

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

**PREMALİGN VE MALİGN LARİNKS LEZYONLARINDA**  
**TANISAL FIRÇA SİTOLOJİSİNİN ROLÜ**

**Dr. Çağatay DENİZ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA**

**2021**



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

**PREMALİGN VE MALİGN LARİNKS LEZYONLARINDA**  
**TANISAL FIRÇA SİTOLOJİSİNİN ROLÜ**

**Dr. Çağatay DENİZ**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Nilda SÜTAY SÜSLÜ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA**

**2021**

## TEŞEKKÜR

*Öncelikle danışman hocam Prof. Dr. Nilda SÜTAY SÜSLÜ olmak üzere, uzmanlık eğitimimin tüm aşamalarında yanımda olan, bu süreç boyunca sabırla ve sevgiyle bana yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı öğretim üyelerine en içten saygı ve şükranlarımı sunuyorum.*

*Çalışmamın sitoloji kısmında bana verdikleri destekten dolayı Doç. Dr. Sevgen Çelik Önder'e teşekkür ederim.*

*Uzmanlık eğitimi boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma ve bana yardımcı olan tüm sağlık personeline en içten teşekkürlerimi sunarım.*

*Bugüne gelmemde büyük rolü olan aileme ve en zor zamanlarımda desteğini benden esirgemeyen sevgili eşim Yağmur Deniz'e ve biricik oğlum Pamir Deniz'e en içten sevgilerimi sunuyorum.*

## ÖZET

**Deniz C. , Premalign Ve Malign Larinks Lezyonlarında Tanısal Fırça Sitolojisinin Rolü, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2021.** Larinks kanserleri baş boyun cerrahları açısından ayrı bir öneme sahip kanserlerdir. Baş-boyun kanserleri içerisinde ülkemizde 1. sıklıkta görülmektedir. Özellikle son 10 yılda insidansı önemli ölçüde artarak dünyanın en sık görülen kanserleri arasında yerini almıştır. Larenks kanseri, zamanında tanı konulup, uygun tedavi yapıldığında iyileşme şansı olan bir malignitedir. Hastalığa erken tanı koymak ve tedavisine erken ve etkili bir şekilde karar vermek baş boyun cerrahları için önem arz eder. CD44, transmembran yerleşimli glikoprotein yapıda bir reseptör proteindir. Yapılan çalışmalarda, kanser kök hücresi belirteci olarak değerlendirilmiş, tümör büyümesi ve metastazı ile ilgili olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızın amacı, premalign ve malign laringeal lezyonlara tanı koyma aşamasında biyopsi ile, immünohistokimyasal olarak CD44 boyama derecesi ile güçlendirilmiş sitomorfolojik incelemenin karşılaştırılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda biyopsi alınması planlanan hastalardan biyopsi öncesi laringeal fırça ile örnek alınmıştır. Örneklerde immünohistokimyasal olarak CD44 boyanma derecesi ile birlikte sitomorfolojik bakı da yapılmıştır. Ardından sonuçlar, biyopsi örneklerinin patolojik inceleme sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Yapılan bu incelemeler sonucunda immünohistokimya ile güçlendirilmiş sitomorfolojik incelemenin, tanı koyma konusunda tek başına sitolojiden daha etkin olduğu görülmüştür. Bu sonuçlarla birlikte fırça sitolojisinin şüpheli malign lezyonlarda, tanı koymada güvenli bir araç olarak kullanılabileceği değerlendirilmiştir. Fırça sitolojisinin hızlı ve güvenilir bir şekilde alınabilmesi, işlemin ofis prosedürü olarak da kullanılabileceğini düşündürmüştür. Ancak laringeal fırça sitolojisinin yanlış negatif sonuçlarından dolayı, premalign larinks lezyonlarında tarama aracı olarak veya tedavi sonrası takip aracı olarak kullanılması uygun görülmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Larinks Kanseri; Biyopsi; Fırça Sitolojisi; CD44; İmmünohistokimyasal inceleme

## ABSTRACT

**Deniz C. , The Utility of Diagnostic Brush Cytology in Diagnosis of Premalignant and Malignant Laryngeal Lesions, Hacettepe University, Faculty of Medicine, Thesis in Otorhinolaryngology, Ankara, 2021.** Laryngeal cancer is an important cancer subtype for Head and Neck Surgeons. It is the most common head&neck cancer subtype in Turkey. With increasing incidence in the last 10 years, it is now one of the most common cancer subtypes in the world. When detected and treated early, the laryngeal cancer can be curable. Thus, early diagnosis and fast and efficient treatment planning is pivotal for Head and Neck Surgeons. CD44 is a transmembrane cellular receptor protein which has glycoprotein structure. It has been regarded in many studies as an indicator of tumor stem cells and has been associated with tumor growth and metastasis. The aim of our study is to compare the diagnostic efficiency of CD44 augmented brush cytology and generic laryngeal biopsy. To that aim, the laryngeal brush cytology was obtained from the patients prior to the planned biopsy. Cytomorphologic analysis and CD44 staining has been performed in the brush cytology specimens. The statistical analysis showed that the diagnostic efficacy of the cytomorphologic examination improves with the addition of CD44 staining. The procedure for obtaining the brush cytology is fast and safe, therefore it is possible that it can be performed in the office setting. Because of the relatively high false-negative rate, it's use in the screening and post-treatment follow-up of premalignant laryngeal lesions is discouraged.

**Keywords:** Laryngeal cancer; Biopsy; Brush cytology; CD44; Immunohistochemistry

# İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>i</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİLLER</b> .....	<b>vii</b>
<b>TABLolar</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Larinks Anatomisi ve Embriyolojisi .....	3
2.1.1 Larinks Kıkırdakları.....	3
2.1.2. Larinks Eklemleri .....	7
2.1.3. Larinks Damarları .....	8
2.1.3. Larinks Kasları.....	8
2.1.3 Larinks Membran ve Ligamentleri .....	10
2.1.3 Larinks İnnervasyonu .....	12
2.1.3 Larinks İnternal Anatomisi .....	12
2.2. Larinks Fizyolojisi (Fonksiyonları).....	14
2.3. Premalign Larinks Lezyonları .....	15
2.3. Larinks Kanseri .....	21
2.3.1. Epidemiyoloji .....	21
2.3.2. Etiyoloji .....	22
2.3.3. Histopatoloji .....	22
2.3.4. Semptomlar ve Tanı Yöntemleri.....	24
2.3.5. Tipleri ve Yayılım Yolları .....	26
2.3.6. Evreleme .....	28
Evreleme: .....	31
2.5. Kanser Biyobelirteçleri.....	32
2.5.1. CD44'ün Yapısı ve İşlevi .....	33
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>35</b>
3.1. Bireyler .....	35

3.2. Cerrahi Öncesi Değerlendirme .....	35
3.3. Cerrahi Prosedür .....	36
3.4. Sitomorfolojik Boyama ve Değerlendirme .....	38
3.5. İmmünohistokimyasal Boyama ve Değerlendirme .....	39
3.6. Histolojik Boyama ve Değerlendirme .....	39
3.7. İstatistik Değerlendirme .....	40
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>41</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>50</b>
<b>6. SONUÇLAR .....</b>	<b>58</b>
<b>6. KAYNAKÇA .....</b>	<b>59</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>SCC</b>	: Skuamöz Hücreli Karsinom
<b>BT</b>	: Bilgisayarlı Tomografi
<b>MRG</b>	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>AJCC</b>	: American Joint Commite On Cancer
<b>PAP</b>	: Papanicolaou
<b>HA</b>	: Hyalüronik Asit
<b>MMPs</b>	: Matriks Metalloproteinazları
<b>HPV</b>	: Human(İnsan) Papilloma Virüsü
<b>TNM</b>	: Tümör Nodal Metastaz
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1:</b> Larinksin kıkırdak, membran ve ligamentlerinin anatomik görünümü.....	4
<b>Şekil 2:</b> CD44 Molekülünün Yapısı ve İşlevi.....	34
<b>Şekil 3:</b> Örneklerin alınması sırasında kullanılan sitoloji fırçası.....	37
<b>Şekil 4:</b> Taşıma Kabı (%21.7 Etanol, %1.2 Metanol, %1.1 İzopropanol).....	37
<b>Şekil 5:</b> BD Surepath Sıvı Bazlı Sitoloji Cihazı .....	38
<b>Şekil 6:</b> Sitomorfolojik olarak benign hücrelerin görünümü (PAP boyama x400) ...	42
<b>Şekil 7:</b> Sitomorfolojik olarak malign hücrelerin görünümü (PAP boyama x400) ...	43
<b>Şekil 8:</b> CD 44 sinyal intensitesi normal olarak değerlendirilen hücrelerin görünümü (ThinPrepx400) .....	43
<b>Şekil 9:</b> CD 44 sinyal intensitesi 1+ olarak değerlendirilen hücrelerin görünümü (ThinPrepx400) .....	44
<b>Şekil 10:</b> CD 44 sinyal intensitesi 2+ olarak değerlendirilen hücrelerin görünümü (ThinPrepx400) .....	44
<b>Şekil 11:</b> CD 44 sinyal intensitesi 3+ olarak değerlendirilen hücrelerin görünümü (ThinPrepx400) .....	45

## TABLÖLAR

<b>Tablo 1:</b> Laringeal Displazi için derecelendirme sistemlerinin karşılaştırılması .....	19
<b>Tablo 2:</b> TNM evreleme sistemi, 8. baskı (AJCC) .....	29
<b>Tablo 3:</b> Metastaz Basamakları ile İlişkili Moleküller .....	32
<b>Tablo 4:</b> Histoloji Sonuçlarının Dağılımı.....	41
<b>Tablo 5:</b> Sitomorfoloji Sonuçlarının Dağılımı .....	41
<b>Tablo 6:</b> CD44 Boyanma Derecesi Sonuçlarının Dağılımı .....	42
<b>Tablo 7:</b> Histoloji Sonuçları ile Sitomorfoloji Sonuçlarının İlişkisi .....	45
<b>Tablo 8:</b> Histoloji Sonuçları ile CD44 Boyanma Derecesi Sonuçlarının İlişkisi .....	46
<b>Tablo 9:</b> Histoloji Sonucunun Sitomorfoloji + CD44 Boyanma Derecesi Sonucuna göre Dağılımı (Grup Birleştirmesi Olmadan).....	47
<b>Tablo 10:</b> Histoloji Sonucunun Sitomorfoloji + CD44 Boyanma Derecesi Sonucuna göre Dağılımı (Grup Birleştirmesi) .....	48
<b>Tablo 11:</b> Sensitivite, Spesifite, Pozitif Prediktif, Negatif Prediktif Olasılıkları .....	49

# 1. GİRİŞ

Larinks kanserleri baş boyun cerrahları açısından ayrı bir öneme sahip kanserlerdir. Larinks kanserleri baş ve boyun kanserlerinin yaklaşık üçte birini oluşturmaktadır [1]. Bu bölge kanserleri en son Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde en sık görülen kanserler sıralamasında %2.4 oranıyla 9. sırada yer almaktadır [1]. Bu oran ABD’de daha düşüktür, bunun nedeni ülkemizde tütün ürünlerinin daha sık tüketilmesi ile alakalı olabilir. Erkeklerde görülme oranı kadınlardan fazladır [2]. Görülme sıklığı 50’li yaşlardan sonra artış gösterir ve 70-80 yaşları arasında en sık görülme oranlarına sahiptir [1]. 2016 yılında ABD’de yapılan bir istatistik çalışmasında her yıl 13430 yeni larinks kanseri vakası tanısı konduğu ve yıl içinde 3620 hastanın larinks kanseri nedeniyle hayatını kaybettiği sonucuna varılmıştır [3].

Larinks kanserlerinin bu denli sık görülmesi ve yüksek mortalite oranları, hastalığın önemini bir kez daha vurgulamaktadır. Hastalısız yaşam süresinin artırılması ve organ koruyucu tedavi yöntemlerinin mümkün kılınması için, larinks kanserleri hakkında gün geçtikçe daha çok çalışma yapılmaktadır. Bu malignitenin yüksek insidansı ve düşük sağkalım oranı, doğal olarak bizleri, daha etkili teşhis yaklaşımları geliştirmek teşvik etmektedir.

Larinks kanserleri tanısında kullanılan altın standart yöntem biyopsidir. Bu işlem genellikle genel anestezi altında yapılır. Ek morbiditesi bulunan hastaların anestezi hazırlıkları ve anestezi öncesi alınan önlemler gereği, hastalardan biyopsi alınma süreleri değişkenlik göstermektedir. Ek morbiditesi bulunan hastalar işlem öncesi hastaneye yatırılmakta ve sağlık sistemine ekonomik olarak da ek yük oluşturmaktadırlar.

Larinks kanserinin nispeten düşük 5 yıllık sağkalım oranı ve çoğu ülkede sağlıklıla birlikte hekimlerin, ekonomik konulara da odaklanması nedeniyle, daha az invaziv, kolay uygulanabilir ancak eşit derecede verimli, yeni bir teşhis yaklaşımı gerekliliği doğmaktadır.

Bu çalışmaya 2021 yılının mart ve eylül ayları arasında, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda larinks kanseri şüphesi ile biyopsi önerilen 42 hasta dahil edilmiştir. Hastalardan, biyopsi alınması öncesinde laringeal fırça ile örnek alınmıştır. Alınan örneklere immünohistokimyasal olarak güçlendirilmiş sitomorfolojik yöntemle tanı koyulmuş ve sonuçlar biyopsi sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmada amacımız, fırça sitolojisi ile laringeal lezyonlardan alınan örnekte, immünohistokimyasal olarak CD44 ve sitomorfolojik özelliklerin bakılmasının, larinks kanseri tanısı koymada biyopsiye yakın oranda değerli olup olmadığını araştırmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Larinks Anatomisi ve Embriyolojisi

Larinks, boynun ön kısmında yerleşen nefes alma, konuşma ve aspirasyondan korunma gibi fonksiyonları olan önemli bir organdır. Larinks embriyolojik olarak iki farklı taslaktan gelişir. Bukkofaringeal tomurcuktan supraglottis, trakeobronşiyal tomurcuktan ise glottis ve subglottis gelişim gösterir. Larinksin gelişimi postnatal dönemde de devam eder, 25 yaşlarında kemikleşmeye başlar ve 65 yaş civarında bu kemikleşme tamamlanır [4].

Erişkin insanda larinksin üst sınırı tiroid kıkırdağın üst kenarı veya 3. servikal vertebranın korpusunun alt kenarından geçen yatay bir plan ile alt sınırı krikoid kıkırdak alt kenarı veya 6. servikal vertebra korpusunun alt kenarından geçen yatay plandır. Kısaca larinks trakea ile hyoid kemik arasında yerleşmiştir. Çocuklarda ise larinks erişkinlere kıyasla yüksekte olup 1-4 servikal vertebralar arasında yerleşir. Yaş ilerledikçe larinks, aşağıya iner ve puberte çağında yetişkindeki halini alır [5].

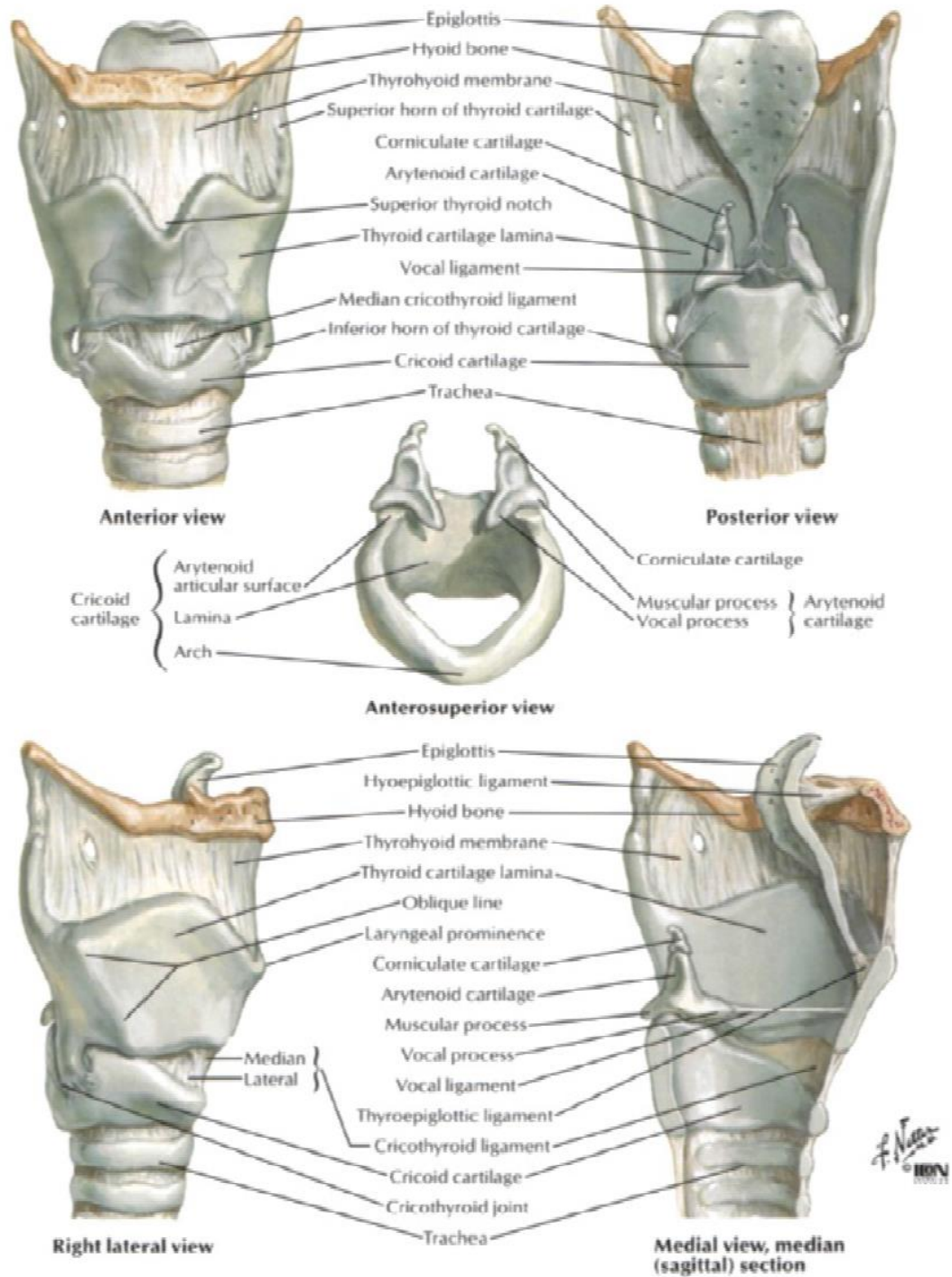
Larinks, tek olarak tiroid, krikoid ve epiglot ve çift olarak da aritenoid küneiform ve kornikulat kıkırdakları içerir, hyoid kemik ile bunları birbirine bağlayan kaslar, ligamanlar ve membranlardan oluşur [6].

#### 2.1.1 Larinks Kıkırdakları

Larinks kıkırdakları 3 tek 3 çift olmak üzere 9 adettir. Bu kıkırdaklar larinksin iskeletini oluştururlar.

#### **Tek Kıkırdaklar**

Üç tanedirler. Tiroid, krikoid ve epiglot kıkırdaklarıdır. Tiroid ve krikoid kıkırdak hiyalin yapıda, epiglot kıkırdak ise elastik kıkırdak yapısındadır.



**Şekil 1:** Larinksin kıkırdak, membran ve ligamentlerinin anatomik görünümü [7]

**Tiroid kıkırdak:** Larinksin en büyük kıkırdağıdır. Tiroid çıkıntından kartilajın inferior kenarına kadar olan vertikal mesafe erkeklerde 20-47 mm, kadınlarda ise 15-38 mm arasındadır ve anterior komissür bu mesafenin ortasında yer alır. Tiroid kıkırdak iki laminadan oluşur, hyalin yapıda olan tiroid kıkırdak perikondrium ile

kaplıdır. İki laminası erkeklerde 90 derece, kadınlarda ise 120 derece'lik bir açı oluşturacak şekilde birleşir. Her iki laminanın arka sınırında aşağı ve yukarı doğru uzantıları vardır. Aşağı doğru olan uzantıya inferior, yukarı doğru olana ise süperior kornu denir. İnférieur kornu, krikoid kıkırdak ile eklem yaparken, superior kornu ise bir ligaman ile hyoid kemiğe bağlanır. Tiroid kıkırdağın hem iç yüzü, hem de dış yüzü perikondrium ile kaplıdır. İç perikondrium dış perikondriyuma göre kıkırdağa daha sağlam yapışmıştır. Dış perikondrium, arka kenarda daha fazla olmak üzere, alt ve üst kenarlara daha sıkıca yapışır. İç yüzde tiroid çentik ile alt kenar arasındaki mesafenin yaklaşık olarak ortasına denk gelen yerde küçük bir kabartı vardır. Buraya Broyle Ligamanı da denilen ön komisür tendonu yapışır, bu ligaman kan damarları ve lenfatikleri içerir. Perikondrium olmayan bu alan tümörün invazyonu için önemlidir. Epiglotun petiolü bu noktanın yaklaşık 1 cm kadar üzerine tiroepiglottik ligaman vasıtasıyla yapışır. Tiroid kıkırdağın alt kenarına krikotiroid membran, üst kenarına tirohyoid membran yapışır [8].

**Krikoid Kıkırdak:** Krikoid kartilaj, tam halka şeklindedir, tiroid kıkırdağa göre daha kalın ve güçlüdür fakat daha küçüktür. Ön kısmı arka kısma göre daha dardır ve arkus krikoida adını alır ve yaklaşık 5-7 mm yüksekliğindedir. Arka kısmı erkeklerde 25-30 mm, kadınlarda ise yaklaşık 20 mm yüksekliğinde geniş bir laminadan oluşur. Laminanın üst tarafında aritenoid kıkırdakla eklem yapan eklem yüzleri bulunur. Arka-yan yüzünde ise inferior tiroid kornularıyla eklem yapan yüzleri bulunur. Arka laminasının arka yüzeyinde özefagusun longitudinal liflerinin yapıldığı bir kabarıklık bulunur [9]. Krikoid kıkırdağın laminası arkadan öne doğru gidildikçe öndeki arkı meydana getirmek için aşağıya doğru dik bir eğim oluşturur. Acil krikotirotomi, krikoid ve tiroid kıkırdak arasındaki krikotiroid membranın insiyonu ile mümkündür.

**Epiglot:** Elastik kıkırdak yapısında olup ince bir yapıdır. Dil kökü ve hyoid kemik arkasında yer alır ve larinks girişini oluşturur. Epiglotun serbest ucu kalındır ve aşağı doğru incelerek petiolus adını alır. Petiolus, ön komisürün üzerinde tiroid laminaya yapışan yeridir. Epiglotun ön orta kısmı dile, bir adet median ve iki adet lateral glossoepiglottik plika ile tutunur. Bu plikalar ile dil kökü ve epiglotun anterioru arasında kalan çöküklük vallekula olarak adlandırılır. Epiglot, hyoide ön alt yüzeyinde



hyoepiglottik ligaman ile bağlanır. Epiglotun lateralinden farenks lateral duvarına uzanan kıvrıma farengoepiglottik plika adı verilir. Epiglotun larengeal parçasının ön kısmında tabanı tiroepiglottik ligaman ile sınırlanan bir yağ yastığı vardır ve yutkunma esnasında epiglot yukarı ve öne doğru hareket ederek larenksin girişini kapatır, bolusun geçmesini sağlar. Hyoid kemiğin üstünde kalan epiglot 1/3 üst kısmı serbest olup her iki yüzü de mukoza ile kaplıdır ve marjinal bölgeye ait olarak kabul edilir [10].

### **Çift Kıkırdaklar:**

Aritenoid, kuneiform ve kornikulat kıkırdak olmak üzere üç adet çift kıkırdak bulunur.

**Aritenoid Kıkırdaklar:** Çift kıkırdakların en büyüğüdür. Piramit şeklinde bir yapısı vardır ve krikoid kıkırdağın arka bölümü üzerinde yer alırlar. Arytenoid kıkırdakların tabanında iki adet çıkıntı vardır. Bu çıkıntılardan önde olanına, vokal proçes adı verilir. Bu yapı vokal ligaman ve vokal kasın yapışma yeridir. Vokal kordların abdüksiyonu ve addüksiyonu oldukça esneyebilen bir eklem olan krikoarytenoid eklem sayesinde gerçekleşir. Bu eklem yüzeyi, aritenoid kıkırdağın üzerinde rotasyon veya kayma hareketini sağlamak için kavisli bir yapıdadır. Bu nedenle, aritenoid kıkırdak öne ve arkaya doğru da yer değiştirebilir. Lateralde olan diğer çıkıntıya musküler proçes denir. Bu yapıya, lateral ve posterior krikoaritenoid kas tutunur [11].

**Kornikulat Kıkırdaklar:** Aritenoid kıkırdakların tepesi ile eklem yapan küçük, fibroelastik yapıda kıkırdaklardır. Santorini kıkırdakları da denir [11].

**Kuneiform Kıkırdaklar:** Kornikulat kıkırdakların önünde, ariepiglottik plika içerisinde yerleşmiş olan bu kıkırdakların pasif olarak destek fonksiyonları bulunur. Wrisberg kıkırdağı da denir [12]. Kornikulat ve kuneiform kıkırdaklar, ariepiglottik katlantıya destek sağlayarak yapının siper fonksiyonunu güçlendirmede rol oynarlar. Bu sayede yutma sırasında yiyeceğin larinks lateralinde bulunan piriform sinüslere dolmasına yardımcı olurlar.

**Hyoid Kemik:** Dil kemiği olarak da bilinen hyoid kemik tam olarak larinksin bir parçası değildir. Ancak tirohyoid membran ve ekstrinsik kasların tutunmasıyla, fonksiyonel olarak larinksin bir parçası olarak görev yapar. Hyoid kemik ortada bir korpus ve yanlara uzanan birer çift büyük ve küçük kornulardan oluşur. Preepiglottik mesafenin ön bölümünü oluşturur. Suprahyoid ve infrahyoid kaslar arasında asılıdır. Başka kıkırdak veya kemik yapılar ile eklem yapmaz [13].

### 2.1.2. Larinks Eklemleri

Larinksin iki önemli eklemi bulunur. Bunlar krikotiroid eklem ve krikoaritenoid eklemdir. Bu eklemlerin her ikisi de gerçek sinoviyal eklemlerdir.

**Krikotiroid Eklem:** Tiroid kıkırdağın inferior kornusunun iç yan duvarıyla, krikoid kıkırdağın arkusunun kenarları arasında sinoviyal yapıda bir eklemdir [14]. Eklemler, posterior, anterior ve inferiorda güçlendirilmiş bağlar ile sarılı bir kapsülle çevrelenmişlerdir. Sesin kalınlaşmasından sorumlu olan bu eklem, her iki alt kornu üzerinden geçen transvers bir hat üzerinde rotasyon hareketi ile kornu üzerinde öne ve arkaya, sınırlı bir kayma hareketi yapar [14].

**Krikoaritenoid Eklem:** Krikoid kıkırdağın laminasının ön üst yüzeyiyle, aritenoid kıkırdağın tabanı arasında yer alan sinoviyal yapıda bir eklemdir. Eklemler kapsül benzeri bir bağla çevrilidir. Krikoid kıkırdağın eklem yüzeyi konveks, aritenoid kıkırdağınki ise konkavdır. Eklemde rotasyon ve kayma hareketi vardır ve bu hareketler birbiriyle bağlantılıdır. Bu hareketler arka, üst ve içten, alt, ön ve dışa doğru uzanan oblik bir hat hatta meydana gelen rotasyon hareketidir. Bu hareketle vokal kordlar abduksiyon ve adduksiyon hareketini yaparlar. Kayma hareketi ise aritenoid kıkırdağların birbirine yaklaşmasını veya uzaklaşmasını sağlar. Medial kayma, medial rotasyonla ve laterale kayma, lateral rotasyon hareketiyle olur. Posterior krikoaritenoid ligaman, aritenoid kıkırdağın krikoid kıkırdağa doğru aşırı kaymasını engeller [12].

### **2.1.3. Larinks Damarları**

Larinksin ana arterleri süperior ve inferior tiroid arterlerin laringeal dallarıdır. Süperior tiroid arterden ayrılan süperior laringeal arter larinkse, tirohyoid membranı delerek girer. Vokal kordlara kadar olan larinksi ve piriform sinüsü besler. İnférieur laringeal arter, subklavian arterin tiroservikal dalından kaynaklanan, inferior tiroid arterin dalıdır. İnférieur laringeal sinirle larinkse giren arter, aritenoid kıkırdağa tutunan kasları, ventrikül banda komşu mukozayı ve ventrikülü besler. İki arterin arasında anastomozlar vardır [12].

Larinksin lenfatiklerinin bilinmesi, kanser yayılımını anlamak için önemlidir. Lenfatik damarlar yüzeysel (intramukozal) ve derin (submukozal) olarak ayrılır. Derin yayılım sağ ve sol yarılar arasında aralarında anastomozların bulunduğu daha küçük parçalara ayrılır. Bu sağ ve sol yarı; supraglottik, glottik ve subglottik kısımlara ayrılır. Yüzeysel yayımda zengin anastomoz vardır ancak derinde olan yayılım kanser yayılımı için daha önemlidir. Supraglottik yapıların (ariefpiglotik ve yalancı kordlar) drenajı süperior laringeal ve süperior tiroid damarları takip eder. Böylece piriform sinüsten tirohyoid membrana doğru lenfatik akım olur ve karotis bifurkasyonu çevresinde derin juguler zincirde sonlanır. Epiglot orta hat yapısı olduğundan lenfatik drenajı bilateraldir. Ventrikül lenfatik drenajı diğer supraglottik yapılardan farklıdır. Ventriküle enjekte edilen boya paraglottik boşluğa girer ve hızla krikotiroid membran ve ipsilateral tiroid lobuna yayılır. Yüksek oranda kanser tedavisinin söz konusu olduğu gerçek vokal kordlar, lenfatiklerden yoksundur. Subglottik larinkste iki lenfatik drenaj sistemi bulunur. Bunlardan biri inferior tiroid damarları izleyerek subklavyen, paratrakeal ve trakeoözefageal zincir ile alt derin juguler lenf nodu zincirinde sonlanır. Öteki sistem ise krikotiroid membranı deler. Larinksin her iki tarafından da lenfatikler alır ve prelaringeal (Delphian) lenf nodları olarak orta derin servikal lenf nodlarına bilateral dağılır. [15]

### **2.1.3. Larinks Kasları**

Larinksin, origosu ve insersiyosu laringeal kıkırdaklarda olan intrinsik kasları ile larinks dışında yer alan ve larinksi bir bütün olarak hareket ettiren ekstrinsik kasları vardır.

**İntrinsik Kaslar:** 7 çift ve 1 tek kas olmak üzere 15 intrinsik kas vardır.

**Krikotiroid Kas:** Krikoid ve tiroid kıkırdak arasında dış yüzde olan ve vokal kordların gerginliğini arttıran kastır. Krikoid kıkırdak arkının ön-yan kısmından başlar, tiroid kıkırdak lamina inferior sınırına ve inferior boynuz ön sınırına yapışır. Böylece kasıldığında krikoid arkı ve tiroid kıkırdak laminası birbirine yaklaşır. Bu esnada krikoid kıkırdak laminası üzerinde yerleşen aritenoid kıkırdak, bu laminayla birlikte pasif olarak posteriora doğru yer değiştirmiş olur. Sonuc olarak vokal süreçse bağlı vokal kordların boyu uzar ve gerginliği artar. Bu fonksiyon yüksek frekanslı (tiz) seslerin çıkmasında çok önemlidir [15].

**Posterior Krikoaritenoid Kas:** Vokal kordların abduktörü olan ve rima glottisi açan tek kastır. Krikoid kıkırdak laminasının arka yüzünden başlar, laterale ve superiora doğru ilerleyerek aritenoid kıkırdak muskuler sürecine yapışır. Kasıldığında krikoaritenoid eklemden rotasyon olur, aritenoid kıkırdak ve elbette vokal süreci laterale döner. Böylece vokal kordlar orta hattın uzaklaşır ve rima glottis açılmış olur.

**Lateral Krikoaritenoid Kas:** Bu kas vokal kordların en önemli addüktörüdür. Krikoid kıkırdak arkından ve konus elastikus superior yüzünden başlar, arkaya doğru ilerleyerek musküler sürecin ön yüzüne yapışır. Kasıldığında musküler sürecin öne, vokal sürecin mediyale ilerler. Böylece vokal kordlar addükte olur ve rima glottis kapanır.

**Tiroaritenoid Kas:** Tiroid lamina iç açısına yakın olarak iç yüz alt yarısından ve konus elastikus üst yüzünden başlar, arkaya doğru ilerler ve aritenoid kıkırdağa yapışır. Kasıldığında, krikoaritenoid eklemden kayma hareketi oluşturarak aritenoid kıkırdakları öne doğru çeker. Böylece vokal kordların boyları kısalmış ve gerginlikleri azalmış olur.

**Vokalis Kası:** Tiroaritenoid kasın medial kısmıdır. Vokal kordun gövde tabakasını oluşturur. Vokal kordların uzunluğunu, gerginliğini ve katılığını kontrol eder.

**Transverse Aritenoid Kas:** Çift olmayan tek intrinsik laringeal kastır. Her iki aritenoid gövdesinin lateral sınırlarına yapışır. Kasıldığında krikaritenoid eklemde sadece kayma hareketi oluşur, böylece iki aritenoid kıkırdak horizontal düzlemde birbirine yaklaşır, vokal kordlar addükte olur ve posterior rima glottis kapanır.

**Oblik Aritenoid Kas:** Transvers aritenoid kasın daha yüzeleindedir ve birbirini çaprazlayan iki kısımdan oluşur. Her biri, aritenoid kıkırdağın musküler proçesinin arka yüzünden başlar, oblik olarak ilerler ve karşı aritenoidin tepe kısmında çoğu lif sonlanır. Ancak her iki tarafta bazı kas lifleri kuadriangüler membran yüzeleinde epiglota kadar ilerler ve ariepiglottik kasları oluşturur.

**Tiroepiglottik Kas:** Tiroid kıkırdak iç yüzünden başlar, epiglot lateral yüzlerinde sonlanır. Ariepiglottik, tiroepiglottik kasların ve transvers ve oblik aritenoid kasların, yutma esnasında laringeal girişi sfinkter etkisi ile kapatarak koruyucu fonksiyonları vardır. Aritenoid kıkırdaklar ve ariepiglottik plikalar birbirine yaklaşırken, epiglot bir kapak gibi larinks girişinin üzerini kapatır.

**Ekstrinsik Kaslar:** Larinksin bir bütün halinde hareketini ve fiksasyonunu sağlarlar. Suprahyoid ve infrahyoid kaslar olarak iki gruba ayrılırlar.

**İnfrahyoid Kaslar:** Omohyoid, sternohyoid ve sternotiroid kaslar, hyoid kemiği ve larinksi aşağı çekerler.

**Suprahyoid Kaslar:** Stilohyoid, digastrik, milohyoid ve geniohyoid kaslar ise hyoidi ve larinksi yukarı ve öne çekerler. Ayrıca stilofaringeus kası da larinksi yukarı çeker. Bunun yanında tirohyoid kas larinksi yukarı çekerken, hyoidi aşağıya çeker [15].

### 2.1.3 Larinks Membran ve Ligamentleri

#### Larinksin Membranları:

**Tirohyoid Membran:** İnfериorda tiroid kıkırdağın üst kenarına ve üst kornunun ön yüzüne, süperiorda ise hyoid kemiğin korpusuna ve büyük boynuzuna yapışır. Yukarı uzanırken hyoid kemiğin korpusunun posteriorundan geçer ve

yutkunma esnasında larinksin yukarı hareketini kolaylaştıran bir bursa ile korpustan ayrılır. Membranın medialdeki kalınlaşmış bölümüne median tirohyoid ligaman denir. Her iki tarafta lateralde, tiroid üst kornusunun yaklaşık 1 cm yukarısında membranda incelmeye görülür. Buradan süperior laringeal arter, süperior laringeal sinir birlikte membranı delerek larinkse ulaşır [9]. Lateral tirohyoid ligamanlar, membranın posterior sınırını oluşturur. Membranın dış yüzü, hyoid kemiğin korpusuyla ve tirohyoid, sternohyoid, omohyoid kaslarla komşudur. İç yüzeyi ise ortada epiglot ve yanlarda piriform sinüsler ile komşuluk yapar. Tirohyoid membran, preepiglottik boşluğun ön duvarını oluşturur [12].

**Kuadrangüler Membran:** Önde epiglot lateral kenarları boyunca başlayıp arkada vokal prosesin hemen üstünde aritenoid ve kornikulat kıkırdağa yapışan ince bir membrandır. Serbest alt kenarları önde tiroid kıkırdağın içi yüzüne yapışır ve arkada aritenoid kıkırdağa uzanarak ventriküler bantların ventriküler ligamanını oluşturur [15].

**Konus Elastikus (Krikovokal Membran) :** Kuadriangular membrana göre daha elastik yapıda ve daha kalın bir oluşumdur. İnferiorde krikoid kıkırdağın süperior kenarına yapışır. Ardından süperiorde tiroid kartilaj ön komissürüne ve aritenoid kıkırdağın vokal proseslerine doğru yönelir. Süperior bağlantıları arasında kalınlaşarak vokal ligamanları meydana getirir. Anteriorde krikotiroid membranı oluşturur ve orta hatta krikotiroid ligamanı oluşturur. Konus elastikus inferiorunda hiçbir intrinsik laringeal kas bulunmaz [15].

### **Larinksin Ligamentleri:**

Larinks çevre dokulara fibroelastik yapıdaki bağlarla bağlanmıştır. Stilohyoid ligament üst asılcı bağların en güçlülerinden biridir. Hyoepiglottik ligament, hyoid kemik korpusuyla epiglot arasında bulunur. Faringoepiglottik ligament ise farinksin yan duvarlarıyla epiglot arasında bulunur. Tirohyoid membran içerisinde membranın kalınlaşmasıyla tirohyoid ligamentler oluşur. Krikotrakeal ligament, krikoid kıkırdağın alt ucuyla, birinci trakeal kıkırdağın üst ucu arasında bulunur [12].

Larinksin kıkırdakları arasında da kıkırdakları birbirine bağlayan ligamentler bulunur. Tiroepiglottik ligament epiglotun petiolu ile Broyles tendonu üst ucu arasında yer alır. Ariepiglottik ligamentler bilateral olarak yerleşir ve ariepiglottik plika içerisinde yer alırlar. Süperior tiroaritenoid ligament aritenoid kıkırdak ile broyles tendonunun üst hizası arasında yer alır ve ventriküler bandın serbest kenarını meydana getirir [12].

### **2.1.3 Larinks İnnervasyonu**

Larinks N.Vagusun dalları olan süperior ve inferior laringeal sinirler tarafından innerve edilir. N.Vagus kafa tabanından çıkınca ganglion nodosuma girer ve boyunda karotid kılıfı içerisinde karotis arterin lateralinde aşağı doğru seyreder. Süperior laringeal sinir ganglion nodosum distalinde vagustan ayrılır. Ganglionun yaklaşık 2 cm altında bu sinir internal ve eksternal dala ayrılır. Tamamen duyuşal bir sinir olan internal dal, tirohyoid membranı süperior laringeal arterle birlikte ve arterin lateralinden delerek larinkse girer. Larinksin supraglottik bölgesinin sensöriyel innervasyonunu sağlar. Eksternal dal ise larinksin dış yüzünde inferiora ilerleyerek krikotiroid kasın motor innervasyonunu sağlar. İnférieur (Rekürren) laringeal sinirin seyri her iki boyun tarafında farklıdır. Sağ tarafta subklavian arter, solda arkus aorta inferiorundan dönerek trakeoözefagial oluk içinde boyuna yükselen bir seyir izler. Tiroid bezi alt ucunda, inferior tiroid arterin dalları arasında ilerler. Arter genelde sinirin yüzeyinde seyreder ancak çeşitli konfigürasyonlar bulunabilir. Sol rekürren sinir dik olarak yukarı doğru seyrederken sağ rekürren sinir daha kısa seyri nedeniyle sola göre daha oblik bir seyir izler. Her iki tarafta da sinir tiroid loblarının posteriorunda trakeaya paralel olarak inferior konstrüktör kasının altından krikotiroid eklem hizasında larinkse girer ve krikotiroid kas hariç internal laringeal kasların innervasyonunu sağlar [16].

### **2.1.3 Larinks İnternal Anatomisi**

Larinks kavitesi ventriküler band ve vokal kordlar tarafından ayrılan üç kısımdan oluşur.

### **Supraglottik Bölge:**

**Larinks Girişi:** Vestibulum larinks olarak adlandırılır. Laringeal kaviteyle farinks geçişinde bulunur. Yukarıya doğru genişleyen yapıda olan bu bölge önde epiglotun serbest kenarıyla, yanda ariepiglottik plikanın serbest kenarıyla arkada ise aritenoid kaslar ve faringeal mukoza ile çevrilidir.

**Ventriküler Bantlar:** Yalancı vokal kordlar olarak da adlandırılır. Önde epiglotun petiolünün altında yanlarda ise tiroid kıkırdağa ve arkada aritenoid kıkırdaklara yapışır. Karşılıklı ventriküler bantlar rima vestibüli denilen açıklığı oluşturur.

**Ventrikül:** Ventriküler bantlar ile vokal kordlar arasındaki laterale doğru uzanan boşluklu yapıdır. Erkeklerde daha gelişmiştir. Ön kısımda, tiroid kıkırdak iç yüzeyi ile ventriküler bant arasında uzanan sakkül adı verilen küçük bir boşluk vardır. Tiroaritenoid kasların kasılmasıyla ventrikül mukozasından salgılanan müköz salgılar, vokal kordların yüzeyine boşalır.

**Glottik Bölge:** Yetişkinlerde üst solunum yolunun en dar kısmını oluşturur. Vokal kordların bulunduğu kısımdır. Bu alanda vokal kordlar, ön ve arka komissür ayrıca rima glottis adı verilen kordlar arasındaki açıklık bulunur. Vokal kordlar ön komissüre bağlanan yerde sabittir ancak arkada arytenoid kıkırdak hareketi göre yeri değişkenlik gösterebilir. Vokal kord uzunluğu erkeklerde kadınlara göre daha uzundur. Vokal kord beş katmanlı bir yapıdadır. En yüzeyelde keratinize olmayan çok katlı yassı epitel altında lamina proprianın yüzeyel, orta ve derin tabakası ve en derinde vokalis kası bulunur. Lamina proprianın orta ve derin tabakası vokal ligamanı oluşturur.

**Reinke Alanı:** Vokal kordların lamina propriasının yüzeyel katına bu isim verilir. Bu alan gevşek fibröz komponentlerden ve matriksten oluşur. Reinke alanı, vokal kord epiteli ile vokal ligaman arasındaki potansiyel boşluktur [15].

**Subglottik Bölge:** Vokal kordların alt yüzeyinden krikoid alt sınırına kadar olan kısımdır. Pediatrik popülasyonda laringeal boşluğun en dar yerini oluşturur.



**Preepiglottik Alan:** Önde tiroid kıkırdağın üst kısmı ve tirohyoid membran, üstte hiyoepiglottik ligament ve vallekula mukozası, arkadar epiglot ve kuadrianguler membran ile aşağıda epiglot petiolünün yapışma yeri ile sınırlı olan bu alan adipöz dokular içerir ve lateralde paraglottik boşluk ile devam eder. Bu alandaki tümörler supraglottik bölgeye ve paraglottik bölgeye yayılmaya meyillidir.

**Paraglottik Alan:** Süperiorde ventrikül tabanı lateral sınırı, inferiorde konus elastikus ile sınırlandırılmıştır. Bu bölge seviye olarak, vokal kordların hem üst hem de alt kısmında yer alır ve tümörlerin transglottik yayılımlarında önem arz eder. Ön tarafta preepiglottik alanla bağlantılıdır.

## 2.2. Larinks Fizyolojisi (Fonksiyonları)

**A – Sfinkter Fonksiyonu (Protaksiyon):** Solunum ve sindirim yolları farinkste çaprazlaşır. Trakeanın yiyecek ve yabancı cisimlerden korunması görevini larinks yapar. Yutma esnasında larinksin kapanması larinks fizyolojisinin en önemli kısımlarından birini oluşturur. Kapanma, rima glottisin kapanması, vestibülün kapanması ve epiglotun larinks lümenine doğru inferiora doğru yer değiştirmesi ile üç basamakta gerçekleşir. Epiglot yiyeceği lateralde piriform sinüslere geçmesini sağlar ancak cerrahi olarak çıkarılması sonrasında dil kökü bu görevi üstlenerek aspirasyonu önlemede etkili olmaktadır [9]. Larinksin sfinkter fonksiyonu üç kas katının koruyucu adduksiyonu sonucu olur. Sfinkter mekanizması için süperior laringeal sinir uyarımı gerekir [16].

**B – Solunum Fonksiyonu (Respirasyon):** İnspirasyonun başlaması için inferior laringeal sinirin uyarılması sonucu glottik açılma olur. Bu fonksiyon posterior krikoaritenoid kasın kasılması sonucu gerçekleşir.

**C – Fonasyon Fonksiyonu:** Larinksin en ileri fonksiyonlarından biridir. Konuşma fonksiyonu kompleks bir mekanizmaya sahiptir ve jenaratör sistem, vibratör sistem ve rezonatör sistemin kombine olarak çalışması ile oluşur.

**D – Yutmaya Yardımcı Fonksiyonu (Deglutisyon):** Yutma esnasında larinksin yükselmesi yiyeceğin özefagusa girişin yardım eder. Laringeal girişin dil kökünün altında kalması ile yiyecek özefagusa doğru yönlendirilir.

**E – Fiksatif Fonksiyonu:** Larinks kapanarak intratorasik basıncın arttırılmasına yardımcı olur. Öksürme, defekasyon, miksiyon, kusma ve ıkınma gibi durumlarda rima glottisin kapanması ile toraks içinde hava hapsi olur. Bu durumda mekanik bir yardım sağlanır.

**F – Ekspektoratif Fonksiyon:** Larinks öksürük oluşumu ile balgamın dışarı atılmasına yardımcı olur. Öksürük istemli ve istemsiz olarak meydana gelebilir. Derin inspiyum ile glottis kapanır. Ekspiryum kasları kasılarak intrapulmoner basınç arttırılır. Glottisin ani açılmasıyla hızla dışarı çıkan hava ile birlikte alt solunum yollarındaki sekresyon veya yabancı partiküllerin dışarı atılması sağlanır. Bu özellik alt hava yollarını koruyucu fonksiyon görür [12].

### **2.3. Premalign Larinks Lezyonları**

Premalign larinks lezyonları, birbirini takip ederek larinks kanserine neden olabilecek, neoplastik ve hiperplastik değişiklikleri içermektedir. Kronik hiperplastik lezyonlar, zamanla malign bir neoplaziye dönüşme ihtimali taşıdıkları için prekanseröz olarak kabul edilirler [17, 18]. Makroskopik olarak lökoplaki ve eritroplaki şeklinde görülebilirler. Mikroskopik olarak hiperplazi, metaplazi ve displazi olarak sınıflandırılırlar.

Premalign laringeal lezyonların oluşumunda ve ilerlemesinde rol oynayan etiyolojik faktörler arasında çevresel faktörler (karsinojene maruz kalma), genetik değişiklikler, epigenetik anormallikler ve immün sistem yanıtı yer alır. Tütün ve alkol kullanımı en yaygın etiyolojik faktörler olarak bilinir [19], bununla birlikte İnsan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonu da artık potansiyel bir etiyolojik ajan olarak kabul edilmektedir [20]. Ancak daha önceden yapılan bazı çalışmalarda HPV virüsünün larinks kanserinde önemli bir etiyolojik ajan olmayabileceği de vurgulanmıştır [21]. Prekanseröz laringeal lezyonların Amerika Birleşik Devletleri'ndeki insidansı erkeklerde 10.2/100000 ve kadınlarda 2.1/100000 olarak raporlanmıştır. [22].

**Lökoplaki:** Lökoplaki, kendiliğinden iyileşmeyen, kazımayla yerinden kaldırılamayan, klinik ve histopatolojik olarak başka herhangi bir hastalıkla ilişkili

olmayan, keratotik beyaz plaklardır. Lökoplaki, spesifik olmayan bir terimdir ve herhangi bir etiyolojik ve histopatolojik özellik göstermeden çok çeşitli lezyonları temsil edebilmektedir. Genellikle kronik inflamasyonun veya iritanlara maruz kalmanın bir sonucudur. Etiyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Suçlanan risk faktörleri arasında sigara ve alkol kullanımı, HIV ve HPV enfeksiyonu, kronik travma ve kötü hijyen bulunmaktadır. Histolojik olarak keratotik hiperplaziden, mikroinvaziv kansere kadar değişen derecelerde epitelyal displaziyi içerebilir. Laringeal mukozada çok çeşitli epitelyal değişiklikleri temsil edebildiği için lezyonun histopatolojik incelemesi gerekmektedir. Tedavide ilk seçenek, cerrahi olarak eksizyondur.

**Eritroplaki:** Lökoplakilerle benzer özellikler gösteren, klinik ve patolojik olarak vokal kordlar üzerinde kırmızı renkli makül veya plak yapan, daha önceden tanımlanmış diğer hastalıklara tam olarak uymayan kırmızı kadifemsi lezyonlardır. Malign potansiyel riski lökoplakiden yüksektir. Klinik olarak ince, asemptomatik, eritematöz makül veya plak şeklinde görülür. Çevredeki pembe renkli mukozadan keskin bir sınırla ayrılmıştır. Yüzeyi genelde düzdür ve rengi homojen kırmızıdır. Ancak düzensiz kırmızı zemin üzerinde serpilmiş gibi duran, beyazımsı sarı alanlar gösteren, granüler eritroplaki gibi farklı klinik varyantları da olabilir. Histopatolojik incelemede çoğunlukla şiddetli displazi, in situ veya invaziv karsinom bulguları görülmektedir. Tedavide ilk seçenek, cerrahi eksizyondur.

**Hiperplazi:** Epitelde sadece hücre sayısında artış vardır. Hücre matürasyonu ile ilgili değişiklikler görülmez, ancak keratozis eşlik edebilir.

**Metaplazi:** Silli silindirik epitel, çok katlı yassı epitele dönüşmüş ve keratozis gelişmeye başlamıştır.

**Displazi:** Epitelde hücresel atipi ve yapısal değişiklikler söz konusudur. Fakat doku yapısı karsinoma dönüşmemiştir. Laringeal displazi, genellikle vokal kordlar seviyesinde meydana gelir. Supraglottis ve/veya subglottiste genellikle asemptomatiktir ve başka nedenlerle yapılan muayeneler sırasında insidental olarak tanı almaktadır. Displazinin yol gösterici semptomu, vokal kordlar seviyesindeki diğer herhangi bir patolojide olduğu gibi, ses değişiklikleridir. Laringeal displazide ağrı, yutma bozuklukları veya hava yolu sorunları nadiren görülür. Laringoskopide,

lökoplaki, eritrolökoplaki, hiperkeratotik lezyonlar, ekzofitik tümör benzeri değişikliklerle birlikte mukozal hiperemi veya kalınlaşmanın tümü de bulunabilir. Ancak laringeal displazi, sıklıkla laringeal lökoplaki veya hiperkeratoz olarak kendini gösterir.

Laringeal hiperplastik lezyonlar için yirmiden fazla histolojik sınıflandırma kullanılmıştır. Bu sınıflamaların hepsi birbiriyle benzerlik gösterir. 2005 yılında WHO, premalign larinks lezyonlarını, hiperplazi, keratoz, hafif derecede displazi, orta derecede displazi, şiddetli displazi ve in situ karsinom olarak sınıflandırmıştır [23]. Keratozis, basit hiperplazi, epitelyal hiperplazi, skuamöz hiperplazi ve lökoplaki olarak da adlandırılır. Hiperemi mevcut ise önemli bir lezyonun olabileceği (displazi/karsinoma in situ) düşünülmelidir. Skuamöz hiperplazide, epitelde hücre sayısı artışı tek patolojik bulgudur. Mikroskopik olarak keratotik lezyonlar atipi olmaksızın hiperkeratotik epitel ve akantozis ile karakterizedir. Hücresel atipi göstermez ancak keratozis eşlik edebilir. Skuamöz metaplazide, larinksin silli silindirik epiteli, çok katlı yassı epitele dönüşmüştür ve keratozis sık görülen bir bulgudur. Displazide ise epitelde hücresel atipiler ve yapısal değişiklikler gelişmeye başlamıştır ancak karsinoma dönüşüm yoktur. Bununla birlikte epiteldeki değişiklikleri göstermek için başka bir sınıflandırma daha yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre iki grup patoloji bulunur [26]. Buna göre;

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

**2. Grup: Epitelyal atipi (Displazi):** Özellikle bazal tabakayı ilgilendiren hücresel atipi ile beraber olan hiperplazi söz konusudur.

Laringeal Epitelyal Displazi (LIN) olarak tanımlanan bu patolojiler 3 alt gruba ayrılmıştır.

**LIN 1:** Hafif derecede displazi: Hücre nükleusundaki değişiklikler çok az ve epitelin bazal 1/3 kısmında lokalizedir. Anormal mitoz yoktur ancak keratozis ve kronik inflamasyon genellikle bulunur.

**LİN 2:** Orta derecede displazi: nükleusdaki anormallikler artmıştır. Epitelin alt 2/3'ünde lokalizedir. Anormal mitoz olmadığı halde mitoz artmıştır. Keratozis vardır.

**LİN 3:** Şiddetli displazi ve karsinoma in situ (KİS): Nükleer atipi epitel kalınlığının 2/3'ünden daha fazlasını tutmuştur, mitotik aktivite artışı ve matürasyon kaybı vardır. Bazı alanlarda nükleolus çok belirgindir. Atipik mitoz olabilir. Epitel yüzeyinde bazı bölgelerde matürasyonun ve çok katlılaşmanın varlığı ile KİS'dan ayrılır. Genellikle keratozis eşlik eder. KİS'de ise nükleer atipi ve artmış mitotik aktivite bazalden yüzeye kadar bütün epiteli tutmuştur ancak bazal membranın altında mikroskopik invazyon yoktur. Ayrıca yüzeyde de matürasyon yoktur. Başka bir deyişle, KİS skuamöz epitelin bazal membrana invazyon yapmayan kanseridir ve kanserin en erken formudur. Bu lezyon metastaz yapmaz. Makroskopik olarak gri-beyaz veya kırmızı, düzgün yüzeyli veya granüler görünümde olabilir.

Hiperplastik lezyonların displazi gösterenlerinin %31'inde, displazi gösteremeyenlerin ise %8.7'sinde malignite geliştiği gösterilmiştir [32]. Sigara içenlerde kanserleşme riski içmeyenlere göre 2 kat daha fazladır. Bu lezyonların birbirini takip ederek invaziv karsinom gelişmesine yol açabileceği pek çok araştırmacı tarafından gösterilmesine karşın her kanserin bu aşamalardan geçip geçmediği ve KİS'in invaziv karsinoma dönüşme riski tartışmalıdır [32].

Avrupa Laringoloji Derneği'nin 2021 yılında yayınladığı bir çalışmada laringeal displazinin mevcut sınıflaması detaylı bir şekilde tartışılmıştır. Çalışmaya göre displazinin derecelendirilmesi, uzun yıllardır kolay bir şekilde standardize edilememiştir. Bunun nedeni, çeşitli histolojik görünümde olabilmeleri, inflamasyon gibi spesifik olmayan değişikliklerin olması, altta yatan sürecin net olarak anlaşılabilmesi ve derecelendirme şemalarının geçerliliğinin uzun vadeli çalışmalarla kanıtlanmasının zor olması olarak düşünülmüştür. Laringeal displazi derecelendirme yöntemleri başlangıçta, displazinin bazal tabakadan yüzeye ilerlediği serviksın displazi sınıflamasından etkilenmiştir. Bununla birlikte, mukozanın keratinize olduğu ve değişikliklerin bazal tabakalarda HPV entegrasyonuna bağlı değil, bütün kanserojenleri tarafından yönlendirildiği üst solunum sistemi mukozalarında, bunun uygun olmadığı anlaşılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen verilerin, 3 veya 5 dereceli ölçekler yerine ikili ölçeklerde kullanmasının daha doğru olacağı kanaatine varılmıştır. Daha fazla displazi derecesinin, patoloğların üzerinde anlaşılamadığı derece sayısını arttıracığı düşünülmüştür. Bir kategoriye sahip bir derecelendirme sisteminin tamamen tekrarlanabilir, ancak klinik olarak işe yaramaz olacağı düşünülmüştür.

Laringeal displazi derecelendirmesi ve sonucu ile ilgili en güvenilir veriler, 30 yılı aşkın takip verileri ile Ljubljana grubundan gelmekte olduğu düşünülmüştür [24]. Bu çalışmaların verdiği bilgiler, 2017 yılında yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırma sisteminin çerçevesini oluşturmuştur [17].

WHO'nun 2017 yılında yapmış olduğu son derecelendirme sisteminde, epitelin üst katmanlarının normal olgunlaşmaya sahip olması koşuluyla epitel kalınlığının yarısına kadar olan değişiklikler düşük dereceli displazi olarak kabul edilmiştir. Bu tanım, hiperplazi, inflamatuvar ve reaktif değişiklikler ve düşük dereceli lezyonlarda güvenli bir şekilde gruplandırmayı sağlamıştır. Ancak bu sınıflama, gerçek displastik lezyonların çoğunu tek bir grupta bırakmaktadır. Ayrıca düşük riskli lezyonları risksiz lezyonlardan net bir şekilde ayırt edemediği düşünülmüştür [25].

**Tablo 1:** Laringeal Displazi için derecelendirme sistemlerinin karşılaştırılması

Anormal Maturasyon Seviyesi (WHO 2005)	2005 WHO Sınıflaması [25]	LIN Sınıflaması [26]	Ljubljana Sınıflaması [27]	Değiştirilmiş Ljubljana Sınıflaması [23]	WHO 2017 [28]
	Skvamöz Hiperplazi	Skvamöz Hiperplazi	Skvamöz Hiperplazi	Düşük Dereceli SIL	Düşük Dereceli Displazi
Alt 1/3	Hafif Dereceli Displazi	LIN 1	Bazal/Parabazal Hiperplazi		
1/3-1/2 arası	Orta Dereceli Displazi	LIN 1 veya 2	Atipik Hiperplazi	Yüksek Dereceli SIL	Yüksek Dereceli Displazi
1/2-3/4 arası		LIN 2			
Tüm katman	Şiddetli Displazi	LIN 3		İN Situ Karsinom	

LIN: Laringeal İntraepitelyal Neoplazi SIL: Skvamöz İntraepitelyal Lezyon

2000'den beri yayınlanan 3/4 dereceli sistem kullanan takip çalışmaları karşılaştırıldığında, malign transformasyon riski ile displazi derecesi arasında iyi bir korelasyon olmadığı düşünülmüştür [30]. Bu çalışmalarda malign transformasyon riskinin, artan displazi derecesi ile arttığı sonucuna varılmıştır. Ancak yine de bu birliktelik kesin olarak gösterilememiştir. Blackwell ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmaya 1000'den fazla keratotik lezyonu olan hasta dahil edilmiş, malign transformasyonun ortalama zamanının 3.1 yıl olduğu düşünülmüştür. Erken lezyonlarda bu sürenin daha fazla olabileceği vurgulanmış ve %7 hastanın lezyonunun, 10 yıldan uzun bir sürede invazif karsinoma dönüştüğü raporlanmıştır [30]. Literatürün kapsamlı bir incelemesinde, Isenberg ve arkadaşlarının 2188 laringeal lökoplaki biyopsisinin sonuçlarının paylaşıldığı bir çalışmada sonuçlar değerlendirilmiş. %53.6'sında displazi raporlanmamıştır [32]. Aynı çalışmada hafif veya orta derecede displazi ve in situ karsinom tanısı, yapılan biyopsilerin sırasıyla %33,5 ve %15,2'sinde mevcut olarak raporlanmıştır. Çalışmada, hafif, orta derecede displazili ve şiddetli displazi/KİS'li lezyonların malign dönüşüm oranlarını sırasıyla %3.8, %10.1 ve %18.1 olarak raporlanmıştır [32]. Karataylı-Özgürsoy ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise 20 yıllık takip verileri raporlanmıştır. Hafif derecede displazide 20 yıllık takipte invazif karsinom gelişme riski %15.9, orta derecede displazide %12.1 ve şiddetli displazide %23.4 olarak bulunmuştur. İn situ karsinom tanısı alanların %48.6'sı 20 yıllık süreçte invazif karsinoma dönüşmüştür [33]. Luers ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise displazi derecesiyle takip süresince gelişen SCC dönüşümü arasında bir korelasyon gösterilememiştir [34]. Çalışmada laringeal displazili hastaların homojen bir grup olmadığı ve tek başına laringeal displazi derecesinin laringeal kanser gelişimi için yetersiz bir prognostik faktör olmadığı düşünülmüştür.

Makroskopik olarak bu lezyonları ayırt etmek genellikle mümkün olamamaktadır. Bu nedenle hiperplastik laringeal lezyonların tanısında genel anestezi altında direk laringoskopi ve biyopsi yapılması gerekmektedir. Ancak bu tip lezyonlarda biyopsi, stripping (subepitelyal kordektomi) şeklinde yapılmalıdır. Stripping, ön komissürden aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntısına kadar yapılmalıdır [35]. Fiorella ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kısmi stripping yapılanlarda %62.5, total stripping yapılanlarda %79'unda nüksüz tam tedavi sağlandığı ileri

sürülmektedir [36]. Bu da total strippingin hem nüksü önleyen, hem de invaziv kansere dönüşümü azaltan koruyucu bir metot olarak yapılması gerektiğini göstermektedir.

Laringeal displazi için tedavi edilen hastaların takibinin, bakımlarının önemli bir parçası olduğu kabul edilmektedir. Avrupa Laringoloji Derneği'nin son çalışmasında, takip süreleri ile ilgili görüşleri de yer almıştır. Cosway ve Weller laringeal displazi takibinde kanıta dayalı bir çizelge yayınlamıştır [37, 38]. Bu çalışmalara göre risk faktörü olmayan düşük dereceli veya hafif-orta dereceli displazili hastalar için en az 6 aylık, yüksek riskli veya şiddetli displazili hastalarda ise 5 yıllık bir takip önerilmiştir. Tedavi sonrası ilerleme gösteren veya nüks edenlerde ve sigara ve alkol kullanmaya devam edenlerde bu sürenin 5 yıldan daha fazla olabileceği düşünülmüştür. Yüksek sıklıkta takibin, morbidite ve mortaliteyi azaltma açısından herhangi bir fayda sağladığına dair bir kanıt yoktur ancak lökorejyonel nüks riskinin en yüksek olduğu ilk 2 yılda KBB hekimlerinin hastaları daha sık kontrol etmeleri önerilmiştir. Cosway ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ilk 2 yıldaki takibin 4-8 hafta aralıklarla olması gerektiği, 2 yıldan sonra ise 3-6 ay aralıklarla takip edilmesi gerektiği raporlanmıştır.

## **2.3. Larinks Kanseri**

### **2.3.1. Epidemiyoloji**

Larinks kanseri, erişkinde baş boyun bölgesi malignitelerinin %13'ünü ve tüm vücuttaki malignitelerin yaklaşık %1'ini oluşturmaktadır [39]. Solunum yolunda akciğerden sonra en sık görülen malignite larinks maligniteleridir [29]. Erkek popülasyonda kadınlara oranla daha fazla görülür. Larinks kanserinin insidansı son yapılan çalışmalarda 3,6/100000 olarak ölçülmüş olup mortalite hızı ise erkeklerde 1,9-3,9/100000, kadınlarda ise 0,48-0,55/100000 olarak belirtilmiştir [39]. Ülkemizde yapılan baş boyun kanseri epidemiyolojik çalışmalarında topografik olarak bakıldığında larinks, en sık kanser insidansı gösteren anatomik bölge olmuştur [40-42]. Larinks malignitelerinin %95'inden fazlasını skuamöz hücreli kanserler (SCC) oluşturmaktadır [10].



### **2.3.2. Etiyoloji**

Larinks kanser etiyojisine bakıldığında multifaktöriyel bir etkileşim olduğu görülür. Bu faktörler tek başına da etki gösterebilirler, birlikte de etki gösterebilirler [43].

Bu multifaktöriyel etkileşimde bilinen en önemli ve kanıtlanmış faktör sigara kullanımınıdır. Sigaranın hem lezyonları başlatıcı hem de ilerletici etkisi bulunmaktadır [44]. Displazi ve keratozu olan hastalar sigara içiyorsa, malignleşme riskleri de buna bağlı olarak artma göstermektedir. Sigaranın miktarı ve yoğunluğu da önemlidir. Daha fazla içilen ve daha sert içilen sigaranın etkileri de daha fazla olmaktadır. Larinks kanserlerinin büyük bir kısmı erkeklerde ve 60'lı yaşlarda görülmektedir. Bu yaşlarda erkeklerde gelişen andropoza bağlı olabileceği gibi tütün kullanımının, erkeklerde daha yaygın olmasından da kaynaklanabilmektedir [10]. Epitele karşı protektan olan A vitamini eksikliğinde de larinkste hiperplastik lezyonlar oluşabilmektedir. Soğuk ve kuru hava, kronik sinonazal enfeksiyonlar da hiperplastik lezyonlara yol açabilmektedir. Alkol kullanımı tek başına bir risk faktörü olarak görülmemekle birlikte sigara ile birlikte kullanımının riski artırdığı da bilinmektedir [45, 46]. Sigara içenlerde larinks kanseri gelişimi için 13 kat artmış risk, aynı zamanda 1,5 litre/gün'den fazla şarap tüketenlerde ise 34 kat artmış risk olduğu gösterilmiştir [47]. Sesin kötü kullanımıyla ilişkili olarak, fonatuar travma da displaziye yol açabilmektedir [46]. Viral enfeksiyonlardan özellikle HPV enfeksiyonunun larinks kanseri gelişiminde etkili olabileceği gösterilmiştir [48]. Bunlara ek olarak laringofaringeal reflü, toksik gazlar, mineral tozları, hayvan atıkları, mesleki iritanlar, heredite, anatomik varyasyonların da larinks kanserinde risk faktörü olabileceği gösterilmiştir [10].

### **2.3.3. Histopatoloji**

Larinks kanserlerinin yaklaşık %95-98'i skuamöz hücreli karsinomlardır [49]. Skuamöz hücreli karsinom harici kanserler de görülebilmektedir ancak bunlar larinks kanserlerinin %1'inden azını oluşturmaktadır [50]. Mikroskopik olarak bakıldığında kanserlerin iyi diferansiye (grade-1) karsinomlarda epitel hücrelerinde, bol miktarda keratinizasyon ve keratin inciler (glob korne) gözlenir. Orta diferansiye (grade-II)

karsinomlarda biraz skuamöz matürasyon ile keratinizasyonları gözlenir. Keratin inciler yoktur ya da azdır. Az diferansiye (gradeIII) karsinomalarda ise skuamöz karakter hala fark edilebilmektedir, ancak nükleer pleomorfizm belirgindir ve çok sayıda atipik mitoz gözlenir [51].

Larinkste skuamöz hücreli karsinomaların üç önemli varyantı bulunmaktadır.

### **1.Verrüköz Karsinom**

Verrüköz karsinom, oldukça iyi diferansiye olup skuamöz hücreli karsinomların bir varyantıdır. Yaygın yavaş lokal invazyona rağmen pratikte metastaz yapma olasılığı düşüktür. Ülsere değil ekzofitik büyüme gösterir. Vasküler ve nöral invazyonu sık değildir. Tümörde ve tümöre komşu alanlarda HPV pozitifliği gösterilmiştir. Mutlaka verrüköz hiperplazilerden ayırt edilmelidir. Ayırıcı tanıda esas olan invazyon derinliği olduğu için lezyonun cerrahi olarak rezeke edilmesi gerekir [52]. Bu kanser tipinde kanser içinde langerhans hücre infiltrasyonu artmıştır. Yapılan bir çalışmada langerhans hücre infiltrasyonunun larenks kanserinde prognostik olarak önemli olduğu düşünülmüştür. Daha yoğun infiltrasyon, uzun süreli hastalısız sağkalım, daha az lokal-bölgesel nüks, daha az servikal lenf nodu metastazı ve daha az klinik N pozitifliği ile önemli ölçüde ilişkili olduğu raporlanmıştır [53].

### **3. Bazaloid Hücreli Karsinom**

Nadir görülen ve yüksek malignansi gösteren SCC varyantıdır. Genel olarak supraglottisi ve piriform sinüsleri tutar. Skuamöz hücreli karsinom alanlarına, küçük ve hiperkromatik nükleuslu, dar sitoplazmalı hücre grupları eşlik eder [54]. Tümör içinde kistik boşluklar ve stromal hyalinizasyon içerir ayrıca içerisinde mukoid materyal de bulunabilir ki bu özellikleriyle klasik SCC'den ayrımı yapılabilir [55]. Bazaloid SCC hastaları kliniğe genelde ileri evrelerde gelirler ve başvuru anında boyun ve uzak metastazlarının olma ihtimali az değildir. Agresif tedavi yapılması önerilir [56, 57].

## **2. İğsi Hücreli Karsinom**

Oldukça nadir görülen yüksek dereceli bir skuamöz hücreli karsinom varyantıdır. Laringeal malignitelerin %1'inden azını oluşturmaktadır. Genellikle 70'li yaşlarda görülmekte ve erkeklerde daha sık görülmektedir. Skuamöz hücreli karsinom ve sarkomatöz görünüme sahip olduğu için bifazik tümör olarak kabul edilir. Hem epitelyal hem de mezenkimal komponentlere sahiptir. Tanısında immünohistokimyasal değerlendirmenin en faydalı olduğu SCC varyantıdır [58, 59]. Larinkste kötü diferansiye görünümüne rağmen erken evrede prezente olma eğilimindedir. Ekzofitik olmalarından dolayı cerrahi olarak nispeten daha kolay eksize edilebilirler.

## **4. SCC Harici Malign Tümörler**

SCC dışında kalan larinks kanserleri, tüm larinks kanserlerinin %1'inden azını oluşturur. Bunlar, başta nöroendokrin karsinomlar olmak üzere, adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve asiner hücreli karsinom gibi tükrük bezi maligniteleridir. Malign mezenkimal tümör, malign melanom ve lenfoma da primer olarak gelişebileceği gibi metastatik olarak ta karşılaşılabılır. Larinkste deri, böbrek, meme ve akciğer gibi organ tümörlerinin metastazları görülebilir [60, 61].

### **2.3.4. Semptomlar ve Tanı Yöntemleri**

Larinks kanserleri en sık glottik bölgeden kaynaklanır, ikinci sıklıkta da supraglottik tümörler gözlenmektedir [62]. Sıklığı en az olan ise subglottik malignitelerdir. Larinks malignitelerinde semptomlar tümörün yerleşim yerine göre farklılıklar gösterir. Disfoni en sık görülen belirtidir [63]. Özellikle glottik lezyonlarda, vibrasyondaki bozulmaya veya vokal kasın tutulmasına bağlı olarak ilk belirti olarak ortaya çıkabilir. Sigara ve alkol öyküsü olan yetişkin hastalarda iki haftadan uzun süren ses kısıklığında mutlaka laringeal maligniteleri akla getirmek gerekir. Supraglottik lezyonlarda ise ses kısıklığından ziyade ağızda sıcak patates varmış gibi boğuk bir ses mevcuttur. Disfaji, daha çok supraglottik, hipofarinks ve piriform sinüs yerleşimli malignitelerde belirti olarak karşılaşılabılır [10]. Disfaji yerine bazen boğazda gıcıklanma, dolgunluk, yabancı cisim hissi veya takılma hissi de olabilir.

Total larinjektomi ile tedavi edilen hastalarda disfaji, postoperatif bir semptom olarak da karşımıza çıkabilir [64]. Odinofaji sık bir semptom olmamakla birlikte, dil köküne veya postkrikoid bölgeye ve üst özefagusa doğru invazyon yapan maligniteler de gözlenebilir. Larinksteki tümör kitlesi hava pasajını daraltırsa dispne ve stridor oluşabilir. Supraglottik bölgedeki malignitelerin hava yolunu daraltması glottik ve subglottik tümörlere göre daha geç evrede olmaktadır [65]. Özellikle supraglottik laringeal malignitelerde N.Vagus'un invazyonuna bağlı Arnold siniri aracılığı ile otalji gözlenebilir. Tümörün süperior laringeal siniri tutmasına bağlı olarak bu bölgede ortaya çıkan sinir hasarına bağlı durumlarda öksürük meydana gelebilir. Ülsere tümörlerde öksürükle birlikte bir miktar hemoptizi de gözlenebilir. Larinks kanserindeki semptomlardan biri de boyunda şişliktir. Larinks kanserleri sıklıkla bölgesel lenf nodu metastazı yaparlar. Larinks veya hyoid kemik altı bölgede boyunda görülen şişlik, intralaringeal bir malignitenin tiroid kıkırdak veya tirohyoid membranı delerek cilde açılması sonucu olabilir. Bazen Delphian lenf nodu metastazı ile de boyun önünde şişlik ele gelebilir. Laringeal malignitelere çoğu zaman kilo kaybı da eşlik eder [65].

Larinks kanserinde erken tanı, hastaların sağ kalımı ve hastalığın prognozu yönünden çok önemlidir. Uygulanacak tedavi yönteminin seçiminde detaylı bir anamnezin, fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri ile desteklenmesi gereklidir. Uzun süren ve düzelmeyen ses kısıklığı, boğuk ses, sigara ve alkol kullanımı, solunum sıkıntısı veya boyunda kitle gibi şikayetleri olan hastalarda mutlaka akla gelmelidir. Palpasyonda larinksin ağrılı ve hassas olması, larinksde genişleme ve laterale manipülasyonunda doğal krepatasyonunun olmaması gibi bulgular tespit edilebilir. Tirohyoid ve krikotiroid membran bölgesinde dolgunluk olabilir. Bu tümörün, genelde cilt altına kadar yayıldığı durumlarda gözlenir ve hastalığın ileri evrede olabileceğini düşündürür. Dil kökü palpe edilmelidir. Lenf nodu metastazı açısından tüm boyun bölgeleri dikkatli bir şekilde palpe edilmelidir. Larinks aynası veya endoskop ile indirekt laringoskopi yapılabilir. Tümörün yeri, yayılımı, görünümü ve vokal kordların mobilitesi gözden geçirilmelidir. Bu işlem için fleksible nazofaringoskoplarda kullanılabilir. Radyolojik değerlendirmede kafa tabanından klavikula seviyesine kadar çekilen BT ve MRI, uygun görüntüleme yöntemleridir. T2 ağırlıklı MRI, göze çarpmayan preepiglottik ve paraglottik submukozal invazyonlarını göstermede iyi

sonuçlar verir [66]. Tiroid kartilaj invazyonunu saptamada BT, MRI'a göre daha yüksek spesifiteye fakat daha düşük sensitiviteye sahiptir [67]. Bu konuda yapılan çalışmalarda her iki yöntemin de benzer istatistiksel sonuçları mevcuttur [68]. Servikal metastaz saptanmasında palpasyonla %25-51 oranında yanlış-negatif sonuçlar bildirilmişken boynun evrelemede BT, %87-93 doğruluk oranıyla çalışmalarla desteklenmiştir [69]. Son yıllarda baş boyun kanserlerinde preoperatif tanı yöntemi olarak kullanılmaya başlanan PET-BT'nin değişik serilerde %18-30 oranında tedaviyi etkilediği gösterilmiştir [70]. Rutin uygulamada PET-BT'nin, panendoskopiye rehberlik ederek biyopsi alınacak bölgelerin saptanmasında, postoperatif dönemde olası rekürrensi saptamada kullanılabileceği düşünülmüştür [71]. Genel anestezi altında yapılan endoskopik muayene ve biyopsi, larinks kanserine eşlik edebilen senkron ve metakron tümörlerin saptanması, larinkste saptanan tümörün biyopsi ile histopatolojik olarak doğrulanması ve lezyonun sınırlarının net olarak belirlenmesini sağlar. Larinks endoskopisinde yeni ve hassas tanı yöntemleri kullanıma girmektedir [72]. Bunlar otofloresans yöntemi, [73] metilen mavisiyle boya altında yapılan endoskopik bakı yöntemi, kontakt endoskop yöntemi olarak sayılabilir [12].

Larinks kanserinin tedavisinde parsiyel ve total larinjektominin yanında, organ koruyucu radyoterapi veya kemoradyoterapi de kullanılabilmektedir. Laringeal karsinom için organ koruyucu radyoterapi veya kemoradyoterapi, total larenjektomi ve postoperatif radyoterapi ile elde edilene benzer iyi lokal-bölgesel kontrol ve sağkalım ile sonuçlanır ve önemli sayıda hastada, sesin ve yutma fonksiyonunun korunmasının ek yararının olduğu gösterilmiştir [74].

### **2.3.5. Tipleri ve Yayılım Yolları**

Larinks kanserlerinin lokalizasyonuna göre yayılma şekli ve tümörün davranışı değişmektedir. Lokalizasyona göre uygulanacak tedavilerde de değişiklikler olmaktadır. Tedavi yöntemini yönlendirmede evreleme ve histopatolojik tanı her zaman için yol göstericidir. Lokalizasyonuna göre 4 tip larinks kanserinden bahsetmek mümkündür.

## **A – Glottik Kanser**

Tüm olguların %60-65'ini oluşturur. Vokal kord kaynaklıdır ve en sık ön 1/3'te görülürler. Bu bölgedeki küçük bir lezyon bile erken dönemde ses kısıklığı yapacağı için tanıları genelde erken olur. Etrafını çevreleyen tiroid kıkırdak bariyer oluşturması ve vokal kordların lenfatik damarlarının az olması nedeniyle bu bölgedeki tümörler uzun süre lokalize olarak kalabilir. Bununla birlikte Reinke boşluğu'nu invaze ettikten sonra kord üzerinde öne ve arkaya doğru yayılabilirler ayrıca derinde vokal kası da invaze edebilirler. Ön komissür aracılığı ile karşı korda, arkada aritenoid kıkırdaklara, süperiorda supraglottik alana ve inferiorda subglottik alana, tiroid kıkırdak invazyonu ile boyuna doğru yayılma gösterebilirler. Okült metastaz riski azdır [16]. Kordların fikse olması Evre 3 olarak düşünülür, bu fiksasyon tiroaritenoid kasın tutulması veya tümörün kitle etkisine de bağlı olabilir ve kötü prognostur.

## **B – Supraglottik Kanser**

Olguların %30-35'ini oluştururlar. Bu bölgede epiglot, ventriküler bantlar, ariepiglottik foldlar, aritenoid kıkırdaklar, infrahyoid bölge ve preepiglottik alan bulunur. Supraglottik kanserin, supraglottik bölgenin lenfatik damarlardan zengin olması nedeniyle lenfatik yayılım yapması olasıdır. Supraglottik yerleşimli tümörler perinöral ve vasküler invazyon yapabilirler. Vasküler invazyon supraglottik tümörlerde servikal lenf nodu metastazı ile ilişkili olabilir. Aynı şekilde perinöral invazyonla servikal lenf nodu metastazı oranı arasında anlamlı ilişki bulunmaktadır. Perinöral ve vasküler invazyon bu bölgedeki tümörlerde lokal ve bölgesel nüks riskini belirgin oranda arttırmaktadır [75]. Ayrıca bu tümörlerde preepiglottik mesafeye yayılma eğilimi de belirgindir. Bu nedenlerle ileri evre supraglottik tümörlerde, boyun klinik olarak negatif bile olsa mutlaka tedavi planına eklenilmesi düşünülmelidir. Genel olarak supraglottik bölgedeki tümörler geç tanı alırlar. Ses kısıklığı geç dönemde ortaya çıkar. Ses kısıklığı olması tümörün yayıldığına da bir göstergesi olabilir. Supraglottik kanserlerin 1/3'ü epiglotun lingual veya laringeal yüzünden kaynaklıdır. Epiglotun fenestralarından geçerek preepiglottik alana yayılırlar. Bu bölge supraglottik kanserlerin en sık ve en önemli yayılım yeridir ve hastaların yaklaşık olarak yarısında bu yayılım görülür. Preepiglottik alandaki kanserler

hyoepiglottik ligamanı aşarsa dil köküne doğru yayılım gösterebilir. Ventrikülden kanser gelişme riski yüksek değildir ancak lokalizasyonu itibariyle çok erken sürede paraglottik bölgeye yayılım gösterebilir ayrıca lenfatik ağdan zengin olduğu için erken dönemde lenf nodu metastazı yapabilirler. Supraglottik kanserlerde okült lenf nodu metastazı oranı, glottik kanserlerden daha fazladır. Bu nedenle hastaların tedavi planına, boyun diseksiyonu da eklenmelidir [12, 62]. Ayrıca bu bölgenin kanserleri lateral yerleşimli bile olsa karşı boyunda okült metastaz yapabilmektedir. Bu nedenle lateral yerleşimli supraglottik kanserlerde bile bilateral boyun tedavisi önerilir [53]. Bu tip kanserlerde, kanserin invazyon derinliği ile servikal metastaz arasında da ilişki olduğu gösterilmiştir [76]. Ayrıca metastatik lenf nodlarının oranının, sağkalım süresi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu da gösterilmiştir [77].

### **C – Subglottik Kanser**

Primer olarak subglottik bölgeye yerleşen kanserler, tüm larinks kanserlerinin %1'inden az olarak görülmektedir. Ancak glottik bölge kanserlerinin bu bölgeye yayılımı nadir değildir. Bu bölge kanserleri genellikle pasaja doğru ekzofitik olarak büyüme özelliği gösterdikleri için solunum sıkıntısına neden olabilirler. Genellikle tanı anında T3-T4 tümörlerdir. Subglottik bölge lenfatikleri, öne ve her iki tarafta posterolaterale yönelmektedir. Öndekiler krikotiroid membran yoluyla Delphian noduna veya alt servikal nodlara, sonrasında pretrakeal ve supraklaviküler lenf nodlarına yayılım gösterirler. Posterolaterale yönelmiş olanlar, paratrakeal lenf nodlarından süperior mediastene doğru yayılım gösterirler. Servikal lenf nodu metastazı %15-20, paratrakeal lenf nodu metastazı %50 oranında görülür bu nedenle paratrakeal lenf nodu diseksiyonu da boyun diseksiyonuna eklenmelidir [62, 78].

### **D – Transglottik Kanser**

Bir larengeal bölgeden, preepiglottik veya paraglottik alan boyunca yayılarak diğer bölgeye geçebilen tümörlere denir. Erken dönemde paraglottik alana yayıldıklarından prognozları kötüdür. Vakaların %5'den azını oluşturur. Lenf nodu metastaz yapma olasılığının en yüksek olduğu gruptur [62, 79].

### 2.3.6. Evreleme

**Tablo 2:** TNM evreleme sistemi, 8. baskı (AJCC) [80]

#### Primer Tümör Evresi ( T )

##### Supraglottis

<b>T Kategorisi</b>	<b>Koşul</b>
Tx	Tümör değerlendirilemedi.
Tis	Karsinoma in situ
T1	Tümör supraglottisin bir alt bölgesine sınırlıdır, vokal kord hareketleri normaldir.
T2	Tümör supraglottisin birden fazla alt bölgesinin mukozasını veya glottisi veya supraglottis dışındaki bir bölgeyi (örneğin dil kökü mukozası, vallekula, piriform sinüs medial duvarı mukozası vb.) tutmuştur, kord hareketleri normaldir.
T3	Tümör larinks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır ve/veya post- krikoid bölge, preepiglottik dokular, paraglottik alan invazidir ve/veya tiroid kıkırdak iç korteksi invazidir.
T4	
T4a	Tümör tiroid kıkırdağın dış korteksini invaze etmiştir ve/veya larinks dışı dokulara taşmıştır (örneğin trakea, dilin derin ekstrinsik kasları, prelaringeal kaslar, tiroid veya özefagus gibi boyun yumuşak dokuları).
T4b	Tümör prevertebral alanı invaze etmiştir, karotid arteri çevrelemiştir veya mediastinal yapıları invaze etmiştir.

##### Glottis

<b>T Kategorisi</b>	<b>Koşul</b>
Tx	Tümör değerlendirilemedi.
Tis	Karsinoma in situ
T1	Tümör vokal kordlara sınırlıdır ve kord hareketleri normaldir (anterior veya posterior komissür invazyonu olabilir ).
T1a	Tümör tek bir vokal korddadır.
T1b	Her iki vokal korda da tümör mevcuttur.
T2	Tümör supraglottis ve/veya subglottise uzanmakta ve/veya kord hareketleri kısıtlanmaktadır.
T3	Tümör larinks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır ve/veya paraglottik alan invazyonu vardır veya tiroid kartilajın iç korteksine invazyon vardır.
T4	
T4a	Tümör tiroid kıkırdağın dış korteksini invaze etmiştir ve/veya larinks dışı dokulara taşmıştır (örneğin trakea, dilin derin ekstrinsik kasları, prelaringeal kaslar, tiroid veya özefagus gibi boyun yumuşak dokuları).
T4b	Tümör prevertebral alanı invaze etmiştir, karotid arteri çevrelemiştir veya mediastinal yapıları invaze etmiştir.



### Subglottis

<b>T Kategorisi</b>	<b>Koşul</b>
Tx	Tümör değerlendirilemedi.
Tis	Karsinoma in situ
T1	Tümör subglottise sınırlıdır.
T2	Tümör vokal kordlara uzanmakla birlikte kord hareketleri normal veya kısıtlanmıştır.
T3	Tümör larinks içinde sınırlı olmakla birlikte kord fiksasyonu vardır ve/veya paraglottik alan invazyonu vardır veya tiroid kartilajın iç korteksine invazyon vardır.
T4	
T4a	Tümör krikoid ya da tiroid kıkırdağı invaze etmiştir ve/veya larinks dışı dokulara taşmıştır (örneğin trakea, dilin derin ekstrinsik kasları, prelaringeal kaslar, tiroid veya özefagus gibi boyun yumuşak dokuları).
T4b	Tümör prevertebral alanı invaze etmiştir, karotid arteri çevrelemiştir veya mediastinal yapıları invaze etmiştir.

### Klinik N (cN)

<b>N Kategorisi</b>	<b>Koşul</b>
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememektedir.
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur.
N1	En büyük çapı 3 cm'yi geçmeyen tek bir ipsilateral lenf nodunda metastaz vardır ve ENE(-)*
N2a	En büyük çapı 3cm üzerinde ancak 6 cm.yi geçmeyen, tek ipsilateral lenf nodunda metastaz vardır ve ENE(-)*
N2b	Hiçbirinin çapı 6 cm'yi geçmeyen multipl ipsilateral lenf nodlarında metastaz vardır ve ENE(-)*
N2c	Hiçbirinin çapı 6 cm'yi geçmeyen bilateral veya kontrilateral lenf nodlarında metastaz vardır ve ENE(-)*
N3	
N3a	En büyük çapı 6cm.nin üzerinde olan bir lenf nodunda metastaz vardır ve ENE(-)*
N3b	Klinik olarak aşikar <b><u>ENE(+)*</u></b> herhangi bir lenf nodu mevcuttur.

## Patolojik N Evresi (pN)

<b>N Kategorisi</b>	<b>Koşul</b>
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememektedir.
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur.
N1	En büyük çapı 3 cm'yi geçmeyen tek bir ipsilateral lenf nodunda metastaz vardır ve ENE(-)*
N2	
N2a	En büyük çapı 3cm.yi geçmeyen, tek ipsilateral ya da kontrateral lenf nodunda metastaz vardır ve <b>ENE(+)*</b>
N2b	Hiçbirinin çapı 6 cm'yi geçmeyen multipl ipsilateral lenf nodlarında metastaz vardır ve ENE(-)*
N2c	Hiçbirinin çapı 6 cm'yi geçmeyen bilateral veya kontrateral lenf nodlarında metastaz vardır ve ENE(-)*
N3	
N3a	En büyük çapı 6cm.nin üzerinde olan bir lenf nodunda metastaz vardır ve ENE(-)*
N3b	Klinik olarak aşıkak <b>ENE(+)*</b> herhangi bir lenf nodu mevcuttur.

\*ENE: ektranodal yayılım.

## Evreleme:

<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>	<b>Evre</b>
Tis	N0	M0	<b>0</b>
T1	N0	M0	<b>I</b>
T2	N0	M0	<b>II</b>
T3	N0	M0	<b>III</b>
T1, T2, T3	N1	M0	<b>III</b>
T4a	N0, N1	M0	<b>IVA</b>
T1, T2, T3, T4a	N2	M0	<b>IVA</b>
Herhangi bir T	N3	M0	<b>IVB</b>
T4b	Herhangi bir N	M0	<b>IVB</b>
Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1	<b>IVC</b>

## 2.5. Kanser Biyobelirteçleri

Kanser oluşumu esnasında hem morfolojik hem de hücresele düzeyde moleküler değışiklikler olur. Bu değışiklikleri biyomarkerlar yardımıyla tespit etmek mümkün olabilir. Biyomarkerler, karsinogenez sürecinin bir tümör oluşumuna giden yolda ne kadar yol aldığını gösteren kilometre taşlarıdır. Biyomarkerler, hedefe özgü moleküller sayesinde gelecekteki tedavi planlamalarının önemli bir unsuru olacaklardır. Boyun metastazı bulunmayan hastalara yaklaşımda ortaya çıkan tartışmalar ve boyun hastalığının doğru evrelemedeki kısıtlılıklar nedeniyle primer tümörden çalışılan bazı tümör işaretleyicilerinin lenf nodu metastazı ve diğer bazı klinikopatolojik özelliklerle ilişkisini araştıran çalışmalar son yıllarda artış göstermiştir. Kanserın metastaz oluşturabilmesinde rol oynayan moleküller aşağıdaki tabloda gösterilmiştir [81].

Tabloda CD44 molekülü, kanserin hücre adezyonu sırasında kullandığı bir moleköl olarak görölmektedir. Bu moleköl, hücreler arası ve hücre-hücre dışı matriks bağlantılarında görev alan önemli bir moleküldür. Yapılan çalışmalarda CD44'un, tümör büyümesi ve metastazında rol oynayan önemli bir moleköl olduğu savunulmuştur [82, 83].

**Tablo 3:** Metastaz Basamakları ile İlişkili Moleküller [81]

<b>Hücre Döngüsü Regölasyonu, Proliferasyonu ve Apoptozis</b>	Siklinler, EGRF, P53, P21, Survivin
<b>Hücre Adezyonu</b>	CD44, Sindekan-1, E-Selektin, E-Kaderin, Fokal Adezyon Kinaz(FAK)
<b>Proteoliz (Bazal Membranın Yıkılması)</b>	Matriks Metalloproteinazları (MMPs), Ürokinaz Plazminojen Aktivatörleri (uPA),Plazminojen Aktivatör İnhibitörleri (PAI), Kortaktin
<b>Mikroçevresel Faktörler: Anjiogenez, Lenfanjiogenez, Hipoksi</b>	Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1(HIF-1), Karbonik Anhidraz(CA), VEGF, LYVE-1, Kemokinler, CXCL12, CXCR4, CCR6 ve CCR7

### 2.5.1. CD44'ün Yapısı ve İşlevi

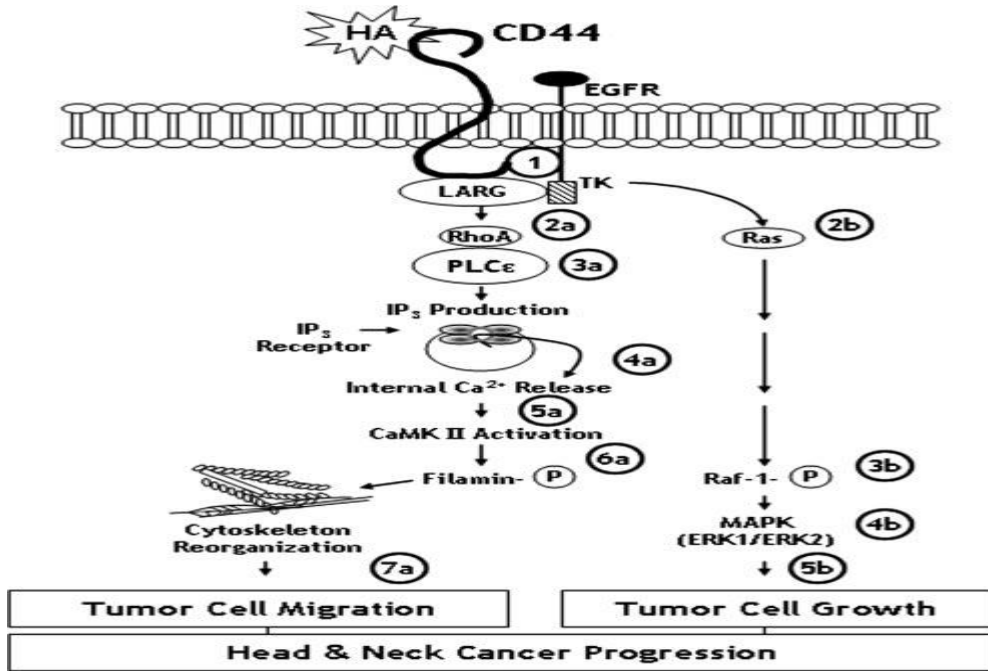
CD44, değişen oranlarda glikozilasyon gösteren çok fonksiyonlu hücre zarı adezyon molekülüdür. CD44'ün standart tipi (CD44s) ve varyantları (CD44v) bulunur [84]. İzofom CD44s bu glikoprotein ailenin en küçüğüdür. CD44'ün geni 50-60 kilodalton büyüklüğünde, 11p13 kromozomunda yerleşmiş ve en az 20 eksondan oluşmuştur [84]. CD44 tek zincirli bir molekül olup, bir distal hücre dışı parça, bir proksimal parça, kök, bir zar içi geçiş parçası ve bir sitoplazmik kuyruktan oluşur. CD44 hücreler arası ve hücre-hücre dışı matriks bağlantılarında görev alır. CD44 hücre dışı matriks bileşenlerinden olan hiyalüronik asitin majör hücre yüzey reseptörüdür. Normal şartlarda CD44 hiyalüronik asite bağlanarak hücre dışı matriks bağlantısını stabilize eder. Aynı zamanda CD44 matriks metalloproteinazları için reseptör oluşturma fonksiyonu sayesinde, bu moleküllerin fonksiyonlarına dolaylı yoldan aracılık eder. Kanser metastazında görev yapan önemli bir adezyon molekülüdür.

Baş boyun kanserleri üzerinde CD44 ile yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Franzmann ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı bir çalışmada tükürük salgısındaki CD44 seviyeleri ölçülmüştür [86]. Bu çalışmada baş boyun bölgesinde skuamöz hücreli kanseri bulunan hastaların tükürük bezi salgılarındaki CD44 seviyesinin, normal popülasyona oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur [86]. 2014 yılında Jianqiang Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir meta analizde artmış CD44 seviyesinin faringeal ve laringeal yerleşimli kanserlerde daha kötü T kategorisi, N kategorisi ve daha kötü prognozla ilişkili olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada, oral kanserler içinde CD44 seviyeleri araştırılmış ancak herhangi bir ilişki bulunamamıştır [82]. 2009 yılında Steven J. Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada CD44'ün izoformlarının baş boyun kanserlerinde prognoza etkinliği araştırılmıştır [87]. Bu çalışmada V3 ve V6 izoformlarının fazlalığında lenf nodu metastaz oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte V10 izoformlarının seviyesiyle uzak metastaz oranı arasında bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. V6 ve V10 izoformlarının yüksek seviyeleri ile düşük hastaliksız sağ kalım oranlarının arasında bir korelasyon olduğu gözlenmiştir [87]. 2010 yılında Monique C. de Jong ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada artmış CD44 ekspresyonunun, radyoterapi ile tedavi edilmiş

erken evre larinks kanserlerinde artmış lokal rekürrens oranlarıyla korelasyon gösterdiğini göstermiştir [88].

Literatüre bakıldığında, CD44 molekülünün baş boyun kanserlerinin birçok alanında çalışılmış olduğu gözlenmiştir. Ancak bakıldığında fırça sitoloji materyalinde daha önceden CD44 çalışılmadığı gözlenmiştir. Laringeal kanserlerin tanısında, fırça sitolojisi materyalinde immünohistokimyasal olarak CD44 çalışılması bizim literatür taramamızda bulunmamıştır.

Biz çalışmamızda, premalign veya şüpheli malign laringeal lezyonlarda fırça sitolojisi ile alınan örneklerde, immünohistokimyasal olarak bakılan CD44 intensitesi ile histoloji sonuçlarını karşılaştırdık ve CD44'ün tanı koyma aşamasındaki etkisini değerlendirdik. Bizim çalışmamızda fırça sitolojisi ile larinks kanseri tanısı koymada immünohistokimyasal olarak bakılmış CD44 intensitesi, literatürde bir ilk olmaktadır.



Şekil 2: CD44 Molekülünün Yapısı ve İşlevi [82]

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda, 20.03.2021 – 20.08.2021 tarihleri arasında yapılmıştır. Araştırma projesi Hacettepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06.04.2021 tarihli 2021/04 numaralı toplantısında değerlendirilerek etik açıdan uygun bulunmuştur (Karar no: 2021/07-05) (KA-21041)

#### **3.1. Bireyler**

Araştırma evrenine, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda, 20.03.2021-20.01.2021 tarihleri arasında, larinkste yerleşen premalign veya malign şüphesi olan lezyonu nedeniyle biyopsi alınması planlanmış hastalar dahil edildi. Hastaların demografik özellikleri, özgeçmiş ve soygeçmişleri, yaş ve muayene bulguları değerlendirildi. Çalışma kriterlerini sağlayan ardışık 42 hasta, çalışmaya dahil edilerek örneklem oluşturuldu. Çalışmaya dahil edilen hastalar 39 ile 78 yaş aralığındaydı. Çalışmamıza daha önceden kanser öyküsü veya nüks şüphesi olan hastalar alınmadı. Daha önceden radyoterapi veya kemoterapi öyküsü olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Romatolojik veya başka bir sistemik hastalığı olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara çalışma hakkında detaylı bilgilendirme yapıldı. Hastalardan, çalışmaya katılmayı kabul ettiklerine dair sözlü ve yazılı onamlar alındı.

#### **3.2. Cerrahi Öncesi Değerlendirme**

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara cerrahi işlem öncesinde KBB muayenesi yapıldı. Larinks muayenesi için poliklinik şartlarında 4.3 mm çapında 30 cm fleksibl nazofaringoskop (Karl Storz 11101RP2 nasopharyngoscope, Karl Storz, Tuttlingen, Germany) kullanıldı. Hastalara videolaringostroboskopi (KayPENTAX RLS 9100B Rhino-Laryngeal Stroboscope, KayPENTAX Corp. Montvale, NJ, USA) yapıldı ve laringeal muayenelerinin kaydı alındı.

### 3.3. Cerrahi Prosedür

Cerrahi işlemler genel anestezi altında yapıldı. 42 hastaya da aynı işlemler aynı cerrahi aletlerle uygulandı. Rutin prosedür olarak hastalara öncelikle diş koruması (Teeth Protector, metal, Karl Storz, Tuttlingen, Germany) takıldı. Laringoskop (Kleinhasser Operating Laryngoscope, for adults, medium, 17 cm length, Karl Storz, Tuttlingen, Germany) yardımıyla hastaların laringeal yapıları görünür hale getirildi ve süspansiyon (Laryngoscope Holder and Chest Support 8575K, Göttingen Model, with adjustment Wheel, 9 cm diameter, 34 cm length, Karl Storz, Germany) ile laringoskop sabitlendi. 4 mm çapında 18 cm rijit endoskop (Hopkins® 0° Telescope, Karl Storz, Tuttlingen, Germany) kullanılarak laringeal yapılar endoskopik olarak görüntülendi. Biyopsi işlemi öncesinde, sitoloji fırçası ile (Disposable Cytology Brush O.D. : 2,5 mm I.D. : 1.8 mm ve 120cm, Shanghai International Holding Corp. GmbH, Europe) lezyon yüzeyinden örnekler alındı. Fırça, lezyon boyunca kendi etrafında döndürülerek ve alınan yüzeyde peteşial kanamalar görülene kadar lezyon kenarlarına boylu boyunca sürtüldü. Bu şekilde istenen derinlikten örnek alınabildiği düşünüldü. Alınan sitoloji örneği, taşıma kabına ( BD SurePath Collection Vial 10mL, TriPath Imaging, Inc, Burlington, NC USA) konuldu ve aynı gün içerisinde Sitoloji Anabilim Dalı'na ulaştırılması sağlandı. Kullanılan taşıma kabı içerisinde, distile su ile birlikte %21.7 Etanol, %1.2 Metanol ve %1.1 oranında İzopropil alkol bulunmaktadır ve dokuları alkolde fikse etmektedir. Taşıma kabında gözle görülür partiküllerin olması, tanı koymak için yeterli sayıda hücre alındığının göstergesi olarak kabul edildi. Fırça sitolojisi örneği elde edildikten sonra, tanısal biyopsi ve gerektiğinde lezyon küçültülmesi işlemleri rutin şekilde yapıldı. Premalign lezyonu olanlara stripping şeklinde biyopsi işlemi yapıldı. Malign şüphesi olan ülserovejetan lezyonlara yönelik multipl punch (Spoon Forceps, 5 mm diameter, 23 cm length, Karl Storz, Germany) biyopsiler alındı. Biyopsi örnekleri formaldehit içerisinde muhafaza edildi ve hitolojik inceleme için Patoloji Anabilim Dalı'na ulaştırılması sağlandı. İşlem sonrası rutini bozmayacak şekilde hastanın süspansiyonu gevşetildi, laringoskop çıkarıldı, diş korumalığı da çıkarılarak işleme son verildi.



**Şekil 3:** Örneklerin alınması sırasında kullanılan sitoloji fırçası



**Şekil 4:** Taşıma Kabı (%21.7 Etanol, %1.2 Metanol, %1.1 İzopropanol)



### 3.4. Sitomorfolojik Boyama ve Değerlendirme

Toplama kabına alınan 42 örnek, örneklerin alındığı gün içerisinde sitomorfolojik inceleme yapılabilmesi için sıvı bazlı sitoloji cihazı tarafından lamlara eşit şekilde dağıtılması amacıyla sıvı bazlı sitoloji cihazına (BD Surepath Liquid Based Cytology, Everest Trade Link, Kathmandu, Nepal) yerleştirildi.

Hazırlanan lamlara sitomorfolojik inceleme için PAP boyama işlemi yapıldı. Bu işlem için lamlar, 96<sup>o</sup> -80<sup>o</sup> -70<sup>o</sup> -50<sup>o</sup> 'lik, dereceleri azalan etil alkollerden sırası ile geçirilerek sulandırıldı. Hematoksilen boyasına geçirilerek 2 dakika bekletildi. Boyanın uzaklaştırılması için suya alınan lamlar burada yıkandı. Lamların fazla boyası asit alkolde giderildi. %4'lük amonyaklı suda morartıldı. Tekrar 50<sup>o</sup> -70<sup>o</sup> -80<sup>o</sup> -96<sup>o</sup> 'lik derecesi yükselen etil alkollerden geçirilerek Orange G de 2 dakika bekletildi. İki farklı şalede bulunan 96<sup>o</sup> 'lik etil alkollerden geçirildi. 5 dk EA65 boya solüsyonunda bekletildi. 4 farklı şalede bulunan 96<sup>o</sup> 'lik etil alkollerden geçirildi. İki farklı şalede bulunan aseton aşamasından geçirildi. PAP boyama sonrasında spesmenler, hastaların klinik seyirleri hakkında bilgi sahibi olmayan iki gözlemci tarafından ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirildi ve malign, benign ve belirsiz sitoloji olarak değerlendirildi. Belirsiz sitoloji olarak tanımlanan hastalar kendi içinde maligne daha yakın veya benign sitolojiye daha yakın olarak değerlendirildi ancak istatistiksel olarak aynı başlık altında toplandı. Tüm değerlendirmeler tek bir deneyimli sitolog tarafından yapıldı.



Şekil 5: BD Surepath Sıvı Bazlı Sitoloji Cihazı

### **3.5. İmmünohistokimyasal Boyama ve Değerlendirme**

Toplama kabına alınan 42 örnek, örneklerin alındığı gün içerisinde immünohistokimyasal çalışma yapılabilmesi için sıvı bazlı sitoloji cihazı tarafından lamlara eşit şekilde dağıtılması amacıyla sıvı bazlı sitoloji cihazına (BD Surepath Liquid Based Cytology, Everest Trade Link, Kathmandu, Nepal) yerleştirildi.

Hazırlanan lamlar immünohistokimyasal çalışma yapılması kapsamında, CD44 (HCAM[DF1485], Mouse monoclonal IgG1, LOT B1214, Santa Cruz biotechnology, CA, USA) antikoruna ile boyandı. Boyama işlemi için Leica Bond-Max Refine Detection System marka otomatik immün boyama cihazı kullanıldı. Hazırlanan materyaller hastaların klinik seyirleri hakkında bilgi sahibi olmayan iki gözlemci tarafından Carl Zeiss Axioskop marka ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Sitomorfolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler tek ve aynı sitolog tarafından yapıldı. CD44'ün sinyal intensitesi, zayıf boyamalarda +1, orta boyamalarda +2 ve güçlü boyamalarda +3 puan verilerek skorlandı.

### **3.6. Histolojik Boyama ve Değerlendirme**

Formalin ile fikse parafine gömülü larinks dokusu örneğinden mikrotomla 4 µm kalınlığında doku kesitleri kesildi ve kesitler yüksek adeziv özellik gösteren lamlara alındı. Alınan kesitler 70°C etüvde 30 dakika bekletildikten sonra, 2x15 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamlar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (%100, %96, %80, %70, %50) havada kurutuldu. 10 dakika akar suda yıkandıktan sonra, Harris Hematoksilen'de 10-15 dakika boyandı ve lamlar 10 dakika akar suda yıkandı. % 70 alkol + 2 – 3 damla glasiyel asedik asit karışımına batırılıp tekrar 10 dakika akar suda yıkandı. Lamlar 5-10 dakika Eozin de bekletilip 10 dakika daha akar suda yıkandıktan sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%50, %70, %80, %96, %100), 2x15 dakika ksilole alındı ve entellan ile kapatıldı.

Histolojik değerlendirme, Patoloji Anabilim Dalı tarafından yapıldı ve rutini bozmayacak şekilde resmi olarak raporlandı.

### **3.7. İstatistik Değerlendirme**

Verilerin analizi SPSS 26.0 programı ile yapılmış ve %95 güven düzeyi ile çalışıldı. Tanımlayıcı istatistik olarak frekans ve (n(%)), sayısal (nicel) değişkenler için ortalama, standart sapma (ort±ss), minimum, maksimum, medyan (Max-Min(M)) istatistikleri verildi.

Çalışmada histolojik bulgular, sitomorfolojik bulgular ve CD44 boyanma derecesi arasındaki ilişkide Kikare testi, yöntemler arasındaki korelasyon Uyum Analizi (Correspondence Analysis) ile analiz edildi. Sensitivite (Hastalığı tespit edebilme oranı), spesifite (sağlıklı olma durumunu tespit edebilme oranı), pozitif prediktif değer (yöntemin pozitif değerinin hasta oranı) ve negatif prediktif değer (yöntemin negatif değerinin sağlıklı olma oranı) hesaplandı. Kikare testi ve uyum analizi değerlendirmeleri yapılarak yorumlandı. Bu analiz sonucunda her bir değişkenin kategorileri arasındaki ilişkiler (uyumlar) grafiksel olarak ayrı ayrı incelenerek yorumlandı.

## 4. BULGULAR

Çalışmamıza toplam 42 hasta dahil edildi. Çalışmamızın evrenini larinkste yerleşen premalign veya malign şüphesi olan lezyonu nedeniyle biyopsi alınması planlanmış hastalar oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen hastalar, 39 ile 78 yaş aralığındaydı. Hastaların %88,1'i erkek, %11,9'u kadındı. Hastaların yaş ortalaması 61,24±9,98 olarak saptandı. Çalışmamıza daha önceden kanser öyküsü veya nüks şüphesi olan hastalar alınmadı. Daha önceden radyoterapi veya kemoterapi öyküsü olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Romatolojik veya başka bir sistemik hastalığı olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Hastaların tümüne aynı işlem uygulandı.

**Tablo 4:** Histoloji Sonuçlarının Dağılımı

		n (%)
Histoloji	Malign	32 (76,2)
	Atipi-Displazi	7 (16,7)
	Benign	3 (7,1)

Çalışmaya katılan 42 hastanın histoloji sonuçları, tablo şeklinde yukarıda verilmiştir. Tabloya göre hastaların %76,2'si malign kategorisinde, %16,7'si atipi-displazi kategorisinde ve %7,1'i benign kategorisindedir. Histoloji sonuçları, hastaların rutin işlemlerini değiştirmeyecek şekilde Patoloji Anabilim Dalı tarafından resmi olarak raporlanmıştır. Bu sonuçlar Hacettepe Üniversitesi Hacettepe Tıp Fakültesinin otomasyon sisteminden alınmıştır.

**Tablo 5:** Sitomorfoloji Sonuçlarının Dağılımı

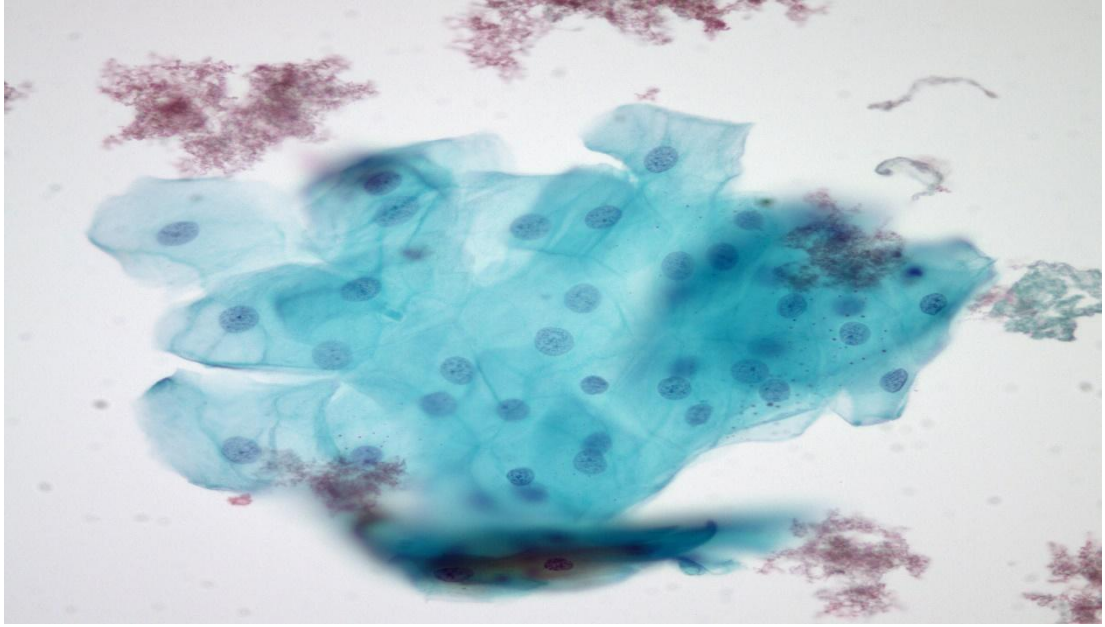
		n (%)
Sitomorfoloji	Malign	21 (50,0)
	Belirsiz Sitoloji	13 (31,0)
	Benign	8 (19,0)

Çalışmaya katılan 42 hastanın sitomorfoloji sonuçları, tablo şeklinde yukarıda verilmiştir. Tabloya göre hastaların %50,0'si malign kategorisinde, %31,0'i belirsiz sitoloji kategorisinde ve %19,0'u'i benign kategorisindedir. Sitomorfoloji sonuçlarının hepsi, tek bir deneyimli sitolog tarafından histoloji sonuçları bilinmeden raporlanmıştır.

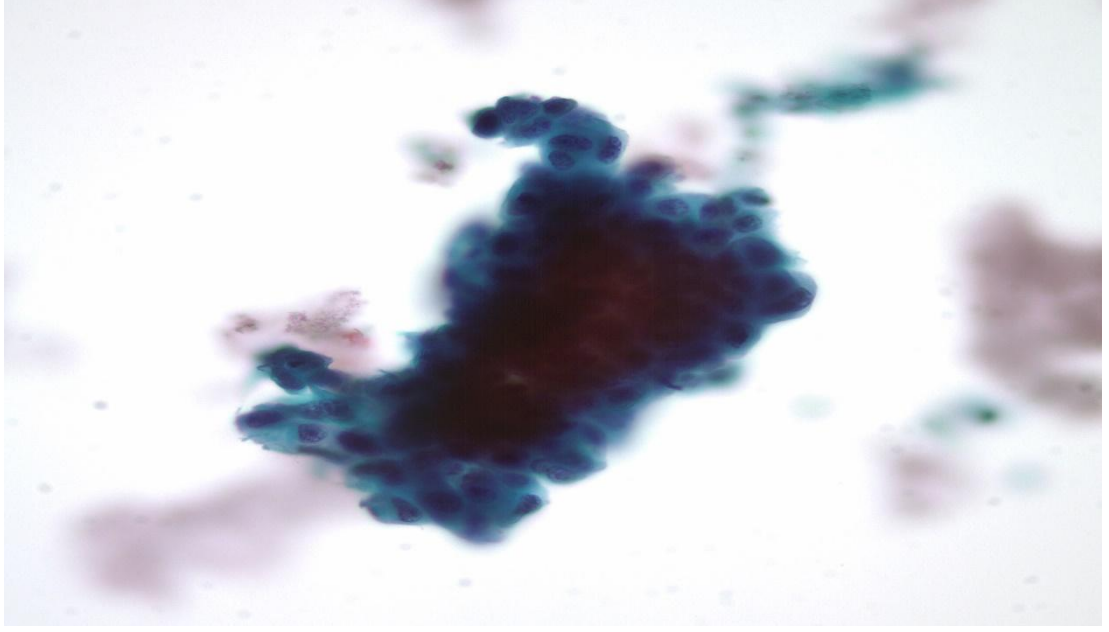
**Tablo 6:** CD44 Boyanma Derecesi Sonuçlarının Dağılımı

	n (%)	
<b>CD44 boyanma derecesi</b>	Normal	7 (16,6)
	1+	12 (28,5)
	2+	8 (20,0)
	3+	15 (35,7)

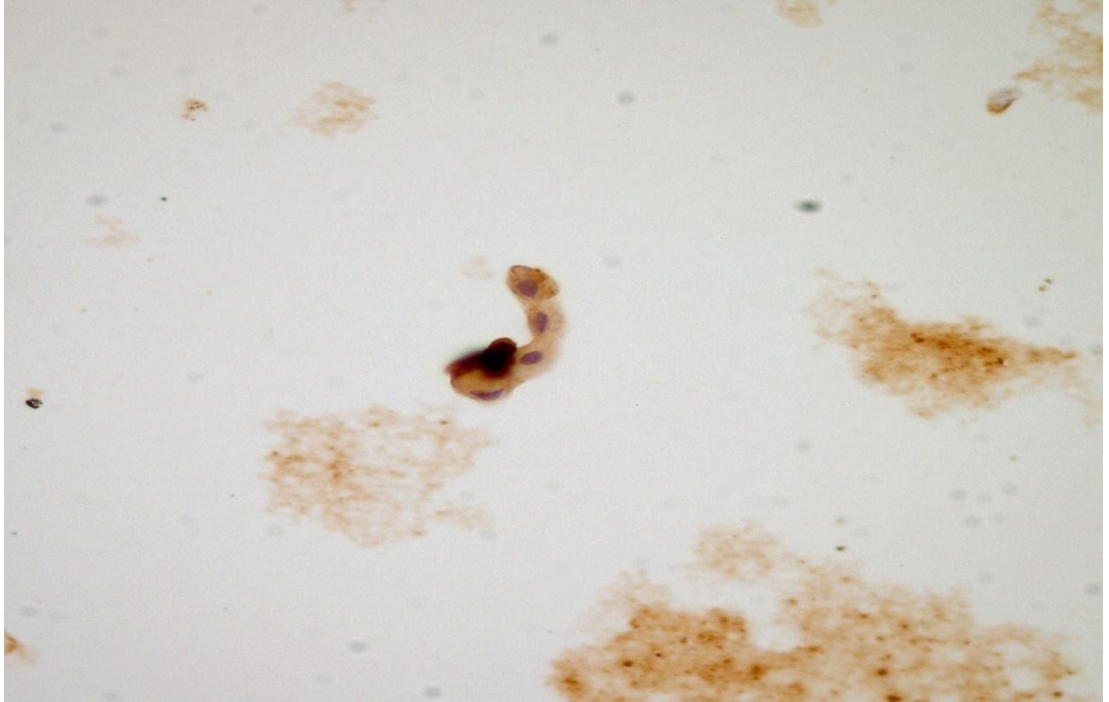
Çalışmaya katılan 42 hastanın immünohistokimyasal olarak bakılan CD44 boyama dereceleri, tablo şeklinde yukarıda verilmiştir. Tabloya göre hastaların CD44 boyanma derecelerinin, %16,6'sı normal, %28,5'i 1+, %20,0'si 2+, %35,7'si 3+ olarak değerlendirilmiştir.



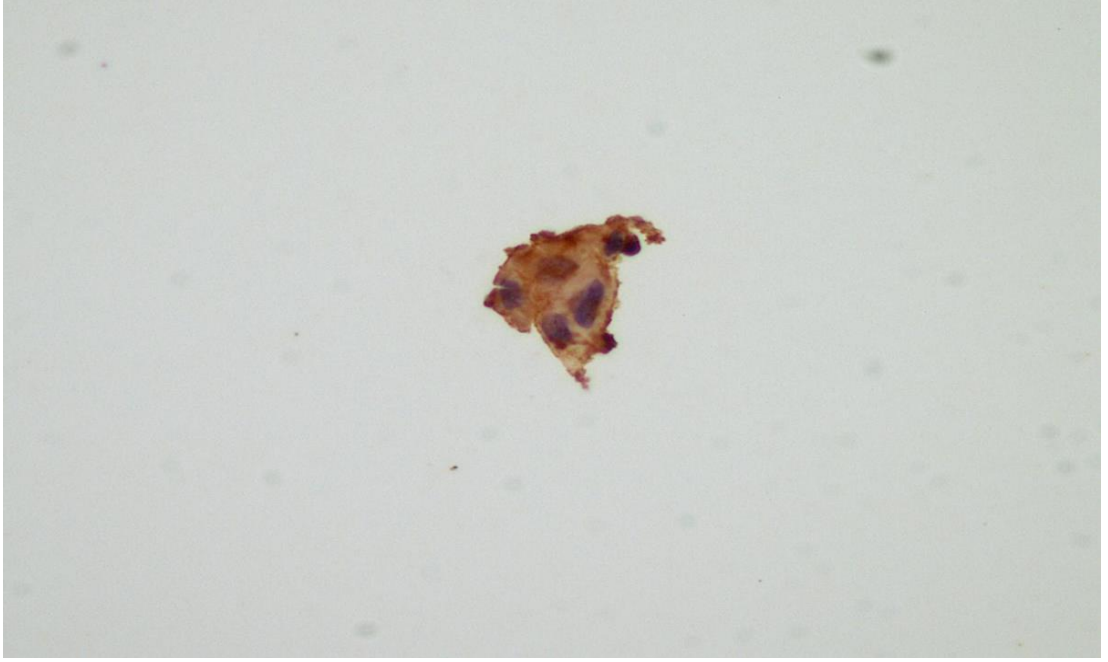
**Şekil 6:** Sitomorfolojik olarak benign hücrelerin görünümü (PAP boyama x400)



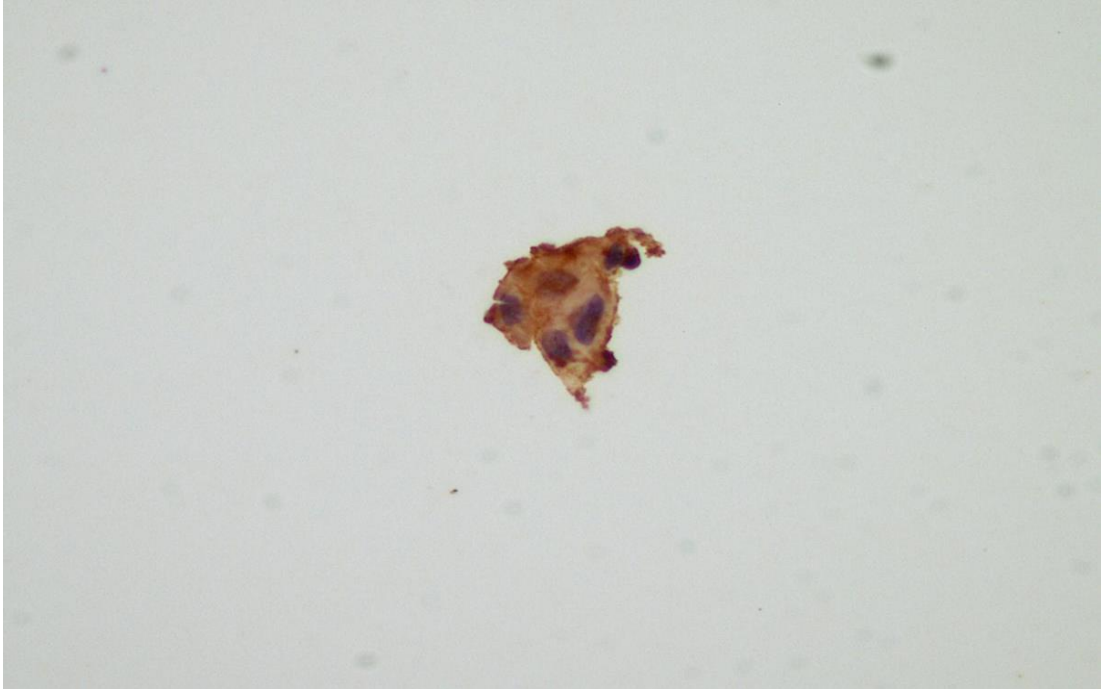
**Şekil 7:** Sitomorfolojik olarak malign hücrelerin görünümü (PAP boyama x400)



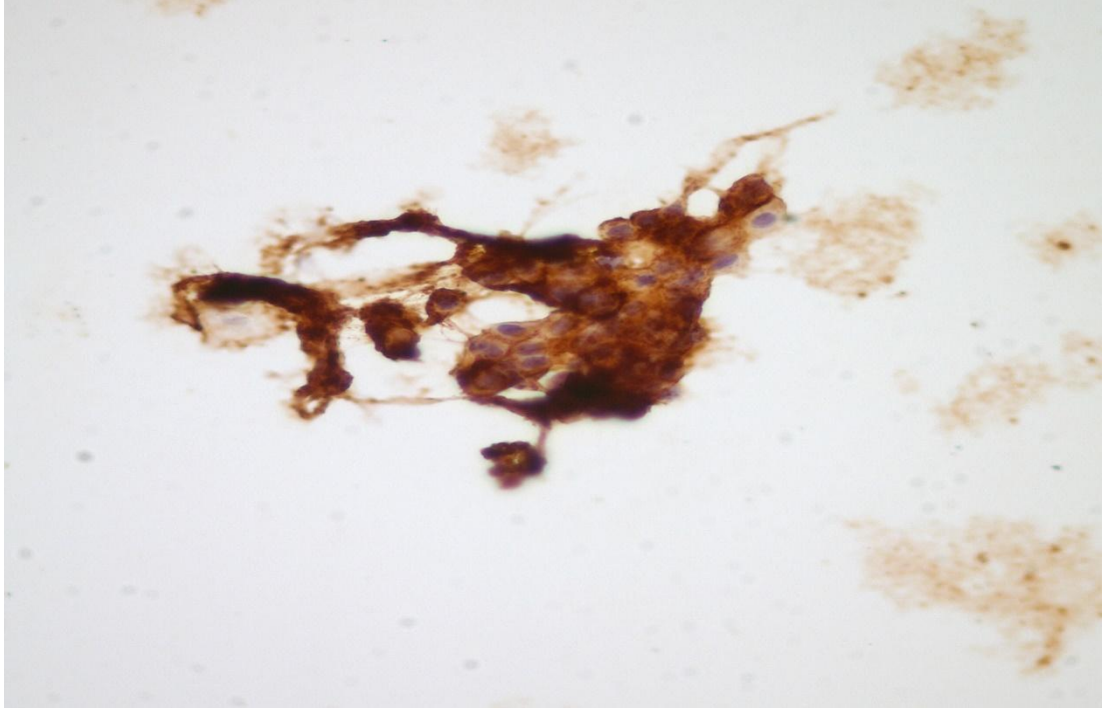
**Şekil 8:** CD 44 sinyal intensitesi normal olarak değerlendirilen hücrelerin görünümü (ThinPrepx400)



**Şekil 9:** CD 44 sinyal intensitesi 1+ olarak değerlendirilen hücrelerin görünümü  
(ThinPrepx400)



**Şekil 10:** CD 44 sinyal intensitesi 2+ olarak değerlendirilen hücrelerin görünümü  
(ThinPrepx400)



**Şekil 11:** CD 44 sinyal intensitesi 3+ olarak değerlendirilen hücrelerin görünümü (ThinPrepx400)

**Tablo 7:** Histoloji Sonuçları ile Sitomorfoloji Sonuçlarının İlişkisi

		Histoloji			İstatistik	p
		Malign	Atipi-Displazi	Benign		
Sitomorfoloji	Malign	21	-	-	22,999	<b>0,000</b>
	Belirsiz Sitoloji	6	7	-		
	Benign	5	-	3		

\*Kikare (Fisher exact test)

Hastaların sitomorfoloji ve histoloji sonuçlarının karşılaştırılmasına bakıldığında, sitomorfolojik olarak malign tanısı konulan hastaların tamamının histolojik sonucu da malign olarak raporlanmıştır. Sitomorfolojik olarak belirsiz sitoloji olarak tanımlanan hasta grubunda 13 hasta bulunmaktadır. 13 hastanın histolojik sonuçlarında 7 tanesinin Atipi-Displazi kategorisinde olduğu ancak 6 tanesinin histolojik sonucunun malign olarak raporlandığı ortaya çıkmıştır. Sitomorfolojik olarak belirsiz sitoloji olarak adlandırılan ancak histolojik olarak malign şeklinde raporlanmış 6 hastanın CD44 pozitifliklerine bakıldığında 2 hastanın 3+ olduğu, 3 hastanın 1+ olduğu görülmüştür. Sitomorfolojik olarak benign olarak



değerlendirilen 8 hasta bulunmaktadır. Bu hastaların histolojik sonuçlarına bakıldığında 3 tanesinin histolojik sonucunun benign olarak, ancak 5 tane hastanın histolojik sonucunun malign olarak raporlandığı görülmüştür. Bu 5 hastanın CD44 düzeylerine bakıldığında 2 tanesinde 2+ değer olduğu gözlenmiştir.

İstatistiksel olarak bakıldığında, altın standart yöntem olan histolojik inceleme ile karşılaştırıldığında sitomorfolojinin, malign hastaları saptamada sensitivitesi %65.6 olarak bulunmuştur. Sitomorfolojinin spesifitesi ise %99.9 olarak bulunmuştur. Bu sonuç bize sitomorfolojik olarak malign tanısı alan hastaların hepsinin, histolojisinin de malign olarak raporlandığını göstermiştir. Sitomorfolojinin pozitif prediktif değeri %99.9, negatif prediktif değeri ise %62.5 olarak bulunmuştur.

İstatistiksel olarak bakıldığında, sitomorfolojik olarak patolojik tanı (malign veya belirsiz sitoloji) konulan hasta sayısı 34 olarak görülmektedir. Histolojik olarak patolojik tanı (malign veya atipi-displazi) konulan hasta sayısı ise 39 olarak görülmektedir. Bu sonuçtan, sitolojinin malign veya displaziyi yakalama oranının %87.1 olduğu görülmektedir.

**Tablo 8:** Histoloji Sonuçları ile CD44 Boyanma Derecesi Sonuçlarının İlişkisi

	Histoloji			İstatistik	p
	Malign	Atipi-Displazi	Benign		
<b>CD44 boyama derecesi</b>	3+	15	-	15,840	<b>0,001</b>
	2+	7	1		
	1+	7	5		
	Normal	3	1		

\*Kikare (Fisher exact test)

Hastaların histoloji sonucu ile CD44 boyanma derecesi sonucu arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ( $p=0,001<0,05$ ). Histoloji sonucu malign olan hastaların %50,0'sinin CD44 boyanma derecesi sonucu 3+ %23,3'ünün CD44 boyanma derecesi 2+ ve %20'sinin CD44 boyanma derecesi 1+ olarak değerlendirildi. Histoloji sonucu Atipi-Displazi olanların %71,4'ünün CD44 boyanma derecesi sonucu 1+, %14,3'ünün CD44 boyanma derecesi 2+ olarak değerlendirildi. Histoloji sonucu benign olanların tamamının CD44 boyanma derecesi normal olarak değerlendirildi. Benign hastalardaki uyum %100 olarak değerlendirildi. CD44 boyanma derecesinin

3+ olarak değerlendirildiği hastaların tümünde histolojik olarak malign tanı elde edilmiştir. CD44'ün 2+ olduğu hasta grubunda ise 8 hasta bulunmaktadır ve bu 8 hastanın 7'sinde malign histolojik tanı raporlanmıştır.

İstatistiksel olarak bakıldığında, altın standart yöntem olan histolojik inceleme ile karşılaştırıldığında CD44 pozitifliğinin, biyopsi sonucu displazi veya malign olarak raporlanan hastaları saptamada sensitivitesi %87.2 olarak bulunmuştur. Malign veya displaziyi saptamada ise tek başına CD44 intensitesinin spesifitesi %99.9 olarak bulunmuştur. Bu sonuç bize CD44 pozitifliği durumunda, hastadaki lezyonun histoloji sonucunun benign olmadığını göstermektedir. Tek başına CD44 pozitifliğinin pozitif prediktif değeri 0,999, negatif prediktif değeri ise 0,625 olarak bulunmuştur.

**Tablo 9:** Histoloji Sonucunun Sitomorfoloji + CD44 Boyanma Derecesi Sonucuna göre Dağılımı (Grup Birleştirmesi Olmadan)

Sitomorfoloji	CD44 boyanma derecesi	Histoloji		
		Malign	Atipi-Displazi	Benign
<b>Malign</b>	Normal	-	-	-
	1+	3	-	-
	2+	5	-	-
	3+	13	-	-
<b>Belirsiz Sitoloji</b>	Normal	-	1	-
	1+	4	5	-
	2+	-	1	-
	3+	2	-	-
<b>Benign</b>	Normal	3	-	3
	1+	-	-	-
	2+	2	-	-
	3+	-	-	-

Yukarıdaki tabloda tüm sonuçlar görülmektedir. Tabloya göre histoloji sonucu Malign olanların %61,9'unun Sitomorfolojisi Malign, CD44 boyanma derecesi 3+'dır. Histoloji sonucu Atipi-Displazi olanların %71,4'ünün Sitomorfolojisi Atipi-Displazi CD44 boyanma derecesi 1+'dır. Benign olanların tamamının Sitomorfolojisi Benign ve CD44 boyanma derecesi normaldir.

**Tablo 10:** Histoloji Sonucunun Sitomorfoloji + CD44 Boyanma Derecesi Sonucuna göre Dağılımı (Grup Birleştirmesi)

Sitomorfoloji	CD44 boyanma derecesi	Histoloji	
		Malign-Displazi	Benign
<b>Malign-Belirsiz Sitoloji</b>	Normal	1	-
	1+ 2+ 3+	33	-
<b>Benign</b>	Normal	3	3
	1+ 2+ 3+	2	-

*\*Gruplarda Malign-Atipi-Displazi ve 1+ 2+ 3+ dereceleri birleştirilerek*

Yukarıdaki tabloda benign olmayan histoloji sonuçları ve benign olmayan sitomorfoloji sonuçları birleştirilmiştir. Yapılan keşifsel analizde, histoloji sonucu patolojik (malign veya displazi) olanların %94,5'inin sitomorfolojisi patolojik (malign veya belirsiz sitoloji) veya CD44 boyanma derecesi pozitifdir. Histolojisi benign olanların %100'ünün sitomorfolojisi benign ve CD44 boyanma derecesi normaldir ancak sitomorfolojisi benign olarak değerlendirilip, CD44 boyanma derecesinin normal olduğu iki hastanın, histoloji sonucu malign olarak raporlanmıştır. Ayrıca bir hastanın CD44 intensitesi değerlendirilememiştir ancak sitomorfoloji sonucu benign olarak raporlanmıştır, hastanın histoloji sonucunun ise malign olduğu gözlenmiştir. CD44 intensitesinin değerlendirilemediği 2 hasta bu tablodan çıkarılmıştır.

Sitomorfoloji, histolojik olarak patolojik (malign veya atipi-displazi) tanıyı %87.1 oranında sensitiviteyle koymaktadır. Bu oranın, CD44 intensitesi pozitifliği ile kombine edildiğinde %94.5'e yükseldiği gözlenmiştir. İşlemin spesifitesi %99.9'dur.

Malign histolojiye sahip 32 hasta bulunmaktadır. Sitomorfolojik olarak malign olarak değerlendirilen 21 hasta bulunmaktadır. CD44 intensitesi 1+, 2+ veya 3+ olan hasta sayısı 35 olarak hesaplanmıştır. Bu 35 hastanın, 29 tanesinin histolojisi malign olarak raporlanmıştır. 6 hastanın ise histolojisi displazi olarak raporlanmıştır. Çalışmamızda toplam 32 adet malign histoloji tanısı almış hasta bulunmaktadır. Bu sonuç bize, sitomorfolojik olarak malign özellikler gösteren veya CD44 intensitesi pozitif olarak değerlendirilen hastalarda, malign histoloji sonuçlanmasına yönelik sensitivitesinin %91 olduğunu göstermektedir.

**Tablo 11:** Sensitivite, Spesifite, Pozitif Prediktif, Negatif Prediktif Olasılıkları

	<b>Sensitivite</b>	<b>Sensitivite (%)</b>	<b>Spesifite (%)</b>	<b>PP+</b>	<b>PP-</b>
<b>Sitomorfoloji</b>	21/32	66%	100%	100%	47%
<b>Sitomorfoloji + İmmünohistokimya</b>	29/32	91%	100%	82%	42%

Sitomorfoloji, histolojik olarak malign tanıyı %66 oranında sensitiviteyle koymaktadır. Bu oranın, CD44 intensitesi pozitifliği ile kombine edildiğinde %91'e yükseldiği gözlenmiştir. Histolojik olarak benign tanısı almış hastaların hiçbirine malign sitomorfolojik tanı konulmamıştır. Aynı şekilde histolojik olarak benign tanısı almış hastalarda CD44 sinyal intensitesine de rastlanılmamıştır. Sitomorfolojinin pozitif prediktif değeri %100 olarak değerlendirilmiştir. Bu oranın, CD44 intensitesi pozitifliği ile kombine edildiğinde %82'ye düştüğü gözlenmiştir. Sitomorfoloji ile CD44 intensitesi kombine edildiğinde negatif prediktif değer %42 olduğu gözlenmiştir.

## 5. TARTIŞMA

Larinks kanserleri baş boyun cerrahları açısından ayrı bir önem taşımaktadır. Türkiye’de larinks kanseri erkeklerde baş boyun kanserleri içinde 6,2/100000 insidans hızı ile ilk sırada bulunmaktadır. Kadınlarda ise birinci sırada olan dudak ve oral kavite kanserlerinin ardından ikinci sırada yer almaktadır. İnsidans verilerine göre larinks kanseri erkeklerde tüm vücuttaki kanserler göz önüne alındığında 9. en sık görülen kanser olmuştur [90]. Larinks kanseri toplam kanser yükünün %2.2’sini oluştururken, tüm kanser ölümlerinin ise %1.9’undan sorumludur [39].

Larinks malignitelerinde semptomlar tümörün yerleşim yerine göre farklılıklar gösterebilir. Disfoni en sık belirti olmakla birlikte tutulum yerine göre erken veya geç evrede oluşabilir. Bununla birlikte laringeal malignitelerde tümörün yerine ve büyüklüğüne göre disfaji, boğazda gıcıklanma, dolgunluk, yabancı cisim hissi, odinofaji, otalji, öksürük, hemoptizi, boyunda şişlik, dispne veya stridor da görülebilir

Premalign larinks lezyonları, larinks kanserinin öncü lezyonları olarak kabul edilirler. Bu lezyonlar, birbirini takip eden, ilerlemesi durumunda larinks kanserine dönüşme riski olan neoplastik ve hiperplastik değişiklikleri içerirler [45]. Premalign larinks lezyonları makroskopik olarak lökoplaki veya eritroplaki şeklinde görülebilirler. Mikroskopik olarak ise hiperplazi, metaplazi ve displazi olarak sınıflandırılırlar. Laringeal lökoplaki, kendiliğinden iyileşmeyen ve larinks kanserinin öncü lezyonu olarak kabul edilen keratotik beyaz plaklara verilen isimdir. Eritroplaki, lökoplaki ile benzer özellikleri olan makroskopik olarak kırmızı renkte görülebilen, malignite potansiyeli lökoplakiden daha yüksek olan premalign larinks lezyonudur. Histopatolojik incelemede displaziden in-situ karsinoma kadar değişen bulgular görülebilir. Premalign larinks lezyonlarında kabul edilen güncel tedavi metodu cerrahi eksizyondur. Cerrahi yöntem olarak stripping şeklinde eksizyon tercih edilir. Cerrahi eksizyon, premalign larinks lezyonları ile larinks karsinomlarının ayırıcı tanısında histolojik incelemenin yapılması için gereklidir [39].

Larinks kanserlerinin neredeyse tamamı epitelyal orijinlidir ve skuamöz hücreli karsinom en sık görülen histolojik alt tiptir. Larinks kanseri olan hastalardaki prognoz genel olarak tümörün yerine ve evresine bağlı olarak değişmektedir. Bu

nedenle bu kanserin erken dönemde teşhisi, tedavi stratejilerinin temel unsurlarından biri olmuştur [91].

Laringeal lezyonlar için güncel kabul gören tanı yöntemi histopatolojik incelemedir. Malignite şüphesi olan lezyonlarda punch biyopsi tercih edilirken premalign lezyonlarda stripping şeklinde biyopsi tercih edilmektedir. Larinks kanserlerinde altın standart tanı yöntemi histopatolojik inceleme olmakla birlikte bu işlemin de bir takım kısıtlılıkları bulunmaktadır. Makroskopik olarak lökoplazik lezyonların çoğunda, kanser tanısı koyulamamaktadır ancak mutlak biyopsi endikasyonu mevcuttur ve genel anestezi altında lezyondan biyopsiler alınmaktadır [95]. Özellikle premalign lezyonlarda histopatolojik tanının standart şekilde konulabilmesi için lezyonun tamamının eksize edilmesi gerekmektedir. Bu işlemin ise kendine ait morbiditesi bulunmaktadır. Ayrıca biyopsinin alınabilmesi için genel anestezi uygulanması gerekmektedir ve bu durum, yaşlı ve ek morbiditesi bulunan hastalarda işlemin uygulanabilirliğini azaltabilmektedir. Erken dönem laringeal lezyonlarda, yanlış negatif histolojik inceleme sonuçları nadir değildir ve bu durum lezyondan tekrar biyopsi alınmasını gerektirir. Tekrarlayan biyopsiler ise larinkste fonksiyonel anlamda bozulmalara yol açabilir. Bu gibi sebeplerle laringeal lezyonlara tanı koymada yeni yöntemlerin araştırılması faydalı olacaktır.

Laringeal lezyonların tanısında kullanılabilecek bir diğer tanı aracı ise larinksin fırça sitolojisidir. Fırça sitolojisi, hava yolu için üretilmiş steril fırçalar yardımıyla laringeal lezyonlardan hücre örneklerinin alınmasını sağlar. Larinksin fırça sitolojisi, biyopsiyle karşılaştırıldığında daha az invazif bir yöntemdir. Ayrıca fırça sitolojisi lokal anestezi altında da yapılabilmektedir, bu sebeple ek komorbiditesi olan veya ileri yaş hastalarda avantajlı hale gelmektedir. Bu işlemde, laringeal lezyonun olduğu kısımdan örnek alınırken, lezyonun olmadığı laringeal bölgelerde herhangi bir hasar oluşmamaktadır [94]. Alınan hücre örnekleri, sitomorfolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenebilir ve tanı konusunda fayda sağlayabilir. Hazırlık ve uygulama aşamalarının daha hızlı olması işlemin avantajlarından biridir. Yeterli hücre örneği ile birlikte fırça sitolojisi, premalign veya malign şüpheli larinks lezyonlarında doğru tanı koymamızı sağlayabilir. Bu açıdan daha hızlı ve lokal anestezi altında alınabilen fırça sitolojisi örnekleri tanıya katkı sağlayabilir.

Larinksin sitolojik incelenmesi yıllar önce tarif edilmiş bir durumdur. Bu konuda yapılan ilk çalışmalarda uygulanan tekniklerle, fırça sitolojisinin larinks kanserlerinde tanı koyma sensitivitesi, histopatolojik incelemeye kıyasla düşük olarak bulunmuştur. Bu ilk çalışmalar, sitolojinin uterin kanser taramasında temel tarama yöntemlerinden biri haline geldiği zamanlarda yapılmıştır. Bu durum yıllar içinde laringeal lezyonlarda tanı için sitolojik incelemenin sınırlı kalmasına yol açmıştır. Bu işlemin ana dezavantajının, bazal membran invazyonunun gösterilemediği için yüksek dereceli displazi ile in-situ karsinomun veya invazif kanser arasında tanı ayrımının yapılamaması olarak görülmüştür. Bu nedenle sitolojik inceleme ve histolojik incelemedeki tanıların aynı olmasının mümkün olmadığı savunulmuş, sitolojik inceleme sonucunda lezyonlar benign, malign veya belirsiz sitoloji olarak kategorize edilmiştir [97].

Laringeal lezyonlarda tanı koyma oranını arttırmak için transepitelyal bir sitoloji örneğinin alınması önemlidir. Bunun için, bizim çalışmamızda da uygulandığı şekliyle örnek alma işlemi esnasında fırça, lezyon boyunca kendi etrafında döndürülmeli ve peteşial kanamalar görülene kadar lezyon kenarlarına boylu boyunca sürtülmelidir. Örnek alındıktan sonra dokuların taşıma kabına aktarılması ve taşıma sıvısında gözle görülür partiküllerin olduğunun görülmesi gerekmektedir. Bu partiküllerin görülmesi bizim çalışmamızda yeterli miktarda hücrenin alındığının göstergesi olarak kabul edilmiştir. Fırça sitolojisi ile alınan materyal taşıma kabında aynı gün içerisinde Sitoloji Anabilim Dalı'na ulaştırılmış, burada yine aynı gün içerisinde sıvı bazlı sitoloji yöntemiyle işlenerek incelemede kullanılacak lamalar elde edilmiştir. Sıvı bazlı sitoloji, sensitiviteyi ve spesifiteyi arttırmak için hücrelerin ince, eşit olarak dağılmış bir katmanda otomatik veya yarı otomatik olarak işlenmesini ve dağıtılmasını sağlamaktadır. Bu işlem diğer sitolojik preparat hazırlama yöntemlerine göre daha hızlı ve güvenilir sonuç vermektedir [91]. Bu işlemin konvansiyonel işlemlere avantajlarından biri de materyalleri arşivleyebilmesi ve birçok lam oluşturarak immünohistokimyasal incelemeler gibi yeni tekniklerin, aynı örnekler üzerinde uygulanmasını mümkün kılmasıdır [93].

Literatüre bakıldığında, laringeal sitolojinin larinks lezyonlarında tanı amaçlı kullanımı konusunun tartışmalı olduğu görülmektedir. Bu konu ile ilgili ilk çalışma

1977 yılında yayınlanmıştır. 1977 yılında Thomsen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya 149 hasta dahil edilmiştir. Çalışmada sadece sitomorfolojik değerlendirme yapılmıştır. Çalışmanın yanlış negatif sonucunun %44 olduğu sonucuna varılmıştır ve laringeal lezyonlarda fırça sitolojisinin kısıtlı olduğu savunulmuştur [96].

Lundgren ve arkadaşları tarafından 1981 yılında yapılan bir çalışmada 350 hasta üzerinde fırça sitolojisi değerlendirilmiştir. Premalign lezyonlara uygulanan fırça sitolojisinin tanı koymadaki sensitivitesinin %83, spesifitesinin ise %84 olduğu sonucuna varılmıştır [97]. Malamou-Mitsi ve arkadaşlarının 2000 yılında yapmış olduğu çalışmaya 31 hasta dahil edilmiştir. Bu çalışmada, laringeal fırça sitolojisinin sensitivitesinin %93.3, spesifitesinin ise %100 olduğu sonucuna varılmıştır [98]. Bir diğer çalışma ise ülkemizden yayınlanmış olup Üstündağ ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yapılmıştır. Bu çalışmaya 135 hasta dahil edilmiştir. Fırça sitolojisinin sensitivitesinin %82.5, spesifitesinin ise %94.5 olduğu sonucuna varılmıştır [90]. Gugatschka ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptığı bir çalışmada, laringeal fırça sitolojisinin stroboskopi altında yapılmasının, işlemin sensitivitesini %97'ye kadar çıkardığı görüşüne varmışlardır [99].

Literatürde fırça sitolojisinde sitomorfolojik inceleme ile birlikte immünohistokimyasal bakının da kullanıldığı bir çalışma mevcuttur. Angelos Chatziavramidis ve arkadaşlarının 2015 yılında yapmış olduğu çalışmaya 30 hasta dahil edilmiştir. Premalign lezyonlara yönelik yapılan fırça sitolojisi uygulaması sonucunda örnekler sitomorfolojik olarak bakılmış aynı zamanda immünohistokimyasal olarak VEGF boyanma intensitesi ölçülmüştür. Fırça sitolojisinin sensitivitesi %85, spesifitesi ise %90 olarak bulunmuştur [100]. Çalışmada sonuç olarak fırça sitolojisinin minimal invazif olarak tanı koymada başarılı olduğu düşünülmüştür. İmmünohistokimyasal çalışma ile güçlendirildiğinde tanısal değer arttığı düşünülmüştür. Fırça sitolojisinin tanı olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır [100].

Çalışmamızda, fırça sitolojisi ile laringeal lezyonlardan alınan materyale, sitomorfolojik çalışmaya ek olarak immünohistokimyasal olarak CD44 boyanması da uygulanmıştır. Fırça sitolojisi ile alınan örneklerde immünohistokimyasal olarak CD44



intensitesi ölçülmüştür ve sonuçları, sitomorfoloji sonuçları ile birlikte değerlendirilmiştir.

CD44 molekülü, kanserin hücre adezyonu sırasında kullandığı bir molekül olarak görülmektedir. Bu molekül, hücreler arası ve hücre-hücre dışı matriks bağlantılarında görev alan önemli bir moleküldür. CD44 molekülü, hücre dışı matriks bileşenlerinden olan hyaluronik asitin majör hücre yüzey reseptörüdür. Normal şartlarda CD44 hyaluronik asite bağlanarak hücre dışı matriks bağlantısını stabilize eder. Aynı zamanda CD44 matriks metalloproteinazları için reseptör oluşturma fonksiyonu sayesinde, bu moleküllerin fonksiyonlarına da dolaylı yoldan aracılık eder. Literatürde bu molekülün malignite süreci ile ilişkili olduğunu ifade eden çok sayıda çalışma olması nedeniyle, çalışmamızda sitomorfolojik bulguları desteklemek için immünohistokimyasal boyama yöntemleri ile CD44 pozitifliği çalışılmıştır.

Literatürde, baş boyun kanserleri alanında CD44 molekülünün çalışıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur. Franzmann ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tükürük salgısındaki CD44 seviyeleri ölçülmüş, baş boyun bölgesinde skuamöz hücreli kanseri bulunan hastaların tükürük bezi salgılarındaki CD44 seviyesinin, normal popülasyona oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur [86]. Başka bir çalışmada ise CD44'ün baş boyun kanserlerindeki prognoza etkisi tartışılmıştır. Jianqiang Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir meta analizde CD44 seviyesinin faringeal ve laringeal yerleşimli kanserlerde daha kötü T kategorisi, N kategorisi ve daha kötü prognozla ilişkili olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada oral kanserler içinde CD44 seviyeleri araştırılmış ancak herhangi bir ilişki bulunamamıştır [82]. Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada CD44'ün izoformlarının baş boyun kanserlerinde prognoza etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada V3 ve V6 izoformlarının fazlalığında lenf nodu metastaz oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte V10 izoformlarının seviyesiyle uzak metastaz oranı arasında bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. V6 ve V10 izoformlarının yüksek seviyeleri ile düşük hastaliksız sağkalım oranlarının arasında bir korelasyon olduğu gözlenmiştir [87]. Linda-Lotta Kokko ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada CD44'ün artmış ekspresyonunun, baş boyun skuamöz hücreli kanserlerinde özellikle faringeal ve laringeal yerleşimlilerde, evrelemeye ek olarak bir prognostik faktör olabileceği gösterilmiştir [83]. Bu

çalışmada artmış CD44 seviyesinin kötü prognozla ilişkisi olduğu düşünülmüştür. De Jong ve arkadaşları tarafından 2010 yılında yapılan bir çalışmada artmış CD44 ekspresyonu ile, radyoterapi ile tedavi edilmiş erken evre larinks kanserlerinde artmış lokal rekürrens riski arasında korelasyon gözlenmiştir [88]. Bu çalışmada, erken evre larinks kanserindeki CD44 seviyesi ile radyoterapi cevabı arasında bir ilişki olabileceği düşünülmüştür. Artmış CD44 seviyesine sahip tümörlerin radyoterapi cevabının daha düşük olabileceği raporlanmıştır [88].

Bizim çalışmamızda, premalign veya malign şüpheli larinks lezyonlarından fırça ile alınan örneklerle sitomorfolojik olarak bakılmıştır. Sitomorfolojinin maligniteyi saptamasının sensitivitesi %66, spesifitesi ise %99.9 olarak bulunmuştur. Sitomorfolojinin pozitif prediktif değerinin %100 olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç bize sitomorfolojik olarak malign tanısı alan hastaların hepsinin histolojisinin de malign olarak raporlandığını göstermiştir. Sitomorfolojinin negatif prediktif değeri ise %47 olarak bulunmuştur. Histoloji sonucu malign olanların %65,6'sının sitomorfoloji sonucu malign, histoloji sonucu atipi-displazi ve benign olanların tamamının sitomorfoloji sonucu belirsiz sitoloji veya benign olarak raporlanmıştır.

Çalışmamızda sitomorfoloji ve CD44 pozitifliği kombine edildiğinde premalign veya malign görünümlü larinks lezyonlarında malignite tanısını koymadaki sensitivitenin %91'e yükseldiği gözlenmektedir. Kombine edilmiş yöntemin pozitif prediktif değerinin %82 olduğu sonucuna varılmıştır ancak negatif prediktif değerin ise %42 olduğu gözlenmiştir.

İstatistiksel olarak bakıldığında premalign veya malign şüpheli laringeal lezyonların %87,1'inde sitomorfolojik tanının patolojik (malign veya belirsiz sitoloji) olarak geldiği görülmüştür. Keşifsel analiz olarak hesaplanan bu oranın, CD44 pozitifliği ile kombine edildiğinde %94'e yükseldiği gözlenmiştir. İşlemin spesifitesi %99.9'dur. Histolojisi benign olan hastaların hepsinin sitomorfolojisi benign ve CD44 boyanma derecesi normal olarak raporlanmıştır.

CD44 ile kombine edildiğinde sitomorfolojinin premalign veya malign şüpheli larinks lezyonlarında tanı koymadaki sensitivitesinin artması sonucunda, bu işlemin larinks kanseri tanısını koymada güvenli bir işlem olabileceğini düşündürmüştür.

Ancak her iki durumda da işlemin negatif prediktif değeri düşük çıkmaktadır. Bu durumda negatif olarak sonuçlanan bir fırça sitolojisi sonucunun, histoloji sonucu malign olarak raporlanabilmektedir. İdeal bir tarama testinin negatif prediktif değerinin yüksek olması gerekmektedir. Bu sayede sağlıklı denilen bireylerdeki gerçekten sağlıklı olma durumu daha yüksek olasılıkla bulunmaktadır. Bu sebeple bu işlemin tarama testi olarak kullanılamayacağı düşünülmüştür. Aynı şekilde yanlış negatif sonuçlardan dolayı, takip metodu olarak da kullanılmasının uygun olmayacağı sonucuna varılmıştır.

Literatüre bakıldığında larinks kanseri tanısını koymada, immünohistokimyasal olarak bakılan CD44 intensitesi ile güçlendirilmiş sitomorfolojik değerlendirmenin yapıldığı çalışma bulunmamaktadır. Literatürde, baş boyun kanserlerinde CD44'ün kullanıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur, ancak bu çalışmaların hiçbirisinde CD44, fırça sitolojisi örneklerinde çalışılmamıştır. Bu bakımdan CD44'ün immünohistokimyasal bakışı ile birlikte sitomorfolojinin birlikte kullanıldığı bu çalışma, literatürde bir ilk olmaktadır.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Fırça sitolojisi ile her zaman aynı kalitede örnekler alınamamaktadır. Bazı örneklerde yetersiz hücre sayısından ötürü tanı konulmasında zorluklar yaşanmıştır. Sitomorfolojik olarak malign kategorisinde değerlendirilmeyen ancak histolojik olarak malign olarak raporlanmış hasta kategorisindeki başlıca sebep, alınan numunedeki hücre sayısındaki yetersizlik olarak bildirilmiştir. Bu durum fırça sitolojisinin alınması esnasında olmuş olabileceği gibi teknik nedenlerle ortaya çıkan lamlar arasındaki farklılıklara da bağlı olabilir. Buna bağlı olarak, yeterli hücre sayısı olan örneklerde daha net bir şekilde tanı koyulabilmektedir. Çalışmamızda da belirtildiği gibi fırça ile örnek alınıp taşıma kabına konulduktan sonra taşıma kabı içerisinde makroskopik olarak partiküllerin görülmesi yeterli hücre alındığının bir göstergesi olabilir. Örnekleri alan cerrah ve örnekleri inceleyen sitolog açısından farklılıkların olmaması için çalışmaya alınan örneklerin hepsi aynı cerrah tarafından alınmıştır ve hepsi deneyimli sitolog tarafından klinik seyir ve histolojik sonuç bilinmeden raporlanmıştır. Sitomorfolojik inceleme ile histolojik tanı arasındaki uyumsuz sonuçların bir diğer nedeni de histolojik alt tip olabilir. Uyumsuz tanıya sahip hastalarda histolojik alt tipin bazaloid tipte olduğu

görülmüştür. İstatistik olarak anlamlı sonuç için yeterli hasta olmamakla birlikte, histolojik olarak bazaloid tipte olan larinks skuamöz hücreli kanserinde, fırça sitolojisi ile tanı koymak diğer histolojik alt tiplere oranla daha zor olabilir.

Laringeal fırça sitolojisinin tanısal doğruluğunu artırmak için örnekleme tekniğinde daha fazla iyileştirmeler yapılmalı, KBB uzmanı ve sitopatologlar arasındaki işbirliği daha yakın olmalı ve daha fazla sitopatoloğun laringeal sitolojide uzmanlaşması teşvik edilmelidir. Ek olarak, immünohistokimyada yeni antikorların geliştirilmesinin sitopatolojinin tanı değerini artırması beklenmektedir. Larinks kanserlerinin KBB hekimleri için önemi giderek arttığı için bu konudaki çalışmaların da artması gerekmektedir.

## 6. SONUÇLAR

1. Premalign veya malign şüpheli laringeal lezyonlardan yapılan fırça sitolojisinde, sitomorfolojik incelemenin malignite tanısı koyma sensitivitesi %66 olarak bulunmuştur. Sitomorfolojinin spesifitesi ise %100 olarak değerlendirilmiştir.
2. Premalign veya malign şüpheli laringeal lezyonlardan yapılan fırça sitolojisinde, immünohistokimya ile güçlendirilmiş sitomorfolojik incelemenin malignite tanısı koyma sensitivitesi %91, spesifitesi ise %100 olarak değerlendirilmiştir.
3. Laringeal patolojik lezyonlarda fırça sitolojisi ile alınan örneklerde sitomorfolojik incelemenin malignite tanısı koymada pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri ise %47 olarak bulunmuştur.
4. Laringeal patolojik lezyonlarda fırça sitolojisi ile alınan örneklerde tanı yöntemi olarak kullanılan immünohistokimya ile güçlendirilmiş sitomorfolojik incelemenin pozitif prediktif değerinin %82, negatif prediktif değerinin ise %42 olduğu bulunmuştur.
5. Sitomorfoloji ile immünohistokimyasal incelemenin kombine edilmesi, laringeal patolojik lezyonlardaki malignite tanısını koyma oranlarında belirgin bir artış sağlamaktadır. Bu yöntem, şüpheli malign lezyonlarda tanı için süreyi kısaltan ve hızlı biyopsi imkanı sağlayan bir yöntem olarak değerlendirilmiştir.
6. Larinksin fırça sitolojisinin, premalign larinks lezyonlarında tarama ve takip metodu olarak güvenli olmayabileceği düşünülmüştür. Tarama ve takip metodu olarak klinik şüphe halinde lezyonun histopatolojik incelemesinin daha doğru bir yöntem olduğu kanaatine varılmıştır.
7. Laringeal fırça sitolojisi güvenli bir şekilde uygulanabilir bir yöntemdir.

## 6. KAYNAKÇA

1. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Türkiye Kanser İstatistikleri - 2016 Ankara; 2019.
2. Steuer, C.E, et al., An update on larynx cancer. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2017; 67(1): p. 31-50.
3. Siegel, R.L, K.D. Miller, and A. Jemal, Cancer statistics, 2016. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2016; 66(1): p. 7-30.
4. Tucker, J.A. and R. O'Rahilly, Observations on the embryology of the human larynx. Annals of Otology, Rhinology & Laryngology, 1972; 81(4): p. 520-523.
5. Meller, S.M, Functional anatomy of the larynx. Otolaryngologic Clinics of North America, 1984; 17(1): p. 3-12.
6. Friedrich, G. and R. Lichtenegger, Surgical anatomy of the larynx. Journal of voice, 1997; 11(3): p. 345-355.
7. Hansen, J.T, F.H. Netter, and C.A.G. Machado, Netter's clinical anatomy. 2019.
8. Glikson, E, et al., The anatomical evolution of the thyroid cartilage from childhood to adulthood: A computed tomography evaluation. The Laryngoscope, 2017; 127(10): p. E354-E358.
9. Khan, M.K, Essential Otolaryngology Head; Neck Surgery, 10th edn. K J Lee, ed. McGraw-Hill, 2012. The Journal of Laryngology & Otology, 2013; 127(3): p. 330-330.
10. Cummings CW Otolaryngology Head and Neck Surgery, third edition Mosby Book St Louis: 1998;2326-2345.
11. Noordzij, J.P. and R.H. Ossoff, Anatomy and physiology of the larynx. Otolaryngologic Clinics of North America, 2006; 39(1): p. 1-10.

12. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi 1. Baskı Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti, 2003; p. 1141-1154
13. Tallgren, A. and B. Solow, Hyoid bone position, facial morphology and head posture in adults. *The European Journal of Orthodontics*, 1987; 9(1): p. 1-8.
14. Windisch, G, et al, The functional anatomy of the cricothyroid joint. *Surgical and radiologic anatomy*, 2010; 32(2): p. 135-139.
15. Önerci M. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Hastalıkları, Baş Boyun Cerrahisi 1. Baskı Ankara: Güneş Tıp Kitabevi Ltd. Şti, 2020; p. 256-260
16. Johnson, J.T. and C.A. Rosen, *Bailey's head and neck surgery: otolaryngology*. 2014; 482-492
17. Odell, E, et al, European Laryngological Society position paper on laryngeal dysplasia Part I: aetiology and pathological classification. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 2021; 278(6): p. 1717-1722.
18. Curtius, K, N.A. Wright, and T.A. Graham, An evolutionary perspective on field cancerization. *Nature Reviews Cancer*, 2018; 18(1): p. 19-32.
19. Coca-Pelaz, A, et al, Relationship between reflux and laryngeal cancer. *Head & neck*, 2013; 35(12): p. 1814-1818.
20. Hobbs, C.G. and M.A. Birchall, Human papillomavirus infection in the etiology of laryngeal carcinoma. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*, 2004; 12(2): p. 88-92.
21. Önerci Celebi O, Sener E, Hosal S, Cengiz M, Gullu I, Guler Tezel G. Human papillomavirus infection in patients with laryngeal carcinoma. *BMC Cancer*. 2018 Oct 20;18(1):1005.

22. Bouquot, J.E. and D.R. Gnepp, Laryngeal precancer: a review of the literature, commentary, and comparison with oral leukoplakia. *Head & neck*, 1991; 13(6): p. 488-497.
23. Shanmugaratnam, K, *Histological typing of tumours of the upper respiratory tract and ear*. 2012; Springer Science & Business Media.
24. Gale, N, et al, Evaluation of a new grading system for laryngeal squamous intraepithelial lesions—a proposed unified classification. *Histopathology*, 2014; 65(4): p. 456-464.
25. Cho, K.-J. and J.S. Song, Recent changes of classification for squamous intraepithelial lesions of the head and neck. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 2018; 142(7): p. 829-832.
26. Barnes, L, et al, *WHO classification of tumours. Pathology and genetics of head and neck tumours*. Lyon, France, 2005.
27. Crissman, J.D. and W.A. Sakr, *Squamous neoplasia of the upper aerodigestive tract: intraepithelial and invasive squamous cell carcinoma*. *Head and Neck Surgical Pathology*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001; p. 34-52.
28. Gale, N, et al, The Ljubljana classification: a practical strategy for the diagnosis of laryngeal precancerous lesions. *Advances in anatomic pathology*, 2000; 7(4): p. 240-251.
29. Slootweg, P.J. and A.K. El-Naggar, World Health Organization 4th edition of head and neck tumor classification: insight into the consequential modifications. *Virchows Arch*, 2018; 472(3): p. 311-313.
30. van Hulst, A.M, et al, Grade of dysplasia and malignant transformation in adults with premalignant laryngeal lesions. *Head & neck*, 2016; 38(S1): p. E2284-E2290.



31. Sllamniku, B, et al, The transformation of laryngeal keratosis into invasive carcinoma. *American journal of otolaryngology*, 1989; 10(1): p. 42-54.
32. Isenberg, J.S, D.L. Crozier, and S.H. Dailey, Institutional and comprehensive review of laryngeal leukoplakia. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*, 2008; 117(1): p. 74-79.
33. Karatayli-Ozgursoy, S, et al., Laryngeal dysplasia, demographics, and treatment: a single-institution, 20-year review. *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 2015; 141(4): p. 313-318.
34. Luers, J, et al, The impact of laryngeal dysplasia on the development of laryngeal squamous cell carcinoma. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 2014; 271(3): p. 539-545.
35. Hoffman, H. and T. McCulloch, Management of early glottic cancer. *Cummings Otolaryngology: Head & Neck Surgery*. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, 2015.
36. Fiorella, R, V.D. Nicola, and L. Resta, Epidemiological and clinical relief on hyperplastic lesions of the larynx. *Acta Oto-Laryngologica*, 1997; 117(sup527): p. 77-81.
37. Cosway, B. and V. Paleri, Laryngeal dysplasia: an evidence-based flowchart to guide management and follow up. *The Journal of Laryngology & Otology*, 2015; 129(6): p. 598-599.
38. Weller, M, et al, The risk and interval to malignancy of patients with laryngeal dysplasia; a systematic review of case series and meta-analysis. *Clinical otolaryngology*, 2010; 35(5): p. 364-372.
39. Bray, F, et al, Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2018; 68(6): p. 394-424.

40. Serindere, G, et al, Comparison of Head and Neck Cancer Distribution in Turkish and Syrian Populations. *Iranian Journal Of Public Health*, 2019; 48(10): p. -.
41. Citak, E, Z. Tulek, and O. Uzel, Nutritional status in patients with head and neck cancer undergoing radiotherapy: a longitudinal study. *Support Care Cancer*, 2019; 27(1): p. 239-247.
42. Pehlivan, M, et al, Diagnostic role of ultrasound elastography on lymph node metastases in patients with head and neck cancer. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 2019; 85(3): p. 297-302.
43. Gao, X, et al, Second primary cancers in patients with laryngeal cancer: a population-based study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2003; 56(2): p. 427-35.
44. Hashibe, M, et al, Contribution of tobacco and alcohol to the high rates of squamous cell carcinoma of the supraglottis and glottis in Central Europe. *Am J Epidemiol*, 2007; 165(7): p. 814-20.
45. Talamini, R, et al, Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: a case-control study. *Cancer Causes Control*, 2002; 13(10): p. 957-64.
46. Fiorella, R, V. Di Nicola, and L. Resta, Epidemiological and clinical relief on hyperplastic lesions of the larynx. *Acta Otolaryngol Suppl*, 1997; 527: p. 77-81.
47. Adams, P.J, Assessing whether to receive funding support from tobacco, alcohol, gambling and other dangerous consumption industries. *Addiction*, 2007; 102(7): p. 1027-1033.
48. Nagao, T, Large cell carcinoma. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, eds. *WHO Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. Lyon: IARC Press. 2005.

49. Norris, J. and B. Cady, Larynx and hypofarenx cancer. Leibel SA, Phillips TL, eds. Textbook of radiation oncology 1998; Philadelphia: WB Saunders Company.
50. Jg, B, luna mA, el-naggar AK. Nonsquamous carcinomas of the larynx, 1992; p. 1024-6.
51. Friedmann, I. and A. Ferlito, Precursors of squamous cell carcinoma. Neoplasms of the larynx. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1993; p. 97-111.
52. Stevens, A, J.S. Lowe, and I. Scott, Core pathology. 2008; Elsevier Health Sciences.
53. Yilmaz T, Süslü N, Atay G, Günaydın RÖ, Bajin MD, Özer S. The effect of midline crossing of lateral supraglottic cancer on contralateral cervical lymph node metastasis. Acta Otolaryngol. 2015; May;135(5):484-8.
54. Calhoun, K.H, et al, Distant metastases from head and neck squamous cell carcinomas. The Laryngoscope, 1994; 104(10): p. 1199-1205.
55. Soriano, E, et al, Course and prognosis of basaloid squamous cell carcinoma of the head and neck: a case–control study of 62 patients. European Journal of Cancer, 2008; 44(2): p. 244-250.
56. Chernock, R.D, et al, HPV-related nonkeratinizing squamous cell carcinoma of the oropharynx: utility of microscopic features in predicting patient outcome. Head and neck pathology, 2009; 3(3): p. 186-194.
57. Serrano, M.F, et al, Utility of high molecular weight cytokeratins, but not p63, in the differential diagnosis of neuroendocrine and basaloid carcinomas of the head and neck. Human pathology, 2008; 39(4): p. 591-598.
58. Thompson, L.D, et al, Spindle cell (sarcomatoid) carcinomas of the larynx: a clinicopathologic study of 187 cases. The American journal of surgical pathology, 2002; 26(2): p. 153-170.

59. Lewis, J.S, J.H. Ritter, and S. El-Mofty, Alternative epithelial markers in sarcomatoid carcinomas of the head and neck, lung, and bladder—p63, MOC-31, and TTF-1. *Modern Pathology*, 2005; 18(11): p. 1471-1481.
60. Sciot, R, et al, Angiosarcoma of the larynx. *Histopathology*, 1995; 26(2): p. 177-180.
61. Wenig, B.M, Laryngeal mucosal malignant melanoma. A clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural study of four patients and a review of the literature. *Cancer*, 1995; 75(7): p. 1568-1577.
62. Johnson, J, *Bailey's head and neck surgery: Otolaryngology*. 2013; Lippincott Williams & Wilkins.
63. Rafferty, M, J. Fenton, and A. Jones, The history, aetiology and epidemiology of laryngeal carcinoma. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*, 2001; 26(6): p. 442-446.
64. Süslü N, Şefik Hoşal A. Early oral feeding after total laryngectomy: Outcome of 602 patients in one cancer center. *Auris Nasus Larynx*. 2016 Oct;43(5):546-50
65. Cattaruzza, M, P. Maisonneuve, and P. Boyle, Epidemiology of laryngeal cancer. *European Journal of Cancer Part B: Oral Oncology*, 1996; 32(5): p. 293-305.
66. Becker, M, et al, Neoplastic invasion of the laryngeal cartilage: comparison of MR imaging and CT with histopathologic correlation. *Radiology*, 1995; 194(3): p. 661-669.
67. Becker, M, et al, Neoplastic invasion of the laryngeal cartilage: reassessment of criteria for diagnosis at CT. *Radiology*, 1997; 203(2): p. 521-532.
68. Yousem, D.M, K. Gad, and R. Tufano, Resectability issues with head and neck cancer. *American Journal of Neuroradiology*, 2006; 27(10): p. 2024-2036.

69. Breau, R.L. and J.Y. Suen, Management of the N0 Neck. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 1998; 31(4): p. 657-669.
70. Fleming Jr, A.J, et al, Impact of [18F]-2-Fluorodeoxyglucose–Positron Emission Tomography/Computed Tomography on Previously Untreated Head and Neck Cancer Patients. *The Laryngoscope*, 2007; 117(7): p. 1173-1179.
71. Zanation, A.M, et al, Use, accuracy, and implications for patient management of [18F]-2-fluorodeoxyglucose-positron emission/computerized tomography for head and neck tumors. *The Laryngoscope*, 2005; 115(7): p. 1186-1190.
72. Benninger, M.S, A. Shariff, and K. Blazoff, Symptom-directed selective endoscopy: long-term efficacy. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 2001; 127(7): p. 770-773.
73. Chissov, V, et al, Clinical fluorescent diagnosis of tumors using photosensitizer photogem. *Khirurgiia*, 1995; p. 37-41.
74. Süslü N, Senirli RT, Günaydın RÖ, Özer S, Karakaya J, Hoşal AŞ. Pharyngocutaneous fistula after salvage laryngectomy. *Acta Otolaryngol.* 2015 Jun;135(6):615-21
75. Yılmaz T, Hosal AS, Gedikoğlu G, Onerci M, Gürsel B. Prognostic significance of vascular and perineural invasion in cancer of the larynx. *Am J Otolaryngol.* 1998; Mar-Apr;19(2):83-8.
76. Yılmaz T, Hoşal S, Gedikoglu G, Turan E, Ayas K. Prognostic significance of depth of invasion in cancer of the larynx. *Laryngoscope.* 1998 May;108(5):764-8.
77. Süslü N, Hoşal AS, Sözeri B. Prognostic value of metastatic lymph node ratio in node-positive head and neck carcinomas. *Am J Otolaryngol.* 2010 Sep-Oct;31(5):315-9.

78. Pfister, D.G, et al, American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline for the use of larynx-preservation strategies in the treatment of laryngeal cancer. *Journal of clinical Oncology*, 2006; 24(22): p. 3693-3704.
79. Layland, M.K, D.G. Sessions, and J. Lenox, The influence of lymph node metastasis in the treatment of squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx, larynx, and hypopharynx: N0 versus N+. *The Laryngoscope*, 2005; 115(4): p. 629-639.
80. Lydiatt, W.M, et al, Head and Neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*, 2017; 67(2): p. 122-137.
81. Takes, R.P, et al, Can biomarkers play a role in the decision about treatment of the clinically negative neck in patients with head and neck cancer? *Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck*, 2008; 30(4): p. 525-538.
82. Chen, J, et al, Significance of CD44 expression in head and neck cancer: a systemic review and meta-analysis. *BMC cancer*, 2014; 14(1): p. 1-9.
83. Kokko, L.-L, et al, Significance of site-specific prognosis of cancer stem cell marker CD44 in head and neck squamous-cell carcinoma. *Oral oncology*, 2011; 47(6): p. 510-516.
84. Bajorath, J, Molecular organization, structural features, and ligand binding characteristics of CD44, a highly variable cell surface glycoprotein with multiple functions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2000; 39(2): p. 103-111.
85. Hudson, D.L, J. Sleeman, and F.M. Watt, CD44 is the major peanut lectin-binding glycoprotein of human epidermal keratinocytes and plays a role in intercellular adhesion. *Journal of Cell Science*, 1995; 108(5): p. 1959-1970.

86. Franzmann, E.J, et al, Salivary soluble CD44: a potential molecular marker for head and neck cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 2005; 14(3): p. 735-739.
87. Wang, S.J, et al, CD44 variant isoforms in head and neck squamous cell carcinoma progression. *The Laryngoscope*, 2009; 119(8): p. 1518-1530.
88. de Jong, M.C, et al, CD44 Expression Predicts Local Recurrence after Radiotherapy in Larynx Cancer. *Clinical Cancer Research*, 2010; 16(21): p. 5329-5338.
89. Bourguignon, L.Y, et al, Hyaluronan-CD44 interaction with leukemia-associated RhoGEF and epidermal growth factor receptor promotes Rho/Ras co-activation, phospholipase C $\epsilon$ -Ca<sup>2+</sup> signaling, and cytoskeleton modification in head and neck squamous cell carcinoma cells. *Journal of Biological Chemistry*, 2006; 281(20): p. 14026-14040.
91. Ustundag, E, et al, Combined use of histopathology with touch smear cytology in biopsies of the larynx. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology and Head & Neck*, 2006; 263(9): p. 866-871.
92. Boerner, S, *Diagnostic Cytopathology*: Gray W, McKee T, eds.(£ 195.00.) Elsevier Science Limited, 2003; BMJ Publishing Group.
93. Malle, D, et al, Significance of immunocytochemical expression of E-cadherin, N-cadherin and CD44 in serous effusions using liquid-based cytology. *Acta cytologica*, 2005; 49(1): p. 11-16.
94. Braakhuis, B.J, R.H. Brakenhoff, and C.R. Leemans, Second field tumors: a new opportunity for cancer prevention? *The Oncologist*, 2005; 10(7): p. 493-500.
95. Marx, E, *Oral maxillofacial pathology A Rationlae for diagnosis and Treatment* Quintessence publishing co, inc. 2003.

96. Thomsen, J, J. Olsen, and K. Thomsen, Exfoliative cytology in the diagnosis of laryngeal malignancy. *The Journal of Laryngology & Otology*, 1975; 89(3): p. 281-287.
97. Lundgren, J, et al, Exfoliative cytology in laryngology: Comparison of cytologic and histologic diagnoses in 350 microlaryngoscopic examinations—A prospective study. *Cancer*, 1981; 47(6): p. 1336-1343.
98. Malamou-Mitsi, V.D, et al, Contribution of exfoliative cytology to the diagnosis of laryngeal lesions. *Acta cytologica*, 2000; 44(6): p. 993-999.
99. Gugatschka, M, et al, Hyperplastic epithelial lesions of the vocal folds: combined use of exfoliative cytology and laryngostroboscopy in differential diagnosis. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 2008; 265(7): p. 797-801.
100. Chatziavramidis, A, et al, Brush cytology with immunocytochemical evaluation of VEGF expression versus biopsy in clinically precancerous laryngeal lesions: can we diagnose laryngeal cancer only with brush cytology? *Analytical Cellular Pathology*, 2015.