

TC.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI



**LARENKS KANSERLİ HASTALARDA Kİ-67, CERBB-2, E-KADERİN
EKSPRESYONLARI VE BU BELİRTEÇLERİN KLİNİK ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ozan BARUTÇU

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. F. Sefa DEREKÖY

Çanakkale, 2012

TC.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

**LARENKS KANSERLİ HASTALARDA KI-67, CERBB-2, E-KADERİN
EKSPRESYONLARI VE BU BELİRTEÇLERİN KLİNİK ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ozan BARUTÇU

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. F. Sefa DEREKÖY

Çanakkale, 2012

Bu araştırma ÇOMÜ-BAP tarafından 2012/025 sayı ile desteklenmiştir.

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı uzmanlık çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:...../...../.....

TEZ KONU BAŞLIĞI

LARENKS KANSERLİ HASTALARDA KI-67, CERBB-2, E-KADERİN
EKSPRESYONLARI VE BU BELİRTEÇLERİN KLİNİK ÖNEMİ

Tez Danışmanı: Prof.Dr. F. Sefa DEREKÖY

Tez Jürisi Üyeleri:
Adı Soyadı

Prof.Dr. F. Sefa DEREKÖY

Doç. Dr. Murat ÇOŞAR

Yrd. Doç. Dr.Oğuz GÜÇLÜ

İmzası

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim Kurulunun...../...../..... tarih ve /...../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

.....
Dekan

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi süresince, hoşgörü ortamı içerisinde, bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, her konuda desteğini gördüğüm, tez çalışmalarımın büyük bir titizlikle yürütülmesini sağlayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. F. Sefa DEREKÖY'e en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenimim süresince bilgi ve deneyimleri ile her zaman desteğini gördüğüm değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Oğuz GÜÇLÜ'ye , Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Yrd.Doç. Dr. Aslı MURATLI'ya ,asistan arkadaşlarıma, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum odyometrist ve hemşire çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca destekleri ile her zaman yanımda olan değerli arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde desteklerini, sevgilerini esirgemeyen; başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan; kendileriyle gurur ve onur duyduğum eşim, annem ve babama sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Ozan BARUTÇU

ÖZET

LARENKS KANSERLİ HASTALARDA Kİ-67, CERBB-2, E-KADERİN EKSPRESYONLARI VE BU BELİRTEÇLERİN KLİNİK ÖNEMİ

AMAÇ: Etyopatogenezinde sigara ve alkol kullanımı ile iyonizan radyasyon ve genetik değişikliklerin sorumlu tutulduğu larenks kanserlerinde çeşitli prognostik ve prediktif faktörler söz konusudur. Bunlar başlıca; tümörün klinik patolojisi ve biyolojisiyle ilgilidir. Biyolojik faktörler arasında tümör süpresör genler ve onkogenler başta olmak üzere bazı moleküller yer almaktadır. Sunulan çalışmamızda bu biyolojik faktörlerden E-Kaderin, CerbB-2 ve Ki-67 ekspresyonlarının larenks karsinomlu olguların klinikopatolojik değişkenler arasındaki ilişkiler araştırıldı.

E-Kaderin hücreler arası bağlantıyı sağlayan bir adezyon molekülüdür ve salınımının azalması tümör gelişimine zemin hazırlar. CerbB-2 bir tirozin kinaz büyüme faktörü ve onkogendir. CerbB-2'nin fazla ekspresyonu bir çok malign hastalığın gelişiminde gözlenmektedir ve bu nedenle hücre transformasyonu ve tümör patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Ki-67 proteini, bir proliferasyon belirleyici nükleer proteindir. Bu nedenle gerek normal dokularda gerekse neoplastik dokularda, büyüme fraksiyonundaki hücreleri göstermede iyi bir belirleyicidir. Bu çalışmamızdaki amaç larenks kanserli olguların klinikopatolojik değişkenlerden ; nüks ve servikal lenf nodları metastaz riski, uzak metastaz olasılığı ve sağkalım gibi özelliklerle bu belirteçlerin arasındaki korelasyonların ortaya konmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM: Bu çalışmada Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB Anabilim Dalı'nda 2009-2012 yıllarında tanısı konmuş ve tedavisi düzenlenmiş 41 adet larenks karsinomu olgusu değerlendirilmeye alındı. Hastaların klinik öyküsü, yaş ve cinsiyeti, hastalığın tuttuğu anatomik bölgeleri, sigara ve alkol alışkanlıkları ile fizik muayene bulguları TNM klasifikasyonuna göre kayıt edildi. E-Kaderin, CerbB-2 ve Ki-67 belirteçlerin; tümörün lokalizasyonu, T evresi, histopatolojik tanı, tümör diferansiyasyonu, servikal lenf

nodu metastazı, perinöral invazyon, vasküler invazyon, kapsüler invazyon, nüks ,eks ve sağkalım açısından karşılaştırılmaları istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR: Supraglottik kanserli olgularda servikal lenf nodu metastazı oranı, glottik kanserli olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p=0,001$). T evrelemesinin artması ile sağkalım oranının düşmesi arasında anlamlı korelasyon saptandı ($p=0,016$). Kapsüler invazyon varlığıyla sağkalım oranının düşmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,007$).

E-Kaderin, Ki-67 ve CerbB-2 ekspresyonları ile çalışma grubumuzdaki larenks karsinomlu tüm olguların tümörün lokalizasyonu, T evresi, histopatolojik tanı, tümör diferansiyasyonu, servikal lenf nodu metastazı, perinöral invazyon, vasküler invazyon, kapsüler invazyon, nüks ,eks ve sağkalım arasındaki istatistiksel değerlendirmede anlamlı sonuç bulunmadı. E-Kaderin kuvvetli boyanması ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında pozitif korelasyon saptandı ($p=0,012$).

SONUÇ: E-Kaderin, Ki-67 ve CerbB-2 ekspresyonlarıyla larenks kanserli tüm olgularımızın tüm klinikopatolojik değişkenleriyle yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı korelasyon bulunamadı. Bu bulgu çalışılan belirteçlerin güvenilir prognostik ve prediktif faktör olmadıklarını gösterdi.

E-Kaderin kuvvetli boyanması ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında pozitif korelasyon saptandı. E-Kaderin ekspresyonunun azalmasının larenks kanserlerinde tümörün invazyon özelliğinin, T ve N evrelemesinin artmasıyla ve kötü prognozla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu ekspresyon iyi diferansiye ve daha az invasiv tümörlerde; hücre-hücre adezyonunu sayesinde indiferansiye tümör geçişine karşı korumaktadır. E-Kaderin ile Ki-67 proliferasyonundaki bu pozitif korelasyon bize larenks kanserlerinde histopatolojik diferansiyasyonun yüksek proliferasyon indeksine rağmen muhafaza edildiğini gösterdi

Anahtar kelimeler: *Larenks kanseri, klinikopatolojik değişkenler, biyomarker, E-Kaderin, CerbB-2, Ki-67*

SUMMARY

KI-67, CERBB-2, E-CADHERIN EXPRESSIONS IN LARYNGEAL CANCER PATIENTS AND THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF THESE BIOMARKERS

AIM: There are various kinds of predictive and prognostic factors in laryngeal cancers in which smoking and alcohol together with ionizing radiation and genetic changes play role in its etiopathogenesis. These are principally related to the clinic, the pathology and the biology of the tumor. Amongst the biological factors, there are mainly some molecules such as tumor suppressor genes and oncogenes. In this present study, of these biological factors the relationships of E-cadherin, CerbB-2, Ki-67 expressions with clinicopathological variables of laryngeal cancer patients were investigated. E-cadherin is an adhesion molecule that provide to connections of intercellular areas and impairment of its expression provide a basis for development of the tumours. CerbB-2 is a tyrosine kinase growth factor and oncogene. CerbB-2 overexpression has been observed in the development of many malignant and therefore play a role in cell transformation and tumor pathogenesis. Ki-67 protein is a nuclear protein and is a marker of proliferation. For this reason Ki-67 is a good marker demonstrating cells in the growth fraction in normal and neoplastic tissues. The purpose of this study is to analyze the correlation between these biomarkers and the risk of cervical lymph node invasion, recurrence, distant metastasis and survival regarding the clinicopathological variables.

MATERIALS AND METHODS: Forty-one patients with laryngeal carcinomas who were diagnosed and treated between 2009 and 2012 in Otolaryngology Department of Çanakkale Onsekiz Mart University Hospital were studied retrospectively. The clinical history, smoking and alcohol habits, age, gender, physical examination, involved anatomical region, and the tumour staging was recorded according to TNM classification. It was statistically evaluated the correlations between E-cadherin, Ki-67, CerbB-2 biomarkers expressions and tumor site and differentiation, and the risk of cervical lymph node metastasis, perineural, vascular and capsular invasion, as well as recurrence, and survival.

RESULTS: The rate of cervical lymph node metastasis in supraglottic cancer patients, is statistically significantly higher than in patients with glottic cancer ($p = 0,001$). There was statistically significant correlation between T grade and the lowest survival rates ($p=0,016$). In addition we found statistically significant correlation between capsular invasion and the lowest survival rates ($p=0,007$). There was no statistically significant correlation between E-cadherin, Ki-67, CerbB-2 proteins and the clinicopathological variables of the tumor such as localization, T stage, histopathological differentiation, cervical lymph node metastasis, perineural, vascular and capsular invasion, recurrence, ex and survival. A positive correlation between strong stain of the E-cadherin and Ki-67 proliferation index was determined ($p=0.012$).

CONCLUSION: There was no statistically significant correlation between E-cadherin, Ki-67, CerbB-2 proteins and the clinicopathological variables of the tumor. This finding showed that these markers are not reliable prognostic and predictive factors for laryngeal cancers. A positive correlation between strong stain of the E-cadherin and Ki-67 proliferation index was determined. Loss of or reduction in E-cadherin expression has been associated with increased invasiveness, advanced T and N stages and unfavorable prognosis. Its expression was protected in well-differentiated and less invasive cancers, which maintain their cell-cell adhesions whereas it was reduced in undifferentiated cancers. This positive correlation between E-cadherin and Ki-67 proliferation shows us that histopathological differentiation of laryngeal cancers is maintained in spite of the high proliferation index.

Key words: Larynx cancer, clinicopathological variables, biomarker ,E-cadherin, CerbB-2, Ki-67,

İÇİNDEKİLER

İç kapak	i
Kabul-onay sayfası	ii
Teşekkür	iii
Özet ve anahtar sözcükler	iv
Summary ve key words	vi
İçindekiler	viii
Kısaltmalar ve simgeler dizini	x
Şekiller dizini	xiii
Tablolar dizini	xiv
1- Giriş ve Amaç	1
2- Genel Bilgiler	2
2.1. Larenksin genel özellikleri	2
2.2 Larenks anatomisi	2
2.3 Larenks embriyolojisi	11
2.4 Larenks histolojisi	12
2.5 Larenks kanserlerinin histopatolojisi	13
2.6 Larenks tümörlerinde etyopatogenez	18
2.7 Larenks tümörlerinde evreleme	19
2.8 Larenks kanserlerinde yayılım	21
2.9 Larenks kanserinin epidemiyolojisi	23
2.10 Larenks kanserlerinde tedavi	25
2.11 Larenks kanserlerinde prognoz,prognostik ve prediktif faktörler	28
2.12 Larenks kanserinin moleküler biyolojisi	29
2.13 Biyomarkerlar	37
2.14 Kanserde yer alan genlerin gruplandırılması	39
3- Gereç ve Yöntem	51
3.1. İmmünohistokimyasal analiz	52
3.2. İstatistiksel değerlendirme	53
4- Bulgular	54
4.1 E-Kaderin ile ilgili istatistiksel sonuçlar	60
4.2 CerbB-2 ile ilgili istatistiksel sonuçlar	64

4.3 Ki-67 ile ilgili istatiksel sonuçlar	67
5- Tartışma	76
6- Sonuç ve Öneriler	93
7- Kaynaklar	93

KISALTMALAR VE SİMGELER

- HPV** : Human Papillomavirüs
LN : Lenf Nodu
Lig : Ligamentum
M : Muskulus
A : Arteria
V : Vena
N : Nervus
RLS : Rekürren larengeal sinir
HE : Hematoksilen Eozin
DNA : Deoksiribo Nükleik Asit
RNA : Riboksi Nükleik Asit
PSA : Prostat spesifik antijen
WHO : World Health Organization
T : Primer tümör
N : Bölgesel lenf nodları
M : Uzak metastaz
Cdc : Siklin bağımlı kinaz
Rb : Retinoblastom
EGFR: Endotelyal growth faktör reseptör
VEGF: Vasküler endotelyal growth faktör
PDGF: Platelet derive growth faktör
TGF : Transforming growth faktör
RT : Radyoterapi
KT : Kemoterapi

ŞEKİLLER

Şekil 1: Larenksin genel anatomik görünüşü (önden)

Şekil 2: Larenksin genel anatomik görünüşü (yandan)

Şekil 3: Larenksin genel anatomik görünüşü (arkadan)

Şekil-4: Larenksin videolarenoskopik muayene görüntüsü

Şekil-5: Larenksin normal mukozasının histolojisi

Şekil-6: Az diferansiye ve iyi diferansiye skuamöz hücreli karsinom histolojisi

Şekil -7: Sağ vokal kordda larenks karsinomu

Şekil-8 İnsan vücudunda görülen kanserlerin cinsiyete göre dağılımı

Şekil-9 Baş ve boyun kanserlerinin dağılımı

Şekil-10 Larenks kanserlerinin anatomik yerine göre dağılımı

Şekil-11 Hücre siklusu

Şekil-12 Kanser hücrelerinin oluşumunu sağlayan faktörler

Şekil-13 Larenks kanserlerinde çalışılmış bazı biyomarkerlar

Şekil-14 CerbB-2 etki mekanizması

Şekil-15 E-Kaderinin etki mekanizması

Şekil-16 Ki-67 Etki Mekanizması

Şekil-17: Tümörlerin anatomik yerleşimine göre sağkalımı

Şekil-18: T evrelemesine göre sağkalımı

Şekil-19 :Tümör diferansiyasyonuna göre sağkalımı

Şekil-20: Servikal lenf nodu metastazına göre sağkalımı

Şekil-21: Perinöral, vasküler ve kapsüler invazyona göre sağkalımı

Şekil-22: E- Kaderin için immunohistokimyasal boyama

Şekil-23: E-Kaderin'e göre sağkalım

Şekil-24: CerbB-2 için immunohistokimyasal boyama

Şekil-25: CerbB-2'ye göre sağkalım

Şekil-26: Ki-67 için immunohistokimyasal boyama

Şekil-27: Ki-67'ye göre sağkalım

TABLolar

Tablo-1: Bazı Onkogenler

Tablo-2 :Bazı Tümör Süpresör Genler

Tablo-3: Olguların anatomik yerine göre sınıflandırılması

Tablo-4: Olguların uygulanan tedavi yöntemlerine göre sınıflandırılması

Tablo-5: E-Kaderin ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatiksels veriler

Tablo-6 : CerbB-2 ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatiksels veriler

Tablo-7 : Ki-67 (ilk yönteme göre) ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatiksels veriler

Tablo-8 : Ki-67 (ikinci yönteme göre) ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatiksels veriler

Tablo-9 : Ki-67 (çnc yönteme göre) ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatiksels veriler

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Baş ve boyun kanserleri; ağız boşluğu, tükürük bezleri, paranazal sinüsler ve burun boşluğu, nazofarenks, orofarenks, hipofarenks, larenks, boyundaki yumuşak doku ve lenf nodlarındaki malign neoplazilerdir. Baş ve boyun kanserleri dünyadaki tüm kanserlerin %5-10'unu oluşturmaktadır (1,2). Her yıl yaklaşık dünyada 400.000 ağız boşluğu ve farenks kanseri ile 160.000 larenks kanseri vakası ortaya çıkmakta ve bunlardan yaklaşık 300.000'i ölümlle sonuçlanmaktadır (1,2). Baş ve boyun kanserli olguların yaklaşık %65'i erkek iken, %35'ini bayanlar oluşturmaktadır (1,2). Yaş aralığı olarak erkeklerde 60-70 yaş arasında, bayanlarda ise 50-60 yaş arasında görülmektedir (1). Kanserinin yüksek oranda görüldüğü bölgeler arasında Güney Asya ve aynı zamanda Orta ve Güney Avrupa'nın belirli kısımları olduğu görülmektedir. Bu kanserlerin histopatolojisi incelendiğinde yaklaşık %95'inin yassı hücreli karsinom olduğu görülmektedir (3). Etiyolojide sigara ve alkol kullanımı, iyonize radyasyon ve genetik değişiklikler sorumlu tutulmuştur. Baş boyun kanserleri arasında en sık görülen tip larenks kanserleridir (yaklaşık%25) (4). Larenks kanseri; insan vücudundaki tüm malign tümörlerin % 2-3'ünü oluşturur (4). Bayanlarda görülme oranı giderek artmıştır ve batı hemisferde insidansı yaklaşık erkekler için 9/100.000 bayanlarda ise 1,5/100.000 dir (154-155). Larenks kanserlerinin 5 yıllık sağkalımı ise tümörün yeri, evresi ve uygulanan tedaviye göre değişmekle birlikte %52 ile %94 arasında değişmektedir (155-156).

Larenks kanserlerinde hastalısız yaşam süresini, sağkalımı ve organ korunmasını artırabilmek için tümörün davranışı hakkında bilgi edinilmeli ve bu duruma etki eden faktörler detaylı incelenmelidir. Tümörün evresi, anatomik lokalizasyonu, histolojik differansiyasyonu ve boyunda metastaz varlığı larenks kanserleri için genel prognostik faktörler olarak değerlendirilirken; özellikle boyun lenf nodu metastazının varlığı kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir. Ancak benzer histopatolojik tanı, grade ve evresi olan tümörlerde dahi farklı tümör davranışları gözlemlenebilmesi bizi farklı prognostik faktörlerin araştırılmasına ve yeni moleküler çalışmaların yapılmasına yönlendirmektedir.

Protein biyomarkerlar (biyobelirteç) ; kanserin erken tanısında ve klinik sonuçların tahmininde yardımcı olabilir. Tümör biyobelirteçleri DNA, mRNA ve proteinler olduğu gibi karbonhidratlar ve metabolitler gibi küçük moleküllerden de oluşabilmektedir. Böyle bir belirteç tek bir molekül veya multipl molekül kombinasyonu şeklinde olabilir. PSA; prostat kanserinde nasıl bir tümör marker kabul ediliyorsa larenks kanserlerinin saptanması için böyle bir tümör belirteçi aranmaktadır. Klinikopatolojik özellikleri aynı olan kişilerin; klinik seyirlerinin ve aynı tedaviye yanıtları farklı olabileceği bilinmektedir. Bu yüzden tümörün biyolojik davranışları için doğru ve değerli belirteçlerin bulunursa tüm kanserlerde olduğu gibi larenks kanserlerinde de yeni tedavi stratejileri önerilecektir.

Bu çalışmada KBB Anabilim Dalı'nda tanı ve tedavisi gerçekleştirilmiş olan larenksin yassı epitel kanserli olgularında cerrahi rezeksiyon spesmenlerinde (tümörlü) immünohistokimyasal boyama yapılarak Ki-67, CerbB-2, E-Kaderin genlerin ekspresyonları araştırılmıştır. Bu çalışmamızdaki amaç larenks kanserli olguların klinikopatolojik değişkenlerden ; nüks ve servikal lenf nodları metastaz riski, uzak metastaz olasılığı ve sağkalım gibi özelliklerle bu belirteçlerin arasındaki korelasyonların ortaya konmasıdır. Böylelikle vücudun belirli kanserlerinde kanıtlanmış önemli belirteçler olan Ki-67, C-erbB-2, E-Kaderin genlerinin larenks kanserlerinde etkisinin ortaya konulmasına çalışılmıştır. Bu araştırmamızın sonuçları gelecekte kullanılacak bir biyobelirteç keşfi için yapılmakta olan çalışmalara temel olarak katkı sunacaktır.

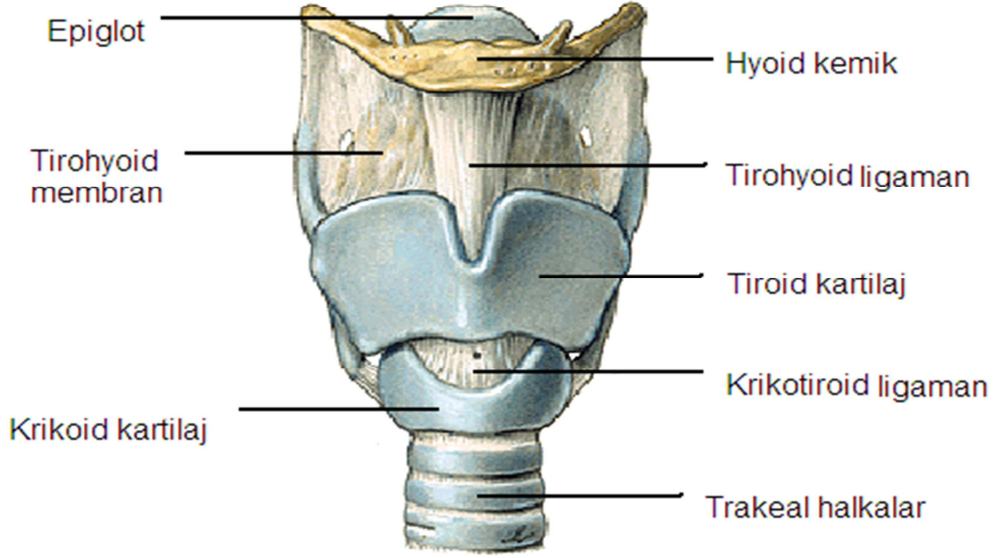
2- GENEL BİLGİLER

2.1. LARENKSİN GENEL ÖZELLİKLERİ

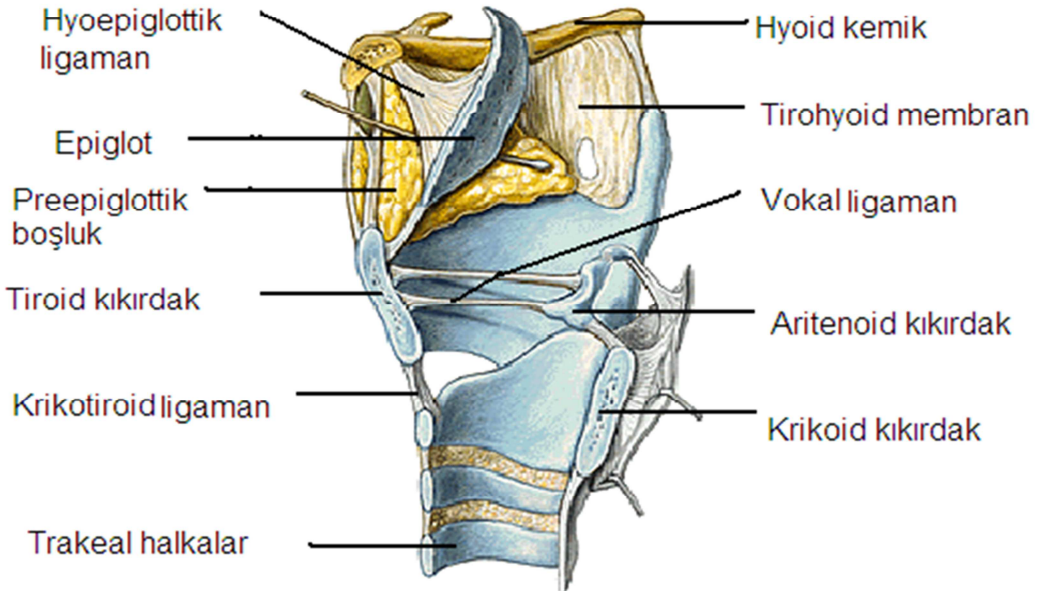
2.2 LARENKSİN ANATOMİSİ

Larenks; kıkırdak, kas ve fibroelastik bağlardan oluşan, dil kökü ile trakea arasında ve yenidoğanlarda servikal 1-4 (C1-C4), erişkinlerde 3-6 (C3-C6) vertebralar seviyesinde yerleşen, havanın trakeaya giriş ve çıkışını kontrol eden, üst solunum yollarının ses oluşturabilen ve yutma sırasında bir sfinkter gibi görev yapan özelleşmiş önemli bir bölümdür. Kadınlarda ve çocuklarda larenks biraz daha yukarıdadır. Larenksin asıl iskeleti üçü tek ve üçü çift olmak

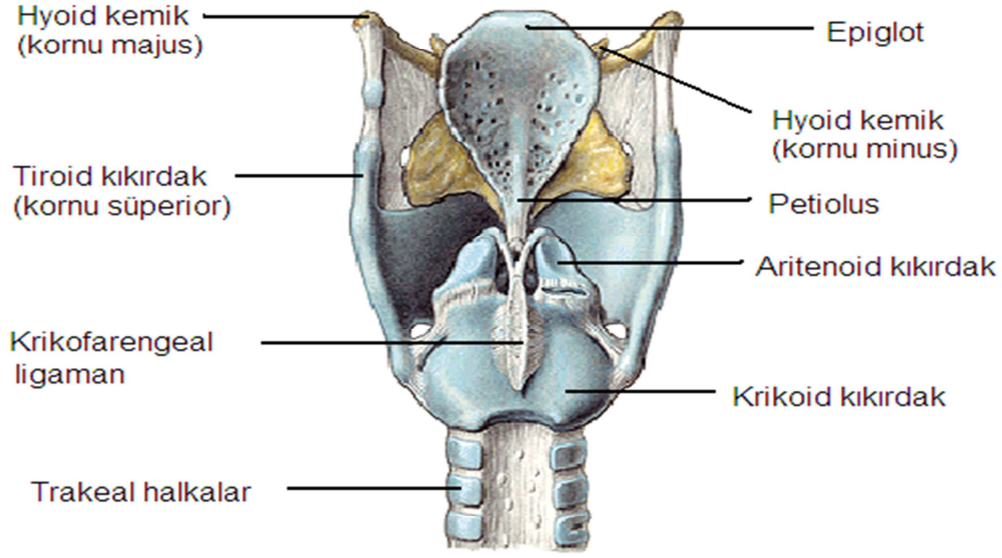
üzere dokuz adet kıkırdaktan oluşur. Tek kıkırdaklar; tiroid, krikoid ve epiglot kıkırdaklardır. Çift kıkırdaklar; aritenoid, kuneiform ve kornikulat kıkırdaklardır. (5,6) (Şekil-1, Şekil-2, Şekil-3).



Şekil 1: Larenksin genel anatomik görünüşü (önden)



Şekil 2: Larenksin genel anatomik görünüşü (yandan)



Şekil 3: Larenksin genel anatomik görünüşü (arkadan)

2.2.1 LARENKSİN KIKIRDAKLARI

Tiroid kıkırdağı: Larenksin en büyük kıkırdağıdır. Dörtgen şeklinde iki laminadan ve bu laminaların arka kısmında yukarıya ve aşağıya doğru uzanan ikişer adet kornu süperior ve kornu inferiordan oluşur. Inferior kornu, krikoid kıkırdak ile eklemleşirken, superior kornu ise bir ligaman ile hyoid kemiğe bağlanır. Tiroid kıkırdağın iç ve dış yüzü, perikondrium ile örtülüdür. Dış perikondrium, iç perikondriyuma göre kıkırdağa daha zayıf yapışmıştır. Dış perikondrium, arka kenarda daha fazla olmak üzere, üst ve alt kenarlara daha sıkıca yapışır. Kıkırdağın iç yüzeyi oldukça düzdür. İç yüzde tiroid çentik ile alt kenar arasındaki mesafenin yaklaşık olarak ortasına denk gelen yerde küçük bir kabartı vardır. Buraya ön kommisür tendonu (Broyle Ligamanı) yapışır. Perikondrium içermeyen bu bölge kanser invazyonu için önemlidir. Epiglotun petiolusu bu noktanın yaklaşık 1 cm kadar üzerine tiroepiglottik ligaman ile yapışır. Tiroid kıkırdağın üst kenarına tirohyoid membran, alt kenarına krikotiroid membran ve ligaman yapışır. Tiroid kartilaj puberte döneminden sonra kemikleşmeye başlar (Şekil-1,2,3) (5-6).

Krikoid kıkırdak: Larenks kıkırdaklarının en sağlam ve kalın olanıdır. Sadece larenksin değil tüm solunum yollarının tam bir halka şeklinde olan tek kıkırdak yapısıdır. Tiroidin altında bulunur (Şekil-1,2,3) (5-6).

Epiglottis: Dil tabanının ve hyoid kemiğin arkasına yerleşen yaprak şeklinde bir kıkırdaktır. Daralarak bir sap şeklini alan alt ucu (petiolus epiglottidis) ligamentum (lig.) tiroepiglottikum ile tiroid kıkırdağının iç yüzüne tutunur. Plika ariepiglottika denilen mukozal kıvrımları epiglottisi yanlarda aritenoid kıkırdaklara bağlar. Hyoid kemige ise lig.hyoepiglottikum ile bağlanır (Şekil-1,2,3) (5-6).

Aritenoid kıkırdak: İki adet olup, krikoid kıkırdağın üst kenarının yan taraflarına piramit şeklinde oturur (Şekil-1,2,3) (5-6).

Kornikulat kıkırdak: Aritenoid kıkırdakların tepesine yerleşen koni şeklinde iki küçük kıkırdaktır (5-6) .

Küneiform kıkırdak: Kornikulat kıkırdağın biraz önünde ve plika ariepiglottikanın içinde yerleşen kıkırdaktır (5-6).

Hyoid Kemik : Tam olarak larenksin bir parçası değildir ancak larengeal fonksiyonlarda yer alır. Preepiglottik mesafenin ön bölümünü oluşturur. Erişkinde hipofarenks ön duvarı ve dil kökünün ön-alt bölümünde tiroid kıkırdağın hemen üzerinde 3. servikal vertebra seviyesinde bulunur. Gövdesinin her iki tarafta kornu majus ve kornu minus olarak adlandırılan boynuzları vardır. Vertikal olarak tirohyoid membran ve superior kornu ile tiroid kıkırdağa tutunur. Suprahyoid ve infrahyoid kaslar arasında asılıdır. Başka kıkırdak veya kemik yapılar ile eklem yapmaz (Şekil-1,2,3) (5-6).

2.2.2.LARENKS EKLEMLERİ ve BAĞLARI

Larenks kıkırdakları birbirlerine sinovyal tipte eklemlerle bağlanırlar.

Krikotiroid eklem: Her iki taraftan geçen transvers bir eksen etrafında krikoid kıkırdak öne ve arkaya rotasyon hareketleri yapar.

Krikoaritenoid eklem: Eklemde iki hareket gerçekleşebilir. İlki aritenoid kıkırdakların vertikal eksen çevresinde yaptıkları rotasyon hareketidir. Böylelikle vokal prosesler içe veya dışa doğru hareket edebilirler. İkincisi kayma

hareketidir. Kayma hareketi aritenoid kıkırdakların hafifçe öne-arkaya ya da içe dışa hareketine izin verir (5-6).

Larenksin Bağları : Larenksin bağları iç ve dış bağlar olmak üzere iki grupta toplanır.

Larenksin Dış Bağları: Tirohyoid membran, Lig. Hyoepiglottikum, Lig. Krikotrakeale (Şekil-1,2,3) (5-6).

Larenksin İç Bağları: Membrana fibroelastica laringis denilen bu yapı larenksin hareketleri bakımından önemlidir. Alt bölümüne konus elasticus denir. Bu membran tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdaklar arasında gerili üçgen şeklinde bir zardır (5-6).

2.2.3 LARENKSİN KASLARI

Larenksin kasları ekstrensek ve intrensek olmak üzere iki grupta incelenirler.

Larenksin Ekstrensek Kasları: Larenksin elevatörleri ve depressörleri olmak üzere iki grupta toplanırlar.

1-Larenksin elevatör ekstrensek kasları: M.digastrikus, m.stilohyoideus, m.milohyoideus ve m.geniohyoideus, m.stilofaringeus, m.salfingofaringeus, m.konstriktor faringis inferior ve palatofaringeus larenksi kaldırır.

2-Larenksin depressör ekstrensek kasları: M.sternohyoideus, m.sternotiroideus ve m.omohyoideus'tur.

Larenksin intrensek kasları: Bu kasların hareketleri rima glottisi, plika vokalisleri ve larenks girişini kontrol eder. M.krikotiroideus (Tensor kas), M.krikoaritenoides posterior (Abdüktör), M.krikoaritenoides lateralis (Addüktör), M.aritenoides transversus, M.aritenoides obliquus, M.tiroaritenoides (5-6).

2.2.4 LARENKSİN DAMARLARI

Larenksin vaskülarizasyonu eksternal karotisin dalı olan superior tiroid arterle, subklavyen arterin tiroservikal arterin dalı olan inferior tiroid arterin larengeal dallarından sağlanır. Superior larengeal arter, superior larengeal sinirle birlikte tirohyoid membranı delerek larenkse girer ve vokal kordların üstünde kalan bölgeyi kanlandırır. Tiroservikal trunkusun dalı inferior tiroid

arterin devamı olan inferior larengeal arter, rekürren sinir ile birlikte trakea ve özefagus arasındaki olukta yukarı doğru ilerler. Rekürren sinir ile birlikte alt konstrüktör kasın derininden geçerek larenkse girer. Vokal kordların serbest kenarlarının altında kalan bölümünü kanlandırır. İki arterin dalları arasında anastomozlar vardır. Venöz drenaj arterlere eşlik eden süperior ve inferior larengeal venler aracılığı ile internal juguler vene ve tiroservikal trunkusa boşalır

2.2.5 LARENKSİN LENFATİKLERİ

Pratik olarak glottik bölgenin lenfatik drenajının olmadığı ya da çok az olduğu kabul edilmektedir. Larengeal lenfatiklerin en yoğun olduğu supraglottik bölgenin lenfatik drenajı tirohyoid membranı geçerek üst ve orta derin servikal zincire doğru olurken; subglottik bölgenin lenfatik drenajı krikotiroid membranı geçerek önce pretrakeal ve prelarengeal (delphian nodülü), buradan da orta derin servikal zincire doğru olmaktadır (7).

2.2.6 LARENKSİN MEMBRAN ve BARIYERLERİ

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, önde tiroid kıkırdağın alt kenarında orta hatta birleşir. Serbest kenarı vokal ligamanı oluşturacak şekilde arkaya doğru ilerler. Üstte arkada vokal proseze 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.

Tirohyoid membran, tiroid kıkırdak üst kenarı ile hyoid 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 (8-10).

2.2.7 LARENKSİN KOMPARTMANLARI

Reinke boşluğu; vokal ligamanın üzerini örten mukoza gevşek olduğu için burada potansiyel bir boşluk vardır. Bu boşluk vokal kord boyunca uzanır. Nonkeratinize yassı epitelin altında yer alan lamina propria'nın en üst tabakasıdır. Gevşek bağ dokusundan oluşur.

Preepiglottik boşluk; üstte hiyoepiglottik ligaman ve vallekula mukozası, önde tirohyoid membran ve tiroid kıkırdak, arkada epiglot ve tiroepiglottik ligaman ile sınırlıdır. Bu boşluk, areolar yağ dokusu, lenf ve kan damarlarını içerir. (Şekil-2)

Paraglottik boşluk; ventriküllerin ve glottik bölgenin 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 tirohyoid membrandan, altta da krikotiroid membrandan larenks dışına yayılabilir. Paraglottik boşluğun arka duvarı sinüs piriformis mukozası ile kaplıdır (8-10).

2.2.7. LARENKSİN NÖROANATOMİSİ

Larenks; N.Vagus'un dalları olan süperior ve inferior larengeal sinirler tarafından inerve edilir. N.Vagus; medulla oblongata'daki nükleus ambiguus ve dorsal motor nükleustan orijin alır. Karotid arter, internal juguler ven, N.Glossofarıngeus ve N.Aksesorius sinirleri ile beraber juguler foramen'den kafa tabanını terk eder. Foramen jugulare içerisindeki sinir genişleyerek ganglion jugulareyi (üst vagal ganglion) yapar. Kafa dışına çıkınca ise ganglion nodosum'a (alt vagal ganglion) girer. Boyunda karotid kılıfı içerisinde karotis arterinin lateralinde seyrederek aşağı iner. Ganglion nodosumun hemen distalinde superior larengeal sinir, vagustan ayrılır. Süperior larengeal sinir ganglion nodosum'un 2 cm altında internal karotid arterin posteriorunda da internal ve eksternal olmak üzere iki dala ayrılır. Tamamen duyuşal bir sinir olan

internal dal, tirohyoid membranı superior laringeal arter ile beraber delerek içeri girer. Larenksin supraglottik bölgesinin sensöriyel innervasyonunu sağlar. Eksternal dal ise larenksin dış yüzünde aşağı doğru ilerleyerek krikotiroid kasın motor innervasyonunu sağlar. İ inferior (Rekürren) laringeal sinirin (RLS) seyri boynun her iki tarafında farklıdır. Sağda A.subklavia ve solda arkus aortayı dönerek yeniden boyuna yükselen bir seyir izlediklerinden rekürren adını alırlar. Sağ RLS subklavian arterin önünde vagustan ayrılır. Subklavian arterin etrafında, önden arkaya doğru ilerler ve ardından trakeözefagial oluk içinde yukarı doğru yönelir. Sol RLS ise, arkus aortayı döner ve arkus aortanın arkasındaki ligamentum arteriosum lateralinde geçer ve trakeözefagial oluğa girer. Tiroid bezinin alt ucunda inferior tiroid arterin dalları arasında ilerler. Genelde sinir arterin derinindedir; ancak çok çeşitli konfigürasyonlara rastlanabilir. Her iki taraftaki RLS, tiroid loblarının posteriorunda trakeaya paralel olarak farenksin alt konstriktör kasının hemen altında krikotiroid eklemde larenkse ulaşır (11).

Supraglottik larenksin duyuşal innervasyonunu superior laringeal sinirin internal dalı tarafından sağlanır. Glottik ve subglottik larenksin duyuşal innervasyonu ile krikotiroid kasın dışındaki larenksin tüm intrinsek kaslarının motor innervasyonu ise RLS tarafından sağlanır (11).

2.2.8. LARENKS BOŞLUĞU (Endolarenks)

Larenks boşluğu farenksle ilişkili olan laringeal girişten, trakea ile devam eden krikoid kıkırdak alt kenarına kadar devam eder. Endolarenkste kenarlardan kaynaklanıp ve iç kısma doğru uzanan sağlı sollu bir çift plika vardır. Üstteki plikalara ventriküler band, alttakine ise vokal kord denir. Vokal kordlar larenksi üç bölgeye ayırır: 1-Supraglottik 2-Glottik 3-Subglottik (7).

2.2.8.1. Supraglottik Bölge

Epiglotun suprahyoid ve infrahyoid bölümleri, preepiglottik bölge, ariepiglottik plikalar, her iki aritenoid, ventriküler band bu bölgede yer alır. Dil kökü ve vallecula ise orofarenkse aittir. Alt sınır olarak ventrikül apeksinden geçen horizontal düzlem kabul edilir (Şekil-4). Supraglottik kanserlerde diğer önemli bir bölge de marjinal zondur. Bu bölgeden gelişen kanserler daha agresiftirler. Bu bölgeye suprahyoid, epiglot ve ariepiglottik plikalar dahildir.

Histolojik olarak supraglottik bölge silyalı yalancı çok katlı kolumnar epitel ile kaplıdır. Sadece epiglotun serbest kenarları ve ariepiglottik plikalar stratifiye yassı epitel ile örtülüdür (7).

Larenksin Girişi (Vestibulum Larenks): Larengeal kavitenin farenkse açıldığı bir boşluktur. Larinksin vestibülü, ventriküler bantlar ile larinksin girişi arasındaki yer olup; yukarıda geniş aşağıda dardır. Bu boşluk önde epiglotun serbest kenarları ile yanlarında aritenoid kıkırdağa uzanan ariepiglottik plikanın serbest kenarları ve arkada aritenoid kıkırdağlar; bunların arasında seyreden aritenoid kaslar ve üzerini örten farengeal mukoza ile sınırlıdır (Şekil-4) (7).

Ventriküler Bandlar (Yalancı Kordlar): Ventriküler bandlar önde epiglotun tiroid kıkırdağa tutunduğu kısım olan petiolun hemen altına, yanlarda tiroid kıkırdağa ve arkada aritenoid kıkırdağın anterolateral yüzüne yapışır. Ventriküler band mukozası çok sayıda seröz ve müköz glandlar içerir. Karşılıklı yaklaştıklarında aralarında rima vestibuli denilen bir açıklık oluşur (Şekil-4) (7).

Ventrikül: Yukarıda ventriküler bant ile aşağıda vokal kordlar arasındaki girintidir. Erkeklerde kadınlara göre çok gelişmiştir. Ön kısmında tiroid kıkırdağın iç yüzeyi ile ventriküler bant arasından yukarı doğru uzanan ve sakkulus (ventriküler appendiks) denilen küçük bir poş vardır. Ventrikül içerisinde, lateralinde yer alan tiroaritenoid kasın kontraksiyonuyla ventrikül mukozasında çok sayıda bulunan müköz bezlerin biriken salgıları vokal kordların yüzeyine boşalır (Şekil-4) (7).

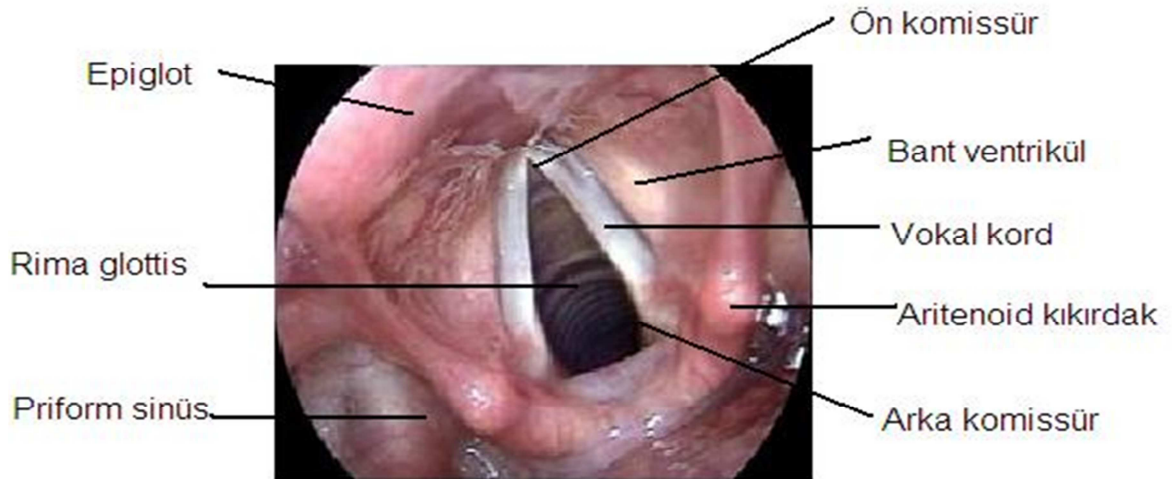
2.2.8.2. Glottik Bölge

Glottik bölge; her iki vokal kordu, anterior ve posterior kommissürleri içerir. Alt sınır ventriküler apeksin 1 cm altından geçen horizontal çizgidir. Histolojik olarak vokal kordlar nonkeratinize stratifiye skuamöz epitel ile örtülüdür (3). Vokal kordlar; tiroid kıkırdağın orta kısmından aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntısına uzanan iki beyaz kıvrımdan oluşur (Şekil-4). Önde tiroid kıkırdağa yapıştığı yer olan ön kommissürde fikse, arka kommissürde aritenoidlerin bulunduğu kısım ise hareketlidirler. Vokal kordu örten çok katlı yassı epitelyum altındaki vokal ligamana sıkıca bağlıdır. Vokal kord ligamanı ise konus elastikus'un üst sınırının kalınlaşmasından oluşur. Arkada aritenoidler arası kısım, interkartilajinöz bölge olarak adlandırılır. Yetişkin erkekte glottisin

ön arka çapı 23 mm, yetişkin bayanda ortalama 17 mm kadardır. Rima glottis (Mizmar aralığı) ise önde plika vokalis'ler, arkada aritenoid kıkırdakların tabanları ile vokal prosesler arasındaki açıklıktır. Larenks'in en dar yeri yetişkinlerde rima glottis'tir. Fakat genişliği ve şekli solunum ve seslenme sırasında değişir. Tam abdüksiyonda en geniş mesafe 8-9 mm dir (Şekil-4) (7).

2.2.8.3. Subglottik Bölge

Glottik bölgenin 1 cm alt sınırından krikoid kartilajın alt kenarına kadar uzanan bölgedir. Primer olarak buradan başlayan tümörler son derece nadirdir, genellikle glottik kanserler bu bölgeye uzanır (7)



Şekil-4 Larenksin videolarenoskopik muayene görüntüsü

2.3 LARENKSİN EMBRİYOLOJİSİ

Larenks ve trakeobronşial ağacın embriyolojik gelişimi 4. haftada median laringotrakeal yarığın şeklinde farenks ventral duvarından başlar. Oluşan yarığın derinleşir ve kenarları bir septum olacak şekilde kaynaşarak laringotrakeal tüpü oluşturur. Kaynaşma kaudalden başlayarak kraniale doğru uzanır ama kranial uçta farenkse açıldığından kaynaşma olmaz. Oluşan tüp respiratuvar epitelin geliştiği endoderm ile kaplanır. Kranial uçtan larenks ve trakea gelişirken,

kaudal uçtan iki lateral çıkıntı oluşarak bronşlar ve sağ ve sol akciğer lobları gelişir (12)

Larenksi döşeyen epitel endoderm kökenli olmasına karşılık, kıkırdak ve kasları ile dördüncü ve altıncı farengeal arkus mezenşim kaynaklıdır. Bu mezenşimin hızla proliferasyonu sonucu, larengeal orifisin görünümü, sagittal bir yarıktan T şeklindeki bir açıklığa dönüşür. Daha sonra bu iki arkusun mezenşimi tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdaklara dönüştüğünde larengeal orifisin karakteristik erişkin yapısı tanınabilir hale gelir (13-14). Larenks kıkırdakları 4. ve 6. farengeal arkustan farklıdır. Kıkırdakların oluşumu sırasında, laringeal epitel de hızla çoğalarak lümenin geçici olarak tıkanmasına neden olur. Larenks rekanalizasyonu 10. hafta civarında gerçekleşir. Vakuolizasyon ve rekanalizasyonun ardından, larengeal ventrikül adı verilen bir çift lateral çukur oluşur. Bu çukurlar, ileride yalancı ve gerçek vokal kordlara farklılaşacak olan doku katlantılarıyla çevrelenmiştir (13-15). Epiglottis 3. ve 4. farengeal arkusların proliferasyonu sonucu gelişen hipobrankial kabarıntıdan farklıdır. Dördüncü brankial ark supraglottik yapılara ve süperior larengeal sinirin innerve ettiği kaslara doğru gelişir. Beşinci ve altıncı arklar glottik ve subglottik yapılara gelişir

2.4 LARENKSİN HİSTOLOJİSİ

Larenksin büyük kısmı yalancı çok katlı silyalı kolumnar özellikteki solunum epiteli ile döşelidir ve bu mukoza trakeayla devamlılık gösterir.

Epiglottisin hem lingual, hem de larengeal yüzü vardır. Lingual yüzün tümü ve laringeal tarafın üst bölümü çok katlı yassı epitelle döşelidir ve az sayıda tat cisimciği içerir. Larengeal yüzün alt bölümü silyalı yalancı çok katlı prizmatik epitele dönüşür. Epitel altında karışık seröz ve müköz bezler vardır (13,14) Epiglottisin altındaki mukoza, larenksin lümenine uzanan iki çift katlantı yapar. Üstteki çift yalancı ses tellerini (vestibüler katlantıları) oluşturur. Bunlar solunum epiteli ile döşelidir ve epitelin altında lamina propria çok sayıda seröz bezler bulunur. Alttaki çift katlantı ise gerçek ses telleridir (vokal katlantılar).

Vokal kord histolojisi: Sadece gerçek vokal kord larenksin vibratuar hareketlerine katılır. Bu yapı ön komissürden aritenoid kıkırdağın vokal prosesine kadar uzanır. Vokal kordlar katmanlı bir yapıdadır. En üstten katmandan en alt katmana doğru:

1. Keratinize olmayan çok katlı yassı epitel.
2. Lamina proprianın yüzeysel tabakası (Reinke boşluğuna uyar ,daha çok amorf madde içerir ve bağ doku liflerinin az sayıda olduğu gevşek yapıdır)
3. Lamina proprianın orta tabakası (çoğunlukla elastik lifler)
4. Lamina proprianın derin tabakası (çoğunlukla kollajen lifler)
5. Lig.vokale
6. Vokalis kası(tiroaritenoid kas) (Şekil-5)



Şekil 5. Çok katlı yassı epitelden (okun üst kısmı), pseudostratifiye silli silindirik epitele (okun alt kısmı) geçiş alanının görüldüğü yüzey epiteli altında duktus yapıları (x) ve sero-mukoz bezler (okbaşı).

2.5 LARENKS KANSERLERİNİN HİSTOPATOLOJİSİ

2.5.1 Prekanseröz Lezyonlar

Keratozis: Basit hiperplazi, epitelyal hiperplazi, skuamöz hiperplazi, lökoplaki olarak da adlandırılır. En sık gerçek kordları ve interaritenoid bölgeyi

tutar. Sigara içenlerde, şarkıcılarda ve sesini çok kullananlarda daha sık görülür. Hastalarda ses kısıklığı şikayeti olur. Larengoskopik muayenede keratotik alanlarda beyaz renkli kalınlaşma görülür. Mikroskopik olarak keratotik lezyonlar hiperplazik epitel ve akantozla karakterizedir. Atipi görülmez. Daha ileri kalınlaşma pakiderma olarak değerlendirilir (16).

Displazi/karsinoma insitu(CIS): Farklı derecelerde hücresel atipi, normal epitelde matürasyon kaybı ve stratifikasyon kaybı ile karakterizedir. Displazi hafif, orta veya şiddetli olarak derecelendirilir. Derecelendirmede nükleer anomaliler ile birlikte maturasyon ve stratifikasyonun kaybolduğu epitel seviyesi gözönüne alınır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün tanımladığı derecelendirme sistemi aşağıdaki gibidir:

1. Hafif Displazi: Nükleer anomaliler hafif olup epitelin 1/3 bazal tabakasına sınırlıdır. Hücrelerin matürasyon ve stratifikasyon gösterdiği üst tabakalarda nükleer anomaliler minimaldir.

2. Orta Derecede Displazi: Nükleer anomaliler hafif displazidekinden daha belirgindir. Nükleoller belirginleşme eğilimindedir. Bu değişiklikler epitel tabakasının 2/3 alt bölümünde görülür. Orta derecede nükleer anomaliler yüzeye kadar çıkabilir. Ancak epitel tabakasının üst kısmında hücresel matürasyon ve stratifikasyon korunmuştur.

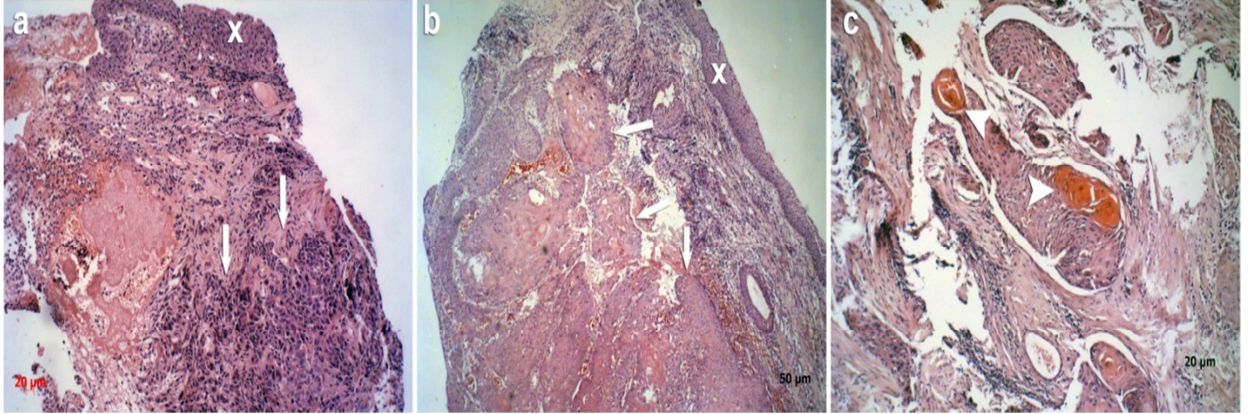
3. Şiddetli Displazi: Nükleer anomaliler ve matürasyon kaybı, epitel tabakasının 2/3'ünden daha fazlasını tutar. Nükleer hiperkromazi ve pleomorfizm belirgindir. Bizar nükleuslu hücreler görülebilir. Nükleoller belirginleşme eğilimindedir. Mitoz vardır ve atipik mitoz izlenebilir. Hücrelerde bir miktar matürasyon ve stratifikasyon varlığı ile karsinoma insitudan ayrılır.

4. Karsinoma insitu: Skuamoz epitelin tam kat tutulduğu lezyonlardır. Stromaya invazyon görülmez. Bazal membran ve lamina propia normaldir. WHO'nun yeni sınıflamasında şiddetli displazi ile CIS ayrı kategorilere alınmıştır. Ancak diğer birçok sınıflamada bu iki durum aynı gruba alınmıştır. Çünkü birbirinden ayırım oldukça zordur. Bu sınıflamaya göre ilk iki kategori

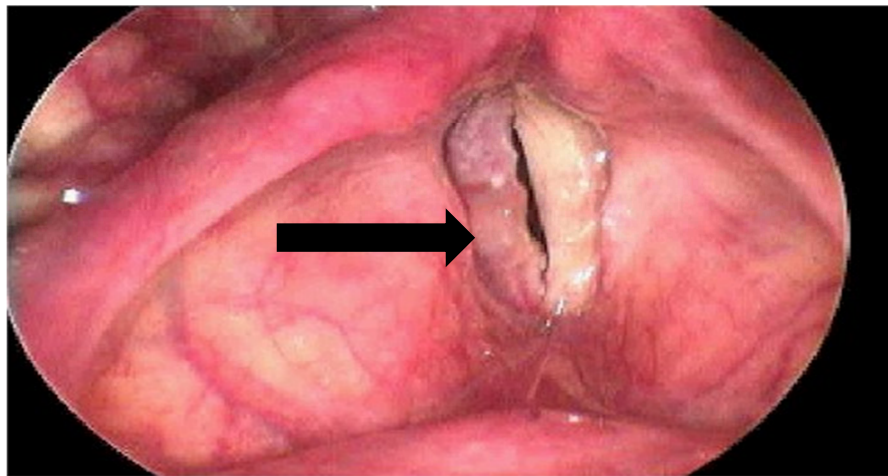
benign, üçüncüsü potansiyel malign, dördüncüsü gerçek malign olarak kabul edilmiştir (16).

2.5.2 İNVAZİV KARSİNOM

-Klasik tip yassı epitel hücreli karsinom: Keratin oluşumu ve/veya interselüler köprülerin varlığı ile karakterize, skuamöz diferansiyasyon gösteren bazal membranı invaze eden bir malign epitelyal tümördür. Gradeleme; iyi, orta, ve kötü diferansiye olmak üzere üç grupta yapılır. Gradelemede hücrel pleomorfizm ve mitotik aktivite esas alınır. Çoğu supraglottik ve glottik yerleşimli olup, iyi veya orta derecede diferansiyedir. Subglottik bölgedeki karsinomlar ise orta veya kötü diferansiyedir (Şekil-6,7) (16).



Şekil-6: a: Az diferansiye skuamöz hücreli karsinom (x:yüzeyi döşeyen çok katlı yassı epitel, ok:tümör adaları, HEx50) b: iyi diferansiye skuamöz hücreli karsinom (x:yüzeyi döşeyen çok katlı yassı epitel, ok:tümör adaları, HEx50) c:iyi diferansiye skuamöz hücreli karsinom (ok başları:infiltrasyon alanında skuamöz epiteli taklit eden keratin inciler içeren tümör adaları, HEx100)



Şekil -7: Sağ vokal kordda larenks karsinomu

- **Mikroinvaziv yassı epitel hücreli karsinom:** Bazal membranın hemen altındaki (lamina propia) alanda seyrek olarak dağılmış hücrelerden veya küçük tümör odaklarından oluşur.

- **Papiller tip yassı epitel hücreli karsinom:** Egzofitik büyüme paterni sergileyen fokal invazyon odağı içeren, yassı epitel hücreli karsinom varyantıdır. Verrüköz karsinomdan sitolojik atipisi ile ayrılır. Sıradan epidermoid karsinom vakalarına göre belirgin derecede HPV ile birliktelik söz konusudur. Prognozu iyidir (16).

-**Verüköz karsinom:** Polipoid görünümlü ve oldukça iyi diferansiye olup yassı epitel hücreli karsinomun nadir görülen bir varyantıdır. Yaygın lokal invazyona rağmen pratik olarak hemen hiç metastaz yapmaz. Ayırıcı tanıda esas olan invazyon varlığıdır ve bu da ancak rezeke edilen materyalin tümünün incelenmesiyle görülebilir. Mitoz nadirdir (16)

2.5.3 LARENKSİN DİĞER TÜMÖRLERİ

-**Küçük hücreli (nöroendokrin) karsinom:** Nadir olup tüm vakaların % 0,5'inden daha azını oluşturur. 6. ve 7. dekatta ağır sigara içicilerde görülür. Küçük, yuvarlak, oval veya içsi hücrelerden oluşur. Mitoz, nekroz ve lenfovasküler invazyon sık görülür. Bölgesel ve uzak metastaz çok sık olup agresif seyredir. Atipik karsinoid/büyük hücreli nöroendokrin karsinomdan ayırımı mutlaka yapılmalıdır (16)

-**Bazaloid karsinom:** Oldukça malign bir laringeal tümördür. Ağır sigara içicilerde daha sık görülür. Hiperkromatik nukleuslu, dar sitoplazmalı, periferik palizatlanma içeren, hiyalinize stromaya sahip hücrelerden oluşur. Nekroz yaygındır. Adenoid kistik karsinomun solid varyantından ayırımı zordur (16).

-**Lenfoepitelyoma-benzeri karsinom** İndiferansiye karsinom benzeri alanlardan oluşur. Sıklıkla servikal lenf nodu metastazı ile birlikte gider. Agresif seyir gösterir (16)

-Adenokarsinom: Adenokarsinomlar çok nadir görülür. Çoğunlukla supraglottik veya infraglottik bölgeye yerleşir (16).

-Sarkomatoid karsinom (İgisi hücreli karsinom, karsinosarkom): Üst solunum ve gastrointestinal sisteme yüksek derecede eğilim gösteren bir tümördür. Polipoid yapılanma gösterir ve larengeal polibe benzerler. Çoğu supraglottik yerleşimlidir. Mikroskopik olarak iki komponentten oluşur. Yassı hücreli karsinom komponenti çoğu zaman belirgin değildir ve belirgin olduğu durumlarda da in situ karsinom odakları tarzında görülür. İgisi hücrelerden oluşan pleomorfik sarkom komponenti ise tümörün büyük bir kısmını oluşturur (16).

-Larenksin tükrük bezi tümörleri: En sık görülen tipi adenoid kistik karsinomdur. Yavaş büyürler ancak sonuçta fataldirler. Bu kategoriye giren diğer neoplaziler, mukoepidermoid karsinom, asinik hücreli karsinom, pleomorfik adenom ve myoepitelyomadır (16).

-Karsinoid tümör: Morfolojik, immünohistokimyasal ve ultrastrüktürel olarak bronşial karsinoidlere benzerlik gösterir. En sık supraglottik bölgeye özellikle de aritenoid kıkırdak ve ariepiglottik folda yerleşir. Prognozu genellikle iyidir. Lenf nodu metastazı ve uzak metastazlar yapması nedeniyle agresif seyreder (16).

-Paraganglioma: Genellikle supraglottik bölgede lokalize olup aynı taraf ariepiglottik folda yayılım gösterir. Çoğu non-fonksiyoneldir. Tanısal açıdan önemli olan S100 proteini ve GFAP ile pozitif immünreaktivite gösterirler.16

-Larenksin Az Görülen Tümörleri: Anjiyosarkom, granüler tümör, myofibromatozis, rabdomyom, rabdomyosarkom, leiomyom, kıkırdak tümörleri, osteosarkom, liposarkom, malign fibröz histiyositom, malign melanom, lenfoid tümörler (16)

2.6 LARENKS TÜMÖRLERİNDE ETYOPATOGENEZ

Bu kanserler için ana risk faktörleri tütün ve alkol kullanımınıdır. Tütün; larenks kanseri için en önemli risk faktörüdür ve ağır içiciler, uzun dönemli içiciler ve kara tütün ya da yüksek katranlı sigara içicileri için bu risk daha yüksektir. Larenks kanserli hastaların yapılan çeşitli çalışmalarda %90 ve üstünün sigara içtiği görülmüştür. Sigara içiminin bırakılmasının ardından 10 yıl içinde risk azalmaktadır. Deneysel çalışmalarda sigara içersinde 55 tane kanserojen madde saptanmıştır. Özellikle tütün içersindeki aromatik heterosiklik radikaller ve epoksitlerin mutajenik içeriğe sahip olduğu saptanmıştır (101). Puro ve pipo içmek de risk oluşturmaktadır. İçmeyi bırakmanın ardından riskte azalma olmaktadır (17). Ağır içicilerin maruz kaldığı risk, sigara içmeyenlere ve çok az içenlere göre on kat fazladır. Alkollü içeceklerin tüketilmesi de baş ve boyun kanseri riskini artırmaktadır. Larenks kanserli hastaların yapılan çeşitli çalışmalarda %75 ve üstünün alkollü içecekleri tükettiği görülmüştür. Fazla riskin tek başına alkol kullanımıyla ilişkili olduğu düşünülmemekte bunun yerine etanolün ara metaboliti olan ve hayvan karsinojeni olarak bilinen asetaldehite maruziyetten kaynaklanmakta olabileceği düşünülmektedir (21). Alkol ve tütünün etkisinin değişik alt bölgelere göre hafif çeşitlilik gösterebileceği düşünülmeyle birlikte her ikisine maruziyetin bileşik etkisi dünya genelindeki tüm baş ve boyun kanserlerinin çoğunluğunu açıklamaktadır. Ayrıca alkol ve tütünün neden olduğu kanserlerin oranı yaşla birlikte düşmektedir. 45 yaş öncesinde tanı konulan kanserlerin oranı % 32'dir. 50 yaş üzerinde ise görülme sıklığı artmaktadır.

Sülfürik asit ve hardal gazı içeren inorganik asit buharları gibi mesleki olarak kullanılan maddeler ya da izopropanol imalatı gibi iş koşulları gibi pek çok faktörün, larenks kanseri için risk faktörü oluşturduğundan şüphelenilmektedir. İşyerlerinde kimyasal karsinojenler arasında asbestoz, nikel bileşikleri ve bazı mineral yağlar kullananlarda larenks kanseri için önemli risk faktörleri arasında gösterilmiştir (18).

İnsan papilloma virüsünün (HPV) bazı baş ve boyun kanserlerinin nedeni olduğu bilinmektedir ve HPV 16 E6'nın rolüne ilişkin çok sayıda hasta vaka-

kontrol deneği çalışmasından sağlam kanıtlar elde edilmiştir. Kanıtlar, esas olarak, esitli HPV işaretleyicilerinin ilişkisini inceleyen çok sayıda geniş kapsamlı epidemiyolojik araştırmalardan gelmektedir (19).

Larenks kanseri gelişiminde rolü olabileceği bildirilen bir başka etken de larengofarengeal reflüdür. Larengofarengeal reflünün önemli bir kofaktör olabileceği düşünülmektedir. Yapılan alışmalarada larenks kanserli hastaların %36-50'sinde özegeal asid reflüsü saptanmıştır (103). Özellikle yağda kıztılarak hazırlanan et, balık ve patatesle beslenmenin larengofarengeal reflüyü artırarak larenks kanseri gelişiminde sigara ve alkolden bağımsız risk faktörü olduğu bildirilmiştir (103). Zeytinyağı ile beslenmenin önleyici rolü mevcuttur. Yeşil sebze ve meyveların içerdikleri karotenler nedeniyle önleyici etkiye sahiptir (19).

2.7 LARENKS TÜMÖRLERİNDE EVRELEME

Tümörün yerleşimini, uzanımını ve metastaz yaptığı alanları tam tarif edebilmek için anatomik yayılımını baz alan ancak kanserin klinik ve biyolojik özelliklerini içermeyen American Joint Committee on Cancer 'in 2002 yılında modifiye etmiş olduğu evreleme kullanılmaktadır.

Primer tümör (T)	
Tx	Tümör değerlendirilemedi
To	Primer tümör yok (klinik, radyolojik ve patolojik tetkikler yapılmış ve tümör bulunamamış)
Tis	Karsinoma in situ

Supraglottik tümör	
T1	Tümör supraglottisin bir alt bölgesine sınırlıdır, vokal kord hareketleri normaldir
T2	Tümör supraglottisin birden fazla alt bölgesinin mukozasını veya glottisi veya supraglottis dışındaki bir bölgeyi (örneğin dil kökü mukozası, vallekula, piriform sinüs medial duvarı) tutmuştur, kord hareketleri normaldir
T3	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 vardır.
T4a	Tümör tiroid kıkırdadı tam kat invaze etmiştir ve/veya larenks dışı dokulara tasmıştır (örneğin trakea, dilin derin ekstrasik kasları, prelarengeal kaslar, tiroid veya özegeus gibi boyun yumusak dokuları)
T4b	Tümör prevertebral alanı invaze etmiştir, karotid arteri çevrelemiştir veya mediastinal yapıları invaze etmiştir

Glottis	
T1	Tümör vokal kordlara sınırlıdır ve kord hareketleri normaldir T1a: Tümör tek bir vokal korddadır. T1b: Her iki vokal korda da tümör mevcuttur.
T2	Tümör supraglottis ve/veya subglottise uzanmakta ve/veya kord hareketleri kısıtlanmaktadır.
T3	Tümör larinks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır ve/veya paraglottik alan invazyonu vardır
T4a	Tümör tiroid kıkırdağı tam kat invaze etmiştir ve/veya larenks dışı dokulara taşmıştır (örneğin trakea, dilin derin ekstrinsik kasları, prelarengeal kaslar, tiroid veya özefagus gibi boyun yumuşak dokuları)
T4b	Tümör prevertebral alanı invaze etmiştir, karotid arteri çevrelemiştir veya mediastinal yapıları invaze.

Subglottis	
T1	Tümör subglottise sınırlıdır
T2	Tümör vokal kordlara uzanmakla birlikte kord hareketleri normal veya kısıtlanmıştır.
T3	Tümör larenks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır.
T4a	Tümör tiroid kıkırdağı tam kat invaze etmiştir ve/veya larenks dışı dokulara taşmıştır (örneğin trakea, dilin derin ekstrinsik kasları, prelarengeal kaslar, tiroid veya özefagus gibi boyun yumuşak dokuları)
T4b	Tümör prevertebral alanı invaze etmiştir, karotid arteri çevrelemiştir veya mediastinal yapıları invaze etmiştir.

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

Uzak metastazlar (M)	
Mx	Uzak metastazlar değerlendirilememektedir
Mo	Uzak metastaz yoktur
M1	Uzak metastaz vardır

Evreleme	
Evre 0	Tis N0 M0
Evre 1	T1 N0 M0
Evre 2	T2 N0 M0
Evre 3	T3 N0 Mo / T1,2,3 N1 M0
Evre 4a	T4a N0 M0 / T4a N1 Mo / T1,2,3,4a N2 M0
Evre 4b	T4b Herhangi N M0 / Herhangi T N3 M0
Evre 4c	Herhangi T / Herhangi N M1

2.8 LARENKS KANSERLERİNDE YAYILIM

Larenks kanseri direkt invazyon, lenfatik, hematojen ve perinöral yollar ile yayılım gösterir. Direk invazyon bölgeleri tümörün başlangıç yerine göre değişiklikler gösterir. Suprahoid 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 gösterirler (6).

Glottik lezyonlar ventrikül yolu ile paraglottik boşluğa, ön komissürden tiroid kıkırdağa ve subglottik bölgeye yayılabilirler (6). Konus elastikus ve kuadrangular membran, tümörün yayılması için bariyer görevi görse de ileri evre tümörlerde köprü görevi görmektedirler. Tümör bir kez bu bariyerleri aştı mı 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 denir. 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.

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 (20).

-Lenfatik Yayılım Larenks kanserlerinde en önemli prognostik faktör boyun metastazıdır (22).

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 çeşitli serilerde gösterilmiştir (22,23). Okkült metastaz oranları %20 ile %50 arasında T evresine göre değişmektedir. En sık tutulan lenf bezi grupları level II, III ve IV seviyedeki 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 (22,33).

Glottik bölge kanserlerinin servikal metastaz yapma riski düşüktür. 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 olur. Ekstensif subglottik veya supraglottik tümör olmadıkça kontralateral ve bilateral metastazlar nadirdir (22).

Subglottik tümörlerde boyun metastazı %20 civarında olmasına rağmen paratrakeal, mediastinal lenf bezi metastazı olabileceği unutulmamalıdır (22).

-Uzak Metastazlar

Larenks kanserli hastada uzak metastazın ilk semptom olması oldukça nadirdir; ama ilk muayene sırasında en sık akciğerlerde olmak üzere %1-5 uzak metastaz saptanmıştır. Larenks kanserli hastalarda yapılan otopsi çalışmalarında %44 uzak metastaz saptanmıştır (22). Uzak metastaz ile T ve N

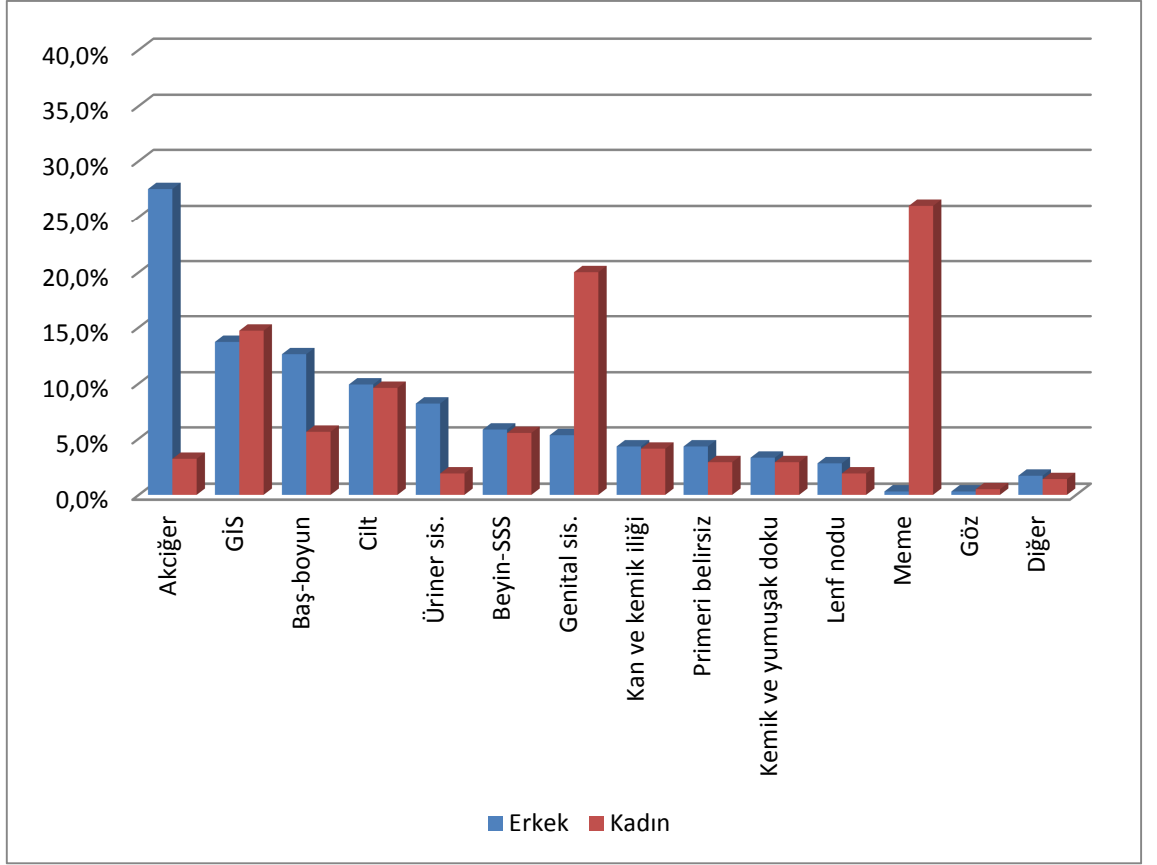
evresinin, diferansiasyon derecesinin ilişkili olduğu gösterilmiştir. N evresinin uzak metastazla ilişkisi T evresinden fazladır. En sık uzak metastaz akciğer ve kemiklere olmaktadır (22).

2.9 LARENKS KANSERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ

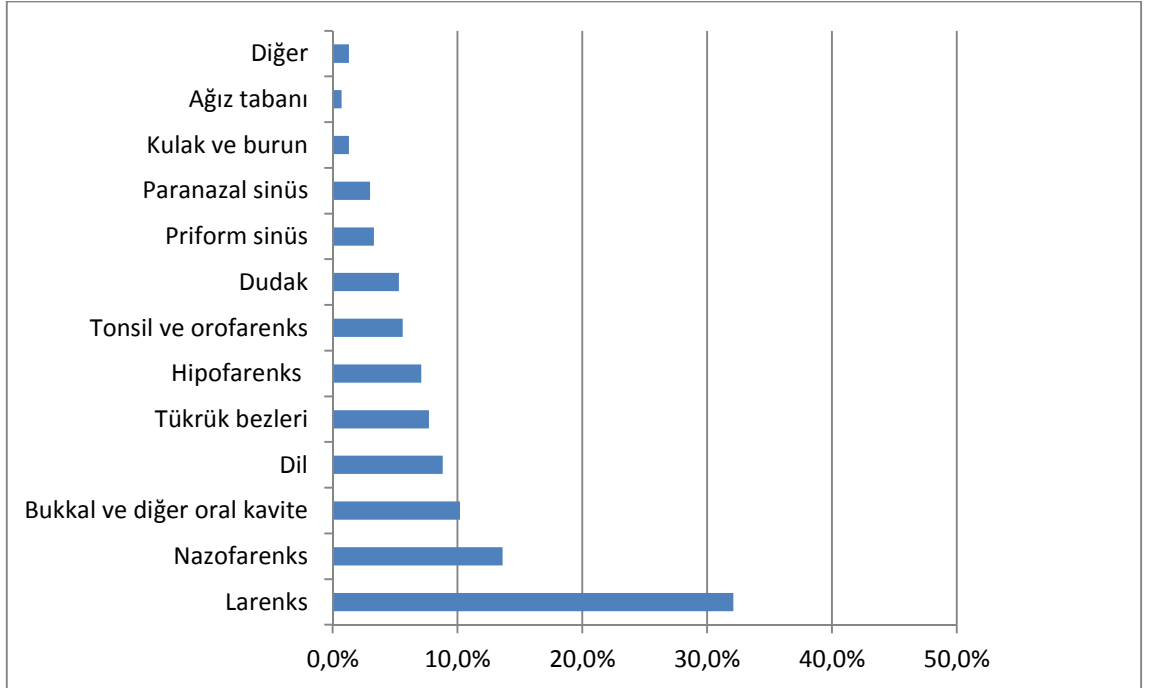
Baş boyun kanserleri dünyadaki tüm kanserlerin %5-10'ini oluşturmaktadır (1,2). Ülkemizde en kapsamlı çalışma Ege Üniversitesi Kanserle Savaş, Uygulama ve Araştırma Merkezinin 1991'de başlatılan İzmir Kanser İnsidansı ve Veri Toplama Projesi" dahilinde Ege Üniversitesi Hastanesi kanser verilerini toplamış ve 1992-2004 yıllarındaki kanser tanısı ile tedavileri yapılan olguların cinsiyet, tümör tipi ve evresinin, yaşam yeri ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Olgular görülme sıklığı açısından değerlendirildiğinde cinsiyete göre kadınlarda baş boyun kanseri 5. (%5,6) olarak görülmekte, erkeklerde ise baş boyun kanserleri 3. (%12,6) sırada görülmektedir (Şekil-8) (23).

Baş boyun kanserleri içerisinde Türkiyede ve dünya genelinde en sık larenks kanseri (%25) görülmektedir.

Ortadoğu Kanser Konsorsiyumunun yaptığı bir çalışmada 1999-2006 yılları arasında Mısır'da 1140 baş boyun kanseri tanısı konulmuş hastanın dağılımında (1) en sık larenks karsinomları (%32,6) görülmüştür (Şekil-9)

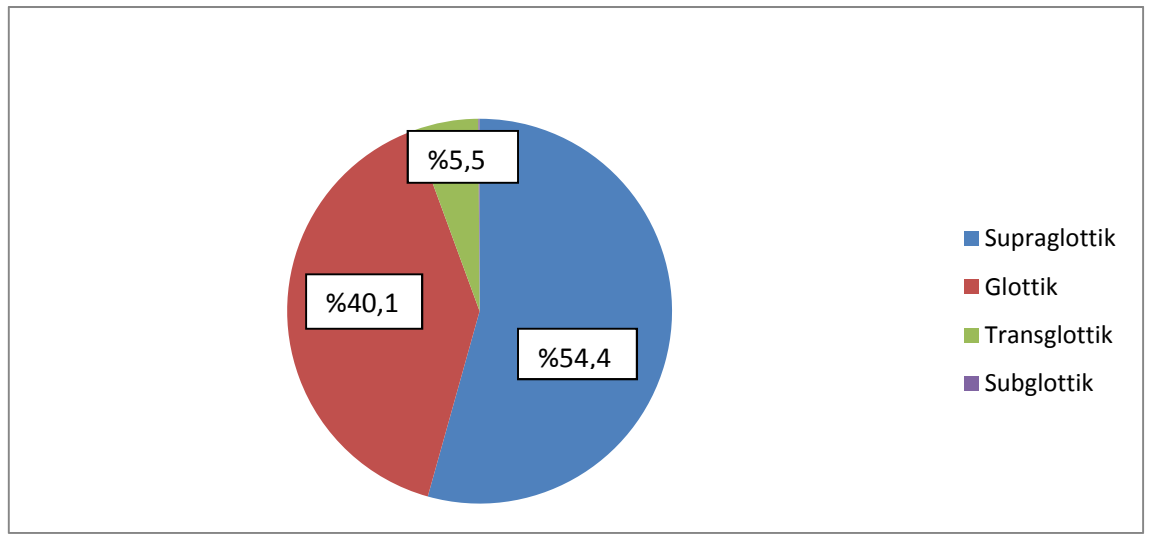


Şekil-8 İnsan vücudunda görülen kanserlerin cinsiyete göre dağılımı



Şekil-9 Baş ve Boyun kanserlerinin dağılımı

Ankara Üniversitesinin 629 larenks kanserli hasta serisinde yerleşim yerine göre %54,4'ü supraglottik kanserler, %40,1'i glottik kanserler , %5,5'i transglottik kanserler oluşturmuştur (24) (Şekil-10). Hastaların takiplerinde 2. bir primer tümör olarak 7 akciğer, 4 bronş, 1 nazal kavite, 1 nazofarenks, 1 kulak ve 1 parotis yassı hücreli karsinoması ve 1 hastada mide adenokarsinoması bulunmuştur. Yani bu verilerde en sık olarak %68,7 ile akciğerde görüldüğü saptanmıştır. Ayrıca bu 16 hastanın 15 tanesinin supraglottik yerleşimli olduğu görülmüştür (24).



Şekil-10 Larenks kanserlerinin anatomik yerine göre dağılımı

Amerikan epidemiyolojik verilerine göre larenks kanseri olgularının %61.7'sinin lokal, %28.4'ünün lokal ileri, %27.2'sinin de metastatik evrede olduğu bildirilmiştir. Ege Üniversitesinde ise olguların %45.8'inin lokal, %43.7'sinin lokal ileri, %10.2'sinin metastatik evrede olduğu belirlenmiştir (25).

2.10 LARENKS KANSERLERİNDE TEDAVİ

2.10.1 TEDAVİDE GENEL PRENSİPLER

Larenks kanserlerinin tedavisinde, cerrahi ve radyoterapi olmak üzere geçerli iki ana tedavi yöntemi mevcuttur (26). Her tedavi yönteminin avantaj ve dezavantajları vardır. Tümörün yayılımı, yeri, evresi, boyun metastazlarının

varlığı, hangi tedavi yöntemi ile en çok kür şansının tanınabileceği, larenks işlevlerinin ne kadar korunabileceği önemlidir.

Tedavi seçimini etkileyen hastayla ilgili faktörler; hastanın yaşı, iş durumu, mental durumu, genel sağlık durumu, hastanın istekleri, mesleğinde sesini kullanması, kardiopulmoner durumudur (egzersiz toleransı, solunum fonksiyon testleri). İdeal yaklaşım şekli; Kulak Burun Boğaz, Radyasyon Onkolojisi, Medikal Onkoloji, Radyoloji, Patoloji uzmanlarının katılımıyla, multidisipliner olarak her hastanın ayrı olarak değerlendirilmesi ve tedavi yönteminin belirlenmesidir.

2.10.2 CERRAHİ TEDAVİ

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

A) Primer Tümörün Rezeksiyonu (Larenjektomiler)

Genel olarak parsiyel ve total larenjektomiler olarak ikiye ayrılabilir.

1) Parsiyel larenjektomiler: Kendi içinde konservatif ve nonkonservatif tedaviler olarak ikiye ayrılabilir.

a) Konservatif parsiyel larenjektomiler: Larenksin üç ana fonksiyonun (fonasyon, solunum ve sfinkter) da korunduğu tedaviler olup bunlarda yine kendi arasında ikiye ayrılabilirler.

-Endoskopik rezeksiyon: Soğuk aletlerle ve CO2 laser kullanımı ile yapılmaktadır. Erken evre glottik ve supraglottik kanserlerde etkin bir rezeksiyon sağlamaktadır (34).

-Açık teknikler: Vertikal, horizontal veya her iki planda da rezeksiyon olanağı veren teknikler olup laringofissür kordektomi, vertikal hemilarenjektomi, frontolateral hemilarenjektomi, frontal anterior hemilarenjektomi, 3/4 larenjektomi, horizontal glottektomi, supraglottik larenjektomi (SGL), suprakrikoid larenjektomi (SCL) bu grup içinde değerlendirilmektedir (35).

b) Non konservatif parsiyel larenjektomi: Larenksin fonasyon ve sfinkter fonksiyonlarının korunduğu ancak ağız solunumunun korunamaması

nedeniyle hastada kalıcı trakeostomi bırakılan near total larenjektomi (NTL) bu bölümde yer alır (35-37).

2) Total larenjektomi: Tüm larenksin, hiyoid kemiğin, üst trakeal halkaların ve sıklıkla prelarengeal adelelerin de rezekte edildiği ve kalıcı trakeostomiye de içeren cerrahi tedavi yöntemidir. İleri evre larenks kanserlerinde öngörülen tedavi yöntemi total larenjektomidir (35-37).

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

Larenks kanserlerinde N(+) olgularda terapötik, N(-) olgularda profilaktik amaçlı olarak boyun disseksiyonları uygulanmaktadır. Yapılış şekline göre boyun disseksiyonları kapsamlı ve seçici olabilir (38). 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 kanserlerde 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.

2.10.3 RADYOTERAPİ

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 kombine olarak 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 (28).

2.10.4 KEMOTERAPİ

Larenks kanserlerinde kemoterapi bugün için tek başına küratif değildir. Uzak metastazlı olgularda tek seçenek olarak kalabilir. En sık kullanılan kombinasyon Cisplatin+5-Fluorouracil'dir. Organ koruyucu protokoller ile gündeme gelen neoadjuvan kemoterapi ile primer tümörün önemli oranlarda küçüldüğü tespit edilmekle beraber, bu uygulamanın sağkalıma ek bir katkısı henüz gösterilememiştir (28).

2.11 LARENKS KANSERLERİNDE PROGNOZ, PROGNOSTİK ve PREDİKTİF FAKTÖRLER

2.11.1 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 (105-106). Erken evre supraglottik tümörlerde 5 yıllık yaşam oranı %84-89 arasında değişmektedir (107-108). İleri evre (T3-T4) glottik tümörlerde 5 yıllık yaşam oranı %72-81 arasında değişmektedir (109). İleri evre supraglottik tümörlerde 5 yıllık yaşam oranı %64-74 arasında değişmektedir (110). Subglottik kanserlerde ise 5 yıllık yaşam oranı %42-70 arasında değişmektedir (111).

2.11.2 PROGNOSTİK FAKTÖRLER ve PREDİKTİF 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 sınırlarının durumu, lenf nodülü metastazı ve uzak metastazlardır.

Tüm kanserlerde olduğu gibi baş boyun kanserlerde de önemli prediktif faktörler mevcuttur. Bu prediktif faktörler tedavi öncesinde hastalığın evriminin, daha erken evrelerde tanısının bulunmasına yardımcı olur. Tedavi protokolünün bu faktörlere göre uygulanmasıyla hastanın tedavi sonucunu ve sağkalımı için daha iyi sonuçlar verecektir. Mevcut onkolojik ve biyogenetik çalışmalar sonucunda prediktif faktörler şöyle sıralabilir:

-Tümör ile ilgili faktörler: TNM evresi ve tümörün uzanımı

-Histopatolojik faktörler: Hücresel diferansiyasyon, mitotik aktivite, vasküler invazyon, kapsüler invazyon, peritümöral infiltrasyon, servikal lenf nodu metastazı

-Biyolojik faktörler: P53 modifikasyonları, KI-67 nükleer antijeni, Bcl-2 protoonkogeni, EGFR ve VEGF gibi büyüme faktörler...vb

2.12 LARENKS KANSERİNİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

Kanser; kendini göstermesi, gelişimi ve sonuçları açısından bir hastadan diğerine çok değişken olan karmaşık bir hastalıktır. Aynı heterojenlik ve çeşitlilik hücresel 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 geçirdikleri 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

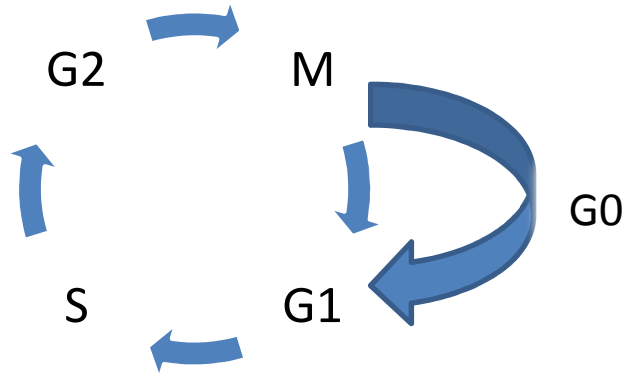
kitlenin oluşumuna neden olur. Böylesi bir kitle uzun bir süre asemptomatik olabilir. Bununla birlikte sonunda büyüyerek fizyolojik işlevleri altüst edecek, kitlenin yerine ve büyüklüğüne bağlı olarak çok sayıda semptom ve kanser hücrelerinin organizma içinde yayılmasına yol açacaktır (29-32) (Şekil-12).

2.12.1 NORMAL ve KANSERLİ HÜCRE BİYOLOJİSİ

A. Normal hücre çoğalmasının bazı özellikleri

Normal dokularda çoğalan hücre sayısı organizmanın ihtiyaçlarının bir fonksiyonudur. Azalmış hücre çoğalması veya artmış ölüm hızı herhangi bir aşırı artışı önler.

1- Hücre siklusu Hücrenin kendine benzer iki hücreye çoğalması (replikasyonu) dış uyarılar sonucu biyokimyasal olarak başlatılan bir seri fazlardan geçer ve hem dış hem de iç büyüme faktörleri tarafından düzenlenir. Bazı onkogenler ve hücre siklusuna özgü proteinler hücre siklusu boyunca senkronize bir şekilde aktifleştirilir ve ardından inaktifleştirilirler (29) (Şekil 11).



Şekil-11 Hücre siklusu

- G0 fazında (istirahat fazı)**, hücreler genellikle spesifik bir işlevi görmek üzere programlanırlar.
- G1 fazında (ara faz, interfaz)**, spesifik hücre fonksiyonları için gereken proteinler ve RNA sentezlenir. Geç G1 fazında bol miktarda RNA sentezlenir. Ayrıca DNA sentezi için gereken birçok enzim üretilir.
- S fazında (DNA sentezi fazı)** hücre içindeki DNA'nın miktarı ikiye katlanır.
- G2 fazında** DNA sentezi durur, protein ve RNA sentezi devam eder, mitotik "spindle"ların mikrotübüler prekürsörleri üretilir.

e. M fazında (mitozis) protein ve RNA sentez hızı aniden yavaşlar, genetik materyal oluşan iki yeni hücreye dağılır. Mitozisi takiben oluşan yeni hücreler ya G0 ya da G1 fazına girerler.

2. Siklinler: Bunlar hücre siklusunun çeşitli fazlarını aktive eden spesifik proteinlerdir. Bölünme yeteneğine sahip çoğu normal hücre büyüme faktörleri, bazı hormonlar ve hücre yüzey reseptörlerini etkileyen antijen-histokompatibilite kompleksleri gibi dış uyarılara karşı yanıt olarak bölünür. Bu hücre yüzey reseptörleri alınan sinyali iletir ve hücre bölünür. Tirozin kinazlar hücre dışı büyüme faktörlerinden nukleusa kadar olan bir kaskad (arka arkaya gelen bir dizi süreç) şeklinde ilerleyen proliferatif sinyal sürecinin çok önemli bir parçasıdır. Siklinler; kendilerine spesifik olan ve siklin-bağımlı kinazlar olarak adlandırılan tirozin kinazlarla kombine olurlar, onları aktifleştirirler ve etkilerini düzenlerler. Hücre siklusunda çeşitli fazlarda çeşitli siklinler sentezlenir ve düzeyleri senkronize bir şekilde siklusun çeşitli fazları boyunca azalır ya da artar (29-32).

3. Hücre siklusunu kontrol noktaları (“checkpoints”): Çoğalma kapasitesine sahip hücreler siklusun belirli noktalarında dururlar. Bunların en önemlileri, ilki DNA sentezinden hemen önce ve ikincisi mitozisten hemen öncedir. Bu histolojik olarak dinlenme periodları olasılıkla siklin bağımlı kinazların ve tümör supressor proteinlerin aktivitelerinin azalmasıyla gerçekleşir. Gerçekte bu fazdaki hücreler hücre siklusunun bir sonraki fazına girecek proteinleri sentezlediklerinden biyokimyasal olarak aktiftirler. Bu geçiş (kontrol) noktalarında varsa genetik defektler düzeltilir. Sonuç olarak hücre siklusunu boyunca ilerlerken iki kontrol noktasında durur ve kontrol edilmiş olur (29)

a. Normal hücreler DNA sekansında oluşan hataları saptayan mekanizmalara sahiptirler. DNA hasarlandığı zaman bir grup tamir mekanizması hasarlı nükleotidleri normal moleküllerle değiştirir. Bu mekanizmalar oluşan iki yeni hücredeki genetik materyalin ana hücredeki materyalle kesinlikle aynı olmasını sağlarlar (30-32).

b. İlk kontrol noktası geç G1 fazında, S fazına girmeden hemen önce gelir. DNA sentezi için uygun ekstrasellüler sinyaller ve tüm mekanizma işler durumda olsa bile hücrenin G1 fazını terketmeden önce DNA'nın doğru

(hasarsız) bir durumda olması gerekir. Eğer herhangi bir lezyon saptanırsa hücreler ya hasarı onarır ya da apoptozise giderek ölürlür (29).

c. İkinci kontrol noktası hücreler M (mitozis) fazına girmeden hemen önce gelir. Hücre siklusu inhibitörleri; hücreyi yeni oluşacak hücrelerin doğru genetik kopyaya sahip olacaklarından emin oluncaya kadar durdurur. DNA replikasyonu tamamıyla ve doğru şekilde tamamlanamamışsa veya beraberindeki tüm proteinler, iplikçik materyalleri ve mitozisin tamamlanması için gerekli diğer tüm maddeler eksiksiz olarak tamamlanmamışsa hücre bu kontrol noktasında herşey başarıyla düzenleninceye kadar durur ve ardından M fazına girer (29).

4. Normal hücre popülasyonunun küçük bir miktarı ölümsüz (sınırsız sayıda çoğalabilen, "immortal") hücrelerdir. Bu hücreler organizmanın diğer kısımlarından gelen sinyallerin etkisiyle kendilerini yenileme ve ayrıca olgunlaşan ve organizmanın gerekli fonksiyonlarını görmek üzere diferansiye olabilen yeni hücreler oluşturma yeteneğine sahiptirler. Sadece birkaç doku tipi diferansiye olabilmesine rağmen, çoğu hücre tipi diferansiye olurken "vitality"lerini kaybederler, yaşlanıp istirahat "senescence" fazına girerler ve sonunda ölürlür. Ökaryotlarda aşağıdaki gibi 4 hücre popülasyonu bulunur.

a. Germ hücreleri. Sınırsız sayıda çoğalabilme yetenekleri vardır. Bunun nedeni olasılıkla mayozisle bölünmeleridir. Kanseri hücrelerinin aksine bu hücreler ölümsüz hücre dizisi oluşturmak üzere mayoz bölünmeye girmelidirler.

b. Stem (kök) hücreleri. İki işlevleri vardır. Birincisi, tekrar oluşmak (çoğalmak). İkincisi ise diferansiye olmak ve böylece organizma için gerekli özgün işlevleri yerine getirmek. Kanseri hücrelerinin aksine, bu hücrelerin tekrar oluşmak üzere girdikleri siklus sayısı sınırlıdır.

c. Kısmen diferansiye olmuş hücreler. Bunlar da sınırlı sayıda çoğalma kapasitesine sahiptir ve kendilerinden oluşan yeni hücreler sonunda tam diferansiye ve çoğalma yeteneği olmayan hücreler haline gelirler.

5. Diferansiyasyon immortalite (ölümsüzleşme) ile ters ilişkilidir. İmmortal kanser hücresi dizilerinin aksine, diferansiye olmuş normal hücreler, hücrelerin ne sayıda bölündüğünü sayan biyolojik bir saate sahiptir. Belli bir sayıya ulaşıldığında hücre artık daha fazla bölünemez (29).

2.12.2 KANSER HÜCRELERİNİN BAZI EŞSİZ ÖZELLİKLERİ

1. Klonal orijin: Çoğu kanser hücresi tek bir anormal hücreden doğar. Bazı kanserler birden fazla sayıda malign klonlardan doğar. Bu klonlar ya bir saha hasarı “field defect” sonucu (dokunun birden fazla sayıda hücresi karsinogene maruz kalmasıyla) ya da bazı genlerdeki kalıtsal defektler sonucu oluşurlar (29).

2. İmmortalite: Çoğu normal hücrenin bölünme sayısı sınırlıdır. Kanser hücreleri ise sınırsız sayıda bölünürler (çoğalırlar) ve bitmez tükenmez miktarda hücre oluştururlar. İmmortalitenin mekanizmalarından biri kromozom uçları olan telomerlerdir. Hücre diferansiye olurken çoğu normal hücre tipinde telomerler gittikçe kısalır. Fakat kanser hücrelerinde ve stem hücrelerde telomerler telomeraz enziminin etkisiyle yenilenirler. Bu enzim normal olarak hücreler diferansiye olurken bir taraftan programlı bir şekilde gittikçe azalır. Tamamıyla diferansiye olmuş bir hücre istirahat “senescent” durumuna girer ve sonunda çoğalma kapasitesini yitirdiğinden ölür. Oysa birçok kanser tipinde telomeraz etkinliğini sürdürür veya aktive edilir. Sonuçta telomerlerin uzunluğu sabit kalır ve hücre sınırsız sayıda çoğalır (immortal kalır) (29).

3. Genetik instabilite. Bu durum DNA tamirindeki ve DNA yanlış eşleşmelerini (mismatche) tanımadaki defektlerden dolayıdır ve kanser hücrelerinin heterojen olmasına yol açar. Kanser hücreleri proliferasyon kontrol mekanizmalarına gittikçe daha az yanıt veren klonlar oluştururlar. Bu klonların ayrıca yabancı ortamlarda yaşama yeteneği de gittikçe artar ve böylece metastaz yaparlar (29).

4. Kontakt inhibisyonun ve substratuma tutunarak büyüme özelliklerinin kaybı. Kültür ortamında büyüyen normal hücreler; hücrelerin normalde yapıştığı substratuma yapışamazlarsa bölünemezler. Normal hücreler çoğalıp üzerinde büyüdükleri tüm yüzeyi tek tabaka halinde (“monolayer”) doldurduklarında (konfluent hale geldiklerinde) da bölünme özelliklerini kaybederler. Hatta besiyerleri bölünmeleri için gerekli tüm büyüme faktörleri ve diğer besin elemanlarını (nütrientleri) ihtiva etse bile bölünmezler. Kanser hücreleri ise, yarıkatı bir besiyerinde substratuma yapışmaya gereksinim

duymadan bağımsız olarak bölünmeye (büyümeye) devam edebilirler. Hatta hücre kültürlerinde birden fazla tabaka oluşsa bile büyüme devam edebilirler

5. Proliferasyonun büyüme faktörlerinden ve nütrientlerden bağımsız olarak devamlı artışı. Bu durum kültür ortamındaki kanser hücrelerinin bir özelliğidir. Kanser hücreleri beslenmeleri için gerekli besin faktörlerini tüketmelerine rağmen büyüme devam ettiklerinden aslında kendi kendilerini öldürmektedirler.

6. Metastaz Benign tümörlerde veya normal hücrelerde bulunmayan bir özelliktir. Metastaz; ekstrasellüler matrikse yapışmaktan sorumlu hücrel proteinlerin kaybı anormalliklerinden, hücreler arası interaksiyonun bozukluğundan ,hücrelerin bazal membrana tutunmalarındaki anormalliklerden, bazal membranın üretimindeki anormalliklerden, metaloproteaz gibi bazı enzimlerle (kollejenazlar) bazal membranın yıkılmasından dolayı gerçekleşir

2.12.3 AŞIRI KANSER HÜCRESİ ÜRETİMİNİN NEDENİ

A. ANORMAL HÜCRELERİN APOPTOSİZE GİDEMEMESİ

Apoptozis, programlı hücre ölümü demektir.

1. Apoptozis anormal DNA'lı hücreleri yok eder. Anormal DNA'lı hücreler ya tamiri olanaksız DNA hasarı oluşmuş ya da yanlış, eksik veya gereksiz olarak fazla transkrip olmuş DNA'dan dolayı oluşur. Buradaki apoptozis, belli bir tür için gerekli kromozom sayısının uygun miktarda devam ettirilmesinde ve anoploidinin önlenmesinde ana mekanizmadır. Böylece DNA'sını sadece doğru bir şekilde ve tam olarak replike etmiş hücrelerin mitozise girmesi sağlanır (29-33).

2. Apoptozis normal doku kaybından sorumludur. Apoptozis yaşlanmış ve yararsız hale gelen normal hücrelerin ortamdaki yok edilmelerini (eliminasyonlarını) sağlar. Apoptozis organizmanın kendi dokularını tanıyan T hücrelerinin eliminasyonunda da rol alır. Böylece bu hücrelerin organizmaya karşı immun atağı önlenir (29,33).

3. Apoptotik hücreler mikroskopik olarak tanınabilir. Bu hücrelerde intrasellüler organeller biraraya toplanırlar. Nükleus yoğunlaşır (kondens hale

gelir) ve fragmanlara ayrılır. Hücreler apoptotik cisimciklere ayrıldığında, bu cisimcikler fagositozla komşu hücreler ya da makrofajlar tarafından alınırlar. Nekrozisin tersine, apoptozis inflamatuvar reaksiyona yol açmaz. Apoptozisde evrim sürecinde korunan bazı spesifik proteinlerin sentezi gerçekleşir (29 ,33).

Kanser hücrelerinde apoptosiz mekanizması bozuk olduğundan anormal kanser hücreleri çoğalmaya devam edecektir.

B. Hücre proliferasyonunu anormal şekilde uyaran genetik bozukluklar

Genetik değişiklikler kanserin kösetaşlarıdır. İnsan genomunun bütününün diziliminin belirlenmesi, kanserlerdeki genetik değişimlerin şimdiye dek görülmemiş ayrıntılarla tanımlanabilmesini mümkün kılmıştır. İnsan kanserlerinde 300 kadar farklı genin aynı sıklıkla mutasyon geçirdiği gösterilmiştir. Bu katalog içerisinde 20-30 kadar gen hemen hemen tüm kanser çeşitlerinde sık sık mutasyona uğrar görünmektedir. Bu genler, hücre bölünmesinin kontrolü için gerekli çok temel işlevleri kontrol eden “ana genler” olarak görülebilir. Bu genler sayesinde kanser hücreleri eşsiz büyümelerine devam etmektedirler.

Kanser hücrelerindeki mutasyonların saptanmasının araştırma ve terapi açılarından bir çok potansiyel yararı bulunmaktadır. Birincisi, mutasyonlar kanserin evrimi ve prognoz hakkında bilgi sağlarlar. İkincisi, kansere katkıda bulunan ilk mutasyonlar tanım gereği bir lezyonun gelişmesi öncesinde oluşur. Dolayısıyla bu mutasyonların saptanması kanserde erken tanıya yardımcı olabilir. Son olarak bazı durumlarda mutasyonlar terapötik yanıtların iyi birer göstergesidir ve başarı şansı daha yüksek terapilerin seçilmesine yardımcı olabilirler.

Birçok kanserde hücreler normal hücrelere kıyasla çok daha yüksek bir oranda mutasyon biriktirirler, bu özelliğe “Mutasyoncu Fenotip” adı verilir. Dönüşüme uğramış bu özelliğinin kanser gelişiminin yanı sıra kanser tedavilerine karşı direncin gelişmesinde önemli olduğu düşünülmektedir (33) (Şekil-12)



Şekil-12 Kanser hücrelerinin oluşumunu sağlayan faktörler

2.13 BİYOMARKERLAR (BELİRTEÇLER)

Kanser gelişimi sırasında hem hüresel morfoloji hem de moleküler karakterler değişir. Bu değişiklikler biyomarkerlerin yardımıyla hassas olarak fark edilebilir, tekil kanserler erken yakalanabilir ve iyileştirebilir. Biyomarkerler, karsinogenesis 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.

2.13.1 Biyomarker Arayışı

Genlerin ve proteinlerin keşfedilmesini hızlandırmak için yüksek hacimli teknolojilerin geliştirilmesinde çok büyük bir ilerleme kaydedilmiştir. Fakat şu andaki sorun hastalığın daha erken bir göstergesi olabilecek ve kestirim kapasitesi mevcut klinik yöntemlere göre daha güvenilir ve kesin olan biyomarkerlerin tanımlanmasıdır. Bileşenlerin görülmemiş bir hızla envanterlerinin çıkarılması için araçları sağlayan teknolojiler, serumdaki farklı tip proteinler konusundaki bilgileri artırmış ve kansere tanı konmasına yönelik yeni teknolojilerin yolunu açmıştır.

Kanser biyomarker testleri bağlamında bir biyomarker'ın duyarlılığı, biyomarker için pozitif çıkan vaka öznelerinin (hastalığı teyit edilmiş olan

bireyler) oranına atıfta bulunmaktadır. Seçicilik (özgüllük) biyomarker için negatif çıkan kontrol öznelerinin (hasta olmayan bireyler) oranına atıfta bulunmaktadır. İdeal bir biyomarker testinin duyarlılığı ve seçiciliği %100 olacaktır. Yani; kanserli olan her bireyin testi pozitif, kanser olmayan her bireyin testi negatif olacaktır. Duyarlılık ne kadar düşükse, kanserli bireylerin saptanamama sıklığı o kadar fazla olur. Seçicilik ne kadar düşükse kanser olmayan bireylerin testinin pozitif çıkması sıklığı o kadar fazla olur. Şu andaki mevcut biyomarker'ların hiçbiri %100 seçiciliğe ve duyarlılığa erişememiştir. Örneğin prostat kanserinin tanımlanmasında en iyi serum biyomarkerı olan prostata özgü antijenin (PSA) duyarlılığı yüksek (%90'dan fazla) fakat seçiciliği düşüktür (yaklaşık %25); bu da saptanabilir bir prostat kanseri olmayan erkeklere biyopsi yapılması sonucunu vermektedir (142-143). Meme kanserine yönelik serum tümör biyomarker CA15.3'ün duyarlılığı sadece %23 ve seçiciliği %69'dur ve sadece ileri meme kanseri ya da tekrarlamasına yönelik terapilerin izlenmesinde yararlıdır (144).

Herhangi bir kanser türü için aday biyomarker'lar bir kez tanımlandıktan sonra erken yakalama, tanı ya da prognoz gibi hedeflenen klinik amaca ulaşabileceğini doğrulamak için numune referans kümelerine tabi tutulur. Hedeflenen amaç için önceden belirlenen kriterler karşılanıyorsa, markerlar bir sonraki aşamaya geçerler ve seçiciliğini yükseltmeye yönelik çalışmalar yapılır.

2.13.2 Gelecekteki Yönelimler

Tek bir biyomarkerın erken yakalamada yararlı olabilecek kadar duyarlılığı ve seçiciliği olmayabileceği için, muhtemelen tek bir tanısal markerdan daha iyi sonuç verecek şekilde marker'ların çoğullanmasına ilgi duyulmaktadır (yani eş zamanlı kullanılmak üzere bir markerlar paneli oluşturulması). Bazı biyomarker'ların tek bir platformda analizine olanak sağlayan esnek teknoloji platformları geliştirmektedir. Bu çoğul platformlar bir protein ya da nükleik asit biyomarker'ları panelini eşzamanlı olarak analiz etmek üzere tasarlanmaktadır. Bu çoğullama yaklaşımı numunelerin zaman alan elle işlenmesi sorununu ortadan kaldırmakta, analizlerin daha hızlı daha verimli ve daha kolay yapılmasını sağlamakta ve gerçek zamanlı veri eldesine ve etkili numune karşılaştırmasına olanak sağlamaktadır.

2.14 KANSERDE YER ALAN GENLERİN GRUPLANDIRILMASI

Kanserde yer alan genler üç temel alt gruba ayrılmaktadır. Onkogenler, tümör süpresör genler ve diğerleri.

2.14.1 ONKOGENLER

Onkogen; fonksiyon veya ekspresyon değişimiyle hücre bölünmesi ve proliferasyonun anormal stimülasyonuna yol açan bir mutant bir gen dir. Aktive edici mutasyon; onkogenin kendisinde, onun regülatuar elementlerinde ya da onkogen ürünün regüle edilemeyen fonksiyonuna veya artmış ekspresyonuna neden olan onkogenin genomik kopya sayısındadır. Onkogenler hücre sel seviyede dominant etkiye sahiptirler; yani aktive edildiklerinde veya ekspresyonları artığında tek bir mutant alel bir hücreyi normalden malign fenotipe dönüştürmeye yetebilir (40,41). (Tablo-1)

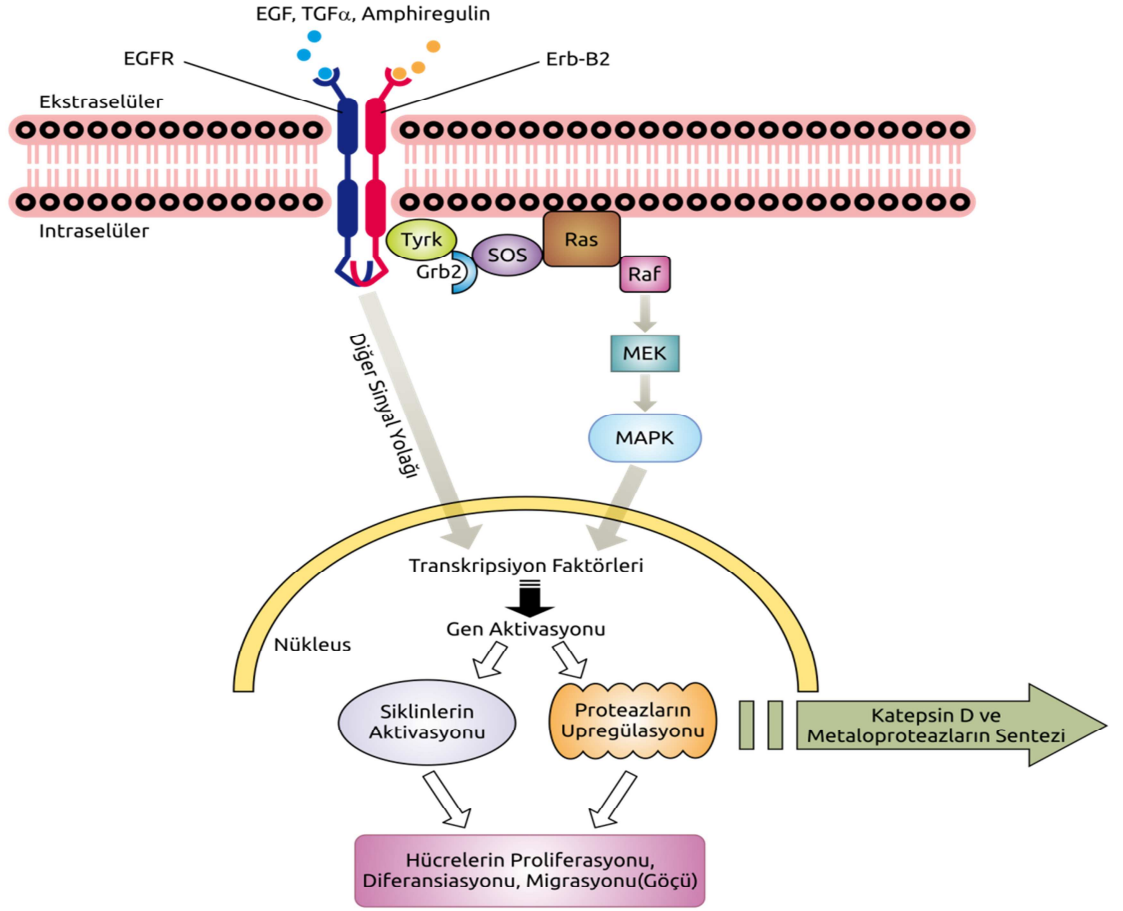
ONKOGEN	KODLADIĞI FAKTÖR	İLGİLİ DOKU
PDGF	Plateletten türemiş büyüme faktörü	Gliom
EGFR	Epidermal büyüme faktörü reseptörü	Glioblastoma ve meme
ERBB2	Bir büyüme faktörü	Meme, tükrük bezi, over
RET	Bir büyüme faktörü	Tiroid kanseri
KRAS	Bir büyüme ve çoğalma faktörü	Akciğer, over, kolon, pankreas
NRAS	Bir büyüme ve çoğalma faktörü	Lösemiler
MYC1	Transkripsiyon faktörü	Lösemiler, meme, mide, akciğer
NMYC	Transkripsiyon faktörü	Nöroblastoma , glioblastoma
LMYC	Transkripsiyon faktörü	Akciğer
BCL2	Apopitosizi bloke eden faktör	Foliküler B hücreli lenfoma
PRAD1	siklin D1	Meme, kafa ve boyun kanserleri
CTNB1	Beta-katenin	Karaciğer
MDM2	p53 proteinin antagonistini	Sarkoma

Tablo-1 Bazı Onkogenler

2.14.1.2 CERBB-2 ONKOGENİ

CerbB onkogenleri transmembran tirozin kinaz büyüme faktörü reseptörüdürler . Epidermal büyüme faktörleri (EGF) ile yakından ilişkilidirler. Bu onkogenlerin overekspresyonu tümörün progresif büyümesi için gerekli olan anjiyogenezi uyaran vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) salgılanmasını artırmaktadır. CerbB reseptörleri hücrelerin proliferasyonunda, diferansiyasyonunda, adezyonunda, migrasyonunda, tümör invazyonunda ve apoptozisde önemli rol oynadığı saptanmıştır (138-140).

EGF ve CerbB reseptörlerinin aktivasyonu için ligand, reseptör, dimer oluşumu için 3 bileşene ihtiyaç vardır. Ligand reseptöre bağlandıktan sonra bu reseptör CerbB ailesinden herhangi birine bağlanarak dimer oluşturur. Dimer oluşumu iki aynı reseptör veya iki farklı reseptör ile olabilir. Ancak bu reseptörlere transforming growth faktör(TGF), amphiregulin, betacelulin, epiregulin ve vb. gibi faktörlerde bağlanıp reseptörü aktive edebilir. Daha sonra intraselüler bölgede yer alan tirozin kinaz fosforile olur. Bunun sonucunda mitojenik aktivasyonda çok önemli olan RAS, REF, MEK, MAPK kaskadı yolağını ve sinyal dönüştürücü ve aktivasyonunu sağlayan STAT proteinini aktive ederler. Bu aktivasyon sonucunda oluşan siklinler sayesinde tümör hücrelerin proliferasyonu artarken; katepsin D ve metaloproteinazlar gibi endopeptidazlar sayesinde tümör hücrelerin büyümesi ve invazyon yetenekleri artar(Şekil-14)(115-117).



Şekil-14 CerbB-2 etki mekanizması

Klinik çalışmalarda CerbB ailesinin (özellikle CerbB-2) overekspresyonunun önemi birçok çalışmada belgelenmiş ve meme, yumurtalık, pankreas, osteosarkom, çeşitli adenokarsinomlar ve tükürük bezi kanserlerinde zayıf prognozla ilgili olduğu gösterilmiştir (158-161).

CerbB ailesinin 4 ürünü mevcuttur. Bunlar CerbB-1, CerbB-2, CerbB-3 ve CerbB-4'dür .

CerbB-1, ilk keşfedilen reseptör tirozin kinazdır. Diğer CerbB ailesi üyelerine göre özellikle baş boyun kanserli olgularda etkisinin daha az olduğu gösterilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda normal baş boyun hücrelerinde gen amplifikasyonu %24 oranında bulunmuştur. Premalign hücrelerde amplifikasyonu artmış, karsinom olgularında amplifikasyonu %67'ye kadar çıkmıştır (135-137). Yapılan bir çalışmada larenks kanserli olgularda CerbB-1

ile tümörün anatomik yeri, lenf nodu metastazı, histolojik grade arasında korelasyon bulunmamıştır (91).

CerbB-2 ikinci keşfedilen tirozin kinazdır. 17q21 bölgesinde yer alan 185 kDa ağırlığında bir onkogendir. İlk kez 1987 yılında Slamon ve arkadaşları (172) Her-2 amplifikasyonunun, meme karsinomlu olgularda kötü prognozla olan ilişkisini göstermiştir. CerbB-2 reseptörleri, hemotopoetik hücreler dışında normal yetişkin hücrelerinin yüzeyinde düşük ekspresyon düzeylerine sahiptir(139). CerbB-2 belirli bir ligandının olmamasına karşın CerbB-2'nin uzun süreli ve potent etkiye sahip olduğu için CerbB ailesinin diğer üyeleri tarafından dimerleşme için tercih edilir. Ortamda CerbB-2 düzeyi ne kadar fazla ise oluşan heterodimer sayısı , iletim sinyalinin süresi ve gücü o oranda artmaktadır. Bu durum CerbB-2'nin tümörögenезisindeki önemini açıklamaktadır. CerbB-2 reseptörün overekspresyonu normal kontrol mekanizmasını bozarak agresif tümör hücrelerinin oluşumuna yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarda CerbB-2 nin baş boyun kanserlerinde ortalama boyanma değerlerinin %34-%55 arasında olduğu görülmüştür (151-153). CerbB-2 overekspresyonu baş boyun kanserlerinden özellikle oral kavite kanserlerinde gen ampilifikasyonun artığını gösteren çalışmalar vardır (42-45). Larenks kanserlerinde CerbB-2 ile tümör diferansiasyonun negatif korelasyon göstermiştir (91,157). Ayrıca lenf nodu metastazıyla CerbB-2 ekspresyonunun korelasyon gösterdiği özellikle de uzak metastaz riskinin arttığı görülmüştür (162,163). CerbB-2 seviyesinin hastaların tedavi protokollerinin belirlenmesinde ve kötü prognozla ilişkili alt grupların saptanmasında yardımcı olabileceği savunulmuştur(104). Nüks gösteren olgularda CerbB-2 overekspresyonu gösterilmesi durumunda kemoterapi önerilmiştir (157).

CerbB-3 diğer üyelerden farklı olarak intraselüler bir tirozin kinaz aktivitesi yoktur. Ancak EGFR ve CerbB-2 tarafından transfosforile edilebilir. Larenks kanserlerinde CerbB-3 ve CerbB-2 birlikte tümör hücrelerinde anlamlı bir transformasyon aktivitesini artırdığı ve malignleşmede progresyonunda önemli olduğu gösterilmiştir (115). Ayrıca lenf nodu metastazında ve kısa yaşam süresinde CerbB-2 ile birlikte önemi gösterilmiştir (113-114).

CerbB-4, CerbB ailesinin en son tespit edilen üyesidir. CerbB-4 ve CerbB-3'ün birlikte baş boyun kanserlerinin progresyonun ilerlemesinde CerbB-2 ve EGFR kadar anlamlı bulunurken kısa yaşam süresi ile ilgili olmadığı saptanmıştır (113-115).

2.14.2 TÜMÖR SÜPRESÖR GENLER

Tümör supresör genler hücre çoğalmasını engelleyecek ürünler üretirler. Tümör supresör genlerin fonksiyonu hücre büyümesini düzenlemektir. Tümör oluşmasını engellemek değildir. Bu genlerin kaybı birçok insan tümörlerinde anahtar rolü oynadığı için ilk bulduklarında bu genlere tümör supresör genler ya da antionkogen denilmiştir. İlk çalışılan tümör supresör geni retinoblastomadır. Bu çalışmalar sonucunda retinoblastomaların % 60'ının sporadik, % 40'ünün ise kalıtsal olduğu ortaya çıkmıştır. Kalıtsal ve sporadik olarak iki değişik şekilde ortaya çıkışı açıklamak için iki-vuruş (two-hit) hipotezi ortaya atılmıştır. Buna göre kalıtsal retinoblastomada; bir genetik değişiklik kalıtsal olarak anne-babadan birinden alınır ki bu ilk-vuruşdur (first-hit). İkinci mutasyon sporadik olarak ortaya çıkar, bu da ikinci vuruşdur (second-hit). Sporadik retinoblastomada ise iki mutasyon da aynı hücrede sporadik bir şekilde görülür, daha sonra bu hücrede tümör oluşturur (46,47).

-Tümör supresör genlerin protein ürünleri: Büyümeyi inhibe eden faktörlerin de aynı büyüme faktörleri gibi bir sinyal ileti sistemleri olduğu düşünülmektedir. Mitojenik sinyallere benzer şekilde büyümeyi inhibe eden sinyallerin de hücre dışında başlayıp reseptörleri, sinyal ileten proteinleri hücre siklusunu ve nükleer transkripsiyonu düzenleyen faktörleri kullanarak görevlerini yaptıkları düşünülmektedir. En sonunda; bütün pozitif ve negatif sinyaller nükleusda toplanırlar ve burada bölünme ya da bölünmeme kararı verilir. Bununla bağlantılı olarak bazı tümör supresör genlerinin ürünleri nükleusda bulunurlar (Tablo-2).

TÜMÖR SÜPRESÖR GENLER	KODLADIĞI FAKTÖR	İLGİLİ DOKU
APC	Beta –katenin	Kolon ve mide
DPC4	Mitosizi inhibe eden molekül	Pankreas
NF -1	Ras proteini inhibe eden protein	Nörofibroma,feokromositoma
NF-2	Ras proteini inhibe eden protein	Meningioma,ependimoma, schwannoma
CDKN2A	p16 proteinini	Çok çeşitli kanserlerle ilgili
RB1	pRB proteinini	Retinoblastoma,mesane, küçük hücreli akciğer, meme
TP53	p53 protein	Çok çeşitli kanserlerle ilgili
WT1	Hücre bölünmesi kontrolü	Karaciğerde Wilms tümörü
BRCA1	Genomik stabilite	Meme ve over
BRCA2	Genomik stabilite	Meme
VHL	Hücre bölünmesi kontrolü	Renal hücre

Tablo-2 Bazı Tümör Süpresör Genler

2.14.3 DİĞER PROTEİNLER

2.14.3.1 ADEZYON MOLEKÜLLERİ

Adezyon molekülleri hücrelerin özgül olarak dokulara yönelmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve enflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev alırlar(48-50). Adezyon molekülleri dört sınıfta incelenmektedirler; integrinler, selektinler, immünglobulin süper ailesine dahil adezyon molekülleri ve kaderinler. Bir de fonksiyonel olarak adezyon görevi gören ama yukarıdaki gruplar içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleri vardır (48-50).

2.14.3.1.1 KADERİNLER

Moleküler ağırlıkları 120.000-140.000 kDa arasında değişen yapı ve fonksiyonları açısından kalsiyuma bağımlı transmembranöz proteinlerdir (51). Kaderinler yapısal olarak birbirleri ile benzerlik gösterirler. Kalsiyuma bağlanmada önem taşıyan geniş bir hücre-dışı N-ucu ile, kaderinler arasında çok iyi korunan sitoplazmik bölümlerle bağlantılı tek bir transmembranöz kısımdan oluşurlar. Kaderinler üzerinde buldukları dokulara göre isimlendirilirler ve bugün bilinen beş kaderin grubu vardır (52).

E-Kaderinler: Epitel hücrelerinde eksprese olurlar.

P-Kaderinler: Plasentada eksprese olurlar ancak belirli dönemlerde diğer dokularda da buldukları bildirilmiştir.

V-Kaderinler: Endotel hücreleri üzerinde eksprese olurlar.

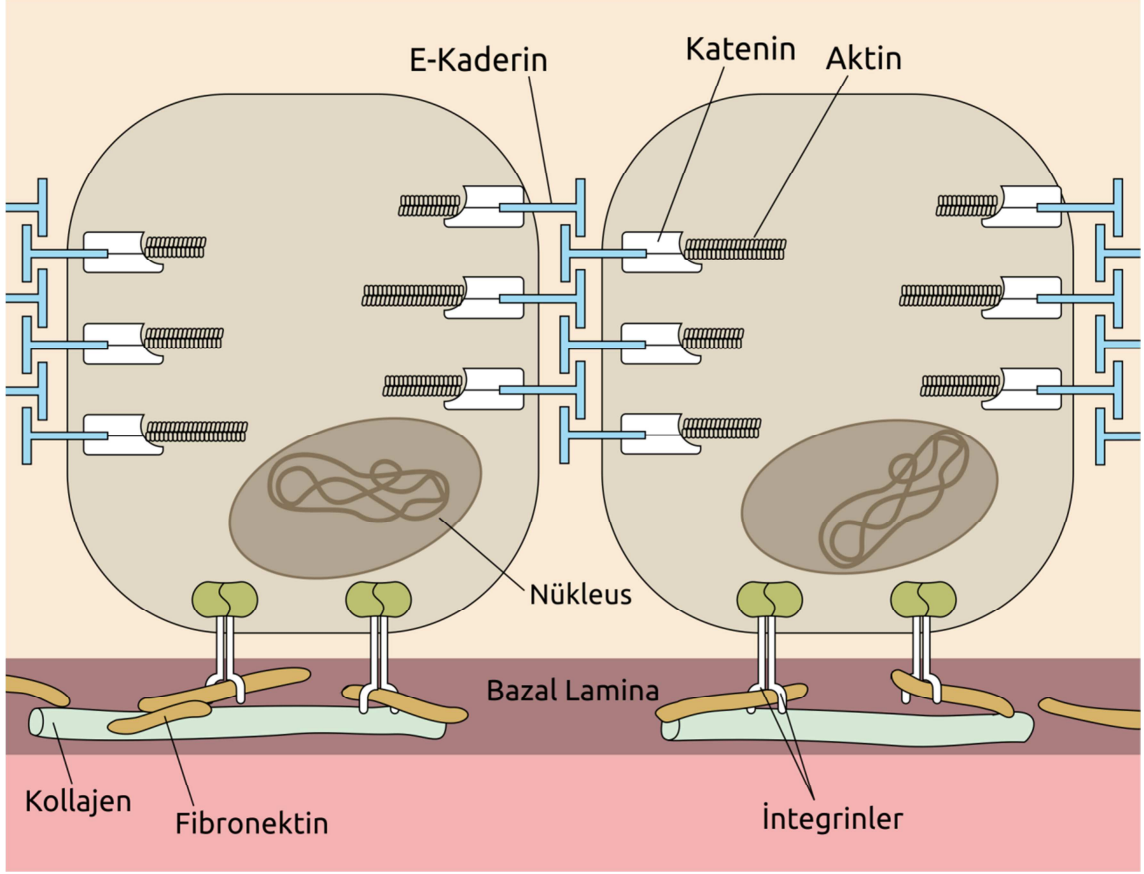
N-Kaderinler: Nöral dokularda ve kas hücrelerinde eksprese olurlar.

H-Kaderinler: Kalp kasında eksprese olurlar (53).

Kaderin/katenin haberleşmesinin kaderinlerin adeziv fonksiyonunda önemli olduğu düşünülmektedir. Fibroblastlarda sitoplazmik kısmı bulunmayan E-Kaderin ekspresyonunun fonksiyonel bir hücre-hücre adezyonu sağlayamadığı bildirilmiştir. Bunun muhtemel sebebi kateninlerle irtibat kurulamaması olabilir(54). Kaderinler yan yana hücreler arasındaki moleküler bağlantıyı sağlarlar. Yapışma kavşaklarında fermuara benzer yapılar vardır. Bu grupta bulunan desmosomlar hücre iskeletinin ara flamanları için kutuplaşma noktaları oluştururlar. Kaderinler birbiri ile genelde homofilik karakterde ilişkiye girerler. Karşılıklı hücrelerde bulunan aynı kaderinler birbirine bağlanarak hücre-hücre adezyonunu sağlarlar. Kaderinlerin bu özelliği yukarıda bahsedilen histogenetik dağılımı sağlar. Kaderinler embriyoda morfogenezden, erişkin organizmada seçici hücre tanınmasından ve yaşam boyu normal doku mimarisinden sorumlu hücre yüzey glikoproteinleridir. Kaderinlerin adeziv

fonksiyonunu göstermek için normal kosullarda yüzeyinde bu molekülleri taşımayan hücrelere, kaderin cDNA transfeksiyonu yapılmıştır. Bu hücreler kaderin moleküllerini eksprese etmeye başladıktan sonra adeziv özellik de kazandığı görülmüştür (55). Ayrıca, Na⁺-K⁺-ATP ase gibi bazı moleküllerin de bazolateral kısımda birikmeye başlaması kaderinlerin sinyal iletiminde de rol alabileceğini göstermiştir. Böylece iki kaderinin ilişkisi bir dizi biyokimyasal olay yoluyla neden olarak hücreler arası haberleşme sağlamaktır (Şekil-15).

Tümör hücrelerinin düzensiz davranması nedeniyle hücre-hücre ilişkisi tümörlerde bozulmuştur (56). İnvaziv karsinoma hücrelerinin başlıca karakteristiği az diferansiye olmaları ve hareketliliklerinin artmış olmasıdır. E-Kaderin hücrenin hareketlilik özelliğinin yok olmasına neden olur. E-Kaderin ekspresyonu azalan epitel hücrelerinde diferansiyasyonun azaldığı ve hücrelerin göç kabiliyetlerinin arttığı belirlenmiştir (57). Buradan E-Kaderinlerin invaziv özelliğe karşı koruyucu olduğu sonucuna varılmıştır (58). E-Kaderin malign tümörlerin invazyonunu önleyici özelliğe sahiptir ancak malign hücrelerde sentezi oldukça azalmıştır. E-Kaderin az diferansiye insan karsinom hücrelerinin birçoğunda bulunmadığı tespit edilmiş ve bu hücrelerin invaziv özelliği E-Kaderin cDNA transfeksiyonu ile ortadan kaldırılmıştır (59). Aynı şekilde meme kanserli hastalarda H-Kaderin ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır (57). E-Kaderin geni ve bu gendeki mutasyonlar birçok kanserde (mide, meme, akciğer, baş ve boyun, over, prostat) araştırılmış ve halen araştırılmaktadır. E-Kaderinin tümör evrelemesi, diferansiyasyonu, invazyonu lenf nodu metastazı ve uzak metastazıyla ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir(164-165).



Şekil-15 E-Kaderinin etki mekanizması

Larenks kanserlerinde E-Kaderinle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. E-Kaderin normal larenks epitelinde ekspresyonu yüksek oranda bulunurken larenks kanserlerinde ekspresyonun düştüğü saptanmıştır (75) E-Kaderin ekspresyon kaybının larenks karsinogenezinde erken evrelerde başlar. Skuamöz hücreli karsinomda az diferansiye ve lenf nodu yayılımı yapan tümörlerde E-Kaderin kaybı izlenir (131-132). E-Kaderin ekspresyonun düşüklüğünün lenf nodu metastazı riskini artırdığı için klinik olarak lenf nodu metastazı saptanmayan larenks kanserlerinde boyunlara yaklaşımda tedavi planı için önem kazanmıştır ve bu hastalara elektif boyun diseksiyonu yapılması planlanabilir (75).

Nüks gösteren hastalarda E-Kaderin boyanma oranının düştüğü gösterilmiştir (75). E-Kaderinin sağkalımla korelasyonu için farklı çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmuştur (166,167).

2.13.3.2 Ki-67 PROTEİNİ

319-358 kDa ağırlığında, 10. kromozom üzerinde nükleer bir protein ve bir proliferasyon belirleyicisidir. İlk defa 1983'te Gerdes ve arkadaşları tarafından tanımlanan bir proliferasyon belirleyicisidir. Ki-67 reaktivitesi diğer hücre kinetik ölçümleriyle korelasyon gösterdiği için yaygın proliferasyonu gösteren önemli bir markerdir (133,134). Tümördeki Ki-67 pozitif hücre fraksiyonu hastalığın klinik gidişi ile paraleldir ve monoklonal bir antikor olan MIB-1 ile immünohistokimyasal olarak boyanan Ki-67 (+) hücrelerin tüm hücrelere oranının hesaplanması ile elde edilir (60-61).

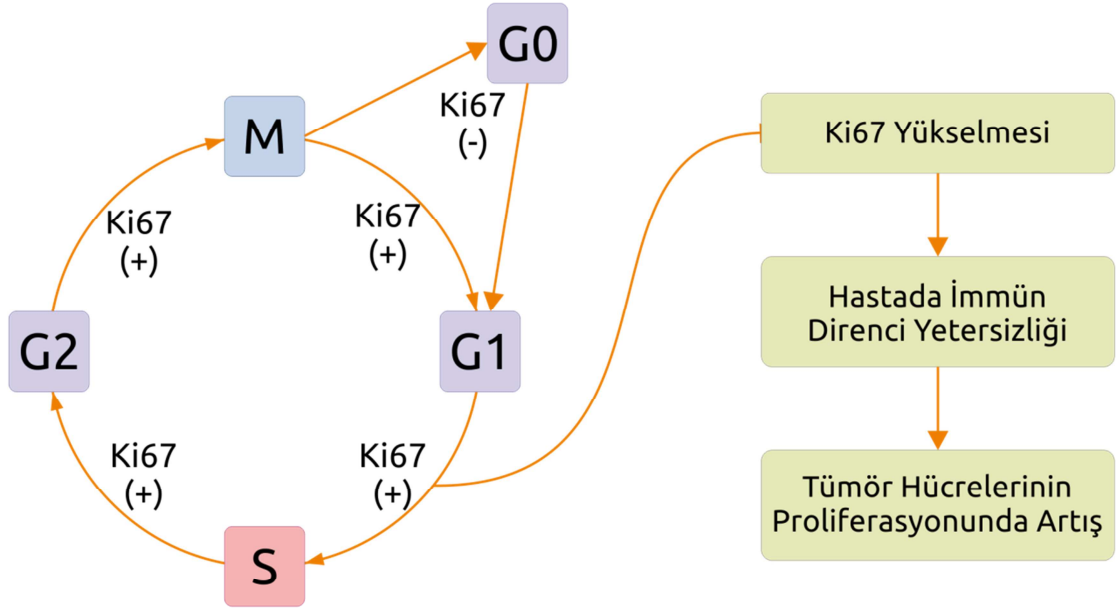
İnsan Ki-67 proteinine karşı antikorların mikroenjeksiyonu sonrasında hücre bölünmesinde azalma izlenmiştir. Bu bulgu sonucunda Ki-67'nin hücre proliferasyonunda önemli rol oynadığı saptanmıştır (120).

Ki-67 yapısında yaklaşık 122 aminoasit kalıntısı mevcuttur. Ayrıca santral bölgesinde 16 tekrarlayıcı element izlenir (Ki-67 tekrarları). Ki-67 tekrarları %43-62 oranında birbirine benzer aminoasit kalıntılarını paylaşırlar. Tekrarlayan elementler içinde Ki-67 motif denilen bir bölge bulunmaktadır. Ki-67 motif; ilk bulunan Ki-67 antikoruna tarafından tanınan epitopu (F K E L) içerir. Bu bütün tekrarlanan bölge Ki-67 geninin tek ekzonu tarafından kodlanır (ekzon 13)(120-121) Proteinin temel yapısında 10 nükleer hedefleyici dizi, protein kinaz C için 143 potansiyel fosforilasyon bölgesi, Kazein Kinaz II için 89 bölge, Tirozin Kinaz için 2 bölge, CDC 2 Kinaz için 8 bölge mevcuttur. İki nükleer dizi ve sekiz potansiyel nükleer dizi proteinin interfazdaki hücrelerin çekirdeklerinin içindeki özel lokalizasyonunu açıklar. Ki-67 proteinin fosforilasyonu ile defosforilasyonu *in vivo* olarak hücrelerin mitozu geçişi ile aynı zamana rastlar. Bu işlemler düzenleyici kompleks olan Siklin B/ CDC 2 tarafından kontrol edilir.

İlk tarifinden on yıl sonra 1993 yılında Ki-67'yi kodlayan bütün cDNA serisi Schlüter ve arkadaşları(173) tarafından yayınlanmıştır. Proteinin mRNA ile tek genden kopyalanan iki protein yapıda izoformu tarif edilmiş, bunların molekül ağırlıkları 320 ve 359 kD olarak saptanmış. Ucuca eklenmiş bu iki mRNA dizeleri Ki-67'nin Ekzon 7 tarafından kodlanan bölgesinin olup olmamasına göre ayrılır (122).

Hücre siklusu sırasında Ki-67 protein ekspresyonu interfaz sırasında Ki-67 proteini; çekirdek ve çekirdekçik içindeki belirgin yapılardan biridir. Çekirdeğin kendisi 3 ana elemandan oluşur. Fibiller merkez, yoğun fibriller komponent, granüler komponent. Ribozomal RNA oluşum sürecinde bu kompartmanlar içinde düzenlenir. Yoğun fibriller komponentten granüler komponente doğru ilerler. İmmünoelektron mikroskop çalışmalarında Ki-67 proteininin ekspresyonunun yoğun fibriller komponentte olduğu saptanmıştır. S fazında hücrenin Ki-67 antijeni ile boyanmasının artmakta olduğu; bununla birlikte erken evre G1 fazında Ki-67 boyanmasının nükleoplazmada sayılı odaklarda olduğu izlenmiştir. Bu odaklar satellit DNA bölgeleri ile uyumlu olarak bulunmuş. G1 fazının ilerlemesi sırasında bu birliktelik zayıflamaya başladığı ifade edilmiştir. Ki-67 proteinin çekirdekçik içinde bütünleşmesi sonrası sadece birkaç satellit bölge boyanma tuttuğu izlenmiştir. S fazında Ki-67 boyanması çoğu yazarlar tarafından sadece çekirdekçik içinde izlendiği bildirilmiştir. G2 fazında ilave olarak nükleoplazmada da izlenmiş. G2 fazında ise daha fazla boyanma izlenmiştir (120-121). Mitoz sırasında belirgin olarak Ki-67'nin tekrar bir dağılımı izlenir. Mitoz; sitoplazmik komplekslerin Ki-67 pozitif olarak izlendiği tek dönemdir. Profaz sırasında Ki-67 protein tekrar organize olur ve yoğunlaşmış kromatin ile birlikte izlenmeye başlanır. Metafaz sırasında kromozomların yüzeyini kaplamış şekilde parlak Ki-67 antijen boyanması izlenir. Metafaz sırasında en yüksek oranda boyanma oranı izlenmiştir. Çekirdek zarının yırtılmasından sonra diffüz olarak protein sitoplazmada izlenmeye başlanır. Mitoz sonunda (anafaz ve telofaz) antijen taneli boyanma özelliği gösterir. Anafaz ve telofaz sırasında boyanma düşmeye başlar. Telofaz sırasında küçük nükleer yapılar içinde lokalize hale gelir (120-121).

Özetlenecek olunursa Ki-67 çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak G1, S, M ve G2 fazında görülür. G0 fazında yoktur. Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, mitotik indeks ve tümör gradelemesinde sıklıkla kullanılır (Şekil-16)



Şekil-16 Ki-67 Etki Mekanizması

Thymidine işaretleme veya flow sitometri gibi değişik metodlarla, özellikle küçük tümörlerde, prolifere olan hücrelerin benign veya malign olup olmadıkları birbirlerinden ayırt edilememektedir. Bununla beraber hücre proliferasyon proteinleriyle (örneğin Ki-67 gibi) yapılan analizlerde bu ayırımın yapılabilmesi en büyük avantajlardan biri olarak kabul edilmektedir (128).

Birçok tümörde önemi gösterilen Ki-67 ilk olarak meme ve endometrium kanserinde çalışılmıştır. Meme tümörlerinde Ki-67 artışı tespiti, kötü prognoz ile yakın ilişki içindedir (123). Endometrium kanserinde Ki-67 (ve PCNA) immunoreaktivitesi ile östrojen-progesteron ekspresyonu arasında çok güçlü ama zıt yönde bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (124). Diğer yandan proliferasyon oranı ile p53 geni anomalileri arasında aynı yönde güçlü bir ilişki bulunduğu, bunun yanında prostat, kolon, akciğer, karaciğer ve gastrik karsinomlarda, bazı lenfoma ve sarkomalarda olduğu gibi artmış proliferasyonu olduğu ve bu vakalarda Ki-67 veya PCNA kullanılmak suretiyle yapılan immünohistokimyasal yöntemlerle kolayca tanı konulabildiği ve prognoz hakkında fikir sahibi olunabildiği bilinmektedir (118,119,125-127).

Larenks kanserlerinde Ki-67 ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Larenksin normal hücrelerinde de Ki-67 ekspresyonu bulunmakla beraber larenks kanserlerinde kontrol gruplarına göre Ki-67 salınımının oldukça fazla olduğu görülmüştür (93) Yüksek oranda Ki-67 boyanması gösteren tümör hücrelerinin boyun metastaz yapma ihtimalinin anlamlı olarak artmış olduğu gösterilmiştir (149) Yapılan bir çalışmada Ki-67 nin %20 üstünde boyanma gösteren olgularda lenf nodu metastazının anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür (149). Tümör diferansiasyonu ile boyanma oranının ters orantılı olduğu izlenmiştir. (145) Hastanın prognozu hakkında bilgi verebildiği belirtilmiş ayrıca bu durum apoptosizle Ki-67 arasında ters korelasyon olduğu saptanmıştır (129,141). Ki-67 boyanmasının yüksek olan olgularda sağkalımın Ki-67 boyanmasının düşük olan olgulara göre kısa olduğu görülmüştür(145). Ki-67 hücre proliferasyonunda önemli bir prognostik değer olmasına rağmen hastanın radyoterapiye olan cevabı yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir (146-147) Yapılan bir çalışmada larenks kanserlerinde radyosensitif olguların radyoresistant olgulara göre Ki-67'nin daha yüksek oranda boyandığı saptanmıştır(148) .Erken evre larenks tümörlerinde Ki-67'nin nüks gösteren hastalarda özellikle nüks görülme zamanının azaltıldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (150).

3- GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya 2009-2012 yılları arasında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalında larenks kanseri tanısıyla tedavisi uygulanan ve takibe alınan hastaların dosyaları, epikrizleri ve takip notları incelendi. Hastalar yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanma alışkanlığı, semptomlar, tümörün lokalizasyonu, T evresi, histopatolojik tanı, tümör diferansiyasyonu, servikal lenf nodu metastazı, perinöral invazyon, vasküler invazyon, kapsüler invazyon, uygulanan tedavi yöntemleri, prognoz ve sağkalım açısından değerlendirildi. Çalışmaya dahil edilen 41 hastanın patoloji spesimenleri Patoloji Anabilim Dalı tarafından incelendi. %10 formalinde fikse edilmiş dokular rutin doku takibine alındı. Parafine gömülen dokulardan elde

edilen 4µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen+Eosin boyası ile boyandı. Ayrıca immünohistokimyasal analiz için özel polyisinli lamlara kesitler alındı. İmmünohistokimyasal boyamada Ki-67 (Dako, Monoclonal Mouse Anti-Human ,DANİMARKA), c-erbB-2 (Dako, Polyclonal Rabbit Anti-Human, DANİMARKA) ve E-kaderin (Dako, Monoclonal Mouse Anti-Human, DANİMARKA) antikorları çalışıldı. Tüm antikorlar için pozitif kontrol olarak meme karsinomu dokusu kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyamalar otomatik immün boyama cihazında (Leica-Bondmax) yapıldı. Tüm örnekler ışık mikroskopunda (Carl Zeiss Axioscope fotomikroskop) değerlendirildi ve bu ışık mikroskobuna bağlı sistemden fotoğraflar çekildi (Carl Zeiss AxioCam ICc3 3.3 Mp digital kamera ve Carl Zeiss AxioVision software).

Çalışmamızda biyopsi materyallerinde tümörün diferansiyasyon derecesi tanımlanırken özellikle invazyon alanlarında tümörün skuamöz epiteli taklit etme derecesine (keratin inci, tek hücre keratinizasyonu gibi) bakılarak iyi, orta, kötü diferansiye olarak sınıflama yapıldı.

3.1.İMMÜNHİSTOKİMYASAL ANALİZ

E-Kaderin pozitifliği immünohistokimyasal incelemede Galera-Ruiz ve ark.'nın (84) çalışmalarında uyguladığı gibi hücrelerin 0-50% arası boyanması zayıf boyanma, 50-100% arası boyanması kuvvetli boyanma olarak değerlendirildi.

CerbB-2'nin immünohistokimyasal analizi için Kazkayası ve ark.'nın (89) çalışmalarında uyguladığı gibi önce büyük büyütmelerde boyama dağılımı incelendi sonra her bölgedeki pozitif hücreler sayıldı. Membranöz ve sitoplazmik boyanmalar pozitif olarak kabul edildi. Hiç boyanma olmayanlarda 0, %10'dan az boyananlarda 1+ veya zayıf, %11-50 arasında boyananlarda 2+ veya orta, %50'den daha fazla boyananlarda 3+ veya güçlü olarak sınıflandırıldı.

Ki-67'nin immünohistokimyasal analiz için pozitif hücrelerin yüzdeleri en çok boyanan bölgeye göre belirlendi. Üç farklı analiz yöntemi kullanıldı ve sonuçlar üç farklı şekilde değerlendirmeye alındı. İlk yöntemde Çallı ve arkadaşlarının (89) çalışmalarında uyguladığı gibi nükleer boyanmanın derecesi

hiç boyanma olmayanlarda 0, %10'dan az boyananlarda 1+ veya zayıf, %11-50 arasında boyananlarda 2+ veya orta, %50'den daha fazla boyananlarda 3+ veya güçlü olarak sınıflandırıldı. İkinci yöntemde Acıkalın ve arkadaşlarının (94) çalışmalarında uygulandığı gibi Ki-67 boyanma yüzdelerinin ortalaması olan Ki-67 proliferasyon indeksi hesaplandı. Üçüncü yöntemde Cordes ve arkadaşlarının (95) çalışmasında uyguladığı gibi cut off değeri (kesim değeri) olarak ortalama boyanma yüzdesine en yakın değer olan 55 alındı.

İmmünohistokimyasal boyanma sonuçları değerlendirildiğinde E-kaderin için 1+ olan hastalar zayıf boyananlar, 2+ olan hastalar kuvvetli boyananlar olarak sınıflandırıldı. CerbB-2 için boyanması olmayan hastalar negatif boyanma kabul edilirken; 1+, 2+ ve 3+ hastalar pozitif boyanma olarak kabul edildi.

Ki-67 için sonuçlar değerlendirilirken ilkyöntemde boyanması olmayan ve 1+ olan hastalar (yani boyanma yüzdesi %10 dan az olanlar) negatif boyanma kabul edilirken; 2+ ve 3+ boyanan hastalar (yani boyanma yüzdesi %10 dan fazla olanlar) pozitif boyanma olarak kabul edildi.

İkinci yöntemde tüm hastaların Ki-67 boyanma yüzdelerinin ortalaması (Ki-67 proliferasyon indeksi) alındı.

Üçüncü yöntemde cut off değeri (kesim değeri) olarak ortalama boyanma yüzdesine en yakın değer olan 55 alındı. Kesim değerinden yüksek yüzdeyle boyananalar pozitif (Ki-67(+)> 55,), düşük düzeyde boyananlar negatif (Ki-67(-) ≤ 55) kabul edildi

3.2 İstatistiksel Değerlendirme

Gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak değerlendirildi. Değerlendirme için IBM SPSS ver 15.0 (ABD,2005) programı kullanılarak histopatolojik parametreleri arasındaki değerlendirme ki-kare (Chi-square), korelasyon (Kendall's tau_b), Student's t-test ve ANOVA testleri ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

Ki kare (Chi square) değerlendirilmesi ile; E-Kaderin, CerbB-2 ve Ki-67'nin (%10 üstünün pozitif kabul edildiği ilk yöntem ve kesim değerinin (55) üstünün pozitif; kesim değerinin altının negatif olduğu üçüncü yöntem)

klınkopatolojik değişkenlerden tümörün anatomik yeri, erken evre veya geç evre tümörler, servikal lenf nodu metastazı varlığı, perinöral invazyon, vasküler invazyon, kapsüller invazyon varlığı, hastalığın nüks göstermesi, eks durumu ve sağkalım ile karşılaştırılmalarında kullanıldı. Ayrıca sağkalım ile tümörün anatomik yeri, lenf nodu metastazı, perinöral invazyon, vasküler invazyon ve kapsüller invazyon arasındaki karşılaştırılmalarında kullanıldı.

Korelasyon (Kendall's tau_b) değerlendirilmesi ile; E-Kaderin, CerbB-2 ve Ki-67'nin (%10 üstünün pozitif kabul edildiği ilk yöntem ve kesim değerinin (55) üstünün pozitif; altının negatif olduğu üçüncü yöntem) klınkopatolojik değişkenlerden tümör diferansiasyonu (az, orta ve iyi diferansiye), T evrelemesi(T1,T2,T3,T4) ile, E-Kaderin, CerbB-2 ve Ki-67'nin kendi aralarındaki ilişkisinde kullanıldı. Ayrıca sağkalım ile T evrelemesi ve tümör diferansiasyonu arasındaki ilişkide kullanıldı.

Student's t-test değerlendirilmesi ile; Ki-67 nin(proliferasyon indeksinin hesaplandığı ikinci yöntemle) klınkopatolojik değişkenlerden tümörün anatomik yeri, erken evre veya geç evre tümörler, servikal lenf nodu metastazı varlığı, perinöral invazyon, vasküler invazyon, kapsüller invazyon varlığı, hastalığın nüks göstermesi ve eks durumu ile karşılaştırılmalarında kullanıldı.

ANOVA test değerlendirilmesi ile ; Ki-67 nin(proliferasyon indeksinin hesaplandığı ikinci yöntemle) klınkopatolojik değişkenlerden tümör diferansiasyonu (az,orta ve iyi diferansiye), T evrelemesi(T1,T2,T3,T4) karşılaştırılmalarında kullanıldı.

Sonuçlar $p < 0.05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4- BULGULAR

Bu çalışmada Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB Anabilim Dalı'nda 2009-2012 yıllarında tanısı konmuş ve tedavisi düzenlenmiş 41 adet larenks karsinomu olgusu değerlendirilmeye alındı.

Olguların 40'ı (% 97,5) erkek, 1'i (%2,5) kadındı. Erkek olguların kadın olgulara oranı 40/1'idi. Yaş ortalaması erkeklerde 63,5 (50-81), bayanlarda 44'dü. Sigara içen hasta sayısı 40 (% 97,5) iken , alkol kullananlar 32 (%80) idi. Alkol kullanan olguların hepsi (%100) sigara da kullanmaktaydı. Semptom olarak olguların hepsinde ses kısıklığı mevcuttu (%100). Aynı zamanda 10(%23,4) hastada nefes darlığı, 7(%17,1) hastada yutma güçlüğü mevcuttu.

Tümörlerin yerleşim yerine göre 16'sı (%39) supraglottik, 25'i(% 61) glottikken, subglottik yerleşimli tümörü olan hasta yoktu (Tablo-3).

Tümörün Anatomik Yeri	Hasta Sayısı	%
Supraglottik	16	39
Glottik	25	61
Subglottik	-	-

Tablo 3: Olguların anatomik yerine göre sınıflandırılması

Olguların TNM evrelemesine göre bakıldığında T1a 11 olguda(% 26,8), T1b 3 olguda(%7,4), T2 22 olguda(%53,6), T3 5 olguda(%12,1) saptanırken, T4 evre hiçbir olguda izlenmedi. Servikal lenf nodu metastazı 7 (%17,5) hastada saptandı. Servikal lenf nodu evrelendirmesinde 7 hastada N1 iken, hiçbir hastada N2 ve N3 yoktu. Servikal lenf nodu metastazı olan olguların hepsinde primer tümör supraglottik yerleşimliydi.

Hastalara uygulanan tedavi incelendiğinde primer olarak 28'ine cerrahi ,9 hastaya RT ve 4 hastaya KT ve RT birlikte verildi. Cerrahi yapılan olguların 22'sine sadece cerrahi, 6'sına cerrahi sonrası adjuvan RT ve/veya KT verildi. 16 supraglottik kanserli olguların tedavisinde primer olarak 6 hastaya cerrahi, 6 hastaya RT, 4 hastaya KT+RT verildi.4 hastaya ise adjuvan RT ve/veya KT verildi. 25 glottik tümürlü olguların tedavisinde primer olarak 22 hastaya cerrahi, 3 hastaya RT uygulandı. 2 hastaya ise adjuvan RT ve/veya KT uygulandı (Tablo-4).

7 hastaya (2'si glottik, 5'i supraglottik) boyun disseksiyonu yapıldı (Tablo-4).

Uygulanan Primer Tedavi	Hasta Sayısı	%
Endoskopik rezeksiyon	8	19,6
Laringofissürkordektomi	3	7,3
Hemilarenjektomi	10	24,4
Supraglottik larenjektomi	4	9,8
Suprakrikoid larenjektomi	2	4,8
Total larenjektomi	1	2,4
Radyoterapi	9	22
Radyoterapi ve Kemoterapi	4	9,8

Tablo-4 Olguların uygulanan tedavi yöntemlerine göre sınıflandırılması

41 hastanın patolojik spesmenleri incelendiğinde olguların hepsi yassı hücreli karsinomdu. Tümörün patolojik diferansiyasyonuna bakıldığında 17'si(% 41,5) iyi diferansiye, 15'i(% 36,6) orta derecede diferansiye ve 9'u(% 21,9) az diferansiye idi. 3(%7,3) hastada vasküler invazyon, 5 hastada (%12,1) perinöral invazyon saptandı. Servikal lenf nodu metastazı saptanan hastalardan 2'sinde (%4,8) kapsüler invazyonu mevcuttu.

Hastaların takip süreleri incelendiğinde 2 ay ile 41 ay arasında değişmekte olup ortalama takip süresi 18,2 ay olarak bulundu.

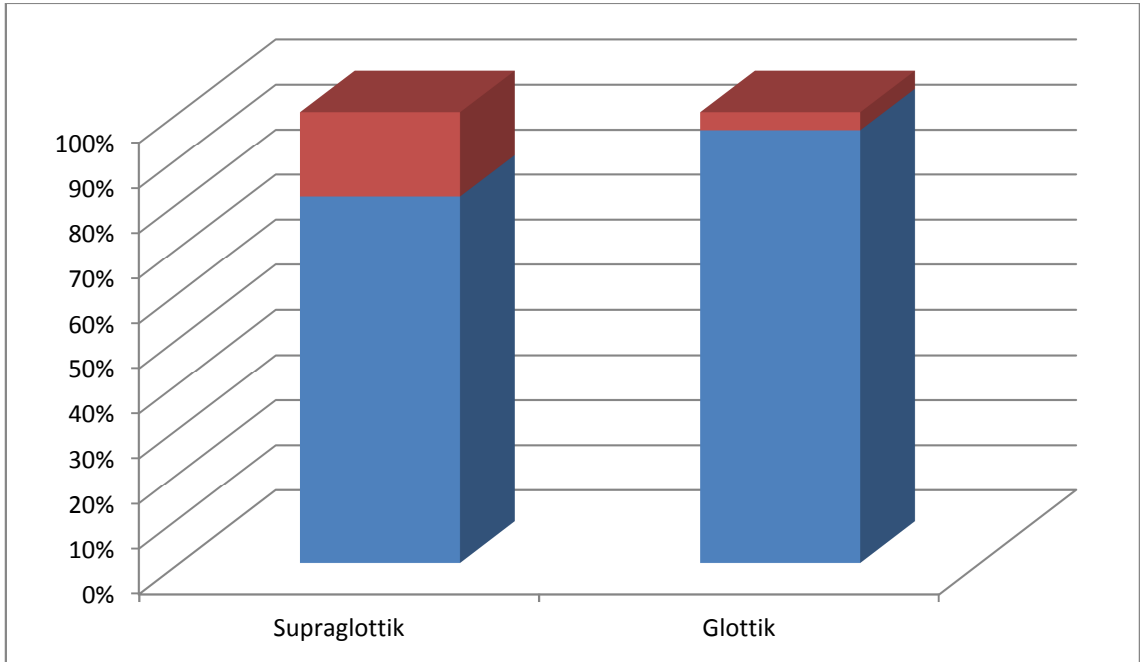
Hastaların 5'inde (%12,2) nüks görüldü. Bunların 1'inde(%20) lokal nüks, 3'ünde (%60) rejyonel nüks , 1'inde(%20) uzak metastaz (akciğer) ortaya çıktı. Nüks görülen 5 hastanın tümörün anatomik yerleşimine göre 3'ü(%60) supraglottik, 2'si(%40) glottik yerleşimliydi. Patolojik diferansiyasyonuna bakıldığında 3'ü (%60) iyi diferansiye, 2'si(%40) az diferansiyeydi. TNM evrelemesine göre 1hasta T1, 3 hasta T2, 1 hasta T3'dü. Bu hastaların pimer tedavisinde 1'ine total larenjektomi, 2'sine supraglottik larenjektomi, 1'ine vertikal larenjektomi, 1'ine endoskopik rezeksiyon yapılmıştı. Nüks gösteren ve primer tedavide supraglottik larenjektomi yapılan 2 olgu eks olurken,diğer nüks görülen hastalar hala yaşamaktaydı.

4 hasta(%9,7) klinik takipleri devam ederken eks oldu. Eks olan 4 hastanın 2'si(%50) rejyonel nüks sonucunda, 2'si(%50) dış merkezde

radıoterapi tedavisi uygulandığı dönemde eks olmuştur. Eks olan hastaların tümörün anatomik yerleşimine göre 3’(%75) supraglottik, 1’i(%25) glottikti. Patolojik diferansiyasyonuna bakıldığında 2’si(%50) iyi diferansiye,1’i (%25) orta diferansiye, 1’i(%25) az diferansiyeydi. T evrelemesine göre 2 (%50) hasta T2, 2 (%50) hasta T3 idi. Bu hastaların tedavisinde 2’sine supraglottik larenjektomi uygulanmış, 2’sine radyoterapi tedavisi uygulandığı dönemde eks olmuştur.

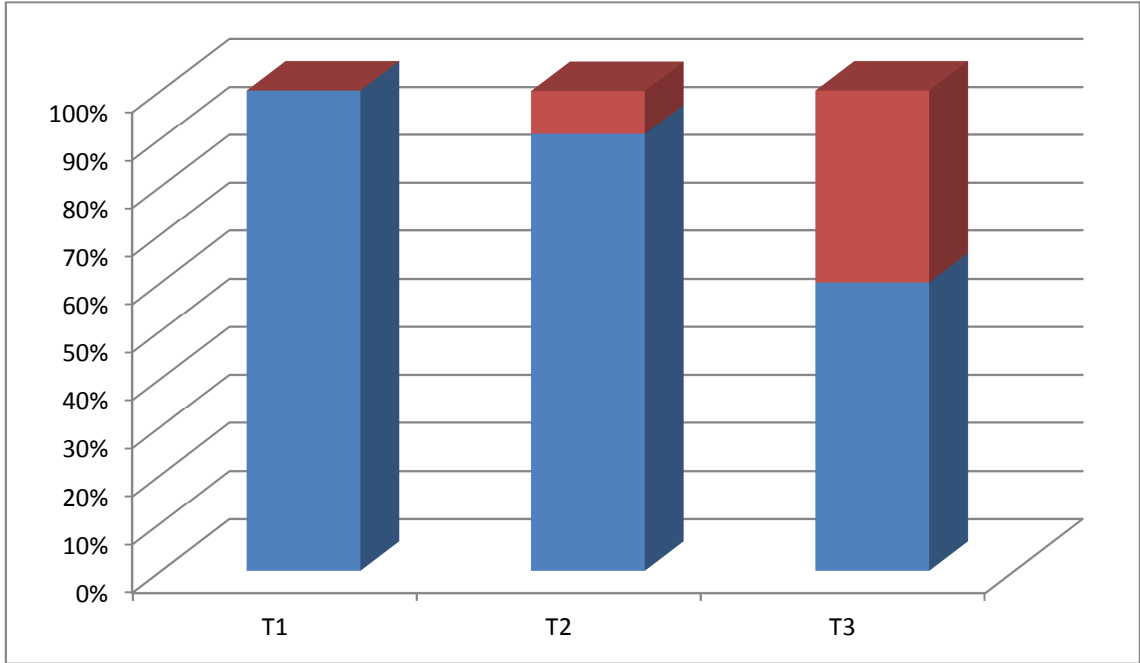
Olguların ortalama sağkalım oranı %90,2 idi.

Tümörlerin anatomik yerleşimine göre sağkalım oranı supraglotik tümörler için %81,2, glottik tümörler için %96 bulundu. Sağkalım ile tümörün anatomik yeri arasında istatıksel olarak fark görülmedi ($p=0,281$)(şekil-17).



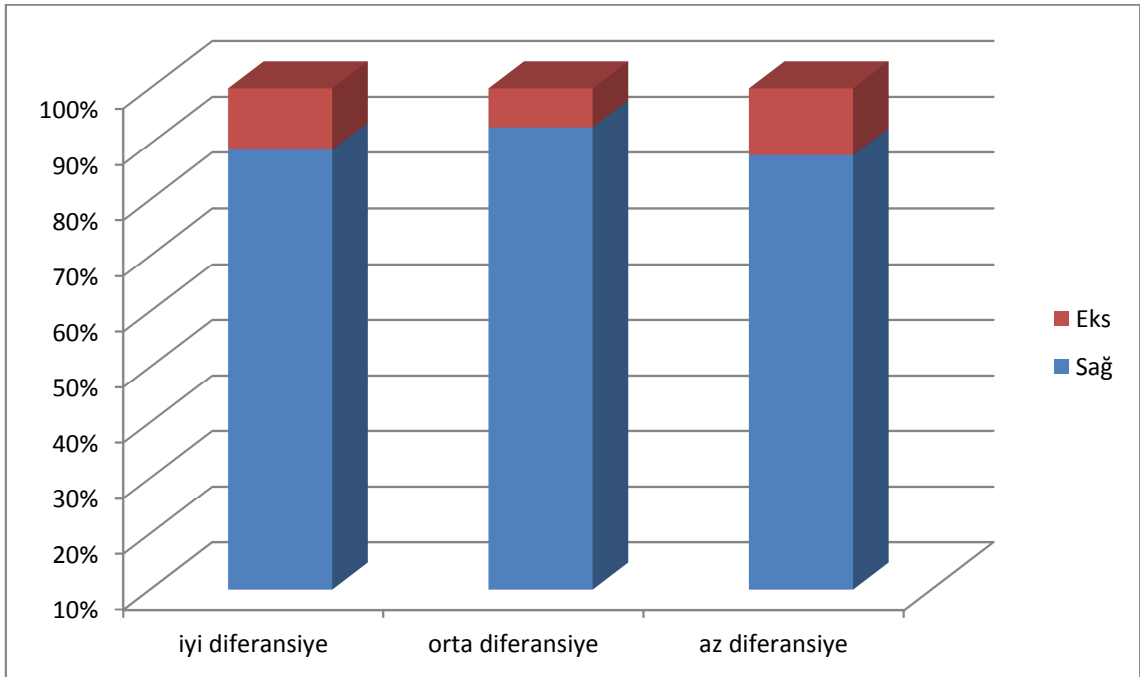
şekil-17: Tümörlerin anatomik yerleşimine göre sağkalımı

T evrelemesine göre sağkalım oranı hesaplandı. T1 tümörlerde %100, T2’de %90,9, T3’de %60 bulundu. T evrelemesinin artması ile sağkalım oranının düşmesi arasında anlamlı korelasyon saptandı ($p=0,016$) (şekil-18)



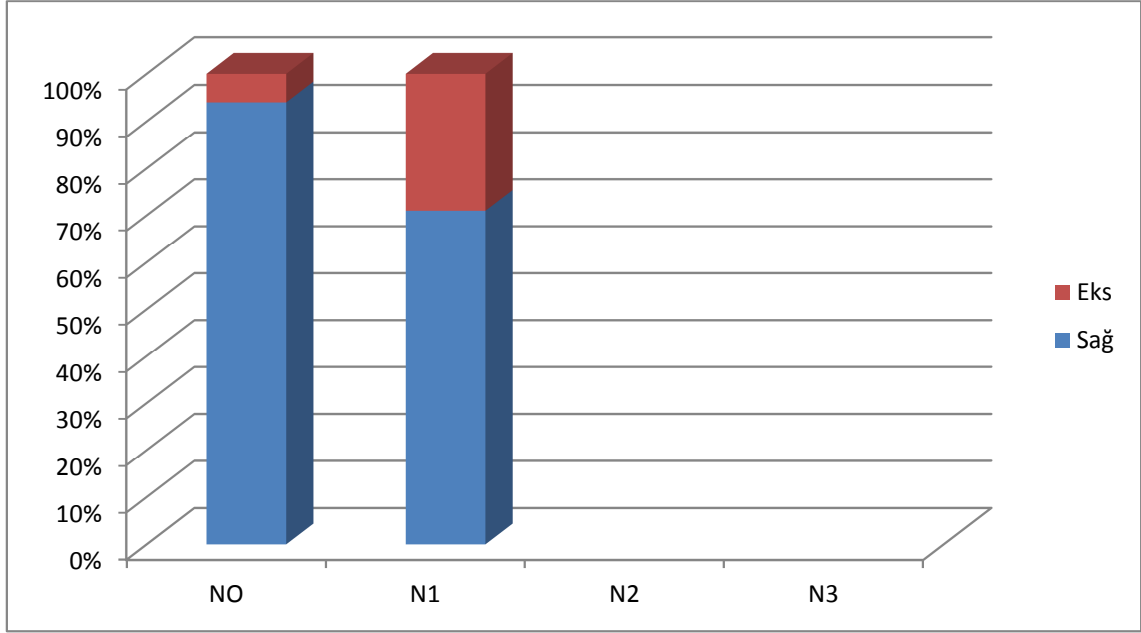
Şekil-18: T evrelemesine göre sağkalımı

Olguların tümör diferansiyasyonuna göre sağkalım oranı hesaplandı. Az diferansiye olgularda %88,9, orta diferansiye olgularda %93,4, iyi diferansiye olgularda %88,3 bulundu. Sağkalım ile tümör diferansiyasyonu arasında anlamlı korelasyon saptanmadı ($p=0,851$) (Şekil-19).



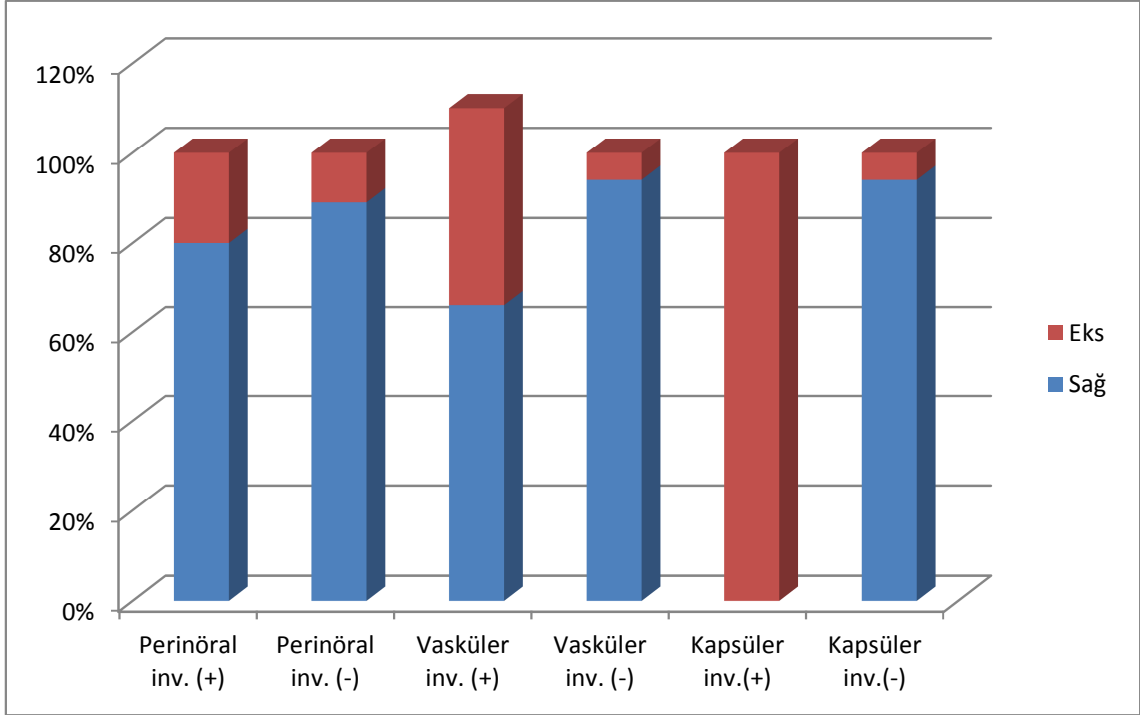
Şekil-19 : Tümör diferansiyasyonuna göre sağkalımı

Olguların servikal lenf nodu metastazına göre sağkalım oranı hesaplandı. Servikal lenf nodu metastazı olan (N1) hastaların % 71,5, servikal lenf nodu metastazı olmayan hastaların (N0) % 94,1 bulundu. Sağkalım ile servikal lenf nodu pozitifliği arasında istatistiksel olarak fark görülmedi ($p=0,128$) (Şekil-20).



Şekil-20: Servikal lenf nodu metastazına göre sağkalımı

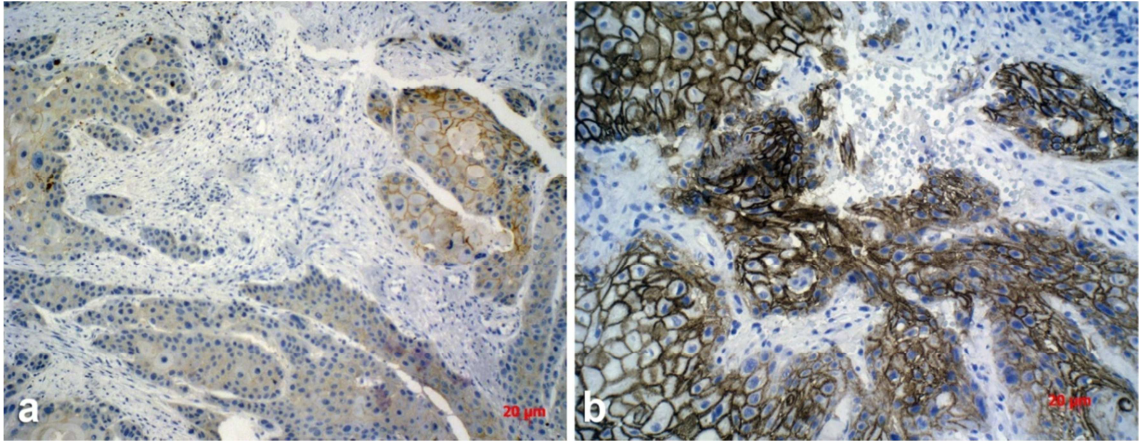
Perinöral invazyonu olan olguların sağkalım oranı %80, perinöral invazyonu olmayan olguların sağkalım oranı %89,1, vasküler invazyonu olan olguların sağkalımı % 66, vasküler invazyonu olmayan olguların sağkalım oranı %94,5, kapsüler invazyonu olan olguların sağkalımı % 0, kapsüler invazyonu olmayan olguların sağkalımı %94,8 bulundu . Sağkalım ile perinöral invazyon, vasküler invazyon arasında istatistiksel olarak fark görülmezken (sırasıyla $p=0,418, p=0,271$) **Kapsüler invazyonla sağkalım oranının düşmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,007$)** (Şekil-21)



Şekil-21: Perinöral, vasküler ve kapsüler invazyona göre sağkalımı

4.1 E-KADERİN İLE İLGİLİ İSTATİSTİKSEL BULGULAR

İmmünohistokimyasal boyanma sonuçlarına bakıldığında E-Kaderin için 11 (%26,8) hasta zayıf boyanırken, 30(%73,2) hasta kuvvetli boyandı (Şekil-23).



Şekil-22 İmmünohistokimyasal olarak tümör adalarında E- Kaderin (a: (+) pozitif boyanma x100, b: (++) pozitif boyanma x200)

Hem supraglottik hem de glottik tümörlerde E-Kaderin kuvvetli boyanan hasta sayısı zayıf boyanan hasta sayısına göre daha yüksekti. Supraglottik tümörler için E-Kaderin kuvvetli boyanma 16 hastanın 14'ünde görülürken

(%87,5) ,zayıf boyanma 16 hastanın 2'sinde görüldü(%12,5) . Glottik tümörler E-Kaderin için kuvvetli boyanma 25 hastanın 16'sında görülürken (%64) , zayıf boyanma 25 hastanın 9'unda görüldü(%36) . Ancak tümörün anatomik yeri ile E-Kaderin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı (p=0,152) (Tablo-5).

T evrelemesine göre T1'de E-Kaderin için kuvvetli boyanma 15 hastanın 10'unda görülürken (%66), zayıf boyanma 5 hastada görüldü (%34). T2 'de E-Kaderin kuvvetli boyanma 21 hastanın 16'sında görülürken (%71) zayıf boyanma 5 hastada görüldü (%29). T3'de E-Kaderin kuvvetli boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80), zayıf boyanma 1 hastada görüldü (%20) . E-kaderin boyanması ile T evrelemesinin yükselmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı (p=0,473) (Tablo-5).

Erken evrelerde (T1-T2) E-Kaderin kuvvetli boyanma 36 hastanın 26'sında görülürken (%72), zayıf boyanma 10 hastada görüldü (%28). Geç evrelerde E-Kaderin kuvvetli boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80) zayıf boyanma 1'inde görüldü (%20) . E-kaderin boyanması ile tümörün erken veya geç evre olması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı (p=0,592) (Tablo-5).

Servikal lenf nodu metastazı saptanan 7 olgunun 7'sinde (%100) E-Kaderin kuvvetli derecede boyandı. Servikal lenf nodu metastazı olmayan 34 hastanın 23'ü E-Kaderin kuvvetli boyanırken (%68),11 hasta zayıf boyandı(%32). Servikal lenf nodu metastazı olan veya olmayan hastalarla, E-Kaderinin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmadı (p=0,160) (Tablo-5).

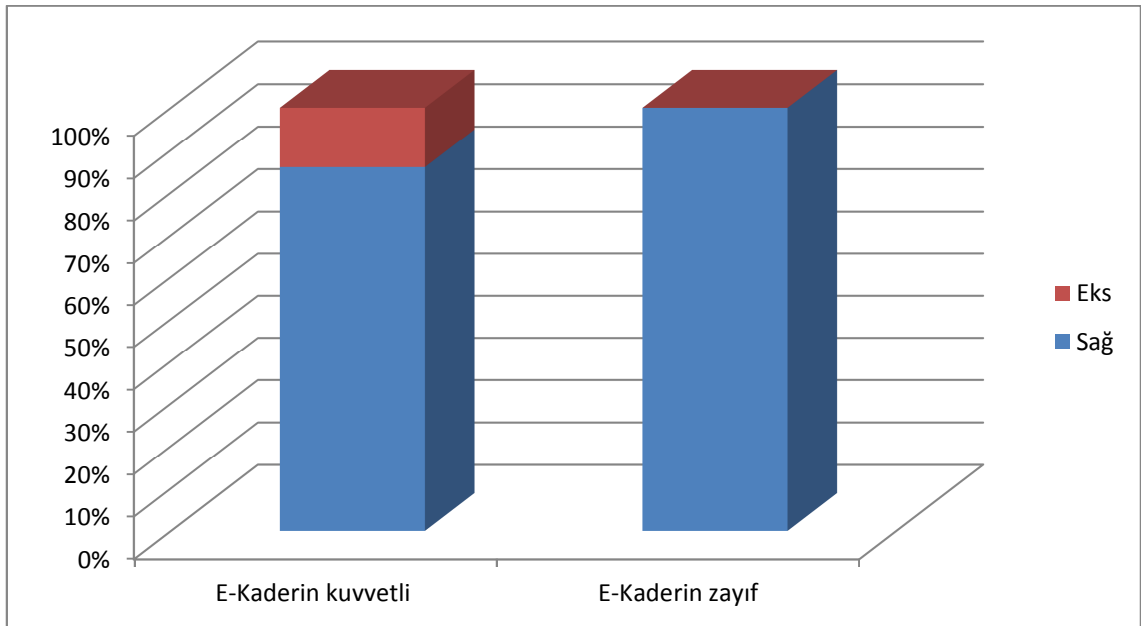
Çalışmamız sırasında az diferansiye olgularda E-Kaderin kuvvetli boyanma 9 hastanın 6'sında görülürken (%66), zayıf boyanma 3 hastada görüldü (%34). Orta diferansiye olgularda E-Kaderin kuvvetli boyanma 15 hastanın 13'ünde görülürken (%87), zayıf boyanma 2 hastada görüldü (%13). İyi diferansiye olgularda E-Kaderin kuvvetli boyanma 17 hastanın 11'inde görülürken (%64), zayıf boyanma 6 hastada görüldü (%36). E-kaderin

boyanması ile tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,614$) (Tablo-5).

Perinöral invazyon saptanan olguların E-Kaderin kuvvetli boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken(%80), zayıf boyanma 1 hastada görüldü (%20). Vasküler invazyon saptanan olguların E-Kaderin kuvvetli boyanma 3 hastanın 2'sinde görülürken (%66), zayıf boyanma 1 hastada görüldü (%34). Kapsüller invazyon saptanan 2 olgunun 2'side (%100) E-Kaderin kuvvetli boyandı. Perinöral invazyon, vasküler invazyon ve kapsüller invazyon varlığı ile E-kaderinin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=1,000$, $p=1,000$, $p=1,000$) (Tablo-5).

Nüks gösteren hastaların E-Kaderin kuvvetli boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80), zayıf boyanma 1 hastada görüldü (%20). Eks olan 4 hastanın 4'üde (%100) E-Kaderin kuvvetli boyandı. Nüks görülen veya görülmeyen ve eks olan veya olmayan hastalarla E-Kaderin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p=1,000$ ve $p=0,559$) (Tablo-5).

E-Kaderin kuvvetli boyananların sağkalım oranı %86,7, E-Kaderin zayıf boyananların sağkalım oranı %100'dü ($p=0,559$) (Şekil-23).



Şekil-23 : E-Kaderin'e göre sağkalım

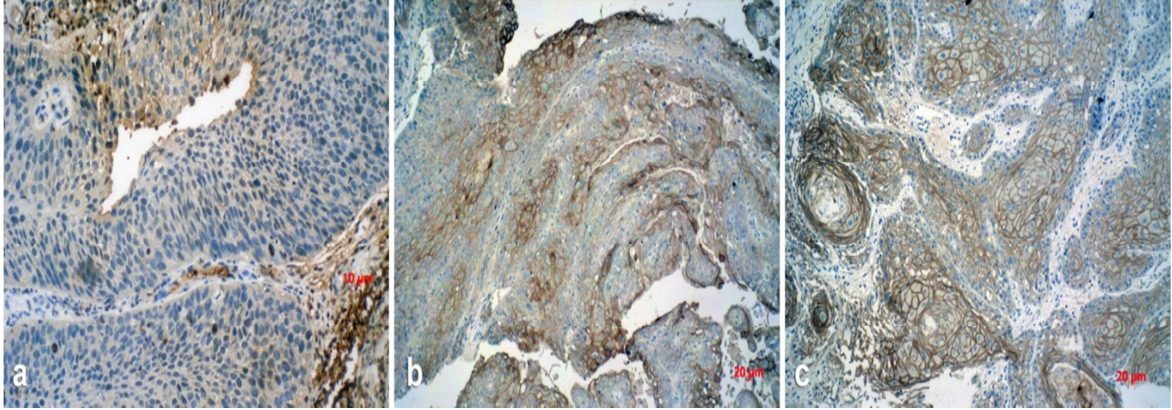
E-Kaderin ile ilgili tüm istatistiksel veriler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

E-Kaderin	Zayıf boyananlar(+) N,%	Güçlü boyananlar(++) N,%	P
Lokalizasyon Supraglottik Glottik	2(12,5) 9(36)	14(87,5) 16(64)	0,152
TNM T1 T2 T3 T4	5(33,3) 5(23,8) 1(20) -	10(66,7) 16(76,2) 4(80) -	0,473
T.Diferansiyasyon Az Orta İyi	3(33,3) 2(13,3) 6(35,2)	6(66,7) 13(86,7) 11(64,8)	0,614
Vasküler invazyon Var Yok	1(33,3) 10(26,3)	2(66,7) 28(73,7)	1,000
Perinöral invazyon Var Yok	1(20) 10(27,7)	4(80) 26(72,3)	1,000
Kapsül invazyonu Var Yok	- 11(28,2)	2(100) 28(71,8)	1,000
LN Pozitif Negatif	- 11(32,3)	7(100) 23(67,7)	0,160
Nüks Var Yok	1(20) 10(27,7)	4(80) 26(62,3)	1,000
Eks Var Yok	- 11(29,7)	4(100) 26(71,3)	0,559

Tablo-5: E-Kaderin ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatistiksel veriler

4.2 CerbB-2 İLE İLGİLİ İSTATİSTİKSEL BULGULAR

CerbB-2 için 15(%36,6) hasta negatif boyanırken, 14(%34,1) hasta 1+, 6(%14,6) hasta 2+, 6(%14,6) hasta 3+ boyandı (Şekil-24) .



Şekil-24:İmmunohistokimyasal olarak tümör adalarında CerbB-2 (a:(+) pozitif boyanma x200, b:(++) pozitif boyanma x100, c: (+++) pozitif boyanma x100)

CerbB-2 pozitif boyanması hem supraglottik hemde glottik tümörlerde negatif boyanmaya göre daha fazlaydı. Supraglottik tümörler için CerbB-2 pozitif boyanma 16 hastanın 12'sinde görülürken (%75), negatif boyanma 4 hastada görüldü (%25). Glottik tümörler için CerbB-2 pozitif boyanma 25 hastanın 14'ünde görülürken (%56), negatif boyanma 11 hastada görüldü (%44) . Tümörün anatomik yeri ile CerbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,185$) (Tablo-6).

T evrelemesine göre T1' de CerbB-2 için pozitif boyanma 15 hastanın 7'sinde görülürken (%46), negatif boyanma 8 hastada görüldü (%54). T2'de CerbB-2 pozitif boyanma 21 hastanın 15'inde görülürken (%71), negatif boyanma 6 hastada görüldü (%29). T3'de CerbB-2 pozitif boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80) , negatif boyanma 1 hastada görüldü(%20). CerbB-2'nin negatif boyanma veya pozitif boyanma dereceleri (1+,2+,3+) ile T evrelemesinin yükselmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadı ($p=0,098$) (Tablo-6).

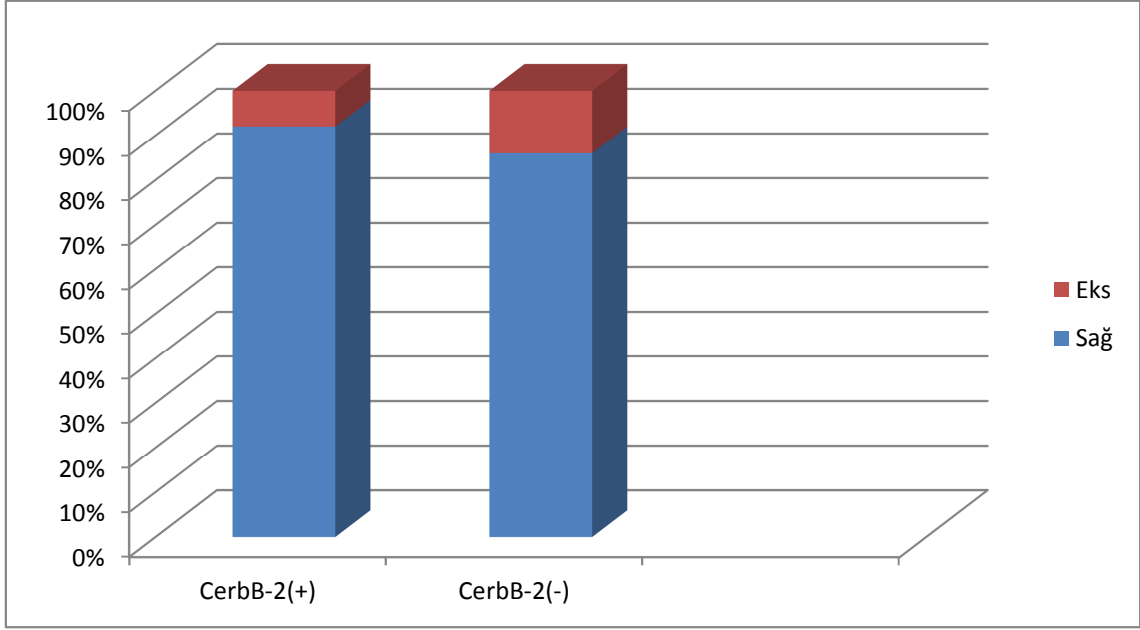
Servikal lenf nodu metastazı saptanan 7 olgunun 2'sinde (%28) CerbB-2 negatif boyanırken, 5 (%72) hastada pozitif boyandı. Ancak servikal lenf nodu metastazı olan veya olmayan hastalarla, CerbB-2nin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmadı ($p=0,623$) (Tablo-6).

Çalışmamız sırasında az diferansiye olguların CerbB-2 için pozitif boyanma 9 hastanın 5'inde görülürken (%55), negatif boyanma 4 hastada görüldü (%45). Orta diferansiye olguların CerbB-2 pozitif boyanma 15 hastanın 11'inde görülürken (%73), negatif boyanma 4 hastada görüldü (%27). İyi diferansiye olguların CerbB-2 için pozitif boyanan 17 hastanın 11'inde görülürken (%65), negatif boyanma 6 hastada görüldü (%35). CerbB-2 boyanması ile tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,859$) (Tablo-6).

Perinöral invazyonu olan 5 olgunun CerbB-2 için pozitif boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80), negatif boyanma 1 hastada görüldü (%20). Vasküler invazyonu olan 3 hastanın 3' üde (%100) CerbB-2 pozitif boyandı. Kapsüller invazyon gösteren 2 olgunun CerbB-2 pozitif boyanma 1 hastada görülürken (%50), negatif boyanma 1 hastada görüldü (%50). Perinöral invazyon, vasküler invazyon ve kapsüller invazyon varlığı ile CerbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı(sırasıyla $p=0,387$, $p=0,244$, $p=0,687$) (Tablo-6).

Nüks gösteren 5 hastanın 3'ünde(%60) CerbB-2 negatif boyanma gösterirken, 2'si(%40) pozitif boyandı. Nüks göstermeyenlerde CerbB-2 için pozitif boyanma 36 hastanın 24'ünde görülürken (%66), negatif boyanma 12 hastada görüldü (%34). Eks olan 4 hastanın 2'si(%50) negatif, 2'si(%50) pozitif boyandı. Sağ olan hastalarda ise CerbB-2 için pozitif boyanma 37 hastanın 24'ünde görülürken (%65) ,negatif boyanma 13 hastada görüldü (%35) Nüks olan hastalar ve eks olan hastalar ile CerbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı(sırasıyla $p=0,249$ ve $p=0,467$) (Tablo-6).

CerbB-2 pozitif boyananların sağkalım oranı %92,3 ,CerbB-2 negatif boyananların sağkalım oranı % 86,7 idi (Şekil-25).



Şekil-25 : CerbB-2'ye göre sağkalım

CerbB-2 ile ilgili tüm istatistiksel verileri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

CerbB-2	Negatif boyananlar(-) N,%	Pozitif boyananlar(+) N,%	P
Lokalizasyon Supraglottik Glottik	4(25) 11(44)	12(75) 14(56)	0,185
TNM T1 T2 T3 T4	8(53,3) 6(28,5) 1(20) -	7(46,7) 15(71,5) 4(80) -	0,098
T.Diferansiyasyon Az Orta İyi	5(55,5) 4(26,6) 6(35,2)	4(44,5) 11(74,4) 11(64,8)	0,859
Vasküler invazyon Var Yok	- 15(39,4)	3(100) 23(60,6)	0,244
Perinöral invazyon Var Yok	1(20) 14(38,8)	4(80) 22(61,2)	0,387

Kapsül invazyonu			
Var	1(50)	1(50)	0,687
Yok	14(35,8)	25(64,2)	
LN			
Pozitif	2(28,5)	5(71,5)	0,623
Negatif	13(38,2)	21(61,8)	
Nüks			
Var	3(60)	2(40)	0,249
Yok	12(33,3)	24(66,7)	
Ex			
Var	2(50)	2(50)	0,467
Yok	13(35,1)	24(64,9)	

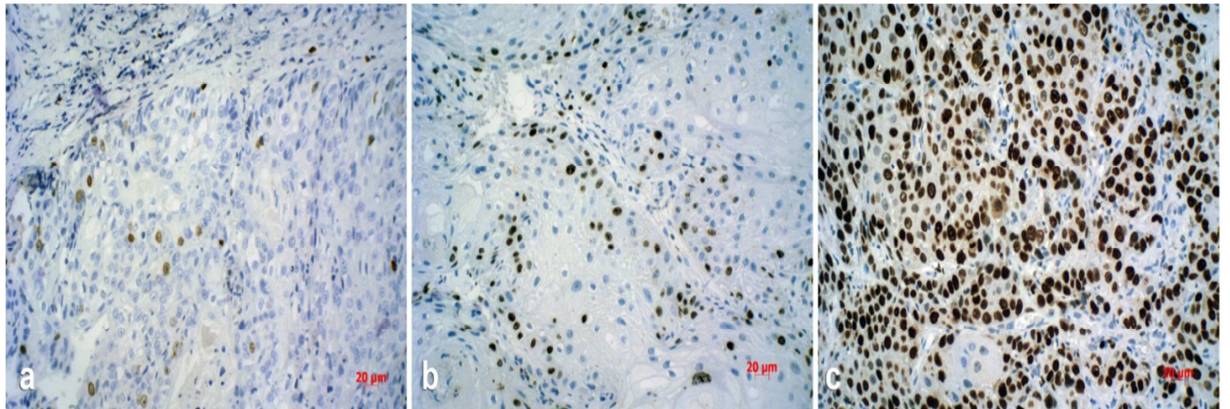
Tablo-6 : CerbB-2 ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatistiksel veriler

4.3 Ki-67 İLE İLGİLİ İSTATİSTİKSEL BULGULAR

Ki-67'de ilk yapılan yöntemde hiçbir hasta negatif boyanmazken, 3 (%7,3) hasta 1+ , 16 (%39) hasta 2+, 22 (%53,7) hasta 3+ olarak boyandı (Şekil-26).

Ki-67 için yapılan ikinci yöntemde hastaların boyanma yüzdelerinin ortalama değeri (Ki-67 proliferasyon indeksi) bulundu.(ortalama boyanma yüzdesi) 55,36 (%5-90) idi.

Ki-67 için yapılan üçüncü yöntemde 21(%51) hasta kesim değerinden yüksek yüzdeyle boyandı (pozitif =(Ki-67(+)) > 55). 20 (%49) hasta düşük düzeyde boyandı (negatif (Ki-67(-)) ≤ 55) .



Şekil-26: İmmunohistokimyasal olarak tümör adalarında ki67 (a: (+)pozitif boyanma x200, b: (++)pozitif boyanma x200, c: (+++)pozitif boyanma x200)

Ki-67'nin ilk analize göre (boyanmanın %10'un üstünün pozitif ,%10'un altının negatif kabul edildiği) pozitif boyanma oranı negatif boyanmaya göre hem supraglottik hemde glottik tümörlerde daha yüksekti. Supraglottik tümörlerde Ki-67 için 16 hastanın 16'sı(%100) pozitif boyandı. Glottik tümörler için Ki-67 pozitif boyanma 25 hastanın 22'sinde görülürken (%88) , negatif boyanma 3 hastada görüldü (%12). Ki-67 boyanması ile tümörün anatomik yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,268$) (Tablo 7,8,9).

Ayrıca supraglottik tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 59,37, glottik tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 52,8 idi. Tümörün anatomik yeri ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,564$) (Tablo 7,8,9).

Ki-67 ile yapılan üçüncü analizde ise (kesim değeri=55) supraglottik tümörler için pozitif boyanma 16 hastanın 9'unda görülürken (%57), negatif boyanma 7 hastada görüldü (%43). Glottik tümörler için Ki-67 pozitif boyanma 25 hastanın 12'sinde görülürken (%48), negatif boyanma 13 hastada görüldü (%52). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla tümörün anatomik yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,751$) (Tablo 7,8,9)

T evrelemesinde erken evre tümörlerde Ki-67 pozitif boyanma 36 hastanın 33'ünde görülürken (% 92), negatif boyanma 3 hastada görüldü (%8). Geç evre tümörlerdeki 5 olgunun 5i(%100) Ki-67 pozitif boyandı. Ki-67 boyanması ile T evrelemesinin erken veya geç evre olması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,670$) (Tablo 7,8,9). Ki-67'nin pozitif boyanma derecelerinin artması ile T evrelemesi yükselmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,446$) (Tablo 7,8,9)

Erken evre tümörlerde Ki-67'nin proliferasyon indeksi 55,27, geç evre de Ki-67'nin proliferasyon indeksi 56 idi. Tümörün erken evre veya geç evre olmasıyla Ki-67'nin proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,944$).

Ki-67'nin kesim değerine göre erken evre tümörlerde Ki-67 pozitif boyanma 36 hastanın 18'sinde görülürken (%50), negatif boyanma 18 hastada görüldü (%50). Geç evre tümörlerde ise Ki-67 pozitif boyanma 5 hastanın

3'ünde görülürken (%60), negatif boyanma 2 hastada görüldü (%40). Ki-67'nin kesim değerine boyanmasıyla tümörün erken evre veya geç evre olması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=1,000$) (Tablo 7,8,9).

Yaptığımız çalışmada; servikal lenf nodu metastazı saptanan 7 olgunun 7'sinde (%100) Ki-67 pozitif boyandı ancak servikal lenf nodunun pozitif veya negatif olmasıyla Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,561$).

Servikal lenf nodu metastazı saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 57,14; servikal lenf nodu metastazı olmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 55 'di. Servikal lenf nodunun pozitif veya negatif olmasıyla Ki-67'nin proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,812$).

Ki-67'nin kesim değerine göre lenf nodu metastazı saptanan tümörlerde Ki-67 pozitif boyanma 7 hastanın 3'ünde görülürken (%42), negatif boyanma 4 hastada görüldü(%58). Lenf nodu metastazı olmayan hastalarada ise Ki-67 pozitif boyanma 34 hastanın 18'inde görülürken (%53), negatif boyanma 16 hastada görüldü (%47). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla servikal lenf nodu metastazı olması veya olmaması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,697$) (Tablo 7,8,9).

Az diferansiye olan 9 olgunun 9'uda (%100) Ki-67 pozitif boyanma gösterdi. Orta diferansiye olgularda Ki-67 pozitif boyanma 15 hastanın 13'ünde görülürken (%86), negatif boyanma 2 hastada görüldü (%14). İyi diferansiye olgularda Ki-67 pozitif boyanma 17 hastanın 16'sında görülürken (%94), negatif boyanma 1 hastada görüldü (%6). Ki-67 boyanmasıyla tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,251$).

Az diferansiye tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 61,11, orta diferansiyede Ki-67 proliferasyon indeksi 56, iyi diferansiyede Ki-67 proliferasyon indeksi 51,76 olarak saptandı. Tümör diferansiyasyonuyla Ki-67 nin proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,299$) .

Ki-67'nin kesim değerine göre az diferansiye olan olgularda Ki-67 pozitif boyanma 9 hastanın 5'inde görülürken (%55) , negatif boyanma 4 hastada görüldü (%45). Orta diferansiye olgularda Ki-67 pozitif boyanma 15 hastanın 10'unda görülürken (%66), negatif boyanma 5 hastada görüldü (%34). İyi diferansiye olgularda Ki-67 pozitif boyanma 17 hastanın 6'sında görülürken, (%35), negatif boyanma 11 hastada görüldü (%65). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,179$) (Tablo 7,8,9).

Perinöral invazyon saptanan 5 hastanın 5'i(%100) de Ki-67 pozitif boyandı. Tümörün perinöral invazyonu varlığıyla Ki-67'nin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,670$).

Ayrıca perinöral invazyon saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 62, perinöral invazyon saptanmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 54,44 idi. Perinöral invazyonla Ki-67'nin proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,465$).

Ki-67 kesim değerine göre perinöral invazyonu olan olgularda pozitif boyanma 5 hastanın 3'ünde görülürken (%60), negatif boyanma 2 hastada görüldü (%40). Perinöral invazyon olmayan olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 36 hastanın 18'inde görülürken (%50), negatif boyanma 18 hastada görüldü(%50). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla perinöral invazyonun olup olmaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı ($p=1,000$) (Tablo 7,8,9).

Vasküler invazyon saptanan 3 hastanın 3'(%100)de Ki-67 pozitif boyandı. Tümörün vasküler invazyonu olup olmamasıyla Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,791$).

Ayrıca vasküler invazyon saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 70, vasküler invazyon saptanmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 54,21'idi. Vasküler invazyonla Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,221$).

Ki-67 kesim değerine göre vasküler invazyonu olan olgularda pozitif boyanma 3 hastanın 2'sinde görülürken (%66), negatif boyanma 1 hastada

görüldü (%34). Vasküler invazyon olmayan olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 38 hastanın 19'unda görülürken (%50), negatif boyanma 19 hastada görüldü (%50). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla vasküler invazyonun olup olmaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı ($p=1,000$) (Tablo 7,8,9).

Kapsüler invazyon saptanan 2 hastanın 2'side (%100) Ki-67 pozitif boyandı. Tümörün kapsüler invazyonu varlığıyla Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=1,000$).

Ayrıca kapsüler invazyon saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 65, kapsüler invazyon saptanmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 54,87'idi. Kapsüler invazyonla Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,519$).

Ki-67 kesim değerine göre kapsüler invazyonu olan olgularda pozitif boyanma 2 hastanın 1'inde görülürken (%50) , negatif boyanma 1 hastada görüldü (%50). Kapsüller invazyon olmayan olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 39 hastanın 20'sinde görülürken (%51), negatif boyanma 19 hastada görüldü (%49). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla kapsüller invazyonun olup olmaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=1,000$) (Tablo 7,8,9).

Nüks gösteren 5 hastanın 5'i(%100)de Ki-67 pozitif boyandı. Tümörün nüks göstermesi veya göstermemesiyle Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=1,000$).

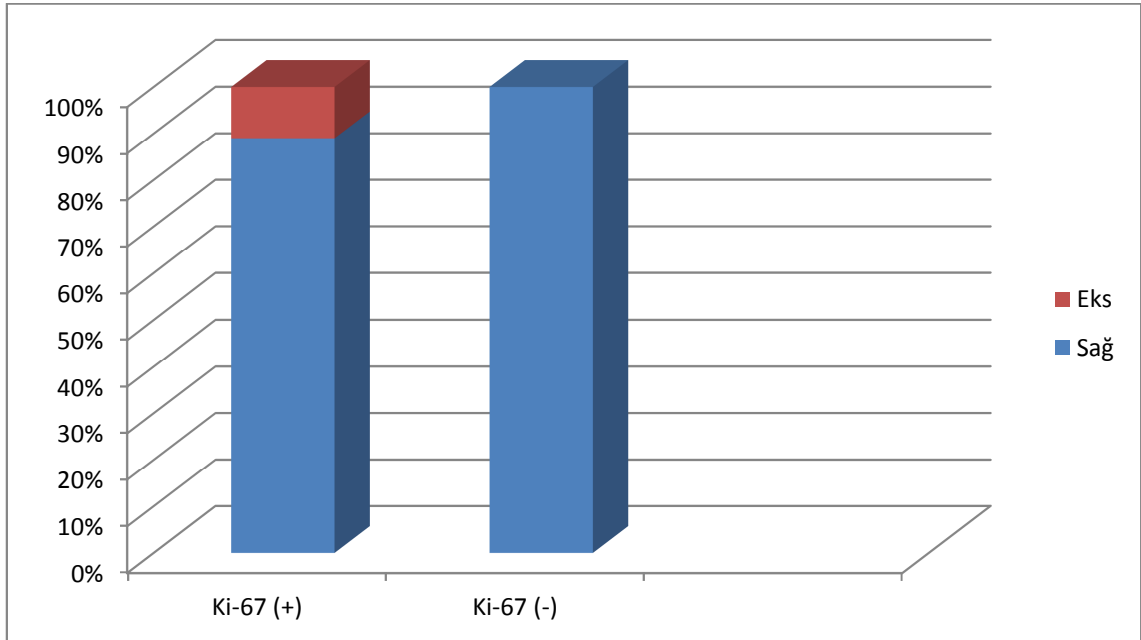
Ayrıca nüks saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 58, nüks saptanmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 55'idi. Tümörün nüks göstermesi veya göstermemesiyle Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,772$).

Ki-67 kesim değerine göre nüks gösteren olgularda pozitif boyanma 5 hastanın 3'ünde görülürken (%60), negatif boyanma 2 hastada görüldü (%40). Nüks göstermeyen olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 36 hastanın 18'inde görülürken (%50), negatif boyanma 18 hastada görüldü (%50). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla olguların nüks göstermesi veya

göstermemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı ($p=1,000$) (Tablo 7,8,9)

Eks olan 4 hastanın 4'ü (%100) de Ki-67 pozitif boyandı. Eks olan hastalarla sağ olan hastaların Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,772$). Eks olan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 57,50, sağ olan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 55,13'dü. eks olan veya sağ olan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,836$). Ki-67 kesim değerine göre eks olan olgularda pozitif boyanma 4 hastanın 2'sinde görülürken (%50), negatif boyanma 2 hastada görüldü(%50). Sağ olan olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 37 hastanın 19'unda görülürken (%51), negatif boyanma 18 hastada görüldü (%49). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla eks olan veya sağ olan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı ($p=1,000$)

Ki-67 pozitif boyananların (%10 boyanma üstünün pozitif kabul edildiği) sağkalım oranı %89,5, Ki-67 negatif boyananların (%10 boyanma altının negatif kabul edildiği) sağkalım oranı %100'dü ($p=1,000$) (Şekil-27).



Şekil-27 : Ki-67'ye göre sağkalım

Ki-67 ile ilgili tüm istatistiksel verileri aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Ki-67(ilk yöntem göre)	Negatif boyananlar N,%	Pozitif boyananlar N%	P
Lokalizasyon Supraglottik Glottik	- 3(12)	16(100) 22(88)	0,268
TNM T1 T2 T3 T4	2(13,3) 1(4,7) - -	13(86,7) 20(96,3) 5(100) -	0,446
T.Diferansiyasyon Az Orta İyi	- 2(13,3) 1(5,8)	9(100) 13(86,7) 16(94,2)	0,251
Vasküler invazyon Var Yok	- 3(7,8)	3(100) 35 (82,2)	0,791
Perinöral invazyon Var Yok	- 3(8,3)	5(100) 33 (91,7)	0,670
Kapsül invazyonu Var Yok	- 3(7,6)	2(100) 36(92,4)	1,000
LN Pozitif Negatif	- 3(8,8)	7(100) 31(91,2)	0,561
Nüks Var Yok	- 3(8,5)	5(100) 33 (91,5)	1,000
Ex Var Yok	- 3(8,1)	4(100) 34(91,9)	0,772

Tablo-7 : Ki-67 (%10'un üstünün pozitif,%10'un altının negatif kabul edildiği yöntem) ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatistiksel veriler

Ki-67 (proliferasyon indeksine göre)	Ortalama boyanma değeri(%)	Standart deviasyon (+/-)	P
Lokalizasyon Supraglottik Glottik	59,37 52,80	17,68 23,32	0,574
TNM T1/T2 T3/T4	55,27 56	22,06 16,73	0,944
T.Diferansiyasyon Az Orta İyi	61,11 56 51,76	16,91 26,06 19,11	0,299
Vasküler invazyon Var Yok	70 54,21	26,45 20,84	0,211
Perinöral invazyon Var Yok	62 54,44	22,80 21,27	0,465
Kapsül invazyonu Var Yok	65 54,87	35,35 20,97	0,519
LN Pozitif Negatif	57,14 55	18,89 22,01	0,812
Nüks Var Yok	58 55	20,49 21,67	0,772
Ex Var Yok	57,50 55,13	23,62 21,39	0,836

Tablo-8 : Ki-67 (proliferasyon indeksine göre) ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatistiksel veriler

Kİ-67 (Kesim değeri göre)	Ki-67(+) (Ki-67>55)/(%)	Ki-67(-) (Ki-67<55)/(%)	P
Lokalizasyon Supraglottik Glottik	9(%56) 12(%48)	7(%44) 13(%52)	0,751
TNM T1/T2 T3/T4	18(%50) 3(%60)	18(%50) 2(%40)	1,000
T.Diferansiyasyon Az Orta İyi	5(%55) 10(%66) 6(%35)	4(%45) 5(%34) 11(%65)	0,179
Vasküler invazyon Var Yok	2(%66) 19(%50)	1(%34) 19(%50)	1,000
Perinöral invazyon Var Yok	3(%60) 18(%50)	2(%40) 18(%50)	1,000
Kapsül invazyonu Var Yok	1(%50) 20(%51)	1(%50) 19(%49)	1,000
LN Pozitif Negatif	3(%43) 18(%53)	4(%57) 16(%47)	0,697
Nüks Var Yok	3(%60) 18(%50)	2(%40) 18(%50)	1,000
Eks Var Yok	2(%50) 19(%51)	2(%50) 18(%49)	1,000

Tablo-9 : Ki-67 (kesim değeri (55) üstünün pozitif,kesim değeri altının negatif kabul edildiği) ile klinikopatolojik değerler arasındaki tüm istatistiksel veriler

Son olarak çalışmamızda immünohistokimyasal boyamalar ile analiz edilen E-kaderin, CerbB-2 ve Ki-67'nin birbirleriyle olan korelasyonuna bakıldı.

E-kaderin zayıf boyananlarda Ki-67 proliferasyon indeksi 41,81, kuvvetli boyananlarda Ki-67 proliferasyon indeksi 60,33'idi. **E-kaderin kuvvetli boyanması ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında pozitif korelasyon saptandı (p=0,012)**

CerbB-2 pozitif boyananlarda Ki-67 proliferasyon indeksi 57,30, negatif boyananlarda Ki-67 proliferasyon indeksi 52'idi. CerbB-2 ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p=0,610).

E-kaderin kuvvetli boyanan 19 hasta aynı zamanda CerbB-2 pozitif boyandı. CerbB-2 negatif boyanan 4 hasta aynı zamanda E-Kaderin zayıf boyandı. E-kaderin ile CerbB-2 arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p=0,986)

5-TARTIŞMA

Larenks karsinomları organizmadaki tüm malign tümörlerin % 2-3'ünü oluşturur. Baş-boyun bölgesinde en sık görülen malign tümörler olup yaklaşık % 25 oranında görülür (3). Larenks karsinomlarının % 95'den fazlası yassı hücreli (skuamöz) karsinomlardır (4). Etyopatogeneizde sigara ve alkol bağımlılığının en sık görülen bağımsız risk faktörü olduğu bilinmektedir (63).

Agudelo ve ark.'larının (171) yaptığı bir çalışmada sigara ve alkol bağımlılığı olan hastalarda, lezyonların daha kısa sürede meydana geldiği ve daha kötü seyirli olduğu görülmüştür. Bizim olgularımızın da sigara içen hasta sayısı 40 (% 97,5) iken , alkol kullananlar 32 (%80) idi.

Larenks kanseri en sık 5-7. dekadlar arasında görülmektedir (64-66). Ortalama yaş 59-60 arası bulunmuştur (67,68). Bizim çalışmamızda olguların yaşları 44 ile 81 arasında değişmekte olup ortalama yaş 63,2 dir.

Yapılan çalışmalarda larenks kanserli hastaların cinsiyete göre görülme sıklığı erkeklerde %90,6-%97,7 arasında iken, kadınlarda ise %2,3-%9,4

arasındadır (67,68). Bir başka çalışmada ise batı hemisferde yaklaşık erkekler için insidans 9/100.000, bayanlarda ise 1,5/100.000'dir (154,155). Bizim çalışmamızda ise olguların 1'i (%2,5) kadın; 40'ı (%97,5) erkektir. Erkek sayısının bayan sayısına oranı 40/1'dir.

Nordgren ve ark. (69), tümör yerleşimini anatomik olarak larenkste % 72,09 glottik, %27,9 supraglottik olarak belirtmişler. Weinstein ve ark. (70), %84 glottik, %16 supraglottik kanser saptamışlardır. Cordes ve ark. (71), supraglottik (41.5%), glottik (50.9%) ve subglottik (5.7%) kanser saptamışlardır. Olgularımızın histopatolojik incelemesinde tümör bölgesine göre dağılımlara bakıldığında; 16'sı (%39) supraglottik, 25'i(% 61) glottikken, subglottik yerleşimli tümörü olan hasta yoktu. Tüm bu araştırmaların sonuçlarında da görüldüğü gibi, en fazla glottik, daha sonra supraglottik, en az sıklıkla da subglottik tümörler saptanmıştır.

Taş ve ark. (72), çalışmasında tümörlerin patolojik evrenmesinde yaklaşık yarısı erken evre (T1-T2) iken, diğer yarısı geç evre (T3-T4)'di. Finizia ve ark. (73), çalışmasında ise %17,8'i T1, %35,7'si T2, %32,1'i T3, %14,2'si T4 olduğu saptanmıştır. Weinstein ve ark (74) çalışmasında ise %6'sı T1, %48'i T2, %23'ü T3, %23'ü T4 olarak bildirildi. Bizim çalışmamızda ise olguların patolojik evrelendirilmesinde T1a 11 olguda(% 26,8), T1b 3 olguda(%7,4), T2 22 olguda(%53,6), T3 5 olguda(%12,1), T4 ise hiçbir olguda izlenmedi. Erken evre tümörler (T1-T2) 36 (%87,9) olguda, ileri evre tümörler (T3-T4) 5(%12,1)olgudaydı. Bizim çalışmamızda yapılan bu çalışmalardan farklı olarak T1-T2 ve T3-T4 tümörler arasında yaklaşık olarak yarı yarıya değil 1/7 lik bir oran vardı.

Lenf nodu metastaz varlığının baş boyun bölgesi tümörleri için en önemli bağımsız prognostik faktör olduğu bilinmektedir (75,76). Servikal LN'u metastazı olan olgularda 5 yıllık sağkalım oranını % 50 oranında azalmaktadır. Baş boyun kanserli hastalarda LN metastazının preoperatif saptanması etkili tedavinin yapılabilmesi için kritik öneme sahiptir. Primer tümörün boyutları, invazyon derinliği LN metastazı varlığı açısından her zaman belirleyici değildir. Primer

tümörü çok küçük olan hastalarda da yaygın LN metastazı görülebilmektedir (75). Bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntülemesi, ultrasonografi, pozitron emisyon tomografisi ve ultrasound eşliğinde ince iğne aspirasyonu gibi yeni gelişen teknikler kullanıldığında bile mikroskopik gizli, metastazların saptanması % 80 duyarlılıkta başarılabilmektedir (77,78). Bu nedenle LN metastazlarının saptanması için moleküler belirleyicilere olan ilgi artmıştır.

Bizim olgularımızda servikal lenf nodu metastazı olan 7 (%17,5) hasta saptandı. Boynun patolojik lenf nodunun değerlendirilmesinde 7 (%100) hastada N1 iken, hiçbir hastada N2 ve N3 yoktu. Bu 7 hastanın 7'side(%100) supraglottik yerleşimli tümörlerin lenf nodu metastazıydı. Glottik tümörlerde ise herhangi bir lenf nodu metastazı saptanmadı. **Supraglottik kanserli olgularda servikal lenf nodu metastazı oranı, glottik kanserli olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. (p=0,001)** Ayrıca olgularımızda preoperatif klinik değerlendirilmelerinde 9 hastada lenf nodu metastazı düşünülmüş ve bunların histopatolojik inceleme sonucunda 7'sinde karsinom metastazı saptanmıştır.

Li ve ark. (85), yaptığı çalışmada 64 larenks karsinomlu olgularının tedavi sonrası takiplerinde 39 (%61) hastada nüks görülmüştür. Bu hastaların 17'si(%43) lokal nüks, 20'si(%51) rejyonel nüks, 2'si (%6) uzak metastaz saptandı. Krecki ve ark. (90), yaptığı çalışmada ise 154 larenks karsinomlu olguların klinik takiplerinde 90(%58,4) hastada nüks görüldü. Rodrigo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 101 larenks karsinomlu hastaların tedavi sonrası takiplerinde 33 (%32,6) olguda nüks görmüşlerdir. Bunların 8'i (%24) lokal nüks, 22'sinde(%67) rejyonel nüks, 3'ünde(%9) uzak metastaz saptandı. Bizim çalışmamızda ise hastaların 5'inde (%12,2) nüks görüldü. Bunların 1'inde(%20) lokal nüks, 3'ünde(%60) rejyonel nüks, 1'inde(%20) uzak metastaz (akciğer) görüldü.

Kazkayası ve ark. (89), yaptığı çalışmada 27 larenks karsinomu olgularının tedavisi sonucunda ortalama hasta takipleri 13,2 ay olup, bu süre zarfında 4(%14,8) hastaları eks olmuştur. Ortalama sağkalım oranı %86,2'idi. Li ve ark. (85), 64 larenks karsinomlu olgusunda tedavi sonrası 5 yıllık takiplerinde

27 (%42) hasta eks olmuştur. 5 yıllık ortalama sağkalım oranını %58 bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda olguların tedavi sonrasında ortalama takip süresi 18,2 aydı. 4 hasta (%9,7) klinik takipleri devam ederken eks oldu.

Çalışmamızda Ortalama sağkalım ise %90,2 idi.

Tümör evresi, anatomik lokalizasyonu, histolojik diferansiyasyonu ve boyunda metastaz varlığı larenks kanserleri için genel prognostik faktörler olarak düşünölmekle birlikte özellikle boyun metastazı varlığı kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir. Ancak benzer histopatolojik tanı, grade ve evresi olan tümörlerde dahi farklı tümör davranışları gözlemlenebilmesi farklı prognostik faktörlerin araştırılmasına ve yeni moleküler çalışmaların yapılmasına yönlendirmektedir. Hastalara uygulanan tedavinin belirlenmesi, nüks faktörlerinin ortaya konması giderek önem kazanmaktadır. Birçok genetik faktörün tümör gelişimi konusunda sorumlu olduğu bilinmektedir. Tümör gelişimi; tümör supresor genler ve proto-onkogenler'deki genetik bozukluklar arasında oldukça sıkı ilişki bulunmuştur (12,14,79,80). Baş boyun bölgesindeki bir çok tümörde bu genetik faktörler araştırılmış ve bu faktörlerin tümör prognozu üzerine etkileri incelenmiştir. Bizde bu çalışmamızda larenks kanserlerinde E-Kaderin, CerbB-2, Ki-67'nin etkisini ortaya koymayı amaçladık.

E-Kaderin; hücreler arasında bağlantı sağlayan bir adezyon molekülüdür. E-Kaderin salınımı arttıkça hücreler arasındaki bağlantı kuvvetleneceği için tümör gelişme riski azalacaktır. Tersine E-Kaderin salınımının azalması hücreler arasındaki bağlantıyı kopararak tümör gelişimi ve metastaz için uygun ortam oluşacaktır. E-Kaderin ekspresyon kaybı larenks karsinogenezinde erken evrelerde başlar.

Galera-Ruiz ve ark. (84), yaptığı çalışmada larenks kanserlerinin E-Kaderin ile boyanmasının %50 den az boyanmasına zayıf, %50 den fazla boyanmasını kuvvetli boyanma olarak değerlendirmiş ve bu kritere göre olgularının %62'sinin kuvvetli boyandığı %38'in zayıf boyandığını görmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da aynı boyanma skalası uygulanmış ve E-Kaderinle boyanma açısından %73,1'i kuvvetli, %26,9'u zayıf boyanmıştır.

Mittari ve ark. (83), yaptığı bir çalışmada E-Kaderin salınımının azaldığı veya kaybolduğu olguların özellikle supraglottik bölgede yerleştiği görülmüştür. Takes ve ark. (168), yaptığı çalışmada ise E-Kaderin salınımı ile tümörün anatomik yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulmamışlardır. Bizim olgularımızda ise hem supraglottik hemde glottik tümörlerde kuvvetli boyanma zayıf boyanmaya göre daha fazlaydı (sırasıyla kuvvetli boyanma %87,5 ve %64). Ancak tümörün anatomik yeri ile E-Kaderinin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,152$).

Li ve ark. (85), 64 larenks kanserli olgularında T evrelemesine göre sınıflandırmalarında 8(%12,5) hastada T1 ,14 (%21,8) hastada T2, 32(%50) hastada T3, 10(%15,7) hastada T4 saptandı. Erken evre(T1-T2) tümör ile geç evre (T3-T4) oranı yaklaşık 1/2 idi. Çalışmalarında olgularının T evrelemesinin artmasıyla E-Kaderin kuvvetli boyanma oranının düştüğünü görmüşlerdir. Ancak istatistiksel olarak E-Kaderin ile T evrelemesinin artması arasında anlamlı korelasyon saptamamışlardır ($p>0,05$) .Bizim çalışmamızda ise T evrelemesi arttıkça E-Kaderin kuvvetli boyanmasının arttığı görüldü. (T1'de E-Kaderin için kuvvetli boyanma 15 hastanın 10'unda görülürken (%66), zayıf boyanma 5 hastada görüldü (%34). T2 'de E-Kaderin kuvvetli boyanma 21 hastanın 16'sında görülürken (%71) zayıf boyanma 5 hastada görüldü (%29). T3'de E-Kaderin kuvvetli boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80), zayıf boyanma 1 hastada görüldü (%20)). E-Kaderin boyanması ile T evrelemesinin yükselmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,473$). Ayrıca erken evrelerde (T1-T2) E-Kaderin kuvvetli boyanma 36 hastanın 26'sında görülürken (%72), zayıf boyanma 10 hastada görüldü (%28). Geç evrelerde E-Kaderin kuvvetli boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80) zayıf boyanma 1'inde görüldü (%20). E-Kaderin boyanması ile tümörün erken veya geç evre olması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı ($p=0,592$).

Rodrigo ve ark. (75) yaptığı bir çalışmada supraglottik larenks karsinomlarında E-Kaderin salınımı azaldığında servikal LN metastazının arttığı görülmüş ve bu hastalar gizli metastaz açısından riskli bulunmuştur ($p=0,007$). Ayrıca E-Kaderin ekspresyonunun düşüklüğünün lenf nodu metastazı riskini

artırdığı için klinik olarak lenf nodu metastazı saptanmayan larenks kanserlerinde; boyunlara yaklaşımda tedavi planı için E-Kaderin önem kazanmıştır ve bu hastalara elektif boyun diseksiyonu yapılması gerektiğini savunmuştur (75). Liu ve ark. çalışmasında (86); LN metastazı mevcut olan 59 adet larengeal ve hipofarengeal karsinom olgusu incelenmiş ve E-Kaderin salınımı azaldıkça lenf nodu metastazlarının da arttığını saptamışlar ancak E-Kaderin salınımı ile LN metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptamamışlardır ($p>0,05$). Franchi ve ark. (169) yaptığı çalışmada; klinik olarak negatif olan ancak selektif boyun diseksiyonu sonrası okült lenf nodu metastazı saptanan 30 larengeal karsinomlu hasta ile hem klinik olarak hemde selektif boyun diseksiyonu sonrası lenf nodu metastazı saptanmayan 30 hastalık kontrol grubu hastalarının E-Kaderin ile ilgili immünohistokimyasal çalışmalarında E-Kaderin ile okült metastaz arasında korelasyon saptamışlardır ($p<0,05$). Bizim çalışmamızda servikal lenf nodu metastazı olan 7 olgunun 7'sinde (%100) E-kaderin kuvvetli boyandı ancak servikal lenf nodu metastazı olan veya olmayan hastalarla, E-Kaderinin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmadı ($p=0,156$).

Rodrigo ve ark. (87), diğer bir çalışmasında 101 larenks kanserli olgusunda 45(%44,5) hasta iyi diferansiye, 36(%35,6) hasta orta diferansiye, 20 (%19,9) hasta az diferansiyeydi. Az diferansiye olgularında E-Kaderin zayıf boyanmasının; orta diferansiye ve iyi diferansiye olgularına göre daha fazla olduğunu görmüşlerdir. Ancak tümör diferansiyasyonu ile E-Kaderin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır ($p=0,890$). Bowie ve ark. (170) ile Mittari ve ark. (83), yaptıkları çalışmada az diferansiye olgularında E-Kaderin zayıf boyanmanın kuvvetli boyanmaya göre anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır($p<0,05$). Bizim çalışmamızda az diferansiye olgularda E-Kaderin kuvvetli boyanma 9 hastanın 6'sında görülürken (%66), zayıf boyanma 3 hastada görüldü (%34). Orta diferansiye olgularda E-Kaderin kuvvetli boyanma 15 hastanın 13'ünde görülürken (%87), zayıf boyanma 2 hastada görüldü (%13). İyi diferansiye olgularda E-Kaderin kuvvetli boyanma 17 hastanın 11'inde görülürken (%64), zayıf boyanma 6 hastada görüldü (%36). Ancak E-

Kaderin boyanması ile tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,614$).

Kurtz ve ark. (88), yaptığı çalışmada larenks kanserlerindeki içeren yassı epitel karsinomlu baş boyun kanserlerinde vasküler invazyonu olan olgularında E-Kaderin için zayıf boyanma 17 hastanın 10'unda görülürken (%59), kuvvetli boyanma 7 hastada görüldü (%41). Vasküler invazyonu olmayan olgularında E-Kaderin için zayıf boyanma 10 hastanın 3'ünde görülürken (%30), kuvvetli boyanma 7 hastada görüldü (%70). E-Kaderin boyanması ile vasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır ($p=0,002$). Yine aynı çalışmada perinöral invazyonu olan olgularında E-Kaderin için kuvvetli boyanma 35 hastanın 21'inde görülürken (%60), negatif boyanma 14 hastada görüldü (%40). Perinöral invazyonu olmayan olgularında E-Kaderin için pozitif boyanma 10 hastanın 7'sinde görülürken (%70), negatif boyanma 3 hastada görüldü (%30). Perinöral invazyon varlığıyla E-Kaderinin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmadılar ($p=0,57$). Bizim çalışmamızda perinöral invazyon saptanan olguların E-Kaderin kuvvetli boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80), zayıf boyanma 1 hastada görüldü (%20). Vasküler invazyon saptanan olguların E-Kaderin kuvvetli boyanma 3 hastanın 2'sinde görülürken (%66), zayıf boyanma 1 hastada görüldü (%34). Kapsüller invazyon saptanan 2 olgunun 2'sinde (%100) E-Kaderin kuvvetli boyandı. Perinöral invazyon, vasküler invazyon ve kapsüller invazyon varlığı ile E-Kaderinin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=1,000$, $p=1,000$, $p=1,000$).

Li ve ark. (85), larenks kanserli 64 hastanın incelenmesinde; nüks gösteren 39 hastanın 17'sinde (%43,5) lokal nüks, 20'sinde (%51,2) rejyonel nüks, 2'sinde (%5,1) uzak metastaz görüldü ve klinik takiplerinde 27'si eks olmuştur. Nüks olan olgularının E-Kaderin zayıf boyanması kuvvetli boyanmaya göre oldukça fazlaydı ve E-Kaderin boyanması ile hastaların nüks görülmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır ($p=0,025$). Rodrigo ve ark. (87), yaptığı çalışmada eks olan hastaları ile E-Kaderin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır ($p=0,06$). Bizim çalışmamızda 5 hastada (%12,1) nüks görüldü. Bu hastaların 1'inde (%20) lokal nüks, 3'ünde (%60) rejyonel nüks, 1'inde (%20) uzak metastaz gösteren hastanın 2'si klinik

takipleinde eks olmuştur. Ayrıca nüks gösteren 5 hastanın 4'ünün (%80) E-Kaderin ekspresyonu kuvvetli boyanma gösterirken, eks olan 4 hastanın 4'ünde(%100) kuvvetli boyandı. Ancak hastaların nüks görülmesi ve eks olmasıyla E-Kaderin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p=1,000$ ve $p=0,559$).

CerbB-2'nin fazla ekspresyonu birçok malignite gelişiminde gözlenmektedir ve bu nedenle hücre transformasyonu ve tümör patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Son yapılan çalışmalarda yassı hücre karsinomlu baş boyun kanserli hastaların tümör dokularında CerbB-2 amplifikasyonun artması hücrelerin proliferasyonunda, diferansiyasyonunda, adezyonunda, migrasyonunda, tümör invazyonunda ve apoptosizde önemli rol oynadığı saptanmıştır .

Kazkayası ve arkadaşlarının (89) yaptığı çalışmada Larenks kanserli olgularının CerbB-2 ile boyanma derecesini 0,1+,2+,3+ olarak değerlendirmiş olguların %48'i pozitif (1+,2+,3+) boyanmıştır. Bizim çalışmamızda da aynı boyanma skalası uygulanmış ve olguların %63'ü pozitif boyanmıştır.

Krecicki ve arkadaşlarının (90) 154 larenks kanserli olgularında bizim çalışmamıza benzer boyama skalası uygulanmış ve tümörün anatomik yeri açısından supraglottik kanserlerde %55,5'i CerbB-2 pozitif boyanırken, %44,5'ü CerbB-2 negatif boyandı. Glottik kanserlerde %49,4'ü CerbB-2 pozitif boyanırken, %50,6'sı CerbB-2 negatif boyandı. Tümörün anatomik yeri ile CerbB-2 nin pozitif veya negatif boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamışlardır ($p=0,240$). Bizim çalışmamızda ise CerbB-2 pozitif boyanması hem supraglottik hemde glottik tümörlerde negatif boyanmaya göre daha fazlaydı. Supraglottik tümörler için CerbB-2 pozitif boyanma 16 hastanın 12'sinde görülürken (%75), negatif boyanma 4 hastada görüldü (%25). Glottik tümörler için CerbB-2 pozitif boyanma 25 hastanın 14'ünde görülürken (%56), negatif boyanma 11 hastada görüldü (%44). Ancak tümörün anatomik yeri ile CerbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,185$).

Krecicki'nin aynı çalışmasında T evrelemesine göre T1'de CerbB-2 için pozitif boyanma 32 hastanın 21'inde görülürken (%65), negatif boyanma 11 hastada görüldü (%35). T2'de CerbB-2 için pozitif boyanma 28 hastanın 11'inde görülürken (%39) negatif boyanma 17'sinde görüldü (%61). T3'de CerbB-2 için pozitif boyanma 35 hastanın 18'inde görülürken (%52), negatif boyanma 17 hastada görüldü (%48), T4'de CerbB-2 için pozitif boyanma 59 hastanın 35'inde görülürken (%59), negatif boyanma 24 hastada görüldü (%41). T evrelemesinin artmasıyla CerbB-2 pozitif veya negatif boyanması arasında anlamlı korelasyon bulunmamıştır (p=0,102). Bizim çalışmamızda ise T evrelemesine göre T1' de CerbB-2 için pozitif boyanma 15 hastanın 7'sinde görülürken (%46), negatif boyanma 8 hastada görüldü (%54). T2'de CerbB-2 pozitif boyanma 21 hastanın 15'inde görülürken (%71), negatif boyanma 6 hastada görüldü (%29). T3'de CerbB-2 pozitif boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80) , negatif boyanma 1 hastada görüldü (%20) CerbB-2'nin boyanma dereceleri ile T evrelemesinin yükselmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı yakın olsada pozitif korelasyon bulunmadı (p=0,098)

Khademi ve ark. (91) yaptığı çalışmada larenks kanserli olguların lenf nodu metastazı ile CerbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,1). Weinstein ve ark. (162), lenf nodu metastazı ile CerbB-2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır (p<0,05). Kazkayası ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (89) lenf nodu metastazı saptananlarda CerbB-2 için pozitif boyanma 12 hastanın 7'sinde görülürken (%58), negatif boyanma 5 hastada görüldü (%42). Lenf nodu metastazı saptanmayan olgularda Cerbb-2 için pozitif boyanma 15 hastanın 6'sında görülürken (%40), negatif boyama 9 hastada görüldü (%60). Lenf nodu metastazı ile CerbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmadılar. (p=0,343). Bizim çalışmamızda lenf nodu metastazı saptanan 7 olgunun 2'sinde(%29) CerbB-2 negatif boyanırken, 5 hastada (%71) pozitif boyandı. Ancak servikal lenf nodu metastazı olan veya olmayan hastalarla, CerbB-2nin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmadı (p=0,623).

İbrahim ve ark. (92) yaptığı çalışmada tümör diferansiasyonu ile CerbB-2 boyanması arasında korelasyon saptamamışlardır (p>0,005). Silva ve ark.

yaptığı çalışmada (102) az diferansiye olgularda CerbB-2 için pozitif boyanma 5 hastanın 2'sinde görülürken (%40), negatif boyanma 3 hastada görüldü (%60). Orta diferansiye olgularda CerbB-2 için pozitif boyanma 13 hastanın 10'unda görülürken (% 79) ,negatif boyanma 3 hastada görüldü (%21). İyi diferansiye olgularda CerbB-2 için pozitif boyanma 10 hastanın 8'inde görülürken (%80), negatif boyanma 2 hastada görüldü (%20). Tümör diferansiyasyonu ile CerbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulmadılar ($p>0,05$). Bizim çalışmamızda az diferansiye olguların CerbB-2 için pozitif boyanma 9 hastanın 5'inde görülürken (%55), negatif boyanma 4 hastada görüldü (%45). Orta diferansiye olguların CerbB-2 pozitif boyanma 15 hastanın 11'inde görülürken (%73), negatif boyanma 4 hastada görüldü (%27). İyi diferansiye olguların CerbB-2 için pozitif boyanan 17 hastanın 11'inde görülürken (%65), negatif boyanma 6 hastada görüldü (%35). Ancak CerbB-2 boyanması ile tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,859$)

Silva ve ark. (102), 2010 yılında yaptığı çalışmada perinöral invazyon, vasküler invazyon ve kapsüller invazyonu olan olgularının hepsinde Cerbb-2'nin negatif boyanan hasta sayısı pozitif boyanan hasta sayısına göre daha fazla oranda görülmüştür. Perinöral invazyon saptanan olgularda CerbB-2 için pozitif boyanma 14 hastanın 4'ünde görülürken (%29), negatif boyanma 10 hastada görüldü (%71). Vasküler invazyon saptanan olgularda CerbB-2 için pozitif boyanma görülmezken (%0), negatif boyanma 3 hastanın 3'ünde görüldü (%100). Kapsüller invazyon saptanan olgularda CerbB-2 için pozitif boyanma 11 hastanın 3'ünde görülürken (%27), negatif boyanma 8 hastada görüldü (%73). Perinöral invazyon, vasküler invazyon ve kapsüller invazyonu varlığıyla CerbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamışlardır ($p>0,05$). Bizim çalışmamızda perinöral invazyonu olan 5 olgunun CerbB-2 için pozitif boyanma 5 hastanın 4'ünde görülürken (%80), negatif boyanma 1 hastada görüldü (%20). Vasküler invazyonu olan 3 hastanın 3' üde (%100) CerbB-2 pozitif boyandı. Kapsüller invazyon gösteren 2 olgunun CerbB-2 pozitif boyanma 1 hastada görülürken (%50), negatif boyanma 1 hastada görüldü (%50). Perinöral invazyon, vasküler invazyon ve kapsüller invazyon varlığı ile C-

erbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı.(sırasıyla $p=0,387$, $p=0,244$, $p=0,687$)

Krecicki ve arkadaşlarının (90) yaptığı çalışmada nüks gösteren hastalarda CerbB-2 için pozitif boyanma 94 hastanın 54'ünde görülürken (%57), negatif boyanma 40 hastada görüldü(%43). Nüks göstermeyenlerde CerbB-2 için pozitif boyanma 60 hastanın 32'sinde görülürken (%53) negatif boyanma 28'inde görüldü (%47). Ancak hastaların nüks göstermesi veya göstermemesiyle CerbB-2 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır ($p=0,575$) . Shiga ve arkadaşları (157) nüks gösteren olgularda CerbB-2 pozitifliğin istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlar ve özellikle CerbB-2 overekspresyonu gösterilmesi durumunda kemoterapi ile tedavisi önermişlerdir. Yo ve arkadaşlarının (163) yaptığı çalışmada nüks gösteren ve özellikle uzak metastaz (akciğer) gösteren olgularında CerbB-2 pozitifliğini anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise nüks gösteren 5 hastanın 3'ünde(%60) CerbB-2 negatif boyanma gösterirken, 2'si(%40) pozitif boyandı. Nüks göstermeyenlerde CerbB-2 için pozitif boyanma 36 hastanın 24'ünde görülürken (%66), negatif boyanma 12 hastada görüldü (%34). Olguların nüks göstermesi veya nüks göstermemesiyle CerbB-2 boyanması arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,249$).

Kazkayası ve ark (89) yaptığı çalışmada eks olan 4 olgunun 4'ünde CerbB-2 (%100) negatif boyandı,sağ olan hastalarının CerbB-2 için pozitif boyanma 23 hastanın 13'ünde görülürken (%56), negatif boyanma 10 hastada görüldü (%44). Ancak eks olan hastaların CerbB-2 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır ($p=0,370$) Bizim çalışmamızda ise eks olan 4 hastanın 2'si(%50) CerbB-2 negatif 2'si (%50) pozitif boyandı. Sağ olan hastalarda ise CerbB-2 için pozitif boyanma 37 hastanın 24'ünde görülürken (%65,) negatif boyanma 13 hastada görüldü (%35). Ancak eks olan hastalarla sağ olan hastaların CerbB-2 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,467$).

Tümör gelişimi ve progresyonunda önemli bir rolü olduğu düşünülen artmış proliferasyonun göstergesinden biride Ki-67 (MIB-1) dir. Hücre proliferasyonunun

morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, mitotik indeks ve tümör gradelemesinde sıklıkla kullanılır.

Pastuszewski ve ark. (93) yaptığı 65 skuamöz hücreli larenks kanserli çalışmada olguların Ki-67 boyanması 0,1+,2+,3+ olarak sınıflandırılmış ve tüm olguların Ki-67 ile pozitif derecelerden birinin boyandığını saptamıştır. Bizim çalışmamızda yaptığımız ilk analizde Ki-67 ile boyanma benzer skalaya uyulmuş ve bizim de tüm olgularımız pozitif derecelerden biriyle boyanmıştır.

Cordes ve ark. (95), yaptığı çalışmada larenks kanserli hastaların Ki-67 proliferasyon indeksini 59,1 bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise Ki-67 proliferasyon indeksi 55,36 bulunmuştur.

Acıkalın ve ark. (94) yaptığı çalışmada supraglottik tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksini 28,42, glottik tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 16,10 bulmuştur. Ancak tümörün anatomik yeri ile Ki-67 indeksi arasında istatistiksel olarak fark görmemişlerdir ($p>0,05$). Bizim çalışmamızda ise hem supraglottik hemde glottik tümörlerde Ki-67'nin pozitif boyanma oranı negatif boyanmaya göre daha yüksekti. Supraglottik tümörlerde Ki-67 için 16 hastanın 16'sı(%100) pozitif boyandı. Glottik tümörler için pozitif boyanma 25 hastanın 22'sinde görülürken (%88), negatif boyanma 3 hastada görüldü (%12). Ancak Ki-67 boyanması ile tümörün anatomik yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı. ($p=0,268$). Ayrıca supraglottik tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 59,37, glottik tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 52,8'idi. Ancak tümörün anatomik yeri ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı($p=0,564$). Ki-67 ile yapılan üçüncü analizde ise kesim değerine göre supraglottik tümörler için pozitif boyanma 16 hastanın 9'unda görülürken (%57), negatif boyanma 7 hastada görüldü (%43). Glottik tümörler için Ki-67 pozitif boyanma 25 hastanın 12'sinde görülürken (%48), negatif boyanma 13 hastada görüldü (%52). Ancak Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla tümörün anatomik yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,751$).

Cordes ve ark. (95), yaptığı çalışmada T evrelemesi artıkça boyanma yüzdelerinin arttığını göstermişler. T1 tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi

52.3, T2 tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 54,7 ,T3 tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 60.9, T4 tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 61.5 Ancak T evrelemesi ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır (p=0,100). Acıkalın ve ark.(94), yaptığı çalışmada larenks kanserli hastalarda erken evre tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 20,27 ,geç evre tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 34,43 bulmuşlardır . Ki-67 indeksi ile erken evre veya geç evre tümörleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır (p<0,05). Bizim çalışmamızda Ki-67'nin pozitif boyanma derecelerinin artması ile T evrelemesi yükselmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı (p=0,446). T evrelemesinde erken evre tümörlerde Ki-67 pozitif boyanma 36 hastanın 33'ünde görülürken (% 92), negatif boyanma 3 hastada görüldü (%8). Geç evre tümörlerdeki 5 olgunun 5i(%100) Ki-67 pozitif boyandı. Ancak Ki-67 nin boyanması ile T evrelemesinin erken veya geç evre olması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,670). Ayrıca erken evre tümörlerde Ki-67'nin proliferasyon indeksi 55,27, geç evrede Ki-67'nin proliferasyon indeksi 56 idi. Tümörün erken evre veya geç evre olmasıyla Ki-67 nin proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı (p=0,944). Ki-67'nin kesim değerine göre erken evre tümörlerde Ki-67 pozitif boyanma 36 hastanın 18'sinde görülürken (%50), negatif boyanma 18 hastada görüldü (%50). Geç evre tümörlerde ise Ki-67 pozitif boyanma 5 hastanın 3'ünde görülürken (%60), negatif boyanma 2 hastada görüldü (%40). Ancak Ki-67 nin kesim değerine göre boyanmasıyla tümörün erken evre veya geç evre olması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı (p=1,000)

Su-mei ve ark. (97), 66 supraglottik karsinomalı ve 36 lenf nodu metastazı olan vakalarında yaptığı çalışmada lenf nodu metastazı olan veya olmayan hastalarla Ki-67'nin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmuştur (p<0,05). Cordes ve ark. (95), yaptığı çalışmada lenf nodu metastazı negatif olan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 57,2, N1 olan olgularında Ki-67 proliferasyon indeksi 56,5, N2 olgularında Ki-67 proliferasyon indeksi 67,1 bulmuşlardır. Lenf nodu evrelemesinin artmasıyla Ki-67 proliferasyon indeksi arasında anlamlı korelasyon bulmuşlardır (p=0,001). Lazaris ve ark. (149)

larenks kanserli olgularda yaptığı çalışmada Ki-67'nin %20 (kesim değeri) üstünde boyanma gösteren olgularda lenf nodu metastazının anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür ($p<0,05$). Bizim çalışmamızda ise servikal lenf nodu metastazı saptanan 7 olgunun 7'sinde(%100) Ki-67 pozitif boyandı ancak servikal lenf nodunun pozitif veya negatif olmasıyla Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,561$). Ayrıca servikal lenf nodu metastazı saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 57,14 ; servikal lenf nodu metastazı olmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 55 'idi. Servikal lenf nodunun pozitif veya negatif olmasıyla Ki-67 nin proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,812$). Ki-67'nin kesim değerine göre lenf nodu metastazı saptananan tümörlerde Ki-67 pozitif boyanma 7 hastanın 3'ünde görülürken (%42), negatif boyanma 4 hastada görüldü(%58). Lenf nodu metastazı olmayan hastalarada ise Ki-67 pozitif boyanma 34 hastanın 18'inde görülürken (%53), negatif boyanma 16 hastada görüldü (%47). Ancak Ki-67 kesim değerine göre boyanmasıyla servikal lenf nodu metastazı olması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,697$)

Sarafoleanu ve ark. (98), 71 skuamöz hücreli larenks kanserli hastada yaptığı çalışmada az diferansiye olgularda Ki-67 proliferasyon indeksi 23,7, orta diferansiye olgularında Ki-67 proliferasyon indeksi 14,9, iyi diferansiye olgularında Ki-67 proliferasyon indeksi 13 buldular. Tümör diferansiyasyonuyla Ki-67 proliferasyon indeksi arasında anlamlı korelasyon saptamışlardır. ($p<0,05$). Izawa ve ark. yaptığı çalışmada (145) iyi diferansiye olgularda Ki-67 proliferasyon indeksi 7,66, az diferansiye olgularda Ki-67 proliferasyon indeksini 20,79 bulmuşlar ve tümör diferansiyasyonuyla Ki-67 proliferasyon indeksi arasında ters korelasyon saptamışlardır ($p<0,01$). Bizim çalışmamızda ise az diferansiye olan 9 olgunun 9'u (%100) Ki-67 pozitif boyanma gösterdi. Orta diferansiye olgularda Ki-67 pozitif boyanma 15 hastanın 13'ünde görülürken (%86), negatif boyanma 2 hastada görüldü (%14). İyi diferansiye olgularda Ki-67 pozitif boyanma 17 hastanın 16'sında görülürken (%94), negatif boyanma 1 hastada görüldü (%6). Ki-67'nin boyanmasıyla tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,251$). Az diferansiye

tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi 61,11, orta diferansiyede Ki-67 proliferasyon indeksi 56, iyi diferansiyede Ki-67 proliferasyon indeksi 51,76 olarak saptandı. Tümör diferansiyasyonu ile Ki-67'nin proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,299$) . Ki-67 kesim değerine göre az diferansiye olan olgularda Ki-67 pozitif boyanma 9 hastanın 5'inde görülürken (%55) , negatif boyanma 4 hastada görüldü (%45). Orta diferansiye olgularda Ki-67 pozitif boyanma 15 hastanın 10'unda görülürken (%66), negatif boyanma 5 hastada görüldü (%34). İyi diferansiye olgularda Ki-67 pozitif boyanma 17 hastanın 6'sında görülürken, (%35), negatif boyanma 11 hastada görüldü (%65). Ki-67'nin kesim değerine göre tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0,179$).

Çallı ve ark. (99), yaptığı 37 larenks kanserli olgularında vasküler invazyonu olan olguların Ki-67 için pozitif boyanma 9 hastanın 8'inde görülürken (%89), negatif boyanma 1 hastada görüldü (%11). Perinöral invazyonu olan olguların Ki-67'nin pozitif boyanma 15 hastanın 11'inde görülürken (%73) negatif boyanma 4 hastada görüldü (%27) . Ancak vasküler invazyonu ve perinöral invazyon varlığıyla Ki-67 boyanmasıyla istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamışlardır ($p>0,05$) . Bizim çalışmamızda perinöral invazyon saptanan 5 hastanın 5'i(%100) de Ki-67 pozitif boyandı. Ancak tümörün perinöral invazyonu varlığıyla Ki-67'nin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,670$). Ayrıca perinöral invazyon saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 62, perinöral invazyon saptanmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 54,44 idi. Ancak perinöral invazyonla Ki-67'nin proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,465$) . Ki-67 kesim değerine göre perinöral invazyonu olan olgularda pozitif boyanma 5 hastanın 3'ünde görülürken (%60), negatif boyanma 2 hastada görüldü (%40). Perinöral invazyon olmayan olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 36 hastanın 18'inde görülürken (%50), negatif boyanma 18 hastada görüldü (%50). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla perinöral invazyonun olup olmaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=1,000$) Vasküler invazyon saptanan 3 hastanın 3'ü(%100) de Ki-67 pozitif boyandı. Ancak tümörün vasküler invazyonu olup olmamasıyla Ki-

67'nin pozitif veya negatif boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,791$). Ayrıca vasküler invazyon saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 70, vasküler invazyon saptanmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 54,21 idi. Ancak vasküler invazyonla Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,221$). Ki-67 kesim değerine göre vasküler invazyonu olan olgularda pozitif boyanma 3 hastanın 2'sinde görülürken (%66) negatif boyanma 1 hastada görüldü (%34). Vasküler invazyon olmayan olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 38 hastanın 19'unda görülürken (%50) negatif boyanma 19 hastada görüldü (%50). Ki-67'nin kesim değerine göre pozitif veya negatif boyanmasıyla vasküler invazyonun olup olmaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=1,000$) Kapsüler invazyon saptanan 2 hastanın 2'sinde (%100) Ki-67 pozitif boyandı. Ancak tümörün kapsüler invazyonu varlığıyla Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=1,000$). Ayrıca kapsüler invazyon saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 65, kapsüler invazyon saptanmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 54,87 idi. Ancak kapsüler invazyonla Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,519$). Ki-67 kesim değerine göre kapsüler invazyonu olan olgularda pozitif boyanma 2 hastanın 1'inde (%50) negatif boyanma 1 hastada görüldü (%50). Kapsüller invazyon olmayan olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 39 hastanın 20'inde görülürken (%51), negatif boyanma 19 hastada görüldü (%49). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla kapsüller invazyonun olup olmaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=1,000$)

Acıkalın ve ark. (94) yaptığı çalışmada nüks görülen vakalarında Ki-67 proliferasyon indeksi 34,2 ,nüks görülmeyen vakalarında Ki-67 proliferasyon indeksi 14,50 bulmuşlardır. Nüks olan vakalarıyla nüks olmayan vakalarının Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı sonuç bulmuşlardır ($p<0,01$). Yine aynı çalışmada kesim değeri olarak 21 alınmış ve Ki-67'nin kesim değerinden yüksek olan vakalarında nüks oranının arttığını göstermişlerdir. Welkoborsky ve ark. (130) yaptıkları 40 olguluk larenks

karsinomlarında nüks görülen vakalarında nüks görülmeyenlere göre Ki-67 proliferasyon indeksinin oldukça yüksek olduğunu göstermiştir ($p<0,05$). Sittel ve ark. (150) erken evre larenks tümörlerinde yaptığı çalışmada Ki-67'nin nüks gösteren hastalarda anlamlı derecede yükseldiği özellikle de nüks görülme zamanının azaltıldığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise nüks gösteren 5 hastanın 5'i(%100) de Ki-67 pozitif boyandı. Ancak tümörün nüks göstermesi veya göstermemesiyle Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=1,000$). Ayrıca nüks saptanan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 58, nüks saptanmayan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 55 idi. Ancak tümörün nüks göstermesi veya göstermemesiyle Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,772$). Ki-67 kesim değerine göre nüks gösteren olgularda pozitif boyanma 5 hastanın 3'ünde görülürken (%60), negatif boyanma 2 hastada görüldü (%40). Nüks göstermeyen olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 36 hastanın 18'inde görülürken (%50), negatif boyanma 18 hastada görüldü (%50). Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla olguların nüks göstermesi veya göstermemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı ($p=1,000$)

Sarafoleanu ve ark. (98) 71 skuamöz hücreli larenks kanserli hastada yaptığı çalışmada eks olan olgularında Ki-67 proliferasyon indeksi 20,8, sağ olan olgularında Ki-67 proliferasyon indeksi 15,7 buldular. Eks veya sağ olan hastalarıyla Ki-67 proliferasyon indeksi arasında anlamlı korelasyon saptamışlardır ($p<0,05$). Bizim çalışmamızda ise eks olan 4 hastanın 4'ü (%100) de Ki-67 pozitif boyandı. Ancak eks olan hastalarla sağ olan hastaların Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,772$). Ayrıca eks olan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 57,50, sağ olan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi 55,13' dü. Ancak eks veya sağ olan hastaların Ki-67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,836$). Ki-67 kesim değerine göre eks olan olgularda pozitif boyanma 4 hastanın 2'sinde görülürken (%50), negatif boyanma 2 hastada görüldü(%50). Sağ olan olgularda Ki-67 kesim değerine göre pozitif boyanma 37 hastanın 19'unda görülürken (%51), negatif boyanma 18 hastada görüldü

(%49).Ki-67'nin kesim değerine göre boyanmasıyla olguların eks veya sağ olan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı ($p=1,000$)

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonucunda immünohistokimyasal boyamalarla bakılan E-Kaderin, CerbB-2 ve Ki-67 biyomarkerların; tümörün lokalizasyonu, T evresi, histopatolojik tanı, tümör diferansiyasyonu, servikal lenf nodu metastazı, perinöral invazyon, vasküler invazyon, kapsüler invazyon, nüks, eks ve sağkalım açısından karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak anlamlı sonuç gösterilemedi. Bu bulgular çalışılan belirteçlerin güvenilir prognostik ve prediktif faktör olmadıklarını gösterdi

Supraglottik kanserli olgularda servikal lenf nodu metastazı oranı, glottik kanserli olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı bir Şekilde yüksek bulundu ($p=0,001$).

E-Kaderin kuvvetli boyanması ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında pozitif korelasyon saptandı ($p=0,012$). E-Kaderin ekspresyonun azalmasının larenks kanserlerinde tümörün invazyon özelliğinin, T ve N evrelemesinin artmasıyla ve kötü prognozla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu ekspresyon iyi diferansiye ve daha az invasiv tümörlerde; hücre-hücre adezyonunu sayesinde indiferansiye tümör geçişine karşı korumaktadır. E-Kaderin ile Ki-67 proliferasyonundaki bu pozitif korelasyon bize larenks kanserlerinde histopatolojik diferansiyasyonun yüksek proliferasyon indeksine rağmen muhafaza edildiğini gösterdi

T evrelemesine göre sağkalım oranı hesaplandı. T1 tümörlerde %100, T2'de %90,9, T3'de %60 bulundu. T evrelemesinin artması ile sağkalım oranının düşmesi arasında anlamlı korelasyon saptandı ($p=0,016$)

Kapsüler invazyonu olan olguların sağkalım oranı %0, kapsüler invazyonu olmayan olguların sağkalım oranı %94,8 bulundu. Kapsüler invazyonla sağkalım oranının düşmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,007$).

7-KAYNAKLAR

- 1- ATTAR, E., DEY, S., HABLAS, A., IBRAHİM, A., RAMADAN, M., ROZEK, L., AMR-S, S, S., Head and neck cancer in a developing country: A population-based perspective across 8 years. *Oral Oncology* 46 (2010) 591–596
- 2- CONWAY,D., Enhancing epidemiologic research on head and neck cancer: INHANCE – The international head and neck cancer epidemiology consortium. *Oral Oncology* 45 (2009) 743–746
- 3- OLİVERA, D., BACCHİ, M., RİCARDO, S., TAGLIARİNİ, J, V., CORDERİO, C., BACCHİ E. Human Papillomavirus and Epstein-Barr Virus Infection, p53 Expression, and Cellular Proliferation in Laryngeal Carcinoma. *Am J.Clin Pathol* 2006,126:284-293.
- 4- CARLES, E, M., WIATRAK, J., MCCLATCHEY, K., KOOPMANN, C., THOMAS,C., BRADFORD,R., CAREY,T., High-risk human papillomavirus types and squamous cell carcinoma in patients with respiratory papillomas. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery* 1999, 120; 5: 698-705.
- 5- <http://anatomi.uludag.edu.tr/hakan1.htm>. Erişim Tarihi: 30.07.2012.
- 6- KAYA, S., Larenks Hastalıkları. *Bilimsel Tıp Yay*, 2002;539–716
- 7- KOÇ, C., Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi 1. Baskı *Güneş Kitabevi Ltd. Şti*, 2003: 1141-1154
- 8- CAYLAN, R., Larenks Anatomisi ve Fizyolojisi *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi Güneş Kitabevi* 2004;19–57
- 9- BALLENGER, J, J., SNOW, J, B., *Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi çev.* 15. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2006;422-437
- 10- LEE, K, J., *Essential Otolaryngology*, McGraw Hill, 2004;596-792
- 11- FREDRICK, L, GREENE., *AJCC Cancer Staging Atlas 6th ed.*, 2006
- 12- WEİR, N., Anatomy of the Larynx and Tracheobronchial tree. In: Scott-Brown's Otolaryngology. *Butterworth-Heinemann Int* 1997; Vol 1: 12/1-12/27
- 13- JUNQUEİRA, L, C., CARNERİO, J., KELLEY, R, O., Respiratory tract Basic Histology. 8th ed.

- 14- KOZUMA, S., NAMATO, A., OKAI, T., MIZUNO, M., Maturation sequence of fetal breathing movements. *Biol Neonate* 1991. 60(suppl 1)_ 36
- 15- MILLS, S, E., FECHNER, R, E., Larynx and pharynx. *Lipincott-Raven*; 1997:391-409.
- 16- ROSAI, J., Larynx and trachea. *Surgical Pathology*; 2004. . 305-358.
- 17- KJAERHEIM, K., GAARD, M., ANDERSEN, A., the role of alcohol,tobacco and dietary factors in upper aerogastric tract cancers,a prospectif study of 10,900 norwegian men, *Cancer Causes Control* 1998;9:99-108
- 18- SIEMIATYCKI, J., RICHARDSON, L., STRAIF, K., Listing occupational carsinodens. *Environ health perspect* 112:1447-1459
- 19- DILNER, J., The serological response to papillomaviruses. 1999,9;423-430
- 20- BECKER, M., ZBAREN, P., LAENG, H., Neoplastic invasion of laryngeal cartilage: comprasion of MR imaging, CT with histopathologic correlation. *Radiology* 1995 Mar;194(3):661-9
- 21- IARC (1999). IARC monographs on evulation of carcinogenetic risks to humans volüme 71 part 1
- 22- KOÇ, C., Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi 1. Baskı Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti, 2003: 1183-1216
- 23- HAYDAROĞLU, A., BÖLÜKBAFIL, Y., ÖZSARAN, Z., Analysis of cancer registration data in Ege University: evaluation of 34134 cases 2007;22(1):22-28
- 24- MEHDİYEV, H., GÖKCAN, M., DOĞAN, M., DEMİRTAŞ, M., Larenks kanseri tanısı almış 629 hastada ikinci primer maligniteler. *Cumhuriyet Med J* 2010; 32: 331-333
- 25- JEMAL, A., SIEGEL, R., WARD, E., MURRAY, T., XU, J., SMİGAL, C., Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006;56(2):106-30.
- 26- BAŞERER, N., Larenks malign neoplazmlarında tedavi. İç: Çelik O, ed. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi Turgut Yay İstanbul 2002;667–683
- 27- ERİŞEN, L., YERCI, Ö., YALÇINKAYA, U., KOÇER, N., ALBAYRAM, S., ENGİN, K., ARAN, M., ÖZ, F., Baş- boyun kanserlerinde boyuna yaklaşım. Baş BoyunKanserleri Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul 2003;437–502

- 28- FREDERICK, L., GREENE, J., AJCC Cancer Staging Atlas 6th ed. Chicago: Springer, 2006
- 29- BARRY, B, L., DENNIS, A., MEDICAL ONCOLOGY & PRINCIPLES OF CANCER BIOLOGY CHAPTER 1
- 30- MERLO, L, M., PEPPER, J, W., REID, B, J., (2006).Cancer as an evolutionary and ecological process.*Nat Rev Cancer* 6: 924-935.
- 31- OLIVER, M., PETITJEAN, A., MARCEL, V., Recent advances in p53 research: an interdisciplinary perspective. *Cancer Gene Ther Advance online yayinlari* 19 September 2008. DOI: 10.1038/cgt.2008.69.
- 32- HERCEG, Z., HAINUT, P., (2007). Genetic and epigenetic alterations as biomarkers for cancer detection, diagnosis and prognosis *Molecular Oncology* 1: 26-41.
- 33- LOEB, L, A., BIELAS, J, H., BECKMAN, R, A., (2008). Cancers exhibit a mutator phenotype: clinical implications *Cancer Res* 68: 3551-3557.
- 34- REMACLE, M., ECKEL, H, E., ANTONELLI, A., Endoscopic cordectomy. Approposal for a classification by working comittee. European Laryngological Society. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000; 257:227-231
- 35- CEVANŞİR, B., BAŞARER, N., YAZICIOĞLU, E., Laryngectomies partielles frontolateralles et frontoanteriores. *Proceedings of the XV. World Congress of ORL Head and Neck Surgery. Vol II İstanbul* 1993:798-801
- 36- MYERS, E, N., ALVÍ, A., Management of carcinoma of supraglottic larynx; evaluation,current concepts and future trends. *Laryngoscope* 1996 May;106(5 Pt1):599-67
- 37- BAILEY, B, J., Glottic carcinoma in BJ Bailey, HF Biler eds. Surgery of larynx .WB Saunders Comp Philadelphia 1985,257
- 38- CUMMINGS, C, W., FREDRICKSON J, M., HARKER L, A., KRAUSE C, J., RICHARDSON, M, A., SCHULLER D, E., Otolaryngology head & neck surgery. 1998;116: 2229-36.
- 39- Scientific American Inc. Weinberg (1996) *Scientific American* 275(3):62-70
- 40- PICCART-GEBHART, M, J., PROCTER, M., LEYLAND-JONES, B., Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 353:1659-1672, 2005.

- 41- ROMOND, E, H., PEREZ, E, A., BRYANT, J., Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:1673-1684.
- 42- MAURER, C, A., FRIESS, H., KRETSCHMANN, B., ZIMMERMAN A, STAUFER, A., BEAR, H, U., Increase expression of erb3 in colorectal cancer is associated with concomitant increase in the level of erb2. *Human pathol* 1998;29:771-777
- 43- DOWNARD, J., YARDEN, Y., MAYES, E., SCRASE, G., TOTTY, N., STOCKWELL, P., WATFIELD, M, D., Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erbB oncogene protein sequences. *Nature* 1994;307:521-527
- 44- HAUGEN, D, R., AKSLEN, L, A., VARHAUGH, J, E., LILLEHAUGH J, R., Expression of c-erbB3 and c-erbB4, proteins in papillary thyroid carcinomas, *Cancer Res* 1996;56:1184-1188
- 45- FREGONESI P, A, G., TERASA, D, B., DUARTE , R, A., P16INK4A immunohistochemical overexpression in premalignant and malignant oral lesions infected with human papillomavirus. *The journal of histochemistry and cytochemistry* 2003; 51(10): 1291-1297.
- 46- COTRAN, R, S., KUMAR, V., COLLINS, T. Robbins Pathologic Basis of Disease. 6 th Ed., Philadelphia, 1999.
- 47- TSAKONAS, A., MATTHEW, D., Notch signaling: cell fate control and signal development, *Science* 1999;284:770-777.
- 48- FRENETTE, P, S., DENISA, D., WAGNER, D, D., Adhesion molecules-Part I, *N Engl J Med* 1996;334:1527-9.
- 49- HOLTFRETER, J., Significance of the cell membrane in embryonic processes, *Ann NY Acad Sci* 1948;49:709-60.
- 50- STEINBERG, M, S., Does differential adhesion govern self-assembly process in histogenesis? Equilibrium configurations and the emergence of a hierarchy among populations of embryonic cells. *J Exp Zool* 1970;173:395-434.
- 51- BEHRENS, J., Cadherins as determinants of tissue morphology and suppressors of invasion, *Acta Anat (Basel)* 1994;149:165-9

- 52- ALATTIA, J. R., TONG, K. I., TAKEICHI, M., IKURA, M., Cadherins, *Methods Molecular Biology* 2002;172:199-210.
- 53- HARRIS, C. C., Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies, *Journal of The National Cancer Institute* 1996;88: 1442-1546.
- 54- OZAWA, M., RINGWALD, M., KEMLER, R., Uvomorilin-catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmic region of the cell adhesion molecule, *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:4246-50.
- 55- SYRJÖNEN, K. J., HPV infections in benign and malignant sinonasal lesions. *J Clin Pathol* 2003; 56: 174-181.
- 56- JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J., KELLEY, R. O., Basic Histology Respiratory tract. 8th ed.
- 57- LEE, S. W., H-cadherin, a novel growth inhibitory function and diminished expression in human breast cancer. *Nature Med* 1996;2:776-82.
- 58- BEHRENS, J., MAREEL, M. M., VANROY, F., BRICHMEIR, W., Dissecting tumor cell invasion: Epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulin-mediated cell-cell adhesion, *J Cell Biol* 1998;108:2435-47
- 59- FRIXEN, U., BEHRENS, J., SACHS, M., E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cell lines, *J Cell Biol* 1991; 111:173-85.
- 60- SCHOLZEN, T., GERDES, J., The Ki-67 Protein: From the Known and the Unknown. *Journal of Cellular Physiology* 2000; 182: 311-322.
- 61- MATTIOLI, E., VOGIATZI, P., SUN, A., Immunohistochemical Analysis of pRb2/p130, VEGF, EZH2, p53, p16INK4A, p27KIP1, p21WAF1, Ki-67 Expression Patterns in Gastric Cancer. *Journal of Cellular Physiology* 2007;210:183-191.
- 62- ALISON, M. R., Assessing cellular proliferation: What's worth measuring? *Hum Exp Toxicol* 1995;14:935-944.
- 63- RABAH, R., SAKR, W., THOMAS, R., LANCASTER, W. D., GREGOIRE L. Human papillomavirus type, proliferative activity, and p53. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:721-4.

- 64- PILLSBURY, H, R., KIRCHNER, J, A., Clinical vs histopathologic staging in laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol.*1979 Mar;105(3):157-9.
- 65- BOHNDORF,K., Assesment of laryngeal carcinoma before therapy: value of computed tomography and magnetic resonance tomography. *Strahlenther Oncol.*1991 Apr;167(4):239-43
- 66-SULFARO, S., BARZAN, L., QUERIN, F., T-staging of laryngohypopharyngeal carcinoma; A 7 year multidisciplinary experience. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1989 May;115(5):613-20
- 67- ZBAREN, P., BECKER, M., LAENG, H., Staging of laryngeal cancer : endoscopy, computed tomography and magnetic resonance versus histopathology. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1997;254 Suppl 1 1:S117-22
- 68- AYDIN Ö, IŞIK C, Ü., ACAR, A., CUHRUK, Ç., Larenks Kanserlerinin preoperative T Evrelemesinde Bilgisayarlı Tomografinin Değeri. *KBB ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi.* 1997; 5:1-60-63
- 69- NORDGREN, M., ABENDSTEIN, H., JANNERT, M. Health-related quality of life five years after diagnosis of laryngeal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003 Aug 1;56(5):1333–1343.
- 70- WEINSTEIN, G, S., EL-SHAWY, M, M., RUIZ, C., DOOLEY, P., CHALIAN, A., EL-SAYED, M, M., GOLDBERG, A. Laryngeal preservation with supracricoid partial laryngectomy results in improved quality of life when compared with total laryngectomy. *Laryngoscope.* 2001 Feb;111(2):191–199
- 71- CORDES, C., MUNZEL, A., RUDOLPH, P., HOFFMANN, M., LEUSCHNER, I., GOTTSCHLICH, S., Immunohistochemical Staining of Ki-67 Using the Monoclonal Antibody Ki-S11 Is a Prognostic Indicator for Laryngeal Squamous Cell Carcinoma *Anticancer research* 29: 1459-1466 (2009)
- 72- TAŞ, A., YAGİZ, R., KARASALIOĞLU, A, R., KOTEN, M., Adali, M, K., Uzun, C., Assessment of quality of life in patients with laryngeal cancer after surgical treatment. *Kulak Burun Boğaz İhtis Derg.* 2004;12(3–4):84–90
- 73- FİNİZİA, C., HAMMERLİD, E., WESTLİN, T., LINDSTORM, J., Quality of life and voice in patients with laryngeal carcinoma: a posttreatment comparison of laryngectomy (salvage surgery) versus radiotherapy. *Laryngoscope.* 1998 Oct;108(10):1566–73

- 74- CHARLİN, B., BRAZEU–LAMONTAGNE, L., GURRIER, B., LEDUC, C., Assessment of laryngeal cancer: CT scan versus endoscopy. *J Otolaryngol.* 1989 Oct;18(6): 283-8
- 75- RODRİGO, J, P., DOMİNGUEZ, F., SUAREZ, V., CANEL, M., SECADES, P., Focal adhesion kinase and E-cadherin as markers for nodal metastasis in laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007, Feb;133(2):145-150.
- 76- FORASTİRE, A., KOCH, W., TROTTİ, A., SIDRANSKY, D., Head and neck cancer. *N Engl J Med* 2001;345: 1890-1900.
- 77- JİN, Y, T., KAYSER, S., KEMP, B, L., ORDONEZ, N, G., TUCKER, S, L., CLAYMAN, G, L., GOPHERT, H., LUNA M, A., The prognostic significance of the biomarkers p21WAF1/CIP1, p53, and bcl-2 in laryngeal squamous cell carcinoma. *Cancer* 1998, 82:2159- 2165.
- 78- VANDENBREKEL M, W, M., CASTELİJNS, J, A., SNOW ,G, B., Diagnostic evaluation of the neck. *Otolaryngol Clin North Am* 1998;31:601-619.
- 79- <http://www.singingvoice.net/anatomy.html>. Erisim Tarihi: 06/12/2011
- 80- <http://anatomi.uludag.edu.tr/hakan1.htm>. Erisim Tarihi: 01.12.2011
- 81- NARİSAWA-SAITO, M., KIYONO, T., Mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced cervical carcinogenesis. *Nippon Rinsho* 2009 Jan;67(1):53-61.
- 82- WİJNHOVEN, B, P, L., DİNJENS W, N, M., PİGNATELLİ M., E- cadherin-catenin cell-cell adhesion complex and human cancer. *Br J Surg* 2000;87:992-1005.
- 83- MİTTARİ, E., CHARALABOPOULOS A., BATİSTATOU, A., CHARALABOPOLOUS, K., The role of E-cadherin / catenin complex in laryngeal cancer. *Exp Oncol* 2005 Dec;27(4):257-61.
- 84- GALERA-RUIZ , H., RİOS-MORENO M, J., CAMPORA R., ORTEGA, A., FERNANDEZ, A., GALERA-DAVİDSON, H., The cadherin–catenin complex in laryngeal squamous cell carcinoma *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2012) 269:1183–1188 DOI 10.1007/s00405-011-1892-4 123
- 85- JİNG-JİA Lİ , ZHANG, Z., YANG, X., Lİ,S., LİU, X., YANG, Q., LİA, Y., Reduced E-cadherin expression is associated with lymph node metastases in laryngeal squamous cell carcinoma,*Auris Nasus Larynx* 39 (2012) 186–192

- 86- LIU, M., LAWSON, G., DELOS, M., JAMART, J., CHATELIAN, B., REMACLE, M., MAEBAIX, E., 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, Jan;260 (1) :28-34.
- 87- RODRÍGOA, J, P., DOMÍNGUEZ, F., ALVARECZ, C., MANRÍQUE, C., SUAREZA, C., Expression of E-cadherin in squamous cell carcinomas of the supraglottic larynx with correlations to clinicopathological features. *European Journal of Cancer* 38 (2002) 1059–1064
- 88- KURTZ, K., HOFFMAN, T., ZIMMERMAN, M, B., ROBINSON, R, A., Decreased E-cadherin but not beta-catenin expression is associated with vascular invasion and decreased survival in head and neck squamous carcinomas. *Otolaryngology head and neck surgery* 2006 jan;134(1):142-6
- 89- KAZKAYASI, M., HUCUMENOĞLU, S., SİRİNER, G, I., HUCUMENOGLU, M., Over-expression of *p53* and *c-erbB-2* oncoproteins in laryngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2001; 258: 329–335
- 90- KREČICKÍ, T., JELEN, M., KREČICKÍ, M., C-erb-B2 immunostaining in laryngeal cancer. *Acta Otolaryngol* 1999;119 :392-395
- 91- KHADEMIA, B., SHIRIZAB, F, B., VASEIC, M., DOROUDCHIB, M., GANDOMIA, B., MODJTAHEDIE, H., PEZESHKID, A., GHADERI, A., The expression of p53, c-erbB-1 and c-erbB-2 molecules and their correlation with prognostic markers in patients with head and neck tumors *Cancer Letters* 184 (2002) 223–230
- 92- IBRAHIM, S, O., LILLEHAUG, J, R., JOHANNESSEN, A, C., LIAVAAG, P, G. , NILSEN, R., VASSTRAND, E, N., Expression of biomarkers (p53, transforming growth factor alpha, epidermal growth factor receptor, c-erbB-2/neu and the proliferative cell nuclear antigen) in oropharyngeal squamous cell carcinomas, *Oral Oncol.* 35 (1999) 302–313.
- 93- PASTUSZEWSKI, W., DZIEGEL, P., KREČICKÍ, T., PODHORSKA-OKOLOW, M., CIESIĘLSKA, U., GORZYNSKA, E., ZABEL, M., Prognostic significance of metallothionein, p53 protein and Ki-67 antigen expression in laryngeal cancer. *Anticancer Res.* 2007 ;27:335-342

- 94- ACIKALIN, M, F., ONER, U., TEL, N., PASAZOGLU, O., CAKLI, H., COLAK, E., Prognostic significance of Ki-67 expression for patients with laryngeal squamous cell carcinoma primarily treated by total laryngectomy , *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2004) 261 : 376–380
- 95-CORDES, C., MUNZEL, A, K., RUDOLPH, P., HOFFMANN, M., LEUSCHNER, I., GOTTSCHLICH, S., Immunohistochemical Staining of Ki-67 Using the Monoclonal Antibody Ki-S11 Is a Prognostic Indicator for Laryngeal Squamous Cell Carcinoma, *ANTICANCER RESEARCH* 29: 1459-1466 (2009)
- 96- RODRIGUES, R, B., MOTTA, R, R., MACHADO, S, M., CAMBRUZZI, E., ZETTLER, E, W., ZETTLER, C, G., JOTZ, G, P., Prognostic value of the immunohistochemistry correlation of Ki-67 and p53 in squamous cell carcinomas of the larynx. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2008;74:855-859.
- 97-SU-MEI, L., LIANG, Y., TIAN, J., MAJU, K., JIAN-FENG, L., XU, W., WANG H., Twist modulates lymphangiogenesis and correlates with lymph node metastasis in supraglottic carcinoma, *Chinese Medical Journal* 2011;124(10):1483-1487
- 98- SARAFOLEANU, D., POSTELNICU, V., LOSIF, C., MANEA, C., The role of p53, PCNA and Ki-67 as outcome predictors in the treatment of laryngeal cancer, *Journal of Medicine and Life* Vol. 2, No.2, April-June 2009, pp.219-226
- 99- ÇALLI, C., ÇALLI, A., PINAR, E., Expression of Ki-67 and p53 in laryngeal squamous cell carcinomas. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*, 2005; 15: 9–13
- 100- SHAH, G, N., TRIVERDI, T, I., TANKSHALI, R, A., Prognostic significance of molecular markers in oral squamous cell carcinoma: A multivariate analysis, *Molecular Markers in OSCC and Prognostic Significance HEAD & NECK—DOI 10.1002/hed* December 2009
- 101- GEISLER, S, A., OILSHAN, A, F., GSTM1, GSTT1 and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Am J Epidemiol* 154:95-105, 2001
- 102- SILVA, S, D., CUNHA, I, W., YOUNES, R, W., SOARES, F, A., KOWALSKI, L, P., ErbB receptors and fatty acid synthase expression in aggressive head and neck squamous cell carcinomas. *Oral Diseases* (2010) 16, 774–780.

- 103- EL-SEAG, H, B., HEPWORTH, E, J., LEE, P., Gastroesophageal reflux disease is a risk factor for laryngeal and pharyngeal cancer. *Am J Gastroenterology* 2001;96:2013-8
- 104- YAZICI, H., ALTUN, M., HAFIZ, G., Serum and tissue c-erb B2 ,bcl-2 and mutant p53 oncoprotein levers in nasopharygeal cancer. *Cancer invest* 2001;19(8):773-8
- 105-OLSEN, K, D., DESANTO, L, W., Partial vertical laryngectomy indications and surgical technique. *Am J Otolaryngolgy* 1990;11(3):153-60
- 106-DEMİRELLER , A., SAATÇI, M, R., YILMAZ, O; Erken glottik tümörlere yaklaşım. *Türk otolarenoloji Arşivi* 1992 30:231-3
- 107- SCOLA, B., FERNANDEZ , M., MARTİNEZ, T., Management of cancer of the supraglottis. *Otolarygology head and neck surgery* 2001;124(2):195-8
- 108-MAURİZİ , M., PALUDETTİ, G., GALLİ, J., Oncological and functional outcome of concervative surgery for primary supraglottic cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngology* 199;256(6).283-90
- 109- SCOLA, B., FERNANDEZ, M., MARTİNEZ, T., The Gregorio Maranon Hospital experience with vertical partial laryngectomies. *Otolarygology head and neck surgery* 1999;256(6):296-8
- 110-BOCCA, E., PIGNATARO, O., OLDİNİ, C., Extended supraglottic laryngectomy. *Ann Otolarengology* 1987;96(4):384-6
- 111-SANTORO , R., TURELLİ, M., POLLİ, G., Primary carcinoma of the subglottic larynx. *Eur Arch Otorhinolaryngology* 200;257.548-51
- 112- GERDES, J., LEMKE, H., BAİSCH, H., WACKHER, H., SCHWAP, U., Stein H. Cell Cycle Analysis of a Cell Proliferation-Associated Human Nuclear Antigen Defined by the Monoclonal Antibody Ki-67. *The Journal of Immunology* 1984;133: 1710-1715.
- 113- MAURİZİ, M., ALMADORİ, G., FERRANDİNA, G., . Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 1996; 74:1253–1257.
- 114-MAURİZİ, M., SCAMBİA, G., BENEDETTİ, P., PEGF receptor expression in primary laryngeal cancer: correlation with clinico-pathological features and prognostic significance. *Int J Cancer* 1992; 52:862–866.

- 115-GIOVANNI, A., FRANCESCO, BUSSU., GAETANO, PALUDETTI., Should there be more molecular staging of head and neck cancer to improve the choice of treatments and thereby improve survival? *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery* 2008, 16:117–126
- 116-PORNCHAI, O, C., PETER, H, R., HELMOUT, M., SUZANNE, A., The role of c-erbB receptors and ligands in head and neck squamous cell carcinoma *Oral Oncology*38 (2002) 627–640
- 117- SILVA, S, D., CUNHA, W., YOUNES, R, N., SOARES, F, A., KOWLSKI, L, P., ErbB receptors and fatty acid synthase expression in aggressive head and neck squamous cell carcinomas *Oral Diseases* (2010) 16, 774–780.
- 118- BAI, M., AGNANTIS, N, J., KAMINA, S., DEMOU, A., ZAGORIANAKOU, P., KATSARAKI, A., In vivo cell kinetics in breast carcinogenesis. *Breast Cancer Res* 2001; 3: 276-283
- 119- BATUR S., Larinks skuamöz hücreli karsinomlarında Fas, Fas Ligand ve Ki-67 ekspresyonunun klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılması (uzmanlık tezi). İstanbul:Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2004.
- 120- SCHOLZEN, T., GERDES J., The Ki-67 protein: from the known and the unknown.*J Cell* . 2000 Mar;182:311-22.
- 121- ENDLE, E., GERDES, J., The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. *Exp Cell Res*. 2000 Jun 15;257:231-7.
- 122- DUCHROW, M., GERDES, J., SCHLUTER, C., The proliferation-associated Ki-67 protein: definition in molecular terms. *Cell Prolif*. 1994 May;27:235-42.
- 123- KODA, M., SULKOWSKI, S., KODA, L., SURMACZ, E., SULKOWSKA, M., Expression of ER-alpha, ER-beta and Ki-67 in primary tumors and lymph node metastases in breast cancer. *Oncol Rep*. 2004;11:753-9.
- 124- UCHIKAWA, J., SHIOZAWA, T., SHIH, H, C., MIYAMATO, T., FENG, Y, Z., KASHIWA, H., OKA, K., Expression of steroid receptor coactivators and corepressors in human endometrial hyperplasia and carcinoma with relevance to steroid receptors and Ki-67 expression. *Cancer* 2003 Nov 15;98:2207-13

- 125- HASHIMATO, K., ARAKI, K., OSAKI, M., NAKAMURA, H., TOMITA, K., MCM2 and Ki-67 expression in human lung adenocarcinoma: prognostic implications. *Pathobiology* 2004;71:193-200.
- 126- OHTA, G., SAKAI, H., KACHI, S., HIRATA, A., YONEMARU, K., KITAJIMA, A., Assessment of proliferative potentials of canine osteosarcomas and chondrosarcomas by MIB-1 immunohistochemistry and bromodeoxyuridine incorporation. *J Comp Pathol.* 2004;131:18-27.
- 127- BANTIS, A., GIANNOPOLUS, A., GONIDI, M., LIOSSI, A., AGGELONIDEOU, E., Expression of p120, Ki-67 and PCNA as proliferation biomarkers in imprint smears of prostate carcinoma and their prognostic value. *Cytopathology* 2004;15:25-31.
- 128- KLEIN, C, L., WAGNER, M., KIRKPATRICK, C, J., VANKOOTEN, T, G., A new quantitative test method for cell proliferation based on detection of the Ki-67 protein. *J Mater Sci Mater Med.* 2000;11:125-132.
- 129- LIU, M., LAWSON, G., DELOS, M., JAMART, J., IDE, C., COCHE, E., Predictive value of the fraction of cancer cells immunolabelled for proliferating cell nuclear antigen or Ki67 in biopsies of head and neck carcinomas to identify lymph node metastasis: comparison with clinical and radiologic examinations. *Head & Neck* 2003;280-288
- 130- WELKOBORSKY, H, J., HINNI, M., DIENES, H, P., MANN, W, J., Predicting recurrence and survival in patients with laryngeal cancer by means of DNA cytometry, tumor front grading, and proliferation markers. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995;104:503-10.
- 131- ANDREWS, N, A., JONES, A, S., HELLIWELL, T, R., KINSELLA, A, R., Expression of the E-cadherin-catenin cell adhesion complex in primary squamous cell carcinomas of the head and neck and their nodal metastases. *Br J Cancer* 1997;75:1474-80.
- 132- HERBST, R, S., LANGER, C, J., Epidermal growth factor receptors as a target for cancer treatment: the emerging role of IMC-C225 in the treatment of lung and head and neck cancers. *Semin Oncol* 2002;29(1 Suppl 4):27-36.
- 133- BROWN, D, C., GATTER, K, C., Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology* 1990;17:489-503.

- 134-WILSON, G, D., SAUNDERS, M, I., DISCHE, S., DALEY, F, M., ROBUNSON, B, M., Direct comparison of bromodeoxyuridine and Ki-67 labelling indices in human tumors. *Cell Prolif* 1996;29:141–52
- 135-IRISH, J., BENSTEIN, A., Oncogenes in head and neck cancer. *Laryngoscope* 1993; 103: 42–53.
- 136-. TEMAM, S., KAWAGUCHI, H., EI-NAGGAR, A, K., Epidermal growth factor receptor copy number alterations correlate with poor clinical outcome in patients with head and neck squamous cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2164–70.
- 137-. O-CHAROENRAT, P., EVANS, P, H., MODJTAHEDI, H., The role of c-erbB receptors and ligands in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2002; 38: 627–40.
- 138- CASALINI, P., LORIO, M, V., GALMAZZOI, E., MENARD, S., (2004). Role of HER receptors family in development and differentiation. *J Cell Physiol* 200: 343–350.
- 139- O-CHAROENRAT, P., EVANS, P., ECCLES, S., (2000). Expression and regulation of c-ERBB ligands in human head and neck squamous carcinoma cells. *Int J Cancer* 88: 759–765.
- 140-OCHAROENRAT, P., EVANS, P, H., MODJTAHEDI, H., ECCLES, S, A., (2002). The role of c-erbB receptors and ligands in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 38: 627–640.
- 141- OHBU, M., SAEGUSA, M., OKAYASU, I., Apoptosis and cellular proliferation in oesophageal squamous cell carcinomas. Differences between keratinizing and nonkeratinizing types. *Virchows Arch* 1995;427:271–6.
- 142- ORNSTEIN, D, K., KANG, J., (2001). How to improve prostate biopsy detection of prostate cancer (Prostst kanserinin prostat biyopsisiyle saptanmasının geliştirilmesi). *Curr Urol Rep* 2: 218-223.
- 143-. ITO, K., YAMAMOTO, T., OHI, M., (2003). Natural history of PSA increase with and without prostate cancer (Prostat kanseri olan ve olmayan PSA artışının doğal geçmişi). *Urology* 62: 64-69.
- 144-. Li J, ZHANG, Z., ROSENZWEIG, J., (2002). Proteomics and bioinformatics approaches for identification of serum biomarkers to detect

breast cancer (Meme kanserinin saptanmasında serum biyomarkerlerinin tanımlanmasına yönelik proteomi ve biyoinformatik yaklaşımlar). Clin Chem 48: 1296-1304.

145- IZAWA, H., NOBUHISA, Y., TAKEMOTO, SHIN., HAJIME, S., Histopathological analysis of apoptosis, and expression of p53, bcl-2, bax, and Ki-67 in laryngeal squamous cell carcinomas and dysplasia Auris Nasus Larynx 26 (1999) 317–330

146- DIOGENE, H., FORTIN., A., MORENCY, R., ROY, J., MONTEIL, R, A., TETU, B., Markers of radioresistance in squamous cell carcinoma of the head and neck: a clinicopathologic and immunohistochemical study. J Clin Oncol 1997;15:1030–8.

147 RONALD, N, J., CASLIN, A, W., BOWIE, G, L., JONES, A, S., Has the cellular proliferation marker Ki-67 any clinical relevance in squamous cell carcinoma of the head and neck? Clin Otolaryngol Allied Sci 1994;19:13–8.

148-WAEL, A., KENJI, S., YOSHIRO, I., YOSHIMUNE, H., Ki-67, p53 and epidermal growth factor receptor expression in early glottic cancer involving the anterior commissure treated with radiotherapy Auris Nasus Larynx 35 (2008) 213–219

149-LAZARIS, A, C., RIGOPOLOU, A., BALAFOUTA, S., KAVANTZAS, N., THIMARA, I., ZORZOS, H.,S., (2002) Immunodetection and clinico-pathological correlates of two tumour growth regulators in laryngeal carcinoma. Histopathol 17:131–138

150- SITTEL, C., ECKEL, H, E., DAMM, M., VON- PRITZBUER, E., KVASNICKA , H, M., (2000) Ki-67 (MIB-1), p53, and Lewis-X (LeuM1) as prognostic factors of recurrence in T1 and T2 laryngeal carcinoma. Laryngoscope 110:1012–1017

151- GALE, N., ZIDAR, N., KAMBIC, V., POLJAK, M., COR, A., (1997) Epidermal growth factor receptor, c-erbB-2 and p53 over expressions in epithelial hyperplastic lesions of the larynx. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 527:105–110

- 152- KROPVELD, A., SLOOTWEG, P, J., BLANKEISTEIN, M, A., TERHARDD, C, H, J., HORDIJK, G, J., (1998) Ki-67 and p53 in T2 laryngeal cancer. *Laryngoscope* 108:1548–1552
- 153- MAESTRO, R., DOLCETTI, R., GASPAROTTO, D., DOGLIONI, C., PELUCCHI, S., BARZAN, L., GRANDI, E., (1992) High frequency of p53 gene alterations associated with protein over-expression in human squamous cell carcinoma of the larynx. *Oncogene* 7: 1159–1166
- 154-DERINZEO, D, P., GREENBERG, S, D., FRAIRE, A, E., Carcinoma of the larynx. Changing incidence in women. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 117: 681-684, 1991.
- 155- Ji, W, Y., DU, Q., GUAN, C., WANG, D, G., Survival analysis of 1,115 patients with laryngeal carcinoma. 39: 17-19, 2004
- 156-DEQUANTER, D., LOTHAIRE, P., The role of salvage surgery in organ preservation strategies in advanced head and neck cancer. *B-ENT* 4: 77-80, 2008.
- 157- SHIGA, H., RASMUSSEN, A, A., JOHANSTON, P, G., LANGMACHER, M., BAYLOR, A., LEE, M., Prognostic value of c-erbB-2 and other markers in patients treated with chemotherapy for recurrent head and neck cancer, *Head Neck* 22 (2000) 599– 608.
- 158-GUERRIN, M., GABILLOT, M., MATHIEN., M, C., Structure and expression of c-erbB-2 and EGF receptor genes in inflammatory and non-inflammatory breast cancer: prognostic significance. *Int J Cancer* 1989; 43: 201–5.
159. SLAMON, D, J., GODOLPHIN, W., JONES, L, A., Studies of the HER-2:neu protooncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707–12.
160. FLEJOU, J, F., PARAF, F., MUZEA, F., Expression of c-erbB-2 oncogene product in Barrett's adenocarcinoma: pathological and prognostic correlations. *J Clin Pathol* 1994; 47: 23–6.
161. ONDA, M., MATSUDA, S., HIGAKI, S., ErbB-2 expression is correlated with poor prognosis for patients with osteosarcoma. *Cancer* 1996; 77: 71–8.

- 162-WEINSTEIN, G, S., TUCKER, J., NUAMAH, I, F., MONTONE, K., Evaluation of HER-2:neu (c-erbB-2) oncogene expression in whole organ sections of supraglottic squamous cell carcinoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1996; 105: 275–9.
- 163-YU, D., WANG, S, S., DULSKI, K, M., TSAI, C, M., NICOLSON, G, L., HUNG, M, C., C-erbB-:neu overexpression enhances metastatic potential of human lung cancer cells by induction of metastasis-associated properties. *Cancer Res* 1994; 54: 3260–6.
- 164-BUKHOLM , I, K., NESLAND, J, M., KARESEN, R., JACOPSEN, U., BORRESEN, A, L., E-cadherin and alpha-, beta-, and gamma-catenin protein expression in relation to metastasis in human breast carcinoma. *J Pathol* 1998, 185, 262–266.
165. PIGNATELLI, M., ANSARI, T, W., GUNTER, P., Loss of membranous E-cadherin expression in pancreatic cancer: correlation with lymph node metastasis, high grade, and advanced stage. *J Pathol* 1994, 174, 243–248.
- 166-MATTSJEN, V., PETERS, H, M., SCHALWCJK, L., E-cadherin expression in head and neck squamous cell carcinoma is associated with clinical outcome. *Int J Cancer* 1993, 55, 580–585.
- 167-. BOWIE, G, L., CASLIN, A, W., ROLAND, N, J., FIELD, J, K, M, A., JONES, A, S., Expression of the cell-cell adhesion molecule E-cadherin in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Otolaryngol* 1993, 18, 196–201.
- 168- TAKES, R, P., BAATENBURG, D, R, J., SCHUURING, E., HERMANS, J., LITVINOV, S, V., VAN- KRIEKEN, H, J., Markers for assessment of nodal metastasis in laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 123: 412–9.
- 169- FRANCHI, A., GALLO, O., BODDI, V., SANTUCCI, M., Prediction of occult metastasis in laryngeal carcinoma: role of proliferating cell nuclear antigen, MIB-1 and E-cadherin immunohistochemical determination. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 1801–8.

- 170- BOWIE, G, L., CASLIN, A, W., ROLAND, N, J., FIELD, J, K, M., JONES, A, S., Expression of the cell-cell adhesion molecule E-cadherin in squamous cell carcinoma of the head and neck. Clin Otolaryngol 1993; 18: 196–201.
- 171- AGUDELO, D; QUER, M; LEON, X; DIEZ, S; BURGES, J; LARYNGEAL CARCINOMA IN PATIENTS WITHOUT A HISTORY OF TOBACCO AND ALCOHOL USE, Head Neck 19: 200–204, 1997
- 172- SLAMON, D, J., GODOLPHIN, W., JONES, L, A., Studies of the HER2:neu protooncogene in human breast and ovarian cancer. Science 1989; 244: 707–12
- 173- Schluter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MGH, Key G, Flad H-D,. The cell proliferation associated antigen of antibody Ki67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle maintaining proteins. Cell Biol 1993;123:513-22.