

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
MERAM TIP FAKÜLTESİ  
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**LARENKSİN SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA  
TÜMÖR BUDDİNG'İN PROGNOSTİK ÖNEMİNİN CD44 VE  
P53 EKSPRESYONU İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

DR.YASEMİN GÖNÜL

UZMANLIK TEZİ

KONYA-2016



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
MERAM TIP FAKÜLTESİ  
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**LARENKSİN SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA  
TÜMÖR BUDDİNG'İN PROGNOSTİK ÖNEMİNİN CD44 VE  
P53 EKSPRESYONU İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

DR.YASEMİN GÖNÜL

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN: PROF. DR. HAMDİ ARBAĞ

KONYA-2016

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, uzmanlık tezimin hazırlanması sürecinde de katkılarını esirgememiş olan tez danışmanım Prof. Dr. Hamdi Arbağ' a, destekleriyle her zaman yanımda olan değerli hocalarım; Prof. Dr. Fuat Yöndemli' ye, Prof. Dr. Bedri Özer' e, Prof. Dr. Çağatay Han Ülkü' ye, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Akif Eryılmaz' a, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Akif Dündar' a ve Yrd. Doç. Dr. Mithat Arıcıgil' e sonsuz şükran ve saygılarımı sunarım.

Tezimin hazırlanma sürecinde yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Pembe Oltulu' ya, istatistiksel analiz konusunda destek aldığım Prof. Dr. Coşkun Kuş ve Arş. Gör. Yunus Akdoğan' a şükran ve saygılarımı sunarım.

Klinikte beraber çalışmaktan mutlu olduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Doç. Dr. Şaban Gönül' e ve ailerime teşekkürlerimi sunarım.

Mart 2016

Dr. Yasemin Gönül

## ÖZET

### LARENKSİN SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA TÜMÖR BUDDİNG'İN PROGNOSTİK ÖNEMİNİN CD44 VE P53 EKSPRESYONU İLE KARŞILAŞTIRILMASI, DR.YASEMİN GÖNÜL, UZMANLIK TEZİ, KONYA.

**Amaç:** Bu çalışmada amacımız larenksin skuamöz hücreli karsinomlarında tümör tomurcuklanması (TT), CD44 ve p53 ekspresyonlarının prognoz üzerine etkisini belirlemek ve diğer bilinen prognostik faktörlerle ilişkisini incelemektir.

**Yöntem:** Bu çalışmaya 2008 ile 2015 yılları arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi kliniğinde larenksin skuamöz hücreli karsinomu tanısı konularak cerrahi tedavi ve postoperatif kemoterapi ve/veya radyoterapi uygulanan 60 olgu dahil edildi. Bu olgulara ait dosyalardan olguların yaşı, özgeçmiş ve soygeçmişleri, TNM sınıflandırılması, radyolojik görüntülemeleri, uygulanan cerrahi tipi ve patolojik numune sonuçlarına ulaşıldı. Tümörün mevcut olduğu H&E ile boyanmış preparatların parafin bloklarından kesitler alınıp immunhistokimyasal PanCK, p53 ve CD44 boyaları yapıldı. TT skorlamaları ve CD44 ile p53 ekspresyonları patoloji bölümünce değerlendirildi. Tüm bu elde edilen parametreler ile yaş, tümör yerleşimi, tümör çapı, tümör evresi, invazyon derinliği, histopatolojik sınıflandırma, enflamasyon derecesi, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, lokal rekürrens, ameliyat öncesi lenf nodu metastazı, patolojik lenf nodu metastazı ve uzak metastaz gibi klinikopatolojik değişkenler arasındaki ilişki  $X^2$  (Pearson Chi-Square) Test'i ile değerlendirildi. Lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, lokal rekürrens, ameliyat öncesi lenf nodu metastazı, patolojik lenf nodu metastazı ve uzak metastaz gibi parametreler açısından bağımsız risk faktörlerinin araştırılması için ise Lojistik Regresyon Analizi kullanıldı.

**Bulgular:** Larenksin skuamöz hücreli karsinomunda bilinen bir prognostik faktör olan perinöral infiltrasyon ile TT arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu (P=0.006). TT aynı zamanda perinöral infiltrasyon ve patolojik lenf nodu tutulumu açısından bağımsız bir risk faktörü idi (p=0.003, Odds oranı=19.86, %95 güvenirlilik aralığı=2.71-145.11; her iki parametre için). CD44 ve p53 ekspresyonları ile incelenen hiçbir prognostik faktör arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (CD44 için; p=0.11, 0.75, 0.42, 0.06, 0.51, 0.84, 0.83, 0.24, 0.16, 0.16, 0.60, 0.42, 0.83; sırasıyla, TT, lenfovasküler invazyon, patolojik lenf nodu, p53 ekspresyonu, tümör çapı, tümör derinliği, diferansiyasyon, metastaz, lokal rekürrens, evre, yaş, tümör (t) ve tümör yerleşimi). Patolojik lenf nodu tutulumu lenfovasküler invazyon açısından bağımsız bir risk faktörü idi (p=0.028, Odds oranı=4.53, %95 güvenirlilik aralığı=1.181-17.404). Preoperatif lenf nodu

tutulumu perinöral invazyon açısından bağımsız bir risk faktörü idi ( $p=0.007$ , Odds oranı=8.40, %95 güvenirlilik aralığı=1.78-39.47). Preoperatif lenf nodu tutulumu aynı zamanda lokal rekürrens açısından da bağımsız bir risk faktörü idi ( $p=0.035$ , Odds oranı=4.66, %95 güvenirlilik aralığı=1.113-19.569). Tümör evresi ise uzak metastaz açısından bağımsız bir risk faktörü idi ( $p=0.049$ , Odds oranı=2.251, %95 güvenirlilik aralığı=1.002-5.054).

**Sonuç:** Sonuçlarımız larenksin skuamöz hücreli karsinomunda prognostik bir faktör olarak bilinen perinöral infiltrasyon ve TT arasında anlamlı bir ilişkinin olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, TT patolojik lenf nodu tutulumu ve perinöral infiltrasyon açısından da bağımsız bir risk faktörüdür. Bu yüzden, TT'nin tümör prognozunu belirlemede önemli bir parametre olduğunu düşünmekteyiz. Bu sonuç larenksin skuamöz hücreli karsinomunda postoperatif adjuvan tedavi gereksiniminde bazı değişikliklere yol açabilir. Ancak, tedavi protokolleri açısından TT'nin rolü en iyi prospektif randomize çalışmalar sonucunda belirlenebileceğın söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Larenksin skuamöz hücreli karsinomu, tümör tomurcuklanması, prognoz, CD44, p53, PanCK

## ABSTRACT

### THE PROGNOSTIC IMPORTANCE OF TUMOR BUDDING AND ITS ASSOCIATION WITH EXPRESSION OF CD44 AND P53 IN PATIENTS HAVING SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF LARYNX, DR. YASEMİN GÖNÜL, DISSERTATION, KONYA, 2016

**Aim:** To determine the effects of tumor budding (TB) and the expressions of CD44 and p53 on the prognosis of patients with squamous cell carcinoma of the larynx, and to investigate the relationship between these parameters and the prognostic factors already known.

**Methods:** The study evaluated 60 patients with squamous cell carcinoma of the larynx who were treated by surgery, postoperative chemotherapy and/or radiotherapy in the department of otolaryngology and head and neck surgery of Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty between 2008 and 2015. The files of these patients were analyzed, retrospectively. History, family history, age, TNM classification, radiological imaging, the type of surgery performed, and pathological specimen results of the patients were evaluated. For immunohistochemical dyeing, the old sections of the paraffin blocks dyed with Hematoxylin&Eosin, in which there is tumoral tissue, were dyed with PanCK, p53 and CD44. The scores of the TB and the expressions of the CD44 and p53 were evaluated by the department of pathology. The association between all of the parameters obtained and the clinicopathological variables including age, tumor location, tumor size, tumor stage, depth of invasion, histological grading, inflammation grade, lymphovascular invasion, perineural invasion, local recurrence, preoperative lymph node metastasis, pathological lymph node metastasis, and distant metastasis, were evaluated with  $X^2$  (Pearson Chi-Square). Also, the logistic regression analysis was used to determine the independent risk factors for lymphovascular invasion, perineural invasion, local recurrence, preoperative lymph node metastasis, pathological lymph node metastasis, and distant metastasis.

**Results:** There was a statistically significant association between TB and perineural infiltration which is known as a prognostic factor in laryngeal carcinoma ( $P=0.006$ ). TB was also an independent risk factor in terms of perineural infiltration and pathological lymph node involvement ( $p=0.003$ , Odds ratio=19.86, 95% confidence interval=2.71-145.11; for both parameters). There were no associations between the expression of the CD44, p53 and known prognostic factors ( $p=0.11, 0.75, 0.42, 0.06, 0.51, 0.84, 0.83, 0.24, 0.16, 0.16, 0.60, 0.42, 0.83$ ; TB, lymphovascular invasion, pathological lymph node, p53,

tumor size, tumor depth, differentiation, metastasis, local recurrence, stage, age, tumor location and tumor, respectively; for CD44). The pathologic lymph node involvement was an independent risk factor for lymphovascular invasion ( $p=0.028$ , Odds ratio=4.53, 95% confidence interval=1.181-17.404). Preoperative lymph node involvement was an independent risk factor for perineural invasion ( $p=0.007$ , Odds ratio=8.40, 95% confidence interval= 1.78-39.47). Preoperative lymph node involvement was also an independent risk factor in term of local recurrence ( $p=0.035$ , Odds ratio=4.66, 95% confidence interval=1.113-19.569). Tumor stage was an independent risk factor for distant metastasis ( $p=0.049$ , Odds ratio=2.251, 95% confidence interval= 1.002-5.054).

**Conclusion:** Our results demonstrate that there is a significant association between TB and the perineural infiltration which is already known as a prognostic factor in the laryngeal carcinoma, and that TB is an independent risk factor in terms of pathologic lymph node involvement and the perineural infiltration. Therefore, we believe that TB is an important parameter in determining the tumor prognosis. The patients with laryngeal carcinoma who have TB in the histopathological examination, might need some alterations in postoperative adjuvant treatment. However, we also believe that the exact role of the TB for the treatment protocol can be determined with prospective randomized trials in patient with laryngeal carcinoma.

**Keywords:** Laryngeal squamous cell carcinoma, tumor budding, prognosis, CD44, p53, PanCK

# İÇİNDEKİLER

## SAYFA

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
<b>1. GİRİŞ-AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1 Larenks Anatomisi .....	3
2.1.1 Anatomik Bölgeler.....	3
2.1.2 Larenksin İç Yapısı.....	4
2.1.3 Larenksin Membran ve Bariyerleri.....	6
2.1.4 Larenks Kompartmanları.....	6
2.1.5 Larenksin Vasküler Anatomisi.....	7
2.1.6 Larenks Lenfatikleri.....	7
2.1.7 Larenks Histolojisi.....	7
2.2 Larenks Kanseri.....	8
2.2.1 Epidemiyoloji.....	8
2.2.2 Etiyolojik Faktörler.....	8
2.2.3 Histopatoloji.....	9
2.2.4 Semptomlar.....	10
2.2.5 Tanı.....	10
2.2.6 Larenks Kanseri Sınıflandırılması.....	11
2.2.7 Larenks Kanseri Yayılmı.....	14
2.2.8 Larenks Kanseri Tedavi.....	17
2.3 Larenks Kanseri Prognoz, Prognostik ve Prediktif Faktörler.....	20
2.3.1 Prognoz.....	20
2.3.2 Prognostik ve prediktif faktörler.....	20
2.3.3 Larenks Kanseri Moleküler Biyolojisi.....	21
2.3.4 Biyomarkerlar (Belirteçler).....	21
2.3.4.1 CD44'ün Yapısı ve Fonksiyonu.....	23
2.3.4.2 P53'ün Yapısı ve Fonksiyonu.....	23
2.3.5 Pansitokeratin (AE1/AE3)'in Yapısı ve Fonksiyonu.....	25
2.3.6 Tümör Budding (tümöral tomurcuklanma, TT).....	25
<b>3. MATERYAL-METOD.....</b>	<b>27</b>
3.1 Tümör Tomurcuklanması'nın Değerlendirilmesi.....	27
3.2 İmmunohistokimyasal CD44 ve P53 Değerlendirmesi.....	29
3.2.1 CD44 İçin İmmunohistokimyasal Boyama ve Değerlendirme.....	29
3.2.2 p53 İçin İmmunohistokimyasal Boyama ve Değerlendirme.....	31
3.3 İstatistiksel Analiz.....	32
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>34</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>54</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>58</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>59</b>

## KISALTMALAR

<b>EGRF</b>	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
<b>FAK</b>	Fokal Adezyon Kinaz
<b>MMPs</b>	Matriks Metalloproteinazları
<b>TIMPs</b>	Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri
<b>uPA</b>	Ürokinaz Tip Plazminojen Aktivatörleri
<b>PAI)</b>	Plazminojen Aktivatör İnhibitörleri
<b>HIF-1</b>	Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1
<b>CA</b>	Karbonik Anhidraz
<b>VEGF</b>	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
<b>H&amp;E</b>	Hematoksilen-Eozin
<b>AE1/AE3</b>	Pansitokeratin
<b>PanCK</b>	Pansitokeratin Antikoru
<b>TT</b>	Tümör Tomurcuklanması
<b>UICC</b>	Kansere Karşı Uluslararası Birlik
<b>TNM</b>	Tümör Nod Metastaz
<b>HPV</b>	İnsan Papilloma Virüsü
<b>MR</b>	Manyetik Rezonans
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>AJCC</b>	American Joint Commite On Cancer
<b>CXCL12</b>	Stromal Cell-Derived Factor-1, Sdf-1
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>JCCC</b>	Japanese Classification of Colorectal carcinoma

## TABLolar, ŐEKİLLER DİZİNİ

**Tablo 2.1.** Primer tümörün değerlendirilmesi

**Tablo 2.2.** Supraglottik tümörün değerlendirilmesi

**Tablo 2.3.** Glottik tümörün değerlendirilmesi

**Tablo 2.4.** Subglottik tümörün değerlendirilmesi

**Tablo 2.5.** Bölgesel lenf nodlarının değerlendirilmesi

**Tablo 2.6.** Uzak metastazların değerlendirilmesi

**Tablo 2.7.** Larenks kanseri evrelemesi

**Tablo 2.8.** Metastaz oluŐuŐ basamakları ile iliŐkinili moleküller

**Tablo 4.9.** TT ve perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.10.** TT ve lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.11.** TT ve patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.12.** TT ve lokal rekürrens arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.13.** TT ve uzak metastaz arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.14.** TT ve tümör derinliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.15.** TT ve tümör çapı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.16.** TT ve tümör evresi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.17.** p53 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.18.** p53 ekspresyonu ile tümör derinliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.19.** p53 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.20.** p53 ekspresyonu ile patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.21.** p53 ekspresyonu ile lokal rekürrens arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.22.** p53 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.23.** p53 ekspresyonu ile uzak metastaz arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.24.** p53 ekspresyonu ile tumor evresi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.25.** CD44 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.26.** CD44 ekspresyonu ile lokal rekürrens arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.27.** CD44 ekspresyonu ile patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.28.** CD44 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.29.** CD44 ekspresyonu ile uzak metastaz arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.30.** CD44 ekspresyonu ile tümör derinliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.31.** CD44 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Tablo 4.32.** CD44 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

**Şekil 2.1.** Larengeal bariyer ve kompartmanlar

**Şekil 2.2.** Larenksin Anatomik Bölgelerinin Yandan Görünümü ve Preepiglottik Bölge

**Şekil 2.3.** Larenksin İç Yapısı ve Membranları

**Şekil 2.4.** CD44 molekülünün yapısı

**Şekil 3.1.** Larenks skuamöz hücreli karsinomunda tümör tomurcuklanmasının histopatolojik görünümü

**Şekil 3.2.** Larenksin skuamöz hücreli karsinomunda CD44 ekspresyonunun histopatolojik görünümü

**Şekil 3.3.** Larenksin skuamöz hücreli karsinomunda p53 ekspresyonunun histopatolojik görünümü

**Şekil 4.1.** TT ve perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.2.** TT ve lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.3.** TT ve patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.4.** TT ve lokal rekürrens arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.5.** TT ve uzak metastaz arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.6.** TT ve tümör derinliği arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.7.** TT ve tümör çapı arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.8.** TT ve tümör evresi arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.9.** p53 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.10.** p53 ekspresyonu ile tümör derinliği arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.11.** p53 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.12.** p53 ekspresyonu ile patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.13.** p53 ekspresyonu ile lokal rekürrens arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.14.** p53 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.15.** p53 ekspresyonu ile uzak metastaz arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.16.** p53 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.17.** CD44 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.18.** CD44 ekspresyonu ile lokal rekürrens arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.19.** CD44 ekspresyonu ile patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.20.** CD44 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.21.** CD44 ekspresyonu ile uzak metastaz arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.22.** CD44 ekspresyonu ile tümör derinliği arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.23.** CD44 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

**Şekil 4.24.** CD44 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

## 1.GİRİŞ-AMAÇ

Larenks kanserleri, cilt tümörleri ayrı tutulduğunda baş boyun kanserleri içinde en sık görülen tümör olup, ülkemizde tüm malignitelerin %2-5'ini oluşturur (Yazıcıoğlu 2002). Larenks kanserleri erkeklerde tüm kanserlerin %2.3'ünü, baş ve boyun kanserlerinin yaklaşık %25'ini oluşturur (Karasalihoğlu 2003). Larenks kanserlerinin % 95'den fazlası skuamöz hücreli karsinomlardır (Oliveira 2006). Bu kanserlerin gelişmesinde en önemli risk faktörleri sigara ve alkol alışkanlığıdır (Manjarrez 2006).

Larenks kanserlerinde prognozu belirleyen en önemli faktörler, primer lezyonun yeri, lezyonun büyüklüğü, servikal metastazın olup olmaması ve hücrel diferansiasyondur (Koç 2003). Servikal metastaz sıklığını etkileyen faktörler ise primer tümörün lokalizasyonu, boyutları, diferansiasyon derecesi, semptomların başlama süresi gibi faktörlerdir (Gavran 1961, Candela 1990, Guzman 1993, Tucker 1993). Benzer klinik ve histomorfolojik görünümüne rağmen farklı klinik gidiş gösteren larenks karsinomlarının olması nedeniyle, prognostik faktör olarak kabul edilen TNM (tümör, nod, metastaz) sınıflaması ve histolojik derecelendirme gibi faktörlerin prognozu belirlemede yetersiz kaldığı düşünülmektedir. Bu farklılığın önceden saptanması ek prognostik parametrelerin kullanılması ile mümkün olacaktır. Bu nedenle son yıllarda larenks karsinomlarında prognostik faktör arayışı içinde birçok tümör süpresör gen, onkogen ve proliferasyon hızı belirleyicileri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Tedavi protokolünün bu faktörlere göre uygulanmasıyla larenks kanserlerinde hastalısız yaşam süresinde, sağkalımda ve organ korunmasında daha yüksek oranlar elde edilebilecektir. Bu belirleyicilerden birisi de, pek çok kanser türünde olumsuz prognostik faktör olarak belirtilen ‘‘tümör budding’’ (tümör tomurcuklanması)'dır. Tümör tomurcuklanması (TT) invaziv tümörlü alandan stromaya dağılmış küçük hücre kümeleri ya da izole tek hücrelerin varlığı olarak tanımlanır (Manjula 2015). Bunun larenks kanserlerinde de prognostik faktör olması muhtemeldir (Sato 2014, Manjula 2015).

CD44 hücreler arası ve hücre-matriks bağlantılarında görevli bir adezyon molekülüdür. Larenks ve bazı baş boyun kanserlerinde zayıf ya da kuvvetli ekspresyonunun klinikopatolojik prognostik faktörler ile ilişkisi araştırılmaktadır (Liu 2003, Kosunen 2007).

Tümör süpresör gen olan p53 ise hücre siklusu ile apoptozis arasında anahtar faktördür. Literatürde birçok çalışmada larenks yassı hücreli karsinomlarında mutant p53 proteinini gösterilmiştir. Tümör süpresör gen proteininin kötü prognoz ile ilişkili olduğuna dair

yayınların (Narayana 1998, Rodriguez 2005) yanı sıra prognoz ile ilişkisinin olmadığını bildiren araştırmalar da mevcuttur (Lera 1998, Hirvikoski 1999, Sittel 2000, Motamed 2001, Liu 2003, Tepp 2003, Calli 2005). Bu yüzden, p53 gen mutasyonlarının larenks kanserlerinde kötü prognoz göstergesi olup olmadığı tartışmalıdır.

Bu çalışmadaki amacımız larenksin skuamöz hücreli karsinomlarında TT, CD44 ve p53 ekspresyonlarının prognoz üzerine etkisini belirlemek ve diğeri bilinen prognostik faktörlerle ilişkisini incelemektir.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 Larenks Anatomisi

Larenks, üçüncü ve altıncı servikal vertebralar seviyesinde yer alır. Kıkırdak çatısını, epiglot, tiroid, krikoid, aritenoid, kornikulat ve kuneiform kıkırdaklar oluşturur. Larenksin üst kenarı serbest olup epiglotun lateral kenarları, ariepiglotik kıvrım, aritenoid bölge ve interaritenoid aralık tarafından oluşturulur. Alt kenarı krikoid kıkırdağın alt kenarından geçen bir planla sınırlıdır. Anterolateral duvarını, tirohiyoid membran, tiroidin laminası, krikotiroid adale ve membran, krikoid kıkırdağın ön kornu oluşturur. Posterior sınırını ise, ariepiglotik foldlar, aritenoid kıkırdaklar, interaritenoid boşluk ve krikoid kıkırdağı kaplayan mukoza yapar. Vallekula, piriform sinüs ve postkrikoid bölge süperior ve inferior hipofarenks alanlarıdır (Welsh 1989, Kaya 2002).

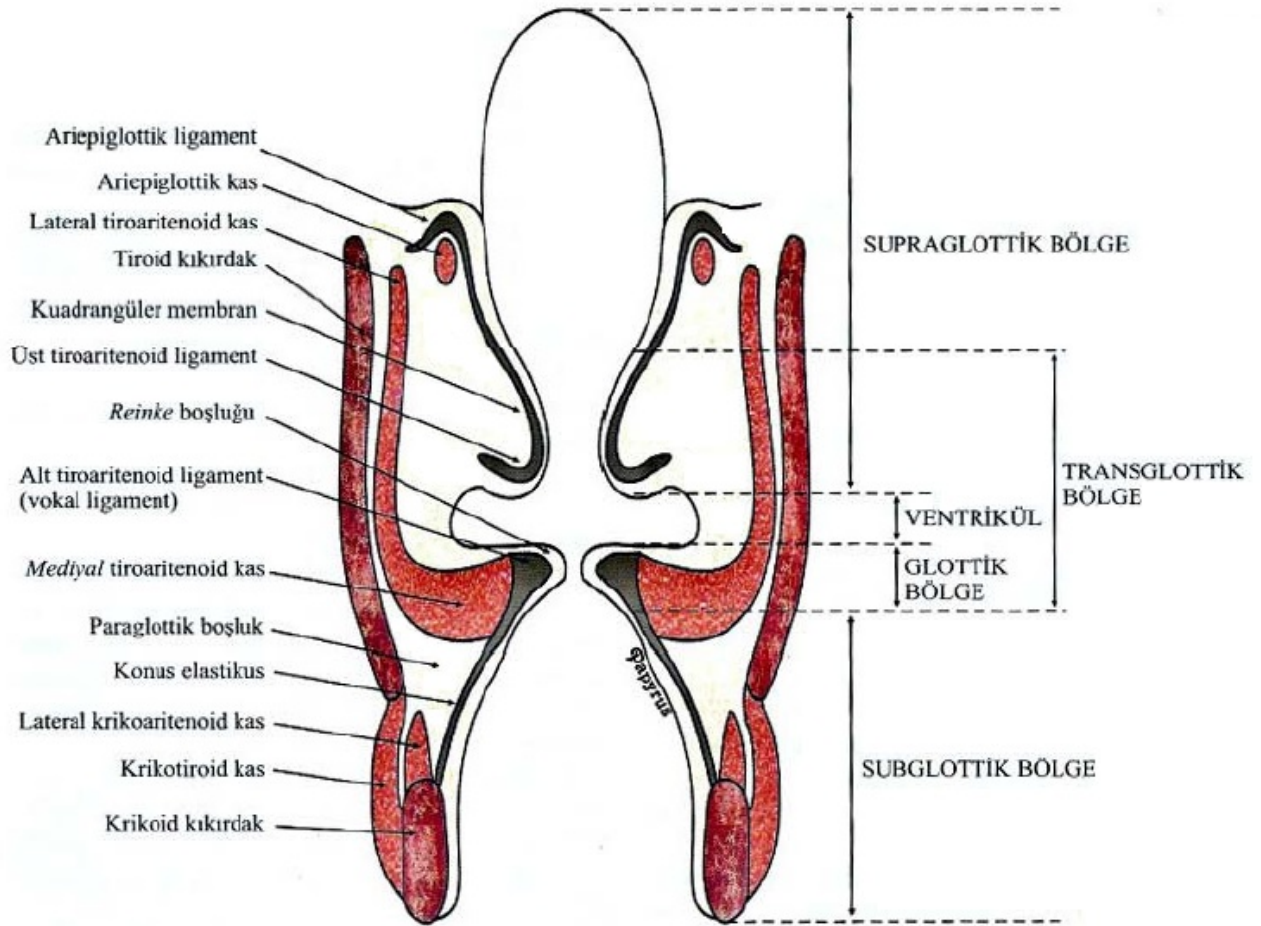
#### 2.1.1 Anatomik Bölgeler

Embriyolojik olarak larenksin supraglottik bölümünün bukkofarengeal ark (3. ve 4. arklar), glottik ve subglottik bölümünün ise trakeobronşial ark (5. ve 6. arklar) kökenli olması ve lenfatik drenajın bölgelere göre farklılık göstermesi, larenksi üç anatomik bölgeye ayırarak inceleme zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır (Mehdiyev 2009).

**Supraglottik bölge:** Epiglotun larengeal yüzü, ariepiglottik plika, aritenoidlerin larengeal yüzü, band ventriküller ve ventrikül tabanına kadar olan bölgeyi içerir. Epiglot üst ucunun lingual yüz mukozası larengeal kabul edilirken, hyoepiglottik bağın üzerindeki vallekula mukozası orofarengeal kabul edilir.

**Glottik bölge:** Her iki vokal kord, ön ve arka komissür ile rima glottisten oluşur. Ventriküllerden geçen horizontal hatla supraglottik bölgeden ayrılır.

**Subglottik bölge:** Vokal kord alt kenarının 10 mm altından krikoid kıkırdak alt sınırına kadar uzanan bölgedir. Bazı otörler glottik-subglottik sınırın yassı hücreli epitel ile solunum yolu epiteli arasındaki bağlantı yerinin olduğunu ve bu bölgenin vokal kord serbest sınırının 5 mm altında olduğunu savunmaktadırlar (Şekil 2. 1).



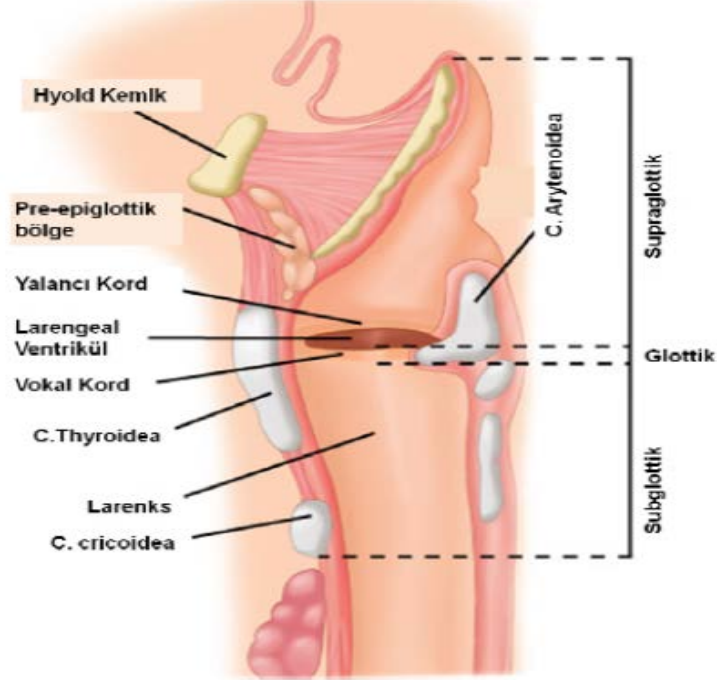
Şekil 2.1. Larengeal bariyer ve kompartmanlar (Hızalan 2003)

### 2.1.2 Larenksin İç Yapısı

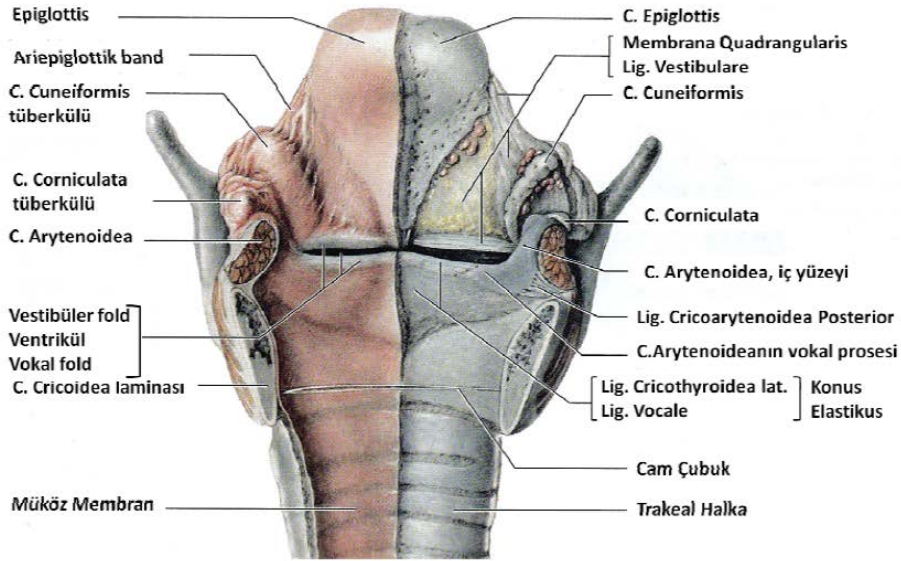
Larengeal kavite, larengofarenksten başlayan larengeal giriş ile krikoid kartilaj alt sınırı arasındadır. Yalancı kordlar (vestibüler fold) ve gerçek vokal kordlar tarafından üç bölüme ayrılır (Şekil 2.2.) ( Şekil 2.3.).

1. Vestibül: Yalancı kordlar üzerinde kalan larenks iç kısmıdır.
2. Larengeal ventrikül (Morgagni ventrikülü, larengeal sinüs): Yalancı kordlar ile gerçek kordların üst sınırı arasındaki mesafedir.
3. Subglottik mesafe: Vokal kordlar ile krikoid kartilaj alt sınırı arasındadır. Ayrıca larengeal ventrikülün ön kısmından başlayan, koni şeklinde tiroid kartilaj ile yalancı kordlar arasında yer alan bir boşluk vardır ve sakkül olarak isimlendirilir. Sakkülde çok sayıda minör tükrük bezi bulunur ve vokal kordları nemlendirmek için mukozal yüzeye açılır. Vokal kordların serbest kenarları arasındaki açıklığa rima glottis denir. İki yalancı kord arası açıklık ise rima vestibuli adını alır. Yalancı vokal kordların (yalancı plikalar, ventriküler bandlar) yutma ve glottal kapanma sırasında önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Vokal kordlar ise

ses oluşumu ve alt solunum yollarının korunması ile direkt ilişkilidir. Kan damarları açısından fakir oldukları için parlak beyaz bir görünüme sahiptirler.



**Şekil 2.2.** Larenksin anatomik bölgelerinin yandan görünümü ve pre-epiglottik bölge (Brunnicardi, Andersen, Billiar, Dunn, Hunter, Matthevs, Pollock: Schwartz's Principles of Surgery, 9. Baskı)



**Şekil 2.3.** Larenksin iç yapısı ve membranları (Moore, Dalley: Clinically Oriented Anatomy, 4. Baskı)

### **2.1.3 Larenksin Membran ve Bariyerleri**

Larenksin bağ doku bariyerleri larengeal kompartmanlar için sınır olarak hizmet eder. Alt kısım (konus elastikus, krikovokal membran) kuadrangüler membrandan ventrikül ile ayrılır. Krikovokal membran (konus elastikus) larenksin alt kısmını sarar. Önde orta hatta krikotiroid ligamanı oluşturacak şekilde birleşir. Krikoid kıkırdağın üst kenarına doğru tutunarak yanlara doğru ilerler. Yukarıda ise, tiroid kıkırdağın alt kenarında orta hatta birleşir. Serbest kenarı vokal ligamanı oluşturacak şekilde arkaya doğru ilerler. Üstte arkada vokal prosese tutunarak sonlanır. Bu membran glottik ve subglottik bölgeyi paraglottik mesafeden ayırır.

Kuadrangüler membran, önde epiglotun serbest kenarına tutunarak başlar. Her iki tarafta arkaya doğru ilerleyerek aritenoid kıkırdağın medial yüzüne tutunur. Üstte ve altta iki serbest kenarı bulunur. Üstteki serbest kenarı ariepiglottik foldu, alttaki serbest kenar ise ventriküler foldu oluşturur. Anterior kommissür tendonu (Broyles tendonu), her iki vokal ligaman önde birleştikten sonra tiroid kıkırdağa tutunur. Bu bölgede tiroid kıkırdağın iç perikondriumu yoktur. Bu durum anterior kommissür lezyonlarının kolayca tiroid kıkırdağa invazyon yapmasını sağlar. Anterior kommissür tendonu lateral subglottik tümörler için sınırlayıcı olmasına rağmen büyük glottik ve orta hatta yerleşmiş supraglottik tümörler için bir geçiş yoludur.

Tirohiyoid membran, tiroid kıkırdağın üst kenarı ile hiyoid kemik korpusu ve büyük boynuzunun alt kenarı arasında uzanır. Preepiglottik boşluğun ön duvarını oluşturur. Krikotiroid membran tiroid kıkırdağın alt kenarından krikoid kıkırdağın üst kenarına uzanır.

### **2.1.4 Larenks Kompartmanları**

Vokal ligamanın üzerini örten mukoza gevşek olduğu için burada potansiyel bir boşluk vardır. Reinke boşluğu olarak adlandırılan bu yapı vokal kord boyunca uzanır. Preepiglottik boşluk, üstte hiyoepiglottik ligaman ve vallekula mukozası, önde tirohiyoid membran ve tiroid kıkırdağın, arkada epiglot ve tiroepiglottik ligaman ile sınırlıdır. Bu boşluk, areolar yağ dokusu, lenf ve kan damarları içerir.

Paraglottik boşluk, ventriküllerin lateralindeki boşluktur. Dışta tiroid laminalar, inferomedialde konus elastikus, medialde larengeal ventrikül, süperomedialde ise kuadrangüler membran ile sınırlıdır. Bu boşluk önde preepiglottik boşluk ile bağlantı kurar. Bu boşluğa yayılan tümörler, üstte tirohiyoid membrandan, altta da krikotiroid membrandan larenks dışına yayılabilir. Paraglottik boşluğun arka duvarı sinüs piriformis mukozası ile kaplıdır (Caylan 2004, Lee 2004, Ballenger 2006).

### **2.1.5 Larenksin Vasküler Anatomisi**

Larenks, süperior ve inferior tiroid arterlerin larengeal dallarından kanlanır. İki arter arasında anastomozlar da mevcuttur. Venöz drenaj ise; süperior ve inferior larengeal venler ile olur. Bu venler internal juguler venlere ve oradan da tiroservikal trunkusa boşalır (Clemente 1975, Koç 2003).

### **2.1.6 Larenks Lenfatikleri**

Glottik bölgenin lenfatik drenajının olmadığı kabul edilmekle birlikte; anterior komissür bölgesinin lenfatik drenajı yoğundur (Mendenhall 1988). Supraglottik bölgenin zengin lenfatik ağı; preepiglottik alana ve tirohyoid membrana doğru yönelir ve özellikle subdigastrik lenf nodlarına drene olur. Az bir kısmı da orta juguler zincir lenf nodlarına drene olur. Subglottik bölge lenfatik olarak zengin değildir. Lenfatik ağı; krikotiroid membranı geçip; prelarengeal (Delphian) ve pretrakeal lenf nodlarına drene olur. Bu nodlardan da, orta servikal ve paratrakeal alandaki üst mediastinal lenf nodlarına drene olur (Clemente 1975). Larenks lenfatiklerinin doğru anlaşılması, larenks kanserlerinin yayılım davranışlarının doğru tespiti açısından çok önemlidir.

### **2.1.7 Larenks Histolojisi**

Epiglottun lingual yüzünün tamamı, larengeal yüzünün üst tarafı ve vokal kordlar nonkeratinize çok katlı skuamöz epitel ile kaplıdır. Diğer larengeal alanlar ise silli respiratuar tipte epitel ile döşelidir (Mutlu 2008). Özellikle sigara kullanımına bağlı olarak respiratuar tipteki epitel tamamen skuamöz tipteki epitel ile yer değiştirebilir (Sternberg 1997, Rosai 2004). Tiroid, aritenoid ve krikoid kıkırdak hiyalin tipte olup, epiglot ve diğerleri ise elastik tiptedir. Hiyalin kıkırdaklar yaşlanmayla kalsifikasyona uğrayabilir (Moore 1999). Larenkste sadece hiyalin kıkırdaktan oluşan yapılar ossifikasyona uğrarlar, bunlar da tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdaklardır. Hyoid kemik 2. yaşta tamamen ossifiye olduğundan radyolojik olarak bir karışıklık noktası teşkil etmez. Tiroid kıkırdak erkeklerde 20 yaş civarı, kadınlarda ise bir kaç yıl daha geç ossifikasyona uğrar. Ossifikasyon laminanın posteroinferiorundan başlar. Daha sonra, alt kenar boyunca yukarıya doğru ilerler. Krikoid ve aritenoid kıkırdaklar, tiroide göre daha geç ossifikasyona uğrarlar. Ossifikasyon genellikle alt kenardan başlamaktaysa da kuadrat lamina üst kenarı erken bir ossifikasyon bölgesi olabilir (Sasaki 1996). Larengeal kıkırdakların neoplastik invazyonu, genellikle ossifiye olmuş bölümlerden başlar. İnkomplet ossifikasyon patterni, ufak invazyon alanlarının fark edilmesini zorlaştırır (Sasaki 1996).

## **2.2 Larenks Kanserleri**

### **2.2.1 Epidemiyoloji**

Larenks kanseri tüm vücut malignitelerinin % 2-5'ini oluşturmaktadır. Larenks kanseri en sık 5-7. dekadlar arasında görülmekte olup, erkek/kadın oranı 10/1 oranındadır (Kaya 2002, Özlügedik 2005, Özüdoğru 2006). Erkeklerde daha fazla görölmesine rağmen, sigara içen ve erkeklerle aynı işlerde çalışan kadınların sayısının artmasıyla aradaki fark azalmakta ve son zamanlarda bu oranın 5-6/1 şeklinde değiştüğünü bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Stevens 1995). Larenks kanseri bulunan bir hastada aynı anda (senkron) birden fazla karsinom görölme oranı yaklaşık %1'dir. Metakron primer tümör ihtimali ise %5-10'dur. Başka bir tümörle en fazla beraber olabilen tümör larenks kanseridir (Koç 2003).

### **2.2.2 Etiyolojik Faktörler**

Larenks kanseri oluşmasında değişik faktörler rol oynamaktadır (Kaya 2002). Sigara en önemli risk faktörüdür. Pekçok çalışma artan sigara kullanımı ile riskin arttığını göstermektedir (Maier 1992). Filtreli sigara ve hafif tütün ürünlerinin, ağızlıklı sigara ve siyah tütün ürünlerine göre %50 daha az riskli olduğu gösterilmiştir (Tuyns 1988). Öte yandan sigaranın bırakılması ile kanser riski belirgin oranda azalmaktadır (Rosai 2004, Mills 2000). Alkol de sinerjik bir etkiyle sigara kullanımı ile birlikte riski oldukça arttırmaktadır. Aşırı alkol kullanımının glottik değil, supraglottik kanserlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lowry 1975). Fransa kökenli bir çalışmada sigara içenlerde larenks kanseri gelişimi için 13 kat fazla risk, aynı zamanda 1,5 litre/gün'den fazla şarap tüketenlerde ise 34 kat fazla risk olduğu gösterilmiştir (Adams 2007).

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, metal tozu gibi maddelere maruziyetin larengeal karsinom riskini arttırdığı bildirilmiştir (Barnes 2005).

Vogelstein'in tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ya da proto-onkogenlerin aktivasyonu teorisine göre 9p21 mutasyonu, p53 gen mutasyonu ve 11q13 proto-onkogeninin aktivasyonu tümör gelişimi ile ilişkilendirilmektedir (Adam 2007).

İmmün yetmezlikli olanlarda ve immünsupresif tedavi alanlarda malignensi görölme sıklığı artmaktadır. Ayrıca, papillom, keratoz, lökoplazi, kronik larenjit, tüberküloz ve sifiliz lezyonları gibi premalign lezyonlar da kansere dönüşebilmektedir (Kaya 2007).

İnsan papilloma virüsü (HPV)'nin larengeal karsinogenezdeki rolü tartışmalıdır. Almadori ve ark. larenks tümörlerinin üçte birinde HPV DNA'sının varlığını tespit etmişlerdir (Almadori 2001). HPV'nin tümör gelişiminde anlamlı bir rolünün olabileceğini, ancak bu rolün lokal ve özgün olup az sayıda larengeal kanser olgularında

etkin olabileceğini öne sürmüşlerdir (Ha 2002). Clayman ve ark. larengeal kanser örneğinin %24'ünde HPV pozitifliği tespit etmişlerdir (Clayman 1994).

Larengeal kanser ile gastroözefageal reflü arasındaki ilişki tam olarak kanıtlanmamış olmasına karşın, gastroözefageal reflü larenks kanseri açısından bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Adams 2007).

### **2.2.3 Histopatoloji**

Larenks kanserlerinin %95'i yassı hücreli karsinomlardır (Sessions 2001, Mendenhall 1997, Norris 1998). Ender olarak yassı hücreli karsinom dışında kanserler de görülebilir. Bunlar tüm larenks kanserlerinin %1'inden azını oluşturur (Batsakis 1992). Mikroskopik olarak iyi diferansiye (grade-1) tümörlerde epitel hücrelerinde düzenli bir tabakalanma ile bol miktarda keratinizasyon ve keratin inciler (glob korne) gözlenir. Orta derecede diferansiye (grade-II) tümörlerde bir miktar skuamöz matürasyon ve tabakalanma ile tek hücre keratinizasyonları gözlenir. Keratin inciler yoktur ya da azdır. Az diferansiye (grade-III) karsinomalarda ise skuamöz karakter hala fark edilebilmektedir, ancak nükleer pleomorfizm belirgindir ve çok sayıda atipik mitoz gözlenir (Friedmann 1993).

Larenkste yassı hücreli karsinomaların üç önemli varyantı vardır.

#### **1. Verrüköz Karsinom**

Geniş tabanlı, siğilimsi, ekzofitik gelişimli lezyonlardır. Genellikle glottik bölgede yerleşirler (Stevens 1995, Taxy 1996, Chandrasama 1998). Tüm larengeal karsinomaların %14'ünü oluştururlar (Ferlito 1980). Klinik olarak lokal tahrip edici karakter göstermelerine rağmen histopatolojik olarak atipi belirgin değildir ve son derece iyi diferansiye lezyonlar olarak gözlenirler. Vasküler ve nöral invazyon ile metastaz nadir gözlenir (Stevens 1995, Taxy 1996).

#### **2. Füziiform Hücreli Karsinom**

Makroskopik olarak polipoid şekillidir. Tipik insutu ve invaziv yassı hücreli karsinom alanları ile birlikte malign füziiform hücrelerden oluşur. Füziiform hücre komponenti, immünohistokimyasal ve ultrastrüktürel olarak epitelyal farklılaşma belirtileri taşır (Zarbo 1986).

#### **3. Bazaloid Karsinom**

Çok malign ve agresif seyirli bir tümördür. Tipik insutu veya invaziv yassı hücreli karsinom alanlarına, küçük ve hiperkromatik nükleuslu, dar stoplazmalı hücre grupları eşlik eder. Küçük kistik boşluklar, nekroz, yaygın hiyalinizasyon ve hücre adalarının çevresinde palizatik dizilim diğer karakteristik özellikleridir (Rosai 1996).

#### **4. Diğer Malign Tümörler**

Yassı hücreli karsinom dışında kalan larenks kanserleri, tüm larenks kanserlerinin %1'inden azını oluşturur (Batsakis ve Luna 1992). En sık görülen nöroendokrin karsinomlardır (Batsakis ve Naggar 1992). Diğer görülen tipler ise adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve asiner hücreli karsinomlardır. Primer malign mezenkimal tümör, lenfoma ve malign melanom primer olarak gelişebilir, ancak metastatik karsinom olasılığı ekarte edilmelidir (Sciot 1995, Wening 1995). Larenkste deri, böbrek, meme ve akciğer gibi organ tümörlerinin metastazları görülebilir.

##### **2.2.4 Semptomlar**

Supraglottik tümörlerde, erken evrede spesifik bir semptom yoktur. Genellikle ileri evrelerde tanı konulmaktadır. Ağrı ve yutma güçlüğü ortaya çıkabilmektedir. Ancak, daha ileri evrelerde ise; dispne, ses kısıklığı, boyunda kitle, kulağa vuran ağrı görülebilir ( Lee 2002). Glottik tümörler ise erken dönemde ses kısıklığı ve daha ileri evrelerde de dispne ve stridor meydana gelebilir ( Lee 2002).

Erken evre subglottik kanserlerde de bulgular sılıktır. Dispne, stridor ve hemoptizi görülebilir. Ses kısıklığı ancak tümör vokal kordlara uzandıktan sonar gelişir ( Lee 2002). Larenks kanserlerinde erken bulgulardan biri de servikal lenf nodu metastazı sonrası lenfadenopatidir. Bu nedenle servikal muayenenin de göz ardı edilmemesi gerekmektedir (Licitra 2003).

##### **2.2.5 Tanı**

Tanısal çalışmalar; dikkatli bir anamnez, tam bir kulak burun boğaz muayenesi, ayrıntılı endoskopik larenks ve nazofarenks muayenesi ve boyun muayenesini içerir. Kesin tanı, şüpheli lezyon bölgelerinden genel anestezi altında mikroskop eşliğinde biyopsi alınması ile konur. Ancak biyopsi nedeniyle tümör cerrahi sınırında oluşabilecek bozulma ve karışıklıkların önüne geçmek amacıyla mutlaka direkt larengoskopi ve biyopsi öncesi, kontrastlı bilgisayarlı boyun tomografisi çekilmelidir (Million 1994).

Bilgisayarlı boyun tomografisi, özellikle larengeal iskelete ait tutulumları göstermede önemlidir. Ayrıca tümör volümü ölçümüne de olanak verir. Kord tutulum ve invazyonlarını, kartilaj invazyonlarını, preepiglottik ve paraglottik bölge invazyonlarını, boyundaki nonpalpabl lenf nodu tutulumlarını net olarak gösterir. Sadece palpasyonla servikal lenf nodu metastazı varlığı ya da yokluğunun tespiti, Bilgisayarlı Tomografi (BT) ile %20-50 oranlarında yanlış negatiflik göstermektedir ( American Joint Committe on Cancer 2002).

Manyetik Rezonans (MR) görüntüleme, her vakada gerekli olmamakla birlikte; özellikle yumuşak dokuları BT'ye göre daha iyi göstermesiyle öne çıkar. Tümör sınırlarının net izlenemediği, çevre dokulara invazyonun net olarak değerlendirilemediği seçilmiş vakalarda kullanılabilir (American Joint Committee on Cancer 2002). Pozitron emisyon tomografisi, özellikle parsiyel ve organ koruyucu yapılan cerrahiler sonrası radyoterapi uygulanan hastaların; radyoterapi sonrası oluşan doku değişiklikleri ile tümör rekürrensi arasındaki ayrımın yapılması açısından önem arz etmektedir (Stell 1990).

### **2.2.6 Larenks Kanserlerinin Sınıflandırılması**

Larenks kanserleri tümörün lokalizasyonuna göre supraglottik, glottik, subglottik ve transglottik olarak 4'e ayrılmaktadır (Thawley 1991, Hao 1995, Aydın 1997, Coşkun 2003).

#### **Supraglottik Kanserler**

Bu bölge kanserleri daha çok ariepiglottik plika, band ventrikül ve epiglot larengeal yüzünden kaynaklanmaktadır. Glottik mesafeye yayılım yüzeysel mukozal yayılım veya paraglottik alandan konus elastikusu invaze ederek olur. Epiglot foraminaları doğal dirençsiz bölgelerdir ve tümör bu foraminalardan vallekula ve dil köküne yayılabilir. Supraglottik kanserlerin en sık yayılma bölgesi preepiglottik alandır. Epiglot larengeal yüzünün orta bölümünden kaynaklanan tümörler preepiglottik alana yayılırken, lateral kenardan kaynaklanan tümörler sıklıkla paraglottik alana yayılır (Coşkun 2003).

#### **Glottik Kanserler**

Gerçek vokal kordlar, anterior ve posterior komissürden kaynaklanan önde gerçek kord seviyesinin 1 cm, arkada ise 0.5-0.6 cm altına kadar uzanan kanserlerdir (Mutlu 2008). Genellikle iyi diferansiye olup ve prognozu da iyidir. Ön kommissür tutulumu prognozu olumsuz etkiler. Broyle tendonu tümörün karşı korda yayılmasını engeller. Karşı korda geçiş genellikle kordun alt yüzeyinden mukozal yayılım ile olur. Petiol ve ön kommissürü birlikte tutan tümörlerde tiroid kıkırdak iç perikondriyumunun invazyonu sonucu larenks dışına yayılım ihtimali %75'lere yükselir. Subglottik yayılım genellikle ön kommissürden aşağıya direkt invazyon şeklinde olur (Coşkun 2003).

#### **Subglottik Kanserler**

Gerçek kordların önde 1 cm, arkada 0.5-0.6 cm altından krikoid kıkırdak alt sınırına kadar olan bölgeden kaynaklanan kanserlerdir (Mutlu 2008). Konus elastikus bu bölge tümörlerinin yukarı yayılmasını engeller. %75'inde krikotiroid membran yoluyla larenks dışına yayılır (Coşkun 2003).

## Transglottik Kanserler

Mc Gavran transglottik tümörleri larenksin hem supraglottik, hem infraglottik bölümlerini invaze ederek her iki bölgenin izole lezyonlarından daha fazla metastatik lenf nodu oluşturan lezyonlar şeklinde tanımlamıştır (Mutlu 2008). Transglottik terimi kanserin nereden başladığını değil nereye lokalize olduğunu belirten klinik tanımsal bir ifadedir. Bu nedenle kansere karşı uluslararası örgütü (UICC) sınıflamalarında tümörün orjini esas alındığından transglottik kategorisi bulunmamaktadır (Hao 1995).

### Larenks Kanserleri Klasifikasyonuna Göre TNM Sistemi:

American Joint Commite On Cancer (AJCC) tarafından 2010 yılında son düzenlenmiş şekline göre larenks kanserleri aşağıdaki gibi sınıflandırılır (Edge 2010) (Tablo 2.1-2.7). Bu sınıflandırma da kullanılan TNM sistemi T (tümör), N (lenf nodu) ve M (metastaz) öğelerini kapsamaktadır.

<b>Tx</b>	Tümör değerlendirilemedi
<b>To</b>	Primer tümör yok
<b>Tis</b>	Karsinoma in situ

**Tablo 2.1.** Primer tümörün değerlendirilmesi

<b>T1</b>	Tümör supraglottisin bir alt bölgesine sınırlıdır, kord hareketleri normaldir.
<b>T2</b>	Tümör supraglottisin birden fazla alt bölgesinin mukozasını, glottisi veya supraglottis dışındaki bir bölgeyi (örneğin dil kökü mukozası, vallekula, piriform sinüs medial duvarı) tutmuştur, kord hareketleri normaldir.
<b>T3</b>	Tümör larenks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır ve/veya post-krikoid bölge, preepiglottik dokular, paraglottik alan invazedir ve/veya minör tiroid kıkırdak invazyonu (iç korteks) mevcuttur.
<b>T4a</b>	Tümör tiroid kıkırdağı invaze etmiş ve/veya larenks dışına, boyun yumuşak dokularına, tiroide, özefagusu yayılmıştır.
<b>T4b</b>	Tümör prevertebral boşluğu, mediastinal yapıları invaze etmiş veya karotid arteri kaplamıştır.

**Tablo 2.2.** Supraglottik tümörün değerlendirilmesi

<b>T1</b>	Tümör vokal kordlara sınırlıdır ve kord hareketleri normaldir (anterior veya posterior komissür invazyonu olabilir)
<b>T1a</b>	Tümör tek bir vokal korda sınırlıdır.
<b>T1b</b>	Her iki vokal kordda tümör mevcuttur.
<b>T2</b>	Tümör supraglottis ve/veya subglottise uzanmaktadır ve/veya kord hareketleri kısıtlanmıştır.
<b>T3</b>	Tümör larenks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır ve/veya paraglottik alan invazyonu vardır ( iç korteks ).
<b>T4a</b>	Tümör tiroid kıkırdağı invaze etmiş ve/veya larenks dışına, boyun yumuşak dokularına, tiroide, özefagusu yayılmıştır.
<b>T4b</b>	Tümör prevertebral boşluğu, mediastinal yapıları invaze etmiş veya karotid arteri kaplamıştır.

**Tablo 2.3.** Glottik tümörün değerlendirilmesi

<b>T1</b>	Tümör subglottiste sınırlıdır.
<b>T2</b>	Tümör vokal kordlara uzanmakla birlikte kord hareketleri normal veya kısıtlanmıştır.
<b>T3</b>	Tümör larenks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır.
<b>T4a</b>	Tümör krikoid veya tiroid kıkırdağı invaze etmiş ve/veya larenks dışına, boyun yumuşak dokularına, tiroide, özefagusu yayılmıştır.
<b>T4b</b>	Tümör prevertebral boşluğu, mediastinal yapıları invaze etmiş veya karotid arteri kaplamıştır.

**Tablo 2.4.** Subglottik tümörün değerlendirilmesi

<b>Nx</b>	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememektedir.
<b>No</b>	Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur.
<b>N1</b>	En büyük çapı 3 cm'yi geçmeyen tek bir ipsilateral lenf nodunda metastaz vardır.
<b>N2a</b>	En büyük çapı 3-6 cm. arasında tek ipsilateral lenf nodunda metastaz vardır.
<b>N2b</b>	Hiçbirinin çapı 6 cm'yi geçmeyen multipl ipsilateral lenf nodlarında metastaz vardır.
<b>N2c</b>	Hiçbirinin çapı 6 cm'yi geçmeyen bilateral veya kontralateral lenf nodlarında metastaz vardır.
<b>N3</b>	Bir lenf nodunda 6 cm'den büyük metastaz vardır.

**Tablo 2.5.** Bölgesel lenf nodlarının değerlendirilmesi

<b>Mx</b>	Uzak metastazlar değerlendirilememektedir.
<b>Mo</b>	Uzak metastaz yoktur.
<b>M1</b>	Uzak metastaz vardır.

**Tablo 2.6.** Uzak metastazların değerlendirilmesi

<b>Evre 0</b>	Tis	N0	M0
<b>Evre I</b>	T1	N0	M0
<b>Evre II</b>	T2	N0	M0
<b>Evre III</b>	T3	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
<b>Evre-IVa</b>	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
<b>Evre-IVb</b>	T4b	Herhangi bir N	M0
	Herhangi bir T	N3	M0
<b>Evre-IVc</b>	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

**Tablo 2.7.** Larenks kanseri evrelemesi (Edge 2010)

### 2.2.7 Larenks Kanserlerinde Yayılım

Larenks kanseri orjinini aldığı bölgeden diğer bölgelere direkt mukozal ve submukozal ilerlemeyle, lenfatik veya vasküler permeasyonla, perinöral yayılım ya da komşu yapılara direkt invazyonla ilerleyebilir (Kirchner 1991).

Larenks kanserlerinde boyun metastazları %25-65 oranında görülür ve prognozu belirleyen en önemli faktörlerden biridir (Shah 1990, Dos Santos 2001, Soylu 2002, Aygenç 2003). Servikal metastaz riski tümörün yerleşim yerine, diferansiasyonuna, evresi-

ne, mukozal infiltrasyonuna, perivasküler ve perinöral invazyonuna bağlıdır (Yılmaz 1998, Kaya 2002).

Ne yazık ki, servikal metastazı belirleme konusunda mevcut yeteneğimiz kısıtlıdır (Johnson 1991). Boyun metastazı, klinik muayene ile tam olarak saptanamamaktadır. Bocca'nın yaptığı bir çalışmada klinik muayenede N0 olarak değerlendirilen hastalarda boyun diseksiyonunu takiben %12 oranında karsinom metastazı olduğu bulunmuştur (Mutlu 2008, Hao 1995).

BT ve MR, palpabl olmayan hastalıklı vakaları belirleme yeteneğimizi geliştirmekle beraber, küçük tümör metastazları yinede gözden kaçabilmektedir (Hao 1995, Cosselin 1995, Mutlu 2008). MR'nin, palpasyonda bulunan kısımları saptamada yanlış payı %32 olarak ifade edilmiştir (Vanden 1991). Nodal metastazı göstermede fizik muayene %70-82 güvenilirliğe sahipken, BT %83-93 oranında bilgi verebilmektedir (Aydın 2002, Mutlu 2008).

Klinik olarak negatif kabul edilen boyunlarda gadolinium katkılı MR'nin güvenilirliği %60 ve hata payı %15 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, duyarlılığının da çok düşük olduğu belirtilmiştir (Vanden 1991). Genel olarak 15 mm'den büyük servikal nodlar potansiyel olarak malign, bu değerden küçük nodlar ise reaktif veya enflamatuvar olarak değerlendirilirler (Thawley 1991, Mutlu 2008).

Glottik karsinomda lenfatik ağın az olması nedeniyle boyun metastazı nadirdir. Vokal kordların elastik fibrillerde oluşan kısmında lenfatik damarlar bulunmaz. Lenfatikler vokal kordların fibromusküler kavşağından itibaren başlar. Vokal kordların en zengin lenfatik ağı ise musculus vokalis içinde bulunur. Kord vokallerin üst yüzleri ve serbest kenarları lenfatikten tamamen yoksundur; sadece ön ve arka komissürlerde az sayıda lenfatik kapiller vardır. T1 kanserlerde metastaz %5'den az, T2 kanserlerde %5-10, T3 kanserlerde %10- 20, T4 kanserlerde %25-40 civarındadır. Yine en çok II. , III. ve IV. bölgelere metastaz meydana gelir. Ekstensif subglottik veya supraglottik tümör olmadıkça kontralateral ve bilateral metastazlar nadirdir (Koç 2003). Arka komissürdeki lenf drenajı doğrudan supraglottik akıma karışır. Ön komissür bölgesindeki akımda daha çok supraglottik bölgeye yönelir. Ön komissürden prelarengal delphian lenf ganglionuna drenaj olabilir ( Coşkun 2002). Glottis, supraglottik ve subglottik bölgelerin lenf akımı arasında embriyolojik bir bariyer oluşturur. Yinede glottik bölgenin lenfatik kanalları temel olarak supraglottik larenkse oradan da üst ve orta derin servikal nodlara doğrudur (Kepekçi 1992). Tanı esnasında tümörlerin yaklaşık 2/3'ü kordlara, genellikle de bir korda sınırlıdır. Kordun ön kısmı en sık tutulan bölümdür. Glottik kanserler supraglottik bölgeye yayılma eğilimi göstermez.

Subglottik yayılım basit mukozal yüzey büyümesi ile olabilir, fakat daha sıklıkla konus elastikusun altından submukozal yayılım meydana gelir. Subglottik bölgeye ön kısımdan 1 cm'lik ya da arka kısımdan 4-5 mm'lik yayılım, tümör sınırını krikoidin üst sınırına getirir ve böylece hemilarenjektominin sınırlarını aşarak total larenjektomi gerektirir. İlerlemiş glottik lezyonlar, tiroid kıkırdak veya krikotiroid boşluk yoluyla boyuna girerler, oradan da tiroid bezini tutabilirler (Olofsson 1973).

Subglottik tümörlerde boyun metastazı oranı %25'tir. Ancak boyundan çok paratrakeal ve üst mediastinal lenf nodlarına metastaz yaparlar (Coşkun 2003). İnvazyonun derinliğine göre servikal metastaz olabilir. Harrison'a göre %65 paratrakeal nod tutulumu görülmektedir. İkinci sıklıkla juguler zincire metastaz oluşur (Kirchner 1991). Subglottik ağın bir kısmı krikoid membranı ortasından delerek prelarengeal lenf nod gurubuna (delphian) drene olur. Subglottik kanserler vokal kordun alt yüzünden aşağıya uzanan kanserler ile krikoid kıkırdağın iç yüzü kanserleridir. Bu bölgeden kaynaklanan kanserler daha yüksek ganglion metastazı insidansı gösterirler (Ömür 1992).

Supraglottik larenksin lenfatikleri ise çok fazla sayıdadır (Lawson 1989, Thawley 1991, Aydın 1997). Supraglottik tümörlerde servikal metastaz insidansı %25-50 arasında değişir (Lawson 1989, Johnson 1991). Shah ve Tollafsen, kendi serilerinde bu oranın %40 olduğunu bildirmişlerdir (Johnson 1991). Supraglottik tümörlerin çoğunun orta hatta veya orta hatta yakın yerleşmiş olması bilateral metastaz görülme olasılığını artırır (Johnson 1991, Adams 2007). Supraglottik kanserler yüksek oranda palpabl ve okkült metastaz yapan kanserlerdendir. Bu bölgenin servikal metastaz oranları T1 lezyonlarda %6-25, T2 lezyonlarda %30-70, T3 ve T4'lerde %65-80 olarak bildirilmiştir (Koç 2003, Haydaroğlu 2007). Okkült metastaz oranları da %20 ile %50 oranında tümör evresine göre değişmektedir. En sık tutulan II., III. ve IV. bölge lenf bezleridir. N0 vakalarda yapılan radikal boyun diseksiyonlarında %1-6 oranında I. ve V. bölgelerde metastaza rastlanmıştır. Bu bulgulara dayanarak N0 ve N1 supraglottik kanserlerde II. ve IV. bölgeleri içine alacak diseksiyonlar yeterlidir. Radikal boyun diseksiyonu N2-3 ve T4 supraglottik kanserlere saklanmalıdır (Koç 2003, Loeb 2008).

Larenks kanseri direkt invazyon yolu ile de yayılım gösterebilir. Direk invazyon bölgeleri tümörün başlangıç yerine göre bazı değişiklikler sergiler. Suprahyoid epiglot lezyonları, epiglot serbest kenarını tutup vallekula ve dil köküne; infrahyoid epiglot lezyonları, preepiglottik bölgeye; ariepiglottik plika lezyonları paraglottik boşluğa ve sinüs priformise; band ventrikül lezyonları epiglot, ön komissür, aritenoid, ariepiglottik plika ve paraglottik boşluğa yayılma eğilimi gösterir (Kaya 2002).

Ariepiglottik fold/aritenoid lezyonların priform sinüsün medial duvarından mı yoksa ariepiglottik folddan mı başladığına karar vermek güç olabilir. İlerlemiş lezyonlar tiroid, epiglottik ve krikoid kıkırdaklara ve sonunda da priform sinüse ve postkrikoid bölgeye yayılırlar.

Glottik lezyonlar ventrikül yolu ile paraglottik boşluğa, ön komissürden tiroid kıkırdağa ve subglottik bölgeye yayılabilirler (Kaya 2002). Konus elastikus ve kuadrangular membran, tümörün yayılması için bariyer görevi görse de ileri evre tümörlerde köprü görevi görmektedirler. Tümör bir kez bu bariyerleri aştığında boyun yumuşak dokularına ve larenks içinde vertikal olarak yayılabilir.

Preepiglottik bölge özellikle ileri evre supraglottik tümörlerde, paraglottik bölge ise çoğunlukla ileri evre glottik tümörlerde tutulmaktadır. Bu kompartmanlardan biri tutulduğunda tümör aşağı ve yukarı yönde serbestçe hareket edebilmekte ve sıklıkla vokal kord mobilitesini etkilemektedir.

Anterior kommissür tendonu (Broyles tendonu), her iki vokal ligaman önde birleştikten sonra tiroid kıkırdağa tutunur. Bu bölgede tiroid kıkırdağın iç perikondriumu yoktur. Bu bölgeye Bagotelli bölgesi adı verilir. Bu durum anterior kommissür lezyonlarının kolayca tiroid kıkırdağa invazyon yapmasına neden olur. Anterior kommissür tendonu lateral subglottik tümörler için sınırlayıcı olmasına rağmen büyük glottik ve orta hatta yerleşmiş supraglottik tümörler için bir geçiş yoludur.

Subglottik lezyonlar krikotiroid aralık yoluyla larenks dışına taşıp tiroide yayılabilirler. Lümeninde trakeaya doğru gelişim gösterebilirler. Krikoid kıkırdağı invaze edebilir ve tiroaritenoid kası tutarak vokal kord fiksasyonuna sebep olabilirler (Becker 1995).

Larenks kanserli hastada uzak metastazın ilk semptom olması oldukça nadirdir; ancak ilk muayene sırasında en sık akciğerlerde olmak üzere %1-5 oranında uzak metastaz saptanmıştır. Larenks kanserli hastalarda yapılan otopsi çalışmalarında %44 uzak metastaz tespit edilmiştir (Koç 2003). Uzak metastaz ile T ve N evreleri ve diferansiyasyon derecesi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. N evresinin uzak metastazla ilişkisi T evresinden daha fazladır. En sık uzak metastaz akciğer ve kemiklere olmaktadır (Koç 2003).

## **2.2.8 Larenks Kanserlerinde Tedavi**

### **Tedavide Genel Prensipler**

Larenks kanserlerinin tedavisinde, cerrahi ve radyoterapi olmak üzere geçerli iki ana tedavi yöntemi mevcuttur (Başerer 2002). Her tedavi yönteminin avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Tümörün yayılımı, yeri, evresi, boyun metastazlarının varlığı, hangi tedavi yöntemi ile en çok kür şansının tanınabileceği, larenks işlevlerinin ne kadar korunabileceği

önemlidir. Hastanın yaşı, iş durumu, mental durumu, genel sağlık durumu, hastanın istekleri, mesleğinde sesini kullanması, kardiopulmoner durumu gibi tedavi seçimini etkileyen hastaya ait faktörler bulunmaktadır. İdeal yaklaşım şekli ve tedavi yöntemi; Kulak Burun Boğaz, Radyasyon Onkolojisi, Medikal Onkoloji, Radyoloji, Patoloji uzmanlarının katılımlarıyla, her hasta ayrı olarak değerlendirilerek belirlenir.

### **Cerrahi Tedavi**

Cerrahi tedavide primer tümörün rezeksiyonu (larenjektomiler) ile birlikte bölgesel lenf nodlarının eksizyonunun (boyun diseksiyonları) yapılması esastır.

#### **A) Primer Tümörün Rezeksiyonu (Larenjektomiler)**

Genel olarak parsiyel ve total larenjektomiler olarak ikiye ayrılabilir.

#### **Parsiyel larenjektomiler**

##### **1. Mikroskopik cerrahi:**

**a) Soğuk diseksiyon:** T1 ve bazen T2 glottik tümörler mikroskopik cerrahi ile çıkarılabilir (Coşkun 2003).

**b) Lazer eksizyon:** Transoral mikroskopik lazer ile kür insidansı, diğer konservatif cerrahiler için rapor edilen en iyi sonuçlarla benzerlik göstermektedir (Pearson 2007).

**2. Vertikal parsiyel larenjektomiler:** Tiroid kıkırdağın vertikal tirotomi yoluyla geçildiği, paraglottik alanın vertikal geçilerek çıkarıldığı yaygın kullanılan tekniklerdir.

**a) Larengofissür kordektomi:** Hastanın anatomik özellikleri veya tümörün yaygınlığı nedeniyle endoskopik cerrahi yapılamayan durumlarda tercih edilmektedir (Coşkun 2003).

**b) Vertikal hemilarenjektomi:** Tanımı konusunda farklı görüşler bulunmaktadır. Bazı yazarlar vokal kordun lateralinde kalan kıkırdak parçasıyla birlikte çıkarıldığını, bazıları ise hiç kıkırdak çıkarılmadığını belirtmektedirler (Coşkun 2003).

**c) Frontolateral hemilarenjektomi:** Ön kommissüre yaklaşan, tutan veya karşı korda geçen tümörlerde uygulanır (Tufano 2007).

**d) Posterolateral hemilarenjektomi:** Tümörün aynı tarafta aritenoid mukozasına uzandığı posterior yayımlı tümörlerde uygulanır (Tufano 2007).

**e) Genişletilmiş vertikal hemilarenjektomi:** Sıklıkla ipsilateral krikoid kıkırdağın üst kısmı da rezeksiyona dahil edilir (Tufano 2007).

**3. Epiglottik larengoplasti:** Bilateral hemilarenjektomi gibi geniş rezeksiyonlarda oluşan defekt epiglot ile rekonstrükte edilir (Coşkun 2003).

#### 4. Horizontal parsiyel larenjektomiler

a) **Supraglottik Horizontal Larenjektomi:** Tiroid kıkırdak üst bölümü ile birlikte epiglot, preepiglottik boşluk, band ventrikül, gerekirse dil kökü ve hyoid çıkarılabilir (Dursun 1990, Tufano 2007).

b) **Suprakrikoid larenjektomi ve krikohyoidopeksi:** Tiroid kıkırdağın tümü, paraglottik bölge, epiglot, preepiglottik alan ve her iki vokal kord total çıkarılmaktadır (Coşkun 2003).

c) **3/4 Larenjektomi:** Teknik olarak genişletilmiş supraglottik larenjektomidir. Supraglottik bölgenin tamamıyla birlikte bir vokal kord ve gerektiğinde bir aritenoid çıkarılmaktadır (Coşkun 2003).

d) **Near Total larenjektomi:** İleri evre larenks kanserlerinde total larenjektomiye alternatif bir tekniktir. Ancak kalıcı trakeostomi gerektirir (Veyseller 2010).

**Total larenjektomi:** Tüm larenksin, hiyoid kemiğin, üst trakeal halkaların ve sıklıkla prelarengeal adelelerin de rezektive edildiği ve kalıcı trakeostomiye de içeren cerrahi tedavi yöntemidir. İleri evre larenks kanserlerinde öngörülen tedavi yöntemi total larenjektomidir (Bailey 1985, Cevanşir 1993, Myers 1996).

#### B) Larenks kanserlerinde bölgesel lenf nodlarının eksizyonu (Boyun disseksiyonları)

Larenks kanserlerinde N(+) olgularda terapotik, N(-) olgularda profilaktik amaçlı olarak boyun disseksiyonları uygulanmaktadır. Yapılış şekline göre boyun disseksiyonları kapsamlı ve seçici olabilir (Cummings 1998). Larenks kanserinde boyun metastazının evresine göre boyun disseksiyonları uygulanabilir.

Erken evre glottik kanserlerde boyun metastazı insidansı son derece düşüktür ve elektif boyun disseksiyonun yeri yoktur. Erken evre supraglottik larenks kanserlerinde boyun N(-) olsa bile, yüksek oranda ve çift taraflı boyun metastazı yapma potansiyeline sahiptir. Dolayısıyla tedavi planı her iki boynu da içermelidir. Çift taraflı boyun disseksiyonuyla (genellikle selektif yeterlidir) birlikte uygulanan parsiyel larenjektomiler hastalığın patolojik olarak kesin evrelemesini ve gerekirse ek tedavi planlarının yapılabilmesini sağlar. İleri evre glottik kanserler de metastaz yapma potansiyeline sahiptir.

Boyun N(-)'lerde tümörün evresine göre ipsilateral veya çift taraflı boyun disseksiyonu uygulanır. N(+)'lerde N1 ise selektif boyun disseksiyonu, N2 veya N3 ise modifiye radikal veya radikal boyun disseksiyonu yapılır.

İleri evre supraglottik kanserlerde çift taraflı boyun metastazı riski yüksek olduğundan boyun disseksiyonları evreye bakılmaksızın çift taraflı yapılmalıdır. Palpable lenf nodu olmadığı sürece ipsilateral selektif boyun disseksiyonu yeterlidir. Palpable lenf nodu mevcutsa modifiye radikal veya radikal boyun disseksiyonu yapılmalıdır.

## **Radyoterapi**

Tümörün yayılım bölgeleri, hastanın tıbbi durumu, hasta ve yakınlarının seçimi ile tedaviyi yapacak merkezin deneyimleri ve olanaklarına göre larenks kanserlerinde radyoterapi, primer tedavi şekli olarak ya da kemoterapi ve/veya cerrahi tedavi ile birlikte kullanılmaktadır. Erken evre supraglottik ve glottik kanserlerde konservatif parsiyel larenjektomi ile radyoterapinin eşit sağkalım sağladığı yönünde birçok çalışma vardır. Rezektabıl, lokal ileri evre tümörlerde klasik yaklaşım postoperatif radyoterapi iken son yıllarda organ koruyucu kemoradyoterapi protokolleri de artan sıklıkta kullanılmaya başlanmıştır. Bu protokollerin başarısızlığında ise kurtarma cerrahisi yapılmaktadır. Subglottik kanserlerde ise genel olarak kombine (cerrahi + radyoterapi) tedavi önerilmektedir (Frederick 2006).

## **Kemoterapi**

Larenks kanserlerinde kemoterapi bugün için tek başına küratif değildir. Uzak metastazlı olgularda tek seçenek olarak kalabilir. En sık kullanılan kombinasyon Sisplatin ve 5-Flourourasil kombinasyonudur. Organ koruyucu protokoller ile gündeme gelen neoadjuvan kemoterapi ile primer tümörün önemli oranlarda küçüldüğü tespit edilmekle beraber, bu uygulamanın sağkalıma ek katkısı henüz gösterilememiştir (Frederick 2006).

## **2.3 Larenks Kanserlerinde Prognoz, Prognostik ve Prediktif Faktörler**

### **2.3.1 Prognoz**

Larenks karsinomlarında 5 yıllık sağkalım oranı uygulanan tedavi yöntemine göre değişmektedir. Erken evre (T1-T2) glottik tümörlerde 5 yıllık yaşam oranı %84-100 arasında değişmektedir (Olsen 1990, Demireller 1992). Erken evre supraglottik tümörlerde ise bu oran %84-89 arasındadır (Maurizi 1992, Scola 2001). İleri evre (T3-T4) glottik ve supraglottik tümörlerde 5 yıllık yaşam oranı ise sırasıyla %72-81 ve %64-74 arasında değişmektedir (Bocca 1987, Scola 1999). Subglottik kanserlerde ise 5 yıllık yaşam oranı %42-70 arasında değişmektedir (Santoro 2002).

### **2.3.2 Prognostik ve prediktif faktörler**

Baş boyun kanserlerinde önemli prognostik faktörler mevcuttur. Bunlar; tümörün tipi, diferansiyasyonu, invazyon paterni, dokunun tümöre karşı enflamatuar cevabı, perinöral invazyonu, kan ve lenf damarı invazyonu, tümörün lokalizasyonu, boyutu ve kalınlığı, kemik ve kıkırdak invazyonu, rezeksiyon sınırların durumu, lenf nodu metastazı ve uzak metastazlardır. Tüm kanserlerde olduğu gibi baş boyun kanserlerinde de önemli prediktif faktörler mevcuttur. Bu prediktif faktörler tedavi öncesinde hastalığın evriminin, daha erken evrelerde tanısının bulunmasına yardımcı olur. Tedavi protokolünün bu faktörlere göre

uygulanması tedavi sonucu ve hasta sağkalımı için daha iyi sonuçlar verecektir. Mevcut onkolojik ve biyogenetik çalışmalar sonucunda prediktif faktörler şöyle sıralanabilir:

- TNM evresi ve tümörün uzanımı gibi tümör ile ilgili faktörler
- Hücrel diferansiyasyon, mitotik aktivite, vasküler invazyon, kapsül invazyon, peritümöral infiltrasyon gibi histopatolojik faktörler ve servikal lenf nodu metastazı
- P53 modifikasyonları, KI-67 nükleer antijeni, Bcl-2 protoonkogeni, büyüme faktörleri (EGFR ve VEGF) gibi biyolojik faktörler

### **2.3.3 Larenks Kanserinin Moleküler Biyolojisi**

Kanser; kendini göstermesi, gelişimi ve sonuçları açısından bir hastadan diğerine çok değişken olan karmaşık bir hastalıktır. Aynı çeşitlilik hücrel ve moleküler düzeyde de kendini gösterir. Kanser, hücrelerin aşırı ve zamansız çoğalmalarına, immün sistemin gözetiminden kaçmalarına ve nihai olarak da uzaktaki dokuları da istila ederek metastazlar oluşturmalarına yol açan metabolik ve davranışsal değişiklikler çok basamaklı bir süreçtir. Bu değişiklikler hücre çoğalmasını ve ömrünü, komşu hücrelerle ilişkileri ve immün sistemden kaçma kapasitesini kontrol eden genetik programlardaki modifikasyonların birikmesiyle ortaya çıkar. Bu süreç, regülasyonu bozulmuş normal hücre büyümesini ve davranışını denetleyen kurallara uymadıkları için “asi” olarak nitelendirilebilecek hücrelerden oluşan bir kitlenin oluşumuna neden olur. Böylesi bir kitle uzun bir süre asemptomatik kalabilir. Ancak, sonunda büyüyerek fizyolojik işlevleri altüst edecek, kitlenin yerine ve büyüklüğüne bağlı olarak çok sayıda semptom ve kanser hücrelerinin organizma içinde yayılmasına yol açacaktır (Barry Medical oncology & principles of cancer biology chapter 1, Merlo 2006, Herceg 2007, Olive 2008).

### **2.3.4 Biyomarkerlar (Belirteçler)**

Kanser gelişimi sırasında hem hücrel morfoloji hem de moleküler karakterler değişir. Bu değişiklikler biyomarkerlerin yardımıyla hassas olarak fark edilebilir, tekil kanserler erken yakalanabilir ve iyileştirilebilir. Biyomarkerler, karsinogenez sürecinin bir tümör oluşumuna giden yolda ne kadar yol aldığını gösteren kilometre taşlarıdır. Biyomarkerler, gelecekte tıbbın bireyler için kişiselleştirilmesinin başlıca aracıdır ve hedefe özgü molekülleri temel alacaktır. N0 boyunlu hastalara yaklaşımda ortaya çıkan tartışmalar ve boyun hastalığının doğru evrelemesindeki kısıtlılıklar nedeniyle primer tümörden çalışılan bazı tümör işaretleyicilerinin lenf nodu metastazı ve diğer bazı klinikopatolojik özelliklerle ilişkisini araştıran çalışmalar son yıllarda artış göstermiştir. Metastaz oluşum basamakları ile ilişkili moleküller tablo 2.8’de özetlenmiştir (Takes 2008).

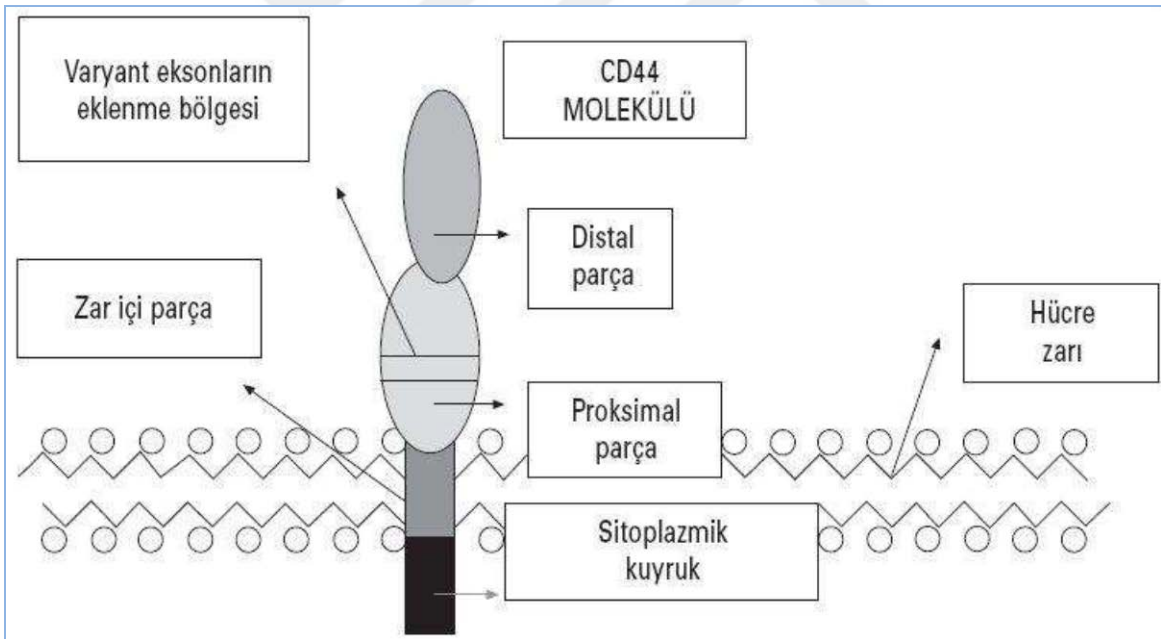
<b>Hücre döngüsü regülasyonu, hücre proliferasyonu ve apoptozis</b>	Siklinler
	Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR)
	P53
	P21
	Survivin
<b>Hücre adezyonu</b>	CD44
	Sindekan-1
	E-selektin/sialyl Lewis-X ve A
	E-kaderin
	Fokal adezyon kinaz (FAK)
<b>Proteoliz (bazal membran ve hücre dışı matriks bileşenlerinin yıkımı)</b>	Matriks metalloproteinazları (MMPs), Metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMPs)
	Ürokinaz tip plazminojen aktivatörleri (uPA), plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI)
	Kortaktin
<b>Mikroçevresel faktörler: anjiogenez, lenfanjiogenez ve hipoksi</b>	Hipoksiyle indüklenen faktör-1 (HIF-1)
	Karbonik anhidraz (CA)
	Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)
	LYVE-1
	D2-40
	Kemokinler
	CXCL12 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1) ve reseptörü, CXCR4
CCR6 ve CCR7	

**Tablo 2.8.** Metastaz oluşum basamakları ile ilişkili moleküller (Takes 2008)

### 2.3.4.1 CD44'ün Yapısı ve Fonksiyonu

CD44 değişen oranlarda glikolizasyon gösteren çok fonksiyonlu hücre zarı adezyon molekülü olup standart tip (CD44s) ve varyantlarından (CD44v) oluşur (Bajorath 2000). CD44 geni 50-60 kilodalton büyüklüğünde, 11p13 kromozomunda yerleşmiş ve en az 20 eksondan oluşmuştur (Hudson 1995).

CD44 tek zincirli bir molekül olup, bir distal hücre dışı parça, bir proksimal parça, kök, bir zar içi geçiş parçası ve bir sitoplazmik kuyruktan oluşur (Şekil 2.4.). CD44 hücreler arası ve hücre-hücre dışı matriks bağlantılarında görev alır (Kosunen 2007). CD44 hücre dışı matriks bileşenlerinden olan hiyalüronik asitin majör hücre yüzey reseptörüdür. Normal şartlarda CD44 hiyalüronik asite bağlanarak hücre dışı matriks bağlantısını stabilize eder. Aynı zamanda CD44 matriks metalloproteinaz'ları için reseptör oluşturma fonksiyonu sayesinde bu moleküllerin fonksiyonlarına dolaylı yoldan aracılık eder. Baş boyun kanserleri üzerinde yapılan çalışmalarda ekspresyon ve fonksiyonlarının boyun metastazları ile ilişkisi ile ilgili farklı sonuçlar ortaya konulmuştur (Masud 2000, Kosunen 2007).



Şekil 2.4. CD44 molekülünün yapısı

### 2.3.4.2 P53'ün Yapısı ve Fonksiyonu

Hücre siklusu ile apoptozisin entegrasyonunda anahtar faktör, tümör süpresör gen ürünü olan p53'tür. p53 tümör süpresör geni 17p13.1 kromozomunda yerleşmiştir. Esas fonksiyonu, Deoksirbo Nükleik Asit (DNA)'in radyasyon ya da bazı ilaçlarla onarılabilecek düzeylerde hasarlandığı zaman, hücre siklusunu G1 fazında durdurup hücrenin hasarlanmış DNA'sını tamir etmesi için ona zaman kazandırmaktır. Eğer DNA hasarı tamir edilemeye-

cek kadar büyükse bu durumda p53 apoptozisi indükler. Bu yüzden gen koruyucusu “guardian of the genome” olarak da tanımlanır. p53 bilindiği gibi kanser hastalarında mutasyonu en sık görülen proteindir. DNA tamir mekanizmalarındaki defektler ve selektif büyümenin kazanılması ile tümör oluşumu ve progresyonu gerçekleşir. Tümöral dokularda immunohistokimyasal yöntemle gösterilen p53 proteini mutant p53 proteindir. Normalde p53 gen ürünü proteinin intrasellüler yoğunluğu düşük ve yarı ömrü çok kısadır. Bu nedenle normal hücrelerde göstermek zordur. Mutasyona uğrayan genin yarı ömrü çok uzun olduğundan immunohistokimyasal olarak kanser hücresi nükleuslarında göstermek mümkün olmaktadır. p53 hemen her kanser türünde çalışılmış olup mutant formlarının eksprese olduğunun saptanması genellikle kötü prognoz göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Oren 1999, Engin 2000, Dabbs 2002, Rosai 2004, Kumar, 2005).

Larengeal kanserler de dahil olmak üzere insan epitelyal kanserleri arasında görülen en yaygın mutasyon p53 değişimidir ve bu değişimin frekansı invaziv lezyonlarda, invaziv olmayan lezyonlara göre %60-81 oranında artarak devam eder. Friedman ve arkadaşları (Friedman 2001) evre III ve IV larenks skuamöz hücreli karsinomlu olan 69 hastanın 39’unda P53’ün yüksek düzeyde eksprese edildiğini göstermiştir. Erken evredeki larenks kanserli 63 hastada yapılan çalışmada evre ve histolojik differansiasyon ve hastalığın gidişatıyla p53 ekspresyonu arasında bir ilişki bulunamamıştır (Horibe 2000). Bir çalışmada ilerlemiş larenks kanserlerinin %62’sinde p53 overekspresyonu görülmüş, p53 genetik mutasyonu görülmemiştir. Ayrıca tümörlerin %39’unda p53 overeksprese olmamış fakat p53 mutasyonu olduğu görülmüştür. Yapılan bu çalışmada p53 mutasyonlu, ileri larengeal karsinomlu hastaların yaşama oranında düşüş olduğu gösterilmiştir (Bradford Zhus 1997). Yakın zamanda yapılan immunohistokimyasal bir çalışmada, 86 hastanın %60’ında p53’ün over ekspresyonu görülmüş ve bunların %23’ü zayıf pozitif, %36’sı orta pozitif, %40’ında şiddetli pozitiflik bulunmuştur (Pai 1998).

Literatürde birçok çalışmada larenks yassı hücreli karsinomlarda mutant p53 proteini gösterilmiştir. Ancak kötü prognoz göstergesi olup olmadığı tartışmalıdır. Tümör süpressör gen protein indeksinin kötü prognoz ile ilişkili olduğuna dair yayınlar (Narayana 1998, Rodriguez 2005) yanı sıra prognoz ile ilişkisinin olmadığına bildiren araştırmalar da mevcuttur (Lera 1998, Hirvikoski 1999, Sittel 2000, Motamed 2001, Liu 2003, Tepp 2003, Calli 2005).

### **2.3.5 Pansitokeratin (AE1/AE3)'in Yapısı ve Fonksiyonu**

Sitokeratinler epitel hücrelerinin sitoplazması içinde keratin içeren filamanları oluşturan proteinlerdir. Düşük molekül ağırlıklı ve yüksek molekül ağırlıklı olarak 2 gruba ayrılırlar. AE1/AE3 sitokeratini 2 farklı klonun karışımından meydana gelen bir monoklonal antikordur. AE1 klonu yüksek molekül ağırlıklı sitokeratinlerden 10, 14, 15 ve 16'yı, düşük molekül ağırlıklı sitokeratinlerden 19'u tespit eder. AE3 klonu yüksek molekül ağırlıklı 1-6'yı ve düşük molekül ağırlıklı sitokeratin 7 ve 8'i tespit eder. İmmunhistokimyasal pansitokeratin (PanCK) antikoru ile stoplazmik kahverenkte boyanma pozitif reaksiyon olarak kabul edilir. Bazı olgularda, aktif fibroblast ve/veya histiyositler tarafından oluşturulan stromal reaksiyon nedeniyle, tomurcuklanmalar tek başına Hematoksilen-Eozin (H&E) ile tespit edilememektedir. Ayrıca, belirgin enflamasyon tümör hücre tomurcuklanmasını gizleyebilir (Mitrovic 2002). Bu yüzden, daha önceki çalışmalarda olduğu gibi, tümör tomurcuklanması ve filizlenmesini immunhistokimyasal antisitokeratin AE1/AE3 antikoru kullanarak daha doğru bir şekilde değerlendirilebilmektedir (Prall 2005, Shinto 2005, Losi 2006, Shinto 2006, Kazama 2006, Ohtsuki 2008, Suzuki 2009).

### **2.3.6 Tümör Budding (tümör tomurcuklanması, TT)**

Başlangıçta Imai ve ark. tarafından "çimlenme" olarak adlandırılan tümör tomurcuklanması; neoplazinin ilerleyen sınırında görülen ve kolaylıkla tespit edilebilen bir histopatolojik özelliktir (Ohike 2010). Bu diffüz infiltratif büyüme paternine benzer ve stromada, invazif sınırdan farklı mesafelerde, izole tek hücre ya da 5 hücreye kadar olan küçük tümör hücre kümelerinin mevcudiyeti ile karakterizedir. Tümör tomurcuklanması tümörlerin agresif davranışı ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca, kolorektal kanserler, özefagus karsinomu, anal karsinom, pankreatik karsinom, akciğer karsinomu, ampulla karsinomu gibi birçok kanser türlerinde lenf nodu metastazı, rekürrens, uzak metastaz ve düşük sağkalım ile ilişkilendirilmektedir. Tümör tomurcuklanması kolorektal karsinom için olumsuz bir prognostik faktör olarak belirlenmiştir. Ayrıca, Kansere Karşı Uluslararası birlik (UICC) tarafından ilave bir pronostik faktör olarak sınıflandırılmıştır (Miyata 2009, Ohike 2010, Masuda 2012, Ohtsuki 2013, Karamitopolou 2013). Morodomi (1989) ve Ueno (2002) H&E ile boyalı preparatları kullanarak tümör tomurcuklanmasının derecelendirmesini gerçekleştirmişlerdir. Ancak, bu derecelendirmelerin TT'nin objektif olarak değerlendirilmesinde pekçok kısıtlamaları bulunmaktadır. Bazı olgularda, aktif fibroblast ve/veya histiyositler tarafından oluşturulan stromal reaksiyon nedeniyle, tomurcuklanmalar

tek başına H&E ile tespit edilememektedir. Oluşan stromal reaksiyon tomurcuklanmayı maskeleymektedir. Ayrıca, belirgin enflamasyon tümör hücre tomurcuklanmasını gizleyebilmektedir (Mitrovic 2002). Bu yüzden, daha önceki çalışmalarda olduğu gibi, tümör tomurcuklanması ve filizlenmesini immunhistokimyasal antisitokeratin antikoru kullanılarak daha doğru bir şekilde değerlendirilmesi mümkündür (Prall 2005, Shinto 2005, Kazama 2006, Shinto 2006, Losi 2006, Ohtsuki 2008, Suzuki 2009).

Yapılan bir çalışmada oral skuamöz hücreli karsinomunda tümör davranışının değerlendirilmesi için TT'nin önemli bir parametre olduğu ve high grade TT'nin lenf nodu metastazı tahmini için güçlü, bağımsız bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (Angadi, 2015, Xie, 2014).



### 3. MATERYAL-METOD

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Etik kurulunun 05 Haziran 2015 tarih ve 2015-245 sayılı izniyle Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Ayrıca çalışmamız 151518020 no'lu proje olarak Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

2008-2015 yılları arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi KBB kliniğinde larenks skuamöz hücreli karsinomu tanısı almış 60 hastanın dosyaları retrospektif olarak incelendi. Hastaların demografik özellikleri, özgeçmiş ve soygeçmişleri, yaş, TNM evreleri, radyolojik görüntülemeleri, uygulanan ameliyat tipleri ve spesmen bulguları değerlendirildi. Çalışmanın histopatolojik değerlendirmesini yapabilmek ve immünohistokimyasal antikorları Şekil uygulanacağı doğru kesitleri belirlemek için tüm olguların H&E boyalı preparatları fakültemiz patoloji laboratuvarı lam arşivinden çıkarıldı. Her olgu için tümörün alt sınırı ve tümör derinliği net olarak gözlemlenebilen uygun vakalar çalışmaya dahil edildi. Seçilen tümörlü camlara ait parafin bloklar blok arşivinden çıkarıldı. Parafine gömülü dokulardan elde edilen 4 µm kalınlığındaki kesitler H&E ile boyandı. Ayrıca immünohistokimyasal analiz için özel Poli-L-Lizin'li lamlara kesitler alındı. İmmünohistokimyasal incelemeler için; p53(Mouse anti-p53, CloneBP53-12, LOT 50223494, South San Francisco, CA, USA), CD44 (HCAM[DF1485], Mouse monoclonal IgG<sub>1</sub>, LOT B1214, Santa Cruz biotechnology, CA, USA) ve PanCK (Mouse anti-Cytokeratin Clone AE1/AE3, LOT 51024681, South San Francisco, CA, USA) antikorları kullanıldı. Boyama işlemi için Ventana Benchmark XT marka otomatik immün boyama cihazı kullanıldı. Hazırlanan bütün materyaller Olympus BX41 marka ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

#### 3.1 Tümör Tomurcuklanması'nın Değerlendirilmesi

TT değerlendirilmesinde H&E ile boyanmış preparatların yanısıra, PanCK ile immünohistokimyasal boyama da kullanılarak TT açısından daha güvenilir bir değerlendirme sağlandı. PanCK için stoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. PanCK ile tüm tümöral ve epitelyal hücreler pozitif reaksiyon vermektedir. Olympus BX41 marka mikroskop ile X400 büyültmede immünohistokimyasal PanCK boyalı preparatlarda en az 3 alanda olmak şartıyla tümörün alt sınırında ve sınıra yakın büyük kitlecikler etrafında 1-5 arası tümöral hücre içeren hücre grupları TT olarak değerlendirildi. Bu değerlendirme için

farklı birçok sınıflandırma olmasına rağmen, baş boyun kanserlerinde yaygın olarak kullanılan TT sınıflandırmasının yanı sıra, kolorektal kanserlerde kullanılan başka bir sınıflamada tarafımızca bu tümörlere uyarlandı (Wang 2011, Luo 2012, Marangon 2013, Almangush 2013, Kanehara 2013).

Baş boyun kanserlerinde Wang ve ark.'ları tarafından tanımlanan TT sınıflandırması çalışmamızda TT bulunmayan grubun ilave edilmesi ile modifiye edilerek aşağıdaki şekilde derecelendirildi;

-TT bulunmayan grup: 0 TT

-Düşük riskli grup; 5'den az TT

-Yüksek riskli grup; 5 ya da daha fazla TT

Ayrıca TT, kolorektal tümörlerde kullanılan (JCCC 2013) sınıflandırmaya göre de aşağıdaki şekilde derecelendirildi;

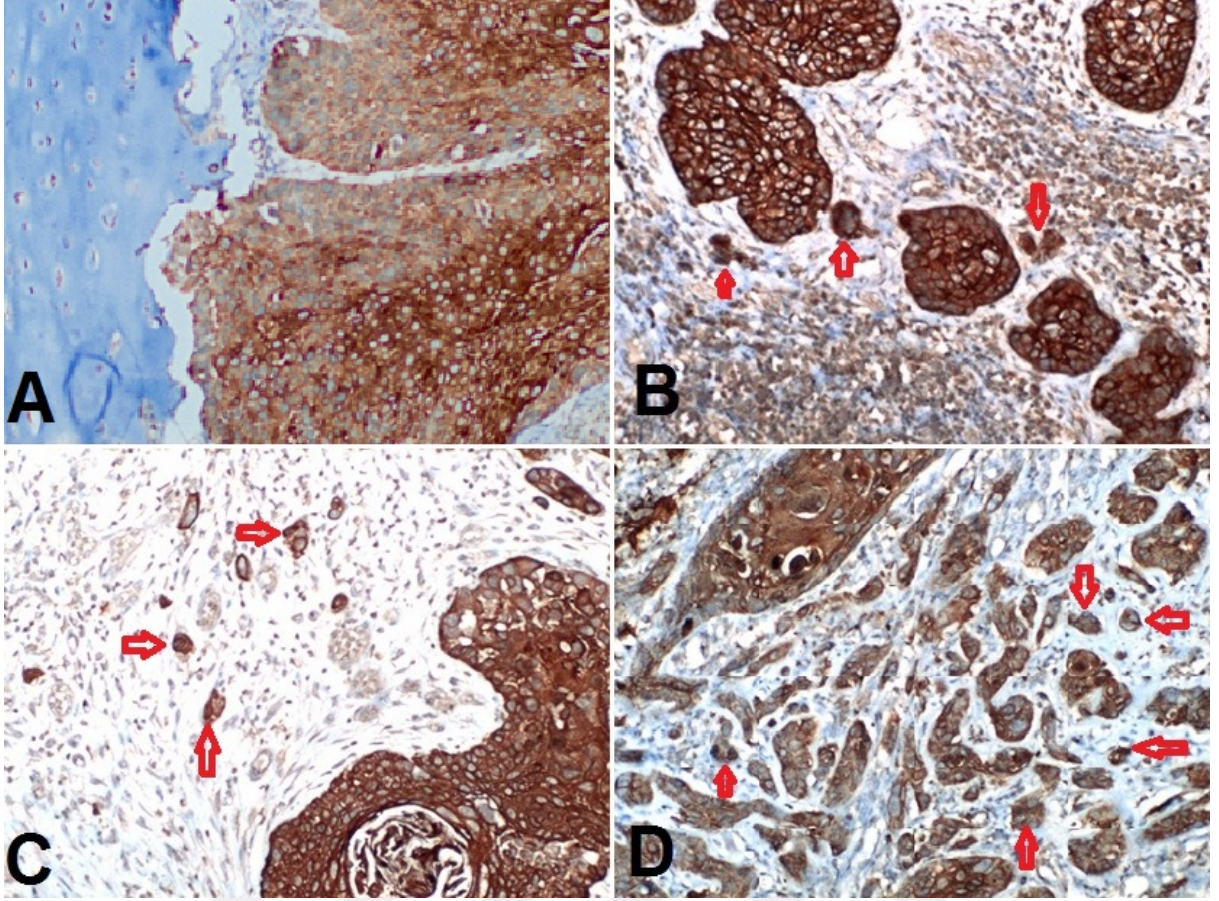
-Grade 0: TT yok

-Grade 1: 1-4 arası TT

-Grade 2: 5-9 arası TT

-Grade 3: 10 ve üzeri TT (Şekil 3.1.).

Bu TT grupları daha sonra düşük grade (grade 0 ve grade 1) ve yüksek grade (grade 2 ve 3) olarak sınıflandırıldı.



**Şekil 3.1.** Larenks skuamöz hücreli karsinomunda TT'nin histopatolojik görünümü; A: TT yok, B: grade 1 TT, C: grade 2 TT, D: grade 3 TT

### 3.2 İmmünohistokimyasal CD44 ve P53 Değerlendirmesi

Tümörlü dokularda CD44 ve p53 ekspresyonu olup olmadığı immünohistokimyasal yöntemlerle belirlendi. CD44 ve p53 antikoları ile hazırlanan kesitler, hastaların klinik seyirleri hakkında bilgi sahibi olmayan iki gözlemci tarafından ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirildi.

#### 3.2.1 CD44 İçin İmmünohistokimyasal Boyama ve Değerlendirme

İmmünohistokimyasal değerlendirmede pozitif kontrol CD44 antikoları için tonsil dokusu kesitleri kullanılarak yapıldı. CD44 için hücre membranındaki boyanma pozitif kabul edildi. İmmünoreaktivitenin değerlendirilmesi 10, 20 ve 40 büyütme objektifler kullanılarak gerçekleştirildi. CD44 antikoru için immünoreaktivitenin değerlendirilmesinde boyanma yaygınlığı ve yoğunluğunun çarpımı kullanıldı. Boyanma yaygınlığı için her bir kesitte

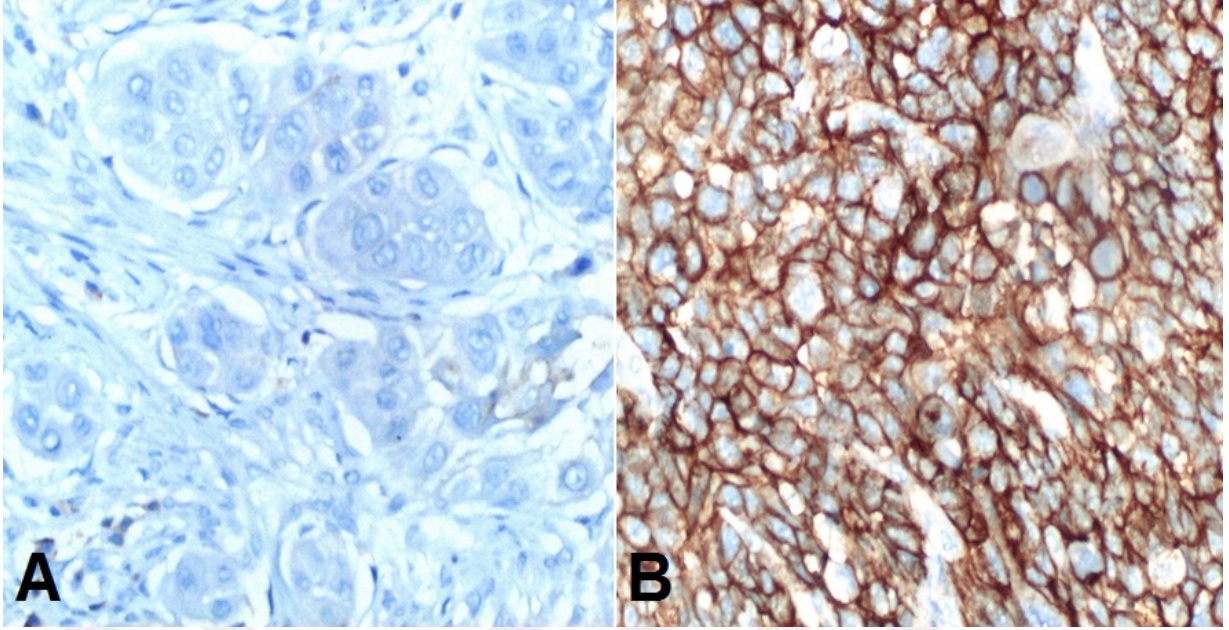
pozitif boyanan tümör hücrelerinin sayısına göre sıfır ile dört arasında değerler verildi. Buna göre;

- 0: tümör hücrelerinde boyanma olmaması
- 1: tümör hücresinde %10'dan az boyanma olması
- 2: tümör hücresinde %10-50 boyanma olması
- 3: tümör hücresinde %50-80 boyanma olması
- 4: tümör hücresinde %80'den fazla boyanma olması şeklinde değerlendirildi.

Boyanma yoğunluğu için ise her bir kesitte boyanmanın şiddetine göre sıfır ile üç arasında değerler verildi. Buna göre;

- 0: boyanma olmaması
- 1: zayıf boyanma olması
- 2: orta düzeyde boyanma olması
- 3: kuvvetli boyanma olması şeklinde değerlendirildi.

Boyanma yaygınlığı ve yoğunluğunun çarpımı ile sıfır ile oniki arasında değerler elde edildi. Literatürde daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak 4 puan ve altı sonuçlar zayıf, dört puan üzeri sonuçlar kuvvetli ekspresyon olarak kabul edildi (Imanishi 2000, Laimer 2008) (Şekil 3.2.).



**Şekil 3.2.** Larenksin skuamöz hücreli karsinomunda CD44 ekspresyonunun histopatolojik görünümü; A: zayıf CD44 ekspresyonu, B: kuvvetli CD44 ekspresyonu

### 3.2.2 p53 İçin İmmunohistokimyasal Boyama ve Değerlendirme

p53 için kolon karsinomuna ait örnekler pozitif kontrol olarak kullanıldı. Tümör hücrelerinde boyanma şiddetine bakılmaksızın tüm nükleer boyanmalar pozitif kabul edildi. p53 için

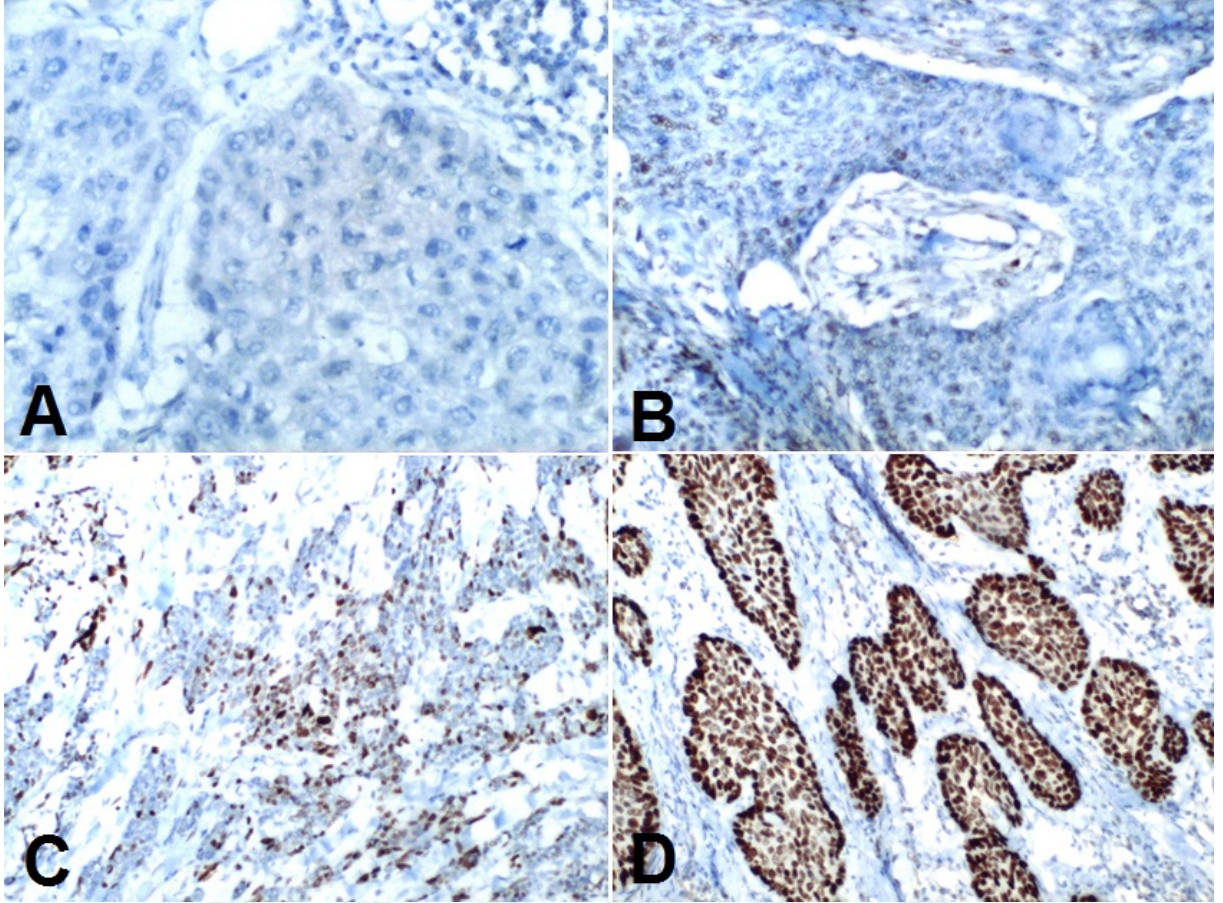
%5'in altında boyanma: 0,

%5-30 boyanma: “+”,

%30-50 boyanma: “++”,

%50 üstü boyanma: “+++” olarak skorlandı (Şekil 3.3.).

Boyanma pozitifliklerinin yanısıra p53 ekspresyonunun olup olmamasına göre de derecelendirme yapıldı.



**Şekil 3.3.** Larenksin skuamöz hücreli karsinomunda p53 ekspresyonunun histopatolojik görünümü; A: p53 ekspresyonu yok, B: p53 + ekspresyonu, C: p53 ++ ekspresyonu, D: p53 +++ ekspresyonu

### 3.3 İstatistiksel Analiz

Olgulardan elde edilen veriler kodlanarak bilgisayar programına aktarıldı. İstatistiksel değerlendirme için SPSS (Statistical Package for Social Science, Worldwide Headquarters SPSS Inc.) 16.0 Windows paket programı kullanıldı. Verilerin özeti, ortalama±standart sapma ya da ortanca (minimum-maksimum) şeklinde gösterildi. Bağımlı değişkenler ile (TT, CD44 ve p53 ekspresyonları) bağımsız risk faktörleri (lenfovasküler invazyon, patolojik lenf nodu, tümör çapı, tümör derinliği, diferansiyasyon, uzak metastaz, lokal rekürrens, evre, yaş, tümör ve tümör yerleşimi) arasında bire bir asosiyasyon (birliktelik) olup olmadığı Ki-kare Bağımsızlık Testi (Pearson Chi-Square) kullanılarak değerlendirildi. Ayrıca bu test ile birlikte ilgili Odds oranları ve bu değerlere bağlı Odds oranlarının %95 güven aralıkları elde edildi. Birden fazla bağımsız değişkenin bağımlı değişkene etkisini birlikte incelemek için literatürde multivariate analiz olarak anılan Logistic Regression

analizi kullanıldı. Bu analizlerde modelin uyumluluğu için Hosmer-Lomeshow Testi kullanıldı. Bu test ile tüm modellerin doğru olarak kurulduğu tespit edildi. Logistic regression analizinde en önemli bağımsız risk faktörlerini belirlemek için Forward stepwise methodu kullanıldı ve anlamlı olan faktörlere ilişkin Odds oranları ve %95 güven aralıkları birlikte verildi. Bağımsız risk faktörlerinin bağımlı değişkene etkisi bu değerler ve güven aralıkları yardımıyla açıklanmaya çalışıldı. Anlamlılık seviyesi  $P < 0.05$  olarak kabul edildi.



#### 4. BULGULAR

Olguların 58'i (% 97,9) erkek, 2'si (% 2,1) kadın; yaş ortalaması 59.81±8.98 yıl (47-83) idi. 32 olguya total larenjektomi, 28 olguya da parsiyel larenjektomi uygulandı. Olguların 51'ine bilateral fonksiyonel boyun diseksiyonu, 4 olguya tek taraflı radikal boyun diseksiyonu ve tek taraflı fonksiyonel boyun diseksiyonu, 4 olguya tek taraflı modifiye radikal boyun diseksiyonu ve tek taraflı boyun diseksiyonu, 1 olguya da tek taraflı fonksiyonel boyun diseksiyonu uygulandı. Postoperatif dönemde ek tedavi olarak 32 olguya kemoradyoterapi, 6 olguya sadece radyoterapi verildi. 22 olguda ise ek tedaviye gerek duyulmadı. Olguların ortalama takip süreleri 29.65±23.09 ay (1-79) idi.

60 olgunun tümünde skuamöz hücreli karsinom mevcuttu. 14 (%23,3) olguda iyi diferansiye, 25 (%41,6) olguda orta derecede diferansiye ve 21 (% 35 ) olguda da az diferansiye tümör izlendi. Tümörlerin 49'u (%81,6) supraglottik, 8'i (% 13,3) glottik ve 3'ü (% 5) ise subglottik yerleşimli idi. 2 olguda (% 3,3) T1, 19 olguda (%31,6) T2, 17 olguda (%28,39) T3, 19 olguda (%31,6) T4a ve 3 olguda (% 5) da T4b izlendi. Evre 1 2 (%3,3) olguda, Evre 2 15 (%25) olguda, Evre 3 18 (%30) olguda, Evre 4a 21(%35) olguda ve Evre 4b ise 4 (%6,6) olguda mevcuttu. Patolojik lenf nodu metastazı 23 (% 38,3) olguda saptandı. Olguların 14'ünde (%23,3) preoperatif lenf nodu tespit edildi.

Tümör büyüklüğüne göre 0-2 cm arasında olan 11 (%18,3) olgu, 2-4 cm arasında 38 (%63,3) olgu ve 4cm'den büyük 11 (%18,3) olgu mevcuttu. Tümör derinliğine göre 1 cm'nin altında 13 (%21,6), 1-2 cm arasında 29 (%48,3) ve 2 cm'den büyük ise 18 (%30) olgu vardı. Tümör stromasında 15 (%25) olguda hafif, 23 (%38,3) olguda orta, 22 (%36,6) olguda ise şiddetli lenfosit infiltrasyonu mevcuttu. 24 (%40) olguda perinöral invazyon, 13 (%21,6) olguda ise lenfovasküler invazyon saptandı.

Baş boyun kanserlerinden çalışmamıza uyarladığımız TT sınıflandırmasına (Wang ve ark.'ları ) göre 13 (%21,6) olguda hiç TT saptanmazken, 29 (%48,3) olgu düşük riskli grupta, 18 (%30) olgu ise yüksek riskli grupta yer almaktaydı.

Kolorektal kanserlerden çalışmamıza uyarladığımız TT sınıflandırmasına (JCCC) göre hiç TT bulunmayan 13 (%21,6) olgu, grade 1 grupta 27 (%45) olgu, grade 2 grupta 14 (%23,3) olgu, grade 3 grupta 6 (%10) olgu yer almıştır.

CD44 immunhistokimyasal boyamada 30 olguda zayıf ekspresyon izlenirken, 30 olguda da kuvvetli ekspresyon izlendi. p53 immunhistokimyasal boyamada %5'in altında

boyanma olan grupta 22 (%36,6), %5-30 boyanma olan grupta 7 (%11,6), %30-50 boyanma olan grupta 7 (11,6) ve %50'nin üzerinde boyanma olan grupta ise 24 (%40) olgu izlendi. Ayrıca p53 ekspresyonu bulunmayan 22 (%36,6), p53 ekspresyonu olan 38 (%63,3) olgu mevcuttu.

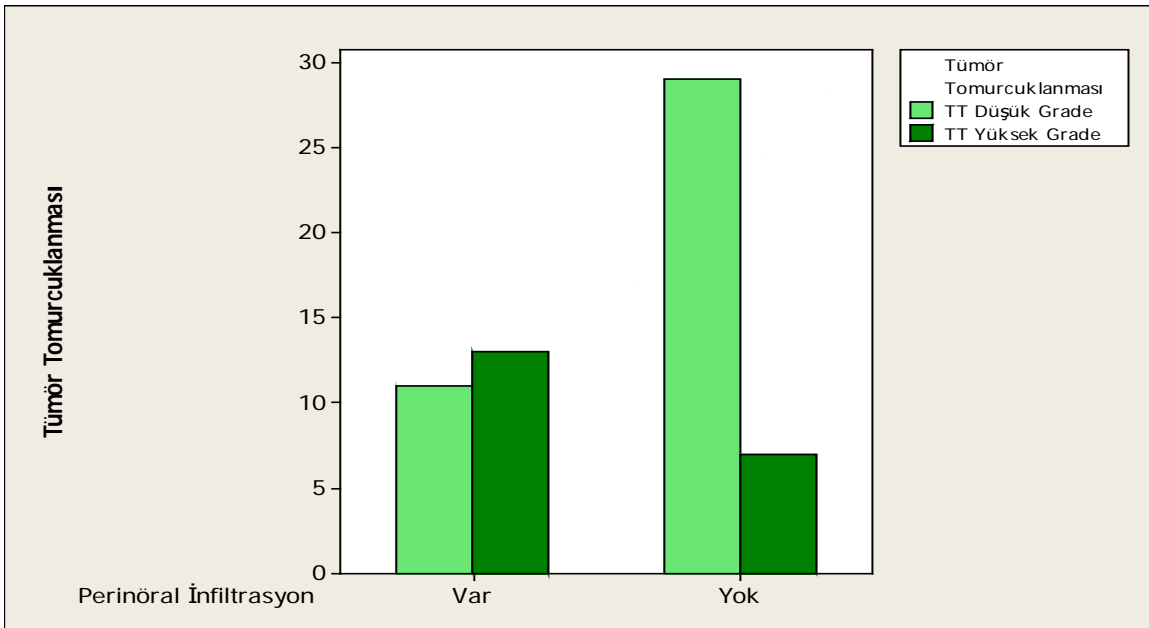
Takip sırasında lokorejyonel nüks 10 (%11,9) olguda tespit edildi. 2 olgunun uzak metastazını değerlendirmek için sonuçlarına ulaşılamadı. Geri kalan 58 hastanın 11'inde (%6,3) uzak metastaz tespit edildi. Takip sırasında 3 (%5) olguda ikincil primer tümör tespit edildi.

Tümör tomurcuklanması, JCCC derecelendirme sistemine göre sınıflandırıldığında, perinöral infiltrasyon ile TT arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki (asosiyasyon) tespit edildi (P=0.006) (Tablo 4.9.) (Şekil 4.1.).

Tümör Tomurcuklanması	Perinöral İnfiltrasyon		N	P
	Var (n=24)	Yok (n=36)		
Düşük Grade	11 (%45.80)	29 (%80.60)	40 (%66.70)	<b>0.006</b>
Yüksek Grade	13 (%54.20)	7 (%19.40)	20 (%33.30)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square); TT=Tümör tomurcuklanması

**Tablo 4.9.** TT ve perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



**Şekil 4.1.** TT ve perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

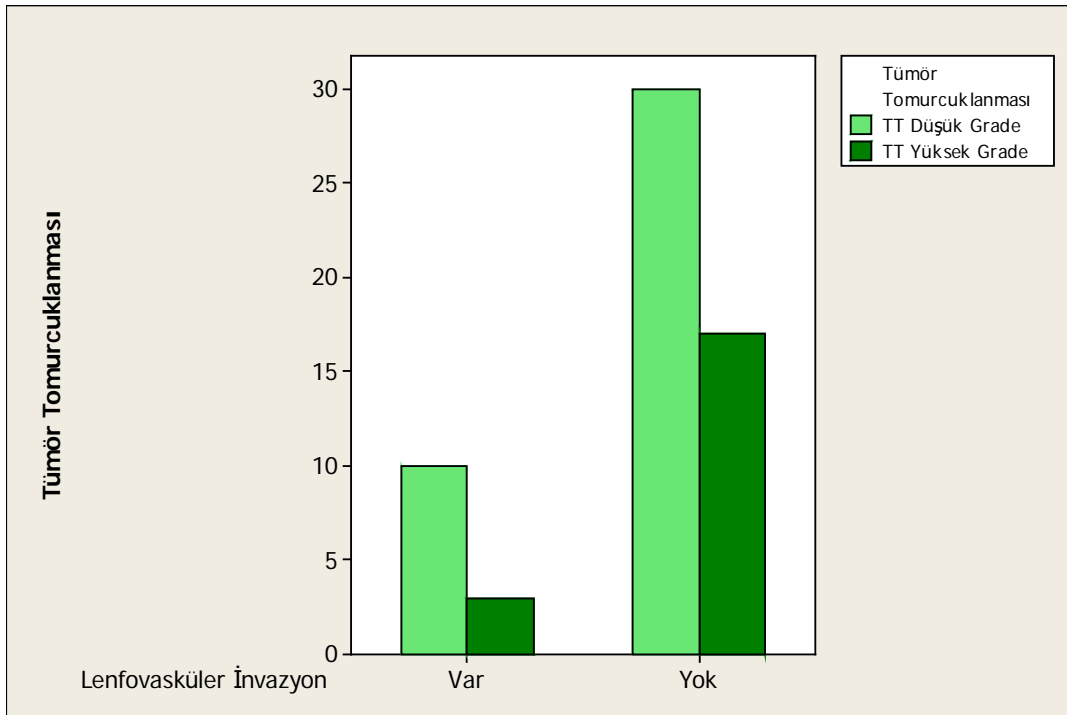
Tümör tomurcuklanmasının Wang ve ark.'ları tarafından tanımlanan ve çalışmamıza uyarladığımız derecelendirme yöntemine göre sınıflandırılmasıyla istatistiksel olarak anlamlı olmasa da TT'nin perinöral infiltrasyon ve tümör evresiyle anlamlılık seviyesine yakın düzeyde bir ilişkisinin olduğu tespit edildi (p=0.07).

Tümör tomurcuklanmasının JCCC derecelendirme sistemi kullanılarak elde edilen değerleri ile perinöral infiltrasyon dışındaki diğer klinikopatolojik prognostik faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (p=0.643, 0.375, 0.776, 0.348, 0.624, 0.576, 0.975; sırasıyla, tümör derinliği, lenfovasküler invazyon, tümör evresi, patolojik lenf nodu, lokal rekürrens, tümör çapı, uzak metastaz) (Tablo 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16) (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8).

Tümör Tomurcuklanması	Lenfovasküler İnvazyon		N	P
	Var (n=13)	Yok (n=47)		
Düşük Grade	10 (%76.90)	30 (%63.80)	40 (%66.70)	0.375
Yüksek Grade	3 (%23.10)	17 (%36.20)	20 (%33.30)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square); TT=Tümör tomurcuklanması

**Tablo 4.10.** TT ve lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

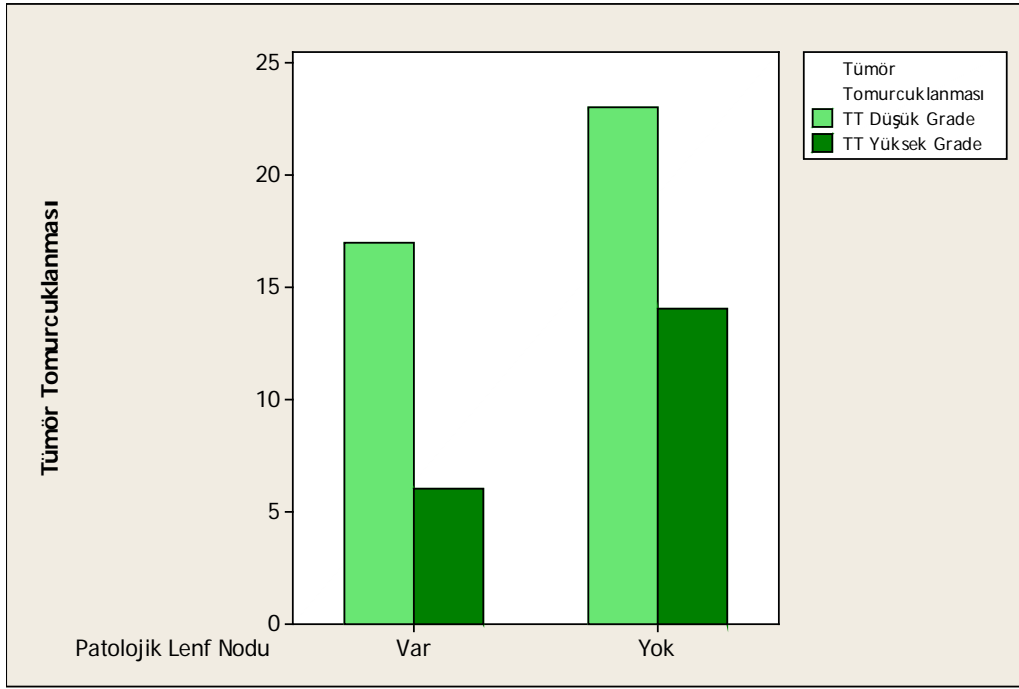


**Şekil 4.2.** TT ve lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

Tümör	Patolojik Lenf Nodu		N	P
Tomurcuklanması	Var (n=23)	Yok (n=37)	60 (%100)	0.348
Düşük Grade	17 (%73.90)	23 (%62.20)	40 (%66.70)	
Yüksek Grade	6 (%26.10)	14 (%37.80)	20 (%33.30)	

$X^2$  (Pearson Chi-Square); TT=Tümör tomurcuklanması

**Tablo 4.11.** TT ve patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

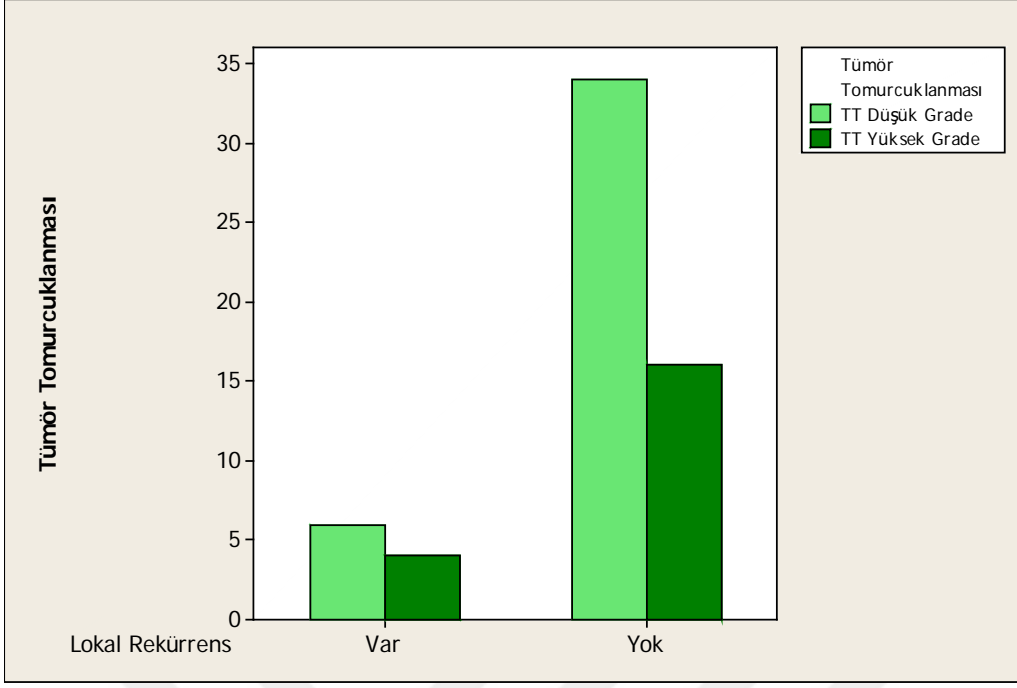


**Şekil 4.3.** TT ve patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

Tümör	Lokal Rekürrens		N	P
Tomurcuklanması	Var (n=10)	Yok (n=50)	60 (%100)	0.624
Düşük Grade	6 (%60.00)	34 (%68.00)	40 (%66.70)	
Yüksek Grade	4 (%40.00)	16 (%32.00)	20 (%33.30)	

$X^2$  (Pearson Chi-Square); TT=Tümör tomurcuklanması

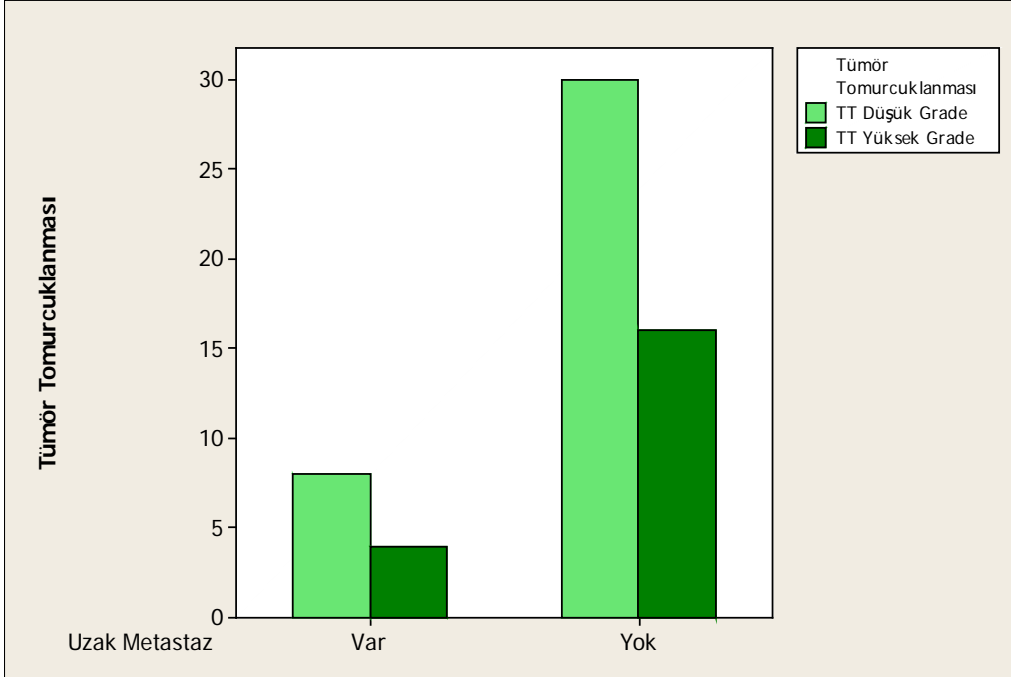
**Tablo 4.12.** TT ve lokal rekürrens arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



Şekil 4.4. TT ve lokal rekürrens arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

Tümör Tomurcuklanması	Uzak Metastaz		N	P
	Var (n=12)	Yok (n=46)		
Düşük Grade	8 (%66.70)	30 (%65.20)	38 (%65.50)	0.975
Yüksek Grade	4 (%33.30)	16 (%34.80)	20 (%34.50)	

Tablo 4.13. TT ve uzak metastaz arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

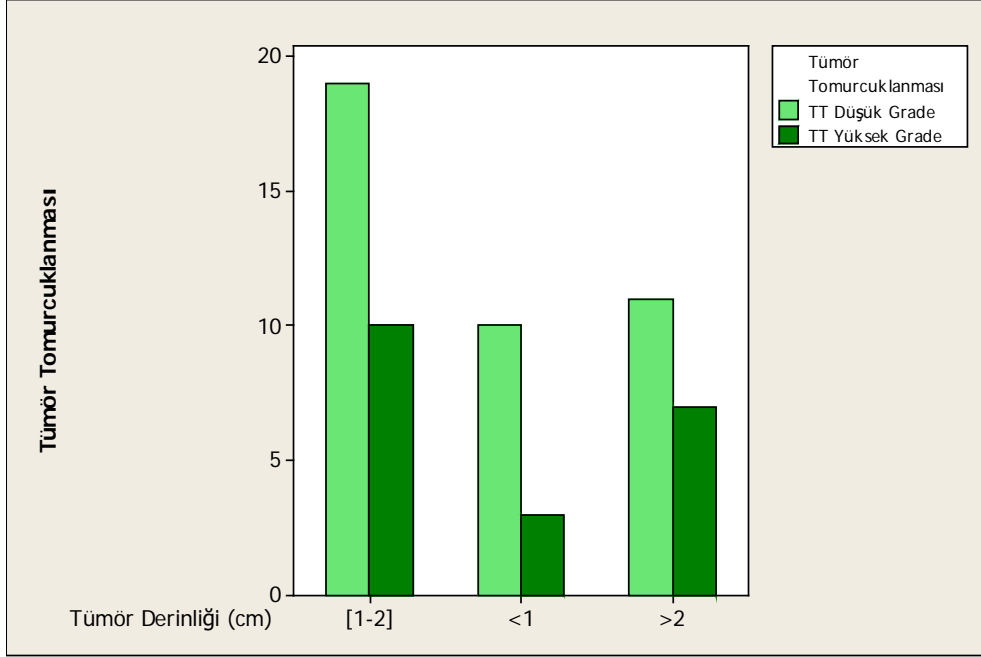


Şekil 4.5. TT ve uzak metastaz arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

TT	Tümör Derinliği (cm)			N	P
	<1 (n=13)	[1-2] (n=29)	>2 (n=18)		
Düşük Grade	10 (%76.90)	19 (%65.50)	11 (%61.10)	40 (%66.70)	0.643
Yüksek Grade	3 (%23.10)	10 (%34.50)	7 (%38.90)	20 (%33.30)	

$X^2$  (Pearson Chi-Square); TT=Tümör tomurcuklanması

**Tablo 4.14.** TT ve tümör derinliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

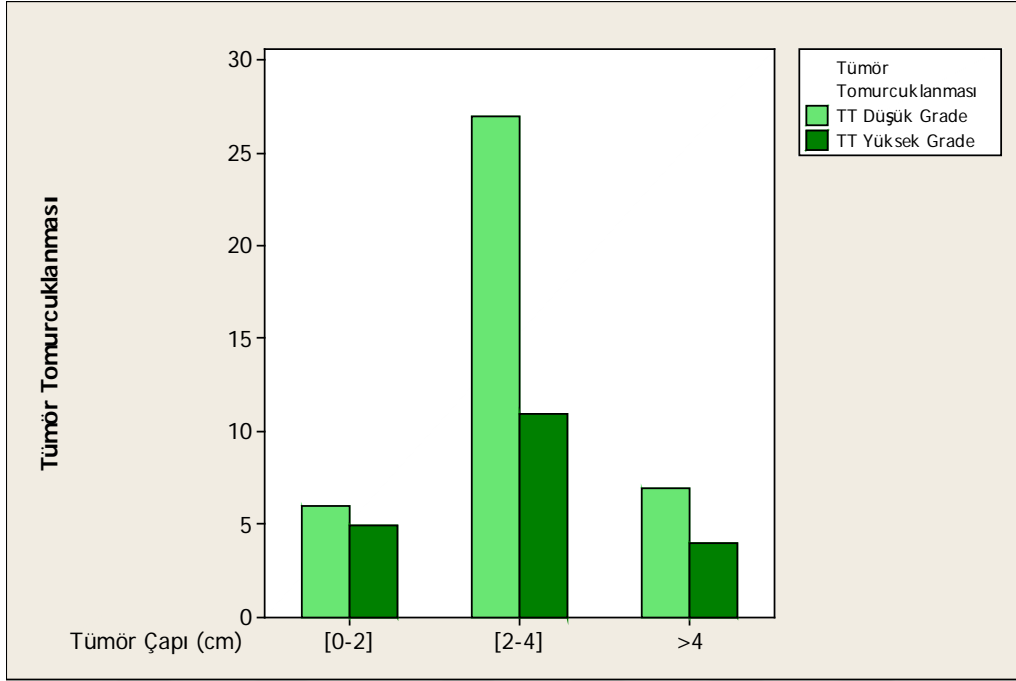


**Şekil 4.6.** TT ve tümör derinliği arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

Tümör Tomurcuklanması	Tümör Çapı (cm)			N	P
	[0-2] (n=11)	[2-4] (n=38)	>4 (n=11)		
Düşük Grade	6 (%54.50)	27 (%71.10)	7 (%63.60)	40 (%66.70)	0.576
Yüksek Grade	5 (%45.50)	11 (%28.90)	4 (%36.40)	20 (%33.30)	

$X^2$  (Pearson Chi-Square); TT=Tümör tomurcuklanması

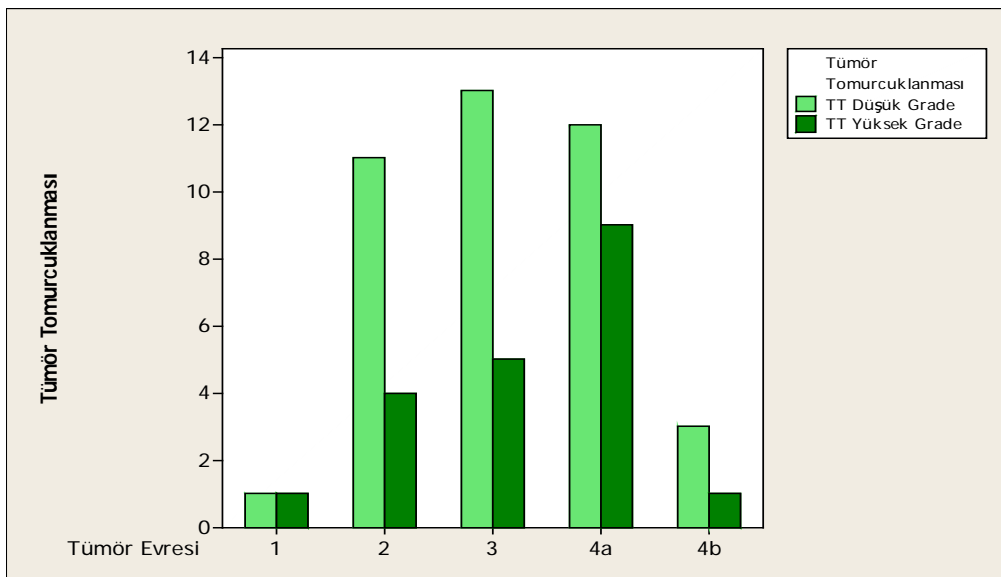
**Tablo 4.15.** TT ve tümör çapı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



Şekil 4.7. TT ve tümör çapı arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

TT	Tümör Evresi					N	P
	1 (n=2)	2 (n=15)	3 (n=18)	4a (n=21)	4b (n=4)		
Düşük Grade	1 (%50.00)	11 (%73.30)	13 (%72.20)	12 (%57.10)	3 (%75.00)	40 (%66.70)	0.776
Yüksek Grade	1 (%50.00)	4 (%26.70)	5 (%27.80)	9 (%42.90)	1 (%25.00)	20 (%33.30)	

Tablo 4.16. TT ve tümör evresi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



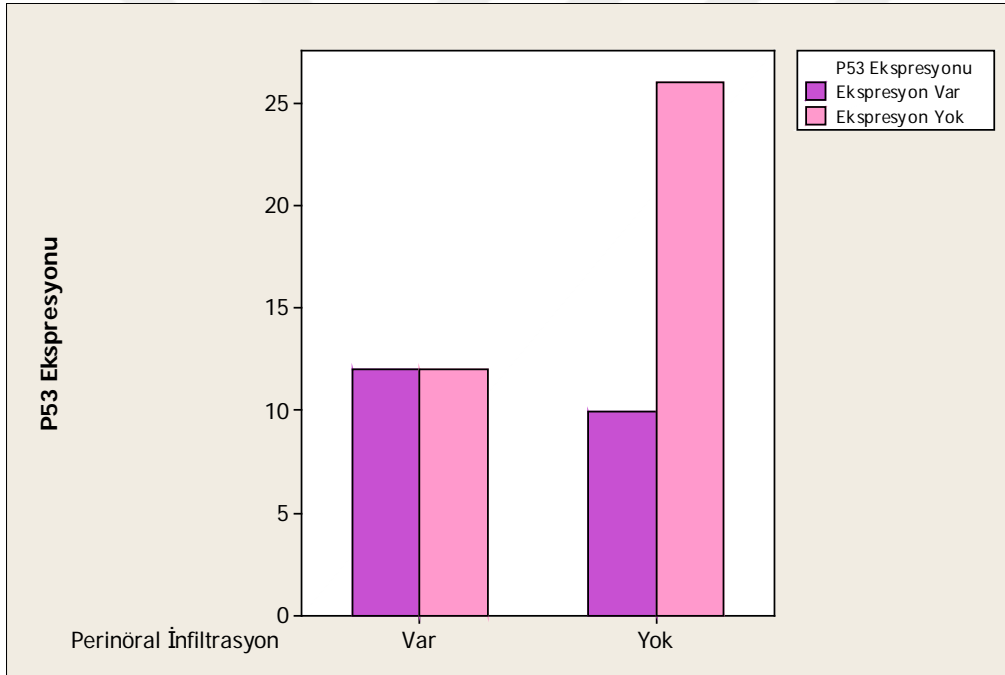
Şekil 4.8. TT ve tümör evresi arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

p53 ekspresyonunun olup olmasına göre yapılan sınıflandırmada p53 ekspresyonunun bilinen diğer prognostik faktörlerle ilişkisi incelendiğinde; p53 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasında anlamlılık seviyesine yakın düzeyde bir ilişkinin olduğu tespit edildi (p=0.07) (Tablo 4.17.) (Şekil 4.9.).

P53 Ekspresyonu	Perinöral İnfiltrasyon		N	P
	Var (n=24)	Yok (n=36)		
Ekspresyon Yok	12 (%50.00)	26 (%72.20)	38 (%63.33)	0.07
Ekspresyon Var	12 (%50.00)	10 (%27.80)	22 (%36.66)	

$X^2$  (Pearson Chi-Square)

**Tablo 4.17.** p53 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



**Şekil 4.9.** p53 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

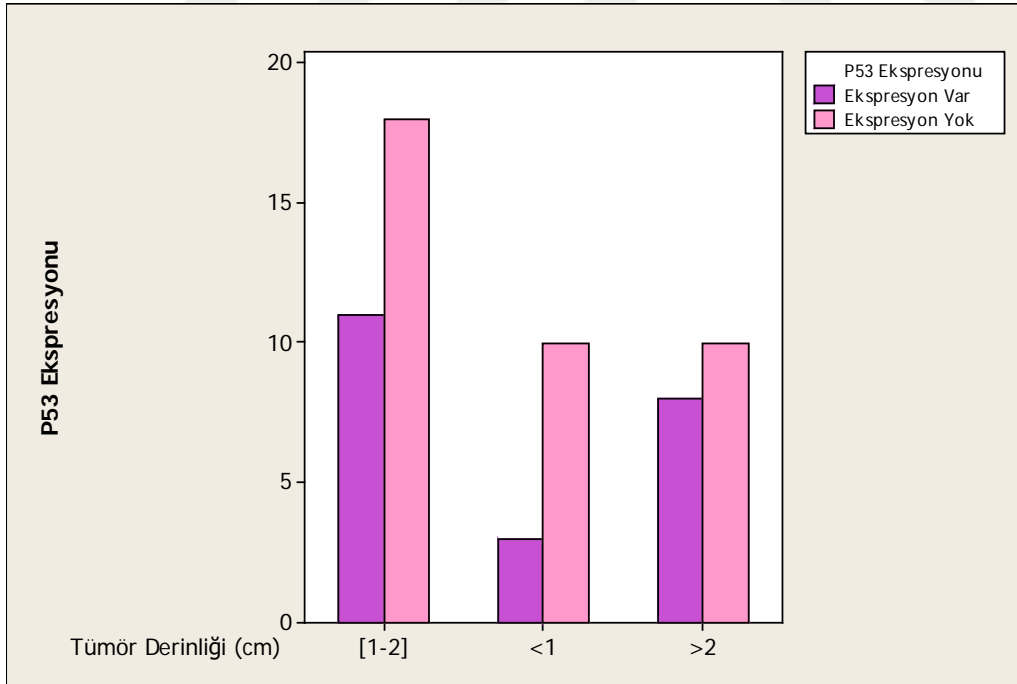
p53 ekspresyonunun olup olmasına göre yapılan sınıflandırmada p53 ekspresyonu; Wang ve ark.'nın çalışmasından uyarlanan TT derecelendirilmesine göre yapılan gruplama ile elde edilen TT ile anlamlılık seviyesine yakın düzeyde ilişkiydi (p=0.06). Ayrıca, p53 ekspresyonunun Öztürk ve ark.'nın çalışmasındaki p53 derecelendirme sistemi kullanılarak elde edilen değerleri ile CD44 ekspresyonu arasında da anlamlılık seviyesine yakın düzeyde bir ilişki mevcuttu (p=0.06).

p53 ekspresyonunun olup olmamasına göre yapılan sınıflandırma ile elde edilen değerler ile incelenen diğer klinikopatolojik prognostik faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (p=0.239, 0.562, 0.151, 0.379, 0.183, 0.661, 0.451; sırasıyla, tümör derinliği, lenfovasküler invazyon, evre, patolojik lenf nodu, lokal rekürrens, tümör çapı, uzak metastaz) (Tablo 4.17, 4.18, 4.19, 4.20, 4.21, 4.22, 4.23. 4.24) (Şekil 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16).

P53 Ekspresyonu	Tümör Derinliği (cm)			N	P
	<1 (n=13)	[1-2] (n=29)	>2 (n=18)		
Ekspresyon Yok	10 (%76.90)	18 (%62.10)	10 (%55.60)	38 (%63.33)	0.239
Ekspresyon Var	3 (%23.10)	11 (%37.90)	8 (%44.40)	22 (%36.66)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square)

**Tablo 4.18.** p53 ekspresyonu ile tümör derinliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

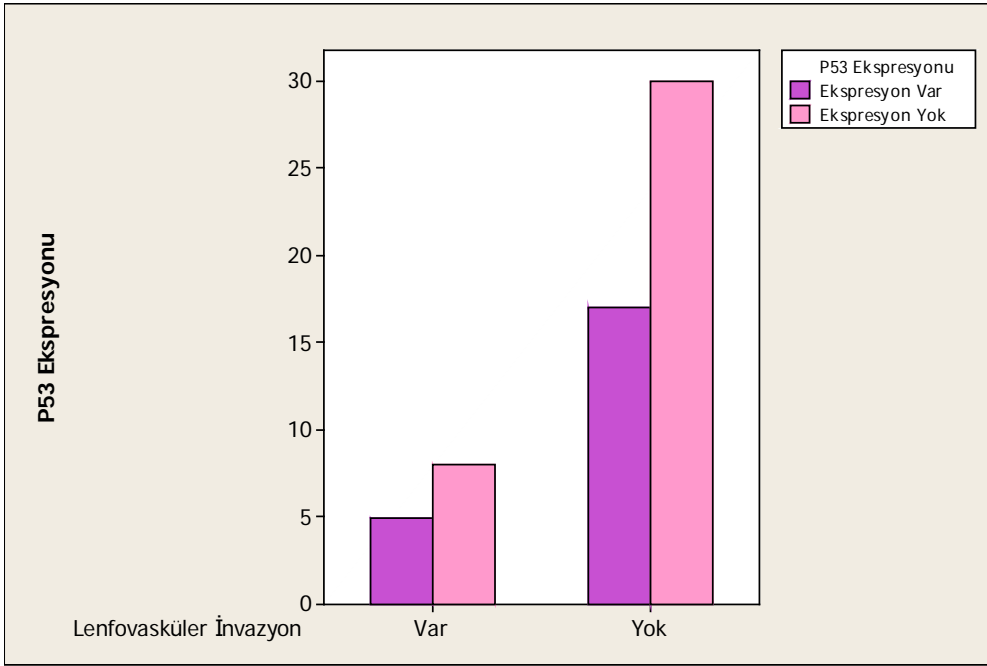


**Şekil 4.10.** p53 ekspresyonu ile tümör derinliği arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

P53 Ekspresyonu	Lenfovasküler İnvazyon		N	P
	Var (n=13)	Yok (n=47)		
Ekspresyon Yok	8 (%61.50)	30 (%63.80)	38 (%63.33)	0.562
Ekspresyon Var	5 (%38.50)	17 (%36.20)	22 (%36.66)	

$X^2$  (Pearson Chi-Square)

**Tablo 4.19.** p53 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

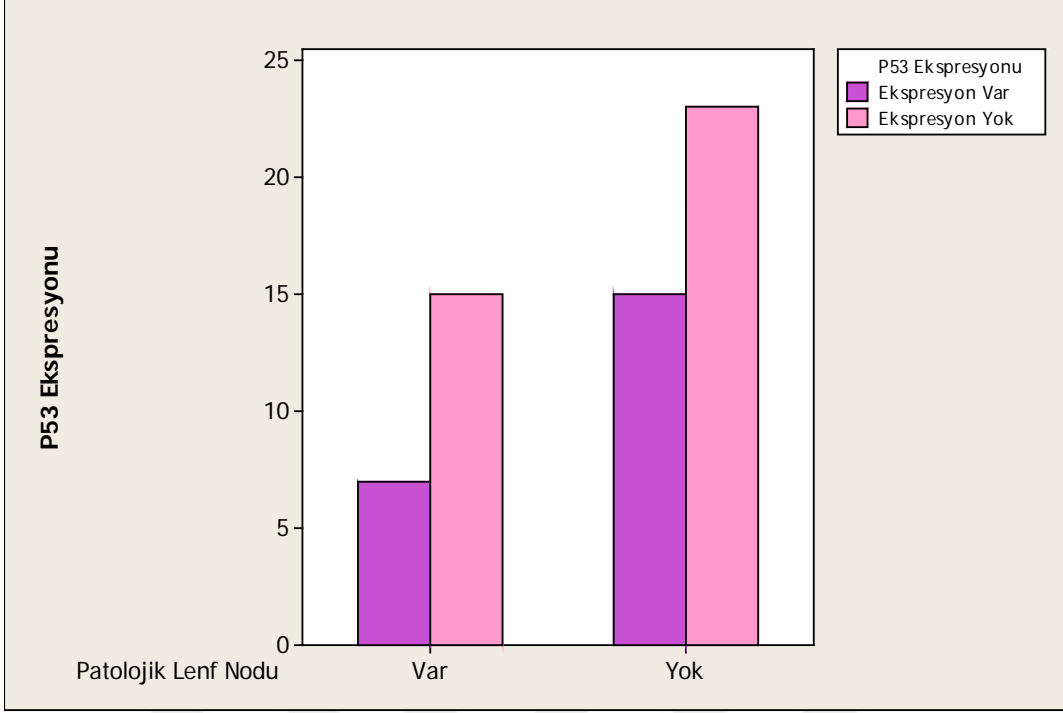


**Şekil 4.11.** p53 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

P53 Ekspresyonu	Patolojik Lenf Nodu		N	P
	Var (n=22)	Yok (n=38)		
Ekspresyon Yok	15 (%68.20)	23 (%60.50)	38 (%63.33)	0.379
Ekspresyon Var	7 (%31.80)	15 (%39.20)	22 (%36.66)	

$X^2$  (Pearson Chi-Square)

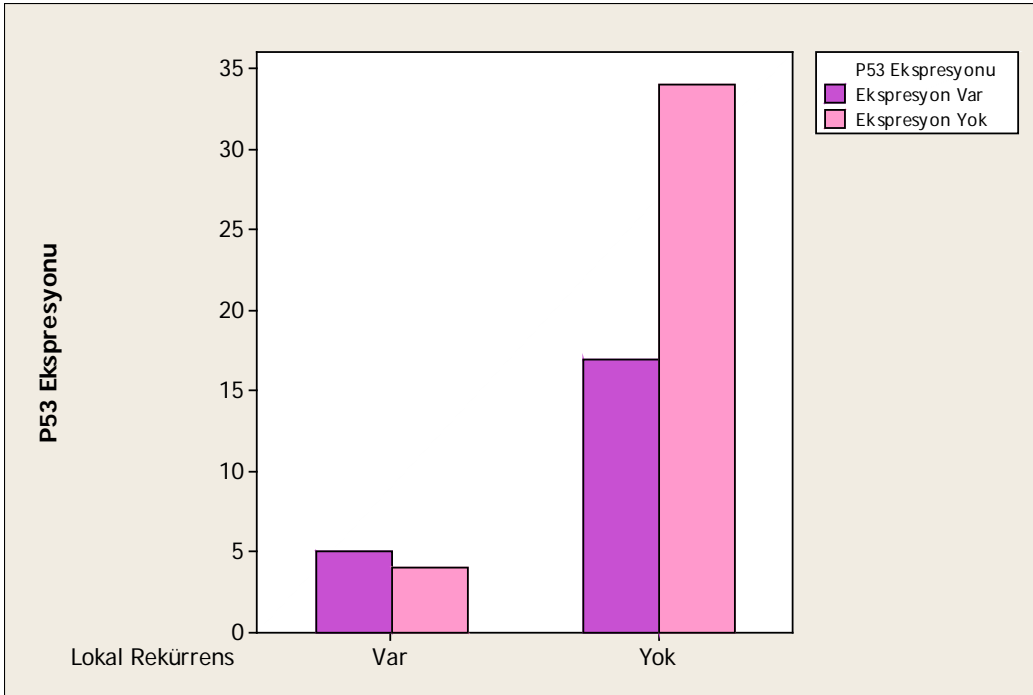
**Tablo 4.20.** p53 ekspresyonu ile patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



Şekil 4.12. p53 ekspresyonu ile patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

P53 Ekspresyonu	Lokal Rekürrens		N	P
	Var (n=10)	Yok (n=50)		
Ekspresyon Yok	4 (%44.40)	34 (%66.70)	38 (%63.33)	0.183
Ekspresyon Var	5 (%55.60)	17 (%33.30)	22 (%36.66)	

Tablo 4.21. p53 ekspresyonu ile lokal rekürrens arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

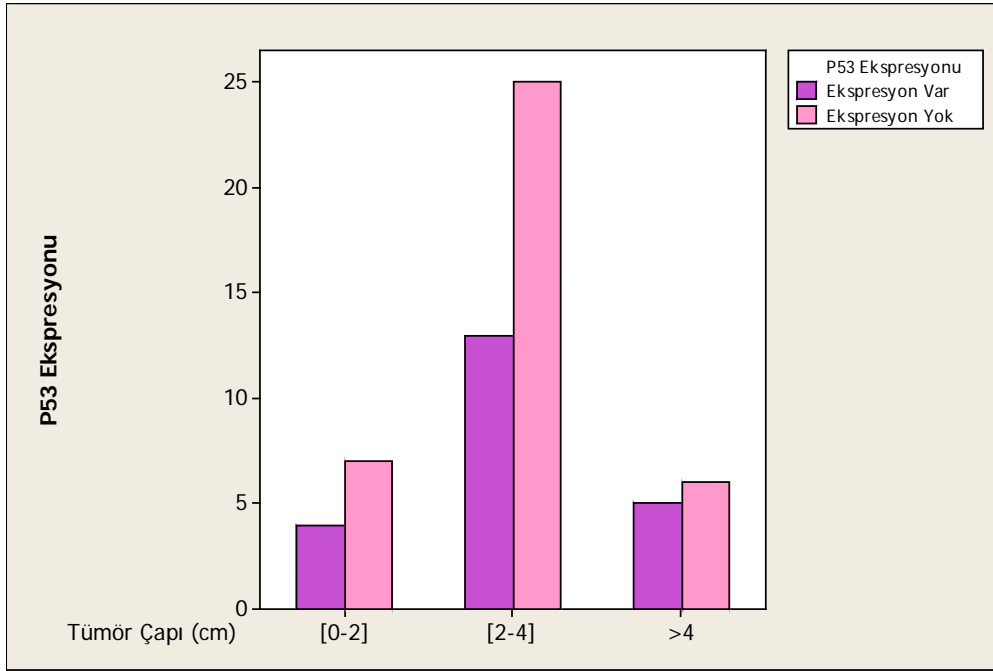


Şekil 4.13. p53 ekspresyonu ile lokal rekürrens arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

P53 Ekspresyonu	Tümör Çapı (cm)			N	P
	[0-2] (n=11)	[2-4] (n=38)	>4 (n=11)		
Ekspresyon Yok	7 (%63.60)	25 (%65.80)	6 (%54.50)	38 (%63.33)	0.661
Ekspresyon Var	4 (%36.40)	13 (%34.20)	5 (%45.50)	22 (%36.66)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square)

**Tablo 4.22.** p53 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

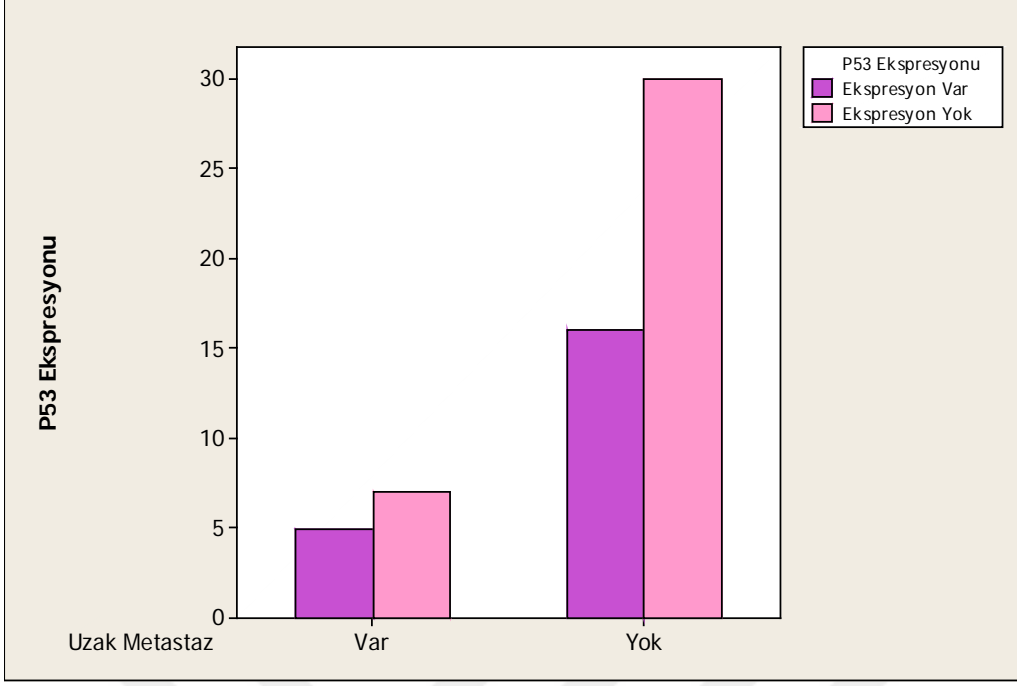


**Şekil 4.14.** p53 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

P53 Ekspresyonu	Uzak Metastaz		N	P
	Var (n=12)	Yok (n=46)		
Ekspresyon Yok	7 (%58.30)	30 (%65.20)	37 (%65.50)	0.451
Ekspresyon Var	5 (%41.70)	16 (%34.80)	21 (%34.50)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square)

**Tablo 4.23.** p53 ekspresyonu ile uzak metastaz arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

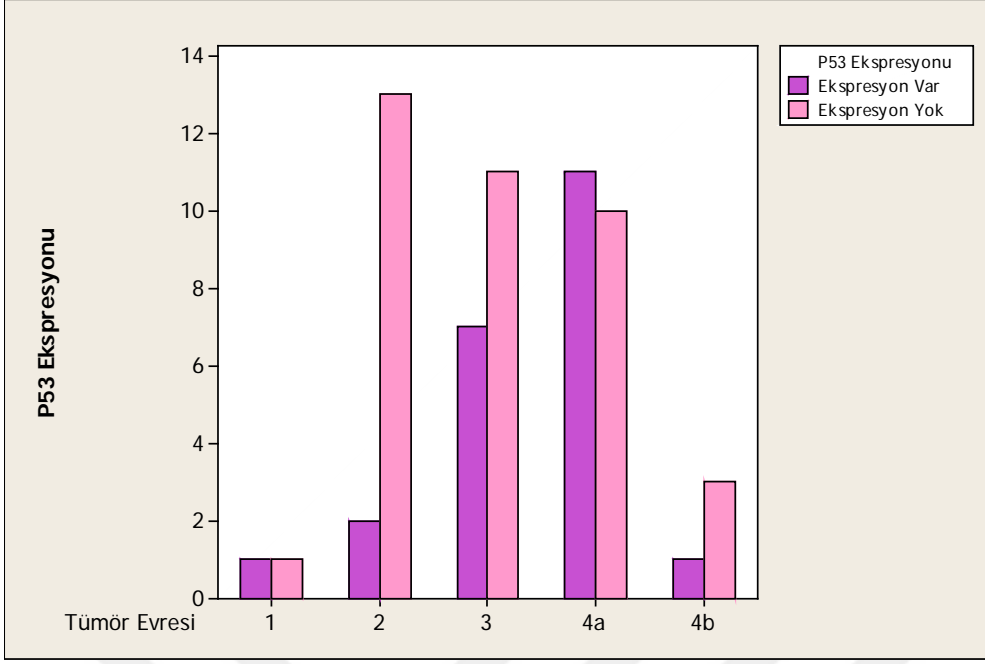


Şekil 4.15. p53 ekspresyonu ile uzak metastaz arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

P53 Ekspresyonu	Tümör Evresi					N	P
	1 (n=2)	2 (n=15)	3 (n=18)	4a (n=21)	4b (n=41)		
Ekspresyon Yok	1 (%50.00)	13 (%86.70)	11 (%61.10)	10 (%47.60)	3 (%75.00)	38 (%63.33)	0.451
Ekspresyon Var	1 (%50.00)	2 (%13.30)	7 (%38.90)	11 (%52.40)	1 (%25.00)	22 (%36.66)	

$X^2$  (Pearson Chi-Square)

Tablo 4.24. p53 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



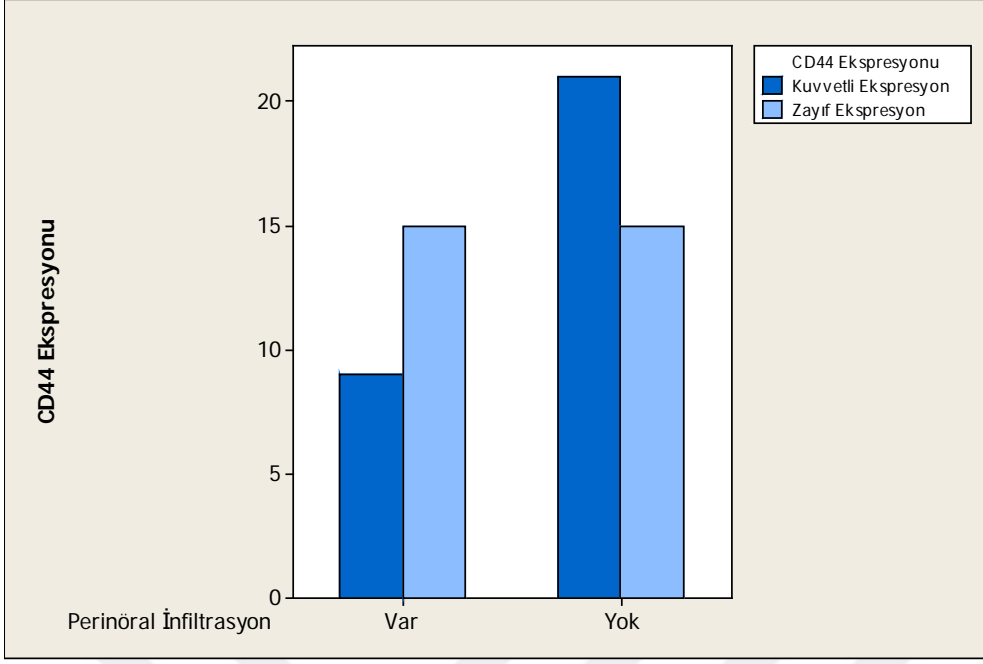
**Şekil 4.16.** p53 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

Çalışmada CD44 ekspresyonu ile incelenen hiçbir prognostik faktör arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi ( $p=0.114, 0.591, 0.50, 0.119, 0.298, 0.149, 0.298, 0.149, 0.672, 0.201$ ; sırasıyla, perinöral infiltrasyon, tümör derinliği, lenfovasküler invazyon, evre, patolojik lenf nodu, lokal rekürrens, tümör çapı, uzak metastaz) (Tablo 4.25, 4.26, 4.27, 4.28, 4.29, 4.30, 4.31, 4.32) (Şekil 4.17, 4.18, 4.19, 4.20, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24).

CD44 Ekspresyonu	Perinöral İnfiltrasyon		N	P
	Var (n=24)	Yok (n=36)		
Zayıf Ekspresyon	15 (%50.00)	15 (%50.00)	30 (%50.00)	0.114
Kuvvetli Ekspresyon	9 (%30.00)	21 (%70.00)	30 (%50.00)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square)

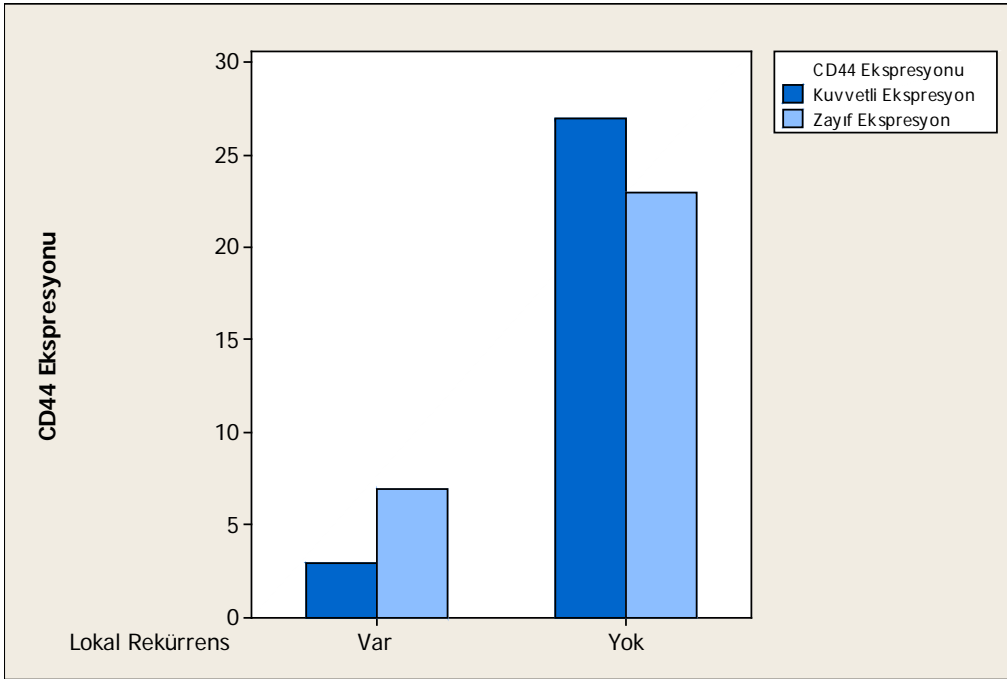
**Tablo 4.25.** CD44 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



Şekil 4.17. CD44 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

CD44 Ekspresyonu	Lokal Rekürrens		N	P
	Var (n=10)	Yok (n=50)		
Zayıf Ekspresyon	7 (%70.00)	23 (%46.00)	30 (%50.00)	0.149
Kuvvetli Ekspresyon	3 (%30.00)	27 (%54.00)	30 (%50.00)	

Tablo 4.26. CD44 ekspresyonu ile lokal rekürrens arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

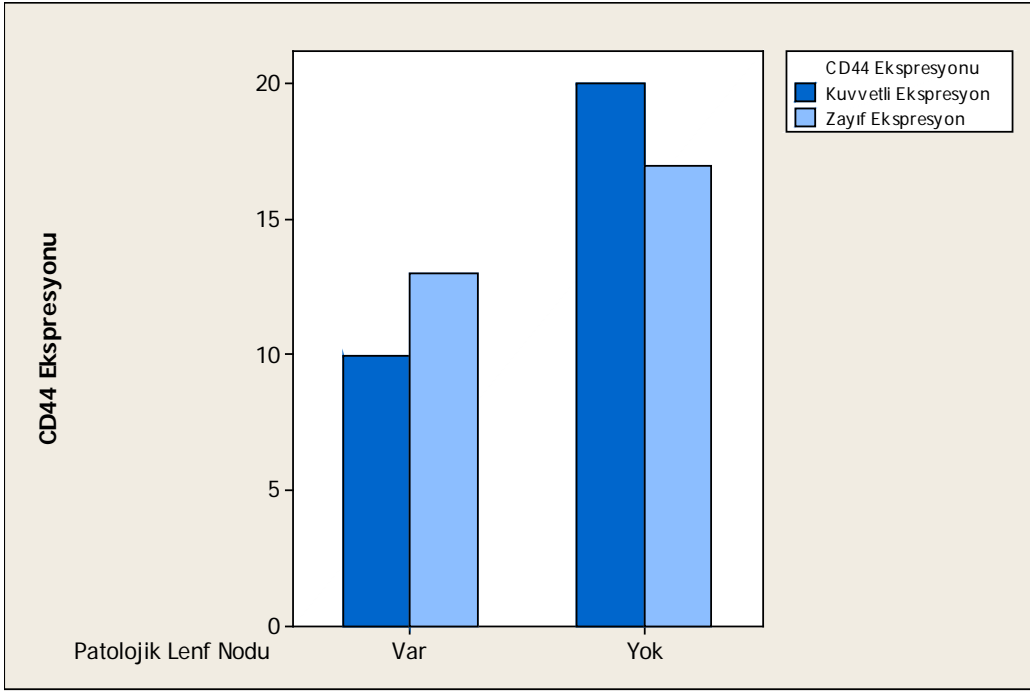


Şekil 4.18. CD44 ekspresyonu ile lokal rekürrens arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

CD44 Ekspresyonu	Patolojik Lenf Nodu		N	P
	Var (n=23)	Yok (n=37)		
Zayıf Ekspresyon	13 (%56.50)	17 (%45.90)	30 (%50.00)	0.298
Kuvvetli Ekspresyon	10 (%43.50)	20 (%54.10)	30 (%50.00)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square)

**Tablo 4.27.** CD44 ekspresyonu ile patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

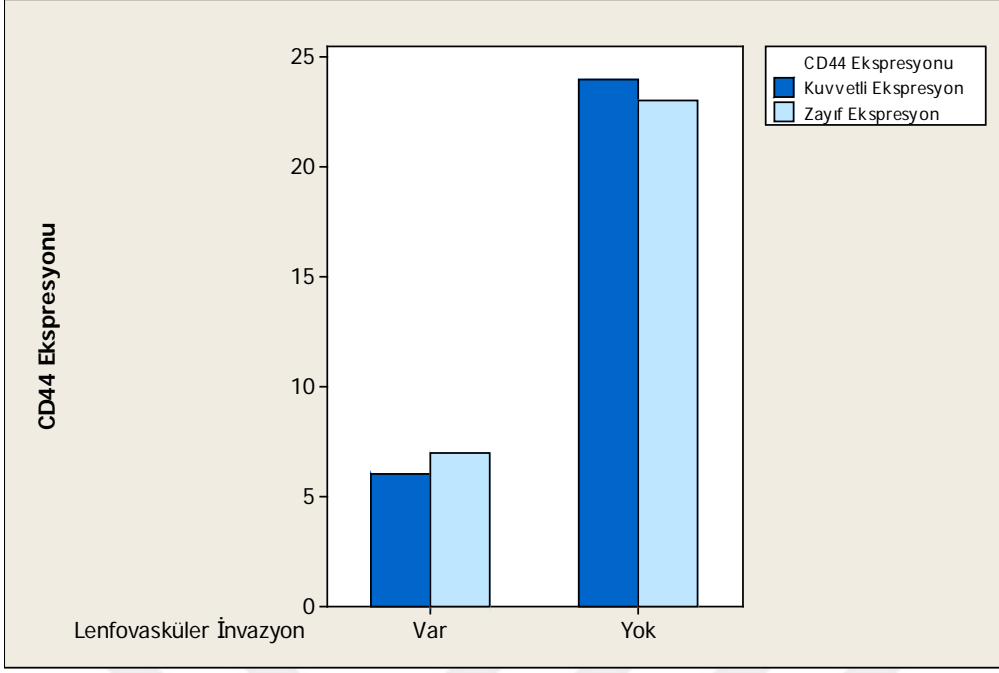


**Şekil 4.19.** CD44 ekspresyonu ile patolojik lenf nodu arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

CD44 Ekspresyonu	Lenfovasküler İnvazyon		N	P
	Var (n=13)	Yok (n=47)		
Zayıf Ekspresyon	7 (%53.80)	23 (%48.90)	30 (%50.00)	0.500
Kuvvetli Ekspresyon	6 (%46.20)	24 (%51.10)	30 (%50.00)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square)

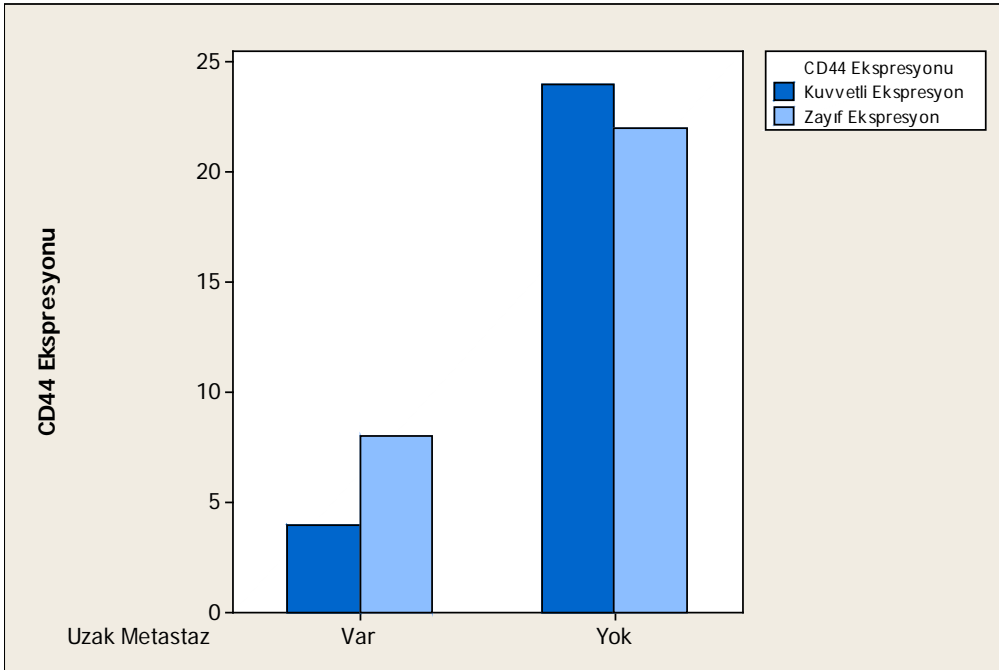
**Tablo 4.28.** CD44 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



**Şekil 4.20.** CD44 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

CD44 Ekspresyonu	Uzak Metastaz		N	P
	Var (n=12)	Yok (n=46)		
Zayıf Ekspresyon	8 (%63.60)	22 (%48.90)	30 (%51.73)	0.201
Kuvvetli Ekspresyon	4 (%36.40)	24 (%51.10)	28 (%48.27)	

**Tablo 4.29.** CD44 ekspresyonu ile uzak metastaz arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

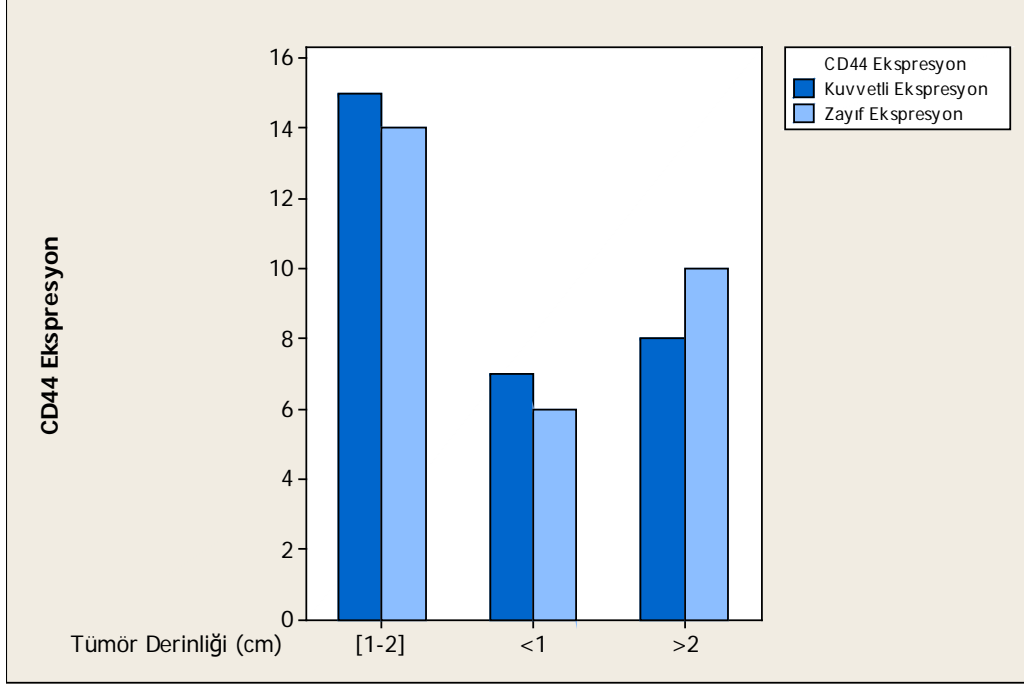


**Şekil 4.21.** CD44 ekspresyonu ile uzak metastaz arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

CD44 Ekspresyon	Tümör Derinliği (cm)			N	P
	<1 (n=13)	[1-2] (n=29)	>2 (n=18)		
Zayıf Ekspresyon	6 (%46.20)	14 (%48.30)	10 (%55.60)	30 (%50.00)	0.591
Kuvvetli Ekspresyon	7 (%53.80)	15 (%51.70)	8 (%44.40)	30 (%50.00)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square)

**Tablo 4.30.** CD44 ekspresyonu ile tümör derinliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

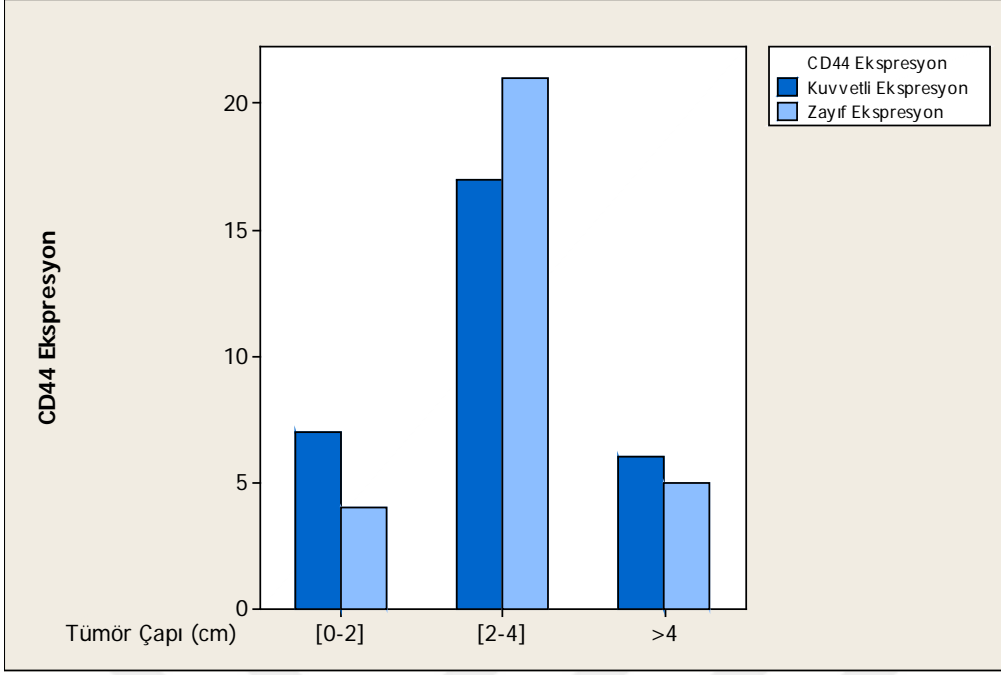


**Şekil 4.22.** CD44 ekspresyonu ile tümör derinliği arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

CD44 Ekspresyon	Tümör Çapı (cm)			N	P
	[0-2] (n=11)	[2-4] (n=38)	>4 (n=11)		
Zayıf Ekspresyon	4 (%36.40)	21 (%55.30)	5 (%45.50)	30 (%50.00)	0.672
Kuvvetli Ekspresyon	7 (%63.60)	17 (%44.70)	6 (%54.50)	30 (%50.00)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square)

**Tablo 4.31.** CD44 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

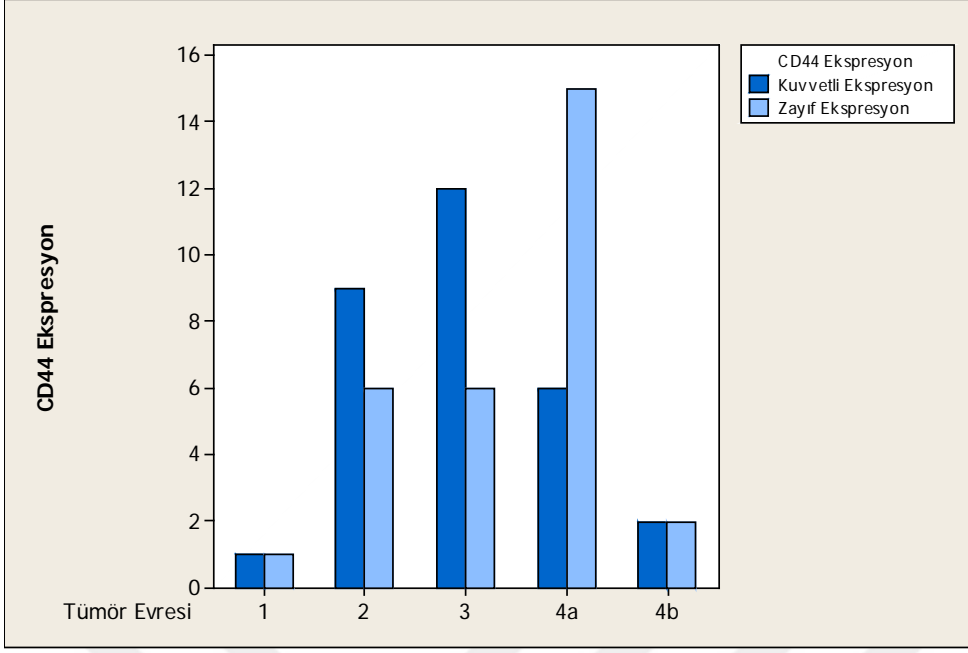


Şekil 4.23. CD44 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

CD44 Ekspresyon	Tümör Evresi					N	P
	1 (n=2)	2 (n=15)	3 (n=18)	4a (n=21)	4b (n=4)		
Zayıf Ekspresyon	1 (%50.00)	6 (%40.00)	6 (%33.30)	15 (%71.40)	2 (%50.00)	30 (%50.00)	0.119
Kuvvetli Ekspresyon	1 (%50.00)	9 (%60.00)	12 (%66.70)	6 (%28.60)	2 (%50.00)	30 (%50.00)	

$\chi^2$  (Pearson Chi-Square)

Tablo 4.32. CD44 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi



**Şekil 4.24.** CD44 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişkinin grafiksel gösterimi

Lenfovasküler invazyon, lokal rekürrens, metastaz, perinöral invazyon ve patolojik lenf nodu tutulumu açısından risk faktörleri araştırıldığında; lenfovasküler invazyon için patolojik lenf nodu tutulumu bağımsız risk faktörü idi ( $p=0.028$ , Odds oranı=4.53, %95 güven aralığı= 1.181-17.404). Lokal rekürrens açısından ise preoperatif lenf nodu tutulumu bağımsız risk faktörü idi ( $p=0.035$ , Odds oranı=4.66, %95 güven aralığı=1.113-19.569). Metastaz açısından tümör evresi bağımsız risk faktörü idi ( $p=0.049$ , Odds oranı=2.251, %95 güven aralığı=1.002-5.054). TT, JCCC sınıflandırılmasına göre perinöral infiltrasyon açısından bağımsız risk faktörü idi ( $p=0.003$ , Odds oranı=19.86, %95 güven aralığı=2.71-145.11). Ayrıca, preoperatif lenf nodu tutulumu da perinöral infiltrasyon açısından bağımsız risk faktörü idi ( $p=0.007$ , Odds oranı=8.40, %95 güven aralığı=1.78-39.47). Aynı şekilde, patolojik lenf nodu tutulumu açısından TT (JCCC'e göre sınıflandırıldığında) bağımsız risk faktörü idi ( $p=0.003$ , Odds oranı=19.86, %95 güven aralığı=2.719-145.112).

## 5. TARTIŞMA

Larenks karsinomlarında prognozu belirleyen en önemli faktörler; primer lezyonun yeri, lezyonun büyüklüğü, servikal metastaz ve hücrel diferansiasyon olmasına rağmen, bu özellikler bakımından benzer olan olgularda farklı klinik seyirlerin izlenmesi yeni prognostik faktörlerin belirlenmesini gerekli kılmıştır. Bu nedenle günümüzde prognostik faktör arayışı içinde birçok tümör süpresör gen, onkogen ve proliferasyon hızı belirleyicileri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmada larenksin skuamöz hücreli karsinomlarında TT, p53 ve CD44 ekspresyonlarının prognoz üzerine etkisi ve bunların diğer bilinen prognostik faktörlerle ilişkisi incelenmiştir.

İlk olarak Imai ve ark. tarafından ‘çimlenme’ olarak adlandırılan TT; neoplazinin ilerleyen sınırında görülen histopatolojik bir özelliktir (Ohike 2010). Günümüzde bu histopatolojik bulgu, kolorektal kanser, özefagus karsinomu, anal karsinom, pankreatik karsinom, akciğer karsinomu, ampulla karsinomu gibi pek çok kanser türlerinde lenf nodu metastazı, rekürrens, uzak metastaz ve düşük sağkalım ile ilişkilendirilmektedir (Koike 2008, Moriya 2001, Nilsson 2005, Roh 2004). Ayrıca, TT ‘Kansere Karşı Uluslararası Birlik’ tarafından ilave bir pronostik faktör olarak tanımlanmıştır (Miyata 2009, Ohike 2010, Masuda 2012, Ohtsuki 2013, Karamitopolou 2013). Ancak, literatürde TT’nin incelendiği çalışmalarda TT derecelendirilmesinde farklı yöntemler kullanılmıştır (Satoh 2014) ve bu hususta ortak bir derecelendirme yöntemi de bulunmamaktadır. Bu yüzden, çalışmada literatürdeki farklı derecelendirme yöntemleri kullanılarak TT’nin bilinen diğer prognostik faktörlerle ilişkisi değerlendirilmiştir. TT, Satoh ve ark.’nın çalışmasında kullandıkları JCCC derecelendirme sistemine göre sınıflandırıldığında, perinöral infiltrasyonun TT ile anlamlı olarak ilişkili olduğu tespit edildi. Larenks karsinomunda prognostik bir faktör olarak belirtilen perinöral infiltrasyonun (Yılmaz 1998) TT ile ortaya çıkardığımız bu ilişkisi göz önüne alındığında; TT’nin tümör prognozunu belirlemede önemli bir parametre olabileceği söylenebilir.

Tümör tomurcuklanmasının Wang ve ark.’ları tarafından tanımlanan derecelendirmeden çalışmamıza uyarladığımız sınıflandırmada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da TT’nin perinöral infiltrasyon ile anlamlılık seviyesine yakın düzeyde bir ilişkisinin olduğu tespit edildi (p=0.07). Çalışmada olgu sayısının nispeten az olmasının bu ilişkinin gösterilmesini engellediği söylenebilir. Bununla birlikte, tümör evresinin larenks karsinomundaki prognostik önemi dikkate alındığında (Koç 2003) bu sonuçlar TT’nin tü-

mör prognozu üzerine bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, bu sonuçları destekleyen daha geniş olgu serileri ile yapılan ileri çalışmalara gereksinim vardır.

p53 ekspresyonunun olup olmamasına göre yapılan sınıflandırmada p53 ekspresyonunun bilinen diğer prognostik faktörlerle ilişkisi incelendiğinde; p53 ekspresyonu ile perinöral infiltrasyon arasında anlamlılık seviyesine yakın düzeyde bir ilişkisinin olduğu tespit edildi ( $p=0.08$ ). Bu sonuç p53 ekspresyonunun tümör prognozu üzerine bir etkisinin olabileceğini düşündüren zayıf bir göstergedir. Bununla birlikte, literatürde bu konuda birbirleri ile çelişen çalışmalar bulunmaktadır (Sternberg 1997, Hellquist 1999, Bosch 2004, Almadori 2005, Cabanillas 2007, Jalali 2011, Alvarez-Marcos 2013, Öztürk 2014, Şimşek 2014). Çalışmalar arasındaki bu farkın nedeni çalışmalarda kullanılan farklı hasta seçim kriterlerine, p53 ekspresyonunu belirlemedeki eşik değer farklılıklarına bağlı olabilir. Ayrıca, p53 genindeki bazı ekspresyonlar da immünohistokimyasal boyalarla gösterilemeyebilir (Liu 2003). Bununla birlikte, p53 ekspresyonunun yaş, sigara kullanımı ve alkol tüketimiyle olan ilişkisi de çalışmalar arasındaki farklılıklardan sorumlu olabilir (Jalali 2011, Şimşek 2014). Bu yüzden, bu özellikler açısından homojen, daha geniş hasta serilerini içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

p53 ekspresyonunun olup olmamasına göre yapılan sınıflandırmada p53 ekspresyonu; Wang ve ark.'nın çalışmasından uyarlanan TT derecelendirilmesine göre yapılan gruplama ile elde edilen TT ile anlamlılık seviyesine yakın düzeyde ilişkiydi ( $p=0.06$ ). Ayrıca p53 ekspresyonunun Öztürk ve ark.'nın çalışmasındaki p53 derecelendirme sistemi kullanılarak elde edilen değerleri ile CD44 ekspresyonu arasında da anlamlılık seviyesine yakın düzeyde bir ilişki mevcuttu ( $p=0.06$ ). Bu sonuçlar bu 3 belirtecin tümör progresyonunda birlikte işlev gördüklerini gösteren nispeten zayıf bir gösterge olabilir. Bu yüzden, bu sonuçları destekleyen daha geniş olgu serileri ile yapılan ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Çalışmada CD44 ekspresyonu ile bilinen hiçbir prognostik faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak, CD44 ekspresyonunun baş ve boyun kanserlerinde önemli olduğu düşünülmektedir (Schipper 1991, Lesley 1998, Hirvikoski 1999, Liu 2003). Bununla birlikte, bu çalışmalarda CD44 ekspresyonu ve lenf nodu metastazı arasında bir ilişki bulunamamıştır. Benzer şekilde Liu ve ark.'nın çalışmasında da bu kanser adezyon molekülü ile uzak metastaz arasında bir ilişki gösterilememiştir. Literatürdeki bu sonuçlar bizim çalışmamızdaki sonuçlarla uyumludur. Ancak, Chai ve ark.'nın metaanalizinde CD44 ekspresyonunun tümör çapı, patolojik lenf nodu ve tümör evresi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Literatürdeki bu farklı sonuçlar kanser metastaz sürecinde

ortaya çıkan ve ‘‘izoform’’ olarak adlandırılan farklı CD44 molekülleri ile açıklanabilir. Bu farklı CD44 isoformları ise tümör progresyonunda farklı biyolojik fonksiyonlara sahip olabilir. Bunlar ancak spesifik antikorlarla tespit edilebilir. Bu yüzden, farklı immünohistokimyasal yöntemler kullanarak CD44 izoformları ve bunların bilinen prognostik faktörlerle ilişkisini araştıran ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Çalışmada perinöral infiltrasyon ve patolojik lenf nodu tutulumu açısından TT bağımsız bir risk faktörü olarak saptandı. Larenks karsinomunda TT'nin araştırıldığı ilk çalışma Sarioğlu ve ark. tarafından yapılmış olup bu çalışmada uzak metastaz açısından TT ve patolojik lenf nodu tutulumunun bağımsız risk faktörleri olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden aynı çalışmada TT larenks karsinomunda prognostik bir faktör olarak tanımlanmıştır. Bizim çalışmamızda ise metastaz açısından olmasa bile patolojik lenf nodu tutulumu açısından TT bağımsız bir risk faktörüdür. Çalışmamızda metastaz açısından TT'nin risk faktörü olarak tespit edilmemesi olgularımızdaki takip süresinin kısa olmasından kaynaklanabilir. Bizim çalışmamızda ortalama takip süresi 25.50 ay olup Sarioğlu ve ark.'nın çalışmasındaki ortalama takip süresinden (53 ay) oldukça kısadır. Ancak, çalışmamızda TT'nin hem patolojik lenf nodu tutulumu hem de perinöral infiltrasyon açısından bağımsız risk faktörü olması, Sarioğlu ve ark.'nın çalışması ile uyumlu olarak TT'nin prognostik bir faktör olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Çalışmada lenfovasküler invazyon için patolojik lenf nodu tutulumu bağımsız bir risk faktörü idi. Larenks karsinomlarının primer alandan yayılımları vasküler, nöral veya lenf damarlarına permeasyon ya da embolizasyon sonucu oluşur. Lenf damarlarına geçen tümör hücreleri lenf nodlarına ulaşır. Tümör hücreleri çeşitli faktörlere bağlı olarak lenf nodunda kalabilir ya da ekstrakapsüler yayılım ve komşu lenf nodlarına geçiş yapabilir. Tümör hücrelerinin lenf damarlarından ekstravaze olması ve yumuşak dokulara geçmesi ile ekstrakapsüler yayılım oluşur (Jose 2004). Tüm bunlar dikkate alındığında, lenfovasküler invazyon için patolojik lenf nodu tutulumunun bağımsız risk faktörü olması oldukça makul karşılanabilir.

Çalışmada perinöral invazyon için preoperatif lenf nodu tutulumu bağımsız bir risk faktörü idi. Literatürde perinöral invazyon genellikle lokal ve bölgesel nüks ile ilişkili olarak bulunmuştur ( Johannes 1998, Carter 1982, Yılmaz 1998). Ayrıca, genel ve hastalığa özgü sağkalım üzerinde etkili bir faktör olarak prognozu olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. (Johannes 1998, Magnano 1999, Harrison 2009). Bu yüzden, çalışmamızda elde edilen bu sonucun literatür ile uyumlu olduğu söylenebilir. Ayrıca, yukarıda anlatılan tü-

mör yayılım paterni düşünülürğünde, perinöral infiltrasyon için preoperatif lenf nodu tutulumunun bağımsız risk faktörü olmasının makul olduğu da söylenebilir.

Çalışmada lokal rekürrens açısından preoperatif lenf nodu tutulumu bağımsız risk faktörü idi. Lenf nodu tutulumunun baş boyun bölgesi tümörleri için en önemli bağımsız prognostik faktör olduğu bilinmektedir (Rodrigo 2007, Forastire 2001). Baş boyun kanserlerinde lenf nodu tutulumu özellikle vasküler invazyon ile birlikte ise, hem hastalığa özgü sağkalımı hem de genel sağkalımı önemli derecede azaltmaktadır (Lanzer 2014). Üst solunum-sindirim yolu squamöz hücreli karsinomlarında primer sahadan bağımsız olarak bo-yunda metastatik lenf nodu bulunması 5 yıllık sağkalımı %50 oranında düşürmektedir (Nguyen-Tan 2001). Bu yüzden, çalışmada lokal rekürrens açısından preoperatif lenf nodu tutulumunun bağımsız risk faktörü oluşu literatür ile uyumludur.

Çalışmada uzak metastaz açısından tümör evresi bağımsız bir risk faktörü idi. Primer lezyonun T evresinin servikal metastaz riskini etkilediği bildirilmiştir (Thawley 1992, Suen 1989). Yapılan bir çalışmada, T1 evresindeki tümörlerde %15-40, T2 evresinde %35-42, T3 evresinde %50-65, T4 evresinde %65 servikal metastaz rapor edilmiştir (Kirchner 1991). Ayrıca, çalışmamızla uyumlu olarak uzak metastaz ile tümör evresinin ve diferansiyasyon derecesinin de ilişkili olduğu gösterilmiştir (Koç 2003). Bu yüzden, metastaz açısından tümör evresinin bağımsız bir risk faktörü oluşunun literatür ile uyumlu olduğunu düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇLAR

1. Larenks karsinomunda prognostik bir faktör olarak belirtilen perinöral infiltrasyon ile TT arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Ayrıca, perinöral infiltrasyon ve patolojik lenf nodu tutulumu açısından TT bağımsız bir risk faktörüdür. Bu yüzden, TT'nin tümör prognozunu belirlemede önemli bir parametre olduğunu düşünmekteyiz. Bu sonuç larenks karsinomunda postoperatif adjuvan tedavi gereksiniminde bazı değişikliklere yol açabilir. Ancak, tedavi protokolleri açısından TT'nin rolü en iyi prospektif randomize çalışmalar sonucunda belirlenebileceğini düşünmekteyiz.
2. p53 ekspresyonunun larenks karsinomlarında bilinen hiç bir prognostik faktörle ilişkisi tespit edilmedi. Literatürde bu konuda birbirleri ile çelişen çalışmalar bulunmaktadır. p53 ekspresyonunun yaş, sigara kullanımı ve alkol tüketimiyle olan ilişkisi çalışmalar arasındaki farklılıklardan sorumlu olabilir. Bu yüzden, bu özellikler açısından homojen, daha geniş hasta serilerini içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.
3. CD44 ekspresyonu ile bilinen hiçbir prognostik faktör arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. Ancak, literatürde bu konuda birbirleri ile çelişen çalışmalar mevcuttur. Bu farklı sonuçlar kanser metastaz sürecinde ortaya çıkan ve "izoform" olarak adlandırılan farklı CD44 molekülleri ile açıklanabilir. Bu farklı izoformlar tümör progresyonunda farklı biyolojik fonksiyonlara sahip olabilir. Bunlar ancak spesifik antikorlarla tespit edilebilir. Bu yüzden, farklı immünohistokimyasal yöntemler kullanarak CD44 izoformları ve bunların bilinen prognostik faktörlerle ilişkisini araştıran ileri çalışmalara gereksinim vardır.
4. Lenfovasküler invazyon açısından patolojik lenf nodu tutulumu bağımsız bir risk faktörüdür. Larenks karsinomlarının primer alandan yayılım mekanizmaları dikkate alındığında ortaya çıkardığımız bu sonucun makul olduğu söylenebilir.
5. Perinöral invazyon için preoperatif lenf nodu tutulumu bağımsız bir risk faktörüdür. Bu sonuç da tümör yayılım paterni ile açıklanabilir.
6. Lokal rekürrens açısından preoperatif lenf nodu tutulumu bağımsız bir risk faktörüdür. Bu sonuç lenf nodu tutulumunun baş boyun tümörleri için en önemli prognostik faktör olması ile açıklanabilir.
7. Metastaz açısından tümör evresi bağımsız bir risk faktörüdür. Bu sonuç tümör evresinin ilerlemesi ile gelişen metastatik hastalık gelişimi ile açıklanabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- Adams GL, Maisel RH. Larinks ve Hipofarinksin Malign Tümörleri. In: Cummings CW, et al(Eds) (çeviri editörü: Koç C.). Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Güneş Tıp Kitapevleri, 2007, cilt 3, bölüm99, :2222-83.
- Almadori G, Bussu F, Cadoni G, Galli J, Paludetti G, Maurizi M. Molecular markers in laryngeal squamous cell carcinoma: towards an integrated clinicobiological approach. *Eur J Cancer*. 2005;41(5):683-93.
- Almadori G, Cadoni G, Cattani P, Galli J, Bussu F, Ferrandina G. et al. Human papilloma virus infection and epidermal growth factor receptor expression in primary laryngeal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2001;7(12):3988-93.
- Almangush A, Bello IO, Keski-Säntti H, Mäkinen LK, Kauppila JH, Pukkila M. et al. Depth of invasion, tumor budding, and worst pattern of invasion: prognostic indicators in early-stage oral tongue cancer. *Head Neck*. 2014;36(6):811-8.
- Almangush A, Salo T, Hagström J, Leivo I. Tumour budding in head and neck squamous cell carcinoma – a systematic review. *Histopathology*. 2014;65(5):587-94.
- Alvarez-Marcos C, Lopez F, Alonso-Guervos M, Dominguez F, Suarez C, Hermsen MA. Et al. Genetic and protein markers related to laryngeal epithelial precursor lesions and their neoplastic progression. *Acta Otolaryngol*. 2013;133(3):281-90.
- American Joint Committee on Cancer. Larynx. *AJCC Cancer Staging Manual*, 6th ed. New York: Springer, 2002:47-57.
- Angadi PV, Patil PV, Hallikeri K, Mallapur MD, Hallikerimath S, Kale AD. Tumor budding is an independent prognostic factor for prediction of lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *Int J Surg Pathol*. 2015;23(2):102-10.
- Aydın Ö, Isık AU, Acar A, Cuhruk C. Larenks kanserlerinin preoperatif T evrelemesinde bilgisayarlı tomografinin değeri. *KBB ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*. 1997;5(1):60-3.
- Aydın Ö, Üstündağ E, Şengür A. Larenks kanserlerinde tümör yayılımının rijit endoskoplarla değerlendirilmesi. *Türk Otolaringol Arşivi*. 2002;40:185-88.
- Aygenç E, Özbek C, Özdem C. Larenks Kanserlerinin I., V. ve VI. Boyun Lenfatik Seviyelerine Metastaz Özellikleri. *KBB-Forum*. 2003;2(1):1-5.
- Bailey BJ, Glottic carcinoma in BJ Bailey, HF Biler eds. *Surgery of larynx* .WB Saunders Comp Philadelphia 1985, p. 257
- Bajorath J. Molecular organization, structural features, and ligand binding characteristics of CD44, a highly variable cell surface glycoprotein with multiple functions. *Proteins*. 2000;39(2):103-11.
- Ballenger JJ, Snow JB, Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi çev. Şenocak D, 15. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2006; 422-437.
- Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumors* International Agency for Research on Cancer press Lyon 2005; p: 108-162.
- Barry BL, Dennis A, *Medical Oncology & Principles of Cancer Biology* Chapter 1
- Başerer N, Larenks malign neoplazmlarında tedavi. İç: Çelik O, ed. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi* Turgut Yay İstanbul 2002; 667–683.
- Batsakis JG, el Nagggar AK, Luna MA. Neuroendocrine tumors of larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1992;101(8):710-4.
- Batsakis JG, Luna MA, el-Nagggar AK. Nonsquamous carcinomas of the larynx. *Ann Otol Rhinol*. 1992;10 (12):1027-6.

- Becker M, Zbaren P, Laeng H. Neoplastic invasion of laryngeal cartilage: comparison of MR imaging, CT with histopathologic correlation. *Radiology*. 1995;194(3):661-9.
- Bocca E, Pignataro O, Oldini C. Extended supraglottic laryngectomy. *Ann Otolaryngology*. 1987;96(4):384-6.
- Bosch FX, Ritter D, Enders C, Flechtenmacher C, Abel U, Dietz A. et al. Hergenhausen M, Weidauer H. Head and neck tumor sites differ in prevalence and spectrum of p53 alterations but these have limited prognostic value. *Int J Cancer*. 2004;111(4):530-8.
- Bradford CR, Zhu S, Poore J, Fisher SG, Beals TF, Thoraval D. et al. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1997;123(6):605-9.
- Cabanillas R, Rodrigo JP, Astudillo A, Domínguez F, Suárez C, Chiara MD. Et al. P53 expression in squamous cell carcinomas of the supraglottic larynx and its lymph node metastases: new results for an old question. *Cancer*. 2007;109(9):1791-8.
- Calli C, Calli A, Pinar E, Oncel S, Demirtaşoğlu F. Expression of Ki-67 and p53 in laryngeal squamous cell carcinomas. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*. 2005;15(1-2):9-13.
- Candela FC, Shah J, Jaques DP, Shah JP. Patterns of cervical node metastases from squamous carcinoma of the larynx. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1990;116(4):432-5.
- Carter RL, Pittam MR, Tanner NS. Pain and dysphagia in patients with squamous carcinomas of the head and neck: the role of perineural spread. *J R Soc Med*. 1982;75(8):598-606.
- Carvalho P, Baldwin D, Carter R, Parsons C. Accuracy of CT in detecting squamous carcinoma metastases in cervical lymph nodes. *Clin Radiol*. 1991;44(2):79-81.
- Caylan R. Larenks Anatomisi ve Fizyolojisi İç: Koç C. ed. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi* Ankara: Güneş Kitabevi 2004; 19–57.
- Cervellera G, Fiorella R, Di Nicola V: Le indicazioni dello svuotamento linfonodale. In:II Carcinoma Sopraglottico. *Atti delle Giornate Vitoriesi di Laringologia*. Ed. Piccin. Pisan1986: 211-215.
- Cevanşir B, Başarer N, Yazıoğlu E. Laryngectomies partielles frontolaterales et frontoanteriores. *Proceedings of the XV. World Congress of ORL Head and Neck Surgery*. Vol II. İstanbul 1993:798-801.
- Chai L, Liu H, Zhang Z, Wang F, Wang Q, Zhou S, et al. CD44 expression is predictive of poor prognosis in pharyngolaryngeal cancer: systematic review and meta-analysis. *Tohoku J Exp Med*. 2014;232(1):9-19.
- Chandrasama P, Taylor CR: *Concise pathology*. 3rd ed, London: Appleton and Lange, 1999: 488-491.
- Clayman GL, Stewart MG, Weber RS, el-Naggar AK, Grimm EA. Human papilloma virus in laryngeal and hypopharyngeal carcinomas: relationship to survival. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1994;120(7):743-8.
- Clemente CD, *Anatomy: A regional atlas of the human body*. Philadelphia: Lea&Febiger; 1975.
- Cosselin BJ, Gullane PJ: *Cancer of the larynx, paranasal sinuses and temporal bone*. Lee KJ. *Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery*, Chapter 29 Sixth Edition, Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut USA 1995; pp: 555-580.
- Coşkun H. Larenks Kanserleri. In: Engin K, Erişen L, ed. *Baş Boyun Kanserleri*, Nobel Tıp Kitabevi, 2003, p.345-407.
- Coşkun H. Larenks'in lenfatik drenajı. *T Klin KBB*. 2002;2(1):7-9.
- CW Cummings, JM Fredrickson, LA Harker, CJ Krause *Otolaryngology, Head & Neck Surgery*. St Louis, Mo: Mosby-Yearbook. 1998

- Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2002.
- Demireller A, Saatçi MR, Yılmaz O; Erken glottik tümörlere yaklaşım. Türk otolarenoloji Arşivi. 1992;30:231-3.
- Dos Santos CR, Gonçalves Filho J, Magrin J, Johnson LF, Ferlito A, Kowalski LP, et al. Involvement of level I neck lymph nodes in advanced squamous carcinoma of the larynx. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2001;110(10):982-4.
- Dursun G. 1985-1990 yılları arasında kliniğimizde ameliyatla tedavi edilen larenks kanserli hastalarda elde edilen sonuçlar. Uzmanlık Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, 1990.
- Engin K, Özyardımcı N. Akciğer Kanserleri: Tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd. Şti. 2001.
- Fagan JJ, Collins B, Barnes L, D'Amico F, Myers EN, Johnson JT. Perineural invasion in squamous cell carcinoma of the head and neck. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1998;124(6):637-40.
- Ferlito A, Recher G. Ackerman's tumor (verrucous carcinoma) of the larynx: a clinicopathologic study of 77 cases. Cancer. 1980;46(7):1617-30.
- Forastire A, Koch W, Trotti A, Sidransky D. Head and neck cancer. N Engl J Med. 2001;345:1890-1900.
- Frederick L, Greene J, AJCC Cancer Staging Atlas 6th ed. Chicago: Springer, 2006.
- Friedman M, Lim JW, Manders E, Schaffner AD, Kirshenbaum GL, Tanyeri HM, et al. Prognostic significance of Bcl-2 and p53 expression in advanced laryngeal squamous cell carcinoma. Head Neck. 2001;23(4):280-5.
- Friedman M, Mafee MF, Pucella BL: Rationale for Elective Neck Dissection in 1990. Laryngoscope. 1990; 100: 54-59.
- Friedmann I, Ferlito A. Squamous cell carcinoma. In: Ferlito A editor. Neoplasm of larynx. New York: Churchill Livingstone, 1993; 113-33.
- Gavran M, Baveir W, Ogura H. The Incidence of Cervical Lymph Node Metastasis From Epidermoid Carcinoma of the Larynx and Their Relationship to Certain Characteristics of the Primary Tumor. Cancer. 1961;14:55-66.
- Guzman RB, Morterell MA, Basterna J: Prognostic Value of Histopathological Parameters in Supraglottic Carcinomas. Laryngoscope. 1993; 103; pp: 58-63.
- Ha PK, Califano III JA. Molecular biology of laryngeal cancer. Otolaryngol Clin North Am. 2002;35:993.
- Hao SP, Myers EN. T3 Glottic Carcinoma Revisited, Transglottic vs Pure Glottic Carcinoma. Arch Otolaryngol 1995;121:166-170.
- Harrison LB, Louis B, Roy B, Houg, Waun KI. Head and Neck Cancer: A Multidisciplinary Approach. In: Smith BD, Haffty BG. Prognostic Factors in Patients with Head and Neck Cancer. 3rd edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2009; pp: 52-70.
- Haydaroglu A, Bölükbaflı Y, Özsaran Z. Analysis of cancer registration data in Ege University: evaluation of 34134 cases Türk Onkoloji Dergisi. 2007;22(1):22-8.
- Hellquist H, Cardesa A, Gale N, Kambic V, Michaels L. Criteria for grading in the Ljubljana classification of epithelial hyperplastic laryngeal lesions. A study by members of the Working Group on Epithelial Hyperplastic Laryngeal Lesions of the European Society of Pathology. Histopathology 1999;34:226-33.
- Herceg Z, Hainut P, (2007). Genetic and epigenetic alterations as biomarkers for cancer detection, diagnosis and prognosis. Molecular Oncology 1: 26-41.

- Hızalan İ. Larenks Kanseri. Anatomik özellikler ve klinik gidiş. Engin K, Erişen L(Editörler). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2003. p. 345-52.
- Hirvikoski P, Kumpulainen E, Virtaniemi J, Pirinen R, Salmi L, Halonen P et al. Enhanced apoptosis correlates with poor survival in patients with laryngeal cancer but not with cell proliferation, bcl-2 or p53 expression. *Eur J Cancer*. 1999;35(2):231-7.
- Horibe Y, Murakami M, Komori K, Imaeda Y, Kasahara M. Expression of topoisomere II alpha, Ki67 and p53 early stage laryngeal carcinomas not featuring vocal cord fixation. *APMIS*. 2000;108(10):689-96.
- Hudson DL, Sleeman J, Watt FM. CD44 is the major peanut lectin-binding glycoprotein of human epidermal keratinocytes and plays a role in intercellular adhesion. *J Cell Sci*. 1995;108:1959-70.
- Imanishi Y, Fujii M, Tokumaru Y, Tomita T, Kanke M, Kanzaki J et al. Clinical significance of expression of membranetype 1 matrix metalloproteinase and matrix metalloproteinase-2 in human head and neck squamous cell carcinoma. *Hum Pathol*. 2000;31:895-904.
- Jalali MM, Heidarzadeh A, Zavarei MJ, Sarmast H. p53 overexpression impacts on the prognosis of laryngeal squamous cell carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011;12(7):1731-4.
- Janfaza P, Montgomery WW, Randolph EW. Baş ve boyunun cerrahi anatomisi ( Cansız H, yüksel S, çeviri editörleri) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2002; 629-74.
- JCCC Rectum JSfCotCa. Japanese Classification of Colorectal carcinoma, 8<sup>th</sup> edn. Tokyo: Kanehara, 2013.
- JJ Hirvikoski P, Tammi R, Kumpulainen E, Virtaniemi J, Parkkinen JJ, Tammi M et al. Irregular expression of hyaluronan and its CD44 receptor is associated with metastatic phenotype in laryngeal squamous cell carcinoma. *Virchows Arch*. 1999;434(1):37-44.
- Johnson JT, Myers EN: Cervical Lymph Node Disease in Laryngeal Cancer. Silver CE, et al (Eds): Laryngeal Cancer. Thieme Medical Publishers, New York 1991, Chapter 4, pp:22-27.
- Jose J, Moor JW, Coatesworth AP, Johnston C, MacLennan K. Soft tissue deposits in neck dissections of patients with head and neck squamous cell carcinoma: prospective analysis of prevalence, survival, and its implications. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;130:157-60.
- Karamitopolou E. Tumor budding cells, cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition type cells in pancreatic cancer. *Front Oncol*. 2013;2:1-5.
- Karasalihoğlu AR. Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş-boyun cerrahisi. 3. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2003: 189-217.
- Kaya S. Larenks Hastalıkları. Ankara: Bilimsel Tıp Yay; Ocak 2002; 539-716.
- Kaya S. Larenks Kanseri; Bölüm:17. In: Larenks hastalıkları. Bilimsel tıp yayınevi, Ankara 2002; 539-558.
- Kazama S, Watanabe T, Ajioka Y, Kanazawa T, Nagawa H. Tumour budding at the deepest invasive margin correlates with lymph node metastasis in submucosal colorectal cancer detected by anticytokeratin antibody CAM5.2. *Br J Cancer*. 2006;94:293-8.
- Kepekçi H. Larenks anatomisi. In: Ömür M, Önder D, Kaleli Ç, editörler. Larenks kanseri ve boyun. İstanbul: Haseki Hastanesi Vakfı Yayını, 1992; 1-7.
- Kirchner JA, Cornoj JL, Holmes ER: Transglottic Cancer Its Growth and Spread within the Larynx. *Arch Otolaryngol*. 1974;99:247-51.
- Kirchner JA; Spread and barriers to spread of cancer with in larynx. Silver CE, et al (Eds): Laryngeal cancer. Thieme Medical Publishers, New York 1991, Chapter 2, pp.6-13.

- Kocatürk S, Özdemir N, Kuran G, Erkam Ü, Babila A. Supraglottik kanserlerde okkült lenf bezi metastazı. *Turk Arch Otolaryngol.* 2003;41(2):89-94.
- Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2003; 1183-1216.
- Koike M, Koder Y, Itoh Y, Nakayama G, Fujiwara M, Hamajima N, et al. Multivariate analysis of the pathologic features of esophageal squamous cell cancer: tumor budding is a significant independent prognostic factor, *Ann. Surg. Oncol.* 2008;15:1977-82.
- Kosunen A, Pirinen R, Ropponen K, Pukkila M, Kellokoski J, Virtaniemi J. et al. CD44 expression and its relationship with MMP-9, clinicopathological factors and survival in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2007;43:51-9.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Inc, 2005.
- Laimer K, Fong D, Gastl G, et al. Ep-CAM expression in squamous cell carcinoma of the oral cavity: frequency and relationship to clinicopathologic features. *Oral Oncol.* 2008;44:72-7.
- Lanzer M, Gander T, Kruse A, Luebbers HT, Reinisch S. Influence of histopathologic factors on pattern of metastasis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope.* 2014;124(5):E160-6.
- Larynx. In: Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al., eds.: *AJCC Cancer Staging Manual.* 7th ed. New York, NY: Springer, 2010, pp.57-67.
- Lawson W, Billier HF: *Cancer of the Larynx*, Myers EN, et al (Eds): *Cancer of the Head and Neck.* Churchill Livingstone New York 1989, Chapter 22, pp: 533-591.
- Lee KJ, *Essential Otolaryngology*, McGraw Hill, 2004; 596-792.
- Lee KJ. *Essential Otolaryngology: Head and Neck Surgery.* 8th ed. McGraw- Hill, 2002.
- Lera J, Lara PC, Perez S, Cabrera JL, Santana C. Tumor proliferation, p53 expression, and apoptosis in laryngeal carcinoma: relation to the results of radiotherapy. *Cancer.* 1998;83(12):2493-501.
- Lesley J, Hyman R (1998) CD44 structure and function. *Front Biosci* 3: d616–630 23.
- Licitra L, et al. Cancer of the larynx. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2003. 47(1): p. 65-80.
- Liu M, Lawson G, Delos M, Jamart J, Chatelain B, Remacle M et al. Prognostic value of cell proliferation markers, tumour suppressor proteins and cell adhesion molecules in primary squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2003;260(1):28-34.
- Loeb LA, Bielas JH, Beckman RA. Cancers exhibit a mutator phenotype: clinical implications. *Cancer Res.* 2008;68(10):3551-7; discussion 3557
- Losi L, Ponti G, Gregorio CD, Marino M, Rossi G, Pedroni M et al. Prognostic significance of histological features and biological parameters in stage I (pT1 and pT2) colorectal adenocarcinoma. *Pathol Res Pract.* 2006;202:663-70.
- Lowry WS. Alcoholism in Cancer of the Head and Neck. *Laryngoscope.* 1975;85:1275-80.
- Luo WR, Gao F, Li SY, Yao KT. Tumor budding and the expression of cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 in nasopharyngeal carcinoma. *Histopathology.* 2012;61:1072–81.
- Magnano M, Bongioannini G, Lerda W, Canale G, Tondolo E, Bona M, et al. Lymphnode metastasis in head and neck squamous cells carcinoma: multivariate analysis of prognostic variables, *J Exp Clin Cancer Res.* 1999;18(1):79–83.
- Maier H, Dietz A, Gewelke U, Heller WD, Weidauer H. Tobacco and alcohol and the risk of head and neck cancer. *Clinic invest med.* 1992;70(3-4):320-7.

- Mango L, Bonetti B, La Face B. II ruolo della radioterapia nel trattamento del carcinomasopraglottico e delle aree linfonodali satelliti. In: II Carcinoma Sopraglottico. Attidelle Giornate Vittoriesi di Laringologia. Ed. Piccin. Pisa, 1986: 223-244.
- Manjarrez ME, Ocadiz R, Valle L, Pacheco C, Marroquin A, De la Torre C, et al. Detection of human papillomavirus and relevant tumor suppressors and oncoproteins in laryngeal tumors. *Clin Cancer Res.* 2006;1;12(23): 6946-51.
- Manjula BV, Augustine S, Selvam S, Mohan AM. Prognostic and predictive factors in gingivo buccal complex squamous cell carcinoma: role of tumor budding and pattern of invasion. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2015;67:98-104.
- Marangon H Jr, Rocha VN, Leite CF, de Aguiar MC, Souza PE, Horta MC. Laminin-5 gamma 2 chain expression is associated with intensity of tumor budding and density of stromal myofibroblasts in oral squamous cell carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.* 2013;43:199–204.
- Masuda M, Kuratomi Y, Shiratsuchi H, Nakashima T, Naonobu K, Komiyama S. Decreased CD44H expression in early-stage tongue carcinoma associates with late nodal metastases following interstitial brachytherapy. *Head Neck.* 2000;22:662–5.
- Masuda R, Kijima H, Imamura N, Aruga N, Nakamura Y, Masuda D, et al. Tumor budding is a significant indicator of a poor prognosis in lung squamous cell carcinoma patients. *Mol Med Rep.* 2012;6(5):937-43.
- Maurizi M, Paludetti G, Galli J, Ottaviani F, D'Abramo G, Almadori G. Oncological and functional outcome of conservative surgery for primary supraglottic cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1999;256(6):283-90.
- Mehdiyev H. 1985-2008 Yılları Arasında Kliniğimizde Ameliyatla Tedavi Edilen Larenks Kanseri Hastalarda Elde Edilen Sonuçlar, in *Kulak Burun Boğaz ABD2009*, Ankara Üniversitesi: Ankara.
- Mendenhall WM, Hinerman RW, Amdur RJ, Mancuso AA, Villaret DB, Robbins KT; Larynx, in Perez CA, Brady LW, Halperin EC, Schmidt-Ullrich RK (eds): *Principles and Practice of Radiation Oncology*, 4th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2004
- Mendenhall WM, Parsons JT, Mancuso AA, et al. Larynx, In: Perez CA, Brady LW, editors. *Principles and practice of radiation oncology*. 3rd ed, Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997; 1069-93.
- Mendenhall WM, Parsons JT, Million RR, Fletcher GH. T1-T2 squamous cell carcinoma of the glottis larynx treated with radiation therapy: relationship of dose-fractionation factors to local control and complications. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1988;15(6):1267-73.
- Merlo LM, Pepper JW, Reid BJ, Maley CC. Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nat Rev Cancer.* 2006;6(12):924-35.
- Million RR, Cassisi NJ, Mancuso AA, Larynx, In: Million RR, Cassisi NJ, eds, *management of head and neck cancer: A multidisciplinary approach*, 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1994:431-497.
- Mills SE, Gaffey MJ, Frierson HF. *Tumors of the Upper Aerodigestive Tract and Ear*. Armed Forces Institute of Pathology Washington DC. 2000; pp.45-50.
- Mitrovic B, Schaeffer DF, Riddell RH, Kirsch R. Tumor budding in colorectal carcinoma: time to take notice. *Mod Pathol.* 2012;25:1315–25.
- Miyata H, Yoshioka A, Yamasaki M, Nishijima Y, Takiguchi S, Fujiwara Y, et al. Tumor budding in tumor invasive front predicts prognosis and survival of patients with esophageal squamous cell carcinomas receiving neoadjuvant chemotherapy. *Cancer.* 2009;115(6):3324-3334.
- Modern imaging techniques and ultrasound-guided aspiration cytology for the assessment of neck node metastases: a prospective comparative study.

- Moore KL, Dalley AF. Clinically Oriented Anatomy. 4th ed. Lippincott-Williams&Wilkins Philadelphia 1999; p: 1038-1047.
- Moriya Y, Niki T, Yamada T, Matsuno Y, Kondo H, Hirohashi S. Increased expression of laminin-5 and its prognostic significance in lung adenocarcinomas of small size. *Cancer*. 2001;91(6):1129-41.
- Morodomi T, Isomoto H, Shirouzu K, Kakegawa K, Irie K, Morimatsu M. An index for estimating the probability of lymph node metastasis in rectal cancers. Lymph node metastasis and the histopathology of actively invasive regions of cancer. *Cancer* 1989;63(3):539-43.
- Motamed M, Banerjee AR, Bradley PJ, Powe D. MIB-1 and p53 expression in radiotherapy-resistant T1aN0M0 glottic squamous cell carcinoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 2001;26(3):227-30.
- Mutlu V. Kliniğimizde Larenjektomi ve Boyun Diseksiyonu Yapılan Hastalarda; larinksteki Primer Tümörün Lokalizasyonu, Büyüklüğü, Evresi ve Histopatolojisi İle Boyun Metastazı Arasındaki İlişkinin Retrospektif Olarak İncelenmesi. Uzmanlık Tezi. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2008.
- Myers EN, Alvi A. Management of carcinoma of supraglottic larynx; evaluation, current concepts and future trends. *Laryngoscope*. 1996;106(5 Pt 1):559-67.
- Narayana A, Vaughan AT, Gunaratne S, Kathuria S, Walter SA, Reddy SP. Is p53 an independent prognostic factor in patients with laryngeal carcinoma? *Cancer*. 1998;82(2):286-91.
- Nguyen-Tan PF, Le QT, Quivey JM, Singer M, Terris DJ, Goffinet DR, et al. Treatment results and prognostic factors of advanced T3-4 laryngeal carcinoma: the University of California, San Francisco (UCSF) and Stanford University Hospital (SUH) experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 200;50(5):1172-80.
- Nilsson PJ, Rubio C, Lenander C, Auer G, Glimelius B. Tumour budding detected by laminin-5 {gamma} 2-chain immunohistochemistry is of prognostic value in epidermoid anal cancer. *Ann Oncol*. 2005;16(6):893-8.
- Norris JM, Cady B: Larynx and hypofarenx cancer. Leibel SA, Phillips TL, eds. Textbook of radiation oncology 1998; pp. 412-456. Philadelphia: WB Saunders Company.
- Ohike N, Coban I, Kim GE, Basturk O, Tajiri T, Krasinskas A, et al. Tumor budding as a strong prognostic indicator in invasive ampullary adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(10):1417-24.
- Ohtsuki K, Koyama F, Tamura T, Enomoto Y, Fujii H, Mukogawa T, et al. Prognostic value of immunohistochemical analysis of tumor budding in colorectal carcinoma. *Anticancer Res*. 2008;28(3B):1831-6.
- Oliveira DE, Bacchi MM, Macareno RS, Tagliarini JV, Cordeiro RC, Bacchi CE. Human Papillomavirus and Epstein-Barr Virus Infection, p53 Expression, and Cellular Proliferation in Laryngeal Carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2006;126(2):284-93.
- Olivier M, Petitjean A, Marcel V, Pétré A, Mounawar M, Plymoth A, et al. Recent advances in p53 research: an interdisciplinary perspective. *Cancer Gene Ther*. 2009;16(1):1-12.
- Olofsson J, van Nostrand AWP. Growth and spread of laryngeal and hypopharyngeal carcinoma with reflections on the effects of preoperative irradiation. *Acta Otolaryngol Suppl (Stockh)*. 1973;308;1-84.
- Olsen KD, DeSanto LW. Partial vertical laryngectomy indications and surgical technique. *Am J Otolaryngol*. 1990;11(3):153-60.
- Oren M. Regulation of the p53 tumor suppressor protein. *J Biol Chem*. 1999;274(51):36031-34.
- Ömür M, Gökçeer T. Larenks kanserinin yayılma özellikleri. İstanbul Haseki Hastanesi Vakfı Yayını, 1992; 52-7.

- Özlügedik S, Ünal A. Baş boyun kanserlerinde epidemiyoloji ve risk faktörleri. KBB Baş Boyun Cerrahisi'nde Güncel Yaklaşım. 2005;1(3):51-56.
- Öztürk K, Gode S, Gursan G, Veral A, Akyıldız S. The prognostic value of p53 expression in negative surgical margins of early glottic carcinoma in the prediction of local recurrences. *Acta Otolaryngol.* 2014;134(5):525-30.
- Özüdoğru E, Kaya E. Larenks Kanseri. *Galenos Aylık Tıp Dergisi.* 2006;111(9):38-44.
- Pai HH, Rochon L, Clark B, Black M, Shenouda G. Overexpression of p53 protein does not predict local-regional control or survival in patients with early-stage squamous carcinoma of the glottic larynx treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1998;41(1):37-42.
- Pearson BW, Salassa JR, Hinnir ML. İleri evre larinks tümörlerinin transoral lazer mikro rezeksiyonu. In: Cummings CW, et al (Eds) (çeviri editörü: Koç C). *Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Güneş Tıp Kitapevleri*, 2007, cilt 3, bölüm 101, s: 2326-2345.
- Pillsbury HR, Kirchner JA, Clinical vs histopathologic staging in laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol* 1979;105:157-9.
- Pinto AE, Monteiro P, Silva G, Ayres JV, Soares J. Prognostic biomarkers in renal cell carcinoma: relevance of DNA ploidy in predicting disease-related survival. *Int J BiolMarkers.* 2005;20(4):249-56.
- Prall F, Nizze H, Barten M. Tumour budding as prognostic factor in stage I/II colorectal carcinoma. *Histopathology.* 2005;47(1):17-24.
- Rodrigo JP, Dominguez F, Suárez V, Canel M, Secades P, Chiara MD. Focal adhesion kinase and E-cadherin as markers for nodal metastasis in laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;133(2):145-50.
- Rodríguez Tojo MJ, García Cano FJ, Infante Sánchez JC, Velázquez Fernández E, Aguirre Urizar JM. Immunoeexpression of p53, Ki-67 and E-cadherin in basaloid squamous cell carcinoma of the larynx. *Clin Transl Oncol.* 2005;7(3):110-4.
- Roh MS, Lee JI, Choi PJ. Tumor budding as a useful prognostic marker in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus.* 2004;17(4):333-7.
- Rosai J, Rosai and Ackerman's Surgical Pathology Ninth ed., New York 2004; p: 335-50.
- Rosai J. Ackerman's surgical pathology. 8th ed, St Louis: Mosby, 1996; 319-23.
- Santoro R, Turelli M, Polli G. Primary carcinoma of the subglottic larynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2000;257(10):548-51.
- Sarioglu S, Acara C, Akman FC, Dag N, Ecevit C, İkiz AO, et al. Tumor budding as a prognostic marker in laryngeal carcinoma. *Pathol Res Pract.* 2010;206(2):88-92.
- Sasaki CT, Carlson RD: Malignant Neoplasms of the Larynx. Cummings CW, et al (Eds): *Otolaryngology Head and Neck Surgery.* Mosby Year Book, St. Louis. 1993; 2,104, pp: 1925-54.
- Sasaki CT, Driscoll PB, Gracco C. Anatomy and physiology of the larynx. In; Ballanger JJ, Snow JB (Eds.). *Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery* 15th ed. Philadelphia: Williams and Wilkins Co 1996; p.423-37.
- Satoh K, Nimura S, Aoki M, Hamasaki M, Koga K, Iwasaki H, et al. Tumor budding in colorectal carcinoma assessed by cytokeratin immunostaining and budding areas: possible involvement of c-Met *Cancer Sci.* 2014;105(11):1487-95.
- Schipper JH, Frixen UH, Behrens J, Unger A, Jahnke K, Birchmeier W. E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: inverse correlation with tumour dedifferentiation and lymph node metastasis. *Cancer Res.* 1991;51(23 Pt 1):6328-37.
- Sciot R, Delaere P, Van Damme B, et al. Angiosarkoma of the larynx. *Histopathology* 1995;26(2):177-80.

- Scola B, Fernández-Vega M, Martínez T, Scola E, Fernández-Vega S, Ramírez C. The Gregorio Marañon Hospital experience with vertical partial laryngectomies. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1999;256(6):296-8.
- Scola B, Fernández-Vega M, Martínez T, Fernández-Vega S, Ramirez C. Management of cancer of the supraglottis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2001;124(2):195-8.
- Sessions RB, Hudkins CD: Malignant Cervical Adenopathy, Cummings CW, et al (Eds): *Otolaryngology Head and Neck Surgery Mosby Year Book St. Louis, 1993; Vol 2, Chapter 90, pp: 1605-1625.*
- Sessions RB, Harrison LB, Forastiere AA: Tumors of the larynx and hypopharynx. in: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg S A, eds.: *Cancer: Principles and Practice of Oncology.* 6th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp 861-885.
- Shah JP. Patterns of cervical lymph node metastases from squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract. *Am J Surg.* 1990;160(4):405-9.
- Shinto E, Jass JR, Tsuda H, Sato T, Ueno H, Hase K, et al. Differential prognostic significance of morphologic invasive markers in colorectal cancer: tumor budding and cytoplasmic podia. *Dis Colon Rectum.* 2006;49(9):1422-30.
- Shinto E, Mochizuki H, Ueno H, Matsubara O, Jass JR. A novel classification of tumour budding in colorectal cancer based on the presence of cytoplasmic pseudo-fragments around budding foci. *Histopathology* 2005;47(1):25–31.
- Sittel C, Eckel HE, Damm M, von Pritzbuer E, Kvasnicka HM. Ki-67 (MIB1), p53, and Lewis-X (LeuM1) as prognostic factors of recurrence in T1 and T2 laryngeal carcinoma. *Laryngoscope.* 2000;110(6):1012-7.
- Soylu L, Tuncer Ü, Özşahinoğlu C. Larinks kanserlerinde boyuna yaklaşım. *Türkiye Klinikleri KBB Dergisi.* 2002;2:44-51.
- Stell PM. Prognosis in laryngeal carcinoma: host factors. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1990;15(2):111-9.
- Stern WB, Silver CE, Zeifer BA, Persky MS, Heller KS. Computed tomography of the clinically negative neck. *Head Neck.* 1990;12(2):109-13.
- Sternberg SS. *Histology for Pathologists.* 2nd ed. Lippincott-Raven. Philadelphia 1997; p:391-398.
- Stevens A, Lowe J. *Pathology.* London: Mosby, 1995; 212-7.
- Suen JY; Cancer of the Neck, Lawson W, Billier HF; Cancer of the Larynx. Myers EN, Suen JY; Cancer of the Head and Neck, Chapter 12 and chapter 22. Second Edition. Churchill Livingstone New York, London. 1989; 221-254, 533-91.
- Suzuki A, Togashi K, Nokubi M, Koinuma K, Miyakura Y, Horie H, et al. Evaluation of venous invasion by Elastica vanGieson stain and tumor budding predicts local and distant metastases in patients with T1stage colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009;33(11):1601–7.
- Şimşek H, Han Ü, Önal B, Şimşek G. The expression of EGFR, cerbB2, p16, and p53 and their relationship with conventional parameters in squamous cell carcinoma of the larynx. *Turk J Med Sci.* 2014;44(3):411-6.
- Takes RP, Rinaldo A, Rodrigo JP, Devaney KO, Fagan JJ, Ferlito A. Can biomarkers play a role in the decision about treatment of the clinically negative neck in patients with head and neck cancer? *Head Neck* 2008;30(4):525-38.
- Taxy JB. Upper respiratory tract. In: Damjanow, Linder J, editors. *Anderson's pathology.* 10th ed, St Louis: Mosby, 1996: 1463-6.
- Teppo H, Soini Y, Melkko J, Koivunen P, Alho OP. Prognostic factors in laryngeal carcinoma: the role of apoptosis, p53, proliferation (Ki-67) and angiogenesis. *APMIS.* 2003;111(4):451-7.

- Thawley SE. Cysts and Tumors of the Larynx. Paperella MM, et al (Eds): Otolaryngology Head and Neck Surgery. W. B. Saunders Company, Philadelphia 1991, Vol 2, Chapter 32, pp: 2307-70.
- Tucker HM: The larynx, 2nd edition Thieme med. Publ New York, 1993; 298.
- Tufano RP, Weinstein GS, Laccourreye O. Larinks Konservasyon Cerrahisi. In:Cummings CW, et al (Eds) (çeviri editörü: Koç C). Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Güneş Tıp Kitapevleri, 2007, cilt 3, bölüm 102, ss.2346-80.
- Tuna B, Yörükoğlu K, Tüzel E, Güray M, Mungan U, Kirkali Z. Expression of p53 and mdm2 and theirsignificance in recurrence of superficial bladder cancer. Pathol Res Pract. 2003;199(5):323-8.
- Tuyns AJ, Estève J, Raymond L, Berrino F, Benhamou E, Blanchet F, et al. Cancer of the larynx/hypopharynx, tobacco and alcohol. Int J Cancer. 1988;41(4):483-9.
- Ueno H, Murphy J, Jass JR, Mochizuki H, Talbot IC. Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. Histopathology 2002;40(2):127-32.
- Veyseller B, Aksoy F, Yıldırım YS, Özturan O. Near total larenjektomi tecrübelerimiz. Acta Oncologica Turcica 2010;43:1-5.
- Wang C, Huang H, Huang Z, Wang A, Chen X, Huang L, et al. Tumor budding correlates with poor prognosis andepithelial-mesenchymal transition in tongue squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med. 2011;40(7):545-51.
- Welsh LW, Welsh JJ, Rizzo TA. Internal anatomy of the larynx and spread of the cancer. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1989;98(3):228-34.
- Wening BM. Laryngeal mucosal malignant melanoma. A clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural study of four patients and a review of the literature. Cancer. 1995;75(7):1568-77.
- Yazıcıoğlu E. Larenks maling neoplazmları. Çelik O (Editör). Kulak burun boğazhastalıkları ve baş-boyun cerrahisi. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 2002. s. 659-83.
- Yılmaz T, Hoşal AŞ, Gedikoğlu G, Önerci M, Gürsel B. Prognostic significance of vascular and perineural invasion in cancer of the larynx. Am J Otolaryngol. 1998;19(2):83-8.
- Zarbo RJ, Crissman JD, Venkat H, Weiss MA. Spindle-cell carcinoma of the upper aerodigestive tract mucosa. An immunohistologic and ultrastructural study of 18 bibhasic tumors and comparison with seven monophasic spindle-cell tumors. Am J Surg Pathol. 1986;10(11):741-53.