



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

RADYOTERAPİ UYGULANAN ERKEN EVRE LARENKS KANSERLİ  
OLGULARDA BCL-2 POZİTİFLİĞİNİN LOKAL KONTROL VE  
SAĞKALIMA ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. ÜMİT GÜRLEK

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2011



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**RADYOTERAPİ UYGULANAN ERKEN EVRE LARENKS KANSERLİ  
OLGULARDA BCL-2 POZİTİFLİĞİNİN LOKAL KONTROL VE  
SAĞKALIMA ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. ÜMİT GÜRLEK**

**UZMANLIK TEZİ**

**Danışman: Prof. Dr. Lütfi ÖZKAN**

**BURSA-2011**

## İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	18
Bulgular .....	24
Tartışma ve Sonuç.....	30
Kaynaklar.....	36
Teşekkür.....	45
Özgeçmiş.....	46

## ÖZET

Bu çalışmanın amacı erken evre larenks kanseri tanısıyla küratif radyoterapi uygulanan olgularda Bcl-2 ekspresyonunun lokal kontrol ve genel sağkalıma etkisini değerlendirmektir.

Çalışmaya Ocak 1996-Aralık 2008 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Muammer Ağım Radyoterapi Merkezi'ne başvuran, Tis ve Evre I-II larenks kanseri tanısıyla radyoterapi uygulanan ve parafin bloklarına ulaşılabilen 53 olgu dahil edildi. Parafin bloklardan elde edilen kesitler Bcl-2 oncoprotein mause Clone 124 Scytek kiti kullanılarak immünohistokimyasal inceleme için hazırlandı. Preparatlar parlak alan ışık mikroskopu (Olympus BX50) altında, Regitnig tarafından tanımlanan prosedüre uygun olarak (+)-(+++ ) arasında skorlandı. İstatiksel analizlerde SPSS-18 paket program kullanıldı.

Ortanca izlem süresi 61 ay olup (7-166 ay) izlem süresi içinde 9 (%17) olguda lokorejyonel yineleme saptandı. Olguların incelenmesinde 43'ünün (%81) negatif, 5'inin (%9) (+), 3'ünün (%6) (++) , 2'sinin (%4) (+++) boyandığı saptandı. Tek değişkenli analizde radyoterapi sonrası yineleme saptanmasının ( $p=0.000$ ), çok değişkenli analizde ise 50 yaşından genç olmanın ( $p=0.021$ ) GSK'ı anlamlı olarak düşürdüğü ve radyoterapi sırasında hemoglobin değerinin 13gr/dl'den fazla olmasının hem tek değişkenli ( $p=0.002$ ), hem de çok değişkenli ( $p=0.009$ ) analizlerde GSK'ı anlamlı olarak artırdığı saptandı.

Lokal kontrol üzerine etkili olabilecek prognostik faktörler incelendiğinde, tek değişkenli analizde, günde 20 adetten fazla sigara kullanımı ( $p=0.001$ ) ile hem tek değişkenli ( $p=0.001$ ) hem de çok değişkenli ( $p=0.018$ ) analizlerde 50 yaşından genç olmanın lokal kontrol oranlarını anlamlı olarak düşürdüğü saptandı. Yapılan korelasyon analizinde, Bcl-2 ekspresyonu ile diğer faktörler arasında herhangi bir ilişki saptanamadı.

Sonuç olarak, çalışmamızda Bcl-2 ekspresyonu ile lokal kontrol ve sağkalım arasında ilişki saptayamadık. Prognoz üzerine etkili olabileceği düşünülen etmenlerden 50 yaşından genç olmak ve günlük yirmi adetten

fazla sigara kullanımı lokal kontrolü olumsuz etkilerken, hemoglobin düzeyinin 13 gr/dl'nin altında olması ve 50 yaşından genç olmanın da genel sağkalımı olumsuz etkilediği görüldü.

**Anahtar kelimeler:** Erken evre larenks kanseri, Bcl-2 ekspresyonu, radyoterapi.

## SUMMARY

### **Analysing The Effect of Bcl-2 Expression to Local Control and Survival in Patients with Early Stage Laryngeal Cancer Treated by Radiotherapy**

The purpose of this study is to evaluate the effect of Bcl-2 expression to local control and overall survival in patients with early stage laryngeal cancer treated by curative radiotherapy.

We studied 53 patients with Tis and stage I-II laryngeal cancer who were treated by radiotherapy between January 1996-December 2008 in Uludag University Faculty of Medicine Muammer Ağım Radiotherapy Center and whose paraffin blocks can be accessed. Sections obtained by paraffin blocks were prepared for immunohistochemical analysis by using Bcl-2 oncoprotein mause Clone 124 Scytek kit. Preparates were scored between (+)-(+++)<sup>+</sup> in accordance with the procedure described by Regitnig under bright field light microscope (Olympus BX50). SPSS-18 packaged software was used for statistical analysis.

Average follow-up was 61 months (7-166 months) and locoregional recurrence was observed in 9 (17%) cases. In analysis, 43 cases (81%) were determined as negative, 5 cases were (9%) (+), 3 cases (6%) were (++) and 2 cases (4%) were (+++). It is observed that in univariate analysis ,determining recurrence after radiotherapy (p=0.000) and in multivariate analysis, age less than 50 (p=0.021) decrease overall survival significantly, also hemoglobin level more than 13 gr/dl during radiotherapy increases overall survival significantly both in univariate analysis (p=0.002) and multivariate analysis (p=0.009). When analysing of prognostic factors that might be effective on local control, in univariate analysis, smoking more than 20 cigarettes per day (p=0.001) and both in univariate analysis (p=0.001) and multivariate analysis (p=0.018), age less than 50 decrease local control ratio significantly. In correlation analysis, no relationship was evaluated between Bcl-2 expression and other factors.

As a result, we couldn't evaluate any relationship between Bcl-2 expression with local control and survival in our study. Age less than 50 and smoking more than 20 cigarettes per day were found as negative effect on local control; hemoglobin level less than 13 gr/dl and age less than 50 were found as negative effect on overall survival, which are the factors might be effective on prognosis.

**Key words:** Early stage laryngeal cancer, Bcl-2 expression, radiotherapy

## GİRİŞ

Larenks kanserleri tüm kanserlerin yaklaşık %2'sini oluşturmakta olup olguların %40'ında yerleşim yeri glottik bölgedir (1, 2). Glottik tümörler erken dönemde ses kısıklığına neden olduğundan hastaların önemli bir bölümünde erken evrelerde tanı konabilmektedir. Erken evrelerde standart tedavi yöntemleri parsiyel cerrahi ve radyoterapidir (RT). Her iki tedavi yönteminin sonuçları eşdeğer olarak kabul edilmekte ve seçimin hastaya bırakılması önerilmekteyse de tedavi seçiminde tümörün yerleşimi, hasta tercihi ve merkezin tutumu önemli rol oynamaktadır. Tedavide öncelikli hedef en iyi fonksiyonel sonuca ulaşmak, optimal organ koruması sağlamak ve ciddi komplikasyonlardan mümkün olduğunca kaçınmaktır.

Erken evre larenks kanserinde primer RT ile parsiyel cerrahi arasındaki en önemli fark RT ile ses kalitesinin daha iyi olmasıdır. Ayrıca bu durumda parsiyel larenjektomi RT sonrası yinelemelerde kullanılabilir (3, 4).

Küratif RT uygulanan glottik T1 tümörlerde 5 yıllık lokal yineleme beklentisi %5-15, T2 tümörler için ise %15-25 olarak bildirilmektedir (5, 6). Aynı histolojiye sahip ve benzer klinik yayılım özellikleri gösteren tümörlerde tedaviye yanıtın farklı olması bize tedavi seçimi ve planlaması aşamasında kullandığımız kriterlerin yetersiz olduğunu göstermektedir. Yani daha özgün prognostik ve prediktif etmenler bulmalıyız ki RT'den yarar görebilecek ve göremeyecek hasta ayırımını yapabilelim.

Larenks kanserinde tümörün nasıl davranacağı konusundaki düşüncemizi, "TNM evrelemesi" ile "histolojik derecelendirme sistemi" yönlendirmektedir. Ancak aynı lokalizasyon, evre ve histopatolojik özelliklere sahip tümörlerde benzer tedavi uygulanmasına karşın farklı sonuçlar alınması, bu sınıflamaların çok yeterli olmadığını göstermektedir (5, 6). Bunun nedeni aynı kategoride kabul edilen tümörlerin içinde tedaviye direnç gösteren ve henüz tanımlanmamış prediktif özelliklere sahip hücrelerin varlığı ile ilişkilidir. Günümüzde pek çok tümör tipinde olduğu gibi larenks kanserlerinde de radyoduyarlılık veya radyodirenci öngörmede



kullanılabilecek genetik özelliklerin saptanması amacıyla pek çok çalışma yapılmaktadır. Deneysel çalışmalarda radyoduyarlılık veya radyodirencin moleküler mekanizmaları konusunda önemli bilgiler elde edilmişse de erken evre larenks kanserli hastalarda uygun tedavi seçiminde klinik olarak etkin prediktif belirteç olarak kullanılabileceklerine dair yeterli kanıt yoktur.

Apoptozis ya da programlanmış hücre ölümü, radyasyona bağlı hücre ölümünün önemli mekanizmalarından birisi olup RT sonrası tümöral dokudaki apoptotik hücre oranıyla tedaviye yanıt arasındaki ilişkiyi gösteren pek çok çalışma mevcuttur. Bcl-2 onkoproteininin apoptotik yolakta önemli bir rol oynadığı da çalışmalarda gösterilmiştir (7-11). Apoptotik hücre oranıyla bu onkoprotein ekspresyonu arasındaki ilişki, bize radyoduyarlılığı öngörmeye yardımcı olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda bu öngörüden yola çıkarak erken evre glottik skuamöz hücreli kanserlerde Bcl-2 onkoprotein ekspresyonuyla lokal kontrol arasındaki ilişkiyi saptamaya çalıştık.

### **İnsidans ve Epidemiyolojik Özellikler**

Larenks kanseri erişkinlerde tüm kanserlerin %2'sini oluşturmaktadır olup erkeklerde bu oran %2,2, kadınlarda ise %0,4' tür (1,2). Erkek ve kadın arasındaki görülme oranı ülkelere göre 4:1 ile 30:1 arasında değişir (12). Yaşa göre görülme sıklığı, 5-7. dekadlar arasında yoğunlaşmaktadır (1, 13, 14). 2010 yılında ABD'inde yılda 12.720 yeni larenks kanseri olgusu saptanmış ve 3.600'ünün aynı nedenle öldüğü rapor edilmiştir (15). Bu bölge kanserlerinin insidansı ülkeden ülkeye değişmekte olup İspanya dünyada insidansın en yüksek olduğu ülkedir (16). Larenks kanserinin Türkiye'deki durumu ile ilgili veriler yeterli olmamakla beraber İzmir ili Kanser İzleme ve Denetim Merkezi'nin (KİDEM) verilerine göre larenks kanseri erkeklerde %3,2, kadınlarda %0,4 oranında görülmektedir (17). Elçi ve ark.'nın (18) çalışmasında, larenks kanserinin, Türkiye'de erkeklerde görülen kanserler arasında 2. sıklıkta yer aldığı ve erkeklerde tüm ölümlerin %7'sinden sorumlu olduğu bildirilmiştir. Karakök ve ark.'nın (19) çalışmasında ise larenks kanseri, ülkemizde 3. sıklıkta görülen malign tümör olarak bildirilmiştir.

## **Anatomi**

Ses ve solunum gibi iki önemli fonksiyona sahip olan larenksin anatomisi oldukça karmaşık olup tümörlerinin yayılım özelliklerinin bilinmesi uygulanacak tedaviye yol gösterici olması açısından önemlidir.

Larenks anatomik olarak üç bölüme ayrılır:

1. Supraglottis: Epiglot, aritenoidler, bandlar, ventrikül ve ariepiglottik plikadan oluşur.

2. Glottis: Gerçek vokal kordlar, ön ve arka kommissürden oluşur. Glottisin alt sınırı, ventrikül apeksinin 1 cm altında veya vokal kordların serbest kenarının 5 mm altındaki horizontal düzlemdir.

3. Subglottis: Glottisin bittiği yerde başlar ve krikoid kıkırdağın alt sınırına kadar uzanır.

Embriyolojik olarak glottis ve subglottik larenks trakeobronşial tomurcuk, supraglottik larenks ise nazofaringeal tomurcuktan gelişir (3). Her iki embriyonel tomurcuğun birleşip kaynaştığı yer glottik larenks bölgesidir. Bu nedenle glottik bölgenin lenfatik damarları çok az ve gelişmemiştir (3, 20). Supraglottik bölge lenfatik damarlar bakımından zengin olup akım ipsilateral üst ve orta servikal lenf bezlerine doğrudur. Subglottik bölge supraglottik alana göre daha az lenfatik damarlanmaya sahip olup akım troid isthmusu üzerindeki pretrakeal (Delphian), alt servikal ve üst mediastendeki paratrakeal lenf bezlerine drene olur (3, 4, 21).

Larenksin kanlanması, A.Carotis Eksterna'nın dalı olan A.Troidea Superior ve A.Subclavia'nın dalı olan A.Troidea Inferior ile olur. Venler, arterleri izler ve aynı adları alır. Larenksin motor ve duyuşal sinirleri N.Vagustan gelir.

## **Patoloji**

Larenks karsinomlarının %95'i yassı hücreli veya epidermoid karsinoma varyantlarıdır (3, 4, 21). Epidermoid karsinoma varyantları çeşitli derecede differansiyasyon ve stroma özellikleri gösteren yassı hücreli karsinomlardır (Tablo-1) (22). Larenks kanserlerinin %5'ini minör tükrük bezi

karsinomları, küçük hücreli nöroendokrin karsinomalar (küçük hücreli indifferansiye karsinoma, karsinoid tümör), kemik ve yumuşak doku sarkomları, NHL, plasmositoma ve malign melanoma gibi habis tümörler oluşturur (3).

**Tablo-1:** Larenks skuamöz hücreli karsinomun alt histolojik tipleri (modifiye WHO sınıflaması) (22).

Verrüköz karsinom
Bazaloid skuamöz hücreli karsinom
Papiller skuamöz hücreli karsinom
İğsi hücreli karsinom
Akantolitik skuamöz hücreli karsinom
Adenoskuamöz karsinom

### **Etyoloji ve Etyopatogenez**

Larenks kanseri için en önemli risk faktörü sigara olup olguların yaklaşık %95'inde sigara içme öyküsü bulunmaktadır (1, 2). Epidemiyolojik veriler, larenks kanseri gelişim riskinin, sigaraya başlama yaşı ile ters, kullanım süresi, günlük sigara adedi ve yıllık paket sayısı ile doğru orantılı olarak arttığını göstermektedir (23, 24). Talamini ve ark.'nın (25) 527 hastayı kapsayan olgu kontrollü çalışmasında, larenks kanseri görülme riski, sigara içmeyenlere oranla, günde 15'ten az sigara içenlerde 9.8 kat, günde 25'ten fazla sigara içenlerde 42.9 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Araştırmalar tütünde kanser gelişimine neden olan primer maddenin nikotin olmadığını, aromatik heterosiklik radikaller ve epoksitler gibi çok sayıda başka karsinojenler olduğunu ortaya koymuştur. Bu maddeleri detoksifiye eden enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizmin, sigaradaki karsinojenlerin etkin hale gelmesinden sorumlu olabileceği, öne sürülmüştür (26).

Aşırı alkol tüketimi sigara kadar kesin olmamakla birlikte özellikle glottik kanserler için risk faktörüdür. Menvielle ve ark.'nın (27) 504 baş-boyun kanserli olgularda yaptıkları çalışmada değişik derecelerde alkol tüketiminin, risk artışının 1.4-5.9 kat arasında değiştiğini saptamışlardır.

Larenks kanseri gelişiminde diyet ile ilgili bir takım faktörler de sorumlu tutulmuştur. Sebze, meyve, bitkisel yağlar ve balıktan zengin beslenmenin koruyucu olduğu düşünülürken, tuzlanmış etin risk faktörü olduğu öne sürülmektedir (12, 28).

Bir takım meslek grupları ve buna bağlı kimyasallara maruziyetin de riski arttırabileceğini düşündüren çalışmalar mevcuttur. Polisiklik aromatik bileşikler, çimento ve metal tozları, asbest ve vernik maruziyetine neden olan işlerde çalışanlarda larenks kanseri insidansının yüksek olduğu bildirilmektedir (24, 29). Elçi ve ark. (18) larenks kanserini çeşitli meslek gruplarında araştırmış ve silika, pamuk tozları, diesel ve benzin egzosu ile polisiklik aromatik hidrokarbonlara uzun süre maruz kalma sonucunda larenks kanseri riskinin belirgin olarak arttığını ve dolayısıyla üretim denetleyicileri, tekstil, inşaat ve belediye işçileri ile şoförlerde daha sık görüldüğünü belirtmişlerdir.

Larenks kanserlerinde Human Papilloma Virus (HPV) pozitifliği %3 ile %47 arasında değişmektedir (30, 31). En sık saptanan tipler HPV 16, 18 ve 33'tür. HPV'nin onkolojik potansiyelinin, viral onkoproteinler olan E6, E7 ve E5 ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. E6 proteini p53 ve E7 proteini retinoblastom tümör süpresör proteinlerine bağlanarak, onları inaktive eder. Böylece apoptozu inhibe ederek hücre proliferasyonunu artırır. E5 proteinin ise özellikle EGFR ile etkileşime girerek hücre proliferasyonunu arttırdığı bildirilmektedir (32). Almadori ve ark.'nın (32) yaptıkları 42 olguluk çalışmada erken evre (evre 1-2) tümörlerin, ileri evre (evre 3-4) tümörlerden, supraglottik tümörlerin, glottik tümörlerden daha yüksek oranda HPV pozitifliği gösterdiğini saptamışlardır.

İyonize radyasyonun larenks kanseri için risk faktörü olduğu, tirotoksikoz ve tüberküloz lenfadeniti tedavisi için RT uygulanan olguların uzun dönem izlem verilerinde gösterilmiştir (24).

Gastroözofagiyal reflü (GÖR) sigara ve alkol kullanmayan olgularda tek başına, kullananlarda ise bu ajanların reflü yapıcı etkileri ile birlikte etyolojide rol oynamaktadır. El-Serag ve ark. (33) 8223 larenks kanserli olguda GÖR prevalansını %4 olarak bulmuş ve GÖR'ün larenks kanser insidansını arttırdığı sonucuna varmışlardır.

Lynch ailesel kanser sendromlu olgularda larenks kanserlerinin daha sık görülmesi, genetik yatkınlığın olabileceğini göstermektedir (34).

### **Evreleme**

Larenks kanserleri primer tümörün lokalizasyonu ve lokal yayılımı (T evresi), servikal lenf nodu metastazının varlığı ve boyutu (N evresi) ve uzak metastaz durumuna (M evresi) göre evrelendirilmektedir. 1987'den önce Avrupa ve Amerika'da iki farklı sistem kullanılırken, daha sonra American Joint Committee on Cancer Staging and End Results reporting'in (AJCC), UICC'nin esaslarına bağlı kalarak 2002'de modifiye ettiği TNM evreleme sistemi kullanılmaktadır (35) (Tablo-2).

**Tablo- 2: TNM evreleme sistemi (AJCC, UICC)**

**Primer tümör (T)**

<b>Tx</b>	Primer tümör değerlendirilemiyor
<b>T0</b>	Primer tümör bulgusu yok
<b>Tis</b>	Karsinoma in situ

**Supraglottis**

<b>T1</b>	Normal kord hareketi ile birlikte supraglottisin bir bölgesine sınırlı tümör
<b>T2</b>	Normal kord hareketi ile birlikte supraglottisin birden fazla bölgesine veya glottise veya supraglottis dışına (piriform sinus medial duvarı, dil kökü mukozası vb.) invaze tümör.
<b>T3</b>	Kord fiksasyonu ile birlikte larenkse sınırlı ve/veya postkrikoid alan, preepiglottik bölge, paraglottik boşluğa yayılmış tümör ve/veya minor tiroid kıkırdak erozyonu var.
<b>T4a</b>	Tiroid kıkırdağı invaze etmiş ve/veya larenks ötesi diğer dokulara yayılmış tümör (trakea, orofarenks ya da boyun yumuşak dokuları vb.)
<b>T4b</b>	Prevertebral boşluklara, karotis artere veya mediastinal yapılara invaze tümör

**Glottis**

<b>T1</b>	Normal hareketle birlikte kord veya kordlara (ön veya arka komissürü içerebilir) sınırlı tümör
<b>T1a</b>	Bir korda sınırlı tümör
<b>T1b</b>	Her iki kordu tutan tümör
<b>T2</b>	Supraglottis ve/veya subglottise uzanan, ve/veya bozulmuş kord hareketi ile birlikte olan tümör
<b>T3</b>	Kord fiksasyonu ile birlikte larenkse sınırlı ve/veya, paraglottik boşluğa yayılmış tümör ve/veya minor tiroid kıkırdak erozyonu
<b>T4a</b>	Tiroid kıkırdağı invaze etmiş ve/veya larenks ötesi diğer dokulara yayılmış tümör (trakea, orofarenks ya da boyun yumuşak dokuları vb.)
<b>T4b</b>	Prevertebral boşluklara, karotis artere veya mediastinal yapılara invaze tümör

**Subglottis**

<b>T1</b>	Subglottise sınırlı tümör
<b>T2</b>	Normal veya bozulmuş kord hareketi ile birlikte, kord veya kordlara uzanan tümör
<b>T3</b>	Kord fiksasyonu ile birlikte larenkse sınırlı tümör
<b>T4a</b>	Tiroid veya krikoid kıkırdağı invaze eden ve/veya orofarenks, boyun yumuşak dokuları gibi larenksin dışındaki diğer dokulara uzanan tümör
<b>T4b</b>	Prevertebral boşluklara, karotis artere veya mediastinal yapılara invaze tümör

**Lenf Nodu (N)**

<b>Nx</b>	Bölgesel lenf nodu değerlendirilemiyor
<b>N0</b>	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
<b>N1</b>	En büyük boyutu 3 cm veya daha az olan, tek, ipsilateral lenf nodu metastazı
<b>N2</b>	En büyük boyutu 3 cm' den fazla, fakat 6 cm' den daha büyük olmayan, tek, ipsilateral lenf nodu, veya hiçbirinin en büyük boyutu 6 cm' yi geçmeyen, multipl, ipsilateral lenf nodları, veya hiçbirinin en büyük boyutu 6 cm' yi geçmeyen bilateral veya kontralateral lenf nodları metastazı
<b>N2a</b>	En büyük boyutu 3 cm' den fazla fakat 6 cm' den daha büyük olmayan, tek, ipsilateral lenf nodu metastazı
<b>N2b</b>	Hiçbirinin en büyük boyutu 6 cm' yi geçmeyen, multipl, ipsilateral lenf nodları metastazı
<b>N2c</b>	Hiçbirinin en büyük boyutu 6 cm' yi geçmeyen bilateral veya kontralateral lenf nodları metastazı
<b>N3</b>	En büyük boyutu 6 cm' den büyük lenf nodu metastazı

**Uzak metastaz (M)**

<b>Mx</b>	Uzak metastaz varlığı değerlendirilemiyor
<b>M0</b>	Uzak metastaz yok
<b>M1</b>	Uzak metastaz var

**Tablo-2** (devam): TNM evreleme sistemi (AJCC, UICC).

• Evre 0	• Tis	N0	M0
• Evre I	• T1	N0	M0
• Evre II	• T2	N0	M0
• Evre III	• T3 • T1 • T2 • T3	N0 N1 N1 N1	M0 M0 M0 M0
• Evre IVA	• T4a • T4a • T1 • T2 • T3 • T4a	N0 N1 N2 N2 N2 N2	M0 M0 M0 M0 M0 M0
• Evre IVB	• T4b • T1,2,3,4	N0,1, 2,3 N3	M0 M0
• Evre IVC	• T1, 2, 3, 4	N0, 1, 2, 3	M1

### **Erken Evre Vokal Kord Kanserlerinde Tedavi Yaklaşımları**

**Stripping (Soyma):** Stripping genellikle karsinoma in situ, hiperkeratozis veya mikroinvaziv karsinom gibi yüzeysel lezyonların tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Bu lezyonlarda genellikle kordun membranöz bölümü tutulmakla birlikte hiperkeratozis, atipi ve invaziv karsinom birlikteliği sık görüldüğünden mikrolaringoskopi ile total stripping önerilmektedir. Ayrıca yinelemelerin sık görülmesi nedeniyle aylık laringoskopi ile izlem ve yineleme durumunda stripping tekrarlanabilir. Ancak yinelenen stripping işlemleri vokal kordun kalınlaşmasına ve ses kısıklığına neden olduğundan genellikle yinelemelerde veya yaygın lezyonlarda RT tercih edilmektedir (36).

**Kordektomi:** Kord hareketlerinin normal olduğu orta 1/3 yerleşimli küçük lezyonlarda laringoskopik cerrahi veya lazer kordektomi yapılabilirse de daha geniş lezyonlarda laringofissür ile kordektomi, vokal kas ve troid

kıkırdak içi perikondriumun total çıkarılmasını sağladığından tercih edilmektedir. Endolaringeal veya laringofissür ile yapılan kordektomiler, rezeksiyonun lateral sınırı güvenli ise, onkolojik yönden yeterlidir.

**Vertikal parsiyel larenjektomi:** Bir kordun tümü ve karşı kordun 1/3'üne kadar olan T1-T2 tümörlerde ve minimal vokal kord kas invazyonuyla birlikte yalnızca tümör kitlesinin neden olduğu vokal kord fiksasyonu olan T3 olgularda primer tedavi olarak ya da RT başarısızlığında kurtarma tedavisi olarak uygulanır.

**Radyoterapi:** Erken evre glottik kanserlerde, hemilarenjektomi ve kordektomi gibi ses koruyucu cerrahi yöntemler RT ile eşdeğer lokal kontrol oranları sağlasa da, pek çok merkezde ilk tedavi seçeneği olarak genellikle RT tercih edilmektedir. Tek başına RT ile beş yıllık lokal kontrol oranları T1 tümörler için %80-95, T2 tümörler içinse % 50-85 arasında bildirilmektedir. RT'nin en önemli avantajı daha kaliteli ses sağlamasıdır (37, 38). RT'nin bir başka avantajı ise erken tanınan lokal yinelemelerin parsiyel larenjektomi ile tedavi edilebilmesi ve sesin korunabilmesidir (39). T1-T2 glottik karsinomlarda RT'de yalnızca primer tümör bölgesini kapsayan karşılıklı paralel alanlar kullanılır. 5x5 veya 6x6 cm'lik alanlar yeterli olup üst sınır troid çentik üstü ve alt sınır krikoid kartilajın alt kenarı, ön sınır vokal kordlar seviyesinde cildin 1 cm önü ve arka sınır primer tümörün posterior yayılımına göre belirlenir. Tedavide Co60 veya 4-6 MV foton ışınlarıyla, T1 tümörler için 55-66 Gy ve T2 tümörler içinse 60-70 Gy'lik toplam doz yeterli görülmektedir (40, 41). Fraksiyon dozunun 2 Gy veya üstünde olması önerilmektedir(42).

## **Larenks Kanserinde Prognostik Faktörler**

### **Hastaya Ait Faktörler**

Yaş, cinsiyet, sosyoekonomik düzey, eğitim düzeyi, RT öncesi hemoglobin (hb) düzeyi, sigara ve alkol kullanımı gibi hastaya ait faktörlerin prognoza olan etkisini araştıran çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda sosyoekonomik düzeyi düşük, sigara ve alkol kullanan yaşlı erkek bireylerde baş-boyun ve larenks kanserlerinin daha ileri evrede yakalandığı ve bunun da prognozu olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir (43, 44).



Tüm dünyada larenks kanserine bağlı mortalite erkeklerde daha fazla olup, kadınlarda kansere bağlı ölümlerin yalnızca %0,4'ü larenks kanserine bağlıdır. Cinsiyetin prognostik önemi olup olmadığı konusunda fikir birliği olmamakla birlikte kadınlarda prognozun daha iyi olduğu görüşü hakimdir. Johansen ve ark.'nın (45) T1 larenks kanserli 478 olguluk çalışmalarında kadın hastalarda prognozun daha iyi olduğunu göstermişlerdir. Ancak bu çalışmaların yanı sıra cinsiyetin prognoz üzerine etkisinin olmadığını belirten çalışmalar da vardır (34).

Yapılan çalışmalarda sigara içiminin kötü prognoz ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Do ve ark.'nın (46) 1190 baş-boyun kanserli hasta grubunun 10 yıl izlendiği çalışmalarında, tedaviden sonra sigara içmeye devam edenlerde yineleme veya ikinci primer tümör görülme oranının, hiç içmeyenlere göre 3 kat arttığını bildirmişlerdir.

Prognoz üzerine etkisi olduğu düşünülen bir diğer faktör ise tedavi öncesi hb düzeyidir. Warde ve ark.'nın (47) yaptıkları bir çalışmada RT ile tedavi edilen T1-T2 erken glottik kanserli 735 olguda, lokal kontrol için tedavi öncesi hb değerinin bağımsız bir prognostik faktör olduğunu rapor etmişlerdir. Cho ve ark. (48) T1- T2 larenks kanserli 246 olguyu kapsayan çalışmalarında RTöncesi hb düzeyinin etkili bir faktör olduğunu ve tedavi öncesi eğer anemi varsa düzeltilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Ancak bu çalışmaların aksine Canaday ve ark. (49) T1 glottik squamöz hücre kanserli 139 olguluk çalışmalarında tedavi öncesi hb düzeyinin lokal kontrole anlamlı bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

### **Tümöre Ait Özellikler**

Evre, tümör çapı, histolojik grad, ön kommissür tutulumu, subglottik yayılım ve immünohistokimyasal özellikler gibi tümöre ait faktörlerin erken evre larenks kanserlerinde lokal kontrole etkisi pek çok çalışmanın konusu olmuştur. Bu çalışmalarda, evre lokal tümör kontrolünü belirleyen en önemli prognostik faktör olarak, ön plana çıkmaktadır (1,20,50-54). Marshak ve ark. (20) yaptıkları 207 olguluk çalışmada 5 yıllık lokal kontrol oranlarını T1 ve T2 tümörler için sırasıyla %88 ve %73 olarak bildirmişlerdir. Burke ve ark. (55) glottik kanserli 102 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada 5 yıllık lokal kontrol oranlarını T1a, T1b, T2a ve T2b için sırasıyla %92,%80,%94 ve %23

olarak rapor ederlerken, Chera ve ark. da (54), ortanca 12 yıl takip edilen 585 olgunun yer aldığı başka bir çalışmada 5 yıllık lokal kontrol oranlarını %94, %93, %80, %70 olarak saptamışlardır. Frata ve ark. (52) erken evre larenks kanser tanısı almış ve RT uygulanan 1087 olgunun 5 yıllık hastalığa özgü sağkalım oranlarını T1 tümörler için %95, T2 tümörler için %86 olarak bildirmişlerdir.

Erken evre kanserlerde prognozu etkileyebileceği varsayılan bir diğer faktör de tümör çapı olup, 2 cm'den büyük tümörlerde boyunda lenf nodu metastaz oranı %4 olarak bildirilmektedir (54, 56). Reddy ve ark. (57) glottik T1 tümörleri bulky ve küçük lezyonlar (gerçek vokal kordu kapsamayan yüzeysel lezyonlar) olarak gruplandırmış ve bulky tümörlerde 5 yıllık lokal kontrol oranını daha düşük bulmuşlardır.

Birçok çalışmada tümörün histolojik differansiyasyonunun (grad) lokal kontrol ve sağkalımı etkileyebilecek faktör olabileceği bildirilmiştir (45, 58, 60). Olszewski ve ark. (58) 137 T1 glottik kanserli olgudan sadece 7'sinin az differansiye karsinom olmasına karşılık, bunlarda lokal yinelemelerin daha fazla olduğunu saptamışlardır. Johansen ve ark. (45) da 358 T1 glottik kanserli olgunun yineleme ve sağkalımlarını histolojik differansiyasyonlarına göre karşılaştırmış, az differansiye olanlarda gerek yineleme ve gerekse de sağkalım oranlarının daha kötü olduğunu göstermiştir. Yine Chera ve ark. (54) yaptıkları çalışmada az differansiye tümörlerde lokal kontrol oranını anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Buna karşılık Terhaard (5), 194 T1 glottik kanserli olgunun çok değişkenli analizinde tek başına kötü prognostik faktör olarak vokal kordun tüm uzunluğu boyunca invaze olmasını ve tedaviden sonra sigara içmeye devam edilmesini göstermekte, patolojik gradın lokal kontrolü etkilemediğini ileri sürmektedir. Benzer şekilde Howell-Burke (60), Rudoltz (59) ve Klintenberg'in (61) çalışmalarında da histolojik gradın lokal kontrol ve sağkalım üzerine etkisi gösterilememiştir.

Tümöre ait prognostik faktörlerden birisi de ön kommisür tutulumudur. Chen ve ark.'nın (62) yaptıkları bir çalışmada, T1 glottik larenks kanserli olgularda ön kommisür yayılımı lokal kontrol için önemli prognostik faktör olarak bildirilmektedir. Yine Zouhair ve ark. (63) ön kommisür tutulumunun yanında total RT dozunun 66 Gy den az olmasının lokal kontrolü

etkileyen önemli prognostik faktörler olarak belirlemişlerdir. Cellai ve ark. (64) 831 olguluk çalışmalarında ön kommisür tutulumunun lokal kontrolü azalttığını saptamışlardır.

T2 glottik larenks kanserlerinde subglottik bölgeye doğru yayılım olmasının prognozu kötü yönde etkilediği bildirilmektedir. Chen ve ark. (62) 134 T1-T2 larenks kanserli olguyu değerlendirdikleri bir çalışmada, T2 olgularda subglottik yayılımın lokal ve bölgesel kontrol için en önemli prognostik faktör olduğunu bildirirken, Murakami ve ark. (65) RT ile tedavi edilmiş 130 erken evre glottik larenks kanserli olguda prognoza etkili faktörleri inceleyip, subglottik tümör yayılımının 5 yıllık lokal kontrol oranını anlamlı olarak düşürdüğünü göstermişlerdir.

Genetik ve moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler doğrultusunda yapılan çalışmalarda larenks kanserli hastalarda prognoz üzerine etkili olabileceği düşünülen genetik ve immünohistokimyasal belirleyiciler araştırılmıştır. P53, bcl-2, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), üzerinde en çok çalışılan belirteçlerdir. Narayana ve ark. (66) T1 glottik kanserli 102 olguluk çalışmalarında p53 ekspresyonunun lokal kontrolde bağımsız bir faktör olduğunu belirtirlerken, Motamed ve ark. (67) RT ile tedavi edilen 107 T1a glottik larenks kanserli olgunun yer aldığı çalışmalarında, p53 ekspresyonunun etkisini saptayamamışlardır.

Üzerinde çalışılan ve prognostik faktör olabileceği düşünülen diğer onkoprotein Bcl-2'dir. Condon ve ark. (8) erken evre larengeal tümörlerde Bcl-2 aşırı ekspresyonu ve radyodirenç arasında istatistiksel anlamlı korelasyon olabileceğini bildirmişlerdir. Nix ve ark.'nın (7) 124 T1-T2 larenks kanserli olguyu kapsayan çalışmalarında apoptosise engel olan Bcl-2 üyelerinin radyodirençten sorumlu olabileceğini saptamışlardır. Bu çalışmaların aksine Wilson ve ark. (9) baş-boyun kanserlerinde yüksek Bcl-2 ekspresyonu ile lokal kontrol ve sağkalımda artış bildirmişlerdir.

Prognostik faktör olabileceği düşünülen diğer belirteç EGFR de araştırmalara konu edilmiştir. Rucci ve ark.'nın (68) 45 olguluk çalışmalarında az differansiye ve arka kommisür tulumu olanlarda EGFR ekspresyonunun daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Demiral ve ark. (69) EGFR'nin yaş, T

evresi, histolojik grad ve ön kommisür tulumuna etkisini irdelemişler ve sadece T evresi ile anlamlı bir ilişki bulmuşlardır.

### **Radyoterapiye Ait Faktörler**

Fraksiyon dozu, total doz, kullanılan enerji, alan boyutları ve toplam tedavi süresinin prognoza etkisi pek çok çalışmanın konusu olmuştur. Erken evre larenks karsinomunda düşük fraksiyon dozlarının klinik gidişi olumsuz etkilediğine dair yayınlar bulunmaktadır. Schwaibol çalışmasında (70) fraksiyon dozunun lokal kontrolü etkileyen tek faktör olduğunu bildirmektedir. Yu ve ark. (42) 126 olguluk retrospektif çalışmalarında günlük fraksiyon dozunun 2 Gy'den büyük olmasının yan etkilerde bir artış göstermeksizin daha iyi lokal kontrol sağladığını saptamışlardır. Benzer şekilde Kim (71) ve Rudoltz (59) da yaptıkları çalışmalarda günlük fraksiyon dozunun 2 Gy'den büyük olmasının 5 yıllık lokal kontrolü arttırdığını belirtmişlerdir.

RT tekniği ile ilgili bir başka tartışma konusu da kullanılan ışın enerjisidir. Cellai ve ark. (64) enerji olarak Co-60 kullanımının, 4-6 MV foton enerjisine göre daha kötü lokal kontrol oranına sahip olduğunu göstermişlerdir. Buna karşılık Foote ve ark. (72) Co60 ile tedavi edilen olgularda 2 yıllık lokal kontrol oranını %84 bulurken, 6MV foton ışını alanlarda %80 olarak saptamışlardır.

RT alan boyutunun lokal kontrole etkisi olmamakla birlikte alan boyutunun artmasıyla komplikasyon olasılığının arttığı bildirilmektedir. Araştırmacıların büyük çoğunluğu, evre I tümörler için 5x5 cm'lik alanın yeterli olduğunu ve daha büyük alanların tedavi sonrası ödem riskini artırdığını düşünmektedir (40). Chatani ve ark. (73) T1 tümörlü 273 olguda 5x5 cm ile 6x6 cm alan boyutlarını karşılaştırmışlar ve lokal kontrol açısından fark saptamazlarken, 6x6 cm ile tedavi edilen olgularda daha yüksek oranda ödem bildirmişlerdir.

RT sonrası tümör yinelemelerinin nedenlerinden birisi de tedavi süresinin gereğinden çok uzatılmasıdır. Raitiola ve ark. (74) yaptıkları çalışmada T1-T2 tümörlerde tedavi süresinin uzamasının lokal kontrolü önemli derecede azalttığını belirtmişlerdir.

## Apoptozis ve Bcl-2

Apoptozis, programlanmış hücre ölümü (hücre intiharı) olarak da bilinen fizyolojik bir olay olup, ilk kez 1972 yılında Kerr ve ark. (75) tarafından tanımlanmıştır. Kerr, fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını gözlemlemiş ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır. Daha sonra 1984'de apoptozisde görülen DNA kırıklarının jel elektroforezindeki karakteristik merdiven kalıbı gösterilmiştir (76). Takiben 1990'lı yılların ikinci yarısında apoptozis ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmış ve apoptozisin oluşmasında rol oynayan kaspaz (caspase) aktivasyonu, apoptotik hücrelerin fagositozu ve mitokondriyal membran geçirgenliğindeki değişiklikler tarif edilmiştir (77).

Apoptozis embriyolojik gelişim ve erişkin dokunun yaşamını sürdürmesinde anahtar rol oynar. Organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlı hücreler apoptozis ile genetik olarak kontrol edilerek ortadan kaldırılır. Apoptozisin hızının bozulduğu yani yavaşladığı veya arttığı hallerde çeşitli patolojik olaylar ortaya çıkar. Apoptozis tümörlerde sık görülen bir olay olup hücre ölümüne yol açan aktif bir süreçtir. Hücre kaybını azaltarak tümöre avantaj sağlayan apoptozis önceden hazır olan hücrelerde primer başlatılabildiği gibi hücre dışı uyarılarca sekonder olarak da tetiklenebilir. Koloni uyarıcı faktörler (CSF), nöron büyüme faktörü (NGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), interlökin-2 (IL-2) gibi faktörler apoptozisi inhibe ederken, sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, tümör nekroz faktörü (TNF), Fas/FasL sisteminin aktivasyonu, enfeksiyöz patojenler, glukokortikoidler, radyasyon, sitotoksik ilaçlar ve çeşitli antijenler apoptozisi uyarmaktadır (78-86).

İyonizan radyasyon, DNA molekülündeki kovalent bağların yıkımını sağlayacak reaktif radikalleri oluşturan, serbest elektronlar üretmektedir. Hızlı bölünen tümör hücreleri kromozom hasarına daha duyarlı olup bu hücrelerde genellikle çift zincir DNA kırıkları daha fazla oluşmaktadır (87, 88). DNA hasarı oluştuğunda hücre döngüsünde arrest meydana gelmekte ve DNA hasarı onarım mekanizmaları uyarılmaktadır. Hasarlanmış DNA başarılı bir

şekilde tamir edilebilirse hücre replikasyonu sürdürebilirken, hasar tamir edilemezse hücre apoptozise gider (57, 89, 90). RT'nin amacı tümör hücrelerinde apoptozis oluşturacak kadar genetik hasar meydana getirmek, böylece tümör regresyonunu sağlamaktır.

Otoimmün hastalık gelişiminde rolü olduğu belirtilen Fas/FasL (91, 92), sFas proteinleri ve virüsler de hücreyi apoptozise götürmektedir (92). Organizmada apoptozisi uyaran ve engelleyen genler tablo 3'te gösterilmiştir (93).

**Tablo-3:** Apoptozis ve Genler (93)

Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi uyaran genler
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bcl-2 grubundan; BHRL-1, bcl-xl, bcl-w, bfl-1, brag-1, mcl-1, A1</li> <li>• C-abl geni</li> <li>• Ras onkogeni</li> <li>• Çözünebilir fas</li> <li>• P35</li> <li>• A20</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bcl-2 grubundan; Bad, Bax, Bak, Bcl-xs, bid, bik, Hrk1</li> <li>• C-myc</li> <li>• P53, p21</li> <li>• Fas (CD95/APO-1)</li> <li>• FADD/MORT, RIP, FAST</li> <li>• İnterlökin dönüştürücü enzim benzeri proteinler</li> <li>• LOH (MTS1/CDK4I)</li> </ul>

**FADD:** Fas-associated protein with death domain, **RIP:** Receptor interacting protein, **LOH:** Loss of heterozygosity, **MTS1:** Multiple tumor suppressor-1, **CDK4I :** Cyclin-dependent kinase 4 inhibitor, **CD95:** Cyclin-dependent 95, **APO-1:** Apoptosis antigen-1, **MORT:** Mediator of receptor-induced toxicity, **FAST:** The fusion-associated small transmembrane

Apoptozisin regülasyonu Bcl-2/Bax gen ailesi ile sağlanır. Bcl-2 ailesi birbirine zıt etkileri olan iki gruptan oluşur. Anti-apoptotik üyelerin en iyi bilinenleri bcl-2, bcl-Xl, mcl-1 iken, pro-apoptotik olanları ise bax, bcl-Xs, bad, bim, bak, bid'dir.

Pro-apoptotik üyelerin aktivasyonu apoptozisi indükleyici etkiye sahipken, anti-apoptotik üyeler ise apoptozisi baskılayıcı etkiye sahiptir (8). Pro-apoptotik üyeler, sitokrom-C'nin mitokondriden sitoplazmaya salıverilmesini indüklerken, anti-apoptotik üyeler ise sitokrom-C salınımını inhibe ederler. Bu iki zıt etkili grubun işleyişi yapılarında bulunan iki bölgeye (hidrofobik cep ve amfipatik a-heliks) bağlıdır. Hidrofobik cep BH1, BH2, ve BH3 bölgelerinden oluşup bu bölge sayesinde diğer Bcl-2 ailesi üyesinin BH3

bölgesine bağlanırlar. Amfipatik a-heliks ise BH3 bölgesinde yer alır. Pro-apoptotik üyeler kendi içinde iki alt gruba ayrılırlar. Bu alt grublardan biri yapılarında her üç bölgeyi (BH1, BH2, BH3) de içeren üyelerden (Bax, Bak,vb) diğeri ise sadece BH3 bölgesini içeren üyelerden (Bid, Bad, Bim,vb) oluşur. Anti-apoptotik üyelerde bu üç bölgeye ilaveten BH4 bölgesi bulunur. Bu bölgenin, apoptozisin diğeri hücrel yolaklarla ilişkisinin olduğu düşünülmektedir. Normal şartlarda anti-apoptotik üyeler sitokrom-C'nin salınımını baskılama özelliğine sahip iken pro-apoptotik üyelerin anti-apoptotik üyelerle bağlanması halinde inhibitör etki ortadan kalkar ve sitokrom- C salınımı gerçekleşir. Bu yüzden, pro ve anti-apoptotik üyelerin dengesi yaşam ile ölüm arasındaki seçeneği belirler. Anti-apoptotik üyelerin aşırı ekspresyonlarının apoptozisi baskıladığı oysa pro-apoptotik üyelerin aşırı ekspresyonunun ise apoptozisi indüklediği gözlenmektedir.

Prognostik ve prediktif değeri olabileceği düşünülen markırların konu olduğu birçok çalışmada Bcl-2 ekspresyonu dikkat çekmektedir. Bcl-2 yakın zamanda tanımlanmış olan, hücre ölümünü regüle eden, mitokondrial bir onkogendir (94, 95). Bu protoonkogen insan foliküler lenfomasındaki 14;18 translokasyonundaki varlığı ile tanınmıştır (96). Diğeri birçok onkogenden farklı olarak Bcl-2 neoplastik hücre büyümesine hücre proliferasyon oranını hızlandırarak değil hücre ölümü inhibisyonu ile hücre sağkalımını artırarak katkıda bulunmaktadır. İlk büyük çalışmaların hematopoetik tümörlerde yapılmasının ardından Bcl-2 protein ekspresyonu meme, kolon, akciğer, prostat, tiroid, mide, mesane, over, serviks, melanom ve baş boyun kanseri gibi birçok neoplazmada da saptanmıştır (97-111).

Preklinik çalışmalar Bcl-2'nin antiapoptotik fonksiyonunun, apoptozise bağlı hücre ölümünü inhibe ederek, hastalık progresyonuna neden olabileceği ve dolayısıyla kötü prognozla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Ancak klinik çalışmalarda bazı tümör tiplerinde preklinik gözlemlere uygun olarak kötü (serviks, melanom, mesane, prostat), bazı tümör tiplerinde ise (meme, kolon, akciğer) bunun aksi yönde daha iyi prognozla ilişkilendirilirken, üçüncü bir grupta da (baş-boyun, endometrium, mide, tiroid, over) prognoza etkisi saptanamamıştır. Meme kanserinde Bcl-2 ekspresyonu steroid reseptör varlığı ve differansiye fenotiple (düşük

proliferasyon indeksi ve p53 boyanma yokluğu) ilişkili bulunmuştur (112). Buna zıt olarak metastatik prostat kanserinde Bcl-2 pozitifliği androjen reseptör negatifliği ve dolayısıyla kötü prognozla ilişkilidir (113). Ayrıca paradoksal olarak Bcl-2'nin tümör büyümesini inhibe edebileceği bilinmektedir (114). Bu gözlemlere dayanarak spontan veya tedavi ile indüklenen apoptozis, Bcl-2 ekspresyonu ve olası klinik sonuçlar arasında öncelikli bir korelasyon olmadığı sonucuna varılabilir. Bunun yerine Bcl-2'nin rolünün değişik kanser türlerinin başlaması ve progresyonuna spesifik olduğu düşünülebilir. Kolorektal kanserde Bcl-2 aşırı ekspresyonu karsinogenezin erken dönemine spesifiktir ve adenomlarda karsinomlarla karşılaştırıldığında daha çok ekspresyon görülmektedir (115). Aynı şey baş boyun kanserleri için de geçerli olabilir. Bunlarda Bcl-2 ekspresyonu karsinomlara göre lökoplaki ve displastik lezyonlarda fazladır (116, 117). Gallo (109) ve Costa (118) baş-boyun tümörlerinde Bcl-2 negatif tümörlerin daha iyi prognozlu olduğunu saptamışlardır. Ancak bu anlamlılık sadece indüksiyon kemoterapisine patolojik remisyon elde edilenlerde görülmüştür. Buna ek olarak larenks kanserinde Bcl-2 ekspresyonunun hiçbir etkisi olmadığını gösteren yayınlar da vardır (119, 120).

Biz de bu çalışmalara dayanarak merkezimizde tedavi edilmiş erken evre larenks karsinomlu olgularda, Bcl-2 ekspresyonunun lokal kontrol ve sağkalıma etkisini araştırmayı planladık.



## GEREÇ VE YÖNTEM

### Hasta Özellikleri

Bu çalışmaya Ocak 1996-Aralık 2008 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Muammer Ağım Radyoterapi Merkezi'ne başvuran ve erken evre (Tis,T1-2) skuamöz hücreli larenks kanseri tanısıyla RT uygulanan 115 olgudan parafin bloklarına ulaşılabilen 53 olgu bcl-2 ekspresyonunun lokal kontrol (LK) ve sağkalıma etkisini irdelemek amacıyla retrospektif olarak değerlendirildi. Çalışma için Uludağ Üniversitesi etik kurulundan 2009-9/91 sayı ve 26.05.2009 tarihli toplantıda onay alındı.

Olguların 52'si erkek(%98), 1'i (%2) kadın olup, ortanca yaş 59 (sınırlar 32-85) idi. Olguların sigara kullanım özellikleri incelendiğinde 47'sinin (%89) günde 20 adetten fazla ve 30'unun (%57) 30 yıldan daha uzun süre sigara kullandığı saptandı.

Genel sağkalım (GSK) ve LK üzerine etkili olabilecek faktörler kişisel (yaş, cins, sigara kullanım özellikleri, hb düzeyi), tümöral (evre, histolojik grad, bcl-2 pozitifliği, tümör yerleşimi, ön komissür tutulumu) ve tedaviye ait özellikler (fraksiyon dozu, toplam doz, wedge kullanımı) olarak incelendi.

### Evrelendirme ve Patoloji

Tedavi öncesi değerlendirmede anamnez ve fizik muayene, tam kan sayımı, P-A akciğer grafisi, direk-indirek laringoskopi ve biyopsi uygulandı. Evrelendirmede American Joint Committee on Cancer Staging and End Results reporting'in (AJCC), UICC'nin esaslarına bağlı kalarak 2002'de modifiye ettiği TNM evreleme sistemi kullanıldı(36). Buna göre 2 olgu T insitu (%4), 30 olgu T1a (%57), 15 olgu T1b (%28) ve 6 olgu T2 (%11) idi. 17 olguda (%32) ön komisür tutulumu mevcuttu.

Histopatolojik değerlendirmede WHO esasları göz önüne alındı (22). Olguların hepsinde histopatolojik tanı skuamöz hücreli karsinomdu. Patoloji

raporlarına göre 31 olgu (%58) grad 1, 19 olgu (%36) grad 2 ve 3 olgu (%6) grad 3'dür. 43 olguda (%81) bcl- 2 pozitifliği için boyanma yokken 10 olguda (%19) bcl-2 ekspresyonu pozitif idi. Olguların demografik, klinik ve histopatolojik özellikleri Tablo-4'de özetlenmiştir.

**Tablo-4:** Olguların demografik, klinik ve histopatolojik özellikleri.

Özellikler	Sayı (Oran)	Özellikler	Sayı (Oran)
<b>Cinsiyet</b> Erkek Kadın	52 (%98) 1 (%2)	<b>Wedge</b> Var Yok	29 (%55) 24 (%45)
<b>Yaş</b> 50 yaş altı 50 yaş üstü	10 (%19) 43 (%81)	<b>Fraksiyon dozu</b> 200cGy 210cGy	6 (%11) 47 (%89)
<b>Histolojik Tanı</b> Skvamöz hücreli karsinom	53 (%100)	<b>Mukozit</b> Grade 1 Grade 2 Yok	11 (%21) 1 (%2) 41 (%77)
<b>Tümör gradı</b> Grad 1 Grad 2 Grad 3	31 (%58) 19 (%36) 3 (%6)	<b>Eritem</b> Grade 1 Grade 2 Yok	37(%70) 5(%9) 11(%21)
<b>Ön Kommissur Tutulumu</b> Var Yok	17 (%32) 36 (%68)	<b>Disfaji</b> Grade 1 Grade 2 Yok	32 (%60) 4 (%8) 17 (%32)
<b>Klinik Evre</b> T insitu T1a T1b T2	2 (%4) 30 (%57) 15 (%28) 6 (%11)	<b>Fibrozis</b> Grade 1 Grade 2 Yok	11 (%21) 3 (%6) 39 (%73)
<b>Tümör yerleşim yeri</b> Sağ vokal kord Sol vokal kord Her iki vokal kord	22 (%41) 22 (%41) 9 (%18)	<b>Nüks</b> Var Yok	9 (%17) 44 (%83)
<b>Sigara kullanımı adet/gün</b> 20 adet den az 20 adet den fazla	6 (%11) 47 (%89)	<b>RT öncesi Hgb</b> 13gr/dl den az 13gr/dl den fazla	12 (%23) 41 (%77)
<b>Sigara kullanımı yıl</b> 30 yıldan az 30 yıldan fazla	23 (%43) 30 (%57)	<b>RT ortası Hgb</b> 13gr/dl den az 13gr/dl den fazla	13 (%25) 40 (%75)
<b>Bcl- 2 pozitifliği</b> Boyanma var Boyanma yok	10 (%19) 43 (%81)	<b>RT sonrası Hgb</b> 13gr/dl den az 13gr/dl den fazla	9 (%17) 44 (%83)

## **İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi**

1- İmmunohistokimyasal boyama yöntemi olarak Streptavidin-Biotin-Peroksidaz ve mikrodalga antigen retrieval kombinasyon metodu kullanıldı.

2- Her olgu için tümörü en iyi örnekleyen dokuya ait %10'luk formalinde fikse parafine gömülü blok seçildi.

3- Seçilen bloklardan hazırlanan 2 mikron kalınlıkta kesitler poly-L-Lysin ile kaplı lamlara alınarak immunohistokimyasal boyama için etüvde 55 derecede bir gece bekletildi.

4- Etüvden çıkarıldıktan sonra 25 dakika ksilende deparafinize edildi.

5- Ksilenden çıkan preparatlar absolu alkolde 10 dakika, %96'lık alkolde 5 dakika bekletildikten sonra 5 dakika akan suda yıkandı.

6- %10'luk EDTA solüsyonu içine yerleştirilerek mikrodalga fırında 60 dakika kaynamaya bırakıldı.

7- Kesitler mikrodalga fırında önce 800 devirde 5 dakika sonra 400 devirde 15 dakika tutuldu.

8- Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler 20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı.

9- Kesitler soğuduktan sonra 3 defa distile suda 5'er dakika yıkandı.

10- Şaledeki distile su dökülerek yerine % 3'lük hidrojen peroksit kondu ve kesitler burada 15 dakika bekletildi. Böylece endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi.

11- Tekrar bol suda yıkanan preparatlar pH'ı 7,4 olan PBS'de (phosphate-buffered-saline) 10 dakika bekletildi.

12- Kesitler mapeye dizildi ve kurutulmadan üzerlerine protein blokaj için Large volume ultra-V-block (Labvision corporation) damlatıldı ve 5-10 dakika bekletildi.

13- Lamlar silkelenerek tekrar mapeye dizildi ve üzerlerini tamamen kapatacak şekilde Bcl-2 için primer antikolar (Bcl-2 oncoprotein mause. Clone 124 Scytek) damlatıldı ve 10 dakika bekletildi.

14- Süreleri dolan lamlar önce distile suda sonra çeşme suyunda yıkandı.

15- 10 dakika PBS içinde bekletildi.

16- Şaleden alınan lamlar silkelenerek mapeye dizildi ve üzerlerini tamamen kapatacak şekilde sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent/LabVision) damlatılarak 15 dakika bekletildi.

17- Lamlar tekrar şaleyeye alınıp önce çeşme suyunda sonra distile suda yıkandı ve 10 dakika PBS'de bekletildi.

18- Mapeye alınan lamların üzerlerine streptavidin peroksidaz solüsyonu damlatıldı ve 15 dakika beklendi.

19- Yine çeşme suyunda yıkanan lamlar 10 dakika PBS'de bekletildi.

20- Zıt boyanım için DAB kromojen (LabVision) damlatıldı ve 10 dakika bekletildi.

21- Lamlar önce PBS' da ardından distile suda yıkandı.

22- Mayer Hematoksilen ile 30-60 saniye süre ile zemin boyaması yapıldı.

23- Lamlar çeşme suyunda yıkandı.

24- Amonyaklı suda 10 saniye bekletildikten sonra çeşme suyu ile yıkandı.

25- Sırasıyla %96'lık ve absolu alkolden geçirildi ve lamlar kurutuldu.

26- Kurumuş lamlar ksilene daldırılıp çıkarıldıktan sonra Kanada balzamu ile kapatıldı.

27- Kontrol boyaması normal tonsil dokusunda yapıldı.

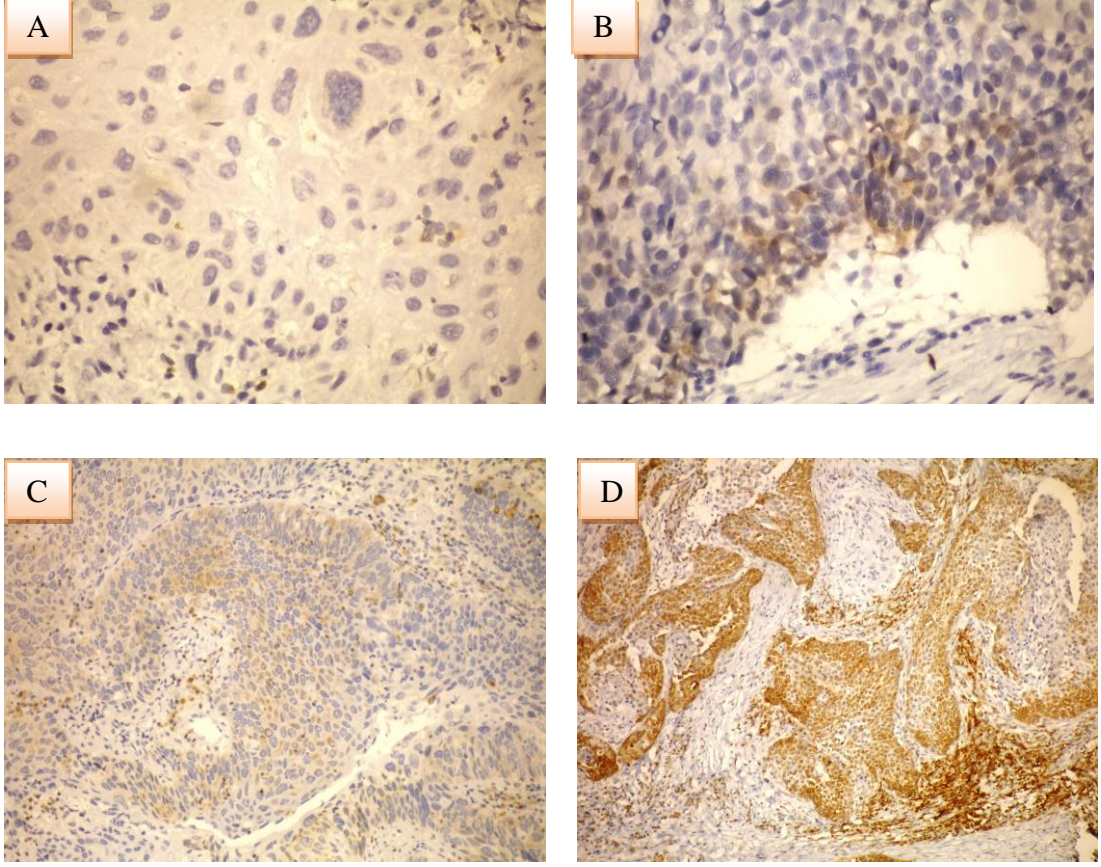
Preparatların Bcl-2 yoğunluğu skorlanmasında, Regitnig ve ark.'nın (121) çalışmalarında tanımladıkları ve immün boyanma yoğunluğunu göz önünde bulunduran, skala kullanıldı (Şekil 1, A-D);

Boyanma yok: 0

Boyanma hafif: +

Boyanma orta: ++

Boyanma yoğun: +++



**Şekil-1:** Larenks tümör dokusunda Bcl-2 durumu. **A)** Boyanma yok. **B)** Bcl 2 ekspresyonu(1+). **C)** Bcl 2 ekspresyonu(2+). **D)** Bcl 2 ekspresyonu(3+).

## Tedavi

RT simülasyonu öncesi hastalar skopi altında supin pozisyonunda, baş altı köpüğü ve termoplastik maske ile sabitlendi. Bilgisayarlı tomografide larenksi içerecek şekilde 3-5 mm'lik kesitlerle alınan görüntüler bilgisayarlı radyoterapi planlama sistemine (Multi-Data DSS bilgisayarlı planlama ünitesi) aktarıldı. Radyoterapi volümleri tanımlandıktan sonra yapılan sanal simülasyonu takiben elde edilen dijital radyoterapi alanları, konvansiyonel radyoterapi simülatöründe (Siemens Mevasim-S) kontrol edilerek, temoplastik maske üzerine işaretlendi. Radyoterapi karşılıklı lateral alanlardan lineer akseleratörle (Siemens Mevatron KD2 ve MD2) 6 MV foton ışınları kullanılarak uygulandı. 6 olguda fraksiyon dozu 2 Gy, kalan 47 olguda 2,1 Gy idi. Total doz ortanca 63 Gy (60-70Gy) idi.

## **İzlem ve Toksikite Değerlendirmesi**

Tedavi sonrası olgular ilk altı ay ayda bir, ikinci altı ay iki ayda bir, ikinci ve üçüncü yıllarda üç ayda bir dörd ve beşinci yıllarda altı ayda bir ve beş yıldan sonra yılda bir endoskopik muayeneyle izlendi. Radyoterapi sırasında olgulara haftalık tam kan sayımı yaptırıldı. İzlemlerde radyoterapiye bağlı erken ve geç yan etkiler (RTOG/EORTC kriterlerine göre) kaydedildi.

## **İstatiksel Değerlendirme**

İstatistiksel değerlendirmelerde Windows uygulamaları için geliştirilen SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL) 18 soft-ware paket programı kullanıldı. Tek değişkenli analizlerde Kaplan-Meier log-rank testi, çok değişkenli analizlerde Cox regression analizi ve 5-10 yıllık lokal kontrol ve sağkalım oranlarının hesaplamasında Yaşam Süresi Tabloları kullanıldı. GSK, histopatolojik tanının konduğu tarihten öldüğü veya son kontrol tarihine kadar olan süre hastalısız sağkalım (HSK), lokal veya bölgesel hastalığın tekrarladığı tarihe kadar olan süreler alındı. Hastalık bulgusu olmayan olgularda son izlem tarihi esas alındı. İstatistiksel anlamlılık sınırı olarak  $p < 0.05$  kabul edildi.

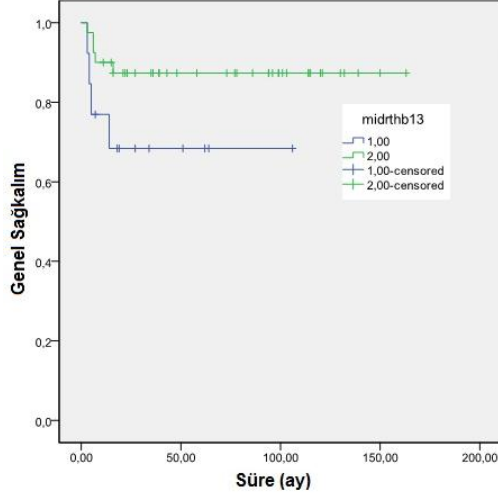
## BULGULAR

Ortanca izlem süresi 61 ay olup (sınırlar; 7-166 ay) izlem süresi içinde dokuz (%17) olguda lokorejyonel yineleme saptandı. Yinelemeler dört olguda beşinci ayda, iki olguda altıncı ayda, bir olguda yedinci ayda, bir olguda 10.ayda ve bir olguda da 16. ayda gelişti. Yineleme sonrası kurtarma tedavisi olarak üç olguya total larenjektomi (TL) + bilateral boyun diseksiyonu (BBD), bir olguya TL+ unilateral boyun diseksiyonu (UBD), iki olguya parsiyel larenjektomi (PL) + UBD, bir olguya PL ve bir olguya da TL+ BBD+ üç kür kemoterapi (KT) ile boyun ve supraya yönelik 55 Gy RT uygulanmıştı. Bir olguda metastaz (kranyum, akciğer ve sürrenal) ve lokorejyonel yineleme eş zamanlı saptanmış olup kranyum metastazına yönelik 30 Gy palyatif RT uygulanmıştı.

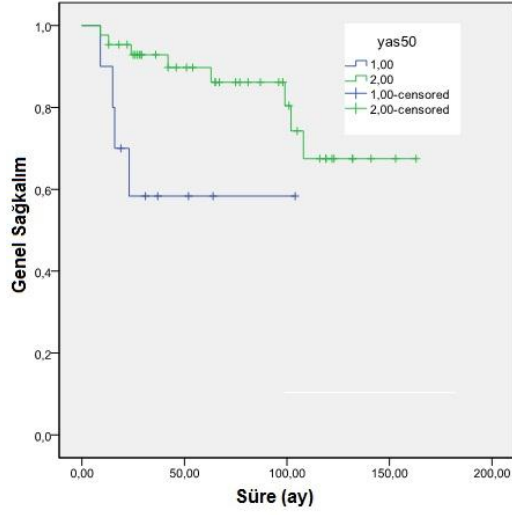
Değerlendirmenin yapıldığı Ağustos 2010'da olgulardan 37'sinin hayatta olduğu ve 12'sinin kaybedildiği saptanırken dört olguya mevcut bilgilerinden ulaşılamadı. Ortanca GSK 63 ay (sınırlar 9-163 ay), ortanca HSK 48 ay (sınırlar 3-163 ay) idi. 5 ve 10 yıllık GSK oranları sırasıyla %84 ve %62, HSK oranları ise % 82 ve % 82 olarak saptandı. Olguların beşinin hastalığa bağlı nedenlerle kaybedilirken, yedisinin hastalık dışı nedenlerle (iki olgu myokard infarktüsü, iki olgu akciğer Ca, bir olgu meme Ca, bir olgu serebro-vasküler hastalık ve bir olgu gastrointestinal kanama) kaybedildiği belirlendi. İzlemleri sırasında altı olguda ikinci primer tümör (iki olguda akciğer kanseri, bir olguda meme kanseri, bir olguda prostat kanseri, bir olguda oral kavite ca ve bir olguda da hem prostat ca hem de hipofarenks ca) geliştiği saptandı.

Tek değişkenli analizde RT sonrası yineleme saptanmasının (p=0.000), çok değişkenli analizde ise 50 yaşından genç olmanın (p=0.021) GSK'ı anlamlı olarak düşürdüğü ve radyoterapi sırasında hemoglobin değerinin 13gr/dl'den fazla olmasının da hem tek değişkenli (p=0.002), hem de çok değişkenli (p=0.009) analizlerde GSK'ı anlamlı olarak artırdığı saptandı. Bcl-2 pozitifliği ve diğer prognostik faktörlerin GSK üzerindeki

etkileri ( $p \geq 0.05$ ) istatistiksel anlamlı bir değere ulaşmadığı belirlendi (Tablo-5 ve 7) (Şekil-2 ve 3).



**Şekil-2:** Tedavi ortası hb değeri ile genel sağkalım ilişkisi.



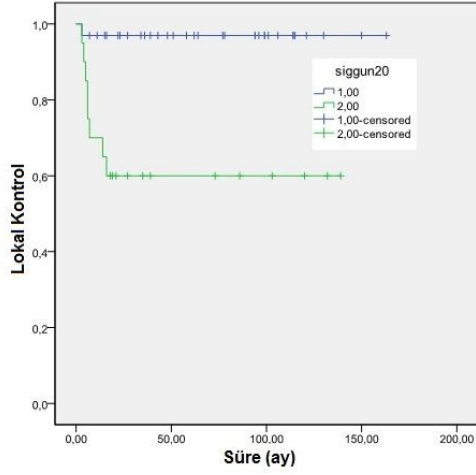
**Şekil-3:** Yaş ile genel sağkalım ilişkisi.



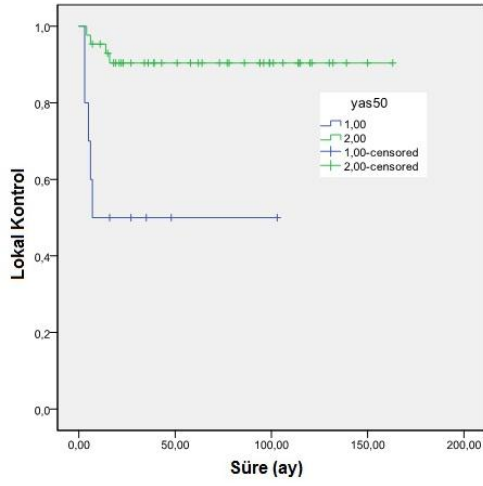
**Tablo-5:** Genel sağkalım üzerine etkili prognostik faktörler.

Özellikler	GSK %	P	Özellikler	GSK %	P
<b>Cinsiyet</b> Erkek Kadın	83 100	0.381	<b>Sigara kullanımı yıl</b> 30 yıldan az 30 yıldan fazla	87 81	0.752
<b>Yaş</b> 50 yaş altı 50 yaş üstü	58 89	0.220	<b>Bcl 2 pozitifliği</b> Boyanma var Boyanma yok	88 83	0.765
<b>Tümör gradı</b> Grad 1 Grad 2-3	90 75	0.126	<b>Nüks</b> Var Yok	44 88	0.000
<b>Ön Kommissur Tutulumu</b> Var Yok	88 82	0.619	<b>Wedge</b> Var Yok	89 75	0.117
<b>Klinik Evre</b> T insitu-T1a T1b-T2	89 75	0.168	<b>RT öncesi Hgb</b> 13gr/dl den az 13gr/dl den fazla	72 87	0.450
<b>Tümör yerleşim yeri</b> Sağ vokal kord Sol vokal kord Her iki kord	71 95 88	0.538	<b>RT ortası Hgb</b> 13gr/dl den az 13gr/dl den fazla	59 91	0.002
<b>Sigara kullanımı adet/gün</b> 20 adet den az 20 adet den fazla	90 73	0.529	<b>RT sonrası Hgb</b> 13gr/dl den az 13gr/dl den fazla	66 88	0.001

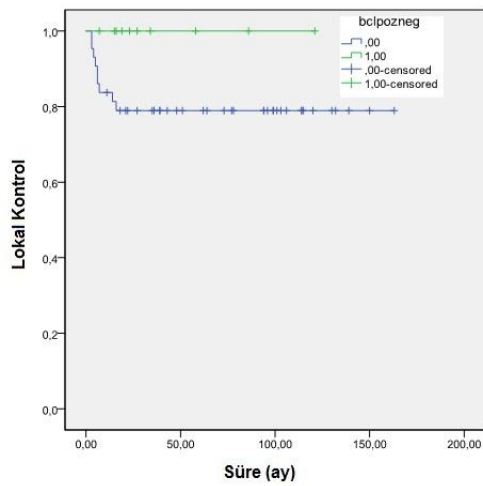
Lokal kontrol üzerine etkili olabilecek prognostik faktörler incelendiğinde, tek değişkenli analizde, günde 20 adetten fazla sigara kullanımı ( $p=0.001$ ) ile hem tek değişkenli ( $p=0.001$ ) hem de çok değişkenli ( $p=0.018$ ) analizlerde 50 yaşından genç olmanın LK oranlarını anlamlı olarak düşürdüğü saptandı. Diğer faktörlerin etkisinin ise (cinsiyet, histolojik grad, evre, tümör yerleşimi, ön kommissür tutulumu, bcl-2 pozitifliği, wedge kullanımı, hemogloblin düzeyi) istatistiksel olarak anlamlılık sınırına ( $p > 0.05$ ) ulaşamadığı görüldü (Tablo-6 ve 7) (Şekil-4, 5 ve 6).



**Şekil-4:** Günlük içilen sigara miktarı ile lokal kontrol ilişkisi.



**Şekil-5:** Yaş ile lokal kontrol ilişkisi.



**Şekil-6:** Bcl-2 ekspresyonu ile lokal kontrol ilişkisi.

**Tablo-6:** Lokal kontrol üzerine etkili prognostik faktörler.

Özellikler	LK(%)	p	Özellikler	LK(%)	P
<b>Cinsiyet</b> Erkek Kadın	82 100	0.662	<b>Sigara kullanımı yıl</b> 30 yıldan az 30 yıldan fazla	73 89	0.119
<b>Yaş</b> 50 yaş altı 50 yaş üstü	50 90	0.001	<b>Bcl 2 pozitifliği</b> 1+ boyanma 2+ boyanma 3+ boyanma Boyanma yok	100 100 100 79	0.133
<b>Tümör gradı</b> Grad 1 Grad 2-3	90 72	0.080	<b>Wedge</b> Var Yok	89 73	0.160
<b>Ön Kommissur Tutulumu</b> Var Yok	82 83	0.903	<b>RT öncesi Hgb</b> 13gr/dl den az 13gr/dl den fazla	83 82	0.980
<b>Klinik Evre</b> T insitu-T1a T1b-T2	87 75	0.245	<b>RT ortası Hgb</b> 13gr/dl den az 13gr/dl den fazla	67 87	0.098
<b>Tümör yerleşim yeri</b> Sağ vokal kord Sol vokal kord Her iki kord	72 91 88	0.245	<b>RT sonrası Hgb</b> 13gr/dl den az 13gr/dl den fazla	88 81	0.665
<b>Sigara kullanımı adet/gün</b> 20 adet den az 20 adet den fazla	97 59	0.001			

LK: Lokal kontrol

**Tablo-7:** Çok değişkenli analiz sonuçları.

Özellik	GSK p değeri	LK p değeri
<b>Yaş</b>	<b>0.021</b>	<b>0.018</b>
<b>Tedavi ortası Hb değeri</b>	<b>0.009</b>	<b>0.157</b>
<b>Günlük içilen sigara adedi</b>	<b>0.064</b>	<b>0.098</b>
<b>Grad</b>	<b>0.216</b>	<b>0.061</b>
<b>Bcl-2 durumu</b>	<b>0.628</b>	<b>0.977</b>
<b>Evre</b>	<b>0.442</b>	<b>0.144</b>
<b>Wedge</b>	<b>0.083</b>	<b>0.503</b>

Olgularda yaşın, cinsiyetin, tümör evresinin, histolojik gradın, günlük sigara içiminin lokal yinelemenin ve genel sağkalımın Bcl-2 ekspresyonu ile ilişkisi Spearman korelasyon testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Yapılan immunohistokimyasal boyama sonucunda 53 olgunun 10'unda (%19) Bcl-2 immunboyanması mevcuttu. Ancak Bcl-2 ekspresyonun yaş (p=0.481), cinsiyet (p=0,635), tümör evresi (p=0.871), histolojik grad (p=0.685), günlük sigara içimi (p=0.189), lokal yineleme (p=0.119) ve GSK (p=0,963) ile ilişkisi saptanamadı (Tablo-8).

**Tablo-8:** Bcl-2 durumu ile prognostik faktörler arası ilişki.

Özellikler	N(sayı)		P değeri
	Bcl-2 (-)	Bcl-2 (+)	
<b>Cinsiyet</b>			
Erkek	42	10	0.636
Kadın	1	-	
<b>Yaş</b>			
50 yaş altı	8	8	0.481
50 yaş üstü	35	2	
<b>Tümör gradı</b>			
Grad 1	20	6	0.685
Grad 2-3	23	4	
<b>Klinik Evre</b>			
T insitu-T1a	23	6	0.871
T1b-T2	20	4	
<b>Sigara kullanımı adet/gün</b>			
20 adet den az	4	2	0.189
20 adet den fazla	39	8	
<b>Lokal yineleme</b>			
Var	9	-	0.119
Yok	34	10	
<b>GSK</b>			
Sağ	33	8	0.963
Kaybedilen	10	2	

GSK:Genel sağkalım.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Larenks kanseri, baş-boyun kanserleri arasında cilt kanserinden sonra en sık görülen kanser türüdür (122). T1-T2 glottik tümörlerde cerrahi ile eşit oranda kür sağlanabilmesi ve ses kalitesinin daha iyi korunabilmesi nedeniyle tek başına radyoterapi tercih edilen bir yöntem olup parsiyel larenjektominin çoğunlukla radyoterapi sonrası yinelemelerde kullanılması önerilmektedir (3, 4).

Erken evre glottik larenks kanserlerinde küratif RT ile beş yıllık lokal kontrol oranları T1 olgular için %80-95, T2 olgular içinse %50-85 arasında bildirilmektedir (47, 53, 123, 124). Aynı evredeki tümörlerde elde edilen bu sonuçlar farklı prognostik özelliklere sahip alt grupların belirlenmesinin önemini göstermektedir. Bu amaçla larenks kanserlerinde hastaya, tümöre ve uygulanan tedaviye ait prognostik faktörler tanımlanmakla birlikte bunların tedaviyi yönlendirmede yeterli olduğunu söylemek olanaksızdır. Prognozu öngörmede kullanılacak yeni prediktif etmenlerin bilinmesi uygun tedavi seçiminde yardımcı olabilecektir. Böylece RT'ye dirençli olabilecek olgular başlangıçta cerrahi tedaviye yönlendirilerek, tedavinin optimizasyonu ve gereksiz RT uygulamaları önlenilecektir.

Larenks kanserlerinde yaşa göre görülme sıklığı, 5–7. dekadlar arasında yoğunlaşmaktadır (1, 13). Daha genç yaşlarda görülme sıklığı ise % 1 olarak bildirilmiştir (13, 14). Pera ve ark. (125) 60 yaş üzeri hastalarda prognozun istatistiksel anlamlı olarak daha kötü gidişli olduğunu bildirmişlerdir. Dinshaw ve ark. (40) ise olguları 57 yaş'ı sınır alarak 2 grupta incelemiş ancak prognoz açısından istatistiksel anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bizim çalışmamızda da 5 yıllık GSK oranı 50 yaş altı olgularda % 58 iken, 50 yaş üstü olgularda ise %89 olarak saptandı ve istatistiksel olarak anlamlılık sınırına ulaşamadı ( $p= 0.220$ ). Buna karşın 5 yıllık LK oranı ise sırasıyla %50, %90 olarak hesaplandı ve istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p= 0.001$ ).

Larenks kanserleri, cinsiyet açısından incelendiğinde kadın ve erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla birlikte kadınlarda daha

uzun hastaliksız sağkalım süreleri bildirilmiştir (126). Benzer şekilde Johansen ve ark. (45) T1 larenks kanserli 478 olguluk çalışmalarında kadın hastalarda prognozun daha iyi olduğunu göstermişlerdir. Ancak bu çalışmaların yanı sıra cinsiyetin prognoz üzerine etkisinin olmadığını belirten çalışmalar da vardır (34). Çalışmamızda cinsiyetin 5 yıllık GSK ( $p=0.381$ ) ve LK ( $p= 0.662$ ) üzerine anlamlı etkisi saptanmadı.

Prognoz üzerine etkili olduğu düşünülen diğer faktör ise hb düzeyidir. Warde ve ark. (47) yaptıkları bir çalışmada küratif RT uygulanan erken evre glottik kanserli 735 olguda lokal kontrol için tedavi öncesi hb değerinin bağımsız bir prognostik faktör olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada Fein ve ark. (127), tedavi öncesi hb düzeyinin 13 g/dl'nin üzerinde olmasının lokal kontrolü anlamlı derecede artırdığını bildirmişlerdir (%66 ve %95). Canaday ve ark.'nın (49) yaptığı T1 glottik kanserli 139 olguluk çalışmada ise tedavi öncesi Hb düzeyi 13 g/dl üstünde olan olgularda lokal kontrol oranı daha yüksek olmakla beraber istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Çalışmamızda RT ortası hb düzeyleri incelendiğinde, 13 olguda (%25) hb düzeyi 13gr/dl den az, 40 olguda (%75) ise 13gr/dl den fazla olarak saptandı. 5 yıllık GSK oranları sırasıyla %59, %91 olup istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0.002$ ). 5 yıllık LK oranları incelendiğinde ise anlamlılık saptanmadı ( $p=0.098$ ).

Larenks kanseri için en önemli risk faktörü sigara olup olguların yaklaşık %95'inde sigara içme öyküsü bulunmaktadır (1,2). Terhaard (5) 194 T1 glottik kanserli olgunun çok değişkenli analizinde tedaviden sonra sigara içmeye devam edilmesini kötü prognostik faktör olarak göstermiştir. Marshak ve ark. da (20) yaptıkları çalışmada yılda 30 paketten daha fazla sigara içenlerde lokal kontrolün anlamlı olarak azaldığını saptamışlardır. Çalışmamızda sigara içme süresinin ve günlük içilen sigara sayısının 5 yıllık GSK üzerine etkisi saptanmadı ( $p=0.752$ ,  $p=0.529$ ). Buna karşın 5 yıllık LK oranı 20 adet den az kullananlarda % 97, 20 adet ten fazla kullananlarda ise %59 şeklinde olup istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0.001$ ).

Evre, tümör çapı, histolojik grad, ön kommissür tulumu, subglottik yayılım ve immünohistokimyasal özellikler gibi tümöre ait faktörlerin erken evre larenks kanserlerinde lokal kontrole etkisi pek çok çalışmanın konusu

olmuştur. Bu çalışmalarda evre, lokal tümör kontrolünü belirleyen en önemli prognostik faktör olarak, ön plana çıkmaktadır (1, 20, 50-54). Chera ve ark. (54), ortanca 12 yıl takip edilen 585 olgunun yer aldığı çalışmada 5 yıllık lokal kontrol oranlarını %94, %93, %80, %70 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda istatistiksel incelemeler sonucunda evrenin 5 yıllık GSK ( $p=0.168$ ) ve LK ( $p=0.245$ ) üzerine anlamlı etkisi saptanmadı.

Birçok çalışmada tümörün histolojik differansiyasyonunun (grad) lokal kontrol ve sağkalımı etkileyebilecek faktör olabileceği bildirilmiştir (45, 58, 59). Johansen ve ark. (45) da 358 T1 glottik kanserli olgunun yineleme ve sağkalımlarını histolojik differansiyasyonlarına göre karşılaştırmış, az differansiye olanlarda gerek yineleme ve gerekse de sağkalım oranlarının daha kötü olduğunu göstermiştir. Buna karşılık Howell-Burke (60), Rudoltz (59) ve Klintenberg'in (61) çalışmalarında histolojik gradın LK ve sağkalım üzerine etkisi gösterilememiştir. Çalışmamızda da gradın 5 yıllık GSK ( $p=0.126$ ) üzerine anlamlı etkisi saptanmaz iken, LK ( $p=0.080$ ) üzerindeki etkisi anlamlılık sınırına yakın olarak belirlendi.

Tümöre ait prognostik faktörlerden birisi de ön kommissür tutulumudur. Ön kommissür tutulumu ile ilgili bulgular tartışmalıdır. Chen ve ark.'nın (62) yaptıkları çalışmada, T1 glottik larenks kanserli olgularda ön kommissür yayılımı lokal kontrol için önemli prognostik faktör olarak bildirilmektedir. Benzer şekilde Cellai ve ark. (64) 831 olguluk çalışmalarında ön kommissür tutulumunun LK oranını azalttığını saptamışlardır. Bazı araştırmacılar ise ön kommissür tutulumu ile birlikte lokal kontrolde başarısızlığın arttığını gösterememişlerdir (51, 60). Aynı şekilde bizim çalışmamızda da ön kommissür tutulumunun 5 yıllık GSK ( $p=0.619$ ) ve LK ( $p=0.903$ ) üzerine etkisi olmadığı belirlendi.

Tedaviye ait önemli prognostik faktörlerden biri fraksiyon dozudur. Yu ve ark. (42) 126 olguluk retrospektif çalışmalarında günlük fraksiyon dozunun 2 Gy'den büyük olmasının yan etkilerde bir artış göstermeksizin, 5 yıllık lokal kontrol oranını %84 olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda fraksiyon dozu 6 olguda 2 Gy, 47 olguda ise 2.1 Gy olup total doz tüm olgular için ortanca 63 Gy'dir. Bu nedenle istatistiksel analize dahil edilmedi.

Tedaviye ait prognostik faktörlerden bir diğeri wedge kullanımıdır. Chatani ve ark. (128) yaptıkları çalışmada, wedge kullanımına göre olguları 2 gruba ayırmışlar ve wedge kullanılan grubun 5 yıllık HSK oranını %90 bulmuşken diğeri grubun HSK oranını %85 olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise wedge kullanımının 5 yıllık GSK ve LK üzerine etkisi saptanmadı.

Aynı evre ve histopatolojik özelliklere sahip tümörlerde farklı sonuçların alınması yeni prognostik faktörlere gereksinim olduğunu göstermektedir. Bu amaçla günümüzde hücre büyümesi, proliferasyonu ve apoptozisini regüle eden genlerin kanser biyolojisinde önemli bir role sahip oldukları bilinmekte ve bu genlerdeki mutasyonların tedaviye yanıtı nasıl etkilediği araştırılmaktadır (10, 129-131). Bcl-2, EGFR, p53 gibi genetik ve immünohistokimyasal belirleyiciler üzerinde yoğun çalışmalar yapılmakta olup özellikle potansiyel olarak prognostik ve prediktif değeri olan Bcl-2 ekspresyonu ilgi çekmektedir (7-10, 69, 108-111, 132).

Hücre siklusu ve ölümünü düzenleyen proteinlerin regülasyonları kanserde sıklıkla bozuktur. Bu düzenleyicilerden özellikle de Bcl-2'nin farklı insan kanserlerinde prognostik belirleyici olabileceği düşünülmektedir. Diğeri birçok onkogenden farklı olarak Bcl-2 neoplastik hücre büyümesine hücre proliferasyon oranını hızlandırarak değil hücre ölümü inhibisyonu ile hücre sağkalımını arttırarak katkıda bulunmaktadır (109). Fakat bu onkogenin baş-boyun skuamöz hücreli kanserlerindeki prognostik rolü ise henüz tam açıklık kazanamamıştır (129, 131).

Tüm bu bilgiler ışığında biz de çalışmamızda erken evre glottik skuamöz hücreli kanserlerinde Bcl-2 onkogeninin ekspresyonunu değerlendirip prognostik önemini araştırdık.

Hasta grubumuzda yaptığımız immünohistokimyasal boyama sonucunda 53 olgunun 10'unda (%19) Bcl-2 immunboyanması mevcuttu. Bcl-2 ekspresyonunun cinsiyet, hasta yaşı, tümör evresi, histolojik grad, sigara içimi, tümör rekürrensi ve sağkalım ile karşılaştırmalı olarak analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Bu nedenle larenks kanserlerinde Bcl-2'nin prognostik önemi açısından bir kanıya varamadık. Bizim çalışmamıza benzer olarak Lazaris ve ark.'nın (129) yaptığı 64 vakalık



bir çalışmada incelenen örneklerde Bcl-2 ekspresyonu %9 olup bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine Spafford ve ark. (119) yaptıkları 70 olguluk çalışmada Bcl-2'nin prognostik faktör olarak kullanılamayacağını belirtmişlerdir. Buna karşılık Friedman ve ark.'ı (111) ise erken evre larenks kanserlerinde Bcl-2'nin önemli bir prognostik faktör olduğunu ifade etmişlerdir. Gallo ve ark. (109) 71 baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlu olguyu kapsayan kohort çalışmasında Bcl-2 aşırı ekspresyonu ile radyodirenç arasında anlamlı bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Yine Condon ve ark. (8) benzer şekilde erken evre larengeal tümörlerde Bcl-2 aşırı ekspresyonu ve radyodirenç arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptamışlardır. Yine Nix ve ark. (7) da larengeal tümörlerde Bcl-2 ekspresyonunun radyodirenç ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmaların aksine Wilson ve ark. (9) baş-boyun kanserlerinde Bcl-2 ekspresyonunun hem artmış lokal kontrol, hem de artmış sağkalım ile ilişkili olduğunu ve Bcl-2 ekspresyonunun iyi bir prognostik faktör olabileceğini göstermişlerdir. Aynı şekilde Pena ve ark. (110) da 42 baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlu olguyu kapsayan çalışmalarında Bcl-2 aşırı ekspresyonunun olumlu prognostik faktör olduğunu bildirmişlerdir.

Halen Bcl-2 ekspresyonunun baş boyun kanserlerindeki rolü belirsizdir. Birçok çalışmada (9, 107, 108, 110) Bcl-2 ekspresyonunun iyi bir prognostik faktör olduğu bulunurken diğer çalışmalar (109, 111, 118) aksini bildirmektedirler. Bu çelişkili durum bizim çalışmamızda da olduğu gibi hasta sayısının az olmasından kaynaklanabileceği gibi Bcl-2 pozitifliğinin %25'ten düşük olmasından da kaynaklanabilir.

Sonuç olarak,

1- RT sonrası nüks gelişmesi GSK oranlarını anlamlı olarak düşürmektedir.

2- Günde 20 adetten fazla sigara kullanmak ve 50 yaşından daha genç olmak lokal kontrol üzerine etkili olan olumsuz prognostik faktörlerdir.

3- Tedavi süresince Hb değeri 13gr/dl'nin üzerinde tutulmalıdır.

4- Literatürdeki birçok seride olduğu gibi çalışmamızda da Bcl-2 ekspresyonunun lokal kontrol ve genel sağkalıma etkisini gösteremedik.

5- Prognozu öngörmede kullanılabilir prediktif etmenlerin bilinmesi uygun tedavi seçiminde yardımcı olabilir. RT'ye dirençli olabilecek olgular başlangıçta cerrahi tedaviye yönlendirilerek, gereksiz radyoterapi uygulamaları önlenir.

6- Erken evre larenks kanserlerinde tedavi stratejisini optimize etmek, prognozu tahmin etmek ve yinelenme ihtimali daha fazla olan hastaları tespit edebilmek için yeni markırlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bcl-2'nin biyolojik yanıtındaki rolünü ve bunun diğer prognostik faktörlerle ilişkisini değerlendirecek daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Rosai J. Respiratory tract. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Volume 1. 9th edition. China, Elsevier; 2004. 335-59.
2. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL(eds). basic pathology. 7th edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 2003.
3. Sessions RB, Harrison LB, Forastiere AA. Tumors of the larynx and hypopharynx. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg S A (eds). Cancer: Principles and practice of oncology. 6th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. 861-85.
4. Mendenhall WM, Hinerman RW, Amdur RJ, Mancuso AA, Villaret DB, Werning JW. Larynx. In: Halperin EC, Perez CA, Brady LW (eds). Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. 975-95.
5. Terhaard CH, Snippe K, Ravasz LA, van der Tweel I, Hordijk GJ. Radiotherapy in T1 laryngeal cancer: prognostic factors for locoregional control and survival, uni- and multivariate analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 21:1179–86.
6. Harwood AR, Beale FA, Cummings BJ, Keane T, Rider WT. T2 glottic cancer: an analysis of dose-time volume factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1981; 7:1501–5.
7. Nix P, Cawkwell L, Patmore H, Greenman J, Stafford N. Bcl-2 expression predicts radiotherapy failure in laryngeal cancer. *Br J Cancer* 2005; 92: 2185–9.
8. Condon LT, Ashman JN, Eil SR, Stafford ND, Greenman J, Cawkwell L: Overexpression of Bcl-2 in squamous cell carcinoma of the larynx: a marker of radioresistance. *Int J Cancer* 2002; 100:472-5.
9. Wilson GD, Saunders MI, Dische S, Richman PI, Daley FM, Bentzen SM. Bcl-2 protein expression in head, and neck cancer: An enigmatic prognostic marker. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 49: 435–41.
10. Jäckel MC, Sellmann L, Dorudian MA, Youssef S, Füzesi L. Prognostic Significance of bcl-2 Coexpression in patients With Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Laryngoscope* 2000; 110:1339–45.
11. Trask DK, Wolf GT, Bradford CR et al. Expression of Bcl-2 family proteins in advanced laryngeal squamous cell carcinoma: correlation with response to chemotherapy and organ preservation. *Laryngoscope* 2002; 112:638–44.
12. Gallus S, Bosetti C, Franceschi S et al. Laryngeal cancer in women: tobacco, alcohol, nutritional and hormonal factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12:514-7.
13. Kirchner JA, Carter D. Pathology of the larynx. In: Mills SE (ed). Sternberg's diagnostic surgical pathology. Volume 2. 4th edition. Noida Gopson Papers Ltd; 2004. 1007-32.
14. Lipkin A, Miller RH, Woodson GE. Squamous cell carcinoma of the oral cavity, pharynx, and larynx in young adults. *Laryngoscope* 1985; 95:790-3.

15. National Cancer Institute. Throat (Laryngeal and Pharyngeal) Cancer. <http://www.cancer.gov/cancer-topics/cancer-library/health-professional-training-tools>.
16. Topuz E, Aydiner A, Karadeniz AN. Klinik Onkoloji.İstanbul.Tunç Matbaası; 2000:161-200.
17. [http://www.ism.gov.tr/kidem/Tdoc3.htm#d\(KIDEM\)](http://www.ism.gov.tr/kidem/Tdoc3.htm#d(KIDEM))
18. Elci OA, Elci MA, Blair A, Dosemeci M. Risk of laryngeal cancer by occupational chemical exposure in Turkey. J Occup Environ Med 2003; 45: 1100-6.
19. Karakök M, Aydın A, Erkılıç S, Kuyucu N. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, Gaziantep Devlet ve SSK Hastaneleri laboratuvarlarında tanı konulan kanserlerin epidemiyolojik değerlendirilmesi. Patoloji Bülteni 2001; 18: 10-5.
20. Gideon M, Baruch B, Jacob S, Jeremy S, Dov O. Prognostic factors for local control of early glottic cancer. The Rabin Medical Center retrospective study on 207 patients. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1999; 43: 1009-13.
21. Garden AS, Morrison WH. Larynx and hypopharynx cancer. In: Gunderson LL, Tepper JE. (eds). Clinical Radiation Oncology. 2nd edition. Philadelphia. Churchill Livingstone. 2007. 727-53.
22. Barbes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. World Health Organization Classification of Tumors. Pathology & Genetics. Head and neck tumors. Hypopharynx, larynx and trachea. Lyon: IARC Press; 2005. 107-62.
23. Dosemeci M, Gokmen I, Unsal M, et al. Tobacco, alcohol use, and risks of laryngeal and lung cancer by subsite and histologic type in Turkey. Cancer Causes Control 1997; 8:729-37.
24. Koufman JA, Burke AJ. The etiology and pathogenesis of laryngeal carcinoma. Otolaryngol Clin North Am 1997; 30: 1-19.
25. Talamini R, Bosetti C, La Vecchia C et al. Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: a case-control study. Cancer Causes Control 2002;13:957-64.
26. To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Pique E, Borrego N, Caballero M, Cruellas F, Raya A, Dicenta M, Corbella J. Microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase polymorphisms in relation to laryngeal carcinoma risk. Cancer Lett 2002;187:95-101.
27. Menvielle G, Luce D, Goldberg P, Bugel I, Leclerc A. Smoking, alcohol drinking and cancer risk for various sites of the larynx and hypopharynx. A case-control study in France. Eur J Cancer Prev 2004 ;13:165-72.
28. Riboli E, Kaaks R, Esteve J. Nutrition and laryngeal cancer. Cancer causes control 1996;7:147-56.
29. Wunsch Filho V. The epidemiology of laryngeal cancer in Brazil. Sao Paulo Med J 2004;122:188-94.
30. Tran N, Rose BR, O'Brien CJ. Role of human papillomavirus in the etiology of head and neck cancer. Head Neck 2007;29:64-70.
31. Gungor A, Cincik H, Baloglu H, Cekin E, Dogru S, Dursun E. Human papilloma virus prevalence in laryngeal squamous cell carcinoma. J Laryngol Otol 2007;121:772-4.

32. Almadori G, Cadoni G, Cattani P, et al. Human papillomavirus infection and epidermal growth factor receptor expression in primary laryngeal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 3988-93.
33. El-Serag HB, Hepworth EJ, Lee P, Sonnenberg A. Gastroesophageal reflux disease is a risk factor for laryngeal and pharyngeal cancer. *Am J Gastroenterol* 2001;96:2013-8.
34. Sas-Korczynska B, Korzeniowski S, Skolyszewski J. Cancer of the larynx in females. *Cancer Radiother* 2003;7:380-5.
35. American Joint Committee on Cancer. *Manual for Staging of Cancer*. 6th edition. New York: Springer-Verlag; 2002.
36. Marks JE. The endolarynx and hypopharynx. In: Moss WT., Cox JD (eds). *Radiation Oncology Rationale, Technique, Results*. 7th edition. St. Louis: Mosby; 1994. 214-5.
37. Waghmare CM, Agarwal J, Bachher GK. Quality of voice after radiotherapy in early vocal cord cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2010;10:1381-8.
38. Núñez Batalla F, Caminero Cueva MJ, et al. Voice quality after endoscopic laser surgery and radiotherapy for early glottic cancer: objective measurements emphasizing the Voice Handicap Index. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008;265:543-8.
39. Meeuwis CA, van der Kwast TH, Kerrebijn JD. Partial laryngectomy for recurrent glottic carcinoma after radiotherapy. *Head Neck* 2005;27:101-7.
40. Dinshaw KA, Sharma V, Agarwal JP, Ghosh S, Havaldar R. Radiation therapy in T1-T2 glottic carcinoma: influence of various treatment parameters on local control/complications. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;48:723-35.
41. Fein DA, Lee WR, Hanlon AL, et al. Do overall treatment time, field size, and treatment energy influence local control of T1-T2 squamous cell carcinomas of the glottic larynx? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;34:823-31.
42. Yu E, Shenouda G, Beaudet MP, et al. Impact of radiation therapy fraction size on local control of early glottic carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 37:587-91.
43. Teppo H, Koivunen P, Hyrynkangas K, Alho OP. Diagnostic delays in laryngeal carcinoma: Professional diagnostic delay is a strong independent predictor of survival. *Head Neck* 2003; 25: 389-94.
44. Carvalho AL, Pintos J, Schlecht NF, et al. Predictive factors for diagnosis of advanced-stage squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128:313-8.
45. Johansen LV, Overgaard J, Hjelm-Hansen M, Gadeberg CC. Primary radiotherapy of T1 squamous cell carcinoma of the larynx: analysis of 478 patients treated from 1963 to 1985. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990; 18:1307–13.
46. Do KA, Johnson MM, Lee JJ, et al. Longitudinal study of smoking patterns in relation to the development of smoking-related secondary primary tumors in patients with upper aerodigestive tract malignancies. *Cancer* 2004;101: 2837-42.

47. Warde P, O'Sullivan B, Bristow RG, et al. T1/T2 glottic cancer managed by external beam radiotherapy: The influence of pretreatment hemoglobin on local control. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998; 41:347-53.
48. Cho EI, Sasaki CT, Haffty BG. Prognostic significance of pretreatment hemoglobin for local control and overall survival in T1-T2 N0 larynx cancer treated with external beam radiotherapy: *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;58:1135-40.
49. Canaday DJ, Regine WF, Mohiuddin M, et al. Significance of pretreatment hemoglobin level in patients with T1 glottic cancer. *Radiat Oncol Investig* 1999; 7:42-8.
50. Le QT, Takamiya R, Shu HK, et al. Treatment results of carcinoma in situ of the glottis: an analysis of 82 cases. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;126:1305-12.
51. Franchin G, Minatel E, Gobitti C, et al. Radiation treatment of glottic squamous cell carcinoma, stage I and II: analysis of factors affecting prognosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998; 40:541-8.
52. Frata P, Cellai E, Magrini SM, et al. Radical radiotherapy for early glottic cancer: Results in a series of 1087 patients from two Italian radiation oncology centers. II. The case of T2N0 disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 63:1387-94.
53. Mendenhall WM, Amdur RJ, Morris CG, Hinerman RW: T1-T2 N0 squamous cell carcinoma of the glottic larynx treated with radiation therapy. *J Clin Oncol* 2001; 19:4029-36.
54. Chera BS, Amdur RJ, Morris CG, et al. T1N0 to T2N0 Squamous Cell Carcinoma of the Glottic Larynx Treated with Definitive Radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 78: 461–6.
55. Burke LS, Greven KM, Mc Guirt WT et al. Definitive radiotherapy for early glottic carcinoma: Prognostic factors and implications for treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997;38:1001-6.
56. Nayar R, Schindler S. Head and neck. In: Haber MH, Gattuso P, Spitz DJ, David O, editors. *Differential diagnosis in surgical pathology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2002. 363-453.
57. Reddy SP, Hong RL, Nagda S, Emami B. Effect of tumor bulk on local control and survival of patients with T1 glottic cancer: a 30-year experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;69:1389-94.
58. Olszevski SJ, Vaeth JM, Green JP, et al. The influence of field size, treatment modality, commissure involvement and histology in the treatment of early vocal cord cancer with irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1985;1:1333-7.
59. Rudoltz MS, Benammar A, Mohiuddin M. Prognostic factors for local control and survival in T1 squamous cell carcinoma of the glottis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; 26:767-72.
60. Burke DH, Peters LJ, Geopfert H, Oswald MJ. Recurrence, salvage and survival after definitive radiotherapy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1990; 116:830-5.
61. Klintenberg C, Lundgren J, Adell G, et al. Primary radiotherapy of T1 and T2 glottic carcinoma – analysis of treatment results and prognostic factors in 223 patients. *Acta Oncol* 1996; 35: 81–6.

62. Chen MF, Chang JT; Tsang NM, Liao CT, Chen WC. Radiotherapy of early stage glottic cancer: analysis of factors affecting prognosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112:904-11.
63. Zouhair A, Azria D, Coucke P, ,et al. Decreased local control following radiation therapy alone in early stage glottic carcinoma with anterior commissure extension. *Strahlenther Oncol* 2004;180:84-90.
64. Cellai E, Frata P, Magrini SM, et al. Radical radiotherapy for early glottic cancer: Results in a series of 1087 patients from two Italian radiation oncology centers. I. The case of T1N0 disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 63:1378-86.
65. Murakami R, Nishimura R, Baba Y, et al. Prognostic factors of glottic carcinomas treated with radiation therapy: value of the adjacent sign on radiological examinations in the sixth edition of the UICC TNM staging system. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 61:471-5.
66. Narayana A, Vaughan AT, Kathuria S, Fisher SG, Walter SA, Reddy SP. P53 overexpression is associated with bulky tumor and poor local control in T1 glottic cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;46:21-6.
67. Motamed M, Banerjee AR, Bradley PJ, Powe D. MIB-1 and p53 expression in radiotherapy-resistant T1aN0M0 glottic squamous cell carcinoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 2001;26:227-30.
68. Rucci L, Bocciolini C, Franchi A, Ferlito A, Casucci A. Epidermal growth factor receptor and p53 expression in T1-T2 glottic cancer involving the anterior or posterior commissure. *Acta Otolaryngol* 2004;124:102-6.
69. Demiral AN, Sarioglu S, Birlik B, Sen M, Kinay M. Prognostic significance of EGF receptor expression in early glottic cancer. *Auris Nasus Larynx* 2004;31:417-24.
70. Schwaibold F, Scariato DOA, Nunno M, Wallner PE, Lustig RA. The effect of fraction size on control of early glottic cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;14:451-4.
71. Kim RY, Marks ME, Salter MM. Early-stage glottic cancer: Importance of dose fractionation in radiation therapy. *Radiology* 1992;182:273-5.
72. Foote RL, Grada GL, Buskirk SJ, et al. Radiation therapy for glottic cancers using 6 MV photons. *Cancer* 1996; 77:381-6.
73. Chatani M, Matayoski Y, Masaki N, Teshima T, Inoue T. Radiation therapy for early glottic carcinoma (T1N0M0). The final results of prospective randomized study concerning radiation field. *Strahlenther Onkol* 1996;172: 169-72.
74. Raitiola H, Wigren T, Pukander J. Radiotherapy outcome and prognostic factors in early glottic carcinoma. *Auris Nasus Larynx* 2000;27: 153-9.
75. Keer JFR, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-57.
76. Wyllie AH, Morris RG, Smith AI, Dunlop D. Chromatine cleavage in apoptosis: Association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J Pathol* 1984; 142: 67-77.
77. Majno G, Joris. Apoptosis, oncosis, necrosis: An overview of cell death. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-15.

78. Akhtar RS, Ness JM, Roth KA Bcl-2 family regulation of neuronal development and neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta* 2004;1644:189-203.
79. Borner C. The Bcl-2 protein family: sensors and checkpoints for life-or-death decisions. *Mol Immunol* 2003;39:615-47.
80. Chao C, Saito S, Kang J, Anderson CW, Appella E, Xu Y. P53 transcriptional activity is essential for p53-dependent apoptosis following DNA damage. *EMBO J* 2000; 19: 4967–75.
81. Jimenez, G.S., Nister, M., Stommel, et.al. A transactivation deficient mouse model provides insights into Trp53 regulation and function. *Nat Genet* 2000; 26: 37–43.
82. Klampfer L, Zhang J, Nimer SD. GM-CSF rescues TF-1 cells from growth factor withdrawal-induced, but not differentiation-induced apoptosis: the role of BCL-2 and MCL-1. *Cytokine* 1999;11:849-55.
83. Viegas LR, Hoijman E, Beato M, Pecci A. Mechanisms involved in tissue-specific apoptosis regulated by glucocorticoids. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008;109:273-8.
84. Xie Z, Zhang Y, Li A, Li P, Ji W, Huang D. Cd-induced apoptosis was mediated by the release of Ca<sup>2+</sup> from intracellular Ca storage. *Toxicol Lett* 2010;192:115-8.
85. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997; 88: 355-65.
86. Tomatır AG. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. *T Klin Tıp Bilim* 2003;23: 499-508.
87. Rosen EM, Fan S, Rockwell S, Goldberg ID. The molecular and cellular basis of radiosensitivity: implications for understanding how normal tissues and tumors respond to therapeutic radiation. *Cancer Invest* 1999;17:56–72.
88. Willers H, Dahm-Daphi J, Powell SN. Repair of radiation damage to DNA. *Br J Cancer* 2004; 90:1297-301.
89. Reed JC. Mechanisms of apoptosis avoidance in cancer. *Curr Opin Oncol* 1999;11:68–75.
90. Kerr JF, Winterford CM, Harmon BV. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 1994;15 73: 2013–26.
91. Bender LM, Morgan MJ, Thomas LR, Liu ZG, Thorburn A. The adaptor protein TRADD activates distinct mechanisms of apoptosis from the nucleus and the cytoplasm. *Cell Death Differ* 2005;12: 473–81.
92. Erdoğan BB. Apoptozis mekanizmaları: tümör gelişiminde fas-faslı bağımlı apoptozis. *Akciğer Arşivi* 2003; 4: 165-74.
93. Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi* 2001;2: 91-5.
94. Korsmeyer, S. J. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood* 1992; 80: 879-86.
95. Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J. Cell Biol* 1994;124:1-6.
96. Tsujimoto Y, Yunis J, Onorato-Showe L, et al. Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t(14;18) chromosome translocation. *Science (Washington DC)* 1984;224: 1403-6.



97. Zhang GJ, Kimijima I, Tsuchiya A, et al. The role of Bcl-2 expression in breast carcinomas. *Oncol Rep* 1998; 5:1211–6.
98. Sinicrope FA, Hart J, Michelassi F, et al. Prognostic value of Bcl-2 oncoprotein expression in stage II colon carcinoma. *Clin Cancer Res* 1995; 1:1103–10.
99. Laudanski J, Chyczewski L, Niklinska WE, et al. Expression of Bcl-2 protein in non-small cell lung cancer: Correlation with clinicopathology and patient survival. *Neoplasma* 1999; 46:25–30.
100. Bubendorf L, Sauter G, Moch H, et al. Prognostic significance of Bcl-2 in clinically localized prostate cancer. *Am J Pathol* 1996;148:1557–65.
101. Viale G, Roncalli M, Grimelius L, et al. Prognostic value of Bcl-2 immunoreactivity in medullary thyroid carcinoma. *Hum Pathol* 1995;26:945–50.
102. Aizawa K, Ueki K, Suzuki S, et al. Apoptosis and Bcl-2 expression in gastric carcinomas: Correlation with clinicopathological variables, p53 expression, cell proliferation and prognosis. *Int J Oncol* 1999;14:85–91.
103. Kong G, Shin KY, Oh YH, et al. Bcl-2 and p53 expressions in invasive bladder cancers. *Acta Oncol* 1998;37:715–20.
104. Herod JJ, Eliopoulos AG, Warwick J, et al. The prognostic significance of Bcl-2 and p53 expression in ovarian carcinoma. *Cancer Res* 1996;56: 2178–84.
105. Crawford RA, Caldwell C, Iles RK, et al. Prognostic significance of the Bcl-2 apoptotic family of proteins in primary and recurrent cervical cancer. *Br J Cancer* 1998;78:210–4.
106. Grover R, Wilson GD. Bcl-2 expression in malignant melanoma, and its prognostic significance. *Eur J Surg Oncol* 1996; 22:347–9.
107. Gasparini G, Bevilacqua P, Bonoldi E, et al. Predictive and prognostic markers in a series of patients with head and neck squamous cell invasive carcinoma treated with concurrent chemoradiation therapy. *Clin Cancer Res* 1995;1:1375–83.
108. Wilson GD, Grover R, Richman PI, et al. Bcl-2 expression correlates with favourable outcome in head and neck cancer treated by accelerated radiotherapy. *Anticancer Res* 1996;16: 2403–8.
109. Gallo O, Boddi V, Calzolari A, et al. Bcl-2 protein expression correlates with recurrence, and survival in early stage head and neck cancer treated by radiotherapy. *Clin Cancer Res* 1996;2:261–7.
110. Pena JC, Thompson CB, Recant W, et al. Bcl-xL, and Bcl-2 expression in squamous cell carcinoma of the head, and neck. *Cancer* 1999;85:164–70.
111. Friedman M, Grey P, Venkatesan TK, et al. Prognostic significance of Bcl-2 expression in localized squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997;106:445– 50.
112. Silvestrini R, Veneroni S, Daidone MG, et al. The Bcl-2 protein: A prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:499 –504.
113. McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, et al. Expression of the protooncogene Bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 1992;52:6940–4.

114. Pietenpol JA, Papadopoulos N, Markowitz S, et al. Paradoxical inhibition of solid tumor cell growth by Bcl-2. *Cancer Res* 1994;54:3714–7.
115. Baretton GB, Diebold J, Christoforis G, et al. Apoptosis and immunohistochemical Bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. Aspects of carcinogenesis and prognostic significance. *Cancer* 1996;77:255–64.
116. Jordan RC, Catzavelos GC, Barrett AW, et al. Differential expression of Bcl-2 and bax in squamous cell carcinomas of the oral cavity. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1996;32B:394–400.
117. Singh BB, Chandler FW Jr, Whitaker SB, et al. Immunohistochemical evaluation of Bcl-2 oncoprotein in oral dysplasia and carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:692–8.
118. Costa A, Licitra L, Veneroni S, et al. Biological markers as indicators of pathological response to primary chemotherapy in oral-cavity cancers. *Int J Cancer* 1998;79:619–23.
119. Spafford MF, Koeppe J, Pan Z, et al. Correlation of tumor markers p53, Bcl-2, CD34, CD44H, CD44v6, and Ki-67 with survival and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;122:627–32.
120. Hirvikoski P, Kumpulainen E, Virtaniemi J, et al. Enhanced apoptosis correlates with poor survival in patients with laryngeal cancer but not with cell proliferation, Bcl-2 or p53 expression. *Eur J Cancer* 1999;35:231–7.
121. Regitnig P, Reiner A, Dinges HP, et al. Quality assurance for detection of estrogen and progesterone receptors by immunohistochemistry in Austrian pathology laboratories. *Virchows Arch* 2002; 441: 328-34.
122. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. *Cancer Statistics 2008*. *CA Cancer J Clin* 2008; 58:71-8.
123. Le QT, Fu KK, Kroll S, et al. Influence of fraction size, total dose, and overall time on local control of T1-T2 glottic carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997;39:115-26.
124. Garden AS, Forster K, Wong PF, Morrison WH, Schechter NR, Ang KK. Results of radiotherapy for T2N0 glottic carcinoma: does the "2" stand for twicedaily treatment? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;55:322-8.
125. Pera E, Moreno A, Galindo L: Prognostic factors in laryngeal carcinoma. *Cancer* 1986; 58: 928-34.
126. Eiband J, Elias JE, Suter CM, Gray WC, Didolkar MS: Prognostic factors in squamous cell carcinoma of the larynx. *Am J Surg* 1989; 158: 314-7.
127. Fein DA, Lee WR, Hanlon AL, et al. Pretreatment hemoglobin level influences local control and survival of T1-T2 squamous cell carcinomas of the glottic larynx. *J Clin Oncol* 1995;13:2077-83.
128. Chatani M, Matayoshi Y, Masaki N, et al. Radiation therapy for early glottic carcinoma: indication for the wedge filter. *Strahlenther Onkol* 1993;169:655-9.
129. Lazaris CA, Lendari I, Kavantzias. N, et al. Correlation of tumor Markers p53, bcl-2 and cathepsin-D with clinicopathologic features and disease-

free survival in laryngeal squamous cell carcinoma. *Pathol Int* 2000;50:717-24.

- 130.** Sahoo R, Chittibabu V, Patil G, et al. Relationship between molecular markers and treatment response in a retrospective cohort of Indian patients with primary carcinoma of the larynx. *Oral Oncol* 2009;; 45:216–21.
- 131.** Khademi B.Sharazi F.M, Vasie M et al. The expression of p53, c-erb-1 and c-erb-2 molecules and their correlation with prognostic markers in patient with head and neck tumor. *Cancer Letters* 2002:184;223-30.
- 132.** Friedman M, Lim JW, Manders E, et al. Prognostic significance of Bcl-2 and p53 expression in advanced laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2001;23:280–3.

## TEŞEKKÜR

Eđitimim ve tez çalıőmam sűresince bilgi ve desteklerini esirgemeyen baőta sayın hocam ve tez danıőmanım Prof. Dr. Lűtfi Őzkan'a, çalıőmalarıyla her zaman bana yardımcı olan Doç. Dr. Meral Kurt'a, Doç. Dr. Sibel Kahraman etintaő'a, Doç. Dr. Sűreyya Sarıhan'a, Uzm. Dr. Candan Demirűz'e, ayrıca tezime katkısından dolayı Patoloji AD Őđretim űyesi Yard. Doç.Dr. Őzlem Saraydarűđlu'na, deđerli asistan arkadaşlarıma, bűlűműműz çalıőanlarına, beni her zaman destekleyen aileme teőekkűr ediyorum.

## ÖZGEÇMİŞ

1967 yılında Bursa'da doğdum. İlkokulu Bursa Elmasbahçeler İlköğretim Okulu'nda, ortaokulu Bursa Devrim Ortaokul'unda, lise öğrenimimi ise Bursa Kız Lisesinde tamamladım. 1984 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde okumaya hak kazandım. 1990 yılında tıp fakültesinden mezun olduktan sonra 1998 yılına kadar Uludağ Üniversitesi Mediko-Sosyal Merkezinde, 2006 yılına kadar da Bilecik İl Sağlık Müdürlüğü'ne bağlı olarak değişik kurumlarda pratisyen hekimlik yaptım. 2005 Eylül dönemi Tıpta Uzmanlık Sınavı'nda başarılı olarak 11.02.2006'da Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak görevime başladım. Evli ve 2 kız çocuk annesiyim.