



**T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ**

**VULVAR KARSİNOMLARDA VE VULVA’NIN PREMALİGN
LEZYONLARINDA CD44 EKSPRESYONU’NUN
KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE
KORELASYONU VE PROGNOZA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR.YAKUP YALÇIN

İZMİR-2012

ÖNSÖZ

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocam Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği Eğitim Görevlisi Op.Dr.Ferit SOYLU'ya, Eğitim Sorumlusu Prof.Dr.Sefa KELEKÇİ'ye ve Eğitim Görevlisi Op.Dr.Mehmet Hakan YETİMALAR'a

Tezimin planlama, araştırma ve yapım aşamasında katkılarından dolayı tez danışmanım Op.Dr.Selda UYSAL'a,

Emeği geçen tüm bölüm uzmanlarına ve asistan arkadaşlarıma,

Tez çalışmamın her aşamasında desteklerini esirgemeyen Patoloji Kliniği Eğitim Sorumlusu Prof.Dr.Fulya ÇAKALAĞAOĞLU'na ve Uzm.Dr.Seyran YİĞİT'e,

Bana her zaman destek olan değerli aileme,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
GİRİŞ VE AMAÇ	5
GENEL BİLGİLER	6 - 27
MATERYAL VE METOD	28 - 36
BULGULAR	37 - 49
TARTIŞMA ve SONUÇ	50 - 59
ÖZET	60 - 61
SUMMARY	62 - 63
KAYNAKLAR	64 - 71

KISALTMALAR:

CA: Kanser Antijen
ÇKYE: Çok katlı yassı epitel
DFS: Hastalıksız yaşam süresi
DAB: Diaminobenzidine
ESM: Ekstrasellüler Matriks
FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics
GOG: Gynecologic Oncology Group
HA: Hyalüronik Asit
HAM: Hücre Adezyon Molekülleri
HE: Hematoksilen- Eosin
HSV: Herpes Simplex Virus
HPV: Human Papilloma Virüs
HIV: Human ImmunodeficiencyVirus
İHK: İmmünhistokimya
ISSVD: The International Society for the Study of Vulvovaginal Disease
LS: Liken Sklerozis
OS: Genel sağ kalım süresi
RT-PCR: Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction
SCC: Skuamöz hücreli karsinom
SLE: Sistemik Lupus Eritematozus
TBS : Trisbufferedsaline
TNM : Tümör-Nod-Metastaz
TGF: Transforming Growth Factor
UICC: Union for International Cancer Control
VIN : Vulvar Intraepitelyal Neoplazi

GİRİŞ VE AMAÇ

Vulva kanseri nadir görülür ve kadın genital sistemine ait malignitelerin %3-5'ini oluşturur (1). Tüm primer vulva malignitelerinin %90'ını skuamoz hücreli karsinom oluştururken, daha az sıklıkta melanom, adenokarsinom, bazal hücreli karsinom ve sarkom oluşturur. Vulva kanserinin erken tanısını ve preinvaziv lezyonların malign dönüşümünü gösteren etkin bir yöntem yoktur.

Hücre adezyon molekülleri (HAM), hücrelerin özgül olarak dokulara yönelmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenezinde, hücre büyümesinde, hücre farklılaşması ve inflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev alırlar. Karsinogenezis, invazyon ve metastazda rol alan proteazlar erken evre hastalığı saptamada ve kanserli hastaların prognozunu değerlendirilmesinde bir seçenek olabilmektedir. Tümör hücresinin invazyonu için gerekli olan esas süreçte tümörden salınan proteazların yaptığı ekstrasellüler matriks parçalanması yer almaktadır. Ekstrasellüler matriks yapısındaki değişiklikler tümörün yayılmasında önemli olmaktadır. CD44 isoformları hücre-hücre ve hücre-matriks arası etkileşimlerde değişik fonksiyonlara sahip hücre transmembran glikoproteinleridir. Hücrelerin adezyonu ve göçünde önemli fonksiyonlara sahip moleküllerdir. Tümör yayılımı ve metastazında önemli adezyon molekülleridir (2).

Bizim bu çalışmadaki amacımız vulvar karsinomlarda ve vulvanın premalign lezyonlarında CD44 ekspresyonunun klinikopatolojik parametrelerle korelasyonu ve prognoza etkisini değerlendirmektir. Bazı genlerin ekspresyonlarının artması ya da azalması insan tümörlerinin gelişmesini tetikleyebilir. Bu gen ürünlerinin iyi anlaşılması belki de vulva kanserlerinin erken tanı ve tedavisinde faydalı olabilir.

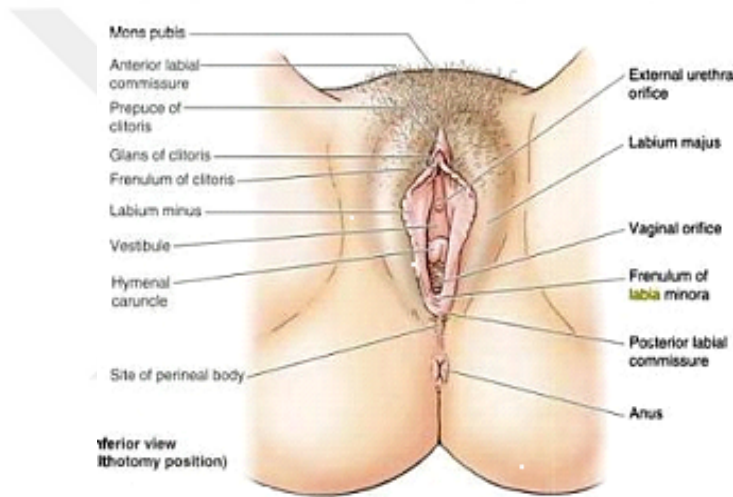
GENEL BİLGİLER

VULVA EMBRİYOLOJİSİ

Vulva ektoderm, endoderm ve mezoderm olmak üzere üç embriyonik katmandan köken alır. Mons pubis, labium majus ve minus, klitoris ve perineumun kutanöz epiteli ektodermden köken alır. Vestibül mukozası ise endodermden köken alır ve endodermden köken alan tek yapıdır. Vajina ise mezodermden köken alır (3,4).

VULVA ANATOMİSİ

Vulva, kadın dış genital organlarının tümünü içeren bir terimdir. Vulva, dış kısımda; mons pubis, her iki labium majus ve minuslar, klitoris, iç kısımda; üretral ağız, vajinaya açılan vulvar vestibüller, salgı yapan büyük ve küçük vestibuler bezler tarafından oluşmaktadır (şekil-1). Vestibülün posterolateral kısmında ise major vestibuler bezler (bartolin bezleri) bulunmaktadır. Major vestibuler bezin duktusu lümenin 3-4 mm dışında görülebilir. Bartolin bezleri mukus salgılar ve erişkin dönemde 2 cm'lik duktusları şişmeye ve enfekte olmaya eğilimlidir (5).



Şekil 1: Vulvayı oluşturan yapılar

Mons pubis ('mons' latince tepe dağ) ön perineal üçgende yer alan, pubik kemikler üzerinde uzanan yağ dokusu ve onu örten saçlı deriden oluşur. Doğumda östrojenin de etkisi ile kadın genitalleri belirgin ve kısmen pigmentedir. Labium majuslar, introitusun her iki yanında, mons pubisten posteriora doğru uzanan benzer saçlı deri ve yağ dokusundan oluşur (6). Burada uterus round ligamentinin son kısmı bulunur (7). Labium minuslar, labium majusların iç kısmında uzanır. Labium majusun derisinden farklı olarak daha ince, üzeri tüysüzdür ve yağ tabakasının üzerinde değil gevşek bir bağ dokusu üzerinde yer alır. Klitoris

ise orta hatta glans ile kaplanmış duyarlı ve erektile bir organdır. Ayrıca vasküler ve muskuler yapılardan zengindir, pudental sinir tarafından innerve edilir (3,5,6).

VULVA'NIN KANLANMASI, İNNERVASYONU

Vulvanın arterial kanlanması, çoğunlukla internal iliak arterin anterior dallarından olan internal pudental arter tarafından sağlanır. Ayrıca femoral arterin dalları olan yüzeysel ve derin eksternal pudental arterler de vulvanın arterial kanlanmasına katkıda bulunur (6). Vulvanın venöz drenajı ise arterlerine eşlik eder ve internal iliak venlere dökülür. Pudental arter ve vene paralel seyreden pudental sinir perinenin motor ve duyu siniridir. Vulva, ön sakrokoksigeal pleksustan köken alan ve büyük siyatik foramenden pelvisi terk eden pudental sinir tarafından innerve edilir. Pudental sinir S2-S3-S4 sinir köklerinden oluşur (6).

VULVA HİSTOLOJİSİ

Dişi dış genital organlar mons pubis, labium majus, minus, klitoris, vestibulum vajinadan oluşur. Labia majorlar kıl folikülleri, sebace bezleri, apokrin ve ekrin ter bezlerini içerir ve keratinize ÇKYE (çok katlı yassı epitel) den oluşur. Labium minörler nonkeratinize ÇKYE'den oluşur deri ekleri yoktur. İç duvarlarında sebace bezler mevcuttur ancak kıl ve yağ dokusu bulunmaz. Bazal tabaka bol miktarda pigment mevcuttur ve vasküler yapılardan zengindir.

Vestibular bulbusun kuyruk tarafında bulunan bartolin glandı (majör vestibüler gland) mukus üreten kolumnar hücrelerden oluşur, duktusu ise skuamöz hücreli epitle döşelidir. Vajen non keratinize ÇKYE ile döşelidir. Klitoris labium minusların üzerinde olan erektile bir organdır. Glandula vestibularis minör (Skene bezleri-paraüretral bezler), orificum üretra eksternumun sağ ve sol olmak üzere iki tarafına açılır. Vestibulde pilosebase ünite bulunmamaktadır (4,8,9).

SINIFLAMA VE TARİHSEL GELİŞİMİ

“Vulva” Latince kökenli bir kelime olup “covering-örtme, kapama” anlamına gelmektedir (7). 1970 yılında New York'ta Obstetrik ve Jinekoloji Federasyonunun 6.Dünya Kongresi'nde “Vulvovajinal Hastalıklar Uluslararası Çalışma Grubu (ISSVD)” kurulmuştur.

Bu grubun üyeleri dermatologları, jinekologları ve patoloğları içermektedir. ISSVD'nin ana hedefi vulva hastalıklarının klasifikasyonu ve terminolojisinin geliştirilmesi ve açıklanmasıdır.

1976 yılında toplanan komite tarafından ilk sınıflama yapılmış ancak birçok kez değiştirilmiş ve vulvar hastalıklar için ortak bir dil oluşturulmaya çalışılmıştır. 1976 yılındaki toplantıda vulvar lezyonlar vulvar atipi ve karsinoma in situ olarak ayrıldı. ISSVD tarafından, 1986 yılındaki toplantıda lökoplaki, Bowen hastalığı, bowenoid papülozis, bowenoid displazi, Queyrat eritroplazisi, karsinoma simpleks, in situ skuamöz hücreli karsinom ve ağır atipili hiperplastik distrofi gibi birçok terimin kullanılmasının önüne geçilmesi ve vulvar intraepitelyal neoplazi (VIN) terimini tek başına kullanılması önerildi ve skuamöz epiteldeki hücrel anormalliğin yayılımına göre VIN 1, VIN 2, VIN 3 olmak üzere 3 bölüme ayrıldı. Buna göre sadece alt 1/3'te ise VIN 1, epitelin alt 1/2'sindeyse VIN 2, alt 2/3 ve daha fazlası etkilenmişse VIN 3 olarak adlandırıldı. 1986 yılındaki ISSVD sınıflamasına göre vulvada görülen lezyonlar iki gruba ayrılmıştır. Bunlar; malign (neoplastik) ve benign (non-neoplastik) lezyonlardır (10,11) (tablo 1).

Tablo 1: Vulva hastalıklarının sınıflaması (ISSVD 1986)

NEOPLASTİK HASTALIKLAR
A- Skuamöz Neoplaziler VIN1 : hafif displazi VIN2 : orta şiddette displazi VIN3 : tüm kat atipi gösteren şiddetli displazi B- Nonskuamöz Neoplaziler Paget hastalığı Malign melanoma
NONNEOPLASTİK HASTALIKLAR
- Liken sklerozis (liken sklerozis et atrofikus) - Skuamöz hücreli hiperplazi (hiperplastik displazi) - Diğer dermatozlar (Ör: psöriazis, liken planus, seborik ekzema)

Patologlar, 1986 yılındaki yapılan VIN klasifikasyonuna göre epitelin alt 1/3 bölümünde atipik hücreler gördüğünde VIN 1 tanısı koymak zorunda kalmaktaydı. VIN 1 tanılı hastaların birçoğunun vulvar skuamöz hücreli neoplazi ile ilgisi yoktur. Bundan dolayı VIN 1 tanılı hastalar, gereksiz tedavi ve takip olurdu. ISSVD, VIN terminolojisini 2004 yılında tekrar değiştirmiştir. Bu sınıflamaya göre VIN 1 terimi kullanılmayıp, VIN terimi, VIN 2 ve VIN 3 skuamöz lezyonlar için kullanılmaktadır. VIN, klasik VIN ve diferansiye VIN olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (12). Vulvar hastalıkların hepsini içeren sınıflama mümkün olmayabilir. Bu nedenle ISSVD'nin 2006 yılında yaptığı sınıflandırmada neoplazi ve enfeksiyonlar hariç tutularak vulvar hastalıkların histopatolojik paternlerine göre sınıflandırılmasına karar verilmiştir (tablo 2).

Tablo 2: Vulvar Hastalıkların Sınıflaması (ISSVD 2006) (13)

Spongiotik Patern	Akantotik Patern
• Atopik dermatit • Allerjik kontakt dermatit • İrritan kontakt dermatit	• Psoriasis • Liken simpleks kronikus
Likenoid Patern	Dermal Homojenizasyon/ Sklerotik Patern
• Liken sklerozis • Liken planus	• Liken sklerozis
Vezikülobüllöz Patern	Akantolitik Patern
• Skatrisyal tip pemfigoid • Lineer IgA hastalığı	• Hailey-Hailey hastalığı • Darier'in hastalığı • Papüler genitokrural akantoliz
Granümatöz Patern	Vaskülopatik Patern
• Chron hastalığı • Melkersson-Rosenthal sendromu	• Aftöz ülserler • Behçet hastalığı • Plazma hücreli vulvitler

EPİDEMİYOLOJİ

Vulva kanseri, ABD’de yılda 3740 yeni vaka ve 880 ölüm ile beraber görülür ve yıllık insidansı 1-2/100.000 dir (1). Kadın genital sistemine ait malignitelerin yaklaşık %5 ini oluşturur. En sık tipini skuamöz hücreli kanser oluştururken daha az sıklıkta melanom, adenokarsinom, bazal hücreli karsinom ve sarkom oluşturur. Yetmişli ve doksanlı yılların ortalarında in situ vulvar kanser insidansı yaklaşık iki katına çıkmış, buna karşın invaziv skuamoz hücreli kanser oranında artış gözlenmemiştir (14). Vulva kanseri ortalama 65-75 yaşları arasında görülür. 75 yaş ve üzeri kadınlarda bu risk 10 kat daha fazladır (1,15). Son zamanlarda Avrupa’da ve ABD’de genç kadınlarda vulva kanseri insidansının arttığı ve Birleşik Krallık’taki genç kadınlarda son otuz yıl içinde insidansın ikiye katlandığı saptanmıştır (16).

RİSK FAKTÖRLERİ

Vulva kanseri için spesifik bir risk faktörü saptanmamıştır. Vulva kanseri ile ilişkili olabilecek etiyolojik faktörler tablo 3’te (16) gösterilmiştir.

Tablo-3 : Vulva kanseri için risk faktörleri

Vulva kanseri için risk faktörleri
Pre-invaziv lezyonlar: Vulvar intraepitelyal neoplazi
Liken Sklerozis
Diğer anogenital kanserler ya da ailesel anogenital kanser hikayesi
Yüksek dereceli servikal intarepitelyal neoplazi / servikal kanser hikayesi
Vajinal kanser
Anal kanser
Seksüel geçişli enfeksiyonlar: Genital siğil/HPV, HSV tip 2, HIV
İmmunsupresyon
Renal transplantasyon
Sigara
Diğer medikal durumlar: SLE

VULVANIN PREİNVAZİV HASTALIKLARI

Vulvar İntraepitelyal Neoplazi (VIN): Vulvar derinin, prekanseröz durumudur. ISSVD, 2004 yılında yaptığı sınıflamaya göre; VIN, klasik VIN ve diferansiye VIN olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (tablo 4). Klasik VIN HPV ile ilişkili, diferansiye VIN kronik inflamatuvar deri hastalığıyla ilişkilidir. Hastalar asemptomatik olabilecekleri gibi lokalize vulvar kaşıntı ile de prezente olabilirler. Amerika’da yapılan çalışmalarda VIN ‘lı vakaların yaklaşık % 80 inde HPV saptanmıştır (17). Özellikle serviks olmak üzere alt genital traktın preinvaziv ve invaziv lezyonları eşlik edebilir. Klasik (Warty veya Bazaloid tip) daha çok genç ve premenapozal kadınlarda, diferansiye VIN ise liken sklerozisin eşlik ettiği yaşlı kadınlarda daha sık görülür (18).

Tablo-4:ISSVD 2004’e göre vulvar intraepitelyal neoplazi (VIN) sınıflaması

1)VIN Undifferansiye
(Klasik tip)
a. VIN, warty tip
b. VIN, bazaloid tip
c. VIN, karışık (warty/basaloid) tip
2)VIN Diferansiye tip

Eğer VIN tedavi edilmezse spontan gerileyebilir, vulvar karsinoma ilerleyebilir ya da stabil kalabilir. Tedavi edilmemiş vakalarda VIN 3 tanısı ve invazyon arasındaki ortalama süre yaklaşık 4 yıl olarak rapor edilmiştir (19). Tedavi edilmemiş VIN lezyonlarının malign progresyon riski %2-5 olarak bildirilmiştir (20). Fakat cerrahi olarak eksize edilen VIN, tekrar oluşabilir. Bu nedenle VIN saptanan kadınların sürekli takibi yapılmalıdır.

HPV ve VIN: HPV vulva kanserlerinin % 40 ında rapor edilmiştir, birçok HPV-pozitif vakaya HPV 16 eşlik etmiştir. Yaşlı kadınlarda HPV ile ilişkisiz keratinize skuamöz hücreli karsinom daha yaygındır. Bunun tersine genç kadınlarda ise özellikle vulvar intraepitelyal neoplazi ile ilişkili HPV prevalansı yüksek olan Bowenoid (warty) veya

bazaloid tip yaygındır (21). HPV vulva kanserli genç kadınlarda oldukça sıkı ilişkilidir. Serolojik olarak HPV pozitif olan 45 yaş altı kadınlardaki erken evre kanser ve VIN'lar 11 kat daha fazla tespit edilmiştir (22). Dünyada vulva kanserinin insidansının artışı genç kadınlarda HPV enfeksiyonunun sebep olduğu VIN'ın insidansındaki artışla ilişkilidir (23,24) (tablo 5).

Tablo 5: Vulva kanserinin biyolojik tipleri

HPV ile ilişkili	HPV ile ilişkili olmayan
Genç yaşlarda Genellikle multisentrik HPV tip 16 ve 18 içerirler Olguların %10-30'una serviks ve vagina kanseri eşlik eder Sigara ile ilişki gösterirler	Yaşlı kadınlarda Genellikle unisentrik HPV ile ilişkili değil Vulvar distrofi ile ilişkilidir Hipertrofik distrofi Liken sklerozis

Liken Sklerozis:

Vulvada en sık rastlanan destrüktif inflamatuvar bir hastalıktır. Etyolojisi net olarak bilinmemekle beraber hormonal mekanizmalar ve otoimmün aracılı olduğu düşünülmektedir (25). Hastalığın prevalansıda bilinmemektedir. Postmenopozal kadınlarda daha sık görülür. Klinik olarak kadınlar kaşıntı, dispareni ve yanmadan şikayetçi olabilirler. Hastalık sıklıkla anogenital bölgeyi tutarken, gövde ve ekstremiteleri de etkileyebilir (26). Tanı biyopsi ile koyulur. Epitelde ve subkutan yağ dokusunda incelleme, dermiste kronik inflamasyon, subepitelyal tabakada ödemle karakterizedir. Histolojik olarak da dermoepidermal junctionda fibrin depolanması ve epitelin bazal laminasında IgM ve C3 birikimi mevcuttur. Destruksiyonla karakterize bir inflamasyon mevcuttur. İnflamasyon vajinal mukozayı etkilemez, vulvanın major yapısında değişikliğe sebep olabilir, zamanla labium minuslar ve klitoris silinebilir vestibul daralabilir. En önemli komplikasyonu skuamöz hücreli kanser gelişimidir. Liken sklerozisin vulvar kansere progresyon riski yaklaşık olarak % 3-5' tir. Yaşlı kadınlarda skuamöz hücreli karsinom gelişimi sıklıkla liken sklerozis ve skuamöz hiperplazi ile ilişkilidir (27).

Diğer anogenital kanserler ya da ailesel anogenital kanser hikayesi: Primer alt genital traktus malignansileri özellikle serviks ve vulvar karsinom gelişme riskini arttırmaktadır. Bunun nedeni ortak karsinogenetik sitimuluslara maruz kalınmasının bir sonucudur (28).

SEMPATOMLAR

Vulva kanseri en sık kadınların 65 ve 75’li yaşlarında ortaya çıkmaktadır. Olguların yarısı 70 yaşın üzerindeki kadınlardan oluşmaktadır (28,29). Vulvar kanserli kadınlar vulvar lezyon, persiste ülser kitle ve inguinal lenf nodu ile başvurabilirler. Bunların yanında vulvar deri renginin değişikliği (hipo/hiperpigmentasyon), vulvar doku yüzeyinin değişikliği, klinik olarak siğil benzeri lezyon bulunması, menstruel kanamayla ilişkisiz kanama, idrar yaparken yanma, vulvar bölgede persiste eden kaşıntı, ağrı, yanma hissi gibi semptomlarda vulvar karsinomla ilişkili olabilir (16). Bununla birlikte semptomların olmaması invaziv bir tümörü ekarte etmez. Bazı tümörler asemptomatikte olabilir (30).

TANI

Vulva kanserinin diagnostik gros ya da mikroskopik özellikleri yoktur. Tanıda gecikmemek için şüpheli vulvar lezyonu olan veya tedaviye rağmen persiste eden vulvar semptomları olan kadınlardan, kanseri erken saptamak amacı ile vulvar biyopsi yapılmalıdır. Ayrıca vajina ve serviksi de içeren tam bir pelvik muayene yapılması servikal sitoloji alınması önerilir. Vulvar kanserli kadınlarda, özellikle servikal kanser başta olmak üzere anogenital kanser gelişme riskide artmıştır (31,32).

PATOLOJİ

Vulva kanserleri içinde en sık görülen tip yassı hücreli karsinomdur. İkinci sıklıkla görülen tip melanomdur. Bunları sırasıyla adenokarsinom, bazal hücreli karsinom, sarkom ve paget hastalığı izler (33). Yaşlılarda lezyonlar genellikle unifokal, gençlerde ise multifokal ya da multisentriktir. Lezyonlar sıklıkla labiumlarda bulunur, perine ve diğer bölgeler daha seyrek tutulur. Yaklaşık % 70 oranında labiumlarda görülür. Bunlarda sırasıyla % 40’ı labium majuslarda, %20’si labium minuslarda, %10’u da klitoriste görülür (29,34).

Tablo 6: Vulvar karsinomun histopatolojik tipleri

Histolojik alt tip	%
Yassı hücreli karsinom	86.6
Melanom	5.7
Adenokarsinom	3.7
Sarkom	1.7
Bazal hücreli karsinom	2.0
Paget hastalığı (invaziv)	<1.0

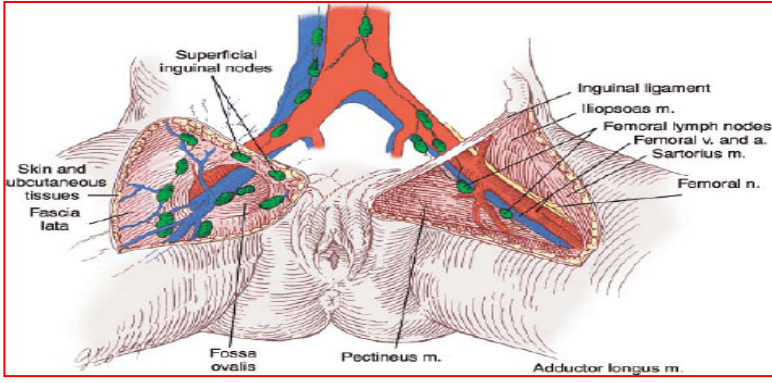
YAYILIM

Vulva kanserinin yayılım yolları

Vulva kanseri başlıca 3 yolla yayılır. Bunlar; lenfatik yolla, komşuluk yoluyla ve hematojen yollardır.

1) Lenfatik yayılım: En sık görülen yayılım yoludur ve erken dönemde gerçekleşir (35). İnvaziv vulva karsinomunda lenfatik tutulum en önemli prognostik faktördür. Lezyonun küçük olduğu hastalığın erken evrelerinde bölgesel lenf nodlarına yayılım olabilir. Vulvanın lenfatikleri bölgesel lenf nodları, yüzeysel inguinal lenf nodları, derin inguinal lenf nodları, pelvik lenf nodlarını (eksternal iliak, internal iliak, obturator, common iliak) içermektedir. Başlangıçta yüzeysel inguinal lenf nodlarına sonra derin inguinofemoral lenf nodlarına ve en son olarakta pelvik lenf nodlarına yayılım olur. Yüzeysel inguinal lenf bezleri camper fasyasının altında yaklaşık 8-10 tanedir. Yüzeysel inguinal lenf bezleri cribriform fasyanın altındaki derin inguinofemoral gruba dökülür. Clouquet (rosenmüller) nodu inguinal ligamentin altında lokalize derin femoral lenf nodların son nodudur.

İnguinofemoral lenf nodları tutulduğunda pelvik lenf nodlarının pozitif olma olasılığı % 18 olarak bulunmuştur (şekil 2). Klitoris bölgesindeki tümörlerde ihmal edilebilecek düzeyde de olsa direk pelvik lenf nodlarına yayılım olabilir, bunun klinik önemi minimaldir (35,36,37).



Şekil 2: İnguino-femoral lenf nodları

2)Hematojen yayılım: Genellikle hastalığın ileri evrelerinde görülür. Lenf nodu tutulumu sıklıkla mevcuttur. Üç veya daha fazla lenf nodu tutulumunda metastaz olasılığı daha fazladır.

3)Komşuluk yolu ile yayılma: Vajina, üretra, anüs gibi komşu dokulara direk yayılım şeklinde olur.

VULVA KANSERİNDE PROGNOSTİK FAKTÖRLER VE EVRELEME

Vulva kanserleri içinde en sık görüleni skuamoz hücreli karsinomdur. Vulva invaziv yassı hücreli karsinomunda en önemli prognostik faktör inguinal lenf nodu tutulumudur. Prognostik önemi olan diğer primer tümöral etkenler arasında; evresi, tümörün büyüklüğü, invazyon derinliği, cerrahi sınırının durumu, lenfovasküler alan tutulumu, metastazların varlığı ve tümörün diferansiasyonu bulunmaktadır. Bunun yanında prognozu belirlemede moleküler faktörler de önemlidir. Bunlar; s-fazı fraksiyonu, p53, HER-2/neu, epidermal growth faktör reseptörüdür (38,39).

Lenf nodu tutulumu: İnvaziv skuamoz hücreli vulva kanserinin yayılımı sıklıkla inguino-femoral lenf nodlarına lenfojenik yayılımdır. Pelvik ve uzak metastazlar nadirdir ve fatal seyreder. Lenf nodu tutulumu olmayan hastalarda 5 yıllık sağkalım % 90 iken pozitif olanlarda bu oran %50-60 tır. Pelvik lenf nodlarının pozitif olması durumunda bu oran %20 lere düşmektedir. Lenf nodu metastazıyla ilişkili birtakım değişkenler de prognozu etkilemektedir. Bunlar; tutulan lenf nodlarının sayısı, tutulumunun bilateral olması, lenf nodu içindeki metastatik birikimin büyüklüğü ve ekstrakapsüler yayılımdır (40). Üç veya daha fazla veya bilateral tutulumda sağkalım hızla azalmaktadır. 1991 yılında yapılan GOG çalışmasına

göre bir veya iki lenf nodu tutulumunda sağ kalım oranı % 75.2, lenf nodu tutulumu 3 ve daha fazla olduğunda bu oran % 36.1'e düşmektedir. Unilateral lenf nodu tutulumunda 5 yıllık sağ kalım % 70.7 iken bilateral tutulumda bu oran % 25.4'e düşmüştür.

İnvazyon derinliği: Vulva kanserinde tümörün invazyon derinliğiyle lenf nodu tutulumu arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur. İnvazyon derinliği 1 mm den az ise lenf nodu tutulumu %3 iken, 1-2 mm için %8.9, 3 mm için ise %18.6'dır (41).

Tümör çapı: Tümörün çapı ile lenf nodu tutulumu arasında da pozitif bir ilişki vardır. Tümör çapı 1 cm'den az olduğunda lenf nodu tutulumu %18, 2-3 cm ise %31, 4-5 cm'den fazla olduğunda ise %51.8 oranında saptanmıştır (40).

Tablo 7: Vulva Kanseri FIGO Sınıflaması (2009) (42)

Evre 1	Tümör vulvada sınırlı
1A	Tümör vulva veya perinede sınırlı, tümör çapı ≤ 2 cm, stromal invazyon ≤ 1 mm*. Lenf yayılımı yok.
1B	Tümör vulva veya perinede sınırlı, tümör çapı 2 cm'den büyük veya stromal invazyon 1 mm* den daha fazla, lenf yayılımı yok.
Evre 2	Tümör herhangi bir büyüklükte ve komşu yapılara (1/3 alt idrar kanalı, 1/3 alt vajina, anus) yayılım var. Lenf yayılımı yok.
Evre 3	Tümör herhangi bir büyüklükte, komşu yapılara yayılım var veya yok ama kasık bölgesi (inguino-femoral) lenf düğümlerine yayılım var.
3A	(i) ≥ 5 mm 1 lenf düğümü yayılımı veya (ii) < 5 mm 1-2 lenf düğümü yayılımı var.
3B	(i) ≥ 5 mm 2 ve daha fazla lenf düğümü yayılımı veya (ii) < 5 mm 3 ve daha fazla lenf düğümü yayılımı var.
3C	Ekstrakapsüler yayımlı pozitif nodlar
Evre 4	Tümör diğer komşu yapılara (2/3 üst idrar kanalı, 2/3 üst vajina) veya uzak organlara yayılım yapmış.
4A	Tümör aşağıdakilerden herhangi birine yayılmış: (i) üst idrar kanalı ve/veya vajina, mesane, rektum veya pelvis kemiği. (ii) yapışık veya ülsera yara haline gelmiş kasık (inguino-femoral) lenf nodları var
4B	Pelvik lenf nodlarında içeren herhangi bir uzak organ yayılımı var.

***İnvazyon derinliği tümörün en yüzeysel komşu dermal papillanın epitelyal-stromal bileşkesinden en derin invazyon noktasına ölçümü olarak tanımlanır.**

Sentinel lenf nodu biyopsisi:

Lenf nodu tutulumu olmayan olgularda komplet lenfadenektominin potansiyel morbiditesi söz konusudur. Sentinel lenf nodu lenfatik zincir içinde lenfatik drenajını alan ilk lenf nodudur. Sentinel lenf nodu tüm lenfatik zinciri temsil eder ve metastatik hastalığın ilk yerleştiği yer olarak kabul edilir. Sentinel lenf nodunun tanımlanmasıyla özellikle kronik lenfödem olmak üzere cerrahi morbidite azaltılır. Negatif sentinel lenf nodu diğer nonsentinel lenf nodlarının metastazlarının yokluğunu öngörmektedir. Sentinel lenf nodu prosedürü deri melanomlu ve meme ca'lı hastalarda da evrelemede de kabul edilir.

1994 yılında vulvar karsinomlu hastalarda sadece mavi boya ile tanımlanmıştır (43). Bundan sonraki pilot çalışmalarda primer vulvar karsinomlu hastalarda kombine tekniklerle sentinel lenf nodu prosedürü geliştirilmiştir. Preoperatif lenfosintigram kullanılmıştır (44,45). Yapılan çalışmalarda sentinel lenf nodu prosedürü inguinofemoral lenf nodu örneklemesiyle tamamlanmıştır (46-48). Vulvanın skuamöz hücreli karsinomlarında 1 mm den az invazyon inguinofemoral lenf nodu metastazı için düşük risk olarak kabul edilmektedir (Stage 1A) (49). Vulvar karsinomlu Evre 1A olgularında inguinofemoral lenf nodu metastazı çok az sayıda bildirilmiştir. Bununla birlikte lenfadenektomi yapılmadan lokal tedavi altında uzun dönem yaşam sonuçları mükemmeldir (50).

VULVA'NIN DİĞER NEOPLAZİLERİ

MALİGN MELANOM

Malign melanom skuamöz hücreli karsinomdan sonra en sık rastlanan vulvar malignitedir. Malign melanom sıklıkla postmenapozal kadınlarda, ortalama 55 yaşında görülür ve vulva kanserlerinin % 5-10'unu oluşturur. Vulva, vücut yüzeyinin % 1-2 sini oluşturmaya rağmen vulvar melanom kadınlardaki malign melanomun % 3-5 ini oluşturur. Labium majorler, minörler veya klitoriste lokalize olabilir. Çoğu hasta asemptomatiktir. Renk değişikliği, kanama, kitle, kaşıntı veya iritasyon semptomları görülebilir. Vulva melanomunun üç histolojik tipi vardır. Bunlar; yüzeysel yayılımla seyreden melanom, lentigo malign melanom, nodular malign melanomdur. Vulvar melanomun en sık görülen şekli yüzeysel yayılan tiptir. Nodular malign melanom derinlere yayılır ve daha agresif seyretme eğilimindedir. Vulva melanomları deriden ya da müköz membranlardan kaynaklanır. Ayrıca junctional nevüsten oluştuğu bilinmektedir. Vulvada yerleşen nevosellüler nevüslerden de

melanom gelişebilmektedir. Ancak vulva güneş almayan bir bölge olmasından dolayı vulvada melanom gelişim riski, güneş gören vücut bölgelerine göre daha az olduğu düşünülmektedir. Labium majorlarda en sık yüzeysel yayılım gösteren tipte melanomlara rastlanırken, mukozal alanlarda daha çok mukozal lentiginöz tipte melanoma rastlanır. Nodüler tip melanomlar %50 oranında hem vulvar deride hemde mukozal yerleşim gösterebilir. Nodüler tip ise hem melanotik hem de nonmelanotik kısımlardan oluşabilir. Amelanotik lezyonlar sıklıkla vulvada yerleşir ve kaşıntı, ülserasyon ve kanama ile kendini gösterir. Vulvar malign melanom olan 30 hastayı içeren bir çalışmada prognostik faktörler araştırılmış ülserasyon, tümörün kalınlığı, pozitif inguinal lenf nodu varlığı en önemli prognostik faktör olarak saptanmıştır (51). Skuamoz hücreli vulvar karsinomdan daha erken yayılır ve prognozu daha kötüdür. Vulvar melanomda tanı eksizyonel biyopsi ile konulur.

Tedavi vulvar karsinomda olduğu gibi radikal vulvektomi ve bilateral inguinal lenf nodu diseksiyonudur. Malign melanom radyoterapiye rezistans bir tümör olmasına karşın palyatif ve adjuvan radyoterapi uygulamaları sınırlı da olsa kullanılmaktadır. Literatürde adjuvan radyoterapinin yararlı olduğunu gösteren sonuçlar mevcuttur. Almanya da yapılan bir çalışmanın sonuçları Evre 2B-4 olan hastalarda eksternal radyoterapinin etkili palyasyon sağladığı ve uzun dönemde lokal kontrol elde edilebildiği yönündedir (51-55).

ADENOKARSİNOM (BARTHOLİN BEZİ)

Bartholin bezinde primer kanser nadir olarak görülür. Vulva kanserlerinin %2-7'sini oluşturur. Tüm genital sistemdeki kanserlerin de % 1'inden azını oluşturur. Bunların çoğunu adenokarsinom oluşturur. Bartholin bezi bölgesinde tümöral kitle ve küçük bir ülserasyonla kendini gösterir. Bartholin bezinin cerrahi olarak çıkarılması ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi ile tanı konulur. Lenfatik yayılımı yatkınlık vardır. Bartholin bezi adenokanserlerinde tanı anında %37-50 oranında lenf nodu metastazı olduğu belirtilmektedir (56,57).

SARKOM

Vulva kanserlerinin %1-2'sini oluşturur. Leiomyosarkomlar vulva sarkomlarının en sık görülen histolojik tipidir. Hastaların çoğu labium majusta yada bartolin bölgesinde büyüyen bir kitle tarifler. Diğer sarkom tipleri anjiosarkomlar, fibrosarkomlar, nörofibrosarkomlar, epiteloidsarkomlar, liposarkomlar ve rabdomiyosarkomlardır.

Leiomyosarkomlar lenf nodlarına nadiren metastaz yapar ve radikal lokal eksizyon yeterli tedavidir. Epiteloid sarkomlar daha agresif seyirlidir. Rabdomyosarkomlar sıklıkla çocukluk çağında görülür. Erişkin rabdomyosarkomlarda prognoz kötüdür (57,58).

BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM

Bazal hücreli karsinom cildin en sık görülen malignensisi olmasına rağmen vulvar kanserlerin %2-3'ünü oluşturur. Ortalama görülme yaşı 65'tir ve beyaz kadınlarda daha fazla görülür. Etyolojisi bilinmemekle birlikte kronik vulvar iritasyon öyküsü vardır. En sık semptom pruritis ya da vulvada kitledir. En sık labium majusta lokalize olur. Tedavide geniş lokal eksizyon yeterli olmaktadır (58).

VULVA'NIN PAGET HASTALIĞI

Paget hastalığı meme veya meme dışı paget hastalığı olarak sınıflandırılabilir. Vulvar maligniteler arasında nadirdir. Tüm vulva malignitelerinin yaklaşık %1'ini oluşturur. Meme dışı paget hastalığı sıklıkla anogenital bölgede büyüyen erode, kadifemsi yüzeyli ekzamatöz bir lezyon olarak görülür. Genellikle kaşıntı ve yanmadan şikayet edilir. Ağrı eşlik edebilir. Vulvanın paget hastalığı %25 oranında diğer malignitelerle birlikte olabilir. En fazla meme karsinomunda bu birliktelik görülür (58).

VULVA'NIN SEKONDER MALİGN TÜMÖRLERİ

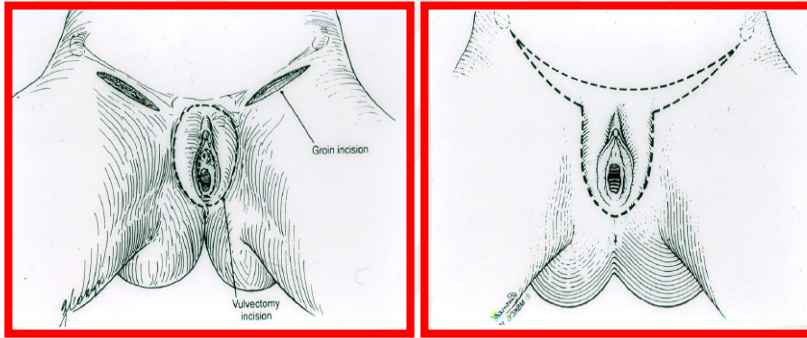
Serviks, endometriyum, over, vajina, anüs, meme, böbrek ve tiroid kanserlerinin yayılımı ile vulvar tutulum görülebilmektedir (58).

VULVA'NIN İNVAZİV SKUAMÖZ KARSİNOMLARINDA TEDAVİ

Vulva kanserinin tedavisi, bir çok hastalık gibi bireyselleştirilmelidir ve vulva kanserli hastalar multidispliner yaklaşımı olan jinekolojik kanser merkezlerine refere edilmelidir. Vulva kanseri ileri yaş grubunda görüldüğü için bir çok medikal problemle birlikte. İnvaziv vulva karsinomunun primer tedavisi cerrahi ve gerekirse ardından radyoterapidir. Son zamanlarda sağ kalımdan ödün vermeksizin yaşam kalitesini arttırmak, tedaviyle ilişkili

komplkasyonları ve yan etkileri azaltmak için daha konservatif cerrahi yaklaşım tercih edilir (59). Eskiden sıklıkla uygulanan radikal operasyonlar terk edilmektedir. Radikal operasyonların %2 mortalite, uzun süre hastanede kalış süreleri ve erken dönemde yaklaşık %50 yara komplkasyonları, geç dönemde %30-70 ekstremitelerde lenf ödem, lenfokist oluşumu, %15-20 sistosel, rektosel, üriner inkontinans, %75 seksüel disfonksiyon gelişmesi gibi önemli morbidite sonuçları vardır (60).

Vulva kanserinde tedavi yönetimini belirleyen en önemli faktör hastalığın evresidir. Vulva kanserinde kullanılan insizyon tipleri şekil 3'te görülen en blok (kelebek) ve 3'lü insizyon tekniğidir (13).



Şekil 3: Vulvektomide kullanılan insizyon teknikleri.

Evre IA (Mikroinvaziv Kanser)

Mikroinvaziv veya süperfisyal invaziv vulva kanseri (FIGO Evre 1A) tedavisi inguinofemoral lenf nodu diseksiyonu yapılmadan geniş tümör eksizyonudur. Bu hastalarda lenf nodu metastaz riski bulunmamıştır. Lezyon etrafında 1 cm'lik tümörsüz cerrahi sınırın cerrahi eksizyon ile çıkarılması yeterlidir. Rekürrens hızının düşük ve güvenli bir alternatif olmasından dolayı erken evre vulva kanserinde geniş lokal tümör eksizyonu radikal vulvektominin yerini almıştır (59,61,62).

Evre IB ve Evre II

Geleneksel yaklaşım tümörün radikal eksizyonu radikal vulvektomi + bilateral inguinal-femoral lenfadenektomidir (63,64). Bu yöntemle lokal kontrol ve 5 yıllık sürvi mükemmel (>%90) olmasına rağmen radikal cerrahi sonrası yara açılması, kronik lenfödem ve selülit önemli morbitite nedenleridir (65). Yüzeyel ve derin lenfadenektomi uygulanan hastalarda bu risk daha artmakta, radyoterapi eklenirse morbidite riski maksimuma çıkmaktadır.

Tablo 8 :İnvazyon derinliği ile lenf nodu ilişkisi

İnvazyon Derinliği	Sayı	Pozitif nod	Pozitif nod Oranı
<1mm	163	0	0
1.1-2mm	145	11	7.7
2.1-3mm	131	11	8.3
3.1-5 mm	101	27	26.7
>5mm	38	13	34.2
Total	578	62	10.7

Eğer primer lezyon unilateral ise orta hattın (klitoris, introitus, perine) en az 1 cm uzaklıkta diye tanımlanır. Bu olgularda kontralateral inguinal lenf nodu metastaz olasılığı %1'den azdır. Evre 1 hastalıkta ipsilateral lenf nodu negatif ise kontralateral lenf nodu pozitif olma insidansı % 0.4'tür (66,67). Dolayısıyla ipsilateral lenfadenektomi yeterlidir. Ipsilateral lenf nodu (+) ise kontralateral lenfadenektomi yapılmalıdır (68). Eğer lezyonlar orta hat lezyonları ise (orta hattın 1 cm daha kısa mesafede) radikal tümör eksizyonu ve bilateral inguinal lenfadenektomi gerekecektir. İnguino-femoral lenf nodu diseksiyonu tekniği ilk önce Byron ve arkadaşları tarafından tanımlandı. Daha sonra Hacker ve arkadaşları tarafından modifiye edildi. Bu teknik bir çok yarar sağlamıştır. Postoperatif hospitalizasyon önemli derecede azaldı. Kronik lenfödem daha önceki tanımlanan %32 ve % 65 oranına göre karşılaştırıldığında % 20 oranlarına indi (69). Pelvik lenfadenektomi vulva kanserinin cerrahi

yaklaşımında standart işlem olmaktan çıkmıştır. İki veya daha fazla inguinal lenf nodu (+) hastalarda pelvik radyoterapi standart tedavi olmuştur (13).

Evre III ve Evre IV

İleri evre hastalık yaygın olmamasına rağmen tedavi yönetiminde bir çok problemle karşılaşılır. Vulva ca daha çok yaşlı kadınları etkiler ve medikal problemi olan hastaları içerir. İleri evre vulva kanseri anüs, rektum, rektovajinal septum, ve /veya üst üretra/mesaneyi içeren primer lezyonları veya bulky kasık nodu var olan Evre 3 veya 4 tümörleri içerir. Geçmişte kullanılan yöntem olan cerrahi yaklaşım radikal vulvektomi inguino-feomoral lenf nodu diseksiyonu ile birlikte anterior, posterior veya total pelvik ekzantrasyondur. Bu yaklaşım yüksek operatif morbidite ve mortalite içerir ve uzun dönem fizyolojik ve psikolojik morbidite mevcuttur. Buna ek olarak fiks lenf nodu metastazları olan hastalarda cerrahi nadiren küratiftir (13). Günümüzde ise ileri evre vulva kanserinin primer tedavisi radyoterapi ve kemoradyoterapidir. Daha sonra konservatif cerrahi uygulanabilmektedir.

Radyoterapi/Kemoradyoterapi

Erken evre vulva kanserinde cerrahi tedavi ilk seçenektir. Buna rağmen bazı spesifik durumlarda radyoterapi iyi alternatiftir (örneğin, primer cerrahi tedavi riski medikal problemlerden dolayı çok yüksekse). Radyoterapi primer tedavi sonrası en sık kullanılan adjuvan tedavidir. Şimdiki UK kılavuzları yetersiz cerrahi sınır eksizyonu, 2 veya daha fazla mikroskopik lenf nodu metastaz varlığı, herhangi bir lenf nodunda ekstrasülsör yayılım mevcutsa radyoterapi önermektedir (16). Preoperatif radyoterapi primer tümörün küçülmesine izin verebilir. Buna rağmen radyoterapi sonrası cerrahide daha fazla komplikasyonla karşılaşılabilir. Cerrahi tedavi şansı olmayan hastalarda sıklıkla radyoterapi ve kemoterapi kullanılır (69).

HÜCRE ADEZYON MOLEKÜLLERİ

Hücre adezyon molekülleri (HAM), hücrelerin özgül olarak dokulara yönelmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve inflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev alırlar. Hücre-hücre ve ekstrasellüler matriks etkileşimleri, hücre düzenleme fenotipinin nasıl olduğunu anlamada ana hedef olmaktadır. Hücre yüzeyindeki transmembran reseptörler plazma membranından dışarı, direk hücre iskeletiyle ekstrasellüler matrikste lokalize protein ve reseptörlere ya da komşu hücrelerle köprü oluşturacak şekilde uzanırlar. Hücre adezyon moleküllerinin 4 ana tipi vardır:

- 1) Hücreyi bazal membran ve ekstrasellüler matriks komponentlerine heterodimer bağlantılarla bağlayan integrinler,
- 2) Hücreyi komşu hücrelere homotipik polimerlerle bağlayan cadherinler,
- 3) Hücreyi öncelikle vasküler sistem üzerindeki küçük karbonhidratlara bağlayan selektinler,
- 4) İmmünglobulin süper aile adezyon molekülleridir (70).

1-İntegrinler:

İntegrinler, heterodimer transmembran proteinlerdir, hücre dışı matriks ve hücre iskeleti arasındaki boşluğu dolduran, sadece bir yapısal element gibi değil, aynı zamanda bir reseptör gibi çalışırlar (71). Aktif ya da inaktif halde bulunabilen integrinlerin, birbirine kovalent olmayan bağlarla bağlı alfa (α) ve beta (β) alt üniteleri vardır. Molekülün fonksiyonel aktivitesi için her iki alt ünite de gereklidir, ancak bağlanma özgüllüğünün α alt ünitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. İntegrinlerin hücre çoğalmasını, sağkalımını ve farklılaşmasını düzenlediği gösterilmiştir (71). İntegrinlerin işlevinin baskılanması hücrenin hücreye tutunmasını ve apoptozisin kaybına neden olur. Bir çok kanserde integrinlerin ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir. İntegrinler, yapılarında bulundurdukları β alt ünitelerine göre $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ ve $\beta 7$ integrinler olarak adlandırılırlar. Hücre dışı sinyaller aracılığı ile haberleşmeyi sağlarlar. İntegrin adı, bu moleküllerin hücre-dışı matriks ve hücre iskeleti ile ilgili aktivitelere aracılık etmesinden (integre etmesi) kaynaklanır.

Embriyolojik gelişim, hemostazis, trombozis, yara iyileşmesi, immün ve immün olmayan savunma mekanizmaları gibi birçok fizyolojik olayda hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonuna katılırlar. İntegrinler, insan vücudunda bulunan neredeyse tüm hücrelerde

eksprese olurlar. Aktif hale geçen bir hücre sitoplazmasından sinyal iletildiğinde, integrinlerin hücre dışında kalan kısmı şekil değişimi göstererek kendi ligandına olan afinitesini arttırır. Bu işleme içerden-dışarıya (inside-outside) sinyal iletimi denir (72-74).

2-İmmünglobulin Süper Ailesi:

Omurgalıların bağışıklık sisteminde adezyon, tanıma veya bağlanma fonksiyonlarına aracılık eden birçok çözünebilir molekül ve hücre yüzey molekülü vardır. Bu moleküllerin aminoasit dizilerinin bir kısmı ve üçüncül yapıları immünglobulin hafif ve ağır zincirlerinde saptanan bazı yapılarla homoloji gösterirler. Aynı özellikleri taşıyan ve bağışıklık sistemi dışında bulunan moleküller de vardır ve benzer fonksiyonlara sahiptirler. Bu proteinler immünglobulin süper ailesinin üyeleridir. Bu ailenin üyeleri büyük olasılıkla ortak bir prekürsör genden çeşitli evrimler sonucu meydana gelmiştir (75).

3-E-Caderin:

Caderinler moleküler ağırlıkları 120.000-140.000 kDa arasında değişen yapı ve fonksiyonları açısından kalsiyuma bağımlı transmembranöz proteinlerdir (76). Caderinler yapısal olarak birbirleri ile benzerlik gösterirler. Kalsiyuma bağlanmada önem taşıyan geniş bir hücre dışı N-ucu ile, caderinler arasında çok iyi korunan sitoplazmik bölümle bağlantılı tek bir transmembranöz kısımdan oluşurlar. Caderinler üzerinde bulundukları dokulara göre isimlendirilirler ve bugün bilinen beş caderin grubu vardır (77).

E-caderinler: Epitel hücrelerinde eksprese olurlar.

P-caderinler: Plasentada eksprese olurlar ancak belirli dönemlerde diğer dokularda da bulundukları bildirilmiştir.

V-caderinler: Endotel hücreleri üzerinde eksprese olurlar.

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

H-caderinler: Kalp kasında eksprese olurlar (78).

4-Selektinler:

Selektinlerin yapısında; hücre dışı bölümde bulunan bir lektin kısmı, bunun hemen yanında epidermal büyüme faktörü (EGF)'ne benzer bir kısım ve bunun yanında da kompleman regülatuar proteinlerinde bulunduğu 60 aminoasitlik tekrarlayan diziler vardır. Bunları membranı geçen kısım ve sitoplazmik kısım izler (79).

Lektin kısmı ligand ile bağlanan bölümdür. EGF'ye benzer bölümün molekülün genel yapısının sağlanmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu bölümün çıkartılması selektinlerin adezyon fonksiyonunu ortadan kaldırır (80,81).

5-Sınıflandırılmayan Adezyon Molekülleri: Adezyon fonksiyonuna katılan ancak yukarıda bahsedilen dört grup içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleridir.

CD44:

Fonksiyonel olarak HAM olarak klasifiye edilen bir tip adhezyon molekülü de CD44'tür. CD44 bir integral membran glikoproteinidir, hyaluronik asit reseptörü olarak fonksiyon görür. Hücre dışı matriks reseptörü III olarak da bilinir. CD44 epitelyal, mezenşimal, lenfoid ve glial hücrelerde eksprese olur. Hyaluronik asit (HA) glikozaminoglikan ailesinin bir üyesidir. HA negatif yüklüdür, glukuronik asit ve N-asetil glukozaminin tekrarlaması ile oluşmuş yüksek moleküler ağırlıkta bir polisakkarittir. HA vücutta yaygın olarak bulunmaktadır (damar duvarında, lamina propria ve dermiste) ve ESM'nin en önemli komponentidir. HA genellikle proliferen olan ve göç eden hücrelerin etrafındaki alanda yerleşmektedir. HA aynı zamanda hücre davranışında kompleks rol almaktadır ve hücre adezyonu, toplanması, proliferasyonu, inflamasyonu ve göçü ile ilişkilidir (82,83).

CD44 ilk olarak lenfosit reseptörü olarak tanımlanan yaklaşık olarak 80 kDa ağırlığında bir hücre yüzeyi adezyon molekülüdür. CD44 geni kromozom 11p13'te lokalize edilmiştir. Lenfositler gibi birçok epitel hücresinde yaygın olarak eksprese edilmektedir. En az 20 exonun farklı kombinasyonları ile oluşan en az 17 izoformu bilinmektedir. CD44'ün çok farklı fonksiyonları bulunmaktadır. Bunlar arasında lenfosit-endotel ilişkisi, T-lenfosit aktivasyonu, hyaluronan-kollajen-fibronektin-laminin bağlanması ve perisellüler matriksin birleştirilmesi yer almaktadır (84). CD44'ün ekspresyonu birçok epitelyal ve non-epitelyal kanserlerde hem erken hem de metastatik fazda güçlü prognostik faktör olarak ileri sürülmektedir (85). Gunther ve arkadaşları, CD44'ün v4-v7 subtiplerinin sadece metastatik hücrelerde olduğunu, normal hücrelerde eksprese edilmediğini göstermişlerdir (86). CD44'ün ekspresyonu birçok insan kanserinde gösterilmiştir. CD44 non-Hodgkin lenfoma, meme kanseri, kolon kanseri ve mide kanserinde normal dokularla karşılaştırıldığında daha fazla eksprese edilmektedir (87-90). Diğer taraftan prostat kanseri ve baş-boyun skuamöz hücreli kanserlerinde normal hücrelere göre ekspresyonu azalmaktadır. Bu farklılık belki farklı histolojik tiplerde CD44 yanıtının değişkenliğinden kaynaklanmaktadır (91,92).

Son zamanlarda CD44'ün çeşitli formlarının kanser hücrelerinin metastatik gücünü etkilediği bildirilmektedir. CD44'ün 3,5,6,7,8,10 ve özellikle 6 varyantının, tümör progresyonu ve metastazı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla beraber CD44 ekspresyonu ile jinekolojik kanserlerin prognozu arasında ters bir ilişki bulunmaktadır. Serviks kanseri ile yapılan çalışmalarda CD44'ün ekspresyonunun kötü prognoz gösterdiği bildirilirken, bazı araştırmacılar böyle bir ilişki saptayamamışlardır. Diğer yandan serviks kanseri ve serviksin premalign lezyonlarında CD44 varyantlarının ekspresyonunda azalma saptamışlardır. CD44 ekspresyonunun peritoneal mezotelyumdaki over kanser hücrelerinden eksprese edildiği, fakat periton boşluğuna dökülen over kanser hücreleri varlığında ekspresyonunun azaldığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (93,94).

CD44 izoformlarının endometriumun farklı kompartmanlarında eksprese olduğu gösterilmiştir. CD44 ekspresyon paterni menstrüel sıklusa bağlı olarak değişmektedir ve sekretuar fazda CD44 ve varyantları belirgin olarak artmaktadır. CD44'ün menstrüel siklus boyunca endometriumun epitelyal-stromal hücrelerinde ve gebelik endometriumunda desidualize stromal hücrelerde eksprese edildiği gösterilmiştir. Aynı zamanda, Fujita ve arkadaşları normal endometrium ile endometrium kanser dokularında RT-PCR kullanarak CD44 ekspresyonuna bakmışlardır. Endometrial kanser dokularında az veya hiç CD44 eksprese edilmemesinin, kanserin yüksek metastatik gücüne işaret edebileceğini bildirmişlerdir. Tempfer ve arkadaşları CD44 izoformlarının endometrium kanserinde ve normal endometrium dokusunda ekspresyonunu araştırmışlardır. Normal endometrium dokusunda proliferatif fazda ekspresyon saptanmazken, sekretuar fazda belirgin ekspresyon gösterilmiştir. Aynı zamanda CD44v3, v5, v6, v7 ve v8 ekspresyonu ile tümörün evresi, histolojik grade'i, myometrial invazyon derinliği ve histolojik tipleri arasında korelasyon saptanırken, istatistiksel anlam saptayamamışlardır. Ancak CD44 ekspresyonu ile toplam sağ kalımda kısalma olduğunu bildirmişlerdir (95).

Aynı zamanda, literatür incelendiğinde Tokuma ve ark., Katsura ve ark. ve Hoshimoto ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, CD44 ekspresyonu ile endometrium kanseri klinikopatolojik faktörleri arasında ilişki saptanamadığını ve CD44 ekspresyonunun endometrium kanserinin metastaz ve progresyonunu tahmin ettiremediğini göstermişlerdir (96).

Diğer yandan, vulva kanserinde CD44 ekspresyonu ile ilgili bilgiler henüz yetersizdir. Tempfer ve ark. vulva kanserli hastalarda yaptığı çalışmada CD44 ekspresyonu pozitif olan olgularla negatif olan olgular karşılaştırıldığında pozitif olguların daha kısa ve kötü sağkalımı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca CD44 ekspresyonu ile tümörün evresi, histolojik grade'i ve tedavi tipinin arasında bir ilişki bulunamamıştır (97). Tempfer ve ark. yapmış olduğu başka bir çalışmada erken evre vulva kanserlerinde CD44 ekspresyonunun prognoza etkisi araştırılmış ve CD44 ekspresyonunun prognozu kötü etkilediği ve hastalıksız sağ kalım ile genel sağ kalım süresini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca CD44 ekspresyonu olan hastaların nüks oranının daha fazla olduğunu saptamışlardır. Fakat CD44 ekspresyonu ile tümör diferansiyasyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır (98).

Hefler ve ark. vulva kanserli hastalarda yaptığı çok merkezli bir çalışmada CD44 overekspresyonunun hastalıksız sağkalım ve genel sağkalımın azalması ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Daha önce yapılan çalışmalarda CD44 ekspresyonu ile lenf nodu metastazı arasındaki ilişki; hasta sayısının azlığı ve lenf nodu diseksiyonu yapılmaması nedeniyle araştırılamamıştır. Yapılan bu çalışmada yeterli hasta sayısı ve yeterli lenf nodu diseksiyonu vardır. CD44 ekspresyonu ile tümör evresi, lenf nodu tutulumu ve tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. CD44 ekspresyonunun diğer klinikopatolojik parametrelerden bağımsız olarak sağkalım hakkında önemli bilgi verebileceği gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada eş zamanlı serum CD44 değerlerine de bakılmış ve tümöral dokuda immunohistokimyasal olarak bakılan CD44 ekspresyon değerleriyle korelasyon bulunamamıştır (99).

MATERYAL METOD

Çalışmamızda; İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniklerine 1999-2010 yılları arasında başvurmuş ve Patoloji kliniğinde değerlendirilmiş; 26 invaziv skuamöz hücreli vulva kanseri tanısı alan hasta, vulvanın premalign lezyonlarından 6 VIN tanısı alan hasta, 10 liken sklerozis tanısı alan hasta ve vulvar biyopsi sonucu normal gelen 5 hasta yer almaktadır.

Hastaların yaşı, tümör çapı, lokalizasyonu, tümörün histolojik tipi, derecesi, evresi ve tedavi bilgileri hastaların kadın doğum servisindeki onkoloji takip dosyalarından ve hastane veri tabanından elde edildi. Tümörlerin cerrahi evrelendirmesinde yeni FIGO 2009 evreleme sistemi kullanıldı.

Olgulara ait Hematoksilen-Eosin boyanmış arşiv preparatları yeniden değerlendirmek üzere çıkarıldı ve lamlar tekrar ışık mikroskopunda incelendi. Her olgu için en tanımlayıcı blok immünohistokimya (İHK) uygulaması için seçildi. Seçilen parafin bloklardan poli-L-lizinli lamlara 4-5 mikron kalınlığında yeni kesitler alındı. Lizinli lamlara alınan doku örnekleri öncelikli olarak yarım saat 60°C’de etüvde bekletildi. Preparatlar 20’şer dakika üç ayrı ksilolde bekletilip ardında havada kurutuldu. Daha sonra %100, %95 ve %90’lık alkollerden sırasıyla beş dakikada geçirilerek rehidratasyon yapıldı ve distile suda yıkandı. TBS (tris buffered saline) tampon solusyonu (pH 7,6) ile 2 dakika süresince yıkandı. Preparatlar, Dako PT Link cihazında “yüksek pH (50x) target (epitope) retrieval solution pH 9” solusyonu kullanılarak 97 °C ‘de 25 dakika bekletilerek antijenleri açığa çıkarıldı. Ardından preparatlar 65 dereceye kadar soğutuldu. Preparatlar soğutulduktan sonra TBS solusyonu içinde 5 dakika bekletildi. Daha sonra doku çevresi silinip nemli bir ortamda lamlar antikor damlatmaya hazır hale getirildi. Primer antikor olarak anti human CD44 antikor Phagocytic Glycoprotein-1 (Mouse Monoclonal Antibody, Code no M7082 DakoCytomation Denmark) uygulandı. Antikoru sulandırmak için Thermo large volume UltrAb Dilvent kullanılarak 1/50 oranında sulandırıldı. Dako mark ‘peroksidase blocking solution’ solusyonu kullanılarak, preparat başına 100 mikrolitre olacak şekilde 5 dakika inkübe edildi. Preparatlar TBS solusyonu ile yıkandı. Ardından 1/25 oranında dilue ettiğimiz anti CD44 antikor kesitleri kapatacak şekilde oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.

Daha sonra preparatlar 2 kere TBS solusyonu ile yıkandı. Ardından preparatlar 100 mikrolitre Dako marka envision Flex rabbitlinker 15 dakika süreyle uygulandı. Tekrar preparatlar TBS solusyonu ile yıkandı. Preparat başına 100 mikrolitre olacak şekilde dako

envision flex HRP 20 dakika süre ile uygulandı (Envision flex+). Daha sonra kesitlere Dako marka substrate Buffer + Dab (kromojen) solüsyonu 10 dakika uygulandı. Dokular distile su ile yıkandı. Ardından Mayer hemotoksilen (Dako envision flex hematoxylin) ile 5 dakika bekletildi. Dokular alkolde sırası ile % 80 ,% 96 ,%99'luk alkolde bekletilip kapatıldı ve ksilolde şeffaflaştırıldı. Pozitif kontrol olarak olağan tonsil dokusu kullanıldı (145).

İmmünohistokimyasal Yöntem:

İmmünohistokimyasal Boyaların Değerlendirilmesi

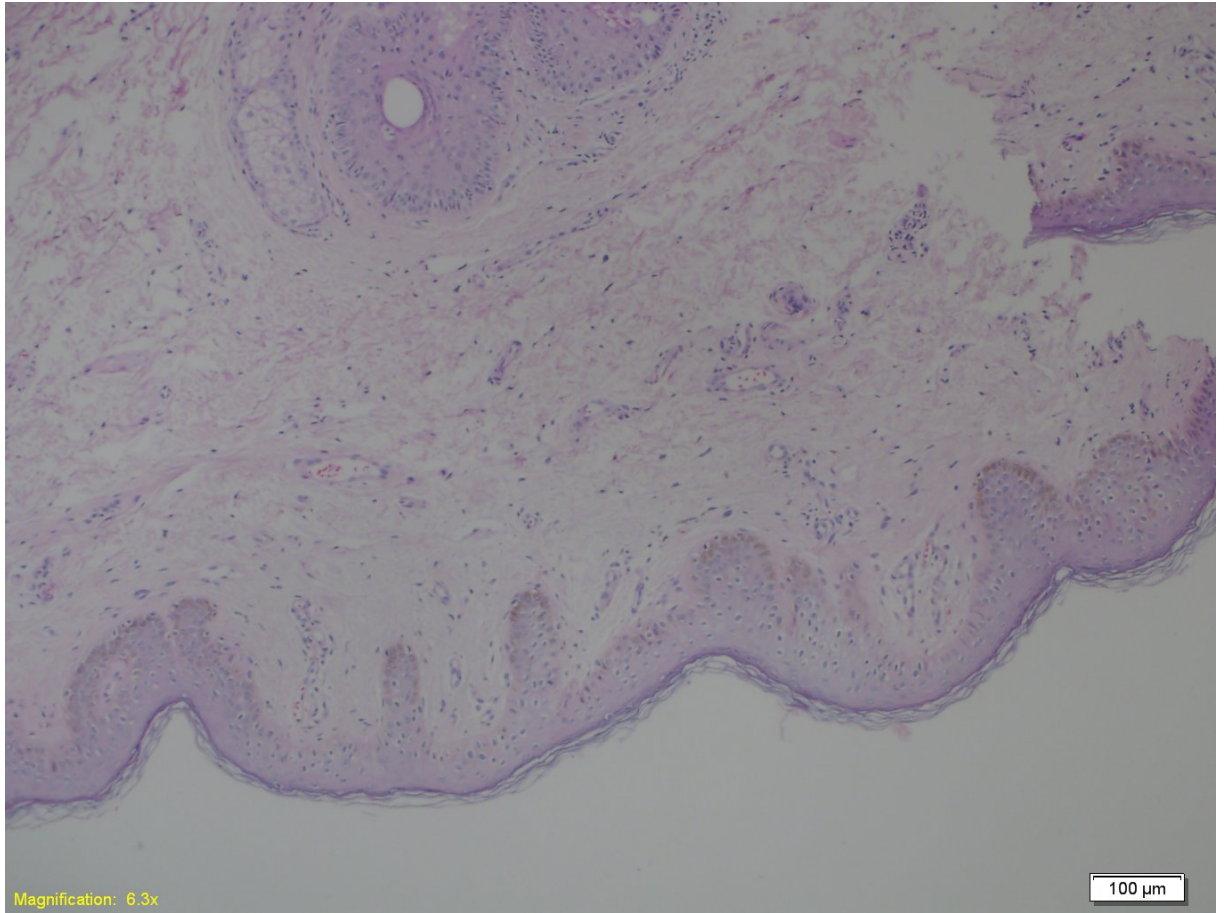
Işık mikroskopunda küçük büyütmede (x10) bütün tümör alanları tarandı ve skuamöz alanda her bir antikör için x20 büyütmede boyanan hücrelerin tüm tümör hücrelerine olan oranı (boyanma yaygınlığı) ve büyük büyütmede (x40) tümör hücrelerinin boyanma yoğunluğu semikantitatif ve subjektif olarak belirlendi. Tümöral hücreler dışında boyanma gösteren diğer hücreler (lenfosit, endotel hücresi vb.) değerlendirilmeye alınmadı.

CD44 için membranöz ve sitoplazmik boyanma anlamlı kabul edildi. CD44'ün epiteldeki boyanma yaygınlığını ve yoğunluğunu belirlemek için Liang ve arkadaşlarının çalışması, stromadaki boyanma yaygınlığını ve yoğunluğunu belirlemek için ise Hamalainen ve ark. çalışması esas alındı (114,146). Buna göre: CD44 ile boyanmada pozitif hücre yüzdesi ardışık 10 büyük büyütme (x40) alanı sayılarak belirlendi.

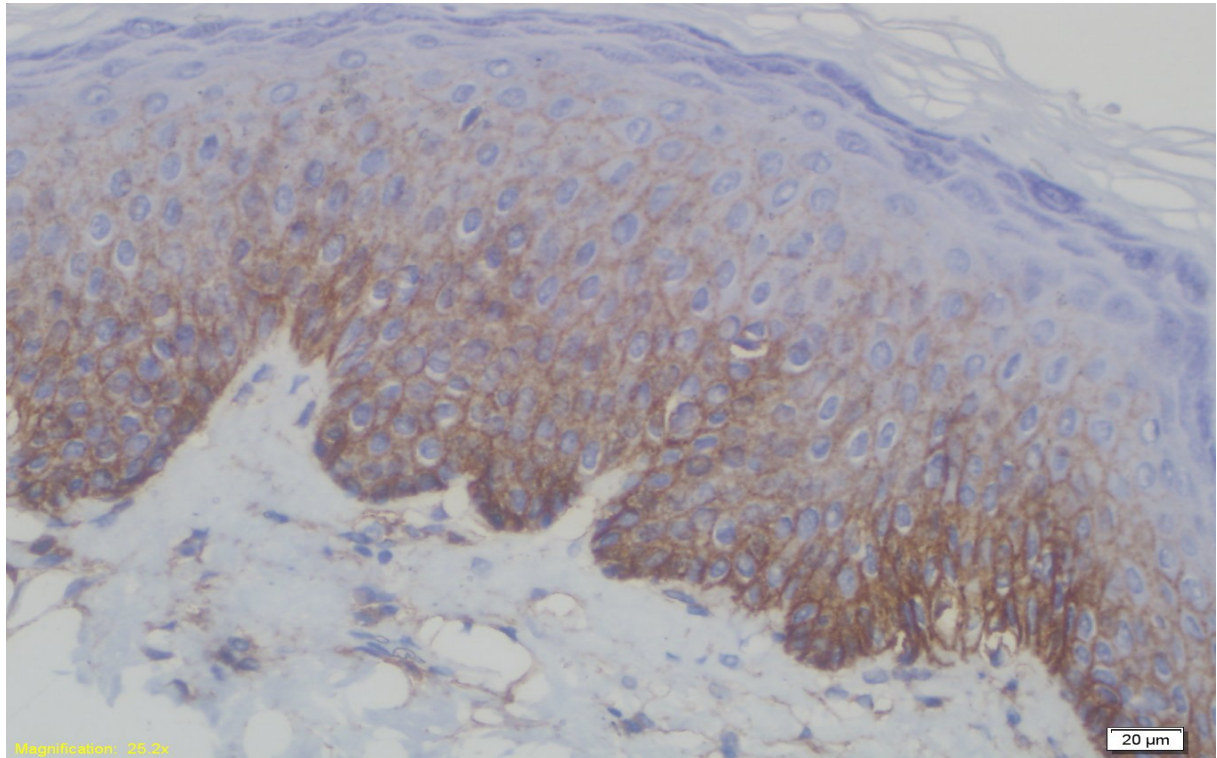
Hastaların preparatlarına İHK yöntem ile uygulanan anti-CD44 antikoru boyama yaygınlığı, yoğunluğu ve kombine skora göre epitel ve stromada ayrı ayrı değerlendirildi. Buna göre; pozitif boyanan tümör hücrelerinin oranı %5'ten az ise skor:0, %5 - %25 ise skor:1, %26 - %50 ise skor:2, %50'den fazla ise skor:3 olarak değerlendirildi. Boyanma yoğunluğu skorlaması ise; 0: boyanma yok, 1: zayıf boyanma, 2:orta boyanma, 3: güçlü boyanma olarak skorlandı. Son olarak kombine skor ile değerlendirildi. Kombine skorda boyanma yoğunluğu ve boyanma yüzdesi kombine edildi. Kombine skor; 0:negatif, 1-2:zayıf pozitif, 3-4:orta pozitif, 5-6:güçlü pozitif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz: İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tüm

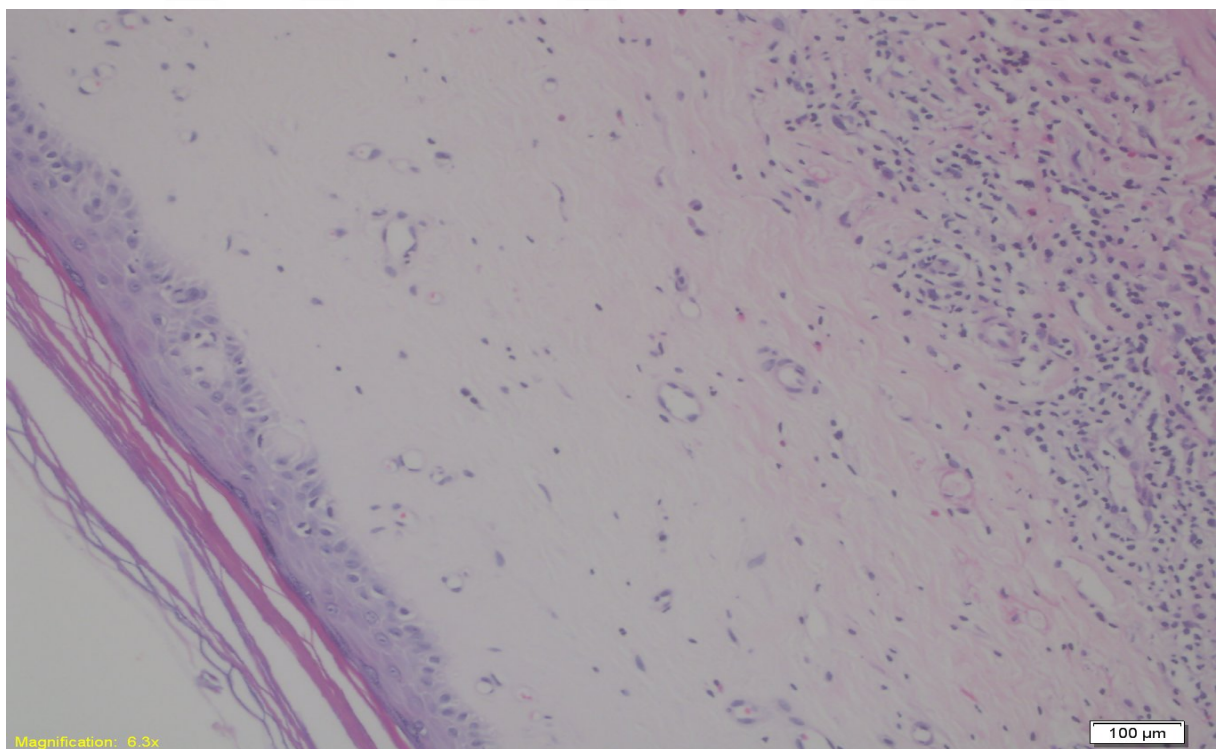
veriler tablolar ile özetlendi. Niceliksel verilerin gruplar arası karşılaştırılmasında Mann Whitney U test, niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi ve Fisher's Exact test, verilerin kendi aralarındaki korelasyonu için spearman korelasyon analizi kullanıldı. Takip edilen 26 olgunun sağ kalım analizi Kaplan Meier yöntemi ile yapıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı, $p>0,05$ istatistiksel anlamsız olarak değerlendirildi.



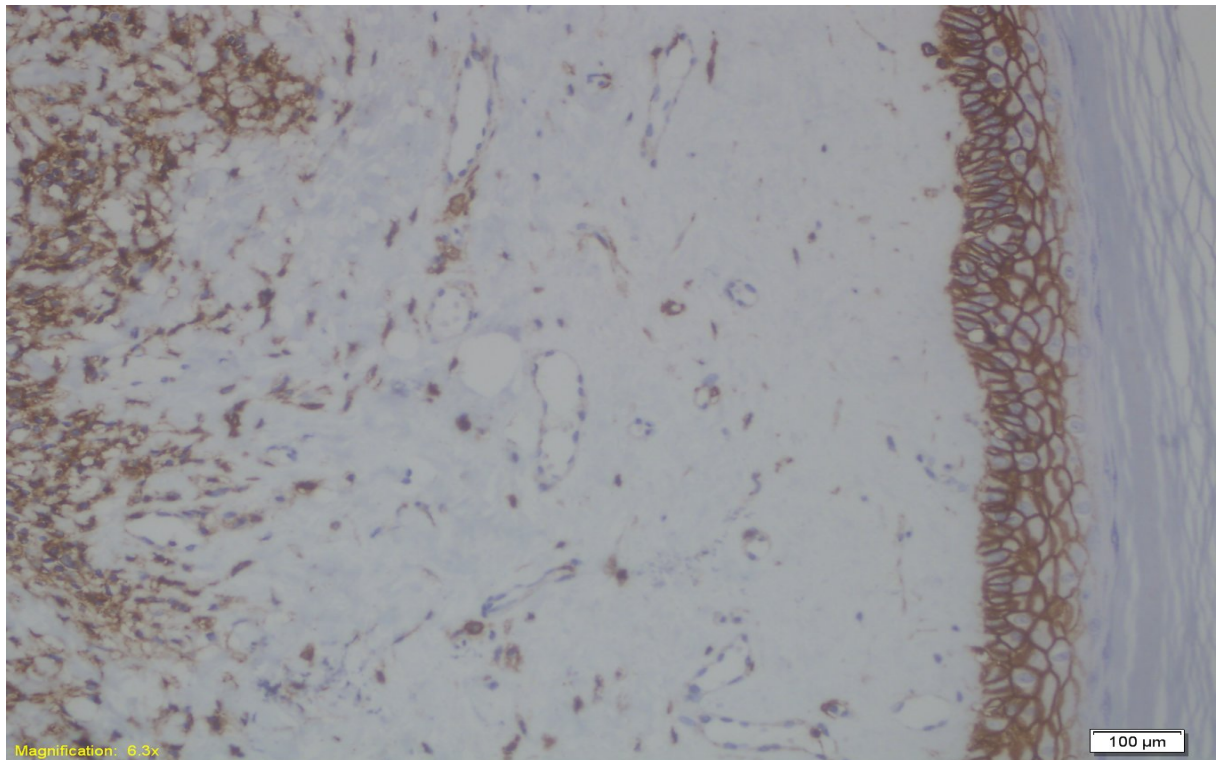
Resim 1:Normal vulva dokusu HEx10



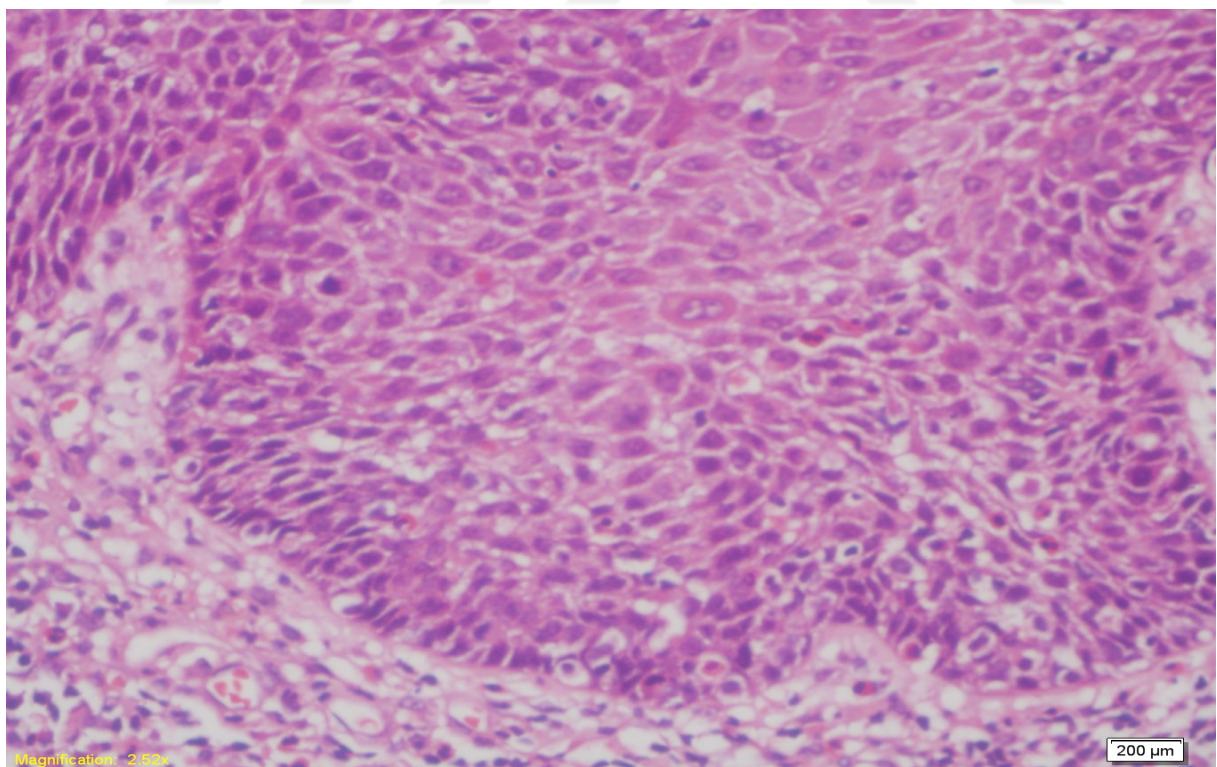
Resim 2:Normal vulva dokusu CD44x40



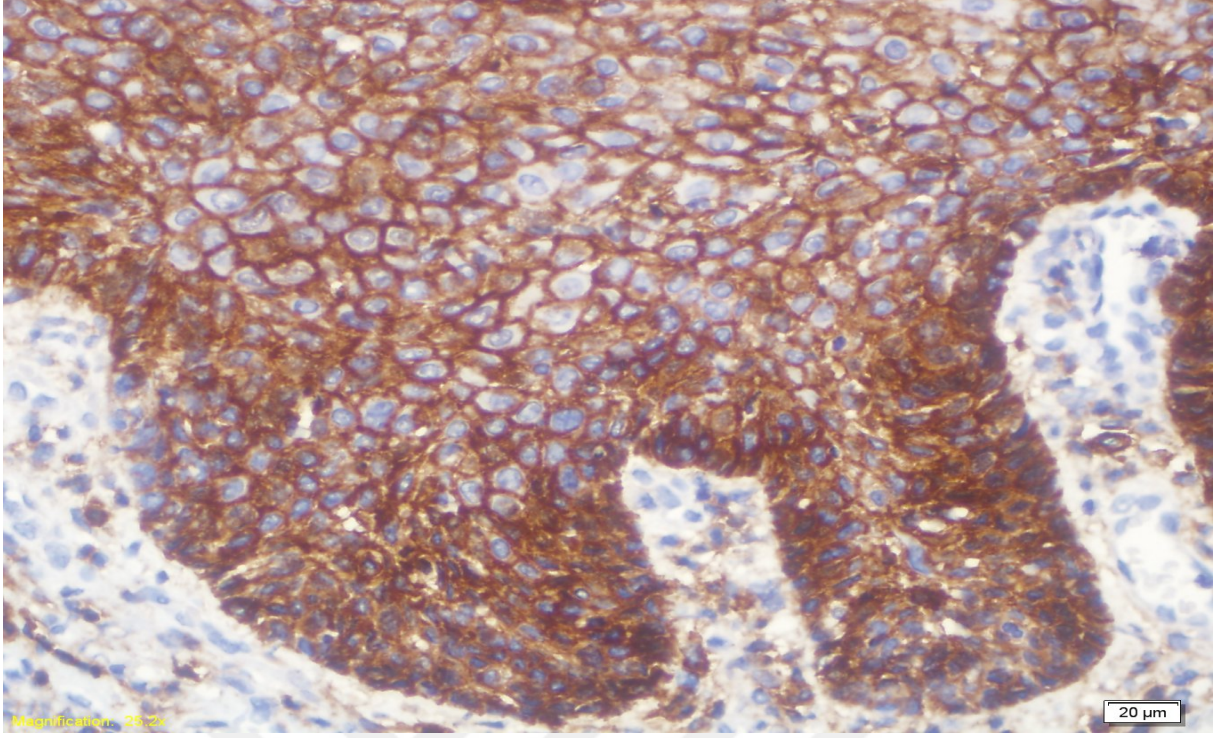
Resim 3: Liken Sklerozis HEx20



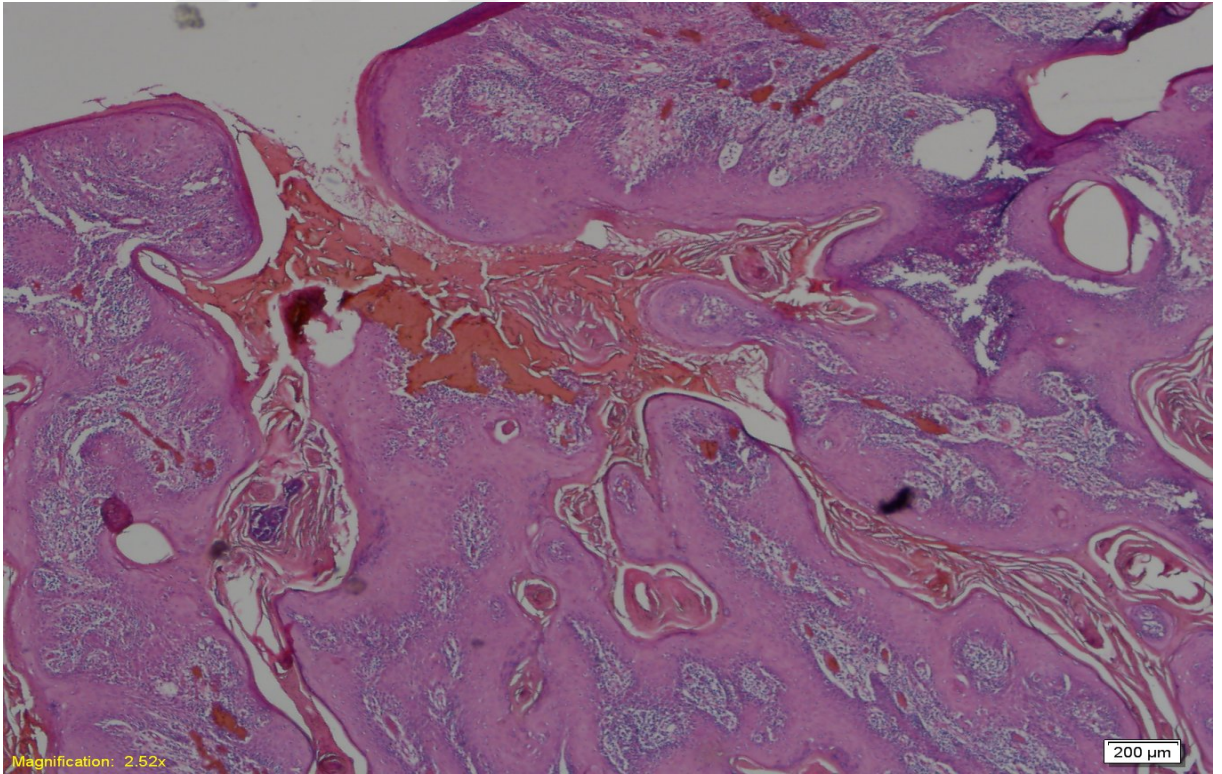
Resim 4: Liken Sklerozis CD44x20



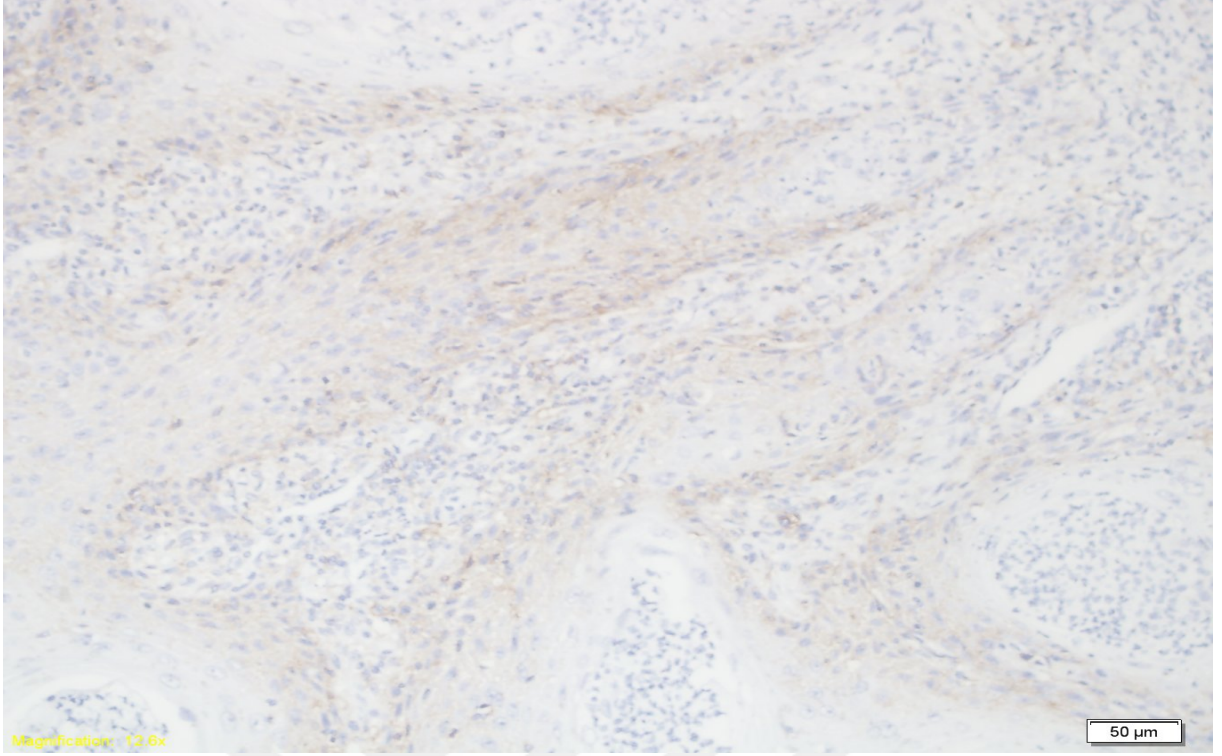
Resim 5: Vulvar intraepitelya Neoplazi HEx40



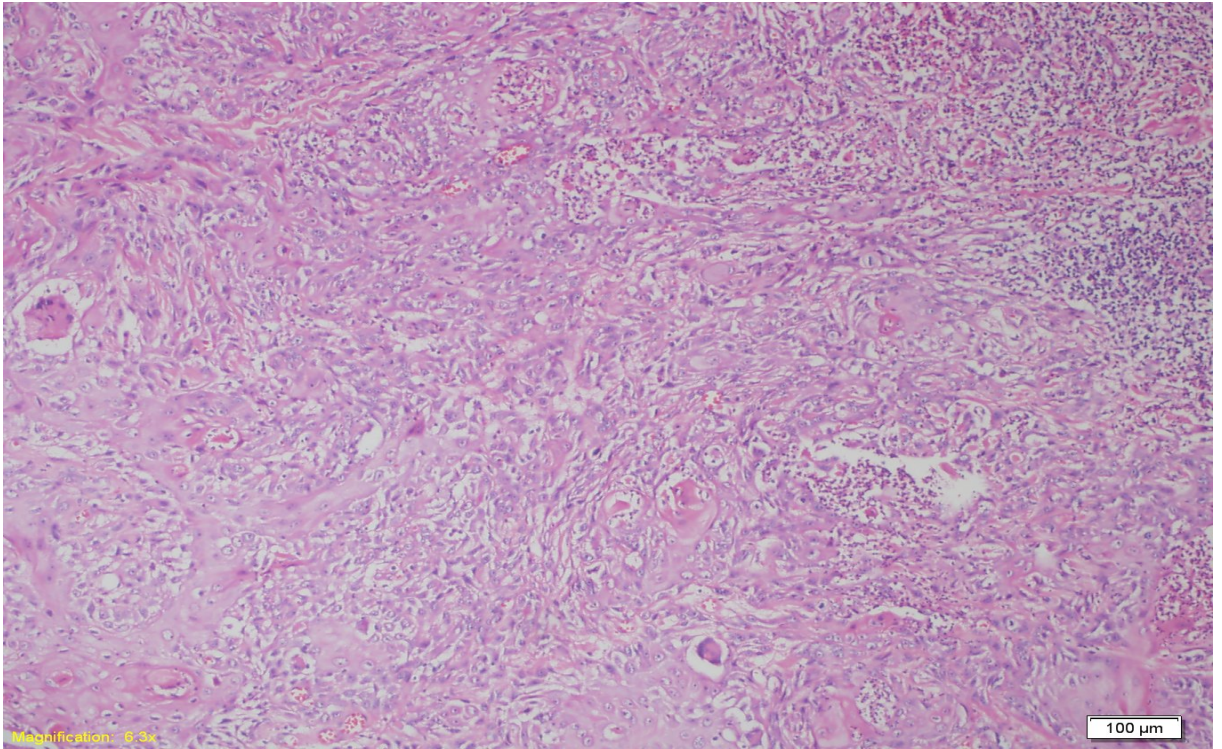
Resim 6: Vulvar intraepitelya Neoplazi CD44x40



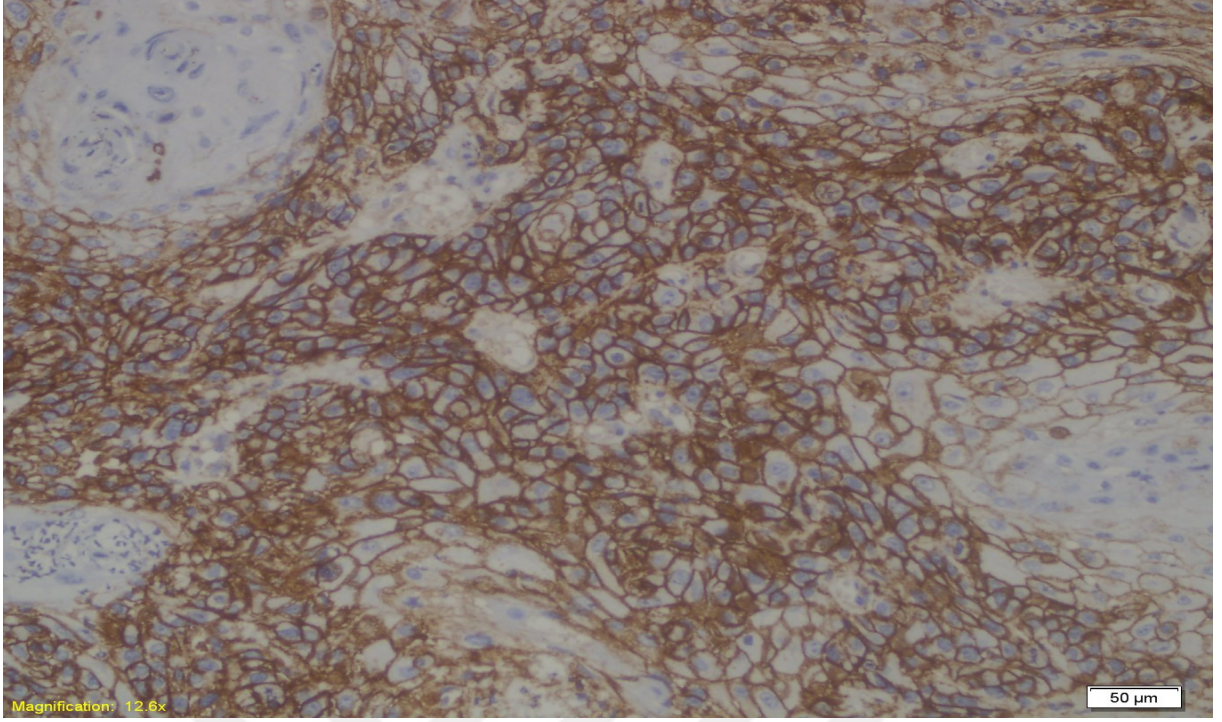
Resim 7: İyi Diferansiye Vulvar Skuamoz Hücreli Karsinom HEx10



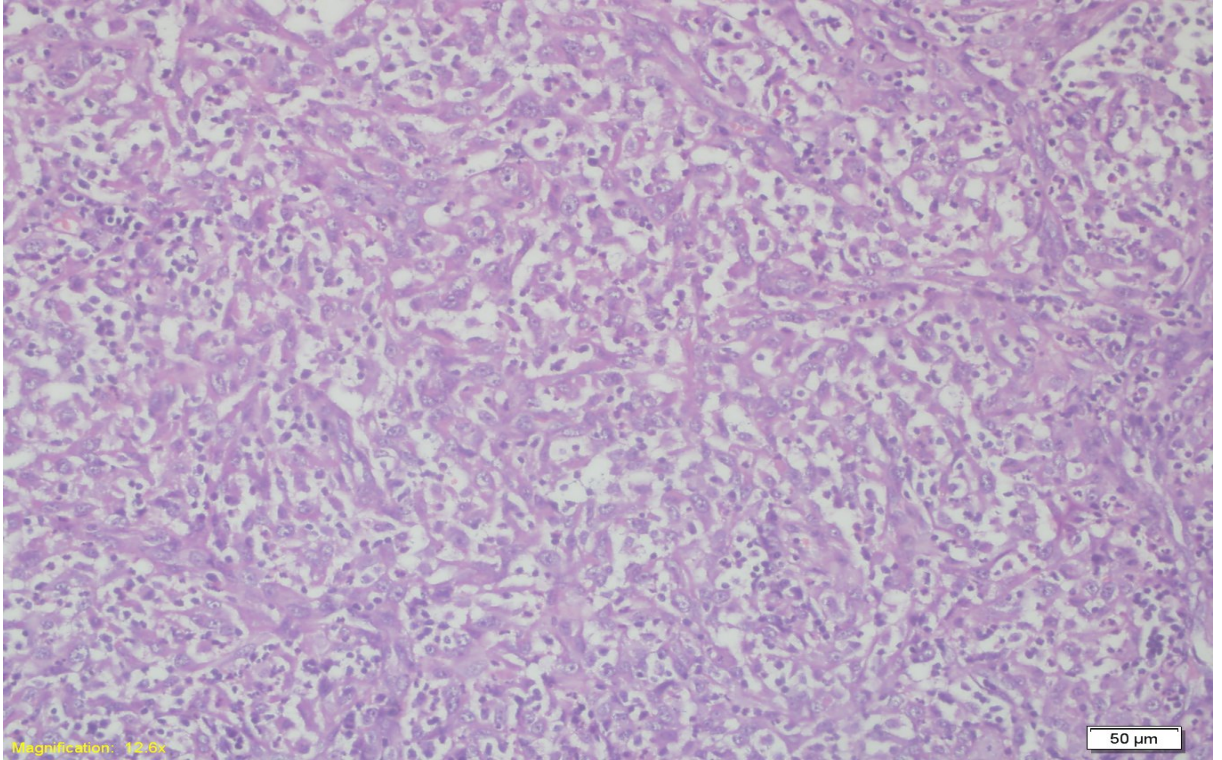
Resim 8: İyi Diferansiye Vulvar Skuamoz Hücreli Karsinom CD44x40



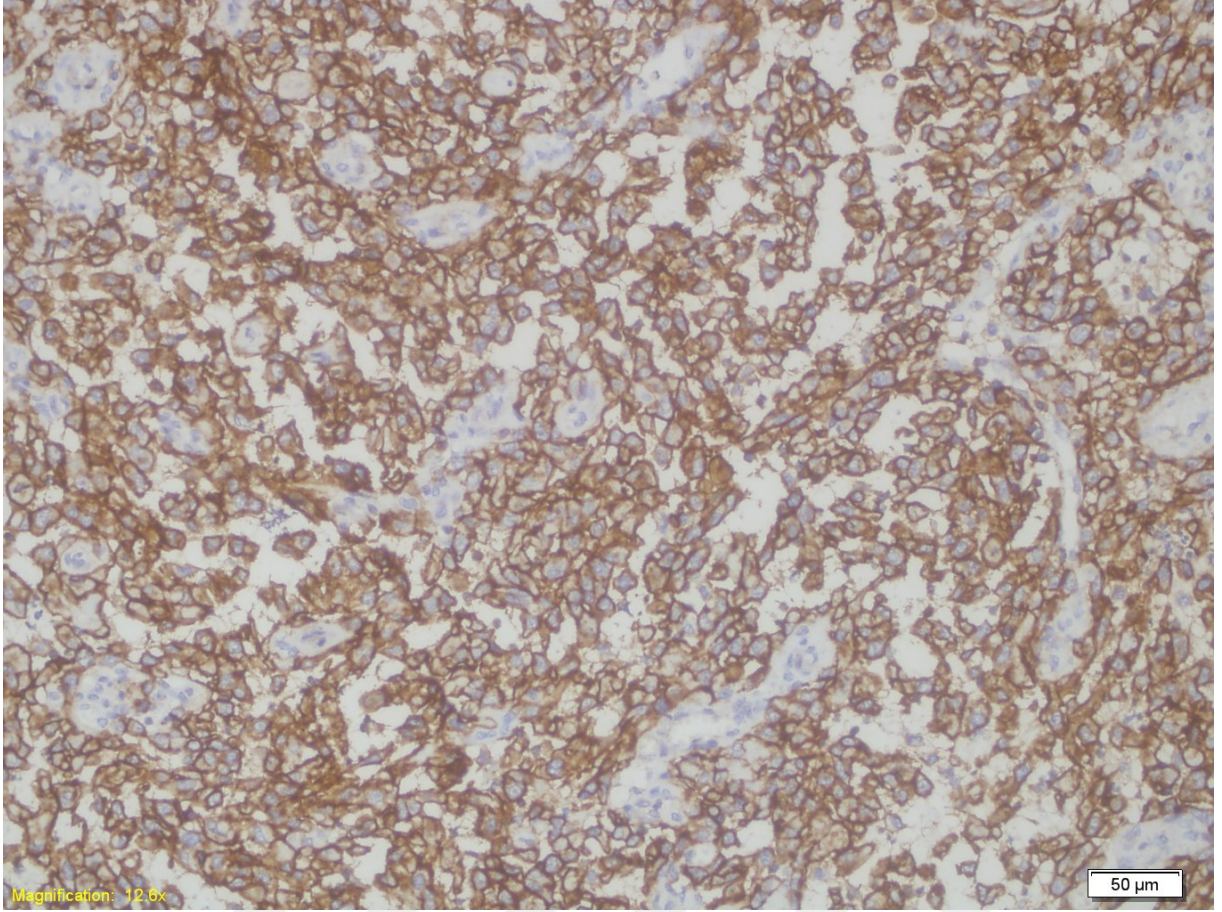
Resim 9: Orta Diferansiye Vulvar Skuamoz Hücreli Karsinom HEx10



Resim 10: Orta Diferansiye Vulvar Skuamoz Hücreli Karsinom CD44x20



Resim 11: Kötü Diferansiye Vulvar Skuamoz Hücreli Karsinom HEx20



Resim 12: Kötü Diferansiye Vulvar Skuamoz Hücreli Karsinom CD44x20

BULGULAR

Çalışmamıza İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniklerinde 1999-2010 yılları arasında skuamöz hücreli vulva karsinomu nedeni ile cerrahi uygulanan ve patoloji kliniğinde değerlendirilen 26 olgu, buna ek olarak premalign lezyonlardan 6 VIN, 10 liken sklerozis’li olgu ve normal vulvar doku içeren 5 olgu dahil edilmiştir. Skuamöz vulvar karsinomlu 26 olgunun yaş ortalaması 47-85 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 69.69 olarak saptandı. VIN’lı olguların yaş ortalaması 55-85 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 67.5 olarak saptandı. Liken sklerozis’li olguların yaş ortalaması 55-73 arasında değişmekte olup ortalama yaş 63.7 olarak saptandı. Normal olguların yaş ortalaması 56-62 arasında değişmekte olup ortalama yaş 57.8 olarak saptandı. İnvaziv vulvar skuamöz hücreli karsinomlu olguların 15’i (% 57.5) 70 yaş üzerinde iken, 11’i (%42.5) 70 yaş altında bulundu.

Tümör çaplarını değerlendirdiğimizde en küçük tümör çapı 1.5 cm, en büyük tümör çapı 7 cm olup ortalaması 3.22 cm’di. En çok labium majus lokalizasyonunda tümöral kitle izlendi. Bunu sırasıyla labium minus ve klitoris izledi. Hastaların 18’inde (%69,25) labium majusta, 5’inde (%19,25) labium minusta, 3’ünde (%11,5) klitoriste tümör mevcut idi. Skuamöz hücreli kanser görülen tek histolojik tipti. Bunların 21 tanesine radikal vulvektomi uygulandı. Operasyonda çıkarılan vulvektomi materyalinin hepsinde cerrahi sınırlar salındı (Tablo 11).

Hastalar tümör derecesine göre değerlendirildiğinde 10’u (%38,5) iyi differansiye, 7’si (%27) orta derece differansiye 9’u (%34,5) kötü differansiye olarak değerlendirildi (tablo 9).

Tablo 9: Olguların tümör derecesine göre dağılımı

	Hasta Sayısı (n)	Yüzde (%)
İyi differansiye	10	%38,5
Orta differansiye	7	%27
Kötü differansiye	9	%34,5

İnvaziv skuamöz vulvar kanserli 26 hastadan 21’ine radikal vulvektomi ve inguinofemoral lenf nodu diseksiyonu uygulandı. Hastalar 2009 FIGO cerrahi evreleme

sistemine göre değerlendirildiğinde Evre IA olan olgu sayısı 1 (%3,8), Evre 1B olan olgu sayısı 15 (%57,6), Evre II olan olgu sayısı 2 (%7,6), Evre IIIA olan olgu sayısı 3 (%11,5), Evre IIIB olan olgu sayısı 5 (% 19,5) olarak saptandı. Evre IV grubunda hasta yoktu. Bunlardan 18'i erken evre ve 8'i de ileri evre vulva karsinomu olarak değerlendirildi. FİGO sınıflamasına göre hastaların evrelemesi Tablo 10 ve 11'de gösterilmiştir.

Tablo 10: Skuamoz hücreli karsinomlu olguların tümör evre oranları dağılımı

Tümör Evresi	N	%
1A	1	3,8
1B	15	57,6
2	2	7,6
3A	3	11,5
3B	5	19,5
Toplam	26	100,0

Vulvar karsinomlu olguların 21'ine radikal vulvektomi ve lenf nodu diseksiyonu yapılmış, 8 olguda lenf nodu pozitifliği izlenmiş. Opere edilen hastaların yapılan sağ kalım izleminde 15'inin ex olduğu, 11'inin halen sağ olduğu görülmüştür (Tablo 11).

Tablo 11: Kanserli hastalarda evre, diferansiyasyon, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyon yüzde dağılımı

		Hasta sayısı	Yüzde
Evre	Erken	18	69,2
	İleri	8	30,8
Diferansiyasyon	İyi	10	38,5
	Orta/kötü	16	61,5
Lenf nodu tutulumu	Var	8	38,1
	Yok	13	61,9
Sağ kalım	Ölü	15	57,7
	Sağ	11	42,3
Radikal operasyon	Var	21	80,8
	Yok	5	19,2

Kanserli hastalarda yaş ile evre, diferansiyasyon, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyon varlığı oranları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 12).

Tablo 12: Kanserli hastalarda yaş ile evre, diferansiyasyon, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyonun karşılaştırması

		Yaş		P değeri
		70 yaş altı	70 yaş üstü	
Evre	Erken	6 (%54,5)	12 (%80,0)	0,218
	İleri	5 (%45,5)	3 (%20,0)	
Diferansiyasyon	İyi	3 (%27,3)	7 (%46,7)	0,428
	Orta/kötü	8 (%72,7)	8 (%53,3)	
Lenf nodu tutulumu	Var	5 (%55,5)	3 (%25,0)	0,218
	Yok	4 (%44,5)	9 (%75,0)	
Sağ kalım	Ölü	6 (%54,5)	9 (%60,0)	1,000
	Sağ	5 (%45,5)	6 (%40,0)	
Radikal operasyon	Var	10 (%90,9)	11 (%73,3)	0,356
	Yok	1 (%9,1)	4 (%26,7)	

Kanserli hastalarda diferansiyasyon ile evre, yaş, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyon varlığı oranları incelendiğinde;

Diferansiyasyon iyiliğine göre tümör evresi, lenf nodu tutulumu ve sağ kalım oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). İleri evre kanserlerin hepsi orta ve kötü diferansiyasyon gösterirken erken evre kanserlerin yaklaşık yarısı orta ve kötü diferansiyeydi. Lenf nodu pozitif olan olguların hepsi orta ve kötü diferansiyeydi. Diferansiyasyon kötüleştikçe evrenin ve lenf nodu pozitifliğinin arttığı, sağ kalımın azaldığı sonucuna varıldı. Yaş grupları ve radikal operasyon varlığı oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 13).

Tablo 13: Kanserli hastalarda diferansiyasyon ile evre, yaş, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyonun karşılaştırması

		Diferansiyasyon		P değeri
		İyi	Kötü/orta	
Evre	Erken	10 (%100)	8 (%50)	0,009
	İleri	0 (%0)	8 (%50)	
Yaş	70 yaş altı	3 (%30)	8 (%50)	0,428
	70 yaş üstü	7 (%70)	8 (%50)	
Lenf nodu tutulumu	Var	0 (%0,0)	8 (%72)	0,009
	Yok	10 (%100)	3 (%28)	
Sağ kalım	Ölü	1 (%10)	14 (%87,5)	0,001
	Sağ	9 (%90)	2 (%12,5)	
Radikal operasyon	Var	8 (%80)	13 (%81,3)	1,000
	Yok	2 (%20)	3 (%18,8)	

Kanserli hastalarda tümör evresi ile diferansiyasyon, yaş, lenf nodu, sağ kalım ve radikal operasyon varlığı oranları incelendiğinde;

Tümörün evresine göre diferansiyasyon, lenf nodu tutulumu ve sağkalım oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). İleri evrelerin hepsinde lenf nodu pozitifliği vardır. İleri evre hastaların hepsi ex olmuştur. İyi diferansiye olguların hepsi erken evre iken, orta/kötü diferansiye olguların yarısı erken evre diğer yarısı ise ileri evre idi. Evre arttıkça lenf nodu tutulumunun arttığı ve sağ kalımın azaldığı görülmüştür. Yaş grupları ve radikal operasyon varlığı oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 14).

Tablo 14: Kanserli hastalarda evre ile diferansiyasyon, yaş, lenf nodu, sağ kalım, radikal operasyonun karşılaştırması

		Evre		P değeri
		Erken	İleri	
Diferansiyasyon	İyi	10 (%55,6)	0 (%0)	0,009
	Orta/kötü	8 (%44,4)	8 (%100)	
Yaş	70 yaş altı	6 (%33,3)	5 (%62,5)	0,218
	70 yaş üstü	12 (%66,7)	3 (%37,5)	
Lenf nodu tutulumu	Var	0 (%0)	8 (%100)	0,001
	Yok	13(%100)	0 (%0)	
Sağ kalım	Ölü	7 (%38,9)	8 (%100)	0,007
	Sağ	11 (%61,1)	0 (%0)	
Radikal operasyon	Var	13 (%72,2)	8 (%100)	0,281
	Yok	5 (%27,8)	0 (%0)	

Kanserli hastalarda evre, diferansiyasyon, yaş, lenf nodu, sağ kalım, radikal operasyon varlığına göre invazyon derinliği ve tümör çapı değerleri incelendiğinde (Tablo 15);

İyi diferansiyasyon olanlara göre orta/kötü olanların, lenf nodu tutulumu olmayanlara göre lenf nodu tutulumu olanların, sağ kalanlara göre ex olanların ve tümör evresi erken olanlara göre tümör evresi ileri olanların invazyon derinliği değerleri istatistiksel olarak anlamlı **yüksek** bulundu ($p<0,05$).

Tümör çapı değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 15: Kanserli hastalarda invazyon derinliği ve tümör çapı ile evre, diferansiyasyon, yaş, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyonun karşılaştırması

		İnvazyon derinliği	P değeri	Tümör çapı	P değeri
Diferansiyasyon	İyi	3,3±1,22	0,004	3,08±1,13	0,776
	Orta/kötü	6,15±3,15		3,31±1,47	
Yaş	70 yaş altı	4,81±2,51	0,979	2,86±1,23	0,357
	70 yaş üstü	5,24±3,25		3,49±1,38	
Lenf nodu tutulumu	Var	6,58±1,56	0,008	3,44±1,35	0,311
	Yok	4,38±3,15		3,13±1,35	
Sağ kalım	Ölü	6,78±2,66	0,001	3,33±1,52	0,721
	Sağ	2,7±0,88		3,07±1,07	
Radikal operasyon	Var	5,29±3,17	0,486	3,25±1,34	0,900
	Yok	5,06±2,91		3,22±1,33	
Evre	Erken	4,38±3,15	0,008	3,13±1,35	0,311
	İleri	6,58±1,56		3,44±1,35	

Kanserli hastalarda evre, diferansiyasyon, yaş, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyon varlığına göre CD44 epitel boyanma yüzdesi ve stromal boyanma yüzdesi değerleri incelendiğinde (Tablo 16);

İyi diferansiyasyon olanlara göre orta/kötü olanların, lenf nodu tutulumu olmayanlara göre lenf nodu tutulumu olanların, sağ kalanlara göre ex olanların ve tümör evresi erken olanlara göre tümör evresi ileri olanların CD44 epitel boyanma yüzdesi değerleri istatistiksel olarak anlamlı **yüksek** bulundu ($p<0,05$). CD44 stromal boyanma yüzdesi değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 16: Kanserli hastalarda CD44 epitel boyanma yüzdesi ve stromal boyanma yüzdesi ile evre, diferansiyasyon, yaş, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyonun karşılaştırması

		CD44 epitel boyanma yüzdesi	P değeri	CD44 stromal boyanma yüzdesi	P değeri
Diferansiyasyon	İyi	23±18,14	0,001	49,5±34,6	0,363
	Orta/kötü	73,75±25,79		61,56±30,32	
Yaş	70 yaş altı	58,64±37,42	0,507	60,91±29,14	0,610
	70 yaş üstü	51±32,08		54±34,5	
Lenf nodu tutulumu	Var	86,25±15,06	0,001	46,88±37,32	0,644
	Yok	40±30,05		61,39±29,25	
Sağ kalım	Ölü	75,67±25,97	0,001	56,67±34,1	0,799
	Sağ	25±17,46		57,27±30,28	
Radikal operasyon	Var	54,52±33,01	0,801	52,86±33,26	0,178
	Yok	53±41,77		74±19,49	
Evre	Erken	40±30,05	0,001	61,39±29,25	0,644
	İleri	86,25±15,06		46,88±37,32	

Kanserli hastalarda CD44 epitel boyanma yoğunluğu ve boyanma kombine skoru oranlarının diğer klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı incelendiğinde;

Tümör evresi, diferansiyasyon, lenf nodu pozitifliği ve sağ kalım oranları açısından epitelin boyanma yoğunluğu ve epitelin boyanma skoru açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Epitel boyanma yoğunluğu ve kombine skor arttıkça evrenin, lenf nodu pozitifliğinin arttığı ve diferansiyasyonun kötüleştiği, ayrıca sağ kalımın azaldığı izlendi. Yaş grupları ve radikal operasyon oranları açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 17).

Tablo 17: Kanserli hastalarda CD44 epitel boyanma yoğunluğu ve boyanma kombine skorunun diğer klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılması

		CD44 Epitel Boyanma Yoğunluğu			P	Epitel boyanma Kombine Skor			P
		Zayıf	Orta	Kuvvetli		Zayıf	Orta	Güçlü	
Tümör Evresi	Erken evre	11 100,0%	4 100,0%	3 27,3%	0,000	8 100,0%	4 100,0%	6 42,9%	0,007
	İleri evre	0 0,0%	0 0,0%	8 72,7%		0 0,0%	0 0,0%	8 57,1%	
Diferansiyasyon	İyi diferansiye	9 81,8%	1 25,0%	0 0,0%	0,001	7 87,5%	3 75,0%	0 0,0%	0,001
	Orta/kötü diferansiye	2 18,2%	3 75,0%	11 100,0%		1 12,5%	1 25,0%	14 100,0%	
Yaş	70 yaş altı	5 45,5%	1 25,0%	5 45,5%	0,748	3 37,5%	2 50,0%	6 42,9%	0,916
	70 yaş üstü	6 54,5%	3 75,0%	6 54,5%		5 62,5%	2 50,0%	8 57,1%	
Lenf Nodu Tutulumu	Yok	11 100,0%	4 100,0%	3 27,3%	0,001	8 100,0%	4 100,0%	6 42,9%	0,007
	Var	0 0,0%	0 0,0%	8 72,7%		0 0,0%	0 0,0%	8 57,1%	
Sağ kalım	Ölü	0 0,0%	4 100,0%	11 100,0%	0,001	1 12,5%	0 0,0%	14 100,0%	0,001
	Sağ	11 100,0%	0 0,0%	0 0,0%		7 87,5%	4 100,0%	0 0,0%	
Radikal Operasyon	Yok	2 18,2%	1 25,0%	2 18,2%	0,951	2 25,0%	0 0,0%	3 21,4%	0,558
	Var	9 81,8%	3 75,0%	9 81,8%		6 75,0%	4 100,0%	11 78,6%	

Kanserli hastalarda CD44 stromal boyanma yoğunluğu ve stromal boyanma kombine skoru oranları ile diğer klinikopatolojik parametrelerin dağılımı incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 18).

Tablo 18: Kanserli hastalarda CD44 stromal boyanma yoğunluğu ve stromal boyanma kombine skorunun diğer klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılması

		CD44 Stromal boyanma yoğunluğu			P	Stromal Boyanma Kombine Skor			p
		Zayıf	Orta	Kuvvetli		Zayıf	Orta	Güçlü	
Tümör Evresi	Erken evre	6 66,7%	5 71,4%	7 70,0%	0,977	3 50,0%	3 75,0%	12 75,0%	0,508
	İleri evre	3 33,3%	2 28,6%	3 30,0%		3 50,0%	1 25,0%	4 25,0%	
Diferansiyasyon	İyi diferansiye	5 55,6%	1 14,3%	4 40,0%	0,241	3 50,0%	2 50,0%	5 31,3%	0,633
	Orta/kötü diferansiye	4 44,4%	6 85,7%	6 60,0%		3 50,0%	2 50,0%	11 68,8%	
Yaş	70 yaş altı	4 44,4%	4 57,1%	3 30,0%	0,530	2 33,3%	2 50,0%	7 43,8%	0,857
	70 yaş üstü	5 55,6%	3 42,9%	7 70,0%		4 66,7%	2 50,0%	9 56,3%	
Lenf Nodu Tutulumu	Yok	6 66,7%	5 71,4%	7 70,0%	0,977	3 50,0%	3 75,0%	12 75,0%	0,508
	Var	3 33,3%	2 28,6%	3 30,0%		3 50,0%	1 25,0%	4 25,0%	
Sağ kalım	Ölü	4 44,4%	5 71,4%	6 60,0%	0,546	4 66,7%	1 25,0%	10 62,5%	0,350
	Sağ	5 55,6%	2 28,6%	4 40,0%		2 33,3%	3 75,0%	6 37,5%	
Radikal Operasyon	Yok	1 11,1%	0 0,0%	4 40,0%	0,057	0 0,0%	1 25,0%	4 25,0%	0,395
	Var	8 88,9%	7 100,0%	6 60,0%		6 100,0%	3 75,0%	12 75,0%	

Tüm hastalarda CD44 epitel ve stromal boyanma yüzde değerleri incelendiğinde; CD44 epitel boyanma yüzdesi değerleri açısından yapılan Kruskal Wallis analizinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak için yapılan bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U analizinde; normal grup olgularının epitel boyanma yüzde değerleri liken skleroz ve VIN grubu olguların epitel boyanma yüzde değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı **düşük** bulundu ($p<0,05$). VIN, Liken skleroz ve malign olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı.

Stromal boyanma yüzdesi değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 19)

Tablo 19: Tüm hastalarda CD44 epitel ve stromal boyanma yüzde değerlerinin karşılaştırılması

Grup	CD44 Epitel Boyanma Yüzdesi	P	Stromal Boyanma Yüzdesi	P
Ca	54,23±33,93	0,034	56,92±31,91	0,342
Liken Skleroz	62,00±26,58		35,00±29,91	
VIN	80,00±14,14		66,67±17,51	
Normal	22,00±13,04		44,00±30,5	

Tüm hastalarda CD44 epitel boyanma yoğunluğu ve boyanma kombine skoru oranları incelendiğinde; CD44 epitel boyanma kombine skor oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Kanserli olguların 14/26 (%54)'ü, Liken Sklerozlu olguların 5/10 (%50)'si, VIN'lı olguların 6/6 (%100)'ü ve normal olguların 0/5 (%0)'ında güçlü kombine skor değerleri bulundu. Normal olguların kombine skor değerleri anlamlı derecede düşük (zayıf/orta) bulundu. Epitel boyanma yoğunluğu oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 20).

Tablo 20: Tüm hastalarda CD44 epitel boyanma yoğunluğu ve boyanma kombine skoru değerlerinin karşılaştırılması

	CD44 Epitel Boyanma Yoğunluğu			P	Epitel Boyanma Kombine Skor			P
	Zayıf	Orta	Kuvvetli		Zayıf	Orta	Güçlü	
Ca	11 61,1%	4 36,4%	11 61,1%	0,105	8 80,0%	4 33,3%	14 56,0%	0,007
Liken Skleroz	3 16,7%	4 36,4%	3 16,7%		0 0,0%	5 41,7%	5 20,0%	
VIN	0 0,0%	2 18,2%	4 22,2%		0 0,0%	0 0,0%	6 24,0%	
Normal	4 22,2%	1 9,1%	0 0,0%		2 20,0%	3 25,0%	0 0,0%	

Tüm hastalarda CD44 stromal boyanma yoğunluğu ve stromal boyanma kombine skor oranları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 21).

Tablo 21: Tüm hastalarda CD44 stromal boyanma yoğunluğu ve stromal boyanma kombine skoru değerlerinin karşılaştırılması

	CD44 Stromal Boyanma Yoğunluğu			P	Stromal Boyanma Kombine Skor			p
	Zayıf	Orta	Kuvvetli		Zayıf	Orta	Güçlü	
Ca	9 47,4%	7 43,8%	10 83,3%	0,301	6 46,2%	4 40,0%	16 66,7%	0,239
Liken Skleroz	6 31,6%	3 18,8%	1 8,3%		5 38,5%	3 30,0%	2 8,3%	
VIN	2 10,5%	3 18,8%	1 8,3%		0 0,0%	2 20,0%	4 16,7%	
Normal	2 10,5%	3 18,8%	0 0,0%		2 15,4%	1 10,0%	2 8,3%	

Kanserli hastalarda CD44 epitel ve stromal ekspresyonu değerlendirmelerine göre invazyon derinliği değerleri incelendiğinde (Tablo 22);

CD44 epitel boyanma skoru %6-25 olanların %0-5, %26-50 ve %50'den fazla olanlardan, CD44 epitel boyanma yoğunluğu kuvvetli olanların zayıf ve orta olanlardan, CD44 epitel boyanma kombine skoru güçlü olanların zayıf ve orta olanlardan invazyon derinliği değerleri istatistiksel olarak anlamlı **yüksek** bulundu ($p<0,05$).

CD44 stromal boyanma skoru, CD44 stromal boyanma yoğunluğu ve CD44 stromal boyanma kombine skorlarına göre invazyon derinliği değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 22: Kanserli hastalarda CD44 epitel ve stromal ekspresyonu değerlendirmelerine göre invazyon derinliği değerlerinin karşılaştırması

		İnvazyon derinliği	P değeri
CD44 epitel boyanma skoru	%0-5	4,63±2,3	0,024
	%6-25	2,75±0,71	
	%26-50	5,81±6,25	
	%50'den fazla	5,89±1,82	
CD44 epitel boyanma yoğunluğu	Zayıf	2,7±0,88	0,001
	Orta	5,96±1,33	
	Kuvvetli	7,08±3,01	
CD44 epitel boyanma kombine skor	Zayıf	3,22±1,37	0,001
	Orta	2,56±1,3	
	Güçlü	6,82±2,76	
CD44 stromal boyanma skoru	%0-5	4,5±1,49	0,563
	%6-25	6,13±0,18	
	%26-50	3,5±1,32	
	%50'den fazla	5,34±3,45	
CD44 stromal boyanma yoğunluğu	Zayıf	4,19±1,72	0,535
	Orta	6,29±4,37	
	Kuvvetli	4,97±2,52	
CD44 stromal boyanma kombine skor	Zayıf	5,04±1,43	0,218
	Orta	3,13±1,32	
	Güçlü	5,54±3,45	

Kanserli hastalarda yaşam süresi ile diğer klinikopatolojik parametrelerin değerlerine göre yaşam süreleri incelendiğinde (Tablo 23);

İyi diferansiye olanlara göre orta/kötü diferansiye olanların, lenf nodu tutulumu olmayanlara göre lenf nodu tutulumu olanların, tümör evresi erken olanlara göre tümör evresi ileri olanların, CD44 epitel boyanma skoru %0-5, %6-25 %26-50 olanlara göre %50'den fazla olanların, CD44 epitel boyanma yoğunluğu zayıf ve orta olanlara göre kuvvetli olanların, CD44 epitel boyanma kombine skoru zayıf ve orta olanlara göre güçlü olanların yaşam süreleri istatistiksel olarak anlamlı **düşük** bulundu ($p<0,05$).

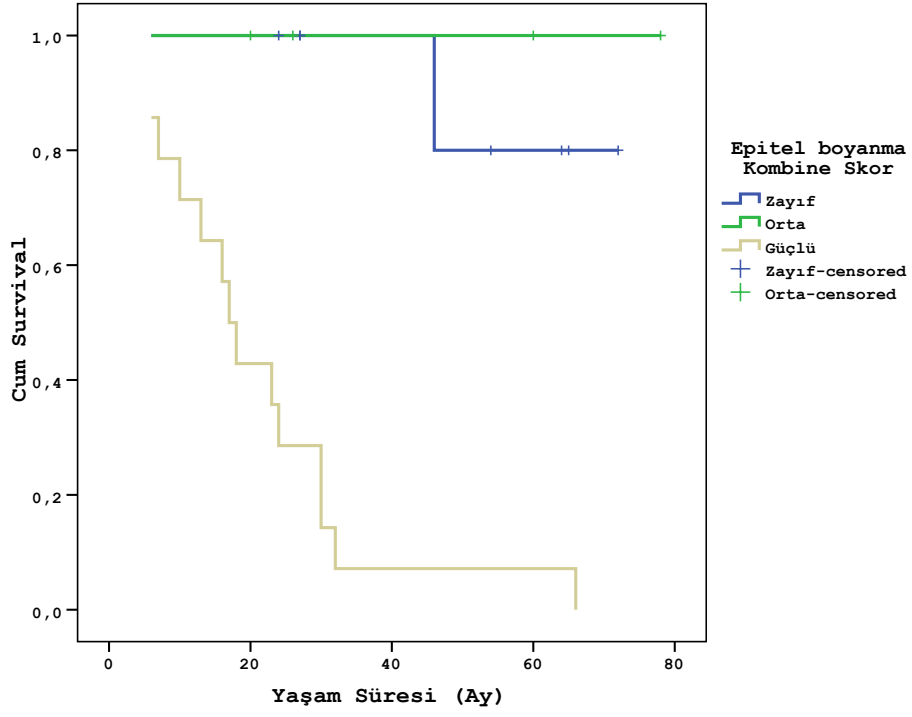
Radikal operasyon varlığı, yaş, stromal boyanma skoru, stromal boyanma yoğunluğu ve stromal boyanma kombine skorlarına göre yaşam süreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 23: Kanserli hastalarda yaşam süresi ile diğer klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması

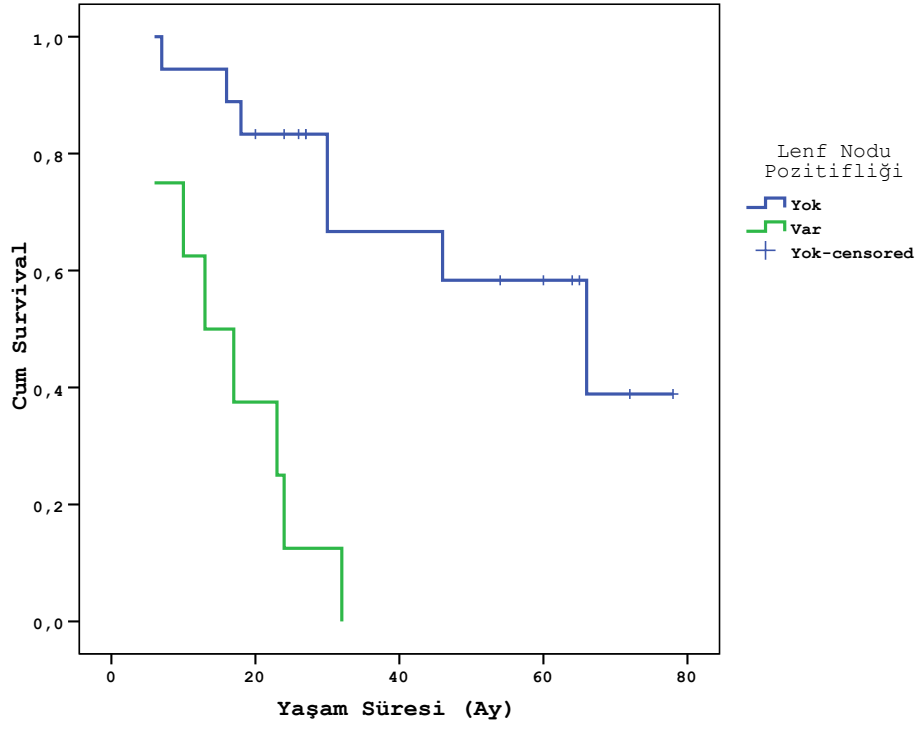
		Yaşam Süresi (Ay)	p
Diferansiyasyon	İyi diferansiye	47,1±19,9	0,007
	Orta/kötü diferansiye	24,38±19,36	
Yaş	70 yaş altı	32,91±26,85	0,507
	70 yaş üstü	33,27±19,18	
Lenf Nodu Tutulumu	Yok	40,56±22,37	0,004
	Var	16,38±9,36	
Radikal Operasyon	Yok	23±5,92	0,486
	Var	35,52±24,07	
Tümör Evresi	Erken evre	40,56±22,37	0,004
	İleri evre	16,38±9,36	
Epitel Boyanma Skoru	%0-5	36,5±13,44	0,013
	%6-25	51±20,59	
	%26-50	47±26,76	
	%50'den fazla (pozitif)	21±15,56	
CD44 Epitel Boyanma Yoğunluğu	Zayıf	47±22,17	0,007
	Orta	37,25±24,97	
	Kuvvetli	17,73±8,84	
Epitel Boyanma Kombine Skor	Zayıf	47,38±19,33	0,014
	Orta	46±27,66	
	Güçlü	21,29±15,69	
Stromal Pozitif Boyanma skoru	%0-5	42,25±16,58	0,202
	%6-25	11,5±2,12	
	%26-50	37,67±23,67	
	%50'den fazla (pozitif)	32,71±23,82	
Stromal Boyanma yoğunluğu	Zayıf	39,22±23,38	0,542
	Orta	30,43±23,93	
	Kuvvetli	29,5±21,18	
Stromal Boyanma Kombine Skor	Zayıf	32±20,45	0,447
	Orta	46,25±25,85	
	Güçlü	30,25±22,27	

Genel sağ kalım süresi ile evre, lenf nodu pozitifliği, diferansiyasyon ve CD44'ün epitel ekspresyonu arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p<0,05$). İleri evre, orta/kötü diferansiyasyon, lenf nodu pozitif ve CD44 epitel pozitif ekspresyonu olan hastaların daha kısa yaşam süresine sahip oldukları izlendi (Grafik 1,2,3,4).

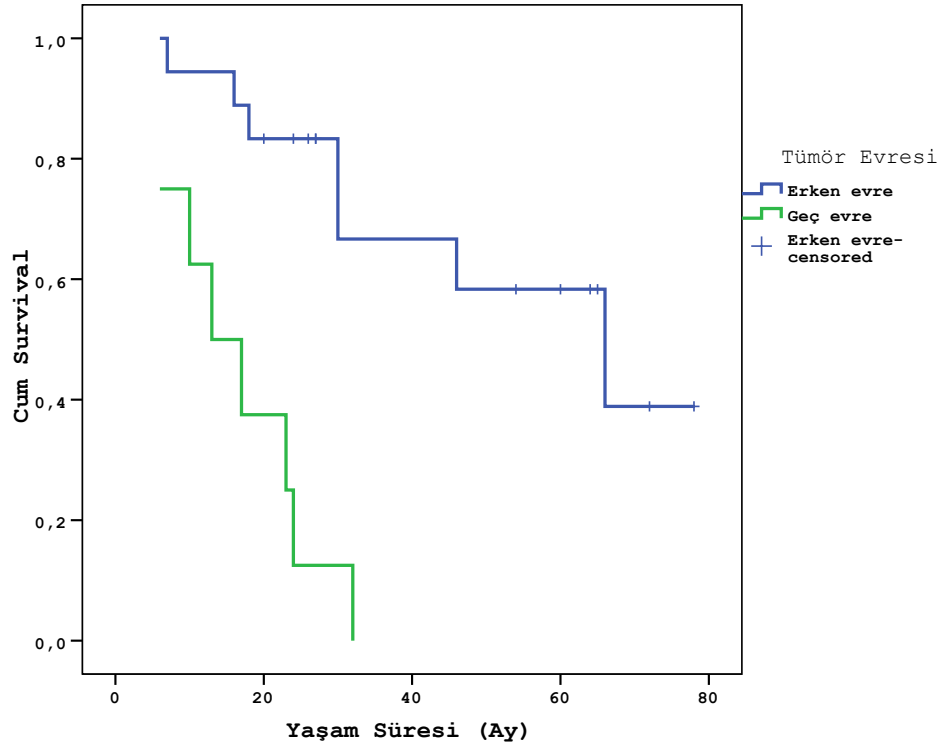
Grafik 1: CD44 epitel boyanma kombine skora göre çizilen Kaplan Meier sağkalım grafiği



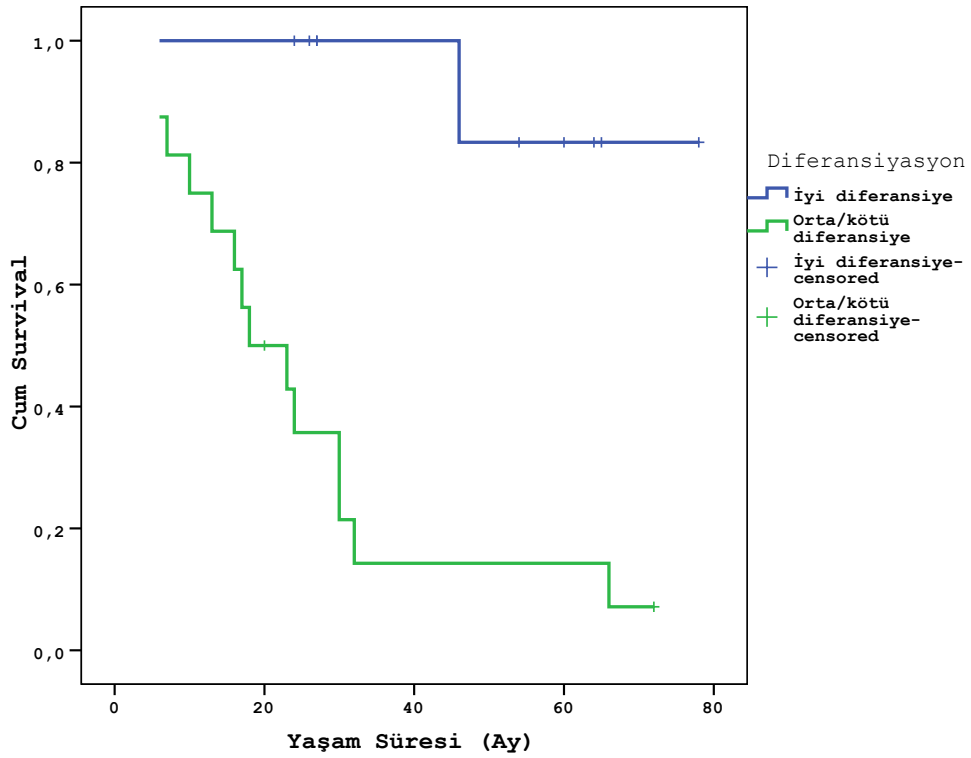
Grafik 2: Lenf nodu pozitifliğine göre çizilen Kaplan Meier sağkalım grafiği



Grafik 3: Tümör evresine göre çizilen Kaplan Meier sağkalım grafiği



Grafik 4: Diferansiyasyona göre çizilen Kaplan Meier sağkalım grafiği



TARTIŞMA ve SONUÇ

Vulva kanseri, kadınlarda görülen tüm malignitelerin % 1'ini, kadın genital sistemine ait malignitelerin ise %3-5'ini oluşturur (1). Tüm primer vulva malignitelerinin %90'ını skuamoz hücreli karsinom oluşturuken, daha az sıklıkta melanom, adenokarsinom, bazal hücreli karsinom ve sarkom görülür. Vulva kanserinin erken tanısını ve preinvaziv lezyonların malign dönüşümünü gösteren etkin bir yöntem yoktur.

Kanser gelişiminde çeşitli genetik faktörler rol oynamaktadır. Bazı genlerin ekspresyonlarının değişmesi tümör oluşum ve gelişimine sebep olur. Son zamanlarda çeşitli kanser türlerinde araştırılan CD44 ve izoformları da karsinogenezişte önemli rol oynamaktadır. Bunlardan CD44 isoformlarının ekspresyonunun artması çoğu epitelyal ve non-epitelyal malignitelerde karsinogenezinin hem erken fazı hemde metastazik fazını göstermede potansiyel bir prognostik marker olarak karşımıza çıkmaktadır (101,102).

Hücre adezyon molekülleri (HAM), hücrelerin özgül olarak dokulara yönelmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve inflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev alırlar. Hücre-hücre ve ekstrasellüler matriks etkileşimleri, hücre düzenleme fenotipinin nasıl olduğunu anlamada ana hedef olmaktadır. Hücre-hücre adezyonunun azalması sonucu histolojik yapı değiştiğinden ve hücre polaritesi bozulduğundan bu olay malign tümörlerin morfolojisi hakkında bilgi verir. Tümör hücrelerinin düzensiz davranışı nedeniyle hücre-hücre ilişkisi tümörlerde bozulmuştur. Adezyon moleküllerinin sinyal iletebildiklerinin gösterilmesi son 10 yılın temel gelişimlerinden biri sayılmaktadır.

CD44 bir integral membran glikoproteinidir ve hiyaluronik asit reseptörü olarak fonksiyon görür. Hücre-dışı matriks reseptörü III olarak da bilinir. CD44 epitelyal, mezenşimal, lenfoid ve glial hücrelerde eksprese olur. Hücre-hücre ve hücre-hücre dışı matriks adezyonundan sorumludur. Endotel hücresi üzerinde lenfositlerin yuvarlanmasına, hücre göçüne ve hematopoetik hücrelerin diferansiyasyonunun uyarılmasına aracılık eder (103).

Çalışmamızda klinikopatolojik verileri kendi içlerinde ayrı ayrı karşılaştırdık. Kanserli hastalarda yaş ile evre, diferansiyasyon, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyon varlığı oranları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Diferansiyasyon iyiliğine göre tümör evresi, lenf nodu tutulumu ve sağ kalım oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. İleri evre kanserlerin hepsi orta ve kötü diferansiyasyon gösterirken erken evre kanserlerin yaklaşık yarısı orta ve kötü diferansiye idi. Lenf nodu pozitif olan olguların hepsi orta ve kötü diferansiye idi. Diferansiyasyon kötüleştikçe evrenin ve lenf nodu pozitifliğinin arttığı, sağ kalımın azaldığı sonucuna varıldı. Yaş grupları ve radikal operasyon varlığı oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Kanserli hastalarda tümör evresi ile diferansiyasyon, yaş, lenf nodu, sağ kalım ve radikal operasyon varlığı oranları incelendiğinde; tümörün evresine göre diferansiyasyon, lenf nodu tutulumu ve sağ kalım oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. İleri evrelerin hepsinde lenf nodu pozitifliği vardı. İleri evre hastaların hepsinin ex olduğu görüldü. Evre arttıkça lenf nodu tutulumunun arttığı ve sağ kalımın azaldığı görüldü. Evre ile yaş grupları ve radikal operasyon varlığı oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Çalışmamızda kanserli hastalarda evre, diferansiyasyon, yaş, lenf nodu, sağ kalım, radikal operasyon varlığına göre invazyon derinliği ve tümör çapı değerleri incelendiğinde; iyi diferansiyasyon olanlara göre orta/kötü olanların, lenf nodu tutulumu olmayanlara göre lenf nodu tutulumu olanların, sağ kalanlara göre ex olanların ve tümör evresi erken olanlara göre tümör evresi ileri olanların invazyon derinliği değerleri istatistiksel olarak anlamlı **yüksek** bulundu. Tümör çapı değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Kanserli hastalarda evre, diferansiyasyon, yaş, lenf nodu tutulumu, sağ kalım, radikal operasyon varlığına göre CD44 epitel boyanma yüzdesi ve stromal boyanma yüzdesi değerleri incelendiğinde; iyi diferansiyasyon olanlara göre orta/kötü olanların, lenf nodu tutulumu olmayanlara göre lenf nodu tutulumu olanların, sağ kalanlara göre ex olanların ve tümör evresi erken olanlara göre tümör evresi ileri olanların CD44 epitel boyanma yüzdesi değerleri

istatistiksel olarak anlamlı **yüksek** bulundu. CD44 stromal boyanma yüzdesi değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Çalışmamızda kanserli hastalarda CD44 epitel boyanma yoğunluğu ve epitel boyanma kombine skoru oranlarının diğer klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı incelendiğinde; tümör evresi, diferansiyasyon, lenf nodu pozitifliği ve sağ kalım oranları açısından epitelin boyanma yoğunluğu ve epitelin boyanma skoru açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Epitel boyanma yoğunluğu ve kombine skor arttıkça evrenin, lenf nodu pozitifliğinin ve diferansiyasyon derecesinin arttığı, ayrıca sağ kalımın azaldığı izlendi. Yaş grupları ve radikal operasyon oranları açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Kanserli hastalarda CD44 stromal boyanma yoğunluğu ve stromal boyanma kombine skoru oranları ile diğer klinikopatolojik parametrelerin dağılımı incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Çalışmamızda tüm hastalarda CD44 epitel ve stromal boyanma yüzde değerleri incelendiğinde; CD44 epitel boyanma yüzdesi değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Normal grup olgularının epitel boyanma yüzde değerleri malign olgular, liken skleroz'lu olgular ve VIN grubu olguların epitel boyanma yüzde değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı **düşük** bulundu. VIN, Liken skleroz ve malign olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı. Stromal boyanma yüzdesi değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Tüm hastalarda CD44 epitel boyanma yoğunluğu ve epitelyum boyanma kombine skoru oranları incelendiğinde; CD44 epitel boyanma kombine skor oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Kanserli olguların 14/26 (%54)'ü, Liken Sklerozisli olguların 5/10 (%50)'si, VIN'lı olguların 6/6 (%100)'ü, normal olguların 0/5 (%0)'ı güçlü kombine skor değerleri bulundu. Ayrıca liken sklerozisli kombine skoru güçlü olan 3 olguda kanserle birliktelik mevcuttu. Normal olguların kombine skor değerleri anlamlı derecede zayıf bulundu. Epitel boyanma yoğunluğu oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Tüm hastalarda CD44 stromal boyanma yoğunluğu ve stromal boyanma kombine skor oranları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Çalışmamızda kanserli hastalarda CD44 epitel ve stromal ekspresyonu değerlendirmelerine göre invazyon derinliği değerleri incelendiğinde; CD44 epitel boyanma skoru %6-25 olanların %0-5, %26-50 ve %50'den fazla olanlardan, CD44 epitel boyanma yoğunluğu kuvvetli olanların zayıf ve orta olanlardan, CD44 epitel boyanma kombine skoru güçlü olanların zayıf ve orta olanlardan invazyon derinliği değerleri istatistiksel olarak anlamlı **yüksek** bulundu. CD44 stromal boyanma skoru, CD44 stromal boyanma yoğunluğu ve CD44 stromal boyanma kombine skorlarına göre invazyon derinliği değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Çalışmamızda kanserli hastalarda yaşam süresi ile diğer klinikopatolojik parametrelerin değerlerine göre yaşam süreleri incelendiğinde; İyi diferansiye olanlara göre orta/kötü diferansiye olanların, lenf nodu tutulumu olmayanlara göre lenf nodu tutulumu olanların, tümör evresi erken olanlara göre tümör evresi ileri olanların, CD44 epitel boyanma skoru %0-5, %6-25 %26-50 olanlara göre %50'den fazla olanların, CD44 epitel boyanma yoğunluğu zayıf ve orta olanlara göre kuvvetli olanların, CD44 epitel boyanma kombine skoru zayıf ve orta olanlara göre güçlü olanların yaşam süreleri istatistiksel olarak anlamlı **düşük** bulundu. Radikal operasyon varlığı, yaş, stromal boyanma skoru, stromal boyanma yoğunluğu ve stromal boyanma kombine skorlarına göre yaşam süreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Literatüre bakıldığında yapılan bazı çalışmalarda CD44 izoform ekspresyonu ile malign bir tümörün metastatik yeteneği ve progresyonu arasındaki korelasyona çeşitli malignitelerde bakılmıştır. Gastrointestinal kanserler(104,105), renal hücreli kanser(106), akciğer kanseri(107), meme kanseri(108) ve non-Hodgkin lenfomalarda(109) CD44 ekspresyonunun, tümörlerin metastatik yeteneğini ve progresyonunu belirleyici faktör olabileceği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da CD44 ekspresyon artışının prognozu kötü yönde etkilediği ve sağ kalım oranını azalttığı bulunmuştur.

CD44'ün yüksek ekspresyonunu kolon, gastrik karsinomlar ve non-Hodgkin lenfomada kötü prognostik faktörlerle ilişkilendiren çalışmalar vardır (110,111). Bu çalışmalardaki bulgulara bizim çalışmamızı desteklemektedir. Buna karşın CD44'ün

düşük ekspresyonunun transizyonel hücreli karsinom ve nöroblastomda kötü prognostik faktörlerle ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (112,113).

Hamalainen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada vulvar karsinom, VIN, LS ve normal vulvar dokudaki CD44'ün epiteldeki ekspresyonu ve stromal boyanma yoğunluğuna bakılmıştır. CD44'ün epiteldeki ekspresyonunun malign olgularda VIN, LS ve normal vulvar dokuya göre anlamlı bir şekilde azaldığını bulmuşlardır. Stromal boyanma yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde ise olgular arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmadığı görülmüştür (146). Bizim çalışmamızda da stromal boyanma açısından benzer bulgular bulunmuştur. Ancak CD44'ün epitel ekspresyonunun bizim çalışmamızda malign olgularda diğer olgulara göre artmış olduğu görülmüştür. Kaya ve arkadaşlarının liken sklerozisli hastalarda yapmış olduğu çalışmada CD44 ekspresyonunun azaldığını göstermişlerdir (147).

Liang ve arkadaşlarının gastrik kanserlerde yaptığı bir çalışmada CD44 ekspresyonunun normal gastrik dokuya göre kanserli dokuda önemli bir farkla daha fazla olduğunu ve invazyon derinliği, diferansiyasyon derecesi ve lenf nodu metastazı ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Ancak ekspresyonun yaş, cinsiyet ve tümörün patolojik tipiyle ilişkisi olmadığını bildirmişlerdir (114). Gu ve ark. yaptığı çalışmada buna benzer bulgular vardır (115). Li ve ark. yaptığı çalışmada CD44 ekspresyonunun ileri evre gastrik kanserlerde erken evre gastrik kanserlerden daha fazla olduğu gösterilmiştir (116). Bizim çalışmamızda da CD44 ekspresyonunun normal vulvar dokuya göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca benzer şekilde CD44 ekspresyonunun artması ile invazyon derinliğinin artması, diferansiyasyon derecesinin kötüleşmesi, lenf nodu tutulumunun artması ve evrenin ileri evre olarak artması ile ilişkili bulunmuştur.

CD44 izoformlarıyla serviks kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda özellikle CD44 izoformunun ekspresyonunun tümör metastazı ve kötü prognozu arasında korelasyon bulunmuştur (117-121). Bizim çalışmamızda da ekspresyonun artması kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Ancak bazı araştırmalarda da CD44 ekspresyonunun prognozla ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir (122-124).

Hong ve arkadaşlarının yapmış olduğu çeşitli jinekolojik malignitelerde CD44 ekspresyonunun önemi çalışmasında CD44 ekspresyon artışının erken evre serviks kanserlerinde stromal invazyonla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ancak 5 mm'den daha fazla stromal invazyonda ekspresyonun azaldığı gözlenmiştir. Endometrium kanserli hastalarda CD44 ekspresyonunun hücre diferansiyasyonu ile ilgili olabileceği bulunmuştur ve grade 1 tümörlere karşı grade 2 ve 3 tümörlerde ekspresyonun azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca endometrium kanserli hastaların erken tanısında prognostik bir marker olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir. Fakat CD44 ekspresyonu ile evre, myometriyal invazyon, tümör boyutu ve istmus-serviks tutulumu ile ilişki saptanmamıştır. Over tümörlerine bakıldığında benign tümörlerde ekspresyonun olmadığı, borderline ve malign tümörlerde ekspresyonun arttığı göze çarpmaktadır. CD44 ekspresyonu ile borderline veya malign over tümörü gelişimi arasında bir ilişki bulunmuştur (125). Bizim çalışmamızda buna ters olarak CD44 ekspresyonunun artması ile invazyon derinliği ve diferansiyasyon derecesinin kötüleşmesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Bouda ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada CD44 ekspresyonu ile LVSI, stromal invazyon derinliği ve skuamöz hücreli serviks kanseri arasında istatistiksel olarak önemli bir korelasyon bulunmuştur. Fakat CD44 ile genel sağ kalım ve hastalıksız yaşam süresi arasında bir ilişki bulunamamıştır (126). Yapılan başka bir çalışmada da servikal kanserde CD44 ekspresyonu ile LVSI ve rejyonel lenf nodu metastazı arasında kuvvetli ilişki olduğu gösterilmiştir (127,128). Bizim çalışmamız invazyon derinliği açısından bu çalışmayı desteklerken sağ kalım açısından desteklememektedir.

CD44 ekspresyonunun artmış olduğu erken ve ileri evre servikal kanserli hastalarda prognozun kötü olduğu ve erken evre serviks kanserinde CD44 ekspresyonunun prognozu göstermede bağımsız bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (129-131).

Saegusa ve arkadaşlarının(132) servikal kanserli hastalarda yapmış olduğu bir çalışmada CD44 ekspresyonu ile tümörün histolojik tipi arasında bir korelasyon olduğu fakat prognoz ile korelasyonun olmadığı gösterilmiştir. Tokumo ve ark. da (133) benzer sonuçlar bulmuştur.

Başka bir çalışmada Gaducci ve arkadaşları servikal kanserlerde tedavi öncesi bakılan serum CD44 değerleri ile FIGO evrelemesi, tümörün histolojik tipi arasında bir korelasyon bulamamıştır (134).

Dellas ve arkadaşlarının servikal intraepitelyal neoplazili hastalarda yapmış olduğu bir çalışmada CD44 ekspresyonunun tümör hücre diferansiyasyonu ile korele olduğu gösterilmiştir (135).

Kainz ve arkadaşlarının servikal kanserli hastalarda yapmış olduğu bir çalışmada CD44 ekspresyonunun artışı ile lenf nodu metastazı arasında ilişki olduğu saptanmıştır (136) ve survi açısından diğer faktörlerden bağımsız kötü bir prognostik faktör olabileceği belirtilmiştir (137). Ayrıca neoadjuvant kemoterapi için belirleyici bir faktör olduğu ifade edilmiştir (138).

Hefler ve arkadaşlarının vulva kanserli hastalarda yaptığı çok merkezli bir çalışmada CD44 overekspresyonunun hastalıksız sağ kalım ve genel sağ kalımın azalması ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda CD44 ekspresyonu ile lenf nodu metastazı arasındaki ilişki; hasta sayısının azlığı ve lenf nodu diseksiyonu yapılmaması nedeniyle araştırılamamıştır. Yapılan bu çalışmada yeterli hasta sayısı ve yeterli lenf nodu diseksiyonu vardır. CD44 ekspresyonu ile tümör evresi, lenf nodu tutulumu ve tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. CD44 ekspresyonunun diğer klinikopatolojik parametrelerden bağımsız olarak sağ kalım hakkında önemli bilgi verebileceği gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada tedavi ile eş zamanlı serum CD44 değerlerine de bakılmış ve tümöral dokuda immunohistokimyasal olarak bakılan CD44 ekspresyon değerleriyle bir korelasyon bulunamamıştır (99). Bizim çalışmamızda ise CD44 ekspresyonu ile tümör evresi, lenf nodu tutulumu ve tümör diferansiyasyonu arasında istatistiksel anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Bundan dolayı diğer klinikopatolojik parametrelerden bağımsız olmayarak sağ kalımı etkilediği görülmüştür.

Tempfer ve arkadaşlarının vulva kanserli hastalarda yaptığı çalışmada CD44 ekspresyonu pozitif olan olgularla negatif olan olgular karşılaştırıldığında pozitif olguların daha kısa ve kötü sağ kalıma sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca CD44 ekspresyonu ile tümörün evresi, histolojik grade'i ve tedavi tipinin arasında bir ilişki bulunamamıştır (97).

Tempfer ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada erken evre vulva kanserlerinde CD44 ekspresyonunun prognoza etkisi araştırılmıştır. CD44 ekspresyonunun prognozu kötü etkilediği ve hastalıksız sağ kalım ile genel sağ kalım süresini azalttığı sonucu bulunmuştur. CD44 ekspresyonu olan hastaların nüks oranının daha fazla olduğunu saptamışlardır. Ayrıca CD44 ekspresyonu ile tümör diferansiyasyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır (98).

Tempfer ve arkadaşlarının endometrium kanserli hastalarda yaptığı çalışmada CD44 isoformlarının ekspresyonu ile prognostik faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. CD44 ekspresyonu kısa sağ kalım süresiyle ilişkili görülse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. CD44'ün genel sağ kalım açısından bağımsız bir prognostik faktör olmadığı sonucuna varılmıştır (139).

Ayhan ve arkadaşlarının endometrium kanserli hastalarda yapmış olduğu bir çalışmada CD44 ekspresyonunun yokluğu ile çok agresif tümör davranışı olabileceğini göstermişlerdir. CD44 ekspresyon kaybının yüksek nüks oranı ve kısa hastalıksız sağ kalım ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. CD44 ekspresyon yokluğu ile ileri evre ve derin myometriyal invazyon varlığının survi üzerinde bağımsız kötü prognostik faktör olabileceğini bildirmişlerdir (140). Bizim çalışmamızda ise bu çalışmaya ters olarak ekspresyonun artmasıyla sağ kalımın azalması sonucu çıkmıştır.

Fujita ve arkadaşlarının endometrium kanserli hastalarda yaptıkları bir çalışmada, kanser hücrelerinin %70'inden fazlasında CD44 ekspresyonu saptayamamışlar, hatta normal endometrium dokusundan anlamlı olarak daha az eksprese edildiğini göstermişlerdir. Hastaların evre, grade, myometriyal invazyon, peritoneal sitoloji ve lenf nodu metastazları açısından CD44 ekspresyonu arasında anlamlı fark saptayamamışlardır. Bununla beraber CD44 eksprese etmeyen kanser dokularında lenfovasküler alan invazyonunun yüksek insidanda olduğunu göstermişlerdir (141). Buna karşın Yorishima ve arkadaşlarının çalışmasında CD44 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında lineer korelasyon saptamışlardır (142).

Katsura ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, CD44 ekspresyonunun endometrium kanseri ve normal dokularda benzer oranlarda eksprese edildiklerini ve

endometrium kanserinde CD44'ün ekspresyonu ile metastaz gücü arasında ilişki olmadığını göstermişlerdir (143).

Hoshimoto ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada endometrium kanserinde CD44 ekspresyonuna bakmışlardır. CD44 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı, servikal ve adneksiyel metastaz arasında korelasyon saptayamamışlardır. Fakat myometriyal invazyon saptanmayan hastalarda güçlü CD44 ekspresyonu varlığını göstermişlerdir. Bunun da endometriyal kanser tanısı ve invazivliğinin saptanmasında kullanılabilir olduğunu savunmuşlardır (144).

Araştırmalar arasında farklılıklar olduğu görülmüştür. Bu farklı bulguların sebebinin teknik kullanım farkı, farklı antikör klonlarının farklı dilüsyonlarda kullanımı ve değerlendirmede kullanılan değişik yöntemlerden kaynaklanıyor olabileceği düşünüldü. Gerçekten de literatürde yer alan pek çok çalışmada kullanılan antikörlere baktığımızda hem çalışmaların kendi aralarındaki hem de bizim kullandığımız antikörler arasında firma, klonalite, inkübasyon ve dilüsyon farklılıkları mevcuttu (2,93,96,99,114). Ayrıca literatürde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edebilmek için daha fazla sayıda hasta grubunda, standardize metodlar kullanılarak araştırmaların yapılması gerektiği de vurgulanmaktadır (97,98).

Sonuç olarak; vulvar karsinomlu hastalar için yararlı olabilecek mevcut prognostik faktörler olan evre, diferansiyasyon, lenf nodu tutulumuna ek yeni markerların saptanması kritik önem taşımaktadır. Bu konu üzerinde yapılan çalışmalar devam etmekle birlikte, henüz bu hastalık için ideal prognostik faktörler tanımlanamamıştır. Günümüzde, evre ve lenf nodu metastazı prognoz belirlenmesinde en önemli parametrelerdir. Ancak bu parametreler bile bazı olgularda hastaların prognozunu belirlemede yetersiz kalmaktadır. Bu yüzden bu konu ile ilgili yeni prognostik belirleyiciler üzerine çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Son yıllarda tümör sitogenetiği, immünohistokimyasal olarak yeni belirteçlerin saptanması, serumda immunoblotting yöntemi ile bazı belirteçlerin varlığı ve bunların prognoza etkisi ve sonuçta tedavide yeni ajanların kullanımı ile ilgili olarak çalışmalar hızla devam etmektedir.

Bu çalışmada; hücre-hücre ve hücre-matrix arası adezyonda görev alan CD44 gibi neoplastik hücrelerin invaziv ve metastatik özellik kazanmasında önemli rol oynayan belirteçlerin klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi ve prognoza etkisi araştırıldı. CD44'ün

vulvar premalign lezyonlardaki ve normal vulvar dokudaki ekspresyonları ile vulvar karsinomlardaki ekspresyonları karşılaştırıldı.

1- CD44'ün epiteldeki ekspresyonu ile tümör evresi, lenf nodu tutulumu, invazyon derinliği ve diferansiyasyon derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde ettik. CD44 ekspresyonunun artmış olmasının ileri evre, lenf nodu pozitifliği, derin invazyon ve kötü diferansiyasyon ile ilişkili olduğunu bulduk. Ayrıca CD44 pozitif olan hastalarda sağ kalımın kötü etkilendiğini ve yaşam süresinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde kısa olduğu görüldü. Normal vulva dokusunda CD44 ekspresyonu anlamlı derecede düşüktü. VIN, liken skleroz ve malign hastalarda ise CD44 ekspresyonunun arttığı sonucuna varıldı. Ayrıca liken sklerozisli 3 olguda malignitede mevcuttu ve bu 3 olguda güçlü epitel boyanma kombine skoru mevcuttu. Liken sklerozisli hastalarda güçlü CD44 ekspresyonunun maligniteye dönüşüm yönünde bir gösterge olabileceği sonucu çıkarılabilir.

2- Diğer klinikopatolojik veriler karşılaştırıldığında: evre, diferansiyasyon, invazyon derinliği, lenf nodu metastazı ve genel sağ kalım süresi arasındaki ilişki anlamlı bulundu. Yaş ve tümör çapı ile diğer klinikopatolojik veriler arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

3- CD44'ün stromal ekspresyonu değerlendirildiğinde diğer klinikopatolojik verilerle anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

Bulgularımızın bir kısmı literatürü desteklerken bir kısmı da farklı olarak bulunmuştur. Ancak literatürdeki çalışmalar arasında da çok farklı sonuçlar mevcuttur. Tüm bu ilişkilerin net olarak ortaya konması için araştırmaların belirli histolojik tipleri içeren, standart bir immunohistokimya tekniği ve standart değerlendirmeler eşliğinde, daha fazla sayıda olguya sahip gruplar üzerinde yapılmasına ihtiyaç vardır.

ÖZET

Vulva kanseri, kadınlarda görülen tüm kanserlerin içinde % 1 oranında görülür ve nadirdir. Kadın genital sistemine ait malignitelerin %3-5'ini oluşturur. Vulvar karsinomlu hastalar için yararlı olabilecek mevcut prognostik faktörler olan evre, diferansiyasyon, lenf nodu tutulumuna ek yeni markerların saptanması kritik önem taşımaktadır. CD44 isoformları ; hücre-hücre ve hücre-matrix arası adezyonda görev alan transmembran glikoproteinleridir. CD44'ün anormal ekspresyonu hücre-hücre ve hücre-matrix arası adezyon kaybının ana faktörlerinden birini oluşturur. Neoplastik epitelyal hücrelerin invaziv ve metastatik özellik kazanmasında önemli rol oynar.

Amacımız vulvar karsinomlu ve vulvanın premalign lezyonlarından olan liken sklerozis ve vulvar intraepitelyal neoplazili hastalarda CD44 ekspresyonunun klinikopatolojik verilerle korelasyonunu ve prognoza olan etkilerini araştırmaktır.

Çalışmamızda; İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniklerine 1999-2010 yılları arasında başvurmuş ve Patoloji kliniğinde değerlendirilmiş; 26 invaziv skuamoz hücreli vulva kanseri tanısı alan hasta, vulvanın premalign lezyonlarından 6 VIN tanısı alan hasta, 10 liken sklerozis tanısı alan hasta ve vulvar biyopsi sonucu normal gelen 5 hasta yer almaktadır.

Preparatlara immünohistokimyasal yöntem ile uygulanan anti-CD44 boyasına göre; boyanma yüzdesi, boyanma yoğunluğu ve kombine değerleri, epitel ve stromada ayrı ayrı değerlendirildi ve klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldı. Evrelemede FIGO 2009 evreleme sistemi kullanıldı. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS for Windows 15.0 programı kullanıldı.

CD44'ün epiteldeki ekspresyonu ile tümör evresi, lenf nodu tutulumu, invazyon derinliği, diferansiyasyon derecesi ve sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde ettik. CD44 ekspresyonunun artmış olmasının ileri evre, lenf nodu pozitifliği, derin invazyon ve kötü diferansiyasyon ile ilişkili olduğunu bulduk. Ayrıca CD44 pozitif olan

hastalarda sağ kalımın kötü etkilendiğini ve yaşam süresinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde kısa olduğu görüldü. Normal vulva dokusunda CD44 ekspresyonu anlamlı derecede düşüktü. VIN, liken skleroz ve malign hastalarda ise CD44 ekspresyonunun arttığı sonucuna varıldı. Ayrıca liken sklerozisli 3 olguda malignitede eşlik ediyordu ve bu 3 olguda güçlü epitel boyanma kombine skoru mevcuttu. Liken sklerozisli hastalarda güçlü CD44 ekspresyonunun maligniteye dönüşüm yönünde bir gösterge olabileceği sonucu çıkarılabilir. Diğer klinikopatolojik veriler karşılaştırıldığında: evre, diferansiyasyon, invazyon derinliği, lenf nodu metastazı ve genel sağ kalım süresi arasındaki ilişki anlamlı bulundu. Kanserli hastalarda ileri evre, orta/kötü diferansiyason, lenf nodu pozitifliği, derin invazyon ve kısa sağ kalım süresi korelasyonu mevcuttu. Yaş ve tümör çapı ile diğer klinikopatolojik veriler arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. CD44' n stromal ekspresyonu değerlendirildiğinde diğer klinikopatolojik verilerle anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

Sonuç olarak; çalışmamızda elde edilen verilere göre CD44 ekspresyonunun tümör evresi, lenf nodu pozitifliği, invazyon derinliği ve diferansiyasyon derecesi ile korele olduğu ve sağ kalım süresini etkilemesi nedeniyle prognostik faktör olarak önemli olabileceğini gösterdik. Ancak prognozu öngörmede yeni biyolojik belirleyicilerin tespiti için araştırmaların belirli histolojik tipleri içeren, standart bir immunohistokimya boyası ve standart değerlendirmeler eşliğinde, daha fazla sayıda olguya sahip gruplar üzerinde çalışılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: CD44, vulva kanseri, immunohistokimya, liken sklerozis, VIN, adezyon molekülleri, vulva.

SUMMARY

Vulvar carcinoma accounts for 3-5% of all gynecological malignancies and 1% of all carcinomas in women. Prognostic factors in patients with carcinoma of the vulva, which may be useful for the present stage, differentiation, lymph node involvement is critical to determine the addition of new markers CD44 isoforms are transmembrane glycoproteins implicated in cell-cell and cell-matrix adhesion. Aberrant expression of CD44 mediated adhesion is likely to constitute one of the main factors leading to the reduced cell-cell and cell-matrix adhesion characteristics of tumor cells and play a pivotal role in the acquisition of invasive and metastatic properties by neoplastic epithelial cells.

The aim of our study was to evaluate whether CD 44 isoform expression is a prognostic factor in vulvar carcinom, lichen sklerosis and vulvar intraepithelial neoplasia and to correlate the expression with clinicopathological parameters.

In our study, we selected 26 cases who were underwent surgery for invasive vulvar cancer in Gynecology and Obstetric Department between 1999 and 2010, which specimens assessed in Pathology Clinical Department; 26 patients diagnosed with invasive squamous cell vulvar cancer, vulvar premalignant lesions of patients 6 diagnosed with VIN, 10 diagnosed with lichen sclerosis from patients and 5 patients with vulvar biopsy result is normal.

According to the anti-CD 44 stain which performed to the preparations by the methods of the immunohistochemistry; stain percents, intensity and combined value which occurs the combination of these two values compared with clinicopathologic paramaters. FIGO 2009 system used for staging. SPSS for Windows 15.0 used for statistical datas.

There was a statistical significance between epithelial expression of CD44 and age, diameter of tumor, depth of invasion, stage, lymph node metasyasis and overall survive. We found significant correlation between increased expression of CD44 and advanced stage, lymph node positivity, deep invasion and poor differentiation. Also adversely affected survival in patients with CD44-positive, and the short duration of life was found to be

statistically significant. CD44 expression was significantly lower than normal vulvar tissue. VIN, lichen sclerosis, and in patients with malignant concluded that increased expression of CD44. Lichen sclerosis was also associated with malignancy in 3 cases and 3 cases had a combined score of strong epithelial staining. Lichen Sclerosis patients as a result of strong CD44 expression may be an indicator of malignancy that can be removed. Compared to other clinicopathologic data: grade, differentiation, depth of invasion, lymph node metastasis and a significant correlation was found between overall survival. Advanced stage cancer patients, moderate / poor differentiation, lymph node positivity, deep invasion, and had a short survival correlation. Age and tumor size was not a significant relationship between the other clinicopathological data. Evaluation of stromal expression of CD44s correlated with other clinicopathological data was not found.

As a result, according to the data obtained in this study the expression of CD44, tumor stage, lymph node positivity was correlated with depth of invasion and differentiation, and may be important as a prognostic factor of survival demonstrated to affect. However, new biological markers for predicting the prognosis for the detection of specific histological types of research, including a standard immunohistochemistry staining and standard assessments, accompanied by the study of a greater number of groups with patients are needed.

Keywords: CD44, vulvar cancer, immunohistochemistry, lichen sclerosis, VIN, adhesion molecules, vulva.

KAYNAKLAR

- 1.Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics, 2006. CA Cancer J Clin 2006; 56:106-130.
- 2.M. Leblanc, C. Poncelet, D. Soriano F. Walker-Combrouze, P. Madelenat, J.Y. Scoazec E. Darai. Alteration of CD44 and cadherins expression: possible association with augmented aggressiveness and invasiveness of endometrial carcinoma. Virchows Arch (2001) 438:78–85.
- 3.Foster CD. Vulvar disease. The American College of Obstetricians and Gynecologists. 2002;100(1):145-63
- 4.Farage M, Maibach H. Lifetime changes in the vulva and vagina. Arch Gynecol Obstet 2006;273:195-202
- 5.Anson BJ. An atlas of human anatomy. Philadelphia. WB saunders, 1950:241
- 6.Ridley CM, Classification of Cutaneous Vulvar Disorders- International Society for the Study of Vulvovaginal Disease (ISSDV). Ed:Black M, McKay M, Braude PR, Jones SAV, Margesson LJ. Obstetric and Gynecologic Dermatology. 2nd edition. London, Mosby 2002
- 7.Campbell RM. The anatomy and histology of the sacrouterine ligaments. Am J Obstet. Gynecol. 1950;59:1
- 8.Foster CD. Vulvar disease. The American College of Obstetricians and Gynecologists. 2002;100(1):145-63
- 9.Leibowitch M, Staughton R, Neill S, Barton S, Marwood R : An Atlas of Vulval Disease. 2nd edition. London, Martin Dunitz, 1997
- 10.Moyal-Barracco M, Lynch PJ: 2003 ISSVD terminology and classification of vulvodynia: A historical perspective. J Reprod Med 2004;49:772–777
- 11.Sideri M, Jones RW, Wilkinson EJ, et al: Squamous vulvar intraepithelial neoplasia: 2004 modified terminology, ISSVD Vulvar Oncology Subcommittee. J Reprod Med 2005;50:807–810
- 12.Wilkinson EJ, Kneule BL, Lynch FW. Report of the ISSVD Terminology Committee: VIN. J Reprod Med. 1986;31:973-4
- 13.Lynch PJ, Moyal-Borocco M, Bogliatto F, Micheletti L, Scurry J. 2006 ISSVD Classification of Vulvar Dermatoses: pathologic subsets and their clinical correlates. The Journal of Reproductive Medicine 2007;52:3-9
- 14.Strgeon SR, Brinton LA, Devesa SS, et al. In situ and invasive vulvar cancer incidence trends (1973 to 1987). Am J Obstet Gynecol 1992;166:1482-1485
- 15.Ansink AC, Heintz AP. Epidemiology and etiology of squamous cell carcinoma of the vulva [review]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1993; 48: 111–5
- 16.Dr J.E. Palmer, MD, MRCOG, Consultant Gynaecological Oncologist; Mr A.M. Gillespie, MD, MRCOG, Consultant Gynaecological Surgeon and Oncologist, Royal Hallamshire Hospital, Sheffield. Diagnosis and management of squamous-cell vulval carcinoma Trends in Urology Gynaecology & Sexual Health 2010;15:2
- 17.Tidy JA, Soutter WP, Luesley DM, et al. Management of lichen sclerosus and intraepithelial neoplasia of the vulva in the UK. J R Soc Med 1996;89:699–701.
- 18.Royal College of Pathologists. Dataset for histological reporting of vulval neoplasms, version 2, 2nd edn. London: Royal College of Pathologists, 2008.
- 19.Jones RW, Rowan DM, Stewart AW. Vulvar intraepithelial neoplasia: aspects of the natural history and outcome in 405 women. Obstet Gynecol 2005;106:1319–26.
- 20.Jones RW. Vulval intraepithelial neoplasia: current perspectives. Eur J Gynaecol Oncol 2001;22:393-402

21. Smith J, Backes D, Hoots B, et al. Human papillomavirus type distribution in vulvar and vaginal cancers and their associated precursors. *Obstet Gynecol* 2009;113:917–24.
22. Basta A, Adamek K, Pitynski K. Intraepithelial neoplasia and early stage vulval cancer. Epidemiological, clinical, and virological observations. *Eur J Gynaecol Oncol* 1999;20:111–4.
23. Bloos JD, Liao SY, Wilczynski SP, et al: Clinical and histological features of vulvar carcinomas analysed for human papillomavirus status: evidence that squamous cell carcinoma of the vulva has more than one etiology. *Hum Pathol* 1991;22:711.
24. Nuova GJ, Delvenne P, MacConnel P, et al: Correlation of histology and detection of human papillom virus DNA in vulvar cancers. *Gynecol Oncol* 1991;43:275
25. Salim A, Wojnarowska F. Skin diseases affecting vulva. *Current Obstetrics & Gynaecology* 2005;15(2):97-107
26. Neill SM, Tatnall FM, Cox NH. Guidelines for the management of lichen sclerosus. *Br J Dermatol* 2002;147:640–9.
27. Tidy JA, Soutter WP, Luesley DM, et al. Management of lichen sclerosus and intraepithelial neoplasia of the vulva in the UK. *J R Soc Med* 1996;89:699–701.
28. Brinton LA, Nasa PC, Mallin K, et al: case control study of cancer of the vulva. *Obstet Gynecol* 1990;75:859.
29. Figge CD, Gaudenz R: invasive carcinoma of the vulva. *Am J Obstet Gynecol* 1974;119:382
30. Clinical guidelines of the management of the vulvar cancer. review 2009
31. Edgren G, Sparen P. Risk of anogenital cancer after diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia: a prospective population-based study. *Lancet Oncol* 2007;8:311–6.
32. Kalliala I, Anttila A, Pukkala E, et al. Risk of cervical and other cancers after treatment of cervical intraepithelial neoplasia: retrospective cohort study *BMJ* 2005;331:1183–5
33. Hacker NF. Surgery for malignant tumors of the vulva: In Gershenson DM, Curry S. (eds): *Operative Gynecology*: Philadelphia, WB, Saunders, 1993
34. Buscema J, Woodruff JD, Parmley TH, et al: Carcinoma in situ of the vulva. *Obstet Gynecol* 1980;55:225.
35. Di Saia PJ, Creasman WT, Rich WM: An alternative approach to early cancer of the vulva. *Am J Obstet Gynecol* 1979;133:2:825.
36. Hacker NF, Nieberg RK, Bewrek JS, et al: Superficially invasive vulvar cancer with nodal metastases. *Gynecol Oncol* 1983;15: 65.
37. Way S: The anatomy of the lymphatic drainage of the the vulva and its influence on the radical operation for carcinoma. *Ann R Coll Surg Engl* 1948;3:187.
38. Homesley HD: Management of vulvar cancer. *Cancer* 1995; Nov15;76:2159-70.
39. Homesley HD, Bundy BN, Sedlis A, Jordan E, Berek JS, Janhsan A, Mortel R: Prognostic factors for groin node metastasis in squamous cell carcinoma of the vulva (a Gynecologic Oncology Group study). *Gynecol Oncol.* 1993 Jun;49(3):279-83.
40. Homesley HD, Bundy BN, Sedlis A, Jordan E, Berek JS, Janhsan A, Mortel R: Assessment of current International Federation of Gynecology and Obstetrics staging of vulvar carcinoma relative to prognostic factors for survival. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164(4):997-1003.
41. Sedlis A, Homesley HD, Bundy BN, et al: Positive groin lymph nodes in superficial squamous cell vulvar cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156:1159

42. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynecol Obstet* 2009;105:103–104.
43. Levenback C, Burke TW, Gershenwald DM, et al. Intraoperative lymphatic mapping for vulvar cancer. *ObstetGynecol* 1994;84:163-167.
44. Levenback C, Burke TW, Morris M, et al. Potential applications of intraoperative lymphatic mapping in vulvar cancer. *Gynecol Oncol* 1995;59:216-220.
45. Rodier JF, Janser JC, Routiot T, et al. Sentinel node biopsy in vulvar malignancies: A preliminary feasibility study. *Oncol Rep* 1999;6:1249-1252.
46. Ansink AC, Sie-Go DM, van der Velden J, et al. Identification of sentinel lymph nodes in vulvar carcinoma patients with the aid of a patent blue V injection. *Cancer* 1999;86:652-656.
47. De Cicco C, Sideri M, Bartolomei M, et al. Sentinel node biopsy in early vulvar cancer. *Brit J Cancer* 2000;82:295-299.30 | Chapter 2
48. De Hullu JA, Hollema H, Piers DA, et al. Sentinel lymph node procedure is highly accurate in squamous cell carcinoma of the vulva. *J Clin Oncol* 2000; 18:2811-2816.
49. Shephard JH. Cervical and vulva cancer: changes in FIGO definitions of staging. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:405-406.
50. Magrina JF, Gonzalez-Bosquet J, Weaver AL, et al. Squamous cell carcinoma of the vulva stage IA: long-term results. *Gynecol Oncol* 2000;76:24-27
51. Tasserone EW, van der Esch EP, Hart AA, Brutel de la Riviere G, Aartsen EJ. A clinicopathological study of 30 melanomas of the vulva. *Gynecol Oncol* 1992;46(2):170-5.
52. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. *CANCER Principles and practice of oncology*. In: *Gynecologic tumors*. 4th ed. Pennsylvania, USA: J.B. Lippincott Company; 1993. p. 1152-62.
53. Panizzon RG. Vulvar melanoma. *Semin Dermatol* 1996;15(1):67-70.
54. Seegenschmiedt MH, Keilholz L, Altendorf-Hofmann A, Urban A, Schell H, Hohenberger W, et al. Palliative radiotherapy for recurrent and metastatic malignant melanoma: prognostic factors for tumor response and long-term outcome: a 20-year experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;44(3):607-18.
55. Trimble EL, Lewis JL Jr, Williams LL, Curtin JP, Chapman D, Woodruff JM, et al. Management of vulvar melanoma. *Gynecol Oncol* 1992;45:254-8.
56. Ridley CM. *Classification of Cutaneous Vulvar Disorders- International Society for the Study of Vulvovaginal disease (ISSDV)*. Ed: Black M, McKay M, Braude PR, Jones SAV, Margesson LJ. *Obstetric and Gynecologic Dermatology*. 2nd edition. London, Mosby 2002
57. Ferguson, M. W. J., and O’Kane, S. (2004) Scar-free healing: from embryonic mechanisms to adult therapeutic intervention. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 359, 839–850
58. *Textbook of Uncommon Cancer Third Edition*. Edited by D. Raghavan, M.L. Brecher, D.H. Johnson, N.J. Meropol, P.L. Moots, P.G. Rose. Associate Editor: I.A. Mayer., 2006, John Wiley & Sons, Ltd. *Tumors of the Vulva and Vagina*, page 521.
59. Parker RT, Duncan I, Rampone J, Creasman W. Operative management of early invasive epidermoid carcinoma of the vulva. *Am J Obstet Gynecol*. 1975 Oct

- 60.Podratz KC, Symmonds RE, Taylor WF: Carcinoma of the vulva: Analysis of the treatment failures. *Am J ObstetGynecol* 1982;143:340
- 61.Burke TW, Stringer CA, Gershenson DM, et al: Radical wide excision and selective inguinal node dissection for squamous cell carcinoma of the vulva. *Gynecol Oncol* 1990;38:328.
- 62.Ansink A, Stegeman M, van der Velden K, et al. Surgical interventions for early squamous cell carcinoma of the vulva. *Cochrane Database Syst Rev* 1999, Issue 4. Art. No.: CD002036.
- 63.Taussig FJ. Cancer of the vulva: An analysis of 155 cases. *Am J ObstetGynecol* 1940;40:764–70.
64. Way S. Carcinoma of the vulva. *Am J Obstet Gynecol* 1960;79:692–9.
- 65.DiSaia PJ, Creasman WT, Rich WM. An alternative approach to early cancer of the vulva. *Am J Obstet Gynecol* 1979;133:825–31.
- 66.Invasive Cancer of the Vulva. In: DiSaia PJ, Creasman WT, eds. *Clinical gynecologic oncology*. 6th ed. St. Louis, Missouri: Mosby; 2002:212–28.
- 67.Hacker NF. Vulvar cancer. In: Berek JS, Hacker NF, eds. *Practicalgynecologic oncology*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams &Wilkins; 2005.
- 68.Homesley HD. Lymph node findings and outcome in squamous cell carcinoma of the vulva. *Cancer* 1994;74:2399.
- 69.Van Doorn HC, Ansink A, Verhaar-Langereis MMJ, *et al.* Neoadjuvant chemoradiation for advanced primary vulvar cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2006, Issue 3. Art. No.: CD003752. DOI:10.1002/14651858.CD003752.pub2.
- 70.İrfan O ve ark.: Prostat ve vezikula seminalisin moleküler biyolojisi, endokrolojisi ve fizyolojisi. Çeviri Editörleri: M. Kadri A, M. Önder Y. *Campbell Üroloji Sekizinci Baskı*. 2005. Cilt 2: 1263-1265.
- 71.Osman İ. Moleküler Genetik ve Kanseri Biyolojisi. Çeviri Editörleri: M. Kadri A, M. Önder Y: *Campbell Üroloji Sekizinci Baskı* 2005. Cilt 4: 2650- 2651 .
- 72.Frenette P, Wagner D. Adhesion molecules-part I. *N Engl J Med*. 1996. 334:1527- 9.
- 73.Werle-Haller B, Imhof B. Integrin-dependent pathologies. *J Pathol*. 2003. 200:481-7.
74. Evans R, Perkins V. A tumor associated $\beta 1$ integrin mutation that abrogates epithelial differentiation control. *J Cell Biol* . 2003. 169: 589-96.
- 75.Abbas A, Lichtman AH. Maturation, activation and regulation of lymphocytes. In: *Cellular and Molecular Immunology*. 2003. 127- 241.
- 76.Behrens J: Cadherins as determinants of tissue morphology and suppressors of invasion, *Acta Anat (Basel)* 1994;149:165-169.
- 77.Alattia JR, Tong KI, Takeichi M, Ikura M: Cadherins, *Methods Mol Biol* 2002;172:199-210.
- 78.Lee SW: H-cadherin, a novel growth inhibitory function and diminished expression in human breast cancer, *Nature Med* 1996; 2:776-782.
- 79.Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990. 346: 425-34.
80. Kansas GS. Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood* 1996. 88: 3259-87.
- 81.Jung U, Ley K. Mice lacking two or all three selectins demonstrate overlapping and distinct functions for each selectin. *J Immunol*. 1999. 162: 6755 - 62.

82. Underhill CB, Gren SJ, Comoglio PM, et al. The hyaluronate receptor is identical to a glycoprotein of Mr 85000 (gp85) as shown by a monoclonal antibody that interferes with binding activity. *J Biol Chem* 1987; 262: 13142-13146
83. Knudson W, Knudson CB. Assembly of a chondrocyte-like pericellular matrix on non-chondrogenic cells. *J Cell Sci.* 1991; 99:227-235
84. Behzad F, Self WM, Campbell S, Aplin JD. Expression of two isoforms of CD44 in human endometrium. *Biol Reprod* 1994;51:739-747.
85. Woodman AC, Sugiyama M, Yoshida K et al. Analysis of anomalous CD44 gene expression in human breast, bladder, and colon cancer and correlation of observed mRNA and protein isoforms. *Am J Pathol* 1996;149:1519-1530.
86. Gunthert U, Hofmann M, Rudy W, Reber S, Zoller M, Haussmann I, Matzku S, Wenzel A, Ponta H, Herrlich P: A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to carcinoma cells. *Cell* 65:13-24, 1991.
87. Kopman G, Heider KH, Horst E, Adolf GR, Berg F, Ponta H, Herrlich P, Pals ST: Activated human lymphocytes and aggressive non-hodgkin's lymphomas express a homologue of the rat metastasis-associated variant of CD44. *J Exp Med* 177:897-904, 1993.
88. Kaufmann M, Heider KH, Sinn HP, Minckwitz G, Ponta H, Herrlich P: CD44 variant exon epitopes in primary breast cancer and length of survival (see comments). *Lancet* 345:615-619, 1995.
89. Rodriguez C, Monges G, Rouanet P, Dutrillaux B, Lenfant D, Theillet C: CD44 expression patterns in breast and colon tumors: A PCR-based study of splice variants. *Int J Cancer* 64:347-354, 1995.
90. Yamaguchi A, Saito M, Gio T, Iida A, Takeuchi K, Hirose K, Nakagawara G, Urano T, Furukawa K, Shiku H: Expression of CD44 variant exons 8-10 in gastric cancer. *Jpn J Cancer Res* 86:1166-1171, 1995.
91. Kallakury BV, Yang F, Figge J, Smith KE, Kausik SJ, Tacy NJ, Fisher HA, Kaufman R, Figge H, Ross JS: Decreased levels of CD44 protein and mRNA in prostate carcinoma: Correlation with tumor grade and ploidy. *Cancer* 78:1461-1469, 1996.
92. Herold MC, Seiter S, Born A, Patzelt E, Schupp M, Zoller J, Bosch FX, Zoller M: Expression of CD44 splice variants in squamous epithelia and squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Pathol* 179:66-73, 1996.
93. Hong SC, Song JY, Lee JK et al. Significance of CD44v6 expression in gynecologic malignancies. *J Obstet gynaecol Res*; 2006;32:379-386
94. Fujita N, Yaegashi N, Ide Y, Sato S, Nakamura M et al. Expression of CD44 in normal human versus tumor endometrial tissues: possible implication of reduced expression of CD44 in lymph-vascular space involvement of cancer cells. *Cancer Res* 1994;54:3922-3928.
95. Tempfer C, Haeusler G, Kaider A, Hefler L, Hanzal E, Reinthaller A et al. The prognostic value of CD44 isoform expression in endometrial cancer. *Br J Cancer* 1998;77:1137-1139.
96. Tokuma K, Kodama J, Seki N, Miyagi Y et al. CD44 exon 6 is not implicated in the progression and metastasis of endometrial cancer. *Cancer Lett* 1998;125:221-225.
97. Tempfer C, Gitsch G, Haeusler G, Reinthaller A, Koelbl H, Kainz C.: Prognostic value of immunohistochemically detected CD44 expression in patients with carcinoma of the vulva. *Cancer* 1996 Jul 15;78(2):273-7.
98. Tempfer C, Sliutz G, Haeusler G, Speiser P, Reinthaller A, Breitenrecker G, et al. CD44v3 and v6 variant isoform expression correlates with poor prognosis in early-stage vulvar cancer. *Br J Cancer* 1998;78:1091-4.

- 99.Hefler L, Concin N, Mincham D, Thompson J, Swarte N, Eijkeren M, Daisy M, Hammond I, McCartney A, Tempfer C, Speiser P: The Prognostic Value of Immunohistochemically Detected CD44v3 and CD44v6 Expression in Patients with Surgically Staged Vulvar Carcinoma A Multicenter Study 2002 American Cancer Society. *Cancer* 2002;94:125-30.
- 100.Liang Y, Fang T, Xu H, Zhuo Z. Expression of CD44v6 and Livin in gastric cancer tissue. *Chinese Medical Journal* 2012;125(17):3161-3165.
- 101.Kaufmann M, Heider KH, Sinn HP, Minckwitz G, Ponta H, Herlich P. CD44 variant exon epitopes in primary breast cancer and length of survival. *Lancet* 1995;345: 615-619.
- 102.Woodman AC, Sugiyama M, Yoshida K et al. Analysis of anomalous CD44 gene expression in human breast, bladder and colon cancer and correlation of observed mRNA and protein isoforms. *Am J Pathol* 1996;149:1519-1530.
- 103.Galluzzo E, Albi N, Fiorucci S. Involvement of CD44 variant isoform in hyaluronate adhesion by human activated T cells. *Eur J Immunol.* 1995. 25: 2932- 9.
- 104.Xin Y, Grace A, Gallagher MM, Curran BT, Leader MB, Kay EW. CD44v6 in gastric carcinoma : A marker of tumor progression. *Appl Immunohistochem Mol Morph* 2001;9 138-142
- 105.Yamaguchi A, Goi T, Yu J et al. Expression of CD44v6 in advanced gastric cancer and its relationship to hematogenous metastasis and long-term prognosis. *J Surg Oncol* 2002;79:230-235
- 106.Shimbori M, Kijima H, Sato S. Expression of CD44 in primary lung carcinomas using histological and cytological analyses. *Anticancer Res* 2003;23:115-121
- 107.Lucin K, Matusan K, Dordevic G, Stipic D. Prognostic significance of CD44 molecule in renal cell carcinoma. *Croat Med J* 2004;45:703-708
- 108.Ma W, Deng Y, Zhou L. The prognostic value of adhesion molecule in women with primary breast carcinoma: A clinicopathologic study. *Clin Oncol* 2005;17:258-263.
- 109.Lockhart MS, Waldner C, Mongini C et al. Evaluation of soluble CD44 in patients with breast and colorectal carcinomas and non-Hodgkin's lymphoma. *Oncol Rep* 1999;6:1129-1133.
- 110.Nihei Z, Ickawa W, Kojima K et al. The positive relationship between the expression of CD44 variant 6 and prognosis in colorectal cancer. *Surg Today* 1996;26:760-1.
- 111.Niitsu N, Iijima K. High serum soluble CD44 is correlated with poor outcome of aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Res* 2002;26:241-8.
- 112.Toma V, Hauri D, Schmid U et al. Focal loss of CD44 variant protein expression is related to recurrence in superficial bladder carcinoma *Am J Pathol* 1999;155:1427-32.
- 113.Comito MA, Savell VH, Cohen MB. Cd44 expression in neuroblastoma and related tumors. *J Pediatr Hematol Oncol* 1997;19:292-6.
- 114.Liang Y, Fang T, Xu H, Zhuo Z. Expression of CD44v6 and Livin in gastric cancer tissue. *Chinese Medical Journal* 2012;125(17):3161-3165.
- 115.Gu HP, Shang PZ. Expression and correlation of biotin and CD44v6 protein in gastric cancer. *J Xi'an Jiaotong Univ (Med Ed) (Chin)* 2007; 28: 415-417.
- 116.Li GS, Yao HT, Wang SQ. The relationship between the expression of CD44v6, vascular endothelial growth factor-C and lymphnode metastasis of gastric cancer. *Chin J Clin Drug Res (Chin)* 2005; 137: 14797-14798.

117. Ayhan A, Baykal C and Al A: Altered CD44 variant 6 expression in FIGO stage IB cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 83(3): 569-74, 2001.
118. Speiser P, Wanner C, Tempfer C, Mittelbock M, Hanzal E, Bancher-Todesca D, Gitsch G, Reinthaler A and Kainz C: CD44 is an independent prognostic factor in early-stage cervical cancer. *Int J Cancer* 74(2): 185-8, 1997.
119. Speiser P, Kridelka F, Tempfer C, Edwards L, Leodolter S, Kainz C and Hacker NF: CD44v6 expression is an independent prognostic factor in node-negative FIGO stage IB cervical carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 9(2): 160-165, 1999.
120. Kainz C, Kohlberg P, Tempfer C et al. Prognostic value of CD44 splice variants in human stage 3 cervical cancer. *Eur J Cancer* 1995;31: 1706-1709.
121. Kainz C, Kohlberg P, Sliutz G et al. Splice variants of CD44 in human cervical cancer stage 1B to 2B. *Gynecol Oncol* 1995;57: 383-387.
122. Saegusa M, Hashimura M, Machida D and Okayasu I: Downregulation of CD44 standard and variant isoforms during the development and progression of uterine cervical tumours. *J Pathol* 187(2): 173-83, 1999.
123. Tokumo K, Kodama J, Seki N, Miyagi Y, Yoshinouchi M and Kudo T: CD44 exon v6 correlates with cellular differentiation but not with progression and metastasis of cervical cancer. *Eur J Cancer* 34(13): 2107-11, 1998.
124. Horn LC, Raptis G, Fischer U et al. CD44v6 concentrations in carcinoma of the uterine cervix: Lack of prognostic significance. *Arch Gynecol Obstet* 2005;273: 104-106.
125. Hong SC, Song JY, Lee JK, Lee NW, Kim SH, Yeom BW, Lee KW. *J Obstet Gynaecol Res.* 2006 Aug;32(4):379-86.
126. Bouda J, Boudova L, Hes O, Havir M, Tempfer C, Kohlberger P, Svoboda T, Rokyta Z and Speiser P : CD44v6 as a Prognostic Factor in Cervical Carcinoma FIGO Stage IB. *Anticancer Research* 25: 617-622 (2005).
127. Biesold C, Kohler U, Horn LC, Bilek K, Kade R and Emmert C: CD 44 exon v6 as a predictor of lymphatic metastases in cervical carcinoma--an immunocytochemical study of 94 cases. *Arch Gynecol Obstet* 256(3): 147-53, 1995.
128. Kainz C, Tempfer C, Kohlberger P, Janisch S, Koelbl H, Gitsch G and Breitenecker G: Immunohistochemical detection of adhesion molecule CD44 splice variants in lymph node metastases of cervical cancer. *Int J Cancer* 69(3): 170-3, 1996.
129. Ayhan A, Baykal C and Al A: Altered CD44 variant 6 expression in FIGO stage IB cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 83(3): 569-74, 2001.
130. Speiser P, Wanner C, Tempfer C, Mittelbock M, Hanzal E, Bancher-Todesca D, Gitsch G, Reinthaler A and Kainz C: CD44 is an independent prognostic factor in early-stage cervical cancer. *Int J Cancer* 74(2): 185-8, 1997.
131. Speiser P, Kridelka F, Tempfer C, Edwards L, Leodolter S, Kainz C and Hacker NF: CD44v6 expression is an independent prognostic factor in node-negative FIGO stage IB cervical carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 9(2): 160-165, 1999.
132. Saegusa M, Hashimura M, Machida D and Okayasu I: Downregulation of CD44 standard and variant isoforms during the development and progression of uterine cervical tumours. *J Pathol* 187(2): 173-83, 1999.

- 133.Tokumo K, Kodama J, Seki N, Miyagi Y, Yoshinouchi M and Kudo T: CD44 exon v6 correlates with cellular differentiation but not with progression and metastasis of cervical cancer. *Eur J Cancer* 34(13): 2107-11, 1998.
- 134.Gadducci A, Ferdeghini M, Cosio S, Annicchiarico C, Fanucchi A, Prontera C, Bianchi R and Genazzani AR: The serum assay of soluble CD44 standard (sCD44-st), CD44 splice variant 5 (sCD44-v5), and CD44 splice variant 6 (sCD44-v6) in patients with cervical cancer. *Anticancer Res* 18(1B): 537-9, 1998.
- 135.Dellas A, Schultheiss E, Almendral AC, Torhost J, Gudat F: Expression of CD44 and variant isoforms in cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 1996;62:218-25.
- 136.Kainz C, Tempfer C, Kohlberger P, Janisch S, Koelbl H, Gitsch G, et al: Immunohistochemical detection of adhesion molecule CD44 splice variants in lymph node metastases of cervical cancer. *Int J Cancer* 1996;69:170-3.
- 137.Speiser P, Wanner C, Tempfer C, Mittelbock M, Hanzal E, Bancher-Todesca D, et al. CD44 is an independent prognostic factor in early-stage cervical cancer. *Int J Cancer* 1997;74:185-8.
- 138.Costa S, Terzano P, Bovicelli A, Martoni A, Angelelli B, Santini D, et al. CD44 isoform 6 (CD44v6) is a prognostic indicator of the response to neoadjuvant chemotherapy in cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 2001;80:67-73.
- 139.Tempfer C, Haeusler G, Kaider A, Hefler L, Hanzal E, Reinthaller A, Breitenecker G and Kainz Ch. The prognostic value of CD44 isoform expression in endometrial cancer. *British Journal of Cancer* 1998;77:1137-1139.
- 140.Ayhan A, Tok EC, Bildirici İ, Ayhan A. Overexpression of CD44v6 in human endometrial cancer and its prognostic significance. *Gynecol Oncol* 2001;80:355-358.
- 141.Fujita N, Yaegashi N, Ide Y, Sato S, Nakamura M et al. Expression of CD44 in normal human versus tumor endometrial tissues: possible implication of reduced expression of CD44 in lymph-vascular space involvement of cancer cells. *Cancer Res* 1994;54:3922-3928.
- 142.Yorishima T, Nagai N, Ohama K. Expression of CD44 alternative splicing variants in primary and lymph node metastatic lesions of gynecological cancer. *Hiroshima J Med Sci* 1997;46:21-9.
- 143.Katsura M, Furumoto H, Nishimura M, Kamada M, Aona T. Overexpression of CD44 V6 and V7 in human endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1998;71:185-189
- 144.Hoshimoto K, Yamauchi N, Takazawa Y, Onda T, Taketani Y, Fukayama M. CD44 V6 in endometrioid carcinoma of uterus. *Pathol Res Pract* 2003;199:71-77.
- 145.Ingvansson S, Dahlenborg K, Carlsson R, Borrebaeck CA. Co-ligation of CD44 on naive human tonsillar B cells induces progression towards a germinal center phenotype. *Int Immunol.* 1999 May;11(5):739-44.
- 146.Hämäläinen K, Kosma VM, Eloranta ML, Tammi R, Tammi M, Leppänen M, Leppänen M, Heinonen S, Anttila M. Downregulated CD44 and hyaluronan expression in vulvar intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinomas. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2010;89(1):108-19.
147. Kaya G, Augsburg E, Stamenkovic I, Saurat JH. Decrease in epidermal CD44 expression as a potential mechanism for abnormal hyaluronate accumulation in superficial dermis in lichen sclerosus et atrophicus. *J Invest Dermatol.* 2000 Dec;115(6):1054-8.