



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**LARİNGS SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA
LENFATİK DAMAR YOĞUNLUĞU VE MİKRODAMAR
YOĞUNLUĞUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ganime ÇOBAN

KAYSERİ – 2010



T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**LARİNGS SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA
LENFATİK DAMAR YOĞUNLUĞU VE MİKRODAMAR
YOĞUNLUĞUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ganime ÇOBAN

Danışman

Prof. Dr. Süleyman BALKANLI

KAYSERİ-2010

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince yardımlarını, bilgi ve birikimlerini, manevi desteklerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarıma, başta Patoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Figen ÖZTÜRK, tez danışmanım Prof.Dr. Süleyman Balkanlı, değerli hocalarım, Prof. Dr.Tahir Ercan Patıroğlu, Prof. Dr. Turhan OKTEN, Prof. Dr. Olgun KONTAŞ, Prof.Dr. Işın Soyuer, Prof. Dr. Özlem CANÖZ, Doç. Dr. Hülya AKGÜN ve Doç. Dr.Kemal DENİZ' e, birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve tüm patoloji çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca her zaman yanımda olan anne ve babam, değerli eşim ve güzel kızıma teşekkür ediyorum.

Dr. Ganime ÇOBAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR	iV
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ.....	Vi
ÖZET.....	Viii
ABSTRACT	iX
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Larinksin embriyolojisi	3
2.2. Larinksin anatomisi	3
2.3. Larinksin histolojisi	6
2.4. Larinksin İntraepitelyal proliferatif lezyonları.....	7
2.5. Larinks Tümörleri	8
2.5.1. Epidemiyoloji.....	10
2.5.2. Klinik.....	10
2.5.3. Skuamoz Hücreli Karsinom.....	11
2.5.4. TNM Sınıflaması	15
2.5.5. Evreleme.....	17
2.5.6. Prognostik Faktörler.....	17

2.6. D2-40	18
2.7. CD 34.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
4. BULGULAR.....	23
4.1. Genel Bulgular.....	23
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	26
4.2.1. D2-40	26
4.2.2.CD34.....	32
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇLAR	41
7. KAYNAKLAR	42
TEZ ONAY SAYFASI.....	50

KISALTMALAR

KIS	: Karsinoma in situ
SHK	: Skuamöz hücreli karsinom
PBS	: Phosphate buffered solution
PCNA	: Proliferasyon hücre nükleer antijeni
TNM	: Tümör, lenf nodu, metastaz
VEGF	: Vasküler endotelyal growth faktörü
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
MDY	: Mikrodamar yoğunluğu
LDY	: Lenfatik damar yoğunluğu

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Olguların yerleşim yerlerine göre sayı ve yüzdeleri.....	24
Tablo 2: Lenf nodu metastazının durumuna göre olguların sayıları	25
Tablo 3: Lenf nodu metastazı olan ve olmayan olguların yerleşim yerlerine göre oranları	26
Tablo 4: Olguların metastaz durumuna göre tümöral dokuda D2-40 ile boyanma oranlarının karşılaştırılması.....	27
Tablo 5: Tümör diferansiyasyonuna göre D2-40 ile boyanma oranları.....	28
Tablo 6: Olguların metastaz durumuna göre tümör içi ve tümör dışı lenfatik sayılarının karşılaştırılması	31
Tablo7: Olguların yerleşim yerlerine göre tümör içi ve tümör dışı lenfatik sayısı....	32
Tablo 8: Olguların derecelerine göre tümör içi ve tümör dışı damar sayılarının Karşılaştırılması	33
Tablo 9: Lenf nodu metastazına göre tümör içi ve tümör dışı damar sayıları	34
Tablo 10: Olguların yerleşim yerlerine göre tümör içi ve tümör dışı damar sayısı ...	34

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Larinks anatomisi.....	4
Şekil 2: Larinks histolojisi	6
Şekil 3: Olguların derecelere göre dağılımı	23
Şekil 4: Olguların derecelerine göre metastaz oranlarının karşılaştırılması	24
Şekil 5: Olguların derecelerine göre metastaz oranlarının karşılaştırılması	25
Şekil 6: İyi diferansiye skuamöz hücreli karsinom da tümör hücrelerinin D2-40 ile poizitif boyanması.....	27
Şekil 7: SHK’ de D2- 40 ile peritümöral alanda (a) ve intratümöral alanda lenfatiklerde boyanma (b)	29
Şekil 8: İntratümöral alanda D2-40 ile boyanma gösteren lenfatik damarlar ve boyanma göstermeyen içi eritrosit dolu vasküler yapılar	30
Şekil 9: Kötü diferansiye SHK’ de CD 34 ile tümör içi (a) ve tümör dışı alanda (b) boyanan vasküler yapılar.....	32

ÖZET

Solid tümörlerin gelişimi ve metastaz yapmasında yeni damar oluşumu önemli rol oynamaktadır. Skuamöz hücreli karsinomlar (SHK), larinksin en sık görülen neoplazmlarıdır. Larinks karsinomlarında boyun lenf nodlarına metastaz sağkalımı önemli oranda azaltan bir etkidir. Bu çalışmanın amacı; larinksin SHK' da tümör içi ve tümör dışı alanlarda lenfatik damar ve mikrodamar yoğunluğunun lenf nodu metastazı ile ilişkisini ortaya koymaktır.

Çalışmamızda 2000-2006 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi (EÜTF) Patoloji Ana Bilim Dalı'nda larinks skuamöz hücreli karsinom tanısı almış larenjektomi ve boyun diseksiyonu yapılmış 86 olgu incelemeye alınmıştır. Hematoksilen-Eozin ile boyalı kesitlerde tümör tipi ve diferansiyasyon değerlendirildi. D2-40 immünohistokimyasal boyaması ile tümör içi ve tümör dışı lenfatik damar yoğunluğu (LDY), CD34 immünohistokimyasal boyaması ile tümör içi ve tümör dışı mikrodamar yoğunluğu (MDY) değerlendirildi. Elde edilen veriler ile tümör derecesi, tümör yerleşim yeri, lenf nodu metastazı ile ilişkisi karşılaştırıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde ki-kare, multivariyete analiz testleri kullanıldı. $P<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Olguların tümör içi ve tümör dışı LDY değerleri karşılaştırıldığında tümör içi lenfatik damar sayıları ortalama 5 iken, tümör dışı lenfatik sayısının ortalaması 18'di ($p<0.05$). Olguların tümör içi ve tümör dışı damar sayıları karşılaştırıldığında, tümör içinde MDY değeri ortalama 217, tümör dışında 330 olarak değerlendirildi. $P<0.001$ olup anlamlı olarak değerlendirildi. İyi diferansiye tümörlerde tümör içi MDY değeri yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kötü diferansiye tümörlerde tümör dışı MDY değeri yüksek olup $P<0.05$ 'ti. Lenf nodu metastazı olan grupta

intratümöral MDY değeri düşük olup anlamlı sonuç elde edildi. Lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplarda LDY değeri tümör dışında yüksekti. Ancak metastaz ve LDY değeri arasında anlamlı sonuç elde edilemedi.

Solid tümörlerde vaskülogenez önemli olup bir çok organda damar yoğunluğu ile metastaz arasında ilişki kurulmuştur. Çalışmamızda iyi diferansiye tümörlerde tümör içinde damar sayısı fazla iken kötü diferansiye olgularda tumor dışı alanda damar sayısı fazla görüldü. LDY değeri ile diferansiyasyon arasında ilişki saptanmadı. Metastaz yapmayan grupta tümör dışı ve tümör içi MDY yüksek bulundu. Metastaz ile LDY değeri arasında ilişki izlenmedi. Tümöral dokuda D2-40 ile değişen oranlarda boyanma görüldü. Ancak klinik parametreler ile ilişki saptanmadı.

Lenf nodu metastazlarının erken değerlendirilmesi, tedavinin belirlenmesinde ve prognozda önemlidir. D2-40 ve CD34'ün birlikte kullanımı ile lenfatik damar yoğunluğunun değerlendirilmesinin, metastazın erken belirlenmesinde daha önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: D2-40, CD34, lenfanjiogenezis, vaskülogenezis

THE EVALUATION OF LYMPHATIC VESSEL DENSITY AND MICROVESSEL DENSITY IN LARYNGEAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

ABSTRACT

Neovascularization plays an important role in development and metastasis of solid tumors. Squamous cell carcinoma is the most common neoplasm of larynx. Cervical lymph node metastasis is an important factor, which significantly decreases survival in larynx carcinomas. The aim of this study is to reveal the relationship between density of lymphatic vessels and microvessels at intra and peritumoral areas and lymph node metastasis in SCC of larynx.

In the present study, 86 cases which were diagnosed as squamous cell carcinoma of larynx at the Department of Erciyes University, Medicine Faculty Pathology between 2000 and 2006 were reviewed. Tumor type and differentiation were assessed in hematoxylin-eosin stained sections. Intratumoral and peritumoral lymphatic vessel density (LVD) were assessed by D2-40 immunohistochemical staining, whereas intratumoral and peritumoral microvessel density (MVD) by CD34. Obtained data were compared to tumor grade, tumor location and lymph node metastasis. Chi-square and multivariate analysis were used for assessment of results. $p < 0.05$ was considered as statistically significant.

Intra and peritumoral LVD values were compared, mean number of intra-tumoral lymphatic vessels were 5, whereas mean number of peritumoral lymphatic vessels were 18 ($p < 0.05$). When number of intra and peritumoral vessels were compared, mean intra-tumoral MVD value was found as 217, whereas mean extra-tumoral MVD value as 330. $p < 0.001$ was considered as significant. In well-differentiated tumors, intratumoral MVD values was high, but not statistically significant. In poorly differentiated tumors, peritumoral MVD value was high with a p value smaller than 0.05. In the group with lymph node metastasis, intra-tumoral MVD value was low and a significant result was obtained. Peritumoral LVD value was high in both

groups with or without metastasis. However, no significant relation was found between metastasis and LVD value.

Vasculogenesis is important in solid tumors, where a relationship is established between vessel density and metastasis in many organs. In our study, number of intratumoral vessels were high in well differentiated tumors, while more vessels were found at peritumoral area in poorly differentiated tumors. No relationship was found between LVD value and differentiation. Both peri and intratumoral MVD values were found high in the group without metastasis. No relationship was observed between metastasis and LVD value. Variable amounts of D2-40 staining was seen in tumoral tissue. However, no relationship was found between clinical parameters.

Early assessment of lymph node metastasis is important in the determination of treatment and prognosis. We think that detection of lymphatic channels by using D2-40 and CD34 staining together can be important in early detection of metastasis.

Key Words: D2-40, CD 34, lenfangiogenezis, vascülogenezis

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Larinks karsinomları baş boyun bölgesinin en sık görülen neoplazmlarıdır (1). Skuamöz hücreli karsinomlar larinksin en sık görülen malign tümörüdür. Özellikle erkeklerde sık görülmektedir. En sık yerleşim yerleri glottik bölge olup ikinci sırada supraglottik bölge gelmektedir (1).

Karsinomlar metastazlarını özellikle lenfatik yol ile yapmaktadırlar. Larinks karsinomları en sık servikal bölge lenf nodlarına metastaz yapmaktadır. Son yıllarda tümör vaskülarizasyonu ve tümör progresyonu hakkında ilişkiyi gösteren çalışmalar vardır.

Bilindiği gibi solid tümörlerin gelişimi ve metastaz yapmasında yeni damar oluşumu önemli rol oynamaktadır (2). Kan damarları iki farklı süreç ile oluşur; bunlar vaskülogenez ve anjiogenezdir. Anjiogenez ve neovaskülogenez var olan damarlardan yeni kapillerin oluşumudur (3). Anjiogenezis, tümörlerin gelişimi, invazyonu, metastazı ve prognozu ile ilişkilidir (4-6).

Çeşitli organ malignitelerinde anjiogenezis çeşitli immünohistokimyasal belirleyiciler ile çalışılmış olup, malign tümörlerin prognozunun değerlendirilmesi, invazyon, metastaz ve rekürrens ile ilişkili olduğu görülmüştür (7, 8).

Solid kanserlerin gelişiminde kan damarlarının yanısıra lenf damarları da önemli role sahiptir. Histolojik yapıları gibi işlevleri de farklıdır. Lenfatik damarlar dokunun

hemodinamik dengesini sürdürebilmesi için gereklidir. Kan damarları ise kanserin büyümesi için gerekli olan oksijeni ve besini sağlar (9).

Lenfanjiogenezis tümörün lenf nodu metastazı yapıp yapmayacağı konusunda önemli bir göstergedir. Metastazların erken tanınabilmesi mikrodamar yoğunluğu (MDY) ve lenfatik damar yoğunluğunun (LDY) gösterilebilmesi ile mümkün olabilir (2, 4, 10). MDY ve prognozla ilişkisi, bir çok tümör tipinde araştırılmıştır. Artmış MDY' nin meme kanserlerinde bağımsız prognostik belirleyici olduğu gösterilmiştir (11). Histolojik kesitlerde lenfatik ve kan damarlarının tanınması çok önemlidir. Ancak lenfatik endotelyal hücrelerin Hematoksilen-Eozin(HE) ile boyalı rutin histolojik kesitlerde tanınması zor olmaktadır. Lenf damarlarını göstermede birçok immünohistokimyasal belirleyici bulunmaktadır. Bu antikorlar LYVE-1, Prox-1, podoplanin ve D2-40 olarak sıralanabilir (12-14).

D2-40 lenfatik endotelyal belirleyicisi ile CD34 gibi panendotelyal bir belirleyicinin birlikte kullanımı lenf ve kan damarlarının ayırt edilmesinde önemli katkı sağlar. Literatürde çeşitli tümörlerde intratümöral ve peritümöral alandaki lenfatik invazyon alanları karşılaştırılmış olup prognozla ilişkisi değerlendirilmiştir (15 - 18).

Biz bu çalışmada, larinksin skuamöz hücreli karsinomlarında D2-40 ve CD34 kullanarak peritümöral ve intratümöral alanlarda lenfatik ve damar sayılarını değerlendirdik. Elde edilen sonuçlar ile tümör diferansiyasyonu, yerleşim yeri ve lenf nodu metastazı arasındaki ilişkiyi göstermeyi amaçladık.

2- GENEL BİLGİLER

2.1. LARİNKİN EMBRİYOLOJİSİ

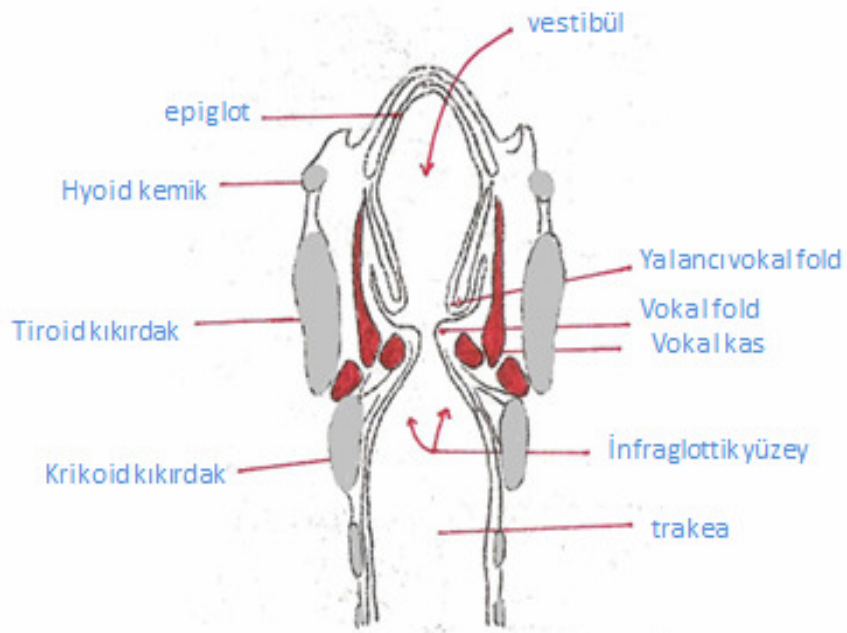
Larinksin supraglottik kısmı üçüncü ve dördüncü brankial arkten gelişir ve bu durum oral kavite ve orafarinks ile ilişkilidir. Glottik ve subglottik bölge trakea ve akciğerlerinde köken aldığı 6. brankial arkten gelişir (19). İki farklı embriyolojik gelişim ventrikül seviyesinde birleşir. Larinksin supraglottik bölgesi süperior, glottik ve subglottik bölge inferioru oluşturacak şekilde iki bölgeye ayrılmıştır. Bu ayrım laringeal karsinomların büyüme ve yayılmasını etkilemektedir (20, 21).

2.2.LARİNKİN ANATOMİSİ

Larinks, hipofarinksin önünde üçüncü ve altıncı servikal vertebralar seviyesinde yer alır (22). Larinksin üst sınırını epiglotun uç kısmı ve ariepiglottik foldlar, alt sınırını ise krikoid kıkırdağın alt kenarı oluşturur. Ön tarafta epiglotun lingual yüzü, tiroid kıkırdak, krikoid kartilajın ön kavisi, tirohyoid membran ve krikotiroid membran sınırlar. Arka sınırı ise krikoid kıkırdak ve aritenoid bölge oluşturur. Tümör yayılımında önemli olmakla birlikte priform fossa ve preepiglottik mesafe larinksin bir bölümü değildir (Şekil 1) (23).

Larinks anatomik olarak üç bölgeye ayrılmıştır. Supraglottik bölge, epiglotun üst ucu ile vokal kordlar arasında yer alır ve ariepiglottik fold, yalancı vokal kord, ventrikülleri içerir. Ariepiglottik fold arkada epiglot tabanından aritenoid kıkırdağa

uzanır. Yalancı vokal kordlar, gerçek vokal kordun üzerine doğru uzanan müköz membranlardır. Ventriküller yalancı vokal kordların altında yer alır ve gerçek vokal kordları ikiye böler. Glottik bölge, gerçek vokal kordlar, ön ve arka komissürleri içerir ve ventriküllerin apeksi ile vokal kordların bir cm altında çok katlı yassı epitelin bittiği alan arasında kalır. Subglottik bölge ise gerçek vokal kordların altından birinci trakeal kıkırdağa kadar olan alandır (1, 22- 24) .



Şekil 1: Larinks anatomisi

Larinks oluşturulan temel kıkırdaklar krikoid, tiroid ve iki adet aritenoid kıkırdaktır. Bu kıkırdaklar hyalin tipte iken, epiglot çok sayıda fenestrasyon içeren elastik kıkırdaktan oluşmaktadır. Epiglotta bulunan fenestrasyonlar ile epiglotun laringial yüzünden lingual yüzüne ve preepiglotik mesafeye tümör yayılımı olmaktadır. Tiroid ve krikoid kıkırdaklar yaş ilerledikçe önce kalsifiye sonra ossifiye olur. Kıkırdaklardaki ossifikasyon, karsinom yayılımını değerlendirmek bakımından önemlidir. Hyalen kıkırdak belki de anjiogenezi inhibe eden bir faktör salgılamasından dolayı tümörün yayılmasına karşı dirençlidir. Kıkırdak ossifiye olduğu zaman tümör metastazından etkilenir (1, 22, 23). Tiroid ve krikoid kıkırdaklar

eklem yüzeyi oluşturlar ancak hareketleri her ikisini birbirine bağlayan bağlarla sınırlandırılmıştır. Aritenoid kıkırdaklar krikoid kıkırdak ile eklem oluşturur (1).

Larinks kasları iki gruba ayrılır. Ekstresek kaslar omohyoid, sternohyoid, sternotiroid ve tirohyoid kaslardan oluşmaktadır. Intrensek kaslar ise krikotiroid, posterior krikoaritenoid, lateral krikoaritenoid, interaritenoid ve tiroaritenoid kasları içermektedir (23). Ekstresek kaslar larinksin bir bütün halinde hareketi ve fiksasyonu ile ilgilidir. Intrensek kaslar ise ventriküllerin, vokal kordun adduksiyon veya abduksiyonunda görev alırlar (22).

Larinksin ligamentleri tirohyoid, kuadranguler ve krikotiroid ligamentleri kapsar. Krikotiroid ligament (konus elastikus), tiroid kıkırdığın medialinde yukarıya doğru ilerler ve sagittal olarak sıkışarak üst kenarları önde tiroid kartilajın iç kısmına, arkada aritenoid kıkırdığın vokal çıkıntısına bağlanan vokal ligamentleri oluşturur (23).

Vagus siniri larinksin duyu ve motor innervasyonunu sağlar. Krikoid kası vagus sinirinin eksternal laringeal dalı tarafından innerve olurken, diğer intrensek kaslar vagus sinirinin rekürren laringeal dalı tarafından sağlanır (22, 23, 25).

Larinksin üst kısmının kanlanmasını eksternal karotis arterin bir dalı olan superior tiroid arterin superior laringeal dalı sağlar. Larinksin alt kısmını subklavian arterden çıkan tiroservikal trunkusun dalı olan inferior laringeal arter sağlar (22, 23, 25).

Laringeal arterlere aynı isimli venler eşlik etmektedir. Superior laringeal ven superior tiroid vene sonrada internal juguler vene dökülür. Inferior laringeal ven inferior tiroid vene boşalır (23).

Larinksin lenfatikleri vasküler yapılar boyunca uzanırlar. Supraglottik larinkste lenfatik ağ çok zengindir. Bu bölgenin lenfatikleri tirohyoid membrandan geçerek subdiastrik ve superior juguler nodlara drene olur (23).

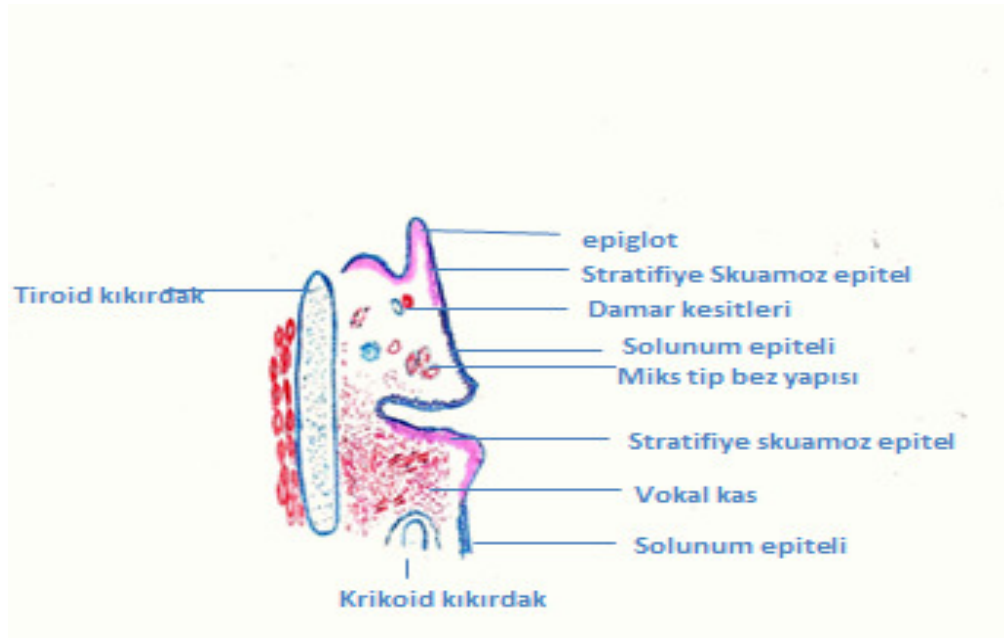
Glottik bölgenin lenfatik drenajının olmadığı ya da çok az olduğu kabul edilmektedir. Bu özelliği nedeniyle supraglottik ve subglottik bölgeler arasında bir bariyer görevi de görmektedir (23).

Subglottik bölgelerin lenfatik drenajı ise, krikotiroid membranı geçerek önce pretrakeal ve prelarengeal (Delphian nodülü), buradan da orta derin servikal zincire doğru olmaktadır. Ayrıca alt derin servikal zincire, paratrakeal ve trakeoösofageal lenf nodlarına da drene olmaktadır.

Vokal kordlar çok az lenfatik kanal içerir, bu nedenle glottik karsinomlar nadiren bölgesel metastaz yapar (19, 23, 24).

2.3. Larinksin Histolojisi

Larinksin epiteli lokalizasyona göre çok katlı yassı epitel ile yalancı çok katlı silialı epitel arasında değişiklik gösterir. Epiglotun lingual (anterior) kısmı çok katlı yassı epitle örtülüdür. Laringeal (posterior) kısmının üst kısmında çok katlı yassı epitel izlenirken alt kısmında solunum yolu epiteli izlenir. Supraglottik bölge yalancı çok katlı silialı epitel ile örtülüdür. Glottik bölgede, vokal kordlar çok katlı yassı epitel ile örtülü iken, subglottik bölgede vokal kordların kenarlarından aşağıya doğru yalancı çok katlı epitele dönüşmektedir (19, 24). Sigara içmeyen erişkinlerin yaklaşık yarısında hem supraglottik hem de infraglottik bölgelerde silialı epitel ile karışık çok katlı yassı epitel adaları izlenir. Sigara içenlerde larinksin silialı solunum epiteli sıklıkla tamamen çok katlı yassı epitele değişir (24). (Şekil 2)



Şekil 2: Larinksin histolojisi

Reinke boşluğu, çok katlı yassı epitelin tabanı ile vokal ligament arasında sınırlı olan gerçek vokal kordun lamina propriasına verilen addır (1, 24). Reinke boşluğunda kapillerler ve serömüsinöz glandlar seyrek ve lenfatikler bulunmaz. Bu bölgedeki sınırlı damar yapısından dolayı, gerçek vokal kord yerleşimli tümörler lokalize kalma eğilimindedir, Radyoterapi ve cerrahi tedaviye iyi yanıt verirler (24). Anterior komissür gerçek vokal kordun tersine belirgin kapiller damar, lenfatik ve seromüsinöz bez içerir.

Larinksin silyalı epitelin en alt kısmında küçük, yuvarlak hücrelerden oluşan bazal veya rezerv hücreler bulunur. Bazal tabaka üzerinde silyalı kolumnar hücreler mevcuttur. Larinksin çok katlı yassı epitelinin bazal tabakasında küçük oval nükleuslu dar sitoplazmalı hücreler mevcuttur ve yüzeye doğru dik şekilde dizilim gösterir. Yukarı doğru ilerledikçe hücrelerin nükleusları büyür daha sferik bir görünüm alır. Mitoz sadece bazal tabakada bulunur. Çok katlı yassı epitel beş ile yirmibeş hücre kalınlığında olabilir. Uzun süreli sigara içen kişilerde epitelde normalde bulunmayan parakeratoz odakları gelişebilir (24).

2.4. Larinksin İntraepitelyal Proliferatif Lezyonları

2.4.1.Keratozis: En sık gerçek vokal kordları ve aritenoidler arası bölgeleri tutar. Basit hiperplazi, epitelyal hiperplazi, skuamöz hiperplazi, ve lökoplaki olarak ta adlandırılır. Sıklıkla sigara içenlerde, şarkıcılar ve sesini çok kullananlarda ortaya çıkar. Hiperemi mevcut ise önemli bir lezyonun olabileceği (displazi/karsinoma in situ) düşünülmelidir. Mikroskopik olarak keratotik lezyonlar atipi olmaksızın hiperkeratotik epitel ve akantozis ile karakterizedir (1).

2.4.2.Displazi/karsinoma in situ: Değişen derecelerde hücresel atipi, normal maturasyonun ve stratifikasyonun kaybı ile karakterizedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Collaborating Center for the Upper Respiratory Tract Tumours tarafından tanımlanan kriterlere göre larinksin intraepitelyal proliferatif lezyonları hafif, orta, şiddetli displazi ve karsinoma in situ (KIS) olarak gruplandırılmıştır (1, 19, 26).

2.5. LARİNKS TUMÖRLERİ

DSÖ Sınıflaması

1) Malign epitelyal tümörler

- a) Skuamöz hücreli karsinoma
 - Verrüköz karsinoma
 - Bazaloid skuamöz hücreli karsinoma
 - Papiller skuamöz hücreli karsinoma
 - Spindle hücreli karsinoma
 - Akantolitik skuamöz hücreli karsinoma
 - Adenoskuamöz karsinoma
- b) Lenfoepitelyal karsinoma
- c) Dev hücreli karsinoma
- d) Malign tükrük bezi tipi tümörler

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
 - Anjiosarkoma
 - Kaposi sarkomu
 - Malign periferik sinir kılıfı tümörü
 - Sinvyal sarkoma
- b) Borderline tümörler
 - İnflamatuvar myofibroblastik tümör
- c) Benign tümörleri
 - Schwannoma
 - Nörofibroma
 - Lipoma
 - Leiomyoma
 - Rabdomyoma
 - Hemanjioma
 - Lenfanjioma
 - Granüler hücreli tumor

5) Hematolenfoid tümörler

6) Kemik ve kıkırdak tümörleri

- a) Kondrosarkoma
- b) Osteosarkoma
- c) Kondroma
- d) Dev hücreli tumor

7) Mukozal malign melanoma

8) Sekonder tümörler

2.5.1. Epidemiyoloji:

Larinks karsinomları erkeklerdeki tüm kanserlerin %2.2'si, kadınlarda %0,4' ünü oluşturur. Çoğu hasta 4. dekat veya daha ileri yaştadır, fakat daha genç yaşlarda da görülebilir. Hastaların %96' sı erkektir. Sigara başlıca risk faktörüdür. Bazı ülkelerde kadınlarda sigara kullanımının artmasına bağlı olarak görülme sıklığı artmaktadır (1). Diğer risk faktörleri arasında, sesin kötü kullanımı, keratosis (1), Human papilloma Virüs (27), Epstein Barr virüs (28) gibi viral nedenler, radyasyon (29), Bloom sendromu (30) ve Li-Frumeni sendromu (31), beslenme, gastroözefagial reflü, asbest (32) yer almaktadır. Sebze ve meyvelerde bulunan C vitamini, folat ve flavonoidler gibi antioksidanların larinks kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir.

2.5.2 Klinik

Glottik tümörler genelde küçük tümörler olup ses kısıklığı yaparlar. İleri evrelerde ise havayolu obstriksiyonu ve dispne ile kendini belli eder. Supraglottik tümörler genellikle klinik bulgu vermezler ve tanı konulduğunda oldukça büyümüşlerdir. Ancak erken dönemlerde farengeal rahatsızlık, ağrı ve yutma güçlüğü olabilirken ileri dönemlerde ses kısıklığı, dispne, stridor, boyunda kitle ortaya çıkabilir (24,25 33, 34).

Subglottik tümörlerde boğazda rahatsızlık hissi, dispne, hemoptizi görülürken tümör vokal kordlara uzanmışsa ses kısıklığı ortaya çıkar. Epiglottik tümörlerde ses kalitesinde değişiklik, havayolu tıkanıklığı, disfaji ve/veya servikal metastaz izlenir. Priform sinüs tümörleri ise genellikle büyük olup odinofaji veya otalji mevcuttur (24, 25, 33, 34).

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

Glottik: Tüm vakaların %60-65' ini oluşturur. Kıkırdak doku ile çevrili olması ve lenfatik sayısının azlığı sebebiyle uzun süre lokalize kalırlar. Vokal kordun invazyonu, krikaritenoid kas ve eklemnin invazyonu veya nadiren rekürren laryngeal sinirin invazyonu ile vokal kord fikse olabilir. Ses kısıklığı gelişmesiyle erken tanı konur. Gerçek vokal kordun lenfatiklerinin az olması sebebiyle lenf nodu metastazı vakaların %4-6 sında görülür (36). Bu bölge tümörleri profilaktik lenf nodu

diseksiyonu gerektirmezler. Tedavide erken lezyonlarda radyoterapi iyi sonuç verir. Gerçek korda yerleşen yüzeysel küçük lezyonlarda kordektomi yeterli olabilirken T2 glottik kanserlerde hemilarenjektomi yapılmalıdır (1).

Supraglottik: Olguların %30-35 'ini oluşturur. Yalancı vokal kord, ventrikül ve/veya epiglotun laringeal veya lingual yüzünü tutar. Bu tümörler preepiglottik alana doğru yayılım gösterme eğilimindedir. Kıkırdak invazyonu nadir olup kıkırdakta osseöz metaplazi varlığında izlenir. Supraglottik karsinomların yalnız %1 'i glottise yayılım gösterir. Lenf nodu metastaz insidansları %40 tır. %25-35 olguda klinik olarak lenf nodu bulunmamasına karşın mikroskopik düzeyde okült metastazlar mevcuttur. Tedavide radyoterapi veya larenjektomi uygulanır (1).

Transglottik: Tüm olguların %5 'inden azını oluşturur. Laringeal ventrikülü vertikal olarak çaprazlayan karsinomlar için kullanılır. Lenf nodu tutulum oranı oldukça yüksektir. Bu lokalizasyondaki tümörler için elektif lenf nodu diseksiyonu gereklidir. Tedavisi total larenjektomidir (1).

İnfraglottik: Olguların %5 'inden 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 tümörler 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

Laringeal karsinomların %95 'ini SHK oluşturur (32, 33). SHK, genellikle glottik ve supraglottik bölgede yerleşirler. Anterior vokal kord en sık yerleşim yeridir. Lezyon düz plak şeklinde, polipoid veya yüzeyden kabarık ekzofitik görünümde gri pembe renkte olabilir. Vokal kord lezyonları keratotik görünümündedir. SHK, diferansiyasyon derecesi, sellüler pleomorfizm ve mitotik aktivite temel alınarak iyi , orta ve kötü diferansiye olmak üzere üç gruba ayrılır. Çoğu glottik karsinomlar iyi-orta diferansiye iken özellikle subglottik alan olmak üzere diğer lokalizasyondakiler orta-kötü diferansiyedir. Genellikle küçük tümörler iyi diferansiye görünümündedir (1).

İyi diferansiye SHK normal çok katlı yassı epitele benzer. Orta diferansiye SHK belirgin nükleer pleomorfizm, mitotik aktivite içerir , bununla birlikte keratinizasyon

daha az orandadır. Kötü diferansiye SHK'de immatür hücreler çok sayıda tipik ve atipik mitoz ve az oranda keratinizasyon içerir. Çoğu SHK orta derece diferansiyedir. Diferansiyasyona göre dereceleme yapılsa da prognostik önemi sınırlıdır. Tümör büyümesi ekspansif, infiltratif veya her iki şekilde de olabilir. Ekspansif büyüme şekli iyi prognozla ilişkilidir. İnfiltratif tümörler küçük düzensiz kordonlar veya tek tümör hücrelerinden oluşur, kötü sınırlı olup daha agresif seyir gösterir. SHK sitokeratin gibi epitelyal belirleyiciler ile boyanır. Kötü diferansiye SHK ise Vimentin pozitifliği gösterebilir (33).

Verrüköz karsinom: İyi diferansiye SHK 'nın metastaz yapmayan formudur. Yaşamın 6.-7. dekatlarında özellikle erkeklerde görülür. Larinkste en sık anterior gerçek vokal kordu tutar. En sık semptom ses kısıklığı olup havayolu obstrüksiyonu, kilo kaybı, disfaji, ve göğüs ağrısı görülür. Makroskobik olarak keskin sınırlı, ekzofitik, tek, beyaz renkte kitle şeklindedir. Mikroskobide belirgin keratinizasyon ve ince fibrovasküler kor içeren iyi diferansiye çok katlı yassı epitelin papiller yapılar oluşturur şekilde stromaya invazyonu görülür. Mitoz nadirdir. Yoğun lenfoplazmatik iltihap mevcuttur. Bazen verrüköz karsinomla birlikte SHK olabilir. Hibrid karsinoma adı verilen bu durum larinkste %10 oranda görülür. Hibrid karsinomda metastaz riski artmaktadır. Ayırıcı tanıda ekzofitik SHK, hibrid verrüköz karsinom, papiller SHK, keratinize skuamöz hücreli papillom ve verruka vulgaris yer almaktadır. Tedavide eksizyon veya radyoterapi yeterlidir. Hibrid karsinomlar konvansiyonel SHK gibi tedavi edilir (1,33). Lenf nodu palpe edilmiyorsa boyun diseksiyonu uygulanmaz.

Bazaloid Skuamöz Hücreli Karsinoma: Laringeal karsinomların %1 'inden azını oluşturur. SHK'nın yüksek dereceli bir formudur. Hem skuamöz hemde bazaloid komponenti içerir. En sık priform sinüs ve supraglottik bölgeye yerleşir. En sık belirtisi boyunda kitle ve ses kısıklığıdır. Makroskobik olarak merkezi ülser, submukozal endüryasyon içeren ekzofitik polipoid kitle şeklinde görülür. Mikroskobide bazaloid ve skuamöz hücre içerir. Bazaloid hücreler küçük hiperkromatik nükleuslu dar sitoplazmalıdır. Küçük kistik alanlar, belirgin hyalinizasyon ve periferik palizatlanma gösterir. Solid olup merkezinde komedonekroz bulundurulur. Mitoz, nükleer pleomorfizm belirgindir. İmmünohistokimyasal olarak 34 BetaE12 keratin alt tipi bazaloid hücrelerde daha duyarlıdır. Bazaloid SHK 'nin ayrımında Adenoid kistik karsinom yer almalıdır.

Myoepitelyal hücrelerin yokluğu ve Bazaloid SHK 'de dot-like Vimentin pozitifliği önemlidir. Bazaloid SHK oldukça agresif tümörlerdir. Erken dönemde lenf nodu ve uzak organ metastazı yaparlar (1, 33, 34).

Papiller Skuamöz Hücreli Karsinom: SHK' nin egzofitik görünümde papiller büyüme paterni gösteren varyantıdır. Larinkste en sık yerleşim yeri supraglottik alandır. En yaygın belirti ses kısıklığı ve hava yolu tıkanıklığıdır. Makroskopisinde polipoid, yumuşak, ekzofitik papiller yapıda tümör mevcuttur. Mikroskopide kalın fibrovasküler kor etrafında immatür bazaloid hücreler ve daha pleomorfik hücreler bulunur. Fokal nekroz ve hemoraji sıktır. Keratozis azdır. Klasik SHK' den prognozu daha iyidir (33).

İğsi Hücreli Karsinom(Sarkomatoid Karsinom): SHK'nin insitu veya invaziv formu ve mezenkimal görünümde malign iğsi hücreli komponent içeren bifazik bir tümördür. İğsi hücreli komponent te epitelyal orjinlidir. Baş-boyun tümörleri içerisinde en sık larinksi tutar. Larinksin ise en sık glottik bölgeyi tutar. Hastalarda ses kısıklığı , disfaji ve/veya havayolu tıkanıklığı vardır. Makroskopik olarak polipoid görünümde olup sıklıkla ülseredir. Mikroskopik olarak genellikle iğsi hücre hakimiyeti vardır. Görünüm daha çok fibrosarkom ya da malign fibröz histiositoma benzer. Polipoid görünümde olması, glottik yerleşimli olması, iğsi komponentin derinliğinin az olması ve radyasyon maruziyetinin olmaması iyi prognostik faktörlerdir (33).

Akantolitik SHK: SHK' nin az görülen bir tipidir. Larinkste en sık supraglottik bölgeye yerleşir. Mikroskopik olarak SHK' nin adaları arasında akantolize bağlı galandüler diferansiyasyon mevcuttur. Lümen benzeri alanlar, akantolitik ve diskeratotik hücreler veya sellüler debris içerirler. Gerçek bez diferansiyasyon ve müsin üretimi yoktur. Prognozu klasik SHK' ye benzer fakat daha agresif davranış gösterebilir (33).

Adenoskuamöz karsinom: SHK ve gerçek adenokarsinomun her ikisinde içeren nadir bir tiptir. Sıklıkla ülserasyon gösteren kabarık, polipoid kitle şeklindedir. Mikroskopik olarak SHK ve adenokarsinom komponentleri mevcuttur. SHK insitu veya invaziv görünümde olabilir. Adenokarsinom komponentinde tübül yapıları,

intraluminal veya intrasellüler müsin taşlı yüzük benzeri görünüm olabilir. SHK' den daha agresif seyreder (33).

Lenfoepitelyal karsinoma: İndiferansiye bir karsinom olup reaktif lenfoplazmasitik infiltrasyon vardır. Hastalarda ses kısıklığı ve boyunda kitle hikayesi mevcuttur. Larinkste sıklıkla supraglottik bölgede bulunur. Derin ve yüzeyel ülserasyon içeren kitle mevcuttur. Mikroskopik olarak tabakalar oluşturan indiferansiye epitelyal adalar çevresinde lenfoplazmasiter infiltrat görülür. Mikroskopik olarak nazofaringeal karsinomdan ayırt edilemez. Servikal lenf nodu metatazı yaygındır. Hastaların 1/3 'ünde uzak (karaciğer, akciğer, mediasten, deri) metastaz gelişir (33).

Dev hücreli karsinom: Histogenezi bilinmeyen nadir görülen bir tümördür. M ltin kleer dev hücrelerden oluşan indiferansiye bir karsinomdur. Larinksin tüm lokalizasyonlarında yerleşebilir. Mikroskopik olarak hücreler tek tek duran, pleomorfik sıklıkla multinükleer , belirgin nükleollü geniş asidofilik bazen vakuollü sitoplazmalıdır. Genellikle sitoplazmasında nötrofil veya sellüler debriser içerir. Prognozu kötüdür (33).

Malign tükrük bezi tipi tümörler: Tükrük bezi tipi tümörlerin %72' si maligndir. Başlıcaları, mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinomdur.

Mukoepidermoid karsinom nadir görülür. Malign tükrük bezi tümörlerinin 1/3'  n  oluşturur. Ensık altıncı dekada ve erkeklerde görülür. En sık supraglottik bölgeye yerleşir. Mikroskopisi diğer alanlardaki mukoepidermid karsinomla aynıdır. Olguların yarısında servikal lenf nodu metatazı mevcuttur. Prognozu kötüdür.

Adenoid kistik karsinom, nadir görülmekle beraber tüm larinks kanserlerinin %0.07-0.25'ini oluşturur. Glottik ve supraglottik bölgeye yerleşir. Mikroskopisi diğer alanlardaki adenoid kistik karsinomla aynıdır (33).

Nöroendokrin tümörler: Bu tümörler heterojen bir grup olup benign veya malign olabilir. Ensık atipik karsinoid tümör görülmekle beraber sırayla küçük hücreli karsinom-nöroendokrin tip, paraganglioma ve tipik karsinoid görülür. Larinkste bulunan Kulchitsky hücrelerinden gelişir.

Tipik karsinoid: Larinksteki nöroendokrin tümörler arasında en az görülendir. İyi diferansiye nöroendokrin karsinom olarakta bilinir. Genellikle supraglottik alana yerleşir. Tümör 0.5-3.0 cm çapında submukozal veya polipoid kitle şeklindedir. Mikroskobide küçük yuvalar, trabeküller bez benzeri yapılar , rozetler oluşturur. Hücreler kaba kromatinli nükleol içermeyen pembe sitoplazmalıdır. Mitoz, nekroz ve pleomorfizm görülmez. Akciğerdeki tipik karsinoide göre daha agresif seyirlidir (33).

Atipik karsinoid: Orta derece diferansiye karsinoid de denir. Larinksin ensık görülen nöroendokrin tümördür. %90'dan fazlası supraglottik bölgede yerleşir. Tümör 0.2-4.0 cm çaplarında gri-pembe renkli submukozal veya polipoid kitle şeklindedir. Mikroskobik olarak tümör küçük adalar, tabakalar, trabeküller, bez yapıları oluşturabilir. Hücreler büyük, nükleusları veziküler ve nükleolleri belirgindir. Mitoz (genellikle 2-10/10bbs), nekroz, pleomorfizm, anjiolenfatik invazyon sıktır. Agresif bir tümördür. Servikal lenf nodları ve organ (özellikle akciğer, karaciğer, kemik) metastazı yapar (33).

Küçük hücreli karsinom-nöroendokrin tip: Kötü diferansiye nöroendokrin karsinom olarakta bilinir. Laringeal karsinomların %0.5'ini oluşturur. Larinksin herhangi bir bölgesinde yerleşebilir. Lezyon üzeri ülser olup submukozal yerleşimlidir. Mikroskobide hücreler oval- yuvarlak nükleuslu kaba kromatinli dar sitoplazmalıdır. Agresif bir tümör olup erken dönemde servikal lenf nodlarına ve uzak metastaz yapar. Ensık akciğer, karaciğer ve kemik metastaz yerleridir (33).

Kombine küçük hücreli karsinom- nöroendokrin tip: Skuamöz veya adenokarsinomatöz alanlar ile birlikte küçük hücreli karsinomun birlikteliğidir (33).

Paraganglioma: Genellikle supraglottik alana lokalizedir. Çoğu fonksiyonel değildir. Kadınlarda daha sık görülür. Metastaz oldukça nadirdir (1).

2.5.4.TNM Sınıflaması

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 (anteriorve 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 fikse
- 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)
- T4b Tümör prevertebral yüzey, mediastinal yapılar veya 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, hiçbirisi 6 cm 'den büyük değil

N2c Bilateral veya kontralateral lenf nodlarına metastaz, hiçbirisi 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

Evre 0	Tis	N0	M0
Evre 1	T1	N0	M0
Evre 2	T2	N0	M0
Evre 3	T1, T2	N1	M0
	T3	N0 , N1	M0
Evre 4A	T1,T2,T3	N2	M0
	T4a	N0, N1, N2	M0
Evre 4B	T4b	Herhangi bir N	M0
	Herhangi bir T	N3	M0
Evre4C	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

2.5.6.Prognostik Faktörler

1- Klinik evre ve tümör yerleşim yeri: Beş yıllık sağ kalım oranları glottik bölge tümörlerinde %80, supraglottik bölgede %65, subglottik bölgede %40'dır. Ariepiglottik bölge tümörleri en kötü prognoza sahiptir.

2- Mikroskopik derece

3- Tümörün büyüklüğü: T1 glottik karsinomlar radyoterapi ile tedavi olurken 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: Anöloid tümörlerde rekürrens riski yüksektir (1).

6- Konak reaksiyonu: Stromada çok sayıda S100 pozitif boyanan Langerhans hücrelerinin varlığı daha az oranda rekürrens, daha az servikal lenf nodu metastazı ve uzun süreli sağ kalım ile ilişkilidir (35).

7- Keratin reaksiyonu: Salınan keratin tipinin prognostik önemi yoktur, ancak immünohistokimyasal değerlendirmede kullanılır.

8- P53 aşırı salınımı: 17p13kromozomu üzerinde lokalize bir gendir. Hücre siklusu kontrolünde rol oynar. Premalign lezyondan invaziv karsinoma progresyonda rol oynar. Yapılan çalışmalarda P53 salınımının bölgesel rekürrens ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (36).

9- Proliferasyon: İmmünohistokimyasal olarak Ki67 ve proliferasyon hücre nükleer antijeni (PCNA) nin gösterilmesi SHK'nin diferansiyasyon derecesi ve lenf nodu metastazı arasında korelasyon vardır.

10- Lenfovasküler ve perinöral invazyon: Lenfatik veya kan damarı invazyonu lenf nodu/veya uzak organ metastaz riskini artırır. Perinöral invazyon lokal rekürrens, bölgesel lenf nodu metastazında artış ve sağ kalım süresinde azalma ile ilişkilidir (32).

11- Lenf nodu metastazında ekstrakapsüler yayılım: Lenf nodunda ekstrakapsüler yayılımın varlığı bölgesel rekürrens, uzak metastaz ve azalmış yaşam oranı ile ilişkilidir.

12- Rezeksiyon sınırları: Cerrahi sınırlarda tümörün bulunmaması rekürrens oranının azalması ve sağ kalım oranının uzamasıyla ilişkilidir (33).

2.6. D2-40

D2-40, yakın zamanda tanımlanan 40kDa ağırlığında siyaloglikoprotein özelliğinde monoklonal bir antikordur (37). Onkofetal membran antijeni olup testiküler gonositlerin yüzey hücrelerinde, germ hücreli tümörlerde, lenfatik endotelde ve mezotel hücrelerinde bulunur (38). Erişkin testis dokusunda bulunmaz. D2-40, lenfatik endotelyal hücreleri göstermede oldukça sensitif ve spesifiktir (8,39,40). D2-40 sitoplazmik boyanma paternine sahiptir. Lenfatik dokudan kaynaklanan tümörlerde ve lenf nodlarındaki tümör invazyonunu göstermede oldukça faydalıdır (41). D2-40 antikoruna yüksek oranda lenfatik epitelden salınan müsin tipinde bir transmembran proteini olan podoplanine bağlanır (37). D2-40 pozitifliği bazı tümörlerde bildirilmiştir.

2.7.CD34

CD 34, yaklaşık 116 kilodalton ağırlığında tek zincir transmembran proteinidir. Hematopoetik hücreler, dermis ve yumuşak dokudaki dentritik hücreler ve fibroblastik hücreler, endotel hücreleri, kemik iliğinin stromal hücrelerinin prekürsörlerinde reaksiyon gösterir (42). Ayrıca çoğu tümörde lenfatik ve kan damar invazyonunun gösterilmesi için kullanılan belirleyicilerden biridir. CD 34 genellikle sitoplazmik boyanma gösterirken bazı vakalarda membran boyanması da görülebilmektedir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma TST-08-619 no'lu proje olarak Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Çalışmamızda 2000-2006 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda larinks skuamöz hücreli karsinom tanısı almış 86 larenjektomi ve tek veya iki taraflı boyun disseksiyonu yapılmış olgu incelemeye alınmıştır. Hastaların dosya kayıtlarından ve patoloji raporlarından yaş, cinsiyet, tümör yerleşim yeri, tümör çapı ve uygulanan tedavi prosedürü hakkında veriler toplandı.

Vakaların daha önce tümör olarak kaydedilmiş patoloji raporunda belirtilen bloklar ve HE boyalı preparatlar seçildi. HE boyamasında tümör ve peritümöral alanların en iyi görüldüğü bloklar tercih edildi. HE boyalı preparatlarda tümör histolojik tipi ve diferansiasyon değerlendirildi. Histolojik derece, tümör hücrelerinin pleomorfizm, keratin yapıp yapmaması, mitozun seyrek ya da sık olmasına göre iyi diferansiye, orta derece diferansiye ve kötü diferansiye olmak üzere üç gruba ayrıldı. Hafif pleomorfizm, belirgin keratin varlığı, seyrek mitoz varlığı olan vakalar iyi diferansiye, belirgin pleomorfizm, keratinin yokluğu ve sık mitoz içeren vakalar kötü diferansiye olarak yorumlandı. İyi ve kötü diferansiye arasında kalan vakalar orta derece diferansiye olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal boyama için %10 luk formalin fiksasyonu sonrası rutin takip ile hazırlanmış parafine gömülü dokulardan 3-5 mikronluk kesitler yapıldı.

Kesitler dokuların dökülmemesi için poli-L-lizinle kaplı lamlara alındı. Kesitler, 60 derecelik etüvde 1 saat bekletildikten sonra 15 dakika ksilol ile deparafinize, daha sonra derecesi giderek artan alkollerden geçirilerek dehidrate edildi ve distile suda yıkandı. Kesitler 1mM citrate ile mikrodalga fırında 20 dakika kaynatılarak oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Dokular fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS) ile 10 dakika yıkandı. Spesifik olmayan boyamaları ve zemin boyamasını en aza indirmek için endojen peroksidaz aktivitesi hidrojen peroksit ile bloke edildi. 10 dakika PBS da yıkandı. Primer antikorlar olarak D2-40(Dako, Klon D2-40, 1/80 dilüsyonda) ve CD34 (Dako 1/200 dilüsyonda) kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyamada streptavidin-biotin kiti kullanarak avidin-biotin peroksidaz metodu uygulandı.

İmmünohistokimyasal boyama işlemine şu sıra ile devam edildi.

- On dakika PBS ile yıkandı
- On dakika biotinlenmiş sekonder antikor uygulandı.
- On dakika PBS ile yıkandı.
- On dakika streptavidin peroksidaz konjugatı uygulandı.
- On dakika PBS ile yıkandı.
- On dakika DAB kromojen uygulandı.
- Beş dakika PBS ile yıkandı.
- Beş dakika deiyonize su ile yıkandı.
- Bir dakika Mayer'in hemotoksileni ile zıt boya yapıldı.
- On dakika çeşme suyunda yıkandı.

Derecesi gittikçe azalan alkollerden geçirilerek, 15 dakika ksilolde bekletildi. Kapatma solüsyonu ile kapatıldı. İşlemlerin tamamı oda ısısında ve kesitlerin kurumaması için nemli ortamda gerçekleştirildi. Pozitif kontrol olarak CD34 için tonsil dokusu, D2-40 için lenfanjiom dokusu kullanıldı. Hazırlanan kesitler ışık

mikroskobunda değerlendirildi. İmmünohistokimyasal değerlendirmede CD34 ve D2-40 için sitoplazmik boyanma dikkate alındı.

Çalışmamızda damar ve lenfatiklerin en yoğun olduğu dörtx200 büyük büyütme sahası tarandı. İntratümöral mikrodamar yoğunluğu , intratümöral lenfatik damar yoğunluğu , peritümöral mikrodamar yoğunluğu ve peritümöral lenfatik damar yoğunluğu sayıldı. Tümör diferansiyasyonu; pleomorfizm, keratinin varlığı veya yokluğu, mitozun seyrek ya da sık olması gibi kriterler kullanılarak iki patolog tarafından değerlendirildi. 86 vakanın 6 sında farklı sonuçlar izlenince birlikte tekrar değerlendirildi ve uzlaşmaya varıldı. İntratümöral MDY, peritümöral MDY, intratümöral LDY, peritümöral LDY değerlendirildikten sonra bu parametreler ; tümörün yerleşim yeri, diferansiyasyonu ve lenf nodu metastazı ile ilişkileri karşılaştırıldı.

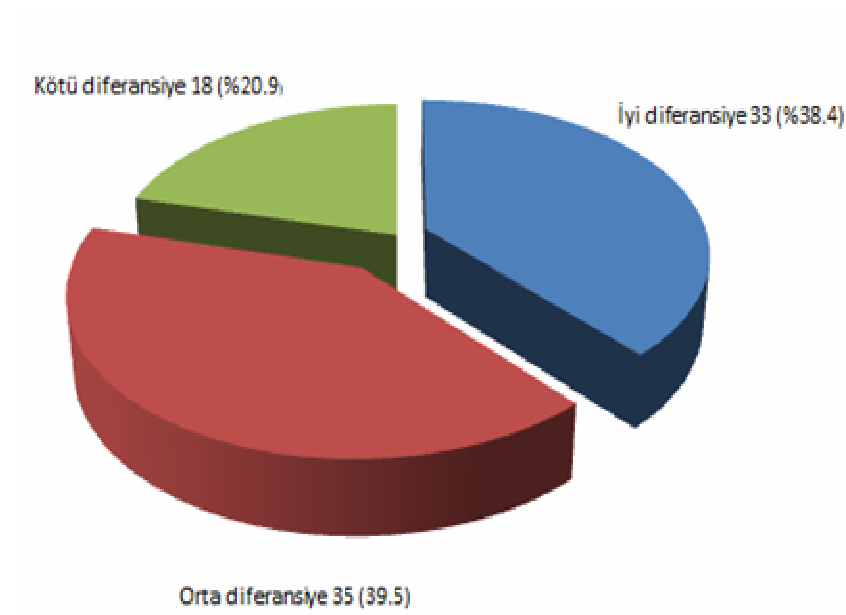
Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi SPSS(Scientific Package for Social Sciences) 15.00 programı ile yapıldı. Karşılaştırmalarda ki kare testi, t testi ve varyans analizi kullanıldı. P değeri 0.05 altındaki değerler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

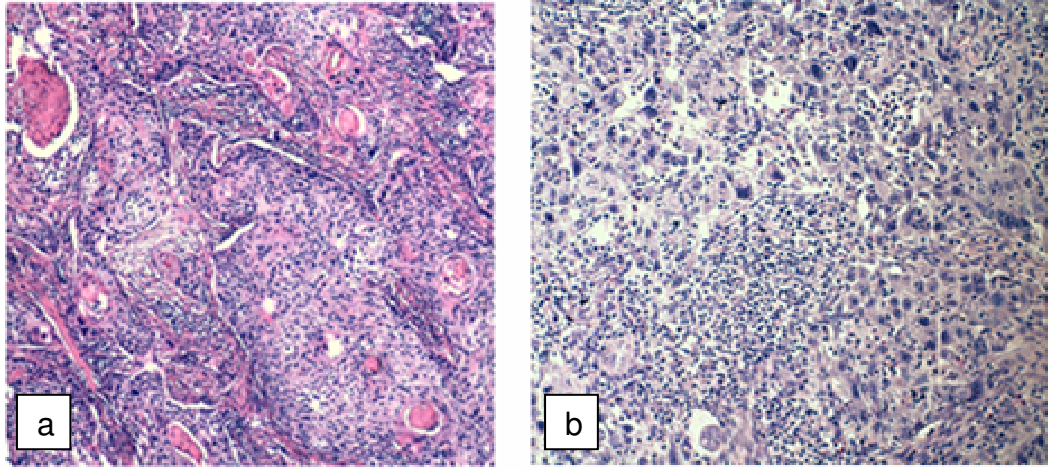
4.1. GENEL BULGULAR

Çalışmada değerlendirmeye alınan 86 olgunun 85'i (%98.8) erkek, 1'i(%1.2) kadındı. Yaş ortalaması 60.1' dir. Tümörlerin ortalama büyüklüğü 3.09 cm'dir.

Histopatolojik incelemede olguların 33'ü (%38.4) iyi diferansiye,34'ü (39.5) orta diferansiye, 18'i (20.9) kötü diferansiye olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3: Olguların derecelere göre dağılımı.



Şekil 4: a) Belirgin glob korne yapıları içeren, atipi göstermeyen iyi diferansiye skuamöz hücreli karsinom(X200 HE) **b)** Belirgin pleomorfizm ve mitoz içeren kötü diferansiye skuamöz hücreli karsinom (X200 HE)

Olguların 34'ü (%39.5) supraglottik, 45'i (%52.3) glottik, 7'si (%8.1) subglottik yerleşimlidir (Tablo 1).

Tablo 1: Olguların yerleşim yerlerine göre sayı ve yüzdeleri

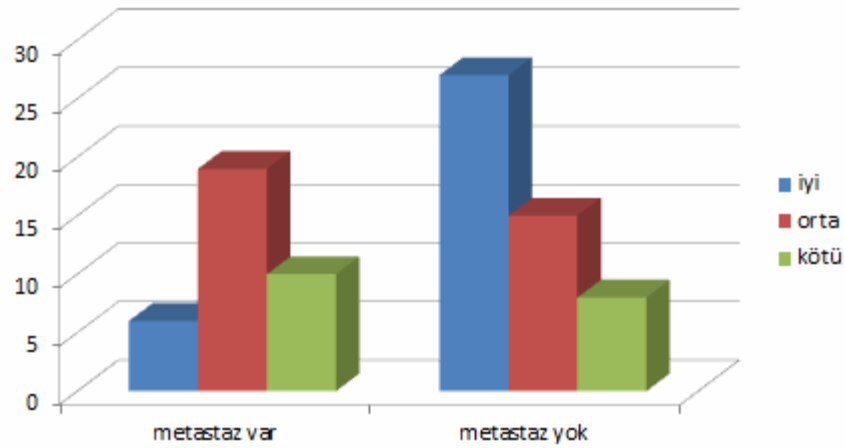
	Supraglottik	Glottik	Subglottik	Toplam
Olgu Sayısı	34(%39.5)	45(%52.3)	7(%8.1)	86(%100)

Çalışmaya alınan 86 olgunun 35'inde (%40.7) lenf nodu metastazı olup, 51 olguda (%59.3) lenf nodu metastazı yoktu (Tablo 2).

Tablo 2: Lenf nodu metastazının durumuna göre olguların sayıları

	Pozitif	Negatif	Toplam
Lenf Nodu Metastazı	35(%40.7)	51(%59.3)	86(%100)

Olguların derecelerine göre metastaz oranları karşılaştırıldığında orta derece ve kötü diferansiye tümörlerin metastaz oranının daha yüksek olduğu görülmüş olup, istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmiştir ($P=0.03$) (Şekil 5).



Şekil 5: Olguların derecelerine göre metastaz oranlarının karşılaştırılması

($P=0.03$)

Tümörlerin yerleşim yerlerine göre metastaz oranları karşılaştırıldığında supraglottik yerleşimli olguların 16'sında (%47.1) metastaz olup, 18'inde (%52.9) metastaz yoktu. Glottik yerleşimli 15 (%33.3) olguda metastaz varken, 30'unda (%66.7) metastaz yoktu. Subglottik yerleşimli 4 olguda (%57.1) metastaz olup 3 (%42.9) olguda metastaz yoktu (Tablo 3) (P =0.319)

Tablo 3: Olguların lenf nodu metastazlarının yerleşim yerlerine göre dağılımları

Metastaz	Supraglottik	Glottik	Subglottik	Toplam
Var	16 (%47.1)	15 (%33.3)	4 (%57.1)	35
Yok	18 (%52.9)	30 (%66.7)	3 (%42.9)	51

(P=0.319)

4.2. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

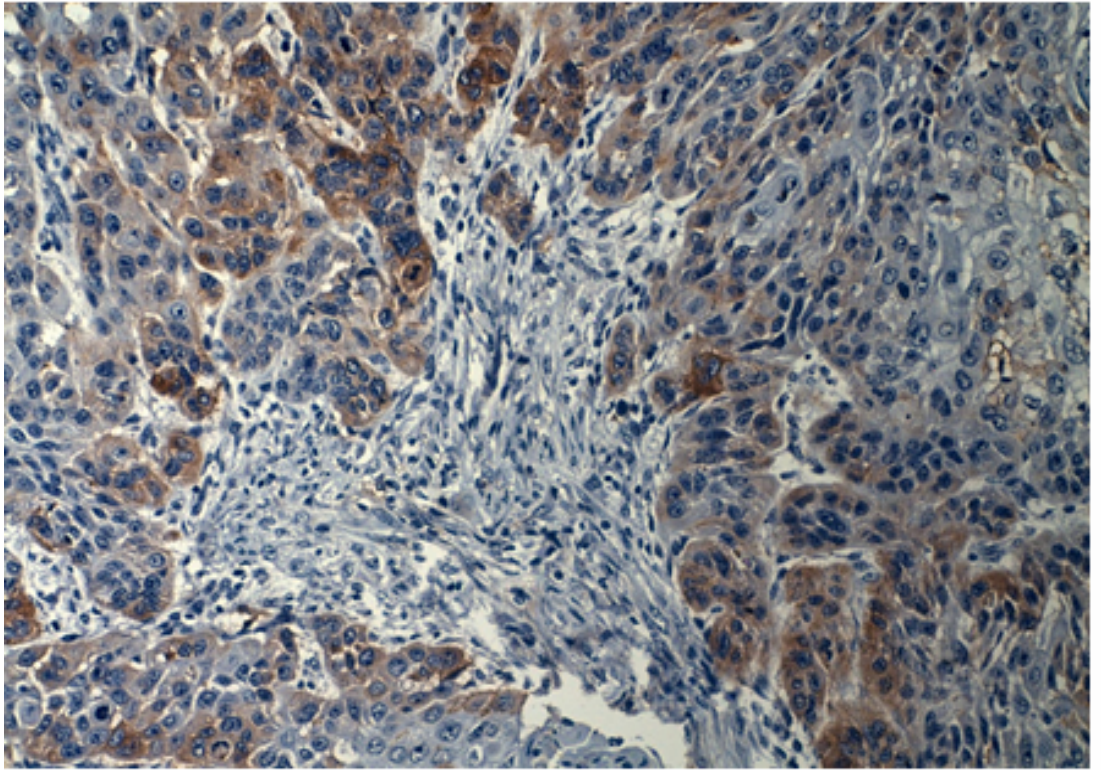
4.2.1.D2-40

D2-40 ile olguların 33'ünde (%38.4) tümöral dokuda farklı oranlarda pozitif boyanma izlendi. 53 vakada (%61.6) boyanma izlenmedi.

Metastazı olan 35 vakanın 13'ünde (%37.1) D2-40 ile boyanma izlenirken 22'sinde (%62.9) boyanma izlenmedi. Metastaz olmayan 51 olgunun 20'sinde (%39.2) D2-40 ile boyanma izlendi, 31 olguda (%60.8) boyanma izlenmedi (Tablo 4, Şekil 6).

Tablo 4: Olguların metastaz durumuna göre tümöral dokuda D2-40 ile boyanma oranlarının karşılaştırılması (P=1.00).

Metastaz	Tümörde boyanma var	Tümörde boyanma yok	Toplam
Yok	20 (%39.2)	31 (%60.8)	51
Var	13 (%37.1)	22 (%62.9)	35
Toplam	33	53	86



Şekil 6: İyi diferansiye Skuamoz Hücreli Karsinom da tümör hücrelerinde D2-40 ile pozitif boyanma (X200).

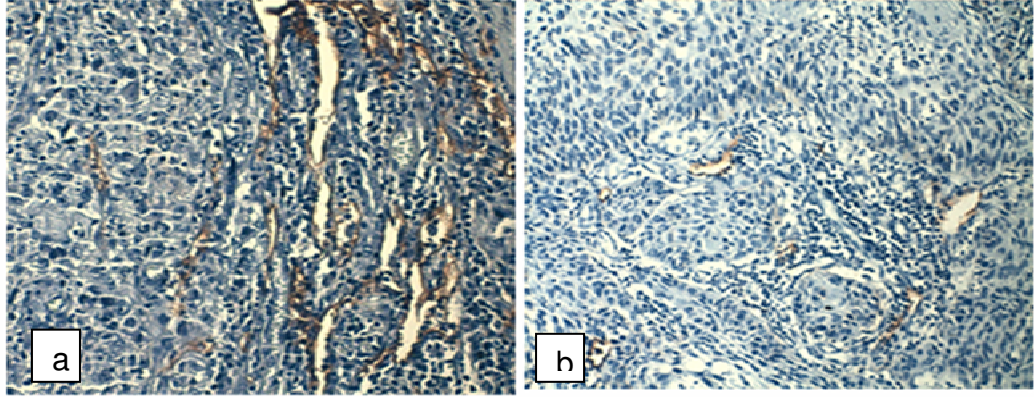
Olguların diferansiyasyonuna göre tümördeki boyanma oranları karşılaştırıldığında iyi diferansiye 33 olgunun 17'sinde, orta derece diferansiye 35 olgunun 9'unda ve kötü diferansiye 18 olgunun 7'sinde D2-40 ile boyanma görülmüştür (Tablo 5) (P=0.125).

Tablo 5: Diferansiyasyona göre tümörün D2-40 ile boyanma oranları

Boyanma	İyi	Orta	Kötü	Toplam
Var	17 (%51.5)	9 (%25.7)	7(%38.9)	33
Yok	16 (48.5)	26(74.3)	11(%61.1)	53
Toplam	33 (%38.4)	35 (%40.7)	18 (%20.9)	86

(P=0.125)

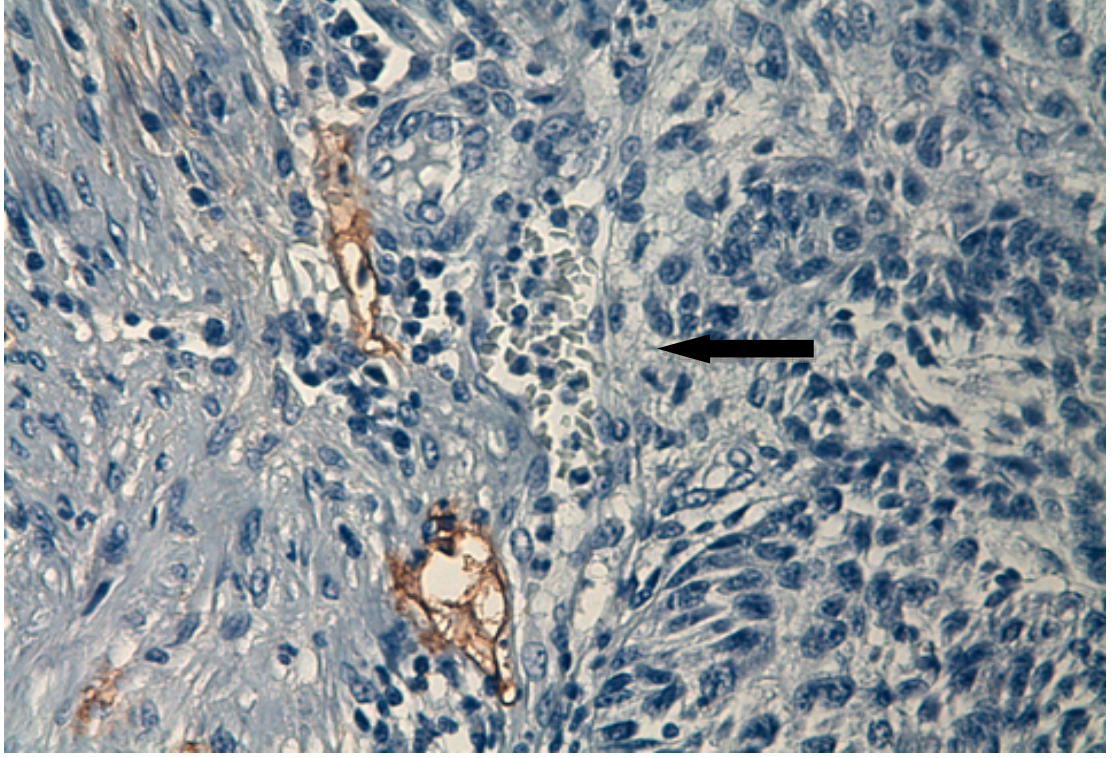
Tümöral dokuda D2- 40 ile lenfatik damarlarda kuvvetli boyanma izlenmiş olup damar yapıları boyanmamıştır. (Şekil 8) Olguların tümör içi ve tümör dışı lenfatik damar sayıları karşılaştırıldığında tümör içi lenfatik sayıları ortalama 5 olup, tümör dışı lenfatik sayısının ortalaması 18 idi (Şekil 7) (P <0.001) .



Şekil 7: SHK' de D2- 40 ile peritümöral alanda (a) ve intratümöral alanda lenfatiklerde boyanma (b).

Olguların diferansiyasyonu ve tümör içi lenfatik sayıları karşılaştırıldığında diferansiyasyon ve lenfatik sayıları arasında anlamlı bir sonuç elde edilemedi ($P=0.996$).

Olguların diferansiyasyon ve tümör dışı lenfatik sayıları karşılaştırıldığında iyi diferansiye vakalarda ortalama tümör dışı LDY değeri 20, orta derece diferansiye olanlarda 15, kötü diferansiye olanlarda 21 olarak değerlendirildi ($P=0,680$).



Şekil 8: İntratümöral alanda D2-40 ile boyanma gösteren lenfatik damarlar ve boyanma göstermeyen içi eritrosit dolu vasküler yapılar(ok) (X200)

Lenf nodu metastazı olan (N+) 35 olgu ve lenf nodu metastazı olmayan(N0) 51 olgunun D2-40 ile boyanan lenfatik sayıları karşılaştırıldığında, metastaz olan grupta tümör içi lenfatik sayısı ortalama 10.28, tümör dışı ortalama lenfatik sayısı 23.85 dir. Metastaz olmayan grupta tümör içi ortalama lenfatik sayısı 8, tümör çevresi ortalama lenfatik sayısı 24.78’di.

Lenf nodu metastazı olan ve olmayan olguların her ikisinde de peritümöral lenfatik sayısının fazla olduğu görülmüştür. İntratümöral ve peritümöral lenfatik sayıları ile metastaz arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı ($p>0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6:Olguların metastaz durumuna göre intratümöral ve peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması

Lenf nodu metastazı	İnatümöral LVD	Peritümöral LVD
Var	10.28	23.85
Yok	8	24.78

($P>0.05$)

Tümörlerin yerleşim yerlerine göre intratümöral lenfatik sayıları karşılaştırıldığında subglottik yerleşimli 7 olguda ortalama tümör içi lenfatik sayısı 6, glottik yerleşimli 45 olguda tümör içi ortalama lenfatik sayısı 4, supraglottik yerleşimli 34 olgunun intratümöral ortalama lenfatik sayısı 5 olarak değerlendirildi (Tablo 7). P değeri 0.281 olup yerleşim yerleri ve intratümöral lenfatik sayıları arasında anlamlı bir sonuca varılamadı.

Tümörlerin yerleşim yerlerine göre peritümöral lenfatik sayıları karşılaştırıldığında supraglottik bölgede yerleşen 34 vakanın ortalama peritümöral lenfatik sayısı 21, glottik bölgede yerleşen 16 vakanın peritümöral lenfatik sayısı 16, subglottik yerleşimli 7 vakanın tümör dışı ortalama lenfatik sayısı 25 olarak sayıldı. Yerleşim yerleri ve peritümöral lenfatik sayıları arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($P>0.05$) (Tablo 7).

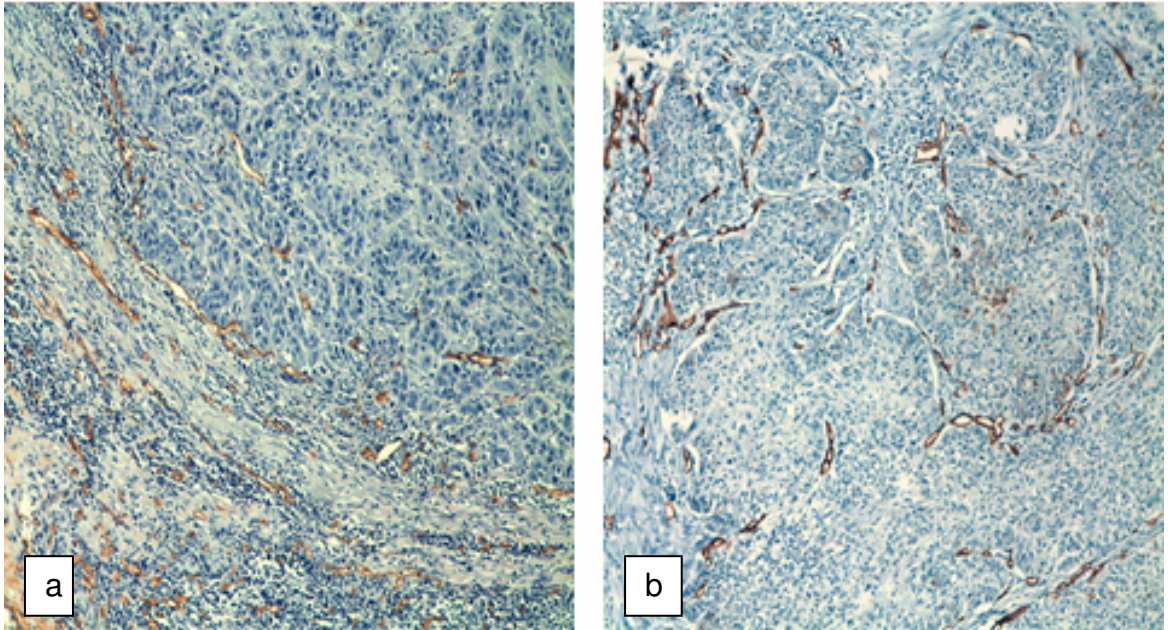
Tablo7: Olguların yerleşim yerlerine göre tümör içi ve tümör dışı lenfatik sayısı

Yerleşim yeri	İntratümöral LDY	Peritümöral LDY
Supraglottik	5	21
Glottik	4	16
Subglottik	6	25

(P>0.05)

4.2.2.CD 34

Olguların tümör içi ve tümör dışı damar sayıları karşılaştırıldığında tümör içinde MDY değeri ortalama 217, tümör dışında 330 olarak değerlendirildi. P değeri <0.001 olup anlamlı olarak değerlendirildi (Şekil 9).



Şekil 9: Kötü diferansiye SHK' de CD 34 ile peritümöral alanda (a) ve intratümöral alanda (b) boyanan vasküler yapılar (x200)

Olguların diferansiyasyonu ve tümör dışı damar sayıları karşılaştırıldığında iyi diferansiye tümörlerde (33 vaka) ortalama damar sayısı 333.152, orta derece diferansiye tümörlerde (35 vaka) ortalama damar sayısı 305.371, kötü diferansiye tümörlerde (18 vaka) 374.167 olarak değerlendirildi. Kötü diferansiye tümör ile orta derece diferansiye tümör çevresindeki damar sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 8) (P= 0.03).

Olguların diferansiyasyonları ve tümör içi damar sayıları karşılaştırıldığında iyi diferansiye olgularda tümör içi MDY değeri ortalama 243, orta derece diferansiye vakalarda 210, kötü diferansiye tümörlerde tümör içi MDY değeri ortalama 183 olarak saptandı (Tablo 8, Şekil 9). İstatistiksel analizde anlamlı bir fark bulunmadı (P: 0,058).

Tablo 8: Olguların derecelerine göre tümör içi ve tümör dışı damar sayılarının karşılaştırılması

Derece	Olgu Sayısı	Peritümöral ortalama damar sayısı	İntratümöral ortalama damar sayısı
İyi	33	333	243
Orta	35	305	210
Kötü	18	374	183

(P=0.058)

Lenf nodu metastazı olan ve olmayan olguların CD34 ile boyanan intratümöral damar sayıları karşılaştırıldığında metastaz olmayan grupta tümör içi mikrodamar yoğunluğu ortalama 235.078, metastaz olan grupta ise 191.971 olarak sayıldı (Tablo 9) (P= 0.028).

Tablo 9: Lenf nodu metastazına göre tümör içi ve tümör dışı damar sayıları

Lenf nodu metastazı	İntratümöral MDY	Peritümöral MDY
Var	191.971	307.078
Yok	235.078	346.078

(P=0.028)

Lenf nodu metastazı olan ve olmayan olguların CD34 ile boyanan peritümöral damar sayıları karşılaştırıldığında metastaz olmayan grupta mikrodamar yoğunluğu ortalama 346.078, metastaz olan grupta ise 307.629 olarak sayıldı (Tablo 9) (P = 0.058).

Olguların yerleşim yerlerine göre intratümöral CD34 ile boyanan damar sayıları karşılaştırıldığında supraglottik bölgede ortalama tümör içi damar sayısı 231.676, glottik bölgede 213.400, subglottik bölgede 175.429 olarak değerlendirildi (Tablo 10). P değeri 0.294 olup yerleşim yerleri ve intratümöral damar sayıları arasında anlamlı bir fark görülmedi.

Tablo 10: Olguların yerleşim yerlerine göre tümör içi ve tümör dışı damar sayısı

Yerleşim yeri	İntratümöral MDY	Peritümöral MDY
Supraglottik	231.676	338.235
Glottik	213.676	322.733
Subglottik	175.429	342

(P=0.294)

5-TARTIşMA

Larinks karsinomları baş boyun bölgesinin en sık görülen neoplazmlarıdır. Erkekler de tüm kanserlerin %2.2' sini, kadınlarda %0.4' n oluşturmaktadır. Hastaların %96' sı erkektir. Larinks karsinomlarının çoğu yaşamın 5. dekatı ve sonrasında görülürken; genç olgular da bildirilmiştir.

Bizim alışmamızda vakaların %98.8' i erkek ve ortalama yaş aralığı 59,5 olarak saptandı. Vakaların %52.3'  supraglottik yerleşimli %39,5'u glottik bölge yerleşimliydi.

Anjiogenezis, tümörlerin gelişimi, invazyonu, metastazı ve prognozunda önemli role sahip temel mekanizmalardan biridir (4-6). Karsinomlar metastazlarını lokal yayılım, lenfatik yol ve hematojen yol ile yaparlar. Lenfatik sistem karsinomlar için primer metastaz yoludur. Larinks neoplazmları metastazlarını en sık servikal lenf nodlarına yapmaktadır. Genellikle lenf nodu metastazı primer tümör alanındaki lenfatik damar invazyonunun gerçekleşmesi ile başlamaktadır. Daha sonra kanser hücreleri lenfatik yol ile lenf nodlarına tümör embolisi olarak taşınırlar. Lenfanjiogenezis tümörün lenf nodu metastazı yapıp yapmayacağı konusunda önemli bir göstergedir. Özellikle de tümör içi lenfanjiogenezisin tümörün prognozu ve metastaz yapmasında önemli olduğu bildirilmiştir (43,44).

Son yıllarda yeni vasküler belirleyicilerin bulunması ile birlikte tümör vaskülarizasyonu lenfatik gelişim ile ilgili veriler sağlanmıştır.

Çeşitli malignitelerde CD34 ve D2-40 birlikte kullanılarak, tümör içi lenfatik ve damar sayıları, tümör dışı lenfatik ve damar sayılarının metastaz ile ilişkisi gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda tümör dışı lenfatik sayısı tümör içi lenfatik sayısından fazla bulundu. Lenf nodu metastazı olan ve olmayan her iki grupta da tümör çevresindeki lenfatik damar sayıları intratümöral alandaki lenfatik damarlardan fazladır.

Kolon kanserinde yapılan bir çalışmada, D2-40 ile HE boyamaya oranla lenfatik invazyon saptanmasında %19 oranında artış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca kolorektal karsinomlarda intratümöral lenfanjiogenezisin, lenfatik invazyon, lenf nodu ve karaciğer metastazı ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (45).

Kolon adenokarsinomlarında yapılan bir başka çalışmada, intratümöral alanda lenfatik kanallarda azalma görülmüştür. Lenfatik kanal yoğunluğu ile klinikopatolojik parametreler arasında korelasyon izlenmemiştir (46).

Bizim çalışmamızda, tümör içerisindeki çoğu lenfatik kanal kapalı olup yarık benzeri görünümde iken peritümöral alandaki lenfatik kanallar daha büyük ve lümenlerinin açık olduğu izlendi. Tümör içindeki kanalların kapalı olmasında tümör dezmoplazisinin rolü olabilir.

Erken evre serviks skuamöz hücreli karsinomlarında tümör içerisinde normal servikal dokuya göre lenfatik sayılarının fazla olduğu, D2-40 ile reaksiyon veren tümör içindeki lenfatiklerin lümenlerinin kapalı tümör çevresindeki lenfatiklerinin lümenlerinin açık olduğu görüldü. Ayrıca tümör çevresindeki lenfatiklerin sayılarının artışı ile lenfatik invazyonun korele olduğu saptandı (47).

Gastrik karsinomlarda D2-40 ve CD31 kullanılarak yapılan bir çalışmada LDY ve MDY oranları değerlendirilmiştir. Peritümöral LDY'nin intratümöral LDY'ye göre yüksek olduğu ve lenf nodu metastazı ile direk ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca peritümöral alandaki lenfatiklerin açık ve geniş lümenli olduğu görülmüştür (48).

Prostat adenokarsinomlarında D2-40 belirteci kullanılarak yapılan bir çalışmada tümör dışı alanların tümör içi alana göre daha fazla lenfatik içerdiği gösterilmiştir. Tümör çevresindeki lenfatik invazyonun lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu ve

Gleason derece yükseldikçe peritümöral lenfatik sayısının da yükseldiği saptanmıştır (49).

Bizim çalışmamızda metastazı olan ve olmayan her iki grupta da tümör dışı ortalama damar sayısı tümör içi damar sayısından istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazladır. İntratümöral ve peritümöral ortalama damar sayıları metastaz olan grupta metastaz olmayan gruba göre düşük olarak bulunmuştur. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlıdır. Veriler literatür ile korele değildir.

Larinkste D2-40 ile yapılan 40 vakalık bir çalışmada, peritümöral D2-40 pozitif lenfatik damarların normal mukozadan daha fazla sayıda oluşu, ileri evre olgularda da yüksek olarak izlendi. Metastaz olan grupta olmayana göre peritümöral lenfatik sayısı daha fazlaydı. Peritümöral lenfatik dansitesinin tümör progresyonu ve invazyonunda önemli olduğu görüldü (50).

Lenfatik damarları göstermede kullanılan diğer iki belirteç LYVE-1 ve Podoplanindir. Podoplanin kullanılarak saptanan küçük hücre dışı akciğer karsinomlarında tespit edilen lenfatikleri LYVE-1 kullanarak saptamak başarısız olmuştur (51). LYVE-1 işlevsel lenfatikler tarafından eksprese edilmeyip işlevsel olmayan tümör içi ve tümör dışı bölgedeki lenfatik damarlarda görülmüştür (52).

Elli laringeal SHK' de yapılan bir başka çalışmada LYVE-1 ile lenfatik damar yoğunluğu ve VEGF-C mRNA'nın seviyesi değerlendirilmiştir. LDY değeri normal laringeal dokuya göre SHK' larda daha yüksek bulunmuştur. İntratümöral LDY ve tümör VEGF-c mRNA arasında korelasyon mevcuttur. LDY ve lenf nodu metastazı arasında ilişki varken; cinsiyet, tümör evresi ve diferansiyasyon arasında önemli bir ilişki bulunamamıştır (53).

Endometrium adenokarsinomlarında CD31 ve D2-40 ile yapılan bir çalışmada lenfatik invazyonun kan damarı invazyonundan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak kan damarı invazyonun, prognozda daha önemli olduğu bildirilmiştir (54).

Larinksin lenfatik sistemi bölgelere göre farklılık göstermektedir. Supraglottik bölge en fazla lenfatik sisteme sahip olup, lenf nodu metastazı en sık bu bölge tümörlerinde görülmektedir (23).

Çalışmamızda lenf nodu metastazı olan 35 vakanın %47.1'si supraglottik, %33.3'ü glottik ve %57.1'i subglottik yerleşimliydi. İntratümöral ve peritümöral lenfatik sayısı en yüksek subglottik, en düşük glottik bölge tümörlerinde izlendi. İntratümöral damar sayıları supraglottik bölgede yüksek saptandı. Peritümöral damar sayısı en yüksek subglottik en düşük glottik bölgede görüldü. Glottik bölge lenfatik sistemin çok az olduğu bölge olmasına rağmen çalışmamızda glottik bölgede yerleşen tümörlerde metastaz oranı yüksek bulundu. Bu tümörlerin ileri evre tümörler olduğunu düşünmekteyiz. Supraglottik bölge yerleşimli tümörlerde metastaz oranı yüksek olup literatur ile uyumludur.

Larinks karsinomlarında yerleşim yerleri ve lenf nodu metastazları arasında yapılan bir çalışmada supraglottik bölge yerleşimli tümörlerde glottik bölge yerleşimli tümörlere göre lenf nodu metastaz oranı daha yüksek olarak bulunmuştur (55).

Larinksin supraglottik skuamöz hücreli karsinomlarında yapılmış 108 vakalık bir çalışmada damar yoğunluğu ve lenf nodu metastazı arasında korelasyon izlenmemiştir. Klinikopatolojik parametreler veya yaşam oranı ile mikrodamar yoğunluğu arasında ilişki saptanmamıştır (56).

Çalışmamızda, tümör derecesi ve tümör içi damar yapıları karşılaştırıldığında iyi diferansiye tümörlerde , orta derece ve kötü diferansiye tümörlere göre daha yüksek oranda damar izlendi. Tümör derecesi ve tümör dışı damar yoğunluğu karşılaştırıldığında kötü diferansiye tümörler ile orta derece diferansiye tümörler arasındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Diferansiyasyon kötüleştikçe peritümöral damar sayısı artmaktadır.

Kyzas ve arakadaşları baş boyun bölgesindeki SHK' de CD105 ile yaptıkları bir çalışmada yüksek mikrodamar yoğunluğunun kötü dereceli tümör ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Laringeal SHK'lı hastalarda mortaliteyle bağımlı olduğu izlenmiştir (57).

Çalışmamızda tümör derecesi ile peritümöral ve intratümöral lenfatik sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi.

Tümör derecesi ile tümör içi ve tümör dışı lenfatik sayılarının karşılaştırıldığı bir çalışmada tümör derecesi ile lenfatik sayıları arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (58).

D2-40 lenfatik endotelial bir belirleyici olmasına rağmen, çalışmamızda tümöral dokuda ve kıkırdak dokusunda D2-40 ile değişen oranlarda boyanma izlenmiştir. Tümör boyanması ile diferansiyasyon karşılaştırıldığında iyi diferansiye olguların %51.5'u, orta derece diferansiye tümörlerin %27.3'ü, kötü diferansiye tümörlerin %21.2'si nde boyanma izlendi. İstatiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi, ancak iyi diferansiye tümörlerde daha yüksek oranda pozitif boyanma saptandı.

Literatürde kondroid neoplazmlar ve kordoma ayırımında D2-40 kullanılarak yapılmış çalışma mevcuttur. Enkondromların %100'ünde, grade 1 ve 2 kondrosarkomların %94'ünde pozitif boyanma izlenirken kordomalarda boyanma görülmemiştir (59).

D2-40, malign mezotelyoma ve adenokarsinom ayırımında da faydalıdır. D2-40 mezotelyomalarda pozitif reaksiyon vermektedir. Ancak benign mezotelyal proliferasyon ve malign mezotelyoma ayırımında yarar sağlamamaktadır (41). Ayrıca epiteloïd mezotelyomaların tanısında en özgöl ve duyarlı belirleyicilerden biridir (60-62).

Vasküler tümör tiplerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, Kaposi sarkomu, kaposiform hemanjioendotelom ve hobnail hemanjiyomada D2-40 boyanmasının yüksek olduğu görölmüştür (63).

Shotaro Iwakiri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada küçük hücre dışı akciğer karsinomlarında ve lenfatik endotel hücrelerinde D2-40 ile pozitif boyanma görölmüştür. Skuamöz hücreli karsinomlarda adenokarsinoma göre daha yüksek oranda boyanma izlenmiştir. Ayrıca artmış lenfatik damar yoğunluğunun kötü prognozla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (64).

Bizim çalışmamızda vakaların yeterli klinik verileri temin edilemediğinden D2-40 ve CD34 ile saptanan tümör içi ve tümör dışı LDY ve MDY değerlerinin prognozla ilişkisi çalışılamamıştır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada larinks karsinomlarında D2-40 ile tümör içi ve tümör dışı lenfatikler değerlendirilmiş olup tümör dışında daha çok lenfatik bulunduğu izlenmiştir. Ancak metastaz ile ilişkisi saptanamamıştır. Metastaz yapmayan grupta metastaz yapan gruba göre tümör içi ve tümör dışı damar sayısı daha fazla izlendi. Peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik ve damar sayıları derece, lenf nodu metastazı, yerleşim yeri ve tümör boyanmasının durumuna göre karşılaştırıldı. İyi diferansiye tümörlerde tümör içinde damar sayısı fazla iken kötü diferansiye olgularda peritümöral alanda damar sayısı fazla görüldü.

Çalışmamızda LDY ve MDY' nin larinks kanserlerinde diferansiyasyon ve lenf nodu metastaz ile ilişkisi saptanamadı. Tümöral dokuda ve kıkırdak dokuda farklı oranlarda D2-40 belirleyicisi ile boyanma izlendi. Ancak tümör boyanması ile derece ve metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi.

Lenf nodu metastazlarının erken değerlendirilmesi, tedavinin belirlenmesinde ve prognozda önemlidir. D2-40 ve CD34'ün birlikte kullanımı ile lenfatik kanalların, metastazın erken belirlenmesinde daha önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

7.KAYNAKLAR

1-Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology (9 ed). China, Elsevier, 2004:341-347.

2-Pietruszewska W, Kobos J, Grycznski M. Microvessel density and endothelial area in assessment of angiogenesis in patients with laryngeal cancer Otolaryngol Pol. 2003;57:5-15.

3-Heymach JV. Angiogenesis and antiangiogenic approaches to sarcomas. Curr Opin Oncol 2001;13:261-269.

4-Li J, Tang L, Ren Z, Pan Z, Distribution and prognostic significance of microvessel density in supraglottic laryngeal squamous cell carcinomas. Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi.2004 Sep;18:513-5.

5-Sion-Vardy N, Fliss DM, Prinsloo I, Shoham-Vardi I, Benharroch D. Neoangiogenesis in squamous cell carcinoma of the larynx-biological and prognostic associations. Pathol Res Pract. 2001;197:1-5.

6-Pietruszewska W, Niewiadomska H, Kobos J, Jozefowic-Korczynska M, Gryczynski M. Significance of angiogenesis in laryngeal cancer. Otolaryngol Pol. 2000;54 Suppl 31:167-70(article in polish abstract).

- 7-** Li Q, Zhang B, Peng P, Relevance of Endoglin(CD105) VEGF and p53 with invasion metastasis and prognosis of laryngeal carcinoma. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* . 2007; 21:1114-1117(article in Chinese abstract).
- 8-** Ge Yan, Xiao-Yan Zhou, San-Jun Cai, et all. Lymphangiogenic and angiogenic microvessel density in human primary sporadic colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008 January 7;14(1):101-107.
- 9-** Yan Gao, Wei-Xia Zhong, Dian-Bin Mu, et all. Distributions of Angiogenesis and Lymphangiogenesis in Gastrointestinal Intramucosal Tumors. *Annal of Surgical Oncology*. Society of Surgical Oncology 2008.10.1245/s10434-007-9752-6.
- 10-** William WL Choi, Melinda M Lewis, Diane Lawson, et all. Angiogenic and lymphangiogenic mivrovessel density in breast carcinoma:correlation with clinicopathologic parameters and VEGF-family gene expression. *Modern Pathology* 2005;18:143-152.
- 11-** Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis – correlation in invasive breast cancer. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
- 12-** 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.
- 13-** 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).
- 14-** 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.
- 15 -** Ohno F, Nakanishi H, Abe A, Seki Y, Kinoshita A, Hasegavva 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..

- 16-**Masahiro Ito, Takuya Mariya, Takanori Ishida, et al. Sinificance of pathological evaluation for lymphatic vessel invasion in invasive breast cancer. *Breast Cancer* Vol. 14 No. 2 April 2007.
- 17-**Reda S Saad, Lana Kordunsky, Yulin L Liu, et al. Lymphatic microvessel density as prognostic marker in colorectal cancer. *Modern Pathology* 2006;19:1317-1323.
- 18-**Prognostic significance of intratumoral and peritumoral lymphatic density and blood vessel density in invasive breast carcinoma *Am J Clin Pathol.* 2008 Apr;129(4):578-86.
- 19-**Gnepp DR. *Diagnostic Surgical Pathology of the Head and Neck.* 1st ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:1-78.
- 20-**Pressman JJ, Simon MB, Monell C. Anatomical studies related to the dissemination of cancer of the larynx. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 1960 Sep-Oct;64:628-38.
- 21-** Bocca E, Pignataro O, Mosciaro O. Supraglottic surgery of the larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1968 Dec;77(6):1005-26.
- 22-**Omur M, Dogan O, Kaleli C. Larinks Kanseri ve Boyun. *Istanbul Haseki Hastanesi.*
- 23-**Sternberg SS. *Histology for Pathologists.*(2 ed). Chine, Lippincott – Raven, 1997:391-403.
- 24-**Mills SE, Carter D et al. Sternberg's *Diagnostic Surgical Pathology.* In: Kirchner JA, Carter D. *Pathology of the Larynx.* 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004:1007-31.
- 25-**Lalwani AK. *Current Diagnosis&Treatment in Otolaryngology - Head&Neck Surgery.* 1st ed. McGraw-Hill, 2004.
- 26-**Ferlito A. The World Health Organization's revised classification of tumours of the larynx, hypopharynx, and trachea. *Ann Otol Rhinol Laryngol.*1993 Sep;102(9):666- 9.

- 27-**Hobbs CG, Birchall MA. Human papillomavirus infection in the etiology of laryngeal carcinoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004 Apr;12(2):88-92.
- 28-**Goldenberg D, Benoit NE, Begum S, et al. Epstein-Barr virus in head and neck cancer assessed by quantitative polymerase chain reaction. *Laryngoscope.* 2004 Jun;114(6):1027-31.
- 29-**Rabbett WF. Juvenile laryngeal papillomatosis. The relation of irradiation to malignant degeneration in this disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1965 Dec;74(4):1149-63.
- 30-**Berkower AS, Biller HF. Head and neck cancer associated with Bloom's syndrome. *Laryngoscope.* 1988 Jul;98(7):746-8.
- 31-**Potzsch C, Voigtlander T, Lubbert M. p53 Germline mutation in a patient with Li- Fraumeni Syndrome and three metachronous malignancies. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2002 Aug;128(8):456-60. Epub 2002 Aug 10.
- 32-**Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Pathologic Basis of Disease* (7 ed). China, Elsevier, 2005:786-787.
- 33-**Barnes L, Evson JW, Reichart P, Sidransky D. *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours* Lyon, IARC, 2005:108-139.
- 34-**Lee KJ. *Essential Otolaryngology: Head and Neck Surgery.* 8th ed. McGraw-Hill, 2002.
- 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 cell carcinomas of the supraglottic larynx and its lymph node metastases. *Cancer.* 2007;109:1791-1798.
- 37-**Gomaa AHA, Yaar M, Bhawan J. Cutaneous immunoreactivity of D2-40 antibody beyond the lymphatics. *Am J Dermatopathol.* 2007;29:18-21.

- 38-**Chu AY, Litzky LA, Pasha TL, Acs G, Zhang PJ. Utility of D2-40, a novel mesothelial marker, in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Mod Pathol* 2005;18:105-10.
- 39-** Adhemar Longatto Filho, Tiago Gil Oliveira, Celine Pinheiro et al. How useful is the assessment of lymphatic vascular density in oral carcinoma prognosis? *World Journal of Surgical Oncology* 2007;5:140.
- 40-**Angel Arnaout-Alkarain, Harriette J Kahn, Steven A Narod, Ping A Sun and Alexander N Marks. Significance of lymph vessel invasion identified by the endothelial lymphatic marker D2-40 in node negative breast cancer. *Modern Pathology* 2007,183-191.
- 41-**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.
- 42-**Joensuu H. Gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Annals of Oncology*, 2006;17:280-286.
- 43-**Xuan M, Fang YR, Wato M, Hata S, Tanaka A. Immunohistochemical colocalization of lymphatics and blood vessels in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med*. 2005;34: 334-339.
- 44-** Kyzas PA, Stefanou D, Agnantis NJ. COX-2 expression correlates with VEGF-C and lymph node metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Mod Pathol*. 2005;18:153-160.
- 45-**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.
- 46-**Naik VR, Jaafar H, Seng CE. Lymphatic channel density in colorectal adenocarcinoma. *Indian Journal of Pathology and Microbiology* 2010;53(1):12-14.

- 47-**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 cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin Cancer Res.* 2005;11(23):8364-8371
- 48-**Coşkun U, Akyürek N, Dursun A, Yamaç D. Peritumoral lymphatic microvessel density associated with tumor progression and poor prognosis in gastric carcinoma. *Journal of Surgical Research.* 2009; March:1-6.
- 49-**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.
- 50-**Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2008 May;22(9):385-8(article in Chinese abstract).
- 51-**Renyi-Vamos F, Tovari J, Fillinger J, et al. Lymphangiogenesis correlates with lymph node metastasis, prognosis and angiogenic phenotyp in human non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:7344-7353.
- 52-**Padera TP, Kadambi A, Di Thomaso E, et al. Lymphatic metastasis in the absence of functional intratumoral lymphatics. *Science* 2002;296:1883-1886.
- 53-**Huangfu H, Kong W, Gong S, Wang B, Zhang C. Study on relationship between intratumoral lymphangiogenesis of laryngeal squamous cell carcinoma and lymphatic metastasis (abstract Chine).
- 54-**Mannelqvist M, Stefansson I, Salvesen HB, Akslen LA. Importance of tumour cell invasion in blood and lymphatic vasculature among patients with endometrial carcinoma. *Histopathology.* 2009;54:174-183.
- 55-**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.
- 56-**Rodrigo JP, Cabanillas R, Chiara MD, Garcia Pedrero J, Astudillo a, Suarez Nieto C. Prognostic significance of angiogenesis in surgically treated supraglottic

squamous cell carcinomas of the larynx. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2009 Jul-Aug;60(4):272-7(abstract)

57-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.

58-Franchi A, Gallo O, Massi D, Baroni G, Santucci M. Tumor Lymphangiogenesis in Head and Neck Squamous Celi Carcinoma. *Cancer.* 2004;101:973-978.

59- Jason T. Huse . Theresa L. Pasha. Paul J. Zhang. D2-40 functions as an effective chonroid marker distinguishing true chondroid tumors from chordoma. *Acta Neuropathol* (2007);113:87-94.

60-Chu AY, Litzky LA, Pasha TL, Acs G, Zhang PJ. Utility of D2-40, a novel mesothelial marker, in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Mod Pathol* 2005; 18:105-110.

61-Ordenez NG. Immunohistochemical Diagnosis of Epithelioid Mesothelioma An Update. *Arch Pathol Lab Med.* 2005; 129: 1429-

62-Ordenez NG. D2-40 and podoplanin are highly specific and sensitive immunohistochemical markers of epithelioid malignant mesothelioma. *Hum Pathol* 2005; 36: 372- 80.

63-Hansen T, Katenkamp K, Bittinger F, Kirkpatrick CJ, Katenkamp D. D2-40 labelingin lymphangiomyoma/lymphangiomyomatosis of the soft tissue: further evidence of lymphangiogenic tumor histogenesis. *Virchows Arch.* 2007;450:449-453.

64-Iwakiri S, Nagai S, Katakura H, Takenaka K, Date H, Wada H, Tanaka F. D2-40 Positive Lymphatic Vessel Density Is a Poor Prognostic Factor in Squamous Cell Carcinoma Of the Lung. *Ann Surg Oncol* 2009;16:1678-1685.

.

T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Ganime ÇOBAN'a ait "LARİNKS SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA LENFATİK DAMAR YOĞUNLUĞU VE MİKRODAMAR YOĞUNLUĞUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ" adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Patoloji Ana Bilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

İmza:

Başkan Prof. Dr. FİGEN ÖZTÜRK İmza

Üye Prof. Dr. TURHAN OKTEN İmza

Üye Prof. Dr. OLGUN KONTAŞ İmza

Üye Prof. Dr. SÜLEYMAN BALKANCI İmza

Üye Doç. Dr. KEMAL DENİZ İmza