

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ
HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Abdullah TAŞ

**LARENKS KARSİNOMLU OLGULARDA VASKÜLER
ENDOTELYAL GROWTH FAKTÖR A VE C
DÜZEYLERİNİN PROGNOZA ETKİSİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Burak DÜZEN

EDİRNE-2010

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda büyük destek ve yardımını gördüğüm çok değerli hocam Prof. Dr. Ahmet R. KARASALİHOğLU'na; asistanlığım süresince her aşamada destek ve yardımlarını gördüğüm değerli hocalarım Prof. Dr. Muhsin KOTEN, Prof. Dr. Mustafa K. ADALI, Prof. Dr. Cem UZUN, Doç. Dr. Recep YAğIZ'a, tez danışman hocam Doç. Dr. Abdullah TAŞ'a; katkılarından dolayı Prof. Dr. Ahmet Muzaffer Demir'e ve Doç. Dr. Ufuk USTA'ya; istatistiksel analiz için Doç. Dr. Nejdet SÜT'e, KBB kliniğine, sevgili eşime ve oğluma desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

SİMGE VE KISALTMALAR

ECM	: Extracellüler Matrix (Ekstrasellüler matriks)
KT	: Kemoterapi
RT	: Radyoterapi
MDY	: Mikrodamar yoğunluğu
SCPL-CHP	: Suprakrikoid parsiyel larenjektomi-krikohyoidopeksi
SCPL-CHEP	: Suprakrikoid parsiyel larenjektomi-krikohyoidoepiglottopeksi
TL	: Total larenjektomi
VEGF-A	: Vasküler endotelyal growth faktör A
VEGF-C	: Vasküler endotelyal growth faktör C

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
LARENKS ANATOMİSİ	3
LARENKS HİSTOLOJOSİ	14
LARENKS KANSERİ	15
ANJİOGENEZİN TEMEL MOLEKÜLER MEKANİZMALARI VE TÜMÖR ANJİOGENEZİ	20
VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ AİLESİ	26
GEREÇ VE YÖNTEMLER	30
BULGULAR	34
TARTIŞMA	43
SONUÇLAR	51
ÖZET	52
SUMMARY	54
KAYNAKLAR	56
EKLER	

GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde kanser ekonomik ve sosyal boyutuyla dünyada en önemli sağlık sorunlarından biridir. Sıklığında, morbidite ve mortalitesinde belirgin artış gözlenmektedir. Gelişmiş ülkelerdeki verilere bakıldığında ölüme neden olan sebepler arasında kalp ve damar hastalıklarından sonra ikinci sırayı almakta ve tüm ölümlerin yaklaşık %28'ini oluşturmaktadır (1). Larenks kanserleri cilt tümörleri ayrı tutulduğunda baş boyun kanserleri içinde en sık görülen tümör olup toplumumuzda tüm malignitelerin %2-5'ini oluşturur (2). Larenks kanserleri erkeklerde tüm kanserlerin %2,3'ünü, baş ve boyun kanserlerinin yaklaşık %25'ini oluşturur ve büyük çoğunluğu yassı hücreli kanserdir (3).

Son yıllarda kanser tedavisi için yapılan araştırmalarda tümörün çoğalması ve metastazın mekanizmasının anlaşılması için uğraşmakta ve bu mekanizmayı hedef alan tedaviler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Yeni damar yapımı (neanjyogenez, neovaskülarizasyon) vücutta fizyolojik olarak yara iyileşmesi, embriyogenez, menstrüel siklus vb. durumlarda söz konusudur. Ancak, kontrolsüz anjyogenez tümör büyümesi ve tümör metastazı olmak üzere, inflamatuvar hastalıklar, kronik inflamasyon, proliferatif retinopati gibi birçok patolojik olayda rol oynar (4,5). Anjyogenez, tümör büyümesi ve ilerlemesi için gereklidir ve neoplastik süreçteki en önemli olaylardan biridir (6). Anjyogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulanı vasküler endotelial growth faktörü (VEGF)'dür (7).

Anjyogenez sürecinde yer alan moleküllerin ana kaynağı halen tartışmalıdır. Tümör hücreleri dışında; lökositler, makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerin ve trombositler ile fibroblastlarında anjyogenik ve antianjyogenik molekülleri ihtiva ettiği ve salgıladığı gösterilmiştir (8).

Son yıllarda kanser tedavisi için yapılan araştırmalarda tümör çoğalması ve metastazının mekanizmalarının anlaşılması için uğraşılmakta ve bu mekanizmaları hedef alan tedaviler geliştirilmeye çalışılmaktadır (9). Anti-anjiyogenik tedavide bu görüşle ortaya atılmış, gerek tek başlarına gerekse geleneksel tedavilere ek olarak kullanılmaya başlanmış ve yan etkilerinin klasik ilaçlara göre az olmasıyla kanser tedavisinde önemli bir yer bulmuştur (10). Günümüzde yeni ve daha etkili ajanların kullanıma girmesiyle kanser tedavisinde önemli adımlar atılmış olacaktır. Ayrıca larenks karsinomlu hastaların takibinde elimizde şu an objektif bir laboratuvar verisi bulunmamaktadır. Bu nedenle tümörün damarlanma miktarı, damar oluşturma yeteneği ve in vivo ortamda anjiyogenik faktörlerin etkisinin bilinmesi ve bu anjiyogenik faktörlerin cerrahi tedavi gören hastaların klinik takiplerinde seviyelerinin incelenmesi gelecekte larenks kanseri gibi tümörlerde yeni bir tedavi seçeneği ve yeni objektif bir laboratuvar verileri olabileceğini gündeme getirecektir.

Bu çalışmanın amacı larenks karsinomlu olgularda VEGF-A ve VEGF-C değerlerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırıp, tümör evresi ile ilişkisini saptamak, tümör rekürrensi ve boyun metastazı ile ilişkisini değerlendirmek ve prognozda etkisini belirlemektir.

GENEL BİLGİLER

LARENKS ANATOMİSİ

Larenks hem solunum sistemi, hem de ses çıkarma ile ilgili bir organdır. Larenks dil ve hyoid kemiğin altında, trakeanın üstünde, farenksin önünde bulunur. Yetişkinde larenksin üst sınırını tiroid kıkırdağın üst kenarı veya üçüncü servikal vertebra cisminin alt kenarından geçirilen yatay bir plan ile alt sınırı krikoid kıkırdağın alt kenarı veya altıncı servikal vertebra cisminin alt kenarından geçirilen yatay bir plan ile gösterilebilir (11,12).

Yeni doğmuş çocukta larenksin üst sınırı atlasın alt kenarından geçirilen yatay bir plan ile, alt sınırı dördüncü servikal vertebra cisminin alt kenarından geçirilen yatay bir plan ile gösterilebilir. Yaş ilerledikçe yavaş yavaş aşağı iner ve buluş çağında yetişkindeki yerini alır. Adölesan döneminde özellikle erkek çocuklarda larenks süratle büyür ve *rima glottis*'in uzunluğu iki misline ulaşır. Ses plikalarının (*plicae vocalis*'in) uzaması sonucu erkek çocukların sesi kalınlaşır. Bundan başka krikoid kıkırdağın ön kenarında *prominentia laryngea* adını alan kabartı meydana gelir. Kız çocuklarda bu dönemde larenks erkeklerdekine nazaran daha yavaş ve daha az büyür (13).

Larenks cins ve yaşa göre büyüklük ve şekil farklılıkları gösterdiği gibi, şahıstan şahısada farklılıklar gösterir. Bu nedenle her insanın sesi diğerinden farklıdır. Yirmi yaşından sonra larenks kıkırdakları ossifikasyona başlar. Yalnız elastik kıkırdak yapısında olan epiglot ile aritenoid kıkırdağının *processus vocalis*'i ossifikasyon göstermez (11,12).

Larenks yukarı ve önde, epiglot ile dil kökü arasında bulunan mukoza plikaları aracılığı ile dil köküne bağlanmıştır. Aşağıda ise trakea ile devam eder. Larenks tutunduğu

oluşumların hareketleri ile senkronizasyon göstererek yukarı, aşağı ve öne doğru hareket edebilir (11,12).

Larenksin Dıştan Görünüşü

Larenks tepesi aşağıda, tabanı yukarıda üç yüzlü bir piramide benzer. Üç yüz, üç kenar, bir tepe ve bir tabanı vardır.

Ön yan yüzleri: Tiroid glandının yan lobları ve hyoid altı kasları ile komşuluk yapar.

Arka yüzü: Farenksin *pars laryngea*'sı ile komşuluktadır. Bu yüzde en yukarıda epiglottisi yanlarda farenkse bağlayan *plica pharyngoepiglottica*'lar görülür. Bu plikaların hemen altında ve *aditus laryngis*'in yanlarında yukardan aşağı doğru uzanan oluklara *recessus piriformis* adı verilir. *Recessus piriformis* içinde yukardan aşağı ve dıştan içe doğru uzanan mukoza plikasına *plica nervi laryngei* adı verilir. *Aditus laryngis*'in arka kenarının tam ortasında bulunan çentik *incisura interarytenoidea* olarak isimlendirilir.

Ön kenar: Tam orta hat üzerinde bulunup yukarıda tiroid kıkırdak, aşağıda krikoid kıkırdak'dan meydana gelir. Bu kenar üzerinde tiroid kıkırdağın *prominentia laryngea* adı alan kabartısı görülür. Ön kenarın yukarı kısmı önden arkaya doğru, *lamina superficialis* ve *lamina pretrachealis* ile komşudur. Ön kenarın aşağı kısmı yukarıdaki komşuluklara ilaveten tiroid gland istmusunun arka yüzü ile de ilişkilidir (12,13).

Yan kenarları: Tiroid kıkırdağın arka kenarları tarafından yapılmış olup boyun damar-sinir paketi ile komşuluk yaparlar.

Taban: Dil kökünün arka ve altında bulunur. Önden arkaya doğru sıra ile şu oluşumlardan meydana gelmiştir:

1-Tiroid kıkırdağın üst kenarı ve *membrana thyrohyoidea*. 2-*Corpus adiposum laryngis* (Preepiglottik alan) 3-Epiglot kıkırdağı 4-*Plica glossoepiglottica mediana* ve *lateralis* 5-*Plica aryepiglottica* (Bu iki plika epiglotu aritenoide bağlar). 6-*Aditus laryngis* (Önden arkaya, yukarıdan aşağı yöneltide ve oval biçiminde olan bu deliğin geniş tarafı ön ve yukarıdadır. Bu delik uzunlamasına 29-35 mm, enlemesine 14-18 mm kadardır.)

Tepe: Trakeanın üst kenarı ile birleşir. Burası horizontal kesitlerde yuvarlak delik halinde görülür (11,12).

Larenksin İçten Görünüşü

Larenksin iç boşluğuna *cavum laryngis* adı verilir. Bu boşluk yukardan aşağı doğru üst, orta ve alt olmak üzere üç kısma ayrılır (14) (Şekil1).

1-Üst kısım (*vestibulum laryngis*): *Aditus laryngis*'den *plicae ventriculares*'e kadar olan kısımdır. Bu boşluk geniş tarafı yukarıda bir huniye benzetilebilir (13).

2-Orta kısım (*cavum intermedium laryngis*): Yukarıda bulunan iki *plicae ventriculares* ile aşağıda bulunan iki *plicae vocales* arasında kalan kısımdır. Üsttekilere karıncık plikaları (*plicae ventriculares*, *plicae vestibulares*), alttakilere ses plikaları (*plicae vocales*) adı verilir. Bir yandaki üst ve alt iki plica arasındaki çukurluğa *ventriculus laryngis* adı verilir. *Plica ventricularis*'in içinde kas yoktur. Fakat *ligamentum ventriculare* adı verilen bir bağ vardır. Ön uçları ile tiroid kıkırdak'nın sağ ve sol lamina'sının arasında kalan ve açıklığı arkaya bakan aç köşesine (*angulus thyreoideus*) tutunurlar. Arka uçları ile de aritenoid kıkırdağın ön yüzüne tutunurlar. Uzunlukları 1,5-2 cm kadardır. İki *plica ventriculares* arasında bulunan aralığa *rima vestibuli* adı verilir (15). *Ventriculus laryngis*'in ön kısmında yukarıya doğru yükselen keseye *sacculus laryngis* adı verilir. Tiroid kıkırdağın iç yüzü ile *plicae vestibulares* arasında bulunur. Mukozası yüzeyinde glandların açıldığı delikler vardır (13).

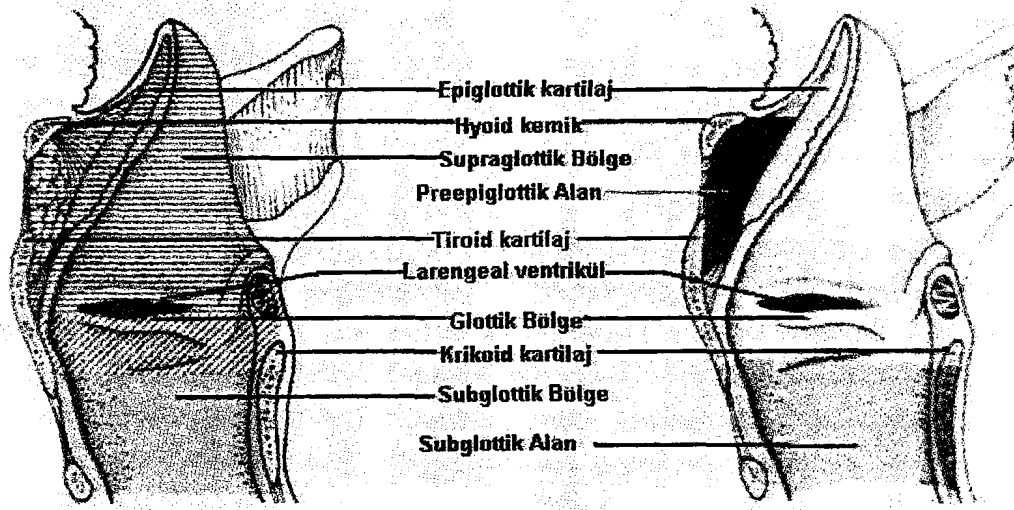
*Plica vocalis*in içinde hem kas (*musculus vocalis*), hem de bağ (*ligamentum vocale*) vardır. *Plica vocalis* sağ ve solda birer tanedir. Ön uçları ile *angulus thyreoideus*'a *plica ventricularis*lerin tutunduğu yerin üç milimetre kadar altında olacak şekilde tutunurlar. Arka uçları ile de aritenoid kıkırdağın vokal proseslerine tutunurlar (11,12).

Önde iki kord vokalin serbest kenarları ve arkada aritenoid kıkırdağların vokal çıkıntıları önünde kalan aralığa *rima glottis* ve bu aralığın çevresindeki yapılara da klinikte glottik bölge adı verilir. Başka bir tanımla glottik bölge kord vokallerin serbest kenarlarından itibaren 10 mm daha aşağıya kadar olan bölümdür. Supraglottik bölge bu bölgenin üstünde kalır ve epiglottu, ventriküler bantları ve ventrikülleri içerir. İnfraglottik bölge glottik bölge alt sınırından itibaren krikoidin alt kısmına kadar olan bölümdür (3) (Şekil 2).

3-Alt kısım (*cavum infraglotticum*): Kord vokallerin altında kalan kısımdır. Lateral sınırını *conus elasticus* ve krikoid kıkırdak iç perikondriumu oluşturur (11,12).

Larenksin Yapısı

Kıkırdaklar, kıkırdakları birbirine bağlayan eklem ve bağlar ile kaslardan yapılmış olan larenksin iç yüzünü mukoza döşer. Larenks kıkırdakları: üçü tek, üçü de çift olmak üzere dokuz kıkırdaktır. Tiroid kıkırdak, krikoid kıkırdak, epiglot tek olan kıkırdaklar, aritenoid kıkırdak, kuneiform kıkırdak (*Morgagni* veya *Wisberg* kıkırdakları), kornikülat kıkırdak (*Santorini* kıkırdakları) ise çift olan kıkırdaklardır (11,13).



Şekil 1. Larenksin vertikal kesit görüntüsü (14)

Tiroid kıkırdak: Tiroid kıkırdak, krikoidin anulusu üzerine yerleşmiştir. Ön kenarlarıyla birbirine birleşmiş iki laminadan (*lamina cartilaginis thyroideae*) yapılmıştır. Erkeklerde ala adem elması (*prominentia laryngea*) denilen çıkıntıyı oluşturacak şekilde 90 derece açıyla birleşmiştir. Kadınlarda bu çıkıntı 120 derecelik daha oblik birleşme açısı nedeniyle yoktur, inferior kornu krikoid kıkırdak üzerindeki faset ile krikotiroid eklemi oluşturur. Superior kornu, lateral tirohyoid ligaman vasıtasıyla hyoid kemiğin büyük boynuzuyla bağlantılıdır. Superior kornu'nun tiroid alasına birleştiği yerde superior tüberkül denilen bir çıkıntı mevcuttur. Superior tüberkülden inferior tüberküle doğru oblik şekilde seyreden (*linea obliqua*) hat, tirohyoid, sternotiroid ve inferior konstriktör kaslar için yapışma yeridir (13).

Tiroid kıkırdak, iç kısımda ön komissüre denk gelen yer hariç tüm yüzeylerinde, kalın bir perikondrium ile örtülüdür. Bu noktaya, larengeal kord ve bandlara destek yapı oluşturan beş adet ligaman yapışır. Yukarıdan aşağıya doğru sırayla median tiroepiglottik ligaman bilateral vestibüler ligamanlar ve bilateral vokal ligamanlar. Bu ligamanların yapışma yerleri iç perikondriumu delerek *Broyle's* ligamanını oluşturur (16). Bu ligaman kan ve lenfatik damarlar içerir ve larengeal neoplazmların yayılımını kolaylaştırır (17).

Krikoid kıkırdak: Bu kıkırdak larenksin alt bölümündedir ve halka biçimindedir. Hava yolunu tamamen çevreleyen tek destek yapısıdır. Şekli klasik olarak mühür yüzüğü tarzında olup öndeki arkı 5-7 mm yüksekliğinde iken arka laminası 20-30 mm civarındadır. Alt kenarı horizontale yakın olup krikotrakeal ligamanla birinci trakeal halkaya bağlıdır (12,13,16). Orta hatta, arkın üst kısmı ile tiroid kıkırdak alt kenarı arasında krikotiroid membran bulunur (16).

Epiglot: Epiglot, yaprak sekilinde bir fibroelastik kıkırdaktır (12,16). Üstte hyoepiglottik ligaman ile hyoid kemiğe bağlıdır. Aşağıda petiol kökünde, tiroepiglottik ligaman ile ön komissür hizasında tiroid kıkırdakla bağlantılıdır. Epiglotun larengeal yüzeyinde birden fazla delik ve mukus glandları bulunur (11,15). Larengeal yüzey mukozasında dil köküne doğru ilerledikçe üç kıvrım oluşur; iki adet lateral glossoepiglottik kıvrım ve bir median glossoepiglottik kıvrım. Bu kıvrımlar tarafından oluşturulan çukurluklara valleküla denir. Epiglotun lateral kenarına yapışık olup aritenoid ve kornikulat kıkırdaklara doğru genişleyen kuadrangüler membran ariepiglottik kıvrımları oluşturur (12,13,16).

Aritenoid kıkırdak: Aritenoidler, krikoid kıkırdak posterosuperior bölümü ile eklemleşen çift kıkırdaklardır. Aritenoidin tabanı eklem yüzünü oluşturduğu gibi musküler ve vokal çıkıntıları da içerir. Anterolateral yüzeye vestibüler ligaman ve bunun yanında tiroaritenoid kas ile vokal kas yapışır. Arka yüzeye kas, yan yüze ise posterior krikoaritenoid ligaman bağlanır. Aritenoidin tepesine kornikulat kıkırdak oturur (16).

Kornikulat ve kuneiform kıkırdaklar: Kornikulat ve kuneiform kıkırdaklar birer çift küçük, fibroelastik yapılardır. Kornikulat ya da Santorini kıkırdağı aritenoidin tepe kısmına yerleşmiştir. Kuneiform ya da Wrisberg ya da Morgagni kıkırdağı eğer mevcutsa

kornikulat'ın lateralinde olup ariepiglottik kıvrımın içine gömülü vaziyettedir (12). Ayrıca bazen aritenoid kıkırdığın yanında, vokal ligamanın üstünde ve yine vokal ligamanın ön ucunda elastik kıkırdak tanecikleri (*cartilago sesamoidea*) bulunmaktadır (13).

Larengeal Kıkırdakların Ossifikasyonu

Sadece hyalen kıkırdaktan oluşan yapılar ossifikasyona uğrarlar, bunlar da tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdaklardır. Hyoid kemik 2. yaşta tamamen ossifiye olduğundan radyolojik olarak bir karışıklık noktası teşkil etmez. Tiroid kıkırdak erkeklerde 20 yaş civarı, kadınlarda ise bir kaç yıl daha geç ossifikasyona uğrar. Ossifikasyon laminanın posteroinferiorundan başlar. Daha sonra, alt kenar boyunca yukarıya doğru ilerler. Krikoid ve aritenoid kıkırdaklar, tiroide göre daha geç ossifikasyona uğrarlar. Ossifikasyon genellikle alt kenardan başlamaktaysa da kuadrat lamina üst kenarı erken bir ossifikasyon bölgesi olabilir (16). Larengeal kıkırdakların neoplastik invazyonu, genellikle ossifiye olmuş bölümlerden başlar. İnkomplet ossifikasyon patterni, ufak invazyon alanlarının fark edilmesini zorlaştırır (16).

Larenksin Eklem ve Bağları

Larenks eklemleri iki tanedir: *Articulatio cricothyroidea*, *Articulatio cricoarytenoidea*'dir.

Larenks bağları; iki gruba ayırmak gerekir: Birinci grup larenks kıkırdakları arasındaki bağlar; ki bunlar beş tanedir: *Ligamentum cricothyroideum*, *ligamentum thyroepiglotticum*, *ligamentum aryepiglotticum*, *ligamentum ventriculare*, *ligamentum vocale*'dir. İkinci grup ise larenksi komşu oluşumlara bağlayan bağlardır; bunlar dört tanedir: *Membrana thyrohyoidea*, *ligamentum hyoepiglotticum*, *ligamentum pharyngoepiglotticum*, *ligamentum cricotracheale* (11,12).

Larenksin Kasları

Ekstresek ve intrensek olmak üzere iki gruba ayrılır.

1- Ekstresek kaslar: Larenks ile komşu oluşumlar arasındaki kaslardır.

a. Depresör grup: Tirohiyoid kas, sternohiyoid kas, omohiyoid kas.

b. Elavatör grup: Anterior ve posterior digastrik kas, stylohiyoid kas, geniohiyoid kas, mylohiyoid kas.

c. Farenks alt ve orta kontruktörleri: İinferior ve medial konstruktör kaslar (3).

2- İntrensek kaslar: Larenks kıkırdakları arasındaki kaslardır. Bunlar beş tanedir. Dört tanesi çift, bir tanesi tekdir.

a. Çift kaslar: Krikotiroid kas, posterior krikoaritenoid kas, lateral krikoaritenoid kas tiroaritenoid kas.

b. Tek kas: İnteraritenoid kas (3).

1- Krikotiroid kas: Bu adale larengeal kıkırdakların dış yüzeyine yerleşmiştir. Üçgen şeklindedir. Klasik olarak iki karından pars recta ve pars obliqua'dan meydana gelir (13). Sağ ve sol krikotiroid adaleler kasıldığında krikoidi, krikotiroid eklem üzerinde rotasyone ederler. Bu vokal süreçler ile ön komissür arasındaki mesafeyi artırır. Bunun sonucu vokal kordlar alçalıp, gerilip, incelirken paramedian pozisyona gelirler (16).

2- Posterior krikoaritenoid kas: Bu yapı, vokal kordların tek abduktör kasıdır. Bu kasın kasılması musküler süreci mediale, posteriora ve inferiora getirirken vokal süreci döndürüp eleve eder (16).

3- Lateral krikoaritenoid kas: Bu kas, posterior krikoaritenoidin ana antagonistidir. Bu kasın kontraksiyonu sonucunda vokal kordun addüksiyon, elongasyon ve incelməsi gerçekleşir (16).

4- Tiroaritenoid kas: Bu kas tiroaritenoidus internus ve externusa ayrılır. Vokal sürec ve ön komissürü birbirine yaklaştıracak şekilde kasılarak vokal kordları addükte eder. Ayrıca yalancı kordların da addüksiyonunu sağlar. Tiroaritenoidus internus ya da vokalis kası ön komissür ile vokal süreci birleştirir. Vokal kordu, addükte edip, kısaltıp, kalınlaştırarak, seviyesini düşürür ve kenarını yuvarlaklaştırır.

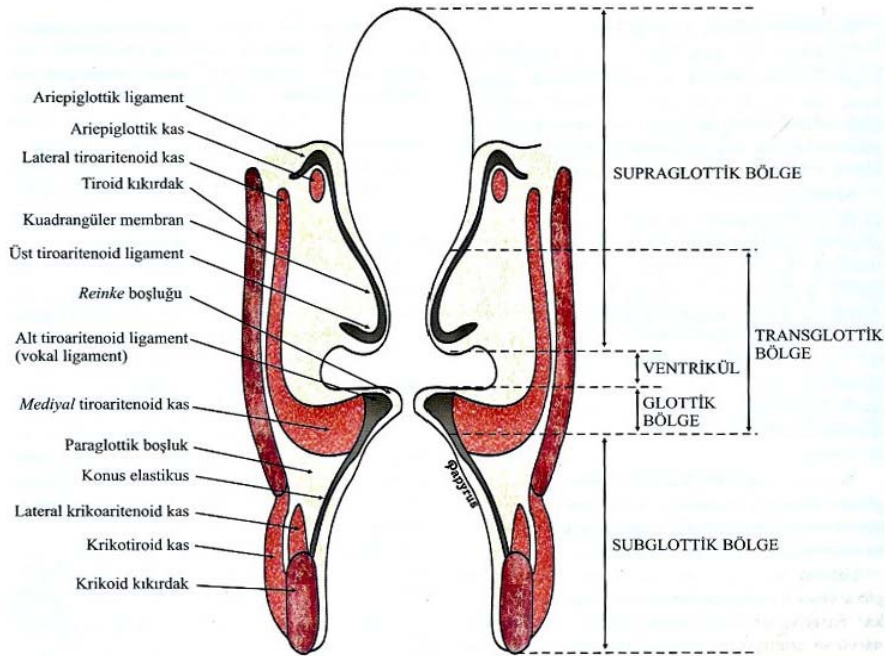
5- İnteraritenoid kas: İnteraritenoid iki tip kas lifi içerir ve intrinsik kaslar içinde bir tek bu çift değildir. Aritenoid kıkırdakları bir araya getirecek şekilde kasılır ve glottis arka bölümünün kapanmasına yardımcı olur. Transvers lifler yanında oblik grup da mevcuttur. Bu lifler larengeal aditusu daraltacak şekilde kasılırlar. Kuadrangüler membran boyunca ilerleyen lifler (ariepiglottik kıvrım) ariepiglottik kası oluştururlar (16).

Larengeal Bariyer ve Kompartmanlar

Larenksin elastik dokusu, iki parçadan oluşur: 1. Supraglottik larenksin kuadrangüler membranı 2. Glottik ve infraglottik larenksteki yapıli konus elastikus ile vokal ligamanlar (18). Larenks kompartmanları; preepiglottik alan, paraglottik alan ve Reinke boşluğudur (19) (Şekil 2).

Kuadranguler membran: Larenks elastik membranının üst kısmına verilen isimdir (3). Kuadranguler membran epiglot kıkırdağın lateral sınırından başlar ve epiglot ve aritenoid kıkırdaklar arasını kaplar. Membranın arka sınırı ön sınırından daha kısadır. Üst sınırı serbesttir ve epiglotun serbest ucundan kornikulat kıkırdağa kadardır. Alt sınırı, epiglotun tiroid kıkırdağa tutunduğu yerden başlayarak vokal proçese uzanır. Membranın ön ve arka kenarları sabit iken, alt ve üst kenarları hareketlidir. Alt kenar kalınlaşarak vestibüler ligamanı yaparken, üst kenar ariepiglottik ligamanı meydana getirir (18).

Trianguler membran (krico-vokal membran): Larenks elastik membranının alt kısmına verilen isimdir (13). Lateral görünüşte, tabanı dar, orta hatta tiroid ve krikoid kıkırdaklara yapışan ve tepesini vokal proçesin yaptığı bir üçgen şeklindedir. Üst sınırı tiroid kıkırdaktan başlar, posteriorda vokal proçese doğru konkav bir şekilde ilerler. Membranın medial ve lateral yüzleri arasında üst serbest kenarı kalınlaşarak vokal ligaman'ı yapar (18). İnférieur kısım internal ve eksternal olarak iki ayrı laminaya ayrılır. İnternal lamina hipoglottotrakeal elastik membranla devam ederken, eksternal olan krikoid kıkırdağın superior kenarına yapışır.



Şekil 2. Larengeal bariyer ve kompartmanlar (19)

Preepiglottik alan: Preepiglottik alan, epiglotun etrafında, sadece önünde değil, posterolateral ve inferolateral kısımlarında da yer alan, gözele elastik ve kollajenöz fibrillerden ve yağ dokusundan oluşan gevşek areolar bir yapıdır. Bu sahanın ön bölümünü; önde tirohyoid membran ve tiroid kıkırdağın alt bölümü, yukarıda hyoid kemik ve hyoepiglottik ligaman, arkada da epiglottik kıkırdak yapmaktadır (17).

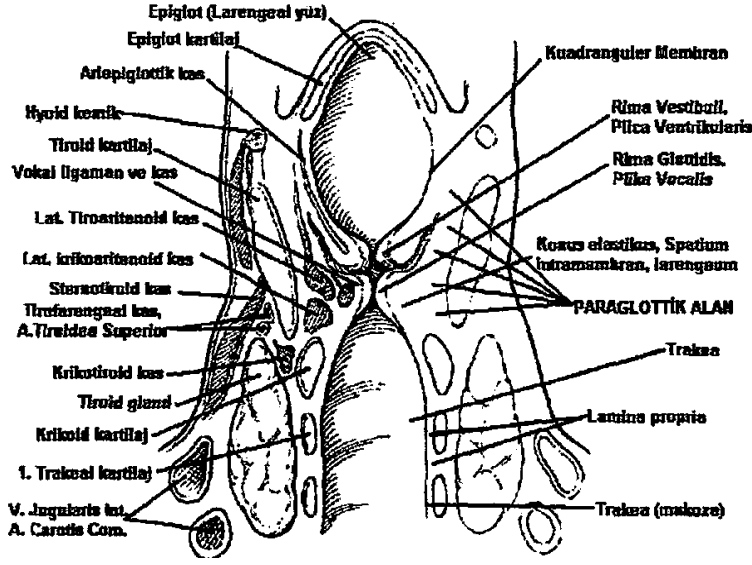
Paraglottik alan: Paraglottik alan, içerisinde kraniokaudal yerleşimli kan damarları bulunan yağ ve gevşek bağ dokusu ile dolu bir larenks kompartmanıdır. Paraglottik alanın sınırları şöyledir. Lateralinde tiroid kıkırdak bulunur. Superomedialinde preepiglottik alan ile devamlılık gösterir. Ancak bazı olgularda paraglottik alan ile preepiglottik alan arasında kollajenöz lifli bir septum bulunur. Inferomedialde konus elastikus ile sınırlanmıştır. Paraglottik alanın anteroinferior uzanımı, median krikotiroid ligamana lateral bir açıklıktan ekstralarengeal dokularadır. Bu açıklık aynı zamanda kan damarları için muhtemel bir giriş yeri olabilir. Dorsalde, paraglottik alan piriform sinüs submukozası ile ilişkilidir. Burada submuköz fibroelastik bir tabaka yoktur. Posteroinferiorde, paraglottik yağlı doku krikoaritenoid eklemi çevreleyen yağlı doku ile sıkı ilişkidir (20) Paraglottik alan Şekil 3' te gösterilmiştir (21).

Reinke alanı: Vokal kordlar membranöz ya da vibratuar kısımları üç adet belirgin yapısal tabakaya sahiptir. Yüzeyden derine doğru epitel, *lamina propria* (üç tabaka) ve vokalis kası. Yüzey döşemesi örtücü epitel ve *lamina propria*'nın jelatinöz tabakalarından oluşur. Gövde ise vokalis kasından ibarettir. Bunların arasında *lamina propria*'nın intermediyer (elastik) ve derin (kollajenöz) tabakalarından oluşan bir geçiş bölgesi mevcuttur. Bu tabakalardan en üstteki süperfisyel tabaka Reinke alanını oluşturur. Buna göre vokal kıvrımlar yüzeyden gövdeye doğru giderek artan sertliğe sahip çok tabakalı birer vibratör olurlar. Dolayısıyla, yüzey örtüsü vokal kordların vibratuar aktivitesinin çoğunluğundan sorumludur (22).

Piriform sinüs: Bu yapı anatomik olarak hipofarenksin bir parçası olsa da, anatomisinin ve larenksle ilişkisinin anlaşılması gerekir. Piriform sinüs, medialde ariepiglottik kıvrım, aritenoid ve krikoid üst kısmı ile lateralde ise tirohyoid membran ve tiroid lamina iç yüzeyi ile sınırlanır. Superiorde lateral glossoepiglottik kıvrımdan başlar.

İnferiorda sinüsün apeksi krikoid üst hizasında özefageal giriş ile iştiraklenir. Apeks invazyonunda eğer cerrahi planlanıyorsa krikoidin bir kısmının çıkarılması gerekir (16).

Piriform sinüs içinde önde, sinüs tabanındaki kıvrım superior larengeal sinirin seyrini işaretler. Sinirin submukozal seyri piriform sinüs içinde topikal uyuşturulmasını olanak sağlar (12).



Şekil 3. Paraglottik alan (21)

Larenksin Arter ve Venleri

Larenksin arteriyel beslenmesini superior ve inferior larengeal arterler sağlar. *A. thyroidea superior*, *a. carotis externa*'dan ayrıldıktan sonra hyoid kemik seviyesinde *a. laryngea superior*'u verir. Bu arter daha sonra *n. laryngeus superior*'la anteromediale doğru ilerleyip tirohyoid membran'dan larenkse girer; takiben piriform sinüs submukozasına giriş yapıp intralarengeal yapılara dağılır. *A. laryngea superior* ayrıca tiroid kıkırdak altında horizontal olarak seyreden krikotiroid dalı verir. *A. laryngea inferior*, *a. subclavia*'dan çıkan *truncus thyrocervicalis*'in dalı olan *a. thyroidea inferior*'dan kaynaklanır. *N. laryngeus inferior*'la (*n. recurrens*) birlikte krikotiroid eklem posterioruna ilerledikten sonra inferior konstriktör kas içindeki *Killian-Jamieson* bölgesi olarak adlandırılan aralıktan larenkse girer. Arter internal larenksin kalan kısmına dağılıp *a. laryngea superior*'la birden çok anastamoz yapar. Venöz dolaşım arteriyel beslenmeye paraleldir (12,16).

Larenksin Lenfatikleri

Larenksin lenfatik yayılımı iki farklı büyük alana ayrılmıştır:

1. Sinüs piriformis lenf ağı ile karışmış olan üst supraglottik lenf ağı
2. Trakeal lenf ağı ile devamlılıkta olan alt subglottik lenf ağı

Supraglottik bölgede özellikle epiglotun serbest kenarı, bantlar, ventriküller seviyesinde lenfatik ağ çok zengindir ve sinüs piriformisden gelenler ile birleşir. Subglottik bölgede lenfatik ağ daha az gelişmiştir ve trakeal ağ ile devamlılık gösterir. Supraglottik ve subglottik ağlar arasında glottiste devamlılık yoktur. Pratik olarak glottiste lenfatik bulunmaz. Kord vokallerin üst yüzü ve serbest kenarı tamamen lenfatikten yoksundur. Sadece komissürler lenfatik bir kaç kapillerle donanmıştır. Asendan bir yolla kontralateral pasaja izin veren transversal bir yol arka komissür düzeyinde birbirleriyle birleşirler. Arka komissür düzeyi dışında supraglottik ve subglottik bölgeler pratik olarak bağımsızdırlar. Üç lenfatik pedikül vardır (23):

Üst pedikül: Supraglottik ağ ile ilgilidir. Bunlar ariepiglottik kıvrımların ön kısmına ulaşırlar. Tirohyoid membranı, *v. laryngea superior* ve *a. laryngea superior* ile geçerler. Üç trunkusa ayrılırlar. Digastrik kas ile omohyoid kas arasındaki ganglionlara özellikle de subdigastrik bazen de supraomohyoid gruba drene olurlar.

-*Asendan trunkus:* Digastrik kasın arka karnının alt kenarına kadar uzanır. Burada *Kuttner*'in subdigastrik grubu ile birleşen bir ganglion bulunur.

-*Horizontal trunkus:* İç juguler zincirin ganglionu ile birleşen bir yada iki horizontal trunkus karotis bifurkasyonu karşısında yerleşmiştir.

-*Desenden trunkus:* Orta juguler ganglionlara doğru inen bir yada iki desenden trunkus tiroid yan lobunun orta kısmında bulunur.

Orta ya da ön pedikül: Subglottik ağın bir kısmını drene ederler. Krikotiroid membranı deler ve üç trunkusa ayrılırlar. Bunlar prelarengeal ganglionlara doğru yükselen; pretrakeal ganglionlara doğru inen ve orta juguler ganglionlara doğru giden trunkuslardır.

Alt-arka pedikül: Subglottik dış ve arka lenf damarları krikotrakeal membranı geçerler ve *a.laryngea inferior* trasesini izlerler. Aynı tarafta *Guggenheim*'in rekürren zincirinin en üst ganglionlarına dökülürler. Buradan da substernal ve supraklavikuler ganglionlara giderler (23).

Larenksin lenfatik drenajında çapraz akım söz konusudur. Vestibulum lezyonları bilateral metastazlar yapabilir. Çünkü arka komissür seviyesinde birleşen iki vestibüler

sistem arasında sınır yoktur. Ön komissür lezyonları preepiglottik alan tutulumu sonrası tiroid cismi ve bu seviyede transvers lenf damarları yoluyla bilateral yayılma gösterebilirler. Sinüs piriformis lezyonları özellikle retrokrikoid bölgeyi tutabilirler (23).

Larenksin İnervasyonu

Larenksin motor ve sensitif sinirleri *n.vagus*'dan gelir. *N.vagus*'un yan dalı olan *n.laryngeus superior*'un *ramus externus* ve *internus* adını alan iki dalı vardır. *Ramus externus* hem motor, hem de sensitif lifler taşır. Motor lifler larenks kaslarından yalnız *m.cricothyroideus*'a gider. Sensitif lifleri ise larenksin üst kısmının mukozasına dağılır. *Ramus internus* ise yalnız sensitif lifler taşır ve larenksin üst kısmının mukozasına dağılır. Bu sinir recessus piriformis'de ilerlerken mukozayı kabartarak *plica nervi laryngici*'yi yapar.

N.vagus'un yan dalı olan *n.laryngeus inferior* (*n. recurrens*) da hem motor, hem de sensitif lifler taşır. Bu sinirin motor lifleri *m. cricothyroideus* hariç bütün larenks kaslarına gider. Sensitif lifleri ise larenksin alt kısmının mukozasına dağılır (11,16).

N.laryngeus inferior'un dalcıklarından biri *n.laryngeus superior*'un bir dalcığı ile anastomoz yaparak galen anastomozunu (*Ansa Galeni*) oluşturur (3).

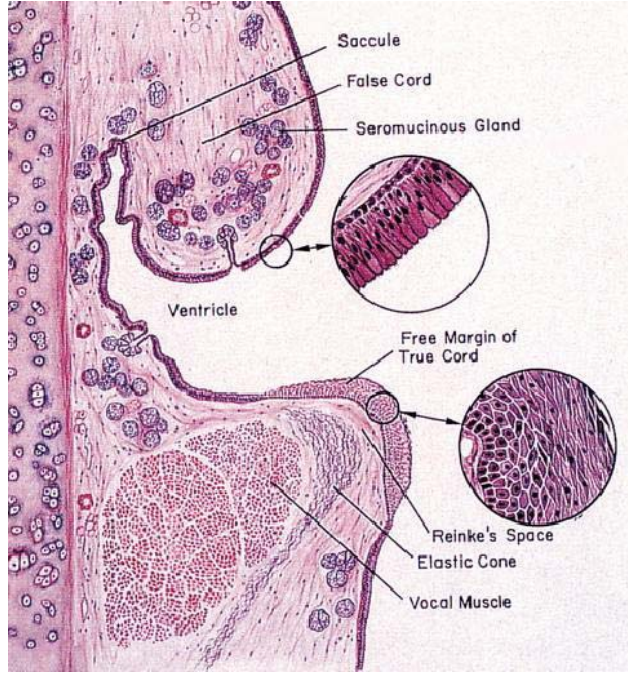
LARENKS HİSTOLOJİSİ

Mukoza ve subepitelyal yapılar epiglot posterior yüzü, kuneiform ve kornikulat kırıkdağlar ile vokal kord serbest kenarlarına sıkıca, diğer larengeal dokulara ise gevşek bir şekilde tutunmuşlardır. Epiglot 1/2 üst ve posterior yüzü, ariepiglottik plika, posterior komissür ve kord vokal serbest kenarları çok katlı yassı epitel ile döşelidir. Diğer larengeal yapılar psödostratifye silialı epitel ile örtülüdür. Subepitelyal dokudaki muköz bezler özellikle epiglot, ariepiglottik plika ve sakkülde yoğun miktarda bulunmaktadır. Bu da subepitelyal bir kanserin hızla kompartmanlar arasına yayılmasına neden olmaktadır (16,24).

Histolojik olarak vokal kordların serbest kenarları çok katlı yassı epitel ile örtülüdür ve bu superior ve inferiorda psödostratifye silialı epitele dönüşür. Bu alanlar ise sırasıyla supra ve subglottik sahaların başlangıç yeridir. Lamina propria'nın yüzeysel tabakası Reinke Alanı'nı yapan gevşek fibröz bir dokuya sahiptir (25) (Şekil 4). İntermedier ve derin tabakalar vokal ligamanı oluşturan elastik ve kollajen liflerden yapılmıştır. Reinke alanında kan damarları ve lenfatik ağ bulunmaz, bu da kanserin yayılmasına bir engel teşkil eder. Vokal kordların serbest kenarlarında muköz glandlar bulunmaz ve derin invazyon için kolaylık sağlamaz. *Conus elasticus* da krikoid üst kenarından başlayarak yükselir ve kordun

inferomedial yüzeyine tutunarak, kanserin subglottik ve ekstralarengeal yayılımını engeller (24).

Subglottik sahada bölümlenme şeklinde bir engel yoktur ve bu kanser yayılımında kolaylaştırıcı bir rol oynar. Subglottik muköz glandlar kanserin yüzey epitelinden, krikotiroid membran ve krikoid kıkırdağa doğru yayılmasına neden olmaktadır. Larenks mukozası yukarıda farenks, aşağıda trakea mukozası ile uzanır (16,22,24).



Şekil 4. Larenksin histolojik görüntüsü (25)

LARENKS KANSERİ

Larenks Kanseri İnsidans ve Etyopatogenezi

Larenks kanserleri erkekte tüm vücut kanserlerinin %2,3'ünü ve kadında ise %0,4'ünü oluşturur. Larenks kanserleri baş boyun kanserleri içinde ise %20-30 oranında bulunur ve en önde gelenidir. Erkeklerde daha fazla olup, kadın erkek oranı 1/5 dir. Larenks kanserleri en sık 45-70 yaşlar arasında görülür (ortalama 59 yaş) (3). Yirmi yaş altında nadir, çocukta ise çok nadirdir (26).

Değişik etyolojik faktörler arasında sigara ve aşırı alkol alımı başta gelmektedir. Sigara, özellikle glottik tümörler, alkol ise supraglottik-marjinal tümörler için etyolojik faktör niteliğindedir. Sigara ve alkol birlikte olduğunda kanser yönünden birbirinin etkilerini potansiyelize edecek tarzdadır (3). Larengofarengeal reflünün larenks karsinomlu olguların

bazısında saptandığı bildirilmiş ise de reflü ile karsinom arasındaki ilişki tam ispatlanmamıştır. Ancak olası risk faktörü olarak kabul edilmektedir (27).

Larenks habis tümörlerinin büyük çoğunluğu epitelyal kaynaklı yani karsinom türü tümörlerdir. Sarkomlar ise %1 oranında bulunur. Epitelyal habis tümörlerinin %96-98'i epidermoid karsinom türündedir. Diğerleri ise; verrüköz karsinoma, habis mikst tümör, karsinosarkom, adenoskuamöz karsinom, bazal hücreli karsinom, adenokistik karsinom ve adeno karsinomadır (3).

Larenks Kanseri Epidemiyolojisi

Larenks kanserlerine dünyada tüm ülkelerde rastlanır, ancak insidansda farklılıklar görülür. Tüm ülkelerde erkekler bu hastalığa daha sık yakalanmaktadır. ABD'de larenks kanser insidansı 100.000 erkekte 8,5, 100.000 kadında 1,3 olarak bulunmuştur (26).

Amerika Birleşik Devletleri'nde bir larenks kanserine karşılık 10 akciğer kanseri vardır. Bir çok ülkede, larenks kanser insidansı, akciğer kanser insidansı ile korelasyon gösterir. Larenks kanserlerinin yaklaşık %60'ı tümör larenks içindeyken, %25'i boyuna metastaz yaptığıında, %15 oranında ise tümör uzak metastaz yaptığıında teşhis edilir (26).

Türkiye'de hastaların %10'u 40 yaş altında iken, büyük çoğunluğu 50 yaş üzerindedir. Larenks kanserinin yaklaşık %76'sını oluşturan en büyük hasta grubu ise 51-80 arası yaş grubudur. Hastaların bölgelere göre dağılımı incelendiğinde ilk sırayı %51 oranıyla Marmara bölgesi alır (28).

Değişik ülkelerde larenksin farklı bölgelerinde tümör görülüm sıklığı değişmektedir. Supraglottik sahada Yugoslavya'da %60, İsveç'te %11, Finlandiya'da %22, Japonya ve çoğu Asya ülkelerinde %50 gibi oranlar saptanırken; glottik sahada Fransa'da %66, İngiltere ve Japonya'da %50, ABD'de %40-60 oranları saptanmaktadır. Subglottik bölgede oran %1-7 şeklindedir (29,30). Supraglottik bölgede; %75 epiglot ve ventriküler band, %20 ariepiglottik plikalar ve %5 oranda ventrikül ve aritenoid bölgelerinde görülür. Glottik tümörler sağ ve sol tarafta eşit olarak görülür. %95 oranında vokal kordlardan, %5'den azı anterior ve posterior komissürden gelişir (26).

Hindistan'da akciğer kanseri tüm kanserlerin %1'inden daha azını oluştururken, larenks kanseri tüm kanserlerin %7'sini oluşturur. Japonya'da 1960'lı yıllarda larenks kanseri insidansı %50 artmış ve tüm kanser ölümlerinin %0,7'sini oluşturmuştur. Supraglottik karsinomlar larenks kanserlerinin kadında %66'sını, erkekte %45'ini oluşturur. Avustralya'da

larenks kanser insidansı 100.000'de 3,4 olarak bulunmuştur. Bunların %25'i supraglottik yerleşimlidir (26).

Amerika Birleşik Devletleri'nde tanı konulan larenks kanserlilerin %60'ından fazlası 5 yıldan fazla yaşamaktadır. Yaş arttıkça ve hastalık ilerledikçe sağ kalım düşer (26).

Larenks Kanserinde Lokalizasyonun Önemi

Primer tümörün özelliklerinin bilinmesi tedavinin planlanmasında metastaz dışında en önemli faktördür. Parsiyel larenjektomi prosedürlerinden biri planlanıyorsa, tümörün tam olarak çıkarılarak cerrahi sınırın güvenli bir şekilde çıkarılacak dokuya dahil edilmesi ve bırakılan larenksin koruyucu mekanizmasının fonksiyonel olması gerekmektedir.

Supraglottik bölge: Supraglottik alanda yüzeysel anatomik bölgelerin haricinde ligaman ve kıkırdaklardan oluşmuş üç önemli majör kompartman vardır; median preepiglottik alan ve iki lateral paraglottik alan (29,30).

Mukozal yüzeyin kanserle tutulumu bazı araştırmacılara göre hastalığın lokalizasyonu ve büyüklüğü hakkında fikir vermesine rağmen, Welsh ve ark. (31)'nin yaptıkları bir çalışmada, endolarengeal mukozal hastalıkta tümörün büyüklüğü ile subepitelyal alanların invazyon derecesi arasında korelasyon bulunmadığını göstermiştir

Mukoza ve subepitelyal yapılar epiglot posterior yüzü, kuneiform ve kornikulat kıkırdaklar ile vokal kord serbest kenarlarına sıkıca, diğer larengeal dokulara ise gevşek bir şekilde tutunmuşlardır. Epiglot 1/2 üst ve posterior yüzü, ariepiglottik plika ve posterior komissür çok katlı yassı epitel ile döşelidir. Subepitelyal dokudaki muköz bezler özellikle epiglot, ariepiglottik plika ve sakkülde yoğun miktarda bulunmaktadır. Bu da subepitelyal bir kanserin hızla kompartmanlar arasına yayılmasına neden olmaktadır (16,24). Bu bölgenin lenfatik ağı çok zengindir ve asendan bir yolla kontralateral pasaja izin veren transversal bir yol ile arka komissür düzeyinde birbirleriyle birleşirler. Bu bölgenin lenfatik drenajı sinüs piriformisden gelenler ile devamlılık gösterir. Embriyolojik olarak da bu lenfatik alanı bir bölge veya boyundan ayıran füzyon olayının olmaması, her iki boyuna neden sık ve erken metastaz yaptığını açıklamaktadır (23,27,32).

Bu bölge içinde, suprahyoid epiglot ve ariepiglottik plika kanserlerinde boyun metastaz oranı %40, yalancı kordlarda %25 ve infrahyoid epiglotta %15 olarak saptanmıştır. Histopatolojik olarak tesbit edilen okült servikal metastazların marjinal zonda %20-38,

santral supraglottis lezyonlarda %14-16 arasında olduğu saptanmıştır. Tüm evreler ele alındığında, oranlar %25-75 arasında değişmektedir (33).

Supraglottisin *buccopharyngeal* primordiumdan (3-4.arklar) orta hatta birleşme olmadan oluştuğunun gösterilmesi, bilateral boyun hastalığı riskinin, orta hat bariyeri olmaması nedeni ile arttığını göstermiştir (27).

Klinik olarak supraglottik kanserli hastalar karşımıza ağrı ve yutma güçlüğü ile gelir. Ağrı iki şekildedir. Birincisi tam belirgin olmayan boğaz ağrısı, takılma ve kaşıntı tarzında olup, supraglottik tümörün erken belirtisidir. Diğeri *n.vagus* yoluyla kulağa yansıyan ağrıdır. Bu genellikle ariepiglottik plika ve sinüs piriformisin tutulması ile olur. Disfaji supraglottik bölge, sinüs piriformis ve dil kökü tümörlerinde görülür. Hastalar bunu boğazlarında takılma hissi, dolgunluk ve yabancı cisim duyumu gibi tarif ederler. Hipofarenks invazyonu ile superior larengeal sinir tutulumunda larenks anestezisi ve aspirasyon da görülebilir. İleri evre tümörlerde hemoptizi, ses kısıklığı ve dispne de meydana gelebilir (3).

Supraglottik tümörlerde tedavi yöntemleri; erken evre (T1-T2) olgularda radyoterapi, endoskopik laser ile rezeksiyon ve supraglottik hemilarenjektomi şeklinde olurken, ileri evre olgularda genişletilmiş supraglottik hemilarenjektomi, suprakrikoid parsiyel larenjektomi-krikohyoidopeksi (SCPL-CHP), ve total larenjektomi (TL) dir (17,27,33,34).

Erken ve bilateral boyun metastazı yaptıkları düşünüldüğü için bilateral boyun diseksiyonu planlanmalıdır (33).

Glottik bölge: Histolojik olarak vokal kordların serbest kenarları çok katlı yassı epitel ile örtülüdür ve bu superior ve inferiorda psödostratifye silialı epitele dönüşür. Buralar ise sırasıyla supra ve subglottik sahaların başlangıç yeridir. Lamina propria'nın yüzeysel tabakası Reinke alanı'nı yapan gevşek fibröz bir dokuya sahiptir. İntermedier ve derin tabakalar vokal ligamanı oluşturan elastik ve kollajen liflerden yapılmıştır. Reinke alanında kan damarları ve lenfatik ağ bulunmaz, bu da kanserin yayılmasına bir engel teşkil eder. Ayrıca vokal kordların serbest kenarlarında muköz glandlar bulunmaz ve derin invazyon için kolaylık sağlamaz. *Conus elasticus* da krikoid üst kenarından başlayarak yükselir ve kordu inferomedial yüzeyine tutunarak, kanserin subglottik ve ekstralarengeal yayılımını engeller (21,24,33).

Boyun metastazı açısından glottik kanser relatif olarak daha az risk taşır. Tüm evreler için T1 lezyonda %5'ten az, T2'de %5-10, T3'de %10-20, T4'de %25-40 oranında boyuna metastaz riski mevcuttur (33).

Cerrahi tedavide evresine göre uygulanan tedavi yaklaşımları şunlardır: Radyoterapi, endoskopik kordektomi, larengofissür kordektomi, frontolateral parsiyel larenjektomi (Leroux-Robert), frontal-anterior parsiyel larenjektomi (Tucker), horizontal glottektomi (Calearo), suprakrikoid parsiyel larenjektomi krikohyoidoepiglottopeksi (SCPL-CHEP), near total larenjektomi ve TL'dir (22,27,33,34).

Tüm bu operasyon teknikleri lezyonun yeri, büyüklüğü, lokal yayılımı, preepiglottik ve paraglottik alan tutulumları, tiroid kıkırdak invazyonu ile birlikte hastanın genel durumu, yaşı ve psikososyal yapısı göz önüne alınarak, boyun diseksiyonu ile birlikte veya hariç uygulanır.

Subglottik bölge: Primer subglottik kanserin nadir olması (%1-8) dolayısıyla kanserin invazyon özelliklerini açıklayıcı çalışmalar azdır (33,35).

Subglottik bölgenin lenfatik ağı supraglottik bölgeye göre göreceli olarak daha az gelişmiş olup, trakeal lenf ağı ile devamlılık gösterir. Dolayısıyla geniş bir cerrahi sınır bırakmak gereklidir (23,33).

Embriyolojik olarak subglottik bölgenin orta hatta birleşme (füzyon) olmadan trakeobronşial arkta meydana gelmesi, orta hat bariyeri olmamasına sebep olup, kanser yayılımını kolaylaştırır (27,35).

Bu bölge kanserleri uzun süre semptom vermemekle birlikte en sık dispne ve seste değişiklik ile karşımıza çıkarlar. Glottik sahaya yayılma sonucu ses kısıklığı oluşabilir. Bu hastalarda bir dönem öksürük ve hemoptizi görülebilir. Direkt yayılım ile post-krikoid sahanın tutulması disfaji ve odinofajiye neden olabilir (3).

Çalışmalar az olmakla birlikte servikal lenf nodülü tutulumunun %20 veya daha az olduğunu göstermektedir. Ancak bazı araştırmacılar paratrakeal ve mediastinal lenf nodülü tutulumunun %46-65 arasında değiştiğini belirtmektedir (36).

Subglottik sahanın *conus elasticus* gibi özel histolojik yapısının hem kanseri engelleyecek özellikte olmaması, hem de bu yapının *Broyle's* ligamanı ile ilişkisi dolayısıyla parsiyel larenjektomi yapılamaz. Tedavide seçkin modalite TL ve paratrakeal lenf nodülleri ile birlikte boyun diseksiyonudur. Primer radyoterapi de sınırlı olarak başarı sağlar (33,37).

Evreleme

Larenks kanseri tanısı konduktan sonra, hastaların prognozları hakkında sağlıklı bir yaklaşımda bulunmak, en etkili tedavi yöntemini belirleyebilmek ve alınan tedavi

sonuçlarının bilimsel kıyaslamasını yapabilmek için, hastalığın anatomik yaygınlığının saptanması yani evrelendirilmesi gerekir. Larenks karsinomu evrelemesi için, primer tümörün büyüklüğü ve yayımına (T), bölgesel lenf bezi tutulumuna (N), uzak metastaz varlığına (M) dayanan TNM sınıflaması yapılmıştır (Tablo 1) (38).

ANJİYOGENEZİN TEMEL MOLEKÜLER MEKANİZMALARI VE TÜMÖR ANJİYOGENEZİ

Anjiyogenez karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir. Ekstraselüler matriks ve matriksi çevreleyen hücrelerden salınan büyüme faktörleri, sitokinler ve bunların reseptörleri anjiyogenezde temel rol oynarlar (39,40). Endotel hücreleri, anjiyogenezde rol oynayan ana hücrelerdendir (41). Anjiyogenezde yer alan moleküller, tümör hücreleri, monosit, makrofaj, fibroblast, mast hücresi, trombosit gibi ortamdaki diğer hücrelerden kaynaklanır veya kollajen matriksin yıkımı ile açığa çıkarlar (42). Henüz tüm anjiyogenik etkileşimlerin niteliği açıklanamamıştır. En büyük olasılık anjiyogenik uyarıcılar ve anjiyogenez inhibitörleri arasındaki dengenin, normalde damarsal bileşenlerin sessiz halde kalmalarını sağlamasıdır. Anjiyogenik uyarıların artışı ve anjiyogenez inhibitörlerinin azalışı anjiyogenezi başlatmaktadır (43). Temel anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler Tablo 2’de gösterilmektedir (44).

Tablo 1. Larenks kanserinde uluslararası TNM sınıflaması (38)

PRİMER TÜMÖR (T) T ₀ : Primer tümörü gösteren bulgu yok T _{is} : İn situ kanser.
Supraglottis
T ₁ : Unilateral, supraglottisin bir bölgesine sınırlı.
T ₂ : Supraglottik bölge dışında birden fazla alt bölge tutulumu olan veya glottik bölge tutulumu vallengula, piriform sinüs medial duvarı gibi komşu bölge tutulumu. Kord mobilitesi normal
T ₃ : Vokal kord fiksasyonu veya preepiglotik boşluk, postkrikoid bölge, paraglottik alan tutulumlarından birisi varsa.
T _{4a} : Tiroid kıkırdak veya nonlaringeal doku tutulumu (trakea, özefagus, tiroid, strep kaslar) T _{4b} : Prevertebral aralık, karotis arter yada mediastinal yapıların tutulumu
Glottis
T ₁ : Vokal kord(lar) ile sınırlı (anterior veya posterior komissürü tutabilir), mobilite normaldir. T _{1a} : Tekbir kord vokal tutulumu T _{1b} : Her iki kord vokal tutulumu
T ₂ : Tümör supraglottis veya subglottise yayılmış veya vokal kord mobilitesi bozulmuş.
T ₃ : Vokal kord fikse durumdayken larenks dışına çıkmamış tümör veya paraglottik boşluğu invaze etmiş veya minör tiroid kıkırdak erozyonu mevcut
T _{4a} : Tiroid kıkırdak veya nonlaringeal doku tutulumu (trakea, özefagus, tiroid, strep kaslar) T _{4b} : Prevertebral aralık, karotis arter ya da mediastinal yapıların tutulumu
Subglottis
T ₁ : Subglottise sınırlı.
T ₂ : Vokal korda yayılmış, vokal kord hareketi normal ya da kısıtlı.
T ₃ : Tümör larenkste sınırlı. Vokal kord fiksasyonu mevcut.
T _{4a} : Tiroid ve krikoid kıkırdak veya nonlaringeal doku tutulumu (trakea, özefagus, tiroid, strep kaslar) T _{4b} : Prevertebral aralık, karotis arter yada mediastinal yapıların tutulumu
NODAL TUTULUM (N)
N ₀ : Bölgesel lenf nodlarında metastaz olmaması.
N ₁ : Tek taraflı 3 cm den küçük lenf nodu.
N _{2a} : Tek taraflı 3 cm den büyük 6 cm den küçük lenf nodu. N _{2b} : Tek taraflı multipl 6 cm den küçük lenf nodları. N _{2c} : Bilateral veya kontralateral birden fazla 6 cm den küçük lenf nodları.
N ₃ : Tek ya da birden fazla 6 cm den büyük lenf nodu.
UZAK METASTAZ (M)
M ₀ : Uzak metastazın olmaması.
M ₁ : Uzak metastazın olması.

Tablo 2. Temel anjiyogenik ve antianjiyogenik moleküller (44)

Anjiyogenez uyarıcıları	Anjiyogenez inhibitörleri
VEGF-A	Plasminojen
VEGF-C	Tümör nekrozis faktör α (TNF α)
Fibroblast büyüme faktörü (FGF)	Fibronektin
Anjiopoiyetin-1	Alfa-2 antiplasmin
Nitrik oksid (NO)	β -thromboglobulin
Hepatosit büyüme faktörü (HGF)	Endostatin
İnsülin benzeri büyüme faktörü -1 (IGF-1)	Trombosit faktör 4 (TF4)
Epitelial büyüme faktörü (EGF)	İnterlökin 1 ve 12 (IL1-IL12)
Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri(PDGF)	Doku metalloproteinaz inhibitörleri
Glikozaminoglikanlar (GAG)	İnterferon α , β , γ
Plasental büyüme faktörü (PGF)	Heparin
İnterlökin 6 ve 8 (IL6-IL8)	Epidermal büyüme faktörü fragmanı
Transforming growth faktörleri (TGF α - β)	Antitrombin III fragmanı
İnsülin	Kortikosteroidler
Tiroid hormonları	Eritropoietin
ELR pozitif kemokinler	ELR negatif kemokinler

ELR: glutamik asid – lösin- arginin, VEGF: vasküler endotelial growth faktör

Yeni damar oluşumu aşağıda belirtilen olayları kapsayan çok basamaklı bir süreçtir:

Bazal Membranın Proteolitik Enzimler Tarafından Yıkılması

Anjiyogenez süreci damar endotelini döşeyen kolajen, laminin gibi glikoproteinlerden ve heparan sülfat gibi proteoglikanlardan oluşan bazal membranın proteolitik yıkımı ile başlar (45). Endotel hücreleri göç etmek ve çoğalmak üzere uyarıldığında membran ve hücreler arasında bir bölünme meydana gelir. Normalde, endotel hücreleri yayılma etkisi göstermeyen tek bir tabaka oluştururlar. Ancak anjiyogenez sırasında çoğalıp yayılma gösterirler. Normal, hastalıklı ya da hasarlı dokularda üretilip salgılanan anjiyogenik büyüme faktörleri komşu dokulara difüzyon yolu ile geçer. Anjiyogenik büyüme faktörleri yakınındaki önceden var olan kan damarlarının endotel hücrelerinde bulunan özgün reseptörlere bağlanırlar. Büyüme faktörleri tarafından aktive edilen proteolitik enzimler bazal membranın ve endotel hücrelerini döşeyen ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin

yıkımına neden olur. ECM'nin enzimatik yıkılımını, endotel hücrelerinin uyarılması ve kapiller filizlenme izler. Endotel hücrelerinin invazyon ve göç süreçleri, plazminojen aktivatör (PA) ve matriks metaloproteinaz (MMP) sisteminin işbirliği içinde aktive olmasını gerektirir (46).

Endotel Hücrelerinde Göçme ve Çoğalma

Anjiyogenik uyarı, proteolitik yıkım ile kısa bir süre sonra endotel hücrelerini aktive eder. Endotel hücreleri ekstraselüler matrikse göç eder ve çoğalır. Bu süreçte en etkili anjiyogenik VEGF'dir (47).

Kapiller Oluşumu ve Damar Olgunlaşması

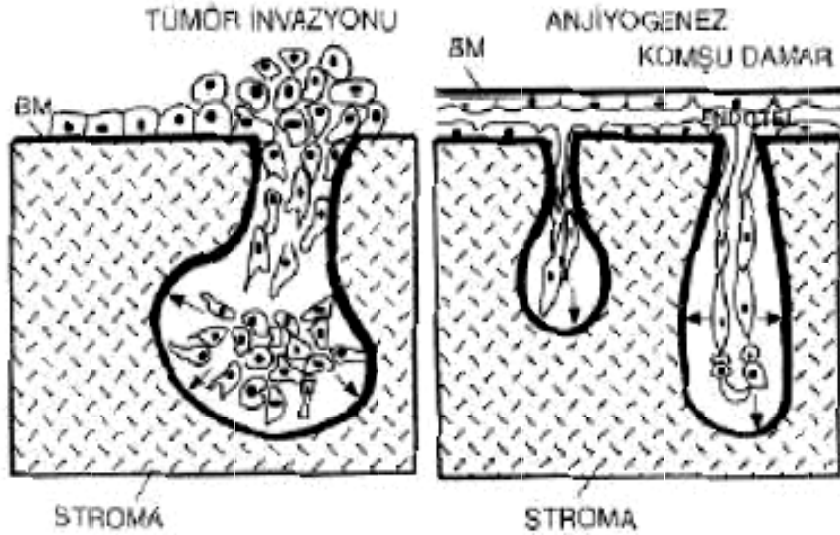
Endotel hücre çoğalmasından sonra ECM bileşenlerinin depolanması ve bir araya getirilmesi için ekstraselüler proteoliz mutlaka lokal olarak inhibe edilmelidir. Kapiller filizlenme oluşuktan sonra yine bu filizlenmenin ucunda yeni oluşmuş ECM'de yıkılma ortaya çıkar ve bu sayede daha ileri yayılımı mümkün olur. ECM proteolizinin birbirini sırayla izleyen aktivasyon ve inhibisyonları sonucunda kapillerler oluşur. Proteolitik yıkılma ve endotel hücresi göçünden sonra yeni oluşan kapillerler, yeni bazal membranı oluştururlar. Damar olgunlaştıktan ve uygun anjiyogenez ortaya çıktıktan sonra anjiyogenik faktörlerde azalma görülürken, anjiyogenez inhibitörlerinde artış gözlenir. Böylece endotel hücreleri sessiz bir hale bürünür ve damarlar kan akımını başlatmaya hazır hale gelmiş olur (48).

Tümör Gelişimi ve Anjiyogenez

Kanser hastalarında tedavinin yetersiz olmasının en büyük nedeni tümör invazyonu ve metastazdır. Metastaz primer tümörün en erken oluşum evresinden itibaren başlar ve zaman içinde tümörün büyümesine paralel olarak büyür. Tümörler histolojik tiplerine göre farklı metastaz gücüne sahiptirler. Pek çok epitel kökenli tümörde, tümör hücresinin yayılımı tümörün damarlanmasından kısa bir süre sonra meydana gelmektedir. Tümör oluşumu pozitif yönde (aktive onkojenler, büyüme faktörleri, proteazlar, motilite sitokinleri) ve negatif yönde (tümör baskılayıcı genler, büyüme faktör inhibitörleri, metastaz baskılayıcı genler, proteaz inhibitörleri) etkili olan elemanların pozitif yönde doğru kaymaları sonucunda meydana gelir (49).

Metastaz oluşumunda ise tümör hücreleri, önce primer tümör bölgesinde çoğalır, interstisyel stromaya girer, buradaki kan-lenf damarları yoluyla dolaşıma katılırlar. Dolaşıma

katılan tümör hücreleri hedef organa ulaşarak, hedef organın prekapiller venüllerinde endotel bazal membranına penetre olarak metastatik kolonileri başlatırlar (49) (Şekil 5).



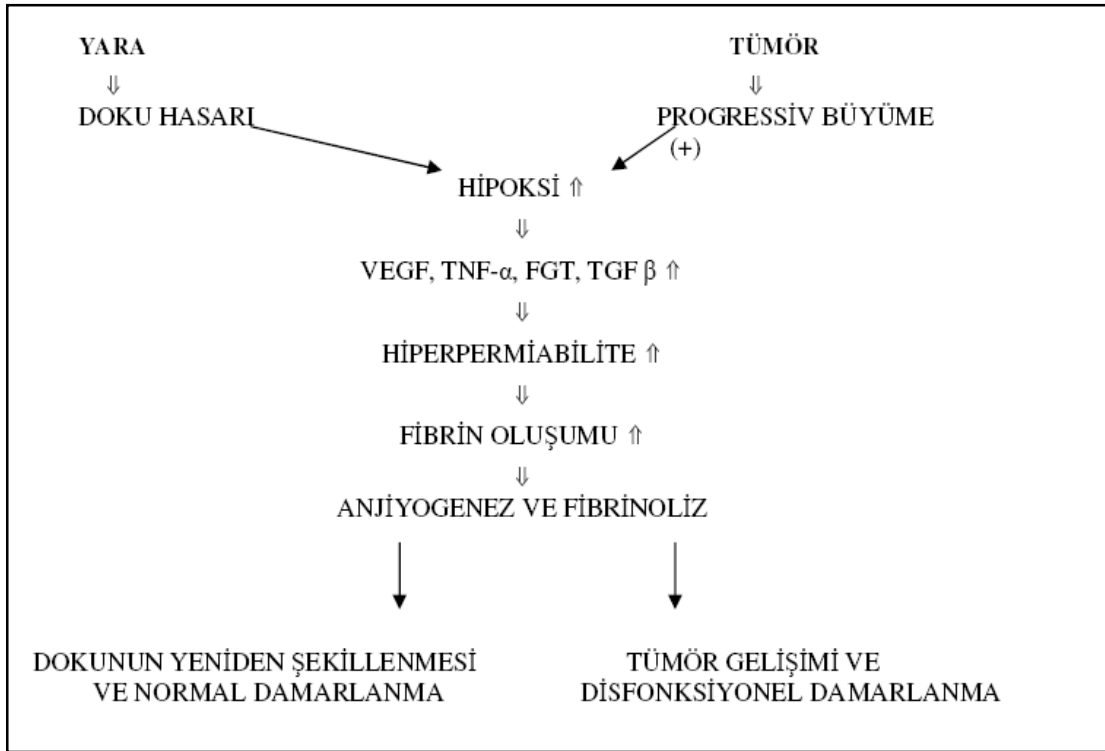
Şekil 5. Metastaz oluşumu (49)

BM: Bazal membran

Tümörler yeni damar yapımını gerçekleştiremedikleri takdirde etraf damarlardan difüzyonla beslenir ve en fazla $0,5 -1/cm^3$ 'lük hacme kadar büyüeyebilirler. Bu hacimden sonra çoğalmaları ve metastaz yapabilmeleri için anjiyogenez gereklidir (50) Tümör anjiyogenezinin düzenlenmesi normal fizyolojik anjiyogeneze göre farklılık göstermektedir (51) (Şekil 6). Hipoksi, VEGF ve reseptörlerinin yapımını uyararak anjiyogenezi başlatan etkili uyarıların başında gelir. Artan tümör kitlesi ile birlikte gelişen hipoksi tümör hücrelerinden VEGF ekspresyonunu artırmakta ve anjiyogenezisi dahada ilerletmektedir (52).

İnsan tümörlerinin çoğu tanı konulduğunda neovaskülarizedir. Ancak deneysel ve klinik veriler bu tümörlerin aylarca ve yıllarca anjiyogenik olmadan kalabileceğini göstermektedir (53). Tümörler, kapillerleri çekebilecek mi, kan akımı ile bağlantı sağlayabilecek mi sorusunda en belirleyici faktör kritik lokal dengenin anjiyogenik faktörler lehinde bozulmuş olması ile açıklanabilmektedir (54). Bir ya da birden fazla anjiyogenik büyüme faktörleri belirgin olarak aşırı eksprese olmadıkça tümör büyümesinin gerçekleşmeyeceği gösterilmiştir (55). Anjiyogenezi uyarmak için yalnızca anjiyogenik faktörlerin artması yeterli olmayıp, tümörün anjiyogenik özellik kazanması için anjiyogenez

inhibitörlerinin de azalması gereklidir (56). Vaskülarize bir tümörde tüm tümör hücreleri anjiyogenik değildir. Çok iyi vaskülarize tümörlerde bile mikrodamar dansitesinin düşük olduğu alanlar ve yüksek olduğu alanlar gözlenir ve anjiyogenik aktivite heterojendir. Tümör popülasyonu genişledikçe de anjiyogenik özellik kazanmış tümör hücre varyantlarının oluşma ihtimali artar (57). Anjiyogenezin tümörün yayılmasındaki rolünün yanı sıra metastazı kolaylaştırdığı varsayımını destekleyici, deneysel ve klinik kanıtlar bulunmaktadır (58). Bir tümör hücresinin başarıyla metastaz yapabilmesi için; damar sistemine girmek, dolaşımda canlı kalabilmek, hedef organın mikrodamarlarında duraklayabilmek, damar sisteminden dışarı çıkabilmek, hedef organda büyüebilmek ve anjiyogenezi uyarmak gibi çeşitli bariyerleri aşabilmesi gereklidir (59). Deneysel çalışmalarda, yeniden damarlanmadan önce, tümör hücrelerinin nadiren dolaşıma girdikleri gösterilmiştir (60). Tümör hücresi anjiyogenik iken metastaz yaparsa, saptanabilir tümör oluşturma ihtimali daha fazladır (61). Tümör hücrelerinden salınan fibroblast büyüme faktör ve VEGF gibi anjiyogenik maddelerin endotel hücrelerinden ekstrasellüler matriksi eritebilme yeteneği olan proteaz, plazminojen aktivatörleri ve kollajenazların yapımını arttırarak invazyon ve metastazı kolaylaştırdığı gösterilmiştir (62).



Şekil 6. Normal doku onarımı ve tümörlerde anjiyogenezi uyaran ortak yollar (51)

VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ AİLESİ

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süper ailesinin üyesi olan vasküler endotel büyüme faktörü ailesi, endotel hücreleri için özgüdür ve önemli etkileri vardır (63).

Vasküler Endotelyal Growth Faktör Aile Üyeleri ve Moleküler Yapıları

Vasküler Endotelyal Growth Faktör 46 kDa ağırlığında, homodimerik, heparin bağlı glikoprotein yapısında bir moleküldür (64). VEGF A, B, C, D, E, plasental büyüme faktörü (PIGF) ve yakın zamanda yılan zehirinde bulunmuş VEGF-F adı verilen yedi üyeden oluşmaktadır (65). Bu alt gruplar; endotel proliferasyonu, in vitro migrasyon ve in vivo permeabilite açısından benzer özellikler gösterirler (66).

1) VEGF-A: Bazı yazılarda sadece VEGF olarak adlandırılmaktadır (67). VEGF-A'nın içerdiği aminoasit sayılarına göre; VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF189 ve VEGF206 olmak üzere altı adet izoformu vardır (68).

2) VEGF-B: Başlangıçta VEGF-A ile %23'ü homolog olan bir sinyal peptidinin bölünmesinden sonra, 186 aminoasitli bir protein olarak oluşur.

3) VEGF-C: VEGF-benzeri protein olarak da bilinir. VEGF-A ile %16'sı benzeyen 388 amino asitten oluşmuştur.

4) VEGF-D: 334 aminoasitten oluşan ve VEGF-A'ya %31 oranında aynı amino asitler içeren bir proteindir. VEGF-C ile benzer işlevler yapar (69).

5) VEGF-E: VEGF-A ile amino asit dizilimi %25 oranında aynı olan bir polipeptittir. Güçlü bir mitojen ve permeabilite arttırıcı faktördür.

6) Plasental büyüme faktörü (PIGF): VEGF ailesinin tanımlanan ilk üyesidir. VEGF-A ile %37'si benzeyen 152 aminoasitten oluşmuştur (70).

7) VEGF-F: VEGF'nin yapısına çok benzeyen, yılan zehirinde bulunmuş bir moleküldür. Bu yeni bulunan molekülün anjiyogenezi VEGF-A'dan 10 kat daha az arttırmasına rağmen, vasküler geçirgenliği şiddetle arttırdığı bildirilmiştir (65).

Vasküler Endotelyal Growth Faktör Reseptörleri

Vasküler Endotelyal Growth Faktör ailesinin etkilerini gösterebilmesi için, endotel hücreleri üzerinde bulunan özgün transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanması gerekir (71). Bu reseptörler; Tablo 3'te gösterilmiştir (72). VEGF reseptörleri özgül ligandına bağlandığında dimerizasyona uğrayarak aktifleşir. Aktif hale gelen VEGF reseptörleri hücre

içerisinde sinyal iletisi sağlayan bazı proteinleri fosforile eder. Bu olay da ikincil habercilerin oluşmasına katkıda bulunarak, mesajın hücre içinde taşınmasına olanak sağlar (73).

Tablo 3. Vasküler endotelial growth faktör reseptörleri, ligandları ve etkileri (72)

Reseptörler	Büyüme Faktörleri	Biyolojik etkileri
VEGFR-1	VEGF-A, B, F, PlGF	Hücre-hücre ve hücre-matriks ilişkisinin kontrolü, vaskülogenez ve tuzak reseptör
VEGFR-2	VEGF-A, C, D, E, F	Anjiyogenez, proliferasyon ve migrasyon
VEGFR-3	VEGF-C, D	Lenfanjiyogenez, lenfatik metastaz
sVEGFR-1	VEGF-A, B, F, PlGF	VEGFR-1'in kompetitif inhibitörü
sVEGFR-2	VEGF-A, C, D, E, F	sVEGFR-1'e benzer etki (araştırmalar sürüyor)

VEGFR : Vasküler endotelial growth faktör reseptörü, **PlGF**: Plesental büyüme faktörü

Vasküler Endotelial Growth Faktör Yapımı ve Salınımı

Vasküler Endotelial Growth Faktör trombositlerde 10^6 hücrede 0.56 pg konsantrasyonunda bulunur. VEGF'nin iki izoformu VEGF-A ve VEGF-C trombositlerde bulunur (74). VEGF'nin yetişkinde; akciğerde alveolar hücrelerde, böbrek glomerüllerinde, adrenal korteksin tüm hücrelerinde, testiste testosteron üreten leyding hücrelerinde sentezlendiği gösterilmiştir (75). VEGF'nin gösterilmesi için yapılan immunositokimyasal çalışmalarda aktive makrofajlarda, arteriollerini çevreleyen fibroblastlarda, akciğer bronşiyol epitelinde ve renal glomerül visseral epitelinde de varlığı gösterilmiştir (76). Düşük glukoz düzeyi, oksidatif stres ve özellikle hipoksik ortamda düzeyi hızla artan hypoxia-inducible transcription factor-1 (HIF-1)'de VEGF salınımında etkili rol oynamaktadır (77)

Vasküler Endotelial Growth Faktörün İşlevleri

Vasküler Endotelial Growth Faktör, endotelial hücre büyümesinde rol oynayan anjiyogenik bir faktördür. Damar permeabilitesini de artırıcı rolü vardır. Endotele özgü mitojenik faktör olarak etki gösterir. Endotel hücrelerinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differensiasyonuna yol açar, kemik iliğinden endotelial öncü hücrelerin periferik dolaşıma

geçmesinde de önemli rol oynar (78,79). VEGF, anjiyogenez sırasında dokular içine ilerleyen kapillerlerin penetrasyonunu sağlayan kollajenaz ve plazminojen aktivatörlerinin ekspresyonuna da yardımcı olur (80). Vasküler endotel hücrelerin non-mitojenik cevaplarından olan kemotaktik olaylarda VEGF'in önemli rolü olduğu gösterilmiştir (81). İnflamasyon esnasında vasküler permeability; histamin, bradikinin, lökotrien-B4, lökotrien-C4 ve lökotrien-E4'den daha etkili arttırabilir (82). VEGF bu etkilerine ek olarak, inflamasyonun geç dönemlerinde etkili olan monositler için güçlü bir kemotaksindir. Monosit ve makrofaj kökenli sitokinlerle birlikte endoteliyal doku faktörünün artışı sağlayarak, pıhtılaşmanın ana bileşenleri arasına girer. Bunun yanısıra, granülosit-makrofaj öncül hücrelerin koloni oluşturmalarını sağlar (80). VEGF'nin yapılan bazı çalışmalarda; endotel hücrelerden ICAM-1, VCAM-1 ve P selektin gibi önemli bazı adezyon moleküllerinin yapımını arttırdığı görülmüştür (82). Bu moleküller sayesinde nötrofil, monosit ve doğal öldürücü (natural-killer; NK) hücreler damar dışına çıkmak için endotel hücrelerine yapışmaktadır (83). VEGF, endotel hücrelerinden mast hücre aktive edici faktörler salgılanmasını uyararak mast hücrelerinin de adezyonuna yardım etmektedir (84).

Yararlı etkilerinin yanında, VEGF yapımının artması bazı hastalıkların ilerlemesine de sebep olur. Bunun en önemli örneği tümör büyümesi ve yayılmasıdır. Büyüme eğiliminde olan solid tümörlerin anjiyogeneze bağımlı oldukları, bu yüzden VEGF salgıladıkları bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, hem tümör hücrelerinde VEGF'ye ait mRNA'ların arttığı, hem de tümöre komşu endotel hücrelerinde VEGF reseptörlerine ait mRNA'larının arttığı gösterilerek; tümör anjiyogenez, tümör büyümesi ve hematogen yolla yayılmasında VEGF'nin önemli rolü olduğu belirlenmiştir (85).

Lenfanjiyogenez; doku hasarının ardından veya lenfatik damar hasarının ardından oluşan lenfatik damar büyümesidir (86). Fizyolojik veya patolojik olarak oluşur (yara iyileşmesi, inflamasyon, tümör lenfanjiyogenez ve tümör metastazı) (87). VEGFR-3 lenfanjiyogenezde kilit rol oynar. VEGF-C ve VEGF-D, VEGFR-3'ün fosforilasyonunu sağlayarak lenfatik damarların büyüme ve farklılaşmasını düzenler (88). VEGF-C, küçük bir öncül molekül olarak üretilir. Daha sonra proteolitik enzimler tarafından N ve C terminal uçları uzaklaştırılarak işleme uğrar. Olgun VEGF-C, VEGF-C'nin işlem görmüş 21 kDa ağırlığındaki aktif formudur (89). Bu olgun formdaki VEGF-C, tüm VEGF-C üreten hücrelerde tespit edilemez ve kısmi işleme uğramış formların benzer düzeylerde salınıp salınmadığı açık değildir (89). VEGF-C'nin tümörü çevreleyen stromal hücrelerden ve tümör ilişkili makrofajlardan büyük miktarlarda ekspresyonu bildirilmiştir (90). Yakın zamanda

yapılan bir çalışmada kolorektal kanserli hastalarda indirekt ELİSA yöntemi kullanılarak VEGF-C protein düzeyi ölçülmüştür (91). Bu çalışmada kolorektal kanserli hastalarda, sağlıklı bireylere göre VEGF-C düzeyi üç kat yüksek bulunmuştur. Akciğer, meme, prostat ve mide kanseri ile yapılan klinikopatolojik çalışmalarda, VEGF-C ve VEGF-D'nin insan tümör hücreleri tarafından ekspresyonu ile tümör progresyonu ve metastatik tümör yayılımı arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (92,93). Ancak bunun aksini ifade eden bir çalışmada; primer meme kanserli hastaların tümör dokusunda artmış VEGF-C düzeyinin, daha düşük dereceli tümör, daha küçük tümör boyutu ile ilişkili olduğu, nodal tutulum ve damar invazyonu ile VEGF-C ve VEGFR-3 protein düzeylerinin ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir (94). Bu çalışmada tümör dokusunda artmış VEGF-C düzeyleri, hastalıktan bağımsız sağ kalım ve genel sağkalım ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur. Yapılan çok yönlü analizde VEGF-C'nin, primer meme kanserli hastalarda bağımsız bir prognostik gösterge olduğu saptanmıştır. Literatürde VEGF-A'nında tümör lenfanjiyogenezinde rolü olduğu bildiren çalışma vardır (95). Tümör kökenli VEGF-A'nın, tümör daha metastaz yapmadan tümörün drene olduğu lenf düğümlerinin içindeki lenfatik ağın genişlemesini teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, VEGF-A'nın VEGF-C'yi salan inflamatuvar hücreleri ortama çekmesinin, lenfanjiyogeneze dolaylı yoldan bir katkı sağladığı da düşünülmektedir.

Anti Vasküler Endotelial Growth Faktör Tedavi Yöntemleri

VEGF'nin endotel hücreleri üzerinde bulunan transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanması ile tetiklenen sinyal yolu, birçok seviyede farklı açılardan inhibe edilerek, VEGF'nin etkinliği önlenmektedir. Rekombinant insan monoklonal VEGF antikoru olan Bevacizumab ile yapılmış randomize faz III çalışmalarda, metastatik kolorektal kanserli hastalarda geleneksel tedaviye kıyasla klasik IFL (İrinotekan-Fluourasil-lökoverin) tedavisiyle kombine edildiğinde hastalarda yaşam süresinin arttığı, tümör progresyonunda azalmanın olduğu ve tromboembolik komplikasyon da herhangi bir artış olmadığı bildirilmiştir (96). Bevacizumab, metastatik kolorektal kanserli hastaların tedavisinde kullanılmaktadır. Bunun dışında, VEGF reseptörlerine yönelik tedaviler (VEGFR-1 ve VEGFR-2 inhibisyonu) ve VEGF reseptör tirozin kinaz inhibitörleri (SU5416, SU6668, SU11248, PTK787/ZK22854) gibi anti VEGF stratejileri geliştirilmiştir (97,98). Bu tedavilerin faz I ve faz II çalışmaları devam etmekte olup olumlu sonuçlar elde edilmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız, Kasım 2008-Aralık 2009 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalında, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, Patoloji Ana Bilim Dalı ile birlikte yapılmıştır. Çalışmamız prospektif kohort (gözlem) çalışması olarak planlandı. Çalışma öncesinde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı (Ek 1) ve çalışma döneminde hastaların ve kontrol grubunun yazılı onayı alındı (Ek 2). Çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca (TÜBAP proje no; 2009/54) (Ek 3) desteklendi.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği'nde patolojik olarak skuamoz hücreli larenks kanseri tanısı alan 33 hasta ile 13 kişiden oluşan sağlıklı kontrol grubu çalışmaya alındı. Hastaların tedavi öncesi; yaş, cinsiyet gibi demografik verileri ve hastalığının histopatolojik alt tipi, klinik olarak baş boyun muayene bulguları ve larenks muayenesi bulguları kayıt edildi.

Çalışmamızda, larenks skuamoz hücreli karsinomu tanısı alan, cerrahi tedavi planlanan ve bu tedaviyi kabul eden hastalar yer aldı. Aktif enfeksiyonu, kronik hastalığı olmayan sağlıklı gönüllü bireyler kontrol grubunu oluşturdu. Çalışmamızda daha önce herhangi bir kanser nedeni ile kemoterapi (KT) ve/veya radyoterapi (RT) görmüş ya da cerrahi tedavi uygulanmış hastalar, postoperatif 6. aydan önce hastalığı ya da başka nedenden dolayı ölen hastalar, onam formunun doldurulmasını engelleyen nörolojik veya psikiyatrik bozukluğu olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Evrelendirme ve Tedavi Planı

Hastaların evrelendirilmesi, larenks kanserli hastalarda TNM evrelemesi; American joint committee on cancer 2003 kriterlerine göre yapıldı (38). Her hastanın tümör büyüklüğü ve yayılım (T) durumu, bölgesel lenf bezi tutulum (N) durumu, uzak metastaz varlığı (M) belirlenip kaydedildi. Tümör yayılımı (T) ve lenf nodu pozitifliği (N): postoperatif patoloji raporlarına göre ve muayene bulguları ile belirlendi. T evresine göre daha homojen gruplar oluşturuldu. Buna göre T1 ve T2 evre tümörlü hastalar erken evre, T3 ve T4 evreli hastalar ise ileri evre kabul edilerek olgular 2 gruba ayrıldı. Hastaların primer cerrahi tedavileri hastalığın evresi, yaş ve akciğer kapasitelerine göre, tümörün yerleşim yeri, boyun muayenesinde kitle varlığına göre boyun diseksiyonu cerrahi prosedüre eklendi. Cerrahi sonrası postoperatif patoloji sonucuna göre (cerrahi sınırdaki tümör pozitifliği, boyun lenf nodlarına metastaz, boyun lenf nodlarında ekstrakapsüler yayılım göz önünde bulundurularak) ilgili hekimlerin endikasyonu alınarak hastaların tamamlayıcı tedavileri planlandı. Buna göre cerrahi sınırdaki tümör pozitifliği, boyun lenf nodlarına metastazı olan, boyun lenf nodlarında ekstrakapsüler yayılım olan hastalar cerrahi sonrası tek başına RT ya da KT + RT kombine tedavisi aldı.

Hastaların Takibi

Olguların takip süresi için operasyon sonrası 1. gün takip süresinin başlangıcı olarak alındı. Olgular postoperatif dönemde ayda 1 kez kontrole çağrıldı. Altıncı aydaki kontrollerine aç olarak gelmeleri istendi ve bu kontrollerinde kan örnekleri alındı.

Kan Örneklerinin Toplanması

Olgulardan operasyon sabahı ve operasyon sonrası 6. ayda kontrole çağrılarak 08:00-10:00 saatleri arasında, açlık durumunda, antekubital bölgeden 10 ml, 1/9 sitrat kan oranında kan örneği ve 5 ml antikoagülsüz kan örnekleri alındı. Alınan kanlar 3000 g 'de 10 dk. santrifüj edilerek plazma ve serum örnekleri ayrıldı. Her örnekten 0.5 ml 'lik plazma ve serum örnekleri eppendorf tüplere konularak çalışılncaya kadar -80°C derin dondurucuda bekletildi.

Kan Örneklerinin Çalışılması

Olguların plazmaları derin dondurucudan çıkarılıp çözdürüldükten sonra, VEGF-A, VEGF-C plazma düzeyleri üretici firmanın önerilerine tam olarak uyularak ELİSA yöntemi

ile belirlendi. VEGF-A ölçümü için, Human VEGF-A ELİSA BMS277/2 (Austria) marka kit, VEGF-C ölçümü için Human VEGF-C ELİSA BMS297 (Austria) marka kit kullanıldı. VEGF-A, VEGF-C ölçümü; Biotek marka, 218731 seri nolu ELİSA cihazı ile yapıldı. Olgulardan operasyon öncesi ve sonrası alınan kan örnekleri ile kontrol grubundan alınan kan örneklerindeki VEGF-A ve VEGF-C değerleri tespit edilerek karşılaştırıldı.

Patoloji Örneklerinin Çalışılması

Patoloji laboratuvarına gönderilen olgulara ait dokular standart işlemlerden geçmiş olup, %10 tamponlu nötral formaldehit ile 24 saat tespitin ardından alkole tabi tutulmuşlardır. Olgulara ait lamlar patoloji arşivinden çıkarılarak yeniden değerlendirilmiş, tümörü en iyi reprezente eden lamlar seçilerek o lamlara ait bloklara immunohistokimyasal olarak CD 31 uygulaması yapılmıştır. CD 31 uygulama aşamaları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Hazır hale gelen preparatlar aquamont ile lam lamel arasına alınarak örnekler kapatıldı. Bunun için Nikon Eclipse E600 ışık mikroskobu kullanılmış ve sayım işlemi 40x objektif ile 10 alan sayılarak yapılmıştır. Daha sonra toplam sayı söz konusu objektifte milimetrekareye düşen birimi hesaplamak için kullanılan 2.8 sabit sayısına bölünerek milimetrekareye düşen mikrodamar sayısı (mikrodamar dansitesi) bulunmuştur. Patoloji piyeslerinde mikroskobik olarak mikrodamar yoğunluğu ölçülerek, tümör evresi ile mikrodamar yoğunluğu arasında bir korelasyonun olup olmadığını araştırıldı.

İstatistiksel Analiz

Sonuçlar sayı (yüzde) ya da ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildiler. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu İki grup karşılaştırmalarında normal dağılım gösteren değişkenler için Student t testi, normal dağılım göstermeyenler için Mann Whitney U testi kullanıldı. Grup sayısı 3 ya da daha fazla olduğunda farklılığı incelemede normal dağılım gösteren değişkenler için tek yönlü ANOVA test, normal dağılım göstermeyenler için Kruskal Wallis test kullanıldı. Cerrahi tedavi öncesi ile sonrası karşılaştırmalarda Wilcoxon T testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerde Statistica 7.0 (Lisans kodu:31N6YUCV38) paket programı kullanıldı.

Tablo 4. CD 31 uygulaması için çalışma aşamaları

1) Hastaların doku örneklerinden 4 mikron kalınlığında kesitler alındı.
2) Örnekler 56 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi.
3) Deparafinizasyon işlemi için; 3 kez ksilen etüvde 10 ar dakika, 2 kez Abs alkolde 10'ar dakika ve 2 kez %96 alkolde 10'ar dakika geçirildi
4) Distile su ile 5 dakika yıkandı.
5) EDTA buffer maksimum devirde (600 devir) 20 dakika döndürülerek mikrodalga fırında işlem yapıldı.
6) Preparatlar oda ısısında 20 dakika bekletildi.
7) Lamaların üzerindeki dokuların etrafı PAP pen ile çizilerek zon bölgesi oluşturuldu.
8) Oda ısısında %30'luk H ₂ O ₂ ' dan 7,8 cc alınıp 100 cc distile su ile karıştırılıp elde edilen solusyonla 15 dakika muamele edildi.
9) Distile su ile tekrar 5 dakika yıkandı.
10) Ultra v blok (Sky Tec lot: 18091, ref.AAA125) ile 10 dakika inkübe edildi.
11) Preparatlar PBS (fosfat buffer saline) içine alınarak 3 dakika bekletildi.
12) Thermo Scientific CD31/PECAM-1 (Endothelial Cell Marker) Ab-1 (U.S.A) marka fare monoklonal anti-insan CD 31 antikoru ile 30 dakika inkübasyon yapıldı.
13) PBS ile 3 dakika yıkama yapıldı.
14) Universal kit içindeki link (sarı) (Sky Tec Universal kit SensiTek HRP Lot: 18140, ref. ABF 125) solusyonla 15 dakika süreyle inkübasyon yapıldı.
15) PBS ile 3 dakika yıkama yapıldı.
16) Üniversal kit içindeki streptavidin (pembe) (Sky Tec Universal kit SensiTek HRP Lot: 18138, ref.ABG125) solusyonla 15 dakika inkübasyon işlemi uygulandı.
17) PBS ile 3 dakika yıkama yapıldı.
18) ScyTec Laboratories AEC chromogen (U.S.A) marka AEC kromojen ile (renklendirici) 10 dakika inkübasyona tabi tutuldu.
19) PBS ile 3 dakika yıkama yapıldı .
20) Hemotoksilen ile 90 saniye zıt boyama işlemi gerçekleştirildi.
21) Çeşme suyu ile yıkama yapıldı.
22) Çekirdeklerin daha iyi görülmesini sağlamak için %1'lik amonyak ile preparatlar 5 saniye işleme tabi tutuldu.
23) Çeşme suyu ile yıkandı.

EDTA: Etilen Diamin Tetraasetik Asit, **PBS:** Phosphate Buffered Saline (fosfat buffer saline)

BULGULAR

Larenks skuamöz hücreli karsinomu tanısı alan ve operasyona karar verilen olguların plazma VEGF-A ve plazma VEGF-C değerlerinin prognoza etkisini değerlendirdiğimiz bu çalışmada tamamı erkek 33 kişi yer aldı. Olguların yaş ortalaması $57,79 \pm 7,22$ (49-69) idi. Kontrol grubunda tamamı erkek 13 kişi yer almaktaydı ve yaş ortalaması $54,23 \pm 6,09$ (41-62) idi. Kontrol grubu ve olgu grubu yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).

Çalışmamızda erken evre tümörlü olgu sayısı 19 (%57,6) ileri evre tümörlü olgu sayısı ise 14 (%42,4) idi. Çalışma grubundaki olgulardan 7 tanesi T1 evre, 12 olgu T2 evre, 11 olgu T3 evre ve 3 olgu T4 evreye sahipti. Tümör lokalizasyonu olarak 10 olgu (%30,3) glottik, 10 olgu (%30,3) supraglottik, 9 olgu (%27,2) glottosupraglottik, 4 olguda (%12,1) transglottik yerleşim mevcuttu. Subglottik yerleşimli olgu bulunmamaktaydı. Cerrahi tedavi olarak 15 olguya (%45,5) total larenjektomi, 9 olguya (%27,7) SCPL-CHP, 2 olguya (%6,6) SCPL-CHEP, 5 olguya (%15,1) frontal anterior parsiyel larenjektomi, 1 olguya (%3) horizontal glottektomi, 1 olguya da (%3) kordektomi uygulandı. Larenks cerrahisine ek olarak 13 olguya (%39,3) çift taraflı boyun diseksiyonu, 10 olguya (%30,3) tek taraflı boyun diseksiyonu cerrahi prosedürü eklendi. On olguya (%30,3) ise boyun diseksiyonu uygulanmadı. Boyun diseksiyonu yapıp lenf nodu metastazı saptanmayan olgular ve boyun diseksiyonu yapılmayan erken evre tümörlü olgular 22 (%66,7) kişiydi, boyun diseksiyonu yapılan 11 (%33,3) olguda ise lenf nodu tutulumu mevcuttu. Operasyon sonrası dönemde cerrahi sınır pozitifliği ya da boyun lenf nodlarında 1 adetten fazla sayıda karsinom metastazı olan 8 olguya tamamlayıcı tedavi olarak tek başına RT ya da RT ile KT kombine tedavisi

uygulandı. Buna göre 3 olguya (%9) tek başına RT, 5 olguya (%15,1) RT+KT kombine tedavisi ek olarak uygulandı. Olgulardan 3 (%9) tanesi ise ek tedaviyi kabul etmedi. Takip süresi içinde TL uygulanan 2 olguda (%6) boyun bölgesinde nüks gelişti. Diğer olgularda takip sürecinde nüks gözlemlenmedi.

Erken evre tümöre sahip olguların operasyon öncesi ortalama plazma VEGF-A değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, operasyon öncesi VEGF-A değerlerinin kontrol grubundan düşük olduğu bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$) (Tablo 5).

Tablo 5. Erken evre tümörlü olguların operasyon öncesi vasküler endotelial growth faktör A değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Çalışılan Göstergeler	Erken evre tümörlü olguların operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:19)	Kontrol grubu ortalama plazma değeri (n:13)	P* değeri
VEGF-A pg /ml	137,59 ± 23,69	173,92 ± 54,70	p < 0.05

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

VEGF-A: Vasküler endotelial growth faktör A

İleri evre tümörlü olguların operasyon öncesi ortalama plazma VEGF-A değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında operasyon öncesi VEGF-A değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu bulundu. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6. İleri evre tümörlü olguların operasyon öncesi vasküler endotelial growth faktör A değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Çalışılan Göstergeler	İleri evre tümörlü olguların operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:14)	Kontrol grubu ortalama plazma değeri (n:13)	P* değeri
VEGF-A pg /ml	176,12 ± 41,86	173,92 ± 54,70	p > 0.05

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

VEGF-A: Vasküler endotelial growth faktör A

Erken evre tümörlü olguların operasyon öncesi ortalama plazma VEGF-A değerleri, operasyon sonrası 6. aydaki ortalama plazma VEGF-A değerleri ile karşılaştırıldı. Operasyon

sonrası plazma VEGF-A değerleri operasyon öncesi değerlere göre düşüktü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7. Erken evre tümörlü olguların operasyon öncesi ve operasyon sonrası 6. ay plazma vasküler endotelial growth faktör A değerlerinin karşılaştırılması

Çalışılan Göstergeler	Erken evre tümörlü olguların operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:22)	Erken evre tümörlü olguların operasyon sonrası 6.ay ortalama plazma değeri (n:22)	P* değeri
VEGF-A pg /ml	137,59 ± 23,69	126,77 ± 29,64	p > 0.05

* Wilcoxon işaret testi

VEGF-A: Vasküler endotelial growth faktör A

İleri evre tümörlü olguların operasyon öncesi ortalama VEGF-A değerleri, operasyon sonrası 6. aydaki plazma VEGF-A değerleri ile karşılaştırıldığında, operasyon sonrası plazma VEGF-A değerleri düşük bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8. İleri evre tümörlü olguların operasyon öncesi ve operasyon sonrası 6. Ay plazma vasküler endotelial growth faktör A değerlerinin karşılaştırılması

Çalışılan Göstergeler	İleri evre tümörlü olgu grubu operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:14)	İleri evre tümörlü olgu grubu 6.ay ortalama plazma değeri (n:14)	P* değeri
VEGF-A pg /ml	176,12 ± 41,86	154,09 ± 47,33	p > 0.05

* Wilcoxon işaret testi

VEGF-A: Vasküler endotelial growth faktör A

Erken evre tümörlü olguların operasyon öncesi ortalama plazma VEGF-A değerleri, ileri evre tümörlü olguların operasyon öncesi ortalama plazma VEGF-A değerleri ile karşılaştırıldığında ileri evre tümörlü olguların ortalama VEGF-A değerleri yüksek bulundu. Bu fark İstatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$) (Tablo 9).

Tablo 9. Erken evre ve ileri evre tümörlü olguların operasyon öncesi plazma vasküler endotelyal growth faktör A değerlerinin karşılaştırılması

Çalışılan Göstergeler	Erken evre tümörlü olgu grubu operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:19)	Geç evre tümörlü olgu grubu operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:14)	P* değeri
VEGF-A pg /ml	137,59 ± 23,69	176,12 ± 41,86	p < 0.05

* Mann Whitney U testi

VEGF-A: Vasküler endotelyal growth faktör A

Lenfanjiyogenezi değerlendirmede kullandığımız VEGF-C; Boyun diseksiyonu uygulanıp lenf nodu metastazı saptanan olgularla, kontrol grubu değerleri karşılaştırıldığında, metastaz saptanan olgulardaki ortalama plazma VEGF-C değerleri kontrol grubu değerlerine göre düşük bulundu. Aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10. Lenf nodu tutulumu olan olguların operasyon öncesi plazma vasküler endotelyal growth faktör C değerlerin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Çalışılan Göstergeler	Lenf nodu tutulumu olan olgu grubu operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:11)	Kontrol grubu ortalama plazma değeri (n:13)	P* değeri
VEGF-C pg /ml	208,78 ± 279,29	333,43 ± 122,09	p < 0.05

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

VEGF-C: Vasküler endotelyal growth faktör C

Boyunda lenf nodu tutulumu olan olguların operasyon öncesi ve operasyon sonrası 6. aydaki ortalama plazma VEGF-C değerleri karşılaştırıldığında; operasyon öncesi ve sonrasındaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 11).

Tablo 11. Lenf nodu tutulumu olan olguların operasyon öncesi ve operasyon sonrası 6. ay plazma vasküler endotelial growth faktör C değerlerinin karşılaştırılması

Çalışılan Göstergeler	Lenf nodu tutulumu olan olgu grubu operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:11)	Lenf nodu tutulumu olan olgu grubu operasyon sonrası 6. ay ortalama plazma değeri (n:11)	P* değeri
VEGF-C pg /ml	208,78 ± 279,29	249,01 ± 120,04	P > 0.05

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

VEGF-C: Vasküler endotelial growth faktör A

Boyunda lenf nodu metastazı olan olguların operasyon öncesi plazma ortalama VEGF-C değerleri, boyun lenf nodu metastazı olmayan olguların operasyon öncesi plazma ortalama VEGF-C değerlerinden yüksekti. Ancak bulunan bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Lenf nodu tutulumu olan ve olmayan olguların operasyon öncesi ortalama plazma vasküler endotelial growth faktör C değerlerinin ile karşılaştırılması

Çalışılan Göstergeler	Lenf nodu tutulumu olan olgu grubu operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:11)	Lenf nodu tutulumu olmayan olgu grubu operasyon öncesi ortalama plazma değeri (n:22)	P* değeri
VEGF-C pg /ml	208,78 ± 279,29	201,45 ± 102,00	p > 0.05

* Mann Whitney U testi

VEGF-C: Vasküler endotelial growth faktör C

Çalışmadaki olguların veri dökümleri detaylı olarak Tablo 13' te gösterilmiştir. Kontrol grubunun verileri ise Tablo 14' te verilmiştir

Tablo 13. Olgu grubunun yaş, cins, yapılan cerrahi tedavi, evre, tümör yerleşim yeri ve ek tedaviler

Olgu No	Ad-Soyad	Yaş	Cinsiyet	Yapılan Cerrahi Tedavi	T	N	M	Lokalizasyon	Postop. 6.ay nüks	Postoperatif RT/RT+KT	Preoperatif VEGF-A	Postoperatif VEGF-A	Preoperatif VEGF-C	Postoperatif VEGF-C
1	ZÜ	57	E	SCPL-CHP + sağ RBD	2	0	0	glottosupraglottik	yok	yok	28,48	216,88	92,36	347,90
2	MT	55	E	Total L + sol RBD + sağ FBD	2	2	0	glottosupraglottik	yok	RT	70,31	160,72	94,83	321,93
3	FÜ	66	E	Total L + bil.FBD	3	0	0	glottosupraglottik	yok	RT	141,71	341,82	317,06	168,62
4	İİ	57	E	Frontoanterior PL	1b	0	0	glottik	yok	yok	57,94	77,45	206,58	176,62
5	ŞY	56	E	SCPL-CHP + bil.FBD	2	0	0	supraglottik	yok	yok	88,67	141,71	257,08	335,46
6	MEİ	60	E	Frontoanterior PL	1b	0	0	glottik	yok	yok	94,51	91,90	329,29	210,83
7	EÖ	55	E	Total L + sol RBD + sağ FBD	4	1	0	Transglottik	yok	RT + KT	185,81	95,83	185,75	182,69
8	AC	71	E	Total L + sağ RBD	3	1	0	glottosupraglottik	+	yok	168,93	123,67	126,85	138,79
9	SÇ	68	E	Total L + bil FBD	3	1	0	glottosupraglottik	yok	yok	137,88	206,91	204,46	212,96
10	AT	53	E	SCPL-CHP + bil FBD	2	0	0	supraglottik	yok	RT	105,25	115,73	172,61	158,80
11	YK	48	E	Total L + sol FBD	3	0	0	supraglottik	yok	yok	144,04	197,13	233,59	269,67
12	HT	67	E	Frontoanterior PL	1b	0	0	glottik	yok	yok	119,32	134,08	410,95	340,42
13	SA	52	E	SCPL-CHP	2	0	0	glottosupraglottik	yok	yok	78,06	122,21	448,46	355,44
14	RB	59	E	Total L + sol FBD	3	1	0	supraglottik	yok	yok	157,49	171,42	75,72	426,90
15	HTe.	46	E	Total L + sol RBD + sağ FBD	4	2	0	transglottik	yok	RT + KT	184,95	90,60	66,70	508,08
16	ŞG	68	E	Total L + bil.FBD	2	0	0	supraglottik	yok	yok	134,08	126,61	98,98	619,11
17	MB	49	E	SCPL-CHP	2	0	0	glottik	yok	yok	60,67	129,58	158,80	171,61
18	AK	49	E	Total L + sol RBD + sağ FBD	4	2	0	transglottik	+	RT + KT	247,91	275,52	116,14	161,73
19	İK	54	E	Total L + bil.FBD	3	0	0	supraglottik	yok	RT + KT	122,94	109,40	101,50	225,92
20	HA	60	E	Frontoanterior PL	1b	0	0	glottik	yok	yok	99,82	130,32	135,08	199,21
21	MH	58	E	Total L + sol RBD	3	1	0	supraglottik	yok	yok	61,77	151,89	183,71	159,77
22	MK	64	E	Total L + sol mod. RBD	3	1	0	glottosupraglottik	yok	yok	69,72	137,11	91,55	241,34
23	ST	43	E	SCPL-CHEP + sağ FBD	2	0	0	glottik	yok	yok	72,66	140,17	170,61	240,23
24	AÇ	63	E	SCPL-CHP + sağ RBD + sol FBD	2	0	0	supraglottik	yok	yok	73,25	144,82	128,67	281,29
25	SY	61	E	SCPL-CHP + sağ RBD + sol FBD	3	1	0	supraglottik	yok	RT + KT	76,84	158,30	11,77	183,71
26	Hİ	62	E	Total L + sol RBD	3	0	0	glottosupraglottik	yok	yok	72,07	156,69	144,42	175,61
27	TA	62	E	Frontoanterior PL	1a	0	0	glottik	yok	yok	132,57	178,98	97,31	158,80
28	ŞK	49	E	Horizantal glottektomi	1b	0	0	glottik	yok	yok	118,60	187,53	152,03	189,86
29	HB	69	E	kordektomi	1a	0	0	glottik	yok	yok	127,33	98,48	131,40	208,70
30	MS	50	E	SCPL-CHEP + sağ FBD	2	0	0	glottik	yok	yok	230,78	139,41	121,46	191,93
31	EC	53	E	SCPL-CHP + bil.FBD	2	1	0	supraglottik	yok	yok	83,61	210,52	1039,19	201,31
32	İU	61	E	Total L + sol FBD	3	0	0	transglottik	yok	yok	180,68	166,45	241,34	258,22
33	ŞD	62	E	SCPL-CHP	2	0	0	glottosupraglottik	yok	yok	157,49	197,13	282,46	263,93

L: Larenjektomi, PL: parsiyel larenjektomi, RBD: Radikal boyun diseksiyonu, FBD:Fonksiyonel boyun diseksiyonu, RT:Radyoterapi, KT: Kemoterapi, Bil: Bilateral,

SCPL-CHP: Suprakrikoid parsiyel larenjektomi- krikohiyoidopeksi, SCPL -CHEP: Suprakrikoid parsiyel larenjektomi- krikohiyoidoepiglottopeksi, VEGF: Vaküler endotelial growth faktör

Tablo 14. Kontrol grubunun özellikleri ve plazma vasküler endotelial growth faktör A ve vasküler endotelial growth faktör C değerleri

Olgu no	Ad-Soyad	Yaş	Cinsiyet	VEGF-A	VEGF-C
1	SK	42	E	332,17	309,80
2	AB	51	E	134,83	151,08
3	SÇ	52	E	135,59	170,61
4	AK	43	E	173,92	234,69
5	CC	50	E	213,24	229,19
6	Mİ	54	E	202,44	254,81
7	HA	53	E	151,89	332,98
8	TÖ	57	E	223,33	292,60
9	YC	53	E	228,91	416,25
10	MD	56	E	214,15	331,75
11	ZK	41	E	147,95	492,60
12	TG	52	E	151,89	422,89
13	SY	62	E	160,72	495,40

VEGF: Vasküler endotelial growth faktör

Endotelial growth faktörün dokudaki etkisini ölçmek için tümör dokusunda bakılan mikrodamar yoğunluğu tümörün evresine göre, erken evre ile ileri evre tümörlü grup karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 15)

Tablo 15. Erken evre tümörlü olgularla ileri evre tümörlü olguların dokularındaki mikrodamar yoğunlukları arasındaki ilişki

Çalışılan Göstergeler	Erken evre tümörlü olgu grubu ortalama değeri (n:19)	İleri evre tümörlü olgu grubu ortalama değeri (n:14)	P* değeri
MDY	24,16 ± 5,34	26,64 ± 5,77	p > 0.05

*Mann Whitney U testi

MDY: Mikrodamar yoğunluğu

Çalışmaya alınan olguların cerrahi piyeslerinden alınan tümöral doku kesitlerindeki mikrovasküler yapıların CD 31 antikorun ile işaretlenerek hesaplanan milimetrekaredeki mikrodamar sayıları erken evre olgular ve ileri evre olgulardaki değerleri Tablo 16 ve Tablo 17'de gösterilmiştir.

Tablo 16. Erken evre tümörlü olguların tümör evresine göre mikrodamar yoğunlukları

Sıra no	Ad soyad	T evresi	MDY (Damar/ mm ²)
1	ZU	T2	29
2	MT	T2	22
3	İİ	T1b	15
4	ŞY	T2	21
5	MEİ	T1b	20
6	AT	T2	27
7	HT	T1b	24
8	SA	T2	22
9	ŞG	T2	26
10	MB	T2	20
11	HA	T1b	22
12	ST	T2	24
13	AÇ	T2	19
14	TA	T1a	25
15	ŞK	T1b	22
16	HB	T1a	24
17	MS	T2	36
18	EC	T2	24
19	ŞD	T2	24

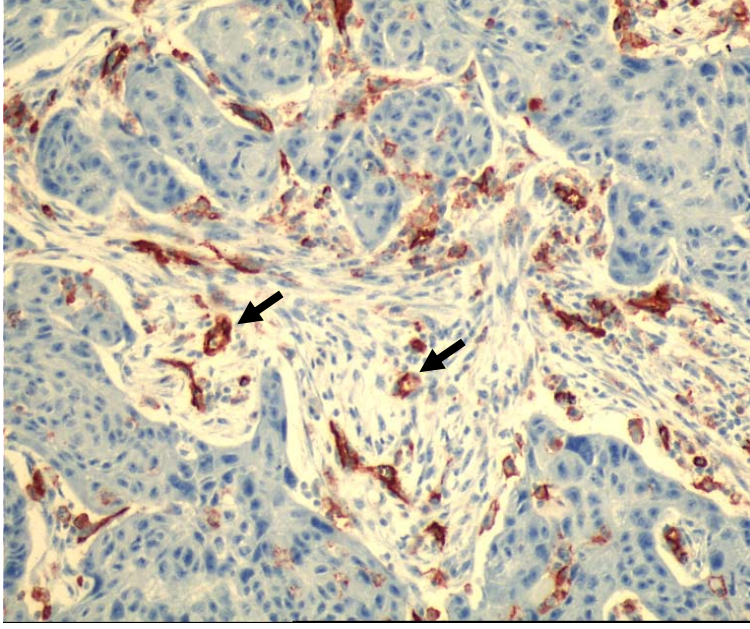
MDY: Mikrodamayoğunluğu

Tablo 17. Geç evre tümörlü olguların tümör evresine göre mikrodamar yoğunlukları

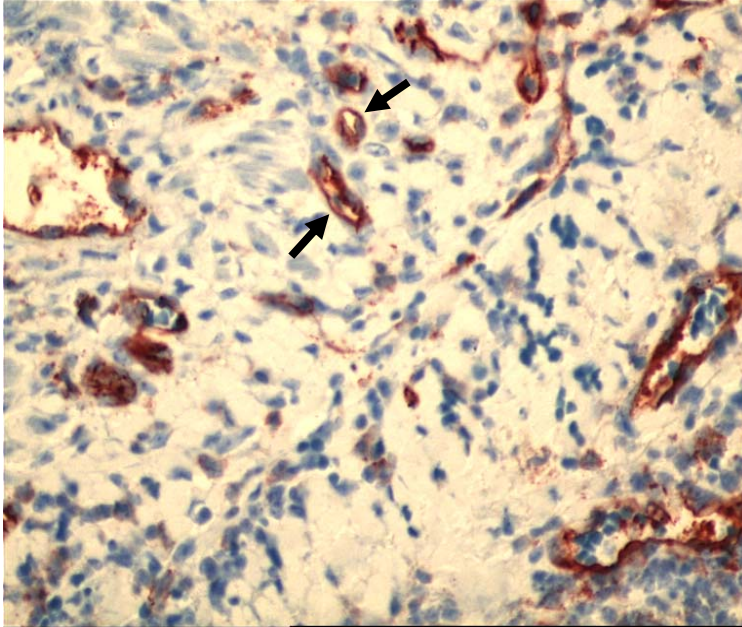
Sıra no	Ad soyad	T evresi	MDY (Damar/mm ²)
1	FÜ	T3	33
2	EÖ	T4	22
3	AC	T3	23
4	SÇ	T3	19
5	YK	T3	23
6	RB	T3	24
7	H.Te.	T4	26
8	AK	T4	28
9	İK	T3	36
10	MH	T3	28
11	MK	T3	26
12	SY	T3	39
13	Hİ	T3	21
14	İÜ	T3	25

MDY: Mikrodamar yoğunluğu

CD 31 antikoruyla işaretlenmiş mikrovasküler yapıların histopatolojik görünümü Şekil 7 ve Şekil 8’de gösterilmiştir.



Şekil 7. CD31x100: CD 31 ile damar duvarlarında pozitif reaksiyon (IPx100)



Şekil 8. CD31x200: CD 31 ile damar duvarında pozitif reaksiyon (IPx200)

TARTIŞMA

Larenks kanseri, dünyada baş boyun kanserleri içinde en ön sırada gelmektedir. Larenksin epitelyal kaynaklı tümörlerinin büyük kısmını (%96) skuamöz hücreli karsinom oluşturmakta, bunun da neredeyse tamamına yakını opere edilebilecek durumdaki hastalar meydana getirmektedir (2). Hastalara erken teşhis konulduğunda, TL gibi hastaların yaşam kalitesini bozan radikal bir cerrahi tedavi yerine sesin korunduğu ve kozmetik açıdan iyi sonuçları olan parsiyel larenjektomi prosedürleri uygulanabilmektedir. TL ileri evre tümöre sahip hastalarda, akciğer kapasitesi yetersiz olan ya da nüks gelişmiş hastalarda uygulanmaktadır. Kalıcı konuşma fonksiyonunun kaybı ve kalıcı stomanın varlığından dolayı TL'li hastalar tarafından kabul görmemesi nedeniyle en son tercih olarak bulunmaktadır. Bu olumsuz durumlar, larenks kanserli hastaların takip ve tedavisinde yeni arayışlara yol açmış ve larenks kanserinin patofizyolojisi ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Tümör büyümesi ve yayılmasının yeni damar oluşumuna bağımlılığı yeni araştırma konusu olmuştur. Tümörün in vivo olarak büyüme ve genişlemesinin, var olan damarlardan yeni damar oluşmaya başlamadan meydana gelmediği bilinmektedir (50). Bu yeni damar oluşum süreci neoanjiyogenez olarak adlandırılmaktadır. Anjiyogenez, insan vücudunda doğal olarak ortaya çıkan bir süreç olup, anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasındaki denge ile kontrol altında tutulur. Anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasındaki bu denge, anjiyogenik faktörler lehine bozulduğunda kontrolsüz anjiyogenez gerçekleşir (43). Bu aşamada tümörün anjiyogenik özellik kazanması için anjiyogenez inhibitörlerinde azalması gerekir (56). Bu da tümör büyümesi ve yayılması gibi patolojik durumlarda söz konusudur. Anjiyogenezde en önemli etkenlerin başında VEGF gelmektedir.

Artmış VEGF ekspresyonu baş-boyun skuamoz hücreli karsinomunda içinde bulunduğu çeşitli insan tümörlerinde gösterilmiştir (99). VEGF ekspresyonunun derecesini etkileyen tümöral nedenler henüz tam olarak açığa konulmuş değildir. Bu konuda görüş birliği yoktur. Yaylacı ve ark. (100) larenks karsinomlu hastalarda yaptıkları çalışmada VEGF ekspresyon derecesiyle T evresi, histolojik evre, tümörün yerleşim yeri ve nodal tutulum arasında belirgin bir ilişki bulamamışlardır. Salven ve ark. (101)'da VEGF pozitifliğini hem normal dokuda, hem hiperplastik skuamoz epitelyumda, hem de kanserli dokularda saptamışlardır. Bu nedenle de VEGF ekspresyonunun invaziv veya agresif tümör tespiti için ve klinikopatolojik parametreler açısından bir kriter olamayacağını söylemişlerdir. Chen ve ark. (102)'nin yaptıkları bir çalışmada baş boyun skuamoz hücreli karsinoma sahip hastalarda VEGF düzeylerini benign skuamoz papillomalı ve kontrol gruplarına göre yüksek düzeyde bulmuşlardır.

Biz çalışmamızda; larenks skuamoz hücreli karsinomlu erken ve ileri evreli olguların uygulanacak cerrahi öncesi plazma VEGF-A düzeylerini ölçerek erken evre tümörlü olguların ortalama plazma VEGF-A değerlerini kontrol grubuna göre düşük bulduk, bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Ancak ileri evre tümörlü olguların operasyon öncesi plazma VEGF-A değerlerinde kontrol grubuna göre artış olduğunu saptadık. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Erken evre kanserlerde VEGF-A değerlerinin düşük bulunması antianjiyogenik mekanizmaların etkisiyle serumdaki VEGF-A değerlerini baskılaması nedeniyle olabilir. Zira antianjiyogenetik moleküllerin kanserli olgularda artmış olduğu gösterilmiştir (103). Larenks karsinomlu hastalarla yapılan az sayıdaki çalışmadan biri olan Theodoros ve ark. (104)'nin retrospektif yaptıkları çalışmada larenks karsinomlu olgularının yarısını konvansiyonel cerrahi ve operasyon sonrası radyasyon terapisine (50-65 cGy), diğer yarısı üç siklus indüksiyon kemoterapisi verilen çalışma grubunda her iki grupta da tedavi öncesi serum VEGF seviyelerini sağlıklı bireylerden yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonuçları bizim evre III ve evre IV olguların bulunduğu ileri evre tümörlü olgu grubundaki sonuçlarımızla uyuşmaktadır. Ancak erken evre tümörlü olgu grubunun sonuçlarıyla uyuşmamaktadır. Bizim çalışmamızdan farkı sadece skuamoz hücreli karsinomlu olguların çalışmaya alınmamış olması olabilir. Diğer bir farkta hastaların evrelerine göre sınıflandırılmamış olmasıdır, çünkü çalışmadaki 183 hastanın 112 si evre III tümöre sahip olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak VEGF ekspresyonunun ileri evre ile anlamlı bir şekilde korelasyon varlığını saptamışlardır. Tümöral dokularda VEGF'nin gösterildiği bazı immünohistokimyasal çalışmalarda tümöral dokuda VEGF'ün homojen olarak

bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmalardan biri olan Neuchrist ve ark. (105)'nin skuamoz hücreli baş boyun karsinomlarını inceledikleri çalışmalarında tümör dokusunda %20 vakada VEGF'nin dokuda antikorla boyanmadığını çalışma grubunun içinde erken evre ve ileri evre tümöre sahip hastalarda bulunduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir bulguda Parikh ve ark. (106)'nın yaptığı T1-2 N0 larengeal kanserlerin primer radyoterapi ile tedavi edildiği çalışmada %91 hastada dokuda negatif olarak değerlendirmişlerdir. Bizim erken evre tümörlü olguların sağlıklı kontrol grubuna göre ortalama plazma VEGF-A düzeylerindeki düşüşün VEGF-A'nın otokrin etkisinin yanında parakrin etkisinde varlığının serum seviyelerinde göreceli olarak bir düşüşe neden olabileceğini düşündük. Çünkü VEGF-A parakrin etkiyle çalışmak üzere sekrete edildiği gösterilmiştir (107). Tümör evresi azaldıkça serumda saptanan ortalama değerin düşmesi erken evre tümörlerde düşüncemizi desteklemektedir. Ayrıca anjiyogenezi tümörlü dokularda tetikleyen temel stimulus hipoksi olduğundan, küçük boyutlu tümörlerde anjiyogenik sürecin düzelttiği oksijenasyon VEGF-A düzeylerini kontrol grubuna göre baskılamış olabilir. Küçük tümörlerde antianjiyogenetik sistemin tümöral sürecin başlangıcında süreci engellemek için aktive olarak VEGF-A seviyerindeki düşüşe katkı sağlamış olabilir. Larenks skuamoz hücreli karsinomlu hastalarda evrelere ayırarak dokuda immünohistokimyasal olarak VEGF bakılması ve bunun operasyon öncesi ve operasyon sonrası serum VEGF-A değerleriyle karşılaştırılması parakrin etkinin serum VEGF değerlerine yansımaları konusunda daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Larenks karsinomlu olguların plazma örneklerinde VEGF ile yapılmış çalışma çok fazla yoktur. Ancak immünohistokimyasal doku çalışmalarında larenks karsinomlarında tümöral dokuda artmış VEGF ekspresyonu gösterilmiştir (105). Biz çalışmamızda erken ve ileri evre tümörlü olguların operasyon sonrası 6. aydaki ortalama plazma VEGF-A düzeylerini operasyon öncesi ortalama plazma VEGF-A düzeyleriyle karşılaştırdık. Amacımız olası nükslerde tümöral dokuda artmış VEGF ekspresyonuyla plazma VEGF seviyelerinin tanısal amaçlı kullanılabilirliğini saptamaktır. Çalışmamızda erken ve ileri evre tümörlü olguların operasyon sonrası 6. aydaki ortalama plazma VEGF-A seviyelerini operasyon öncesi ortalama plazma VEGF-A seviyelerinden düşük düzeyde tespit ettik ancak istatistiksel fark saptamadık. Bu sonuç, rezervuar görevi gören ve hipoksik ortam oluşturan tümöral doku çıkarıldığında kaynak ortadan kaldırıldığı için VEGF-A değerlerinin operasyon sonrası azaldığını düşündük. Ancak literatürde bu depo görevi gören tümöral doku çıkarıldıktan sonra (cerrahi sonrası) düşmesi beklenen serum VEGF değerleriyle yapılmış bir çalışmaya rastlamadık.

Tümör dokuların doğası gereği tümör büyüdükçe artmış metabolik ihtiyaçların karşılanması ve artık maddelerin temizlenmesi için gereken kan damarı olmaksızın 1-2 mm çaptan daha büyük bir hacme ulaşamaz (5). Bunun içinde damarlanmada artış olması gerektiği bilinmektedir. VEGF in tümör neoanjiyogenesiyle ilişkili olduğu gösterilmiş (108) ve primer tümör hacmi ile serum VEGF'in ilişkili olduğu bulunmuştur (102). Ancak serum VEGF-A seviyeleriyle tümör evresi arasında literatürdede ortak bir görüş yoktur.

Biz de çalışmamızda VEGF düzeyinin ileri evre tümörlerde tümör hacminden dolayı daha çok olan metabolik ihtiyaçların karşılanması için artması gerektiği düşüncesiyle erken evre ve ileri evre tümürlü olguların operasyon öncesi ortalama serum VEGF-A değerlerini karşılaştırdık. İleri evre tümürlü olguların operasyon öncesi VEGF-A değerleri erken evre tümürlü olguların operasyon öncesi plazma VEGF-A değerlerinden yüksekti. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Bu konuda yapılan çalışmalardan biri olan Parikh ve ark. (106)'nın yaptıkları çalışmada immünohistokimyasal olarak VEGF pozitif boyanan tümörlerde T2 evreye sahip olanların T1 evreye sahip olanlara göre daha yüksek oranda pozitif olduğunu göstermişlerdir. Kyzas ve ark. (109) ise tümör dokusunda VEGF ekspresyonunun ileri evre ile anlamlı bir şekilde korelasyon varlığını bildirmişlerdir. Chen ve ark. (102) serum IL8 ve VEGF konsantrasyonlarının tümör hacmi ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar bulmuşlardır. Bu raporlar bizim çalışmamızdaki cerrahi öncesi plazma serum VEGF'nin ileri evre tümörlerde erken evre tümörlere göre artmış olmasını desteklemektedir. Theodoros ve ark. (104) ise çalışmalarında serum VEGF'nin hastalığın T evresiyle korele olmadığını göstermişlerdir. Gisterek ve ark. (110) yaptığı çalışmada 37 olguyu içeren hipofarenks ve larenks skuamoz hücreli karsinomlu olguların sirkulasyondaki VEGF ile tümör evresi arasında bir ilişki saptamamışlardır. Literatürdeki bu farklı görüşlerin olmasının nedeni VEGF'nin tümör dışı dokulardan da salgılanabildiğinden ya da anjiyogenetik faktörlerle, antianjiyogenetik faktörler arasındaki dengenin antianjiyogenetik tarafındaki bir baskılanmadan dolayı anjiyogenetik moleküllerin dominant hale gelmesi gibi birçok olayın VEGF salınımını etkileyebilmesi nedeniyle olabilir. İleride aynı evre ve aynı histolojik alt tipteki larenks tümörlerinde antioanjiyogenetik faktörlerin, anjiyogenetik moleküllerle karşılaştırılması ile ve sonuçların farklı evrelerle korele edilmesine dayanan geniş çalışmalara ihtiyaç vardır. Biz çalışmamızda ileri evre tümürlü olguların plazma VEGF-A değerlerinin büyük tümör boyutu nedeniyle hipoksik doku varlığının artması buna bağlı olarakta VEGF-A seviyelerinde evre ile korele olarak artış olduğunu düşündük.

Baş-boyun skuamoz hücreli karsinomlarının lenfatik damarlar yoluyla tercihen yayıldığı bilinmektedir. Tanı anında lenf nodu metastazı varlığı tedavinin başarısızlıklarından biridir (111). Tümör lenfanjiyogenezi ve lenf nodu metastazından VEGF ailesinden VEGF-C sorumlu olarak görülmektedir (112). Homer ve ark. (113)'da priform sinüs tümörlerinde VEGF-C ekspresyonu ile lenf nodu metastazı arasında ilişki olduğunu ifade etmişlerdir. VEGF-C'nin tümör hücreleri tarafından ekspresyonu ile tümör progresyonu ve metastatik tümör yayılımı arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Bu bulgu, insan tümörlerinin progresyonunda lenfanjiyogenezin önemli bir rolü olduğunu gösterir (87). Homer ve ark. (114) ile Beasley ve ark. (115) baş boyun skuamoz hücreli karsinomlarında ise VEGF-C ekspresyonu göstermişlerdir. Literatürdeki bir çalışmada baş boyun skuamoz hücreli karsinomlarında tümör hücrelerinde VEGF reseptör varlığının VEGF-C otokrin rolünü desteklediğini ortaya koymuştur (116). Akciğer, meme, prostat, serviks ve kolon kanseri ile yapılan klinikopatolojik çalışmalar, VEGF-C'nin insan tümör hücreleri tarafından ekspresyonu ile tümör progresyonu ve metastatik tümör yayılımı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (117).

Dokuda yüksek VEGF-C'nin otokrin etkisinin sistemik dolaşıma ne kadar yansıdığını ve operasyon öncesi ve sonrası değerlerin prognoza etkisini saptamayı amaçladığımız bu çalışmada; patolojik olarak lenf nodu tutulumu olan olgularımızdaki operasyon öncesi plazma VEGF-C düzeylerini, kontrol grubuyla ve operasyon sonrası 6. aydaki değerlerle karşılaştırdık. Lenf nodu pozitif olan olguların plazma VEGF-C düzeylerini sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde daha düşük seviyede tespit ettik. Son yapılan araştırmalarda, tümör çevresindeki lenfatik damarların disfonksiyon gösterdiği bulunmuş ve bu yeni gelişen lenfatik damarların intralüminal kapaklarının muhtemel disfonksiyonu ile ilişkili olabilecek geriye doğru akım paterni gösterdiği bildirilmiştir (118). Primer meme kanserli hastalar ile yapılan başka bir çalışmada ise; tümör dokusunda artmış VEGF-C düzeyinin, nodal tutulum ve damar invazyonu ile ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir (119). Bu sonuçlar ve çalışmamız da VEGF-C ile lenf nodu metastaz arasında ilişki olmamasını destekler nitelikte idi. Bu durum; inflamasyonla birlikte ortama göç eden lökositlerden VEGF-C'nin ortama salgılanmasına ve tümörün oluşturduğu yeni lenf damarlarında VEGF-C konsantrasyonunun artarak plazmada yalancı bir VEGF-C düşüklüğü yaratması ile açıklanabilir (120).

Bazı kanserlerin aksine, larenks kanseri için organ spesifik, ya da ideal bir tümör belirleyicisi henüz saptanamamıştır. Duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir tümör belirleyicisi, larenks kanserinde daha erken tanı konulmasını, olguların takibi ve tedavi başarısını

arttırabilir. Larenks karsinomunda lenf nodu relapsı önemli sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle yürütülen araştırmalarda primer tümördeki VEGF-C düzeyi ile bölgesel lenf nodu metastazı arasında ilişki araştırılmalıdır

Homer ve ark. (113) priform fossa tümörlerinde VEGF-C düzeyi ile rejional lenf nodu metastazı arasında anlamlı ilişki bulmuşlardır. Hinojar-Gutierrez ve ark.(121) ise VEGF-C ekspresyonunu belirgin olarak lenf nodu relapsı ile ilişkilendirmişlerdir. O-Charoenrat ve ark.(122) baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlu hastalarda lenf nodu metastazı varlığı için VEGF-C nin prediktif değer taşıdığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda plazma VEGF-C'nin bölgesel lenf nodu metastazıyla ilişkisi saptanamamıştır.

Bu çalışmalar doğrultusunda larenks skuamoz hücreli karsinomlu olguların boyun lenf nodu metastazı takiplerinde VEGF-C'nin yararlanılabilecek bir tümör belirteci olabileceği fikrinden yola çıkarak; olgularımızdan lenf nodu tutulumu olanların operasyon öncesi ve operasyon sonrasındaki 6. ayda alınan plazma örneklerindeki VEGF-C düzeylerini karşılaştırdık. Operasyon sonrası ortalama plazma VEGF-C değerleri operasyon öncesi ortalama plazma VEGF-C değerlerinden yüksekti ancak bu fark anlamlı değildi. Operasyon sonrası 6. aydaki plazma VEGF-C seviyeleri; disfonksiyon gösteren lenfatik yapıların çıkarılması ile plazma değerlerindeki artış nedeniyle saptanmış olabilir. Operasyon öncesi plazma VEGF-C seviyesindeki düşüklüğün sebebi de; bizim plazmada ölçtüğümüz VEGF-C, VEGF-C'nin işlem görmemiş, kısmi işlem görmüş ya da olgun VEGF-C formlarının birarada olduğu heterojen bir ölçüm olması ve asıl aktif olan olgun VEGF-C larenks kanserindeki inflamatuvar sürece katılıyor olmasıdır. Çünkü VEGF-C etkisini VEGFR-3 üzerinden göstermekte ve olgun formlardaki VEGF-C'ninde VEGFR-3'e affinitesi daha fazla olması nedeniyle plazma seviyelerinde düşüşün olmasını açıklayabilir (123). Boyun nüksü olan olgu sayımız 6 aylık süre içinde 2 kişi olduğundan istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. Daha uzun süreli takiplerle yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Vasküler endotelyal growth faktör C ve VEGFR-3 yolağı lenfanjiyogenepte etkilidir bunu destekleyen kanıtlar; VEGFR3'ün erişkinlerde genelde lenfatik endotelyal hücrelerle sınırlı olduğu (124), VEGF-C' nin embriyogeneste lenfatik gelişim bölgelerinde üretildiği (125), ve VEGF-C' nin genleri değiştirilmiş farelerde aşırı üretiminin lenfatik dilatasyon ve hiperplaziye neden olduğu başlıca kanıtlar arasındadır (126). Literatürde de birçok çalışma primer tümördeki VEGF-C düzeyi ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğunu göstermiştir (113,123). Biz çalışmamızda boyun lenf nodu pozitif olan olguların operasyon öncesi ortalama serum VEGF-C seviyelerini boyun lenf nodu negatif

olan olguların operasyon öncesi ortalama plazma değerlerinden yüksek saptadık. Ancak bu fark anlamlı değildi. Demir (103) küçük hücreli dışı akciğer karsinomlu olgularda yaptığı çalışmada da organ metastaz durumuyla VEGF-C seviyeleri arasında ilişki saptamamıştır. Bu çalışmada bizim sonuçlarımızı desteklemektedir.

Anjiyojenik moleküllerin tümörü besleyen mikro damarlar üzerine etkisi ve önemi kanıtlanmıştır (127). Gösterilmiştir ki anjiyogenezin in vivo inhibisyonu tümör büyümesi ve invazyonunu durdurmaktadır (128). İnsan tümörlerinde anjiyogenezisin direkt ölçümü zor olmasına rağmen, histolojik kesitlerdeki immünohistokimyasal boyanmış mikrovasküler yapıların kantifikasyonunun (mikrodamar yoğunluğunun) bir indeks olarak kullanılabilmesi önerilmektedir (129). Çünkü mikrodamar yoğunluğunun (MDY) ile neovaskülarizasyonla klinik korelasyon göstermektedir (105).

Mikrodamar yoğunluğunun (MDY) tümörün progresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (130). Baş-boyun skuamoz hücreli karsinomlarında VEGF ekspresyonu ile mikrodamar yoğunluğunun arttığı gözlemlenmiştir (131). Yaylacı ve ark. (100) yaptığı çalışmada da VEGF ile MDY arasındaki korelasyonu göstermişlerdir.

Mikrodamar yoğunluğunun baş-boyun skuamoz hücreli karsinomlarında prognostik bir faktör olarak kullanımı hakkında çelişkili sonuçlar ortaya çıkmıştır. Yüksek mikrovasküler dansite birçok çalışmada metastazla ve/veya kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (132). Fakat bu gözlem başka bir çalışma tarafından doğrulanmamıştır (133). Tümör nedenli anjiyogenez 1-2 mm³ boyutundaki tümörler için zorunlu olduğundan tümör gelişmesinde hız kısıtlayıcı basamaktır (134). Bu nedenle farklı boyutlu tümörlerde MDY farklı olabilir. Bizde çalışmamızda erken evre tümöre sahip olgularla ileri evre tümöre sahip olguların, tümör büyüklüğünün damarsal artışa bağlı olup olmadığını göstermek amacıyla tümörlü dokuda MDY araştırdık. İleri evre tümörlü olgularda MDY daha yüksekti ancak erken evre ve ileri evre tümörlü olguların ortalama MDY'leri arasında anlamlı bir fark saptamadık. Lukits ve ark. (135) çalışmalarında Evre 2 laringeal tümör boyutlarını Evre 4 hipofaringeal tümörlerden büyük saptamış ve Evre 4 hipofaringeal kanserlerin MDY' sini, Evre 2 laringeal tümörlerinden hafifçe düşük bulmuşlar, fakat istatistiksel bir fark saptamamışlardır. Bu da bizim sonuçlarımızla uyumludur. Sonuçta tümör boyutunun yoğun vaskülarizasyonla ilgili olmadığı düşünülebilir. Ancak larenksin kompleks anatomik yapısından dolayı tümörün anatomik lokalizasyonu nedeniyle de ve histolojik diferansiyasyonu da tümör boyutunu etkiliyor olabileceği görüşü ağır basmaktadır.

Sonuç olarak; serum VEGF-A değerleri erken evre kanserlerde kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulunmuş, ileri evre kanserlerde ise erken evreye göre belirgin yüksek bulunmuştur. Ancak kontrol grubuna göre fark bulunmamıştır. Bu alışma VEGF-A nın kanserli hastaların plazmalarında yüksek seviyede bulunmadığını aksine erken evrede düşük seviyede bulunduğunu göstermiştir. VEGF-C’inde boyun metastazında prognostik değerinin olmadığı gösterilmiştir.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda yapılan larenks karsinomlu cerrahi tedavi uygulanan olgulardaki VEGF-A ve VEGF-C düzeylerinin operasyon öncesi ve operasyon sonrası 6. ay daki değerlerinin araştırıldığı bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1- Erken evre tümörlü olguların cerrahi tedavi öncesi ortalama plazma VEGF-A değerleri kontrol grubuna göre düşük saptanmıştır. İleri evre tümörlü olguların cerrahi tedavi öncesi plazma VEGF-A değerleri ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

2- Erken evre ve ileri evre tümörlü olguların operasyon öncesi ve operasyon sonrası 6. aydaki ortalama plazma VEGF-A düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

3- İleri evre tümörlü olguların operasyon öncesi ortalama plazma VEGF-A değerleri, erken evre tümörlü olguların operasyon öncesi plazma VEGF-A değerlerinden anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

4- Lenf nodu tutulumu olan olguların operasyon öncesi plazma VEGF-C değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

5- Lenf nodu tutulumu olan olguların operasyon öncesi ve operasyon sonrası 6. ay plazma VEGF-C değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

6- Lenf nodu tutulumu olan olguların operasyon öncesi plazma VEGF-C değerleri, lenf nodu tutulumu olmayan olguların operasyon öncesi plazma VEGF-C değerleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

7- Erken evre ve ileri evre tümörlü olguların mikrodamar yoğunlukları arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

ÖZET

Son yıllarda kanser tedavisi için yapılan araştırmalarda tümör çoğalması ve metastazının mekanizmalarının anlaşılması için uğraşılmakta ve bu mekanizmaları hedef alan tedaviler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu nedenle tümörün damarlanma miktarı, damar oluşturma yeteneği ve in vivo ortamda anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörlerin dengesinin bilinmesi gelecekte larenks kanseri gibi tümörlerde yeni bir tedavi seçeneği gündeme getirecektir. Bu çalışmanın temel amacı; erken evre ve ileri evre larenks karsinomlu hastalarda, tanı anındaki anjiyogenik moleküllerin plazma düzeylerinin ve bu anjiyogenik moleküllerin cerrahi tedavi sonrası hastaların boyun lenf nodu nüksü açısından prognostik öneminin saptanmasıdır. Değerlendirmeye değişik evrelerde larenks skuamoz hücreli karsinom tanısı almış 33 olgu ile birlikte kontrol grubu olarak 13 kişi alınmıştır. Çalışmada olguların operasyon öncesi ve operasyon sonrası 6. ayda plazma vasküler endotelial growth faktör A ve vasküler endotelial growth faktör C seviyelerine göre değerlendirildiğinde erken evre tümörlü olgularda plazma vasküler endotelial growth faktör A seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu ileri evre tümörlü olgularda ise kontrol grubuyla fark olmadığı saptandı. Tümör evresiyle vasküler endotelial growth faktör A seviyelerinin anlamlı şekilde arttığı tespit edildi.

Lenf nodu tutulumu olan olguların, plazma vasküler endotelial growth faktör C değerleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuş lenf nodu tutulumu olmayan olgularla karşılaştırıldığında ise fark saptanmamıştır. Lenf nodu tutulumu olan olguların cerrahi tedavi sonrası 6. aydaki plazma vasküler endotelial growth faktör C düzeyleri ile operasyon öncesi değerleri arasında fark saptanmamıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda larenks skuamoz hücreli karsinomlarında, vasküler endotelyal growth faktör A'nın tümör evresiyle korele olarak arttığını ancak bağımsız prognostik faktör olmadığını, vasküler endotelyal growth faktör C nin ise lenf nodu tutulumu olan olgularda prognostik değer taşımadığını gstermiştir.

Anahtar kelimeler: Laringeal neoplazm, larenjektomi, vasküler endotelyal growth faktör A, vasküler endotelyal growth faktör C, lenfatik metastaz

**THE EFFECTS OF THE LEVELS OF
VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR- A AND C ON
PROGNOSIS IN THE CASES OF LARYNX CARCINOMA**

SUMMARY

In the recent researches which are done for the treatment of cancer, the proliferation and metastasis mechanism of tumor are tried to be understood and treatments which aim at these mechanisms are tried to be produced. For this reason, knowing the amount of the tumor's vessels, its ability of making vessels and the balance of the angiogenic and antiangiogenic factors under in vivo conditions will bring about new choices in the treatment of larynx cancer. The main aim of this research is to determine the prognostic importance of plasma levels of angiogenic molecules at diagnosis time and the role of relapsing neck's lymph node after the operation of the patients who have early stage or the late stage larynx carcinoma. 33 cases that have different stages of larynx squamous cell carcinoma and 13 healthy people for the control group participated in this research. In this research, cases are evaluated in terms of plasma vascular endothelial growth factor A and vascular endothelial growth factor C levels before the surgery and after six months from the surgery, the cases who have early stage tumor with respect to control group plasma vascular endothelial growth factor A levels are meaningfully low, however, in late stage tumor cases, it was detected that there was no difference with respect to the control group. It was detected that as the level of tumor increases, vascular endothelial growth factor A levels are also detected to increase meaningfully.

The cases that have lymph node metastasis are low with respect to plasma vascular endothelial growth factor C control group; on the other hand, no difference was detected when compared with the cases that don't have lymph node metastasis. There was no difference between the vascular endothelial growth factor C levels in 6th month after the operation and before the surgery of cases that have lymph node metastasis.

Finally, our study shows that at larynx squamous cell carcinoma plasma, vascular endothelial growth factor A levels increases synchronously with tumor's stage but it isn't an independent prognostic factor, and at the lymph node metastasis cases plasma vascular endothelial growth factor C don't have prognostic importance.

Key words: Laryngeal neoplasm, laryngectomy, vascular endothelial growth factor A, vascular endothelial growth factor C, lymphatic metastasis

KAYNAKLAR

1. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingpo PA. Cancer statistics, 2000. CA Cancer J Clin 2000;50:7-33.
2. Yazıcıoğlu E. Larenks maling neoplazmları. Çelik O (Editör). Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş-boyun cerrahisi. İstanbul: Turgut Yayıncılık;2002.s.659-83.
3. Karasalihoğlu AR. Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş-boyun cerrahisi. 3. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi;2003:189-217.
4. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. Nature 1997;386:671-4.
5. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? J Natl Cancer Inst 1990;82:4-6.
6. Rosen LS. Clinical experience with angiogenesis signalling inhibitors: focus on vascular endothelial growth factor (VEGF) blockers. Cancer Control 2002;9:36-44.
7. Folkman J. Angiogenesis and angiogenesis inhibition: An overview. EXS 1997;79:1-7.
8. Carter SK. Clinical strategy for the development of angiogenesis inhibitors. Oncologist 2000;5:51-4.
9. Teicher BA, Sotomayor EA, Huang ZD. Antiangiogenic agents potentiate cytotoxic cancer therapies against primary and metastatic disease. Cancer Res 1992;52(23):6702-4.
10. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 1999;49(1):33-64.
11. Kuran O. Normal anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi 1980.s.210.
12. Kuran O. Sistematik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi 1993.s.450-70.
13. Çimen A. Anatomi. Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi 1994.s.332-42.
14. Woodson GE. Laryngeal and pharyngeal fonction.In; Cummings CW, Fredricson JM

- (Eds.). Otolaryngology Head and Neck Surgery 3 rd ed. St. Louis: Mosby.1998:p.1834-94.
15. Adalı MK, Koten M, Karasalihoğlu A, Kürkçü N, Taş A, Uzun C. Suprakrikoid subtotal larenjektomilerde fonksiyonel sonuçlarımız. KBB İhtisas Dergisi 1998;5(1):22-6.
 16. Sasaki CT, Driscoll PB, Gracco C. Anatomy and physiology of the larynx. In; Ballanger JJ , Snow JB (Eds.). Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery 15 th ed.Philadelphia: Williams and Wilkins Co 1996;p.423-37.
 17. Bailey JB. Early glottic carcinoma. In:Bailey JB (Ed.). Head and Neck Surgery-Otolaryngology 2 nd ed. Vol 2, Philadelphia: Lippincott-Raven 1998;p.1703-24.
 18. Graney OD, Flint PW. Anatomy. In; Cummings CW, Fredricson JM (Eds.). Otolaryngology Head and Neck Surgery 3 rd ed. St.Louis, Mosby 1998; p.1823-33.
 19. Hızalan İ. Larenks Kanserleri. Anatomik özellikler ve klinik gidiş. Engin K, Erişen L (Editörler). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2003. p. 345-52.
 20. Reidenbach MM. Borders and topographic relationships of the paraglottic space. Eur Arch Otorhinolaryngol 1997;254(4):193-5.
 21. Weinstein G, Laccourreye O, Rassekh C. Conservation laryngeal surgery. In; Cummings CW, Fredricson JM (Eds.). Otolaryngology Head and Neck Surgery 3 rd ed. St.Louis, Mosby, 1998.p.2200-28.
 22. Bastian RW. Benign mucosal and saccular disorders; benign laryngeal tumors. In; Cummings CW (Ed.). Otolaryngology-Head and Neck Surgery 2 nd ed. St.Louis, Mosby, 1992;p.1897-924.
 23. Kepekci H. Larenks anatomisi. Ömür M (Editör). Larenks kanseri ve boyun'da. İstanbul: Haseki Hastanesi Vakfı Yayınları, 1992:1-7.
 24. Weir N. Anatomy of the larynx and tracheobronchial tree. In: Kerr AG (Ed.). Scott-Brown's Otolaryngology. 6 th ed. Vol 1, Oxford: Butterworth-Heinemann, 1997.p.1-28.
 25. Mills SE, Fechner ER. Larynx and Pharynx. In: Sternberg S (Ed.). Histology for Pathologists. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott – Raven; 1997. p.391-403.
 26. Nural H. Larenks kanseri epidemiyolojisi. Ömür M (Ed). Larenks kanseri ve boyun'da. İstanbul: Haseki Hastanesi Vakfı Yayınları, 1992.s.33-7.
 27. Adams GL, Maisel RH. Malignant tumors of larynx and hypopharynx. In: Cummings CW, Fredricson JM (Eds.). Otolaryngology Head and Neck Surgery 3 rd ed. Vol.3, St.Louis, Mosby.1998.p.2130-75.
 28. Ömür M, Özturan D, Nural H, Aran M. Türkiyede larenks kanserlerinin epidemiyolojik görünümü. KBB İhtisas Dergisi 1992;2(4):27-9.
 29. Kirchner JA, Cornog JL, Holmes RE. Transglottic cancer: Its growth and spread with in the larynx. Arch Otolaryngol 1974;99(4):247-51.
 30. Zeitels SM. Surgical management of early supraglottic cancer. Otolaryngol Clin North Am 1997;30(1):59-77.

31. Welsh LW, Welsh JJ, Rizzo TA. Internal anatomy of the larynx and the spread of cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989;98(3):228-34.
32. O'Rahilly R, Muller F. Development of human larynx. In; Ballenger JJ, Snow JB (Eds.). *Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery* 15 th ed. Philadelphia: Williams and Wilkins Co. 1996.p.417-21.
33. Sinard RJ, Netterville JL, Garret CG, Ossoff RH. Cancer of the larynx. In: Myers EN, Suen JY (Eds.). *Cancer of the Head and Neck* 3 rd ed. Philadelphia: W.B.Saunders Co.1996.p.381-421.
34. Karasalihoğlu AR. Larenks kanserinde konservasyon cerrahisi ve endikasyon güçlükleri. *Otolarengoloji ve Stomatoloji Dergisi* 1988;2(1):25-30.
35. Strome SE, Robey TC, Devaney KO, Krause CJ, Hogikyan ND. Subglottic carcinoma: Review of a series and characterization of its patterns of spread. *Ear Nose Throat J* 1999;78(8):622-4.
36. Harrison DF. The pathology and management of subglottic cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1971;80(1):6-12.
37. Harrison DF. Laryngectomy for subglottic lesions. *Laryngoscope* 1975;85(7):1208-10.
38. Medina JE, Lore JM Jr. The larynx. Lore JM, Medina JE (Eds) *An atlas of head and neck surgery*. 4th ed.Elsevier Saunders, Philadelphia 2005:p 1069-170.
39. Hu DE, Hori Y, Fan TP. Interleukin-8 stimulates angiogenesis in rats. *Inflammation* 1993;17:135-43.
40. Cleaver O, Melton DA. Endothelial signalling during development. *Nat Med* 2003;9(6):661-8.
41. Folkman J. Tumor angiogenesis. Mendelshon JA, Howley PM, Israel MA, Liotta LA (Eds.). In *the Molecular Basis of cancer*. Philadelphia: Saunders, 1995, pp 206-32.
42. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis: An imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991;64:327-36.
43. Deveci D. Angiogenesis under physiological and pathological conditions: angiogenic and antiangiogenic treatments. *Genel Tıp Dergisi* 2003;13:179-86.
44. Shaker M. Angiogenesis and myogenesis. In: Kipshidze N, Fareed J, Moses JW, Serruys PW (Eds.). *Textbook of Interventional Cardiovascular Pharmacology*. USA:Informa Healthcare;2007. p.393-407.
45. Ausprunk DH, Folkman J. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res* 1977;14:53-65.
46. Achen MG, Stacker SA. The VEGF family proteins which guide the development of the vasculature. *Int Exp Path* 1998;79:255-65.

47. Pepper MS, Montesano R, Mandriota SJ, Orci L, Vassalli JD. Angiogenesis: A paradigm for balanced extracellular proteolysis during cell migration and morphogenesis. *Enzyme Protein* 1996;49:138-62.
48. Doğan AK. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Olgularında Radyoterapinin Serum Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü ve Periferik Kan Trombosit Düzeyleri Üzerine Etkisi (tez). İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2006.
49. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Eng J Med* 1971;285:1182-6.
50. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer* 2003;3:401-10.
51. Shweiki D, Neeman M, Itin A, Keshed E. Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:768-72.
52. Guidi AJ, Fischer L, Haris JR, Schnitt SJ. Microvessel density and distribution in ductal carcinoma in situ of the breast. *JNCI* 1994;86:614-9.
53. Pepper MS, Montesano R. Proteolytic balance and capillary morphogenesis. *Cell Differ Dev* 1990;32:319-28.
54. Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis* 2000;21:505-15.
55. Fernandez PM, Rickles FR. Tissue factor and angiogenesis in cancer. *Curr Opin Hematol* 2002;9:401-6.
56. Tonini T, Rossi F, Claudio PP. Molecular basis of angiogenesis and cancer. *Oncogene* 2003;22:6549-56.
57. Weidner N, Semole JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
58. Weinstat-Saslow D, Steeg PS. Angiogenesis and colonisation in the tumor metastatic process: basic and applied advances. *FASEB J* 1994;8:401-7.
59. Liotta LA, Saidel MG, Kleinerman J. The significance of hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. *Cancer Res* 1976;36:889-94.
60. Nicolson GL. Organ specificity of tumor metastasis: role of preferential adhesion, invasion and growth of malignant cells at specific secondary sites. *Cancer Metastasis Rev* 1988;7:143-88.
61. Holmgren L, O' Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1995;1:149-53.

62. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000;407:242-8.
63. Connolly DT, Heuvelman DM, Nelson R, Olander JV, Eppley BL, Delfino JJ et al. Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *J Clin Invest* 1989;84:1470-8.
64. Clauss M. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost* 2000;26:561-9.
65. Houch KA, Ferrara N, Winer H. The vascular endothelial growth factor family. Identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA. *Mol Endocrinol* 1991;5:1806-14.
66. Rosenstein JM, Krum JM. New roles for VEGF in nervous tissue-beyond blood vessels. *Exp Neurol* 2004;187:246-53.
67. Ferrara N. Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:1358-66.
68. Zachary I. Molecules in focus VEGF. *Int J Biochem Cell Biol* 1998;30:1169-74.
69. Farnebo F, Piehl F, Lagercrantz J. Restricted expression pattern of VEGF-D in the adult and fetal mouse high expression in the embryonic lung. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257:891-4.
70. Ortega N, Faqih FE, Plouet J. Control of VEGF angiogenic activity by the extracellular matrix. *Biol Cell* 1998;90:381-90.
71. Yazır Y. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF): Reseptörleri ve fonksiyonları. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2007;29 (2):7-12.
72. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669-6.
73. Schlessinger J, Lax I, Lemmon M. Regulation of growth factor activation by proteoglycans: What is the role of the low affinity receptors? *Cell* 1995;83:357-62.
74. Mohle, R, Green D, Moore MA. Constitutive production and thrombin-induced release of vascular endothelial growth factor by human megakaryocytes and platelets. *Proc Nat Acad Sci USA* 1997;94:663-8.
75. Ria R, Roccaro AM, Merchionne F. Vascular endothelial growth factor and its receptors in multiple myeloma. *Leukemia* 2003;17:1961-7.
76. Schweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992;359:843-5.
77. Lecouter J, Lin R, Ferrara N. EG-VEGF: a novel mediator of endocrine-specific angiogenesis, endothelial phenotype, and function. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1014:50-7.

78. Xie K, Wei D, Shi Q, Huang S. Constitutive and inducible expression and regulation of vascular endothelial growth factor. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15:297-324.
79. Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surg Oncol* 2004;87:95-104.
80. Laka PK, Chakraborty C. Role of Nitric oxide in carcinogenesis and tumor progression. *Lancet Oncol* 2001;2(3):149-56.
81. Kim I, Moon S, Kim HS, Kim HJ, Koh YS, Koh GY. VEGF Expression of ICAM-1, VCAM-1, and P-selectin through nuclear factor-KB activation in endothelial cells. *J Biol Chem* 2001;276:7614-20.
82. Melder RJ, Koenig GC, Munn LL, Jain RK. Adhesion of activated natural killer cells to tumor necrosis factor-alpha-treated endothelium under physiological flow conditions. *Nat Immun* 1996;15:154-63.
83. Detmar M. The role of VEGF and thrombospondins in skin angiogenesis. *J Dermatol Sci* 2000;24:78-84.
84. Praloran V, Mirshahi S, Favard C, Moukadiri H, Plouet J. Mitogenic activity of vasculotropin for peripheral human lymphocytes. *CR Acad Sci* 1991;313:21-6.
85. Prewett M, Huber J, Santiago A, Overholser J, Hooper A, Pytowski B et al. Anti-VEGF receptor (Flk-1) monoclonal antibody inhibits tumor angiogenesis and growth of several mouse and human tumors. *Cancer Res* 1999;59:5209-18.
86. Korpelainen E and Alitalo K: Signaling angiogenesis and lymphangiogenesis. *Curr Opin Cell Biol.* 1998;10:159-4.
87. Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, Chilov D, Lahtinen I, Kukk E et al. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 1996;15:1751-7.
88. Joukov V, Kumar V, Sorsa T, Arighi E, Weich H, Saksela O et al. Recombinant mutant vascular endothelial growth factor receptor-2 binding, activation and vascular permeability activities. *J Biol Chem* 1998;273:6599-602.
89. Schoppmann S, Birner P, Stockl J, Kalt R, Ullrich R, Caucig C et al. Tumor associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis. *Am J Pathol* 2004;161:947-56.
90. Duff S, Li C, Renehan A, O'Dwyer S, Kumar S. Immunodetection and molecular forms of plasma vascular endothelial growth factor-C. *Int J Oncol* 2003;22:339-43.
91. Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME, Thornton GE, Williams RA, Prevo R et al. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics. *Nat Med* 2001;7:186-91.
92. Kitadai Y, Kodama M, Cho S. Quantitative analysis of lymphangiogenic markers for predicting metastasis of human gastric carcinoma to lymph nodes. *Int J Cancer* 2005;115:388-92.

93. Bando H, Weich HA, Horiguchi S, Funata N, Ogawa T, Toi M. The association between vascular endothelial growth factor-C, its corresponding receptor, VEGFR-3, and prognosis in primary breast cancer: A study with 193 cases. *Oncology reports* 2006;15:653-9.
94. Hirakawa S, Kodama S, Kunstfeld R, Kajiya K, Brown LF, Detmar M. VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *J Exp Med* 2005;201:1089-99.
95. Margolin K, Gordon MS, Talpaz M, Holmogren E, Benjamin R, Stalter S et al. Phase 1 safety and pharmacokinetic study of recombinant human anti-vascular endothelial growth factor (rhuMab VEGF) in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 2001;19(3):843-50.
96. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Kabbinavar F, Meropol NJ, Novotny WF, Lieberman G et al. Bevacizumab monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor) prolongs survival in first-line colorectal cancer (CRC): results of phase II trial of bevacizumab in combination with bolus IFL (irinotecan, 5-fluorouracil, leucovorin) as first line therapy in subjects with metastatic CRC. *J Clin Oncol* 2003;21(1):60-5.
97. Rosen L, Rosen P, Kabbinavar F. Phase I experience with SU6668, a novel multiple receptor tyrosine kinase inhibitor in patients with advanced malignancies. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001;20:97-9.
98. Mendel DB, Laird AD, Xin X, Louie SG, Christensen JG, Li G et al. In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet derived growth factor receptors. Determination a pharmacokinetic/ pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res* 2003;9(1):327-37.
99. Riedel F, Gotte K, Schwalb J, Schafer C, Hormann K. Vascular endothelial growth factor expression correlates with p53 mutation and angiogenesis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Acta otolaryngol* 2000;120(1):105-11.
100. Yaylaci A, Cakir S, Güneş P, Akkaynak AC, Naiboğlu B, Gökçeer T. Larenksin skuamöz hücreli kanserlerinde vasküler endotelial büyüme faktörünün anjiyogenez ve p53 geni ile ilişkisi. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 2006;16(3):105-11.
101. Salven P, Heikkila P, Anttonen A, Kajanti M, Joesuu H. Vascular endothelial growth factor in squamous cell head and neck carcinoma: expression and prognostic significance. *Mod Pathol* 1997;10:1128-33 .
102. Chen Z, Malhotra PS, Thomas GR, Ondrey FG, Duffey DC, Smith CW et al. Expression of proinflammatory and proangiogenic cytokines in patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5(6):1369-79.
103. Demir V. İleri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserinde, plazma vasküler endotelial büyüme faktörleri ve trombosit faktör 4 düzeylerinin prognostik önemi ve sağ kalım süreleri ile ilişkisi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi:2008

104. Theodoros NT, Claudell C, Sirius Y, Douglas BC, Gregory TW, Carol RB et al. Elevated serum vascular endothelial growth factor and decreased survival in advanced laryngeal carcinoma. *Head Neck* 2002;11:1004-11.
105. Neuchrist C, Quint C, Pammer A, Burian M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and microvessel density in squamous cell carcinomas of the larynx: an immunohistochemical study. *Acta Otolaryngol* 1999;119(6):732-8.
106. Parikh RR, Yang Q, Haffty BG. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein levels in T1-2 N0 laryngeal cancer treated with primary radiation therapy. *Cancer* 2007;109(3):566-73.
107. Brown LF, Detmar M, Claffey K, Nagy JA, Feng D, Dvorak HF et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS* 1997;79:233-69.
108. Hlatky L, Hahnfeldt P, Tsionu C, Coleman CN. Vascular endothelial growth factor: environmental controls and effects in angiogenesis. *Br J Cancer* 1996;27:151-6.
109. Kyzas PA, Stefanou D, Batistatou A, Agnantis NJ. Prognostic significance of VEGF immunohistochemical expression and tumor angiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005;131:624-30.
110. Gisterek I, Sedlaczek P, Kornafel J, Harłodzińska-Szmyrka A, Lacko A. Serum vascular endothelial growth factor in patients with pharyngeal and laryngeal squamous cell carcinoma treated with radiotherapy. *Am J Otolaryngol* 2007;28(2):73-7.
111. Kowalski LP, Medina JE. Nodal metastases: predictive factors. *Otolaryngol Clin North Am* 1998;31(4):621-37.
112. Kyzas PA, Stefanou D, Agnantis NJ. COX-2 expression correlates with VEGF-C and lymph node metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Mod Pathol* 2005;18:153-60.
113. Homer JJ, Prentice MG, Cawkwell L, Birchall M, Greenman J, Stafford ND. Angiogenesis and expression of vascular endothelial growth factors A and C in squamous cell carcinoma of the piriform fossa. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:1110-4.
114. Homer JJ, Greenman J, Stafford ND. The expression of vascular endothelial growth factor and VEGF-C in early laryngeal cancer: relationship with radioresistance. *Clin Otolaryngol* 2001;26:498-504.
115. Beasley NJ, Prevo R, Banerji S, Leek RD, Moore J, Van Trappen P et al. Intratumoral lymphangiogenesis and lymph node metastasis in head and neck cancer. *Cancer Res* 2002;62:1315-20.
116. Lalla RV, Boisoneau DS, Spiro JD, Kreutzer DL. Expression of vascular endothelial growth factor receptors on tumor cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:882-8.

117. Achen MG, McColl BK, Stacker SA. Focus on lymphangiogenesis in tumor metastasis. *Cancer Cell* 2005;7:121-7.
118. Isaka N, Padera T, Hagendoorn J, Fukumura D, Jain R. Peritumor lymphatics induced by vascular endothelial growth factor-C exhibit abnormal function. *Cancer Res* 2004;64:4400-4.
119. Hirakawa S, Kodama S, Kunstfeld R, Kajiya K, Brown LF, Detmar M. VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *J Exp Med* 2005;201:1089-99.
120. Lohela M, Saaristo A, Veikkola T, Alitalo K. Lymphangiogenic growth factors receptors and therapies. *Thromb Haemost* 2003;90:167-84.
121. Hinojar-Gutierrez A, Fernandez-Contreras ME, Gonzalez-González R, Fernandez-Luque MJ, Hinojar-Arzadun A, Quintanilla M et al. Intratumoral lymphatic vessels and VEGF-C expression are predictive factors of lymph node relapse in T1-T4 N0 laryngopharyngeal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2007;14(1):248-57.
122. O-Charoenrat P, Rhys-Evans P, Eccles SA. Expression of vascular endothelial growth factor family members in head and neck squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis. *Cancer* 2001;92:556-68.
123. Pepper MS, Tille C, Nasato R, Skobe M. Lymphangiogenesis and tumor metastasis. *Cell Tissue Res* 2003;314:167-77.
124. Kaipainen A, Korhonen J, Mustonen T, van Hinsbergh VW, Fang GH, Dumond D et al. Expression of the fms-like tyrosine kinase 4 gene becomes restricted to lymphatic endothelium during development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:3566-70.
125. Kukk E, Lymboussaki A, Taira S, Kaipainen A, Jeltsch M, Joukov V et al. VEGF-C receptor binding and pattern of expression with VEGFR-3 suggests a role in lymphatic vascular development. *Development* 1996;122:3829-37.
126. Jeltsch M, Kaipainen A, Joukov V, Meng X, Lakso M, Rauvala H et al. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice. *Science* 1997;276:1423-5.
127. Rak JW, St-Croix BD, Kerbel RS. Consequences of angiogenesis for tumor progression, metastasis and cancer therapy. *Anticancer Drugs* 1995;6:3-18.
128. Skobe M, Rockwell P, Goldstein N, Vosseller S, Fusening NE. Halting angiogenesis suppresses carcinoma cell invasion. *Nature Med* 1997;3:1222-7.
129. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
130. Williams JK, Carlson GW, Cohen C, Derosé PB, Hunter S, Jurkiewicz MJ. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in oral cavity tumors. *Am J Surg* 1994;168:373-80.
131. Burian M, Quint C, Neuchrist C. Angiogenic factors in laryngeal carcinomas: do they have prognostic relevance? *Acta Otolaryngol* 1999;119(2):289-92.

132. Shpitzer T, Chaimoff M, Gal R, Stern Y, Feinmesser R, Segal K. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in early oral tongue cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;122:865-8.
133. Moriyama M, Kumagai S, Kawashiri S, Kojima K, Kakihara K, Yamamoto E. Immunohistochemical study of tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 1997;33:369-74.
134. Zetter BR. Angiogenesis and tumor metastasis. *Ann Rev Med* 1998;49:407-24.
135. Lukits J, Timar J, Juhasz A, Dome B, Paku S, Repassy G. Progression difference between cancers of the larynx and hypopharynx is not due to tumor size and vascularization. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;125:18-22.

EKLER

Ek 1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
YEREL ETİK KURULU Edirne, Türkiye
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTFEK 2008 /168
	PROTOKOL ADI	Larinks Karsinomlu Olgularda Vasküler Endotelial Growth Faktör-A (VEGF-A) ve Vasküler Endotelial Growth Faktör -C (VEGF-C)'nin Prognosa Etkisi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Doç. Dr. Abdullah TAŞ
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	T.Ü.T.F. Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	TÜTF Yerel Etik Kurulu
	DESTEKLEYİCİ FİRMA	T.Ü. Araştırma Projeleri (TUBAP)
	FAZİ	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input checked="" type="checkbox"/> Tek Merkez <input type="checkbox"/> Çok Merkez <input checked="" type="checkbox"/> Ulusal <input type="checkbox"/> Uluslararası	

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Değişiklik No.su	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ		13.11.2008		<input checked="" type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ				<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce	
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ		13.11.2008		<input checked="" type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce	
OLGU RAPOR FORMU				<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 22 / 15	Tarih: 27.11.2008
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Abdullah TAŞ'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Dr. Burak DÜZEN'in tezinin araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeleri araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin T.Ü. Araştırma Projeleri (TUBAP) tarafından karşılanması koşuluyla gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına mevcudun oybirliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	Helsinki Bildirgesi, İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF Etik Kurul Yönergesi
----------------------	---

ÜYELER						
Ünvanı / Adı / Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ömer Nuri PAMUK Üye	Romatoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	E	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	katılmadı
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	katılmadı
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Deontoloji ve Tıp Tarihi	T.Ü.T.F. Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.	K	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	
Avukat Barış DEMİREL Üye	Hukuk	T.Ü. Rektörlüğü	E	E	<input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	

* Araştırma ile ilişki
** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Murat DİKMENGİL
Dekan

Ek 2

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı larenks kanserli olgularda VEGF-A ve VEGF-C düzeylerinin prognoza etkisi araştırılacaktır.

Bu araştırmanın amacı; kanser hastalarında tümör hücrelerinin büyümesinde ve tümörün yayılmasında önemli bir rolü olduğu bilinen, kanda bulunan VEGF-A ve VEGF-C'nin ameliyat öncesi ve sonrasında 6. ayda kanınızda bakılarak ve çıkarılan tümürlü dokulardaki damar sayısı mikroskopla tespit edilerek aralarında hastalığın seyri ile ilgili miktarlarında anlamlı bir fark olup olmadığı araştırılacaktır. Bu çalışmada sizden ameliyat öncesi anestezi almanız için gereken kan tahlilleri yapılırken kan örneği alınacaktır. Bu çalışmada yer almanız için öngörülen süre 6 ay olup çalışmada yer alacak gönüllülerin sayısı 40 kişidir. Ayrıca hastalığınızın tedavisi bittikten sonrada sizlerle operasyon sonrası 6. ayda telefon yolu ile çağrılarak yada kontrole geldiğinizde görüşüp tekrar kolunuzdan kan örneği alacağız. Bu çalışmada sizin için, kolunuzdan kan örneği alınması sonrasında şişlik ve morarma gibi riskler ve rahatsızlıklar olabilir. Bu durum geçicidir ve sağlıklı bir insanda da kan örneği alınmasında bu gibi rahatsızlıklar olabilmektedir. Bu çalışmaya katılmanız size ek bir yarar getirmeyecektir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0505 312 02 59 no.lu telefondan Dr.Burak DÜZEN 'e başvurabilirsiniz.

Bu çalışmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır. Ayrıca, bu çalışma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

Bu çalışmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Çalışmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada çalışmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini arttırmak vb. nedenlerle sizi çalışmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Sizde istediğinizde size ait bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve çalışmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım.

Çalışmaya katılmayı isteyip-istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Ek 3



T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

SAYI : B.30.2.TRK.0.70.73.0/ 2930 - 9373
KONU :

EDİRNE
20-05-2009

Sayın Doç. Dr. Abdullah TAŞ
Trakya Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı
EDİRNE

Yöneticiliğini yapmış olduğunuz ve Arş. Gör. Dr. Burak DÜZEN'in "Larinks Karsinomlu Olgularda Vaskuler Endotelial Growth Faktör-A (VEGF-A) ve Vaskuler Endotelial Growth Faktör-C (VEGF-C) nin Prognoza Etkisi" başlıklı tıpta uzmanlık projesinin, 18 (on sekiz) ay süre ve 7.505,00 TL ile desteklenmesine, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 29.04.2009 tarih ve 2009/02 sayılı toplantısında mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi'nin 12. maddesi uyarınca düzenlenen ve ekte sunulan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Sözleşmesi'nin tarafınızca imzalanarak 1 (bir) hafta içinde Rektörlüğe iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Beyhan Karamanlioğlu".

Prof. Dr. Beyhan KARAMANLIOĞLU
Rektör Yardımcısı ve
Komisyon Başkanı

EK: 1 adet protokol sözleşmesi