

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜKRÜK BEZİNİN MUKOEPİDERMOİD KARSİNOM VE ADENOİD
KİSTİK KARSİNOMLARINDA p27, Jab1, Skp2 VE PGP9,5 EKSPRESYONU**

Dr. Nazmiye DİNÇER

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA
2008

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**TÜKRÜK BEZİNİN MUKOEPİDERMOİD KARSİNOM VE ADENOİD
KİSTİK KARSİNOMLARINDA p27, Jab1, Skp2 VE PGP9,5 EKSPRESYONU**

Dr. Nazmiye DİNÇER

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Y. Gaye GÜLER TEZEL

ANKARA
2008

TEŞEKKÜR

Yazar bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişi ve kuruluşlara içtenlikle teşekkür eder:

Sayın Doç. Dr. Y. Gaye Güler Tezel, tez danışmanım olarak çalışmaya yol gösterici son derece değerli katkılarda bulunmuş, her zaman yapıcı ve teşvik edici olmuştur.

Tez çalışmalarım sürecince Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Arzu Sungur, tüm hocalarım ve asistan arkadaşlarım anlayışlarını ve desteklerini benden esirgememiş, eşim ve ailem her zaman olduğu gibi bu dönemde de sonsuz sevgi ve sabırla yanımda olmuştur.

İstatistiksel analizde Sayın S. Kenan Köse ve Anıl Dolgun yardımcı olmuştur.

Sayın Lokman Kale, Şenay Korkmaz, Ziya Birinci, Orhan Başhan, Faruk Köksal, Çiğdem Karakoç ve Arda Günay'ın teknik alandaki özverili ve titiz çalışmaları sayesinde bu çalışma gerçekleşebilmiştir.

ÖZET

Dinçer, N., Tükrük bezinin mukoepidermid karsinom ve adenoid kistik karsinomlarında p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonu. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Tezi, Ankara 2008. Mukoepidermoid karsinom (MEK) ve adenoid kistik karsinom (AKK) tükrük bezinin en sık görülen malign tümörleridir. Bu çalışmada 1990-2006 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tükrük bezi tümörü tanısı almış olguların histolojik tip, lokalizasyon, yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı incelendi. Bunlar içerisinde 25 MEK ve 19 AKK olgusundan çalışma grubu oluşturuldu. Siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p27 hücre siklusunda negatif regülatuardır. Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ise p27 yıkım yolağında rol alan proteinlerdir. Doku mikrodizisi oluşturma (TMA) tekniği ile 44 tükrük bezi tümör olgusunda, p27 ile Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak incelendi. Jab1, Skp2 ve PGP9,5 için tümör hücrelerindeki herhangi bir intensite ve yaygınlıktaki boyanmalar pozitif kabul edilirken, p27 için %50'nin üzerinde kuvvetli boyanmalar yüksek p27 ekspresyonu, diğer boyanmalar ise azalmış p27 ekspresyonu olarak kabul edildi. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal işaretleyicilerin farklı tümör dereceleri, morfolojik paternler ve prognostik parametreler ile ilişkileri değerlendirildi. MEK ve AKK olgularında p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (sırayla $p=0,003$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$). MEK olgularının %88'inde, AKK olgularının %47,4'ünde yüksek p27 ekspresyonu saptandı. Yüksek p27 ekspresyonu lenf nodu metastazı ile ($p=0,006$), azalmış Skp2 ekspresyonu perinöral invazyon ile ($p=0,004$) ve azalmış PGP9,5 ekspresyonu ($p=0,019$) ise uzak organ metastazı ile korelasyon göstermektedir. Olgularda yüksek p27 düzeyi ile Jab1 ve Skp2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ters ilişki saptandı ($p<0,001$, $p=0,011$). İmmünohistokimyasal işaretleyiciler ile MEK ve AKK gruplarındaki farklı tümör derecesi ve morfolojik paternler arasında korelasyon saptanmadı. p27'nin tümör supresör fonksiyonunu destekleyen önceki yayınların aksine bizim sonuçlarımız değişken p27 ekspresyonunun tükrük bezi tümör gelişimi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Mukoepidermoid karsinom, adenoid kistik karsinom, p27.

ABSTRACT

Dinçer, N., Expression of p27, Jab1, Skp2 and PGP9,5 in mucoepidermoid carcinoma and adenoid cystic carcinoma of salivary glands. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Medical Pathology, Ankara 2008.

Mucoepidermoid carcinoma (MEC) and adenoid cystic carcinoma (ACC) are the most common types of malignant salivary gland tumors. We analyzed the cases which were diagnosed as salivary gland tumor at Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Pathology encountered in the period between 1990-2006 for histologic type, localization, age and gender. Among these cases 25 MEC and 19 ACC were selected to form a study group. The cyclin-dependent kinase inhibitor p27 is a key cell cycle-negative regulator. Jab1, Skp2 and PGP9,5 are the p27 degradation pathway proteins. We immunohistochemically investigated the p27 protein with Jab1, Skp2 and PGP9,5 expressions in 44 cases of salivary gland tumors using tissue microarray (TMA) method. Tumor cells were interpreted as Jab1, Skp2 and PGP9,5 positive when staining was present, irrespective of the intensity. Strong expression in more than 50% of tumor cells was accepted as high p27 expression, while any other expression level was accepted as reduced. Correlations between immunohistochemical markers and their relation with histological tumor grades, morphologic patterns and prognostic parameters were determined. There were statistically significant differences between MEC and ACC in expression ratios using markers p27, Jab1, Skp2 and PGP9,5 ($p=0,003$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$, respectively). High p27 expression was detected in 88% of MEC and 47,4% of ACC. High p27 expression was correlated with lymph node metastases ($p=0,006$), reduced expression of Skp2 was correlated with perineural invasion ($p=0,004$) and reduced expression of PGP9,5 was correlated with distant organ metastases ($p=0,019$). In cases studied, a significant inverse relationship was statistically found between high p27 level and Jab1 and Skp2 ($p<0,001$, $p=0,011$). No correlation was seen between the individual immunohistochemical stains and histological tumor grades and morphologic patterns of MEC and ACC. In contrast to former reports supporting a tumor-suppressive function of p27, our results suggest that altered expression of p27 may be associated with the progression of salivary gland tumors.

Key words: Mucoepidermoid carcinoma, adenoid cystic carcinoma, p27.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	x
1 GİRİŞ	1
1.1 Amaç	1
1.2 Kapsam ve Yöntem	2
2 GENEL BİLGİLER	4
2.1 Tükrük Bezinin Yapısı ve Fonksiyonu	4
2.2 Tükrük Bezi Tümörleri	4
2.2.1 Mukoepidermoid karsinom	7
2.2.2 Adenoid kistik karsinom	10
2.3 Hücre siklus regülasyonu	12
2.3.1 p27	14
2.3.2 Jab1	15
2.3.3 Skp2	15
2.3.4 PGP9,5	16
3 GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1 Vaka Seçimi	18
3.2 Blokların Hazırlanması	22
3.3 İmmünohistokimya	23
3.3.1 Yöntem	23
3.3.2 Değerlendirme	24
3.4 İstatistiksel Analiz	25
4 BULGULAR	27
4.1 Hastaların Genel Özellikleri	27

4.1.1	HÜTF Patoloji Anabilim Dalı'nda 1990-2006 yılları arasında tükrük bezi tümörü tanısı almış olguların tanı, lokalizasyon, yaş ve cinsiyet dağılımı	27
4.1.2	Mukoepidermoid ve Adenoid Kistik Karsinom Olgularından Oluşturulan Çalışma Grubunun Genel Özellikleri	30
4.2	İmmünohistokimyasal İşaretleyicilerin Ekspresyon Durumları	31
4.2.1	p27 Ekspresyonu	31
4.2.2	Jab1 Ekspresyonu	34
4.2.3	Skp2 Ekspresyonu	36
4.2.4	PGP9,5 Ekspresyonu	38
4.2.5	p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 Ekspresyonlarının Korelasyonları	40
5	TARTIŞMA	45
5.1	1990-2006 Yılları Arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Tükrük Bezi Tümörü Tanısı Almış Olguların Histopatolojik Tip, Lokalizasyon, Yaş ve Cinsiyetlerine Göre Dağılımı	45
5.2	p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 Ekspresyonu	49
6	SONUÇ VE ÖNERİLER	67
7	KAYNAKLAR	71

SİMGELER VE KISALTMALAR

AKK	Adenoid kistik karsinom
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
Jab1	Jun activation domain-binding protein-1
MEK	Mukoepidermoid karsinom
PBS	Phosphate buffer saline
PGP9,5	The neuron cytoplasmic gene product 9.5 (PGP9.5) / ubiquitin-C-terminal hydrolase 1 (UCHL-1) protein
Skp2	S-phase kinase-associated protein 2
TMA	Doku mikrodizisi oluşturma (“Tissue microarray”)

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Hücre siklusunda siklin-siklin bağımlı kinaz (CDK) kompleks ekspresyonu.	13
3.1. Değişik histomorfolojik paterndeki adenoid kistik karsinom olguları.	19
3.2. Değişik derecelerdeki mukoepidermoid karsinom olguları.	21
3.3. Perinöral invazyon. a)MEK. b)AKK.	21
3.4. TMA bloğunun hazırlanması. a) TMA bloğu. b)TMA bloğundan elde edilen hematoxilen-eozin kesit.	23
4.1. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlarda p27 ekspresyonu.	32
4.2. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlarda Jab1 ekspresyonu.	35
4.3. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlarda Skp2 ekspresyonu.	37
4.4. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlarda PGP9,5 ekspresyonu.	39

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Mukoepidermoid karsinomları derecelendirmede kullanılan histopatolojik özellikler, puan değerleri ve skorları.	9
3.1. Çalışmada kullanılan antikolar, kaynakları, klonları ve dilüsyonları.	24
3.2. Antikoların boyanma özelliklerine göre olguların gruplanması.	25
4.1. Benign ve malign tükrük bezi tümörlerinin lokalizasyona göre dağılımı.	27
4.2. Benign tükrük bezi tümörlerinin lokalizasyona göre dağılımı.	28
4.3. Malign tükrük bezi tümörlerinin lokalizasyona göre dağılımı.	29
4.4. Çalışmaya alınan MEK ve AKK olgularının lokalizasyonlarına göre dağılımı	30
4.5. Çalışma grubunu oluşturan MEK ve AKK olgularının histopatolojik özellikleri.	31
4.6. Tanı gruplarına göre p27 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.	33
4.7. Lenf nodu metastazı yapan ve yapmayan olgularda p27 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.	33
4.8. Tanı gruplarına göre Jab1 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.	35
4.9. Tanı gruplarına göre Skp2 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.	37
4.10. Perinöral invazyon yapan ve yapmayan olgularda Skp2 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.	38
4.11. Tanı gruplarına göre PGP9,5 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.	39
4.12. Uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olgularda PGP9,5 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.	40
4.13. Tanı gruplarında p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 immünohistokimyasal işaretleyicilerin skor ortalamaları, standart sapmaları ve <i>p</i> değerleri.	41
4.14. MEK ve AKK gruplarındaki olguların p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ile boyanma oranları ve <i>p</i> değerleri.	41
4.15. MEK ve AKK olgularının prognostik parametrelerle oluşturulan gruplara göre dağılımı.	43
4.16. p27 ile Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonları arasındaki ilişkiler.	43

GİRİŞ

1.1 Amaç

Tükrük bezi tümörleri nadir rastlanan tümörler olup değişik histopatolojik tipler içermektedir. Tüm baş boyun bölgesindeki tümörlerin yaklaşık %1-3'ünü, insan vücudundaki tüm tümörlerin ise % 2'sinden azını oluşturmaktadır. Nadir görülen tümörler olmakla birlikte çok yönlü klinik prezentasyonu, değişik histolojik görünimleri ve özellikle beklenen prognozla ilişkili zorlukları nedeniyle çok ilgi çekmektedir.

Tükrük bezinde en sık görülen benign tümör pleomorfik adenom, en sık görülen malign tümörler ise mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinomdur.

Tükrük bezi tümörlerine genellikle hematoksilen-eozin düzeyinde morfolojik olarak tanı verilmektedir. İmmünohistokimyasal boyalar her ne kadar epitelyal, myoepitelyal, lenfoid gibi hücre diferansiyasyonunu göstermekte yardımcı ise de tümör alt tiplerinin ayırıcı tanısında veya benign lezyonları malign lezyonlardan ayırmada çok yardımcı olmamaktadır.

Bu çalışmada lenf nodu disseksiyonu yapılmış mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinom olgularından oluşturulan çalışma grubunda, daha önce pek çok çalışmada değişik tümör tiplerinde düşük düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiş p27 protein ekspresyonuna ve p27'nin yıkım yolağında rol alan Jab1, Skp2 ve PGP9,5 proteinlerinin, p27 proteini ile korelasyonlarına immünohistokimyasal olarak bakılmıştır. Ayrıca Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1990-2006 yılları arasında tükrük bezi tümörü tanısı almış, benign ve malign olguların histopatolojik tip, lokalizasyon, yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı incelenmiştir.

Mukoepidermoid karsinomlarda, adenoid kistik karsinomlarda veya diğer tümör gruplarında, literatürde, oluşturduğumuz çalışma grubunda belirtilen immünohistokimyasal işaretleyicilerin tümü kullanılarak yapılmış detaylı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle araştırmamızın patogeneze, prognoz ve tedavi yaklaşımlarına yönelik ilginç sonuçlar sunabileceği düşünülmüştür.

1.2 Kapsam ve Yöntem

1990-2006 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirilmiş insizyonel ve eksizyonel bütün benign ve malign tükürük bezi tümörleri ile tükürük bezi lezyonlarının patoloji raporları incelendi. Toplam 832 tükürük bezi olgusunun 436'sının neoplastik, 396'sının non-neoplastik olduğu saptandı. Non-neoplastik olguların tekrarlayan biyopsileri ve neoplastik olguların nüks biyopsileri bu sayımın dışında bırakıldı. Neoplastik olguların, patoloji raporları esas alınarak, tanı, lokalizasyon, yaş ve cinsiyet dağılımları incelendi.

Neoplastik olgulardan, tanısı mukoepidermoid karsinom (70 olgu) ve adenoid kistik karsinom (46 olgu) olan tüm vakaların mevcut hematoxilen-eozin ile boyalı kesitleri patoloji arşivinden çıkartıldı. Bu olgular Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ-2005) tanı ve derecelendirme kriterleri göz önünde bulundurularak, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı varlığı dikkate alınarak tekrar değerlendirdi. Bu vakalar arasından lenf nodu disseksiyonu yapılmış, yeterli sayıda ve kalitede blok ve kesiti olan 25 mukoepidermoid karsinom ve 19 adenoid kistik karsinom olgusundan oluşan toplam 44 olgu ile çalışma grubu oluşturuldu. Her bir olguda çalışmada kullanılan işaretleyicilerin immünohistokimyasal ekspresyonu değerlendirildi. Değerlendirme, boyanma şiddeti, oranı ve paterni dikkate alınarak yapıldı.

İkinci bölümde tükürük bezlerinin genel yapısını ve fonksiyonunu anlatan genel bilgiler ile tükürük bezinde görülebilecek benign ve malign tümörlerin listesi sunulmuştur. Ayrıca mukoepidermoid karsinom, adenoid kistik karsinom, hücre siklus regülasyonu ve çalışmada kullanılan immünohistokimyasal işaretleyiciler hakkında kapsamlı literatür bilgisi sunulmuştur. Çalışmamızın ve sonuçlarımızın yorumlarının anlaşılabilmesi için bu kısmın yararlı olacağı düşünülmüştür.

Üçüncü bölümde çalışma grubunun oluşturulma basamakları, araştırmanın yöntemi, sonuçları değerlendirme basamakları ve analiz için kullanılan istatistiksel yöntemler açıklanmıştır.

Dördüncü bölümde 1990-2006 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tükürük bezi tümörü tanısı almış olguların histopatolojik tip, lokalizasyon, yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı ve mukoepidermoid karsinom ile adenoid kistik karsinom olgularından oluşturulan

Çalışma grubunun tüm analiz sonuçları verilmiştir. Takip eden bölümlerde ise analiz sonuçlarının yorumları ve gelecek çalışmalara yönelik öneriler sunulmaktadır.

GENEL BİLGİLER

2.1 Tükrük Bezinin Yapısı ve Fonksiyonu

Tükrük bezleri sindirim sistemi ile ilgili dış salgı bezlerindendir. Tükrük salgılanması, çeşitli faktörlere bağlı karmaşık bir olaydır. Organizmada bazı hastalıkların seyri esnasında tükrük bezlerinde ve tükrük salgılanmasında önemli değişiklikler olur. Tükrük bezlerinin öncelikli fonksiyonu üst sindirim sisteminde müköz membranların nemlendirilmesidir ve bu fonksiyon major ve minör tükrük bezlerinin devamlı ekzokrin salgısı ile sağlanmaktadır.

Tükrük bezleri, oral kavite, farinks ve üst hava yollarının submukozasında yerleşim göstermektedir. Günlük yaklaşık 750-1000 ml olan tükrük bezi salgısı başlıca üç çift major ve çok sayıda minör tükrük bezi tarafından oluşturulmaktadır. Yerleşim yerlerine göre isimlendirilen major tükrük bezleri; parotis, submandibular (submaksiller) ve sublingual bezlerdir.

Embriyolojik gelişimde ilk gelişen tükrük bezi parotis bezi olup intrauterin 6. haftada izlenebilmektedir. Parotis bezi ektoderm kökenli (1) olup, submandibular ve sublingual bezler endoderm kökenlidir (2,3). Parotis bezi yaklaşık 14-28 gr, submandibular bez 7-8 gr, sublingual bez ise 3 gr ağırlıktadır.

Hem majör hem de minör tükrük bezleri, asiner ve duktal sistemlere sahiptir. Asinüsler, devamlılığında ara duktuslar ve bunun da devamlılığında çizgili duktuslar ile intralobüler üniteyi oluşturmaktadır. Daha sonra ise interlobüler duktuslar ve ekskretuar duktuslar ile tükrük bezi salgısı oral mukozaya ulaşmaktadır. Morfolojik olarak majör tükrük bezleri, seröz, müköz ve serömüköz olmak üzere üç tip sekretuar ünite içermektedir. Parotis bezinde ara duktuslar, submandibular veya sublingual bezlere göre oldukça uzundur. Buna karşın çizgili duktuslar submandibular bezde daha uzundur. Sublingual bezde ise intralobüler duktuslar oldukça kısadır. Parotis bezi neredeyse tamamen seröz bezlerden, submandibular ve sublingual bezler ise serömüköz bezlerden oluşmaktadır.

2.2 Tükrük Bezi Tümörleri

Tükrük bezi tümörleri nadir rastlanan tümörler olup çok çeşitli histopatolojik tipler içermektedir. Tüm baş boyun bölgesindeki tümörlerin yaklaşık %1-3'ü, insan

vücudundaki tüm tümörlerin ise %2'sinden azını oluşturmaktadır. Nadir görülen tümörler olmakla birlikte çok yönlü klinik prezentasyonu, değişik histolojik görünümleri ve beklenen prognozla ilişkili zorlukları nedeniyle çok ilgi çekmektedir.

Popülasyona dayalı yapılan çalışmalarda benign tükrük bezi tümörleri, malignlerden beş kat daha sık görülmektedir (4). Benign tükrük bezi tümörleri kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmekte olup, malign tükrük bezi tümörleri her iki cinste eşit dağılım göstermektedir. “Memorial Sloan-Kettering” Kanser Merkezi'nde yapılan 2807 vakalık bir çalışmada parotis bezi %68 ile en sık tümör gelişen tükrük bezi olup, minör tükrük bezi %23, submandibular bez ise %9 olarak tutulmaktadır (5). Yine aynı merkezde yapılan diğer bir çalışmada 44 yıl süreyle, 800'den fazla minör tükrük bezi tümörü tanısı almış olguların %82'si maligndir, etkilenen kadın erkek oranı eşittir ve hastaların yaş dağılımı 11 ile 91 yaşları arasındadır. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom yaklaşık her biri %27 oranında görülmekle birlikte en sık görülen histolojik tiplerdir (6).

Tükrük bezi tümörleri multifaktöryel nedenlerle gelişmektedir. Epidemiyolojik çalışmalarla radyasyona maruziyet sonrası tükrük bezi tümör gelişimi bildirilmiştir, ancak edinilmiş bağışıklık yetersizliği sendromu (AIDS), virüs aracılı malignite veya ultraviyole ışık (UVB) ile tükrük bezi tümörleri arasında ilişki bulunamamıştır (7). Ayrıca sigara ve alkol kullanımı ile tükrük bezi tümör gelişimi arasında ilişki gösterilememiştir (8). Değişik tükrük bezi tümörlerinde, karşılaştırmalı olarak yapılan genomik hibridizasyon çalışmalarında, çok sayıda genetik değişiklikler saptanmıştır (9).

Tükrük bezi tümörlerine genellikle hematoksilin-eozin düzeyinde morfolojik olarak tanı verilmektedir. İmmünohistokimyasal belirleyiciler her ne kadar epitelyal, myoepitelyal, lenfoid gibi hücre diferansiyasyonunu göstermekte yardımcı ise de tümör alt tiplerin ayırıcı tanısında veya benign lezyonları malign lezyonlardan ayırmada çok yardımcı olmamaktadır. Lezyonun kapsüllü olması hemen her zaman benign bir neoplazmin özelliği iken, normal asinüslerin, sinirlerin, kan damarlarının tümör ile infiltrasyonu malignite bulgularıdır.

Tükrük bezi tümörlerinin prognozu genellikle klinik evre ile korelasyon göstermektedir. Bu nedenle erken tanı büyük önem taşımaktadır. Mikroskopik

incelemede tümör derecesi ve tümör tipi, tümör davranışında bağımsız etkenler olarak gözükmemektedir (10). Ancak bazen beklendiği gibi tümör derecesi ve evresi korelasyon göstermemektedir.

Tükrük Bezi Tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (2005) Histolojik Sınıflaması:

Benign tükrük bezi tümörleri:

Pleomorfik adenom

Myoepitelyoma

Bazal hücreli adenom

Warthin tümörü

Onkositoma

Kanaliküler adenom

Sebasöz adenom

Lenfadenom (sebasöz, non-sebasöz)

Duktal papillom (inverted duktal papillom, intraduktal papillom, sialoadenoma papilliferum)

Kistadenom

Malign tükrük bezi tümörleri

Asinik hücreli karinom

Mukoepidermoid karsinom

Adenoid kistik karsinom

Polimorfik düşük dereceli adenokarsinom

Epitelyal-myoepitelyal karsinom

Şeffaf hücreli karsinom

Bazal hücreli adenokarsinom

Sebasöz karsinom

Sebasöz lenfadenokarsinom

Kistadenokarsinom

Düşük dereceli kribriform kistadenokarsinom

Müsinöz adenokarsinom

Onkositik karsinom

Tükrük bezi kanal karsinomu

Adenokarsinom
 Myoepitelyal karsinom
 Karsinoma eks pleomorfik adenom
 Karsinosarkom
 Metastaz yapan pleomorfik adenom
 Skuamöz hücreli karsinom
 Küçük hücreli karsinom
 Büyük hücreli karsinom
 Lenfoepitelyal karsinom
 Sialoblastoma

Yumuşak doku tümörleri

Hemanjioma

Hematolenfoid tümörler

Hodgkin lenfoma
 Diffüz büyük B hücreli lenfoma
 Ekstranodal marjinal zone B hücreli lenfoma

Sekonder tümörler

2.2.1 Mukoepidermoid karsinom

Mukoepidermoid karsinom, kolumnar, şeffaf hücre ve onkositoid özelliklere sahip müköz, ara ve epidermoid hücrelerle karakterize malign glandüler epitelyal bir neoplazmdır.

Mukoepidermoid karsinom, çocuk ve erişkinlerde en sık görülen primer malign tükrük bezi tümörüdür (11). Erken çocukluk ve geriatric yaşlarda daha az sıklıkta olmak üzere her yaşta görülebilmektedir (12).

Tüm tükrük bezi tümörlerinin %5'ini oluşturmaktadır. Olguların %67'si parotis bezinde, %33'ü minör tükrük bezlerinde yerleşim göstermektedir (12, 13). Minör tükrük bezlerinin pleomorfik adenom ve adenoid kistik karsinomdan sonra en sık görülen tümörüdür (%10). Oral bölgede ise en sık damak ve bukkal mukozada yerleşim göstermektedir. Erkeklerle oranla kadınlarda daha sık görülmekte (K/E :3/2) olup 5. dekatta pik yapmaktadır. Özellikle dil ve retromolar bölgede yerleşim gösterenler kadınlarda çok daha sık izlenmektedir. Damakta yerleşim gösteren olguların %60'ı 40 yaşın altında, dilde yerleşim gösterenler ise daha ileri yaşlarda

görülmektedir (14). Nadiren parotis bezi içindeki veya çevresindeki lenf nodundan gelişim gösterebilir veya Warthin tümörü ile birliktelik gösterebilmektedir.

Çoğu tümör fiks ve ağrısız şişlik ile semptom vermektedir. Özellikle sublingual yerleşim gösterenlerde, küçük çapa rağmen ağrı ilk semptom olabilir. Oral mukozada yüzeysel yerleşim gösterenler mavi-kırmızı renk değişikliğinden dolayı mukosel veya vasküler bir lezyonu taklit edebilmektedir. Olgularda ağrı, otore, parastezi, fasyal sinir paralizi, disfaji ve trismus gibi semptomlar görülebilmektedir.

Düşük dereceli tümörleri iyi sınırlıdır, karakteristik olarak yavaş büyüyen ağrısız kitle oluştururlar. Düşük dereceli tümörlerde fasal sinir tutulumu, yüksek dereceli tümörlerin aksine beklenen bir bulgu değildir. Yüksek dereceli tümörlerde ağrı, çevre dokuya invazyon, lenf noduna metastaz sık izlenmektedir.

Makroskopik olarak genellikle irregüler konturlu tümörler olup 3-5 cm çapında, solid veya kistik alanlar içermektedir.

Parotis bezinde yerleşim gösteren tümörler hemen komşuluğundaki pre-aurikuler bölge ile submandibular bölgeye yayılım göstermektedir. Submandibular bezde yerleşim gösterenler, submandibular ve üst juguler lenfatik zincire yayılım göstermektedir. Damak lezyonları ise üst respiratuar bölge ve kafa tabanına uzanım göstermektedir. Dudak lezyonları submental lenf nodüllerine invazyon yapmaktadır. İntraoral tümörler ise submandibular, post aurikuler ve boyun level II'deki aksesuar lenf nodüllerine metastaz göstermekte olup level III, IV ve V'i de tutabilmektedir. En sık akciğer, karaciğer, kemik ve beyine uzak metastaz yapmaktadırlar.

Histolojik olarak üç farklı hücre tipi izlenebilmektedir; solid paternde büyüme gösteren epidermoid hücreler, mukus üreten hücreler ve ara tipte hücreler. Bu hücre tiplerinin oranları ve kist formasyonları tümörden tümöre ve tümörün kendi içindeki farklı alanlarda da değişiklikler göstermektedir. Solid komponent içerenler genellikle multikistik tümörlerdir. Bazı tümörler düzgün sınırlara sahip olsa da parankimal invazyon genellikle mevcuttur. Kistik boşluklar muköz hücreler ile bazaloid veya ara hücrelerle daha az oranda da poligonal epidermoid hücrelerle döşelidir, ancak keratinizasyon nadirdir. Muköz hücreler, nukleusu periferite itilmiş, geniş, soluk sitoplazmalı hücrelerdir ve tipik olarak tümörün %10'undan daha azını oluşturmaktadır. Sialomüsin içeriği musikarmin veya alsiyan mavisi ile izlenebilmektedir. Tümörde daha baskın olan hücre tipi ara tipte hücrelerdir. Bununla

birlikte şeffaf veya kolumnar hücre tipi de baskın olabilir. Ayrıca mukoepidermoid karsinomlarda onkositik değişiklikler ve onkositik hücre popülasyonları da bildirilmiştir (15). Tümörde inflamasyonla birlikte fokal skleroz veya mukus ekstravazasyonu yine sık görülen bir bulgudur. Mukoepidermoid karsinomun sklerozan varyantı da literatürde bildirilmiştir (16). Düşük dereceli mukoepidermoid karsinomlarda iyi gelişmiş tek sıra mukus üreten kolumnar hücrelerle döşeli glandüler veya mikrokistik yapılar izlenebilmektedir. Orta dereceli tümörlerde genellikle epidermoid hücrelerden veya bazaloid tipte hücrelerden oluşmuş solid alanlar yanısıra kistik papiller yapılar izlenebilmektedir. Nükleol belirginliği, artmış mitoz görülebilmektedir. Yüksek dereceli tümörlerde ise perinöral invazyon, nekroz, mitoz, sellüler anaplazi izlenebilmektedir.

Histolojik olarak bu tümörleri skorlamada geçmişte pekçok değişik sistemler kullanılmıştır ancak hiçbirisi kabul görmemiştir. Ancak son zamanlarda kabul görmüş ve beş histopatolojik kriter (kistik komponent <%20, nöral invazyon, nekroz, 4 veya >4 mitoz/10BBA, anaplazi) içeren sisteme göre, tümörler düşük, orta ve yüksek dereceli olarak sınıflanabilmektedir (17) (Tablo 2.1). Üç farklı hücre tipinin tümörde farklı oranlarda bulunmasının tümör derecesi üzerine etkisi yoktur.

Tablo 2.1. Mukoepidermoid karsinomları derecelendirmede kullanılan histopatolojik özellikler, puan değerleri ve skorları.

Histopatolojik Özellikler	Puan Değeri
Kistik komponent <%20	2
Nöral invazyon	2
Nekroz	3
4 veya >4 mitoz/10BBA	3
Anaplazi	4
Tümör Derecesi	Puan Skoru
Düşük dereceli	0-4
Orta dereceli	5-6
Yüksek dereceli	7 ve >7

Mukoepidermoid karsinomun ayırıcı tanısında nekrotizan sialometaplazi, inverted papillom, duktal papillom, kistadenom, sebasöz neoplazmlar, adenoskuamöz karsinom, şeffaf hücreli karsinom, skuamöz hücreli karsinom ve metastazlar yer almaktadır. Nadiren sklerozan mukoepidermoid karsinomlar kronik sialoadenit ile karışabilir. Nadir görülen tükrük bezinin primer skuamöz hücreli karsinomu tanısını vermeden önce mutlaka mukoepidermoid karsinom ve metastatik bir skuamöz hücreli karsinom ekarte edilmelidir (18).

İmmünohistokimyasal olarak mukoepidermoid karsinom içindeki seyrek ve dağınık haldeki skuamoid hücreler yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin ile pozitif reaksiyon vermektedir.

Sitogenetik olarak bazı mukoepidermoid karsinom olgularında akut lösemideki gibi t(11:19) (q21;p13) translokasyonu saptanmıştır (19).

Hastaların çoğu genellikle iyi bir klinik seyre sahiptir. Yapılan bir çalışmada hastaların %8'inin tümöre bağlı öldüğü bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada ölen hastaların, parotis ve minör tükrük bezinde yüksek tümör derecesi ile korelasyon gösterdiğini ancak submandibuler bezde yerleşim gösteren tümörlerde böyle bir korelasyon görülmediğini bildirilmişlerdir (20). Genellikle bölgesel invazyon gösteren rezeke edilemeyen tümörler, uzak organ metastazı veya adjuvan terapiye bağlı gelişen komplikasyonlar, tümöre bağlı ölüme neden olmaktadır (21). Yapılan çalışmalarda Ki-67 indeksinin %10'dan fazla olması, yüksek tümör derecesi, artmış rekürrens, metastaz ve azalmış sağ kalımla ilişkili bulunmuştur (22, 23). Mukoepidermoid karsinom olgularında prognostik olarak kullanılabilir genetik faktör henüz mevcut değildir.

2.2.2 Adenoid kistik karsinom

Adenoid kistik karsinom, değişken morfolojik konfigürasyonlarda epitelyal ve myoepitelyal hücrelerden oluşan bazaloid bir tümördür. Tübüler, kribriform ve solid paternlere sahiptir.

Tüm tükrük bezi tümörlerinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Sıklıkla parotis, submandibular ve minör tükrük bezlerinde görülmektedir. Submandibular ve minör tükrük bezlerinin en sık malign tümörüdür (24). Minör tükrük bezi tümörlerinin %30'unu oluşturmaktadır, en sık damakta olmak üzere dil, bukkal mukoza, dudak ve ağız tabanında yerleşim göstermektedirler. Her yaşta görülebilen

adenoid kistik karsinom, genellikle 20 ile 84 yaşları arasında görülmekte olup ortalama görülme yaşı 52'dir. Her iki cinsiyette eşit oranda görülmekle birlikte submandibular yerleşimli olanlar kadınlarda daha sık görülmektedir (24). "Memorial Sloan-Kettering" Kanseri Merkezi'nde yapılan 264 adenoid kistik karsinom olgusunun %17'si parotis bezinde, % 15.5'i submandibular bezde, geri kalanları ise minör tükürük bezlerinde (%25 damak, %12 antrum, %11 dil, %6 nazal kavite) gelişim göstermektedir (25).

En sık klinik semptom yavaş büyüyen kitle ve bunu takiben perinöral invazyon nedeniyle oluşan ağrıdır. Fasial sinir paralizi de olgulara eşlik edebilir. Bazen fasial sinir paralizi, lezyon belirgin hale gelmeden de ilk semptom olabilmektedir.

Makroskopik olarak kapsülsüz, solid, infiltratif paternde büyüme göstermektedir.

Histopatolojik olarak tümör, duktal hücreler ve hiperkromatik, köşeli çekirdekli, şeffaf sitoplazmalı modifiye myoepitelyal hücreler olmak üzere iki ana hücreden oluşmaktadır.

Tümörün mikroskopik olarak kribriform, tübüler ve solid (bazaloid) olmak üzere üç histolojik paterni vardır. Tübüler paternde, iç yüzeyi epitelyal, dışı myoepitelyal hücrelerle döşeli lüminal yapılarla karakterize iyi gelişmiş duktus ve tübüller izlenmektedir. Kribriform paternde silindirik şeklinde hyalin veya bazofilik materyalle dolu mikrokistik boşluklar içeren hücre grupları görülmektedir. Solid paternde tübüler veya mikrokistik yapılar içermeyen, monoton bazaloid hücre tabakaları izlenmektedir. Tümör içinde stroma genellikle hyalinizedir ve bazen miksoid ya da müsinöz değişiklikler gösterebilmektedir. Perinöral ve intranöral invazyon adenoid kistik karsinomların belirgin bir özelliğidir. Perinöral invazyon vakaların yaklaşık %50'sinde görülebilmektedir.

İmmünohistokimyasal olarak polimorfik düşük dereceli adenokarsinomdan ayırmada Ki-67 yardımcı olabilmektedir (26). Literatürde DNA içeriği, C-kit ve E-Cadherin ile tümörün biyolojik davranışı arasında ilişki bildirilmiştir (27, 28). Bu tümörlerde Ki-67 ve p53 çalışılmış ancak anlamlı bir sonuç bildirilmemiştir (29, 30). Aynı zamanda bu tümörlerde östrojen ve progesteron reseptör pozitifliği de bildirilmiş ancak biyolojik önemi henüz anlaşılamamıştır.

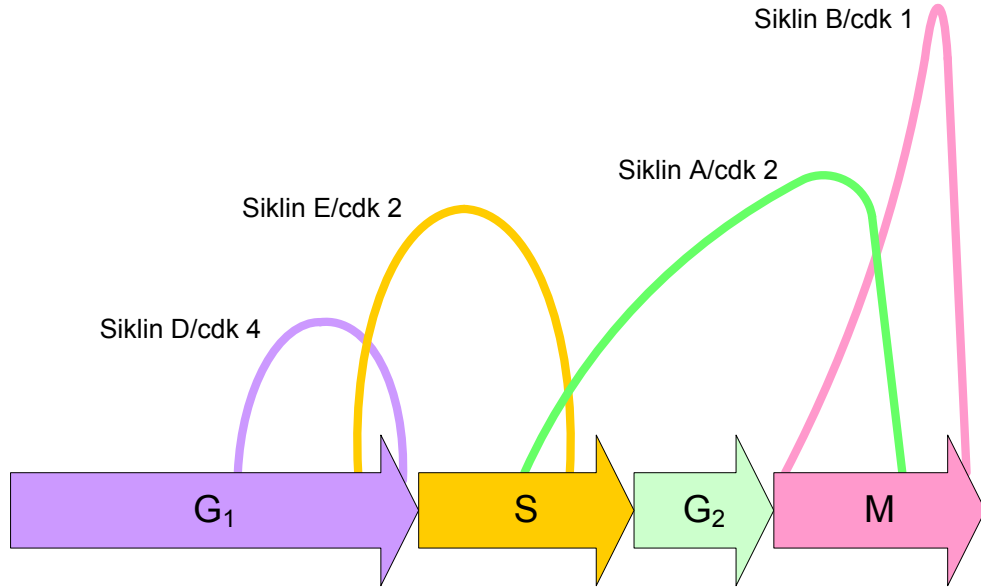
Adenoid kistik karsinomun ayırıcı tanısında pleomorfik adenom, polimorfik düşük dereceli adenokarsinom, epitelyal-myoepitelyal karsinom, bazal hücreli adenom, adenokarsinom ve bazaloid skuamöz karsinom yer almaktadır.

Tümörün histolojik paterni, tümör lokalizasyonu, klinik evre, kemik invazyonu, cerrahi sınırlar ve metastaz varlığı önemli prognostik faktörlerdir. Ancak bunlardan en önemlisi klinik evredir (31). %30'dan fazla solid alan içeren tümörler, kribriform ve tübüler paterndeki tümörlere göre daha agresif seyirlidir (31). Beş yıllık yaşam süresi yaklaşık %35'dir. Hastaların %80-90'ı 10-15 yıl içinde tümör nedeniyle ölmektedir. Lokal rekürrens oranı değişik serilerde değişmekle birlikte %16-85 arasındadır. Lenf nodu metastazı nadir görülmektedir, yapılan çalışmalarda olguların %5-25'inde lenf nodu metastazı ve %25-55'inde uzak organ metastazı bildirilmiştir. Uzak organ metastazı yapan olguların 5 yıllık sağ kalım oranı %20'dir. Hematojen yayılımla sıklık sırasına göre en sık akciğere ve sonra kemik, beyin ve karaciğere metastaz görülmektedir. Ayrıca tüm olguların %15'inde intravasküler tümör yayılımı izlenmektedir. Adenoid kistik karsinom olgularında sık olarak gördüğümüz perinöral invazyonun sağ kalıma etkisi tartışmalıdır (32).

2.3 Hücre siklus regülasyonu

Hücre siklusunda hücrelerin düzenli olarak çoğalması, siklinler, siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve bunların inhibitörleri ile düzenlenir. CDK'lar, hücre siklusunda bir sonraki faza geçişteki kritik hedef proteinleri fosforile eder (Şekil 2.1). CDK'lar hücre siklusu boyunca düzenli olarak inaktif formda salınır. Siklinlere bağlandıktan sonra fosforile olup aktif forma geçerler (33). CDK'ların aksine siklinler hücre siklusunda spesifik fazlarda sentezlenip CDK'ları aktive ederler ve bu görevi tamamladıktan sonra siklin düzeyleri hızla düşer. Siklinler stabil olmayan bir yapıya sahiptir ve ubiquitin-proteazom yolağı ile hızla yıkılırlar. Hücre siklusunda rol alan pek çok regülatuar protein ubiquitin veya ubiquitin benzeri proteinlerle konjuge olup modifiye olmaktadır. Bu modifikasyon sinyal iletiminde, modifiye proteinin hücre içindeki değişik yerlerdeki lokalizasyonunda ve aktivitesinde, yarılanma ömründe ve diğer moleküllerle etkileşiminde önem kazanmaktadır. Proteinlerin ubiquitin modifikasyonu; hücre siklus regülasyonu, stres ve ekstrasellüler etkilere hücresel cevapta, nöral ağ morfogenezinde, DNA onarımında, immün veya inflamatuvar cevap regülasyonunda ve organellerin biyogenezi gibi pek çok kritik

yolakta önemli rollere sahiptir. Deubikinyasyon ise bu modifikasyonun tersi olup deubikinyasyon enzimleri olan tiol proteazlar ile gerçekleşmektedir. 15'ten fazla siklin tanımlanmıştır; siklin D, E, A ve B hücre siklusunda ardarda, bir ya da daha fazla CDK'a bağlanır.



Şekil 2.1. Hücre siklusunda siklin-siklin bağımlı kinaz (CDK) kompleks ekspresyonu.

Hücre siklusunda ilk olarak siklin D düzeyi artar ve CDK4 ve CDK6'a bağlanarak aktive eder. G₀ veya erken G₁ fazındaki istirahat halindeki hücreler büyüme faktörleri ile stimule olduğunda siklin D ve siklin E düzeyleri artarak siklin D-CDK4 ve siklin E-CDK2 kompleksi aktive olur. Siklin D-CDK4 ve siklin E-CDK2 kompleksi retinoblastom proteinini (RB) fosforile ederek hücre siklusunda G₁→S engelini aşarak hücreyi DNA sentetik fazına sokarlar. Hücre siklusunun S fazında ilerlemesi ve DNA replikasyonunun başlaması aktive siklin E-CDK2 kompleksi ile gerçekleşmektedir. Bir sonraki faz olan G₂→M geçişinde CDK'lar ile kompleks oluşturan siklin A ve B kritik olayları regüle etmektedir. Siklin A-CDK2 kompleksi mitotik profazdaki olayları regüle eder. Mitotik profazda ana medyatör siklin B-CDK1 olup bu kompleksin inaktivasyonu ile hücre mitoz fazından çıkar. Yeni bölünmüş hücreler G₁ fazına veya G₀ fazına geçer.

Siklin-CDK kompleks aktivitesi CDK inhibitörleri ile regüle olmaktadır (34, 35). Başlıca iki CDK inhibitörü vardır: Cip/Kip ailesi ($p21^{cip1}$, $p27^{kip1}$ ve $p57^{kip2}$) ve INK4/ARF ailesi ($p14^{ARF}$, $p15^{INK4b}$, $p16^{INK4a}$, $p18^{INK4c}$ ve $p19^{INK4d}$).

Hücre siklus kontrolünde fonksiyon gören siklin ve CDK'ların aktivitelerinin regülasyonundaki bir bozulma hücre proliferasyonuna neden olmaktadır. Bazı insan kanserlerinde siklin ve CDK'ların anormal ekspresyonları bilinmektedir. CDK inhibitörlerinin mutasyonel inaktivasyonu da siklin ve CDK'ların regülasyonunu bozarak hücre proliferasyonuna neden olmaktadır.

Malign dönüşümde başlıca neden normal hücre siklus kontrolünün bozulması veya kaybolmasıdır. Hücre siklusunun dört anahtar regülatuarından ($p16^{INK4a}$, siklin D, CDK4, RB) en az birinin regülasyonundaki bozulma insan kanserlerinin çoğunun nedenini oluşturmaktadır (34).

2.3.1 p27

CDK inhibitörü olan p27, hücre siklusunda G1→S fazı geçişinde regülatuar olan siklin E-CDK2 ve siklin A-CDK2 kompleksinin potansiyel inhibitörüdür (36, 37). Bir tümör supresör role sahip olan p27'nin mutasyonları insan tümörlerinde çok nadir görülmektedir (38). Bununla birlikte çoğu kanser tipinde, p27 proteinin azalmasının veya yokluğunun tümör agresivitesi ve azalmış sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca p27 regülatuar mekanizmasının kırılmasının neoplaziye yol açtığı ileri sürülmektedir. p27'nin hücre içindeki ekspresyon düzeyleri yanısıra nükleus yada sitoplazmik lokalizasyonu ile fonksiyonu arasında ilişki mevcuttur (39, 40, 41). Bununla birlikte son yıllarda meme ve kolorektal karsinomlarla yapılan çalışmalarda, yüksek tümör derecesi ile lenf nodu metastazı veya azalmış sağ kalım gösterenlerde, yüksek p27 ekspresyonu saptayan yayınlar da mevcuttur (42, 43). Yine diffüz büyük B hücreli lenfomaların bazı alt tiplerinde de artmış p27 ekspresyonu saptanmıştır (44, 45). p27'nin translasyon sonrası regülasyonunda başlıca iki molekül rol almaktadır; Skp2 ve Jab1. Skp2 ubiquitin aracılı p27'nin yıkımında rol almaktadır (46). Jab1 bir nükleer eksport proteini olup p27'nin nükleustan sitoplazmaya tranportunu sağlayıp, p27'nin yıkımında rol almaktadır (47). PGP9.5 ise Jab1 aracılı p27 yıkımında rol almaktadır (48).

2.3.2 Jab1

Jab1 (*Jun activation domain-binding protein-1*), ilk olarak hücre proliferasyonunda görev alan gen regülatuar AP-1 proteinlerinin (Jun/Fos proto-onkogen) koaktivatörü olarak tanımlanmıştır (49). CSN5 (“COP9 signalosome subunit 5”) olarak ta bilinen Jab1, sinyal transdüksiyonu, gen transkripsiyonu ve protein stabilitesini düzenleyen COP9 regülatuar multiprotein kompleksinin bir parçasıdır (50, 51). Yapılan son çalışmalarda, Jab1’in spesifik olarak CDK inhibitörü p27 proteinine bağlanarak, p27’yi nukleustan sitoplazmaya taşıyarak ubiquitin-proteozom sistemi ile degradasyonunu artırdığı ve hücre içinde p27 düzeyini azalttığı gösterilmiştir (47, 52). Yapılan bir çalışmada epitelyal over tümörlerinde artmış Jab1 ekspresyonu, azalmış p27 düzeyi ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (53). Jab1’in; pankreatik duktal karsinom, laringeal skuamöz hücreli karsinom, akciğer adenokarsinomu, baş boyun kanserleri, invaziv meme kanseri, pitüiter tümörler, anaplastik büyük hücreli lenfoma, tiroid medüller karsinomu gibi daha pek çok tümörde artmış ekspresyonu tanımlanmıştır (54).

2.3.3 Skp2

Skp2 (*S-phase kinase-associated protein 2*), F-box ailesinin, SCF (Skp1/Cullin/F-box) kompleksinin spesifik substrat-tanıma subunitelerinin bir üyesidir (55). SCF kompleksi; devamlı subuniteler (Skp1, Cullin-1 ve ROC1) ve değişken subuniteler (F-box protein) içeren geniş bir ubiquitin ligaz ailesini kapsamaktadır (56). Yapılan çalışmalarda Skp2’nin ubiquinasyon için gerekli olduğu ve p27’nin proteazomal yıkımında rol aldığı bildirilmiştir (46, 57). Skp2’nin deregülasyonunun, p27 proteolizisini artırarak neoplastik transformasyona yol açabileceği düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda Skp2’nin onkojenik potansiyeline ilişkin bulgular elde edilmiştir. Yüksek Skp2 ekspresyon düzeyleri, larinksin skuamöz hücreli karsinomu, oral skuamöz hücreli karsinom, kolorektal karsinom, gastrik karsinom, prostat karsinomu gibi pek çok malign tümörde kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (58, 59, 60, 61, 62, 63).

Adenoid kistik karsinom olgularında yapılan bir çalışmada Skp2 ve p27 arasında ters bir ilişki gözlenmiş, Skp2 artmış ekspresyonuna karşın p27

düzeylerinde azalma saptanmıştır. Ancak artmış Skp2 ekspresyonu ile histolojik tümör derecesi ve lenf nodu metastazı arasında bir ilişki saptanmamıştır (64).

Klinik takibi olan mukoepidermoid karsinom tanısı olan 43 olguluk bir çalışmada Skp2 tümör çapı, mikroskopik derece ve kötü prognoz ile ilişkili bulunurken, Skp2 ekspresyonu ile p27 düzeyleri arasında ters korelasyon saptanmamıştır (65).

Bölümümüzde daha önce tiroid papiller karsinom olgularında immünohistokimyasal olarak p27 ile Jab1 ve Skp2 ekspresyonlarının korelasyonlarına yönelik yaptığımız 30 vakalık bir çalışmada; p27 ile Jab1 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmezken, p27 ile Skp2 ekspresyonu arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bununla birlikte Skp2 ekspresyonu ile tümör multisentrisitesi ve Jab1 ile de tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

2.3.4 PGP9,5

“The neuron cytoplasmic gene product 9.5 (PGP9.5) / ubiquitin-C-terminal hydrolase 1 (UCHL-1) protein” ubiquitin prekürsörleri ve ubiquitinli proteinlerin işlevinde yer almaktadır. Bu enzim bir thiol proteaz olup ubiquitin C-terminaline bağlı peptidi tanıyıp hidrolize etmektedir (66, 67). PGP9.5 hücre sitoplazmasında lokalize olup özellikle nöronlarda ve diffüz nöroendokrin sistem ve bunların tümörlerinde eksprese olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda PGP9.5 ve değişik insan tümörleri arasında ilişki bulunmuştur; örneğin küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (68), pankreatik kanser (69), invaziv kolorektal kanser (70), medüller tiroid karsinomu (71), ösefagial skuamöz hücreli karsinom (72) ve nöronal orjinli karsinomlar (73). Bu kanserler için pek çok yayında PGP9.5’un iyi bir tümör belirteci olduğu tanımlanmıştır. Ubikitin-proteazom sisteminde, deubikinasyonunda rol alan PGP9.5’un overekspresyonu pek çok organ ve organ hastalıkları ile tümör gelişimde rol almaktadır.

Akciğer kanserlerinde PGP9.5’un aşırı ekspresyonunun tümör evresi ile artması akciğer kanser tümörögenezinde PGP9.5’un rol alabileceğini göstermektedir. Caballero ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PGP9.5’un, p27 degradasyonunda Jab1 proteini ile birlikte rol aldığı gösterilmiştir. PGP9.5 en az üç protein ile interaksiyona girmektedir ki bunlardan birisi Jab1’dir. Jab1, p27’ye bağlanarak

p27'nin nukleustan sitoplazmaya transportuna ve burada yıkımına yol açmaktadır. Hem in vivo hem in vitro PGP9.5'un Jab1 ile ilişkisi gösterilmiş olup ayrıca akciğer kanseri hücrelerinde nukleusta Jab1 ve PGP9.5'un, p27 içeren heteromerik bir kompleksin parçaları olabileceği gösterilmiştir. Jab1 ve PGP9.5'un nükleer lokalizasyonunun, p27'nin nukleusta azalmış seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur. Tersine kontakt inhibisyonla PGP9.5 ve Jab1 perinükleer veya sitoplazmik yerleşim gösterirse, p27 yalnızca nukleusta lokalize olmaktadır. Bu nedenle PGP9.5, Jab1 ile olan etkileşimi ve nükleer translokasyonu ile p27 degradasyonunda rol alabilmektedir (48).

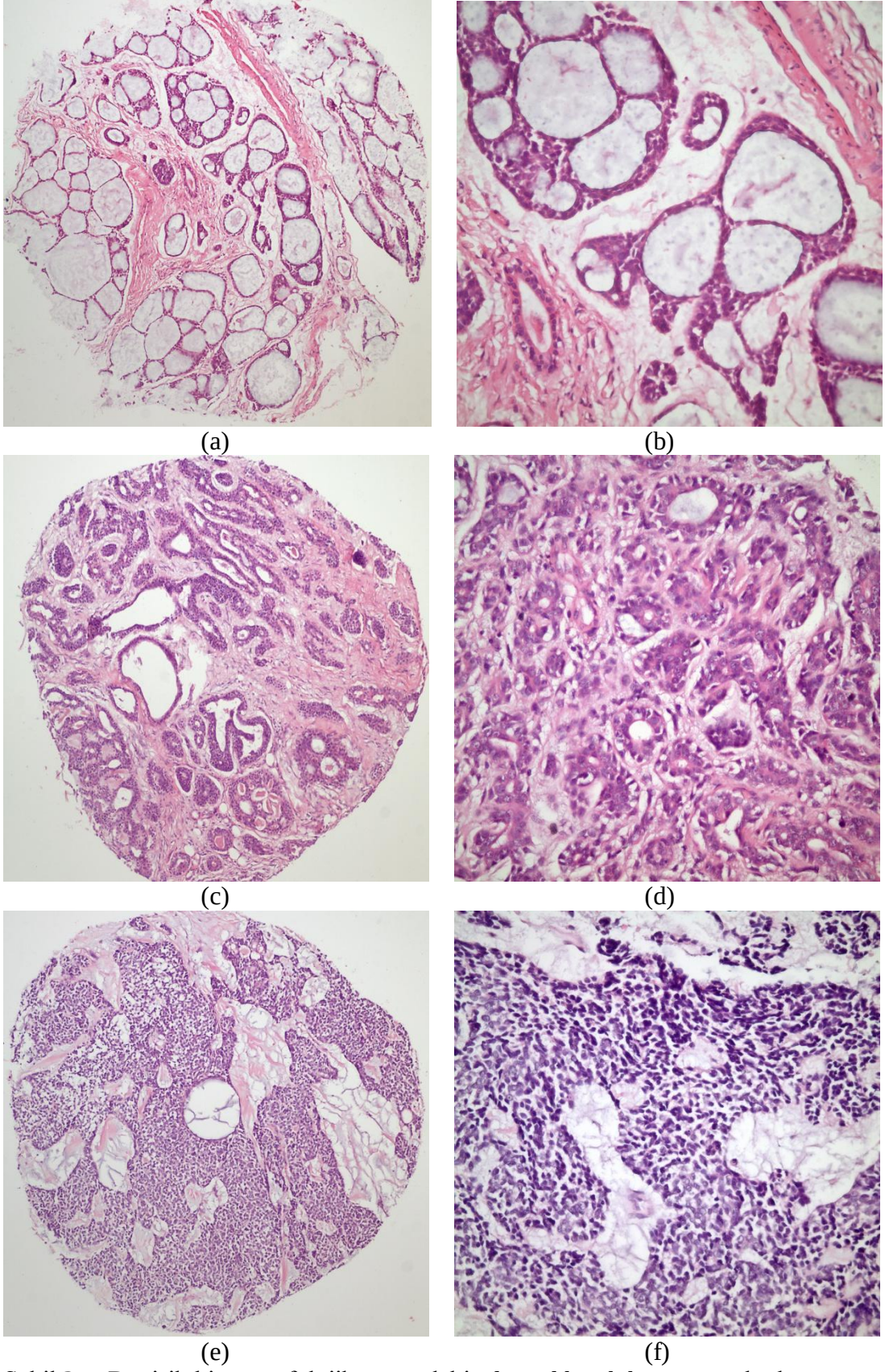
GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Vaka Seçimi

Bu çalışmada 1990-2006 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirilmiş insizyonel ve eksizyonel bütün benign ve malign tükruk bezi tümörleri ile tükruk bezi lezyonlarının patoloji raporları incelendi. Toplam 832 tükruk bezi olgusunun 436'sının neoplastik, 396'sının non-neoplastik olduğu saptandı. Non-neoplastik olguların tekrarlayan biyopsileri ve neoplastik olguların nüks biyopsileri bu sayımın dışında bırakıldı. Bunlardan malign ve benign olan neoplastik olguların, patoloji raporları esas alınarak, tanı, lokalizasyon, yaş ve cinsiyet dağılımları incelendi.

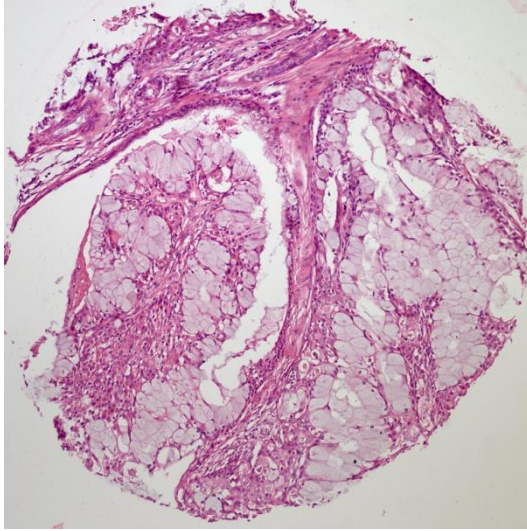
Malign tükruk bezi tanısı almış olgulardan, tanısı mukoepidermoid karsinom (70 olgu) ve adenoid kistik karsinom (46 olgu) olan tüm vakaların hematoksil-eozin ile boyalı kesitleri patoloji arşivinden çıkartıldı. Arşivde kesitlerine ulaşamayan olguların mevcut parafin blokları arşivden çıkartılarak yeni kesitler elde edildi. Ancak konsültasyon nedeniyle gönderilmiş blokların iade edilmesi ya da bazı konsültasyon vakalarının yalnızca hazır kesitlerinin bulunması nedeniyle sınırlı sayıdaki bu olgular sadece hematoksil-eozin düzeyinde incelendi ve çalışma grubunun dışında tutuldu.

Mukoepidermoid ve adenoid kistik karsinom olguları DSÖ (2005)'nün tanı ve derecelendirme kriterleri göz önünde bulundurularak, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı varlığı dikkate alınarak tekrar değerlendirildi. Olgularımızdan bazılarının farklı histomorfolojik paternlerine ve perinöral invazyonlarına ilişkin hematoksil-eozin kesitlerine ait resimler Şekil 3.1, Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'te gösterilmiştir. Bu vakalar arasından lenf nodu disseksiyonu yapılmış, yeterli sayıda ve kalitede blok ve kesiti bulunan 25 mukoepidermoid karsinom ile 19 adenoid kistik karsinomdan oluşan toplam 44 olgu ile çalışma grubu oluşturuldu.

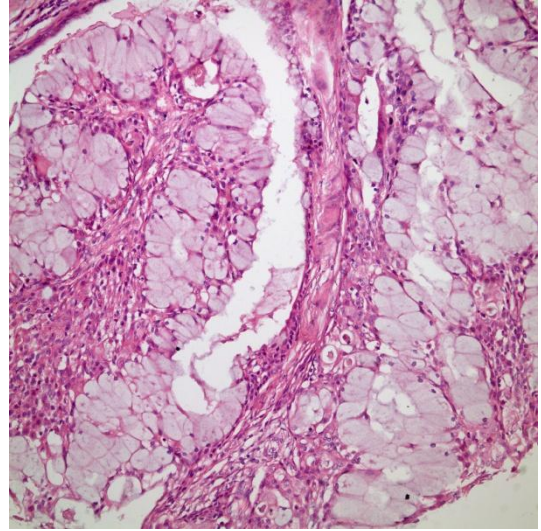


Şekil 3.1. Değişik histomorfolojik paterndeki adenoid kistik karsinom olguları.

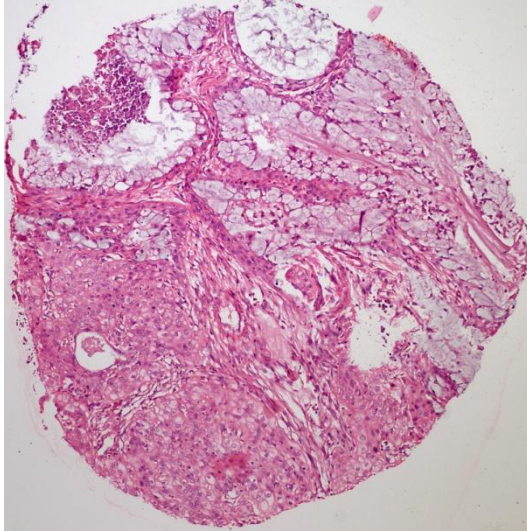
Şekil 3.1. (devamı) a,b)Kribriform paternde silindir şeklinde, hyalin veya bazofilik materyalle dolu mikrokistik boşluklar içeren hücre grupları. c,d)Tübüler paternde, iç yüzeyi epitelyal, dışı myoepitelyal hücrelerle döşeli, lüminal yapılar sergileyen duktus ve tübüller. e,f)Solid paternde, tübüler veya mikrokistik yapılar içermeyen, monoton bazaloid hücre tabakaları.



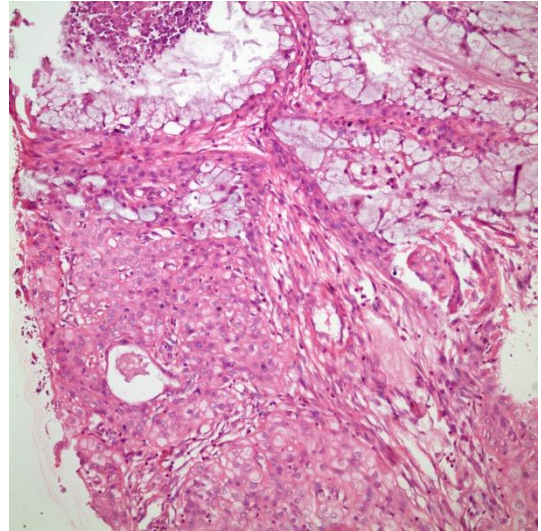
(a)



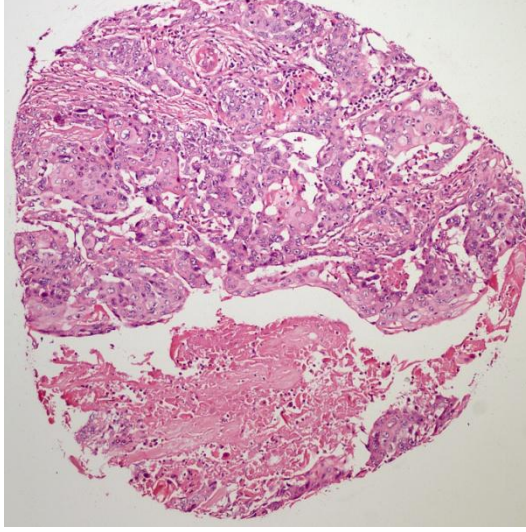
(b)



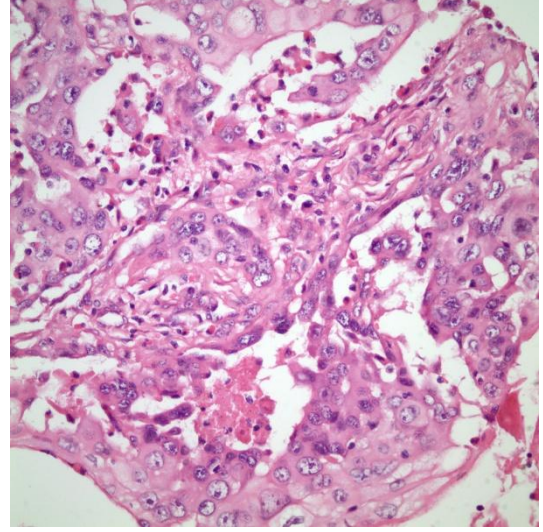
(c)



(d)

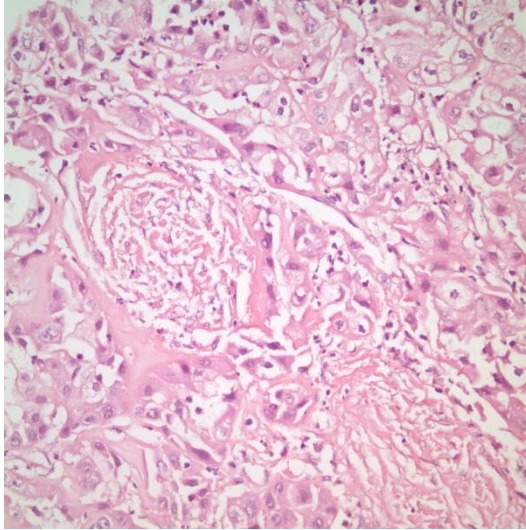


(e)

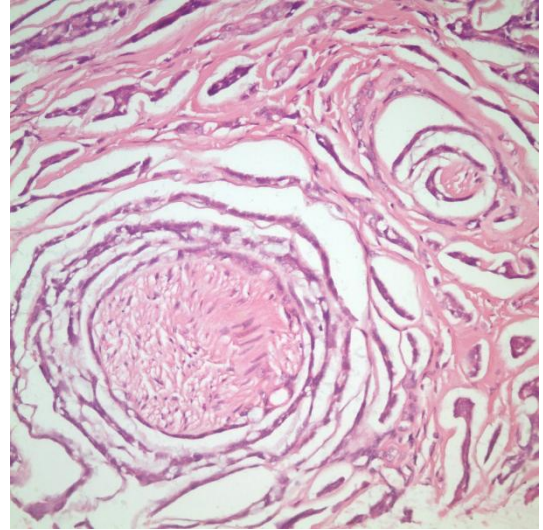


(f)

Şekil 3.2. Değişik derecelerdeki mukoepidermoid karsinom olguları. a,b)Düşük dereceli MEK, mukus üreten hücreler ve kistik boşluklar. c,d)Orta dereceli MEK, mukus üreten hücreler ile epidermoid ve ara tipte hücreler. e,f)Yüksek dereceli MEK, nekroz alanları içeren, yüksek mitotik aktivite gösteren, eozinofilik sitoplazmalı, belirgin nükleollü, iri çekirdeklere sahip atipik nitelikte hücreler.



(a)



(b)

Şekil 3.3. Perinöral invazyon. a)MEK. b)AKK.

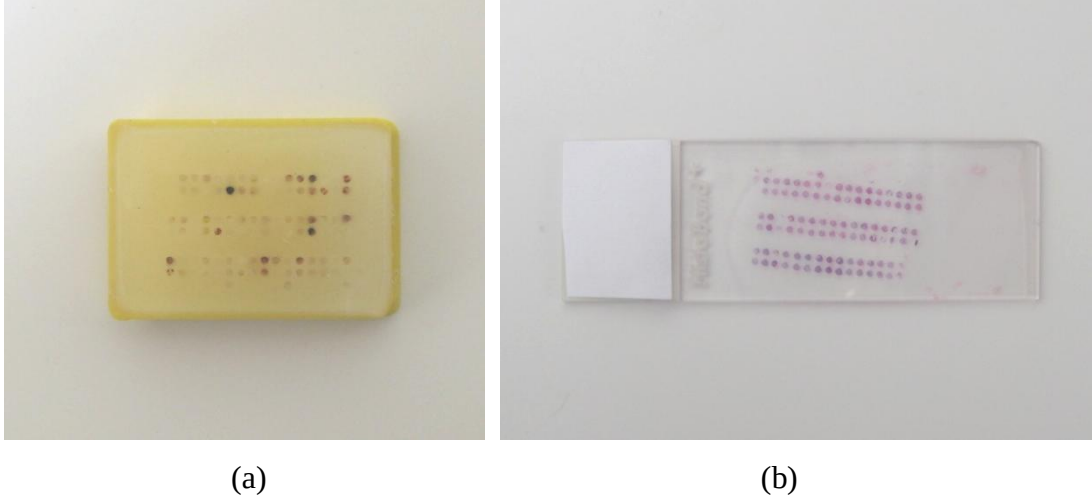
3.2 Blokların Hazırlanması

Oluşturulan çalışma grubunda, vaka grubunun ve çalışmada kullanılması planlanan immünohistokimyasal işaretleyicilerin çok olması dikkate alınarak, bir kesitte birden fazla vakanın değerlendirilebilmesine imkan sağlayan ve yaygın olarak kullanılmakta olan doku mikrodizisi oluşturma (*tissue microarray*) tekniği kullanıldı.

Doku mikrodizisi oluşturma tekniği (TMA) mevcut parafin bloklardan çapları 0,6 mm, 1 mm, 1,5 mm ve 2 mm arasında değişen iğnelerle dokuların alınıp tek bir parafin bloğa, dizin yapısında gömülme işlemidir. Bu işlem sayesinde tek bir parafin bloğa bine yakın doku örneği yerleştirilebilmektedir. Böylece TMA yüzlerce doku örneğinin moleküler ve immünohistokimyasal işaretleyiciler ile analizine imkan sağlamaktadır.

Çalışma grubunu oluşturan 44 vakaya ait tüm hematoksilen-eozin kesitler incelendi ve aynı kesitte veya farklı kesitlerde neoplazmi temsil eden değişik paterndeki alanlar, cam kalemi ile çapları 2-3 mm arasında değişen dairelerle işaretlendi. Her bir vaka için iki alan belirlendi. Ayrıca çalışmada kullanılan immünohistokimyasal işaretleyicilerin normal tükrük bezindeki boyanma paternini değerlendirmek amacı ile tümör dışı nedenlerle çıkarılmış tükrük bezi olgularından patolojik lezyon içermeyen, normal yapıda tükrük bezini temsil eden beş olguya ait kesitlerden de ikişer alan işaretlendi. İşaretlenen kesitler parafin blokları ile eşleştirildi. Bu alanlardan 1 mm'lik iğne yardımı ile her bir vaka için ikişer örnek alındı. Örnekler gömülerek, doku mikrodizisi bloğu oluşturuldu (Şekil 3.4). Bu bloktan elde edilen kesitlerden birisi hematoksilen-eozin ile boyandı, diğerleri immünohistokimyasal işaretleyicilerle boyanmak üzere saklandı.

Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal işaretleyicilerin pozitif kontrolleri için arşivimizden kontrol vakalar seçildi. Pozitif kontrol olarak, p27 için normal tonsil dokusu ve kolon adenokarsinom dokusu, Jab1 için meme kanseri dokusu, normal tonsil ve lenf nodu dokusu, Skp2 için normal tonsil ve meme dokusu, PGP9,5 için ise normal pankreas ve beyin dokusu kullanıldı. Seçilen pozitif kontrol vakalarından TMA kesitleri ile birlikte immünohistokimyasal işaretleyicilerle boyanmak üzere çok sayıda boyasız kesit hazırlandı.



Şekil 3.4. TMA bloğunun hazırlanması. a) TMA bloğu. b)TMA bloğundan elde edilen hematoksilen-eozin kesit.

Elde edilen TMA kesitlerinde, doku takip ve tespit artefaktı nedeniyle veya immünohistokimyasal boyama aşamasındaki teknik nedenlerle kesiti dökülen ya da TMA bloğuna uygulanan seri kesitlerde tümörü küçülen veya kaybolan olgulara ait parafin bloklardan tam yüzey kesitler elde edilerek tüm olgularda immünohistokimyasal işaretleyicilerin ekspresyon durumları incelendi.

3.3 İmmünohistokimya

3.3.1 Yöntem

Bu çalışmada kullanılan antikorlar, kaynakları, tarifleri, klonları ve dilüsyonları Tablo 3.1’de verilmiştir.

İmmünohistokimyasal boyanma avidin-biotin peroksidaz metodu kullanılarak yapıldı. Formalinde fikse olmuş, parafine gömülmüş TMA dokularından hazırlanan bloktan 4 µm kalınlığında kesitler Superfrost © lamlara (Menzel-Gläser, Braunschweig, Almanya) alındı. Bu kesitler 40 dakika boyunca 75°C’de etüvde deparafinize edildikten sonra ksilende 10 dakika bekletilip, farklı konsantrasyonlardaki etil alkol (%96’lık, %85’lik, %70’lik) ile rehidrate edildi. Daha sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için 10 dakika boyunca %3’lük hidrojen peroksit-metanol solüsyonu ile muamele edildi. Jab1 antikoruna için ayrılan kesit kullanıma hazır tripsin solüsyonu ile 37°C’de 10 dakika bekletilerek ön işlem

yapıldı. Skp2 antikoru için ayrılan kesit, kullanıma hazır tamponlanmış EDTA (pH 8.0) solüsyonu içerisinde 3 dakika boyunca düdüklü tencerede kaynatılıp basınç uygulanarak ön işlem yapıldı. p27 antikoru için ayrılan kesit, kullanıma hazır tamponlanmış sitrat (pH 6.0) içerisinde 3 dakika boyunca düdüklü tencerede kaynatılıp basınç uygulanarak ön işlem yapıldı. PGP9,5 antikoru için ayrılan kesite ön işlem yapılmadı. Kesitler ön işlemlerin ardından oda sıcaklığında soğutulmaya bırakıldı. Boyanma öncesi tüm kesitler 5 dakika süre ile *phosphate buffer saline* (PBS) içinde bekletildi. Ardından oda sıcaklığında antikorlarla 30 dakika boyunca inkübasyon yapıldı. Inkübasyon sonrası kesitler tekrar PBS ile yıkanıp önce biotin bağlı ikinci bir antikor ile 10 dakika, ardından tekrar PBS ile yıkandıktan sonra peroksidaz ile eşleştirilmiş streptavidin ile 10 dakika muamele edildi. Kromojen olarak diaminobenzidin kullanıldı ve 10 dakika süreyle muamele edildi. Zemin boyaması hematoksilin ile yapıldı.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan antikorlar, kaynakları, klonları ve dilüsyonları.

Antikor	Kaynak	Klon	Dilüsyon
p27	Novocastra	Fare monoklonal / 1B4	1:25
Jab-1	Zymed	Fare monoklonal / 4D11D8	1:100
Skp-2	Zymed	Fare monoklonal / 2C8D9	1:100
PGP9,5	DakoCytomation	Tavşan poliklonal	1:100

3.3.2 Değerlendirme

İmmünohistokimyasal boyalar; boyanma şiddetleri, boyanma oranları ve boyanma paternleri dikkate alınarak değerlendirildi. (Tablo 3.2)

Boyanma şiddeti kalitatif olarak 1 (negatif), 2 (zayıf-orta şiddette boyanma) ve 3 (kuvvetli boyanma) şeklinde değerlendirildi.

Boyanma oranı 1 (negatif veya neoplastik hücrelerin %10'undan azında boyanma), 2 (neoplastik hücrelerin %10-25'inde boyanma), 3 (neoplastik hücrelerin %25-50'sinde boyanma), 4 (neoplastik hücrelerin %50-75'inde boyanma) ve 5

(neoplastik hücrelerin %75'inden fazlasında boyanma) diye ayrılarak kantitatif bir metodla değerlendirildi.

Boyanma paterni değerlendirilirken p27 ve Skp2 için nükleer boyanmalar, Jab1 için sitoplazmik ve nükleer boyanmalar, PGP9,5 için ise sitoplazmik boyanmalar esas alındı.

Boyanma şiddeti ve boyanma oranının çarpımı (boyanma şiddeti x boyanma oranı) ile skor elde edilerek immünohistokimyasal reaktivite değerlendirildi. Bu değerlendirmeye göre (Tablo 3.2) p27 için kuvvetli ve %50'nin üzerinde yaygınlıkta nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Jab1 için değişen intensitede herhangi bir nükleer ve/veya sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. Skp2 için değişen intensitede herhangi bir nükleer boyanma pozitif kabul edildi. PGP9,5 için değişen intensitede herhangi bir sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi.

Tablo 3.2. Antikorların boyanma özelliklerine göre olguların gruplanması.

Primer antikor	Negatif grup	Pozitif grup
p27	Değişen intensitede ve <%50 yaygınlıkta nükleer boyanma	Kuvvetli intensitede ve $\geq$ %50 yaygınlıkta nükleer boyanma
Jab1	Negatif	Değişen intensitede ve yaygınlıkta herhangi bir pozitif nükleer ve/veya sitoplazmik boyanma
Skp2	Negatif	Değişen intensitede ve yaygınlıkta herhangi bir pozitif nükleer boyanma
PGP9,5	Negatif	Değişen intensitede ve yaygınlıkta herhangi bir pozitif sitoplazmik boyanma

3.4 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS 15.0 istatistiksel programı kullanılarak yapıldı. Tanı grupları arasındaki ve prognostik parametrelerdeki immünohistokimyasal işaretleyicilerin ekspresyon oranlarını karşılaştırmak için Ki-kare testi ve Fisher-Exact testleri kullanıldı. Tanı gruplarında işaretleyicilerin skor ortalamalarını karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tanı gruplarının kendi içindeki

işaretleyicilerin ekspresyon oranlarını karşılaştırmak için Cochran Q Testi kullanıldı. Farklı işaretleyiciler arasındaki ilişki ve uyum için Spearman's rho ve Blond-Altman yöntemi kullanıldı. p değerinin 0,05'in altında olması şartı istatistiksel anlam için arandı.

BULGULAR

4.1 Hastaların Genel Özellikleri

4.1.1 HÜTF Patoloji Anabilim Dalı'nda 1990-2006 yılları arasında tükürük bezi tümörü tanısı almış olguların tanı, lokalizasyon, yaş ve cinsiyet dağılımı

1990-2006 tarihleri arasındaki insizyonel ve eksizyonel bütün benign ve malign tükürük bezi tümörleri ile tükürük bezi lezyonlarının raporları incelenerek toplam 832 tükürük bezi olgusunun 436'sının neoplastik, 396'sının non-neoplastik olduğu saptandı. Neoplastik olguların tanı, lokalizasyon, yaş ve cinsiyetlere göre dağılımları incelendi.

Tükürük bezi tümörü tanısı almış 436 olgunun 214'ü (%49,08) erkek, 222'si (%50,92) kadındı. Olguların yaşları 1-87 arasında değişiyordu ve ortalama yaş 44,57 idi. Erkeklerin yaşları 1-87 arasında değişmekte olup ortalama yaş 46,45, kadınların yaşları 1-84 arasında değişmekte olup ortalama yaş 42,7 idi. Olguların %58,95'i (257 olgu) parotis bezinde, %12,62'si (55 olgu) submandibular bezde, %0,68'i (3 olgu) sublingual bezde ve %27,75'i (121 olgu) ise minör tükürük bezinde yerleşim göstermekteydi.

Tükürük bezi tümörü tanısı almış olguların %69,7'si (304 olgu) benign, %30,3'ü (132 olgu) maligndi. Benign ve malign tükürük bezi tümörlerinin lokalizasyona göre dağılımı Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Benign ve malign tükürük bezi tümörlerinin lokalizasyona göre dağılımı.

Tanı	Parotis bezi	Submandibular bez	Sublingual bez	Minör Tükürük bezi	Toplam
Benign	215 (%70,72)	34 (%11,18)	0 (%0)	55 (%18,1)	304 (%69,7)
Malign	42 (%31,8)	21 (%16)	3 (%2,2)	66 (%50)	132 (%30,3)
Toplam	257 (%58,95)	55 (%12,62)	3 (%0,68)	121 (%27,75)	436 (%100)

Benign tükürük bezi tümörü olgularının yaşları 1-80 arasında değişmekte olup ortalama yaş 43,8 idi. Olguların 153'ü (%50,32) erkek, 151'i (%49,68) kadındı. Erkeklerin yaş ortalaması 45,7, kadınların yaş ortalaması 41,9'du. En sık görülen benign tükürük bezi tümörü pleomorfik adenom olup benign tümör olgularının %74,7'sini (227 olgu) oluşturmaktaydı. İkinci en sık görülen benign tümör Warthin

tümörü olup benign tümör olgularının %21,4'ünü (65 olgu) oluşturmaktaydı. Diğer benign tükrük bezi tümörleri ise bazal hücreli adenom (2 olgu), myoepitelyoma (5 olgu), schwannom (2 olgu), nörofibrom (1 olgu), hemanjioperisitoma (1 olgu), lenfoepitelyal kist (1 olgu) olup benign tükrük bezi tümörü olgularının %3,9'unu oluşturmaktaydı. Olguların 215'i (%70,72) parotis bezinde, 34'ü (%11,18) submandibular bezde, 55'i (%18,1) ise minör tükrük bezlerinde yerleşim göstermekteydi. Benign tükrük bezi tümörlerinin lokalizasyona göre dağılımı Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Benign tükrük bezi tümörlerinin lokalizasyona göre dağılımı.

Tanı	Parotis bezi	Submandibular bez	Sublingual bez	Minör tükrük bezi	Toplam
Pleomorfik adenom	147	29	0	51	227 (%74,7)
Warthin tümörü	62	2	0	1	65 (%21,4)
Myoepitelyoma	1	1	0	3	5 (%1,6)
Bazal hücreli adenom	2	0	0	0	2 (%0,7)
Schwannom	0	2	0	0	2 (%0,7)
Nörofibrom	1	0	0	0	1 (%0,3)
Hemanjioperisitoma	1	0	0	0	1 (%0,3)
Lenfoepitelyal kist	1	0	0	0	1 (%0,3)
Toplam	215	34	0	55	304 (%100)

Pleomorfik adenom tanısı almış 227 olgunun 95'i erkek (%41,85), 132'si kadındı (%58,15). Yaşları 1-77 arasında değişen olguların ortalama yaşı 40,52 idi. Pleomorfik adenom olguları en sık parotis bezinde yerleşim göstermekteydi (%64,7). İkinci sıklıkta minör tükrük bezinde (%22,5) ve daha az oranda submandibular bezde (%12,8) gelişim saptandı.

Warthin tümörü tanısı almış 65 olgunun 54'ü erkek (%83), 11'i kadındı (%17). Yaşları 21-80 arasında değişmekte olup ortalama yaş 54,21'di. Pleomorfik adenomdan sonra ikinci en sık görülen benign tümör olan Warthin tümörü de yine en sık parotis bezinde (%95,4), daha az oranda submandibular bezde (%3) ve minör tükrük bezinde (%1,6) yerleşim göstermekteydi.

Malign tükrük bezi tümörü olgularının yaşları 3-87 arasında değişmekte olup ortalama yaş 46,2 idi. Olguların 62'si (%47) erkek, 70'i (%53) kadındı. Erkeklerin yaş ortalaması 48,16, kadınların yaş ortalaması 44,47 idi. En sık görülen malign

tükrük bezi tümörü mukoepidermoid karsinomdu ve malign olguların %53'ünü (70 olgu) oluşturmaktaydı. İkinci en sık görülen malign tümör ise adenoid kistik karsinom olup malign olguların %34,8'ini (46 olgu) oluşturmaktaydı. Diğer malign tükrük bezi tümörleri ise malign mikst tümör (4 olgu), asinik hücreli karsinom (4 olgu), epitelyal-myoepitelyal karsinom (2 olgu), malign lenfoma (2 olgu), tükrük bezi kanal karsinomu (1 olgu), myoepitelyal karsinom (1 olgu), anaplastik karsinom (1 olgu), müsinöz adenokarsinom (1 olgu) olarak izlenmiş olup malign tükrük bezi tümör olgularının % 12,2'sini oluşturmaktaydı. Olguların %50'si (66 olgu) minör tükrük bezinde, %31,8'si (42 olgu) parotis bezinde, %16'sı (21 olgu) submandibular bezde, %2,2'si (3 olgu) ise sublingual bezde yerleşim göstermekteydi. Malign tükrük bezi tümörlerinin lokalizasyona göre dağılımı Tablo 4.3'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Malign tükrük bezi tümörlerinin lokalizasyona göre dağılımı.

Tanı	Parotis bezi	Submandibular bez	Sublingual bez	Minör tükrük bezi	Toplam
Mukoepidermoid karsinom	27	9	1	33	70 (%53)
Adenoid kistik karsinom	5	9	2	30	46 (%34,8)
Malign mixed tümör	2	0	0	2	4 (%3)
Asinik hücreli karsinom	4	0	0	0	4 (%3)
Epitelyal-myoepitelyal karsinom	2	0	0	0	2 (%1,5)
Myoepitelyal karsinom	0	0	0	1	1 (%0,8)
Tükrük bezi kanal karsinomu	0	1	0	0	1 (%0,8)
Malign lenfoma	1	1	0	0	2 (%1,5)
Anaplastik karsinom	1	0	0	0	1 (%0,8)
Müsinöz adenokarsinom	0	1	0	0	1 (%0,8)
Toplam	42	21	3	66	132 (%100)

Mukoepidermoid karsinom (MEK) tanısı almış 70 olgunun 31'i erkek (%44,28), 39'u kadındı (%55,72). Yaşları 3-77 arasında değişmekte olup ortalama yaş 41,54'dü. MEK olguları en sık minör tükrük bezinde (%47,1), ikinci sıklıkta parotis bezinde (%38,6), daha az oranda da submandibular bez (%12,9) ve sublingual bezde (%1,4) yerleşim göstermekteydi.

Adenoid kistik karsinom (AKK) tanısı almış 46 olgunun 23'ü erkek (%50), 23'ü kadındı (%50). Yaşları 24-87 arasında değişen olguların ortalama yaşı 50,87 idi. AKK olguları en sık minör tükürük bezinde (%65,2), ikinci sıklıkta submandibular bezde (%19,6), daha az oranda da parotis bezi (%12,9) ve sublingual bezde (%4,3) yerleşim göstermekteydi.

4.1.2 Mukoepidermoid ve Adenoid Kistik Karsinom Olgularından Oluşturulan Çalışma Grubunun Genel Özellikleri

Çalışmaya alınan olguların yaşları 7-73 arasında değişmekte olup ortalama yaşları 45,64'dü. Olguların 30'u (68,18) kadın, 14'ü (%31,82) erkekti. Kadınların yaşları 7-73 arasında değişmekte olup ortalama yaşları 45, erkeklerin yaşları 32-71 arasında değişmekte olup ortalama yaşları 49'du.

Mukoepidermoid karsinom olgularının 7'si (%28) erkek, 18'si (%72) kadındı. Olguların %64'ü (16 olgu) parotis bezinde, %24'ü (6 olgu) submandibular bezde, %8'i (2 olgu) minör tükürük bezinde, %4'ü (1 olgu) sublingual bezde yerleşim göstermekteydi.

Adenoid kistik karsinom olgularının 7'si (%36,84) erkek, 12'si (%63,16) kadındır. Olguların %47,4'ü (9 olgu) minör tükürük bezinde, %31,6'sı (6 olgu) submandibular bezde, %15,8'i (3 olgu) parotis bezinde, %5,3'ü (1 olgu) ise sublingual bezde yerleşim göstermekteydi (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Çalışmaya alınan MEK ve AKK olgularının lokalizasyonlarına göre dağılımı.

Tanı	Parotis bezi	Submandibular bez	Sublingual bez	Minör Tükürük bezi	Toplam
MEK	16	6	1	2	25
AKK	3	6	1	9	19
Toplam	19	11	2	12	44

Mukoepidermoid karsinomlar DSÖ'nün önerdiği histopatolojik özellikler, puan değerleri ve skorları göz önüne alınarak derecelendirildiğinde olguların %36'sı (9/25) düşük dereceli, %16'sı (4/25) orta dereceli ve %48'i (12/25) yüksek dereceli olarak saptandı. Adenoid kistik karsinom olguları ise morfolojik paternlerine göre değerlendirildiğinde %63,15'inin (12/19) kribriform veya tübüler paternde olduğu, %36,85'inin (7/19) ise %30'dan fazla solid alan içerdiği izlendi (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Çalışma grubunu oluşturan MEK ve AKK olgularının histopatolojik özellikleri.

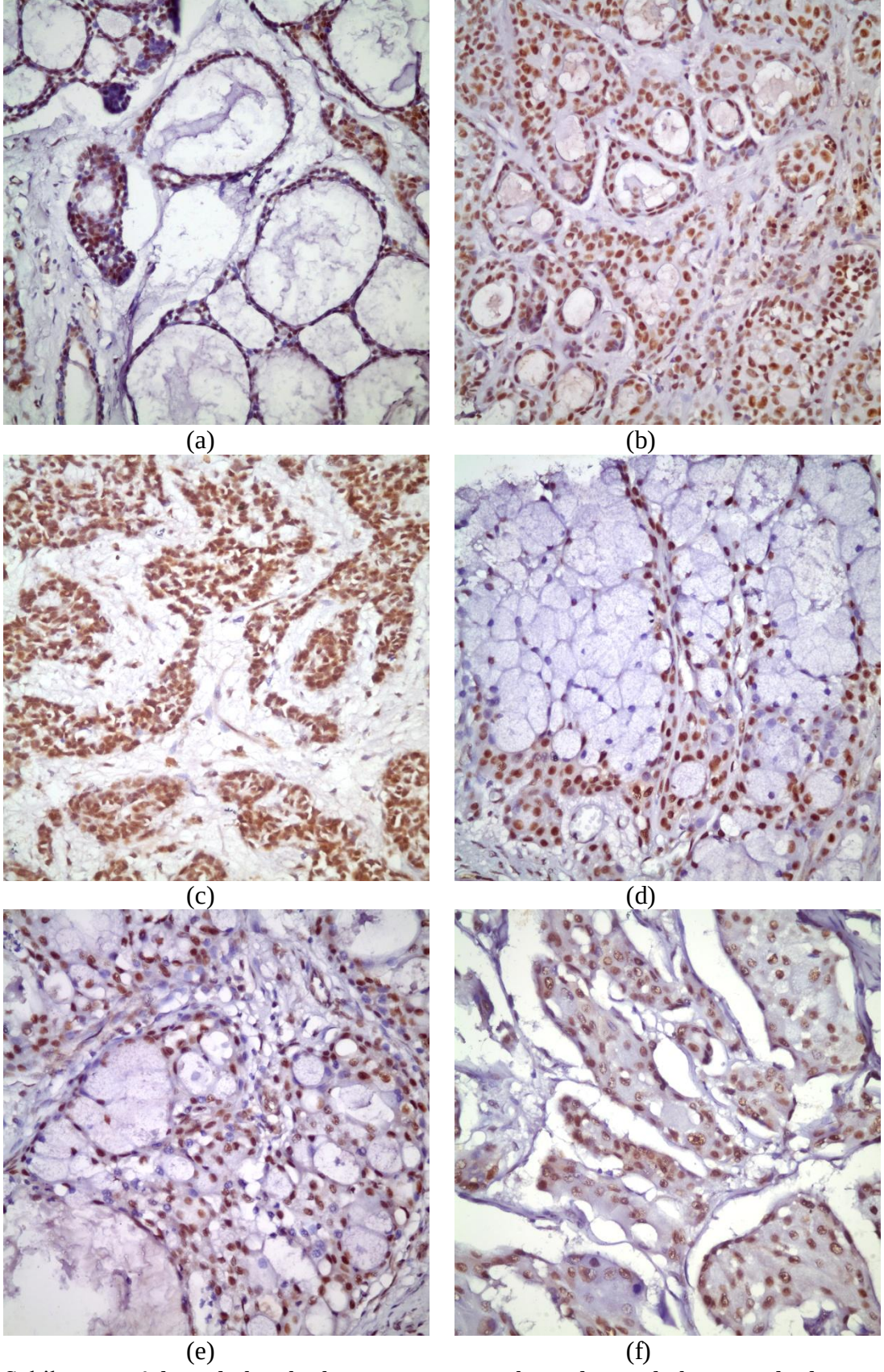
Tanı	Histopatolojik Özellik	Toplam
MEK	Düşük dereceli	9 (%36)
	Orta dereceli	4 (%16)
	Yüksek dereceli	12 (%48)
AKK	Kribriform / tübüler patern	12 (%63,15)
	>%30 solid alan içeren	7 (%36,85)

4.2 İmmünohistokimyasal İşaretleyicilerin Ekspresyon Durumları

Gereç ve Yöntem bölümünde belirtilen parametreler dikkate alınarak immünohistokimyasal ekspresyonu değerlendirilen p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 işaretleyicilerinin sonuçları aşağıda bildirilmiştir.

4.2.1 p27 Ekspresyonu

p27 ekspresyonu 44 olguda değerlendirildi. Tüm olgularda değişen intensite ve yaygınlıkta p27 ekspresyonu saptandı. Bu nedenle sadece kuvvetli nükleer ve %50'nin üzerinde yaygınlıkta boyanan, yüksek p27 ekspresyonu gösteren olgular pozitif grup olarak kabul edildi (Şekil 4.1). Diğerleri azalmış p27 ekspresyonu gösteren olgular olmak üzere negatif grup olarak kabul edildi. Olguların %70,5'inde (31/44), %50'nin üzerinde yaygın ve kuvvetli nükleer olmak üzere yüksek p27 ekspresyonu saptandı.



Şekil 4.1. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlarda p27 ekspresyonu.

Şekil 4.1. (devamı) Kribriiform patern (a), tübüler patern (b) ve solid patern (c) sergileyen AKK ile düşük dereceli MEK (d), orta dereceli MEK (e) ve yüksek dereceli MEK (f) olgularında nükleer p27 ekspresyonu.

Normal tükrük bezi örneklerinde asinilerde, ara ve çizgili duktuslarda nükleer pozitif reaksiyon saptandı.

MEK olgularının %88'inde (22/25), AKK olgularının %47,4'ünde (9/19) yüksek p27 ekspresyonu saptandı. MEK ve AKK grupları arasındaki p27 ekspresyon oranları arasındaki farka yönelik uygulanan istatistiksel analizde anlamlı fark bulundu (Pearson Chi-Square, $p=0,003$). Tanı gruplarındaki p27 ekspresyon durumları Tablo 4.6'de gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Tanı gruplarına göre p27 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.

Tanı	Negatif Grup	Pozitif Grup	Toplam	<i>p</i> değeri
MEK	3 (%12)	22 (%88)	25 (%100)	0,003
AKK	10 (%52,6)	9 (%47,4)	19 (%100)	
Toplam	13 (%29,5)	31 (%70,5)	44 (%100)	

Prognostik öneme sahip parametrelerdeki, p27 ekspresyon oranlarına bakıldığında; lenf nodu metastazı yapmış olguların %94,1'inde (16/17) yüksek P27 ekspresyonu saptanmıştır ve bu sonuç lenf nodu metastazı yapmamış gruptaki p27 ekspresyon oranları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Pearson Chi-Square, $p=0,006$) (Tablo 4.7). Metastazı olan MEK olgularının %92,9'u (13/14), AKK olgularının ise %100'ü (3/3) yüksek p27 ekspresyonu göstermektedir.

Tablo 4.7. Lenf nodu metastazı yapan ve yapmayan olgularda p27 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.

Lenf Nodu Metastazı	p27 negatif	p27 pozitif	Toplam	<i>p</i> değeri
Var	1 (%5,9)	16 (%94,1)	17 (%100)	0,006
Yok	12 (%44,4)	15 (%55,6)	27 (%100)	
Toplam	13 (%29,5)	31 (%70,5)	44 (%100)	

Perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon ve uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olgular arasındaki p27 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,185$, $p=0,742$, $p=0,676$).

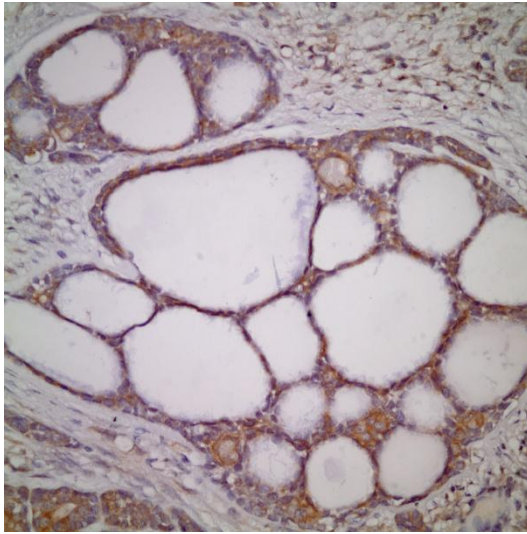
MEK grubu içinde tümör dereceleri arasında veya AKK grubu içinde morfolojik paternler arasında, p27 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir (sırasıyla $p=1,000$, $p=1,000$).

4.2.2 Jab1 Ekspresyonu

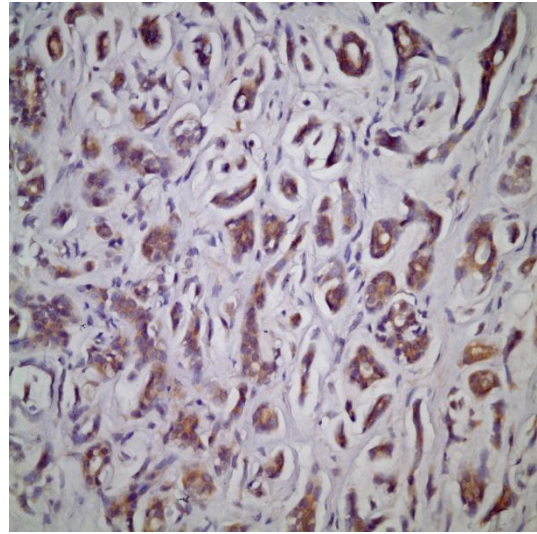
Jab1 ekspresyonu 44 vakada değerlendirildi. Hiçbir olguda kuvvetli intensitede ve %25'in üzerinde yaygınlıkta boyanma tespit edilmedi. Bu nedenle değişen intensitede ve yaygınlıkta herhangi bir nükleer ve/veya sitoplazmik boyanma gösteren olgular pozitif grup olarak kabul edildi (Şekil 4.2).

Vakaların %40,9'unda (18/44) pozitif ekspresyon görüldü.

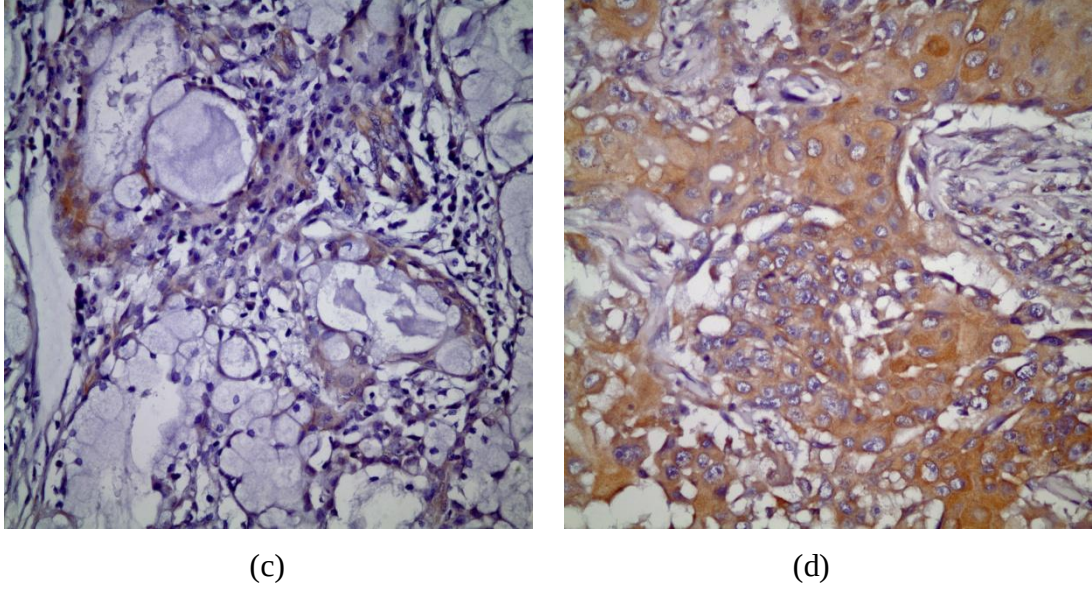
Normal tükrük bezi örneklerinde ara ve çizgili duktusların çoğunda, asinilerin ise az bir kısmında zayıf sitoplazmik ekspresyon gözlemlendi.



(a)



(b)



Şekil 4.2. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlarda Jab1 ekspresyonu. Değişik histomorfolojik paterndeki AKK (a, b) ve değişik tümör derecesindeki MEK (c, d) olgularında nükleer + sitoplazmik Jab1 ekspresyonu.

MEK olgularının %68'inde (17/25), AKK olgularının %5,3'ünde (1/19) Jab1 ile pozitif ekspresyon saptandı. MEK ve AKK gruplarında Jab1 ekspresyon oranları arasındaki farka yönelik uygulanan istatistiksel analizde istatistiksel olarak anlamlı fark elde edildi (Pearson Chi-Square, $p < 0,001$). Tanı gruplarında Jab1 ekspresyon durumları Tablo 4.8'da gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Tanı gruplarına göre Jab1 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.

Tanı	Negatif Grup	Pozitif Grup	Toplam	p değeri
MEK	8 (%32)	17 (%68)	25 (%100)	<0,001
AKK	18 (%94,7)	1 (%5,3)	19 (%100)	
Toplam	26 (%59,1)	18 (%40,9)	44 (%100)	

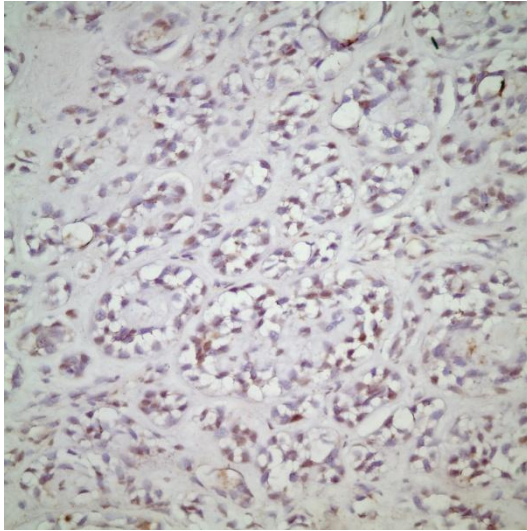
Prognostik öneme sahip, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı ile uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olgular karşılaştırıldığında Jab1 ekspresyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (sırasıyla $p=0,358$, $p=0,361$, $p=0,545$, $p=0,115$).

MEK grubu içinde tümör dereceleri arasında veya AKK grubu içinde morfolojik paternler arasında, Jab1 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir (sırasıyla $p=0,110$, $p=1,000$).

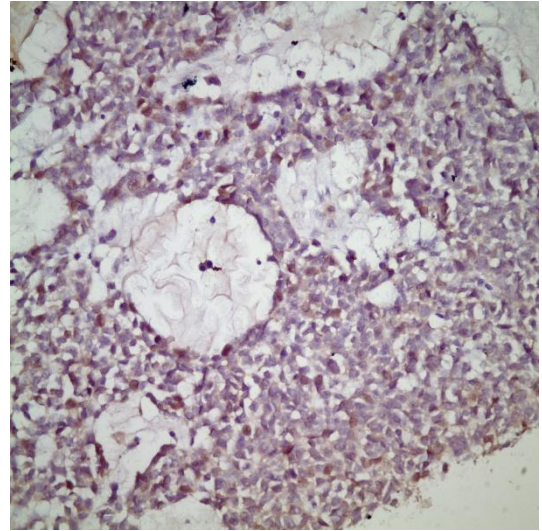
4.2.3 Skp2 Ekspresyonu

Skp2 ekspresyonu 44 vakada değerlendirildi. Hiçbir olguda kuvvetli intensitede ve %75'in üzerinde yaygınlıkta boyanma tespit edilmedi. Bu nedenle değişen intensitede ve yaygınlıkta herhangi bir nükleer boyanma gösteren olgular pozitif grup olarak kabul edildi (Şekil 4.3).

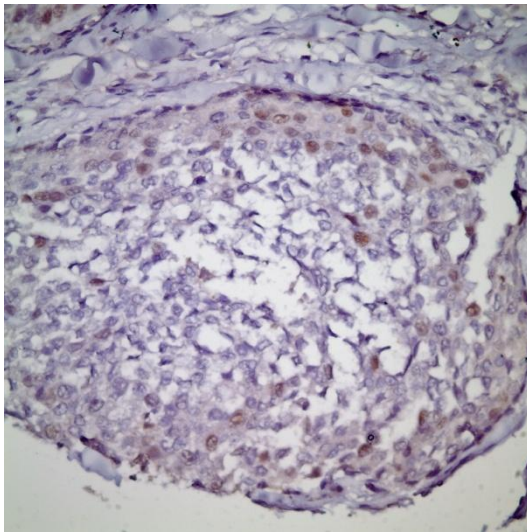
Vakaların %77,3'ünde (34/44) pozitif ekspresyon görüldü.



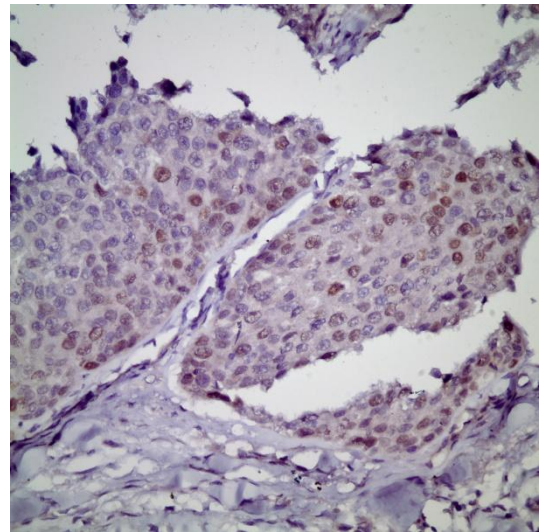
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.3. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlarda Skp2 ekspresyonu. Değişik histomorfolojik paterndeki AKK (a, b) ve değişik tümör derecesindeki MEK (c, d) olgularında nükleer Skp2 ekspresyonu.

Normal tükürük bezi örneklerinde ara ve çizgili duktuslarda sitoplazmik boyanma tespit edildi. Asinilerde nükleer veya sitoplazmik herhangi bir boyanma saptanmadı.

MEK olgularının %100'ünde (25/25), AKK olgularının %47,4'ünde (9/19) Skp2 ile pozitif ekspresyon saptandı. MEK ve AKK grupları arasındaki Skp2 ekspresyon oranları arasındaki farka yönelik uygulanan istatistiksel analizde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. (Fisher's Exact Test, $p<0,001$). Tanı gruplarında Skp2 ekspresyon durumları Tablo 4.9'de gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Tanı gruplarına göre Skp2 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.

Tanı	Negatif Grup	Pozitif Grup	Toplam	<i>p</i> değeri
MEK	0 (%0)	25 (%100)	25 (%100)	<0,001
AKK	10 (%52,6)	9 (%47,4)	19 (%100)	
Toplam	10 (%22,7)	34 (%77,3)	44 (%100)	

Prognostik öneme sahip parametrelerdeki Skp2 ekspresyon oranları arasındaki farka yönelik uygulanan istatistiksel analizde; perinöral invazyon yapan olguların %59,1'inde (13/22), perinöral invazyon yapmayan olguların ise %95,5'inde (21/22) Skp2 ekspresyonu saptanmıştır. Skp2 ekspresyon oranları arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Pearson Chi-Square, $p=0,004$) (Tablo 4.10). Perinöral invazyon saptanan MEK olgularının %100'ünde (7/7), AKK olgularının ise %40'ında (6/15) Skp2 ekspresyonu saptanmıştır.

Ancak lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olgular karşılaştırıldığında Skp2 ekspresyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir (sırasıyla $p=1,00$, $p=0,062$, $p=0,064$).

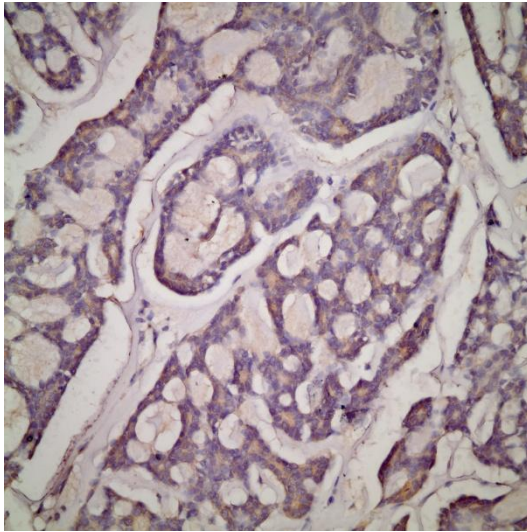
Tablo 4.10. Perinöral invazyon yapan ve yapmayan olgularda Skp2 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.

Perinöral invazyon	Skp2 negatif	Skp2 pozitif	Toplam	<i>p</i> değeri
Var	9 (%40,9)	13 (%59,1)	22 (%100)	0,004
Yok	1 (%4,5)	21 (%95,5)	22 (%100)	
Toplam	10 (%22,7)	34 (%77,3)	44 (%100)	

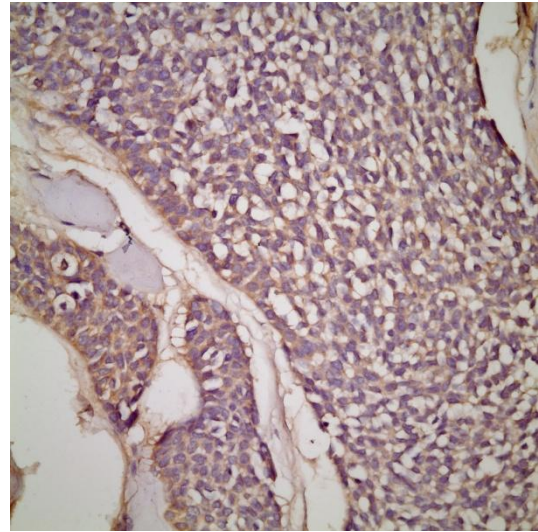
MEK grubu içinde tümör dereceleri arasında veya AKK grubu içinde morfolojik paternler arasında, Skp2 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir ($p>0,05$).

4.2.4 PGP9,5 Ekspresyonu

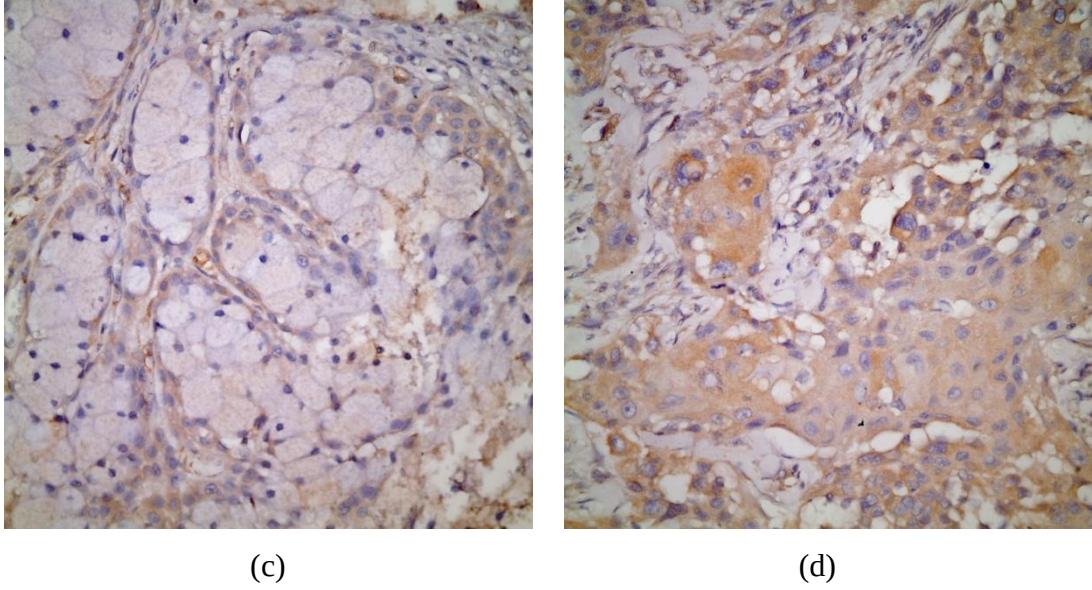
PGP9,5 ekspresyonu 44 vakada değerlendirildi. Olgularda değişen intensitede ve yaygınlıkta herhangi bir sitoplazmik boyanma gösteren olgular pozitif grup olarak kabul edildi (Şekil 4.4). Olguların %63,6'sında (28/44) pozitif ekspresyon görüldü.



(a)



(b)



Şekil 4.4. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlarda PGP9,5 ekspresyonu. Değişik histomorfolojik paterndeki AKK (a, b) ve değişik tümör derecesindeki MEK (c, d) olgularında sitoplazmik PGP9,5 ekspresyonu.

Normal tükürük bezi örneklerinde ara ve çizgili duktuslarda sitoplazmik boyanma izlenirken, asinilerde nükleer ya da sitoplazmik herhangi bir boyanma tespit edilmedi.

MEK olgularının %88'inde (22/25), AKK olgularının %31,6'sında (6/19) PGP9,5 ile pozitif ekspresyon saptandı. MEK ve AKK gruplarındaki PGP9,5 ekspresyon oranları arasındaki farka yönelik uygulanan istatistiksel analizde istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edildi (Pearson Chi-Square, $p < 0,001$). Tanı gruplarında PGP9,5 ekspresyon durumları Tablo 4.11'de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Tanı gruplarına göre PGP9,5 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.

Tanı	Negatif Grup	Pozitif Grup	Toplam	p değeri
MEK	3 (%12)	22 (%88)	25 (%100)	<0,001
AKK	13 (%68,4)	6 (%31,6)	19 (%100)	
Toplam	16 (%36,4)	28 (%63,6)	44 (%100)	

Prognostik öneme sahip parametrelerdeki PGP9,5 ekspresyon oranlarına bakıldığında, uzak organ metastazı yapmış olguların %25'inde (2/8), uzak organ metastazı yapmamış olguların ise %72,2'sinde (26/36) PGP9,5 ekspresyonu gözlenmiştir (Tablo 4.12). Uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olguların PGP9,5 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmiştir (Fisher's Exact Test, $p=0,019$). Uzak organ metastazı yapmış MEK olgularının %100'ü (1/1), AKK olgularının %14,3'ü (1/7) PGP9,5 ekspresyonu göstermektedir.

Tablo 4.12. Uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olgularda PGP9,5 ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.

Uzak organ metastazı	PGP9,5 negatif	PGP9,5 pozitif	Toplam	p değeri
Var	6 (%75)	2 (%25)	8 (%100)	0,019
Yok	10 (%27,8)	26 (%72,2)	36 (%100)	
Toplam	16 (%36,4)	28 (%63,6)	44 (%100)	

Perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon ve lenf nodu metastazı yapan ve yapmayan olgular karşılaştırıldığında PGP9,5 ekspresyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (sırasıyla $p=0,116$, $p=0,125$, $p=1,000$).

MEK grubu içinde tümör dereceleri arasında veya AKK grubu içinde morfolojik paternler arasında, PGP9,5 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir (sırasıyla $p=1,000$, $p=0,617$).

4.2.5 p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 Ekspresyonlarının Korelasyonları

MEK ve AKK gruplarındaki, immünohistokimyasal işaretleyicilerin ekspresyonlarının, intensite ve yaygınlık çarpımı ile elde edilen skorları kullanılarak hesaplanan skor ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4.13'da gösterilmiştir. Tanı gruplarındaki p27, Jab1, SKP2 ve PGP9,5 skor ortalamaları arasındaki bu farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı bulundu (Mann-Whitney U Test, $p=0,028$, $p<0,001$, $p=0,001$, $p<0,001$).

Tablo 4.13. Tanı gruplarında p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 immünohistokimyasal işaretleyicilerin skor ortalamaları, standart sapmaları ve *p* değerleri.

Antikor	Tanı	Olgu Sayısı	Skor ortalaması	Standart sapma	<i>p</i> değeri
P27	MEK	25	12,72	2,63	0,028
	AKK	19	10,42	3,53	
Jab1	MEK	25	1,84	0,80	<0,001
	AKK	19	1,05	0,22	
Skp2	MEK	25	3,92	2,34	0,001
	AKK	19	2,10	1,52	
PGP9,5	MEK	25	6,16	4,82	<0,001
	AKK	19	2,00	2,13	

MEK ve AKK grubunda immünohistokimyasal işaretleyicilerin ekspresyon oranları grupların kendi içinde karşılaştırıldığında, MEK grubunda olguların %88'i p27, %68'i Jab1, %100'ü Skp2 ve %88'i PGP9,5 ekspresyonu göstermektedir. MEK grubunda ekspresyon gösteren olguların boyanma oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Cochran Q Test, $p=0,007$). AKK grubunda olguların %47,4'ü p27, %5,3'ü Jab1, %47,4'ü Skp2 ve %31,6'sı PGP9,5 ekspresyonu göstermektedir. AKK grubunda ekspresyon gösteren olguların boyanma oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Cochran Q Test, $p=0,019$). MEK ve AKK grubunda olguların p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 boyanma oranları Tablo 4.14'de gösterilmiştir.

Tablo 4.14. MEK ve AKK gruplarındaki olguların p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ile boyanma oranları ve *p* değerleri.

Tanı	P27		Jab1		Skp2		PGP9,5		<i>p</i> değeri
	-	+	-	+	-	+	-	+	
MEK	3 (%12)	22 (%88)	8 (%32)	17 (%68)	0 (%0)	25 (%100)	3 (%12)	22 (%88)	0,007
AKK	10 (%52,6)	9 (%47,4)	18 (%94,7)	1 (%5,3)	10 (%52,6)	9 (%47,4)	13 (%68,4)	6 (%31,6)	0,019

Çalışma grubumuzdaki olguları prognostik parametrelere göre gruplandırdığımızda, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı olmayan olgular Grup 1'e alındı. Çevre dokuya invazyon yapan her tümörde görebileceğimiz ve bu nedenle lenf nodu veya uzak organ metastazı yapan olgulara göre daha az agresif seyredeceği düşünülen, perinöral invazyon ve/veya lenfovasküler invazyon yapan olgular Grup 2'ye alındı. Tümörün agresif davranışını, prognozunu ve tümör evresini belirleyen parametrelerden lenf nodu metastazı ve/veya uzak organ metastazı yapan olgular ise Grup 3'e alındı. Oluşturduğumuz gruplar ile p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 işaretleyicilerinin intensite, yaygınlık ve her bir işaretleyici için pozitif veya negatif şeklinde kabul edilen skorlar arasındaki ilişkilerine Ki-kare testleri ile bakıldı.

Genel olarak baktığımızda grup 1'e göre diğer gruplarda p27 intensitesinin ve yaygınlığının arttığı, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 intensitesinin ve yaygınlığının genel olarak azaldığı gözlemlendi. Ancak p27 veya PGP9,5 intensitesi ve yaygınlığı ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Jab1 intensitesine göre bakıldığında 1. Gruptakilerin %72,7'sinde (8/11), 2. Gruptakilerin %20'sinde (2/10) ve 3.gruptakilerin ise %34,8'inde (8/23) Jab1 pozitivitesi saptanarak gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,034$). Skp2 intensitesine göre bakıldığında 1. Gruptakilerin %100'ünde (11/11), 2. Gruptakilerin %50'sinde (5/10) ve 3.gruptakilerin ise %78,3'ünde (18/23) Skp2 pozitivitesi saptanarak gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,024$).

İmmünohistokimyasal işaretleyicilerin ekspresyonlarına göre pozitif ve negatif gruplarımızı belirlediğimiz skorlar ile prognostik parametrelere göre oluşturduğumuz gruplar arasındaki ilişkiye baktığımızda, her immünohistokimyasal işaretleyici için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

1. Gruptakilerin %72,7'sinde (8/11), 2. Gruptakilerin %40'inde (4/10) ve 3.gruptakilerin ise %82,6'sinde (19/23) yüksek p27 ekspresyonu saptandı ($p=0,047$).

1. Gruptakilerin %72,7'sinde (8/11), 2. Gruptakilerin %20'sinde (2/10) ve 3.gruptakilerin ise %34,8'inde (8/23) pozitif Jab1 ekspresyonu saptandı ($p=0,034$).

Skp2 pozitif ekspresyonu 1. Gruptakilerin %100'ünde (11/11), 2. Gruptakilerin %50'sinde (5/10) ve 3.gruptakilerin ise %78,3'ünde (18/23) görüldü ($p=0,024$).

PGP9,5, 1. Gruptakilerin %100'ünde (11/11), 2. Gruptakilerin %50'sinde (5/10) ve 3.gruptakilerin ise %52,2'sinde (8/23) pozitif ekspresyon göstermekteydi ($p=0,015$).

MEK ve AKK olgularının oluşturduğumuz gruplara göre dağılımı Tablo 4.15'de gösterilmiştir. Buna göre MEK olgularının %40'ı 1. Grupta, %56'sı 3.grupta, AKK olgularının %47,4'ü 2. Grupta, %47,4'ü ise 3. Grupta yer almaktadır. MEK ve AKK olgularının gruplara göre dağılımları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,001$).

Tablo 4.15. MEK ve AKK olgularının prognostik parametrelerle oluşturulan gruplara göre dağılımı.

Tanı	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Toplam	p değeri
MEK	10 (%40)	1 (%4)	14 (%56)	25 (%100)	0,001
AKK	1 (%5,3)	9 (%47,4)	9 (47,4)	19 (%100)	
Toplam	11 (%25)	10 (%22,7)	23 (%52,3)	44 (%100)	

Genel olarak tüm olgularda, MEK ve AKK olgularında p27 ile Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonları arasındaki uyumlar, her bir antikor için intensite ve yaygınlık çarpımı elde edilen skorlar kullanılarak, Blond-Altman yöntemi ile araştırıldı (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. p27 ile Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonları arasındaki ilişkiler.

Antikor	Genel		MEK		AKK	
	r değeri	p değeri	r değeri	p değeri	r değeri	p değeri
p27-Jab1	-0,82	<0,001	-0,68	<0,001	-0,98	<0,001
p27-Skp2	-0,38	0,011	-0,07	>0,05	-0,70	0,001
p27-PGP9,5	0,12	>0,05	0,51	0,009	-0,50	0,03

Genel olarak tüm olgular birlikte değerlendirildiğinde p27 ile Jab1 ve Skp2 arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif ilişki saptandı (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,011$). Ancak p27 ile PGP9,5 arasında ilişki saptanmamıştır ($p=0,45$).

MEK olgularında p27 ile Jab1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ters ilişki saptanmıştır ($p<0,001$). p27 ile Skp2 arasında negatif ilişki gözlenirken istatistiksel olarak bu ilişki anlamlı bulunmamıştır ($p=0,75$). p27 ile PGP9,5 ekspresyonları arasında pozitif ilişki saptanmıştır ($P=0,009$).

AKK olgularında p27 ile Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif ilişki saptanmıştır (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,001$, $p=0,03$).

p27 haricindeki diğer immünohistokimyasal işaretleyicilerin ikili olarak ilişkilerine bakıldığında hiçbirinde negatif ilişki saptanmamıştır. Ancak Jab1 ile PGP9,5 ekspresyon oranları arasında pozitif anlamlı ilişki saptanmıştır ($r=0,50$, $p=0,001$).

TARTIŞMA

5.1 1990-2006 Yılları Arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Tükürük Bezi Tümörü Tanısı Almış Olguların Histopatolojik Tip, Lokalizasyon, Yaş ve Cinsiyetlerine Göre Dağılımı

Tükürük bezi tümörleri nadir rastlanan tümörlerdir. Değişik histopatolojik tipler içermesi, çok yönlü klinik prezentasyonu, beklenen sağ kalım ve prognozla ilişkili zorlukları nedeniyle çok ilgi çekmektedir. Tüm baş boyun bölgesindeki tümörlerin yaklaşık %1-3'ünü, insan vücudundaki tüm tümörlerin ise %2'sinden azını oluşturmaktadır.

Tükürük bezi tümörlerinin epidemiyolojik verileri iyi dökümente edilmemiştir (4). Pek çok çalışmada veriler yeterli değildir, çünkü çalışmaların çoğu parotis bezi tümörleri veya ana tükürük bezi tümörleri ile sınırlıdır. Bunun yanı sıra, tükürük bezi tümörlerinin çoğu benigndir ve bazı kanser veri tabanları sadece malign tümörleri kayıt altına almaktadır. Ayrıca yapılan bir çalışmada yaşadıkları bölgeye göre değişik etnik gruplar arasında tükürük bezi tümörlerinin insidansının değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (74).

Popülasyona dayalı yapılan çalışmalarda benign tükürük bezi tümörleri, malignlerden beş kat daha sık görülmektedir (4). Benign tükürük bezi tümörleri kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmektedir (4). Malign tükürük bezi tümörleri ise her iki cinste eşit dağılım göstermektedir. “Memorial Sloan-Kettering” Kanser Merkezi'nde yapılan 2807 vakalık bir çalışmada parotis bezi %68 ile en sık tümör gelişen tükürük bezi olup, minör tükürük bezi %23, submandibular bez ise %9 olarak tutulmaktadır (5). Aynı merkezde yapılan diğer bir çalışmada 44 yıl süreyle, 800'den fazla minör tükürük bezi tümörü tanısı almış olguların %82'si maligndir, etkilenen kadın erkek oranı eşittir ve hastaların yaş dağılımı 11 ile 91 arasındadır. Ayrıca adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom yaklaşık her biri %27 oranında en sık görülen histolojik tiplerdir (6).

Çalışmamızda tükürük bezi tümör olgularının %69,7'si benign, %30,3'ü maligndir. Benign olguların %70,72'si parotis bezinde, %11,18'i submandibular bezde, %18,1'i ise minör tükürük bezlerinde yerleşim göstermektedir. Serimizde sublingual bezde yerleşim gösteren benign tükürük bezi tümörüne rastlanmamıştır.

Benign olguların yaşları 1-80 arasında değişmekte olup ortalama yaş 43,8'dir. Olguların %50,32'si erkek, %49,68'i kadındır. Popülasyona dayalı yapılan çalışmalardan (4) farklı olarak her iki cinsten birbirine çok yakın ancak erkeklerde biraz daha sık oranda gözükmektedir. En sık görülen benign tükrük bezi tümörü %74,7 ile pleomorfik adenomdur. %21,4 ile Warthin tümörü ikinci sırada yer almaktadır.

Pleomorfik adenom en sık görülen tükrük bezi tümörü olup tüm tükrük bezi tümörlerinin yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır (5). Birinci dekattan onuncu dekata kadar her yaşta görülebilmekle birlikte ortalama görülme yaşı 46'dır ve kadınlarda biraz daha sık görülme eğilimindedir (75). Olguların %80'i parotis bezinde, %10'u submandibular bezde ve diğer %10'u minör tükrük bezinde gözükmektedir (75). Bizim serimizde pleomorfik adenom olgularının %58,15'i kadın, %41,85'i erkek ve ortalama yaş 40,52'dir. Olguların %64,7'si parotis bezinde yerleşim göstermektedir. %22,5'i minör tükrük bezinde, %12,8'i submandibular bezde izlenmiştir. Alper ve arkadaşlarının Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında yaptığı epidemiyolojik bir çalışmada pleomorfik adenom olgularının %65,34'ü parotis bezinde, %28'i minör tükrük bezinde, %4'ü submandibular bezde ve %1'i ise sublingual bezde yerleşim göstermektedir (76). Pleomorfik adenomların lokalizasyonlara göre dağılımındaki bu değişiklikler, etnik gruplar arasında farklılık gösteriyor olabilir.

Warthin tümörü ikinci en sık görülen tükrük bezi tümörüdür ve hemen her zaman parotis bezinde veya parotis bezi çevresi lenf nodüllerinde yerleşim göstermektedir. Nadiren diğer tükrük bezlerinde görülmektedir. Ortalama görülme yaşı 62'dir ve 40 yaşından önce nadiren görülür (14). Yaklaşık yarım yüzyıldır cinsiyetlere göre dağılımı değişiklik göstermektedir; 1950'lerde erkek-kadın oranı 10/1 iken (77) 1992'de erkek-kadın oranı eşit ve 1996'da erkek-kadın oranı 1,2/1 olarak bildirilmiştir (14). Alper ve arkadaşlarının serisinde 5 Warthin tümör olgusunun ortalama yaşı 47,2, tümü erkek ve parotis bezinde yerleşim göstermektedir (76). Bizim serimizde 65 Warthin tümör olgusunun ortalama yaşı 54,1'dir. Erkek-kadın görülme oranı diğer serilerden biraz farklı olarak 5/1'dir. Olguların %95,4'ü parotis bezinde, %3'ü submandibular bezde ve %1,6'sı minör tükrük bezinde yerleşim göstermektedir.

Malign tümörlerin görülme oranları lokalizasyona göre çok değişkenlik göstermektedir. Parotis tümörlerinin %15-32'si, submandibular tümörlerin %41-45'i, sublingual tümörlerin %70-90'ı ve minör tükürük bezi tümörlerinin %50'si malign tümördür. Tümör tiplerine göre cinsiyet dağılımı değişkenlik göstermektedir. Her iki cinste genellikle eşit görülebilmekle birlikte kadınlarda biraz daha sık görülebilmektedir (K/E :3/2) ve ortalama görülme yaşı 47'dir. Serimizde malign tükürük bezi tümörü tanısı almış olguların yaşları 3-87 arasında değişmektedir. Ortalama yaş 46,2'dir. Olguların %47'si erkek, %53'ü kadındır. Erkeklerin yaş ortalaması 48,16, kadınların yaş ortalaması 44,47'dir. En sık görülen malign tükürük bezi tümörü mukoepidermoid karsinomdur ve malign olguların %53'ünü (70 olgu) oluşturmaktadır. İkinci en sık görülen malign tümör ise adenoid kistik karsinomdur ve malign olguların %34,8'ini (46 olgu) oluşturmaktadır. Diğer malign tükürük bezi tümörleri ise malign mikst tümör (4 olgu), asinik hücreli karsinom (4 olgu), epitelyal-myoepitelyal karsinom (2 olgu), malign lenfoma (2 olgu), tükürük bezi kanal karsinomu (1 olgu), myoepitelyal karsinom (1 olgu), anaplastik karsinom (1 olgu), müsinöz adenokarsinom (1 olgu) olup malign tükürük bezi tümör olgularının %12,2'sini oluşturmaktadır. Olguların %50'si (66 olgu) minör tükürük bezinde, %31,8'si (42 olgu) parotis bezinde, %16'sı (21 olgu) submandibular bezde, %2,2'si (3 olgu) ise sublingual bezde yerleşim göstermekteydi.

Mukoepidermoid karsinom, çocuk ve erişkinlerde en sık görülen primer malign tükürük bezi tümörüdür (11). Olguların %67'si parotis bezinde, %33'ü minör tükürük bezlerinde yerleşim göstermektedir (12, 13). Minör tükürük bezlerinin pleomorfik adenom ve adenoid kistik karsinomdan sonra en sık görülen tümörüdür.

Bizim serimizde mukoepidermoid karsinom olgularının %44,28'i erkek, %55,72'si kadındı. Yaşları 3-77 arasında değişmekteydi, ortalama yaş 41,54'dü. MEK olguları en sık minör tükürük bezinde (%47,1), ikinci sıklıkta parotis bezinde (%38,6), daha az oranda da submandibular bez (%12,9) ve sublingual bezde (%1,4) yerleşim göstermekteydi. Diğer epidemiyolojik çalışmalara benzer şekilde serimizde de her yaşta görülmektedir ancak diğer çalışmalardan farklı olarak (12, 13, 76) bizim serimizde en sık minör tükürük bezinde yerleşim göstermekteydi.

Adenoid kistik karsinomlar, tüm tükürük bezi tümörlerinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Sıklıkla parotis, submandibular ve minör tükürük bezlerinde

görülmektedir. Submandibular ve minör tükürük bezlerinin en sık malign tümörüdür (24). Minör tükürük bezi tümörlerinin %30'unu oluşturmaktadır. Her yaşta görülebilen adenoid kistik karsinom, genellikle 20-84 yaşları arasında görülmektedir, ortalama yaş 52'dir. Her iki cinsiyette eşit oranda görülmekle birlikte submandibular yerleşimli olanlar kadınlarda daha sık görülmektedir (24). "Memorial Sloan-Kettering" Kanseri Merkezi'nde yapılan 264 adenoid kistik karsinom olgusunun %17'si parotis bezinde, % 15.5'i submandibular bezde, geri kalanları ise minör tükürük bezlerinde gelişim göstermektedir (25). Serimizde adenoid kistik karsinom tanısı almış olguların %50'si erkek, %50'si kadındır. Yaşları 24-87 arasında değişen olguların ortalama yaşı 50,87'dir. AKK olguları en sık minör tükürük bezinde (%65,2), ikinci sıklıkta submandibular bezde (%19,6), daha az oranda da parotis bezi (%12,9) ve sublingual bezde (%4,3) yerleşim göstermektedir. Alper ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da bizimkine benzer şekilde sonuçlar elde edilmiştir, olguların %55'i minör tükürük bezinde, azalan sırayla submandibular, parotis ve sublingual tükürük bezinde bildirilmiştir (76). Ancak onların çalışmasında en sık görülen malign tümör adenoid kistik karsinom iken bizim serimizde en sık görülen malign tümör mukoepidermoid karsinomdur.

Çalışmaların çoğu parotis bezi tümörleri veya ana tükürük bezi tümörleri ile sınırlı kalmaktadır. Ve genellikle damak, yanak, dil, orafarinks veya larinks gibi değişik lokalizasyondaki tükürük bezi tümörleri minör tükürük bezi tümörü olarak tek bir başlık altında toplanmaktadır. Bu da epidemiyolojik verileri dökümanete etmekte zorluk yaratmaktadır. Çeşitli çalışmalara benzer veya farklı olan sonuçlarımız tükürük bezi tümörlerinin değişik toplumlarda ve etnik gruplarda görülme insidansının farklılık göstermesi ile açıklanabilir.

Çalışmamızda benign tükürük bezi tümörlerinin parotis bezinde, malign tükürük bezi tümörlerinin minör tükürük bezinde daha sık olduğu görüldü. En sık görülen malign tümörün mukoepidermoid karsinom, en sık görülen benign tümörün pleomorfik adenom olduğu saptandı. Ancak literatürden farklı olarak gerek mukoepidermoid karsinom gerek adenoid kistik karsinom olguları en sık parotis bezinde değil, minör tükürük bezlerinde saptandı. Ancak tükürük bezi tümörleri değişik toplumlarda farklı oranlarda görülebilmektedir. Tükürük bezi tümörlerinin

lokalizasyon, yaş ve cinsiyetlere göre dağılımlarının bilinmesi araştırmalara ve değişik lokalizasyondaki tümörlerde tanıya katkı sağlayacaktır.

5.2 p27, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 Ekspresyonu

Kanser gelişiminde rolü olduğu gösterilen bazı moleküllerdeki genetik değişimler, hastalıkların tanı, tedavi ve takibinde belirleyici olarak kullanılabilir.

Hücre döngüsünün düzenlenmesi ve kontrolü, normal hücrelerin büyüme ve diferansiyasyonu yanında tümör gelişiminde de önemli roller oynamaktadır. Hücre döngüsünü düzenleyen ve kontrol eden proteinler, hücre döngüsünün belli aşamalarında işlev gören ve birbirleriyle olan etkileşimleri yoluyla pozitif veya negatif düzenleyici etki göstererek hücre siklusunun ilerlemesini ya da kısıtlamasını sağlayan proteinlerdir.

CDK inhibitörleri hücre siklusunun negatif kontrolünden sorumludurlar (37). Hücre siklusunun devamını sağlayan siklinler, CDK'lar tarafından kontrol edilmektedir. Düzenli olarak kontrol edilmeyen CDK aktivitesi artmış hücre çoğalmasına ve genomik instabiliteye neden olmaktadır. Bu durum; hücrenin ölümsüzlük kazanmasına ve kanserleşmesi ile sonuçlanmasına neden olmaktadır. CDK'ların hücre siklusundaki işlevinin düzenlenmesi CDK inhibitörleri tarafından gerçekleştirilmektedir.

CDK inhibitörleri hücre döngüsündeki ve tümör baskılanmasındaki işlevlerinden dolayı kanser gelişiminde birer genetik değişiklik hedefleridir. Ayrıca kanser gelişim sürecinde yer alan diğer moleküllerin genetik değişimi ile başlayan onkojenik süreçlerde, fonksiyonlarında meydana gelen bozulmalar ile de ikincil olarak etkili olabilmektedirler. Bu nedenle kanser hücrelerinde CDK inhibitörleri gibi hücre siklusunun negatif kontrolünden ve tümör baskılanmasından sorumlu moleküllerin, fonksiyonlarının saptanması ve bu fonksiyonlarının neoplastik süreçteki etkilerinin belirlenmesi, klinik tanı, tedavi ve prognoz belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır.

Tükürük bezi tümörlerine genellikle hematoksil-eozin düzeyinde morfolojik olarak tanı verilmektedir. İmmünohistokimyasal belirleyiciler her ne kadar epitelyal, myoepitelyal, lenfoid gibi hücre diferansiyasyonunu göstermekte yardımcı ise de tümör alt tiplerinin ayırıcı tanısında veya benign lezyonları malign lezyonlardan

ayırmada çok yardımcı olmamaktadır. Tükürük bezi tümörlerinde histopatolojik alt tip iyi bilinen prognostik parametrelerden biri olmakla beraber bugün için hala klinik uygulamada prognoz tayininde yardımcı olabilecek immünohistokimyasal işaretleyici mevcut değildir.

Önerilen biyolojik prognostik parametrelerden biri p27 protein düzeyidir. Düşük p27 düzeyi pek çok malign tümörde agresivite ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (37, 78, 79). Tükürük bezinin mukoepidermoid karsinomları ve adenoid kistik karsinomları da bunlardan biridir (80, 81). Bununla birlikte son yıllarda meme ve kolorektal karsinomlarla yapılan çalışmalarda, yüksek tümör derecesi ile lenf nodu metastazı veya azalmış sağ kalım gösterenlerde, yüksek p27 ekspresyonu saptayan yayınlar da mevcuttur (42, 43). Yine diffüz büyük B hücreli lenfomaların bazı alt tiplerinde de artmış p27 ekspresyonu saptanmıştır (44, 45).

CDK inhibitörü olan p27 proteinin degradasyon/proteolizis yolunda yer alan önemli proteinler Jab1, Skp2 ve PGP9,5'tur (47, 48, 82, 83, 84, 85). p27 düşük düzeylerinin pek çok malign tümörde kötü prognozla ilişkili bulunmasına karşın fonksiyon kaybının altında yatan mekanizma hala tam olarak anlaşılmış değildir. p27 proteinin translasyon sonrası düzenlenmesinde iki anahtar molekül yer almaktadır. Bunlardan biri Skp2 olup, p27 proteininin ubiquitin-iliskili degradasyonu için gereklidir (82, 83, 84). Diğeri ise nükleer eksport protein olarak da bilinen p27'nin nükleustan sitoplazmaya transportu ve akabinde degradasyonunu indükleyen Jab1 proteindir (47, 82). Skp2 veya Jab1'in küçük hücreli akciğer karsinomu, oral skuamöz hücreli karsinom, mide karsinomu, meme karsinomu gibi pek çok malignitede p27 ekspresyonu ile ters korelasyonu gösterilmiştir (62, 86, 87, 88). Bununla birlikte p27 ile Skp2 arasında ters korelasyon bulmayan çalışmalarda literatürde yer almaktadır. Ubikitin-proteazom sisteminde, deubikinasyonunda rol alan PGP9,5, hücre sitoplazmasında lokalize olup özellikle nöronlarda ve diffüz nöroendokrin sistem ve bunların tümörlerinde eksprese olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda PGP9.5 ve değişik insan tümörleri örneğin küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (68), pankreatik kanser (69), invaziv kolorektal kanser (70), medüller tiroid karsinomu (71), ösefagial skuamöz hücreli karsinom (72) ve nöronal orjinli karsinomlar (73) arasında ilişki bulunmuştur. Bu kanserler için PGP9.5'un

overekspresyonunun tümör gelişimde rol aldığı ve iyi bir tümör belirteci olduğu tanımlanmıştır.

Literatürde yer alan p27 ekspresyon düzeyleri ile yapılan çalışmaların sonuçları arasında birbiriyle çelişen sonuçlar dikkati çekmektedir. Bu duruma çalışmalarda sıklıkla immünohistokimyasal yöntemlerin kullanılması, kullanılan antikörlerin özgüllükleri, duyarlılıkları ve dilüsyonları arasındaki farklılıklar, pozitif ekspresyon için seçilen eşik değerlerinin farklılığı ve farklı sayıda hastaya ait doku örneklerinin çalışmaya alınması neden olabilmektedir.

Son yıllarda yeni yapılan çalışmalarda tümör supresör role sahip p27'nin aynı zamanda onkogen olarak da fonksiyon gördüğünü bildiren yayınlar bulunmaktadır. Çalışmalar p27'nin onkojenik aktivitesinin sırasıyla akciğer ve retinada aberan kök ve progenitör hücre gelişimine neden olduğunu ve bundan dolayı p27'nin bazı az sayıdaki tümör tiplerinde onkojenik fonksiyon gösterdiğini öne sürmüşlerdir (89).

Yaptığımız çalışmada en sık görülen malign tükrük bezi tümörleri olan mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinom olgularında, özellikle cerrahi esnasında veya takipleri sırasında lenf nodu disseksiyonu yapılmış olgulardan oluşturulan çalışma grubunda, daha önce pek çok çalışmada değişik tümör tiplerinde düşük düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiş p27 protein ekspresyonuna ve p27'nin yıkım yolağında rol alan Jab1, Skp2 ve PGP9,5 proteinlerinin, p27 proteini ile korelasyonlarına immünohistokimyasal olarak bakıldı. Literatürde daha önce pek çok tümör tipinde olduğu gibi tükrük bezi tümörlerinde de p27 düzeyini veya p27 ile p27 yıkım yolağında rol alan Jab1 veya Skp2 ekspresyonlarının korelasyonlarını inceleyen yayınlar mevcuttur. Bununla birlikte tükrük bezi tümörlerinde, Jab1 aracılığıyla p27 yıkımında rol PGP9.5 ile yapılan çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda kullandığımız dört immünohistokimyasal işaretleyiciyi birarada kullanarak, gerek tükrük bezi tümörlerinde gerek diğer tümör tiplerinde yapılmış detaylı bir çalışmaya da rastlanmamıştır.

Çalışmamızda tüm olgularda değişen intensite ve yaygınlıkta p27 ekspresyonu saptandı. Bu nedenle sadece kuvvetli nükleer ve %50'nin üzerinde yaygınlıkta boyananlar, yüksek p27 ekspresyonu gösteren olgular, diğerleri ise azalmış p27 ekspresyonu gösteren olgular olmak üzere gruplandırıldı. Olguların %70,5'inde (31/44) yüksek p27 ekspresyonu saptandı. MEK olgularının %88'inde

(22/25), AKK olgularının ise %47,4'ünde (9/19) yüksek p27 ekspresyonu saptandı. MEK ve AKK gruplarındaki p27 ekspresyon oranları arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Lenf nodu metastazı yapmış olguların %94,1'inde (16/17) yüksek P27 ekspresyonu, lenf nodu metastazı yapmamış olguların ise %55,6'sında (15/27) yüksek p27 ekspresyonu saptandı. Lenf nodu metastazı yapanlardaki yüksek p27 ekspresyon oranı lenf nodu metastazı yapmayan olgulardaki p27 ekspresyon oranları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Lenf nodu metastazı olan MEK olgularının %92,9'u (13/14), AKK olgularının ise %100'ü (3/3) yüksek p27 ekspresyonu göstermektedir.

Perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon ve uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olgular arasındaki p27 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Jab1 antikoruna ile olguların %40,9'unda (18/44) pozitif ekspresyon görüldü. MEK olgularının %68'inde (17/25), AKK olgularının %5,3'ünde (1/19) Jab1 ile pozitif ekspresyon saptandı. MEK ve AKK gruplarında Jab1 ekspresyon oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Özellikle AKK olgularındaki Jab1 ekspresyon düşüklüğü, bu tümör tipindeki tümöröenez yolağında farklı mekanizmaların veya onkojenik proteinlerin rol aldığını düşündürebilir. Prognostik öneme sahip, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı ile uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olgular karşılaştırıldığında Jab1 ekspresyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Skp2 antikoruna ile olguların %77,3'ünde (34/44) pozitif ekspresyon saptandı. MEK olgularının %100'ünde (25/25), AKK olgularının %47,4'ünde (9/19) Skp2 ile pozitif ekspresyon saptandı. MEK ve AKK grupları arasındaki Skp2 ekspresyon oranları arasındaki farka yönelik uygulanan istatistiksel analizde anlamlı fark bulundu. Skp2'nin yüksek tümör derecesi ve kötü prognozla ilişkili bulan yayınların aksine perinöral invazyon yapan olguların %59,1'inde (13/22), perinöral invazyon yapmayan olguların ise %95,5'inde (21/22) Skp2 ekspresyonu saptanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer taraftan tükrük bezi tümörlerinde perinöral invazyonun prognoza etkisi hala tartışmalıdır (32). Ayrıca perinöral invazyon yapan olgularda Skp2 ekspresyon düzeylerini inceleyen detaylı bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Perinöral invazyon saptanan MEK olgularının

%100'ünde (7/7), AKK olgularının ise %40'ında (6/15) Skp2 ekspresyonu saptanmıştır. Ancak lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olgular karşılaştırıldığında Skp2 ekspresyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

PGP9,5 antikoru ile olguların %63,6'sında (28/44) pozitif ekspresyon görüldü. MEK olgularının %88'inde (22/25), AKK olgularının %31,6'sında (6/19) PGP9,5 ile pozitif ekspresyon saptandı. MEK ve AKK gruplarındaki PGP9,5 ekspresyon oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. PGP9,5'un akciğer karsinomu, pankreatik kanser, invaziv kolorektal kanser, medüller tiroid karsinomu, ösefagial skuamöz hücreli karsinom gibi daha önce bahsedilen pek çok tümörde artmış ekspresyonlarının tümör gelişiminde rol aldığı bildirilen yayınların aksine çalışmamızda uzak organ metastazı yapmış olguların %25'inde (2/8), uzak organ metastazı yapmamış olguların ise %72,2'sinde (26/36) ekspresyon gösterdiği saptanmıştır. Uzak organ metastazı yapan ve yapmayan olguların PGP9,5 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu bulgu bizim olgularımızdaki yüksek p27 ekspresyonu nedeniyle PGP9,5'un düşük ekspresyonunu veya fonksiyon kaybını ya da tükrük bezi tümörögenez yolağında PGP9,5'un rol almadığını düşündürmektedir. Perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon ve lenf nodu metastazı yapan ve yapmayan olgular karşılaştırıldığında PGP9,5 ekspresyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde PGP9.5'un artmış ekspresyonunun tümör evresi ile artması akciğer kanser tümörögenezinde PGP9.5'un rol alabileceğini göstermektedir (90). Caballero ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PGP9.5'un, p27 degradasyonunda Jab1 proteini ile birlikte rol aldığı gösterilmiştir. PGP9.5 en az üç protein ile interaksiyona girmektedir ki bunlardan birisi Jab1'dir. Jab1, p27'ye bağlanarak p27'nin nukleustan sitoplazmaya transportuna ve burada yıkımına yol açmaktadır. Hem in vivo hem in vitro çalışmalarda PGP9.5'un Jab1 ile ilişkisi gösterilmiştir. Ayrıca akciğer kanseri hücrelerinde nukleusta Jab1 ve PGP9.5'un, p27 içeren heteromerik bir kompleksin parçaları olabileceği bildirilmiştir. Jab1 ve PGP9.5'un nükleer lokalizasyonunun, p27'nin nukleusta azalmış seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur. Tersine kontakt inhibisyonla PGP9.5 ve Jab1 perinükleer veya

sitoplazmik yerleşim gösterirse, p27 yalnızca nukleusta lokalize olmaktadır. Bu nedenle PGP9,5, Jab1 ile olan etkileşimi ve nukleer translokasyonu ile p27 degradasyonunda rol alabilmektedir (48). Bu bulgu bizim çalışmamızdaki yüksek p27 düzeylerine karşılık düşük Jab1 ve PGP9,5 düzeylerini açıklayabilmektedir. Aynı zamanda benzer düşük ekspresyon düzeyleri gösteren Jab1 ve PGP9,5'un birlikte işlev gördüğünü de destekler niteliktedir.

Çalışmamızda tüm olgular birlikte değerlendirildiğinde p27 ile PGP9,5 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak ters korelasyon saptanmamıştır. Ancak AKK olgularındaki p27 ile PGP9,5 ekspresyonları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ters ilişki gözlenmiştir. İlginç olarak MEK olgularında p27 ile PGP9,5 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki saptanmıştır. Olgularımızda Jab1 ile PGP9,5 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak pozitif anlamlı korelasyon bulunmuştur. Bu bulgu literatürdeki yayınlarda belirtildiği gibi bizim çalışmamızda da Jab1 ve PGP9,5 proteinlerinin birlikte işlev gördüğünü destekler niteliktedir. Ancak PGP9,5'un olguların genelinde p27 ile ters korelasyon göstermemesi, AKK olgularında ters ilişki göstermesi, MEK olgularında ise pozitif korelasyon göstermesi ayrıca olgularımızda p27 düzeylerinin tümör derecelerinden bağımsız olarak yüksek bulunması, tükrük bezi tümörögenез yolağında başka proteinlerin de rol alabileceğini düşündürmektedir. Ya da bu bulgular p27 yıkım yolağında rol alan proteinlerin varlığına rağmen p27 yıkımında rol alan alternatif moleküler olaylarla, azalmış transkripsiyon veya translasyonla ya da anormal lokalizasyon veya sekestrasyonla açıklanabilir (91). Ayrıca p27 yıkımı belki de Skp2 ve ubikitinden bağımsız bir yolla yıkılmaktadır (82).

Genel olarak tüm olgularımız birlikte değerlendirildiğinde yüksek p27 düzeyleri ile Jab1 ve Skp2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ters ilişki saptandı. MEK olgularında yüksek p27 düzeyi ile Jab1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ters ilişki saptandı, ancak yüksek p27 düzeyi ile Skp2 arasında ters ilişki gözlenirken istatistiksel olarak bu ilişki anlamlı bulunmadı. AKK olgularında ise yüksek p27 düzeyi ile Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ters ilişki saptandı.

Çalışma grubumuzdaki olguları prognostik parametrelere göre gruplandırıp p27 ekspresyon düzeylerini karşılaştırdık. 1. Grupta perinöral invazyon,

lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı olmayan olgular, 2.Grupta perinöral invazyon ve/veya lenfovasküler invazyon yapan olgular ve 3.Grupta lenf nodu metastazı ve/veya uzak organ metastazı yapan olgular yer aldı. Oluşturulan gruplar immünohistokimyasal işaretleyicilerin ekspresyon oranları ile karşılaştırıldığında, Grup 1'e göre diğer gruplarda p27 intensitesinin ve yaygınlığının arttığı, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 intensitesinin ve yaygınlığının ise genel olarak azaldığı gözlemlendi. İmmünohistokimyasal işaretleyiciler için pozitif veya negatif şeklinde kabul edilen skorlar ile prognostik parametrelere göre oluşturduğumuz gruplar arasındaki ilişkiye baktığımızda, her immünohistokimyasal işaretleyici için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Buna göre 1. Gruptakilerin %72,7'sinde, 2. Gruptakilerin %40'inde ve 3.gruptakilerin ise %82,6'sında yüksek p27 ekspresyonu saptandı. Yine 1. Gruptakilerin %72,7'sinde, 2. Gruptakilerin %20'sinde ve 3.gruptakilerin ise %34,8'inde pozitif Jab1 ekspresyonu saptandı. Skp2 pozitif ekspresyonu 1. Gruptakilerin %100'ünde, 2. Gruptakilerin %50'sinde ve 3.gruptakilerin ise %78,3'ünde görüldü. PGP9,5 ise, 1. Gruptakilerin %100'ünde, 2. Gruptakilerin %50'sinde ve 3.gruptakilerin ise %52,2'sinde pozitif ekspresyon göstermekteydi.

Düşük p27 düzeylerinin pek çok malign tümörde kötü prognozla ilişkisini gösteren çalışmaların tersine bizim çalışmamıza benzer sonuçlar elde eden, bazı malign tümörlerin de yüksek p27 ekspresyonu gösterdiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin yumuşak doku sarkomlarında (92), kolon ve meme tümörlerinde, bazı malign lenfoma alt tiplerinde de (91, 93) benzer sonuçlar bildirilmiştir.

p27 sessiz hücrelerde bol miktarda bulunmakta ve büyüme faktörü stimülasyonu ile p27 düzeyleri hızla düşmektedir. p27 sadece hücre siklüs inhibitörü değil aynı zamanda D tipi siklinlerin CDK4 ve CDK6 ile bağlanmalarını kolaylaştırarak hücre siklusunun ilerlemesini pozitif yönde regüle etmektedir (94). D tipi siklinler ise siklin A ve E'nin tersine p27 yokluğunda düşük afinitede CDK'lara bağlanabilmektedir (95). Bu nedenle p27 belki de hücre proliferasyonunda G1 siklin/CDK kompleksi için eşik değeri oluşturmaktadır (96).

p27 aktivitesinin regülasyonu kompleks bir mekanizma ile düzenlenmektedir; başlıca intrasellüler konsantrasyon, farklı siklin-CDK kompleksleri ile etkileşim ve subsellüler lokalizasyonla kontrol edilmektedir (97). Bu regülasyonda üç farklı

mekanizma bildirilmiştir; p27 öncülünün transkripsiyonel regülasyonu, mRNA translasyon kontrolü ve protein degradasyon hızının regülasyonu (98). Başlıca mekanizma olarak ubiquitin proteozom yolağı ile proteoliz düşünülmektedir. Bu yolağın üç mekanizması vardır: SiklinE/CDK2 aracılığı ile p27'nin treonin 187 (T187)'den fosforilasyonu, T187-fosforile p27'nin ubiquitin ligaz SCF^{Skp2} ile tanınarak SCF^{Skp2}-bağımlı ubiquinasyonu ve T187-fosforile p27'nin yıkımı (99). INK4, CDK inhibitörlerinin mutasyon, delesyon veya metilasyon ile kaybının pek çok insan tümör gelişiminde rol aldığını ve böylece gerçek tümör supresör gen olarak fonksiyon gördüğünü biliyoruz (100). Ancak klasik tümör supresörlerden farklı olarak Cip/Kip CDK inhibitörü p27'nin gen mutasyonları insan tümörlerinde çok nadir görülmektedir (101). Bununla birlikte p27 fonksiyonunun inaktivasyonunun tümör gelişimine neden olmasından dolayı tümör supresör protein olarak bilinmektedir (102). Karsinogenez sürecinde p27 inaktivasyonunda iki farklı mekanizma bildirilmiştir: p27 ekspresyonunun regülasyonunun bozulması ve nükleer kompartmandan yer değiştirmesi. p27'nin azalmış seviyeleri veya tamamen kaybı insan tümörlerinin %50'sinde gözlenmiştir (41). Azalmış p27 ekspresyonu akciğer (103), meme (39), kolon (104), over (105), ösefagus (106), tiroid (107) ve prostat (108) gibi pekçok epitelyal tümör gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Santral sistemi (109) ve lenfoid doku (110) kökenli tümörlerde de p27 kaybı bildirilmiştir.

Takata ve arkadaşlarının 11 pleomorfik adenom ve 15'i metastatik olmak üzere 29 AKK olgusu ile yaptığı çalışmada pleomorfik adenom olgularında yüksek p27 ekspresyonu saptanırken, AKK olgularında metastatik olgularda daha da düşük olmak üzere azalmış p27 ekspresyonu saptamışlardır. Ancak bizim çalışmamızda olduğu gibi histolojik paternlere göre derecelendirme ile p27 ekspresyonu arasında korelasyon saptamamışlardır. Çalışmalarında azalmış p27 ekspresyonunun translasyon sonrası artmış proteazom aracılı yıkıma bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir (80).

Choi ve arkadaşlarının 31 MEK olgusundan oluşan çalışma grubunda düşük p27 düzeylerini yüksek tümör derecesi, ileri evre, pozitif lenf nodu ve kötü prognozla ilişkili bulmuşlardır. Ancak rekürrens nedeniyle dört kez ameliyat olmuş orta dereceli MEK tanısı olan kadın hastanın üç farklı zamandaki nüks vakalarındaki p27 ekspresyonlarını incelediklerinde nüks biyopsilerinde p27 ekspresyonunun giderek

arttığını tespit etmişlerdir (81). Bizim çalışmamızda histolojik alt tiplerde, örneğin MEK grubu içindeki düşük, orta ve yüksek dereceli olgular arasında veya AKK grubu içindeki tübüler/kribriiform patern ve solid patern gösteren olgular arasındaki p27 ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilemedi.

Tıpkı p27 düzeyleri ile yapılan çalışmalarda olduğu gibi p27 ile Jab1 ve/veya Skp2 ile yapılan çalışmalarda da birbiriyle çelişen sonuçlar dikkati çekmektedir. p27 ile yıkım yolağında rol alan Jab1 ve/veya Skp2 arasında ters ilişki gözlenmesi beklenirken, bazı çalışmalarda ters ilişki saptanmış ancak çoğu çalışmada aralarında istatistiksel olarak ilişki gösterilememiştir.

Handra-Luca ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ekstrasellüler sinyal ilişkili kinaz (ERK)'ın p27'yi değişik yollarla modüle etmesinden yola çıkarak, 43 MEK olgusundan oluşan çalışma grubunda, immünohistokimyasal olarak p27, Skp2, siklin A, Ki-67, fosforile-RB ve fosforile-ERK ekspresyonlarına bakmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre Skp2 ekspresyonu, tümör çapı, yüksek tümör derecesi ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Yüksek Skp2 eksprese edenlerde, etmeyenlere oranla azalmış sağ kalım tespit etmişlerdir. Siklin A ve Ki-67 de prognoz ve Skp2 ile ilişkili bulunmuş ancak p27 prognozu belirlemede yardımcı bulunmamıştır. P27 ekspresyon düzeyleri ile yaş, cinsiyet, klinik evre, sağ kalım oranı, tümör lokalizasyonu, tümör çapı, tümör derecesi gibi patolojik ve klinik bulgularla hiçbir ilişki saptanmamıştır. Beklenenin tersine p27 ve Skp2 ekspresyon düzeyleri arasında ters korelasyon saptanmamış, aynı zamanda p27 ile Ki-67 veya siklin A arasında da korelasyon saptanmamıştır. P27'yi yüksek düzeyde eksprese edenlerde fosforile-ERK ve fosforile-RB seviyelerini yüksek bulmuşlardır. Yine p27'yi yüksek düzeyde eksprese eden olgularda p27, siklin D1 ile nükleusta kolokelize bulunmuştur. Daha önceki çalışmalarda ERK aktivitesinin daha agresif davranış ve artmış tümör hücre proliferasyonu ile ilişkili yayınlardan (111) yola çıkarak p27'nin ERK ile ilişkisine bakmışlardır. ERK hücre siklusunun G₁ fazında siklin D1 gen transkripsiyonunu stimüle etmekte (112) ve siklin D1'in CDK4 ile kompleks oluşturmasını kolaylaştırmaktadır. Siklin D1-CDK4 kompleksi ise RB'ü inaktive ederek hücreyi G₁/S noktasından geçişini sağlamaktadır. Yaptıkları çalışmada, p27'nin ERK ve RB ile ilişkisi ve siklin D1 ile nükleer kolokalizasyonu,

p27'nin siklin D1 ile kompleks oluşturduğu hipotezini destekler nitelikte sonuç bulmuşlardır. Ve bu bulgunun p27'nin Skp2 ve siklin A'nın tersine tümör hücre proliferasyonu ve prognozla neden ilişkili olmadığını açıklayabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada p27'nin ERK ile fonksiyonel olarak inaktive edildiğini ileri sürmüşlerdir (65).

Keikhaee ve arkadaşlarının yaptığı 50 AKK olgusundan oluşan bir çalışmada p27 ve Skp2 ekspresyonuna bakmışlardır. 18 olguda (%38) Skp2 ekspresyonu ve 38 olguda (%76) azalmış p27 ekspresyonu saptamışlardır. p27 ile Skp2 ekspresyonlarını ters korele bulmuşlardır. Skp2 aynı zamanda artmış proliferasyon ile korelasyon göstermiştir. Ancak histolojik tümör derecesi ve lenf nodu metastazı ile Skp2 düzeyleri arasında korelasyon gösterilememiştir (64). Başka bir çalışmada, 42 invaziv serviks tümörlerinde Skp2 ekspresyonunun tümör diferansiyasyonu ve p27 ekspresyonu ile korelasyonuna bakmışlardır. Kötü diferansiye tümörlerin iyi diferansiye tümörlere oranla daha yüksek seviyede Skp2 eksprese ettiklerini bildirmişler. Ancak Skp2 protein düzeylerini p27 ile ters korelasyon gösterdiğini saptamamışlardır (113).

Kim ve arkadaşları TMA metodu ile tedavi edilmemiş 332 uterin servikal neoplazmi olan olgularda p27 ve Skp2 ekspresyonlarına ve aralarındaki ilişkiye bakmışlardır. İmmünohistokimyasal boyanmayı p27 için 313, Skp2 için 300 olguda değerlendirmişlerdir. Olguların %39,9'unda (125/313) yüksek p27 ekspresyonu saptamışlardır (servikal intraepitelyal neoplazi III'lerin %55,2'si, mikroinvaziv skuamöz hücreli karsinomların %56,9'u, invaziv skuamöz hücreli karsinomların %17,1'i, adenokarsinomların %55'i, diğer tümörlerin %30'u). Olguların %28,3'ünde (85/300) yüksek Skp2 ekspresyonu saptamışlardır (servikal intraepitelyal neoplazi III'lerin %25'i, mikroinvaziv skuamöz hücreli karsinomların %18,75'i, invaziv skuamöz hücreli karsinomların %37,8'i, adenokarsinomların %30'u, diğer tümörlerin %22,2'si). Düşük p27 düzeyleri tümör çapının büyüklüğü, skuamöz lezyonlarda invazyon derinliği, yüksek tümör evresi ve azalmış sağ kalımla ilişkili bulunmuştur. Yüksek Skp2 düzeyleri ise tümör çapı büyüklüğü, skuamöz lezyonlarda invazyon derinliği ve artmış tümör evresi ile ilişkili bulunmuştur. Ancak p27 ile Skp2 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak negatif veya pozitif anlamlı ilişki saptanmamıştır. Yine lenf nodu metastazı ve lenfovasküler invazyon ile p27 ve Skp2

ekspresyonları arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir (114). Downen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da servikal invaziv skuamöz hücreli karsinomlarda Skp2 ve p27 ekspresyonları arasında ters korelasyon saptanmamıştır. p27 ekspresyonu ile ilgili bulguların çalışmalar arasında değişiklik gösterdiğini, kolon, meme, prostat karsinomu gibi tümörlerde düşük p27 düzeyinin kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilirken, yüksek p27 düzeylerinin de kötü prognozla ilişkili olduğunu gösteren çalışmaların da literatürde yer aldığını bildirmişlerdir (43, 115).

Shin ve arkadaşları meme kökenli 21 hemanjiom ve 13 anjiosarkomdan oluşan 34 vasküler tümör olgusunda immünohistokimyasal olarak Ki-67, Skp2, p27 ve siklin D1 çalışmışlardır. Meme vasküler lezyonlarının ayırıcı tanısında Ki-67 ve hücre siklus regülatuar proteinlerinden Skp2, p27 ve siklin D1'in kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Çalışmada anjiosarkom olgularının tipik olarak Skp2 ile pozitif, hemanjiom olgularının ise negatif olduklarını saptamışlardır. Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak p27 veya siklin D1 ekspresyonları ile hemanjiom ve anjiosarkom olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Anjiosarkom olgularında Ki-67 ile p27 arasında ters korelasyon saptanırken, Ki-67 ile Skp2 veya siklin D1 ile aralarında istatistiksel olarak ters bir korelasyon gösterilememiştir. Skp2 ve p27 ekspresyonları arasında zayıf olmakla birlikte ters korelasyon bulmuşlardır (116).

Goto ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada akciğer adenokarsinomlarında p27 düzeyleri ile Ki-67, Jab1, ve Skp2 ekspresyonuna bakmışlardır. Düşük p27 işaretlenme indeksi ile yüksek Skp2 veya Jab1 arasında istatistiksel olarak anlamlı ters korelasyon bulunurken, p27 ile, Skp2 ve Jab1 birlikte overekspresyonları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ki-67 işaretlenme indeksi ile yüksek Skp2 ve Jab1 ekspresyonları arasında anlamlı korelasyon saptarken, düşük p27 düzeyleri ile yüksek Ki-67 işaretlenme indeksi arasında anlamlı korelasyon saptamamışlardır. Bu nedenle akciğer adenokarsinomlarında bu iki molekülün p27 degradasyon yolağında, her bir molekülün overekspresyonlarının değişik veya bağımsız rol oynarak p27 degradasyonunda rol alabileceği bildirmişlerdir (87). Yine aynı çalışmada Jab1'in yüksek ve alçak seviyeleri ile tümör prognozu açısından anlamlı bir ilişki bulunmazken, p27 düzeyinden bağımsız olarak yüksek Skp2 seviyesi ile tümörde vasküler/lenfatik invazyon ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur.

Daha önce bölümümüzde yaptığımız bir çalışmamızda immünohistokimyasal olarak 30 vakalık tiroid papiller karsinom olgularında p27 ile Jab1 ve Skp2 korelasyonlarını inceledik. Olguların %56,7'sinde Jab1 ile kuvvetli ekspresyon, %60'ında p27 ile kuvvetli ekspresyon ve %33,4'ünde ise Skp2 ile kuvvetli ekspresyon saptandı. p27 ekspresyonu ile Skp2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak pozitif korele anlamlı sonuç elde edildi ($p=0,002$), ters korelasyon saptanmadı. p27 ekspresyonu ile Jab1 ekspresyonu arasında anlamlı bir sonuç elde edilmedi. Yine Skp2 ve Jab1 birlikte ekspresyonları ile p27 düzeyleri arasında anlamlı bir sonuç alınamadı. Bununla birlikte Skp2 overekspresyonu ile tümör multisentrisitesi ve Jab1 overekspresyonu ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ($p=0,045$ ve $p=0,049$). Sonuçlar tiroid karsinomlarında Jab1 ve/veya Skp2 moleküllerinin overekspresyonlarının p27'ye bağımlı veya bağımsız yollardan tümör progresyonunda rol alabileceğini düşündürdü.

Sui ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 33'ü benign, 47'si malign olmak üzere 80 olguluk epitelyal over tümörlerinde immünohistokimyasal olarak p27 ile Jab1 ve Skp2 ekspresyonlarına bakmışlardır. Malign tümörlerin %53,2'sinde, benign tümörlerin ise %18,2'sinde Skp2 ekspresyonu ve malign tümörlerin %36,2'sinde, benign tümörlerin %75,8'inde p27 ekspresyonu saptamışlardır. Skp2 ve p27 düzeylerini gerek benign ve gerek malign olgularda negatif korele bulmuşlardır. Daha önce yine aynı grup tümörlerde yaptıkları çalışmada da Jab1 ile p27'yi ters ilişkili bulmuşlardır (53). Skp2 ekspresyonu, yüksek dereceli tümör, lenf nodu metastazı ve rezidü hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Skp2/Jab1/p27 ekspresyonları ile yapılan istatistiksel analizlerde en kötü prognozu Skp2(+)/Jab1(+)/p27(-) fenotipinde saptamışlardır (117). Bizim çalışmamızda Sui ve arkadaşlarının tersine yüksek p27 düzeyini azalmış Jab1 ve Skp2 ile ilişkili bulduk. Bu da farklı tümör gruplarında farklı tümöroenez yollarının varlığını destekler niteliktedir.

Lim ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada küçük lenfositik lenfoma ve folliküler lenfoma olgularında düşük Skp2 düzeylerinin yüksek p27 ekspresyonu ile ters korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Diffüz büyük B hücreli lenfomalarda ise, artmış Skp2 düzeylerine karşılık p27 ekspresyonu ile aralarında korelasyon saptamamışlardır. Bu bulgularla p27 deregülasyonunda Skp2 dışında başka faktörlerin rol alabileceğini öne sürmüşlerdir (93).

Literatürde lenf nodu metastazı yapmış olgulardaki p27 ekspresyon düzeyleri ile yapılan çalışmaların sonuçları arasında da birbiriyle çelişen sonuçlar dikkati çekmektedir. Örneğin McKay ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 42 olguluk primer kolorektal tümörü ve aynı tümörlerin ikincil lenf nodu metastazı olan olgularda immünohistokimyasal olarak p53, siklin D1, p21, p27, RB ve çoğalan hücre nükleer antijenine (PCNA) bakmışlardır. Vakaların çoğunda artmış p53 (38/42), p27 (39/42) ve RB (40/42) ile benzer sonuçlar elde edilmiş ve bu üç işaretleyicinin kolorektal tümörlerde, lenf nodu metastazını öngörebilmek için kullanabileceğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda bu proteinlerin metastatik süreçte direk olarak rol almadıklarını öne sürmüşlerdir. Hücre siklus inhibitörü olan p21 (19/42) ve aktivatör olan siklin D1 (22/42) ekspresyonlarını düşük bulmuşlardır. PCNA indeksine baktıklarında tümör hücrelerinin proliferasyon indeksinin metastaz yapma kapasitesi ile direk ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, daha önce bu tümör grubunda düşük p27 ekspresyonu bildiren Thomas ve arkadaşlarının (118) tersine primer kolorektal tümör ve lenf nodu metazlarında %90'ın üzerinde p27 ekspresyonu saptamışlardır. Ve 42 olgunun 39'unda gerek kolorektal tümör gerek metastatik lenf nodu dokusunda benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Thomas ve arkadaşları (118) kolorektal tümör rezeksiyonu sırasında mevcut karaciğer metastazı olan olgularda, rezeke edilen tümör ve metastazektomi dokularında benzer p27 ekspresyonları saptarken, rezeksiyondan 6 ay sonra çıkan karaciğer metastaz dokularında primer tümörlerine göre çok azalmış p27 ekspresyonu saptamışlar. Ve bu p27 kaybının metastatik süreci kolaylaştırdığını öne sürmüşlerdir (119).

Cheng ve arkadaşlarının yaptığı 66 metastatik kolorektal kanser (39'u primer tümör, 27'si metastatik tümör) olgusundan oluşan bir çalışmada immünohistokimyasal olarak p27, p21 ve Ki-67 ekspresyonuna, bunların birbirleriyle, prognozla ve kemoterapiye yanıtla ilişkilerine bakmışlardır. Olguların %56'sı Ki-67, %51'i p27 ve %36'sı p21 ile pozitive göstermiştir. Yapılan istatistiksel analizde tümör derecesi ile Ki-67, p27 ve p21 pozitivitesi ile yüksek korelasyon saptamışlardır. Kemoterapiye p21 pozitif vakalarda daha iyi yanıt gözlenirken, p27 ve Ki-67 pozitivitesi olan vakalarda anlamlı bir fark saptanmamıştır. Tek tek immünohistokimyasal işaretleyiciler ile sağkalım arasında korelasyon saptanmazken, CDK inhibitörleri birlikte değerlendirilerek sağkalım

oranlarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde etmişlerdir; ortalama yaşam süresi p27 ve p21 pozitif vakalarda 10 ay, p27 veya p21 pozitif vakalarda 13,5 ay, hem p27 hem p21 negatif olgularda 21,5 ay olarak saptanmıştır. Ki-67 ile CDK inhibitörleri arasında pozitif korelasyon saptanmamıştır. Primer ve metastatik tümörlerde p21 ve Ki-67 benzer oranlarda pozitivite gösterirken p27 primer tümörlerde metastatiklere oranla daha fazla pozitivite göstermiştir (43).

Langner ve arkadaşlarının TMA tekniği ile yaptığı 58'i metastatik 171 renal hücreli karsinom olgularında immünohistokimyasal olarak p27 ve Skp2 ekspresyonuna bakmışlardır. Şeffaf hücreli tipte %64, kromofob hücreli tipte %27, papiller tipte %75 ve metastatik olgularda %76 oranında p27 pozitivitesi saptamışlardır. Yüksek p27 ekspresyon düzeylerin tümör derecesi arttıkça azaldığını bildirmişlerdir. Çok değişkenli analizlerde düşük p27 ve Skp2 immünoreaktivitesi gösteren şeffaf hücreli kanserlerde azalmış sağkalım tespit etmişlerdir. p27 ve Skp2 ekspresyonları arasında korelasyon saptamamışlardır. Skp2 pozitif olduğu halde bazı olgular düşük bazıları ise yüksek p27 ekspresyonu göstermiştir. İstatistiksel olarak aralarında bir ilişki saptanmamıştır. Metastatik olgulardaki yüksek p27 ekspresyon düzeyleri için daha önce McKay ve diğerlerinin (119) öne sürdüğü gibi metastatik renal hücreli karsinomlarda da p27'nin metastatik sürecin doğrudan içinde rol almadığını ileri sürmüşlerdir (120).

Langner ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada TMA tekniği ile 53 üst sistem transisyonel hücreli karsinom olgusunda immünohistokimyasal olarak p27 ve Skp2 ekspresyonlarına ve bunların tümör evresi, derecesi ve prognozla ilişkilerine bakmışlardır. Olguların %89'unda p27, %60'ında Skp2 ekspresyonu saptamışlardır. p27 düzeyi yüksek olan olguların tümör derecesi arttıkça ekspresyonunun azaldığını bildirmişlerdir. Skp2 ise tümör derecesi ve anjioinvazyon ile korele bulunmuştur. Ancak yine p27 ile Skp2 ekspresyonları arasında ters korelasyon saptamamışlardır (121).

Bazı tümör gruplarında ise tümör supresör proteinlerin yüksek eksprese edildiği çalışmalar da literatürde dikkati çekmektedir. Örneğin Ay ve arkadaşlarının 19 kolorektal kanser hastasından alınan 19'u normal, 19'u tümör dokusu olmak üzere 38 kolorektal doku örneği ile yaptıkları çalışmada, RT-PCR ve yarı ölçümsel dansitometrik analizle kullanılarak p21, p27 ve p57 ekspresyon düzeylerine

bakmışlardır. Normal dokular ile karşılaştırıldığında tümör dokularında p21, p27 ve p57 ekspresyon düzeylerinin önemli düzeyde arttığını bildirmişlerdir. p27 düzeyleri yüksek olan tümörlerin p27 düzeyi düşük olan tümörlere göre daha iyi diferansiye olduklarını saptamışlardır. P57 düzeyleri artmış olan hastaların ise ileri klinik ve patolojik evrede olduklarını gözlemlemişlerdir. Normal dokularda saptanan p27 ekspresyon düzeyi ortalaması 19,76 (SD=8,32) iken bu değerin tümör dokularıda 65,72 (SD=14,06) olarak saptamışlardır (122).

Bizim çalışmamızda da immünohistokiyasal işaretleyicilerin skor ortalamalarına baktığımızda, MEK grubunda p27 skor ortalaması 12,72 iken AKK olgularında 10,42'dir. Ve gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Kouvaraki ve arkadaşlarının 52 sporadik invaziv meme karsinomu ile yaptıkları çalışmada bizim olgularda olduğu gibi tüm olgularda değişen derecelerde p27 ekspresyonu saptamışlardır. Aksiller lenf nodu metastazı olanlarda p27 işaretlenme indeksini %40,9 bulurken, lenf nodu metastazı olmayan olgularda %20,1 saptamışlar. İstatistiksel olarak yüksek p27 düzeyleri ile aksiller lenf nodu metastazı arasında korelasyon saptamışlardır ve bu tümörlerin çoğunun derece 2 ve 3 olduğunu bildirmişlerdir. Diğer bazı mekanizmaların hücre siklus inhibitör rolü olan p27'yi etkisiz kılarak tümör progresyonunu sağladığını ileri sürmüşlerdir (42). Barbareschi ve arkadaşlarının invaziv meme tümörlerinde yaptığı çalışmada da lenf nodu metastazı olan olgularda yüksek p27 ekspresyonu saptamışlardır. Ve p27 ekspresyonunun lenf nodu negatif grupta prognozu belirlemede yardımcı olduğunu, lenf nodu metastazı olan olgularda ise yardımcı olmadığını öne sürmüşlerdir (40).

İn vitro yapılan çalışmalarda hızlı proliferasyon gösteren bazı meme karsinomu alt tip hücre kültürlerinde yüksek p27 ekspresyonu gösterilmiştir (123, 124). Ve bu p27 akümüülasyonunun translasyon sonrası artmış regülasyon veya azalmış yıkım nedeniyle gerçekleşebileceğini bildirmişlerdir ancak kesin mekanizma henüz bilinmemektedir (123).

Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalarda p27 ve diğer CDK inhibitörleri olan Cip/Kip ailesinin; siklin E ve siklin A bağımlı CDK inhibitör fonksiyonlarının tersine, siklin D bağımlı kinazın pozitif regülatuarı olarak fonksiyon görebileceğini bildiren yayınlar vardır (94). Ayrıca siklin D3-CDK6-p27 ve siklin D1/2-CDK4/6-

p27 kompleksinin enzimatik olarak aktif olduğu gösterilmiştir (125, 126) Bunun yanı sıra Cheng ve arkadaşları transjenik hayvan modellerinde yapılan deneylere dayanarak p27'nin siklin D1/2-CDK4 kompleksinin oluşumunu destekleyerek, bu kompleksi stabilize ettiğini ileri sürmüşlerdir ve siklin/CDK'lar ile CDK inhibitörleri arasındaki dengede yer alan diğer mekanizmaların da hücre siklus progresyonunda G1'den S fazına geçişine neden olduğunu iddia etmişlerdir (127). Örneğin hücre siklusunun G1 fazında durdurulan sıçan fibroblastlarında p27 inhibisyonundan korunma yeteneği sergileyen siklin D3-CDK6 kompleksinin kinaz aktivitesini koruduğu gösterilmiştir (128). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada CDK4'ün transjenik ekspresyonun farelerde hiperproliferatif fenotipe yol açtığı ve bunun D tipi siklin ekspresyonundan bağımsız gerçekleştiği görülmüştür (129). Artmış CDK2 aktivitesine bağlı olduğu düşünülen artmış CDK4 düzeylerinin p27 overekspresyonuna rağmen hücre proliferasyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir (129). Yüksek p27 ekspresyonuna neden olabilecek diğer bir olasılık siklin D-CDK4/6 kompleksine bağlandığında inaktif olan p27'nin anormal akümülyasyonudur. Sanchez-Beato ve arkadaşları agresif non-Hodgkin lenfomaların bazı alt gruplarında p27 ve siklin D3 proteinlerinde artmış ekspresyon ve bu iki proteinin kolokalizasyonunu tespit etmişlerdir. Ve yüksek siklin D3 düzeylerinin inhibitör etkisini kaybetmiş yüksek düzeyde eksprese olmuş anormal p27 düzeylerini stabilize ettiklerini bildirmişlerdir. Yüksek p27 düzeyi gösteren olgularda p27-CDK2 kompleksinin yokluğunu, p27-siklin D3 kompleksinin varlığını ve bu iki proteinin nükleer kolokalizasyonunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Siklin E/CDK2 kompleksine bağlandığında inhibitör etkisi olan p27'nin siklin D3 ile kompleks yaptığında fonksiyonel olarak inaktif p27 sekestrasyonuna neden olduğunu ve bu nedenle yüksek p27 düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olduğunu ileri sürmüşler. Ayrıca bu iki proteinin birbiriyle etkileşiminin immünohistokimyasal olarak tespit edilen anormal nükleer akümülyasyona neden olduğunu bildirmişlerdir (45).

Bu bulgu bizim olgularımızdaki yüksek p27 düzeyini açıklayabilir. Belki tükrük bezi tümörlerinden mukoepidermoid ve adenoid kistik karsinomlarda da Sanchez-Beato ve arkadaşlarının bildirdiği gibi anormal nitelikte fonksiyonel olarak inaktif p27 akümülyasyonunun görüldüğü düşünülebilir. Ancak bu bulgu olgularımızdaki p27 yıkım yolağında yer alan Jab1, Skp2 ve PGP9,5'un düşük

ekspresyonlarını açıklamakta yetersiz kalmaktadır. Çünkü herbirinin yüksek ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiş Jab1, Skp2 ve PGP9,5'un bizim olgularımızda düşük ekspresyon göstermesi ve hatta perinöral invazyon yapanlarda yapmayanlara göre daha düşük Skp2 ekspresyonu, uzak organ metastazı yapanlarda yapmayanlara göre daha düşük PGP9,5 ekspresyonunun saptanması dikkat çekicidir. Özellikle tüm olgular birlikte değerlendirildiğinde p27 ile Jab1 ve Skp2'nin istatistiksel olarak anlamlı ters ilişki göstermesi, bizim olgularımızda fonksiyonel olarak inaktif p27 akümülyasyonundan ziyade translasyon sonrası artmış regülyasyonu veya azalmış yıkımı nedeniyle fonksiyonel olarak yüksek düzeyde aktif p27'nin varlığını ve tükrük bezi tümörlerinde onkojenik fonksiyon gösterebileceğini düşündürmektedir. Çünkü Sanchez-Beato ve arkadaşlarının belirttiği gibi eğer neden sadece fonksiyonel olarak inaktif p27 akümülyasyonu olsaydı, p27 ile karşılanmamış Jab1, Skp2 ve PGP9,5 düzeylerinin özellikle perinöral invazyon yapanlarda Skp2, uzak organ metastazı yapanlarda PGP9,5 ekspresyonlarının yüksek düzeyde olmasını bekleyebilirdik. Diğer bir olasılıkta belki de fonksiyonel olarak inaktif anormal p27 akümülyasyonuna karşılık, tükrük bezi tümörögenez yolağında Jab1, Skp2 ve PGP9,5'un rol almadığını ve bu nedenle ekspresyon düzeylerinin düşük olduğunu düşünebiliriz. Ancak her ne kadar tükrük bezi tümörlerinde PGP9,5 ile yapılmış çalışmaya rastlamasak ta daha önce Jab1 veya Skp2 ile yapılmış çalışmalar mevcuttur. Ve bu çalışmalarda yüksek Skp2 ve Jab1'in artmış tümör evresi, lenf nodu metastazı, azalmış sağ kalım ve kötü prognozla ilişkileri gösterilmiştir. Dolayısıyla olgularımızda yüksek p27 düzeylerinin belki farklı bir mekanizma ile Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyon düşüklüğüne neden olduğu veya ekspresyonlarını baskıladığı düşünülmüştür.

Sonuç olarak literatür bilgileri ve çalışma sonuçlarımızın ışığı altında p27'nin sadece bir tümör supresör mü yoksa onkogen mi olduğu, ya da bazı koşullarda tümör supresör olarak davranırken bazı koşullarda onkojenik fonksiyon mu kazanıyor olduğu sorusu akla gelmektedir. Bizim çalışmamızda olgulardaki ve özellikle lenf nodu metastazı olan olgulardaki yüksek p27 düzeyleri tümör supresör fonksiyonu yanı sıra p27'nin mukoepidermoid ve adenoid kistik karsinom gibi belki bazı tümör alt tiplerinde onkogenik fonksiyon gördüğünü destekler nitelikte bulunmuştur. Yine p27 yıkım yolağında rol alan proteinlerin ekspresyonları ile p27 arasında ters

korelasyon saptanması da bu görüşü desteklemektedir. Ayrıca tükürük bezi tümörlerinde p27 yıkım yolağında Jab1, Skp2 veya PGP9,5 dışında belki henüz tanımlanmamış proteinler de rol alabilmektedir. Ya da bizim olgularımızda olduğu gibi artmış p27 ekspresyonunun Jab1, Skp2 veya PGP9,5 ekspresyonlarını baskıladığı düşünülmüştür. Belki de bazı tümör alt tiplerinde inhibitör fonksiyonu inaktif olan anormal p27 proteini tümör progresyonuna neden olabileceği düşünülmüştür. Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda p27 ekspresyon düzeyi değişimlerinin saptanmasının tümör biyolojisinin anlaşılmasına katkıda bulunacağı ve hasta prognozlarının belirlenmesinde faydalı olabileceği düşünülmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

1. 1990-2006 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirilmiş, tükürük bezi tümörü tanısı almış benign ve malign olguların histopatolojik tip, lokalizasyon, yaş ve cinsiyet dağılımları incelenerek 17 yıllık epidemiyolojik veriler elde edilmiştir. Olguların %69,7'si benign, %30,3'ü maligndi. Popülasyona dayalı yapılan çalışmalarla karşılaştırdığımızda benign olgulara göre malign olguların daha sık görüldüğü dikkati çekmiştir. Bu bulgu Hacettepe Üniversitesi'nin genellikle ileri tetkik ve tedavi için başvuru merkezi olması nedeniyle genel toplumun epidemiyolojik verilerini yansıtmıyor olabilir.
2. En sık görülen benign tükürük bezi tümörü pleomorfik adenomdu ve benign tümör olgularının %74,7'sini oluşturmaktaydı. Pleomorfik adenom tanısı almış olguların %41,85'i erkek, %58,15'i kadındı. Yaşları 1-77 arasında değişen olguların ortalama yaşı 40,52 idi. Pleomorfik adenom olguları en sık parotis bezinde yerleşim göstermekteydi (%64,7). İkinci sıklıkta minör tükürük bezinde (%22,5) ve daha az oranda submandibular bezde (%12,8) gelişim saptanmıştır. Diğer epidemiyolojik çalışmalardan farklı olarak parotis bezinde görülme yüzdesinin daha düşük olması, minör tükürük bezinde ise daha sık görülmesi tükürük bezi tümörlerinin etnik gruplar arasında farklılık gösteriyor olması ile açıklanabilir.
3. İkinci en sık görülen benign tümör Warthin tümörüydü ve benign tümör olgularının %21,4'ünü oluşturmaktaydı. Olguların %83'ü erkek, %17'si kadındı. Yaşları 21-80 arasında değişmekte olup ortalama yaş 54,21'di. En sık parotis bezinde (%95,4), daha az oranda submandibular bezde (%3) ve minör tükürük bezinde (%1,6) yerleşim göstermekteydi. Hemen her zaman parotis bezinde veya parotis bezi çevresi lenf nodüllerinde yerleşim gösteren ve nadiren parotis dışı tükürük bezinde yerleşim gösteren Warthin tümörünün bizim olgularımızda submandibular ve minör tükürük bezlerinde gelişim göstermesi ilgi çekicidir.
4. Olgularımızda sublingual yerleşim gösteren benign tükürük bezi tümörüne rastlanmamıştır.
5. En sık görülen malign tükürük bezi tümörü mukoepidermoid karsinomdu ve malign olguların %53'ünü oluşturmaktaydı. Olgularının %44,28'i erkek,

%55,72'si kadındır. Yaşları 3-77 arasında değişmektedir, ortalama yaş 41,54'dür. MEK olguları en sık minör tükrük bezinde (%47,1), ikinci sıklıkta parotis bezinde (%38,6), daha az oranda da submandibular bez (%12,9) ve sublingual bezde (%1,4) yerleşim göstermektedir.

6. İkinci en sık görülen malign tümör adenoid kistik karsinomdu ve malign olguların %34,8'ini oluşturmaktaydı. Olguların %50'si erkek, %50'si kadındı. Yaşları 24-87 arasında değişen olguların ortalama yaşı 50,87'di. AKK olguları en sık minör tükrük bezinde (%65,2), ikinci sıklıkta submandibular bezde (%19,6), daha az oranda da parotis bezi (%12,9) ve sublingual bezde (%4,3) yerleşim göstermekteydi.
7. Gerek mukoepidermoid karsinom gerekse adenoid kistik karsinom olguları popülasyona dayalı çalışmalardan farklı olarak en sık parotis bezinde değil, minör tükrük bezlerinde saptandı. Ancak tükrük bezi tümörleri değişik toplumlarda farklı oranlarda görülebilmektedir. Tükrük bezi tümörlerinin lokalizasyon, yaş ve cinsiyetlere göre dağılımlarının bilinmesi araştırmalara ve değişik lokalizasyondaki tümörlerde tanıya katkı sağlayacaktır. Çeşitli çalışmalara benzer veya farklı olan sonuçlarımız tükrük bezi tümörlerinin değişik toplumlarda ve etnik gruplarda görülme insidansının farklılık göstermesi ile açıklanabilir.
8. Doku mikrodizisi oluşturma (TMA) tekniği ile 25 MEK ve 19 AKK olgusundan oluşturulan 44 olguluk çalışma grubunda, p27 ile Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. TMA mevcut parafin bloklardan çapları 0,6 mm, 1 mm, 1,5 mm ve 2 mm arasında değişen iğnelerle dokuların alınıp tek bir parafin bloğa, dizin yapısında gömülme işlemidir. Bu işlem sayesinde tek bir parafin bloğa bine yakın doku örneği yerleştirilebilmektedir. Ve tek kesitte yüzlerce dokunun aynı anda incelenebilmesini sağlamaktadır. Böylece TMA yüzlerce doku örneğinin moleküler ve immünohistokimyasal işaretleyiciler ile analizine imkan sağlamaktadır.
9. Çalışma grubundaki MEK ve AKK olguları arasında her immünohistokimyasal işaretleyicinin ekspresyon oranları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca immünohistokimyasal işaretleyicilerin skor

ortalamalarına baktığımızda da MEK ve AKK grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. AKK bazaloid bir tümör, MEK ise malign glandüler epitelyal bir tümör olduğu için farklı immünohistokimyasal işaretleyiciler ile aralarında ekspresyon farkı görülmesi beklenen bir bulgudur.

10. Çalışma grubunda tüm olgularda değişen intensite ve yaygınlıkta p27 ekspresyonu saptanmıştır. Özellikle lenf nodu metastazı olan oguların %94,1'inde yüksek p27 ekspresyonu dikkati çekmektedir. Bu bulgu p27'nin tümör supresör mü yoksa onkogen mi olduğu sorusunu akla getirmektedir.
11. Olgularda yüksek p27 ekspresyon düzeylerine karşılık Jab1, Skp2 ve PGP9,5'un düşük ekspresyon düzeyleri, ayrıca perinöral invazyon yapanlarda yapmayanlara göre azalmış Skp2 ekspresyonu yine uzak organ metastazı yapan olgularda yapmayanlara göre düşük PGP9,5 ekspresyonu dikkat çekmektedir.
12. Genel olarak tüm olgular birlikte değerlendirildiğinde p27 düzeyi ile Jab1 ve p27 düzeyi ile Skp2 arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif ilişki saptanmıştır. Ancak p27 ile PGP9,5 arasında bir ilişki saptanmamıştır. MEK olgularında p27 ile Jab1 arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif ilişki bulunurken p27 ile Skp2 arasında negatif ilişki gözlenmiştir ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. İlginç olarak p27 ile PGP9,5 ekspresyonları arasında pozitif ilişki bulunmuştur. AKK olgularında p27 ile, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonları arasında negatif ilişkili bulunmuştur.
13. Prognostik parametrelere göre oluşturduğumuz gruplar ile immünohistokimyasal işaretleyicilerin ekspresyonlarına göre pozitif ve negatif gruplarımızı belirlediğimiz skorlar arasındaki ilişkiye baktığımızda, her immünohistokimyasal işaretleyici için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Buna göre p27 ekspresyonunun 2. ve 3. Grupta daha yüksek olması, Jab1, Skp2 ve PGP9,5 ekspresyonlarının ise 2. ve 3. Gruba göre 1. Grupta daha yüksek olması dikkat çekicidir.
14. Çalışmamızda bazı tümör tiplerinde artmış seviyelerinin kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilen PGP9,5'un düşük ekspresyon göstermesi, fonksiyonel olarak aktif p27 düzeyleri ile ilişkili olarak düştüğünü veya tükrük bezi tümörögenez yolağında rol almadığını düşündürmektedir. Bununla birlikte Jab1 ile pozitif ilişki göstermesi birlikte fonksiyon gördükleri görüşünü desteklemektedir.

Ancak daha önce tükürük bezi tümörlerinde PGP9,5 ile yapılmış bir çalışma olmadığından ve PGP9,5 ile olan çalışmaların sınırlı olmasından dolayı daha ileri bir yorum yapılamamıştır.

15. Olgulardaki ve özellikle lenf nodu metastazı olan olgulardaki yüksek p27 düzeyleri tümör supresör fonksiyonu yanısıra p27'nin mukoepidermoid ve adenoid kistik karsinom gibi belki bazı tümör alt tiplerinde onkojenik fonksiyon gördüğünü destekler nitelikte bulunmuştur. Yine p27 yıkım yolağında rol alan proteinlerin ekspresyonları ile p27 arasında ters korelasyon saptanması da bu görüşü desteklemektedir.
16. p27 ekspresyon düzeyi değişimlerinin saptanmasının tümör biyolojisinin anlaşılmasına katkıda bulunacağı ve hasta prognozlarının belirlenmesinde faydalı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Arey, L.B. Developmental anatomy. Philadelphia; WB Saunders, 1974.
2. Hamilton, W.J., Boyd, D.J., Mossman, H.W. Human embryology, prenatal development of form and function. London; Williams & Wilkins, 1972.
3. Evans, R.W., Cruickshank, A.H. Epithelial tumors of salivary glands. Philadelphia; WB Saunders, 1970.
4. Pinkston, J.A., Cole, P. Incidence rates of salivary gland tumors: results from a population-based study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1999;120:834-840.
5. Spiro, R.H. Salivary neoplasms: overview of a 35-year experience with 2,807 patients. *Head Neck Surg.* 1986;8:177-184.
6. Spiro, R.H., Thaler, H.T., Hicks, W.F. ve ark. The importance of clinical staging of minor salivary gland carcinoma. *Am J Surg.* 1991;162:330-336.
7. Sun, E.C., Curtis, R., Melbye, M., Goedert, J.J. Salivary gland cancer in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999;8:1095-1100.
8. Muscat, J.E., Wynder, E.L. A case/control study of risk factors for major salivary gland cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998;118:195-198.
9. Toida, M., Balazs, M., Mori, T. ve ark. Analysis of genetic alterations in salivary gland tumors by comparative genomic hybridization. *Cancer Genet Cytogenet.* 2001;127:34-37.
10. Kane, W.J., McCaffrey, T.V., Olsen, K.D., Lewis, J.E. Primary parotid malignancies. A clinical and pathologic review. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1991;117:307-315.
11. Lopes, M.A., Kowalski, L.P., da Cunha Santos, G., Paes de Almeida, O. A clinicopathologic study of 196 intraoral minor salivary gland tumours. *J Oral Pathol Med.* 1999;28:264-267.
12. Nascimento, A.G., Amaral, A.L., Prado, L.A., Kligerman, J., Silveira, T.R. Mucoepidermoid carcinoma of salivary glands: a clinicopathologic study of 46 cases. *Head Neck Surg.* 1986;8:409-417.
13. Eversole, L.R. Mucoepidermoid carcinomas: review of 815 reported cases. *J Oral Surg.* 1970;28:490-494.
14. Ellis, G.L., Auclair, P.L. Tumours of the salivary glands. 3rd ed. Armed Forces Institute of Pathology:Washington.1996

15. Ferreiro, J.A., Stylopoulos, N. Oncocytic differentiation in salivary gland tumors. *J Laryngol Otol.* 1995;109:569-571.
16. Urano, M., Abe, M., Horibe, Y., Kuroda, M., Mizoguchi, Y., Sakurai, K., Naito, K. Sclerosing mucoepidermoid carcinoma with eosinophilia of the salivary glands. *Pathol Res Pract.* 2002;198:305-310.
17. Monoo, K., Sageshima, M., Ito, E., Nishihira, S., Ishikawa, K. Histopathological grading and clinic features of patients with mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho.* 2003;106:192-198.
18. Shemen, L.J., Huvos, A.G., Spiro, R.H. Squamous carcinoma of salivary origin. *Head Neck Surg.* 1987;9:235-240.
19. Horsman, D.E., Berean, K., Durham, J.S. Translocation (11;19)(q21;p13.1) in mucoepidermoid carcinoma of salivary gland. *Cancer Genet Cytogenet.* 1995;80:165-166.
20. Goode, R.K., Auclair, P.L., Ellis, G.L. Mucoepidermoid carcinoma of the major salivary glands: clinical and histopathologic analysis of 234 cases with evaluation of grading criteria. *Cancer* 1998;82:1217-1224.
21. To, E.W., Tsang, W.M., Pang, P.C., Cheng, J.H., Tse, G.M., Tsang, W.S. A case of parotid mucoepidermoid carcinoma complicated by fatal gastrointestinal bleeding. *Ear Nose Throat J.* 2001;80:671-673.
22. Skalova, A., Lehtonen, H., Von Boguslawsky, K., Leivo, I. Prognostic significance of cell proliferation in mucoepidermoid carcinomas of the salivary gland: clinicopathologic study using MIB-1 antibody in paraffin sections. *Hum Pathol.* 1994;25:929-935.
23. Zhu, Q.R., Tipoe, G.L., White, F.H. Proliferative activity as detected by immunostaining with Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen in benign and malignant epithelial lesions of the human parotid gland. *Anal Quant Cytol Histol.* 1999;21:336-342.
24. Spiro, R.H., Huvos, A.G., Strong, E.W. Adenoid cystic carcinoma of salivary origin: a clinicopathological study of 242 cases. *Am J Surg.* 1974;128:512-520.
25. Spiro, R.H., Huvos, A.G., Strong, E.W. Adenoid cystic carcinoma: factors influencing survival. *Am J Surg.* 1979;138:579-583.
26. Vargas, H., Sudilovsky, D., Kaplan, M.J., Regezi, J., Weidner, N. Mixed tumor, polymorphous low-grade adenocarcinoma and adenoid cystic carcinoma of the

- salivary gland: Pathogenic implication and differential diagnosis by Ki-67 (MIB1), BCL2, and S100 immunohistochemistry. *Appl Immunohist.* 1997;5:8-16.
27. Jeng, Y.M., Lin, C.Y., Hsu, H.C. Expression of the c-kit protein is associated with certain subtypes of salivary gland carcinoma. *Cancer Lett.* 2000;154:107-111.
 28. Holst, V.A., Marshall, C.E., Moskaluk, C.A., Frierson, H.F. KIT protein expression and analysis of c-kit gene mutation in adenoid cystic carcinoma. *Mod Pathol.* 1999;12:956-960.
 29. Yamamoto, Y., Wistuba, I.I., Kishimoto, Y., Virmani, A.K. DNA analysis at p53 locus in adenoid cystic carcinoma: comparison of molecular study and p53 immunostaining. *Pathol Int.* 1998;48:273-280.
 30. Zhu, Q.R., White, F.H., Tipoe, G.L. p53 oncoprotein accumulation in adenoid cystic carcinoma of parotid and palatine salivary glands. *Pathology* 1997;29:154-158.
 31. Spiro, R.H., Huvos, A.G. Stage means more than grade in adenoid cystic carcinoma. *Am J Surg.* 1992;164:623-628.
 32. Garden, A.S., Weber, R.S., Morrison, W.H., Ang, K.K., Peters, L.J. The influence of positive margins and nerve invasion in adenoid cystic carcinoma of the head and neck treated with surgery and radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995;32:619-626.
 33. Ekholm, S.V., Reed, S.I. Regulation of G(1) cyclin-dependent kinases in the mammalian cell cycle. *Curr Opin Cell Biol.* 2000;12:676-684.
 34. Sherr, C.J., McCormick, F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell* 2002;2:103-112.
 35. Lowe, S.W., Sherr, C.J. Tumor suppression by Ink4a-Arf: progress and puzzles. *Curr Opin Genet Dev.* 2003;13:77-83.
 36. Polyak, K., Lee, M.H., Erdjument-Bromage, H., Koff, A., Roberts, J.M., Tempst, P., Massague, J. Cloning of p27Kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitor and a potential mediator of extracellular antimitogenic signals. *Cell* 1994;78:59-66.
 37. Toyoshima, H., Hunter, T. p27, a novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity, is related to p21. *Cell* 1994;78:67-74.
 38. Fero, M.L., Randel, E., Gurley, K.E., Roberts, J.M., Kemp, C.J. The murine gene p27Kip1 is haplo-insufficient for tumour suppression. *Nature* 1998;396:177-180.
 39. Catzavelos, C., Bhattacharya, N., Ung, Y.C., Wilson, J.A., Roncari, L., Sandhu, C., Shaw, P., Yeger, H., Morava-Protzner, I., Kapusta, L., Franssen, E., Pritchard, K.I.,

- Slingerland, J.M. Decreased levels of the cell-cycle inhibitor p27Kip1 protein: prognostic implications in primary breast cancer. *Nat Med.* 1997;3:227-230.
40. Barbareschi, M., van Tinteren, H., Mauri, F.A., Veronese, S., Peterse, H., Maisonneuve, P., Caffo, O., Scaioli, M., Doglioni, C., Galligioni, E., Dalla Palma, P., Michalides, R. p27 (Kip1) expression in breast carcinomas: an immunohistochemical study on 512 patients with long-term follow-up. *Int J Cancer.* 2000;89:236-241.
 41. Slingerland, J.M., Pagano, M. Regulation of the cdk inhibitor p27 and its deregulation in cancer. *J Cell Physiol.* 2000;183:10-17.
 42. Kouvaraki, M., Gorgoulis, V.G., Rassidakis, G.Z., Liodis, P., Markopoulus, C., Gogas, J., Kittas, C. High expression levels of p27 correlate with lymph node status in a subset of advanced invasive breast carcinoma. *Cancer* 2002;94:2454-2465.
 43. Cheng, J.D., Werness, B.A., Babb, J.S., Meropol, N.J. Paradoxical correlation of cyclin-dependent kinase inhibitors p21waf1/cip1 and p27kip1 in metastatic colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res.* 1999;5:1057-1062.
 44. Sáez, A.L., Sánchez, E., Sánchez-Beato, M., Cruz, M.A., Chacón, I., Muñoz, E., Camacho, F.I., Martínez-Montero, J.C., Mollejo, M., García, J.F., Piris, M.A. P27^{KIP1} is abnormally expressed in diffuse large B-cell lymphomas and is associated with an adverse clinical outcome. *British Journal of Cancer* 1999;80:1427-1434.
 45. Sánchez-Beato, M., Camacho, F.I., Martínez-Montero, J.C., Sáez, A.L., Villuendas, R., Sánchez-Verde, L., García, J.F., Piris, M.A. Anomalous high p27/KIP1 expression in a subset of aggressive B-cell lymphomas is associated with cyclin D3 overexpression. p27/KIP1-Cyclin D3 colocalization in tumor cells. *Blood* 1999;94:765-772.
 46. Carrano, A.C., Eytan, E., Hershko, A., Pagano, M. SKP2 is required for ubiquitin-mediated degradation of the CDK inhibitor p27. *Nat Cell Biol.* 1999;1:193-199.
 47. Tomoda, K., Kubota, Y., Kato, J. Degradation of the cyclin-dependent-kinase inhibitor p27Kip1 is instigated by Jab1. *Nature* 1999;398:160-165.
 48. Caballero, O.L., Resto, V., Patturajan, M., Meerzaman, D., Guo, M.Z., Engles, J., Yochem, R., Ratovitski, E., Sidransky, D., Jen, J. Interaction and colocalization of PGP9,5 with JAB1 and p27(Kip1). *Oncogene* 2002;21:3003-3010.
 49. Claret, F.X., Hibi, M., Dhut, S., Toda, T., Karin, M. A new group of conserved coactivators that increase the specificity of AP-1 transcription factors. *Nature* 1996;383:453-457.

50. Chamovitz, D.A., Segal, D. JAB1/CSN5 and the COP9 signalosome. A complex situation. *EMBO Rep.* 2001;2:96-101.
51. Schwechheimer, C., Deng, X.W. COP9 signalosome revisited: a novel mediator of protein degradation. *Trends Cell Biol.* 2001;11:420-426.
52. Tomoda, K., Kubota, Y., Arata, Y. ve ark. The cytoplasmic shuttling and subsequent degradation of p27Kip1 mediated by Jab1/CSN5 and the COP9 signalosome complex. *J Biol Chem.* 2002;277:2302-2310.
53. Sui, L., Dong, Y., Ohno, M., Watanabe, Y., Sugimoto, K., Tai, Y., Tokuda, M. Jab1 expression is associated with inverse expression of p27(Kip1) and poor prognosis in epithelial ovarian tumors. *Clin Cancer Res.* 2001;7:4130-4135.
54. Lee, E.W., Oh, W., Song, J. Jab1 as a mediator of nuclear export and cytoplasmic degradation of p53. *Mol Cells.* 2006;22:133-140.
55. Zhang, H., Kobayashi, R., Galaktionov, K., Beach, D. p19Skp1 and p45Skp2 are essential elements of the cyclin A-CDK2 S phase kinase. *Cell* 1995;82:915-925.
56. Deshaies, R. SCF and Cullin/Ring H2 based ubiquitin ligases. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1999;15:435-467.
57. Tsvetkov, L.M., Yeh, K.H., Lee, S.J., Sun, H., Zhang, H. p27(Kip1) ubiquitin and degradation is regulated by the SCF (Skp2) complex through phosphorylated Thr187 in p27. *Curr Biol.* 1999;9:661-664.
58. Dong, Y., Sui, L., Watanabe, Y., Sugimoto, K., Tokuda, M. S-phase kinase-associated protein 2 expression in laryngeal squamous cell carcinomas and its prognostic implications. *Oncol Rep.* 2003;10:321-325.
59. Kudo, Y., Kitajima, S., Sato, S., Miyauchi, M., Ogawa, I., Takata, T. High expression of S-phase kinase-interacting protein 2, human F-box protein, correlates with poor prognosis in oral squamous cell carcinomas. *Cancer Res.* 2001;61:7044-7047.
60. Gstaiger, M., Jordan, R., Lim, M., Catzavelos, C., Mestan, J., Slingerland, J., Krek, W. Skp2 is oncogenic and overexpressed in human cancers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:5043-5048.
61. Hershko, D., Bornstein, G., Ben-Izhak, O., Carrano, A., Pagano, M., Krausz, M.M., Hershko, A. Inverse relation between levels of p27(Kip1) and of its ubiquitin ligase subunit Skp2 in colorectal carcinomas. *Cancer* 2001;91:1745-1751.
62. Masuda, T., Inoue, H., Sonoda, H. ve ark. Clinical and biological significance of S-phase kinase-associated protein (Skp2) gene expression in gastric carcinoma:

- modulation of malignant phenotype by Skp2 overexpression, possibly via p27 proteolysis. *Cancer Res.* 2002;62:3819-3825.
63. Ben-Izhak, O., Lahav-Baratz, S., Meretyk, S. ve ark. Inverse relation-ship between Skp2 ubiquitin ligase and the cyclin dependent kinase inhibitor p27Kip1 in prostate cancer. *J Urol.* 2003;170:241-245.
 64. Keikhaee, M.R., Kudo, Y., Siriwardena, S., Wu, L., Ogawa, I., Takata, T. Skp2 expression is associated with down-regulation of p27 protein and cell proliferation in salivary adenoid cystic carcinoma. *Virchows Arch.* 2007;450:567-574.
 65. Handra-Luca, A., Ruhin, B., Lesty, C., Fouret, P. P27, SKP2, and extra-cellular signal-related kinase signalling in human salivary gland mucoepidermoid carcinoma. *Oral Oncology* 2006;42:1005-1010.
 66. Wilkinson, K.D., Cox, M.J., Mayer, A.N., Frey, T. Synthesis and characterization of ubiquitin ethyl ester, a new substrate for ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase. *Biochemistry* 1986;25:6644-6649.
 67. Day, I.N. Enolases and PGP9.5 as tissue-specific markers. *Biochemical Society Transactions.* 1992;20:637-642.
 68. Sasaki, H., Yukiue, H., Moriyama, S., Kobayashi, Y. ve ark. Expression of the protein gene product 9.5, PGP9.5, is correlated with T-status in non-small cell lung cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 2001;31:532-535.
 69. Tezel, E., Hibi, K., Nagasaka, T., Nakao, A. PGP9.5 as a prognostic factor in pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research* 2000;6:4764-4767.
 70. Yamazaki, T., Hibi, K., Tezel, E., Nakayama, H., Kasai, Y., Ito, K., Akiyama, S., Nagasaka, T., Nakao, A. PGP9.5 as marker for invasive colorectal cancer. *Clinical Cancer Research* 2002;8:192-195.
 71. Takano, T., Miyauchi, A., Matsuzuka, F., Yoshida, H., Nakata, Y., Kuma, K., Amino, N. PGP9.5 mRNA could contribute to the molecular-based diagnosis of medullary thyroid carcinoma. *European Journal of Cancer* 2004;40:614-618.
 72. Takase, T., Hibi, K., Yamazaki, T., Nakayama, H., Taguchi, M., Kasai, Y., Ito, K., Akiyama, S., Nagasaka, T., Nakao, A. PGP9.5 overexpression in esophageal squamous cell carcinoma. *Hepatogastroenterology.* 2003;50:1278-1280.
 73. Satoh, J.I., Kuroda, Y. Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (PGP9.5) expression in human neural cell lines following induction of neuronal differentiation and exposure to cytokins, neurotropic factors or heat stress. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 2001;27:95-104.

74. Menck, H.R., Henderson, B.E. Cancer incidence patterns in the Pacific Basin. *Natl Cancer Inst Monogr.* 1982;62:101-109.
75. Eveson, J.W., Cawson, R.A. Salivary gland tumors. A review of 2410 cases with particular reference to histological types, site, age and sex distribution. *J Pathol.* 1985;146:51-58.
76. Alper, M., Patiroğlu, T.E., Belenli, O. Tükruk bezi tümörleri:142 olgunun histopatolojik tip, yerleşim yeri, yaş ve cinsiyet dağılım analizi. *Türk Patoloji Dergisi* 2001;17(1-2):18-20.
77. Foote, F.W., Frazell, E.L. Tumors of the major salivary glands. *Cancer* 1953;6:1065-1133.
78. Masuda, T.A., Inoue, H., Nishida, K., Sonoda, H., Yoshikawa, Y., Kakeji, Y., Utsunomiya, T., Mori, M. Cyclin-dependent kinase 1 gene expression is associated with poor prognosis in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2003;15:5693-5698.
79. Kouvaraki, M.A., Korapati, A.L., Rassidakis, G.Z., Tian, L., Zhang, Q. ve ark. Potential role of Jun Activating Domain-Binding Protein 1 as a negative regulator of p27Kip1 in Pancreatic Adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2006;66(17):8581-8589.
80. Takata, T., Kudo, Y., Zhao, M., Ogawa, I., Miyauchi, M., Sato, S., Cheng, J., Nikai, H. Reduced expression of p27(Kip1) protein in relation to salivary adenoid cystic carcinoma metastasis. *Cancer* 1999;86(6):928-935
81. Choi, C.S., Choi, G., Jung, K.Y., Choi, J.O., Chae, Y.S. Low expression of p27(Kip1) in advanced mucoepidermoid carcinomas of head and neck. *Head Neck.* 2001;23(4):292-297.
82. Shirane, M., Harumiya, Y., Ishida, N., Hirai, A., Miyamoto, C., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Kitagawa, M. Down-regulation of p27(Kip1) by two mechanisms, ubiquitin-mediated degradation and proteolytic processing. *J Biol Chem.* 1999;274:13886-13893.
83. Nakayama, K., Nagahama, H., Minamishima, Y.A., Miyake, S., Ishida, N., Hatakeyama, S., Kitagawa, M., Iemura, S., Natsume, T., Nakayama, K.I. Skp2-mediated degradation of p27 regulates progression into mitosis. *Dev Cell.* 2004;6(5):661-672.
84. Sutterluty, H., Chatelain, E., Marti, A. ve ark. P45SKP2 promotes p27Kip1 degradation and induces S phase in quiescent cells. *Nat Cell Biol.* 1999;1:207-214.
85. Otsuki, T., Yata, K., Takata-Tomokuni, A., Hyodoh, F., Miura, Y., Sakaguchi, H., Hatayama, T., Hatada, S., Tsujioka, T., Sato, Y., Murakami, H., Sadahira, Y.,

- Sugihara, T. Expression of protein gene product 9,5 (PGP9,5)/ubiquitin-C-terminal hydrolase 1 (UCHL-1) in human myeloma cells. *Br J Haematol.* 2004;127:292-298.
86. Yokoi, S., Yasui, K., Saito-Ohara, F. ve ark. A novel target gene, Skp2, within the 5p13 amplicon that is frequently detected in small cell lung cancers. *Am J Pathol.* 2202;161:207-216.
 87. Goto, A., Niki, T., Moriyama, S., Funata, N., Moriyama, H. ve ark. Immunohistochemical study of Skp2 and Jab1, two key molecules in the degradation of p27, in lung adenocarcinoma. *Pathol International.* 2004;54:675-681.
 88. Kouvaraki, M.A., Rassidakis, G.Z., Tian, I., Kumar, R., Kittas, C., Claret, F.X. Jun activation domain-binding protein 1 expression in breast cancer inversely correlates with the cell cycle inhibitor p27(Kip1). *Cancer Res.* 2003;63:2977-2981.
 89. Sicinski, P., Zacharek, S., Kim, C. Duality of p27^{Kip1} function in tumorigenesis. *Genes Dev.* 2007;21:1703-1706.
 90. Hibi, K., Westra, W.H., Borges, M., Goodman, S., Sidransky, D., Jen, J. PGP9,5 as a candidate tumor marker for non-small-cell lung cancer. *American Journal of Pathology.* 1999;155:711-715.
 91. Chiarle, R., Fan, Y., Piva, R., Boggino, H., Skolnik, J., Novero, D., Palestro, G., De Wolf-Peeters, C., Chilosì, M., Pagano, M., Inghirami, G. S-phase kinase-associated protein 2 expression in non-Hodgkin' lymphoma inversely correlates with p27 expression and defines cells in S phase. *Am J Pathol.* 2002;160:1457-1466.
 92. Oliveira, A.M., Okuno, S.H., Nascimento, A.G., Lloyd, R.V. Skp2 protein expression in soft tissue sarcomas. *J Clin Oncol.* 2003;21:722-727.
 93. Lim, M.S., Adamson, A., Lin, Z., Perez-Ordóñez, B., Jordan, R.C., Tripp, S., Perkins, S.L., Elenitoba-Johnson, K.S. Expression of Skp2, a p27 (Kip1) ubiquitin ligase, in malignant lymphoma: correlation with p27 (Kip1) and proliferation index. *Blood* 2002;100:2950-2956.
 94. Sherr, C.J., Roberts, J.M. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev.* 1999;13:1501–1512.
 95. Morgan, D. The dynamics of cyclin-dependent kinase structure. *Curr Opin Cell Biol.* 1996;8:339–363.
 96. Sherr, C.J. G1 phase progression: cycling on cue. *Cell* 1994;79:551-555.
 97. Olashaw, N., Pledger, W.J. Paradigms of growth control: relation to Cdk activation. *Sci STKE* 2002; 134:RE7.

98. Pagano, M., Tam, S.W., Theodoras, A.M., Beer-Romero, P., Del Sal, G., Chau, V. ve ark. Role of the ubiquitin proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent inhibitor p27. *Science* 1995; 267:1024-7.
99. Viglietto, G., Motti, M.L., Fusco, A. Understanding p27(kip1) deregulation in cancer: down-regulation or mislocalization. *Cell Cycle*. 2002 ;1(6):394-400.
100. Ortega, S., Malumbres, M., Barbacid, M. Cyclin D-dependent kinases, INK4 inhibitors and cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2002; 1602:73-87.
101. Kawamata, N., Morosetti, R., Miller, C.W., Park, D., Spirin, K.S., Nakamaki, T. ve ark. Molecular analysis of the cyclin-dependent kinase inhibitor gene p27kip1 in human malignancies. *Cancer Res*. 1995; 55:2266-9.
102. Blain, S.W., Massague, J. Breast cancer banishes p27kip1 from nucleus. *Nat Med*. 2002;8:1076-1078.
103. Esposito, V., Baldi, A., De Luca, A., Groger, A.M., Loda, M., Giordano, G.G. ve ark. Prognostic role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27kip1 in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 1997;57:3381-3385.
104. Loda, M., Cukor, B., Tam, S.W., Lavin, P., Fiorentino, M., Draetta, G.F. ve ark. Increased proteasome-dependent degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27kip1 in aggressive colorectal carcinomas. *Nat Med*. 1997; 3:231-4.
105. Masciullo, V., Sgambato, A., Pacilio, C., Pucci, B., Ferrandina, G., Palazzo, J. ve ark. Frequent loss of expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27kip1 in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*. 1999; 59:3790-3794.
106. Singh, S.P., Lipman, J., Goldman, H., Ellis, F.H., Aizenman, L., Cangi, M.G. ve ark. p27kip1 in Barrett's associated adenocarcinoma. *Cancer Res*. 1998; 58:1730-5.
107. Baldassarre, G., Belletti, B., Bruni, P., Boccia, A., Trapasso, F., Pentimalli, F. ve ark. Overexpressed cyclin D3 contributes to retaining the growth inhibitor p27kip1 in the cytoplasm of thyroid tumor cells. *J Clin Invest*. 1999; 104:865-74.
108. Tsihlias, J., Kapusta, L.R., DeBoer, G., Morava-Protzner, I., Zbieranowski, I., Bhattacharya, N. ve ark. Loss of cyclin-dependent kinase inhibitor p27kip1 is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma. *Cancer Res*. 1998; 58:542-8.
109. Mizumatsu, S., Tamiya, T., Ono, Y., Abe, T., Matsumoto, K., Furuta, T. ve ark. Expression of cell cycle regulator p27kip1 is correlated with survival of patients with astrocytoma. *Clin Cancer Res*. 1999; 5:551-7.

110. Erlanson, M., Portin, C., Linderholm, B., Lindh, J., Roos, G., Landberg, G. Expression of cyclin E and the cyclin-dependent kinase inhibitor p27kip1 in malignant lymphomas-prognostic implications. *Blood* 1998; 92:770-777
111. Handra-Luca, A., Bilal, H., Bertrand, J.C., Fouret, P. Extra-cellular signal-regulated ERK-1/ERK-2 pathway activation in human salivary gland mucoepidermoid carcinoma: association to aggressive tumor behavior and tumor cell proliferation. *Am J Pathol.* 2003;163:957-67.
112. Filmus, J., Robles, A.I., Shi, W., Wong, M.J., Colombo, L.L., Conti, C.J. Induction of cyclin D1 overexpression by activated ras. *Oncogene* 1994;9:3627-3633.
113. Dowen, S.E., Scott, A., Mukherjee, G., Stanley, M.A. Overexpression of Skp2 in carcinoma of the cervix does not correlate inversely with p27 expression. *Int J Cancer* 2003;105:326-330.
114. Kim, J.Y., Lim, S.J., Kim, H.J., Shin, E., Park, K., Lee, C.M. Clinical significance of p27 and Skp2 protein expression in uterine cervical neoplasm. *Int J Gynecol Pathol.* 2007;26(3):242-247.
115. Anayama, T., Furihata, M., Ishikawa, T. ve ark. Positive correlation between p27kip1 expression and progression of human esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 1998;79:439-443.
116. Shin, S.J., Lesser, M., Rosen, P.P. Hemangiomas and angiosarcomas of the breast diagnostic utility of cell cycle markers with emphasis on Ki-67. *Arch Pathol Lab Med.* 2007;131:538-544.
117. Sui, L., Dong, Y., Watanabe, Y., Yamaguchi, F., Sugimoto, K., Tokudo, M. Clinical significance of Skp2 expression, alone and combined with Jab1 and p27 in epithelial ovarian tumors. *Oncol Rep.* 2006;15:765-771.
118. Thomas, G. V., Szigeti, K., Murphy, M., Draetta, G., Pagano, M., Loda, M. Down-regulation of p27 is associated with development of colorectal adenocarcinoma metastases. *Am. J. Pathol.* 1998;153: 681-687.
119. McKay, J.A., Douglas, J.J., Ross, V.G., Curran, S., Ahmed, F.Y., Loane, J.F., Murray, G.I., McLeod, H.L. Expression of cell cycle control proteins in primary colorectal tumors does not always predict expression in lymph node metastases. *Clin Cancer Res.* 2000;6:1113-1118.
120. Langner, C., Wasielewski, R., Ratschek, M., Rehak, P., Zigeuner, R. Biological significance of p27 and Skp2 expression in renal cell carcinoma. A systematic

- analysis of primary and metastatic tumour using a tissue microarray technique. *Virchows Arch.* 2004;445:631-636.
121. Langner, C., Wasielewski, R., Ratschek, M., Rehak, P., Zigeuner, R. Expression of p27 and its ubiquitin ligase subunit Skp2 in upper urinary tract transitional cell carcinoma. *Urology* 2004;64:611-616.
 122. Ay, M.E., Terzioğlu, O., Terzi, C., İzci Ay, Ö. Kolorektal kanserlerde, p21,p27,p57 siklin bağımlı kinaz inhibitör geni (CDKI) ekspresyonlarının değerlendirilmesi. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi* 2006;5(1):20-25.
 123. Fredersdorf, S., Burns, J., Milne, A.M. ve ark. High level expression of p27(kip1) and cyclin D1 in some human breast cancer cells: inverse correlation between the expression of p27(kip1) and degree of malignancy in human breast and colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:6380-6385.
 124. Sgambato, A., Zhang, Y.J., Arber, N. ve ark. Dereglated expression of p27(Kip1) in human breast cancers. *Clin Cancer Res.* 1997;3:1879-1887.
 125. Blain, S.W., Montalvo, E., Massague, J. Differential interaction of the cyclin-dependent kinase (Cdk) inhibitor p27Kip1 with cyclin A-Cdk2 and cyclin D2-Cdk4. *J Biol Chem.* 1997;272:25863-25872.
 126. McConnell, B.B., Gregory, F.J., Stott, F.J., Hara, E., Peters, G. Induced expression of p16(INK4a) inhibits both CDK4- and CDK2-associated kinase activity by reassortment of cyclin-CDK-inhibitor complex. *Mol Cell Biol.* 1999;19:1981-1989.
 127. Cheng, M., Olivier, P., Diehl, J.A. ve ark. The p21 (Cip1) and p27(Kip1) CDK “inhibitors” are essential activators of cyclin D-dependent kinases in murine fibroblasts. *EMBO J.* 1999;18:1571-1583.
 128. Lin, J., Jinno, S., Okayama, H. Cdk6-cyclin D3 complex evades inhibition by inhibitor proteins and uniquely controls cell’s proliferation competence. *Oncogene* 2001;20:2000-2009.
 129. Miliani De Marval, P.L., Gimenez-Conti, I.B., LaCava, M., Martinez, L.A., Conti, C.J., Rodriguez-Puebla, M.L. Transgenic expression of cyclin-dependent kinase 4 results in epidermal hyperplasia, hypertrophy, and severe dermal fibrosis. *Am J Pathol.* 2001;159:369-379.