

T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

LARİNGS KARSİNOMLARINDA D2-40  
İMMÜNOREAKTİVİTESİNİN KLİNİKOPATOLOJİK  
PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yasemin KİBAR  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Kemal BAKIR

Şubat-2008

T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

LARİNKS KARSİNOMLARINDA D2-40  
İMMÜNOREAKTİVİTESİNİN KLİNİKOPATOLOJİK  
PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yasemin KİBAR  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Kemal BAKIR

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince her türlü bilgi ve deneyimlerini bana aktaran, manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, başta tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Kemal Bakır, bölüm başkanım Sayın Prof. Dr. İbrahim Sarı olmak üzere tüm hocalarıma, istatistik aşamasında göstermiş olduğu sabırdan dolayı Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Neriman Aydın'a, çalışmamın çeşitli aşamalarında yardımlarını esirgemeyen başta Hüseyin Kızılırmak olmak üzere tüm teknisyen arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan sevgili eşim ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yasemin KİBAR

## İÇİNDEKİLER

ONSOZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
KISALTMALAR	VI
TABLO LİSTESİ	VII
RESİM LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.D2-40	3
2.2. Larinksin Embriyolojisi	4
2.3. Larinksin Anatomisi	4
2.4. Larinksin Histolojisi	6
2.5. Larinks Tümörleri	7
2.5.1. WHO Klasifikasyonu	7
2.5.2. Epidemiyoloji ve Klinik	9
2.5.3. Skuamöz Hücreli Karsinoma	10
2.5.4. TNM Klasifikasyonu	15
2.5.5. Evreleme	16
2.5.6. Prognostik ve Prediktif Faktörler	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Materyallerin Elde Edilmesi ve Uygun Parafin Blok Seçimi	18
3.2. Boyasız Kesitler ve Deparafinizasyon	18
3.3. İmmünohistokimyasal Boyama	19
3.4. Skorlama	20
3.5. İstatistik	

4. BULGULAR	21
4.1. Genel Bulgular	21
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	23
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇLAR	41
7. KAYNAKLAR	42

## ÖZET

# LARİNKS KARSİNOMLARINDA D2-40 İMMÜNOREAKTİVİTESİNİN KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Yasemin KİBAR

Uzmanlık Tezi, Patoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Kemal BAKIR

Şubat 2008, 46 Sayfa

Lenfatik endotel hücrelerini göstermekte kullanılan bir immünohistokimyasal belirteç olan D2-40, farklı tümör tiplerinde kullanılarak çok sayıda çalışma yapılmıştır. Larinks karsinomları baş boyun bölgesinin en sık görülen tümörleridir. Larinks karsinomlarında, lenf nodlarına metastaz, birçok organda olduğu gibi prognostik öneme sahiptir. Lenfanjiogenez, lenf noduna metastazın erken bir göstergesi olup, bu çalışmada D2-40 ile gösterilebilen lenfatikler ve D2-40 ile boyanan tümör hücreleri ile bazı klinikopatolojik parametreleri karşılaştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında tanı almış 114 larinks skuamöz hücreli karsinom olgusu değerlendirmeye alınmıştır. Bu olgulardan 6'sı kadın, 108'i erkek olup, yaş aralıkları 35-87 arasında değişmektedir. Olgulardan 43'ünde servikal bölge lenf nodlarına metastaz mevcut iken 71 olguda metastaz izlenmedi.

D2-40 ile yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda, peritümöral alanda izlenen lenfatik sayısı, 0-41 arasında değişmekte olup ortalama değer 12'dir. İntratümöral alandaki lenfatik sayısı 0-30 arasında olup ortalama değer 5 olarak saptanmıştır. Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplar, peritümöral alandaki lenfatik sayıları açısından karşılaştırıldığında, lenf nodu metastazı olmayan grupta, lenfatik sayılarının düşük olduğu izlenmiştir. Evre ile peritümöral alandaki lenfatik sayıları karşılaştırıldığında, özellikle evre 4'de lenfatik sayısında artış dikkati çekmektedir.

Tümör hücrelerindeki boyanma ile grade karşılaştırılmasında, iyi diferansiye tümörlerde, orta/az diferansiye tümörlere oranla tümör hücrelerinde daha yüksek boyanma oranları izlenmiştir. Sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0.011$ ).

Lenfatik sayıları ile lenf nodu metastazı, grade, yerleşim yeri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Her ne kadar, çalışmamızda, larinks karsinomlarında D2-40 prognostik parametre olarak saptanamamışsa da, daha geniş çalışmalarla desteklenerek, özellikle lenf nodu metastazı olmayan olgularda, D2-40 oranına göre takip yapılabileceği akılda tutulmalıdır.

Anahtar kelimeler: Laringeal karsinom, D2-40, Lenfanjiogenez

## ABSTRACT

# THE COMPARISON OF D2-40 IMMUNOREACTIVITY WITH CLINICOPATHOLOGIC PARAMETERS IN LARYNGEAL CARCINOMA

**Dr. Yasemin KIBAR, MD**

**Residency Thesis, Department of Pathology**

**Supervisor: Prof. Kemal BAKIR, MD**

**February 2008, 46 Pages**

Various investigations had been made in different tumor types with D2-40 that it is immunohistochemical marker for lymphatic endothelial cells. Laryngeal carcinomas are the most common tumors that are seen in head and neck. Metastasis to lymph nodes in laryngeal carcinoma have a prognostic significance like the other several organs. Lymphangiogenesis is an early indicator of metastasis to lymph nodes and in this study we aim to compare the lymphatics which can be shown by D2-40 and tumor cells that are stained by D2-40 with some clinicopathologic parameters.

in our study, 114 cases which have had the diagnosis of laryngeal squamous cell carcinoma have been used. Six of the patients were female and 108 of the patients were male and the age range is among 35-87 years. Cervical lymph node metastasis are present in the 43 of the cases and are not present in the 71 of the cases.

in the immunohistochemical staining which is made by D2-40, lymphatics numbers that are seen in peritumoral area change among 0-41 and the mean is determined as 12. Lymphatic numbers that are present in intratumoral area are among 0-30 and the mean is determined as 5. When the lymphatic numbers in peritumoral area is compared with the groups which have lymph node metastasis or the groups which haven't lymph node metastasis, lower lymphatic numbers are seen highly in the group which haven't lymph node metastasis. When the lymphatics numbers peritumoral area is compared with stage; especially in stage-4, the increase in the lymphatic numbers attracts attention.

in the comparison of the staining in tumor cells with the grade, higher staining rates are seen in the well differentiated in proportion to moderate/poorly differentiated tumor. The result is meaningful as statistically ( $p=0.011$ ).

The correlation among lymphatics numbers, lymph node metastasis, grade and tumor site couldn't be seen.

Although, in our study D2-40 couldn't be seen as prognostic parameter in laryngeal carcinoma; that should be kept in mind; with wider investigations, especially cases without lymph node metastasis can be followed according to the D2-40 rate.

**Key words:** Laryngeal carcinoma, D2-40, Lymphangiogenesis

## KISALTMALAR

ACC	Adenoid kistik karsinoma
EBV	Ebstein Barr Virüs
İNOS	İndusibl nitrik oksit sentaz
MEC	Mukoepidermoid karsinoma
PBS	Phosphate buffered solution
SCC	Skuamöz hücreli karsinoma
TNM	Tümör, lenf nodu, metastaz
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü



## TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Olguların yaş gruplarına göre dağılımı	21
Tablo 2: Olguların gradelerine göre dağılımı	21
Tablo 3: Olguların evrelerine göre dağılımı	23
Tablo 4: Lenf nodu metastazı olan ve olmayan olguların sayı ve yüzdeleri	23
Tablo 5: Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarda peritümöral lenfatik sayıları	24
Tablo 6: Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarda intratümöral lenfatik sayıları	25
Tablo 7: Tümör grade ile tümördeki boyanmanın karşılaştırılması	27
Tablo 8: Tümör evresi ile peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması	28
Tablo 9: Tümör evresi ile intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması	28
Tablo 10: Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarda tümöral alan boyanma yüzdelerinin karşılaştırılması	29
Tablo 11: Tümördeki boyanma skorunun lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarla karşılaştırılması	30
Tablo 12: Grade ile peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması	30
Tablo 13: Grade ile intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması	32
Tablo 14: Tümör yerleşim yeri ile peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması	33
Tablo 15: Tümör yerleşim yeri ile intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması	34

## RESİM LİSTESİ

Resim 1: İyi diferansiye SCC	22
Resim 2: Orta/az diferansiye SCC	22
Resim 3: Peritümöral alanda D2-40 ile boyanan lenfatikler	24
Resim 4: Peritümöral alandaki lenfatiklerin büyük büyütmede görünümü	25
Resim 5: D2-40 ile boyanan intratümöral lenfatikler	26
Resim 6: İnatümöral alandaki lenfatiklerin büyük büyütmede görünümü	26
Resim 7: İyi diferansiye tümörde skor 3'den fazla, orta/az diferansiye tümörde skor 3'den az boyanma	27
Resim 8: Tümör dokusunda %5'den fazla alanda 3(+) boyanma	29
Resim 9: İyi diferansiye SCC	31
Resim 10: İyi diferansiye SCC'de peritümöral lenfatikler	31
Resim 11: Orta/az diferansiye SCC	32
Resim 12: Orta/az diferansiye SCC'de intratümöral lenfatikler	33

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Larinks karsinomları, tüm dünyada, özellikle erkeklerde sık görülen baş-boyun bölgesi tümörleridir. En sık yerleşim yeri glottik bölge olmakla birlikte, supraglottik bölge yerleşimli tümörlerin oranı da oldukça fazladır (1). Supraglottik bölge yerleşimli tümörler, gerek uzun süre klinik bulgu vermemeleri, gerekse zengin lenfatik dolaşıma sahip olmaları ve bu nedenle sık lenfatik metastaz yapmaları nedeniyle ayrı bir öneme sahiptirler.

Karsinomlar metastazlarını lokal yayılım, lenfatik yol ve daha az oranda hematogen yolla yaparlar. Larinks karsinomlarının lenf nodu metastazları en sık servikal bölge lenf nodlarına olmaktadır. Tümör dokusundaki lenfanjiogenez, tümörün lenf nodu metastazı yapıp yapmayacağı hakkında önemli bir göstergedir. Lenf nodu metastazının varlığı ise rekürrens ve mortalite riskinde artışı beraberinde getirmektedir. Bu nedenden dolayı, tedavi şeklinin planlamasında, lenf nodu metastazının varlığı veya yokluğu önem arz etmektedir.

Lenf damarlarının varlığı ve bu damarlarda tümör invazyonunun olup olmadığı her ne kadar hematoksilen eozin boyalı preparatlarda değerlendirilebiliyor ise de zaman zaman yardımcı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yöntemlerden biri olan immünohistokimyasal boyama tekniği, lenf damarlarının vasküler yapılardan ayrımında kullanılmaktadır. Lenf damarlarını göstermek amacıyla kullanılan birçok immünohistokimyasal belirteç bulunmaktadır. Bunlar LYVE-1, Prox-1, podoplanin ve D2-40 gibi antikordlardır (2,3,4).

D2-40, siyaloglikoprotein özelliğinde monoklonal bir antikordur (5). Lenfatiklerin endotel hücrelerine spesifik olarak bağlanır. Bu nedenle lenfatik endotelini ve özellikle primer tümörün lenfatik invazyonunu göstermekte oldukça yararlıdır (6). Prostat, oral kavite, mesane, cilt, meme, mide, serviks karsinomları gibi çeşitli organlarda D2-40 kullanılarak yapılmış bazı çalışmalar mevcuttur (3,4,7-11).

Biz, çalışmamızda D2-40 kullanarak, peritümöral ve intatümöral alandaki lenfatik sayılarını değerlendirdik. Elde edilen bu değerler ile tümör, grade, evre, yerleşim yeri, lenf nodu metastazı arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçladık

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. D2-40

D2-40, son dönemlerde kullanılmaya başlanılan immünohistokimyasal belirteçlerdendir. 40 kDa ağırlığında, siyaloglikoprotein özelliğinde monoklonal bir antikordur (5,12). Gerçekte bir onkofetal membran antijeni olup, embriyonik dönemdeki testis ile testiküler ve ovarian germ hücreli tümörlerden salınır. Embriyonik dönemdeki testiste, immatür sertoli hücrelerinden salınımı puberteye kadar devam eder iken erişkin testis dokusunda bulunmaz (5,13,14). D2-40 antikoru, yüksek oranda lenfatik epitelden salınan, musin tipinde bir transmembran proteini olan podoplanine bağlanır (5).

D2-40, lenfatik endotelial hücreleri göstermede yüksek oranda sensitif ve spesifiktir. Ancak arteriol, venül veya kapiller morfolojisi gösteren kan damarı endotellerinde boyanma göstermez (15). Boyanma paterni sitoplazmikdir. Lenfatikleri boyama özelliğinden dolayı lenfatik dokudan köken alan tümörleri ya da lenf nodlarındaki tümör invazyonunu göstermesi açısından oldukça yararlıdır (16).

D2-40 ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda birçok tümörde salınımı gösterilmiştir. Fukunaga'nın (12) ve Hansen ile arkadaşlarının (17) çeşitli vasküler tümör tiplerini karşılaştırdığı çalışmalarında, Kaposi sarkomu, kaposiform hemanjiyoendotelyoma, hobnail hemanjiyomada D2-40'ın yüksek oranlarda salındığı tespit edilmiştir. Normal plevrada D2-40 salınımı oldukça düşük seviyelerdedir. Bhalla (13) ve arkadaşlarının effüzyon sitoloj isinden hazırlanan hücre bloklarıyla yaptıkları çalışmada, D2-40 ile malign mezotelyomalarda yüksek oranda pozitiflik saptanmıştır. Benzer şekilde Mimura ve arkadaşlarının (16) çalışmasında da, D2-40'm malign mezotelyoma ile adenokarsinoma ayırımında faydalı olduğu ve mezotelyoma lehine boyanma gösterdiği saptanmıştır.

D2-40 varlığı santral sinir sisteminde hem neoplastik hem de nonneoplastik dokularda gösterilmiştir. Huse ve arkadaşlarının (18) yaptığı çalışmada D2-40'ın düşük dereceli kondrosarkomalarda pozitif boyandığı, kordomalarda ise boyanma

göstermediği saptanmış olup, D2-40'ın bu iki tümör ayırımında faydalı olan **ilk** immünohistokimyasal belirteç olduğu bildirilmiştir. Takei ve arkadaşlarının (19) yaptığı çalışmada ise, **bir** santral sinir sistemi tümörü olan kapiller hemanjioblastom ile bazı tümörlerin ayırıcı tanısı yapılmaya çalışılmıştır. Bu çalışmada beyin metastazı yapmış renal hücreli karsinom ile karşılaştırıldığında D2-40'ın kapiller hemanjioblastom lehine boyanma gösterdiği saptanmıştır. Uterin serviks **ait** yapılan çalışmalarda da Hematoksilen eozin kesitlerinde görülemeyen tümör hücrelerinin lenfatik invazyonları D2-40 ile gösterilmiştir. Bu sayede servikal biyopsilere uygulanacak D2-40 boyamasının rekürrens riskini azaltmada önemi vurgulanmıştır (14,20).

## 2.2. LARINKSİN EMBRİYOLOJİSİ

Larinksin supraglottik kısmı, oral kavite ve orofarinksin gelişimi ile ilişkili olarak 3. ve 4. brankial arklardan gelişir. Glottik ve infraglottik bölge ise trakea ve akciğerlerle bağlantılı olarak 6. brankial arktan gelişir. Bir kısım araştırmacılar larinksi, superior ve inferior olmak üzere 2 ana kısma ayırmışlardır. Bu ayırım, farklı köken ve geniş lenfatik dolaşıma bağlı olarak yapılmıştır. Bu araştırmacılara göre embriyolojik köken, larinks karsinomunun yayılımını göstermesi açısından önemlidir.

Respiratuar tomurcuğun ilk embriyolojik görünümü yaklaşık 21. günde, embriyo 3 **mm** iken ortaya çıkar. Bu dönemdeki yarıklanma foregutun üst kısmına komşu, 4. brankial arkın üzerindedir. İnférieur kısmın gelişimi ise pulmoner sistem ile bağlantılıdır. Larinksin ilk gelişen kısmı epiglottur ancak intrauterin yaşamın 5. haftasına kadar görülemez.

Larinksin sınırları 6 mm'lik embriyoda seçilebilir. Bu zaman, respiratuar yarıklarına kapanmaya başlamadan öncedir. Aritenoid kıkırdak oluşumu ile kapanma tamamlanır. 60-70. günlerde , embriyo 30 mm'dir ve vokal kordlar farklılaşmaya başlar. Larinksin embriyolojik gelişimi sırasında en az 30 farklı konjenital malformasyon tanımlanmıştır (21).

## 2.3. LARİNKSİN ANATOMİSİ

Larinks elastik koni, kıkırdak, intrensek ve ekstrensek kaslar, submukoza, ve müköz membrandan oluşur. Elastik koni gerçek vokal kordların güçlü yapısını sağlar. Elastik doku, yalnızca kordun serbest kısmının mukozası altında kalınlaşmıştır. Elastik koninin bu kısmına vokal ligaman adı verilir. Makroskopik olarak müköz membran

altında beyaz bant şeklinde görülür. Vokal ligaman önde tiroid kıkırdağın üzerine arkada aritenoid kıkırdağın vokal oluşumu içerisine girer.

Larinksin majör kıkırdakları krikoid, tiroid ve çift aritenoid kıkırdaklardır. Bu majör kıkırdak yapıları hyalin tiptedir. Bunların aksine epiglot, çok sayıda fenestrasyon içeren, elastik kıkırdaktan oluşmaktadır. Tiroid ve krikoid kıkırdaklarda kalsifikasyon, erkeklerde, yaşamın 2. dekatında başlar. Kadınlarda ise daha geç dönemde olur. Yaşlı kişilerde, tiroid kıkırdak sıklıkla ossifiyedir. Tiroid kıkırdak ossifikasyonu, laringeal karsinom yayılımını değerlendirmek açısından önemlidir. Tiroid kıkırdağın aksine hyalin kıkırdak ise, belki de anjiyogenezi inhibe eden faktörler içermesi nedeniyle, neoplazi yayılımına dirençlidir.

Krikoid ve tiroid kıkırdaklar birbirleri ile eklem yüzeyi oluştururlar fakat hareketleri her ikisini birbirine bağlayan güçlü ligamanlarla sınırlandırılmıştır. Aritenoid kıkırdaklar krikoid kıkırdak ile eklem yüzeyi oluşturur. Krikotiroid ve krikoaritenoid eklemler düz sinovyal hücrelerle döşelidir.

Larinksin kasları iki gruba ayrılır. Ekstresek kaslar, larinkse komşu yapılardan köken alır ve tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdaklara yapışır. Bunlar; omohyoid, sternohyoid, sternotiroid ve tirohyoid kaslardır. İntresek kaslar ise krikotiroid, posterior krikoaritenoid, lateral krikoaritenoid ve tiroaritenoid kaslarıdır. Lateral krikoaritenoid kas vokal kordları yaklaştırırken, posterior krikoaritenoid uzaklaştırır. Ses çıkarılması esnasında tiroaritenoid kas, tiroid kıkırdaktan hafifçe uzaklaşır.

Anatomik olarak larinks üç ana bölgeye ayrılmıştır. Bunlar supraglottik, glottik ve subglottik bölgelerdir. Supraglottik bölge, epiglottan gerçek korda uzanır. Bu bölge ariepiglottik fold, yalancı vokal kord ve ventrikülleri içerir. Ariepiglottik fold, arkada epiglot tabanından aritenoid kıkırdak bölgesine uzanır. Yalancı vokal kordlar, gerçek vokal kordun üzerine uzanan müköz membran uzantılarıdır. Ventriküller yalancı kordların altındadır ve gerçek vokal kordları ikiye böler. Glottik komponenti, gerçek vokal kordlar ve anterior komissür oluşturur. Subglottik bölge gerçek vokal kordların altı ile birinci trakeal kıkırdak arasında uzanır (1,21).

**Larinksin sınırları:** İntresek laringeal kaslar vagusun dalları ile innerve olurlar. Vagusun superior laringeal dalı ve rekürren laringeal dalı innervasyonu sağlar.

**Larinksin damarları:** Larinksin alt kısmı inferior tiroid arterin dalı olan inferior laringeal arter ile kanlanır. İnter inferior laringeal arter, superior tiroid arterin dalı olan

superior laringeal arter ile anastomoz yapar. Laringeal arterlere aynı isimli venler eşlik eder. Superior laringeal ven, önce superior tiroid vene oradan da internal juguler vene dökülür. İnférieur laringeal ven, inferior tiroid vene boşalır.

**Larinksin lenfatikleri:** Larinksin vasküler yapıları boyunca uzanırlar. Supraglottik lenfatikler superiora, subglottik lenfatikler inferiora drene olur. Glottik bölgede lenfatik bulunmaz. Bazı laringeal lenfatikler tirohyoid membran, krikotrakeal ligament ve superior trakea üzerindeki küçük lenf nodlarında sonlanır. Bu nodlar derin servikal lenf noduna drene olurlar. Supraglottik bölge lenfatikleri anterior juguler zincirde, subglottik lenfatikler pretrakeal nodlar veya daha az olarak aşağı servikal lenf nodlarında sonlanır (21).

#### 2.4. LARİNKİN HİSTOLOJİSİ

Yenidoğanlarda larinks, gerçek vokal kordlar hariç, başlangıçta silyalı epitel ile döşelidir. Altıncı ay civarında, yalancı vokal kordlar üzerinde skuamöz epitel görülmeye başlanır fakat tamamen solunum mukozası ile yer değiştirmez. Epiglotun lingual veya anterior yüzeyi, değişmez olarak, stratifiye çok katlı yassı epitel ile döşelidir. Epiglotun laringeal veya posterior yüzeyi, üst kısımda stratifiye skuamöz epitel, alt kısımda solunum tipi epitel ile örtülüdür. İnfraglottik bölgede epitel solunum tipi epiteldir. Glottik bölgede ise stratifiye skuamöz epitel mevcuttur. Sigara içmeyen kişilerin yarısında, supraglottik ve infraglottik bölgelerde, silyalı epitel ile skuamöz epitel karışık haldedir. Sigara içen kişilerde ise silyalı solunum epiteli, sıklıkla skuamöz epitel ile yer değiştirmiştir (1,21).

Larinksin silyalı epitelinde, en altta küçük yuvarlak hücrelerden oluşan bazal tabaka bulunur. Tek sıralı bazal tabakanın üzerinde silyalı kolumnar hücreler yerleşir. Kolumnar hücre tabakasındaki nukleusların pozisyonunda değişiklikler, epitelde pseudostrafiye görünümüne yol açar. Silyalı tabaka çok kalınlaşabilir, çok sayıda veya nadiren mukus sekrete eden hücreler bulunabilir. Yoğun musin olduğu zaman hücreler goblet halini alır ve ya epitelin orta kısımlarında ya da yüzeye yakın yerleşebilirler.

Larinks skuamöz epitelinde bazal tabaka, küçük, dar sitoplazmah hücrelerden oluşur ve yüzeye dik olacak şekilde yönlenmişlerdir. Bu tabakada normalde mitoz bulunur. Bazal tabakada, özellikle bazı ırklarda, dendritik melanositler bulunabilir.



Laringeal mukozadaki skuamöz hücreler, lümene doğru yönelmiş, geniş nukleuslu, yuvarlak hal almış, koyu kromatinli ve geniş eozinofilik sitoplazmalıdır. Skuamöz epitelin kalınlığı 5 hücreden 25 hücreye kadar değişebilir. Normalde larinksde parakeratotik yüzey hücreleri izlenmez. Sigara içimi gibi uzamış iritan maddelerle karşılaşma devam ederse keratin formasyonu ile ilişkili, fokal parakeratoz odakları görülebilir.

Gerçek vokal kordun lamina propriası, vokal ligaman ve skuamöz epitel arasında uzanan gevşek ya da sıkı bağ dokudur. Bu alana Reinke boşluğu denir. Reinke boşluğu birkaç kapiller damar içerir ancak lenfatik bulunmaz. Nadiren seyrek seromüsinöz glandlar olabilir (1,21). Bu sınırlı vasküler oluşumun sonucu olarak karsinomlar, gerçek vokal kordda sınırlı kalır ve küratif radyoterapi veya cerrahi tedavi yeterli olur. Reinke boşluğunun kötü lenfatik drenajı, bu bölgede anormal miktarda sıvı toplandığı zaman, vokal kordda nodul ve polip oluşumuna yol açar. Benzer şekilde sesin kötü kullanımı veya üst solunum sistemi enfeksiyonları bu bölgede ödeme neden olur. Bu da klinikte ses kısıklığı ve ses çıkaramama olarak kendini gösterir. Anterior komissür gerçek vokal kordun aksine yoğun kapiller damar, lenfatik ve seromüsinöz gland içerir.

Gerçek vokal kordda, skuamöz epitel ile silyalı kolumnar epitel arasında bir geçiş zonu bulunur. Bu zon, 1-2 mm kalınlığındadır. Bu alanda kolumnar hücreler büyük oranda, küçük bazaloid veya immatür skuamöz hücreler ile yer değiştirirler (21).

## **2.5. LARİNKS TÜMÖRLERİ**

### **2.5.1. WHO Klasifikasyonu:**

- 1) Malign epitelyal tümörler
  - a) Skuamöz hücreli karsinoma
    - Verrüköz karsinoma
    - Bazaloid skuamöz hücreli karsinoma
    - Papiller skuamöz hücreli karsinoma
    - Spindle celi karsinoma
    - Akantolitik skuamöz hücreli karsinoma
    - Adenoskuamöz karsinoma
  - b) Lenfoepitelyal karsinoma
  - c) Dev hücreli karsinoma

- d) Malign tükrük bezi tipi tümörler
  - Mukoepidermoid karsinoma
  - Adenoid kistik karsinoma
- 2) Nöroendokrin tümörler
  - a) Tipik karsinoid
  - b) Atipik karsinoid
  - c) Küçük hücreli karsinoma, nöroendokrin tip
  - d) Kombine küçük hücreli karsinoma, nöroendokrin tip
- 3) Benign epitelyal tümörler
  - a) Papilloma
  - b) Papillomatozis
  - c) Tükrük bezi tipi adenomlar
    - Pleomorfik adenoma
    - Onkositik papiller kistadenoma
- 4) Yumuşak doku tümörleri
  - a) Malign tümörler
    - Fibrosarkom
    - Malign fibröz histiositoma
    - Liposarkoma
    - Leiomyosarkoma
    - Rabdomyosarkoma
    - Anjiy o sarkoma
    - Kaposi sarkomu
    - Malign periferik sinir kılıfı tümörü
    - Sinovyal sarkoma
  - b) Borderline tümörler
    - İnflamatuar myofibroblastik tümör
  - c) Benign tümörleri
    - Schwannoma
    - Nörofibroma
    - Lipoma
    - Leiomyoma

- Rabdomyoma
- Hemanjioma
- Lenfanjioma
- Granüler hücreli tümör

- 5) Hematolenfoid tümörler
- 6) Kemik ve kıkırdak tümörleri
  - a) Kondro sarkoma
  - b) Osteosarkoma
  - c) Kondroma
  - d) Dev hücreli tümör
- 7) Mukozal malign melanoma
- 8) Sekonder tümörler

### 2.5.2. Epidemiyoloji ve Klinik:

Larinks karsinomları erkeklerdeki tüm kanserlerin %2.2, kadınlarda %0.4 'ünü oluşturur. Çoğu hasta 4. dekattadır ancak daha genç yaşlarda da görülebilir. Hastaların %96'sı erkektir. Ancak bazı ülkelerde kadınlarda sigara kullanımının yaygınlaşmasına bağlı olarak görülme sıklığı artmaktadır. Sigara başlıca risk faktörüdür (1). Bunun yanı sıra daha az oranda alkol, beslenme faktörleri, gastroözefagial reflü, asbest ve radyasyon maruziyeti diğer risk faktörleridir (22). Laringeal skuamöz hücreli karsinomlarda (SCC) HPV'nin rolü de gösterilmiştir (1).

Klinikte, glottik tümörler ses kısıklığı yapar ve genelde küçük tümörlerdir. Supraglottik tümörler glottik tümörlerin aksine klinik olarak pek bulgu vermezler ve tanı konulduğu anda oldukça büyümüşlerdir. Epiglottik tümörlerde ses kalitesinde değişiklik, havayolu obstrüksiyonu, disfaji ve/veya servikal metastaz izlenir. Piriform sinüs tümörleri, genellikle büyüktür ve tipik olarak odinofaji veya otalji mevcuttur (23).

Larinks karsinomları lokalizasyonlarına göre 4 ana tipe ayrılırlar. Bunlar glottik, supraglottik, transglottik ve infraglottik karsinomlardır.

**Glottik:** Tüm olguların %60-65'ini oluşturur. Kıkırdak doku ile çevrili olması ve lenfatik sayısının azlığı nedeniyle uzun süre lokalize kalırlar. Bu bölge tümörleri profilaktik lenf nodu diseksiyonu gerektirmezler. Tedavilerinde kordektomi veya hemilarenjektomi yeterli olur.

**Supraglottik:** Olguların %30-35'ini oluşturur. Yalancı kord, ventrikül ve/veya epiglotun laringeal veya lingual yüzeyini tutar. Bu tümörler preepiglottik alana doğru yayılım gösterme eğilimindedir. Supraglottik karsinomaların sadece %1'i glottise yayılım gösterir. Lenf nodu metastaz insidansları %40'dır. %20-35 olguda klinik olarak lenf nodu bulunmamasına karşın, mikroskopik düzeyde okült metastazlar mevcuttur. Tedavide radyoterapi veya larenjektomi uygulanır.

**Transglottik:** Tüm olguların %5'inden azını oluşturur. Laringeal ventrikülü vertikal olarak çaprazlayan karsinomlar için bu terim kullanılır. Lenf nodu tutulum oranları oldukça yüksektir. Bu lokalizasyondaki tümörler için elektif lenf nodu diseksiyonu gereklidir. Tedavisi total larenjektomidir.

**İnfraglottik:** Bu grup da olguların %5'den azını oluşturur. Gerçek vokal korddan itibaren 1 cm'den fazla aşağıya uzanan tümörler ve subglottik alanda sınırlı olan tümörler için bu terim kullanılmaktadır. Ancak subglottik alanda sınırlı tümör oldukça nadir görülür. Prelaringeal alan ve tiroid bezine invazyon yapabilir. % 15-20 oranında servikal lenf nodlarına, %50 oranında paratrakeal nodlara metastaz yapar (1).

### 2.5.3. Skuamöz hücreli karsinom

Larinks karsinomlarının %95'ini SCC oluşturur (22,23). SCC, çoğunlukla supraglottik ve glottik bölgeden kaynaklanır. Anterior vokal kord en sık yerleşim yeridir. Makroskopik lezyon, düz plak tarzında, polipoid veya yüzeyden kabarık, ekzofitik şekilde olabilir. Tümör yüzeyi sıklıkla ülseredir (1,23). Mikroskopik olarak skuamöz diferansiyasyon invaziv formun karakteristik bulgusudur. Diferansiyasyon derecesi, hücresel pleomorfizm ve mitotik aktivite temel alınarak iyi, orta ve kötü diferansiye olarak sınıflandırılmıştır. Çoğu glottik SCC iyi-orta diferansiye iken, diğer lokalizasyonlar- özellikle subglottik- yüksek oranda orta/ kötü diferansiyedir (1).

İyi diferansiye SCC, normal skuamöz epitele benzer. Orta diferansiye SCC'de mitoz ve nükleer pleomorfizm belirgindir, ancak keratinizasyon daha az orandadır. Kötü diferansiye SCC'de ise immatür hücreler, çok sayıda tipik ve atipik mitoz ile minimal keratinizasyon izlenir (23).

SCC'de moleküler düzeyde birçok çalışma yapılmış ve özellikle prognozla ilişkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bu nedenle yapılan bir grup çalışmada vasküler endotelial growth faktör (VEGF)'nin prognostik önemi gösterilmiştir. VEGF endotelial

hücreler için oldukça spesifik potent mitojendir (24). Vasküler endotel hücrelerde proliferasyon, diferansiyasyon ve migrasyonu bir başka deyişle anjiogenezisi uyarır. Anjiogenezisin yüksek olduğu dokuda ise invazyon ve metastaz olasılığı artar. SCC'li hastalarda yapılan çalışmalarda, yüksek düzeyde VEGF salınımının, tümörlerde ileri evre ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (25). Bir başka çalışmada ise VEGF'nin p53 ve indusibl nitrik oksit sentaz (İNOS) ile olan ilişkisi, anjiogenez ve prognoz üzerine olan etkileri karşılaştırılmıştır. p53 ve nitrik oksit de VEGF gibi anjiogenezin kontrol mekanizması üzerinde etkilidir. p53, İNOS geni üzerinde promotör bölgededir. p53 genindeki bir mutasyon İNOS ekspresyonunda artışa ve dolayısıyla VEGF salımında artışa neden olur. Bu çalışma ile laringeal displazilerde yüksek p53, VEGF ve İNOS düzeylerinin karsinom gelişme riskinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (26).

p53 ile c-erb-B2'nin birlikte kullanıldığı bir çalışmada p53 ile lenf nodu metastazı arasında yüksek oranda ilişki saptanırken c-erb-B2 ile benzer sonuç elde edilememiştir (27). Endoglin (CD105) damar endotel hücrelerinden salınan, proliferasyonla ilişkili bir proteindir. Hipoksiye duyarlı olup, özellikle intratümöral damarlardan salınır. Buna ilişkin yapılan çalışmada CD105 yüksekliğinin, SCC'lerde kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (28).

Dünya sağlık örgütünün (WHO) sınıflamasına göre SCC'nin subtipleri, diğer malign epitelial tümörleri ve nöroendokrin tümörleri aşağıda özetlenmiştir.

- **Verrüköz karsinoma:** SCC'nin non-metastatik iyi diferansiye formudur. Larinkste en sık vokal kordları tutar. En sık semptom ses kısıklığıdır. Makroskopik olarak keskin sınırlı, ekzofitik kitle şeklinde görülür. Mikroskopik olarak ise keratinizasyonu belirgin, iyi diferansiye skuamöz epitelin, papillalar oluşturur şeklinde stromaya invazyonu izlenir (23). Laringeal papiller hiperplazideki parakeratozisten ayrımı önemlidir (29). Bazen verrüköz karsinoma SCC'ye eşlik edebilir. Bu durumda "Hibrid karsinoma"dan söz edilir. Bu tür karsinomlarda metastaz riski artmaktadır. Klinik olarak lenf nodu palpe edilmediği sürece verrüköz karsinomlarda boyun diseksiyonu uygulanmaz (30). Prognozu oldukça iyidir (1,23).

- **Bazaloid SCC:** Laringeal karsinomların %1'den azını oluşturur. SCC'nin yüksek dereceli, agresif bir formudur. Hem skuamöz hem de bazaloid komponenti içerir. En sık piriform sinüs ve supraglottik alana yerleşir. En sık semptomları boyunda kitle ve ses kısıklığıdır. Makroskopik olarak merkezi ülserasyon ve submukozal endurasyon

gösteren, ekzofitik polipoid kitle görünümü vardır. Mikroskopik olarak bazaloid ve skuamöz hücre içerir. Bazaloid hücreler küçük, hiperkromatik nükleuslu ve dar sitoplazmalıdır. Solid, merkezinde komedonekroz içeren, periferik palizatlanma gösteren, lobüler yapılar halindedir. Mitoz, nükleer pleomorfizm sıktır. Oldukça agresif tümörlerdir. Erken dönemde lenf nodu ve uzak organ metastazı yaparlar (23,31).

- **Papiller SCC:** SCC'nin ekzofitik, papiller büyüme gösteren bir varyantıdır. Larinks ve hipofarinks en sık yerleşim yeridir. Larinkste en çok supraglottik alanda bulunur. Ses kısıklığı ve havayolu obstruksiyonu en yaygın semptomlarıdır. Makroskopik olarak yumuşak, polipoid, ekzofitik, papiller tümör izlenir. Mikroskopide ise papiller büyüme paterni karakteristiktir. Kalın fibrovasküler kor etrafında immatür bazaloid veya pleomorfik hücre dizilimi mevcuttur. Minimal keratozis vardır. Klasik SCC'den daha iyi prognoza sahiptir (23).

- **Spindle hücreli karsinoma:** Bifazik tümördür. Hem SCC'nin in-situ veya invaziv formunu hem de mezenkimal görünümde malign işi hücreli komponenti içerir. Ancak işi komponent epitelyal orj inlidir. Larinksde en sık glottik bölgeyi tutar. Hastalarda sıklıkla ses kısıklığı, disfaji ve/veya havayolu obstruksiyonu vardır (23). Makroskopik olarak polipoid görünümde, ülserasyon ve fibrinoid nekroz içeren kitle görünümü bu tümörler için tipiktir (30). Mikroskopide çoğunluğu işi hücre komponenti oluşturur. Görünüm en çok fibrosarkoma ya da malign fibröz histiositoma benzer. Prognozu, evre, büyüme paterni, yerleşim yeri, işi komponentin derinliği ve radyasyon maruziyeti olup olmamasına göre değişir (23).

- **Akantolitik SCC:** SCC'nin nadir görülen bir varyantıdır. Tümör hücrelerinde akantoliz ile karakterizedir. Bu tip genellikle deride güneşe maruz kalan alanlarda görülmesine rağmen, larinkste de supraglottik alana yerleşir. Spesifik bir makroskopik görünümü yoktur. Mikroskopik olarak tümör SCC'den oluşur ancak tümör adacıklarında akantolize bağlı glandüler diferansiyasyon görünümü vardır. Pseudoluminalar genellikle akantolitik ve diskeratotik hücreler veya sellüler debris içerir. Rekürrens ve metastaz riski klasik SCC'ye oranla hafif artmıştır (23,32).

- **Adenoskuamöz karsinoma:** Nadir görülen agresif bir neoplazmdır. SCC ve gerçek adenokarsinomanın her ikisini birden içerir. Larinks en sık yerleşim yeridir. Hastalarda ses kısıklığı vardır. Makroskopide sıklıkla ülserasyon gösteren, ekzofitik polipoid kitle vardır. Mikroskopik olarak SCC ve adenokarsinoma komponenti birbirine

yakın oranda izlenir. SCC komponenti, in-situ veya invaziv formda olabilir. Adenokarsinom komponentinde tubuler yapılar, intrasellüler veya intraluminal musin, taşlı yüzük benzeri görünüm izlenir. SCC'ye göre daha agresif seyreder (23).

**Lenfoepitelyal karsinoma:** Reaktif lenfoplazmositik infiltratın belirgin olduğu indifferansiye bir karsinomadır. Sıklıkla servikal lenf nodu metastazı eşlik eder. Epstein Barr virüs (EBV) ile ilişkilidir (1). Morfolojik olarak nasofaringeal karsinomadan ayırt edilemez. Hastalarda ses kısıklığı ve boyunda kitle hikayesi vardır. Makroskopik olarak derin veya yüzeysel ülserasyon gösteren kitle formu izlenir. Mikroskopik olarak indifferansiye karsinoma hücreleri arasında çok sayıda küçük lenfosit ve plazma hücreleri bulunur. Agresif gidiş gösterir (23).

**Dev hücreli karsinoma:** Larinksin orjin ve histogenezisi açıklanamayan, nadir görülen tümörlerindendir (33). Bizar multinükleer dev hücrelerden oluşan indifferansiye karsinomadır. Akciğerin giant celi karsinomuna benzer. Larinkste tüm lokalizasyonlarda bulunabilir. Makroskopik görüntüsü SCC'den ayırt edilemez (23). Mikroskopide pleomorfik sıklıkla multinükleer, asidofilik vakuole sitoplazmalı dev hücreler, anaplastik tümör hücreleri arasında dağılmış şekilde izlenir. Mitozlar atipik ve çok sayıdadır. Kötü prognoza sahiptir (23,33).

**Malign tükrük bezi tipi tümörler:** Bu tümörlerin %72'si maligndir. Ana gruplar; mukoepidermoid karsinoma ve adenoid kistik karsinomadır.

Mukoepidermoid karsinoma (MEC): Nadir görülür, literatürde sadece 100 vaka bildirilmiştir. Malign tükrük bezi tipi tümörlerin 1/3'ünü oluşturur. En sık erkeklerde görülmekle birlikte çocuklarda bildirilen vakalar mevcuttur. En sık yerleşim yeri supraglottik bölgedir. İlerleyici ses kısıklığı vardır. Olguların yarısında servikal lenf nodu metastazı vardır. Mikroskopisi herhangi bir organdaki MEC ile benzerdir. Kötü prognoz gösterir.

Adenoid kistik karsinoma (ACC): Larinks karsinomalarının %0.07-0.25'ini oluşturur. Literatürde bildirilen sadece 120 vaka vardır. Esas olarak glottik ve supraglottik alana yerleşir. Mikroskopik görünümü diğer alanlardaki ACC ile benzerdir (23).

**Nöroendokrin tümörler:** Bu tümörler birkaç alt gruba ayrılırlar. Bunlar görülme sıklıklarına göre atipik karsinoid, küçük hücreli karsinoma-nöroendokrin tip, paraganglioma ve tipik karsinoiddir.

- Tipik karsinoid: Düşük dereceli malignite gösteren karsinoid türüdür. İyi diferansiye nöroendokrin karsinoma da denir. Larinksin en az görülen nöroendokrin tümörüdür. Çoğunlukla ariepiglottik alanda yerleşir. Makroskopik olarak ortalama büyüklüğü 0.5-3.0cm civarındadır. Mikroskopide pembe sitoplazmalı, kaba kromatinli, nükleol ve mitoz içermeyen hücreler izlenir. Diğer organlardaki karsinoidlere göre daha agresif seyreder (23).
  - Atipik karsinoid: Malign karsinoid de denir. Larinksin en sık görülen nöroendokrin neoplazmıdır. % 90'dan fazlası supraglottik bölgede ariepiglottik alan çevresinde yerleşir. Makroskopik olarak pembe renkli veya hemorajik, submukozal veya polipoid kitle şeklindedir. Mikroskopide tümör dokusu küçük adacıklar, trabeküller, tabakalar, glandlar veya bunların kombinasyonu şeklinde olabilir. Kistler veya intrakistik papiller uzantılar izlenebilir. Hücreler büyük, veziküler nükleuslu ve nükleolü belirgindir. Mitoz, nekroz, sellüler pleomorfizm ve lenfovasküler invazyon siktir (23). Larinksteiki atipik karsinoide bağlı sadece 4 karsinoid sendrom olgusu bildirilmiştir. Oldukça agresif gidiş gösterir. Bölgesel lenf nodu, deri ve subkutan dokuya metastaz yapar. 5 yıllık sağ kalım oranı %48'dir (23,34).
- Küçük hücreli karsinoma-nöroendokrin tip: Yüksek derecede maligndir. Larineal karsinomların %0.5'ini oluşturur. Larinksin herhangi bir bölgesinden köken alabilir. Semptomları yerleşim yerine bağlıdır. Makroskopik olarak ülser submukozal lezyon şeklindedir. Mikroskopide dar sitoplazmalı, yuvarlak, oval veya iğsi nükleuslu, kaba kromatinli hücreler izlenir. Erken dönemde bölgesel lenf nodlarına metastaz ve uzak organ metastazı yapabilir (23). Prognozu oldukça kötüdür. En sık metastaz alanları servikal lenf nodları, karaciğer, akciğer, kemik ve kemik iliğidir (34).
- Paraganglioma: Benign biyolojik davranış paterni gösterir. Larinks nöroendokrin tümörleri içinde sadece bu tümör kadın predominansı gösterir. Literatürde metastaz yapan sadece 1 olgu bildirilmiştir. Larinks paragangliomaları multipl baş boyun paragangliomaları ile ilişkilidir (34).



#### 2.5.4. TNM Klasifikasyonu

##### **Supraglottik:**

- T1 Tümör supraglottik bölgenin bir tarafında sınırlı, vokal kordlar hareketli
- T2 Tümör birden fazla supraglottik , glottik veya supraglottik alana komşu alan mukozasına invaze (dil tabanı, vallekula, priform sinüsün medial kısmı), larinks fikse olmaksızın
- T3 Tümör vokal kord fiksasyonu ile birlikte larinkse sınırlı ve/veya postkrikoid alan, preepiglottik doku, paraglottik yüzeye invaze ve/veya minör tiroid kıkırdak erozyonu
- T4a Tümör tiroid kıkırdak ve/veya larinks altındaki dokulara (trakea, dilin yüzeyel ve derin kasları, çizgili kas, tiroid, özefagus) invaze
- T4b Tümör prevertebral yüzey, mediastinal yapılar veya karotid artere invaze

##### **Glottik:**

- T1 Tümör vokal kordlara sınırlı (anterior ve posterior komissür) ve kordlar hareketli
- T1a Tümör bir vokal korda sınırlı
- T1b Tümör her iki vokal kordu tutmuş
- T2 Tümör supraglottik ve/veya subglottik alana uzanıyor ve/veya vokal kord hareketi zarar görmüş
- T3 Tümör vokal kord fiksasyonu ile birlikte larinkse sınırlı ve/veya paraglottik alan invaze ve/veya minör tiroid kıkırdak erozyonu
- T4a Tümör tiroid kıkırdak ve/veya larinks altındaki dokulara (trakea, dilin yüzeyel ve derin kasları, çizgili kas, tiroid, özefagus) invaze
- T4b Tümör prevertebral yüzey, mediastinal yapılar veya karotid artere invaze

##### **Subglottik:**

- T1 Tümör subglottik alana sınırlı
- T2 Tümör vokal korda uzanıyor, vokal kordlar normal veya hasarlı
- T3 Tümör larinkse sınırlı, vokal kordlar fikse
- T4a Tümör krikoid veya tiroid kıkırdak ve/veya larinks altındaki dokulara (trakea, dilin yüzeyel ve derin kasları, çizgili kas, tiroid, özefagus) invaze
- T4b Tümör prevertebral yüzey, mediastinal yapılar veya karotid artere invaze

**N- Bölgesel lenf nodları:**

NX	Bölgesel lenf nodu bilinmiyor
NO	Lenf nodu metastazı yok
N1	Ipsilateral bir lenf noduna metastaz, 3 cm veya daha küçük
N2a	Ipsilateral bir lenf noduna metastaz, 3 cm'den büyük, 6 cm'den küçük
N2b	Ipsilateral multipl lenf noduna metastaz, hiçbiri 6 cm'den büyük değil
N2c	Bilateral veya kontralateral lenf nodlarına metastaz, hiçbiri 6 cm'den büyük değil
N3	6 cm'den büyük lenf noduna metastaz

**M- Uzak metastaz:**

MX	Uzak metastaz bilinmiyor
MO	Uzak metastaz yok
Mİ	Uzak metastaz var

**2.5.5. Evreleme**

<b>Evre 0</b>	Tis	NO	MO
<b>Evre 1</b>	T1	NO	MO
<b>Evre 2</b>	T2	NO	MO
<b>Evre 3</b>	T1, T2	N1	MO
	T3, N0,	N1	MO
<b>Evre 4A</b>	T1, T2, T3	N2	MO
	T4a	N0, N1, N2	MO
<b>Evre 4B</b>	T4b	Herhangi bir N	MO
	Herhangi bir T	N3	MO
<b>Evre 4C</b>	Herhangi bir T	Herhangi bir N	Mİ

### 2.5.6. Prognostik ve prediktif faktörler

- 1- **Klinik evre ve tümörün yerleşim yeri:** Glottik bölge tümörlerinde 5 yıllık sağkalım oranı %80, supraglottik bölgede %65, subglottik bölgede %40'dır. Ariepiglottik bölge tümörleri en kötü prognoza sahiptir.
- 2- **Mikroskopik grade:** Tümörün klinik evresi ile ilişkilidir.
- 3- **Tümörün büyüklüğü:** T1 glottik karsinomalar radyoterapi ile tedavi olur iken büyük tümörlerde lokal rekürrens riski artmıştır.
- 4- **Lenf nodu tutulumu:** Metastatik lenf nodu sayısı, büyüklüğü, ektranodal tutulumun varlığı veya yokluğu prognozu etkiler.
- 5- **DNA ploidi:** Anöplid tümörlerde rekürrens riski yüksektir (1).
- 6- **Konak reaksiyonu:** Stromada çok sayıda S-100 pozitif boyanan Langerhans hücrelerinin varlığı, daha az oranda rekürrens, daha az sayıda servikal lenf nodu metastazı ve uzun süreli sağkalım ile ilişkilidir (35).
- 7- **Keratin ekspresyonu:** Salınan keratin tipinin prognostik önemi yoktur ancak immünohistokimyasal değerlendirmede kullanılır.
- 8- **p53 aşırı salımim:** 17p13 kromozomu üzerinde lokalize bir gendir. Hücre siklusu kontrolünde rol oynar. Premalign lezyondan invaziv karsinoma progresyonda rol oynar. Yapılan çalışmalarda p53 salımının bölgesel rekürrens ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (36).
- 9- **Lenfovasküler ve perinöral invazyon:** Lenfatik damar veya kan damarı invazyonu lenf nodu ve/veya uzak organ metastaz riskini artırır. Benzer şekilde perinöral invazyon da lokal rekürrens, bölgesel lenf nodu metastazında artış ve sağkalım süresinde azalma ile ilişkilidir (23).
- 10- **Rezeksiyon sınırları:** Cerrahi sınırlarda tümörün negatif olması genelde rekürrens oranının azalması ve sağkalım süresinin uzaması ile ilişkilidir (23).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 1997-2007 yılları arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında larinks skuamöz hücreli karsinom tanısı almış, yaşları 35-87 arasında değişen, 6'sı kadın, 108'i erkek 114 olgu incelemeye alınmıştır.

#### 3.1. MATERYALLERİN ELDE EDİLMESİ VE UYGUN PARAFİN BLOK SEÇİMİ

Çalışmamızdaki olgular, bölümümüzdeki kayıt defterleri ve bilgisayar arşivi taranarak belirlenmiştir. İlk aşama olarak, Kulak Burun Boğaz bölümü tarafından tanı amaçlı olarak gönderilen, total ve supraglottik larenjektomi olgularını içeren patoloji raporları arşivden çıkarılmış ve olguların patoloji protokol numaraları tespit edilmiştir. Daha sonra ise olgulara ait hematoksilen eozin boyalı preparatlar arşivden çıkarılıp, uygun preparatlar seçildikten sonra, bu preparatlara ait parafin bloklar, blok arşivinden çıkarılmıştır. Bizim çalışmamızda, araştırmanın amacına uygun olacak şekilde, canlı tümör dokusu ve sağlam epitelyal alanı birlikte içeren bloklar seçilmiştir.

#### 3.2. BOYASIZ KESİTLER VE DEPARAFİNİZASYON

Uygun blok seçiminden sonra, her bloktan, bir tanesi yedek olmak üzere 2 adet boyasız kesit elde edildi. Kesit aşamasında "Leica RM 2145" model mikrotom kullanıldı ve 4 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Kesilen bu dokular, boyama esnasında dökülmeyi önlemek amacıyla, "polysine" kaplı adezivli lamlara alındı. Kesit alma işlemi tamamlandıktan sonra, lamlar 65 °C' deki etüvde 15 dakika bekletilerek, parafinin erimesi sağlandı. Etüvden çıkarılan lamlar, 10 dakika ksilolde bekletilerek, deparafinizasyon işlemi tamamlandı.

### 3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA

Patolojide tanı, esas olarak, ışık mikroskopunda, hematoksilin eozin boyalı preparatlara bakılarak konulmaktadır. Ancak tanıya yardımcı olabilecek bazı özel teknikler de kullanılmaktadır. Bu tekniklerden biri olan immünohistokimyasal boyama yöntemi, düşünülen tanının desteklenmesi, ayırıcı tanıya gidilmesi ve tümör alt tiplerinin belirlenmesinde yardımcı olmaktadır.

İmmünohistokimyasal boyama, temelde antijen-antikor ilişkisine dayalı bir işlem olup, uygulama sırasında antikor, enzim ve kromojen gibi değişik maddeler kullanılmaktadır. Bu maddeler, günümüzde farklı firmalar tarafından, kullanıma hazır ya da konsantre olmak üzere iki formda, piyasaya sürülmektedir. Çalışmamızda kullandığımız D2-40 antikorunu, konsantre formda, DakoCytomation marka olup, klon D2-40 ve katalog numarası M3619'dur.

İmmünohistokimyasal boyamadaki işlemler aşağıdaki sıra takip edilerek uygulanmıştır.

- 1- Adezivli lamlara alınan dokular, antijeniteyi arttırmak amacı ile, 1/10 oranında distile su ile sulandırılmış, sitrat tampon içerisine konuldu. Bu haliyle 10'ar dakikalık 2 periyot halinde, 360 °C'deki mikrodalga fırında, 20 dakika kaynatıldı. Bu işlem esnasında solüsyon düzeyinin azalmamasına ve oda ısısının 22 °C olmasına özen gösterildi.
- 2- Mikrodalga fırından çıkarılan dokuların etrafı, üzerine uygulanacak maddelerin dağılmasını önlemek amacıyla, özel antikor kalemi ile işaretlendi.
- 3- Lamlar, işlemin yapılacağı plastik kaplar üzerine dizilerek, üzerine "Phosphate buffered solution"(PBS) damlatıldı ve 5 dakika bekletildi.
- 4- PBS uzaklaştırıldıktan sonra %3'lük hidrojen peroksit damlatıldı ve 15 dakika bekletildi. Bu sayede zemin boyanmasının engellenmesi amaçlandı.
- 5- PBS ile yıkandıktan sonra "Large volume ultra V block" ile 5 dakika bekletildi. Tekrar PBS ile yıkandı.
- 6- PBS uzaklaştırılıp 1/100 oranında dilüe edilmiş D2-40 antikorunu dokulara damlatıldı ve oda ısısında 1 saat bekletildi. Yeniden PBS ile yıkandı.
- 7- PBS uzaklaştırıldıktan sonra "Biotinylated goat antipolyvalent" ile 15 dakika bekletildi, PBS ile yıkandı daha sonra "Large volume streptavidin peroxidase" 15 dakika uygulandı. Yine PBS ile yıkandı.

- 8- Bu aşamada 1 cc "DAB substrate" içerisine 2 damla "DAB chromogen" damlatılarak hazırlanan kromojen solüsyonu ile 5 dakika bekletildi.
- 9- Çeşme suyunda yıkanan preparatlar 1 dakika hematoksilen ile boyandı. Tekrar çeşme suyunda yıkandı ve sıra ile 5 dakika alkolden, 5 dakika ksilolden geçirilerek lamlar entellan ile kapatıldı.

### **3.4. SKORLAMA**

İmmünohistokimyasal değerlendirmede peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik sayıları, yoğun oldukları 4 büyük büyütme (1 milimetreka) alanında sayıldı ve sayı olarak ifade edildi. Tümör hücrelerindeki boyanan alan yüzdesi ve boyanma yoğunluğu 2 ayrı grupta değerlendirildi. Tümöral alanda %5 ve altındaki boyanmalar negatif, %5'in üzerindeki boyanmalar pozitif kabul edildi. Yoğunluk değerlendirmesinde zayıf boyanma 1, orta şiddette boyanma 2, güçlü boyanma 3 puan olarak kabul edildi. Tümördeki boyanma yüzde ve yoğunluğu için ayrıca toplam bir değer elde edildi. Bu toplam değerde 3'ün altı negatif, 3 ve üzeri pozitif kabul edildi.

### **3.5. İSTATİSTİK**

İstatistiksel analiz için Ki-kare testi kullanılmıştır. Veriler, Windows işletim sistemi altında çalışan SPSS programı kullanılarak analiz edilmiştir. Bu değerlendirmede p değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. GENEL BULGULAR

Bu çalışmada değerlendirmeye alınan 114 olgunun 108'i (%95) erkek, 6'sı (%5) kadındır. Olguların yaş aralığı 35-87 olup, yaş ortalaması 57.55'dir (Tablo 1).

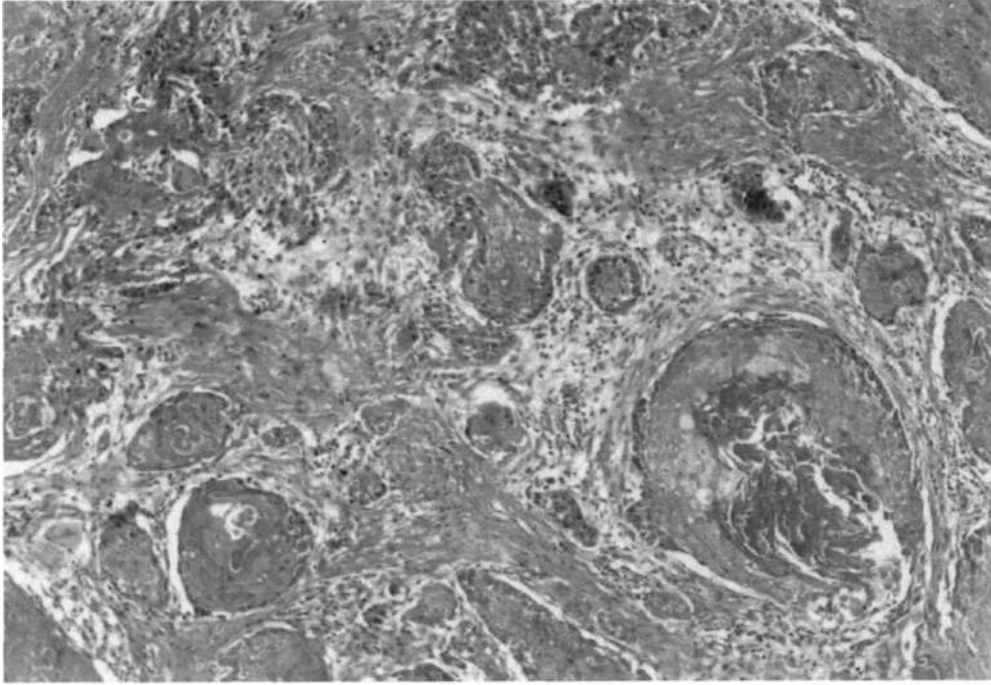
Tablo 1: Olguların yaş gruplarına göre dağılımı.

YAŞ GRUPLARI	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	TOPLAM
OLGU SAYISI	2	30	38	26	16	2	114
%	1.76	26.3	33.3	22.8	14.0	1.76	100

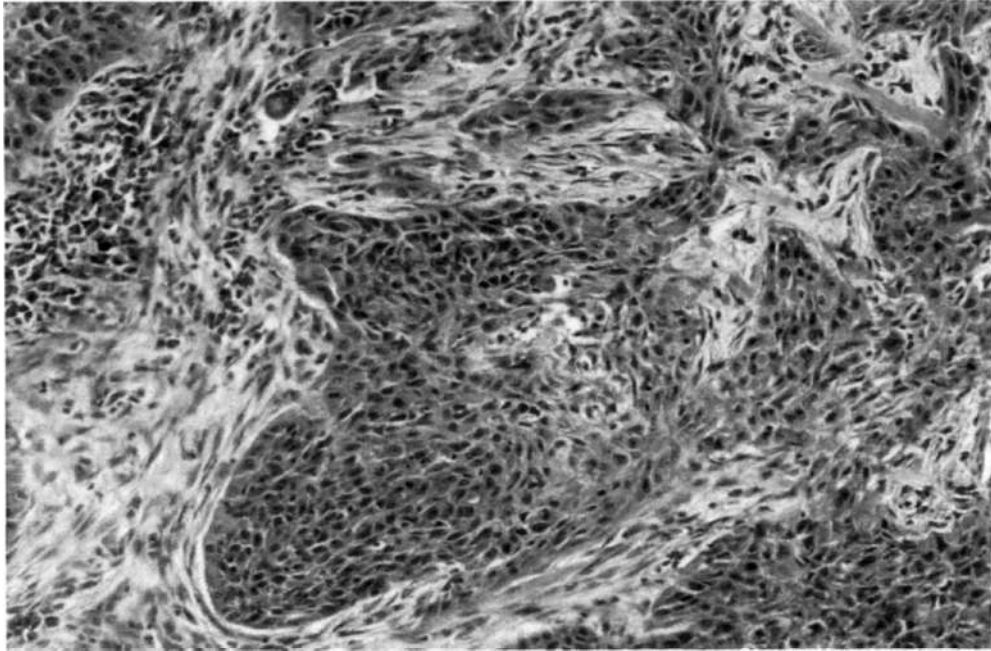
Histopatolojik incelemede olguların 35'i (%30) iyi diferansiye, 79'u (%70) orta/az diferansiye olarak değerlendirilmiştir (Tablo 2, Resim 1,2).

Tablo 2: Olguların gradelerine göre dağılımı.

GRADE	İYİ	ORTA/AZ	TOPLAM
OLGU SAYISI	35	79	114
%	30	70	100



Resim 1: İyi diferansiye SCC de glob korne yapıları (HEx100)



Resim 2: Orta/az diferansiye SCC 'de hiperkromatik nukleuslu, eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluşan solid tümör adacıkları (HEx200)



Olguların tümör evresine (E) bakıldığında; 8 olgu evre 1 (%7), 27 olgu evre 2 (%23.7), 34 olgu evre 3 (%29.8), 45 olgu evre 4 (%39.5) olarak saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3: Olguların evrelerine göre dağılımı.

	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Toplam
Olgu sayısı	8	27	34	45	114
%	7	23.7	29.8	39.5	100

Araştırmaya dahil edilen olguların 43'ünde (%37) lenf nodu metastazı mevcut iken, 71 olguda (%63) lenf nodu metastazı izlenmemiştir (Tablo 4).

Tablo 4: Lenf nodu metastazı olan ve olmayan olguların sayı ve yüzdeleri.

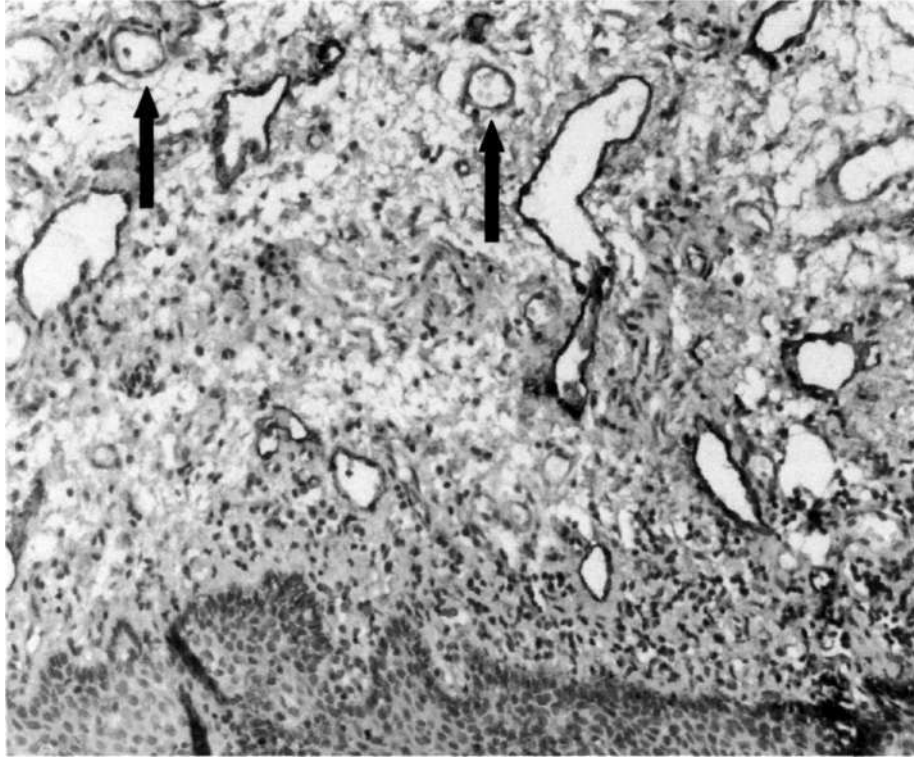
LENF NODU METASTAZI	POZİTİF	NEGATİF	TOPLAM
OLGU SAYISI	43	71	114
%	37	63	100

#### 4.2. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

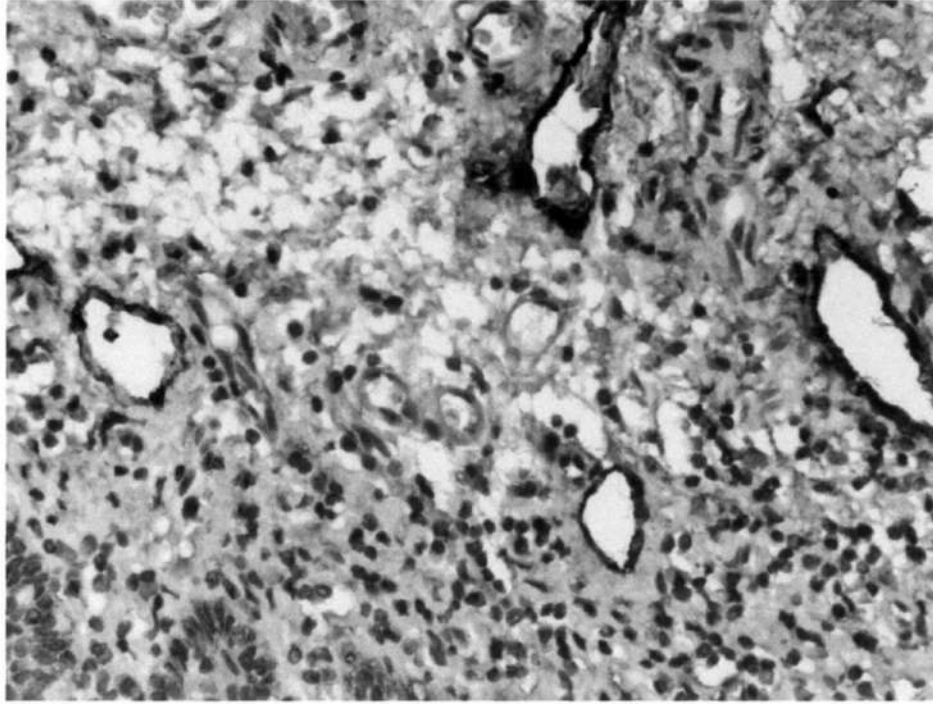
Lenf nodu metastazı olan (N+) 43 olgu ve metastaz olmayan (NO) 71 olgunun, D2-40 ile boyanma gösteren peritümöral alandaki lenfatik sayıları karşılaştırıldığında, metastaz olmayan gruptaki 46 olguda (%64.8) lenfatik sayısı ortalama değer olan 12'nin altında, 25 olguda (%35.2) 12 ve üzerinde saptandı. Lenf nodu metastazı olan grupta ise 21 olguda (%48.8) 12'nin altında, 22 olguda (%51.2) 12 ve üzerinde izlendi (Tablo 5, Resim 3,4). Ortalama değerinin altındaki lenfatik sayısı, metastaz olmayan grupta, metastaz olan gruba oranla daha yüksek oranda izlenmekle birlikte, yapılan istatistiksel değerlendirmede ise iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0.094$ ).

Tablo 5: Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarda peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması (p=0.094).

	12'nin altı	12 ve üzeri	TOPLAM
Lenf nodu Metastazı yok	46 (%64.8)	25 (%35.2)	71
Lenf nodu metastazı var	21 (%48.8)	22 (%51.2)	43
TOPLAM	67 (%58.8)	47(%41.2)	114



Resim 3: Peritümöral alanda D2-40 ile boyanma gösteren lenfatikler ve reaksiyon vermeyen içi eritrosit ile dolu vasküler yapılar (oklar) (X200)

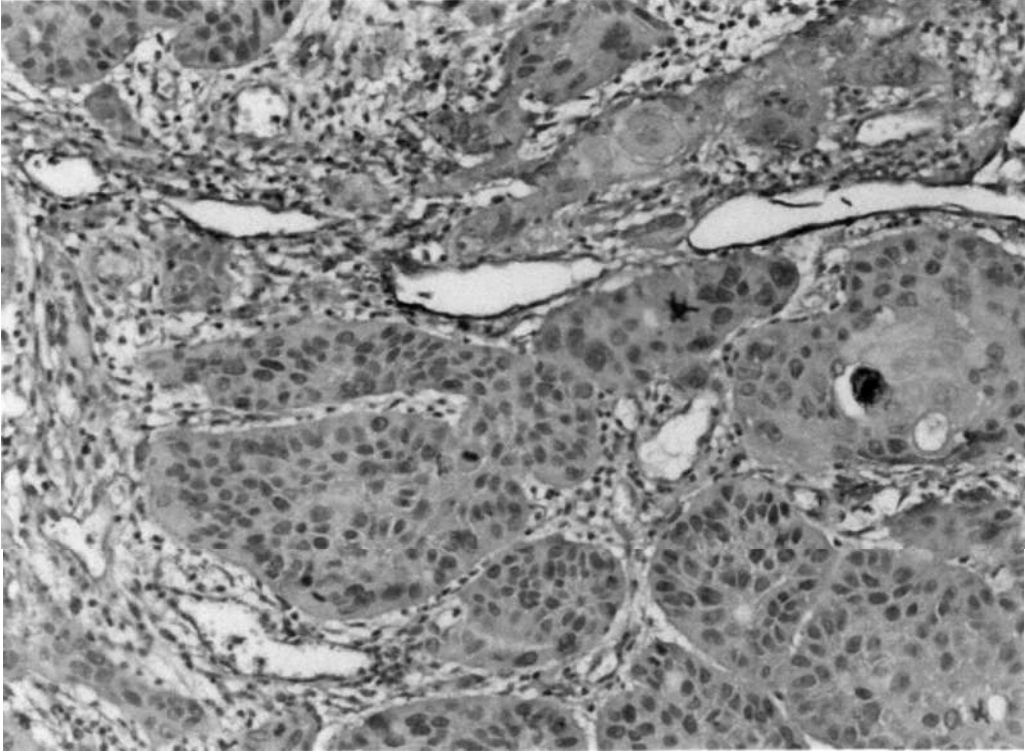


Resim 4: D2-40 ile peritümöral alandaki lenfatiklerin daha büyük büyütmede görünümü (X400)

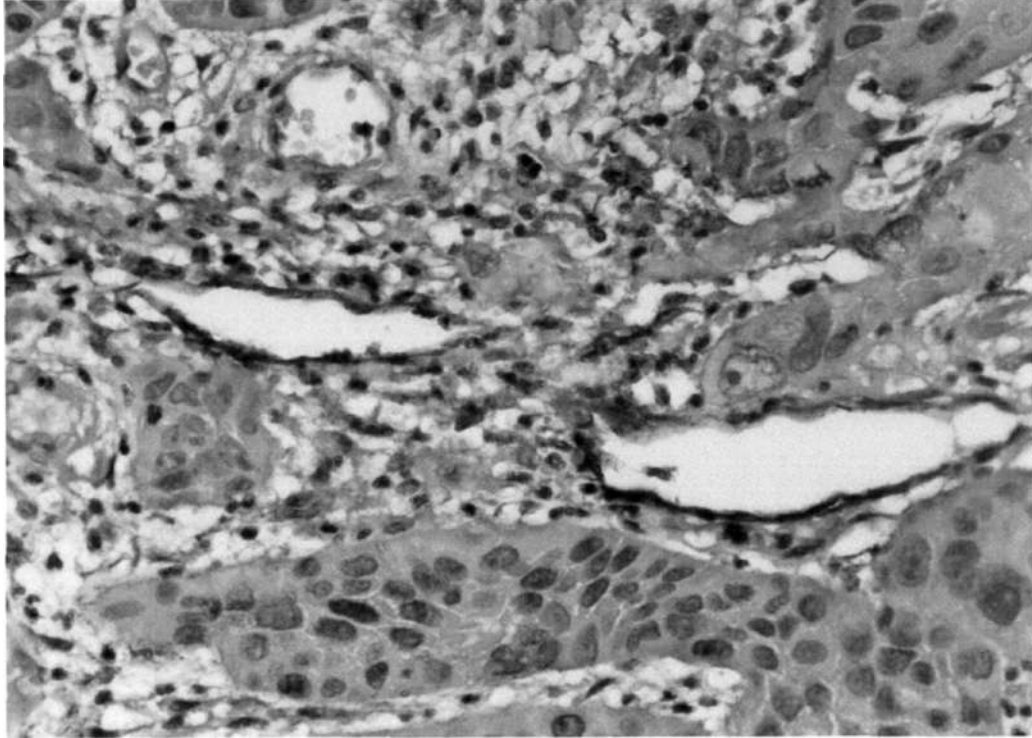
Lenf nodu metastazı olan (N+) ve metastaz olmayan (NO) grupların, D2-40 ile boyanan intratümöral lenfatik sayıları ile karşılaştırıldığında metastaz olmayan 71 olgudan 38'inde (%53.5) ortalama değer olan 5 ve altında, 33'ünde ise (%46.5) 5'in üzerinde boyanan lenfatik sayısı tespit edilmiştir. Metastaz olan gruptaki 43 olgudan 28'inde (%65.1) 5 ve altında boyanma, 15'inde (%34.9) 5'in üzerinde boyanma saptanmıştır (Tablo 6, Resim 5,6). Yapılan istatistiksel analizde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $p=0.224$ ).

Tablo 6: Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarda intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması ( $p=0.224$ ).

	5 ve altı	5 üzeri	TOPLAM
Lenf nodu metastazı yok	38 (%53.5)	33 (%46.5)	71
Lenf nodu metastazı var	28(%65.1)	15(%34.9)	43
TOPLAM	66 (%57.9)	48(%42.1)	114



Resim 5: Tümör adacıkları arasında D2-40 ile boyanan intratümöral lenfatikler (x200)

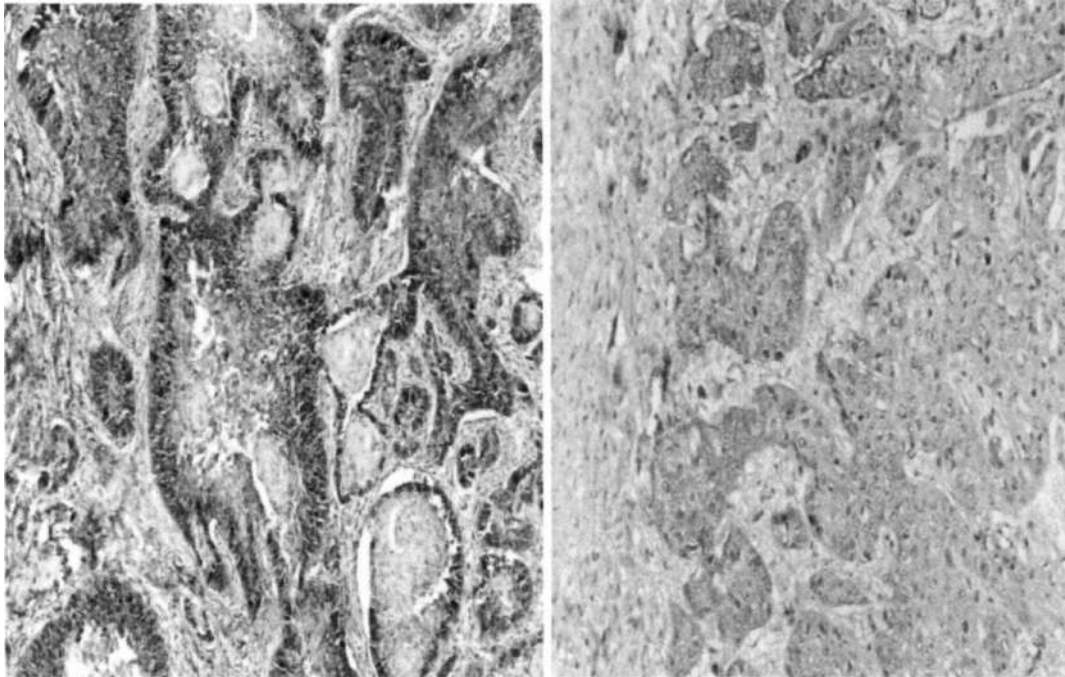


Resim 6 : İnatümöral alandaki lenfatiklerin daha yakından görünümü (x400)

Tümör grade'i ve D2-40 ile boyanan tümör hücrelerinin yüzde ve yoğunluklarına ait toplam değer karşılaştırıldığında iyi diferansiye 6 olguda (%15.4) skor 3'den az boyanma, 29 olguda (%38.7) skor 3 üzerinde boyanma saptandı. Orta/az diferansiye 33 olguda (%84.6) skor 3'den az boyanma, 46 olguda ise (%61.3) skor 3'ün üzerinde boyanma izlendi (Tablo 7, Resim 7). İyi diferansiye olgularda, orta/az diferansiye olgulara oranla tümör hücrelerindeki boyanma oranı daha yüksektir. İstatistiksel analizde sonuç anlamlı olarak değerlendirilmiştir (p=0.011).

Tablo 7: Tümör grade ile tümördeki boyanmanın karşılaştırılması (p=0.011).

	İyi	Orta/Az	TOPLAM
Skor 3'den az	6(%15.4)	33 (%84.6)	39
Skor 3 ve üzeri	29 (%38.7)	46(%61.3)	75
TOPLAM	35 (%30.7)	79 (%69.3)	114



Resim 7: Solda iyi diferansiye tümörde, tümör hücrelerinde skor 3'ün üzerinde boyanma, sağda orta/az diferansiye tümörde skor 3'den az boyanma (x100)

Tümör evresi ile peritümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında evre 1'deki 5 olguda (%62.5), evre 2'deki 19 olguda (%70.4), evre 3'deki 22 olguda (%64.7), evre 4'deki 21 olguda (%46.7) ortalama değer olan 12'nin altında lenfatik

sayısı saptanmıştır. Buna karşın 12 ve üzerindeki lenfatik sayısı, evre 1'deki 3 olguda (%37.5), evre 2'deki 8 olguda (%29.6), evre 3'deki 12 olguda (%35.3), evre 4'deki 24 olguda (%53.3) izlenmiştir (Tablo 8). Evre 1 ve 2'de peritümöral alanda lenfatik sayıları daha düşük oranlarda iken evre 4'de lenfatik sayısında artış dikkati çekmektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0.197$ )

Tablo 8: Tümör evresi ile peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması ( $p=0.197$ ).

	12'in altı	12 ve üzeri	TOPLAM
Evre 1	5 (%62.5)	3 (%37.5)	8
Evre 2	19(%70.4)	8 (%29.6)	27
Evre 3	22 (%64.7)	12(%35.3)	34
Evre 4	21 (%46.7)	24 (%53.3)	45
TOPLAM	67 (%58.8)	47(%41.2)	114

Tümör evresi ile intratümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında ortalama değer olan 5 ve altındaki lenfatik sayısı evre 1 olan 3 olguda (%37.5), evre 2 olan 15 olguda (%55.6), evre 3 olan 20 olguda (%58.8), evre 4 olan 28 olguda (%62.2) izlenmiştir. 5'in üzerindeki lenfatik sayıları ise evre 1 olan 5 olguda (%62.5), evre 2 olan 12 olguda (%44.4), evre 3 olan 14 olguda (%41.2) ve evre 4 olan 17 olguda (%37.8) saptanmıştır (Tablo 9). Özellikle evre 2, 3 ve 4'de, intratümöral lenfatik sayısı daha düşük olan olgu sayısı, fazla olarak izlense de aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p=0.081$ ).

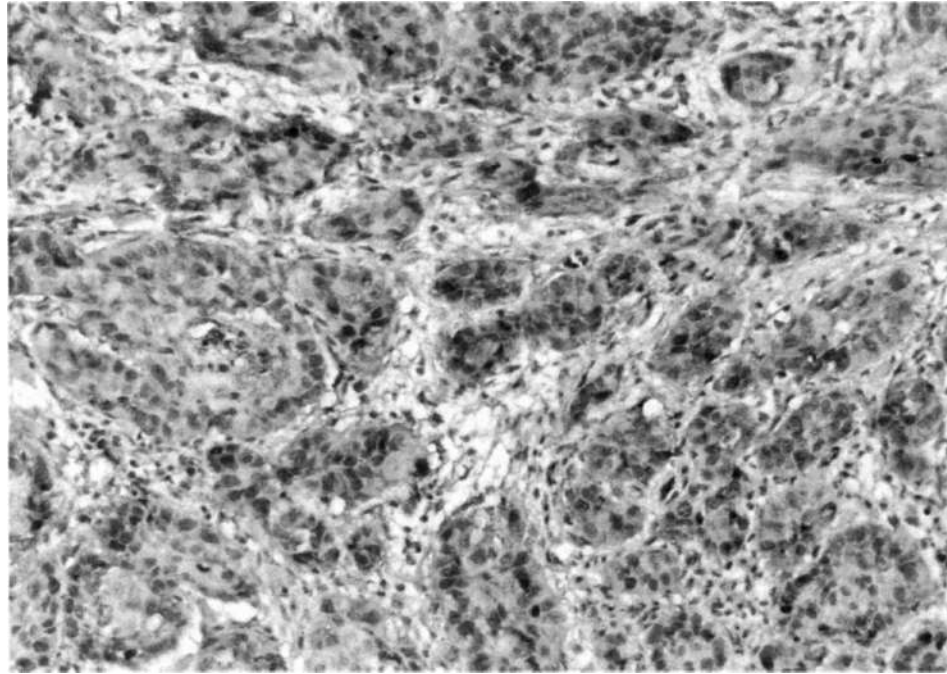
Tablo 9: Tümör evresi ile intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması ( $p=0.081$ )

	5 ve altı	5 üzeri	TOPLAM
Evre 1	3 (%37.5)	5 (%62.5)	8
Evre 2	15(%55.6)	12(%44.4)	27
Evre 3	20 (%58.8)	14(%41.2)	34
Evre 4	28 (%62.2)	17(%37.8)	45
TOPLAM	66 (%57.9)	48(%42.1)	114

Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplar ile tümöral alan boyanma yüzdesi karşılaştırıldığında, %5'den az boyanma, metastaz olmayan 24 olguda (%33.8), metastaz olan 22 olguda (%51.2) izlenmiştir, %5'in üzerinde boyanma metastaz olmayan 47 olguda (%66.2), metastaz olan 21 olguda (%48,8) saptanmıştır. (Tablo 10, Resim 8). %5'den yüksek boyanma oranı, metastaz olmayan grupta, metastaz olan gruba göre daha yüksek oranda izlenmiş iken istatistiksel analizde anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p=0.067$ )

Tablo 10: Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarda tümöral alan boyanma yüzdelерinin karşılaştırılması ( $p=0.067$ ).

	%5 ve altı	%5 üzeri	TOPLAM
Lenf nodu metastazı yok	24 (%33.8)	47 (%66.2)	71
Lenf nodu metastazı var	22(%51.2)	21 (%48.8)	43
TOPLAM	46 (%40.4)	68 (%59.6)	114



Resim 8: Tümör dokusunda %5'den fazla alanda 3 (+) boyanma (x200)

Lenf nodu metastazı olan ve olmayan grupla tümör boyanma skoru karşılaştırıldığında, skor 3'den az boyanma, lenf nodu metastazı olmayan 22 olguda (%31.0), lenf nodu metastazı olan 17 olguda (%39.5) izlenmiştir. Skor 3 ve üzeri boyanma, metastaz olmayan 49 olguda (69.0), metastaz olan 26 olguda (%60.5) saptanmıştır (Tablo 11). Metastaz olan ve olmayan her iki grupta da skor 3'den fazla boyanan olgu sayısı daha yüksektir. İstatistiksel çalışmada fark anlamlı değildir ( $p=0.351$ ).

Tablo 11: Tümördeki boyanma skorunun lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarla karşılaştırılması ( $p=0.351$ ).

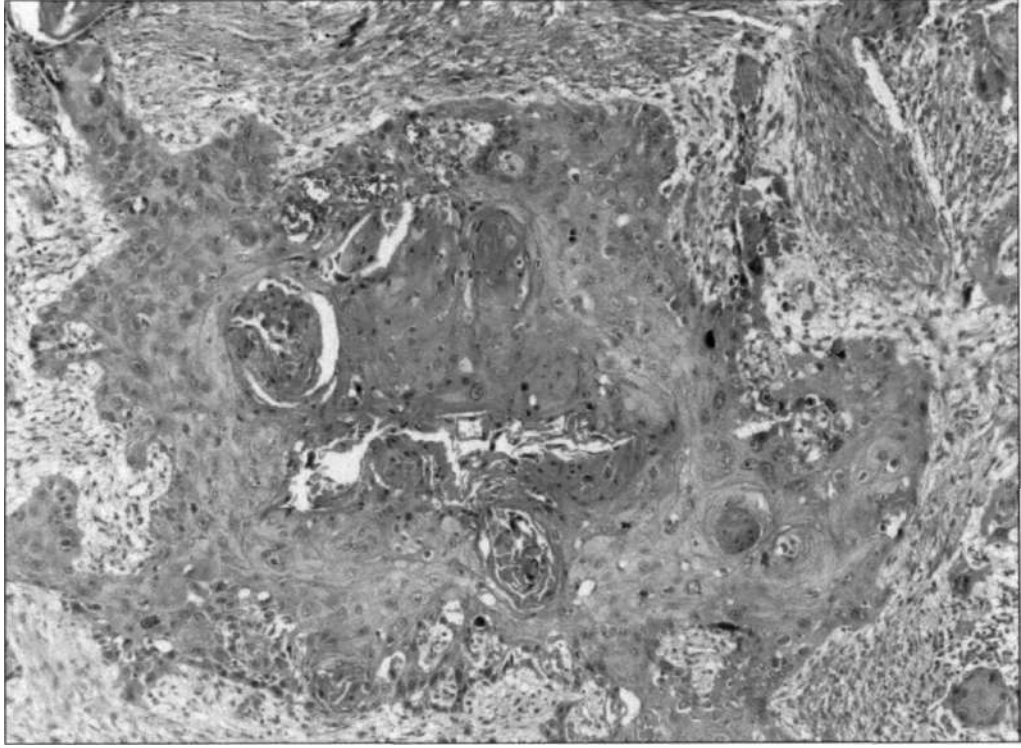
	Skor 3'den az	Skor 3 ve üzeri	Toplam
Lenf nodu metastazı var	22(%31.0)	49 (%69.0)	43
Lenf nodu metastazı yok	17(%39.5)	26 (%60.5)	71
TOPLAM	39 (%34.2)	75 (%65.8)	114

Peritümöral alanda D2-40 ile pozitif boyanan lenfatik sayıları ile grade karşılaştırılmasında; ortalama değer in altında boyanan lenfatik sayısı, iyi diferansiye 20 olguda (%57.1), orta/az diferansiye 47 olguda (%59.5) saptanırken, yüksek lenfatik sayısı iyi diferansiye 15 olguda (%42.9), orta/az diferansiye 32 olguda (%40.5) izlenmiştir (Tablo 12, Resim 9, 10). Her iki grupta da, peritümöral alanda ortalama değer in altındaki lenfatik sayısı oranı daha fazladır. İstatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktur ( $p=0.814$ ).

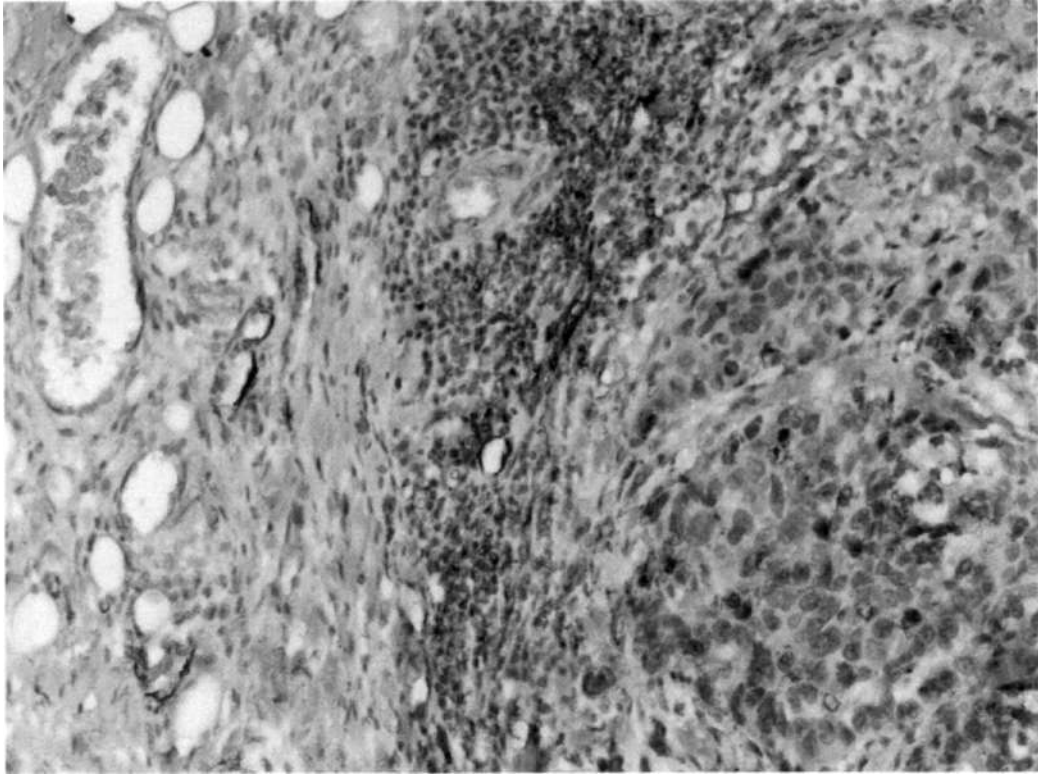
Tablo 12: Grade ile peritümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılması ( $p=0.814$ ).

	12'nin altı	12 ve üzeri	Toplam
İyi	20(%57.1)	15(%42.9)	35
Orta/ Az	47 (%59.5)	32 (%40.5)	79
TOPLAM	67 (%58.8)	47(%41.2)	114





Resim 9: Merkezinde geniş keratin gölcükleri içeren iyi diferansiye SCC (HEx100)

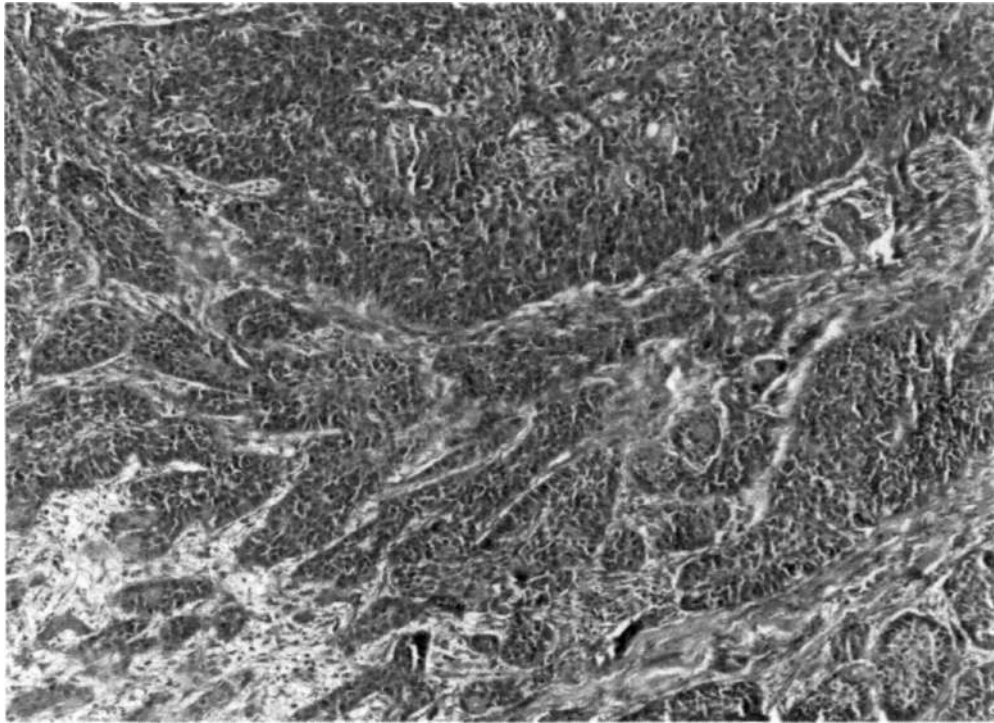


Resim 10: İyi diferansiye SCC'de D2-40 ile reaksiyon gösteren peritümöral alandaki lenfatikler (x 200)

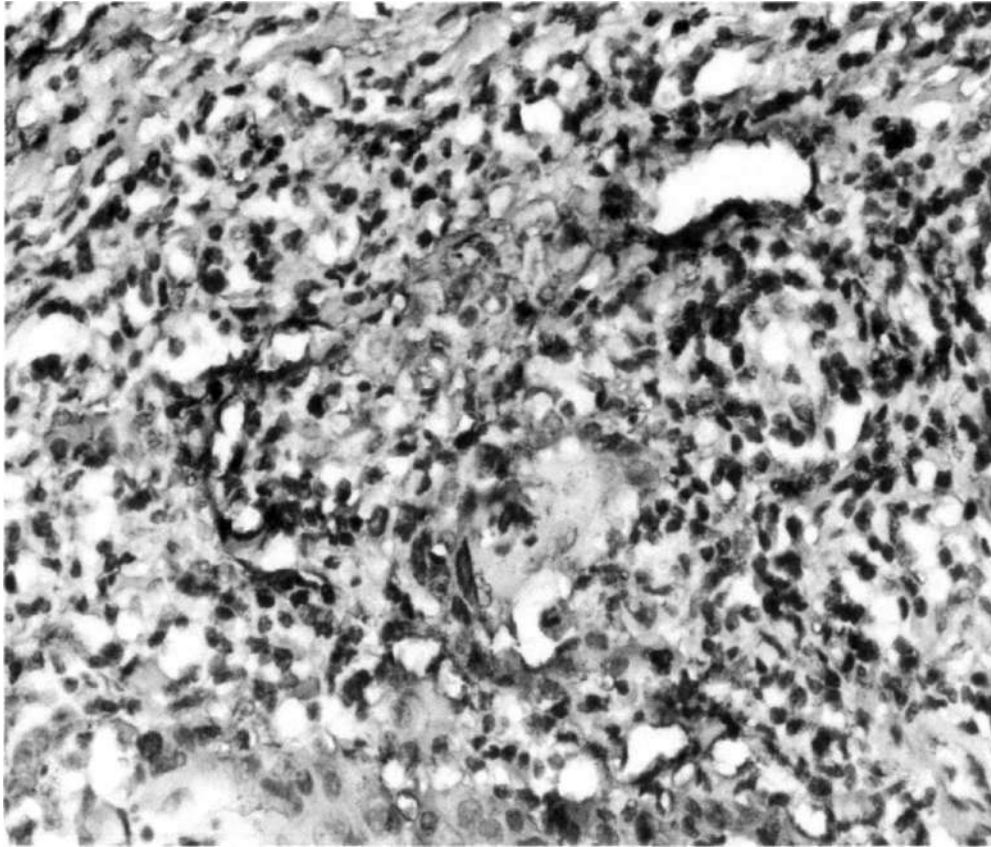
Grade ile intratümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında iyi diferansiye 19 olguda (%54.3), orta/az diferansiye 47 olguda (%59.5) ortalama değerin altında lenfatik sayısı, iyi diferansiye 16 olguda (%45.7), orta/az diferansiye 32 olguda (%40.5) ortalama değerin üzerinde lenfatik sayısı mevcuttur (Tablo 13, Resim 11,12). İstatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p=0.603$ ).

Tablo 13: Grade ile intratümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılması ( $p=0.603$ ).

	5 ve altı	5 üzeri	TOPLAM
İyi	19(%54.3)	16(%45.7)	35
Orta/Az	47 (%59.5)	32 (%40.5)	79
TOPLAM	66 (%57.9)	48(%42.1)	114



Resim 11: Orta/az diferansiye SCC (HEx100)



Resim 12: Orta/az diferansiye SCC'de D2-40 ile intratümöral lenfatikler (x 200)

Tümör yerleşim yeri ile peritümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında glottik bölge yerleşimli 44 olguda (%61.1), supraglottik yerleşimli 23 olguda (%54.8) lenfatik sayıları ortalama değer altında, glottik yerleşimli 28 olguda (%38.9), supraglottik yerleşimli 19 olguda (%45.2) ortalama değer üzerinde saptandı (Tablo 14). Glottik bölge yerleşimli olgularda düşük lenfatik sayısına sahip olgu sayısı daha fazla görünmekle birlikte istatistiksel analizde anlamlı fark yoktur ( $p=0.506$ )

Tablo 14: Tümör yerleşim yeri ile peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması ( $p=0.506$ ).

	12'nin altı	12 ve üzeri	Toplam
Glottik bölge	44(%61.1)	28 (%38.9)	72
Supraglottik bölge	23 (%54.8)	19(%45.2)	42
Toplam	67 (%58.8)	47(%41.2)	114

Tümör yerleşim yeri ile intratümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında 5 ve altındaki lenfatik sayısı glottik bölge yerleşimli 43 olguda (%59.7), supraglottik yerleşimli 23 olguda (%54.8), 5'in üzerindeki lenfatik sayısı glottik yerleşimli 29 olguda (%40.3), supraglottik yerleşimli 19 olguda (%45.2) izlenmiştir (Tablo 15). Her iki bölgede de ortalama değerin altındaki lenfatik sayısı daha fazladır. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ( $p=0.605$ ).

Tablo 15: Tümör yerleşim yeri ile intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması ( $p=0.605$ ).

	5 ve altı	5 üzeri	TOPLAM
Glottik bölge	43 (%59.7)	29 (%40.3)	72
Supraglottik bölge	23 (%54.8)	19(%45.2)	42
TOPLAM	66 (%57.9)	48(%42.1)	114

## 5. TARTIŞMA

Larinksin skuamöz hücreli karsinomları, baş boyun bölgesinin en sık görülen tümörleridir. Tüm dünyada sıklık ve mortalite oranı yüksek olmakla birlikte özellikle Güneydoğu Asya ve Doğu Avrupa'da daha sık görülmektedir (37). Etiyolojide sigara önemli bir risk faktörü olup, alkol ile bir arada bulunduğu, karsinom gelişme riskini daha da artırmaktadır (38). Cinsiyetlere göre dağılımına bakıldığında hastaların %96'sı erkektir. Erkeklerdeki tüm kanserlerin %2.2, kadınlarda ise %0.4'ünü oluşturur. Görüldüğü yaş ortalamasına bakıldığında çoğu hasta 4. dekattadır ancak daha genç yaşlarda da görülebilir (1). Larinks karsinomlarının yerleşim yerine göre dağılımına bakıldığında, en sık glottik ve supraglottik bölgede izlenir (22).

Bizim çalışmamızda da olguların %95'i erkek ve yaş ortalaması 57.55 olarak saptandı. Olguların 42'si supraglottik bölge, 72'si glottik bölge yerleşimli idi. Demografik özelliklere ait bulgular literatür bilgileri ile paralellik göstermekte idi.

Genel olarak lenfatik sistem, tümör hücrelerini taşıyarak, tümörün yayılımına katkıda bulunmaktadır. Bu sayede bölgesel lenf nodlarına yayılım ve uzak organ metastazları ortaya çıkmaktadır. Larinks karsinomlarında da, lenf nodu metastazının varlığı, rekürrens ve mortalite riskinde artış ile ilişkilidir. Özellikle intratümöral alandaki lenfanjiogenezin, tümörün progresyonu ve metastaz yapma yeteneği üzerine etki ettiği bildirilmiştir (39,40). Larinks karsinomları lenf nodu metastazını en sık servikal bölge lenf nodlarına yapar. Lenf nodunda ekstrakapsüler tutulum mevcut ise uzak metastaz riskinin 9 kat daha fazla olduğunu bildiren araştırmalar mevcuttur (41).

Lenfanjiogenez her ne kadar hematoksilen eozin kesitlerinde de izlenebiliyor ise de, immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak, lenfatiklerin vasküler yapılardan kesin ayrımı yapılabilmektedir. İmmünohistokimyasal uygulamada, lenfatik endotelial hücreler spesifik antikorlarla reaksiyona girerler. Bu amaçla kullanılan antikorlardan biri D2-40'dır. D2-40 spesifik olarak lenfatik endoteline bağlanan monoklonal bir antikordur.

Kan damarı endotelini boyamaması nedeniyle kan damarı ile lenfatik damar ayrımında yararlıdır. D2-40 ile çeşitli tümör gruplarında yapılmış lenfanjiogenez araştırmaları mevcuttur.

Ito ve arkadaşları (9), invaziv meme karsinomlarında, tümör merkezinde D2-40 ile reaksiyon veren hiçbir lenfatik saptanmamakla birlikte, tümör dışı alanda, %87 oranında lenfatik bulunduğunu ve D2-40'ın, hematoksilen eozin kesitlerinde görülemeyen lenfatik tümör invazyonunu göstermede yardımcı, önemli bir immünohistokimyasal belirteç olduğunu vurgulamışlardır.

Saad ve arkadaşlarının (42) çalışmasında, D2-40'ın lenfatik invazyonu göstermede önemli bir belirteç olduğu, kolorektal karsinomlarda intratümöral lenfanjiogenezin lenfatik invazyon, lenf nodu ve karaciğer metastazı ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır.

Roma ve arkadaşları (43) prostat adenokarsinomlarında, D2-40 uygulayarak peritümöral alanda intratümöral alandan daha fazla lenfatik olduğunu, peritümöral lenfatik invazyonun lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğunu ve Gleason skoru yüksek olan olgularda peritümöral lenfatik sayısının yüksek olduğunu saptamışlardır.

Mesaneinin invaziv transizyonel hücreli karsinomlarına D2-40 uygulayan Fernandez ve arkadaşları (3) tarafından, intratümöral alan ve normal dokuda, peritümöral alana oranla daha az sayıda lenfatik bulunduğu, intratümöral alandaki lenfatik sayısı kötü histolojik diferansiyasyon ile ilişkili iken peritümöral alandaki lenfatik sayısının lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu saptandı.

Malign melanoma, malign melanoma in-situ, displastik nevus ve bileşik nevus olgularını karşılaştırdıkları çalışmalarında, Giorgadze ve arkadaşları (8), D2-40 ile boyanan intratümöral lenfatik sayısının malign melanomalarda, peritümöral lenfatik sayısının ise malign melanoma ve malign melanoma in situ olgularında nevuslere oranla fazla olduğunu vurgulamışlardır.

Gombos ve arkadaşları (11), serviks uterusinin erken evre SCC'lerinde, intratümöral alanda normal servikal dokuya oranla lenfatik damarların çok sayıda olduğunu, D2-40 ile boyanan, intratümöral alan lenfatiklerinin lümenleri küçük ve kapalı iken, peritümöral lenfatiklerin açık lümenli olduklarını izlediler. Tümör periferindeki dilate lenfatik sayısındaki artışın özellikle lenfatik invazyon varlığında izlendiğini saptadılar.

Sako ve arkadaşları (10), erken gastrik karsinomlarda D2-40 uygulayarak, muskularis mukozada lenfatik sayısının diğer alanlara göre çok fazla olduğunu, bu alandaki lenfatik invazyonun tespitinin, nodal metastazları önlemedeki önemini vurguladılar.

Larinkste lenfatik yapılanma bölgeler arasında değişiklik göstermektedir. Supraglottik bölge diğer bölgelere oranla daha geniş lenfatik ağa sahip iken glottik bölge lenfatik damar içermez. Bu nedenle, lenf nodu metastazları en sık supraglottik bölgeden kaynaklanan tümörlerde izlenmektedir. Literatüre bakıldığında supraglottik bölge yerleşimli karsinomlarda lenf nodu metastazı sıklığı %25-50 oranında bildirilmiştir (41,44). Tomik ve arkadaşlarının (45) çalışmasında da, larinks karsinomlarında, yerleşim yeri ile lenf nodu metastaz oranları arasındaki ilişki araştırılmış, supraglottik bölge yerleşimli tümörlerde, glottik bölge yerleşimli tümörlere oranla lenf nodu metastazı daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda supraglottik bölge yerleşimli 42 olgudan 14 tanesinde (%33), glottik bölge yerleşimli 72 olgudan 29 tanesinde (%40) lenf nodu metastazı mevcut idi. Elde edilen değerler literatür bilgileri ile uyumludur. Tümör yerleşim yeri ile peritümöral alandaki lenfatik sayılarını karşılaştırdığımızda, glottik bölgede yerleşmiş 72 olgunun 44'ünde (%61.1), supraglottik bölgede yerleşmiş 42 olgunun 23'ünde (%54.8) lenfatik sayıları ortalama değerinin altında iken glottik yerleşimli 28 olguda (%38.9) supraglottik yerleşimli 19 olguda (%45.2) lenfatik sayısı ortalama değerinin üzerinde saptadık. Düşük lenfatik oranları glottik bölgede daha belirgin olarak izlendi. Tümör yerleşim yeri ile intratümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında ise, düşük lenfatik sayısı, glottik bölge yerleşimli 43 olguda (%59.7), supraglottik yerleşimli 23 olguda (%54.8), yüksek lenfatik sayısı glottik yerleşimli 29 olguda (%40.3), supraglottik yerleşimli 19 olguda (%45.2) izlendi. Her iki bölgede de ortalama değerinin altındaki lenfatik sayısı daha fazladır. Literatürde benzer şekilde bir araştırma bulunmamaktadır. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Xuan ve arkadaşlarının (39) D2-40'ı kullandıkları çalışmalarında, oral SCCTerde peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik sayıları karşılaştırılmış, peritümöral alandaki lenfatik sayısı intratümöral alandan daha yüksek bulunmuştur. Koskinen ve arkadaşları (2) vokal kord karsinomlarında, peritümöral ve intratümöral lenfatik sayısını diğer baş boyun bölgesi karsinomları ile karşılaştırmışlar, intratümöral lenfatik sayısını

diğer lokalizasyonlardaki tümörlerle eşit oranda saptarken, peritümöral lenfatik sayısını vokal kord karsinomlarında daha düşük oranda bulmuşlardır. Franchi ve arkadaşlarının (46) çalışmasında da benzer şekilde peritümöral alandaki lenfatik sayısı intratümöral alandan daha fazla oranda ve lenfatikler yapısal olarak daha dilate, lümenleri açık olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda peritümöral alandaki lenfatik sayısı 0-41 arasında değişmekte olup ortalama değer 12'dir. İntratümöral alandaki lenfatik sayısı 0-30 arasında olup ortalama değer 5 olarak saptanmıştır. Sonuçlar literatürdeki mevcut çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Franchi ve arkadaşlarının (46) araştırdıkları baş-boyun SCC'li 52 olgudan, lenf nodu metastazı olan 7 olguda, peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik sayılarını karşılaştırdıklarında her iki alanda da lenfatik sayısını yüksek oranda saptamışlar. Yüzondört olguluk çalışmamızda ise lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarda hem peritümöral hem de intratümöral alandaki lenfatik sayıları karşılaştırıldı. Peritümöral alandaki lenfatik sayıları, lenf nodu metastazı olan 43 olgu ve metastaz olmayan 71 olgu ile karşılaştırıldığında, metastaz olan 21 olguda (%48.8), metastaz olmayan 46 olguda (%64.8) sayılar ortalama değerinin altında saptanırken, metastaz olan 22 olguda (%51.2) ve metastaz olmayan 25 olguda (%35.2) ortalama değerinin üzerinde lenfatik sayısı tespit edildi. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamakla birlikte, lenf nodu metastazı olmayan grupta peritümöral alandaki lenfatik sayısı daha düşüktür. Benzer şekilde intratümöral alandaki lenfatik sayıları, metastaz olan 28 olgu ile (%65.1) metastaz olmayan 38 olguda (%53.5) ortalama sayının altında, metastaz olan 15 olguda (% 34.9) metastaz olmayan 33 olguda (%46.5) ortalama sayının üzerinde saptandı. İntratümöral alanda her iki grup arasında bir farklılık izlenmemiştir

Supraglottik larinks karsinomlarında, okült lenf nodu metastazının grade ile ilişkisini araştıran Esposito ve arkadaşları (47), lenf nodu metastaz oranını grade I tümörlerde %16, grade II tümörlerde %27, grade III tümörlerde ise %42 olarak saptamış ve diferansiyasyon azaldıkça okült lenf nodu metastazı olasılığının arttığı sonucuna ulaşmışlardır. Koskinen ve arkadaşları (2) vokal kord karsinomlarında, lenfatik sayısı ile grade arasında herhangi bir ilişki olmadığını tespit etmişlerdir. Miyahara ve arkadaşları (48) oral SCC'lerde lenfatik sayıları ile grade arasında herhangi bir ilişki olmadığını saptamışlardır. Franchi ve arkadaşları (46) tümör grade'ini iyi, orta ve kötü



diferansiye olarak grupladıkları çalışmada ise peritümöral ve intratümöral lenfatik sayılarını karşılaştırmış, grade ile lenfatik sayıları arasında anlamlı bir ilişki olmadığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik sayıları ile grade karşılaştırıldı. Peritümöral alandaki lenfatik sayısı, iyi diferansiye 20 olguda (%57.1) orta/az diferansiye 47 olguda (%59.5) düşük , iyi diferansiye 15 olguda (%42.9), orta/az diferansiye 32 olguda da (%40.5) yüksek oranda saptandı. İntratümöral alandaki lenfatik sayısı iyi diferansiye 19 olguda (%54.3), orta/az diferansiye 47 olguda (%59.5) ortalama değer altında, iyi diferansiye 16 olguda (%45.7), orta/az diferansiye 32 olguda (%40.5) ortalama değer üzerinde izlendi. Sonuçlar literatür ile benzerlik göstermekte olup hem peritümöral hem de intratümöral alandaki lenfatik sayıları ile grade arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

D2-40, hernekadar lenfatik endoteli göstermek için kullanılıyor olsa da, çalışmamızda tümör hücrelerini de boyama özelliğinden yola çıkılarak, grade ile tümör hücrelerindeki boyanma arasındaki ilişki değerlendirmeye alındı. İyi diferansiye 6 olguda (%15.4), orta/az diferansiye 33 olguda (%84.6) tümör hücrelerindeki boyanma skoru düşük iken, iyi diferansiye 29 olguda (%38.7), orta/az diferansiye 46 olguda (%61.3) skor yüksek olarak saptandı. İyi diferansiye tümörlerde, orta/az diferansiye tümörlere oranla daha yüksek oranda boyanma izlendi. Sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0.011). Orta/az diferansiye tümörlerde, D2-40 immünoaktivitesinin zayıf olması, bu tümörlerdeki antijenik yapının kaybına bağlanmıştır. Ulaşılabilen İngilizce literatürde larinks karsinomlarına ait böyle bir çalışma bulunamamıştır.

Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplar ile tümördeki boyanan alan yüzdesi karşılaştırıldığında, metastaz olmayan 24 olguda (%33.8), metastaz olan 22 olguda (%51.2) düşük oranda boyanma izlenmiştir. Metastaz olmayan 47 olguda (%66.2), metastaz olan 21 olguda (%48.8) ise yüksek oranda saptanmıştır. Sonuçlar anlamlı olmayıp aralarında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

Franchi ve arkadaşları (46), oral kavite, orofarinks ve larinks SCC'lerini içeren çalışmalarında peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik sayıları ile tümör evresini karşılaştırmışlar, evre III ve evre IV tümörlerde, hem peritümöral hem de intratümöral alandaki lenfatik sayısını önemli oranda artmış olarak saptamışlardır. Bundan yola çıkarak, tümörde ileri evre ile lenfatik sayıları arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Esposito ve arkadaşları (47), tümör evresi ile lenf nodu metastaz oranını

karşılaştırdıkları çalışmalarında, olguları T1+T2 ve T3+T4 olarak sınıflandırmışlar ve evre yükseldikçe lenf noduna metastaz oranının arttığını saptamışlardır. Biz de çalışmamızda peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik sayıları ile evreleri karşılaştırdık. Peritümöral lenfatik sayısı, evre 1'deki 5 olguda (%62.5), evre 2'deki 19 olguda (%70.4), evre 3'deki 22 olguda (%64.7), evre 4'deki 21 olguda (%46.7) ortalama değer altında olduğu gösterilmiştir. Buna karşın, evre 1'deki 3 olguda (%37.5), evre 2'deki 8 olguda (%29.6), evre 3'deki 12 olguda (%35.3), evre 4'deki 24 olguda (%53.3) ortalama değer üzerinde saptanmıştır. İnatümöral alandaki lenfatik sayıları, evre 1 olan 3 olguda (%37.5), evre 2 olan 15 olguda (%55.6), evre 3 olan 20 olguda (%58.8), evre 4 olan 28 olguda (%62.2) ortalama değer altında bulunmuştur. Ortalama değer üzerindeki lenfatik sayıları ise evre 1 olan 5 olguda (%62.5), evre 2 olan 12 olguda (%44.4), evre 3 olan 14 olguda (%41.2) ve evre 4 olan 17 olguda (%37.8) bulunmuştur. Evre 4 olan olgularda peritümöral alandaki lenfatik sayıları diğerlerine oranla daha yüksektir. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamış olsa da, elde edilen veriler, literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir.

## 6. SONUÇLAR

Bu çalışmada, larinks karsinomlarının D2-40 ile boyanmasında, peritümöral alanda intratümöral alana oranla daha fazla lenfatik bulunduğu, iyi diferansiye tümörlerde orta/az diferansiye tümörlere oranla, tümör hücrelerinde daha yoğun boyanma olduğu, evre yükseldikçe peritümöral alandaki lenfatik sayısında artış olduğu saptanmıştır. Peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik sayıları ile grade, yerleşim yeri ve lenf nodu metastazı arasında herhangi bir ilişki olmadığı gösterilmiştir. Bunların yanı sıra tümördeki boyanma ile lenf nodu metastazı arasında da ilişki bulunamamıştır.

İngilizce literatürde, larinks karsinomlarında grade ile tümördeki boyanma arasındaki ilişkiyi ortaya koyan bir başka çalışma bulunamamış olup, sonuçların literatür bilgilerine katkısı olacağını, hasta tedavisinin planlanması ve prognozun belirlenmesi açısından yararlı olabileceğini, özellikle larinks karsinomları başta olmak üzere farklı tümör tiplerine ait tümör hücrelerindeki D2-40 immünoreaktivitesinin değerlendirilmesinin okült lenf nodu metastazı veya okült uzak organ metastazını göstermesi açısından yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

- 1- Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology (9<sup>m</sup> ed). China, Elsevier, 2004:341-347
- 2- Koskinen WJ, Bono P, Leivo I, Vaheri A, Aaltonen LM, Joensuu H. Lymphatic vessel density in vocal cord carcinomas assessed with LYVE-1 receptor expression. *Radiother Oncol.* 2005;77:172-175.
- 3- Fernandez MI, Bolenz C, Trojan L, Steidler A, Weiss C, Alken P et al. Prognostic Implications of Lymphangiogenesis in Muscle-Invasive Transitional Celi Carcinoma of the Bladder. *Eur Urol.* 2007 Aug 24( Epub ahead of print).
- 4- Zeng Y, Opeskin K, Horvath LG, Sutherland RL, Williams ED. Lymphatic Vessel Density and Lymph Node Metastasis in Prostate Cancer. *Prostate.* 2005;65:222-230.
- 5- Gomaa AHA, Yaar M, Bhawan J. Cutaneous Immunoreactivity of D2-40 Antibody Beyond the Lymphatics. *Am J Dermatopathol.* 2007;29:18-21.
- 6- Saad RS, Lindner JL, Lin X, Liu YL, Silverman JF. The Diagnostic Utility of D2-40 for Malignant Mesothelioma Versus Pulmonary Carcinoma With Pleural Involvement. *Diagn Cytopathol.* 2006;34:801-806.
- 7- Ohno F, Nakanishi H, Abe A, Seki Y, Kinoshita A, Hasegawa Y, et al. Regional difference in intratumoral lymphangiogenesis of oral squamous celi carcinomas evaluated by immunohistochemistry using D2-40 and podoplanin antibody in comparison with angiogenesis. *J Oral Pathol Med.* 2007;36:281-289.
- 8- Giordgadze TA, Zhang PJ, Pahsa T, Coogan PS, Acs G, Elder DE, et al. Lymphatic vessel density is significantly increased in melanoma. *J Cutan Pathol.* 2004;31:672-677.
- 9- Ito M, Moriya T, Ishida T, Usami S, Kasajima A, Sasano H, et al. Significance of Pathological Evaluation for Lymphatic Vessel Invasion in Breast Cancer. *Breast Cancer.* 2007;14:381-387.

- 10- Sako A, Kitayama J, Ishikawa M, Yamashita H, Nagawa H. Impact of immunohistochemically identified lymphatic invasion on nodal metastasis in early gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2006;9:295-302.
- 11- Gombos Z, Xu X, Chu CS, Zhang P, Acs G. Peritumoral Lymphatic Vessel Density and Vascular Endothelial Growth Factor C Expression in Early-Stage Squamous Celi Carcinoma of the Uterine Cervix. *Clin Cancer Res*. 2005;11(23):8364-8371.
- 12- Fukunaga M. Expression of D2-40 in lymphatic endothelium of normal tissues and in vascular tumors. *Histopathology*. 2005;46:396-402.
- 13- Bhalla R, Siddiqui MT, Mandich D, Cartun RW, Fiel-Gan MD, Mandavilli SR, et al. Diagnostic Utility of D2-40 and Podoplanin in Effusion Celi Blocks. *Diagn Cytopathol*. 2007;35:342-347.
- 14- Urabe A, Matsumoto T, Kimura M, Sonoue H, Kinoshita K. Grading system of lymphatic invasion according to D2-40 immunostaining is useful for the prediction of nodal metastasis in squamous celi carcinoma of the uterine cervix. *Histopathology*. 2006;49:493-497.
- 15- Kim TH, Lee SH, Lee HM, Lee SH, Jung HH, Cho WS, et al. D2-40 Immunohistochemical Assessment of Lymphangiogenesis in Normal and Edematous Sinüs Mucosa and Nasal Polyp. *Laryngoscope*. 2007; 117:442-446.
- 16- Mimura T, Ito A, Sakuma T, Ohbayashi C, Yoshimura M, Tsubota N, et al. Novel Marker D2-40, Combined With Calretinin, CEA, and TTF-1. *Cancer*. 2007;109:933-998.
- 17- Hansen T, Katenkamp K, Bittinger F, Kirkpatrick CJ, Katenkamp D. D2-40 labeling in lymphangiomyoma/lymphangiomyomatosis of the soft tissue: further evidence of lymphangiogenic tumor histogenesis. *Virchows Arch*. 2007;450:449-453.
- 18- Huse JT, Pahsa TL, Zhang PJ. D2-40 functions as an effective chondroid marker distinguishing true chondroid tumors from chordoma. *Açta Neuropathol*. 2007;113:87-94.
- 19- Takei H, Bhattacharjee MB, Rivera A, Dancer Y, Powell SZ. New Immunohistochemical Markers in the Evaluation of Central Nervous System Tumors. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131:234-241.

20- Dumoff KL, Chu C, Xu X, Pasha T, Zhang PJ, Acs G. Low D2-40 immunoreactivity correlates with lymphatic invasion and nodal metastasis in early-stage squamous celi carcinoma of the uterine cervix. *Mod Pathol*. 2005;18:97-104.

21- Stenberg SS. *Histology for Pathologists* (2<sup>nd</sup> ed). China, Lippincott-Raven, 1997: 391-398.

22- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Pathologic Basis of Disease* (7 ed). China, Elsevier, 2005:786-787.

23- Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumors*. Lyon, IARC, 2005:108-139.

24- Tse GM, Chan AWH, Yu KH, King AD, Wong KT, Chen GG, et al. Strong Immunohistochemical Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Predicts Overall Survival in Head and Neck Squamous Celi Carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2007;14(12):3558-3565.

25- Kyzas PA, Stefanou D, Batistatou A, Agnantis NJ. Prognostic significance of VEGF immunohistochemical expression and tumor angiogenesis in head and neck squamous celi carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2005;131:624-630.

26- Shıgyo H, Nonaka S, Katada A, Bando N, Ogino T, Katayama A, et al. Inducible nitric oxide synthase expression in various laryngeal lesions in relation to carcinogenesis, angiogenesis, and patients prognosis. *Açta Oto-Laryngologica*. 2007;127:970-979.

27- Kazkayasi M, Hücümenoğlu S, Siriner Gİ, Hücümenoğlu M. Over-expression of p53 and c-erbB-2 oncoproteins in laryngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2001;258:329-335.

28- Kyzas PA, Agnantis NJ, Stefanou D. Endoglin (CD105) as a prognostic factor in head and neck squamous celi carcinoma. *Virchows Arch*. 2006;448:768-775.

29- Marioni G, Pillon M, Bertolin A, Staffieri A, Marino F. The role of survivin expression in the differential diagnosis of laryngeal (glottic) verrucous squamous celi carcinoma. *EJSO*. 2007;33:229-233.

- 30- Karahatay S, Yılmaz YF, Gunhan O, Birkent H, Yetiser S. Spindle celi carcinoma of the larynx with a verrucous carcinoma component: Combined carcinoma of larynx. *Auris Nasus Larynx*. 2007;34:557-559.
- 31- Alkan S, Coşkun BU, Uğur S, Başak T, Dadaş B. Basaloid squamous celi carcinoma of the larynx. *Auris Nasus Larynx*. 2006;33:71-74.
- 32- Vela MCG, Val-Bernal JF, Mayorga M, Zaldumbide L, Bascones M. Adenoid squamous celi carcinoma of the larynx: an uncommon histological variant of squamous celi carcinoma. *APMIS*. 2006; 114:470-473.
- 33- Gurbuz Y, Köse N, Aydın O, Ozturk M. An immunohistochemical profile of giant celi carcinoma of the larynx. *Auris Nasus Larynx*. 2007;34:413-416.
- 34- Ferlito A, Devaney KO, Rinaldo A. Neuroendocrine neoplasms of the larynx: Advances in identification, understanding, and management. *Oral Oncology*. 2006;42:770-788.
- 35- Yılmaz T, Gedikoglu G, Çelik A, Onerci M, Turan E. Prognostic significance of Langerhans celi infiltration in cancer of the larynx. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;132:309-316.
- 36- Cabanillas R, Rodrigo JP, Astudillo A, Dominguez F, Suarez C, Chiara MD. P53 Expression in Squamous Celi Carcinomas of the Supraglottic Larynx and its Lymph Node Metastases. *Cancer*. 2007;109:1791-1798.
- 37- Chao WF, Zhang LY, Liu MB, Tang PZ, Liu ZH, Sun BC. Prognostic significance of stomatin-like protein 2 overexpression in laryngeal squamous celi carcinoma: clinical, histologic, and immunohistochemistry analyses with tissue microarray. *Hum Pathol*. 2007;38:747-752.
- 38- Hashibe M, Boffetta P, Zaridze D, Shangina O, Dabrowska NS. Contribution of Tobacco and Alcohol to the High Rates of Squamous Celi Carcinoma of the Supraglottis and Glottis in Central Europe. *Am J Epidemiol*. 2007;165:814-820.

- 39- Xuan M, Fang YR, Wato M, Hata S, Tanaka A. Immunohistochemical co-localization of lymphatics and blood vessels in oral squamous celi carcinomas. *J Oral Pathol Med.* 2005;34: 334-339.
- 40- Kyzas PA, Stefanou D, Agnantis NJ. COX-2 expression correlates with VEGF-C and lymph node metastases in patients with head and neck squamous celi carcinoma. *Mod Pathol.* 2005;18:153-160.
- 41- Oosterkamp S, Jong JM, Van den Ende PL, Manni JJ, Kremer B. Predictive Value of Lymph Node Metastases and Extracapsular Extension for the Risk of Distant Metastases in Laryngeal Carcinoma. *Laryngoscope.* 2006; 116:2067-2070.
- 42- Saad RS, Kordunsky L, Liu YL, Denning KL, Kandil HA, Silverman JF. Lymphatic microvessel density as prognostic marker in colorectal cancer. *Mod Pathol.* 2006;19:1317-1323.
- 43- Roma AA, Magi-Galluzzi C, Kral MA, Jin TT, Klein E A, Zhou M. Peritumoral lymphatic invasion is associated with regional lymph node metastases in prostate adenocarcinoma. *Mod Pathol.* 2006;19:392-398.
- 44- Xie M, Sun Y, Li Y. Expression of Matrix Metalloproteinases in Supraglottic Carcinoma and Its Clinical Implication for Estimating Lymph Node Metastases. *Laryngoscope.* 2004;114:2243-2248.
- 45- Tomik J, Skladzien J, Modrzejewski M. Evaluation of cervical lymph node metastasis of 1400 patients with cancer of the larynx. *Auris Nasus Larynx.* 2001;28:233-240.
- 46- Franchi A, Gallo O, Massi D, Baroni G, Santucci M. Tumor Lymphangiogenesis in Head and Neck Squamous Celi Carcinoma. *Cancer.* 2004;101:973-978.
- 47- Esposito ED, Motta S, Cassiano B, Motta G. Occult lymph node metastases in supraglottic cancers of the larynx. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2001 ;124: 253-257.
- 48- Miyahara M, Tanuma JI, Sugihara K, Semba I. Tumor Lymphangiogenesis Correlates With Lymph Node Metastasis and Clinicopathologic Parameters in Oral Squamous Celi Carcinoma. *Cancer.* 2007;110:1287-1294.