



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

İLERİ EVRE LARİNKS KANSERLİ HASTALARDA HPV 16, HPV 18, P16 EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ VE PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Selman DOĞANTEMUR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Süleyman ÖZDEMİR

ADANA-2017



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

İLERİ EVRE LARİNKS KANSERLİ HASTALARDA HPV 16, HPV 18, P16 EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ VE PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Selman DOĞANTEMUR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Süleyman ÖZDEMİR

Bu çalışma Ç.Ü. Araştırma Fonu tarafından TTU2016 – 6144 nolu araştırma olarak desteklenmiştir.

ADANA-2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca eğitim ve öğrenimime verdikleri değerli katkılarından dolayı değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Fikret Çetik'e, Sayın Prof. Dr. Mete Kıroğlu'na, Sayın Prof. Dr. Ülkü Tuncer'e, Sayın Doç. Dr. Özgür Tarkan'a, Sayın Doç. Dr. Özgür Sürmelioglu'na, Sayın Yrd. Doç. Dr. Muhammed Dağkiran'a şükranlarımı ve saygılarımı sunarım. Asistanlık döneminde olduğu gibi özellikle tezimin hazırlık aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, katkılarını esirgemeyen tez hocam Sayın Doç. Dr. Süleyman Özdemir'e saygılarımı ve teşekkürlerimi sunuyorum. Tezimin gerçekleşmesinde her türlü bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Aysun Uğuz'a, Sayın Yrd. Doç. Emine Kılıç Bağır'a, Sayın Yrd. Doç. İlker Ünal'a, biyolog Demet Aras'a, teknisyen Kezban Bostaner'e ve Sinan Özbulat'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Asistanlık dönemim boyunca dostluklarını ve desteklerini daima yanımda hissettiğim asistan arkadaşlarıma, Kulak Burun Boğaz Bölümünde görevli tüm hemşire, teknisyen ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Beni bu günlere gelmem konusunda her türlü özveri ve sabırla yetiştiren, maddi ve manevi imkanlarını sunan saygıdeğer babam Adem Doğantermur'a, sevgili kardeşlerim Sezai Doğantermur ve Sena Doğantermur'a, hayatıma sonsuz mutluluklar katan ve her zaman yanımda olan eşim Necmiye Doğantermur'a ve biricik kızımız Aynur Ada'ya, tıp fakültesi eğitimimin başında kaybettiğim ve her zaman büyük özlemle andığım annem Aynur Doğantermur'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Selman DOĞANTEMUR

17.11.2017

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	iv
ŞEKİL LİSTESİ	v
KISALTMA LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Larinks Anatomisi, Embriyolojisi, Histolojisi, Fizyolojisi	2
2.1.1. Larinks Anatomisi	2
2.1.1.1. Larinks Kıkırdakları	3
2.1.1.2. Larinks Eklemleri	3
2.1.1.3. Larinksin Bağları	4
2.1.1.4. Larinksin Kasları	4
2.1.1.5. Larinksin İnnervasyonu	4
2.1.1.6. Larinksin Damarları	5
2.1.1.7. Kavitas Laringis	6
2.1.2. Larinks Embriyolojisi	6
2.1.3. Larinks Histolojisi	7
2.1.4. Larinks Fizyolojisi	8
2.2. Larinksin Tümörleri ve Tümör Benzeri Lezyonları	9
2.2.1. Papilloma ve Papillomatozis	10
2.2.2. İntraepitelyal Proliferatif Lezyonlar	10
2.2.3. İnvaziv Karsinom	11
2.2.3.1. Genel Özellikler	12
2.2.3.2. Klasik tip skuamöz hücreli karsinom	12
2.2.3.3. Verrüköz karsinom	13
2.2.3.4. Larinksin Diğer Tümörleri	13
2.2.3.5. Larinksin Az Görülen Tümörleri	15

2.2.4. Larinks tümörlerinin lokalizasyonlarına göre tipi, yayılımı ve tedavisi	15
2.2.5. Larinks Tümörlerinde Evreleme	16
2.3. Human Papillomavirüs.....	19
2.3.1. Human Papillomavirüsün Karsinogenezdeki Rolü	19
2.4. Tümör Supresör Genler.....	23
2.4.1. p16:.....	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. CINTec® p16 Histology Kit.....	26
3.2. PCR yöntemi ile Poliklonal HPV, HPV Tip 16 ve 18 Araştırılması	27
3.3. İstatistiksel Analiz.....	35
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	60

TABLO LİSTESİ

Tablo No:	Sayfa No:
Tablo 1. Yıllara göre larinks karsinomu vaka sayıları.....	36
Tablo 2. Ölüm nedenleri	37
Tablo 3. HPV ve p16 ilişkisi	37
Tablo 4. p16- HPV ilişkisi	38
Tablo 5. p16 – tümör lokalizasyonu ilişkisi	38
Tablo 6. p16’nın klinik parametrelerle ilişkisi	39
Tablo 7. HPV’nin klinik parametrelerle ilişkisi	40
Tablo 8. HPV ve p16 pozitifliğinin klinik parametrelerle ilişkisi	41
Tablo 9. HPV pozitifliği – 5 yıllık YS arasındaki ilişki	42
Tablo 10. p16 pozitifliği-5yıllık YS arasındaki ilişki	43
Tablo 11. p16 - alkol kullanım ilişkisi	43
Tablo 12. 5 yıllık YS’nin klinik parametrelerle ilişkisi.....	44

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No:	Sayfa No:
Şekil 1.	Larinksin genel anatomik görünüşü.....2
Şekil 2.	Larinks üst kısmının çok katlı yassı epitel ile döşeli görünümü. Hematoksilen Eosin (HE) x 408
Şekil 3.	Skuamöz hücreli karsinom (HE x 100).....13
Şekil 4.	Glottik karsinom. Larengoskopik görünüm16
Şekil 5.	Human Papilloma Virüsü.....20
Şekil 6.	HPV'nin yaşam döngüsü22
Şekil 7.	HPV'nin etki mekanizması23
Şekil 8.	Retinoblastom proteini tarafından yapılan p16 düzenlenmesinde önerilen model. ^{54,55}25
Şekil 9.	İmmünohistokimyasal yöntem ile uygulanan p16 negatif saptanan olgulara ait örnekler. (İHK×100, İHK×40)27
Şekil 10.	İmmünohistokimyasal yöntem ile uygulanan p16 pozitif saptanan olgulara ait örnekler. (İHK×40, İHK×100)27
Şekil 11.	Skuamöz hücreli karsinom olgularına ait H&E kesitlerde, stromaya invazyon yapan iyi diferansiye tümör hücrelerinde yer yer konsantrik keratin lamellöz yapılar dikkat çekmektedir (ok ile işaretli). (H&E×40, H&E×100, H&E×100)28
Şekil 12.	Beta Globulin'in PAGE (polyakrilamide jel) görüntü(29:1 oranında PAGE göüntüsü):.....30
Şekil 13.	Poliklonal HPV'nin PAGE (polyakrilamide jel) görüntü(29:1 oranında PAGE göüntüsü):32
Şekil 14.	HPV 16'nın PAGE (polyakrilamide jel) görüntüsü 1. kuyucuk; marker (100 bp), 2. kuyucuk; HPV-16 pozitif kontrol (152 bp), 3. kuyucuk HPV-16 negatif kontrol 4, 5, 6, 7, 8, 9ve 10 kuyucuk HPV- 16 pozitif olgular33
Şekil 15.	HPV 18'in PAGE (polyakrilamide jel) görüntüsü 1. kuyucuk; marker(100 bp), 2. kuyucuk; HPV- 18 pozitif (216 bp), 3. kuyucuk; HPV- 18 negatif kontrol 4, 5, 6, 7 ve8.kuyucuk HPV- 18 pozitif olgu35

KISALTMA LİSTESİ

HPV	: Human Papillomavirüs
YS	: Yaşam Süresi
LN	: Lenf Nodu
HE	: Hematoksilen Eozin
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
CIS	: Karsinoma in situ
T	: Primer tümör
N	: Bölgesel lenf nodları
M	: Uzak metastaz
CIS	: Karsinoma in situ
SBK	: Siklin bağımlı kinaz
Rb	: Retinablastom
IHK	: İmmünohistokimya
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
AJCC	: American Joint Committee On Cancer
RT	: Radyoterapi
KRT	: Kemoradyoterapi
TL	: Total Larenjektomi
LSHK	: Larinksin Skuamöz Hücreli Karsinomu
OSHK	: Orofarengeal Skuamöz Hücreli Karsinom
NOSHK	: Orofarenks Dışı Skuamöz Hücreli Karsinom
KİS	: Karsinoma in situ
LİN	: Laringeal İntraepitelyal Neoplazi

ÖZET

İleri Evre Larinks Kanserli Hastalarda HPV 16, HPV 18, p16 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi ve Prognostik Önemi

Amaç: Larinks karsinomlarının gelişim mekanizması oldukça komplekstir ve çeşitli faktörler tarafından kontrol edilir. Sigara ve alkol kullanımı etyolojideki saptanmış risk faktörleridir. Son yıllarda yapılan çalışmalar HPV enfeksiyonun da larinks karsinomlarında önemli bir rol aldığını göstermektedir. p16 tümör baskılayıcı bir gendir. Mutasyona uğradığında tümör gelişimine katkıda bulunmaktadır. Çalışmamızda ileri evre larinks karsinomunda HPV ve/veya p16 pozitifliğinin, yaş, cinsiyet, sigara alışkanlığı, tümör lokalizasyonu, lenf nodu metastazı, nüks varlığı ve yaşam süresi gibi değişkenlerle olan ilişkisini saptamayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (ÇÜTF) Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalında Ocak 2006 - Aralık 2011 tarihleri arasında tanı alan ve daha öncesinde tedavi almamış ileri evre larinks karsinomlu 90 hasta dahil edildi. 10 adet normal larinks mukozası kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Çalışmaya dahil edilen hastaların dosyaları retrospektif olarak değerlendirildi. Doku örnekleri % 10'luk formaldehitte tespit edilerek, parafine gömüldü ve histolojik kesitler hazırlandı. Hematoksilen eozin boyası uygulanarak ışık mikroskopik inceleme yapıldı. Daha sonra, immünohistokimyasal yöntem ile p16, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile poliklonal HPV varlığı araştırıldı. HPV pozitif olgularda PCR ile HPV 16, 18 tiplerinin varlığı değerlendirildi.

Bulgular: 90 olgunun 11'inde (% 12,2) poliklonal HPV pozitifliği saptandı. Bu 11 olgudan 6'sında HPV 16, 4'ünde HPV 18, 1'inde HPV 16 ve 18 pozitif idi. Olguların 18'inde (%20) p16 pozitif idi. Olguların 6'sında (%6,6) hem HPV hem de p16 pozitifliği mevcuttu. p16'nın tek başına veya HPV ve p16'nın birlikte pozitif olduğu olgularda alkol kullanımı daha az ve tümörün supraglottik alanda yerleşim oranı daha yüksek olarak saptanmıştır. Bu oranlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışmamızda HPV pozitifliği ile ortalama yaş, diferansiyasyon, sigara ve alkol kullanımı, tümörün evresi, LN metastazı, tümör lokalizasyonu, nüks, ölüm nedeni ve tedavi yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Hastalarımızın ortalama takip süresi 6.7 yıldır.

Sonuç: Larinks karsinomu ile HPV ilişkisi ve bunun hastaların prognozu üzerine etkisi şu ana kadar ki yapılan çalışmalara rağmen netlik kazanmamıştır. Çalışmamızda ileri evre larinks karsinomlu hastaların %12,2'sinde HPV, %20'sinde p16 pozitifliği saptandı. HPV ve p16 pozitif olgularda 5 yıl üzeri yaşam süresi rakamsal olarak daha fazla olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. Bu konu hakkında, neoplastik proliferasyonun daha iyi ortaya konduğu, elde edilen sonuçların doğruluğunun farklı tekniklerle desteklendiği, daha geniş popülasyonlu klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Elde edilecek veriler, gelecekte larinks kanserlerinden korunmada HPV aşılmasının gerekliliği konusunu karşımıza çıkarabilir.

Anahtar Kelimeler: Larinks, skuamöz hücreli karsinom, HPV, p16.

ABSTRACT

Assessment of HPV 16, HPV 18, p16 Expression in Advanced Stage Laryngeal Cancer Patients and Prognostic Significance

Objective: The developmental mechanisms of laryngeal carcinomas are quite complex and controlled by various factors. Smoking and alcohol use are the identified risk factors in the etiology. Recent studies indicate that HPV infection also plays an important role in larynx carcinomas. p16 is a tumor suppressor gene. When the mutation is on, it contributes to tumor development. We aimed to determine the association of HPV and/or p16 positivity with variables such as age, sex, smoking habits, tumor localization, lymph node metastasis, recurrence and survival in advanced stage laryngeal carcinoma in our study.

Materials and Methods: This study included 90 patients with advanced laryngeal carcinoma who were diagnosed between January 2006 and December 2011 at the Department of Otorhinolaryngology of Çukurova University Faculty of Medicine (ÇÜTF). The files of the patients included in the study were evaluated retrospectively. Ten normal larynx mucosa was used as a control group. Tissue specimens were fixed in 10% formaldehyde, embedded in paraffin and histological sections were prepared. Light microscopic examination was performed by applying hematoxylin eosin stain. The presence of HPV was investigated polyclonally by PCR, and p16 with immunohistochemical method. In HPV positive cases, the presence of HPV types 16, 18 were evaluated by PCR.

Findings: Polyclonal HPV positivity was detected in 11 (12.2%) of 90 cases. Out of these 11 cases, HPV 16 was positive in 6, HPV 18 in 4, and both HPV 16 and 18 were positive in 1. In 18 (20%) of the cases, p16 was positive. Six of the cases (6.6%) had both HPV and p16 positivity. In cases where p16 alone or HPV and p16 were co-positive, alcohol use was less and the tumor was found more likely to be localized in the supraglottic area. These ratios were statistically significant. Although life expectancy over 5 years were numerically higher in HPV and p16 positive cases, this was not found to be statistically significant. There was no statistically significant relationship between HPV positivity and mean age, differentiation, smoking and alcohol use, tumor progression, lymph node metastasis, localization, recurrence, cause of mortality and treatment methods in our study. The mean follow-up period of our patients were 6.7 years.

Conclusion: The relationship between laryngeal carcinoma and HPV, and its effect on the prognosis of the patients has not been clarified despite the work done so far. In our study, 12,2% HPV and 20% p16 positivity were detected in patients with advanced stage laryngeal carcinoma. Although life expectancy over 5 years were numerically higher in HPV and p16 positive cases, this was not found to be statistically significant. There is a need for more populated clinical trials, where neoplastic proliferation is better demonstrated and the accuracy of the results obtained is supported by different techniques. The resulting data may present the need for HPV vaccination in the future to protect against laryngeal cancer.

Keywords: Larynx, squamous cell carcinoma, HPV, p16.

1. GİRİŞ

Larinks karsinomları vücuttaki tüm malign tümörlerin %3'ten fazlasını oluşturmakta olup dünya genelinde en yaygın 6. kanser olarak tespit edilmiştir¹. Larinks kanserlerinin % 95'ten fazlası skuamoz hücreli karsinomlardır¹. Bu kanserlerin gelişmesinde en önemli risk faktörleri sigara ve alkol alışkanlığıdır². Larinksin skuamoz hücreli karsinomlarının (LSHK) etyolojisinde human papillomavirüs'ün (HPV) de rol alabileceği son yıllarda yapılan çalışmalarda belirtilmektedir^{3,4,5,6,7,8}. Özellikle serviks kanserlerinin etyopatogenezinde de rol oynayan yüksek riskli HPV tip 16 ve 18'in larinks kanserlerin de araştırılması farklı popülasyonlarda farklı sonuçlar vermektedir.

P16 hücre siklusunun kontrol mekanizmasında önemli bir tümör supressör gendir. Normalde displazi içermeyen hücrelerde p16 proteini oldukça düşük seviyededir ve immunhistokimyasal olarak tespit edilemez⁹. Tüm yüksek riskli HPV tiplerindeki E7 onkogeninin transforme edici aktivitesi nedeniyle, p16, displastik servikal hücrelerde güçlü over ekspresyon gösterir ve immunhistokimyasal olarak kolayca gösterilebilir¹⁰.

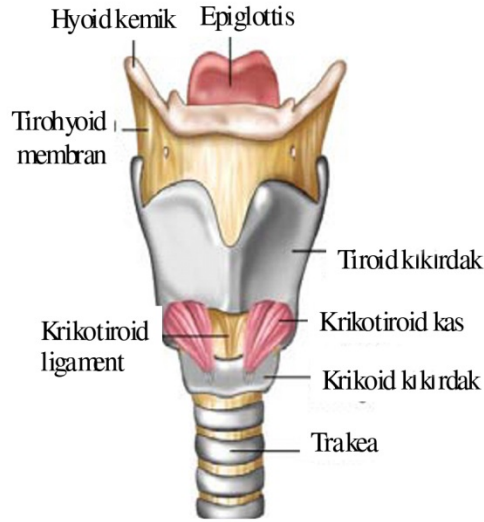
Bu çalışmaya, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (ÇÜTF) Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalında Ocak 2006 - Aralık 2011 tarihleri arasında tanı alan ve daha öncesinde tedavi almamış ileri evre larinks skuamoz hücreli karsinomlu 90 hasta dahil edildi. Çalışmamızda ileri evre larinks karsinomunda HPV ve/veya p16 pozitifliğinin, yaş, cinsiyet, sigara alışkanlığı, tümör lokalizasyonu, lenf nodu metastazının, nüks varlığı ve yaşam süresi gibi değişkenlerle olan ilişkisini saptamayı amaçladık. Ayrıca tüm bu sonuçların 5 yıllık yaşam süresi ile ilişkisi de araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Larinks Anatomisi, Embriyolojisi, Histolojisi, Fizyolojisi

2.1.1. Larinks Anatomisi

Larinks; kıkırdak, kas ve fibroelastik bağlardan oluşan, dil kökü ile trakea arasında havanın trakeaya giriş ve çıkışını kontrol eden, üst solunum yollarının ses oluşturabilen ve yutma sırasında bir sfinkter gibi görev yapan özelleşmiş önemli bir bölümdür.



Şekil 1. Larinksin genel anatomik görünüşü¹¹

Yeni doğanlarda 1-4 servikal vertebralar arasında yer alan larinks, puberteye kadar yavaşça aşağıya iner. Puberte sonrası erkeklerde daha belirgin olmak kaydıyla büyüyerek 3-6 servikal vertebralar arasında yer alır.¹² Larinksin iskelet çatısını üçü tek ve üçü çift olmak üzere dokuz adet kıkırdak oluşturur. Tek kıkırdaklar; tiroid, krikoid ve epiglot kıkırdaklardır. Çift kıkırdaklar; aritenoid, kuneiform ve kornikulat kıkırdaklardır.

2.1.1.1. Larinks Kıkırdakları

Tiroid kıkırdak: Larinksin en büyük kıkırdağıdır. Dörtgen şeklinde iki laminadan ve bu laminaların arka kısmında yukarıya ve aşağıya doğru uzanan ikişer adet kornu süperior ve kornu inferiordan oluşur.

Krikoid kıkırdak: Larinks kıkırdaklarının en sağlam ve kalın olanıdır. Sadece larinksin değil tüm solunum yollarının tam bir halka şeklinde olan tek kıkırdak yapısıdır. Tiroidin altında bulunur. Önünde “arcus cartilaginis cricoidea”, arkasında ise “lamina cartilaginis cricoidea” yer alır.

Epiglottis: Dil tabanının ve hyoid kemiğin arkasına yerleşen yaprak şeklinde bir kıkırdaktır. Daralarak bir sap şeklini alan alt ucu (petiolus epiglottidis) ligamentum (lig.) tiroepiglottikum ile tiroid kıkırdağının iç yüzüne tutunur. Plika ariepiglottika denilen mukoza kıvrımları epiglottisi yanlarda aritenoid kıkırdaklara bağlar. Hyoid kemiğe ise lig. hyoepiglottikum ile bağlanır. Yirmili yaşlardan itibaren larinks kıkırdakları kemikleşmeye başlar. Sadece elastik kıkırdaktan yapılmış olan epiglottis ve aritenoid kıkırdağın vokal prosesleri kemikleşmez ki bu durum sesin oluşumu bakımından fonksiyonel bir öneme sahiptir.

Aritenoid kıkırdak: İki adet olup, krikoid kıkırdağın üst kenarının yan taraflarına piramit şeklinde oturur.

Kornikulat kıkırdak: Aritenoid kıkırdakların tepesine yerleşen koni şeklinde iki küçük kıkırdaktır.

Kuneiform kıkırdak: Kornikulat kıkırdağın biraz önünde ve plika ariepiglottikanın içinde yerleşen kıkırdaktır. Her zaman bulunmayabilir.

2.1.1.2. Larinks Eklemleri

Larinks kıkırdakları birbirlerine sinovyal tipte eklemlerle bağlanırlar.

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

Krikoaritenoid eklem: Bir çift sinovyal eklemdir. Eklemde iki hareket gerçekleşebilir. İlki aritenoid kıkırdakların vertikal eksen çevresinde yaptıkları rotasyon hareketidir. Böylelikle vokal prosesler içe veya dışa doğru hareket edebilirler. İkincisi kayma hareketidir. Kayma hareketi aritenoid kıkırdakların hafifçe öne arkaya ya da içe dışa hareketine izin verir.¹³

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

Larinksin Dış Bağları: Tirohyoid membran, lig. hyoepiglottikum ve lig. krikotrakeale oluşturur.

Larinksin İç Bağları: Larinks mukozasının altında bulunan elastik liflerden zengin bağ dokusu bazı yerlerde kalınlaşır ve larinks kıkırdakları arasında gerilmiş sağlam bağlar oluşturur. Membrana fibroelastica laringis denilen bu yapı larinksin hareketleri bakımından önemlidir. Alt bölümüne “conus elasticus” (membrana cricovocalis=membrana triangularis) denir. Bu membran tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdaklar arasında gerili üçgen şeklinde bir zardır.¹⁴

2.1.1.4. Larinksin Kasları: Larinksin kasları ekstrensik ve intrensik olmak üzere iki grupta incelenirler.

Larinksin Ekstrensik Kasları: Larinksin bir bütün halinde hareketi ve fiksasyonu ile ilgilidirler. Suprahyoid ve infrahyoid kaslar olarak iki gruba ayrılırlar. Suprahyoid kaslar hyoid ve larinksi yukarı ve öne, infrahyoid kaslar ise aşağı çeker.

Suprahyoid kaslar: Geniohyoid, Mylohyoid, Stilohyoid ve Digastrik kaslardır.

İnfracyoid kaslar: Omohyoid, Sternohyoid, Sternotiroid, Tirohyoid kaslardır.

Larinksin İntrensik Kasları: Larinks fonksiyonlarından esas sorumlu olan kaslardır. Fonksiyonlarına göre şu şekilde sınıflandırılır:

Abdüktör kaslar: Vokal kordların tek abdüktörü posterior krikoaritenoid kastır (m.postikus). Bu kasın hareketiyle vokal kordlar birbirinden uzaklaşır, uzar ve gerginleşir.

Addüktör kaslar: Vokal kordları birbirine yaklaştırırlar. Lateral krikoaritenoid kas en önemli addüktördür. Tiroaritenoid ve interaritenoid kaslar da addüksiyonda rol alırlar.

Tensör (Gerici) kaslar: Krikotiroid kas (eksternal tensör) ve vokalis kası da denilen internal tiroaritenoid kas (internal tensör) rol alır.¹⁵

2.1.1.5. Larinksin İnnervasyonu

Larinks, X. kafa çifti nervus (n.) vagusun dalları olan n.larengeus superior ve n.larengeus inferior (rekürren laringeal sinir) tarafından innerve edilir. Plika vokalislerin

üzerinde kalan larinks mukozasının innervasyonu n. larengus süperiorun internal dalı tarafından gerçekleştirilir. Plika vokalislerin altında kalan mukoza bölümü ise n. larengus rekürrens tarafından innerve edilir. M.krikotiroideus hariç bütün larinks kaslarının motor siniri n. larengus rekürrenstir. M. krikotiroideus ise n. larengus süperiorun r. eksternusu tarafından innerve edilir.¹⁴

2.1.1.6. Larinksin Damarları

Arterler: Larinksin ana arterleri süperior ve inferior tiroid arterlerin laringeal dallarıdır. Süperior tiroid arterden ayrılan süperior laringeal arter, larinkse tirohyoid membranı delerek girer. Vokal kordlara kadar larinksi ve piriform sinüsü besler. İnferior laringeal arter, subklavian arterin tiroservikal dalından kaynaklanan, inferior tiroid arterin dalıdır. İnferior laringeal sinirle larinkse giren arter, aritenoid tutunan kasları, ventriküler banda komşu mukozayı ve ventrikülü besler.¹⁴

Venler: Larinksin venöz drenajı, arteryal akımla aynı kalıptadır. Süperior laringeal ven, süperior laringeal arteri izleyerek internal juguler vene boşalır. İnferior laringeal ven ise subklavian venin tiroservikal trunkusuna boşalır.¹⁴

Lenf drenajı: Lenfatik drenaj çift taraflı kan akımına paralellik gösterir. Vokal kordlar lenfatiklerden fakirdir, supraglottik ve infraglottik bölgeler arasında doğal bir bariyer oluşturur. Larinksin lenfatik sistemi, yüzeysel ve derin sistemlere bölünmüştür. Yüzeysel lenfatikler, supraglottik ve subglottik bölgelerde larinksin mukozasında yerleşmiştir. Derin sistem lenfatik damarları, mukoza altında, komşu bağ dokuları ve boşluklar arasında bulunur. Supraglottik bölge düzeyinde lenfatik akım, süperior laringeal damarları takip ederek, tirohyoid membranı geçerler. Orta ve üst derin juguler zincire drene olurlar. Epiglot orta hat yapısı olduğundan, lenfatik akım bilateralidir.¹¹ Subglottik bölgede yaygın bir lenfatik ağ vardır. İki yolla lenfatikler drene olurlar. Birincisi inferior tiroid damarları takip edip, subklavian, paratrakeal ve trakeoözefageal nodlara açılırlar. İkinci yol larinksin her iki tarafından gelen lenfatikleri alıp, krikotiroid membranı geçerek, prelaringeal (Delphian nodu) ve orta derin juguler zincire drene olurlar.¹⁶

2.1.1.7. Kavitas Laringis:

Larinks girişinden krikoid kıkırdağın alt kenarına kadar uzanır. Larinks boşluğu iki çift mukoza kıvrımı ile vestibulum laringis (supraglottik bölge), ventrikulus laringis (Morgagni cebi) ve kavitas infraglottika olmak üzere üç bölüme ayrılır. Üstte yer alan plika çifti plika vestibularis, altta yer alan plika çifti ise plika vokalis olarak isimlendirilir. Larinks girişi larinks boşluğundan farenkse açılan düzlem olarak düşünülebilir. Yönü arkaya ve biraz yukarıya doğrudur. Larinks girişini önde epiglottisin üst kenarı, arkada aritenoid kıkırdaklar arasında uzanan mukoza, yanlarda plika ariepiglottikalar sınırlamıştır. Plika ariepiglottika, epiglottisin yan taraflarından aritenoid kıkırdakların tepelerine uzanan mukoza kıvrımıdır.¹⁷

2.1.2. Larinks Embriyolojisi

Larinks ve trakeobronşial ağacın embriyolojik gelişimi 4. haftada median larengotrakeal yarık şeklinde farenks ventral duvarından başlar. Oluşan yarık derinleşir ve kenarları bir septum olacak şekilde kaynaşarak larengotrakeal tüpü oluşturur. Kaynaşma kaudalden başlayarak kraniale doğru uzanır ama kranial uçta farenkse açıldığından kaynaşma olmaz. Oluşan tüp respiratuvar epitelin geliştiği endoderm ile kaplanır. Kranial uçtan larinks ve trakea gelişirken, kaudal uçtan iki lateral çıkıntı oluşarak bronşlar ile sağ ve sol akciğer lobları gelişir.¹⁸

Larinksi döşeyen epitel endoderm kökenli olmasına karşılık, kıkırdak ve kasları ile dördüncü ve altıncı farengeal arkus mezenşim kaynaklıdır. Bu mezenşimin hızla proliferasyon olması sonucu, laringeal orifisin görünümü, sagittal bir yarıktan T şeklindeki bir açıklığa dönüşür. Daha sonra bu iki arkusun mezenşimi tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdaklara dönüştüğünde laringeal orifisin karakteristik erişkin yapısı tanınabilir hale gelir.^{19,20} Larinks kıkırdakları 4. ve 6. farengeal arkustan farklıdır. Kıkırdakların oluşumu sırasında, laringeal epitel de hızla çoğalarak lümenin geçici olarak tıkanmasına neden olur.

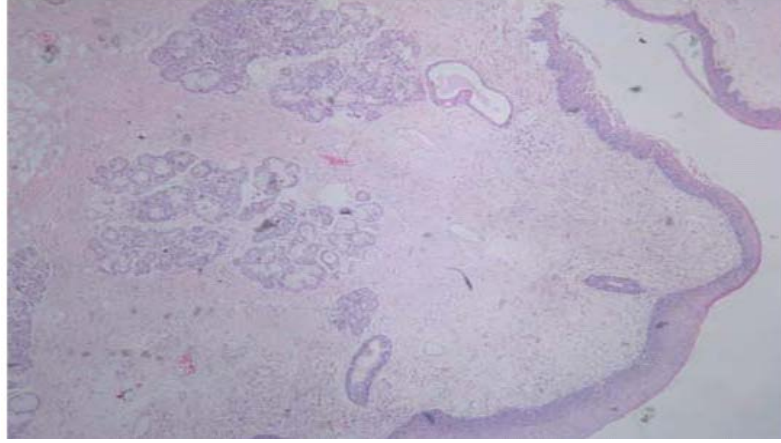
Larinks rekanalizasyonu 10. hafta civarında gerçekleşir. Vakuolizasyon ve rekanalizasyonun ardından, laringeal ventrikül adı verilen bir çift lateral çukur oluşur. Bu çukurlar, ileride yalancı ve gerçek vokal kordlara farklılaşacak olan doku katlantılarıyla çevrelenmiştir.^{19,20,21} Epiglottis 3. ve 4. farengeal arkusların

proliferasyonu sonucu gelişen hipobrankial kabarıntıdan farklanır. Larinks ve epiglottis gelişimlerini doğumdan sonra üç yaşına kadar devam ettirirler.

2.1.3. Larinks Histolojisi

Epiglottis, elastik kıkırdaktan oluşur. Yutkunma sırasında larinks girişini kapatarak hava yoluna herhangi bir yabancı cisim girmesini önler. Hem lingual, hem laringeal yüzü vardır. Lingual yüzün tümü ve laringeal tarafın üst bölümü çok katlı yassı epitelle döşelidir ve az sayıda tat cisimciği içerir. Laringeal yüzün alt bölümü silyalı yalancı çok katlı prizmatik epitele dönüşür. Epitel altında seröz ve müköz bezler vardır.^{19,20} Epiglottisin altındaki mukoza, larinksin lümenine uzanan iki çift katlantı yapar. Üstteki çift yalancı ses tellerini (vestibüler katlantıları) oluşturur. Bunlar solunum epiteli ile döşelidir ve epitelin altında lamina propriada çok sayıda seröz bezler bulunur. Altteki çift katlantı ise gerçek ses telleridir (vokal katlantılar). Vokal katlantıların içinde elastik liflerden zengin vokal ligamentler ve çizgili kaslar yer alır. Üzeri çok katlı yassı epitelle döşelidir. Ligamentlere paralel olarak katlantı ve ligamentteki gerilimi düzenleyen ve iskelet kası demetlerinden oluşan ses kasları (vokal kaslar) yer alır. Hava katlantılar arasında sıkıştırıldığı zaman bu kaslar değişik frekanslarda seslerin oluşmasını sağlar.^{19,20,21} Larinksin diğer bölümleri solunum epiteli ile döşelidir ve trakeayla devamlılık gösterir.

Vokal kord histolojisi: Sadece gerçek vokal kord larinksin vibratuar hareketlerine katılır. Bu yapı ön komissürden aritenoid kıkırdağın vokal prosesine kadar uzanır. Vokal kordlar sırasıyla keratinize olmayan çok katlı yassı epitel, lamina propria ve vokal kastan oluşan üç katmanlı bir yapıya sahiptir. Lamina propria yüzeyel, orta ve derin tabakalardan oluşur. Yüzeyel tabakası reinke boşluğuna uyar ve daha çok amorf madde içerirken orta ve derin tabakalarında elastik ve kollojen lifler bulunur.²²



Şekil 2. Larinks üst kısmının çok katlı yassı epitel ile döşeli görünümü. Hematoksilen Eosin (HE) x 40

2.1.4. Larinks Fiziyojisi

Larinksin çok önemli fonksiyonları vardır. Larinks cerrahisi sırasında tümörün tamamen çıkarılması yanında bu fonksiyonların korunması veya en azından postoperatif dönemde rehabilitasyona izin verecek bir cerrahi planlamanın yapılması hastanın yaşam kalitesini artırmak bakımından son derece önemlidir.²³

1. **Sfinkter fonksiyonu:** Solunum ve sindirim yolları farenkste çapraz yapar. Bu da alt solunum yollarının korunmasını gerektirir. Bu görevi larinks üstlenir. Yutma sırasında larinksin kapanması larinks fiziyojisinin en hayati yönü olup akciğerleri sıvı ve katı gıdaların girişinden korur. Larinksin kapanması; rima glottisin kapanması, larinks vestibülünün kapanması ve epiglotun larinks lümenine doğru eğilmesi ile üç basamakta gerçekleşir. Erişkinde epiglotun düz, kalkan gibi oluşu yutulan gıdanın yanlardan piriform sinüslere geçmesini sağlar. Epiglot lokmayı larinks girişinden uzaklaştırmaya yardım eder. Larinksi döşeyen titretilmiş tüylü epitel, üzerindeki mukus ve yabancı parçacıkları ağıza doğru sevk eder. Larinksin sfinkterik fonksiyonu larinkste üç kas katının koruyucu adduksiyonu sonucu olur. Bunlar yukarıdan aşağı doğru; epiglot, ariepiglottik plikalar, ventriküler bandlar ve vokal kordlardır. Larinksin sfinkter görevinin başlaması için iki taraflı süperior laringeal sinirin uyarılması gerekir.
2. **Solunum fonksiyonu:** Solunum merkezi medulla oblongatadadır. İnspirasyonun başlaması için n. larengeus inferiorun uyarılması ile glottik açılma baslar.

Glottisin açılması m.krikoaritenoides posterior tarafından sağlanır. Sonra frenik sinirin uyarılması ile diyafragma aşağı iner ve inspirasyon oluşur.

3. **Fonasyon fonksiyonu ve konuşmada rolü:** Larinksin en az anlaşılan ve üzerinde halen çalışılan fonksiyonudur. Larinksin en ileri fonksiyonu olarak kabul edilir. Konuşma fonksiyonu jeneratör sistem, vibratör sistem ve rezonatör sistemin kombine olarak çalışması ile oluşur.
4. **Yutmaya yardımcı rolü:** Yutma esnasında adalelerin sfinkter etkisi ile larinks girişi kapanır. Epiglotun yanlarından lokmanın özefagusa kayması sağlanır. Ayrıca yutma sırasında larinksin yükselmesi lokmanın özefagusa girişine yardım eder. Larinks girişinin dil kökü altında kalması ile lokma özefagusa gider.
5. **Öksürük ve ekspektoratif fonksiyon:** Larinks öksürük ve balgamın dışarı atılmasına yardımcı olur. Öksürük istemli veya istemsiz olarak meydana gelebilir. Derin inspiyumla glottis kapanır. Ekspiryum adaleleri kasılarak intrapulmoner basınç artar. Glottis aniden açılır açılmaz hızla çıkan hava ile birlikte ait solunum yollarındaki sekresyonu veya yabancı partikülleri dışarı atar. Bu nedenle öksürük koruyucu fonksiyon görür
6. **Emosyonel fonksiyonu:** Larinks kişinin psikolojik durumuna göre (örneğin heyecan, üzüntü, ağlama, esneme hallerinde) ses değişiklikleri meydana getirir.
7. **Dolaşıma yardımcı fonksiyon:** Trakeobronşial sistemde ve akciğer parankimindeki basınç değişikliklerinin etkisi ile kan dolaşımına bir pompa gibi etki yapar.
8. **Fiksatif fonksiyon:** Larinksin fiksatif fonksiyonu karın ve göğüs kaslarının daha fazla kasılabilmesine olanak verir. Bu amaçla larinks kapanarak intratorasik basıncın artırılmasına yardımcı olur. Öksürme, defekasyon, miksiyon, kusma ve doğum ıkınması gibi durumlarda rima glottisin kapanması ile toraks içine hava kapatılır. İstemli olarak yapılan bu kapatma işlemi mekanik bir yardım sağlamaktadır.²⁴

2.2. Larinksin Tümörleri ve Tümör Benzeri Lezyonları

2.2.1. Papilloma ve Papillomatozis

Çocuklarda (juvenil tip) ve adölesanlarda (adult tip) görülen soliter veya multipl, papiller, benign tümörlerdir.^{3,5} Çoğunlukla gerçek kordu tutar. Ancak yalancı korda, epiglottise, supraglottik ve subglottik bölgeye, çok nadiren de trakea ve bronşlara yayılabilir.²⁵ Hava yollarında tıkanmaya yol açabilir. Yapılan çalışmalarda laringeal papillomatozisin viral etyolojiye dayandığı gösterilmiştir. İmmünohistokimyasal çalışmalarda ve insitu hibridizasyonda ise HPV antijeni ortaya konulmuştur. Hastalarda aktif hastalığın olduğu durumlarda; lezyonu içermeyen bölgelerde ve remisyonadaki hastalarda da viral Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) bulunmuştur.²⁶ Laringeal papilloma eşlik eden HPV tipleri düşük riskli HPV tipleri olan HPV 6 ve HPV 11'dir.^{3,4,5} Nadiren HPV 16, 18, 31, 33, 35 ve 39 ile de papillom görülebilir. Bu lezyonlarda epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin yüksek düzeylerde görülmesi artmış proliferatif aktiviteden sorumlu olabileceklerini düşündürmektedir.^{26,27} Skuamöz mukozada parmak benzeri papiller veya akantotik büyüme paterninden oluşan mikroskopik görünüm mevcuttur. Fibrovasküler bir merkez içerir.²⁸ Mitotik aktivite, değişik derecelerde koilositoz ve nükleer atipi görülür.^{29,30} Bu tümörlerde uzun periyotta tekrarlama oranı yüksektir.³ Rekürrensler nadiren trakeostomi ağzı ve yumuşak dokuya yayılabilir, karotid arterin etrafını sarabilirler. Bu tür proses "invaziv papillomatozis" olarak adlandırılır.^{4,29,30,31} Laringeal papillomatozisli olgularda özellikle yüksek riskli HPV varlığında malign transformasyon görülebilir (%3-17 arası).⁴

Erişkin Laringeal Papillomlar

Erkeklerde 3:2 oranında daha fazla görülmektedir. 20-40 yaşları arasında pik yapar. Genellikle soliter, yüksek derecede inflamatuvar reaksiyon gösteren, yayılma eğilimi göstermeyen, juvenil forma göre daha az görülen lezyonlardır. Juvenil formlarda olduğu gibi HPV 6 ve 11 içerirler.³

2.2.2. İntraepitelyal Proliferatif Lezyonlar

Laringeal epitelde etyolojik faktörlere bağlı olarak üç temel patoloji görülebilir:

1. **Hiperplazi:** Epitelde sadece hücre sayısında artış vardır. Hücre matürasyonu ile ilgili değişiklikler görülmez. Keratozis eşlik edebilir.

2. **Metaplazi:** Silli silindirik epitel çok katlı yassı epitele dönüşmüş ve keratozis gelişmeye başlamıştır.
3. **Displazi:** Epitelde hücrel atipi ve yapısal değişiklikler söz konusudur. Fakat doku yapısı karsinoma dönüşmemiştir.³²

Laringeal hiperplastik lezyonlar için yirmiden fazla histopatolojik kullanılmışsa da bunlar içerisinde genel kabul gören olmamıştır.^{6,33} Genel olarak prognoz açısından bir sınıflandırma yapılabilir:

Benign skuamöz hücre hiperplazisi: Bazal hücrelerde daha belirgin olan hiperplazi, basit keratozis veya akantozis mevcuttur. Hücrel atipi yoktur.

Epitelyal displazi: Özellikle bazal tabakayı ilgilendiren hücrel atipi ile beraber olan hiperplazi söz konusudur. Laringeal İntraepitelyal Displazi (LIN) olarak tanımlanan bu patolojiler 3 dereceye ayrılmıştır:

LIN 1: Hafif derecede displazi: Hücre nükleusundaki değişiklikler çok sili ve epitelin bazal 1/3 kısmında lokalizedir. Anormal mitoz görülmez.

LIN 2: Orta derecede displazi: Nükleus anormallikleri artmış ve nükleolus daha belirginleşmiştir. Epitelin alt 2/3'ünde lokalizedir. Mitoz artmıştır fakat anormal mitoz yoktur.

LIN 3: Şiddetli displazi ve Karsinoma in situ (KİS): Şiddetli displazide epitel kalınlığının 2/3'ünden fazlasını tutan belirgin nükleer atipi, artmış mitotik aktivite ve matürasyon kaybı vardır. Atipik mitoz bulunabilir. Epitelin yüzeyinde bazı bölgelerde matürasyon ve çok katlılaşma bulunması ile KİS'ten ayırt edilir. KİS'te ise nükleer atipi ve artmış mitotik aktivite bazalden yüzeye kadar bütün epiteli tutmuştur. Yüzeyde matürasyon görülmez.³⁴

Benign skuamöz hücre hiperplazi olgularının malignleşme ihtimali %7,6 iken, displastik gruptakilerde bu risk %37'ye çıkmaktadır.³³ Bu lezyonların birbirini takip ederek invaziv karsinom gelişmesine yol açabileceği pek çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir.^{32,35} Ancak her kanserin bu basamaklarda geçip geçmediği ve KİS'in invaziv karsinoma dönüşme riski tartışmalıdır.

2.2.3. İnvaziv Karsinom

2.2.3.1. Genel Özellikler

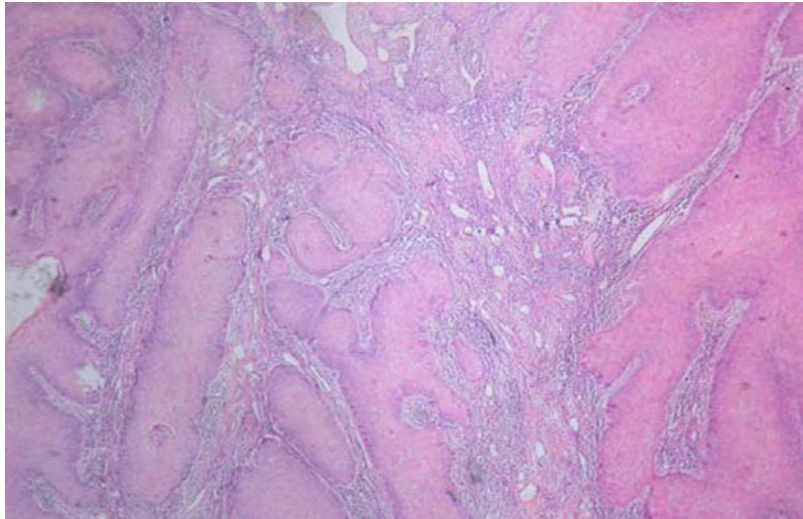
Larinks kanseri vücuttaki tüm malign tümörlerin % 3'ünü oluşturur. Baş boyun bölgesinde en sık görülen malign tümörler laringeal karsinomlardır ve yaklaşık olarak % 25'ini oluşturur.¹ Larinks kanserlerinin % 95'ten fazlası skuamöz hücreli karsinomlardır.¹ En önemli risk faktörleri sigara, alkol ve HPV enfeksiyonudur.² Genellikle hayatın 5. dekadında veya daha sonra görülür ancak genç hastalar da bildirilmiştir. Hastaların % 96'sı erkektir. Laringeal karsinomlu hastalarda ikinci bir tümör (özellikle üst gastrointestinal sistem ve akciğer) gelişme riski artar.²

2.2.3.2. Klasik tip skuamöz hücreli karsinom

Keratin oluşumu ve/veya interselüler köprülerin varlığı ile karakterize, skuamöz diferansiasyon gösteren bir malign epitelyal tümördür (Şekil 3). Derecelendirme; iyi, orta, ve kötü diferansiye olmak üzere üç grupta yapılır. Derecelendirmede hücresel pleomorfizm ve mitotik aktivite esas alınır. Çoğu supraglottik ve glottik yerleşimli olup, iyi ve orta derecede diferansiyedir. Subglottik bölgedeki karsinomlar ise orta ve kötü diferansiyedir. Genel olarak tümör boyutu küçükse diferansiasyon daha iyi olmaktadır.^{27,36}

Mikroinvaziv skuamöz hücreli karsinom: Bazal membranın hemen altındaki alanda seyrek olarak dağılmış hücrelerden veya küçük tümör odaklarından oluşur.

Papiller tip skuamöz hücreli karsinom: Egzofitik büyüme paterni sergileyen, fokal invazyon odağı içeren, yassı epitel hücreli karsinom varyantıdır. Verrüköz karsinomdan sitolojik atipisi ile ayrılır. Sıradan epidermoid karsinom vakalarına göre belirgin derecede HPV ile birliktelik söz konusudur. Prognozu iyidir.^{27,36}



Şekil 3. Skuamöz hücreli karsinom (HE x 100)

2.2.3.3. Verrüköz karsinom

Polipoid görünümlü ve oldukça iyi diferansiye olup skuamöz hücreli karsinomun nadir görülen bir varyantıdır. Yaygın lokal invazyona rağmen, pratik olarak hemen hiç metastaz yapmaz. Tümörde ve tümöre yakın komşu alanlarda HPV varlığı gösterilmiştir. Verrüköz karsinom mutlaka verüköz hiperplazilerden ayırt edilmelidir. Ancak bu durum küçük biyopsilerde mümkün değildir. Ayırıcı tanıda esas olan invazyon varlığıdır ve bu da ancak rezeke edilen materyalin tümünün incelenmesiyle görülebilir. Mitoz nadirdir.^{27,36}

2.2.3.4. Larinksin Diğer Tümörleri

Küçük hücreli (nöroendokrin) karsinom: Nadir olup tüm vakaların % 0,5'inden daha azını oluşturur. 6. ve 7. dekatta, ağır sigara içicilerde görülür. Mikroskopik görünümü pulmoner yerleşimli olanlarla eşdeğerdir. Küçük, yuvarlak, oval veya iğsi hücrelerden oluşur. Mitoz, nekroz ve lenfovasküler invazyon sık görülür. İçerdikleri bir miktar sekretuar granül, nöral ve nöroendokrin belirleyicilerle immünreaktivite gösterirler. Bölgesel ve uzak metastaz çok sık olup agresif seyreder. Atipik karsinoid/Büyük hücreli nöroendokrin karsinomdan ayırımı mutlaka yapılmalıdır.^{27,36}

Bazaloid karsinom: Oldukça malign bir laringeal tümördür. Ağır sigara içicilerde daha sık görülür. Hiperkromatik nükleuslu, dar sitoplazmalı, periferik palizatlanma içeren, hiyalinize stromaya sahip hücrelerden oluşur. Nekroz yaygındır. Mukoid materyal içeren küçük kistik boşluklar veya bez yapısı benzeri alanlar oluşturabilir. Adenoid kistik karsinomun solid varyantından ayırımı zordur.^{27,36}

Lenfoepitelyoma-benzeri karsinom: Andiferansiye karsinom benzeri alanlardan oluşur. Arada reaktif lenfoplazmositik hücreler görülebilir. Sıklıkla servikal lenf nodu metastazı ile birlikte gider. EBV ile ilişkisi bulunmamıştır. Agresif seyir gösterir.^{27,36}

Adenokarsinom: Adenokarsinomlar çok nadir görülür. Müköz bezlerden gelişir. Genellikle tanı aldıklarında ileri evredir ve agresif seyir gösterirler. Çoğunlukla supraglottik veya subglottik bölgeye yerleşir. Bazıları müsinöz tiptir.^{27,36}

Sarkomatoid karsinom (iğsi hücreli karsinom, karsinosarkom): Üst solunum ve gastrointestinal sisteme yüksek derecede eğilim gösteren bir tümördür. Polipoid yapılanma gösterir ve laringeal polibe benzerler. Çoğu supraglottik yerleşimlidir. Mikroskopik olarak iki komponentten oluşur. Skuamöz hücreli karsinom komponenti çoğu zaman belirgin değildir ve belirgin olduğu durumlarda da in situ karsinom odakları tarzında görülür. İğsi hücrelerden oluşan pleomorfik sarkom komponenti ise tümörün büyük bir kısmını oluşturur. Sarkomatoid komponent bir granülasyon dokusu gibi selim görünümde olabileceği gibi, malign fibröz histiositom veya osteosarkomda görülen oldukça atipik görünümdeki bizar hücrelerden de oluşabilir.^{27,36}

Larinksin tükrük bezi tümörleri: En sık görülen tipi adenoid kistik karsinomdur. Yavaş büyürler ancak sonuçta fataldirler. Hızlı gelişen bazaloid ve skuamöz hücreli karsinomdan ayrımları yapılmalıdır. Bu kategoriye giren diğer neoplaziler, mukoepidermoid karsinom, asinik hücreli karsinom, pleomorfik adenom ve myoepitelyomadır.^{27,36}

Karsinoid tümör: Morfolojik, immünohistokimyasal ve ultrastrüktürel olarak bronşial karsinoidlere benzerlik gösterir. Larinkste lokalize olan karsinoid tümör çeşitleri atipik karsinoid tümör (orta derecede diferansiye nöroendokrin karsinom) ve büyük hücreli nöroendokrin karsinomdur. Her iki tümör de pleomorfizm, mitotik aktivite ve nekrozla karakterizedir. Argirofili, ultrastrüktürel çalışmalarda nörosekretuar granüllerin varlığı ve kromogranin ile immünreaktivite bu tümörlerde kuraldır. En sık supraglottik bölgeye özellikle de aritenoid kıkırdak ve ariepiglottik folda yerleşir. Prognozu genellikle iyidir. Yaşlı erkeklerde ve özellikle ağır sigara içicilerde daha sık görülür. Lenf nodu metastazı ve uzak metastazlar yapması nedeniyle agresif seyreder.^{14,27}

Paraganglioma: Genellikle supraglottik bölgede lokalize olup aynı taraf ariepiglottik folda yayılım gösterir. Çoğu fonksiyonel değildir. Tanısal açıdan önemli olan ve daha çok nestlerin periferinde yerleşen sustentakuler hücreler S100 proteini ve GFAP ile pozitif

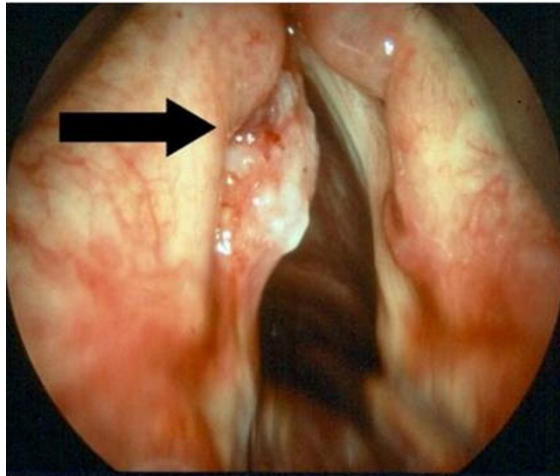
2.2.3.5. Larinksin Az Görülen Tümörleri

Hemanjiyom, anjiyosarkom, granüler hücreli tümör, myofibromatozis, rabdomyom, rabdomyosarkom, leiomyom, kıkırdak tümörleri, osteosarkom, liposarkom, malign fibröz histiyositom, malign melanom, lenfoid tümörlerdir.³⁶

2.2.4. Larinks tümörlerinin lokalizasyonlarına göre tipi, yayılımı ve tedavisi

Lokalizasyonlarına göre 4 gruba ayrılır:

- 1. Glottik:** Glottik bölge vokal kordlar, ön ve arka kommissürden oluşur (Şekil 4). Tüm vakaların % 60-65'ini oluşturur. En sık lokalizasyon glottisin ön 1/3'üdür. Etrafını çevreleyen kıkırdak duvar ve lenfatik damarların azlığı nedeniyle bu lokalizasyondaki tümörler uzun süre lokalize kalırlar. Zamanla; ön komissürden karşı korda, posteriordan aritenoid, superiordan supraglottik bölgeye, inferiordan subglottik alana, anteriordan tiroid kıkırdağa penetrasyon gerçekleşebilir. Erken evre (T1 ve T2) glottik ve supraglottik kanserlerde konservatif parsiyel larenjektomi ile radyoterapinin eşit sağ kalım sağladığı yönünde birçok çalışma mevcuttur.^{14,17,24} T3 ve T4 tümörlerde öncelikle cerrahi sonrasında gerekli durumda RT uygulanabilir. Erken evre glottik kanserlerde boyuna metastaz oranları düşüktür (%5-10). Bu nedenle bu tümörlerin tedavisinde boyuna profilaktik amaçlı bir uygulama gerekmez. İleri evre olgularda boyuna gizli metastaz olasılığı %20-40 dolayında olduğu için bu gruptaki hastalar cerrahi olacaksa elektif boyun diseksiyonu uygulanır (level 2-3-4-6. bölgedeki lenfatikleri içermelidir).^{14,17}



Şekil 4. Glottik karsinom. Laringoskopik görünüm

2. **Supraglottik:** Bu bölge ventriküler bandlar, aritenoid bölge, suprahoid ve infrahyoid bölge, epiglot, ariepiglottik fold ve preepiglottik boşluktan oluşur. Tüm vakaların % 30-35'ini oluşturur. Bu tümörlerde preepiglottik mesafeye yayılma eğilimi belirgindir. Supraglottik bölge lenfatik ağdan zengindir ve bu nedenle lenf nodu metastazları fazladır (%30-40). Tedavisi lezyona yönelik cerrahi ve boyun diseksiyonu ve/veya radyoterapidir. Cerrahi tedavide tüm hastalara bilateral boyun diseksiyonu eklenmelidir (level 2-3-4. lenf nodlarını içermelidir).^{14,24}
3. **Subglottik:** % 5'ten azdır. Subglottik bölgenin üst sınırı gerçek vokal kordların serbest kenarının 0,5 cm aşağısından başlar. Bu bölge de lenfatiklerden zengindir. Krikoid kıkırdağa lateral yayılım kuralıdır. Zayıf intertirokrikoid membranın tümörle destrüksiyonu, prelaringeal duvarın invazyonu ve tiroid glandın invazyonu sık görülür. Trakeaya yayılım sık olduğu için, mümkün olduğunca distalden rezeke edilmelidir. Servikal lenf nodu metastazı % 15-20, paratrakeal lenf nodu metastazı %50'dir. Bu hastalarda cerrahi tedavi ve radyoterapi kombine edilir. Cerrahi tedavide tüm hastalara bilateral boyun diseksiyonu eklenmelidir (level 2-3-4-6. lenf nodlarını ve tiroid lobunu içermelidir).^{14,24}
4. **Transglottik:** Vakaların % 5'inden daha azını oluşturur. Laringeal ventrikülü dikey olarak tutan tümörlerdir. Lenf nodu metastazı insidansının (% 52) en yüksek olduğu gruptur. Diğer bölgelere göre daha agresif seyreder. Total larenjektominin yanında bilateral fonksiyonel boyun diseksiyonu da yapılmalıdır.^{14,24}

2.2.5. Larinks Tümörlerinde Evreleme

Tümörün yerleşimini, uzanımını ve metastaz yaptığı alanları tam tarif edebilmek için anatomik yayılımı baz alan, kanserin klinik ve biyolojik özelliklerini içermeyen American Joint Committee on Cancer'in 2002 yılında modifiye etmiş olduğu evreleme kullanılmaktadır.³⁷

Primer tümör (T)

Tx: Tümör değerlendirilemedi

To: Primer tümör yok (klinik, radyolojik ve patolojik tetkikler yapılmış ve tümör bulunamamış)

Tis: Karsinoma in situ

Supraglottik tümör

T1: Tümör supraglottisin bir alt bölgesine sınırlıdır, vokal kord hareketleri normaldir.

T2: Tümör supraglottisin birden fazla alt bölgesinin mukozasını veya glottisi veya supraglottis dışındaki bir bölgeyi (örneğin dil kökü mukozası, vallekula, piriform sinüs medial duvarı mukozası vb.) tutmuştur, kord hareketleri normaldir.

T3: Tümör larinks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır ve/veya post-krikoid bölge, preepiglottik dokular, paraglottik alan invazedir ve/veya minör tiroid kıkırdak invazyonu vardır.

T4a: Tümör tiroid kıkırdağı tam kat invaze etmiştir ve/veya larinks dışı dokulara taşmıştır (örneğin trakea, dilin derin ekstrinsik kasları, prelaringeal kaslar, tiroid veya özefagus gibi boyun yumuşak dokuları).

T4b: Tümör prevertebral alanı invaze etmiştir, karotid arteri çevrelemiştir veya mediastinal yapıları invaze etmiştir.

Glottis

T1: Tümör vokal kordlara sınırlıdır ve kord hareketleri normaldir (anterior veya posterior komissür invazyonu olabilir).

T1a: Tümör tek bir vokal korddadır.

T1b: Her iki vokal korda da tümör mevcuttur.

T2: Tümör supraglottis ve/veya subglottise uzanmakta ve/veya kord hareketleri kısıtlanmaktadır.

T3: Tümör larinks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır ve/veya paraglottik alan invazyonu vardır veya tiroid kartilajın iç korteksine invazyon vardır.

T4a: Tümör tiroid kıkırdağı tam kat invaze etmiştir ve/veya larinks dışı dokulara taşmıştır (örneğin trakea, dilin derin ekstrinsik kasları, prelaringeal kaslar, tiroid veya özefagus gibi boyun yumuşak dokuları).

T4b: Tümör prevertebral alanı invaze etmiştir, karotid arteri çevrelemiştir veya mediastinal yapıları invaze etmiştir.

Subglottis

T1: Tümör subglottise sınırlıdır.

T2: Tümör vokal kordlara uzanmakla birlikte kord hareketleri normal veya kısıtlanmıştır.

T3: Tümör larinks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır.

T4a: Tümör tiroid kıkırdağı tam kat invaze etmiştir ve/veya larinks dışı dokulara taşmıştır (örneğin trakea, dilin derin ekstrasik kasları, prelaringeal kaslar, tiroid veya özefagus gibi boyun yumuşak dokuları).

T4b: Tümör prevertebral alanı invaze etmiştir, karotid arteri çevrelemiştir veya mediastinal yapıları invaze etmiştir.

Bölgesel lenf nodları (N)

Nx: Bölgesel lenf nodları değerlendirilememektedir.

No: Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur.

N1: En büyük çapı 3 cm'yi geçmeyen tek bir ipsilateral lenf nodunda metastaz vardır.

N2a: En büyük çapı 3-6 cm. arasında tek ipsilateral lenf nodunda metastaz vardır.

N2b: Hiçbirinin çapı 6 cm'yi geçmeyen multipl ipsilateral lenf nodlarında metastaz vardır.

N2c: Hiçbirinin çapı 6 cm'yi geçmeyen bilateral veya kontralateral lenf nodlarında metastaz vardır.

N3: Bir lenf nodunda 6 cm'den büyük metastaz vardır.

Uzak metastazlar (M)

Mx: Uzak metastazlar değerlendirilememektedir.

Mo: Uzak metastaz yoktur.

M1: Uzak metastaz vardır

Evreleme

Evre 0: Tis N0 M0

Evre 1: T1 N0 M0

Evre 2: T2 N0 M0

Evre 3: T3 N0 Mo / T1,2,3 N1 M0

Evre 4a: T4a N0 M0 / T4a N1 Mo / T1,2,3,4a N2 M0

Evre 4b: T4b Herhangi N M0 / Herhangi T N3 M0

Evre 4c: Herhangi T / Herhangi N M1

Larinks karsinomlarında 5 yıllık yaşam oranı; glottik tümörlerde % 80-85, supraglottik tümörlerde % 65-75, subglottik tümörlerde % 40 ve transglottik tümörlerde % 50'dir.^{1,14,17,24,37,}

2.3. Human Papillomavirüs

Human Papillomavirüs (HPV) rahim ağzında ve mukozalarda (ağız içi ve vajina mukozası gibi) enfeksiyon yapan ve kondilom adı verilen siğil şeklinde kitlelerin oluşumuna neden olan bir virüstür. Vücuda mukozal temas yolu ile girdiğinde hücreler içine yerleşir, kişinin vücudunun zayıf düştüğü zamanlarda (stres, uykusuzluk, beslenme bozukluğu gibi) enfeksiyonundan yıllar sonra bile alevlenerek rahim ağzı kanserinin gelişmesinde ana etken olarak rol oynar. HPV, hem erkeklerde hem kadınlarda, cinsel temas ile bulaşan en yaygın hastalıklardan biridir. Bu yüzden HPV enfeksiyonunun erken teşhisi çok önemlidir. HPV cinsel yolla bulaşır. Özellikle çok sayıda cinsel partneri olan kişilerde yaygındır. Oldukça bulaşıcı bir virüstür. Virüs, oral ve anal cinsel ilişki ile yayıldığı için toplumdaki cinsel yönden aktif pek çok kişiye bulaşabilir.

Tedavide vücuttaki virüs yok edilemez. Sadece oluşturduğu lezyonlar tedavi edilebilir. Son yıllarda HPV aşılı da uygulanmaktadır.

2.3.1. Human Papillomavirüsün Karsinogenezdeki Rolü

Son yapılan araştırmalarla birlikte 200'e yakın HPV tipi bulunmuştur.³⁸ Serviks kanserinin etyolojisinde % 100'e yakın oranlarda HPV suçlanmaktadır.^{39,40} Serviks karsinomlarının dışında vulvar, anal ve penil kanserlerin bir kısmının HPV ile ilişkili olduğu görülmüştür.⁴¹ Orofarengeal kanserlerin ise % 20'sinde HPV saptanmıştır. Son

çalışmalar, derinin skuamöz hücreli karsinomunda da HPV'nin rol oynamasının mümkün olabileceğine dikkat çekmiştir.³⁹

HPV; papova virüs ailesinden küçük, zarfsız, ikozahedral DNA virüsüdür.⁴² Skuamöz epitelyal hücrelerin nükleusunda çoğalır. Çift zincirli DNA'ya sahiptir.⁴² HPV genomu 6.500-8.000 baz çiftinden oluşmakta ve sekiz adet açık okuma çerçevesi (open reading frame) içermektedir. Bunlar E1, E2, E4, E5, E6, E7, L1, L2'dir. E grubu erken (early), L grubu ise geç (late) fonksiyonları yansıtmaktadır.^{43,44}

Erken Proteinler: Yapısal olmayan, içlerinde transkripsiyon düzenleyicilerinin de bulunduğu proteinlerdir. DNA replikasyonu, transkripsiyonu ve hücrel transformasyonu düzenlerler.

E 1: Genom replikasyonu

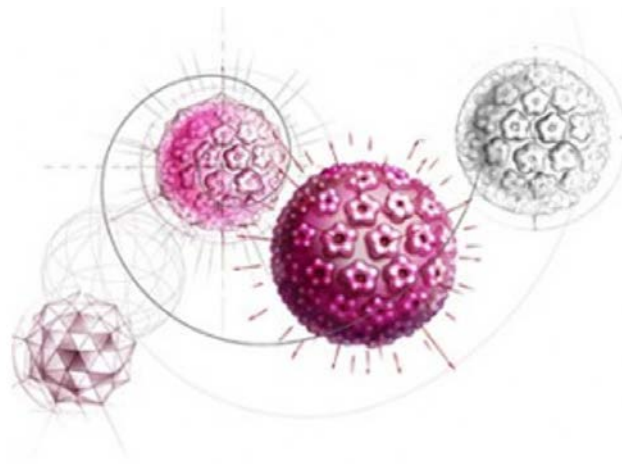
E 2: Viral transkripsiyon

E 4: Virüs salınımı

E 5: Epidermal büyüme faktörü reseptör aktivasyonu

E 6 ve E 7: E6 proteini p53'ü, E7 ise Rb genini inaktive ederek malign transformasyona neden olur. Bu sebeple HPV aşıları HPV 16 ve 18'in onkojenik potansiyelden sorumlu E 6 ve E 7 proteinlerine karşı geliştirilmiştir.

Geç Proteinler: Viral kapsid proteinleri Majör kapsid proteini (L1) ve Minör kapsid proteini (L2) olup, 72 kapsomerden oluşan ikozahedral kapsid oluştururlar.^{43,44}



Şekil 5. Human Papilloma Virüsü⁴⁵

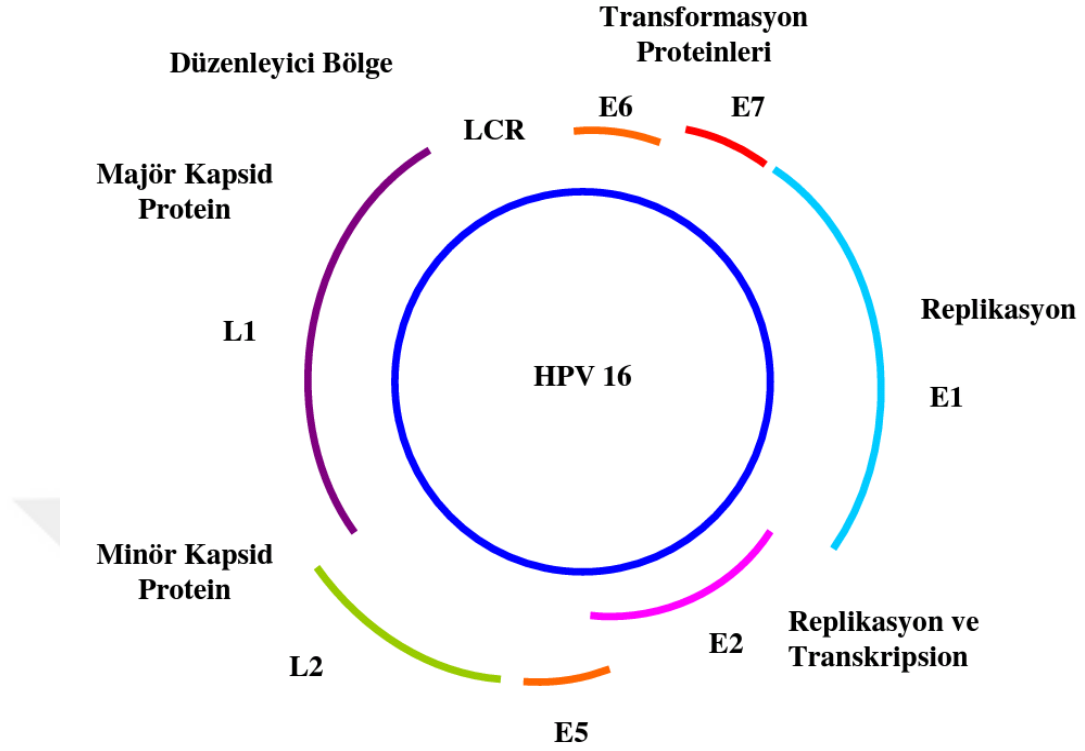
HPV'nin, farklı genotipte çok sayıda tipi vardır. Tüm tanımlanan tipler epiteliotropiktir. Deri, anogenital ve orofarengeal epitelyal hücreleri enfekte ederler.

Nedeni henüz bilinmemekte olup; bu güne kadar gastrik, ileojejunal ve kolonal mukozada HPV görülmemiştir.³⁹ HPV'nin en sık maligniteden sorumlu tipleri HPV16, 18, 31, 33, 39, 45, 52, 58 ve 69'dur.⁴⁶ Bu tipler "yüksek riskli" tiplerdir. Servikal ve diğer anogenital kanserlerde rol oynarlar. HPV 6 ve 11 "düşük riskli" tipler olup, malign lezyonlarda çok nadiren bulunurlar.

Esas olarak genital siğillerde ve laringeal papillomlarda saptanırlar.^{3,4,5} Son yıllarda yapılan çalışmalarda HPV'nin indüklediği ölümsüz hücrelerin oluşması (immortalization) ve karsinogenezin moleküler mekanizmasıyla ilgili yeni bilgilere ulaşılmıştır.^{39,40,47,48} Kanser gelişim sürecinde viral DNA konak hücre DNA'sına entegre olmaktadır. Viral halka, E2 açık okuma çerçevesinden başlayarak açılmaktadır. p53 ve Rb gibi tümör supresör proteinleri inaktive ettiği kanıtlanan E6 ve E7 onkoproteinleri, HPV 16 ve 18 gibi yüksek riskli genotip varlığında malignitenin ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

HPV'nin enfekte edebilmesi için epidermal veya mukozal epitelyal hücrelerin proliferere olabilmesi yani bazal tabakalarının olması gerekir. İlk olarak HPV'nin "erken" viral genleri eksprese edilir (E5, E6, E7 gibi).

Suprabazal tabakaya girişi takiben "geç" viral gen ekspresyonu başlar. Sirküler viral genom çoğalır ve yapısal proteinler oluşur. Epidermis veya mukozanın üst tabakalarında komplet viral partiküller toplanır ve açığa çıkar.^{40,49,50} Enfeksiyonun olabilmesi için bazal tabaka hücrelerinin uygunluğu yani deri veya mukozada mikrolezyonlar gereklidir. Enfekte hücreler bölünürler ve popülasyon lateral olarak yayılır. Yavru hücrelerin bir kısmı ise diferansiye olan suprabazal tabakaya göç eder. Burada viral genler aktive olur. Viral DNA replikasyonu ve kapsid proteinlerin oluşumu sonrasında viral partiküller oluşur. Yüzeyde bu partiküller salınır ve başka dokuları enfekte ederler. Yüksek riskli HPV'ler; büyümeyi stimüle edici ve transforme edici özelliklere sahip en az üç protein kodlarlar: E5, E6, E7.^{39,50}



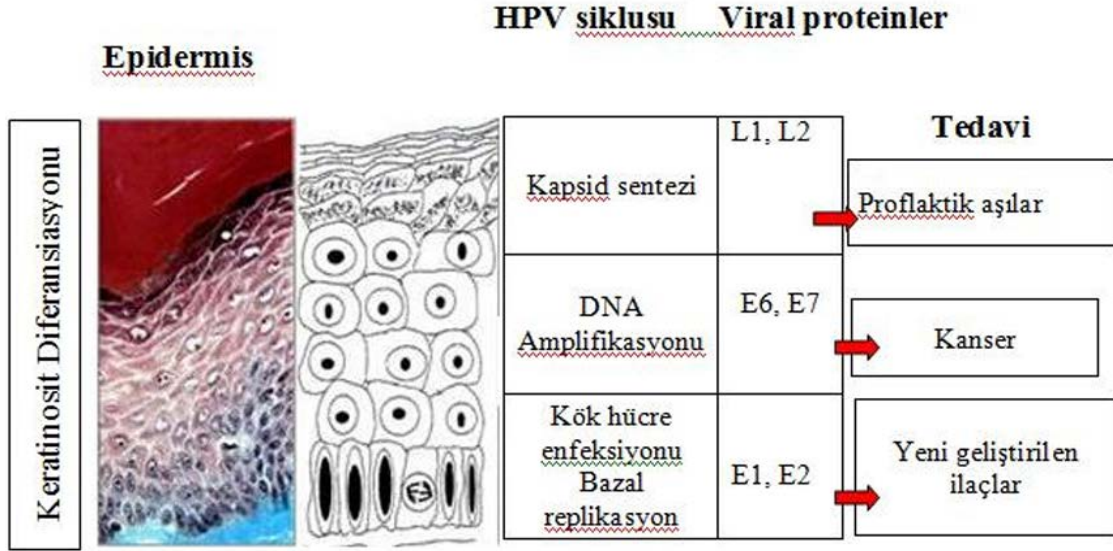
Şekil 6. HPV'nin yaşam döngüsü⁵¹

E5 Protein: Golgi aparatı ve endoplazmik retikulumda bulunan hidrofobik bir proteindir. Enfeksiyonun erken safhasında eksprese olur. Epitel hücre proliferasyonunda ve apoptozisin önlenmesinde rol alır.^{43,44}

E6 Protein: E6 ve E7 proteinleri birçok hücrede ölümsüzlüğe sebep olmakta ve malignite gelişimine zemin hazırlamaktadır. E6 proteini p53 genine yüksek derecede afinite gösterir ve E6 ilişkili proteine bağlanarak p53 yıkımını sağlar. p53 genin inaktive olması ile siklin B tekrar düzenlenir. Siklin B, siklin bağımlı kinaz (SBK)1'e bağlanarak "mitoz ilerletici faktör" ü oluşturur. İnvaziv kanserlerde Siklin B ve SBK1'in artışı saptanmıştır. E6 proteini yabancı DNA'nın konak hücreye girişine de yardımcı olur.^{39,47,42,50}

E7 Protein: E7 proteininin en önemli fonksiyonu Rb genini fosforile ederek yıkımına sebep olmaktır. Bunun sonucunda E2F ailesine ait transkripsiyon faktörleri açığa çıkar ve hücre siklusu aktive olur. Yüksek riskli HPV tiplerinin E6 ve E7 proteinleri maligniteye zemin hazırlarken, düşük riskli tiplerin E6 ve E7 proteinleri ile

malign değişim görülmez. HPV'nin diğer "erken" proteinlerinin (E1, E2, E4) ise malign değişime katkısı gösterilememiştir.^{43,44}



Şekil 7. HPV'nin etki mekanizması⁵²

2.4. Tümör Supresör Genler

Protoonkogenler hücre çoğalmasını destekleyici proteinler üretirken, tümör supresör genler hücre çoğalmasını engelleyecek ürünler üretirler.

Tümör supresör genlerin fonksiyonu hücre büyümesini düzenlemektir, tümör oluşmasını engellemek değildir. Bu genlerin kaybı birçok insan tümörlerinde anahtar rolü oynadığı için ilk bulunduklarında bu genlere tümör supresör genler ya da antionkogen denilmiştir. İlk çalışılan tümör supresör geni retinoblastomadır. Bu çalışmalar sonucunda retinoblastomaların % 60'ının sporadik, % 40'ının ise kalıtsal olduğu ortaya çıkmıştır. Kalıtsal ve sporadik olarak iki değişik şekilde ortaya çıkışı açıklamak için iki-vuruş (two-hit) hipotezi ortaya atılmıştır. Buna göre kalıtsal retinoblastomada; bir genetik değişiklik kalıtsal olarak anne-babadan birinden alınır ki bu ilk-vuruştur (first-hit). İkinci mutasyon sporadik olarak ortaya çıkar, bu da ikinci vuruştur (second-hit). Sporadik retinoblastomada ise iki mutasyon da aynı hücrede sporadik bir şekilde görülür, daha sonra bu hücrede tümör oluşturur.¹⁰

Tümör supresör genlerin protein ürünleri: Büyümeyi inhibe eden faktörlerin de aynı büyüme faktörleri gibi, bir sinyal ileti sistemleri olduğu düşünülmektedir.

Mitojenik sinyallere benzer şekilde büyümeyi inhibe eden sinyallerin de hücre dışında başlayıp reseptörleri, sinyal ileten proteinleri, hücre siklusunu ve nükleer transkripsiyonu düzenleyen faktörleri kullanarak görevlerini yaptıkları düşünülmektedir. En sonunda; bütün pozitif ve negatif sinyaller nükleusta toplanırlar ve burada bölünme ya da bölünmeme kararı verilir. Bununla bağlantılı olarak bazı tümör supresör genlerinin ürünleri nükleusta bulunurlar. Başlıca tümör supresör genler şunlardır; Rb geni, p53 geni, BRCA-1 ve BRCA-2 genleri, APC geni, VHL geni, NF-1 ve NF-2 geni, PTEN geni, WT-1 geni.^{10,53,54}

2.4.1. p16:

Hücre siklusunun kontrol mekanizmasında çok çeşitli proteinler yer alır. Özellikle G1 progresyonunun kontrolünde etkili proteinlerle oluşan değişiklikler, pek çok kanserin gelişimine neden olur. Bu proteinlerin en önemlileri G1 SBK aktivitesini kontrol eden p16 ve normalde G1 siklin bağımlı kinazlar tarafından düzenlenen Rb'dir.^{55,56} p16, SBK-4 ve SBK-6'ı inaktive eden bir tümör supresör gendir. 9. kromozomda lokalizedir.^{56,57} Normalde displazi içermeyen hücrelerde p16 proteini oldukça düşük seviyededir ve immunhistokimyasal olarak tespit edilemez.⁵⁹ Yetişkinlerde normal proliferatif endometriumda, meme duktal epitelinde, serviksin tubal metaplazik epitelinde, özefageal skuamöz epitelde, tükrük bezinde ve antral gastrik bezlerde ekspresyonu vardır. Ayrıca pankreasın Langerhans hücreleri, testisin Leydig ve Sertoli hücrelerinde de eksprese edilebilir. İnfantlarda timik Hassal korpuskullerinde sınırlıdır; nadiren pankreas epitel hücrelerinde görülür.^{57,60}

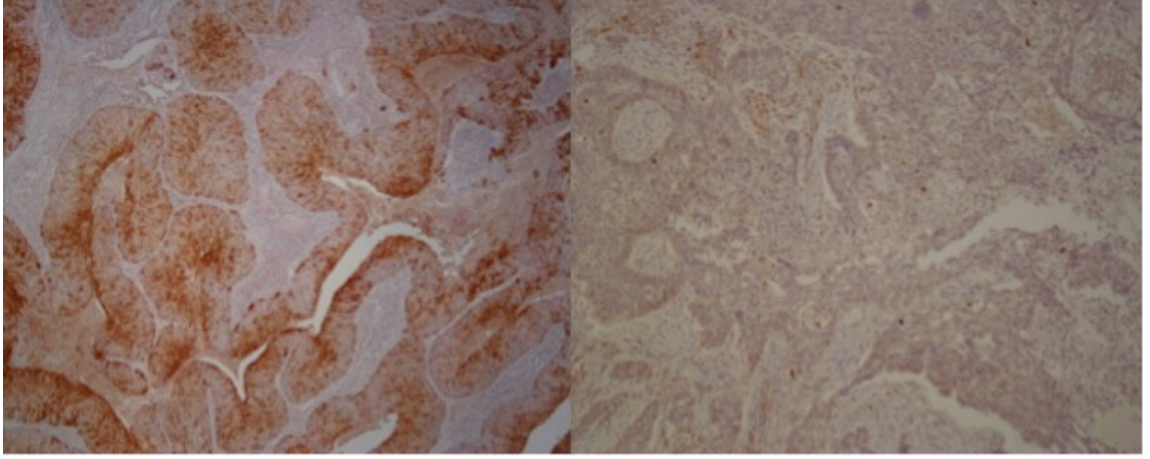
3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda takip edilen ve Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı ve izlemi yapılan 90 adet larinks yerleşimli ileri evre skuamöz hücreli karsinom olgusu ve 10 adet normal larinks mukozası kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. % 10'luk formaldehitte tespit edilen dokular, doku takip işleminden sonra bloklanarak 5 mikronluk seri kesitlerde hematoxilen eozin (HE) boyalı preparatlar hazırlandı. Işık mikroskopunda incelendi. Histolojik kesitler immünohistokimyasal boyama için özel polyisinli lamlara alındı. PCR için ise 5µ'luk 5-10 yaprak örnek alındı. Çalışma grubuna alınan olguların parafin bloklarından hazırlanan kesitlere Strept Avidin-Biotin kompleks immünperoksidaz yöntemi ile p16 (Ventana , 760 - 500) uygulandı. Tüm antikorlar için pozitif kontrol olarak normal larinks mukozası kullanıldı. Hazırlanan örnekler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Ayrıca olguların parafin bloklarından hazırlanan kesitlere PCR yöntemiyle önce poliklonal HPV, daha sonra HPV 16 ve 18 çalışıldı. p16 immünohistokimya yöntemiyle uygulandı. Genel HPV, 16 ve 18 tipleri PCR yöntemiyle araştırılması yapıldı.

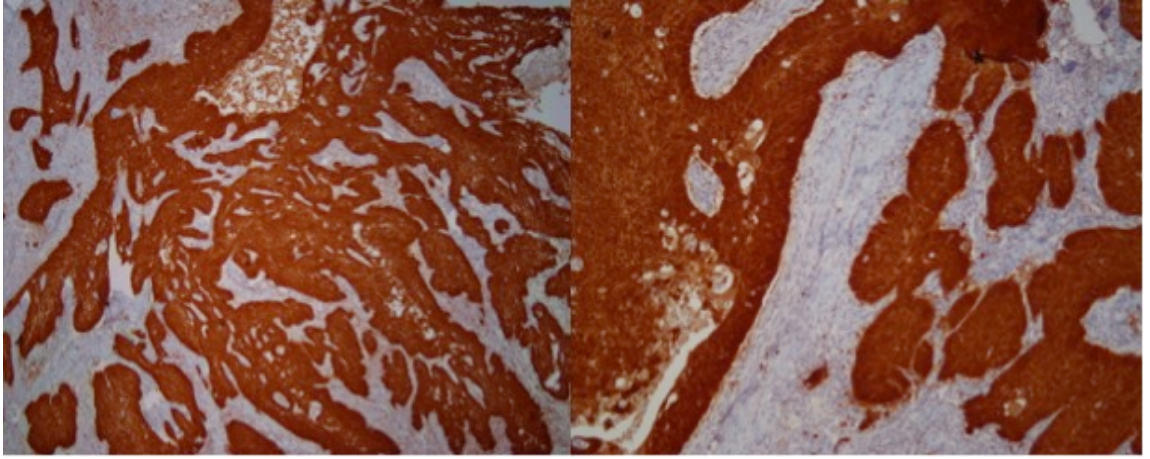
3.1. CINTec® p16 Histology Kit

%10'luk formaldehite tespit edilen dokular, 5 mikronluk parafin bloklarından hazırlanan kesitlere Ventana Marka Bench Mark XT model otomatik immünohistokimya boyama cihazında Ultraview Universal DAB Detection kit (Ventana , 760 - 500) ile;

- CINTec® p16 Histology Kit (Ventana) uygulandı.
- Işık mikroskopunda değerlendirildi.



Şekil 9. İmmünohistokimyasal yöntem ile uygulanan p16 negatif saptanan olgulara ait örnekler. (İHK×100, İHK×40)



Şekil 10. İmmünohistokimyasal yöntem ile uygulanan p16 pozitif saptanan olgulara ait örnekler. (İHK×40, İHK×100)

3.2. PCR yöntemi ile Poliklonal HPV, HPV Tip 16 ve 18 Araştırılması

Parafin doku 5µm'lik 5-10 yaprak kesit yapıldı. Bu yaprakları bir kürdan yardımı ile 1,5 ml'lik Dnase - Rnase free ependorf tüpüne kesitler steril bir şekilde alındı ve aşağıdaki işlemler yapıldı:

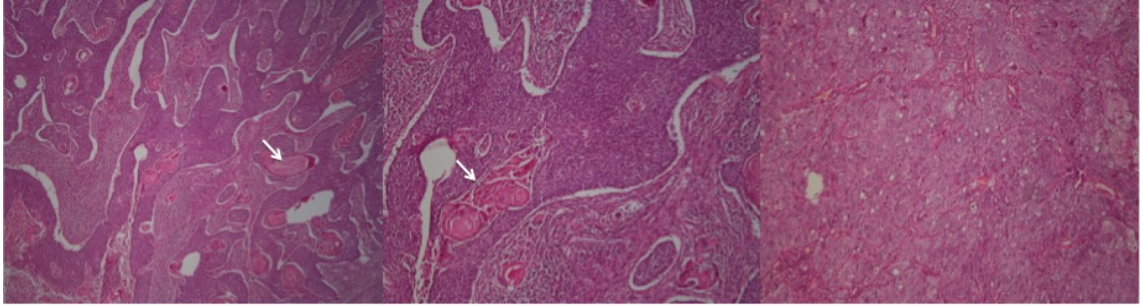
I-Parafin Bloktan Nükleik Asit DNA İzolasyonu

A-Parafinden Uzaklaştırma

- 1) 25 – 50 mgr. formal ile fiks edilmiş parafin bloğa gömülmüş doku örnekleri, 5µ'luk 5-10 yaprak kesilip 1.5ml'lik steril ependorf tüplerine konuldu.
- 2) Bu tüplerin içine 1 ml. ksilen koyuldu, 15 dk. deparafinize için bekletildi. 5 dk.

13.000 g'de santrifüj edilip, üst sıvısı atıldı. Bu işlem 3 defa tekrarlandı.

- 3) 1 ml. % 100 etanol koyuldu ve 10 sn. spindoown yapıldı. 5 dk. 13.000 g'de santrifüj yapıldı ve üst sıvısı alındı.
- 4) 1 ml. % 80 etanol koyuldu ve 10 sn. spindoown yapıldı. 5 dk. 13.000 g'de santrifüj yapıldı ve üst sıvısı alındı.
- 5) 1 ml. % 60 etanol koyuldu ve 10 sn. spindoown yapıldı. 5 dk. 13.000 g'de santrifüj yapıldı ve üst sıvısı alındı.
- 6) 1 ml. % 40 etanol koyuldu ve 10 sn. spindoown yapıldı. 5 dk. 13.000 g'de santrifüj yapıldı ve üst sıvısı alındı.
- 7) 1 ml. double distile su koyuldu ve 10 sn. spindoown yapıldı. 5 dk. 13.000 g'de santrifüj yapıldı ve üst sıvısı pipetle alındı kurutuldu.



Şekil 11. Skuamöz hücreli karsinom olgularına ait H&E kesitlerde, stromaya invazyon yapan iyi diferansiye tümör hücrelerinde yer yer konsantrik keratin lamellöz yapılar dikkat çekmektedir (ok ile işaretli). (H&E×40, H&E×100, H&E×100)

B-DNA Eldesi:

Dokudan parafinle uzaklaştırma ve DNA izolasyonu Roche firmasının “*HIGH PURE VIRAL NUCLEIC ACIT KIT –CAT. NO.:1858874001*” ile elde edildi.

Prosedür:

- 1) Kurutulmuş 25 – 50 mgr’lık dokular üzerine 200 ml. Binding Buffer karışımı Poly(A) + 50 ml Protein K koyuldu ve karıştırıldı.
- 2) Karıştırdıktan sonra +70 °C’de 10 dk. bekletildi.
- 3) Sonra karışımın üzerine 100 ml. Binding Buffer koyuldu.
- 4) Filtreli tüpün altını örnek sayısı kadar dizildi üzerine filtreli tüp koyuldu. Tüplerin üzerine numara yazıldı.

- 5) Bu karışımı filtrelı tüplere koyuldu 1 dk. 8000 g'de santrifüj yapıldı. Altteki tüpü atıldı ve yerine temiz tüp koyuldu.
- 6) Filtrelı tüpün üzerine 500 ml. İnhibitor Removal Buffer koyuldu ve alt üst etıldı 1 dk. 8000 g'de santrifüj yapıldı. Altteki tüpü atıldı ve yerine temiz tüp koyuldu.
- 7) Filtrelı tüpün üzerine 450 ml. Wash Buffer koyuldu ve 1 dk. 8000 g'de santrifüj yapıldı. Altteki tüpü atıldı ve yerine temiz tüp koyuldu.
- 8) Filtrelı tüpün üzerine 450 ml. Wash Buffer koyuldu ve 1 dk. 8000 g'de santrifüj yapıldı. Altteki tüpü atıldı ve yerine temiz tüp koyuldu ve maksimum hızda 13.000 g'de tekrar santrifüj etıldı.
- 9) Steril 1.5 ml. ependorf tüpü alındı. Filtrelı tüpü bu ependorfun içine koyuldu. Üzerine 50 ml. Elution Buffer koyuldu ve 1 dk. 8000X g 'de santrifüj edildi.
- 10) Purified edilmiş Viral Nükleik Asid miks edildi.

II-PCR Miks Hazırlama

A-Beta Globilin-PCR(Elde edilen ürünlerin DNA varlığının kanıtlanması)

a-PCR Amplikasyonu: β - globilin Hind III - X bölgesine ait **268 bp**

Primer1(PCO4)=5'-CAA-CTT-CAT-CCA-CGT-TCA-CC-3'

Primer2(GH20)=5'-GAA-GAG-CCA-AGG-ACA-GGT-AC-3'

PCR Amplikasyonu için her tüpe: PCR core kit ve yukarıdaki şekilde düzenlenen primerler kullanılarak, steril 0.2 ml.'lik mikrosantrifüj tüpünün içine her bir örnek için aşağıda belirtilen miktarlar kullanılarak PCR karışımı hazırlandı.

ektrasyon örneği (hasta DNA örneği) = 5 μ l.

10 X PCR(10 mmol/L Tris HCl, pH 8.3, 50 mmol/L KCl) = 2,5 μ l. (Final konsantrasyon 1XPCR buf.)

25 Mm MgCl₂ =3 μ l. (Final konsantrasyon 3 mmol/L)

10 mmol/L dNTP =0,5 μ l. (Final konsantrasyon 0.2 mmol/L)

Spermidin =1,25 μ l. (Final konsantrasyon 0.01 gr/L)

50 kU/L Taq DNA Polimerase =0,125 μ l.

Primer 1 (PCO4) = 0,25 μ l.

Primer 2 (PCO4) =0,25 μ l.

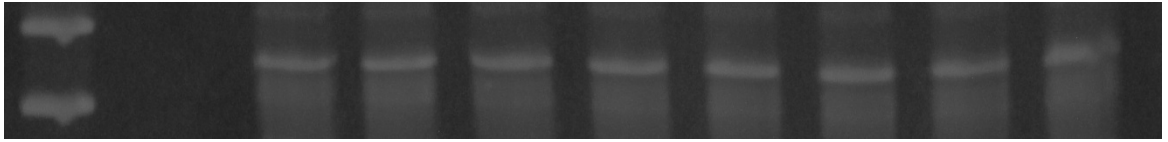
Distile su =12,125 μ l.

Toplam 25 μ l

b-Bio-rad my-Cycler system tipi termal Cycler’da:

	<u>saat</u>	<u>dak</u>	<u>sn.</u>
1step 95°C	0	5	0
2step 94°C	0	1	0
3step 55°C	0	1	30
4step 72°C	0	2	0
5step go to 2 git	cycle 35’da		
7step 72°C	0	7	0
7step +4°C	24	0	0
8step	END olacak şekilde programlandı.		

c-PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi: PCR amplikasyonundan sonra 1µl loading buffer +10µl. PCR ürünü 0.5mgr/L etidyum bromid ile boyanmış PAGE (polyakrilamide jel) jelinde uygulanan elektroforez işlemi 100V da 60-80dak. yürüt. Örneklerde β-globulin HindIII-X bölgesine ait **268bp**’lık DNA Fragmanlarının varlığı araştırıldı. Pozitif olan örnekler Genel HPV, HPV-16 ve HPV-18 PCR yapıldı.



Şekil 12. Beta Globulin’in PAGE (polyakrilamide jel) görüntü(29:1 oranında PAGE göüntüsü): 1. kuyucuk; marker(100bp), 2. kuyucuk negatif kontrol, 3. kuyucuk pozitif kontrol 4., 5., 6., 7., 8. 9 ve10. kuyucuk pozitif olgular.

B- HPV (Genel)

a-PCR Amplikasyonu:Genel HPV HindIII-X bölgesine ait **150bp**’lık

HPV(Genel) Primer dizisi

Upstream (Forward) (GP5+):5’-TTT-GTT-ACT-GTG-GTA-GAT-ACT-AC-3’

Downstream(Reverse)(GP6+):5’-GAA-AAA-TAA-ACT-GTA-AAT-CAT-ATT-C-3’

PCR Amplikasyonu için her tüpe: PCR core kit(Promega M7660)ve yukardaki şekilde düzenlenen primerler kullanılarak,steril 0.2ml.'lik mikrosentrifüj tüpünün içine her bir örnek için aşağıda belirtilen miktarlar kullanılarak PCR karışımı hazırlandı.

ekstrasyon örneği	= 5µl.	
10XPCR(10mmol/L Tris HCl,pH 8.3, 50mmol/L KCl)	= 2.5µl.	(Final konsantrasyon 1X)
25Mm MgCl ₂	= 3µl.	(Final konsantrasyon 3mmol/L)
10 mmol/L dNTP	=0.5µl.	(Final konsantrasyon 0.2 mmol/L)
Spermidin +BSA	=2.5µl.	
50kU/LTaq DNA Polimerase	=0,125µl.	
Upstream(Forward)Primer1(2.0µmol/L)	=0,5µl.	
Upstream(Forward)Primer2(2.0µmol/L)	=0,5µl.	
Distile su	= 10,375µl.	
Toplam 25µl		

b-Bio-rad my-Cycler system tipi termal Cyclerda:

	<u>saat</u>	<u>dak</u>	<u>sn.</u>
1step 94°C	0	5	0
2step 94°C	0	0	30
3step 45°C	0	0	30
4step 72°C	0	1	30
5step go to 2 git cycle 45'da			
6step 72°C	0	7	0
7step +4°C	24	0	0
8step END olacak şekilde programlandı.			

c-PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi: PCR Amplikasyonundan sonra 1µl loading buffer +10µl. PCR ürünü 0.5mgr/L etidyum bromid ile boyanmış PAGE (polyakrilamide jel) jelinde uygulanan elektroforez işlemi 100V da 60-80dak. yürüt.

Örneklerde HPV HindIII-X bölgesine ait **150bp**’lık DNA Fragmanlarının varlığı araştırıldı.



Şekil 13. Poliklonal HPV’nin PAGE (polyakrilamide jel) görüntü(29:1 oranında PAGE göüntüsü):1. kuyucuk; marker(100bp) , 2. kuyucuk negatif kontrol 3.kuyucuk HPV pozitif (150 bp), 4., 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 kuyucuk HPV pozitif olgular.

C- HPV-16

a-PCR Amplikasyonu:HPV-16 HindIII-X bölgesine ait **152bp**’lık

HPV-16 Primer dizisi

Upstream (Forward) :5’-TGC-TAG-TGC-TTA-TGC-AGC-AA-3’

Downstream(Reverse):5’-ATT-TAC-TGC-AAC-ATT-GGT-AC-3’

PCR Amplikasyonu için her tüpe: PCR core kit(Promega M7660)ve yukardaki şekilde düzenlenen primerler kullanılarak,steril 0.2ml.’lik mikrosentrifüj tüpünün içine her bir örnek için aşağıda belirtilen miktarlar kullanılarak PCR karışımı hazırlandı.

ekstrasyon örneği	= 5µl.	
10XPCR(10mmol/L Tris HCl,pH 8.3, 50mmol/L KCl)	= 2.5µl.	(Final konsantrasyon 1X)
25Mm MgCl ₂	= 3µl.	(Final konsantrasyon 3mmol/L)
10 mmol/L dNTP	=0.5µl.	(Final konsantrasyon 0.2 mmol/L)
50kU/LTaq DNA Polimerase	=0,125µl.	
Upstream(Forward)Primer1(2.0µmol/L)	=0,5µl.	
Upstream(Forward)Primer2	=0,5µl.	
Distile su	= 12,875µl.	

Toplam 25µl

b-Bio-rad my-Cycler system tipi termal Cyclerda:

	<u>saat</u>	<u>dak</u>	<u>sn.</u>
1step 94°C	0	5	0
2step 94°C	0	1	0
3step 55°C	0	1	0
4step 72°C	0	1	0
5step go to 2 git cycle 40'da			
6step 72°C	0	7	0
7step +4°C	24	0	0
8step END olacak şekilde programlandı.			

c-PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi: PCR Amplikasyonundan sonra 1µl loading buffer +10µl. PCR ürünü 0.5mgr/L etidyum bromid ile boyanmış PAGE (polyakrilamide jel) jelinde uygulanan elektroforez işlemi 100V da 60-80dak. yürüt. Örneklerde HPV-16 HindIII-X bölgesine ait **152bp**'lık DNA Fragmanlarının varlığı araştırıldı.



Şekil 14. HPV 16'nın PAGE (polyakrilamide jel) görüntüsü 1. kuyucuk; marker (100 bp), 2. kuyucuk; HPV-16 pozitif kontrol (152 bp), 3. kuyucuk HPV-16 negatif kontrol 4, 5, 6, 7, 8, 9ve 10 kuyucuk HPV- 16 pozitif olgular

D- HPV-18

a-PCR Amplikasyonu:HPV-18 HindIII-X bölgesine ait **216bp**'lık

HPV-18 Primer dizisi

Upstream (Forward) :5'-AAG-GAT-GCT-GCA-CCG-GCT-GA-3'

Downstream(Reverse):5'-CAC-GCA-CAC-GCT-TGG-CAG-GT-3'

PCR Amplikasyonu için her tüpe: PCR core kit(Promega M7660)ve yukardaki şekilde düzenlenen primerler kullanılarak,steril 0.2ml.'lik mikrosentrifüj tüpünün içine her bir örnek için aşağıda belirtilen miktarlar kullanılarak PCR karışımı hazırlandı.

ekstrasyon örneği	= 5µl.
10XPCR(10mmol/L Tris HCl,pH 8.3, 50mmol/L KCl)	= 2.5µl. (Final
konsantrasyon 1X)	
25Mm MgCl ₂	= 3µl. (Final konsantrasyon
3mmol/L)	
10 mmol/L dNTP	=0.5µl. (Final konsantrasyon
0.2 mmol/L)	
50kU/LTaq DNA Polimerase	=0,125µl.
Upstream(Forward)Primer1(2.0µmol/L)	=0,5µl.
Upstream(Forward)Primer2	=0,5µl.
Distile su	= 12,875µl.
	Toplam 25µl

b-Bio-rad my-Cycler system tipi termal Cyclerda:

	<u>saat</u>	<u>dak</u>	<u>sn.</u>
1step 94°C	0	5	0
2step 9°C	0	1	0
3step 58°C	0	1	0
4step 72°C	0	2	0
5step go to 2 git cycle 40'da			
6step 72°C	0	7	0
7step +4°C	24	0	0
8step END olacak şekilde programlandı.			

c-PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi: PCR amplikasyonundan sonra 1µl loading buffer +10µl. PCR ürünü 0.5mgr/L etidyum bromid ile boyanmış PAGE (polyakrilamide jel) jelinde uygulanan elektroforez işlemi 100V da 60-80dk. yürüt. Örneklerde HPV-18 HindIII-X bölgesine ait **216bp**'lık DNA Fragmanlarının varlığı araştırıldı.



Şekil 15. HPV 18'in PAGE (polyakrilamide jel) görüntüsü 1. kuyucuk; marker(100 bp), 2. kuyucuk; HPV- 18 pozitif (216 bp), 3. kuyucuk; HPV- 18 negatif kontrol 4, 5, 6, 7 ve 8. kuyucuk HPV- 18 pozitif olgu

3.3. İstatistiksel Analiz

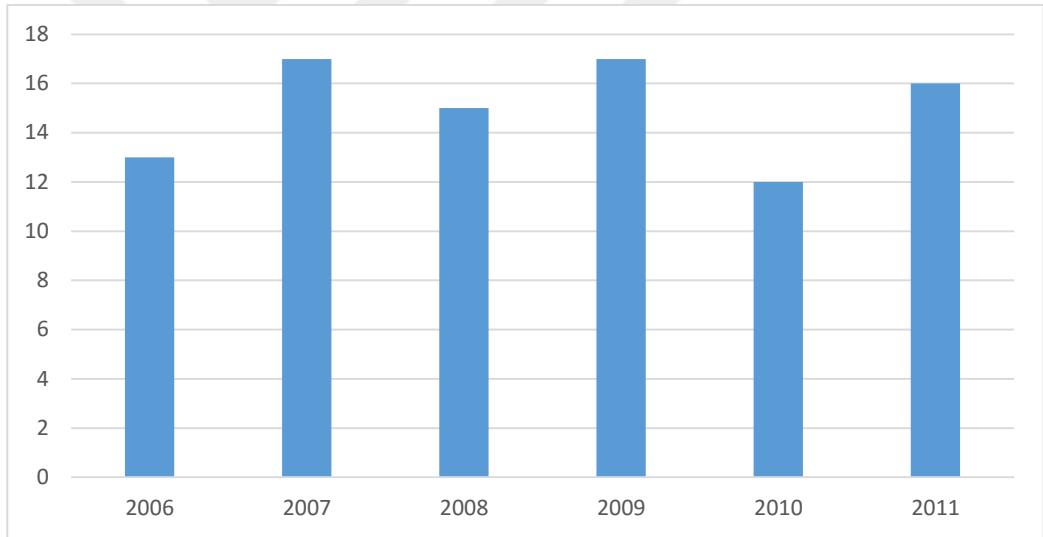
Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümler ise ortalama ve standart sapma olarak özetlendi. Kategorik ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Gruplar arasında sayısal ölçümlerin karşılaştırılmasında Bağımsız gruplarda T testi kullanıldı. HPV ve P16 arasındaki uyumu incelemeye McNemar testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.⁶¹

4. BULGULAR

Bu çalışmaya, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (ÇÜTF) Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda Ocak 2006 - Aralık 2011 tarihleri arasında tanı alan ve daha öncesinde tedavi almamış T3 ve T4 ileri evre 90 hasta dahil edildi. Erken evre larinks kanserli olgular, öncesinde tanı ve tedavi almış ve düzenli takipleri yapılamayan olgular çalışmamıza dahil edilmedi.

p16 için immünohistokimyasal boyama yöntemiyle formolle fikse parafin biyopsi dokuları ve kontrol grubu olarak 10 adet normal larinks dokusu kullanıldı. HPV ve subtipinin belirlenmesinde PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi kullanıldı. Hastaların tedavi ve takipleri dosya arşiv kayıtlarından retrospektif olarak incelendi.

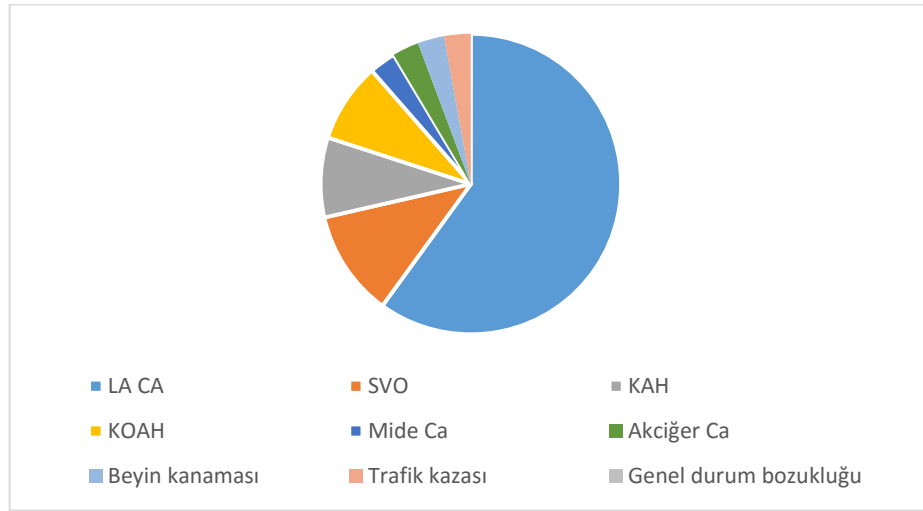
Tablo 1. Yıllara göre larinks karsinomu vaka sayıları



Olguların 84'ü (% 93,3) erkek, 6'sı (% 6,7) kadın idi. Yaş ortalaması 59,9 + 10,8 (26-83) idi. Olgulardan 46'sı (% 51,1) iyi diferansiye, 28'i (% 31,1) orta derecede diferansiye ve 16'si (% 17,8) ise az diferansiye idi. Tümörlerin 44'ü (% 48,9) glottik, 24'ü (% 26,7) supraglottik, 22'si (% 24,4) transglottik yerleşimli idi. T3 60 olgu (% 66,7), T4 30 olgu (%33,3) izlendi. Lenf nodu (LN) metastazı 29 (% 32,2) hastada saptandı. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalar sigara kullanıyordu. Alkol kullanan hasta sayısı 52 (%57,8), alkol kullanmayan hasta sayısı 38 (%42,2) idi. Olguların 27'sinde (%30) nüks saptandı, 63'ünde (%70) nüks saptanmadı. Olguların 9'una (%10) sadece

cerrahi uygulanırken 40'ına (%44,4) operasyon sonrası radyoterapi, 28'ine (%31,1) operasyon sonrası kemoradyoterapi, 13'üne (%14,4) ise sadece kemoradyoterapi verildi. Hastalarımızın ortalama takip süresi 6.7 yıl olarak tespit edildi. Olguların 53'ü (%58,9) 5 yıl üzeri yaşam süresine sahipti, 37'si (%41,1) 5 yıl ve altı yaşam süresine sahipti. 37 hastanın 21'i (%56,8) larinks kanserine, 16'sı (%43,2) diğer nedenlere bağlı öldü (Tablo 2).

Tablo 2. Ölüm nedenleri



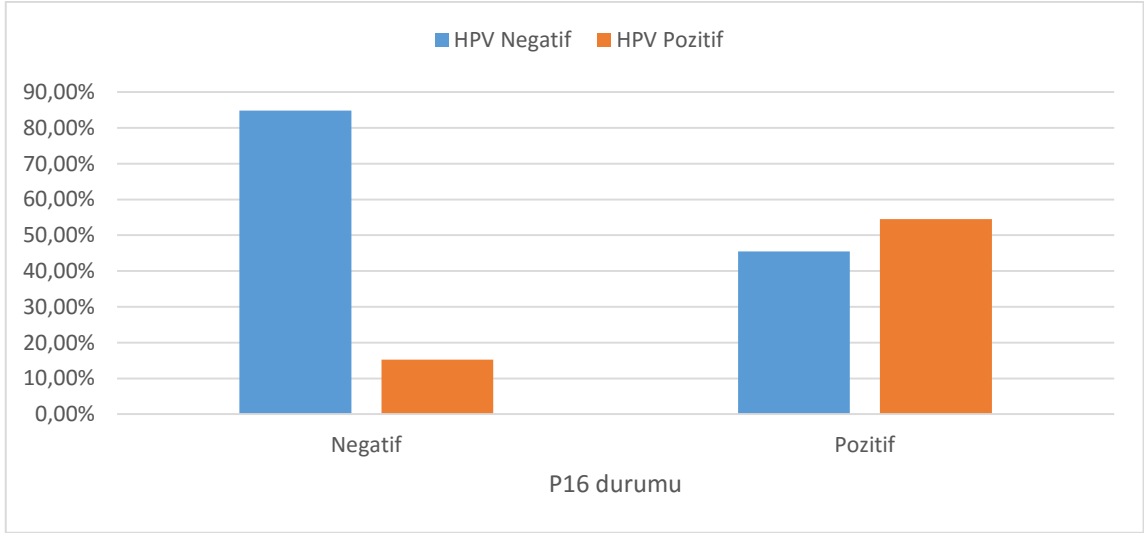
Olguların 11'inde (% 12,2) PCR yöntemi ile poliklonal HPV pozitifliği saptandı. Bu 11 olgudan 6'sında (% 54,5) HPV 16, 4'ünde (% 36,4) HPV 18, 1'inde (%9,1) HPV 16 ve 18 pozitif idi. Olguların 18'inde (%20) immünohistokimyasal boyama yöntemiyle p16 pozitif idi. Olguların 6'sında (%6,6) hem HPV hem de p16 pozitifliği mevcuttu (Tablo 3).

Tablo 3. HPV ve p16 ilişkisi

	p16 (+)	p16(-)	Toplam
Hpv (+)	6 (%54,5)	5 (%45,5)	11 (%100)
Hpv (-)	12 (%15,2)	67 (%84,8)	79 (%100)
Toplam	18 (%20,0)	72 (%80,0)	90 (%100)

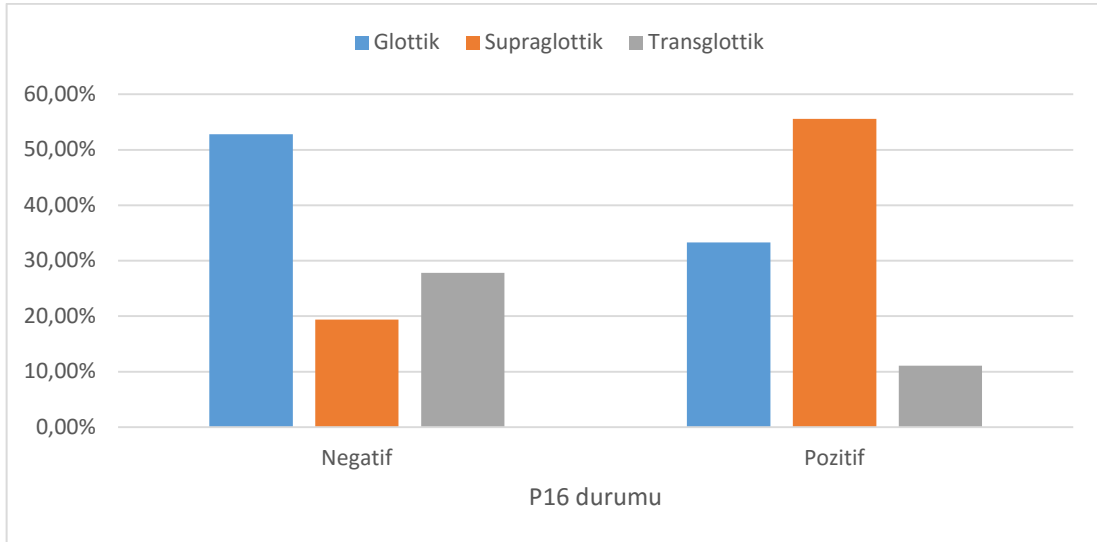
HPV ve p16 test sonuçları arasındaki ilişki uyumlu bulunmamıştır. HPV pozitif olgularda p16 pozitif olmak durumunda değildir (Tablo 4).

Tablo 4. p16- HPV ilişkisi



Çalışmamızda p16 pozitif olgularda tümörün supraglottik alanda yerleşim oranı artmış olarak saptandı. p16 pozitifliği ile supraglottik alanda yerleşim arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,011$). P16 pozitif olguların %55,6'sı supraglottik, %33,3'ü glottik ve %11,1'i transglottikti (Tablo 5).

Tablo 5. p16 – tümör lokalizasyonu ilişkisi



p16 pozitif olgularda alkol kullanımı daha az olarak saptandı. p16 pozitifliği ile alkol kullanımı arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,004$).

p16 pozitif olguların %72,2 si alkol kullanmıyor iken %27,8'i alkol kullanıyordu (Tablo 11).

p16 pozitifliği ile ortalama yaş, diferansiyasyon, sigara, evre, LN metastazı, nüks, ölüm nedeni ve tedavi yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 6).

Tablo 6. p16'nın klinik parametrelerle ilişkisi

	+	-	p
Yaş	56,61 (9,865)	60,79 (10,927)	0,143
Diferansiyasyon			0,972
İyi	9 (%50)	37 (%51,4)	
Orta	6 (%33,3)	22 (%30,6)	
Kötü	3 (%16,7)	13 (%18,1)	
Lokalizasyon			0,011
Glottik	6 (%33,3)	38 (%52,8)	
Supraglottik	10 (%55,6)	14 (%19,4)	
Transglottik	2 (%11,1)	20 (%27,8)	
Evre			0,576
T3	13 (%72,2)	47 (%65,3)	
T4	5 (%27,8)	25 (%34,7)	
Lenf nodu metastazı			0,215
Pozitif	8 (%44,4)	21 (%29,2)	
Negatif	10 (%55,6)	51 (%60,8)	
Sigara kullanımı (paket/yıl)	45,83 (20,165)	48,75 (16,694)	0,527
Alkol kullanımı			0,004
Kullanan	5 (%27,8)	47 (%65,3)	
Kullanmayan	13 (%72,2)	25 (%34,7)	
Tedavi			0,754
Operasyon	3 (%16,7)	6 (%8,3)	
Operasyon+RT	7 (%38,9)	33 (%45,8)	
Operasyon+KRT	5 (%27,8)	23 (%31,9)	
KRT	3 (%16,7)	10 (%13,9)	
Nüks			0,818
Var	5 (%27,8)	22 (%30,6)	
Yok	13 (%72,2)	50 (%59,4)	
Ölüm nedeni			1,000
La ca	3 (%60)	18 (%56,2)	
Diğer	2 (%50)	14 (%43,8)	

HPV pozitifliği ile ortalama yaş, diferansiyasyon, sigara, evre, LN metastazı, nüks, ölüm nedeni ve tedavi yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (tablo 7).

Tablo 7. HPV'nin klinik parametrelerle ilişkisi

	+	-	p
Yaş	60,27 (11,827)	59,91 (10,732)	0,918
Diferansiyasyon			0,157
İyi	3 (%27,3)	43 (%54,4)	
Orta	4 (%36,4)	24 (%30,4)	
Kötü	4 (%36,4)	12 (%15,2)	
Lokalizasyon			0,722
Glottik	5 (%45,5)	39 (%49,4)	
Supraglottik	4 (%36,4)	20 (%25,3)	
Transglottik	2 (%18,2)	20 (%25,3)	
Evre			0,496
T3	6 (%54,5)	54 (%68,4)	
T4	5 (%45,5)	25 (%31,6)	
Lenf nodu metastazı			0,741
Pozitif	4 (%36,4)	25 (%31,6)	
Negatif	7 (%63,6)	54 (%58,4)	
Sigara kullanımı (paket/yıl)	51,82 (19,010)	47,66 (17,187)	0,460
Alkol kullanımı			0,192
Kullanan	4 (%36,4)	48 (%60,8)	
Kullanmayan	7 (%63,6)	31 (%39,2)	
Tedavi			0,310
Operasyon	0 (%)	9 (%11,4)	
Operasyon+RT	5 (%45,5)	35 (%44,3)	
Operasyon+KRT	3 (%27,3)	25 (%31,6)	
KRT	3 (%27,3)	10 (%12,7)	
Nüks			0,728
Var	4 (%36,4)	23 (%29,1)	
Yok	7 (%63,6)	56 (%70,9)	
Ölüm nedeni			1,000
La ca	2 (%50)- La ca	19 (%57,6)-La ca	
Diğer	2 (%50)-Diğer	14 (%42,4)-Diğer	

HPV ve p16 pozitif olgularda da alkol kullanımı daha az olarak saptandı. HPV ve p16 pozitifliği ile alkol kullanımı arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu (tablo 8) (p=0,009). HPV ve p16 pozitif olguların %64,7'si alkol kullanmıyor iken %33,3'ü alkol kullanıyordu.

HPV ve p16 pozitifliği ile ortalama yaş, diferansiyasyon, sigara, evre, LN metastazı, nüks, ölüm nedeni ve tedavi yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 8). p değerleri sırasıyla 0,520, 0,840, 0,105, 0,468, 0,589, 0,291, 0,128, 0,687 olarak saptandı.

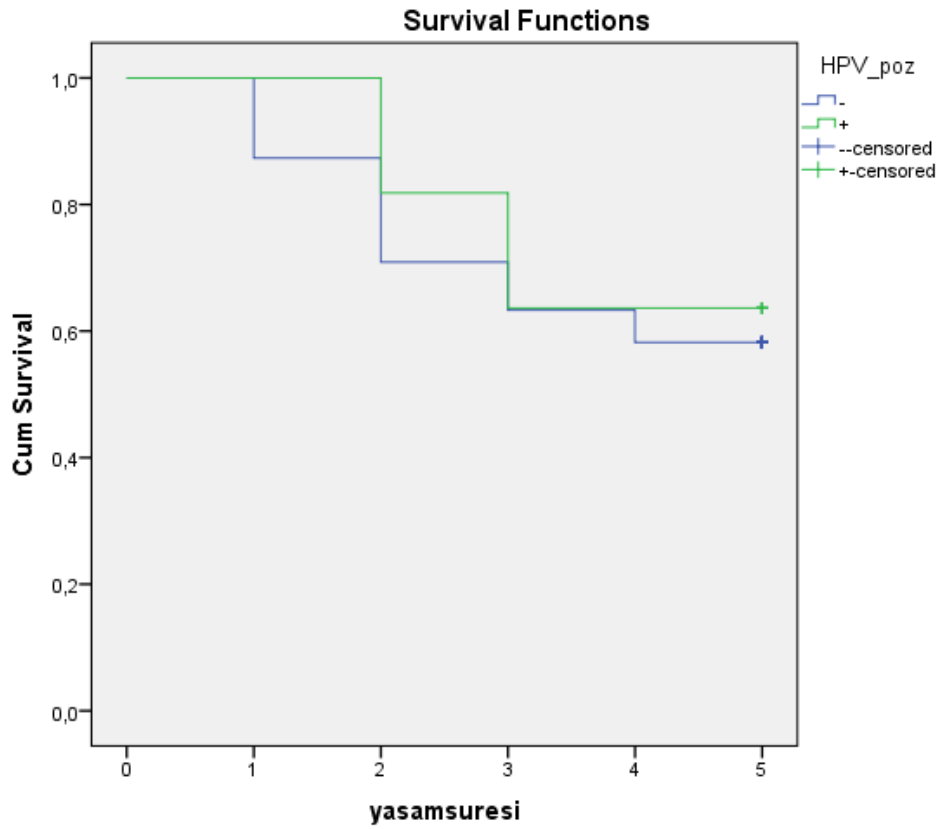
Tablo 8. HPV ve p16 pozitifliğinin klinik parametrelerle ilişkisi

	Her ikisi +	Herhangi biri +	Her ikisi -	p
Yaş	58,83 (12,281)	57,41 (10,063)	60,70 (10,909)	0,520
Diferansiyasyon				0,840
İyi	2 (%33,3)	8 (%47,1)	36 (%53,7)	
Orta	2 (%33,3)	6 (%35,3)	20 (%29,9)	
Kötü	2 (%33,3)	3 (%17,6)	11 (%16,4)	
Lokalizasyon				0,027
Glottik	3 (%50,0)	5 (%29,4)	36 (%53,7)	
Supraglottik	2 (%33,3)	10 (%58,8)	12 (%17,9)	
Transglottik	1 (%16,6)	2 (%11,8)	19 (%28,4)	
Evre				0,468
T3	3 (%50,0)	13 (%76,5)	44 (%65,7)	
T4	3 (%50,0)	4 (%23,5)	23 (%34,3)	
Lenf nodu metastazı				0,589
Pozitif	3 (%50,0)	6 (%35,3)	20 (%29,9)	
Negatif	3 (%50,0)	11 (%64,7)	47 (%70,1)	
Sigara kullanımı (paket/yıl)	57,50 (23,187)	41,47 (14,975)	49,03 (17,061)	0,105
Alkol kullanımı				0,009
Kullanan	2 (%33,3)	5 (%29,4)	45 (%67,2)	
Kullanmayan	4 (%64,7)	12 (%70,6)	22 (%22,8)	
Tedavi				0,687
Operasyon	0 (%0,0)	3 (%17,6)	6 (%9,0)	
Operasyon+RT	2 (%33,3)	8 (%47,1)	30 (%44,8)	
Operasyon+KRT	2 (%33,3)	4 (%23,5)	22 (%32,8)	
KRT	2 (%33,3)	2 (%11,8)	9 (%13,4)	
Nüks				0,291
Var	3 (%50,0)	3 (%17,6)	21 (%31,3)	
Yok	3 (%50,0)	14 (%82,4)	46 (%68,7)	
Ölüm nedeni				0,128
La ca	1 (%33,3)	3 (%100,0)	17 (%54,8)	
Diğer	2 (%66,7)	0 (%0,0)	14 (%45,2)	

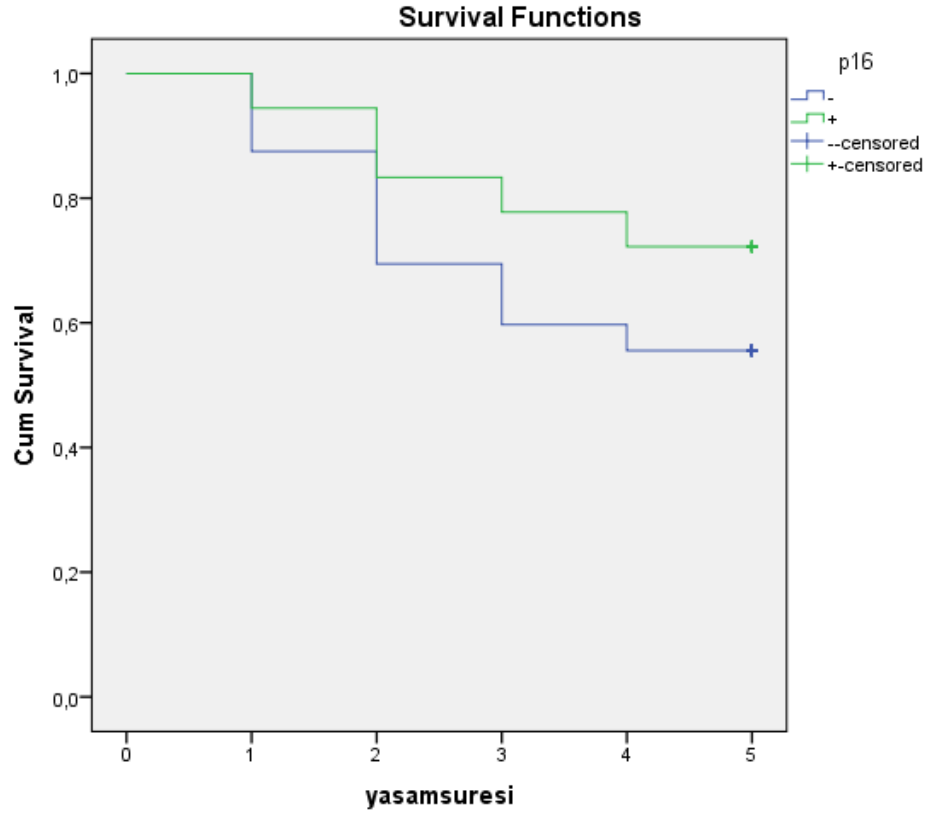
HPV ve p16'nın herhangi birinin veya her ikisinin pozitif olduğu olgularda tümörün supraglottik alanda yerleşim oranı artmış olarak saptandı. HPV ve p16'nın herhangi birinin veya her ikisinin pozitifliği ile supraglottik alanda yerleşim arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu (tablo 8) ($p=0,008$). Olguların %52,2'si supraglottik, %34,8'i glottik, %13'ü transglottik idi.

Çalışmamızda ileri evre LSHK olgularının 5 yıllık yaşam süresi (YS) oranı %57,8 olarak tespit edildi. HPV pozitif olguların 5 yıllık YS oranı %63,6 iken HPV negatif olgularda bu oran %57 idi. p16 pozitif olguların 5 yıllık YS oranı %72,2 iken p16 negatif olgularda %54,2 idi. HPV ve/veya p16 pozitif olgularda 5 yıl üzeri YS daha fazla olmasına rağmen bu değer istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı (Tablo 9-10).

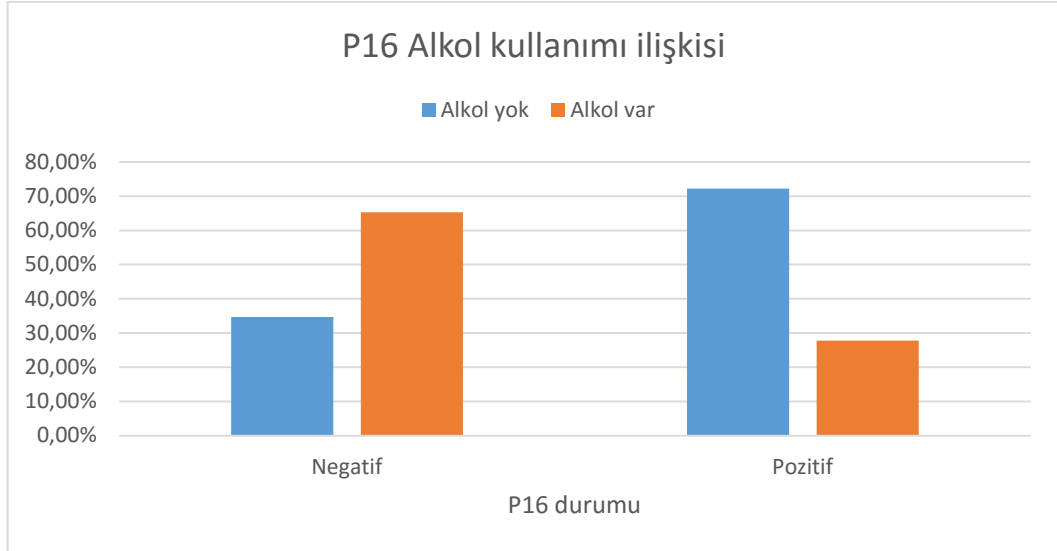
Tablo 9. HPV pozitifliği – 5 yıllık YS arasındaki ilişki



Tablo 10. p16 pozitifliği-5 yıllık YS arasındaki ilişki



Tablo 11. p16 - alkol kullanım ilişkisi



Tablo 12. 5 yıllık YS'nin klinik parametrelerle ilişkisi

	+	-	p
Hpv (+) (-)	7 (%63,6) 46 (%58,2)	4 (%36,3) 33 (%41,8)	1,000
p16 (+) (-)	13 (%72,2) 40 (%55,6)	5 (%27,8) 32 (%44,4)	0,199
Hpv ve p16 Her ikisi pozitif Herhangi biri pozitif Her ikisi negatif	3 (%50,0) 14 (%82,4) 36 (%53,7)	3 (%50,0) 3 (%17,6) 31 (%46,3)	0,073
Hpv ve p16 Herhangi biri veya ikiside (+) Her İkisi negatif	17 (%73,9) 36 (%53,7)	6 (%26,1) 31 (%46,3)	0,090
Yaş	60,57 ± 10,315	59,08 ± 11,550	0,520
Diferansiyasyon İyi Orta Kötü	32 (%69,6) 14 (%50,0) 7 (%43,8)	14 (%30,4) 14 (%50,0) 9 (%56,2)	0,040
Lokalizasyon Glottik Supraglottik Transglottik	26 (%59,1) 14 (%58,3) 13 (%59,1)	18 (%39,9) 10 (%41,7) 9 (%40,9)	0,998
Evre T3 T4	36 (%60,0) 17 (%56,7)	24 (%40,0) 13 (%43,3)	0,762
Lenf nodu metastazı Pozitif Negatif	9 (%31,0) 44 (%72,9)	20 (%69,0) 17 (%27,1)	0,000
Sigara kullanımı (paket/yıl)	47,45 ± 17,002	49,19 ± 18,048	0,842
Alkol kullanımı Kullanan Kullanmayan	28 (%53,8) 25 (%65,8)	24 (%46,2) 13 (%34,2)	0,255
Tedavi Operasyon Operasyon+RT Operasyon+KRT KRT	8 (%88,9) 29 (%72,5) 12 (%42,9) 4 (%30,8)	1 (%11,1) 11 (%27,5) 16 (%57,1) 9 (%69,2)	0,003
Nüks Var Yok	4 (%14,8) 49 (%77,8)	23 (%85,2) 14 (%22,2)	0,000

5. TARTIŞMA

Vücuttaki tüm malign tümörlerin %3'ünü, baş-boyun bölgesindeki malign tümörlerin yaklaşık %25'ini oluşturan larinks karsinomları, dünya genelinde en yaygın 6. kanser olarak tespit edilmiştir.¹ Larinks karsinomlarının %95'ten fazlası skuamöz hücreli karsinomlardır.¹ Multifazik ve multifaktöriyel etyopatogeneze sahip larinks tümörlerinde sigara ve alkol bağımlılığının en sık görülen bağımsız risk faktörü olduğu bilinmektedir.² Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise DNA virüsleri ve özellikle HPV türlerinin de tümör oluşumu ve gelişiminde rol oynadığı bildirilmektedir.^{3,4,5,7,8,38,45} Görülme sıklığı 5. dekattan sonra yükselişe geçmekte ve 7. ve 8. dekatlar civarında tepe noktasına ulaşmaktadır.^{62,63} Larinks karsinomları erkeklerde daha fazla görülmektedir ve hastaların % 96'sı erkektir.^{62,63} Çalışmamızda 40 yaş altında 3 hasta (en düşük 26 yaş) mevcut ve yaş ortalaması 59,9 idi. Olguların %93,3'ü erkek idi.

HPV, hem erkeklerde hem kadınlarda yakın temas ile bulaşan en yaygın virüslerden biridir. HPV tip sayısı daha önceleri 100 civarı belirtilirken bu sayı son yapılan çalışmalarda 200'e yakın olarak belirtilmektedir.^{38,39,64,65,66} Serviks kanserinin etyolojisinde % 100'e yakın oranlarda HPV tipleri suçlu bulunmuştur.^{39,40}

Günümüzde, anal, vulvar, genital ve penil kanserler yanı sıra oral, orofarengeal ve laringeal karsinomların etyolojisinde de HPV pozitifliği gösterilmiştir. Bu konu ile ilgili araştırmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır.^{7,43,67,68}

Yapılan çalışmalarda LSHK'daki HPV saptanma oranları %0 ile %85 gibi geniş bir aralıkta verilmektedir.^{8,43,68,70} Bu geniş aralığın sebebi; hasta seçimi, coğrafi farklılıklar, sigara ve alkol kullanımı, tümör lokalizasyonu, HPV tanı testlerindeki farklılıklar olabilir. Li ve arkadaşlarının yaptıkları metaanaliz de LSHK olguların %28'inde HPV enfeksiyonu saptanmış olup HPV ve LSHK arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır.⁷¹ Klinik çalışmalarda HPV'nin özellikle HPV-16'nın LSHK patogenezinde önemli rol aldığı gösterilmiştir.⁷² HPV pozitifliği Almanya'da %5, Fransa'da %4 iken ABD'de %23 olarak saptanmıştır.⁷² Çalışmamızda 90 hastanın 11'inde (%12,2) HPV pozitif olarak saptandı. HPV pozitif hastaların 6'sında (%54,5) p16 da pozitif saptandı.

Sigara ve alkol kullanımı LSHK etyolojisinde temel risk faktörlerini oluşturur. HPV ise sigara ve alkol kullanımından bağımsız bir risk faktörüdür. Sigara ve alkol

kullanmayan LSHK olgularda HPV insidansının artmış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.^{71,73} HPV pozitifliğine sigara ve alkol kullanımı da eşlik ederse onkosupresör genlerin inaktivasyonu hızlanacağından daha büyük bir risk faktörü oluşur. Ndiaye ve arkadaşlarının yaptığı meta-analizde 2739 LSHK olgusunun 649'unda (%22,1) HPV pozitifliği mevcut olduğu raporlanmıştır.⁷⁴ Aynı çalışmada HPV prevalansının sigara ve alkol kullanımı, cinsiyet ile anlamlı bir ilişkisi saptanmamıştır. Sigara ve alkol kullanmayanlarda HPV pozitifliğinin daha yüksek olduğu gösterilmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Tümör lokalizasyonlarına göre, HPV pozitif olguların %30'u supraglottik, %34'ü glottik olarak bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada 674 LSHK olgusunun 33'ünde (%4,9) HPV pozitifliği mevcut olarak bildirilmiştir.⁷¹ HPV pozitifliği sigara, alkol kullanmayanlarda ve supraglottik bölgede kitlesi olanlarda daha fazla saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışmamızda da benzer şekilde HPV pozitifliği sigara, alkol kullanmayanlarda ve supraglottik bölgede tümör olanlarda daha fazla olduğu, aynı zamanda HPV ve p16 pozitifliği ile alkol kullanımı ve tümör lokalizasyonu (supraglottik yerleşim) açısından istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.

Yapılan çalışmaların çoğunluğunda orofarenks bölgesinde HPV pozitif olgular HPV negatif olanlara göre anlamlı iyi prognoz gösterirken orofarenks dışı baş boyun kanserlerinde (NOSHK) bu durum ispatlanamamıştır.^{73,75} Duray ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada LSHK HPV pozitif ve negatif olgularda; sigara kullanımı, yaş, evre, diferansiyasyon, nüks ve YS açısından anlamlı bir fark raporlanmamıştır. Aynı çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak evre IV LSHK olgularda evre I ve II' ye göre daha fazla HPV pozitifliği mevcut olduğu gösterilmiştir.⁷⁶

HPV ilişkili larinks kanserleriyle ilgili en geniş çalışmalardan birini Morshad ve arkadaşları yapmıştır. Bu çalışmada HPV pozitif ve negatif hastalar arasında tanı sonrası 3. ve 5. yıllarda yapılan takiplerinde YS açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.⁷⁷ Xu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HPV pozitif olguların 1., 2., ve 3. yıllarda YS oranları daha uzun olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.⁷¹ Çalışmamızdaki olguların ortalama takip süresi 6.7 yıl olarak tespit edildi. 5 yıllık sağ kalım oranı %57,8 olup bu oran HPV pozitif olgularda %63,6 ve HPV negatif olgularda %57 idi. 11 HPV pozitif olgunun 7'si (%63,6) 5 yıl üzeri yaşam süresine sahipti. HPV pozitif olgularda 5 yıl üzeri yaşam süresi rakamsal olarak

daha fazla olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. Çalışmamızdaki HPV pozitif 11 olgunun 4'ünde (%36,4) nüks saptanmıştır. 5 yıl içerisinde ikisi nükse bağlı, ikisi de diğer nedenlere bağlı ölüm olmuştur (SVO ve KAH'a bağlı).

Ülkemizde de HPV enfeksiyonu ve larinks kanserleri arasında ilişkiyi inceleyen çalışmalar yapılmıştır. Öktem ve arkadaşlarının çalışmasında 20 adet larinks ve iki adet hipofarenks kanserli olguda PCR yöntemiyle HPV varlığı araştırılmış ve olguların tamamında negatif sonuç elde edilmiştir.⁷⁸ Güvenç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada total ya da parsiyel larenjektomi uygulanmış 40 adet LSHK olgusunun 5'inde (% 12,5) ve verrüköz karsinomlu iki olgunun her ikisinde PCR yöntemiyle HPV pozitifliği saptanmıştır.⁷⁹ Yıldırım ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada 149 LSHK olgunun 9'unda (%6) HPV pozitifliği bulunmuştur.⁸⁰ Bu konu ile ilgili yapılan bir diğer çalışmada ise özellikle çocuk hastalarda önemli mortalite ve morbidite nedeni olan rekürren laringeal papillomatozisli 25 olgunun 21'inde HPV enfeksiyonunun histopatolojik değişiklikleri saptanmış, ancak bu vakaların 8'inde (% 32) immünohistokimyasal yöntemi ile virüs varlığı gösterilmiştir.

Perez-Ayala'nın İspanya'da yaptığı çalışmada baş-boyun kanserli hastalarda HPV pozitifliği % 54 olarak saptanmış iken Hoshikawa'nın Tokyo'da yaptığı çalışmada HPV pozitifliği % 20,6 olarak saptanmıştır.⁷⁸ Bu sonuçları ve çalışmamızı da göz önüne alarak sonuçlardaki farklılıkların nedeni; coğrafi farklılıklar, popülasyondaki cinsel davranış ve hijyen alışkanlığı farklılıkları ve uygulanan PCR yönteminin duyarlılığı şeklinde yorum yapılabilir.

Larinks kanserindeki p16 pozitiflik oranları literatürde %1'den %58'e kadar değişen oranlarda bildirilmiştir. Christine ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 140 LSHK olgusunun 11'inde (%7,8) p16 pozitifliği saptanmıştır.⁸¹ Yanan ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada 674 LSHK olgusunun 51'inde (%7,57) p16 pozitifliği pozitifliği gösterilmişken bir diğer çalışmada 50 adet LSHK olgusunun 12'sinde (%24) p16 pozitif saptanmıştır.^{71,73} Kanyılmaz ve arkadaşları ise 131 LSHK olgusunun 58'inde (%44) p16 pozitifliği raporlamışlardır.⁵⁷ Yayınlanan diğer çalışmalarda da %6,5 ve %25,9 gibi oranlar mevcuttur.^{58,59} Çalışmamızda 90 hastanın 18'inde (%20) p16 pozitif olarak saptandı.

p16 pozitif olgularda sigara ve alkol kullanımının daha az olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.^{56,59,71,73} David ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada sigara

içmeyen 8 hastanın altısında p16 pozitif olarak saptanmış ve istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir.⁵⁹ Aynı çalışmada sigara kullanmayan larinks kanserli olgularda p16'nın uygun bir immünohistokimyasal belirteç olabileceği ifade edilmiştir. Benzer şekilde Yanan ve arkadaşları da sigara ve alkol kullanmayanlarda p16 pozitifliğini anlamlı derecede yüksek saptamıştır.⁷¹ Yapılan bir çalışmada da p16 pozitif olguların ortalama sigara tüketimi 33,8 paket-yıl iken p16 negatif olguların ortalama sigara tüketimi 40 paket-yıl olarak bulunmuştur.⁵⁶ Diğer çalışmalarda ise p16 pozitifliği alkol ve sigara kullanmayanlarda yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.^{57,58} Çalışmamızda p16 pozitif saptanan 18 olgunun 13'ü (%72,2) alkol kullanmıyordu. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu. p16 pozitif tüm hastalarda ise sigara kullanımı mevcuttu. Çalışmamızda p16 pozitif saptanan olguların ortalama sigara tüketimi 45,8 paket-yıl iken p16 negatif olguların sigara tüketimi 48,7 paket-yıl olarak tespit edildi. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

p16 pozitifliği ve tümör lokalizasyonu hakkında literatürde çeşitli çalışmalar mevcuttur. Yanan ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada p16 pozitifliği supraglottik olgularda anlamlı şekilde yüksek olarak raporlanmıştır.⁷¹ Yapılan diğer çalışmalarda da bu ilişki saptansa da anlamlı farklılık gösterilememiştir.^{56,57,58,59} Çalışmamızdaki p16 pozitif 18 olgunun 10'u (%55,6) supraglottik yerleşimli idi. Bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Bazı yazarlar tarafından LSHK'da p16 varlığı iyi prognozla ilişkilendirilirken p16 negatifliği kötü prognoz ve nüks ile ilişkilendirilmiştir. Wittekindt ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada p16 ekspresyon artışı ile hastalıksız yaşam arasında önemli derecede korelasyon olduğuna dikkat çekilmiştir.⁶⁰ Yapılan diğer çalışmalarda da p16 pozitif olgular daha uzun YS sahip olduğu gösterilmiştir.^{57,81} Geisler ve arkadaşlarının 190 LSHK dahil ettikleri çalışmada ise p53 kötü prognoz ile korelasyon göstermekte iken p16 ekspresyonunun prognozla ilişkisi olmadığı bildirilmiştir.⁸² Çalışmamızda p16 negatif olguların 5 yıllık YS oranları %54,2 iken p16 pozitif olguların 5 yıllık YS oranları %72,2'dir. p16 pozitif olguların YS'i daha iyi olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Nüks varlığı ile ilgili yapılan bir çalışmada 58 LSHK olgusunun 8'i (%13,8) tanı konulduktan 3 yıl sonra nüks etmiştir. Nüks eden olguların hepsinde p16 negatifliği mevcut olduğu belirtilmiştir.⁵⁹ Yapılan diğer bir çalışmada p16 pozitif larinks

karsinomlu olgularda nüks düşük bulunmuştur. Tanı sonrası 5 yılda nüks oranı %20 olarak bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterilememiştir.⁷⁶ Salazar ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise orofarengeal skuamöz hücreli karsinomlarda (OSHK) p16 pozitifliği anlamlı iyi prognoz göstermeyken LSHK'da ise bu anlamlılık gösterilememiştir.⁷³ Bizim çalışmamızda 5 yıl içerisinde p16 pozitif 18 olgunun 5'inde (%27,8) nüks saptandı. p16 pozitifliğinin nüks ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

OSHK'da p16 pozitifliğinin düşük T evresi ve lenf nodu (LN) metastazı varlığı ile ilişkisi gösterilebilirken, LSHK olgularda bu ilişki gösterilememiştir.⁸³ Yapılan bir çalışmada p16 pozitifliğinin LN metastaz riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁸⁴ Young ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kadın cinsiyet ve LN metastazı varlığı ile p16 arasında anlamlı ilişki saptarken diğer klinik ve demografik özelliklerle anlamlı ilişki saptayamamışlardır.⁵⁸ Diğer çalışmalarda p16 pozitifliği ile LN metastazı varlığı, tümör evresi, cinsiyet ve tümör diferansiyasyonu arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir.^{59,60,81,84} Çalışmamızda p16 pozitif 18 olgunun 8'inde (%44,4) LN metastazı saptanırken bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. p16 pozitifliği ile cinsiyet ve tümör diferansiyasyonu arasında da bir ilişki saptanmadı.

HPV enfeksiyonunun tanısının konulmasında p16 pozitifliği önemli bir belirteçtir. Daha gelişmiş ve hassas yöntemlerde HPV-p16 korelasyonu açısından farklı sonuçlar gösterilebilmektedir. Farklı çalışmalardaki farklı sensitivite ve spesifite oranlarının bir nedeni HPV saptanması için uygulanan yöntemin duyarlılık ve özgüllüğü olabilir. Yapılan bir çalışmada 674 LSHK olgusunun 33'ünde HPV pozitif saptanırken 5'inde p16 pozitif saptanmıştır. HPV pozitif olguların hepsinde p16 da pozitif saptanmış ve p16 sensitivitesi %100, p16 spesifitesi %65 olarak belirtilmiştir.⁷¹ Bu sonuçlar Smeets ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçlarına benzerdir (p16 sensitivitesi %100, p16 spesifitesi %79).⁸⁵ Bir diğer çalışmada p16 ile HPV arasında %93 korelasyon olduğu gösterilmiştir.⁸⁶ Japonya'dan yapılan bir çalışmada ise p16 pozitif saptanan 14 olgunun yedisinde HPV pozitif olarak saptanmış ve p16 ile HPV arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığı gösterilmiştir.⁵⁸ Benzer olarak yapılan bir çalışmada da HPV ve p16 arasında anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir.⁷⁶ Bir meta-analiz çalışmasında 649 HPV pozitif olgunun 57'sinde aynı zamanda p16 da çalışılmıştır. HPV pozitif 51 (%86,3) olguda p16 pozitifliği de saptanmıştır.⁷⁴ Ülkemizde Dönmez ve

arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 56 LSHK olgusunun 24'ünde (%43,6) p16 pozitifliği, 21'inde (%37,5) HPV pozitifliği saptanmış olup HPV varlığı ile p16 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.⁸⁷ Çalışmamızda ise 11 HPV pozitif olgunun altısında p16 pozitif olarak saptandı. p16 sensitivitesi %54,5 iken p16 spesifitesi ise %84,8 olarak bulundu. p16 ile HPV arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Thomas ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada p16 sensitivitesini %100, p16 spesifitesini %79 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada HPV pozitif/p16 negatif olgu olmamasına rağmen bazı çalışmalarda bu sonucun çıkabileceği bunun transkripsiyonel inaktif enfeksiyona ya da aleternatif yolların kullanılabileceğine bağlı olduğu belirtilmiştir.⁸⁸ Çalışmamızda 11 HPV pozitif olgunun beşinde p16 negatif saptandı.

HPV negatif olgularda p16 pozitifliğinin nedeni moleküler düzeyde netlik kazanmamıştır. p16 pozitif olgularda Rb genindeki değişiklikler ya da doğuştan p16 yüksekliği ile ilişkilendirilmiştir. Xu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HPV negatif 18 olguda p16 pozitif olarak saptanmıştır.⁷¹ Çalışmamızda HPV negatif 12 olguda p16 pozitifliği bulundu.

Ang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada OSHK da HPV ve p16 pozitifliğinin birlikteliği daha iyi prognoz sağladığı gösterilmişken LSHK olgularda HPV ve p16 pozitif olguların sayısının azlığından dolayı anlamlı bir sonuç çıkartılamamıştır. Yapılan bir çalışmada OSHK'da p16 anlamlı iyi prognoz gösterirken orofarenks dışı tümörlerde anlamlılık göstermemiştir.⁷³ NOSHK'da hem p16 hem de HPV pozitifliği anlamlı şekilde daha iyi prognoz göstermektedir. Lewis ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada HPV(-)/p16(+) olgular ile HPV(+)/p16(+) olgular arasında anlamlı farklılık olmadığı ve bu olguların HPV(-)/p16(-) olgulara göre daha iyi prognoz gösterdiği ve p16 ekspresyonunun iyi prognoz göstergesi olabileceği belirtilmiştir.⁸⁹ Çalışmamızda da hem HPV hem p16 pozitifliği bulunan olgularda daha az nüks ve daha uzun YS mevcut idi fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

OSHK olgularında gösterilen yakın HPV ilişkisi; bizim çalışmamız başta olmak üzere birçok çalışmada larinks üzerinde gösterilememiştir. Larinks kanserinde HPV ve p16 pozitifliği ile ilgili yapılacak daha geniş çalışmalar, hastaların tedavi, takibi ve prognozu konusunda daha fazla yardımcı olacaktır.

Larinks kanserlerinde HPV varlığının gösterilmesi, gelecekte larinks kanserlerinden korunmada HPV aşılmasının destekleyici bir bulgusu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Günümüzde onkogenezis için kabul edilen görüş; tümörün ortaya çıkması için çok farklı moleküler faktörler arasında karşılıklı ilişkiler olması gerekliliğidir. Bu faktörler hücresel proliferasyon, apoptozis ve diferansiasyonu düzenleyen protoonkogenler, tümör süpresör genler ve bazı viral onkogenlerdir. Ancak; hücre tipi, hücresel çevre ve genetik zemin gibi çeşitli faktörler nedeniyle karsinogenezis aktivitesi başladıktan sonraki ilerleme sürecini öngörmek zordur.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Çalışmamızdaki ileri evre laringeal skuamöz hücreli karsinomlu 90 hastanın 11'inde (% 12,2) PCR yöntemi ile poliklonal HPV pozitifliği saptandı. Bu 11 olgudan 6'sında (% 54,5) HPV 16, 4'ünde (% 36,4) HPV 18, 1'inde (%9,1) HPV 16 ve 18 pozitif bulundu. Olguların 18'inde (%20) immünohistokimyasal boyama yöntemiyle p16 pozitif olarak saptandı. Olguların 6'sında (%6,6) hem HPV hem de p16 pozitifliği mevcuttu.
2. HPV pozitifliği ile ortalama yaş, diferansiyasyon, sigara ve alkol kullanımı, evre, LN metastazı, tümör lokalizasyonu, nüks, ölüm nedeni ve tedavi yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı.
3. HPV ve p16'nın birlikte pozitif olduğu olgularda alkol kullanımı daha az ve tümörün supraglottik alanda yerleşim oranı daha yüksek olarak saptandı. Bu oranlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu($p=0,009$ ve $p=0,008$).
4. p16 pozitif olgularda alkol kullanımı daha az ve tümörün supraglottik alanda yerleşim oranı artmış olarak saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu($p=0,004$ ve $p=0,011$).
5. Çalışmamızda HPV ve/veya p16 pozitif olgularda 5 yıl üzeri yaşam süresi daha fazla idi fakat istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.
6. HPV ve p16 test sonuçları arasındaki ilişki uyumlu bulunmadı. Larinks kanserinde p16 pozitifliğinin HPV için uygun bir marker olabileceği gösterilemedi.
7. HPV'nin tümörögenezisteki katkısı coğrafi farklılıklar göstermektedir. Bunun asıl nedeni ise toplumlar arası cinsiyet davranışlarının farklılıklara bağlı olarak virüs taşıyıcılığının farklı oranlarda görülmesi olarak yorumlanabilir.
8. Larinks kanserlerinde HPV varlığının gösterilmesi, gelecekte larinks kanserlerinden korunmada HPV aşılmasının gerekliliğini destekleyici bir bulgu olarak karşımıza çıkabilir.
9. Larinks kanserinde HPV ve p16 pozitifliği ile ilgili yapılacak daha geniş popülasyonlu klinik çalışmalar hastaların tedavi, prognozu ve takibi konusunda yardımcı olacağı görüşündeyiz.

10. Neoplastik proliferasyonların ortaya çıkma süreci çok basamaklı olup moleküler temelini anlaşılabilmesi için daha geniş olgu serileri ile çalışma yapmak gereklidir. Ayrıca uygulanan teknik, metodun kontrol olguları ile birlikte kalibrasyonu ve sonuçların doğruluğunun farklı tekniklerle (İHK, ISH, FISH, PCR vb.) desteklenmesi yararlı olacaktır.



KAYNAKLAR

1. **Beasley, NJP, Gullance PJ.** Cancer of the larynx, paranasal sinuses and temporal bone. Chapter 27: Essential Otolaryngology. Ed: K:J lee. *Med J*, 2003.
2. **Talamini R, Bosetti C, La Vecchia C,** Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: a case-control study. *Cancer Causes and Control* 2002, 13:957-964.
3. **Charles E. Moore, Brian J. Wiatrak, Kenneth D. McClatchey, Charles F. Koopmann.** High-risk human papillomavirus types and squamous cell carcinoma in patients with respiratory papillomas. *Head Neck* 1999, 120; 5: 698-705.
4. **Deilson Elgui de Oliveira, Maura M. Bacchi, Ricardo S.S. Macarenco.** Human Papillomavirus and Epstein-Barr Virus Infection, p53 Expression, and Cellular Proliferation in Laryngeal Carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2006, 126:284-293.
5. **Manjarrez ME, Ocadiz R, Valle L, Pacheco C, Marroquin A, De la Torre C.** Detection of human papillomavirus and relevant tumor suppressors and oncoproteins in laryngeal tumors. *Clin Cancer Re* 2006, Dec 1;12(23):6946-51.
6. **Münger K, Baldwin A, Edwards EM, Hayakawa H.** Mechanisms of human papillomavirus induced oncogenesis. *J Virol* 2004, 78:11451-60.
7. **Herrero R, Castellsague X, Pawlita M.** Human Papillomavirus and Oral Cancer: The International agency for research on cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003, 95(23): 1772-1782.
8. **Halec G, Holzinger D, Schmitt et al.** Biological evidence for a causal role of HPV16 in a small fraction of laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2013, 109:172-183.
9. **Young R J, Urban D, Angel C et al.** Frequency and prognostic significance of p16^{INK4A} protein overexpression and transcriptionally active human papillomavirus infection in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2015, 109:1098-1104.
10. **Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P.** Molecular biology of the cell. 4th ed. New York: Taylor and Francis Group. *Fam Cancer* 2002, p. 1313-1362.
11. **Netter H.** İnsan Anatomisi Atlası, Şekil 73, Nobel Kitabevi Üçüncü Baskı, İstanbul 2005.
12. **Yokoama M, Mitomi N, Tetsuka K.** Role of laryngeal movement and effect of aging on swallowing pressure in the pharynx and upper esophageal sphincter. *Laryngoscope* 2000, 11:434.
13. **Ömür M, Dadaş B.** Klinik baş boyun anatomisi. Ulusal Tıp Kitabevi. İstanbul 1996.
14. **Koç C.** Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. Güneş Tıp Kitapevleri Ankara 2013, s:1105-35.
15. **Cummings CW.** Otolaryngology Head and Neck Surgery. Third edition, seventh chapter. Mosby-Year Book St Louis 1998.
16. **Kaya S.** Larinks Hastalıkları. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara 2002, s:174-9
17. **Bailey BJ.** Early glottic carcinoma. Head and Neck Surgery-Otolaryngology, second edition 1998, s:1703-24

18. **Weir N.** Anatomy of the Larynx and Tracheobronchial tree. In: Scott-Brown's Otolaryngology. 3th ed. Alan GK, Michael G. 6nd ed. Butterworth-Heinemann Int ; Vol 1: 12/1-12/27.
19. **Respiratory tract.** In: Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, editors. Basic Histology. 8th ed.
20. **Kozuma S, Nemoto A, Okai T, Mizuno M.** Maturational sequence of fetal breathing movements. *Biol Neonate*. 1991;60 Suppl 1:36-40.
21. **Mills SE, Fechner RE.** Larynx and pharynx. In: Sternber SS, ed. Histology for Pathology. Second edition. Philadelphia, Newyork: *Lipincott-Raven*; 1997, p:391-409.
22. **Lee KJ.** Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery 6th edition Appleton and Lange 1995.
23. **Ugur S.** Total larenjektomi uygulanmış hastalarda kolon transit süresinin değerlendirilmesi ve postoperatif yaşam kalitesi, Uzmanlık tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2005.
24. **Bailey BJ.** Head and Neck Surgery-Otolaryngology, Forth Edition Lea Fabiger, Philadephia 1998, p:1754-79
25. **Fouret P, Martin F, Flahault A, Saint-Guily JL.** Human papillomavirus infection in the malignant and premalignant head and neck epithelium. *Diagn. Mol. Pathol* 1995;4:122-127.
26. **Thomas J, Primeaux T, et al.** Is p16 immunohistochemistry a more cost-effective method for identification of human papilloma virüs-associated head and neck skuamous cell carcinoma? *Ann Diagn Pathol*. 2012 Apr;16(2):91-9.
27. **Larynx and trachea.** In: Rosai J, editor. Surgical Pathology. 9th ed. Edinburgh London Newyork; 2004, p. 305 358.
28. **Barnes L, Eveson JW, Reichart P.** Pathology and genetics of head and necktumours. *IARC Pres* Lyon 2005, 109-145.
29. **Kirchner J A, Carter D.** Pathology of the Larynx, Chapter 22: In Diagnostic Surgical Pathology. 3rd ed. Editor Sternberg S S.Lippincot Williams & Wilkins. Philadelphia, Baltimore, Newyork. 1999, p: 925-948.
30. **Syrjönen KJ.** HPV infections in benign and malignant sinonasal lesions. *J Clin Pathol* 2003, 56: 174-181.
31. **Fregonesi PAG, Teresa DB, Duarte RA.** P16INK4A immunohistochemical overexpression in premalignant and malignant oral lesions infected with human papillomvirus. *J Histochem Cytochem* 2003; 51(10): 1291-1297.
32. **Fiorella R, Di Nicola V, Resta L.** Epidemiological and clinical relief on hyperplastic lesions of the larynx. *Acta Otolaryngol (Stockh)* suppl 1997;527;77-81
33. **Cuchi A, Bombi JA, Avellaneade R.** Precancerous lesions of the larnx: clinical and pathologic correlations and prognostic aspects. *Head Neck* 1994; 16(6):545-9.
34. **Rosai J.** Larynx and trachea. Ackerman's Surgical Pathology. Eight Edition, Mosby-Year Book, St Louis, 1996.
35. **Pilch BZ, Dorfman DM.** Pathology of laryngeal malignancies. Fried MP : The larynx, A multidisciplinary Approach. Second Edition, Mosby, Dt. Louis, 1996.

36. **Kirchner J A, Carter D.** Pathology of the Larynx, Chapter 22: In Diagnostic Surgical Pathology. 3rd ed. Editor Sternberg S S. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, Baltimore, New York. 1999, p: 925-948.
37. **Marcos CÁ, Llorente JL, Guervós MA, Iglesias FD, Tamargo LA, Hermesen M.** Genetic profile of second primary tumors and recurrences in head and neck squamous cell carcinomas. *Head Neck*. 2012 Jun;34(6):830-9.
38. **Münger K, Baldwin A, Edwards EM, Hayakawa H.** Mechanisms of human papillomavirus induced oncogenesis. *J Virol* 2004;78:11451–60.
39. **Hausen H.** Papillomaviruses causing cancer: Evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2000; 92: 690-98.
40. **Lele SM, Pou AM, Ventura K, Gatalica Z, Payne D.** Molecular events in the progression of recurrent papillomatosis to carcinoma. *Arch pathol lab med* 2002; 126: 1184-1188.
41. **Yugawa T, Kiyono T.** Molecular mechanisms of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses: novel functions of E6 and E7 oncoproteins. *Rev Med Viro* 2009 Mar;19(2):97-113.
42. **Yugawa T, Kiyono T.** Molecular basis of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses. *Uirusu* 2008 Dec;58(2):141-54.
43. **Kubar A.** Papillomavirusların genel özellikleri. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı S:231-233.
44. **Gerald L. Mandell, John E. Bennat, Raphel Dolin.** Principles and Practice of Infection Disease . Fifth Edition, Volume 2, S:1160-71.
45. <http://sciencenotes.wordpress.com/2008/09/24/hpv-innoculation-protects-against-three-cancers/>
46. **Harald zur Hausen.** Papillomavirus and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 342-350.
47. **Torrente MC, Rodrigo JP.** Human papillomavirus infections in laryngeal cancer. *Head Neck* 2011; 33(4):581-6
48. **Trunk MJ, Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M.** Molecular pathogenesis of cervical cancer and its first steps. *Pathologe* 2005 Jul;26(4):283-90.
49. **Heilmann V, Kreienberg R.** Molecular biology of cervical cancer and its precursors. *Current Science Inc* 2002; 2: 27-33.
50. **Moreno-Eutimio MA, Moreno J, Hidalgo-Miranda A, Gariglio P, Bonilla-Delgado J.** The PDZ-Binding Motif of HPV16-E6 Oncoprotein Modulates the Keratinization and Stemness Transcriptional Profile In Vivo. *Biomed Res Int*. 2017;2017:7868645.
51. <http://www.cinvestav.mx/genetica/MyFiles/Papillomavirus/PAPgeno.htm>.
52. **Saheb Jamee M, Boorghani M, Ghaffari SR, Atarbashi Moghadam F, Keyhani A.** Human papillomavirus in saliva of patients with oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009 1;14(10):525-8.
53. **Vernell V, Helin K, Müller H.** Identification of target genes of the p14INK4A-Prb-e2f PATHWAY. *J Biol chem* 2003; 278(46): 46124- 46137.

54. **Khleif SN, Degregori J, Yee CL.** Inhibition of cyclin D-CDK4/CDK6 activity is associated with an E2F-mediated induction of cyclin kinase inhibitor activity. *Cell Biology* 1996; 93: 4350-54.
55. **Öktem F, Aydın S, Öz F, Toprak M, Ada M.** Baş-Boyun kanserlerinde human papillomavirüs enfeksiyonunun rolü. *KBB ve BBC Dergisi* 2000, 8 (1): 51 -57.
56. **Christine H. Chung, Qiang Zhang et al.** p16 protein Expression and Human Papillomavirus Status As Prognostic Biomarkers of Nonoropharyngeal Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Oncol.* 2014 Dec 10;32(35):3930-8
57. **Kanyılmaz G, Ekinçi O, Muge A et al.** HPV-Associated p16^{INK4A} Expression and Response to Therapy and Survival in Selected Head and Neck Cancers. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;253-258
58. **Young R J, Urban D, Angel C et al.** Frequency and prognostic significance of p16^{INK4A} protein overexpression and transcriptionally active human papillomavirus infection in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2015; 1098-1104
59. **David K, Celavkosky P, Laco J et al.** The Role of Protein p16^{INK4a} in Glottic Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Pathol Oncol Res* 2014;20:909-915
60. **Wittekindt C, Gültekin E, Weissenborn SJ et al.** Expression of p16 protein is associated with human papillomavirus status and has implications on survival. *Adv otorhinolaryngol* 2005; 62: 72-80.
61. **SPSS referansı.** IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.
62. **Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı.** Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü, sayfa 26, 2010
63. **Howlader N, Noone AM.** Cancer Statistics Review, 1975-2009, National Cancer Institute. *J Natl Cancer Inst.* 2015 Mar 30;107(6):djv048.
64. **Jin YT, Kayser S, Kemp BL, Ordonez NG, Tucker SL, Clayman GL.** The prognostic significance of the biomarkers p21WAF1/CIP1, p53, and bcl-2 in laryngeal squamous cell carcinoma. *Cancer* 1998, 82:2159-2165.
65. **Ganguly N, Parihar SP.** Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. *J Biosc* 2009 Mar;34 (1):113-23
66. **Uobe K, Masuno K, Fang YR, Li LJ, Wen YM, Ueda Y, Tanaka A.** Detection of HPV in Japanese and Chinese oral carcinomas by *in situ* PCR. *Oral Oncol* 2001;37:146-52.
67. **Chaudhary AK, Singh M, Sundaram S, Mehrotra R.** Role of human papillomavirus and its detection in potentially malignant and malignant head and neck lesions: updated review. *Head Neck Oncol* 2009 Jun 25;1(1):22.
68. **Saheb Jamee M, Boorghani M, Ghaffari SR, Atarbashi Moghadam F, Keyhani A.** Human papillomavirus in saliva of patients with oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009 1;14(10):525-8.
69. **Kreimer AR, et al.** Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005 Feb;14(2):467-75
70. **Li X, Gao L, Li H et al.** Human Papillomavirus Infection and Laryngeal Cancer risk: a systemic review and meta-analysis. *J infect Dis* 2007: 479-488

71. **Xu Y, Liu S, Dong P et al.** Human Papillomavirus Infection in 674 Chinese Patients with Laryngeal Squamöz Cell Carcinoma. *Plos One*. 2014 Dec 23;9(12):e115914
72. **Dyannai F, Etzel J. Et al.** Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol* 2010; 2:15.
73. **Salazar CR, Anayannis N, Smith RV et al.** Combined p16 and human papillomavirus testing predicts head and neck cancer survival. *Int J Cancer. Head Neck Pathol*. 2014 Mar;8(1):77-87.
74. **Ndiaye C, Mena M, et al.** HPV DNA, E6/E7 mRNA and p16^{INKA4A} detection in head and neck cancers: a systemic review and meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2015 Jun;16(6):e262.
75. **Sethi S, Ali-Fehmi R, Franceschi S et al.** Characteristics and survival of head and neck cancer by HPV status: a-cancer registry-based study. *Int J Cancer* 2012; 131: 1179-1186.
76. **Duray A, Descamps F, Arafa M, et al.** High insidance of high-risk HPV in benign an malignant lesions of the larynx. *Int J Oncol*. 2011 Jul;39(1):51-9
77. **Morshad K,** Association between human papillomavirus infection and larngel squamous cell carcinoma. *J Med Virol*. 2010 May;82(6):1017-23
78. **Öktem F, Aydın S, Öz F, Toprak M, Ada M.** Bas-Boyun kanserlerinde human papillomavirüs enfeksiyonunun rolü. *KBB ve BBC Dergisi* 2000, 8 (1): 51 -57.
79. **Güvenç MG, Midilli K, nci E, Ergin S, Sar M, Özergil E, Kuskucu M, Öz B, Özdoğan A.** Larinksin primer karsinomlarında human papillomavirüs (HPV) varlığının ve larinksin karsinomu ile HPV ilişkisinin araştırılması .XXVII. Türk Ulusal Otolarengoloji ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, Kongre Kitabı. 506.
80. **Yıldırım F, Uğuz A.** Skuamoz Hücreli Larinksin Kanserlerinde; Human Papillomavirus Varlığı, TP53 ve e-kadherin Ekspresyonları ve Bulguların Klinikopatolojik Değişkenlerle İlişkisinin Araştırılması. Tez Çalışması 2009
81. **Silva S.D, Nonogaki S, Soares F.A et al.** p16 has clinicopathological and prognostic impact on oropharynx and larynx squamous cell carcinoma. *Braz J Med Biol Res*. 2012 Dec;45(12):1327-33.
82. **Geisler SA, Olshan AF, Weisler MC, et al.** p16 and p53 expression as prognostic indicators of survival and disease recurrence from head and neck cancer. *Clin Cancer Res*.2002; 8: 3445-3453.
83. **Lundberg M, Renkonen S, Haglund C, et al.** Association of BMI-1 and p16 as prognostic factors for head and neck carcinomas. *Acta Otolaryngol*. 2016;136(5):501-5.
84. **Allegra E, Caltabiano R, Puzzo L, et al.** Expression of BMI1 and p16 in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Head Neck*. 2013 Jun;35(6):847-51.
85. **Smeets SJ, Hesselink AT, Speel EJ et al.** A novel algorithm for reliable detection of human papillomavirus in paraffin embedded head and neck cancer specimen. *Int J Cancer* 2007; 121: 2465-2472
86. **Begum S, Gillison M, Nicol T, et al.** Detection of human papillomavirus-16 in fine needle aspirates to determine tumor origin in patients with metastatic squamous cell carcinoma of head and neck. *Clin Cancer Res*. 2007 Feb 15;13(4):1186-91.
87. **Dönmez M, Erdem G, et al.** Larinksin yassı epitel hücreli karsinomlarında p16 ekspresyonu ve HPV ile ilişkisi. *J Med Sci* 2012;32(6):1576-85

88. **Thomas J, Primeaux T, et al.** Is p16 immunohistochemistry a more cost-effective method for identification of human papilloma virüs-associated head and neck skumous cell carcinoma? *Ann Diagn Pathol.* 2012 Apr;16(2):91-9.
89. **Lewis JS, Thorstad WL, et al.** P16 positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: an entity with a favorable prognosis regardless ot tumor HPV status. *Am J Surg Pathol* 2010;34:1088-96



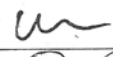
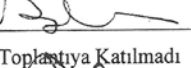
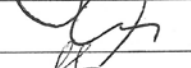
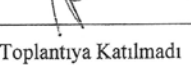
ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Selman Doğantemur
Doğum yeri ve tarihi : Adana / 22.03.1987
Medeni durumu : Evli
Adres : Cemalpaşa Mahallesi, Toros Caddesi, İsmetramazanoğlu
Apartmanı, Kat:3 No:6, Seyhan/Adana
Telefon : 05555612258
Fax : -
E posta : s.dogantemur@hotmail.com
Mezun olduğu tıp fakültesi : Akdeniz Üniversitesi
Varsa mezuniyet derecesi : -
Dernek üyelikleri : Çukurova KBB Derneği
Alınan burslar : -
Yabancı Dil(ler) : İngilizce

**T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**

Toplantı Sayısı	Tarih
48	4 Aralık 2015

KARAR NO 37- Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nın bilimsel işbirliğiyle, Doç. Dr. Süleyman Özdemir yönetiminde, Prof. Dr. Aysun H. Uğuz'un katkılarıyla, Araş. Gör. Dr. Selman Doğanemur tarafından yürütülmesi öngörülen, "İleri Evre Larinks Kanserli Hastalarda HPV16, HPV18, p16 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi ve Prognostik Önemi" başlıklı tıpta uzmanlık tez projesi araştırma etiği yönünden değerlendirildi. Toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

BAŞKAN	Doç Dr Selim Kadioğlu Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	
ÜYELER	Prof Dr Davut Alptekin Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Dinçer Yıldızdaş Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	
	Prof Dr Mehmet Kanadaş Kardiyoloji Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Prof Dr Gülşah Seydaoğlu Biyoistatistik Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gürhan Sakman Genel Cerrahi Anabilim Dalı	
	Doç Dr Suat Gezer Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı	
	Av. Zehra Bulut Hukukçu Üye	
	Dr Neşe Kayrın Kurum Dışı Üye	Toplantıya Katılmadı

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, Balcalı 01330 Adana
Telefon: 0322 338 60 60 dahili 3465, Faks: 0322 338 67 22