

ARAŞTIRMA / RESEARCH

Larinks Skuamöz Hücreli Karsinomlarının Nüks ve Sağkalımında p16 Ekspresyonunun Rolü

The Role of p16 Expression in Recurrence and Survival of Laryngeal Squamous Cell Carcinomas

Nuket ÖZKAVRUK ELİYATKIN¹, Asuman Feda BAYRAK², Hacer Sena KILIÇ¹, Akif İŞLEK³

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

²İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

³Acıbadem Eskişehir Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği, Eskişehir, Türkiye.

Geliş tarihi/Received: 23.08.2023

Kabul tarihi/Accepted: 18.10.2023

Sorumlu Yazar/Corresponding Author:

Nuket ÖZKAVRUK ELİYATKIN, Doç. Dr.
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
E-mail: drnuket2003@yahoo.com
ORCID: 0000-0002-7784-5699

Asuman Feda BAYRAK, Doç. Dr.
ORCID: 0000-0001-8403-3018

Hacer Sena KILIÇ, Arş. Gör. Dr.
ORCID: 0000-0003-0308-3457

Akif İŞLEK, Doç. Dr.
ORCID: 0000-0001-7058-3457

Öz

Amaç: Larinks karsinomlarında en sık görülen histolojik tip skuamöz hücreli karsinomdur. Son yıllarda temel nedensel faktörler arasında insan papilloma virüsü (Human Papilloma Virüs, HPV)'nün de etkili olabileceği bildirilmektedir. HPV enfeksiyonunu tanımlamada immunohistokimyasal olarak p16 proteini değerlendirilmektedir. Bu çalışmanın amacı, laringeal skuamöz hücreli karsinom hastalarında uzun süreli genel sağkalım, hastaliksız sağkalım ve hastalığa özgü hastaliksız sağkalım üzerindeki p16 ekspresyonunun prognostik rolünü değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 2013-2015 yılları arasında larinks skuamöz hücreli karsinom tanısı alan hastalar elektronik ortam verilerinden kayıt edildi ve arşiv preparatları yeniden değerlendirildi. Yeterli tümör dokusu içeren ve parafin bloklarına ulaşılan hastalar çalışmaya dahil edildi. Demografik veriler, histopatolojik bulgular, tümör nüksü, sağkalım takipleri değerlendirildi. Tanıtıcı tümör alanlarını içeren doku örneklerinde p16 immunohistokimyasal boyaması yapıldı. p16 boyama yoğunluğu negatif (0), zayıf (1), orta (2) veya güçlü (3) olarak değerlendirildi. Tüm klinikopatolojik parametreler ile p16 arasındaki ilişki değerlendirildi.

Bulgular: Evre T4 kanseri olan hastaların oranı T3 evresine göre anlamlı olarak daha sık p16 negatif olarak saptandı. Hastaliksız sağkalım ve toplam sağkalım p16 durumundan (4 grup) etkilendi. Ancak p16 durumu pozitif ve negatif olarak ele alındığında, p16 durumunun hastaliksız sağkalıma etkisi için saptanan p değeri anlamlılık sınırında saptandı.

Sonuç: p16 ekspresyonu ile ilgili olarak literatürde çok farklı sonuçlar vardır. Biz tam sağkalım ile p16 ekspresyonu arasında bir ilişki bulduk. Yeni büyük seriler ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Larinks skuamöz hücreli karsinomu, p16 ekspresyonu, prognoz.

Abstract

Objective: The most common histological type in laryngeal carcinomas is squamous cell carcinoma. In recent years, it has been reported that human papilloma virus may also be effective among the main causative factors. Immunohistochemically, p16 protein is evaluated in identifying HPV infection. The aim of this study was to evaluate the prognostic role of p16 expression on long-term overall survival, disease-free survival, and disease-specific 'progression-free' survival in patients with laryngeal squamous cell carcinomas.

Material and Method: In this study, patients diagnosed with laryngeal squamous cell carcinoma between 2013 and 2015 were recorded from electronic media data and archive preparations were re-evaluated. Patients with consisting of sufficient tumor tissue and reached paraffin blocks were included in the study. Demographic data, histopathological findings, recurrence and survival follow-up were evaluated. p16 immunohistochemical staining was performed on tissue samples containing introductory tumor areas. The p16 staining intensity was evaluated as negative (0), weak (1), moderate (2), or strong (3). The relationship between p16 and all clinicopathological parameters was evaluated.

Results: The proportion of patients with stage T4 cancer was found to be p16 negative significantly more frequently than stage T3. Disease-free survival and overall survival were not affected by p16 status (4 groups). However, when p16 status was considered as positive and negative, the p value determined for the effect of p16 status on disease-free survival was found at the limit of significance.

Conclusion: There are very different results in the literature on p16 expression. We found an association between complete survival and p16 expression. Upcoming studies with new large series are needed.

Keywords: Larynx squamous cell carcinoma, p16 expression, prognosis.

1. Giriş

Laringeal skuamöz hücreli karsinomlar (LSHK), tüm baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomlarının %25-30' unu oluşturur (1, 2). Bu neoplazmin başlamasında ve ilerlemesinde çok sayıda genetik değişikliğin önemli bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte, önemli morbidite ve mortalite ile karakterize olan LSHK'nın hem erken teşhisi hem de prognostik tanımı için yararlı olan moleküler belirteçlerin tanımlanması için hala büyük çabalar gerekmektedir. Alkol, tütün kullanımı ve enfeksiyonlar, LSHK'ın temel nedensel faktörleridir (3). Yeni çalışmalarda ise insan papilloma virüsü (HPV)' nün LSHK etyolojisinde rol oynayabileceği gösterilmiştir (4-7).

HPV tip 16, laringeal tümörlerde en sık görülen tipi temsil eder (8). Baş ve boyun kanserlerinde HPV tutulumu genelde daha iyi bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir ve kemoterapi ve/veya radyoterapi tedavisine daha iyi bir yanıt ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (9). HPV-pozitif orofarengeal tümörler, baş ve boyun tümörlerinin bir alt grubu olarak kabul edilir ve HPV ile ilişkili tümörler olarak da adlandırılır, ancak diğer baş ve boyun bölgelerinin tümörleri için HPV' nin prognostik değeri hala belirsizliğini korumaktadır. HPV enfeksiyonunu tanımlamada immunohistokimyasal (İHK) olarak p16 proteini değerlendirilmektedir. p16, siklin bağımlı kinaz 2A (cyclin dependent kinase inhibitor 2A, CDKN2A) (9p21.3) tarafından kodlanan tümör baskılayıcı proteindir. p16 proteininin fonksiyonu siklin D'ye bağımlı protein kinazları (cyclin dependent kinase, CDK) (CDK4 ve CDK6) inhibe ederek hücre döngüsünün S fazına ilerlemesini önlemektir. Böylece tümör hücrelerinin proliferasyonunu durdurur. HPV ve LSHK arasındaki ilişki tartışmalı olsa da, neoplastik transformasyon sürecinin altında yatan çok sayıda genetik mutasyonun birikmesi ve bunun prekanseröz karsinomdan invaziv karsinoma geçişi ile multistep çok adımlı ilerleme hipotezi de bildirilmiştir (10, 11).

Bu çalışmanın amacı, ameliyatla tedavi edilen LSHK hastalarında uzun süreli genel sağkalım, hastalısız sağkalım ve hastalığa özgü sağkalım (sırasıyla overall survival, OS; Disease-free survival, DFS; disease-specific survival, DSS) üzerindeki p16 ekspresyonunun prognostik rolünü değerlendirmektir.

2. Gereç ve Yöntem

Bu retrospektif çalışma İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (22.10.2022 tarihli 0581 karar no ile) tarafından onaylanmıştır.

2.1. Araştırmanın Tipi

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 2013-2015 yılları arasında larinksin skuamöz hücreli karsinomu tanısı alan hastaların değerlendirildiği çalışma, kesitsel ve retrospektif olarak planlanmıştır.

2.2. Araştırmanın Yeri

Bu çalışma İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Tıbbi Patoloji Laboratuvarı'nda veriler elde edilerek yapılmıştır.

2.3. Araştırmanın Örneklemi

Bu araştırmanın örneklemini 2013-2015 yılları arasında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde larinkste skuamöz hücreli karsinom tanısı alan hastalar oluşturmaktadır.

2.4. Araştırmanın Dahil Edilme/ Dışlanma Kriteri

Belirtilen tarihler arasında skuamöz hücreli larinks karsinomu tanısı alan hastalar elektronik ortam verilerinden kayıt edildi. Larenjektomi yapılan hastalara ait arşiv preparatları yeniden değerlendirildi. Yeterli tümör dokusu içeren ve parafin bloklarına ulaşılan hastalar çalışmaya dahil edildi. Yeterli tümör dokusu bulunmayan ve/veya takiplerine ulaşılamayan hastalar çalışmaya dâhil edilmedi.

2.5. Verilerin Toplanması

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşı, cinsiyeti, sigara kullanım durumu kaydedildi. Tümörün boyutu, lenfovasküler invazyon, nöral invazyon, tümöre karşı lenfositik yanıt, toplam lenf nodu sayısı, metastatik lenf nodu sayısı gibi histopatolojik parametreler değerlendirildi. Klinik olarak da hastaların takipleri kayıt edildi. Takip edildiği süre içinde lokorejional rekürrens ve sağkalım durumları da incelendi. Tanıtıcı tümör alanlarını içeren hematoksilin ve eosin (H&E) preparatlar örnekleme için seçildi (Şekil 1 ve 2). Bu seçilen preparatlara ait arşiv parafin bloklarında, tümör alanına uyan alandan, 2 mm-çapında doku korları örneklenerek çoklu tümör blokları hazırlandı. H&E boyası ile tümör dokusu doğrulandı ve hazırlanan tüm çoklu bloklardan immunohistokimyasal boyama için seri kesitler alındı. Tüm kesitlere Streptavidin-Biotin kompleks immun-peroksidaz methodu ile p16 (Ventana, 760-500) antikoruna uygulandı. Hazırlanan örnekler ışık mikroskobu ile incelendi. p16 boyama yoğunluğu negatif (0), zayıf (1-bir), orta (2-iki) veya güçlü (3-üç) olarak değerlendirildi.

2.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Verilerin analizi IBM SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Sciences) (Chicago, ILL, USA) paket programı ile yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde, tanımlayıcı istatistikler ile kategorik verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Tüm klinikopatolojik parametreler ile p16 arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Kaplan Meier sağkalım analizi yapıldı. Sonuçların istatistiksel anlamlılığı p<0,05 düzeyinde anlamlı olarak değerlendirildi.

3. Bulgular

Çalışmaya 60 erkek (% 95,23) ve 3 (% 4,76) kadın hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması 60,90±9,26 olarak saptandı. Hastaların 31'inde (% 49,20) p16 negatif olarak saptanırken, 5 (% 7,93) hastada p16 şiddetli pozitif olarak bulundu (Şekil 3). Hastaların tamamı T3 ya da T4 evresinde yer alırken, 33 (%52,40) hastada N0 olarak belirlendi. Uzak metastaz 17 (%26,98) hastada tanı anında mevcuttu. Operasyon sonrası ortalama 45,78±26,96 aylık takipte 39 (%61,90) hasta kaybedilirken, 21 (%33,33) hastada larenks kanseri nüks etti (Tablo 1). p16 pozitifliği Evre3 grubunda Evre T4 grubuna göre daha sık olarak saptandı. Diğer bulgular ile p16 durumu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 2 ve 3). p16 durumu sadece pozitif ya

da negatif olarak alındığında hiç bir bağımsız değişken ile p16 durumu arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 4 ve 5). Hastaliksız sağkalım ve toplam sağkalım p16 durumundan (4 grup) etkilenmedi ($p= 0,387$ ve $0,188$). Ancak p16 durumu pozitif ve negatif olarak ele alındığında, p16 durumunun hastaliksız sağkalıma etkisi için saptanan p değeri anlamlılık sınırında saptandı ($0,050$, Şekil 4). Benzer şekilde p16 durumu pozitif ve negatif olarak ele alındığında toplam sağkalım ile anlamlı bir ilişki göstermedi (Kaplan Meier Sağkalım analizi, Long Rank= $0,099$, Şekil 5).

Tablo 1. Olguların Klinikopatolojik Özellikleri

		Sayı	%
Cinsiyet	Kadın	3,00	5,5
	Erkek	60,00	95,5
p16 Durumu	Negatif	31,00	49
	1+	17,00	27
	2+	10,00	16
Sigara	3+	5,00	8
	Yok	8,00	13
	Var	55,00	87
T Evresi	T3	23,00	37
	T4	40,00	63
N Evresi	N0	33,00	52
	N1	11,00	18
	N2A	1,00	2
	N2B	9,00	14
	N2C	8,00	13
Nöral İnvazyon	N3	1,00	2
	Var	11,00	17
Vasküler İnvazyon	Yok	47,00	75
	Var	16,00	25
Lenfoid Yanıt	Yok	10,00	16
	Hafif	21,00	33
	Orta	18,00	29
	Belirgin	14,00	22
Lenf Nodu Metastazı	Yok	33,00	52
	Var	30,00	48
Uzak Metastaz	Yok	46,00	73
	Var	17,00	27
Lokorejyonel Rekürrens	Yok	42,00	67
	Var	21,00	33
Sağkalım	Ex	39,00	62
	Hayatta	24,00	38
		Ortalama	Standart Sapma
Yaş		60,90	9,26
Tümör Boyutu (cm)		3,45	1,08
MLNS		1,35	2,12
TLNS		51,54	25,90
Takip Süresi		45,78	26,96

MLNS: Metastatik lenf nodu sayısı, TLNS: Total lenf nodu sayısı

4. Tartışma

Larinks karsinomları, akciğer kanserinden sonra üst aerodigestif traktın ikinci en sık malignitesidir (2). Erişkin yaş grubundaki malignitelerin yaklaşık %1,5' ini oluşturmaktadır (12). Çok büyük kısmı (%85-95 kadar) skuamöz hücreli karsinom morfolojisindedir (2). Sigara ve alkol kullanımı temel risk faktörüdür. Diğer yandan HPV' nin sigara ve alkolden bağımsız risk faktörü olduğu biri larinks diğeri baş-boyun kanserleri olmak üzere iki çalışma ile gösterilmiştir (13, 14).

Shestakova ve ark. 11'i larinks olmak üzere toplam 57 skuamöz hücreli karsinom (SHK) olgusunda hem p16 hem de PD-L1 ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. p16 için en yüksek ekspresyon orofarinks SHK'larında saptanmış olup larinks SHK olgularının sadece 2'sinde p16 pozitif olarak saptanmıştır. Bu çalışmada tümör hücrelerinde diffüz, güçlü, homojen nükleer boyanma p16 pozitif olarak kabul edilmiştir (15).

Literatürde LSHK olgularında HPV saptanma oranlarının çok geniş bir sınır aralığında (%0-85) paylaşıldığını gösteren büyük bir metanaliz çalışması vardır (16). Bu kadar geniş aralıkta oranların bildirilmesi değişik nedenler ile açıklanmaya çalışılmıştır; hasta popülasyonu, buldukları coğrafya, sigara ve alkol kullanımı gibi. Belki de en önemli etkenin HPV değerlendirilmesinde kullanılan testlerin farklılığı olabileceği düşünülmüştür. Doğanemur ve arkadaşları ileri evre LSHK olgularında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction,PCR) ile hem HPV tiplerini (tip 16 ve tip 18) hem de immunohistokimyasal olarak p16 ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında %12,2 oranında HPV pozitifliği, HPV pozitif olgularda %54,5 oranında p16 pozitif olarak saptamışlardır (17). Biz de çalışmamızda p16 pozitifliğini %50,80 olarak değerlendirdik. Bu değer literatürde bildirilen bazı oranlardan yüksek olmasına rağmen büyük meta-analiz çalışmasındaki geniş aralık içinde yerini bulmaktadır (16, 19-21). Diğer yandan bizim pozitiflik oranımız 103 LSHK olgusundan oluşan hem p16 hem de Rb değerlendirmesinin yapıldığı çalışma ile benzerdir (22). Çalışmamızda dikkat çeken bir sonuç evre T4 grubundaki hastaların oranının T3 evresine göre belirgin şekilde p16 negatif olarak saptanmasıydı ($p=0,010$). Yani tümörün büyüklüğü yada yaygınlığı arttıkça p16 ekspresyonu azalmaktaydı. p16 değerlendirmesinde boyama yoğunluğunu dikkate alarak dört farklı grup oluşturduk. Bu 4 grup p16 durumu ile hastaliksız sağkalım ve toplam sağkalım durumu arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Ancak boyanma şiddeti hafif de olsa pozitif grup olarak ele alındığında, p16 durumunun toplam sağkalıma etkisi için saptanan p değeri anlamlılık sınırında saptandı ($p=0,050$). p16 değerlendirmesinde larinks karsinomları için net bir değerlendirme parametresi yoktur. Ancak az da olsa hafif boyanmanın pozitif olarak kabul edilmesinin sağkalım değerlendirmesinde anlamlı bir sonuç bulunmasında etkili olmuş olabilir.

Larinks tümörlerinde HPV rolünü gösteren çalışmalarda, HPV enfeksiyonunun prevelansı ve prognostik rolü açısından çok farklı, birbiri ile uyumsuz sonuçlar bildirilmektedir. Yeterli izlem ve hastaliksız sağkalım sürelerini içeren çok az sayıda çalışma vardır (23). Bu nedenle de larinks tümörlerinde immunohistokimyasal olarak p16 pozitifliğinin prognostik önemi hakkında bilgilerimiz de sınırlıdır. Young ve arkadaşları p16 pozitif hastalarda uzak metastaz olsa da tedaviden sonra iki yıl içinde tam sağkalım ve hastaliksız sağkalım arasında önemli bir farklılık olmadığını gösterdiler (24). Yine benzer şekilde farklı yöntemlerle tedavi edilen geniş bir seride (85 olguluk) p16 ile sağkalım arasında bir ilişki bulunmamış (25).

Tablo 2. Histopatolojik Parametreler ile p16 Ekspresyonunun İlişkisi

	p16 Durumu								p	
	Negatif		1+		2+		3+			
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		
Cinsiyet	Kadın	0	0,0	1	5,9	1	10,0	1	20,0	0,190
	Erkek	31	100	16	94,1	9	90,0	4	80,0	
Sigara	Yok	5	16,1	2	11,8	1	10,0	0	0,0	0,769
	Var	26	83,9	15	88,2	9	90,0	5	100,0	
T Evresi	T3	11	35,5	3	17,6	8	80,0	1	20,0	0,010
	T4	20	64,5	14	82,4	2	20,0	4	80,0	
N Evresi 1/3	N0	16	51,6	9	52,9	7	70,0	1	20,0	0,387
	N1	7	22,6	3	17,6	1	10,0	0	0,0	
	N2	7	22,6	5	29,4	2	20,0	4	80,0	
	N3	1	3,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Nöral İnvazyon	Yok	27	87,1	13	76,5	8	80,0	4	80,0	0,814
	Var	4	12,9	4	23,5	2	20,0	1	20,0	
Vasküler İnvazyon	Yok	22	71,0	13	76,5	9	90,0	3	60,0	0,560
	Var	9	29,0	4	23,5	1	10,0	2	40,0	
Lenfoid Yanıt	Yok	6	19,4	1	5,9	2	20,0	1	20,0	0,800
	Hafif	9	29,0	8	47,1	3	30,0	1	20,0	
	Orta	9	29,0	6	35,3	2	20,0	1	20,0	
	Belirgin	7	22,6	2	11,8	3	30,0	2	40,0	
Lenf Nodu Metastazi	Yok	16	51,6	9	52,9	7	70,0	1	20,0	0,340
	Var	15	48,4	8	47,1	3	30,0	4	80,0	
Uzak Metastaz	Yok	20	64,5	14	82,4	8	80,0	4	80,0	0,520
	Var	11	35,5	3	17,6	2	20,0	1	20,0	
Sağkalım	Ex	22	71,0	10	58,8	4	40,0	3	60,0	0,363
	Hayatta	9	29,0	7	41,2	6	60,0	2	40,0	

Tablo 3. Diğer Parametreler ile p16 Ekspresyonunun İlişkisi

	p16 Durumu								p
	Negatif		1+		2+		3+		
	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama	Standart Sapma	
Yaş	61,48	9,42	61,59	10,86	59,50	8,22	57,80	4,27	0,808
Tümör Boyutu (cm)	3,28	1,16	3,58	1,02	3,68	1,22	3,52	0,48	0,704
MLNS	1,52	2,54	1,12	1,65	0,50	0,85	2,80	1,92	0,229
TLNS	44,94	23,67	53,35	26,51	61,50	30,44	66,40	20,51	0,155
Toplam	39,71	26,00	50,35	26,18	53,00	33,13	53,40	20,22	0,372
Sağkalım									
Hastalısız Sağkalım	34,16	27,68	43,41	30,17	127,50	266,27	53,40	20,22	0,127

MLNS: Metastatik lenf nodu sayısı, TLNS: Total lenf nodu sayısı

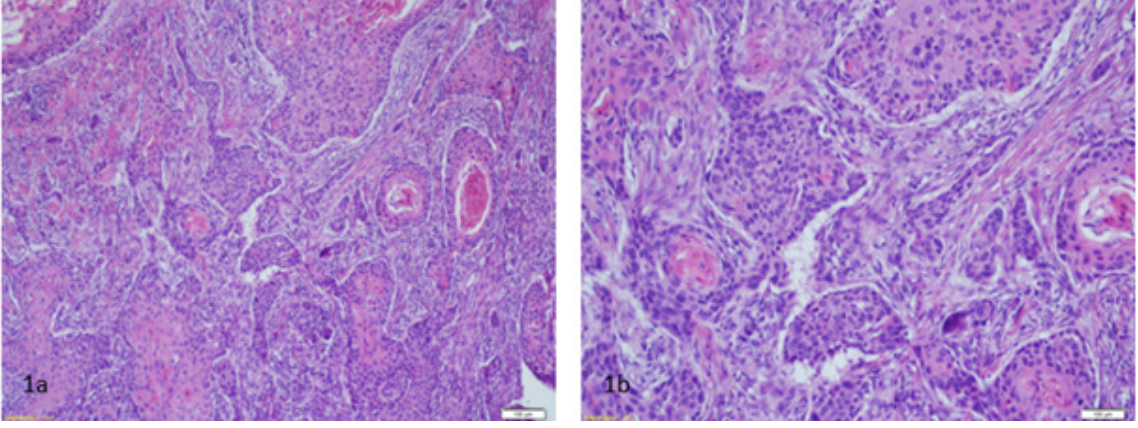
Tablo 4. p16 Durumu Pozitif ya da Negatif Olduğu Durumda Bağımsız Değişkenler ile İlişkisi

	p16 Negatif/Pozitif				p	
	Negatif		Pozitif			
	Sayı	%	Sayı	%		
Cinsiyet	Kadın	0	0,0	3	9,4	0,081
	Erkek	31	100,0	29	90,6	
Sigara	Yok	5	16,1	3	9,4	0,421
	Var	26	83,9	29	90,6	
T Evresi	T3	11	35,5	12	37,5	0,868
	T4	20	64,5	20	62,5	
N Evresi	N0	16	51,6	17	53,1	0,436
	N1	7	22,6	4	12,5	
	N2	7	22,6	11	34,4	
	N3	1	3,2	0	0,0	
Nöral İnvazyon	Yok	27	87,1	25	78,1	0,348
	Var	4	12,9	7	21,9	
Vasküler İnvazyon	Yok	22	71,0	25	78,1	0,514
	Var	9	29,0	7	21,9	
Lenfoid Yanıt	Yok	6	19,4	4	12,5	0,846
	Hafif	9	29,0	12	37,5	
	Orta	9	29,0	9	28,1	
	Belirgin	7	22,6	7	21,9	
Lenf Nodu Metastazi	Yok	16	51,6	17	53,1	0,904
	Var	15	48,4	15	46,9	
Uzak Metastaz	Yok	20	64,5	26	81,3	0,135
	Var	11	35,5	6	18,8	
Lokorejyonel Rekürrens	Yok	18	58,1	24	75,0	0,154
	Var	13	41,9	8	25,0	
Sağkalım	Ex	22	71,0	17	53,1	0,145
	Hayatta	9	29,0	15	46,9	

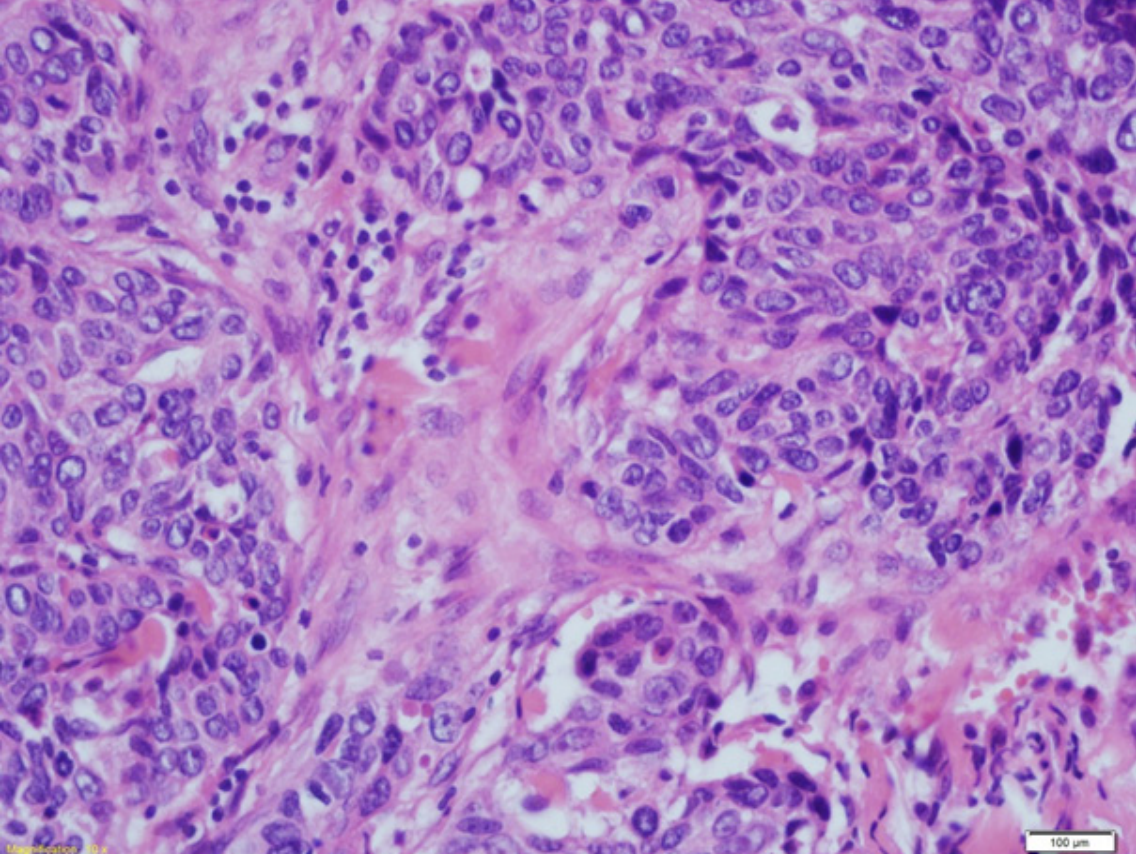
Tablo 5. p16 Durumu Pozitif ya da Negatif Olduğu Durumda Diğer Bağımsız Değişkenler ile İlişkisi

	p16 Negatif/Pozitif				p
	Negatif		Pozitif		
	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama	Standart Sapma	
Yaş	61,48	9,42	60,34	9,22	0,754
Tümör boyutu (cm)	3,28	1,16	3,60	1,00	0,689
MLNS	1,52	2,54	1,19	1,64	0,174
TLNS	44,94	23,67	57,94	26,71	0,778
Takip Süresi	39,71	26,00	51,66	26,97	0,786
Hastaliksız Sağkalım	34,16	27,68	71,25	150,34	0,225

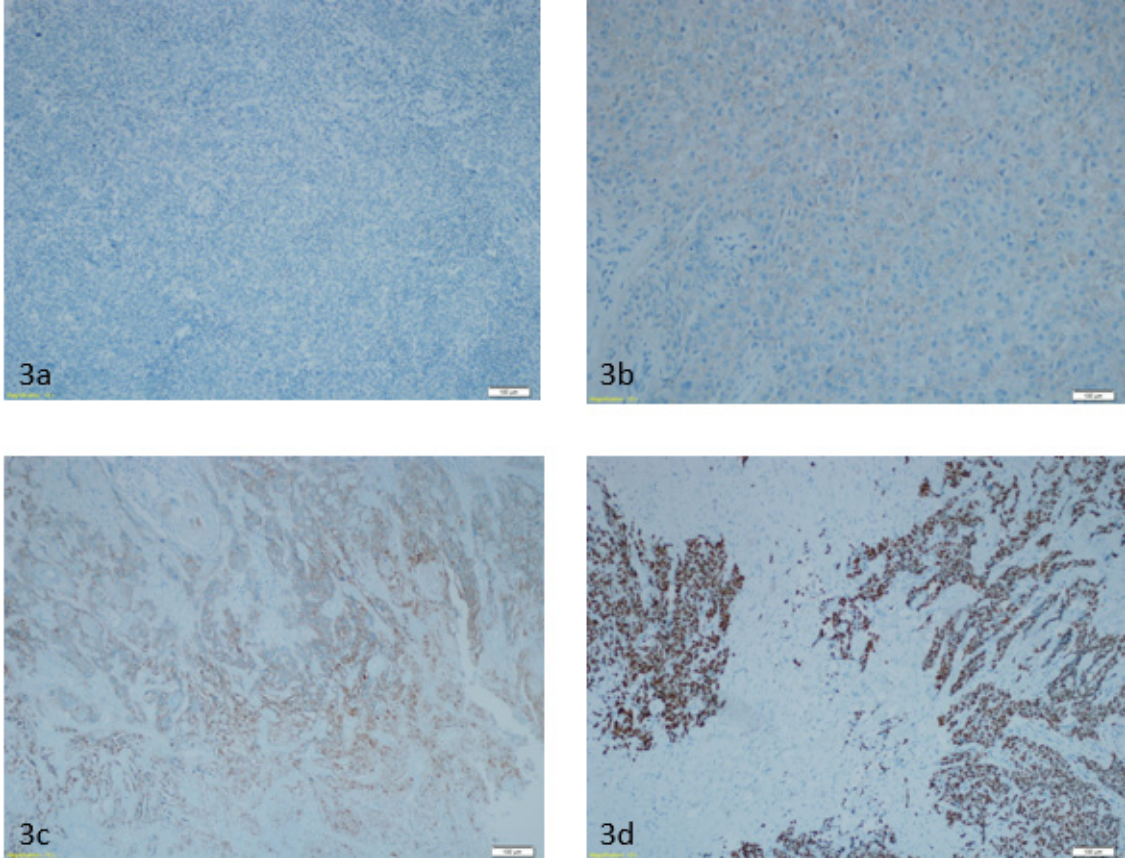
MLNS: Metastatik lenf nodu sayısı, TLNS: Total lenf nodu sayısı



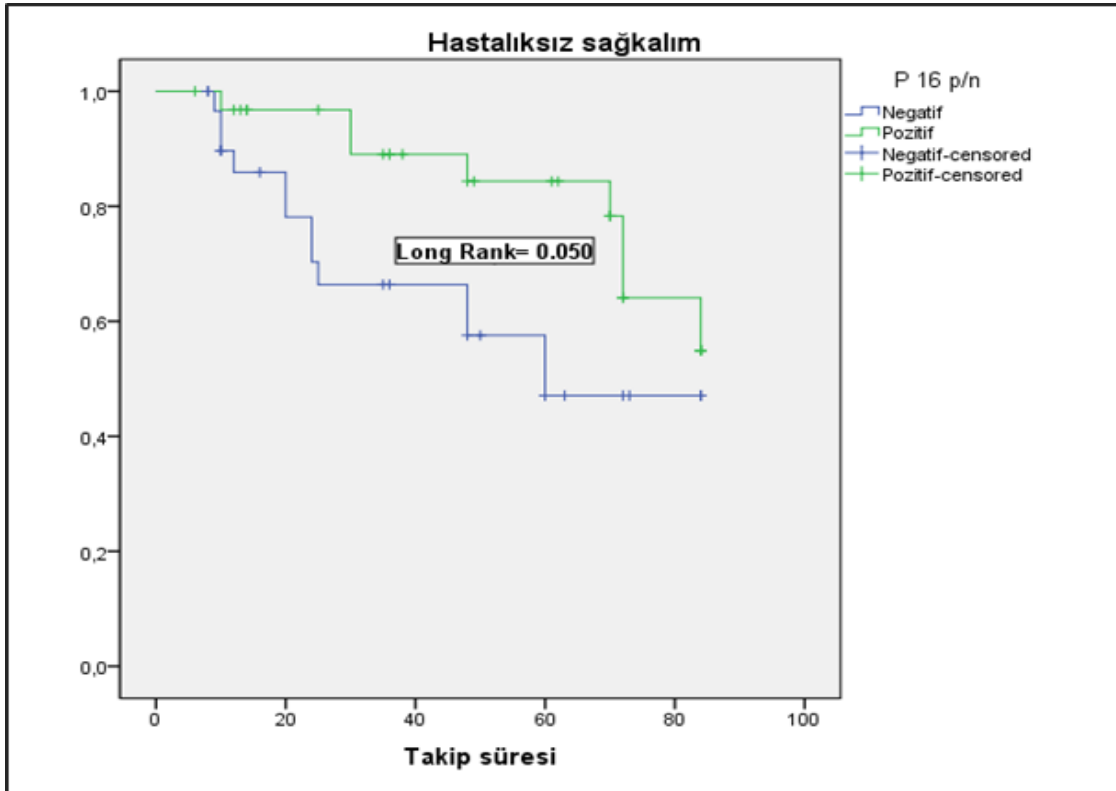
Şekil 1: İyi Diferansiyel Skuamöz Hücreli Karsinom (a.H&E x100, b.H&E x200)



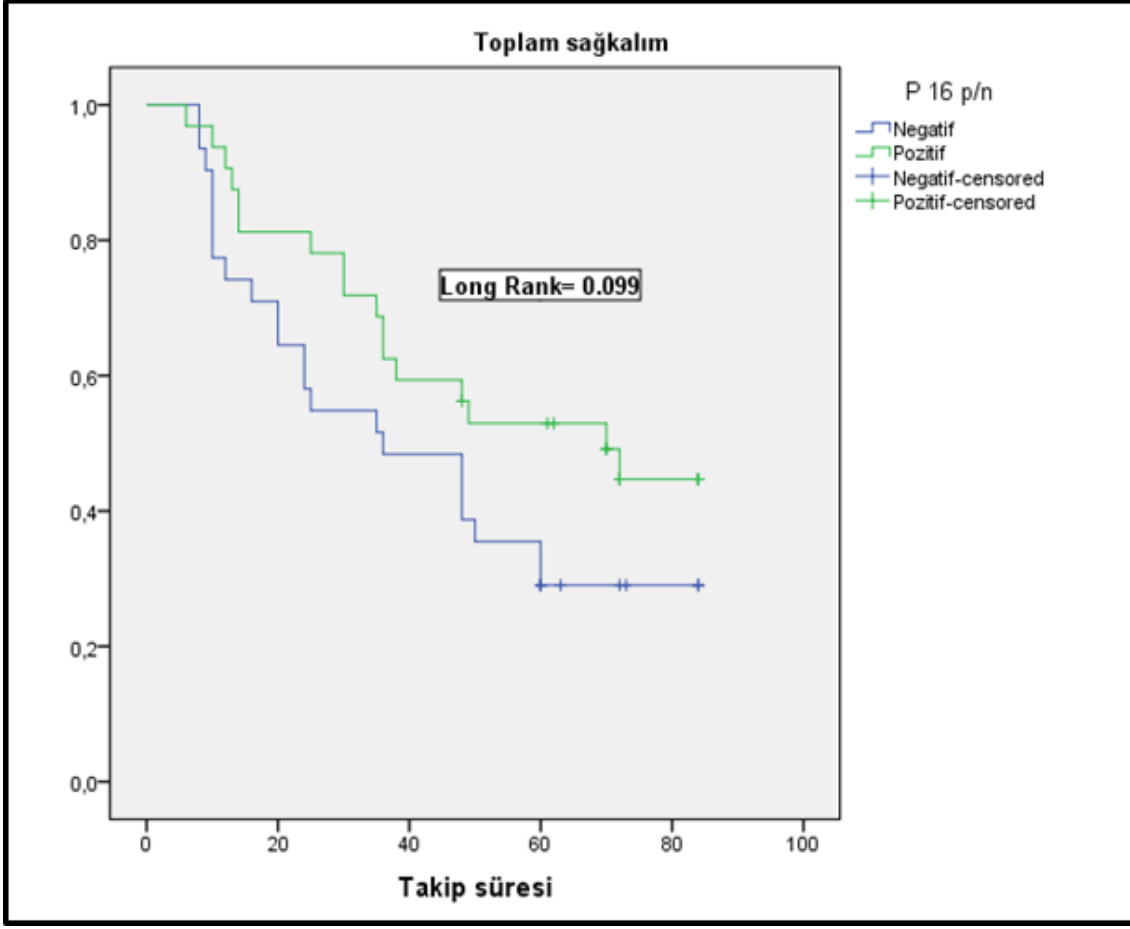
Şekil 2: Kötü Diferansiyel Skuamöz Hücreli Karsinom (H&E x400)



Şekil 3. p16 İmmunohistokimyasal Boyama; a.Negatif (0), b.Zayıf (1), c.Orta (2), d.Güçlü (3) (x100)



Şekil 4. p16 Durumunun (Pozitif ve Negatif Olarak Ele Alındığında) Hastaliksız Sağ Kalıma Etkisi



Şekil 5: p16 Durumunun (Pozitif ve Negatif Olarak Ele Alındığında) Toplam Sağ Kalıma Etkisi

5. Sonuç ve Öneriler

Literatürde LSHK olgularında p16 ekspresyonu ile ilgili çok farklı sonuçlar vardır. Yeni ve geniş serilerde uzun süreli izlem ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Bizim çalışmamızın sınırlılıkları arasında en önemlisi olgu sayısının nispeten az olması ve p16 değerlendirilmesinin tümöre ait küçük doku örneğinde yapılmasıdır. Ancak hasta popülasyonunun oldukça homojen özellikte olması ve uzun dönem izlem sürelerinin bulunması çalışmamızın güçlü yönleridir.

6. Alana Katkı

Tek merkezde homojen hasta popülasyonu ile uzun süreli takip hastalarının sonuçları Türkiye popülasyonu açısından bu alana katkı sağlayacağını düşünüyoruz.

Araştırmanın Etik Yönü

Bu retrospektif çalışma İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (22.10.2022 tarihli 0581 karar no ile) tarafından onaylanmıştır.

Araştırmaya dahil ettiğimiz tüm olgulardan (ameliyat öncesi alınan onam formu ile) bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Çıkar Çatışması

Bu makalede herhangi bir nakdi/aynı yardım alınmamıştır. Herhangi bir kişi ve/veya kurum ile ilgili çıkar çatışması yoktur.

Yazarlık Katkısı

Fikir/Kavram: NÖE, AFB, HSK, Aİ; **Tasarım:** NÖE, AFB, HSK, Aİ; **Denetleme:** NÖE; **Kaynak ve Fon Sağlama:** NÖE, HSK; **Malzemeler:** NÖE, AFB, HSK, Aİ; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** NÖE, AFB, HSK, Aİ; **Analiz/Yorum:** NÖE, Aİ; **Literatür Taraması:** NÖE, Aİ; **Makale Yazımı:** NÖE, Aİ; **Eleştirel İnceleme:** NÖE, Aİ.

References

1. Karatzanis AD, Psychogios G, Waldfahrer F, Kapsreiter M, Zenk J, Velegrakis GA, et al. Management of locally advanced laryngeal cancer. J Otolaryngol Head Neck Surg. 2014;43(1):4.
2. Megwalu UC, Sikora AG. Survival outcomes in advanced laryngeal cancer. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. 2014;140(9):855-60.
3. Talamini R, Bosetti C, La Vecchia C, Dal Maso L, Levi F, Bidoli E, et al. Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: a case-control study. Cancer Causes Control. 2002;13:957-64.
4. Moore CE, Wiatrak BJ, McClatchey KD, Koopmann CF, Thomas GR, Bradford CR, et al. High-risk human papillomavirus types and squamous cell carcinoma in patients with respiratory papillomas. Otolaryngol Head Neck Surg. 1999;120:698-705.

5. de Oliveira DE, Bacchi MM, Macareno RS, Tagliarini JV, Cordeiro RC, Bacchi CE. Human papillomavirus and Epstein-Barr virus infection, p53 expression and cellular proliferation in laryngeal carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2006;126:284-93.
6. Münger K, Baldwin A, Edwards EM, Hayakawa H. Mechanisms of human papillomavirus induced oncogenesis. *J Virol.* 2004;78:11451-60.
7. Halec G, Holzinger D, Schmitt M, Flechtenmacher C, Dyckhoff G, Lloveras B, et al. Biological evidence for a causal role of HPV16 in a small fraction of laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer.* 2013;109:172-83.
8. Isayeva T, Li Y, Maswahu D, Brandwein-Gensler M. Human papillomavirus in non-oro-pharyngeal head and neck cancers: a systematic literature review. *Head Neck Pathol.* 2012;6: 104-20.
9. Worden FP, Kumar B, Lee JS, Wolf GT, Cordell KG, Taylor JMG, et al. Chemoselection as a strategy for organ preservation in advanced oropharynx cancer: response and survival positively associated with HPV16 copy number. *J Clin Oncol.* 2008;26(19):3138-46.
10. Ahmadi N, Ahmadi N, Chan MV, Huo YR, Sritharan N, Chin R. Laryngeal squamous cell carcinoma survival in the context of human papillomavirus: a systematic review and meta-analysis. *Cureus.* 2018;10(2):e2234.
11. Dahm V, Haitel A, Kaider A, Stanisz I, Beer A, Lill C. Cancer stage and pack-years, but not p16 or HPV, are relevant for survival in hypopharyngeal and laryngeal squamous cell carcinomas. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol.* 2018;275(7):1837-43.
12. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin.* 2019;69(1):7-34.
13. Xu Y, Liu S, Yi H, Wang J, Dong P, Li X, et al. Human papillomavirus infection in 674 Chinese patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Plos One.* 2014;9:e115914.
14. Salazar CR, Anayannis N, Smith RV, Wang Y, Haigentz M Jr, Garg M, et al. Combined p16 and human papillomavirus testing predicts head and neck cancer survival. *Int J Cancer. Head Neck Pathol.* 2014;8:77-87.
15. Shestakova A, Tarabay J, Burtsev A, Ibe I, Kim J, Chandan V, et al. Increased PD-L1 and p16 expression are common in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Future Sci OA.* 2021;7(9):FSO768.
16. Li X, Gao L, Li H, Gao J, Yang Y, Zhou F, et al. Human papillomavirus infection and laryngeal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis.* 2013;207(3):479-88.
17. Dogantemur S, Ozdemir S, Uguz A, Surmelioglu O, Dagkiran M, Tarkan O, et al. Assessment of HPV 16, HPV 18, p16 expression in advanced stage laryngeal cancer patients and prognostic significance. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2020;86(3):351-7.
18. Allegra E, Bianco MR, Mignogna C, Caltabiano R, Grasso M, Puzzo L. Role of P16 Expression in the Prognosis of Patients With Laryngeal Cancer: A Single Retrospective Analysis. *Cancer Control.* 2021;28:10732748211033544.
19. Hernandez BY, Goodman MT, Lynch CF, Cozen W, Unger ER, Steinau M, et al; HPV Typing of Cancer Workgroup. Human papillomavirus prevalence in invasive laryngeal cancer in the United States. *PLoS One.* 2014;9(12):e115931.
20. Meshman J, Wang PC, Chin R, John MS, Abemayor E, Bhuta S, et al. Prognostic significance of p16 in squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx. *Am J Otolaryngol.* 2017;38(1):31-7.
21. Bussu F, Sali M, Gallus R, Vellone VG, Zannoni GF, Autorino R, et al. HPV infection in squamous cell carcinomas arising from different mucosal sites of the head and neck region. Is p16 immunohistochemistry a reliable surrogate marker? *Br J Cancer.* 2013;108(5):1157-62.
22. Vazquez-Guillen JM, Palacios-Saucedo GC, Alanis-Valdez AY, Huerta-Escobedo A, Zavala-Pompa A, Rivera-Morales LG, et al. p16INK4a and pRb expression in laryngeal squamous cell carcinoma with and without infection by EBV or different genotypes of HPV: a retrospective study. *Infect Agent Cancer.* 2023;18(1):43.
23. Sánchez Barrueco A, González Galán F, Villacampa Aubá JM, Díaz Tapia G, Fernández Hernández S, Martín-Arriscado Arroba C, et al. p16 Influence on laryngeal squamous cell carcinoma relapse and survival. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2019;160(6):1042-7.
24. Young RJ, Urban D, Angel C, Corry J, Lyons B, Vallance N, et al. Frequency and prognostic significance of p16(INK4A) protein overexpression and transcriptionally active human papillomavirus infection in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer.* 2015;17:112(6):1098-104.
25. Dahm V, Haitel A, Kaider A, Stanisz I, Beer A, Lill C. Cancer stage and pack-years, but not p16 or HPV, are relevant for survival in hypopharyngeal and laryngeal squamous cell carcinomas. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol.* 2018;275(7):1837-43.