

AHMET TAYFUR EREN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2018



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**LARENKS KANSERLİ HASTALARDA SETD2 GEN
İFADESİNİN ARAŞTIRILMASI**

AHMET TAYFUR EREN

**DANIŞMAN
PROF.DR.SEMRA DEMOKAN**

**TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
ONKOLOJİK BİYOLOJİ VE İMMÜNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2018

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Onkolojik Biyoloji ve İmmünoloji Bilim Dalı Programında Yüksek Lisans öğrencisi Ahmet Tayfur EREN tarafından Prof.Dr.Semra DEMOKAN'ın danışmanlığında hazırlanan "Larenks Kanserli Hastalarda SETD2 Gen İfadesinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 09/10/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof.Dr.Hülya YAZICI ÖZBEK
İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü
Temel Onkoloji Anabilim Dalı



Jüri-Danışman

Prof.Dr.Semra DEMOKAN
İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü
Temel Onkoloji Anabilim Dalı

Jüri

Doç.Dr.Murat ULUSAN
İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi
Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü
Kulak-Burun-Boğaz Hast.Anabilim Dalı



Jüri

Doç.Dr.Meral YÜKSEL
Marmara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Yüksek Okulu
Tıbbi Lab.Tek.Anabilim Dalı



Jüri

Doç.Dr.Vakur OLGAÇ
İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü
Klinik Onkoloji Anabilim Dalı



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Ahmet Tayfur EREN



İTHAF



Bir umut olması dileğiyle tüm kanser hastalarına
ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü Müdürü **Prof.Dr.Ahmet KİZİR'e,**

İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı **Prof.Dr.Hatice Bilge BECERİR'e,**

Tez sürecimde içten desteği ile beni yüreklendiren, temel araştırmaların saygınlığı ve devamlılığı konusundaki kararlılığını gözlemleyerek çok şey öğrendiğim, tüm yüksek lisans sürecim boyunca bilgi ve birikimini benden esirgemeyen tez danışmanım **Prof.Dr.Semra DEMOKAN'a,**

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi KBB Hastalıkları ve BB Cerrahisi Anabilim Dalı'ndan **Doç.Dr.Murat ULUSAN** ile diğer tüm KBB çalışanlarına,

Tüm samimiyetleri ve olumlu enerjileri ile yanımda olduklarını hep hissettiren başta **Dr. Şeref Buğra Tunçer, Sena ŞEN, Sevede CÖMERT, Dr. Orkun GÜRBÜZ** olmak üzere diğer tüm Temel Onkoloji Araştırma Laboratuvarı çalışanları ve tüm yüksek lisans/doktora öğrencisi arkadaşlarıma,

Kendimi güvende ve güçlü hissetmemi sağladıkları için anneme, babama ve abime sonsuz teşekkürler.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:17190

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Larenks kanseri	3
2.1.1. Larenks Anatomisi ve Embriyolojisi	3
2.1.2. Larenks kanseri İnsidans ve Epidemiyoloji	5
2.1.3. Larenks Kanserinin Etiyolojisi.....	7
2.1.4. Larenks Kanserinin Histopatolojisi.....	8
2.1.5. Larenks Tanısı.....	9
2.1.6. . Larenks Kanseri Evrelemesi	10
2.1.7. Larenks Kanserinin Moleküler Biyolojisi.....	12
2.1.8. Tedavi yöntemleri	16
2.1.9. SET Domain Containing 2 Geni (<i>SETD2</i>).....	16
2.1.9.1. <i>SETD2</i> geninin yapısı ve işlevi	16
2.1.9.2. Protein yapısından biyolojik fonksiyona.....	17
2.1.9.3. Kanserde <i>SETD2</i> Geninin Rolü	18
2.1.9.4. <i>SETD2</i> Ekspresyonunun Düzenlenmesi.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1. Materyal	22
3.2. YÖNTEMLER.....	24
3.2.1. Materyal Toplama ve Eldesi	24
3.2.1.1. Serum eldesi	24

3.2.1.2. Doku eldesi.....	24
3.2.1.3. RNA İzolasyon İşlemi.....	24
3.2.2. cDNA Sentezi	26
3.2.3. Primer Tasarlanması ve Sentezi.....	27
3.2.4. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (QRT-PCR).....	27
3.2.5. <i>SETD2</i> Geninin Ekspresyon Seviyelerinin QRT-PCR Yöntemi İle Belirlenmesi.	27
3.2.6. Veri Analizi.....	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Larenks Kanserli Hastalara Ait Klinik Özellikleri.....	29
4.2. <i>SETD2</i> Geninin Ekspresyon Analiz Sonuçları	30
5. TARTIŞMA	33
KAYNAKLAR	37
ETİK KURUL KARARI	44
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	47
ÖZGEÇMİŞ	48

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Amerikan Kanser Derneği Larenks Kanseri T Evrelemesi.....	11
Tablo 2-2: Amerikan Kanser Derneği Larenks Kanseri N evrelemesi.....	11
Tablo 2-3: Amerikan Kanser Derneği Larenks Kanseri M evrelemesi.....	11
Tablo 2-4: Amerikan Kanser Derneği Larenks Kanseri klinik ve prognostik evreleme.	12
Tablo 2-5: COSMIC veritabanına dayalı bir dizi tümörde <i>SETD2</i> mutasyon sıklığına genel bakış (Şubat 2016).....	19
Tablo 3-1: Kullanılan Cihazlar	22
Tablo 3-2: Kullanılan Kimyasal Malzemeler	23
Tablo 3-3: Kullanılan Kimyasal Karışımlar	24
Tablo 3-4: cDNA sentezindeki reaksiyon karışım içeriği.....	26
Tablo 3-5: cDNA sentezi reaksiyon şartları	26
Tablo 3-6: Ekspresyon deneylerinde kullanılan reaksiyon şartları.....	28
Tablo 3-7:Ekspresyon deneylerinde kullanılan reaksiyon karışım içeriği.....	28
Tablo 4-1: Larenks kanseri tanısı almış hastalara ait klinik parametreler	29

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1:Larenks Anatomisi	5
Şekil 2-2: Cinsiyete bağlı olarak en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2014) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide).....	6
Şekil 2-3:Larenks kanseri oluşum mekanizmasında rol oynayan moleküler mekanizmalar.....	16
Şekil 2-4: <i>H3K36</i> 'nın <i>SETD2</i> aracılı trimetilasyonunun şematik gösterimi ve çeşitli biyolojik süreçlerdeki rolünü tanımlayan <i>H3K36me3</i> okuyucularına genel bir bakış....	18
Şekil 2-5: <i>SETD2</i> 'nin şematik gösterimi ile fonksiyonel alanların yeri ve isimsiz(nonsynonymous) mutasyonlar ve varyantlar.	20
Şekil 2-6: <i>SETD2</i> ifadesinin düzenlenmesi	21
Şekil 3-1: RNA izolasyon şeması.	25
Şekil 4-1: Tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla <i>SETD2</i> ekspresyon seviyesi.	30
Şekil 4-2: Larenks kanseri hastalarının tümör, eşlenik normal örneklerinin ekspresyon düzeyleri normalize edilerek $2\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak değerlendirilmesi.....	31
Şekil 4-3: Larenks kanseri hastalarına ait serum örneklerindeki ekspresyon düzeyleri normalize edilerek $2\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak değerlendirildi.	31
Şekil 4-4: <i>SETD2</i> ekspresyon düzeyleri ile referans genin (<i>ACTB</i>) tümör (T) ve eşlenik normal (N) doku örneklerindeki ekspresyon düzeyleri $2-\Delta\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak hesaplandı. (mavi: ekspresyon seviyesinde artış gözlenen örnekler; yeşil: ekspresyon seviyesinde azalış gözlenen örnekler).....	32

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- RNA:** Ribonükleik asit
- DNA:** Deoksiribonükleik asit
- IARC:** Uluslararası Kanser Ajansı
- cAMP:** Siklik adenozin monofosfat
- HPV:** İnsan papilloma virüsü
- TSG:** Tümör baskılayıcı gen
- GPCR:**G protein bağımlı reseptörler
- QRT-PCR:** Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
- SETD 2:** Histon metil transferaz 2 geni
- ACTB:** Beta aktin.
- GTP :** Guanin trifosfat
- mRNA:** Haberci RNA
- LN-DNA:** Lenfosit DNA'sı,
- ABD:** Ana bilim dalı
- EGFR:** Epidermal büyüme faktörü reseptörü
- BT:** Bilgisayarlı tomografi
- MR:** Manyetik Rezonans
- PET:** Pozitron emisyon tomografisi
- AJCC:** Amerikan kanser derneği
- LOH:** Heterozigosite
- FISH:** Floresan in situ hibridizasyon
- STAT:** Sinyal iletici ve transkripsiyon aktivatörleri
- MMP:** Matriks metalloproteinaz
- ccRCC:** Şeffaf hücreli böbrek hücre karsinomu
- GINI:** Anlamsız-aracılı mRNA çürüme İnhibisyonu

ÖZET

Eren, T.A. (2018). Larenks Kanserli Hastalarda *SETD2* Gen İfadesinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Larenks kanseri, malign hücrelerin larenkste veya gırtlakta büyüdüğü nadir bir kanserdir. Sigara tütününü ve alkol tüketimi, larenks kanseri için temel risk faktörleridir. Larenks vücutta yerleşim bölgesi nedeniyle kişinin yaşamsal fonksiyonları haricinde, kişinin sosyal hayatı yönünden de önemlilik arz eden bir organdır. Bu nedenle tedavi aşamasında kişinin sağkalım süresinin yanında cerrahi olarak larenksin rezeksiyona karşı korunması da amaçlanmaktadır. Hastalığın tanısının zor yapılması ve çoğunlukla ileri evrelerde hastalığın belirlenmesi, larenks kanserinin erken tanısını sağlayabilecek çalışmaları hızlandırmıştır. Tüm gelişmelere karşın, nüks ve tedaviye direnç halen tedaviyi güçleştirmektedir. Larenks kanseri halen tedavisi zorlu yapılan kanserler grubunda yer almaktadır. Bu sebeple, günümüzde erken teşhiste kullanılabilecek biyomarkerların ve daha efektif tedavi metodlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Larenks kanseri taraması ve erken evrelerde tespitini sağlayacak onaylı yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü olan ve malign dokuların tespiti yapan onaylı test bulunmamaktadır.

Onkolojik çalışmalarda tümör hücreleri ile normal hücreler arasında ekspresyon düzeyinin karşılaştırılabilir olması oldukça önemlidir. *SETD2* geni, çeşitli tümörlerde kopya sayısı kaybıyla sıklıkla hedeflenen bir bölge olan kromozom 3'ün p21.31 sitogenetik bandında yer almaktadır. *SETD2*, DNA onarımı, kromozom segregasyonu ve RNA ekleme işleminde rol oynamaktadır.

Tez çalışmamızda da larenks kanserinde, tanısında ve izlenmesinde marker olarak kullanılabilecek *SETD2* geninin ekspresyon düzeylerinin araştırılması hedeflendi. Çalışma sonucunda hasta tümör örnekleri, eşlenik sağlıklı normal dokuları ve cerrahi öncesi toplanan serum örnekleri *SETD2* gen ekspresyonu açısından karşılaştırıldı ve değerlendirildi. Hastaların %32'sinde (16/50) tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla, ekspresyon seviyesinde artış gözlenirken, hastaların %26'sında (13/50) tümör ekspresyon seviyesinde azalış gözlemlendi. Ekspresyon durumu ile hastaların klinikopatolojik verileri karşılaştırıldığında sigara ve alkol kullanımı, nüks, anatomik tutulum bölgeleri ve metastaz ile anlamlılık bulunamadı ($p>0,05$). Sadece *SETD2* genindeki ekspresyon artışı ile lenf nodu tutulumu arasında anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($p=0.048$).

Anahtar Kelimeler:Larenks Kanseri, *SETD2* geni, tümör dokusu, ekspresyon analizi, biyobelirteç. Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:17190

ABSTRACT

Eren, T.A. (2018). Investigation of *SETD2* Gene Expression in Laryngeal Cancer Patients. Istanbul University Health Sciences Institute, Department of Basic Oncology. Master Thesis. Istanbul.

Laryngeal cancer is a rare type of tumor in which malignant cells grow in the larynx. Cigarette and alcohol consumption are the main risk factors for laryngeal cancer. Apart from the vital functions of the person it is also important for the social life of the person due to the location of the larynx in the body. For this reason, it is aimed to protect the laryngeal resection as well as the duration of the patient's survival. The difficulty of diagnosis and the determination of the disease mostly in advanced stages have accelerated the studies that can provide early diagnosis of laryngeal cancer. Despite all developments, recurrence and treatment of the disease resistance still make treatment difficult. Laryngeal cancer is still in the group of cancer patients who are difficult to treat. For these reasons, biomarkers and more effective methods of treatment that can be used in the early stages of aging are needed nowadays. There are no approved tests to detect malignant tissues and confirmed high specificity to detect early stage detection for laryngeal cancer.

It is very important that oncology studies can compare expression levels between tumor cells and normal cells. The *SETD2* gene is located on the cytogenetic band p21.31 of chromosome 3, a region frequently targeted by loss of copy number in various tumors. *SETD2* plays a role in DNA repair, chromosome segregation and RNA addition.

Therefore, we aimed to investigate the expression levels of the *SETD2* gene which can be used as a marker in larynx cancer, diagnosis and follow-up in our thesis study. As a result of the study, patient tumor samples, conjugated healthy normal tissues and serum samples collected before surgery were compared and evaluated in terms of *SETD2* gene expression. In 32% of patients (16/50) there was an increase in the level of expression compared to the normal tissue in the tumor, 26% (13/50) of patients showed a decrease in tumor expression level. When the expression status and the clinicopathological data of the patients were compared, no significant difference was found between smoking and alcohol consumption, recurrence, anatomic involvement zones and metastasis ($p > 0.05$). Only a significant correlation was observed between expression increase in the *SETD2* gene and lymph node involvement ($p = 0.048$).

Key words: Laryngeal Cancer, gene, tumor tissue, expression analysis, biomarker. This work was supported by the Istanbul University Scientific Research Projects Unit. Project number:17190

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklardan sonra en sık rastlanan ölüm sebebi kanserdir [1]. Uluslararası kanser ajansı (IARC) verilerine göre her yıl ortalama 14 milyon kişi kanser tanısı almaktadır. Her yıl ortalama 9 milyon insanın bu hastalık sebebiyle hayatını kaybettiği bildirilmektedir [2]. Türkiye Kanserle Savaş Daire Başkanlığı'nın Türkiye için oluşturduğu veri tabanında da nüfusa dayalı yeni kanser tanıları ve kanser hastalığı nedeniyle gerçekleşen ölüm oranları uyuşmaktadır [3]. Larenks kanseri, Avrupa'daki en yaygın malignitelerden biridir ve yılda yaklaşık 52.000 yeni vaka tanı almakta ve bunların %90'ı erkeklerde görülmektedir. Güney ve kuzey Avrupa'daki erkekler için yıllık insidans hızı, sırasıyla 100.000'de 18 ve 100.000'de 6'dır [4]. Türkiye genelinde ise 2014 yılı verilerine göre erkeklerde 100.000'de 6,2 kadınlarda ise 0,5 olarak oranlar verilmiştir. 2010-2013 yılları arası erkeklerde 100.000 kişide 8 civarlarında olan insidans hızı 2014 yılında düşüş göstereceği kadınlarda ki oran 2010-2014 yılları arasında 100.000 kişide 0.5 oranını korumuştur [3]. Larenks kanseri, malign hücrelerin larenkste veya gırtlakta büyüdüğü nadir bir kanserdir. Sigara tütünü ve alkol tüketimi, larenks kanser için temel risk faktörleridir. Kanser hastalığı, hücrelerde kalıtsal veya çevresel etkenlerin oluşturduğu genetik ve epigenetik mekanizmalardaki bozuklukların tümünün oluşturduğu yapıdır. Geçtiğimiz süreçte teknolojinin gelişmesiyle birlikte elde edilen veriler doğrultusunda kanser vakalarının meydana gelmesi ve prognozunda genetik faktörlerin yanı sıra kanser hücrelerinde oluşan epigenetik farklılıklarında büyük önem taşıdığı vurgulanmıştır [5,6].

Kanser oluşumunda en sık karşılaşılan epigenetik mekanizma ise tümör süpresör genlerin promotör bölgelerinde oluşan DNA hipermetilasyonudur [7,8]. Sigaranın promotör bölgelerdeki hipermetilasyonu nedeni olduğu açıkça belirtilmektedir [9]. Buna benzer çevresel etkenlere baş ve boyun bölgesinin sıklıkla maruziyeti genetik ve çevresel faktörler arasındaki mekanizmanın kanser üzerindeki etkisini ortaya koymaktadır [10,11]. Baş ve boyun kanserleri bütün kanser vakalarının %4'ünü oluşturmakla birlikte: farenks, larenks, paranasal sinüsler, nazal kavite, oral kavite ve tükürük bezleri gibi bölgelere yerleşirler [12,13].

Larenks bölgesi en fazla kanser oluşan 3. baş-boyun bölgesidir [4]. Larenks vücütte yerleşim bölgesi nedeniyle kişinin yaşamsal fonksiyonlarını haricinde, kişinin sosyal hayatı yönünden de önemlilik arz eden bir organdır. Bu nedenle tedavi aşamasında kişinin sağkalım süresinin yanında cerrahi olarak larenksin rezeksiyona karşı korunmasında amaçlanmaktadır. Tedavi olarak kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi müdahaleler birlikte kombine şekilde veya ayrı olarak uygulanmaktadır [13,14].

SETD2 (Histone-lysine N-methyltransferase) bir histon metiltransferaz genidir. *SETD2*, *POLR2*'nin fosforile olması ile onunla etkileşime girer ve transkripsiyon sırasında kromatin yapısını değiştirir. Ayrıca promotor bölgeye bağlanarak transkripsiyonel aktivatör olarak etki gösterebilir. *SETD2*, bir tümör baskılayıcı gen olan *p53* ile etkileşime girerek onun transkripsiyon aktivitesini değiştirir. 3. kromozomun kısa kolunda yerleşmiş *SETD2*'nin renal hücreli kanserlerde tümör baskılayıcı bir gen olduğu düşünülmektedir. Son yapılan çalışmalarda kromozomun 3p bölgesinde görülen bir kayıp bu bölgede yer alan tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybı ile ilişkilendirilmiştir [15-19]. Yapılan literatür incelemesinde ürünü bir histon metiltransferaz olan *SETD2* geni ile larenks kanserinde yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Bu da çalışmanın özgünlüğünü arttırmaktadır. Yapacağımız tez çalışmamızda, larenks kanserli hastaların tümör ve sağlıklı normal doku örnekleri ile serum materyalinde *SETD2* gen ifadesi araştırılacak, elde edilecek bulgularla hastalara ait klinik parametreler arasındaki ilişki de araştırılacak ve gen profilinin kanserle ilişkisinin olup olmadığı değerlendirilecektir.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda larenks kanserinde *SETD2* geninin ekspresyon düzeyinin belirlenmesi ve larenks kanserinin etiolojisindeki yerinin ne olduğunun araştırılması sonucu biyobelirteç olma potansiyelinin de araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Larenks kanseri

2.1.1. Larenks Anatomisi ve Embriyolojisi

Larenks vücutta 3-6. boyun vertebraları arasında bulunan solunum ve ses oluşumu gibi yaşamsal faaliyetlerde görev alan bir organdır. Çocukluk çağında 1-4. boyun vertebraları arasında bulunan larenks ergenlikle birlikte aşağı bölgeye inerek olması gereken seviyesine yerleşir. Genellikle Larenks, kadınlarda ve çocuklarda daha yüksek bir seviyeye yerleşim gösterir. Larenksin büyüklüğü, ergenlik dönemine kadar erkek ve kızlarda çok benzerdir. Puberteden sonra boyut erkeklerde iki katına çıkar. Larenks, geniş bir boşluk ağız boşluğu ve daha küçük trakea arasında yer alır. Bu eşsiz konum, insanları aspirasyona karşı uygun hale getirir. Larenks, daha geniş olan hava yolunun (orofarenks) korunmasında belirli bir koruyucu rol oynamaktadır [20]. Epiglotun laringeal yüzü ile vokal kortların kenarları yassı epitel, diğer bölümleri ise solunum yolu epiteli olan yalancı çok katlı silindirik epitelle döşelidir [12].

Larenks kıkırdak yapılardan oluşmaktadır. Bunlardan biri Tiroid kıkırdağıdır. Bu, laringeal iskeleti oluşturan 9 kıkırdaktan en büyüğüdür. Bu kıkırdak bir kalkan gibi şekillendirilmiştir. Laringeal kıkırdakların en büyüğüdür. Orta çizgide inferior olarak karşılanan iki laminaya sahiptir. Tiroid, iki tiroid kıkırdak laminasının tamamlanmamış füzyonu ile oluşur. Lamina arasındaki füzyon açısı erkeklerde yaklaşık 90 derece ve kadınlarda 120 derecedir. Erkeklerdeki kaynaşmış anterior sınırlar, Adem elması olarak bilinen palpe edilmiş bir yapıyı oluşturur. Bebeklerde ise, intratroid kartilaj olarak bilinen tiroid kartilajının iki tabakası arasında küçük bir kıkırdak şeridi vardır. Tiroid kıkırdağının laminaları arkadan farklıdır. İki tabakanın arka kenarı, superior ve inferior olarak bilinen iki ince süreç olarak belirir. Superior tabaka uzun ve dardır, yukarı doğru kıvrılır, geriye doğru ve konik bir medyal olarak sonlanır. İnférieur tabaka, superior tabakadan daha kısa ve daha kalındır [20].

Diğer bir kıkırdak yapısı ise krikoid kıkırdaktır. Solunum yolunun tamamındaki tek tam kıkırdaktır. Bir işaret halkası gibi şekillendirilmiştir. Posterior derin dörtgen lamina ve anterior dar bir kemikten oluşur. Kıkırdağın kemer ve lamina bölgesinde tiroid kıkırdağının alt kornu bir eklem faseti mevcuttur [21].

Krikoid kıkırdağın laminasının omurgası eğimli ve aritenoid kıkırdak artikülasyonu için eklem yüzeyleri vardır. Krikoid kıkırdaktaki bu eklemler sinoviyaldir. Krikoid kıkırdak, tiroid kıkırdağı ile bu eklemler boyunca enine olarak geçen bir eksen etrafında eklem oluşturur [22].

Aritenoid kıkırdaklar ise krikoid laminanın üst ve yan kenarlarında birbirine yakın yerleştirilmiş küçük çiftlenmiş kıkırdaklardır. Bu kıkırdaklar piramit yapısındadır, forward ve lateral olmak üzere iki çıkıntısı vardır. Forward çıkıntı da vokal kord olarak bilinir. Vokal kıvrımlar vokal süreçte görev alırlar. Lateral çıkıntı ise ayrıca kas yapısı olarak bilinir. Bu kaslara krikoaritenoid ve lateral krikoaritoid kaslar yapışır [21,22].

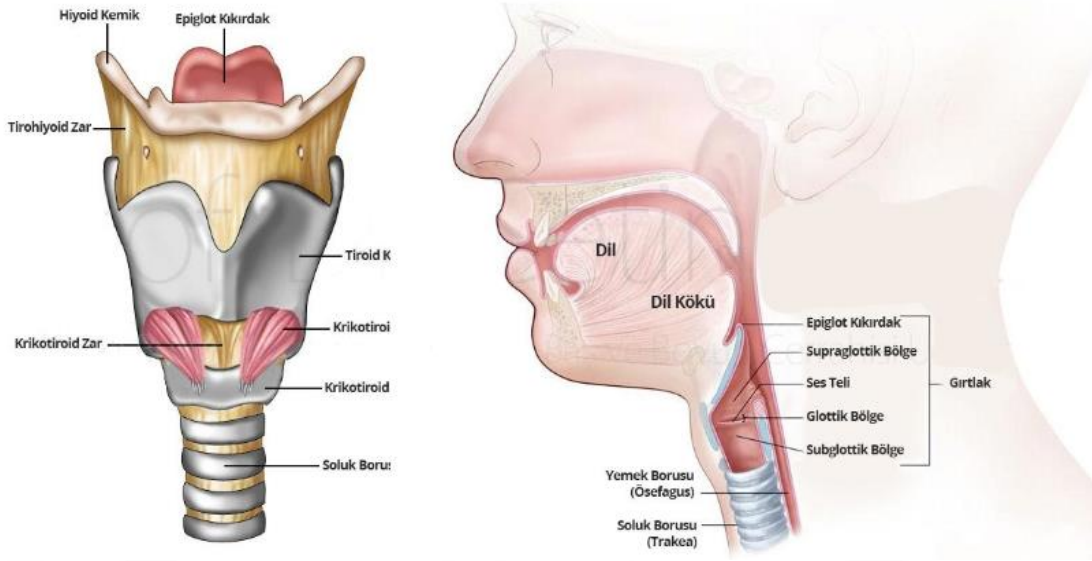
Kornikulat ve Kuneiform kıkırdaklar ise kornea kıkırdakları, aritenoid kıkırdağın apsisleriyle eklemlenen küçük konik fibroelastik kıkırdak nodülleridir. Wrisberg kıkırdağı da denilen bu kıkırdaklar, kornikulat kıkırdağının ön bölgesinde ariepiglottik plika içinde destek görevi görürler [22].

Epiglot dilin ve hiyoid kemiğin gövdesinin arkasına uzanan yaprak şekilli fibroelastik kıkırdaktır. Onun dar sapı tiroitiglottik ligament tarafından tiroid laminaları arasındaki tiroit altındaki bölgeye bağlanır. Üst kısmı geniş, yukarı ve geriye doğru yönlendirilmiştir. Epiglotun laringeal kısmında tiroepiglottik yapı ile sınırlanan yastık yapısı vardır ve yutkunma esnasında epiglot yukarı ve öne doğru hareket ederek larenksin girişini kapatır. Anatomik bölgelere kanser açısından bakıldığında, larinks üç alt kısma ayrılır: supraglottis, glottis ve subglottis. Larinksin kanseri, bu alt gruplardan birinde başlar, ancak başka bir alt bölgeye dönüşebilir.

Supraglottis: Gırtlığın bu kısmı ses tellerinin üzerindedir. Supraglotis'in alt bölgeleri, hiyoid kemiğin üstündeki epiglotis, hiyoid kemiğin altındaki epiglotis, ariepiglottik kıvrımlar, aritenoidler ve yanlış vokal kordları (ayrıca ventriküler kıvrımlar olarak da adlandırılır) içerir.

Glottis: Gırtlığın bu kısmı tiroid kıkırdağının arkasına saklanmış. Sesini üretmekten sorumludur. Gerçek ses tellerinden oluşur. Ses tellerinin bulunduğu larenksin önündeki lokasyonu ifade eder.

Subglottis: Gırtlığın bu kısmı ses tellerinin dibinden trakea ile birleştiği bir santimetre altına kadar uzanır [21-23].

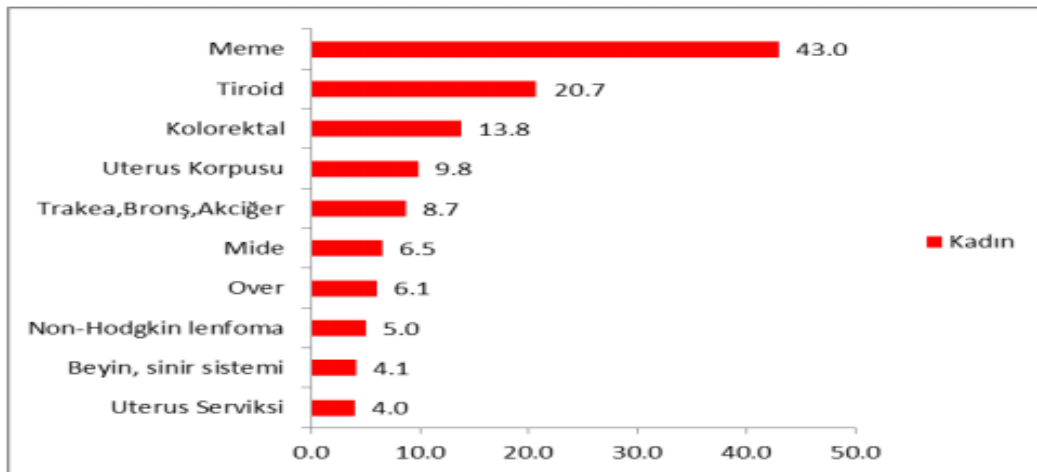
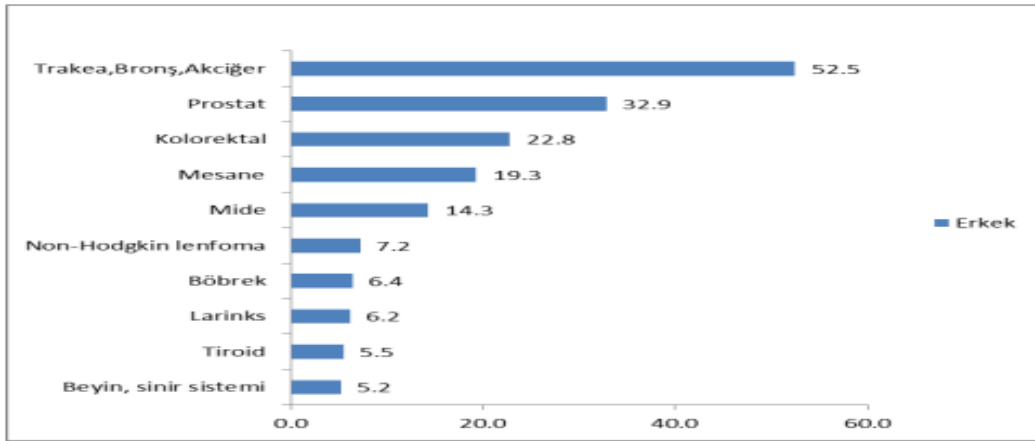


Şekil 2-1:Larenks Anatomisi

2.1.2. Larenks kanseri İnsidans ve Epidemiyoloji

Güney Avrupa'da, supraglottis karsinom, glottis kanserinden daha yaygın iken, tersi kuzey-batı Avrupa için doğrudur ve bunun, laringeal kanser hastalarının genel sağkalımı üzerinde bir etkisi vardır. Larenksin tüm kanserlerinin% 95'i skuamöz hücreli karsinomdur [24]. Kanada, İtalya, Danimarka, Avustralya ve ABD'den artan insidans oranları özellikle kadınlar için bildirilmektedir. Finlandiya'da, 1970'lerin başından beri erkeklerde genel olarak azalan bir insidans oranı yaşanmaktadır. Bu oranlar supraglottis kanser vakalarının azalmasıyla ortaya çıkmıştır, muhtemelen Finlandiya'da sigara içme yaygınlığında azalmasıyla güçlü bir bağlantı bulunmaktadır [25]. Avrupalı erkek popülasyonunda larenks kanserinin insidansı yaşla birlikte artmaktadır, çoğu karsinom 65 yaş ve üzerindeki kişilerde (tüm vakaların yaklaşık% 45'i) ve 6. ile 7. dekadlarda en yüksek insidans seviyelerine ulaşmaktadır [26]. 1992 yılında insidans hızı 100.000'de 142'dir. Bunların çoğu (%76) uzun sağkalım sağlanmış, tanı tarihinden itibaren 5 yıl veya daha uzun bir süre yaşamaktadırlar. Larenks kanserinin en yüksek prevalansı, Veneto bölgesinde (İtalya'nın kuzeydoğusundaki) yaklaşık %2'dir. 1985-1989 yılları arasında Avrupa'da teşhis edilen erişkinler için larenks kanserinden 5 yıllık sağkalım oranı %62'dir. Prognozda da genel bir ilerleme görülmüştür: 1978-1989 yılları arasında 5 yıllık sağkalım %58'den %63'e çıkmıştır [27].

Larenks kanserli Avrupalı hastalar için 5 yıllık sağ kalımda ülkeler arası büyük farklılıklar vardır. Doğu Avrupa ve Fransa, düşük sağkalım (% 55'ten az) ile karakterize durumdadır. Hollanda, İsveç ve Almanya'da sağ kalım oranları genellikle daha yüksektir (%70'ten fazla) [27]. Larenks kanserinin prognozu, semptomların erken görünümünü, tanı aşamasında ve cerrahi radikal rezeksiyonun fizibilitesi ve tümörün anatomik bölgesine göre büyük ölçüde değişir. Glottis kanser, supraglottis, subglottis ve nadir laringeal kıkırdak tümörlerinden daha iyi prognoza sahiptir [28,29]. Kanslerle Savaş Derneği'nin 2014 yılı cinsiyete göre 100.000 kişide en sık görülen 10 kanser sıralamasında larenks kanseri, Türkiye'de erkeklerde 8. sırada bulunmaktadır [3].



Şekil 2-2: Cinsiyete bağlı olarak en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2014) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide)

2.1.3. Larenks Kanserinin Etiyolojisi

Larenks kanseri, esas olarak ieeğinin tipine bakılmaksızın, tütün kullanımı ve alkol tüketiminden kaynaklanır. Larenksin farklı anatomik bölgeleri etiyoloji göz önüne alındığında ayırt edilmelidir. Tütün, vokal kord ve glottis kanserleri için risk oluştururken, alkol supraglottis kanseri için daha belirgindir [30]. Riskin büyük bir kısmı tütüne atfedilebilir, ancak tek başına alkolün azaltılması bile vakaların dörtte birini hala önleyebilmektedir. Bunun yanında tütün ve alkol tüketiminin birlikte sinerji içinde olduğu görülmektedir [31]. Meyve ve sebzeler açısından zengin bir diyetle ilişkili faktörlerinde koruyucu olduğu bulunmuştur. Birçok epidemiyolojik çalışmadan elde edilen kanıtlar, karotenoidler, retinol ve C vitamini gibi vitaminlerin, larenks kanserini geliştirme riskini azaltabileceğini öngörmektedir [30]. Larenks kanseri ve asbest arasındaki ilişki halen tartışmalıdır. Akciğer kanserine yakalanma riskinin 2 kattan yüksek olduğu asbeste maruz kalan işçilerin, larenks kanser riski de kaçınılmazdır. Göreceli riskler 1,14 ile 3,75 oranları arasındadır [32]. Diğer mesleki karsinogenik ajanlar nikel, hardal gazı, izopropilalkol ve buharıdır [33]. Larenks kanserinin önlenmesinin en etkili yolu tütün içmekten kaçınılmasıdır [30]. Baş ve boyun kanserleri, genetik yatkınlık olarak bu maruziyete karşı hassas olan kişilerde görülür. Kanseri gelişimi için gerçek riski tahmin etmede birkaç faktör dikkate alınmalıdır. Karsinogen emilimini etkileyen herhangi bir faktör bu mekanizmada bir rol oynayabilir. *Sitokrom p450*, *Cyp1a1* geni, *glutasyon-S transferazının* metabolik polimorfizmi ve diğer genler bu konuda araştırılmaktadır [4].

Tümörler, spesifik genetik değişiklikler geçiren hücrelerden klonal olarak ortaya çıkar. Baş ve boyun tümörlerinin önemli bir kısmı *p16*, *p53*, *PTEN*, *Rb* veya proto-onkogenler *Cyclin D1*, *p63* ve *EGFR* gibi ortak onkogenlerin değişimlerini içerir. Özellikle, larenks kanserinde *Rb*, *Cyclin D1* ve *EGFR* karsinogenez açısından önemli rol oynamaktadırlar [34]. Örneğin, bir mutasyona bağlı olarak *p53* fonksiyonunun kaybı, premalign lezyondan invaziv kansere doğru bir progresyon ile sonuçlanır ve sonuçta daha fazla genetik progresyon olasılığını artırır. Baş ve boyun kanserlerinde bu genlerdeki değişikliklerin klinik olarak daha anlamlı bir şekilde belirlenmesi için büyük hasta popülasyonları gerekecek bunun sonucunda baş ve boyun kanserleri açısından genetik risk faktörleri açıkça belirlenmiş olacaktır [4].

Tüm baş ve boyun bölgesi papillomaları, tip 6 ve 11'in insan papilloma virüsü (HPV) genomik dizilerini içerir. Bu HPV tiplerinin, aynı zamanda orofarenksin papillomalarına neden olduğu da bilinmektedir. Papillomaların spontan olarak malign dönüşümü, genital sistemde gözlenen riskten çok daha az sıklıkta görülen nadir bir olaydır. Papilloma hastalarından alınan örnekler, papillomalarda bulunan HPV tip 6 veya 11'in aynı HPV genomik sekanslarını barındırır, ancak moleküllerin, tümörün potansiyelini arttıran yeniden düzenlemelere maruz kaldığı gösterilmiştir. Larenks karsinomlarının % 15 kadarı HPV DNA içermesine rağmen, HPV içermeyen tümörler ile karşılaştırıldığında genellikle düşük bir *p53* mutasyonu oranı vardır. Bu özellik, HPV'yi barındıran yassı hücreli karsinomların farklı bir kategoriye temsil edebileceği fikrini desteklemektedir [35,36].

2.1.4. Larenks Kanserinin Histopatolojisi

Larenksin prekanseröz lezyonları, invaziv karsinomaya meyilli artmış riskle ilişkili lezyonlar olarak tanımlanabilir. Önceki yıllarda, keratinizasyon veya lökoplaki insidansı değerlendirilmede en büyük öneme sahipti. Ancak daha yakın zamanda, sınıflandırma temel olarak atipinin derecesine dayanmaktadır, çünkü bu açıkça prognoz üzerinde bir etkiye sahiptir [37]. Mevcut sınıflandırmalar aşağıdaki gibi özetlenebilir;

Atipisiz, keratozlu veya skuamöz hücreli hiperplazi

Keratoz olan veya olmayan, atipik veya displazi olan yassı hücreli hiperplazi.

İn situ karsinom;

Mikro invaziv veya yüzeysel stromal invazyonlu karsinom.

İnvaziv karsinom

Grup I, II ve III hastaları, sırasıyla olguların %10, %24 ve %58'inde invaziv karsinomlar geliştirir [38].

Larenks'in anaplastik karsinomu, skuamöz veya glandüler hücrelerden yoksundur, yüksek biyolojik agresivlik ile karakterizedir ve kötü prognozludur [39]. Larenks'in verrüköz karsinomları, genellikle oral kavite mukozasından kaynaklanan, ancak larenkste bulunan düşük dereceli skuamöz hücreli karsinomlardır. Bu indolent neoplazm, gerçek invazyon belirtileri olmaksızın bazal membran disleksiyonu gibi malign özellikleri gösterebilir. Son zamanlarda bu tip tümörlerde HPV'nin 16 veya 18 alt tipi ile güçlü ilişkiler ortaya çıkmıştır [40].

Skvamöz hücreli karsinomların histolojik derecelendirilmesi, Dünya Sağlık Örgütü tarafından larenks kanserleri için yapılan sınıflandırmaya dayanmaktadır. Bu sınıflandırmada keratinizasyona ve karsinomun normal skuamöz epitelyuma genel benzerliğine göz önüne alınır. Buna göre;

G1:İyi diferansiye

G2:Orta derece diferansiye

G3: Kötü diferansiye veya anaplastik olarak sınıflandırılmaktadır.

Patolojik tanının doğruluğu ve güvenilirliği; Skvamöz hücreli karsinom tanısı, özellikle iyi diferansiye karsinomlu hastalarda iyi eğitimli patoloğlar için özel problemler ortaya çıkarmamaktadır. In situ karsinomlar, daha az diferansiye formlar veya iğsi hücreli karsinomlar gibi nadir tümörlerin tanısı daha zor olmaktadır. Bu nedenle, tanının baş ve boyun onkolojisinde sağlam bir arka plana sahip deneyimli patoloji ekipleri tarafından doğrulanması gerekir [4].

2.1.5. Larenks Tanısı

Belirti ve bulgu olarak ses kısıklığı, hastaların tıbbi konsültasyon aramasına neden olan temel semptomdur. Bu, glottis lezyonları için erken bir semptom olmasına karşın supraglottis tümörleri için geç bir dönemdir. Geç dönemde disfaji, yabancı cisim hissi ve öksürük sık görülür, ancak ses kısıklığı sadece glottik düzlem istila edildiğinde ortaya çıkar. Subglottis tümörleri sadece ses telleri infiltre olduğunda kendini belli etmektedir [4].

Klinik değerlendirmede laringoskopi kullanarak tam bir kulak, burun ve boğaz muayenesi larenks kanseri için tanısal çalışmanın ilk adımı olmalıdır. Fleksibl fiber laringoskopi, daha önce larenksin görselleştirilmesi zor olan hastalarda laringoskopi'nin güvenilirliğini arttırmıştır. Vokal kord hareketliliği ve laringeal alt tiplere göre kesin tümör uzanımı dikkatle değerlendirilmelidir.

Görüntüleme bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MR) günümüzde hastalığın evrelemesi için tek yararlı radyolojik prosedürlerdir. Her iki görüntüleme bize tümör hacmi (özellikle büyük lezyonlarda), kıkırdak tutulumu, pre-epiglotis alanının invazyonu ve larenks uzaması hakkında bilgi verebilir. Aynı zamanda baş-boyun bölgesinde lenf nodları hakkında da ek bilgi elde edilebilir.

Farklı merkezler arasında BT kullanımında büyük kaygılar olmasına karşın genel olarak, BT hastaların yaklaşık % 20'sinde daha ileri evre bir hastalık olduğunu ortaya koymaktadır [41].

Kemoterapi veya radyoterapi tedavilerinden sonra tedaviye yanıtın değerlendirilmesi, organ koruma yaklaşımlarının artan popülaritesi ile giderek daha fazla irdelenir hale gelmiştir. Bu olgularda, klinik karar vermede tümör hacminde azalma oranı genellikle büyük önem taşır, ancak ödem veya fibrozis resmi etkileyebilir. Bu gibi durumlarda hem fizik muayene hem de radyolojik görüntüleme yetersiz olabilir.

2- (F-18) fluoro-2-D-glukoz aktivitesi ile pozitron emisyon tomografisinin (PET), radyoterapiden sonra malign değişikliklerden benign formasyonların ayırt edilmesinde ve tümör yanıtının değerlendirilmesinde yararlı olduğu gösterilmiştir, ancak kullanımı halen araştırıcı olarak kabul edilmelidir. Bireysel klinik kullanım için uygundur [42-44].

Endoskopik optik cihazların rutin kullanımı azalmaya eğilimli olmasına rağmen, doğrudan laringoskopi'nin direkt mikroskobik incelemeyle takip edilmesi yararlı olmaktadır. Patolojik doğrulama hem direkt laringoskopi hem de endoskopi ile sağlanabilir. Direkt laringoskopi'nin dezavantajı genel anestezi gerektirdiğinden, önceden trakeotomi yapılmadığı sürece büyük stenotik lezyonlar için yapılamaz. Bununla birlikte, daha önceki bir trakeotominin stomal nüks riskini arttırdığı gösterildiğinden, endoskopi ve direkt laringoskopi yapılması arasındaki seçim, son cerrahi işlemle aynı anda yapılması yönündedir.

Küçük lezyonlarda direkt laringoskopi tercih edilir. Bu, bir mikroskop ile kullanıldığında optimal tanım sağlayabilir ve aynı zamanda tedavi prosedürünün terapötik rezeksiyonun gerçekleştirilmesine imkan tanır [4].

2.1.6. . Larenks Kanseri Evrelemesi

Amerikan Kanser Derneği (AJCC) tarafından 2010'da yenilenmiştir. TNM evrelemesi kullanılmaktadır. Tümör büyüklüğü ve anatomik invazyon T (Tablo 2-1), lenf nodu tutulumu N (Tablo 2-2) ve metastaz durumu M (Tablo 2-3) TNM verilerine göre klinik evreleme yapılır (Tablo 2-4) [45].

Tablo 2-1: Amerikan Kanser Derneği Larenks Kanseri T Evrelemesi.**Primer tümör (T)**

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor

T0: Primer tümöre ait herhangi bir bulgu yok.

Tis: İn situ karsinom

Supraglottis

T1: Normal vokal kord hareketleriyle birlikte supraglottisin bir kesimine sınırlı tümör

T2: Larenks fiksasyonu olmadan supraglottisin birden fazla alt bölgesine veya glottise ya da supraglottis dışında bir bölgeye (dil kökü, vallekula, piriform sinüsün mediyal duvar mukozası vb.) invaze tümör.

T3: Vokal kord fiksasyonu ile birlikte larenkse sınırlı ve/veya postkrikoid alanın, preepiglottik boşluk, paraglottik boşluktan herhangi birine ve/veya tiroid kıkırdağınıç korteksine invaze tümör.

T4a: Orta düzeyde lokal ileri hastalık. Tiroid kartilaj ve/veya larenks dışında herhangi bir dokuya (trakea, dilin ekstrinsik kasları dahil boyun yumuşak dokuları, strap kası, tiroid veya özofagus) invaze tümör.

T4b: Çok ileri düzeyde lokal ileri hastalık. Tümör prevertebral boşluğa invaze veya karotid arteri sarmış.

Glottis

T1: Normal vokal kord hareketleriyle birlikte vokal kord (lar) a sınırlı (anterior posterior komissürü tutabilir) tümör.

T1a: Bir vokal korda sınırlı tümör

T1b: Her iki vokal kordu tutmuş tümör

T2: Supraglottise ve/veya subglottise uzanan tümör ve/veya vokal kord hareketlerinde bozukluk

T3: Vokal kord fiksasyonu ile birlikte larenkse sınırlı ve/ veya paraglottik boşluğa invaze ve/veya tiroid kartilajın iç korteksine invaze tümör.

T4a: Orta düzeyde lokal ileri hastalık. Tiroid kartilajın dış korteksine ve/veya larenks dışında herhangi bir dokuya (trakea, dilin ekstrinsik kasları dahil boyun yumuşak dokuları, strap kası, tiroid veya özofagus) invaze tümör.

T4b: Çok ileri düzeyde lokal ileri hastalık. Tümör prevertebral boşluğa invaze veya karotid arteri sarmış.

Subglottis

T1: Tümör subglottiste sınırlı

T2: Tümör vokal kord(lar) a uzanmış, kord hareketleri normal ya da bozulmuş.

T3: Vokal kord fiksasyonu ile birlikte larenkse sınırlı tümör.

T4a: Tümör tiroid kıkırdağı invaze etmiş ve/veya larinks dışı tutulum yapmış (trakea, boyun derin dokuları, tiroid, özofagus)

T4b: Tümör prevertebral boşluğu tutmuş, karotid arteri sarmış, mediastinal yapılara invaze olmuş

Tablo 2-2: Amerikan Kanser Derneği Larenks Kanseri N evrelemesi.

Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok.
N1	Aynı tarafta en büyük boyutu ≤ 3 cm olan tek lenf nodu metastazı.
N2a	Aynı tarafta, tek, >3 cm ve ≤ 6 cm lenf nodu metastazı
N2b	Aynı tarafta, çok sayıda ≤ 6 cm lenf nodu metastazı
N2c	İki taraflı ya da karşı tarafta en büyük boyutu ≤ 6 cm lenf nodu metastaz(lar)ı
N3	>6 cm metastatik lenf nodu metastaz(lar)ı

Tablo 2-3: Amerikan Kanser Derneği Larenks Kanseri M evrelemesi.

Mx	Uzak metastaz varlığı belli değil
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var.

Tablo 2-4: Amerikan Kanser Derneği Larenks Kanseri klinik ve prognostik evreleme.

Evre 0	Tis	N0	M0
Evre I	T1	N0	M0
Evre II	T2	N0	M0
Evre III	T3	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
Evre IVA	T3	N1	M0
	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
Evre IVB	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
	T4b	Herhangi N	M0
	Herhangi T	N3	M0
Evre IVC	Herhangi T	Herhangi N	M1

2.1.7. Larenks Kanserinin Moleküler Biyolojisi

Kansere neden olan moleküler değişiklikler, birçok lösemi ve lenfomada bulunanlar gibi büyük kromozomal translokasyonlar, delesyonlar ve amplifikasyonlardan kaynaklanabilir. Baş ve boyun kanserlerinde, progresyona anöploidinin de artarak eşlik ettiği vurgulanmaktadır[46]. Laringeal premalinansilerde yapılan bu çalışmalar, displastik ve in situ karsinom lezyonlarda tetraploidizasyon gösterir, ancak normal epitelyumda ve nadiren hiperplastik lezyonlarda görülür [47]. Baş ve boyun tümör örneklerinde kayıp veya kazanca eğilimli genomun belirli bölgeleri tanımlanmıştır. Spesifik olarak, çalışmalar 3p, 5q, 8p, 9p, 18q ve 21q üzerinde büyük kromozomal delesyonlar ve 3q, 5p, 7p, 8q ve 11q'de kayıp alanlarını belirlemiştir [48-52]. Bir çalışma, larenksin metastatik tümörlerinin daha yüksek ortalama sahip olduğunu göstermiştir. Primer tümörlere göre kromozomal değişikliklerin sayısı ve metastazların 13, 8p ve 9q kromozomlarında daha fazla kayıp göstermesidir [53]. Baş ve boyun kanserlerinde histopatolojik şiddetin artması ve kromozom değişiminin metastatik fenotip ile belirgin artış göstermesiyle birlikte kromozomal anormalliklerin birikmesi, premalign lezyonlarda genomu stabil olarak koruyamayan kusurlu kromozom mekanizmalarının olabileceğini düşündürmektedir. Knudson'un hipotezi, malign fenotipe yol açan bir tümör baskılayıcı gen inaktivasyonu ve allelik kayıp için her iki ebeveyn allelinin kaybı mevcuttur [54].

Sporadik tümörlerde, tümör süpresör gen inaktivasyonu ve allelik kaybının, bir allel mutasyonu ve diğer mekanizmalarla diğer allellerin kaybı ile ortaya çıkabilir. Gerçekte, bu işlem, her iki alelin ekspresyon kaybına eşittir, bu da, tümör baskılayıcı gen inaktivasyonu ve allelik kayıp ürününün fonksiyonel bir eksikliğine yol açar. Bu nedenle, bir veya her iki allelin delesyonu, tümör baskılayıcı gen inaktivasyonuna ve allelik kaybın yaşayabileceği potansiyel varsayımlar için bir tanımlayıcı bir faktördür. Bununla ilgili bir çalışmada araştırmacılar kolon kanserinde kromozom 17p'nin sıklıkla delesyona uğradığını tespit etmişlerdir. Lokus daha fazla haritalandığında, p53, 17p13 kaybının hedefi olarak karakterize edilmiştir ve daha sonra, tüm insan maligniteleri arasında en yaygın mutasyona uğramış genlerden biri olarak karakterize edilmiştir [55].

Kromozomal alterasyonu açıklayan analizler, büyük kayıp veya kazanç bölgelerini tanımlamaktadır. Allelik kayıp arayan daha spesifik deneyler, mikrosatellit işaretleyicileri tanımlamak için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizlerinin kullanımını içerir. Mikrosatellitler, çoğu zaman insan genomuna dağılmış olan kodlamayan bölgelerdeki tekrarlayan dizilerdir. Deneysel olarak amplifikasyon sonrası eşleştirilmiş normal dokuda bulunan maternal ve paternal allellerin dengesi tümör veya lezyonunki ile karşılaştırılır. Bu şekilde, kaybolan veya kazanılan alleller, ilgili örneklerde tanımlanabilir. Bu allelik kayıp aynı zamanda heterozigosite (LOH) kaybı olarak bilinir. Bu mikrosatellit tekrarları genom boyunca yer aldığından, ilgilenilen geni bulduran bölge, bölgeyi çevreleyen mikrosatellit işaretleyicileriyle o bölgeyi çevreleyen kayıp modeline bakılarak ince bir şekilde haritalanabilir. Dahası, tümörler ortak mikrosatellit kaybı paternleri ile karakterize edilebilir ve tanımlanabilir.

Bir çalışmada 29 primer tümör numunesi üzerinde 58 mikrosatellit belirteç kullanılarak, her bir kromozomal kolda bulunan allelik dengesizlik oranını detaylandıran kapsamlı bir baş ve boyun kanseri allelotipi yapıldı [56].

3p (% 67), 11q (% 61), 17p (% 52) ve 13q (% 54) gibi birçok hotspot bölge tespit edildi. En sık görülen kayıp ise 21 kromozomunda (% 70) meydana gelmiştir [57]. Bu noktalardan biri de tümör baskılayıcı gen inaktivasyonu ve allelik kaybına yol açan *p16*'dir. *P16* geni, hücrelerin siklin *CDK4* ve *CDK6*'yı inhibe ederek hücre döngüsüne girmesini engeller, böylelikle Rb'nin fosforilasyonunu engeller ve hücrenin G1 büyüme fazını S-fazına geçmesini önler [58].

Bu hücre döngüsü ilerlemesinin inhibisyonu, hücrenin büyümesini durdurur. Bu düzenleyici mekanizma bozulursa, hücre bölünmesinin durdurulduğu mekanizmalardan birini kaybeder. Bununla birlikte, *p16*'daki birkaç mutasyon, baş-boyun tümörlerinde tanımlanmış olup, gen susturucu alternatif mekanizmaların meydana geldiği düşünülmektedir [59].

Her ne kadar allelik kayıp kesinlikle kazançtan daha yaygın olsa da, normal ya da mutasyona uğramış bir gen ürününün amplifikasyonu üzerine bazı genler, hücrenin büyümesi ve bölünmesi için artan bir uyarana sağlar. 11q13'ün amplifikasyonu, baş-boyun kanserlerinin yaklaşık üçte birinde meydana gelir. *Siklin D1* (aynı zamanda *PRAD1* veya *CCND1* olarak da bilinir) geni bu lokusta bulunur. *Siklin D1*, *Rb*'yi fosforilleyerek onu aktive eder ve hücre döngüsü boyunca, G1'den (büyüme) fazdan S'ye (sentez) faza ilerlemeye yol açar. *P16*'nın normal fonksiyonu, *siklin D1*'i inhibe ederek *Rb*'nin fosforilasyonunu azaltmaktır. Bu ilgili ve karşıt fonksiyonlara rağmen, *p16* kaybının ve *siklin D1* kazancının hücre döngüsü düzensizliğine yol açan bağımsız mekanizmalar olduğu gösterilmiştir [60]. Ayrıca kromozom 3q'nin amplifikasyonu da gösterilmiştir. Fonksiyonu hala araştırılmakta olmasına rağmen, birkaç ekleme varyantına sahip bir *p53* homologu tanımlanmıştır. Bu proteinler p40 / p51 / p63, mikrosatellit işaretleyicileri kullanılarak 3q distal bölgesine tanımlanarak haritalanmıştır. Bu lokustaki, *p53* homologisi göz önüne alındığında allel kaybından ziyade, bu genlerin bir amplifikasyonu saptanmıştır. Primer baş ve boyun tümörlerinin %54'ü bu bölgedeki allelik dengesizliği göstermektedir. Floresan in situ hibridizasyon (FISH) teknikleri, birçok kanser hücresinin bu lokusun artan bir kopyasına sahip olduğunu göstermiştir, bu da bu bölgenin baş boyun kanseriyle ilişkili olduğunu düşündürmektedir [61]. Bu nedenle, bu *p53* homologlarının işlevi tamamen belli olmamakla birlikte, bunların skuamöz hücreli karsinomlarda tümör baskılayıcı bir rol yerine onkogenik bir role sahip oldukları açıktır. Genetik amplifikasyon, RNA ve protein aşırı ifadesinin temelidir, ancak aşırı ekspresyonun ortaya çıkabileceği tek önemli mekanizma değildir. Artmış DNA kopyaları ve translasyonu, artan sayıda gen kopyalarının yokluğunda meydana gelebilir. Kanser progresyonunda birkaç gen ürünü tespit edilmiştir.

Bu ürünler kanser teşhisi ve olası terapötik müdahaleler için anlamlı hedefler sağlayabilir. Epidermal büyüme faktörü (EGF), bir tirozin kinaz yolağı ile, hücre bölünmesini, göçü, yapışmayı, farklılaşmayı ve apoptozu etkilediği bilinmektedir [62].

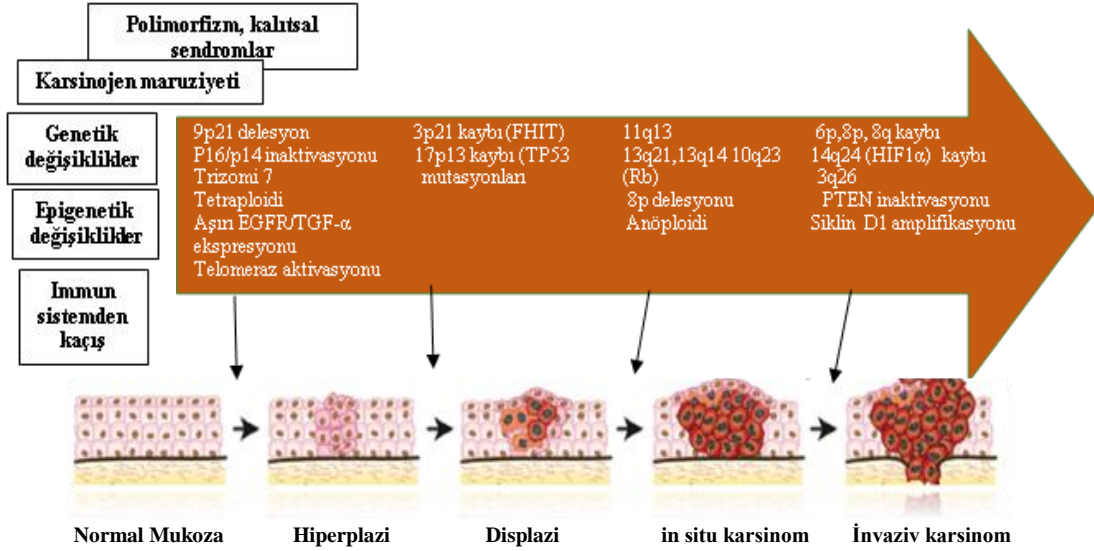
Aynı zamanda EGF'nin yüksek düzeyde ekspresyonunun, baş ve boyun kanserinde rekürrens ve kötü prognozun bir göstergesi olduğu gösterilmiştir [63]. EGFR proteininin aşırı ekspresyonu erken bir olaydır, çünkü EGFR ifadesi premalign lezyonlarda displazinin şiddetiyle artmaktadır [64].

Larenks kanserinde özellikle araştırmacılar, EGF reseptör düzeylerinin metastazsız ve genel sağkalım açısından önemli bağımsız belirleyicileri olduğunu keşfetmişlerdir, ancak bu seriler sınırlı sayıda hasta içermekteydi ve büyük çalışmalarda çoğaltılmamışlardır [65,66].

EGFR'nin hedeflerinden biri tespit edilmiştir. Sinyal iletici ve transkripsiyon aktivatörleri (STAT), EGFR'nin tirozin kinaz bölgesi tarafından fosforile edilir ve aktive edilir. Bu STAT'lar daha sonra DNA promotörlerine bağlanabilir ve gen ekspresyonunu düzenleyebilir [67]. STAT3'ün ekspresyonunun baş ve boyun karsinogenezinde erken bir olay olduğu ve baş boyun-boyun ksenograft modelinde antiapoptotik bir role sahip olduğu ve bunun kanser progresyonunda önemli olduğunu gösterilmiştir [68].

Matriks metalloproteinazlar (MMP) ailesinin genleri ve gen ürünleri, kolajenleri parçalayabilme yeteneklerinden dolayı, bu hücreleri bazal membranı ve metastazları istila etmek için teorik kabiliyetleri vererek metastaz için potansiyel belirteçler olarak çalışılmıştır. Baş-boyun hücre hatları ve tümör dokusu üzerinde yapılan çalışmalar, MMP protein düzeylerinin gerçekten yükseldiğini ve tümör yayılımı için mekanizmalarından birini açıklamaya yardımcı olabileceğini düşündürmektedir [69,70].

Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında yapılan bir çalışmada, EGF seviyelerinin MMP-9 ekspresyonuna yol açtığı, EGFR sinyal yolunun tümör invansiyonunda rol oynayabileceğini ve MMP yollarının yanı sıra bilinen tirozin kinaz yollarından yayılabileceğini göstermektedir, şekil2-3'de larenks kanserinde rol oynayan moleküler mekanizmalar ve etkileri gösterilmiştir [71].



Şekil 2-3:Larenks kanseri oluşum mekanizmasında rol oynayan moleküler mekanizmalar

2.1.8. Tedavi yöntemleri

Tedavinin amacı kesin olarak kür elde etmektir. İyileşme veya tedavi olasılığı hastalığın lokal (bölgesel) genişlemesine bağlıdır. T1/T2 tümörleri gibi erken evre tümörler % 80/90 oranında iyileşme olasılığına sahipken, daha ilerlemiş tümörler için bu yaklaşık % 60'tır. Literatürde farklı terapötik yaklaşımlar hakkında az sayıda karşılaştırmalı çalışma olduğu için larenksin tedavi endikasyonları genellikle tartışmalıdır [72]. Cerrahi ve radyoterapi yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu iki prosedür arasındaki seçim, alınması gereken en yaygın terapötik karardır. Fonksiyon koruma son on yılda daha fazla ağırlık kazanmıştır ve bu bakış açısından kemoterapinin kullanımı yeni bir önem kazanmıştır [73,74].

2.1.9. SET Domain İçeren Protein 2 Geni (*SETD2*)

2.1.9.1. *SETD2* geninin yapısı ve işlevi

SETD2 geni, çeşitli tümörlerde kopya sayısı kaybıyla sıklıkla hedeflenen bir bölge olan kromozom 3'ün p21.31 sitogenetik bandında yer almaktadır [19]. *SETD2*, 147Kb genomik bir bölgeyi kapsar ve 21 ekzondan oluşur. *SETD2* proteini 2.564 amino asitten oluşur ve moleküler ağırlığı 287.5kd'dur. *SETD2* proteini, histon 3 (H3K36me3) üzerinde lizin 36'nın trimetillenmesini spesifik olarak katalize eden bir histon metiltransferazdır [18]. *SETD2*, DNA onarımı, kromozom segregasyonu ve RNA ekleme işleminde rol oynamaktadır [15-17].

İnsan hücrelerinde, berrak hücreli böbrek kansinomu (yaklaşık % 20) ve yaklaşık %5-%10 mesane kanseri[75], akciğer kanseri, melanoma ve endometrial kanseri[76] dahil olmak üzere *SETD2* mutasyonu veya silinmesi yaygındır.

Araştırma *SETD2*'nin fare modellerinde intestinal tümör oluşumunu inhibe etmek için alternatif ekleme modüle ettiğini bildirmiştir [77]. Ayrıca, mide kanserinde düşük *SETD2* ekspresyonu zayıf prognozla korelasyon göstermiştir [78].

Bununla birlikte, regüle edilen tümörögenез ve hedef sinyal yollarındaki rolü büyük oranda belirlenememiştir. *SETD2* proteininde üç korunan fonksiyonel domain tanımlanmıştır: Bunlar üçlü AWS-SET-PostSET domaini, bir WW domaini ve bir Set2 Rpb1 etkileşimli (SRI) etki domainidir.

2.1.9.2. Protein yapısından biyolojik fonksiyona

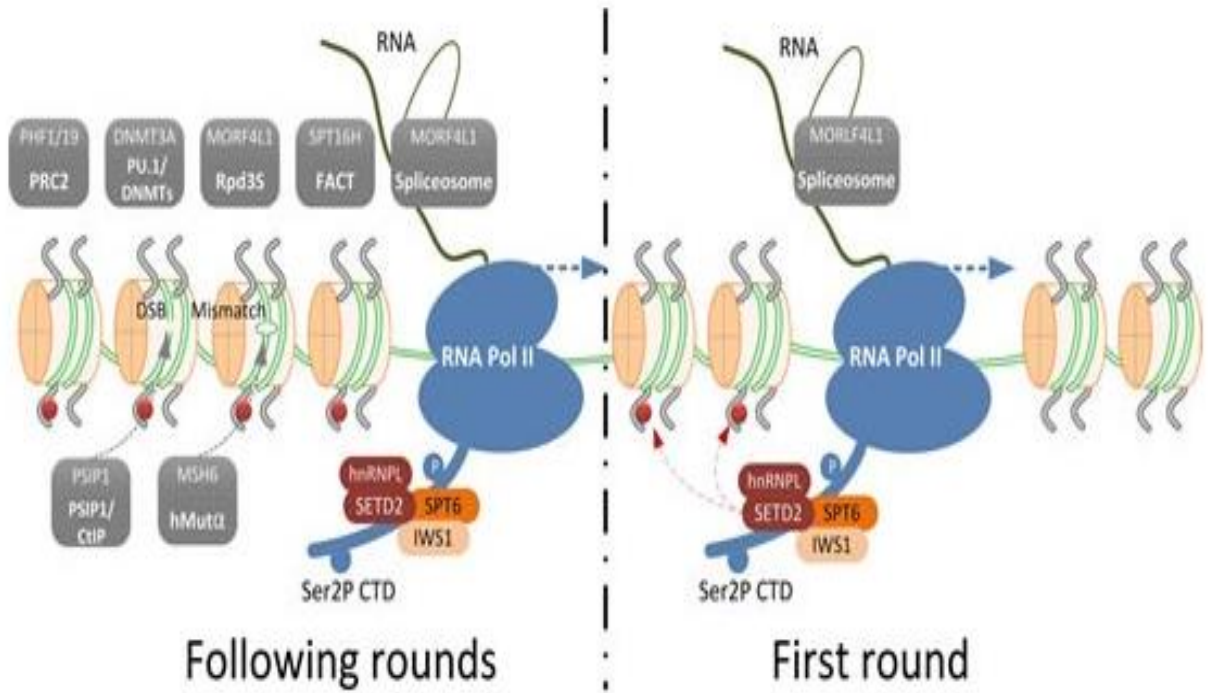
Yukarıda belirtilen fonksiyonel alanlar, *SETD2*'nin biyolojik fonksiyonunu tanımlar. AWS-SET-PostSET alanları sayesinde *SETD2*, *H3K36*'nın trimetilasyonuna aracılık eder [79].

İn vitro olarak, insan *SETD2* *H3K36*'nın mono-,di-ve tri-metilasyonunu gerçekleştirebilir ancak in vivo olarak senaryo farklıdır [80]. ySET2, *H3K36*'nın tüm metilasyon seviyelerini katalize ederken, *SETD2* sadece memelilerde *H3K36me3*'ü modüle eder. *SETD2*'nin demonte edilmesi *H3K36me1* ve *H3K36me2* seviyelerini bozmadan *H3K36me3*'ün tam yokluğunu indükler [18].

İnsanda, *H3K36*'nın trimetilasyonu, bir kompleks tarafından gerçekleştirilir ki bunlardan *SETD2* ve Heterojen Nükleer Ribonükleoprotein L (hnRNPL) ana alt birimlerdir [81].

Bu çalışmalara dayanarak, *SETD2*'nin bu değişiklikten tek başına sorumlu olduğu ortaya çıkmıştır. Katalizör *H3K36* trimetilasyon şimdi *SETD2*'nin ana işlevi olarak kabul edilir. *H3K36me3*, belirli histon modifikasyonları ile ilgili efektör proteinleri tarafından tanınmakta ve bu modifikasyonların fonksiyonel sonuçlarını belirlemektedir [82].

H3K36'nın *SETD2* aracılı-trimetilasyonunun çeşitli biyolojik işlemlere nasıl dahil edildiğinin şematik bir temsili Şekil 2-4'de gösterilmiştir.



Şekil 2-4: *H3K36*'nın *SETD2* aracılı trimetilasyonunun şematik gösterimi ve çeşitli biyolojik süreçlerdeki rolünü tanımlayan *H3K36me3* okuyucularına genel bir bakış

2.1.9.3. Kanserde *SETD2* Geninin Rolü

Kanserdeki *SETD2* mutasyonları hakkındaki ilk rapor, Dalglish ve ark. 2010'da ccRCC'de inaktivasyon mutasyonlarını tanımladıkları tarihte ortaya çıkmıştır [75]. Aynı zamanda, “Anlamsız-aracılı mRNA çürüme İnhibisyonu (GINI)” stratejisi ile gen tanımlaması kullanılarak, 10 ccRCC-türevli hücre hattından 5'inde *SETD2* mutasyonları inaktive edilmiştir [83]. 10 primer ccRCC tümöründen 2'sinde *SETD2* mutasyonları görülmüştür [84]. *SETD2*'nin bu iki allelik inaktivasyonu, genin bir tümör baskılayıcı gen olabileceğine dair ilk ipucuydu. İki büyük kohort çalışması, ccRCC'de yaklaşık % 11'lik bir *SETD2* mutasyonu sıklığını ortaya koymuştur [85,86]. ccRCC'de kesilen mutasyonların oranı, Hakimi ve ark. [87] yapmış oldukları çalışmada %50'den fazla bulunmuştur ve COSMIC'de %57'dir. Bu da ccRCC olmayan tümörlerde (%32, COSMIC) kesilen mutasyonların fraksiyonundan önemli ölçüde daha yüksektir. Yine de, tüm ekzom dizileme çalışmaları, çeşitli kanser türlerinde somatik *SETD2* mutasyonlarını ortaya çıkarmıştır. (Tablo 2-5 mutasyonlar gösterilmiştir.) *SETD2* inaktivasyonunun, diğer tümörlerin gelişiminde de rol oynadığının bir göstergesi olarak

görülebilmektedir. Birçok çalışmada, mutasyonun *SETD2*'nin iki allelik inaktivasyonuna yol açıp açmadığı açık değildir. Dahası, somatik *SETD2* mutasyonlarının çoğu, fonksiyonel sonuçların genellikle belirsiz olduğu yanlış mutasyonlardı.

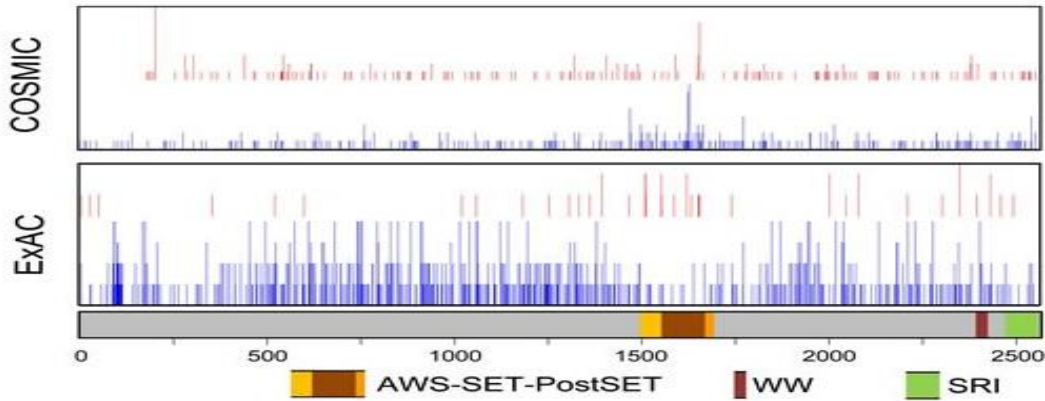
Zhu ve ark.nın [88], lösemi (134x akut miyeloid lösemi (AML) ve 107x akut lenfositik lösemi (ALL)) vakalarının incelenmesiyle gösterilmiş olup, bu çalışmada 15 hastada saptanan 19 somatik *SETD2* mutasyonunun sadece 8'i tanımlanmıştır. Bi-allelik mutasyonlar sadece 4 hastada tespit edildi. Diğer tümörlerde de, *SETD2* haploinsitesinin bir hastalık fenotipine yol açtığı göz ardı edilemez.

Tablo 2-5: COSMIC veritabanına dayalı bir dizi tümörde *SETD2* mutasyon sıklığına genel bakış (Şubat 2016)

Tissue/tumour subtype	Percentage of samples with mutation		cases tested
	truncating	missense	
Kidney	4.19	3.10	2197
<i>ccRCC</i>	5.43	4.14	1473
Lung	1.26	1.42	1826
<i>Adenocarcinoma</i>	3.51	3.51	550
Skin	1.08	2.65	1017
Liver	0.74	1.55	1611
<i>Hepatocellularcarcinoma</i>	0.78	1.12	893
Soft tissue	0.70	4.67	428
Biliary tract	0.66	0.66	152
<i>Adenocarcinoma</i>	0.67	0.67	150
Endometrium	0.63	3.49	631
<i>Endometrioid carcinoma</i>	0.74	4.08	539
Large intestine	0.59	3.05	1345
<i>Adenocarcinoma</i>	0.62	3.10	1298
Breast	0.58	0.94	1378
Central nervous system	0.47	0.38	2128
Pancreas	0.46	0.33	1521
<i>Ductal carcinoma</i>	0.40	0.57	1240
Stomach	0.34	2.04	587
Urinary tract	0.30	0.90	666
Haematopoietic and lymphoid	0.24	0.87	2519
<i>Acute lymphoblastic B cell</i>	1.54	2.32	258

<i>leukaemia</i>			
<i>Acute lymphoblastic T cell</i>	0.97	0.97	207
<i>leukaemia</i>			
<i>Diffuse large B cell lymphoma</i>	0.00	3.20	250
Ovary	0.24	0.59	843
<i>Serous carcinoma</i>			
Bone	0.20	0.60	496
<i>Prostate</i>			
<i>Adenocarcinoma</i>	0.12	0.48	827

ccRCC'de, *SETD2*, bu tümör tipindeki spesifik rolüne göre en yaygın olarak mutasyona uğramış 5. gen (COSMIC, rank 4) olarak sıralanır. Tümörportalda, *SETD2* mutasyonları ccRCC ve glioblastoma multiformda “oldukça anlamlı” olarak belirtilir ve mesane kanserinde “anlamlı derecede” olarak belirtilir. Kombine edilen tüm kanserlerde, SET alanı ile örtüşen yaklaşık 200 amino asit segmentinde (p.M1468'den p.Q1668'e kadar) hafif bir *SETD2* missense mutasyonu kümelenmesi vardır. Aynı bölge, normal popülasyonda missense varyantlarından yoksundur (ExAC veritabanı, <http://exac.broadinstitute.org>, Ocak 2016, bu domaindeki missense mutasyonlarının genellikle zarar veren mutasyonlardan daha fazla olabileceğini göstermektedir. Fonksiyon kaybına yol açan *SETD2* missense mutasyonlar tüm gen boyunca bulunabilir (Şekil2-5 cosmic verisi bulunmaktadır). *SETD2* missense mutasyonlarının tümör gelişimi ve/veya progresyonunda potansiyel fonksiyonel sonuçları ile ilgili rollerini belirlemek için daha ileri çalışmalar gereklidir.

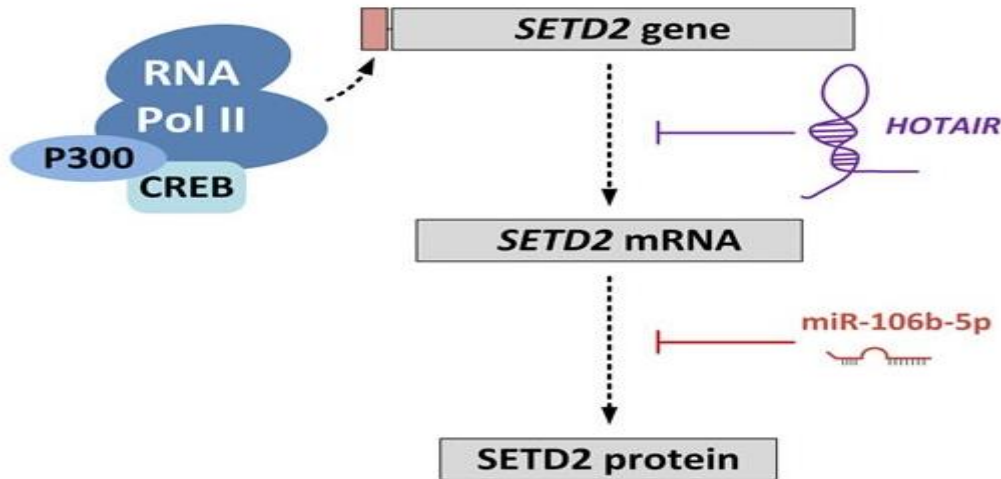


Şekil 2-5: *SETD2*'nin şematik gösterimi ile fonksiyonel alanların yeri ve isimsiz(nonsynonymous) mutasyonlar ve varyantlar.

Nonsynonymous mutasyonların yeri ExAC (~ 120000 allelde Germline varyantları; Ocak 2016) ve COSMIC (23,249 vakada somatik varyantlar; Ocak 2016) ile elde edilmiştir. İntronik bölgeler ve 3'- ve 5'-çevrilmemiş bölgeler gösterilmemiştir. Kırmızı, inaktive edici varyantların konumu; Mavi, missense değişkenlerinin konumu. COSMIC verileri için, çubuğun yüksekliği mutasyonların sayısına göre, ExAC verileri için, çubukların yüksekliği üçlü başına 1, 2-5, 6-10 veya > 10 değişkenleri gösterir.

2.1.9.4. SETD2 Ekspresyonunun Düzenlenmesi

Veri tabanları incelendiğinde, *SETD2*'nin tüm dokular olmasa da, çoğunda her yerde ifade edildiği görülmüştür. Bu, H3K36'nın trimetilasyonundan sorumlu olan tek gen işlevi nedeniyle şaşırtıcı değildir. Bununla birlikte, kanserle ilişkili çalışmalarda, kanser hücrelerinde *SETD2* düzeyini modüle edebilen ve kanserli olmayan hücrelerde de bunu yapabilen iki faktör tanımlanmıştır (Şekil2-6). Karaciğer kanseri ile ilgili yeni bir çalışma, *SETD2* ve *HOX* transkript antisens RNA'sının (HOTAIR) ifadesi arasında negatif bir korelasyon olduğunu göstermiştir [89]. HOTAIR ifadesi birkaç kanserle ilişkilendirilmiştir ve onkojenik uzun kodlayıcı olmayan bir RNA olduğu gösterilmiştir [90]. HOTAIR, *SETD2*'nin transkripsiyonunu bastırdığı ve H3K36me3 seviyesini düşürdüğü ve bu nedenle, HOTAIR aşırı ifadesinin, H3K36me3 okuyucularının aracılık ettiği çeşitli hücresel işlemlere bağlandığı görülmüştür.



Şekil 2-6: *SETD2* ifadesinin düzenlenmesi

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal

2017/889 dosya numaralı çalışmamız, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul'unda 11/08/2017 gün ve 13 sayılı toplantıda görüşülerek onaylanmıştır. Çalışmamıza İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları, Baş-Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı'na 01.01.2016 - 01.01.2018 arasında başvuruda bulunmuş hekim tarafından bilgilendirilerek ve gönüllü onay formu imzalatılarak bilgilendirilmiş ve araştırmaya katılmayı kabul etmiş ve öncesinde herhangi bir tedavi uygulanmamış larenks tümörü tanısı konmuş 50 hastanın (yaş ortalaması: 57±10) cerrahi müdahale öncesi serum örnekleri ve cerrahi müdahale esnasında da bu hastalara ait tümör ve komşu normal doku örnekleri toplandı. Bütün deneysel çalışmalar İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD Araştırma Laboratuvarları'nda gerçekleştirildi.

Tablo 3-1: Kullanılan Cihazlar

• Agaroz Jel Elektroforez Tankı (BRL Life Technologies, ABD)
• Ultra Derin Dondurucu (-80 °C) (Sanyo, Japonya)
• El homojenizatörü (Qiagen, Almanya)
• Etüv (Hereaus, Almanya)
• Güç Kaynağı (Bio- Metra, Almanya)
• Hassas Terazî (Chyo, Japonya)
• Jel Dökümentasyon Sistemi (Vilber- Lourmat, Almanya)
• LightCycler 480 Real Time cihazı (ROCHE, Almanya)
• Mikropipetler (Thermo, İsveç)
• Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scientific, ABD)
• Otoklav (Hiramaya, Japonya)

• Soğutmalı Santrifüj (Hettich, Almanya)
• Vorteks (Snijders, Hollanda)

Tablo 3-2: Kullanılan Kimyasal Malzemeler

• Agaroz (Wisent MultiCell, Kanada)
• Borik asit (Wisent MultiCell, Kanada)
• Orange G (Merck, Almanya)
• Deoksiribonükleotid trifosfat (Fermentas, Litvanya)
• Ethanol (Riedel De Haen, Almanya)
• Etilen-diamin-tetraasetik-asit (Sigma, Almanya)
• Etidyum Bromür (Sigma, Almanya)
• Taq Polimeraz (Thermo Scientific, Almanya)
• İsoopropanol (Riedel De Haen, Almanya)
• Magnezyum Klorür (Thermo, Litvanya)
• Proteinaz K (Roche, Almanya)
• Ribonükleaz A (Sigma Aldrich, ABD)
• Sodyum Dodesil Sülfat (Merck, Almanya)
• Tris (Applichem, Almanya).

Tablo 3-3: Kullanılan Kimyasal Karışımlar

Parçalama Tamponu (1 L):	155 mM NH ₄ Cl
	10 mM KHCO ₃
	0.1 mM EDTA (pH: 8,0)
SE Tamponu (1 L):	75 mM NaCl
	25 mM EDTA
	30 mM Tris-HCl (pH: 8,0)
TE Tamponu (1 L):	20 mM Tris-HCl (pH: 8,0)
	1 mM EDTA (pH: 8,0)
Fenol için TE Tamponu (0,5mL):	0,25 mM Tris (pH:8,0)
	0,5 mM EDTA (pH:8,0)
Fenol/Kloroform/İsopropanol:	(1:1) (Fenol/Kloroform) / İsopropanol
Proteinaz K:	20 mg / mL
Ribonükleaz A:	10 mg / mL
SDS (1 L)	100 g sodyumdodesilsülfat (%10; pH:7,2)

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Materyal Toplama ve Eldesi

3.2.1.1. Serum eldesi

Cerrahi müdahaleden önce, sağlıklı ve hasta kişilerden 8-10 mL kuru tüpe periferik kan örnekleri toplandı. Akabinde laboratuvara teslim edildi. Sonrasında 1950 RPM'de 30 dakika süresince santrifüj edildi. Tüpün en üst kısmında kalan serum kriyotüplere 1 mL olarak eşit şekilde dağıtıldı.

3.2.1.2. Doku eldesi

Larenks tümörü tanısı konan 50 hastadan 0,5 cm çapında büyüklüğü olan primer tümör ve normal doku ile malignite harici bir nedenle cerrahi müdahale yapılması öngörülen hasta olmayan kişilerden uvulopalatofaringoplasti (UPPP) yöntemi ile 0,5 cm çap büyüklüğünde normal mukoza alındı. Akabinde buz içinde muhafaza edilerek laboratuvara verildi. RNA izolasyonuna kadar -80°C'de muhafaza edildi.

3.2.1.3. RNA İzolasyon İşlemi

mRNA'da ekspresyon baskılanmasının araştırılması sebebiyle hasta ve normal bireylerden alınan dokulardan RNA izolasyonunda, SV Total RNA İzolasyon Kiti(Promega, ABD) kullanıldı.

İlk olarak 1,5 mL'lik tüplere konulan doku örneklerinin üstüne 500 µL TriPure Isolation Reagent (Roche, Almanya) ilave edildi. Sonrasında el homojenizatörü (QIAGEN, Almanya) yardımıyla homojenize edilmiş olup üstüne 100 µL kloroform ilave edildi. Elde edilen karışıma vorteks işlemini uygulandı. Akabinde 12000 g'de 10 dk boyunca santrifüj edildi. En yukarıda yer alan şeffaf faz alınıp farklı bir tüpe konuldu. Sonrasında üzerine 200 µl %95 etanol ilave edilip pipetaj uygulandı ve kitin protokolünde bulunan aşamalar takip edilerek RNA izolasyonu yapıldı. Toplanan RNA örneklerinin miktar ve saflık derecesi (A260/A230) Nanodrop cihazında hesaplandı. Böylece kalite kontrolü tamamlanmış oldu (Şekil 3-1).

3.2.2. cDNA Sentezi

Dokulardan alınan total RNA'dan cDNA'ya dönüşüm işleminde RevertAid First Strand cDNA Sentez Kiti (Thermo Scientific, Almanya) kullanıldı. Tablo 3-1'de gösterilen reaksiyon karışımı hazırlandı. Reaksiyon Tablo 3-2'deki gösterilen şartlarda oluşturuldu.

Tablo 3-4: cDNA sentezindeki reaksiyon karışım içeriği.

Total RNA (100 ng)	Değişken
dH.O	11 µL – totalRNA hacmi
Random primer	1 µL
5X RT Reaksiyon tampon	4 µL
RNaz İnhibitörü	1 µL
10 mM dNTP mix	2 µL
Reverse Transkriptaz	1 µL
Toplam hacim	20 µL

Tablo 3-5: cDNA sentezi reaksiyon şartları

Sıcaklık	Süre
25°C	5dk
42°C	60dk
70°C	5dk

3.2.3. Primer Tasarlanması ve Sentezi

Ekspresyon deneylerinde kullandığımız *SETD2* geninin inceleyeceğimiz bölgeye özgü primer dizilerini mRNA dizisine göre tasarladık. Referans genimiz olan *ACTB*'nin primerleri de aynı şekilde tasarlandı. Araştırmamızda ekspresyon deneylerinde kullanılan oligonükleotid dizileri IDT (Integrated DNA Technologies) tarafınca sentezlendi. Aşağıda primer dizileri verilmiştir.

SETD2 Forward Primer: 5' GTTGCTTCTAGTCGATTTTTGC '3

SETD2 Reverse Primer: 5' TGGAGGGTTTGGAGTATCACTT '3

ACTB Reverse Primer: 5' GTCTTCCCCTCCATCGTG '3

ACTB Forward Primer: 5' AGGGTGAGGATGCCTCTCTT '3

3.2.4. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (QRT-PCR)

Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (QRT-PCR), DNA'nın ya da mRNA örneklerinin çoğaltımını ve ürünlerinin miktarını tek bir tüpte tespit edebilen bir yöntemdir. "PCR" çoğaltımını görünür hale getiren ve monitörize edebilen floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı, floresanın oluşan DNA ile doğru orantılı olarak arttığı bir çoğaltma yöntemi olması dolayısıyla "Kantitatif Gerçek Zamanlı – Polimeraz Zincir Reaksiyonu" olarak isimlendirilmiştir. Floresan işaretli boya veya moleküller vasıtasıyla ampikon miktarının gerçek zamanlı olarak relatif ve kantitatif olacak şekilde belirlenmesine fırsat tanımaktadır. Araştırmamızda ekspresyon deneylerinde bütün örneklerin incelemesinde LightCycler 480 (ROCHE, Almanya) kullanıldı.

3.2.5. *SETD2* Geninin Ekspresyon Seviyelerinin QRT-PCR Yöntemi İle Belirlenmesi.

SETD2 geninin mRNA ekspresyon düzeyleri SYBR Green temelli kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (QRT-PCR) ile analizi yapıldı. Yapılan deneysel çalışmalarda, PCR şartları ile birlikte reaksiyon sonuna erime eğrisi programı eklendi. Reaksiyon karışımı ve şartları Tablo 3-6 ve 3-7'de verilmiştir.

QRT-PCR reaksiyonunda, floresan seviyesinin ölçülebilir eşik değerini geçtiği döngü Ct (cycle treshold) olarak isimlendirilmektedir. Hedef ve referans gen arasındaki

ayırımı ΔC_t belirler. ΔC_t hastaların tümör ve normal doku örnekleri ile kontrol grubunun sağlıklı doku örneklerinin hepsi için belirlenip $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metodu ile relatif olarak hesabı yapıldı (Denklemler 3-1).

Denklemler 3-1

$$\Delta\Delta C_t = C_t(\text{Hedef gen-Referans gen})_{\text{tümör}} - C_t(\text{Hedef gen-Referans gen})_{\text{normal}}$$

Tablo 3-6: Ekspresyon deneylerinde kullanılan reaksiyon şartları.

Reaksiyon Şartları	Denatürasyon	95°C	30 s	
	Bağlanma	40 siklus	95°C 15 s	
			60°C 1 dk	
	Erime eğrisi (Melting curve)		95°C	10 s
			60°C	20 s
		95°C	cont.	
Soğuma	40°C	30 s		

Tablo 3-7: Ekspresyon deneylerinde kullanılan reaksiyon karışım içeriği.

Reaksiyon Karışımı	1 örnek için hacim
10X LightCycler 480 DNA Master SYBR Green Master Mix	10 µL
100 µM Primer (Forward)	0,2 µL
100 µM Primer (Reverse)	0,2 µL
dH ₂ O (PCR grade)	6,6 µL
cDNA	3 µL

3.2.6. Veri Analizi

İstatiksel analizlerin, IBM SPSS Statistics 2.0 kullanılarak hesaplamaları yapıldı. Klinik veriler ile ekspresyon durumu kıyaslamalarında ki-kare testleri ile hesaplamalar gerçekleştirildi. İstatiksel anlamlılık, kabul görülebilir üs seviyesi 0,05 şeklinde değerlendirildi. Tümörlü ile sağlıklı örneklerin *SETD2* ekspresyon düzeyleri kıyaslanırken Wilcoxon Rank testine başvuruldu.

4. BULGULAR

4.1. Larenks Kanserli Hastalara Ait Klinik Özellikleri

Larenks kanser tanısı almış 50 hastaya ait tümör/eşlenik normal doku ve serum örnekleri kullanıldı (Tablo 1). Larenks kanser grubunun yaş ortalaması 57 ± 10 olup; yaşların medyanı 56 olarak bulundu. Larenks kanser grubunda erkek hasta sayısı (%98) kadınlara (%2) göre fazla, kullanım oranı %95,7 (45/50), alkol tüketimi n %36,2'inde (17/50) görüldü.

Larenks kanser hasta grubu TNM evrelerine göre değerlendirildi ve %4'ü (2/50) evre I, %18'i (9/50) evre II, %34'ü (17/50) evre III, %44'ünün (22/50) evre IV olduğu tespit edildi. Anatomik tutulum bölgelerine göre glottis %24 (12/50), supraglottis %60 (30/50), subglottis %6 (3/50) vetransglottis %10 (5/50) olarak gözlemlendi. Larenks kanser hastalarının %38,3'ünde (18/50) lenf nodu tutulumu görülürken; %19,1'inde (9/50) uzak organ metastazına rastlandı. Larenks kanser hastalarının %96,2'si yassı epitel hücreli (YEH) karsinom olduğu görüldü.(Tablo4-1)

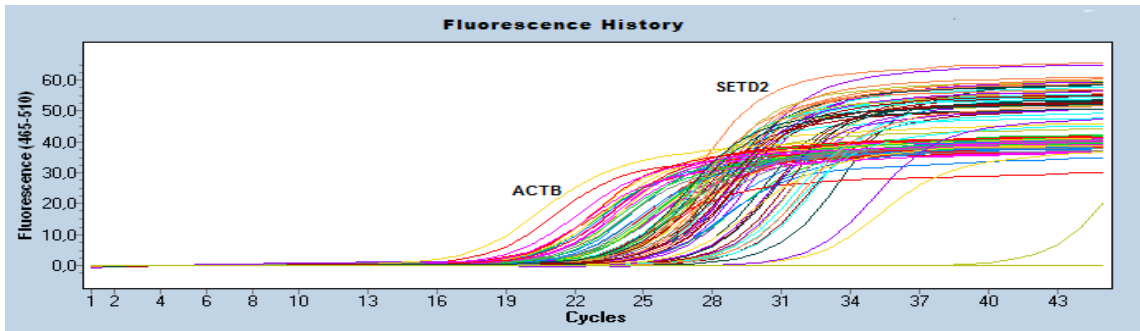
Tablo 4-1: Larenks kanseri tanısı almış hastalara ait klinik parametreler

		ortalama	Hasta sayısı	Yüzde (%)
Yaş		57		
Cinsiyet	kadın		1	%2,0
	erkek		49	%98,0
Anatomik Tutulum Bölgesi	glottis		12	%24,0
	supraglottis		30	%60,0
	subglottis		3	%6,0
	transglottis		5	%10,0
TNM	1		2	%4,0
	2		9	%18,0
	3		17	%34,0
	4		22	%44,0
Histopatoloji	YEH dışı		2	%4,0
	YEH		48	%96,0
LNT	(-)		29	%61,7
	(+)		18	%38,3
Sigara kullanımı	(-)		2	%4,3
	(+)		45	%95,7

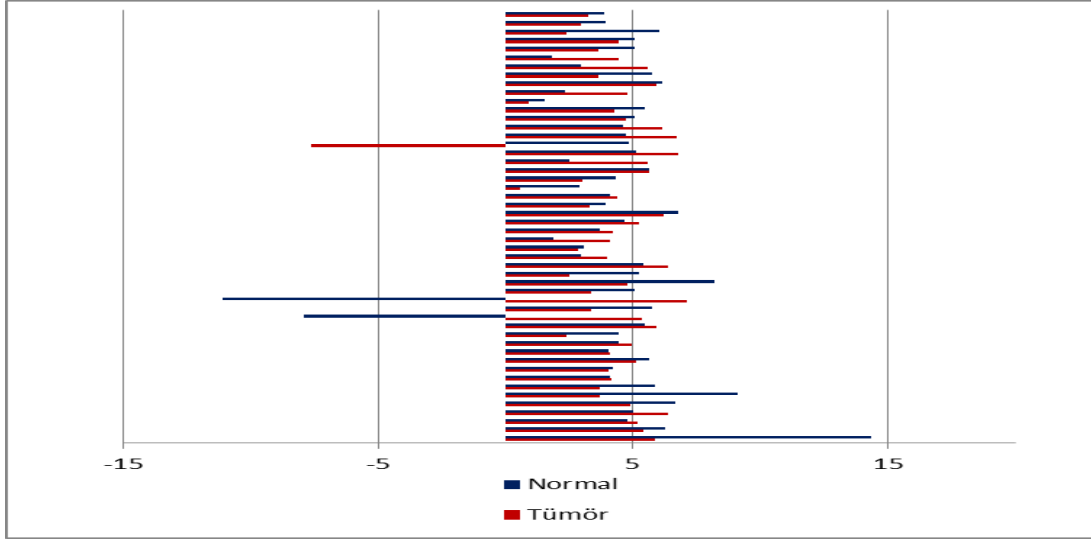
Metastaz	(-)		38	%80,9
	(+)		9	%19,1
Alkol kullanımı	(-)		30	%63,8
	(+)		17	%36,2
Differansiyasyon Derecesi	az		12	%25,0
	orta		35	%72,9
	ileri		1	%2,1
Nüks Takibi	(-)		24	%70,6
	(+)		10	%29,4
Metastazla Geri Dönüş Takibi	Bilinmiyor		18	%36,0
	(-)		24	%48,0
	(+)		8	%16,0

4.2. SETD2 Geninin Ekspresyon Analiz Sonuçları

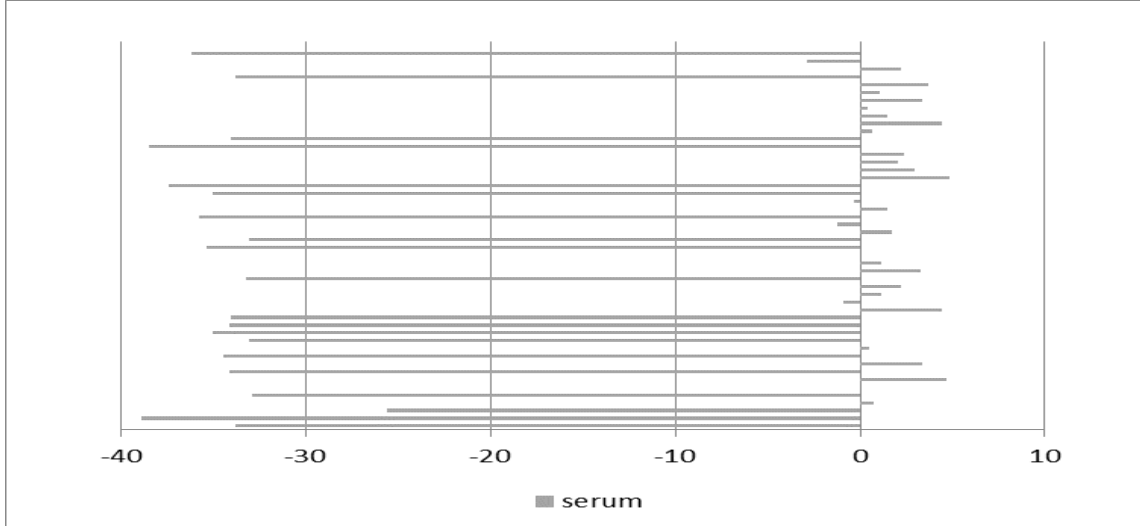
Çalışmamızda Larenks kanser tanısı almış 50 hastaya ait tümör ve eşlenik normal doku ile serum örnekleri kullanıldı. Hastalara ait tümör, eşlenik normal ve serum örneklerinin ekspresyon seviyeleri Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (QRT-PCR) tekniği kullanılarak incelendi. QRT-PCR sonrasında hedef gen ve referans (ACTB) genlerinin ekspresyon sonuçlarından elde edilen Ct değerleri kullanılarak $2\Delta Ct$ değerleri tüm örnekler için normalize edildi. Sonuçların analizi LightCycler 480 yazılımındaki Temel Relatif Ölçüm (Basic Relative Quantification) programı ile yapıldı. Tümör dokusunun $2\Delta Ct$ değerlerinin eşlenik normal dokunun $2\Delta Ct$ değerlerine göre kat değişimleri (fold change) $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü ile hesaplandı. Buna göre 2'nin üzerinde olan değerler tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla ekspresyon artışı, 2'nin altındaki değerler ise ekspresyon azalışı olarak değerlendirildi.



Şekil 4-1: Tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla SETD2 ekspresyon seviyesi.



Şekil 4-2: Larenks kanseri hastalarının tümör, eşlenik normal örneklerinin ekspresyon düzeyleri normalize edilerek $2\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak değerlendirilmesi

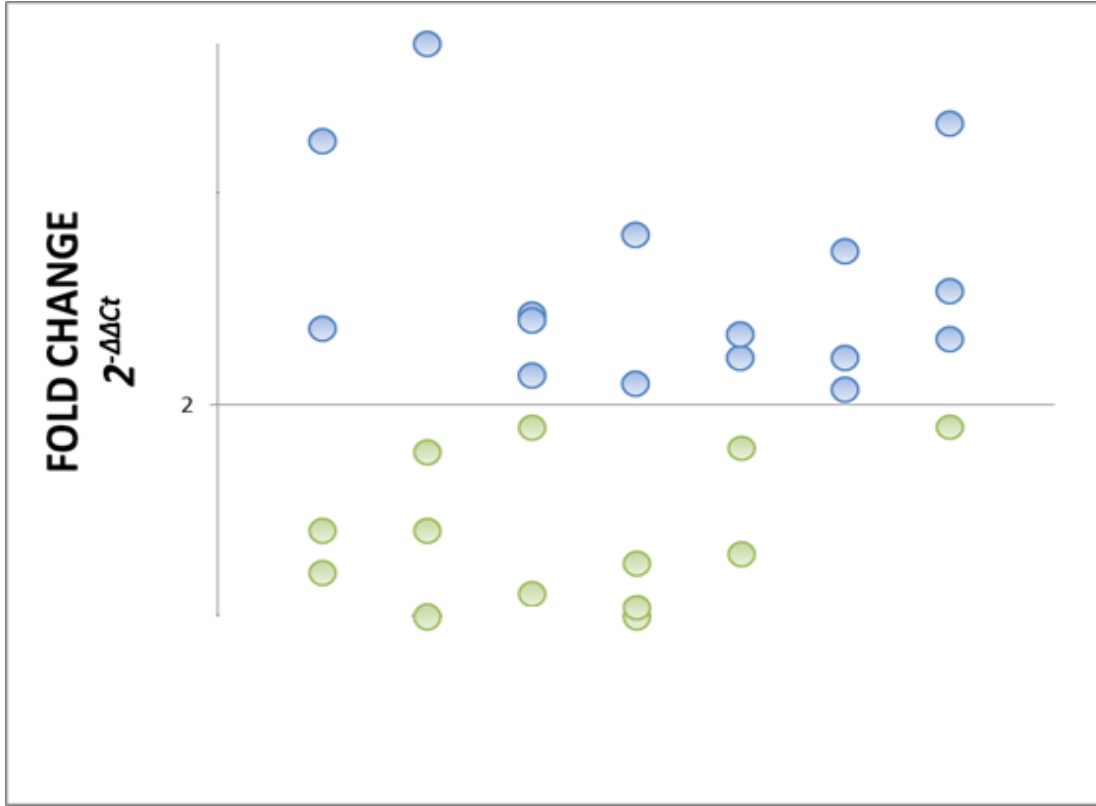


Şekil 4-3: Larenks kanseri hastalarına ait serum örneklerindeki ekspresyon düzeyleri normalize edilerek $2\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak değerlendirildi.

SETD2 geninin ekspresyon düzeyleri referans genin larenks kanseri hastalarının tümör ve eşlenik normal dokudaki ekspresyon düzeyleri $2\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak hesaplandı (Şekil 2). Ayrıca larenks kanseri hastalarına ait serum örneklerinin ekspresyon düzeylerinin relatif olarak hesaplandı (Şekil 3).

Bu değerler kullanılarak hastaların tümör ve eşlenik normal dokularındaki ekspresyon düzeyleri $2-\Delta\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak hesaplandı (Şekil 4). Hastaların %32' sinde (16/50) tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla, ekspresyon seviyesinde artış gözlenirken; hastaların %26'sında (13/50) tümör ekspresyon

seviyesinde azalış gözlemlendi. Hastaların 21'inde tümör dokusunda eşlenik normal dokuya göre ekspresyon seviyesinde değişiklik gözlenmedi.



Şekil 4-4: SETD2 ekspresyon düzeyleri ile referans genin (ACTB) tümör (T) ve eşlenik normal (N) doku örneklerindeki ekspresyon düzeyleri 2-ΔΔCt metodu ile relatif olarak hesaplandı. (mavi: ekspresyon seviyesinde artış gözlenen örnekler; yeşil: ekspresyon seviyesinde azalış gözlenen örnekler)

Aynı zamanda, threshold değerini 2 yerine 1,5 olarak seçildiğinde 1,5'un üzerinde olan değerler tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla ekspresyon artışı, 1,5'un altındaki değerler ise ekspresyon azalışı olarak yeniden değerlendirildi. Buna göre hastaların %52'sinde (23/50) tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla, ekspresyon seviyesinde artış gözlenirken; hastaların %28'sinde (14/50) tümör ekspresyon seviyesinde azalış gözlemlendi. Hastaların 13'ünde tümör dokusunda eşlenik normal dokuya göre ekspresyon seviyesinde değişiklik gözlenmedi.

Tümör dokusunda eşlenik normal ekspresyon azalışı veya artışı ile hastalara ait klinikopatolojik bilgilerin istatistiksel olarak karşılaştırılması IBM SPSS Statistics 20 programı ile yapıldı. Ekspresyon durumu ile hastaların klinikopatolojik verileri karşılaştırıldığında sigara ve alkol kullanımı, nüks, anatomik tutulum bölgeleri ve metastaz ile anlamlılık bulunamadı ($p > 0,05$). Sadece SETD2 genindeki ekspresyon artışı ile lenf nodu tutulumu arasında anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($p = 0.048$).

5. TARTIŞMA

Larenks kanseri, Avrupa'daki en yaygın malignitelerden biridir ve yılda yaklaşık 52.000 yeni vaka tanı almakta ve bunların% 90'ı erkeklerde görülmektedir. Güney ve kuzey Avrupa'daki erkekler için yıllık insidans hızı, sırasıyla 100.000'de 18 ve 100.000'de 6'dır [4]. Türkiye genelinde ise 2014 yılı verilerine göre erkeklerde 100.000'de 6,2 kadınlarda ise 0,5 olarak oranlar verilmiştir. 2010-2013 yılları arası erkeklerde 100.000 kişide 8 civarlarında olan insidans hızı 2014 yılında düşüş göstereceği kadınlarda ki oran 2010-2014 yılları arasında 100.000 kişide 0,5 oranını korumuştur [3].

Larenks, vücutta yerleşim bölgesi nedeniyle kişinin yaşamsal fonksiyonlarının haricinde, kişinin sosyal hayatı yönünden de önem arz eden bir organdır. Bu nedenle tedavi aşamasında kişinin sağkalım süresinin yanında cerrahi olarak larenksin rezeksiyon'a karşı korunmasında amaçlanmaktadır. Hastalığın tanısının zor yapılması ve çoğunlukla ileri evrelerde hastalığın belirlenmesi, larenks kanserinin erken tanısını sağlayabilecek çalışmaları hızlandırmıştır. Larenks kanseri tedavisi evrelere göre değişmekte olup erken teşhis organ koruma bakımından önemlidir. Bundan dolayı, günümüzde erken teşhiste kullanılacak biyomarkerların ve daha efektif tedavi metodlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Larenks kanseri taraması ve erken evrelerde tespitini sağlayacak yüksek duyarlılıkta ve özgüllükte olan ve malign dokuların tespiti yapan onaylı test bulunmamaktadır. Bu çalışmada larenks kanseri tanısında ve takibinde marker olarak kullanılacak *SETD2* geninin ekspresyon düzeylerinin araştırılması hedeflendi.

Onkolojik çalışmalarda tümör hücreleri ile normal hücreler arasında ekspresyon düzeyinin karşılaştırılabilir olması oldukça önemlidir. *SETD2*, DNA onarımı, kromozom segregasyonu ve RNA ekleme işleminde rol oynamaktadır [15-17]. *SETD2* geni, çeşitli tümörlerde kopya sayısı kaybıyla sıklıkla hedeflenen bir bölge olan kromozom 3'ün p21.31 sitogenetik bandında yer almaktadır [19].

Renal hücreli karsinom [75] , mesane kanseri [76] , akciğer kanseri [78], malin melanom [91] ve endometrial kanserde *SETD2* mutasyonu veya silinmesi yaygındır [92].

Yapılan çalışmalarda, mide kanserinde düşük *SETD2* ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [78]. Literatürlere baktığımızda bizim çalışmamıza benzer çalışmalar olduğu görüldü.

2018 yılında Chen ve ark. [78] yaptığı çalışmada; bu çalışmaya benzer olarak mide kanserli hastalarda düşük *SETD2* ekspresyon seviyesinin tümör boyutu, TNM evresi ve lenf nodu metastazı gibi bazı klinikopatolojik parametreler ile istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterilmiş olup, *SETD2*'nin hasta prognozunda çok önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir.

Liu ve ark. [93] 2015 yılında yaptığı bir diğer çalışmada ise non-metastatik berrak hücreli renal karsinomlu hastalarda düşük *SETD2* ekspresyonunun kötü prognostik faktör ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın cerrahi öncesi risk belirlemede önemli olabileceği ve gelecekte tedavi planlamasında kullanılabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmada *SETD2* ekspresyonu 192 non-metastatik ccRCC örneklerinde immun-histokimyasal boyama yöntemi ile çalışılmıştır. *SETD2*'nin sitoplazma ve çekirdek boyunca boyandığı gözlemlenmiştir. *SETD2* ekspresyonunun papiller RCC hastalarındaki ekspresyonundan daha düşük olduğu bulunmuştur. IRS kriterine göre *SETD2* düşük ekspresyon gösteren genler grubuna girmiştir.

2009 yılında Al Sarakbi ve ark. [76] yaptığı bir diğer çalışmada da progresyon saptanan meme kanserli hastalarda *SETD2* gen düzeyi seviyesinde düşme saptanmış olup bu genin meme kanserinde tümör süpresör rol oynadığı düşünülmüştür.

Kopya sayısı kaybının yanı sıra *SETD2*'deki mutasyonlar non-sense yada framshift trunkasyonlar göstermektedir ve her zaman protein ürününün ve fonksiyonunun kaybına neden olurlar. *SETD2* mutasyonu bulunmayan tümörlerde ise *SETD2* ekspresyon değerlendirilmeleri yapıldığında ekspresyonda düşüş olduğu görülmüştür. miRNA'lar gibi epigenetik susturmaların rolü olabileceği düşünülmektedir [94,95].

Chen ve ark. [78] gastrik kanserlerde yapmış oldukları çalışmada *SETD2*'nin mRNA ve protein ekspresyon düzeylerini immuno-histokimya, qPCR, RT-PCR ve immün işaretleme yöntemleri kullanılarak araştırmışlardır. Gastrik kanser hücrelerinde *SETD2* fonksiyonunu MTT ve transwell assayleriyle belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda *SETD2* mRNA ve protein düzeylerinin tümör örneklerinde tümöre komşu dokulara göre daha düşük düzeyde olduğu gözlemlenmiştir.

153 primer doku örneğinin 122'sinde (%79,7) *SETD2* mRNA ekspresyon düzeyinde düşüş belirlenmiştir. Genel sağkalım analizi yapıldığında *SETD2*'nin düşük ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu görülmüştür. Çok değişkenli sağ kalım analizi *SETD2*'nin gastrik kanserli hastalarda açık bir prognostik faktör olduğunu göstermiştir. Gastrik kanser hücre soylarında *SETD2* aşırı ekspresyonu hücre proliferasyonu, migrasyonu ve invazyonunu inhibe ettiği görülmüştür. Çalışma sonunda *SETD2* ekspresyon düzeyinin klinik önemi vurgulanmıştır, *SETD2* 'nin bu kanser türünde negatif prognostik ve progresyon markeri olabileceği vurgulanmıştır.

Yuan ve ark. [77] kolorektal kanserli kişilerde RT-qPCR analizi ile *SETD2* ekspresyon düzeylerini incelemiştir. Analiz sonuçlarına göre mRNA düzeyi normal biyopsi örnekleri ile karşılaştırıldığında tümörlerde önemli derecede azaldığı bulunmuştur. Ayrıca Western-Blot analizinde *SETD2* protein düzeyinin normal dokulara karşın tümör materyalinde düştüğü görülmüştür. İmmün-kimyasal analizler sonucu *SETD2* protein düzeyinde normal kolonlara göre kolorektal tümörlerde önemli bir derece düşüş görülmüştür. Yapılan korelasyon çalışmaları sonucu tümör hücrelerinde *SETD2* ekspresyonunun hastalık progresyonunun evresiyle ilişkili olduğu görülmüştür. Ayrıca *SETD2* ekspresyon düzeyleri hastaların genel sağ kalım ve metastazsız sağ kalım riski için bağımsız bir belirteç olabileceğini vurgulamışlardır.

Benzer çalışmalardan yola çıkarak bu çalışmada *SETD2* geninin larenks kanserinde etkili olabileceği öngörüsüyle 50 larenks kanseri tanılı hastanın tümör hücreleri, eşlenik sağlıklı normal dokuları ve cerrahi operasyon öncesi serum örnekleri toplanarak yapılan ekspresyon çalışması sonrası veriler elde edildi. Çalışma bütçesinin kısıtlı olması nedeniyle çalışma düşük örnek sayısı ile yapıldı. Buna karşın tümör dokuları ile sağlıklı normal dokuları arasında ekspresyon farklılıkları saptandı. Bu farklılıkların threshold değerinin 2 ve 1,5 olarak belirlenmesi sonucu yüzdelik dilimler değişmesine karşın p değerinin anlamlı çıkmaması nedeni ile ekspresyon durumu ile sigara ve alkol kullanımı, nüks, anatomik tutulum bölgeleri ve metastaz ile istatistiksel anlamlılık bulunamadı ($p>0,05$). Buna karşın; sadece *SETD2* genindeki ekspresyon artışı ile lenf nodu tutulumu arasında anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($p=0.048$). Bu çalışmanın ileride daha yüksek hasta sayılı kohort çalışmalar yapılarak daha etkili sonuçlar alınacağını düşünmekteyiz. *SETD2* geninin biyopsi materyalinde kullanılabilir olması büyük avantajlar sağlayacaktır. Larenks tümörüne özgü

patolojik bir biyobelirteç potansiyeli olabileceği ileriki çalışmalarla da değerlendirilecektir.



KAYNAKLAR

1. Wilson L, Bhatnagar P, Townsend N (2017) Comparing trends in mortality from cardiovascular disease and cancer in the United Kingdom, 1983-2013: joinpoint regression analysis. *Popul Health Metr* 15 (1):23. doi:10.1186/s12963-017-0141-5
2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A (2015) Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 65 (2):87-108. doi:10.3322/caac.21262
3. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (2017). Türkiye Kanser İstatistikleri Ankara. Erişim 14.05.2018, https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/2014-RAPOR._uzuuun.pdf
4. Licitra L, Bernier J, Grandi C, Locati L, Merlano M, Gatta G, Lefebvre JL (2003) Cancer of the larynx. *Crit Rev Oncol Hematol* 47 (1):65-80
5. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144 (5):646-674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
6. Hjelmeland A, Zhang J (2016) Metabolic, autophagic, and mitophagic activities in cancer initiation and progression. *Biomed J* 39 (2):98-106. doi:10.1016/j.bj.2015.10.002
7. Brait M, Sidransky D (2011) Cancer epigenetics: above and beyond. *Toxicol Mech Methods* 21 (4):275-288. doi:10.3109/15376516.2011.562671
8. Sandoval J, Esteller M (2012) Cancer epigenomics: beyond genomics. *Curr Opin Genet Dev* 22 (1):50-55. doi:10.1016/j.gde.2012.02.008
9. Breitling LP, Yang R, Korn B, Burwinkel B, Brenner H (2011) Tobacco-smoking-related differential DNA methylation: 27K discovery and replication. *Am J Hum Genet* 88 (4):450-457. doi:10.1016/j.ajhg.2011.03.003
10. Arantes LM, de Carvalho AC, Melendez ME, Carvalho AL, Goloni-Bertollo EM (2014) Methylation as a biomarker for head and neck cancer. *Oral Oncol* 50 (6):587-592. doi:10.1016/j.oraloncology.2014.02.015
11. Clavel J (2007) Progress in the epidemiological understanding of gene-environment interactions in major diseases: cancer. *C R Biol* 330 (4):306-317. doi:10.1016/j.crv.2007.02.012
12. Landry D, Glastonbury CM (2015) Squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: a review. *Radiol Clin North Am* 53 (1):81-97. doi:10.1016/j.rcl.2014.09.013
13. Suh Y, Amelio I, Guerrero Urbano T, Tavassoli M (2014) Clinical update on cancer: molecular oncology of head and neck cancer. *Cell Death Dis* 5:e1018. doi:10.1038/cddis.2013.548
14. Forastiere AA, Goepfert H, Maor M, Pajak TF, Weber R, Morrison W, Glisson B, Trotti A, Ridge JA, Chao C, Peters G, Lee DJ, Leaf A, Ensley J, Cooper J (2003) Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med* 349 (22):2091-2098. doi:10.1056/NEJMoa031317
15. Li F, Mao G, Tong D, Huang J, Gu L, Yang W, Li GM (2013) The histone mark H3K36me3 regulates human DNA mismatch repair through its interaction with MutSalpha. *Cell* 153 (3):590-600. doi:10.1016/j.cell.2013.03.025
16. Zhu K, Lei PJ, Ju LG, Wang X, Huang K, Yang B, Shao C, Zhu Y, Wei G, Fu XD, Li L, Wu M (2017) SPOP-containing complex regulates SETD2 stability and H3K36me3-coupled alternative splicing. *Nucleic Acids Res* 45 (1):92-105. doi:10.1093/nar/gkw814

17. Guo R, Zheng L, Park JW, Lv R, Chen H, Jiao F, Xu W, Mu S, Wen H, Qiu J, Wang Z, Yang P, Wu F, Hui J, Fu X, Shi X, Shi YG, Xing Y, Lan F, Shi Y (2014) BS69/ZMYND11 reads and connects histone H3.3 lysine 36 trimethylation-decorated chromatin to regulated pre-mRNA processing. *Mol Cell* 56 (2):298-310. doi:10.1016/j.molcel.2014.08.022
18. Edmunds JW, Mahadevan LC, Clayton AL (2008) Dynamic histone H3 methylation during gene induction: HYPB/Setd2 mediates all H3K36 trimethylation. *EMBO J* 27 (2):406-420. doi:10.1038/sj.emboj.7601967
19. Kok K, Naylor SL, Buys CH (1997) Deletions of the short arm of chromosome 3 in solid tumors and the search for suppressor genes. *Adv Cancer Res* 71:27-92
20. Soerdjbalie-Maikoe V, van Rijn RR (2008) Embryology, normal anatomy, and imaging techniques of the hyoid and larynx with respect to forensic purposes: a review article. *Forensic Sci Med Pathol* 4 (2):132-139. doi:10.1007/s12024-008-9032-1
21. Mor N, Blitzler A (2015) Functional Anatomy and Oncologic Barriers of the Larynx. *Otolaryngol Clin North Am* 48 (4):533-545. doi:10.1016/j.otc.2015.04.002
22. Inamoto Y, Saitoh E, Okada S, Kagaya H, Shibata S, Baba M, Onogi K, Hashimoto S, Katada K, Wattanapan P, Palmer JB (2015) Anatomy of the larynx and pharynx: effects of age, gender and height revealed by multidetector computed tomography. *J Oral Rehabil* 42 (9):670-677. doi:10.1111/joor.12298
23. Gun R, Ozer E (2015) Surgical anatomy of oropharynx and supraglottic larynx for transoral robotic surgery. *J Surg Oncol* 112 (7):690-696. doi:10.1002/jso.24020
24. Siesling S, Louwman WJ, Kwast A, van den Hurk C, O'Callaghan M, Rosso S, Zanetti R, Storm H, Comber H, Steliarova-Foucher E, Coebergh JW (2015) Uses of cancer registries for public health and clinical research in Europe: Results of the European Network of Cancer Registries survey among 161 population-based cancer registries during 2010-2012. *Eur J Cancer* 51 (9):1039-1049. doi:10.1016/j.ejca.2014.07.016
25. Teppo H, Koivunen P, Sipila S, Jokinen K, Hyrynkangas K, Laara E, Pukkala E, Sovio U, Alho OP (2001) Decreasing incidence and improved survival of laryngeal cancer in Finland. *Acta Oncol* 40 (7):791-795
26. Huff J (2002) IARC monographs, industry influence, and upgrading, downgrading, and under-grading chemicals: a personal point of view. International Agency for Research on Cancer. *Int J Occup Environ Health* 8 (3):249-270. doi:10.1179/107735202800338795
27. Survival of Cancer Patients in Europe: The EURO CARE-2 study (1999). IARC Sci Publ (151):1-572
28. Berrino F, Gatta G (1998) Variation in survival of patients with head and neck cancer in Europe by the site of origin of the tumours. EURO CARE Working Group. *Eur J Cancer* 34 (14 Spec No):2154-2161
29. Santrucek M, Dolejsi V (1978) [9th revision of the International classification of diseases]. *Cas Lek Cesk* 117 (8):225-231
30. Glade MJ (1999) Food, nutrition, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research/World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research, 1997. *Nutrition* 15 (6):523-526
31. Tuyns AJ, Esteve J, Raymond L, Berrino F, Benhamou E, Blanchet F, Boffetta P, Crosignani P, del Moral A, Lehmann W, et al. (1988) Cancer of the larynx/hypopharynx, tobacco and alcohol: IARC international case-control study in Turin and Varese (Italy), Zaragoza and Navarra (Spain), Geneva (Switzerland) and Calvados (France). *Int J Cancer* 41 (4):483-491

32. Smith AH, Handley MA, Wood R (1990) Epidemiological evidence indicates asbestos causes laryngeal cancer. *J Occup Med* 32 (6):499-507
33. Merletti F, Heseltine E, Saracci R, Simonato L, Vainio H, Wilbourn J (1984) Target organs for carcinogenicity of chemicals and industrial exposures in humans: a review of results in the IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. *Cancer Res* 44 (5):2244-2250
34. Rafferty MA, Fenton JE, Jones AS (2001) An overview of the role and inter-relationship of epidermal growth factor receptor, cyclin D and retinoblastoma protein on the carcinogenesis of squamous cell carcinoma of the larynx. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 26 (4):317-320
35. Steinberg BM (1995) Role of human papillomaviruses in benign and malignant lesions. *Cancer Treat Res* 74:1-16
36. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, Zahurak ML, Daniel RW, Viglione M, Symer DE, Shah KV, Sidransky D (2000) Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 92 (9):709-720
37. Hellquist H, Lundgren J, Olofsson J (1982) Hyperplasia, keratosis, dysplasia and carcinoma in situ of the vocal cords--a follow-up study. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 7 (1):11-27
38. Chen CP, Braunstein S, Mourad M, Hsu IC, Haas-Kogan D, Roach M, 3rd, Fogh SE (2015) Quality improvement of International Classification of Diseases, 9th revision, diagnosis coding in radiation oncology: single-institution prospective study at University of California, San Francisco. *Pract Radiat Oncol* 5 (1):e45-51. doi:10.1016/j.prr.2014.03.007
39. Taylor CR, Kledzik G (1981) Immunohistologic techniques in surgical pathology - a spectrum of "new" special stains. *Hum Pathol* 12 (7):590-596
40. Brandsma JL, Steinberg BM, Abramson AL, Winkler B (1986) Presence of human papillomavirus type 16 related sequences in verrucous carcinoma of the larynx. *Cancer Res* 46 (4 Pt 2):2185-2188
41. Barbera L, Groome PA, Mackillop WJ, Schulze K, O'Sullivan B, Irish JC, Warde PR, Schneider KM, Mackenzie RG, Hodson DI, Hammond JA, Gulavita SP, Eapen LJ, Dixon PF, Bissett RJ (2001) The role of computed tomography in the T classification of laryngeal carcinoma. *Cancer* 91 (2):394-407
42. Kim HJ, Boyd J, Dunphy F, Lowe V (1998) F-18 FDG PET scan after radiotherapy for early-stage larynx cancer. *Clin Nucl Med* 23 (11):750-752
43. McGuirt WF, Greven KM, Keyes JW, Jr., Williams DW, 3rd, Watson NE, Jr., Geisinger KR, Cappellari JO (1995) Positron emission tomography in the evaluation of laryngeal carcinoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 104 (4 Pt 1):274-278. doi:10.1177/000348949510400403
44. Schechter NR, Gillenwater AM, Byers RM, Garden AS, Morrison WH, Nguyen LN, Podoloff DA, Ang KK (2001) Can positron emission tomography improve the quality of care for head-and-neck cancer patients? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 51 (1):4-9
45. Edge SB, Compton CC (2010) The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* 17 (6):1471-1474. doi:10.1245/s10434-010-0985-4
46. Zatterstrom UK, Wennerberg J, Ewers SB, Willen R, Attewell R (1991) Prognostic factors in head and neck cancer: histologic grading, DNA ploidy, and nodal status. *Head Neck* 13 (6):477-487

47. Veltman JA, Bot FJ, Huynen FC, Ramaekers FC, Manni JJ, Hopman AH (2000) Chromosome instability as an indicator of malignant progression in laryngeal mucosa. *J Clin Oncol* 18 (8):1644-1651. doi:10.1200/JCO.2000.18.8.1644
48. Carey TE, Van Dyke DL, Worsham MJ (1993) Nonrandom chromosome aberrations and clonal populations in head and neck cancer. *Anticancer Res* 13 (6B):2561-2567
49. Cowan JM, Beckett MA, Weichselbaum RR (1993) Chromosome changes characterizing in vitro response to radiation in human squamous cell carcinoma lines. *Cancer Res* 53 (22):5542-5547
50. Hermsen M, Guervos MA, Meijer G, Baak J, van Diest P, Marcos CA, Sampedro A (2001) New chromosomal regions with high-level amplifications in squamous cell carcinomas of the larynx and pharynx, identified by comparative genomic hybridization. *J Pathol* 194 (2):177-182. doi:10.1002/path.862
51. Jin Y, Mertens F, Mandahl N, Heim S, Olegard C, Wennerberg J, Biorklund A, Mitelman F (1993) Chromosome abnormalities in eighty-three head and neck squamous cell carcinomas: influence of culture conditions on karyotypic pattern. *Cancer Res* 53 (9):2140-2146
52. Van Dyke DL, Worsham MJ, Benninger MS, Krause CJ, Baker SR, Wolf GT, Drumheller T, Tilley BC, Carey TE (1994) Recurrent cytogenetic abnormalities in squamous cell carcinomas of the head and neck region. *Genes Chromosomes Cancer* 9 (3):192-206
53. Kujawski M, Sarlomo-Rikala M, Gabriel A, Szyfter K, Knuutila S (1999) Recurrent DNA copy number losses associated with metastasis of larynx carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 26 (3):253-257
54. Knudson AG, Jr. (1971) Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 68 (4):820-823
55. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC (1991) p53 mutations in human cancers. *Science* 253 (5015):49-53
56. Nawroz H, van der Riet P, Hruban RH, Koch W, Ruppert JM, Sidransky D (1994) Allelotype of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 54 (5):1152-1155
57. van der Riet P, Nawroz H, Hruban RH, Corio R, Tokino K, Koch W, Sidransky D (1994) Frequent loss of chromosome 9p21-22 early in head and neck cancer progression. *Cancer Res* 54 (5):1156-1158
58. Hartwell LH, Kastan MB (1994) Cell cycle control and cancer. *Science* 266 (5192):1821-1828
59. Cairns P, Mao L, Merlo A, Lee DJ, Schwab D, Eby Y, Tokino K, van der Riet P, Blaugrund JE, Sidransky D (1994) Rates of p16 (MTS1) mutations in primary tumors with 9p loss. *Science* 265 (5170):415-417
60. Okami K, Reed AL, Cairns P, Koch WM, Westra WH, Wehage S, Jen J, Sidransky D (1999) Cyclin D1 amplification is independent of p16 inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncogene* 18 (23):3541-3545. doi:10.1038/sj.onc.1202837
61. Yamaguchi K, Wu L, Caballero OL, Hibi K, Trink B, Resto V, Cairns P, Okami K, Koch WM, Sidransky D, Jen J (2000) Frequent gain of the p40/p51/p63 gene locus in primary head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 86 (5):684-689
62. Woodburn JR (1999) The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 82 (2-3):241-250
63. Dassonville O, Formento JL, Francoual M, Ramaioli A, Santini J, Schneider M, Demard F, Milano G (1993) Expression of epidermal growth factor receptor and survival in upper aerodigestive tract cancer. *J Clin Oncol* 11 (10):1873-1878. doi:10.1200/JCO.1993.11.10.1873

64. Rubin Grandis J, Tweardy DJ, Melhem MF (1998) Asynchronous modulation of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor protein expression in progression of premalignant lesions to head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 4 (1):13-20
65. Almadori G, Cadoni G, Galli J, Ferrandina G, Scambia G, Exarchakos G, Paludetti G, Ottaviani F (1999) Epidermal growth factor receptor expression in primary laryngeal cancer: an independent prognostic factor of neck node relapse. *Int J Cancer* 84 (2):188-191
66. Maurizi M, Almadori G, Ferrandina G, Distefano M, Romanini ME, Cadoni G, Benedetti-Panici P, Paludetti G, Scambia G, Mancuso S (1996) Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 74 (8):1253-1257
67. Heim MH, Kerr IM, Stark GR, Darnell JE, Jr. (1995) Contribution of STAT SH2 groups to specific interferon signaling by the Jak-STAT pathway. *Science* 267 (5202):1347-1349
68. Grandis JR, Drenning SD, Zeng Q, Watkins SC, Melhem MF, Endo S, Johnson DE, Huang L, He Y, Kim JD (2000) Constitutive activation of Stat3 signaling abrogates apoptosis in squamous cell carcinogenesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 (8):4227-4232
69. Tokumaru Y, Fujii M, Otani Y, Kameyama K, Imanishi Y, Igarashi N, Kanzaki J (2000) Activation of matrix metalloproteinase-2 in head and neck squamous cell carcinoma: studies of clinical samples and in vitro cell lines co-cultured with fibroblasts. *Cancer Lett* 150 (1):15-21
70. P OC, Rhys-Evans PH, Eccles SA (2001) Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors correlates with invasion and metastasis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 127 (7):813-820
71. P OC, Rhys-Evans P, Modjtahedi H, Court W, Box G, Eccles S (2000) Overexpression of epidermal growth factor receptor in human head and neck squamous carcinoma cell lines correlates with matrix metalloproteinase-9 expression and in vitro invasion. *Int J Cancer* 86 (3):307-317
72. Groome PA, O'Sullivan B, Irish JC, Rothwell DM, Math KS, Bissett RJ, Dixon PR, Eapen LJ, Gulavita SP, Hammond JA, Hodson DI, Mackenzie RG, Schneider KM, Warde PR, Mackillop WJ (2001) Glottic cancer in Ontario, Canada and the SEER areas of the United States. Do different management philosophies produce different outcome profiles? *J Clin Epidemiol* 54 (3):301-315
73. Department of Veterans Affairs Laryngeal Cancer Study G, Wolf GT, Fisher SG, Hong WK, Hillman R, Spaulding M, Laramore GE, Endicott JW, McClatchey K, Henderson WG (1991) Induction chemotherapy plus radiation compared with surgery plus radiation in patients with advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med* 324 (24):1685-1690. doi:10.1056/NEJM199106133242402
74. Wolf GT (2001) Commentary: phase III trial to preserve the larynx: induction chemotherapy and radiotherapy versus concurrent chemotherapy and radiotherapy versus radiotherapy--intergroup trial R91-11. *J Clin Oncol* 19 (18 Suppl):28S-31S
75. Dalgliesh GL, Furge K, Greenman C, Chen L, Bignell G, Butler A, Davies H, Edkins S, Hardy C, Latimer C, Teague J, Andrews J, Barthorpe S, Beare D, Buck G, Campbell PJ, Forbes S, Jia M, Jones D, Knott H, Kok CY, Lau KW, Leroy C, Lin ML, McBride DJ, Maddison M, Maguire S, McLay K, Menzies A, Mironenko T, Mulderrig L, Mudie L, O'Meara S, Pleasance E, Rajasingham A, Shepherd R, Smith R, Stebbings L, Stephens P, Tang G, Tarpey PS, Turrell K, Dykema KJ, Khoo SK, Petillo D, Wondergem B, Anema J, Kahnoski RJ, Teh BT, Stratton MR, Futreal PA (2010)

Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. *Nature* 463 (7279):360-363. doi:10.1038/nature08672

76. Al Sarakbi W, Sasi W, Jiang WG, Roberts T, Newbold RF, Mokbel K (2009) The mRNA expression of SETD2 in human breast cancer: correlation with clinicopathological parameters. *BMC Cancer* 9:290. doi:10.1186/1471-2407-9-290

77. Yuan H, Li N, Fu D, Ren J, Hui J, Peng J, Liu Y, Qiu T, Jiang M, Pan Q, Han Y, Wang X, Li Q, Qin J (2017) Histone methyltransferase SETD2 modulates alternative splicing to inhibit intestinal tumorigenesis. *J Clin Invest* 127 (9):3375-3391. doi:10.1172/JCI94292

78. Chen Z, Raghoonundun C, Chen W, Zhang Y, Tang W, Fan X, Shi X (2018) SETD2 indicates favourable prognosis in gastric cancer and suppresses cancer cell proliferation, migration, and invasion. *Biochem Biophys Res Commun* 498 (3):579-585. doi:10.1016/j.bbrc.2018.03.022

79. Sun XJ, Wei J, Wu XY, Hu M, Wang L, Wang HH, Zhang QH, Chen SJ, Huang QH, Chen Z (2005) Identification and characterization of a novel human histone H3 lysine 36-specific methyltransferase. *J Biol Chem* 280 (42):35261-35271. doi:10.1074/jbc.M504012200

80. Wagner EJ, Carpenter PB (2012) Understanding the language of Lys36 methylation at histone H3. *Nat Rev Mol Cell Biol* 13 (2):115-126. doi:10.1038/nrm3274

81. Yuan W, Xie J, Long C, Erdjument-Bromage H, Ding X, Zheng Y, Tempst P, Chen S, Zhu B, Reinberg D (2009) Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L is a subunit of human KMT3a/Set2 complex required for H3 Lys-36 trimethylation activity in vivo. *J Biol Chem* 284 (23):15701-15707. doi:10.1074/jbc.M808431200

82. Yun M, Wu J, Workman JL, Li B (2011) Readers of histone modifications. *Cell Res* 21 (4):564-578. doi:10.1038/cr.2011.42

83. Duns G, van den Berg E, van Duivenbode I, Osinga J, Hollema H, Hofstra RM, Kok K (2010) Histone methyltransferase gene SETD2 is a novel tumor suppressor gene in clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Res* 70 (11):4287-4291. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-0120

84. Duns G, Hofstra RM, Sietzema JG, Hollema H, van Duivenbode I, Kuik A, Giezen C, Jan O, Bergsma JJ, Bijnen H, van der Vlies P, van den Berg E, Kok K (2012) Targeted exome sequencing in clear cell renal cell carcinoma tumors suggests aberrant chromatin regulation as a crucial step in ccRCC development. *Hum Mutat* 33 (7):1059-1062. doi:10.1002/humu.22090

85. Cancer Genome Atlas Research N (2013) Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma. *Nature* 499 (7456):43-49. doi:10.1038/nature12222

86. Sato Y, Yoshizato T, Shiraishi Y, Maekawa S, Okuno Y, Kamura T, Shimamura T, Sato-Otsubo A, Nagae G, Suzuki H, Nagata Y, Yoshida K, Kon A, Suzuki Y, Chiba K, Tanaka H, Niida A, Fujimoto A, Tsunoda T, Morikawa T, Maeda D, Kume H, Sugano S, Fukayama M, Aburatani H, Sanada M, Miyano S, Homma Y, Ogawa S (2013) Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. *Nat Genet* 45 (8):860-867. doi:10.1038/ng.2699

87. Hakimi AA, Chen YB, Wren J, Gonen M, Abdel-Wahab O, Heguy A, Liu H, Takeda S, Tickoo SK, Reuter VE, Voss MH, Motzer RJ, Coleman JA, Cheng EH, Russo P, Hsieh JJ (2013) Clinical and pathologic impact of select chromatin-modulating tumor suppressors in clear cell renal cell carcinoma. *Eur Urol* 63 (5):848-854. doi:10.1016/j.eururo.2012.09.005

88. Zhu X, He F, Zeng H, Ling S, Chen A, Wang Y, Yan X, Wei W, Pang Y, Cheng H, Hua C, Zhang Y, Yang X, Lu X, Cao L, Hao L, Dong L, Zou W, Wu J, Li X, Zheng S,

- Yan J, Zhou J, Zhang L, Mi S, Wang X, Zhang L, Zou Y, Chen Y, Geng Z, Wang J, Zhou J, Liu X, Wang J, Yuan W, Huang G, Cheng T, Wang QF (2014) Identification of functional cooperative mutations of SETD2 in human acute leukemia. *Nat Genet* 46 (3):287-293. doi:10.1038/ng.2894
89. Li H, An J, Wu M, Zheng Q, Gui X, Li T, Pu H, Lu D (2015) LncRNA HOTAIR promotes human liver cancer stem cell malignant growth through downregulation of SETD2. *Oncotarget* 6 (29):27847-27864. doi:10.18632/oncotarget.4443
90. Tang L, Zhang W, Su B, Yu B (2013) Long noncoding RNA HOTAIR is associated with motility, invasion, and metastatic potential of metastatic melanoma. *Biomed Res Int* 2013:251098. doi:10.1155/2013/251098
91. Walter DM, Venancio OS, Buza EL, Tobias JW, Deshpande C, Gudiel AA, Kim-Kiselak C, Cicchini M, Yates TJ, Feldser DM (2017) Systematic In Vivo Inactivation of Chromatin-Regulating Enzymes Identifies Setd2 as a Potent Tumor Suppressor in Lung Adenocarcinoma. *Cancer Res* 77 (7):1719-1729. doi:10.1158/0008-5472.CAN-16-2159
92. Nakshatri H, Appaiah HN, Anjanappa M, Gilley D, Tanaka H, Badve S, Crooks PA, Mathews W, Sweeney C, Bhat-Nakshatri P (2015) NF-kappaB-dependent and -independent epigenetic modulation using the novel anti-cancer agent DMAPT. *Cell Death Dis* 6:e1608. doi:10.1038/cddis.2014.569
93. Liu W, Fu Q, An H, Chang Y, Zhang W, Zhu Y, Xu L, Xu J (2015) Decreased Expression of SETD2 Predicts Unfavorable Prognosis in Patients With Nonmetastatic Clear-Cell Renal Cell Carcinoma. *Medicine (Baltimore)* 94 (45):e2004. doi:10.1097/MD.0000000000002004
94. Xiang W, He J, Huang C, Chen L, Tao D, Wu X, Wang M, Luo G, Xiao X, Zeng F, Jiang G (2015) miR-106b-5p targets tumor suppressor gene SETD2 to inactivate its function in clear cell renal cell carcinoma. *Oncotarget* 6 (6):4066-4079. doi:10.18632/oncotarget.2926
95. Mudduluru G, Abba M, Batliner J, Patil N, Scharp M, Lunavat TR, Leupold JH, Oleksiuk O, Juraeva D, Thiele W, Rothley M, Benner A, Ben-Neriah Y, Sleeman J, Allgayer H (2015) A Systematic Approach to Defining the microRNA Landscape in Metastasis. *Cancer Res* 75 (15):3010-3019. doi:10.1158/0008-5472.CAN-15-0997

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 917

Konu: Doç. Dr. Semra DEMOKAN hk.

Tarih : 23.08.2017

Sayın Doç. Dr. Semra DEMOKAN
Onkoloji Enstitüsü

İlgi : Onkoloji Enstitüsünün 03/05/2017 gün ve 166118 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Tayfur EREN' in yürüteceği 2017/889 dosya numaralı "Larenks kanserli hastalarda SETD2 Gen İfadesinin Araştırılması" başlıklı çalışma kurumumuzun 11/08/2017 gün ve 13 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Larenks kanserli hastalarda SETD2 Gen İfadesinin Araştırılması"		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Semra DEMOKAN		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Deneysel ve Moleküler Onkoloji Bilim Dalı		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Deneysel ve Moleküler Onkoloji Bilim Dalı		
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---		
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>	
FAZ 4		<input type="checkbox"/>		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>		
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Diğer ise belirtiniz :			
	TEK MERKEZ	ÇOK MERKEZLİ	ULUSAL	ULUSLAR ARASI
	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI "Larenks kanserli hastalarda SETD2 Gen İfadesinin Araştırılması"

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	07/08/2017		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	<input type="checkbox"/>	Açıklama			
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	HASTA KARTI/GÖNÜLKLERİ	<input type="checkbox"/>				
	ILAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:13	Tarih: 11/08/2017				
	Istanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Deneysel ve Moleküler Onkoloji Bilim Dalında görevli Doç. Dr. Semra DEMOKAN'ın sorumluluğunda ve Tayfur EREN' in yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmî Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **	İmza	
of. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	

- * - Araştırma ile ilişki
** - Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmî Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığundan izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

LARENKS KANSERLİ HASTALARDA SETD2 GEN İFADESİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJİNALLIK RAPORU

%7	%2	%2	%5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%4
2	bumer.bayburt.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
3	www.oncotarget.com İnternet Kaynağı	<%1
4	kanser.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to University of Oklahoma Health Science Center Öğrenci Ödevi	<%1
6	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
8	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ahmet Tayfur	Soyadı	EREN
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	27/04/1983
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	41989988422
Email	tayfureren@gmail.com	Tel	0541 713 30 89

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	T.C. Haliç Üniversitesi	2008
Lise	Üsküdar Fen Lisesi	2001

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Stajer	Çapa Tıp Fak. Tıbbi Genetik Bilim Dalı	2006-2007
2.	Stajer	Cerrahpaşa Adli Tıp Enstitüsü	2005-2005
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	Çok iyi	64	
Almanca	İyi	Orta	İyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	84,31725	84,62834	74,59953
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi
SPSS	İyi
Chromas Pro	Orta

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Uzak Doğu Dövüş Sanatları