

Skvamöz Hücreli Larenks Karsinomlarında DNA Öploidi Durumunun Prognozla İlişkisi

The Prognostic Significance of DNA Ploidy in Laryngeal Cancers

Dr. Hülya Kahve NOSHARI*, Dr. Özgür YİĞİT**, Dr. Tayfun APUHAN* , Dr. Tanju GÖKÇEER***

*Haseki Hastanesi Kulak Burun Boğaz Kliniği, İstanbul

**Şişli Etfal Hastanesi 2. Kulak Burun Boğaz Kliniği, İstanbul

***Haydarpaşa Numune Hastanesi 2. Kulak Burun Boğaz Kliniği, İstanbul

ÖZET

Bu çalışmada skuamöz hücreli larenks karsinomlarında DNA içeriğinin; tümör evresi, patolojik grade, servikal metastaz ve tedaviye cevapla olan ilişkisi araştırılmıştır. Yaşları 39-69 arasında değişen klinik ve histopatolojik olarak larenks epidermoid karsinomu tanısı konarak uygun cerrahi uygulanmış 25 olgudan oluşmaktadır. Çalışmaya katılan hastalar ; TNM sınıflaması, hastanın tümör örneğine ait sitometrik inceleme sonuçları, sağ kalım ve DNA içeriğine göre dökümanite edildi. DNA öploidi, servikal nodal metastaz durumu, patolojik "grade" ve tedaviye cevap ile temsil edilmekte olan hastalığın seyri ile kıyaslanarak bu bölge kanserlerindeki prognostik geçerliliği ortaya konmaya çalışıldı. 25 olgunun 3'ünde yakın diploidi, 14'ünde diploidi, 7'sinde hiperdiploidi, 1'inde yakın tetraploidi tespit edildi. Klinik evre ile öploidi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. Anöploid olguların çoğunluğu, prognozun kötü olduğu bilinen transglottik gruptayken; diploid tümörlerin, anöploidlere kıyasla daha düşük evreli ve glottik tümörler olduğu görüldü. Böylece DNA içeriğinin tayini, larenksin skuamöz hücreli karsinomlarında önemli bir prognostik belirleyici olarak kabul edilebilir.

Anahtar Kelimeler

Larenks kanserleri, prognostik faktörler, akım sitometrisi

ABSTRACT

The purpose of this study was to assess the relationship between DNA ploidy with tumour stage, histopathologic grade, cervical metastasis and response at treatment in squamous cell laryngeal carcinoma. Surgical sections of twenty-five patients who were clinical and histopathological diagnosed laryngeal epidermoid carcinoma were studied. The age distribution of this cases ranged from thirty-three to sixty-nine years. TNM stage, flow cytometry, surviving and DNA ploidy were analysed in all the patients. DNA ploidy was compared with cervical nodal metastasis, histopathologic grade, response at treatment and we try to consider it a prognostic factor of this carcinomal region. Three of this patients were diagnosed diploidy, fourteen were diploidy, seven were hyperploidy and 1 of them tetraploidy. Clinical stage and ploidy were compared and there were statistically significant differences. Most of anoploid cases were in bad prognostic transglottic group, the group where found diploid cases had better prognosis. In conclusion DNA ploidy is important significance estimating prognosis for laryngeal squamous cell carcinomas.

Keywords

Larynx cancer, prognostic factors, flow cytometry

Çalışmanın yapıldığı klinik(ler): Haseki Hastanesi Kulak Burun Boğaz Kliniği, İSTANBUL
Çalışmanın Dergiye Ulaştığı Tarih: 22.01.2004 • Çalışmanın Basıma Kabul Edildiği Tarih: 10.05.2005

Yazışma Adresi

Dr.Özgür YİĞİT

Başakşehir IV. Etap I. Kısım V1K28 İkitelli/İSTANBUL

E-posta: dryigit@hotmail.com

GİRİŞ

Larenkste, sıklıkla izlenen malignite skuamöz hücreli karsinomdur (2,10,13,19). Larenks kanserlerinde tümörün tabiatını, lezyonun yerleşim yerini gösteren TNM değerlendirmesi ile tümörün malignite potansiyeli ve biyolojik davranışını belirleyen histopatolojik inceleme yönlendirmektedir. Bu da bizleri yeni prognostik faktörlerin araştırılması na yöneltmektedir.

Histopatolojik olarak invazif larenks kanserleri orjinini aldığı örtücü epitel özelliğinde, skuamöz tiptir. Larenks kanserlerinin histolojik evrelendirmesi iyi, orta ve az diferansiyasyon olmak üzere üç tipte incelenmektedir. Glottik karsinomların çoğu iyi diferansiye keratinizedir; ancak infiltratif özellikleri vardır. Supraglottik yerleşim gösteren karsinomlar az diferansiye, keratinizasyon göstermeyen tümörlerdir. Patolojik “grade” ile belirtilen iyi diferansiyasyonun anlamı, tümör hücrelerinde keratin yapma özelliğinin varlığı, spinal hücreler arasındaki bağlantının kaybolmaması ve polarite kaybının belirgin olmamasıdır. Orta derecede diferansiye tümörlerde spinal hücrelerde hiperkromazi, çekirdek değişikliği, çap ve biçim farkı gibi atipi kriterleri belirginleşmiştir (15). Az diferansiye karsinomda ise anaplazi en belirgin unsur olup; yassı epitele benzer alanlar oldukça azalmıştır. Mitoz oranı artmıştır (15).

Pek çok organ sisteminin solid tümörlerinde, DNA içeriğinin kantitatif analizi tümörün klinik davranışlarını tahminde oldukça kullanışlıdır (8,10,14,18,21). Bu çalışmada, larenksin skuamöz hücreli karsinomlarında, DNA içeriğinin, tümör evresi, patoloji “grade”, servikal metastaz ve tedaviye cevapla ilişkisi araştırılmıştır.

YÖNTEM ve GEREÇLER

Hastalarımız Ocak 1997 – Aralık 2000 tarihleri arasında başvuran, klinik ve histopatolojik olarak larenks epidemoid karsinomu tanısı konarak operasyon uygulanmış hastalar arasından seçilen 25 olgudan oluşmaktadır. Çalışmaya katılan hastalar, yaşları, cinsiyetleri, “AJC”nin belirlediği TNM sınıflandırması (3), histopatolojik inceleme, sağ kalım ve DNA içeriğine göre dokümanite edildi.

Histopatolojik İncelemede İyi diferansiye tümörler “grade-1” kabul edildi; diferansiyasyon azal-

dıkça grade artarak, indifferansiye tümörler “grade-4” olarak sınıflandırıldı. Ameliyat öncesi direkt laringoskopik muayene ve boyun muayenesi ile TNM sınıflamasına göre preoperatif evre belirlendi Evrelemeler yapılırken “AJC” tarafından geliştirilen sınıflamada bulunmamasına rağmen, transglottik grup da sınıflama içinde yer aldı.

Hastalar ayrıca tedaviye iyi ve kötü cevap verenler şeklinde iki gruba ayrılarak prognostik açıdan değerlendirmeye alındı. Bu ayırmada, primer tedaviyi takiben hiç hastalık bulgusu olmaksızın en az 20 ay takip edilenler iyi cevap veren ya da rekürren hastalığı olanlar veya buna bağlı ölümler ise kötü cevap verenler şeklinde belirlendi. Rezidüel hastalık, cerrahi teknik hatası, komplikasyon gibi çalışmanın kriterlerine uymayan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Her hastanın tümör örneğine ait akım sitometrik inceleme sonuçları da değerlendirmeye alındı. Kullanılan teknik ve değerlendirme metodu, ana hatları ile şu şekideydi: Tümör görüldüğü alandan itibaren, en az %20 si tümör içeren kesitlerden başlayarak yeterli hücre sayısını ihtiva edecek sayıda 50 micronmetre slayt kesildi. Bu parafinize slaytlar bir tüp içerisine yerleştirilip ksilol ile muamele edildi. Ksilol ile tamamen deparafinize edilen dokular, ksilolden arındırılıp konsantrasyonları giderek azalan alkol solüsyonlarında 10 ar dakika bekletildi. Fosfatla tamponize edilmiş izotonik solüsyon (FTİ=PBS) ile yıkandı. Hücreler santrifüj edilerek PBS’den arındırıldı. Hipertonik suda 12 saat bekletilerek hidrasyon sağlandı. Doku slaytları 14,17,22 gausluk iğnelerle sırasıyla mekanik olarak parçalandı. 30 mikronluk naylon tüllerden geçirilerek filtre edildi. Sonra hücreler %5 lik pepsin ile 37 derecede 30 dakika enkübe edildi. Enkübasyon sonrası PBS ile ikişer kez kırıldı. Oda sıcaklığında 20 dakika %0,1 lik RNAse ile enkübe edilerek var olan RNA zincirleri kırıldı. Tekrar iki defa PBS ile yıkanan hücreler, santrifüje edilip hipotonik propium iodid (PI) ile yarım saat muamele edildiler. Diğer DNA spesifik boyalara nazaran PI, 448 nm’lik lazer emülsiyonlarında daha iyi sonuç verildiğinden statik DNA içerik ölçümlerinde bu boya tercih edildi. Boyanan hücreler akım sitometri cihazında analize gönderildi. Analiz sırasında kullanılan akım sitometri cihazı, “Beckham Coulter, Epics XL markalı flow cytometer” dir; 480 nm ‘lik lazer eksitasyonu yapabilmektedir ve 3 renkli analiz filtrelerine sahiptir. 25 adet tümör olgusu, 400 mW-

488 nm 'lik lazer emisyonu kullanıp 10000 ila 50000 hücre sayılarak 1023 kanallı entgre floresans histogramlara toplandı. Aletin fotomultipler tüp voltajları, insan lenfositleri ile her analizden önce ayarlandı.

Diploid popülasyonun DNA endeksi (DI), 1 olarak verilmiştir. DI 'i 1'den farklı olarak pikler, total preparatlara göre %10 dan fazla hücre taşıyor ise anöplid olarak değerlendirildi. DI 1 den küçük olanlar, hipodiploid; 1-1.9 arasında olanlar, hiperdiploid; 1.9-2.2 olanlar , tetraploid olarak adlandırıldı. Ayrıca 1-1.2 arasındakiiler, yakın diploid isimlerden ayrı bir grup oluşturdu. DNA analizinde rezolusyonu, normal hücre popülasyonunun Go/G1 pikinin "coefficient variation " (CV) değerinin ölçülmesi ile belirlendi. İnsan kan lenfosit popülasyonunda, CV= %2,5-%4 dokularda ise genellikle CV< %6 değerleri tercih edildi. CV> %6-%8 arasındaki değerler şüpheli kabul edildi.

Yukarıda sözü edilen klinik parametreler ve laboratuvar tetkik sonuçları, hasta grubumuza uyarlandıktan sonra elde edilen değerler, kendi aralarında çaprazlanarak tedavi ve takipte yol gösterici ipuçları elde edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla ilk olarak klinik değişkenlerden olan hastalık evresi primer tümör lokalizasyonu ile karıştırıldı; takiben DNA öploidi durumu ile karşılaştırıldı. İlave olarak diğer klinik özelliklerinden olan T evresi, yine DNA içeriğine göre irdelendi. DNA öploidi son olarak ser-

vikal nodal metastaz durumu, patolojik "grade " ve tedaviye cevap ile temsil edilmekte olan hastalığın seyri ile kıyaslanarak bu bölge kanserindeki prognostik geçerliliği ortaya konmaya çalışıldı.

BULGULAR

Yaşları 33-69 arasında (ortalama yaş 53.6) değişen ve tümü erkek olan olgularda, patolojik tetkik sonucu istisnasız olarak skuamöz hücreli karsinomdu. Hücresel diferansiasyonun nitelendirilmesinde geçerli olan patolojik "grade" sistemi hastalara uygulandı (18); mevcut olmayan 4. grade hariç ilk 3 grade dağılımı yapıldı. Tüm hastalara cerrahi uygulandı. Konservatif ya da total larenjektomi yapıldı. Tüm N1 boyunlara radikal yada modifiye radikal boyun diseksiyonu yapıldı. Ayrıca ekstrakapsüller yayımlı lenf nodu bulunanlara , supraglottik tümörlere ve cerrahi sınır pozitif gelenlere radyoterapi uygulandı.

25 olgunun 3'ünde yakın diploidi, 14'ünde diploidi, 7 tanesinde hiperdiploidi, 1'inde tetraploidi tespit edildi. Olguların %56'sı diploid DNA içeriğine sahipken, %44'ü anöplid DNA içeriğine sahipti (Tablo 1).

Glottik tümörlerde evre 4'e raslanmazken , transglottiklerin 5'i evre 4'idi (Tablo 2). Glottik tümörler arasında anöplidi gösteren 3 (%12) iken transg-

Tablo 1. Vakaların öploidi durumuna göre dağılımı

Öploidi durumu	DİPLOİDİ	YAKIN DİPLOİDİ	HİPERDİPLOİDİ	TETRAPLOİDİ
Vaka sayısı	14	3	7	1

Tablo 2. Klinik evrenin primer tümör lokalizasyonuna göre dağılımı

KLİNİK EVRE	SUBGLOTTİK	GLOTTİK	SUPRAGLOTTİK	TRANSGLOTTİK
Evre-1	1	4	3	0
Evre-2	0	2	0	0
Evre-3	0	4	0	5
Evre-4	0	0	1	5

lottiklerde bu sayı 7 (%28) olarak saptandı (Tablo 3). Anöploidi grubunda 11 olgumuzdan 7'si (%63) prognozun kötü olduğu transglottik gruba dahil edildi.

DNA öploidi durumu ile T evresi arasında bir karşılaştırma yapıldı. Erken T evresli tümörlerdeki diploidi hakimiyeti, literatürdeki diğer çalışmaların sonuçları ile uyumlu bulundu. 11 anöploid tümörün 10'u (%90.9) T3 ve t4 tümörlerdi (Tablo 4).

Anöploidi gösteren olguların hastalığın ileri evresinde olduğu gözlemlendi (Tablo-5). Klinik evre ile öploidi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. (Fischer'in kesin ki kare testi $p=0.0017$)

Patolojik "grade" ile DNA öploidi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamadı (Tablo 6). Kısıtlı vaka grubumuzda etkili diğer faktörler ekarte edilemediğinden, tümörün agresif doğasının göstergesi olan bu özelliklerle ilişkisi net olarak ortaya konamadı.

Tedaviye iyi yanıt veren 15 olgu, tedaviye kötü yanıt veren 10 olgu görüldü (Tablo 7). Anöploid olguların % 63.6'sı tedaviye kötü yanıt verdiler. Tedaviye cevap durumu ile DNA öploidi arasındaki ilişki, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (Fisher'in kesin ki kare testine göre $p=0.042$). Bu sonuçlara dayanarak diploid ve anöploid tümör tipleri arasında, biyolojik davranış özelliklerinin farklı olduğu saptandı. Anöploid tümörler, klinik evresi ileri, kötü seyreden tümörler olarak bulunurken diploid tümörlerin anöploidlere kıyasla daha düşük evreli ve selim tabiatlı tümörler olduğu görüldü.

TARTIŞMA

Doku ve hücrelerin moleküler düzeydeki özelliklerinin kullanımı ise günümüzde ilerlemelerin kaydedildiği, gelişmeye açık bir alandır.

Tablo 3. Primer tümör lokalizasyonu ile öploidi durumunun karşılaştırılması

Primer tümör	Diploidi	%	Anöploidi	%	Toplam	%
Subglottik	1	4	0	0	1	4
Glottik	7	28	3	12	10	40
Subglottik	3	12	1	4	4	16
Transglottik	3	12	7	28	10	40
Toplam	14	56	11	44	25	100

Tablo 4. Tümör T evresi ile öploidi durumunun karşılaştırılması (ki kare testi $p=0,0174$)

Evre	Diploidi	%	Anöploidi	%	Toplam	%
T1-T2	8	32	1	4	9	36
T3-T4	6	24	10	40	16	64
Toplam	14	56	11	44	25	100

Tablo 5. klinik evre ile öploidi durumunun karşılaştırılması ($p= 0.017$)

KLİNİK EVRE	DİPLOİDİ	ANÖPLOİDİ
Evre 1-Evre 2	8	1
Evre 3-Evre 4	6	10

Tablo 6. Patolojik “grade” ile diploidi durumunun karşılaştırılması

PATOLOJİK GRADE	DİPLOİDİ	ANÖPLOİDİ
Grade-1	3	5
Grade-2	5	3
Grade-3	6	3

Tablo 7. Hastaların tedaviye verdiği yanıt ile öploidi durumunun karşılaştırılması.(p= 0,042)

TEDAVİYE CEVAP DURUMU	DİPLOİDİ	ANÖPLOİDİ
İYİ	11	4
KÖTÜ	3	7

Primer tümörün lokalizasyonu, tümörün biolojik davranışını belirleyen faktörlerden biridir. Glottik bölge ve vokal kordlara yerleşmiş tümörler, genellikle iyi differansiye yavaş büyüyen tümörlerdir. Ekstralarengeal yayılım, hastalığın oldukça geç dönemlerde ortaya çıkar. Subglottik tümörler, geniş, lokal invazyona yatkın tümörlerdir. Evre 1 glottik tümörler için bildirilen 5 yıllık sağ kalım oranları (rad-yoterapi ve cerrahi seçildiğinde), % 80 ile % 95 civarındayken, aynı evre supraglottik tümörlerde 5 yıllık sağ kalım oranları % 73 civarında bildirilmektedir (2). Transglottik tümörlerde ise sürvi daha da düşmekte ve % 40'a kadar inmektedir. Çalışmamızda, anöploid olguların çoğunluğu (%72,7) prognozun kötü olduğu bilinen transglottik gruba dahildi. Fakat evre değişkeninin lokalizasyonla olan bağlantısı nedeniyle söz konusu oranlardan pür öploidi durumunu sorumlu tutmak mümkün olmamaktadır (Ki kare testine göre p=0.079).

Prognozun tayininde etkili diğer bir faktör ise servikal lenf nodlarının varlığıdır. Servikal lenf nodlarının yerleşimi, sayısını, büyüklüğü, ekstrakapsüller yayılımının varlığı prognozun tayininde değerli kriterlerdir. Genellikle kabul gören görüş, pozitif lenf nodunun varlığında sürvinin üçte bir oranından daha fazla düştüğüdür (4). Nod sayısının ikiyi geçmesi halinde prognozun daha da bozulduğunu, ekstrakapsüller yayılımla lokal nüksün artıp, ortaya çıkış süresinin azaldığını ve ayrıca uzak metastaz ihtimalinin de yükselerek sonuçta sürvinin azaldığını gösteren seriler vardır (17). Supraglottik tümörlerde % 19, transglottik tümörlerde % 52 de su-

bglottik tümörlerde % 19 olarak bildirmişlerdir (13). Kirchner ve ark. transglottik yerleşimli tümörlerde % 32 servikal metastaz oranını bulmuşlar ve tümör büyüklüğünün 4 cm'yi aştığı durumlarda bu oranın % 55'e çıktığını bildirmişlerdir (12). Anöploid olguların % 63.6'sı tedaviye kötü yanıt verdiler. Tedaviye cevap durumu ile DNA öploidi arasındaki ilişki, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (Fisher'in kesin ki kare testine göre p=0.042). Bu sonuçlara dayanarak diploid ve anöploid tümör tipleri arasında, biyolojik davranış özelliklerinin farklı olduğu saptandı. Anöploid tümörler, klinik evresi ileri, kötü seyreden tümörler olarak bulunurken diploid tümörlerin anöploidlere kıyasla daha düşük evreli ve selim tabiatlı tümörler olduğu görüldü.

Uzak metastaz, larenks karsinomlarında oldukça nadir görülür. Larengeal karsinomlu bir hastada ilk başvuruda, uzak metastaz ihtimali % 7-12'dir (1). Supraglottik tümörlerde uzak metastaz insidansı genellikle yüksek rapor edilmiştir. Primer bölge akciğerlerdir; bunu sırayılamediastinal lenf nodları, kemik ve karaciğer takip eder. Doğal olarak, uzak metastazın varlığı sürviyi oldukça azaltır (5).

Serolojik tümör belirleyicileri karsinomların tanı, tedavi ve takibinde oldukça değer taşıyıcılar da günümüze dek yapılan çalışmalarda hiç bir belirleyicinin, larenks kanserlerinde beklenen sensitiviteye tek başına sahip olmadığı görülmüştür. Aynı tümör belirleyicileri ile yapılan benzer çalışmalarda, farklı sonuçların elde edildiği görülmektedir. Anadolu ve ark., 48 larenks karsinomlu hastada yaptıkları çalışmada, ferritin seviyelerini kontrol grubuna oran-

la yüksek saptadılar ve post operatif dönemde, seviyelerin düştüğünü belirledikler (3). Yapılan araştırmalarda, sensitivite ve spesivite açısından sialik asit ve skuamöz hücreli kanser antijeni (SCCAg) diğerlerine oranla daha başarılı bulunmuştur. Yine sialik asitle beraber SCCAg'nin, nüks ve metastaz takibinde kombine kullanımı, başarılı sonuçlar vermektedir (6).

Yapılan çalışmalar, DNA içeriğinin solid tümörlerin biyolojik davranışı hakkında verdiği bilginin, diğer standart klinik ve patolojik parametrelere elde edilen bilgilerden çok daha doğru olduğu yolundadır (14). DNA akım sitometrisi metoduyla, G0 ve G1 fazında bulunan hücrelerin ortalama DNA içeriği ve hücre siklusunun her fazında bulunan hücre sayısı hakkında bilgi elde edilir. Literatürde, malign baş ve boyun tümörlerinde DNA öploidi durumunun prognostik değerini inceleyen çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Aerodjestif trakt skuamöz hücreli karsinomundaki DNA miktarı ile ilgili bu kısıtlı sayıdaki çalışmalarda, tümör hücre topluluklarının DNA değerleri birbirleriyle uyumsuzluk içerisindedir (8).

Bazı organ tümörlerinde, özellikle melanomlarda (20), meme (9), uterus (11) ve over (8) tümörlerinde öploidi durumu ile karsinomunun davranışı arasında sıkı bir ilişki kurulabilirken larenks karsinomlarında aynı sonuç alınamamaktadır.

Holm, anöplid skuamöz hücreli baş-boyun karsinomlarında, sürvi oranlarının düştüğünü göstermiş; Golsmith ve ark., Sickle Santanello ve ark., oral kavite skuamöz hücreli karsinomlarında, anöplid halinin kötü prognozu işaret ettiğini; larengeal karsinomlara ise iyi prognozun göstergesi olduğunu iddia etmişlerdir (8,10,16,19). Bizim çalışmamız-

da, anöplid tümöre sahip olgularda, nüks oranları diploid tümörlere göre anlamlı şekilde yüksekti. Anöplid olguların % 63.6'sı tedaviye kötü yanıt verdiler. Tedaviye cevap durumu ile DNA öploidi arasındaki ilişki, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (Fisher'in kesin ki kare testine göre $p=0.042$).

Gandour-Edwards ve ark., skuamöz hücreli baş-boyun kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada, yüksek T evreli tümörlerin çoğunluğunun anöplid içeriğe sahip olduğunu göstermişlerdir (7). Bizim çalışmamızda da, 11 anöplid tümörün 10'u (% 90.9) T3 ve T4 tümörlerdi.

Rua ve ark., yaptıkları çalışmada patolojik "grade" ile öploidi durumu arasında iyi differansiye vakalarda % 51, kötü differansiye vakalarda % 78.3 oranında korelasyon saptadılar (18). Gandour-Edwards ve ark. ise patolojik "grade" ile öploidi durumu arasında korelasyon saptamadılar (7). Zhou, 45 olgudan oluşan serisinde, D1 ile patolojik "grade" arasında anlamlı bir ilişki saptadı (21).

SONUÇ

Çalışmamızda, tümör öploidi durumu ile patolojik "grade" arasında korelasyon saptanamadı. Anöplid gösteren olguların hastalığın ileri evresinde olduğu gözlemlendi. Klinik evre ile öploidi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. Böylece akım sitometrik parametrelerin, tümörlerin diğer sitokinetik ve morfolojik özellikleri ile olan bağlantıları sayesinde, söz konusu her bir faktörün in vivo biyolojik tümör davranışı üzerindeki etkileri netleştirilebilmektedir. DNA içeriğinin tayini, larenksin skuamöz hücreli karsinomlarında önemli bir prognostik belirleyici olarak kabul edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Ambramson A , et al : Distant metastasis from carcinoma of the larynx. *Laryngoscope* 81: 1503, 1971.
2. Adams GL: Malignant tumors of the larynx and hypopharynx. Cummings CW, Frederickson, IM, Harken LA (Eds): *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 1996. Vol 3, pp 2130-21275
3. Anadolu Y, Beder E, Saatçi M. CEA and feritin levels in larengeal carcinoma. *Proceedings of the 15th World Congr of ORL Head and Neck Surgery* 1993;2, p702.
4. Banhidly F, Czinger J, Elo J, Kasler M, Mayer A , Nemeth G. Squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx- classification, investigation and therapy. *Magy Oncol* 46:301-5, 2002.
5. Castellanos PF, Spector JG, Kaiser TN: Tumors of the larynx and larengopharynx. Ballenger, J.J. (Ed.): *Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*. Lea and Febiger, Pennsylvania, 1996. pp: 585-652
6. Dreyfuss AL, Clark JR, Anderson JW. Lipis-associated sialik acid, squamos cell carcinoma antigen, and carcinoembrogenic antigen, and lactic dehydrogenase levels as tumor markers in squamous cell carsinoma of the head and neck. *Cancer* 70:2499-2503, 1992.
7. Gandour -Edwards RF, Donald PJ, Yu T, Howard RR, Teplitz RL. DNA content of the head and neck squamous carcinoma by flow and image cytometry. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 120;294-297, 1994.
8. Goldsmith MM, Cresson DH, Arnold LA, Postma DC. Part 1 DNA flow cytometry as a prognostic indicator in head and neck cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg* 96:307-18, 1987.
9. Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW, Rugg CA, Musgrove EA. Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. *Histochem Cytochem* 31:1333, 1983.
10. Holm LE. Cellular DNA amounts of squamous cell carcinomas of the head and neck region in relation to prognosis. *Laryngoscope* 92:1064-9, 1982.
11. Lyersen DE. Flow cytometric deoxyribonucleic acid index: A prognostic factor in endometrial carcinomas. *Am J Obstet Gynecol* 155:770-776, 1986.
12. Krichner JA: Spread and barriers to spread of the cancer witnin the larynx . Silver CE (Ed): *Laryngeal Cancer*. Theime Mediacal Publishers, New York, pp 6-13.
13. Mçgavran MH, Bauer WC, Ogura JH. The incidence of cervical lymph node metastases from epidermoid carcinoma of larynx and their relationship to certain carakteristics of the primary tumor. *Cancer* 14:55,1961.
14. Merkel DE, Deressler LG, McGuire WL. Flow cytometry, cellular DNA content, prognosis human malignancy. *J Clin Oncol* 5:1960-703, 1987.
15. Ömür M, Doğan Ö, Kaleli Ç. Larenks Kanseri ve Boyun . Haseki Hastanesi Vakfi. 1992
16. Regina F, Gandour E, Donald PJ. DNA content of head and neck squamous carcinoma by flow and image cytometry. *Arch Otol HN Surgery* 120;294-297, 1994.
17. Richard JM, Garnler HS, Micheaul C, Saravane D, Cachin Y. Prognostic factors in cervical lymph node metastases in upper respiratory and digestive tract carcinomas. Study of 1713 cases during a 15-year period. *Laryngoscope* 97:97, 1987.
18. Rua S, Comino A, Frutero A, Cera G, Semeria C, Lanzilotta L, Bofetta P. Relationship between histologic features, DNA flow cytometry, and clinical behaviour of squamous cella carcinomas of the larynx. *Cancer* 141:9, 1991.
19. Sickie-Santanello BJ, Farrar WB, Dobson JL, O'Tolle RV, Keynahl- Rofagna S. Flow cytometric analysis of DNA content as a prognostic indicator in squamous cell carcinoma of the tongue. *Am J Surg* 152:393-5, 1986.
20. Sodergaard K, Larsen JK, et.al. DNA ploidy characteristic of human malignant melanoma analyzed by flowcytometry and compared with histology and clinical course. *Virchows Arch (B)* 42:43-52, 1983.
21. Zhou W. Relation between DNA content in larengeal cancer cell and its clinical behaviour. *Chung Hua Erh Pi Yen Hou Ko Tes Chih* 26:162-3,189, 1991.