology*, vol. 1124, no. 113, pp. 0–1, 2018.

[70] M. Zöller, “CD44 : can a cancer-initiating cell profit from an abundantly expressed molecule ?,” *Nat. Publ. Gr.*, vol. 11, no. 4, pp. 254–267, 2011.

[71] A. Bartakova, K. Michalova, J. Presl, P. Vlasak, and J. Kostun, “CD44 as a cancer stem cell marker and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma,” *J. Obstet. Gynaecol. (Lahore).*, vol. 0, no. 0, pp. 1–5, 2017.

[72] K. H. Nam *et al.*, “Predictive value for lymph node metastasis of epithelial- mesenchymal transition and cancer stem cell marker expression in early gastric cancer,” *Pathol. -- Res. Pract.*, 2017.

[73] M. Krump and J. Ehrmann, “Differences in CD44s expression in HNSCC tumours of different areas within the oral cavity,” vol. 157, no. 4, pp. 280–283, 2013.

[74] D. Taniguchi, “CD44v9 is associated with epithelial - mesenchymal transition and poor outcomes in esophageal squamous cell carcinoma,” no. May, pp. 6258–6268, 2018.

[75] K. Okuyama, H. Fukushima, T. Naruse, S. Yanamoto, and H. Tsuchihashi, “CD44 Variant 6 Expression and Tumor Budding in the Medullary Invasion Front of Mandibular Gingival Squamous Cell Carcinoma Are Predictive Factors for Cervical Lymph Node Metastasis,” pp. 1–7, 2018.

[76] M. C. De Jong *et al.*, “CD44 Expression Predicts Local Recurrence after Radiotherapy in Larynx

Cancer," pp. 5329–5339, 2010.

[77] S. J. Wang, G. Wong, A. De Heer, W. Xia, and L. Y. W. Bourguignon, "CD44 Variant Isoforms in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Progression," no. August, pp. 1518–1530, 2009.

[78] H. Cao, S. Zhang, J. Shen, Z. Wu, and J. Wu, "A three-protein signature and clinical outcome in esophageal squamous cell carcinoma," *Oncotarget*, vol. 6, no. 7.

[79] W. Chen *et al.*, "Tumor-associated autoantibodies against Fascin as a novel diagnostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma," *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, 2016.

[80] P. C. Rodrigues *et al.*, "Fascin promotes migration and invasion and is a prognostic marker for oral squamous cell carcinoma," *Oncotarget*, vol. 8, no. 43, pp. 74736–74754, 2017.

[81] K. Papaspyrou *et al.*, "Fascin upregulation in primary head and neck squamous cell carcinoma is associated with lymphatic metastasis," *Oncol. Lett.*, vol. 7, no. 6, pp. 2041–2046, 2014.

[82] A. K. Roseweir *et al.*, "A novel tumor-based epithelial-to-mesenchymal transition score that associates with prognosis and metastasis in patients with Stage II/III colorectal cancer," *Int. J. Cancer*, vol. 144, no. 1, pp. 150–159, 2019.

[83] S. Sarioglu *et al.*, "Tumor budding as a prognostic marker in laryngeal carcinoma," *Pathol. Res. Pract.*, vol. 206, no. 2, pp. 88–92, 2010.

[84] G. M. Ekmekçi S, Küçük Ü, Kokkoz S, Çakır E, "Tumor budding in laryngeal carcinoma," *İndian J Pathol Microbiol*, vol. 62, pp. 7–10, 2019.

[85] K. Schneider *et al.*, "Immune cell infiltration in head and neck squamous cell carcinoma and patient outcome : a retrospective study," *Acta Oncol. (Madr).*, vol. 0, no. 0, pp. 1–8, 2018.

[86] Y. Ma, M. Xian, J. I. E. Li, T. Kawabata, and S. Okada, "Interrelations of clinicopathological variables , local immune response and prognosis i n esophageal squamous cell carcinoma," 1999.

[87] M. Brown *et al.*, "Tumour budding and a low host inflammatory response are associated with a poor prognosis in oesophageal and gastro-oesophageal junction cancers," pp. 893–899, 2010.

[88] N. Shin *et al.*, "Cancer-associated fibroblasts and desmoplastic reactions related to cancer invasiveness in patients with colorectal cancer," *Ann. Coloproctol.*, vol. 35, no. 1, pp. 36–46, 2019.

[89] Z. X. Wang C, Huang H, Chen X, "Tumor budding correlates with poor prognosis and epithelialmesenchymal transition in tongue squamous cell carcinoma," *J Oral Pathol Med.*, vol. 40, no. 7, pp. 545–551.

[90] M. Jesinghaus *et al.*, "A Novel Grading System Based on Tumor Budding and Cell Nest Size Is a Strong Predictor of Patient Outcome in Esophageal Squamous Cell Carcinoma," vol. 41, no. 8, pp. 1112–1120, 2017.

EK 1. ÖZGEÇMİŞ ÖRNEĞİ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Çiğdem ÖZTÜRK

Doğum yeri ve tarihi: Altındağ, 13.02.1990

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi: dr.ozturkcigdem@gmail.com

Telefon: 05068069555

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

2015-2019: Tıpta Uzmanlık Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar SUAM, Tıbbi Patoloji Kliniği

2008-2014: Lisans, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

2004-2008: Lise, Ankara Atatürk Anadolu Lisesi

2001-2004: Ortaokul, Ankara Hamdi Bulgurlu İlköğretim Okulu

1997-2001: İlkokul, Ankara İmrahor Özbirlik İlköğretim Okulu

III- Ünvanları

2014 Pratisyen hekim

2015 Uzmanlık öğrencisi

IV- Mesleki Deneyimi

2015-2019: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar SUAM, Tıbbi Patoloji Kliniği(Uzmanlık Öğrencisi)

2014-2015: Van Özalp Devlet Hastanesi (Pratisyen Hekim)

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Patoloji Dernekleri Federasyonu

Türk Patoloji Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Çiğdem Öztürk, Seza Tetikkurt, Aslı Kahraman Akkalp, Taner Usta, "Yüksek Dereceli Endometriyal Stromal Sarkom Olgusu", 2015, Bursa, 25. Ulusal Patoloji Kongresi & 6.Sitopatoloji kongresi

Çiğdem Öztürk, Şule Özsoy, Murat Tüken, Funda Emre, Mubarek Bargicho Adem, Ümit Seza Tetikkurt "Mesanede Akciğer Karsinom Metastazı İzlenen Olgu Sunumu", 2016, Antalya, 26. Ulusal Patoloji Kongresi & 7.Sitopatoloji kongresi

Çiğdem Öztürk, Aysel Çağlar, Betül Taş; "Vulvar fox-fordyce hastalığı", 2016, Antalya, 26. Ulusal Patoloji Kongresi & 7.Sitopatoloji kongresi

Çiğdem Öztürk, Funda Emre, Şule Özsoy, Ümit Seza Tetikkurt, Mehmet Faruk Oktay "Olgu Sunumu: Kimura Hastalığı", 2016, Antalya, 26. Ulusal Patoloji Kongresi & 7.Sitopatoloji kongresi

Çiğdem Öztürk, Ümit Seza Tetikkurt, Şule Özsoy, Nuri Okkabaz; "Böbrek kapsülü kaynaklı derin yerleşimli leiomyom olgusu", 2017, Antalya, 27. Ulusal Patoloji Kongresi & 8.Sitopatoloji kongresi

VII- Bilimsel Etkinlikleri

2016, Antalya, 26. Ulusal Patoloji Kongresi & 7.Sitopatoloji kongresi

2016, Antalya, 42. Ulusal Hematoloji Kongresi, Hematopatoloji Kursu

2017, Antalya, 27. Ulusal Patoloji Kongresi & 8.Sitopatoloji kongresi

VIII- Diğer Bilgiler

2015, İstanbul, Genel Patoloji Kursu (TPD)

2015, İstanbul, Jinekoloji Dışı Sitopatoloji Kursu (SD)

2016, İstanbul, Sıvı Bazlı Jinekolojik Sitoloji (SD)

2016, İstanbul, Sitopatoloji Kursu (SD)

2016, Patoloji Kış Okulu (APD)

2016, Baş Boyun Patolojisi Kursu (TPD)

2016, Böbrek ve Mesane Tümörlerine Bakış (TPD)

2017, Sitopatoloji Kursu (SD)

2017, Patoloji Kış Okulu (APD)

2018, Patoloji Kış Okulu (APD)

2018, Kemik ve Yumuşak Doku Tümörlerine Yaklaşım (MSG)

2019, Akciğer Patolojisi Kursu (SBÜ)

EK 2. TEZ KONUSU ONAY FORMU

TEZ KONUSU ONAY FORMU

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı: **Telefon:** **E-Posta:**	**Dr. Çiğdem ÖZTÜRK** **0506 8069555** dr.ozturkcigdem@gmail.com
Uzmanlık Dalı:	**Tıbbi Patoloji**
Eğitim Kurumu:	**S.B.Ü. Bağcılar SUAM**
Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi:	**06.02.2015**
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi:	**25.08.2019**
Tez Danışmanının Adı Soyadı: **Telefon:** **E-Posta:**	**Doç. Dr. Hüsniye Esra PAŞAOĞLU** **0530 8493066** **esrapasaoglu@yahoo.com**

1-Tez Başlığı/Konusu: Laringeal skuamöz hücreli karsinomlarda Fascin-1 ve CD44 ekspresyonunun değerlendirilmesi, prediktif ve prognostik önemi
2-Araştırma sorusu: Laringeal skuamöz hücreli karsinomların klinik davranışını belirlemede morfolojik bulguların yanı sıra CD44 ve Fascin-1 ekspresyonlarının araştıtılması hastaların klinik takiplerinde ve prognoz tahmininde anlamlı mıdır?
3-Araştırmanın amacı: Tüm dünyada ve ülkemizde oldıkça sık görülen laringeal skuamöz hücreli karsinomların klinik davranışını belirlemede morfolojik bulguların yanı sıra CD44 ve Fascin-1 ekspresyonlarının araştırılması, hastaların klinik takiplerinde ve prognoz tahmininde anlamlı olup olmadığını belirlemek, hastaların takip ve tedavilerine katkı sağlamak.
4-Araştırma materyalleri, popülasyonu: Hastanemize 1 ocak 2012 – 1 haziran 2018 tarihleri arasında başvurmuş; larinks kanseri tanısı ile parsiyel ve ya total larenjektomi yapılmış ve patolojik olarak skuamöz hücreli karsinom tanısı almış hastalar, bu hastalara ait patoloji arşivinde yer alan blok ve hazır boyalı lamlar, dijital sistemde bulunan hastalara ait patoloji raporları
5-Dahil etme ve hariç tutma kriterleri: Belirlenen tarhiler arasında hastanemize başvurmuş ve laringeal skuamöz hücreli karsinom tanısı almış hastaların patoloji arşivinde yapılacak olan immunohistokimyasal çalışma için yeterli materyali(blok, tespit problemi, doku bloğu arşivde mevcut olmayan hastalar) bulunmayan hastalar ve klinik takibi çeşitli nedenlerle yapılamamış olan hastalar hariç tutularak bu koşullar dışında kalan hastalar dahil edilecektir.

6-Araştırmanın birincil sonuç değişkenleri: Histolojik derece, patolojik evre, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı, lokal invazyon, uzak metastaz, rekürrens, tedaviye direnç, sağ kalım
7-Araştırmanın türü ve tasarımı: Kesitsel retrospektif ve prospektif
8- Araştırma hipotezi: Laringeal skuamöz hücreli karsinomlarda CD44 ve Fascin-1 antikorları hastanın kötü prognoza sahip olduğunu destekler yönde ekspresyon gösterebilir.
9-Örneklem sayısı ve belirleme yöntemi: 150 (yaklaşık olarak) , hastanemize 1 ocak 2012- 1 haziran 2018 tarihleri arasında başvurmuş; larinks kanseri tanısı ile parsiyel veya total larinjektomi yapılmış ve patolojik olarak skuamöz hücreli karsinom tanısı almış hastalar; yeterli materyal ve yeterlilik kriterlerini karşılayanlar çalışmaya alınacaktır.
10-Araştırmada kullanılacak istatistik yöntemler: Ki-kare testi, Mann Whitney u testi, Kruskal-Wallis testi
11-Araştırmanın orijinalliği ve bilime katkısının açıklaması: Tüm dünyada ve ülkemizde oldıkça sık görülen laringeal skuamöz hücreli karsinomların klinik davranışını belirlemede morfolojik bulguların yanı sıra CD44 ve Fascin-1 ekspresyonlarının anlamlı sonuçlar sunması halinde, bu antikorlar hastaların klinik takiplerinde ve prognoz tahmininde kullanılabilir.
12-Açıklamak istediğiniz diğer konular:

Tez danışmanı
Kontrol edilmiştir ve uygundur.
İmza

**Form bilgisayar ortamında doldurulmalıdır.*

**Tez konusu onay formu tez danışmanı ve istatistik uzmanından danışmanlık alınarak uzmanlık öğrencisi tarafından doldurulduktan sonra eğitim kurumun yönetiminden uygunluk alınır. Daha sonra form anabilim dalı tez konusu değerlendirme editörüne gönderilir. Editör formu tez konusu değerlendirme hakemlerine gönderir. Hakemlerin ve editör düzeltme isteği durumunda uzmanlık öğrencisi ve tez danışmanına iade, olumlu görüşü durumunda onay için anabilim dalı başkanlığına gönderir. Anabilim dalı akademik kurulu görüşünü gerekçeleriyle beraber oluşturur ve Dekanlığa gönderir. Dekanlık sonucu uzmanlık öğrencisi ve tez danışmanına bildirir. (Kuruluş aşamasında form EBYS ile Dekanlığa gönderilmelidir.)*