

T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
HASEKİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KULAK BURUN BOĞAZ KLİNİĞİ
KLİNİK ŞEFİ : Op.Dr. Turgay HAN

**LARENKS KANSERLERİNDE FAS-FAS LİGAND ARACILIKLI
APOPTOSİZİN KLİNİK VE PATOLOJİK PARAMETRELERLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

(Uzmanlık Tezi)

Dr.TOLGA ERSÖZLÜ

İSTANBUL - 2004

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim boyunca, her zaman yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, yetişmemde emeği geçen, bizleri her yönümüzle hayat mücadelesine hazır hale getiren saygı değer hocam, Klinik şefimiz Op. Dr. Turgay Han' a sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Asistanlık eğitimim boyunca her zaman yakın ilgi ve desteğini gördüğüm şef muavinlerimiz Op. Dr. Hamdi Yakut ve Op. Dr. Orhan Altıntaş 'a teşekkür ederim.

Kısa sürede olsa, aynı ortamda çalışmaktan büyük keyif aldığım, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, Haseki ruhunu şu anda başka kliniklerde devam ettiren şef ve şef muavinlerimiz, Op. Dr. Osman Karaaslan'a, Op. Dr. Orhan Sanisoğlun'a, Op. Dr. Özgür Yiğit'e ve Op. Dr. Osman Yılmaz'a teşekkür ederim.

Bilgi ve tecrübesinden faydalandığım ve her konuda bir ağabey şefkatiyle varlığını yanımda hissettiğim başasistanım Op. Dr. Bayram Veyseller'e, bu bölüme başladığım andan itibaren desteğini ve dostluğunu esirgemeyen başasistanım. Op. Dr. Ümit Taşkın'a, asistanlık dönemindeki yardımlarını başasistanlık döneminde de devam ettiren Op. Dr. Tayfun Apuhan'a, uzun bir aradan sonra tekrar birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Op. Dr. Turhan San'a, keyifli bir çalışma ortamının parçalan olan başasistanlarım Op. Dr. Mert Bilgili'ye, Op. Dr. Ahmet Koç'a ve değerli arkadaşım Op. Dr. Fadlullah Aksoy'a teşekkür ederim.

Hayata bakış açısıyla, kişiliğiyle ve bizlere yaklaşımıyla her zaman büyük sevgi ve saygı duyduğum Op. Dr. Atif Çetiner'e, kısa sürede olsa birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Op. Dr. Sancak Yüksel'e, Op. Dr. Emin Karaman'a, Op. Dr. Şeref Güven'e, Op. Dr. Hülya Kahve'ye, Op. Dr. Hasan Hüseyin Ceylan'a teşekkür ederim.

Asistanlık eğitim boyunca her konuda yardımcı olan çalışmalarına başka kliniklerde devam etmelerine rağmen bağımızın kopmadığı, Op. Dr. Süleyman Kumbasar'a, Op. Dr. Umut Tolu'ya ve Op. Dr. Battal Tekin'e teşekkür ederim.

Halen birlikte çalıştığım uzmanlarım Op. Dr. Murat Açıkalın'a, Op. Dr. Cihan Koç'a, Op. Dr. Atilla Şengör'e, Op. Dr. Abdullah Karataş'a, Op. Dr. Kenan Başaran'a Op.Dr. Handan Dolay'a teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım Dr. Tolgar Kumral'a, Dr. Uğur Erginoğlu'na, Dr. Ömer Binay'a, Dr. Bülent Seferoğlu'na, Dr. Koray Cengiz'e, Dr. Levent Sağıt'a, Dr. Hacı Ömer Durmaz'a, Dr. Erkan Soylu ya, Dr. Serveren Yurtsever ve Dr. Suphi Elbistanlı 'ya teşekkür ederim.

Birlikte acı ve tatlı günler geçirdiğimiz ilgi ve dostluklarını benden esirgemeyen servis hemşerilerimize ve tüm personelimize teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında bana yardım eden asistan arkadaşım Şebnem Batur'a, çok değerli arkadaşım Kerimcan Yıldırım'a,can dostlarım ve ağabeylerim Semih Çalkaya ve Selçuk Tangör'e teşekkürü borç bilirim.

Yaklaşık yirmidört yıl bulan eğitim ve öğrenim, hayatım, boyunca maddi ve manevi olarak yanımda hissettiğim, bana her zaman destek olan sevgili annem, babam ve ablama sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Tolga Ersözlü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	2
MATERYAL ve METOD.....	35
BULGULAR	37
TARTIŞMA	47
SONUÇ	52
KAYNAKLAR	53

GİRİŞ

İnsanoğlu yüzyıllardır doğanın tanınmayan güçlerine karşı içlerinde daima bir korku duymuştur. Kanser tanımı da bu korkuyla birlikte gelişmiştir.

Kanserin lügat anlamı yengeç yada ülser (cerahatli çıban, yara) dır. Hipokrat yavaş gelişen ve iyileşmeyen ülserler için "CARCINOS" ve malign olanlara da (kötü seyirli) "CARCINOMA" deyimini kullanmıştır. Alman lügatında kanserin karşılığı yengeç (krebs) tir. Bu gün de KANSER deyimini malign tümör yada neoplazm anlamında kullanılmaktadır. (5). Rönesansla birlikte tıptaki gelişmeler hız kazanmıştır. Akromatik olmayan ilk mikroskop 1552 yılında, akromatik olanı da 1624'de yapılmıştır. Bundan sonra tıpta mikroskopun kullanılması yeni kavramların doğuşuna neden olmuş, Dutroched (1823), Schleiden (1838), Schwann (1839) hücreyi tanımlayarak bitki ve hayvanların en küçük yapısal birimi olduğunu belirtmiştir. (6). Le Dran (1685-1770) otopsilerinden elde ettiği bilgiler ile malign tümörleri belirlemiş, bunların hüморal bozukluktan ileri gelmediğini, lokal başladığını ve bölgedeki ganglionlara geçtiğini söylemiştir. (7)

19. yüzyıldan sonra geniş ilerlemeler kaydedilmiş Dupuytren, kanserin bulaşıcı olabileceğini düşünerek tümör transplantasyonunu yapmıştır. Cruveilhier tümörlerin normal dokulardaki soysuzlaşmadan ileri geldiğini belirtmiştir. Virchow, hücrenin hücreden bölünmeyle oluşabileceğini "Omnis cellula a cellula" cümlesi ile tanımlamış ve tümör etyolojisinde kronik irritasyonların önemini belirtmiştir. (7)

Remak, her tümörün bir dokudan çıktığını ve bunun az yada çok asıl dokuya benzediğini göstermiştir. (7). Elektron mikroskopunun bulunmasıyla tümörler konusunda ayrıntılı bilgiler elde edilmiştir. Bunun yanısıra yapılan immünolojik, genetik, histokimyasal ve immunohistokimyasal çalışmalar ile moleküler düzeyde kanser etyolojisi ve progresyonu hakkında bilgiler artmaktadır.

Biz bu çalışmamızda fas-fasligand aracılıklı apoptosizin larenks kanserinde sürviyle, prognostik faktörlerle (yaş, lokalizasyon, histolojik grade, tümör boyutu lenf, kan damar invazyonu) evre'yle, tümörün iltihabi cevabıyla olan ilişkisini araştırdık.

GENEL BİLGİLER

TARİHÇE:

Larenks tabirine ait ilk kayıtlar her ne kadar M.Ö. 460 yılına kadar uzanıyorsa da, larenksin yapısına ait ayrıntılı kayıtlar M.S.131'de Galenus'un larenksi anatomik olarak incelemesiyle başlamıştır.(1) Larenks kanserine ait ilk yayınlar 1665'de Baerhave ve 1732'de Morgagni tarafından yapılmıştır.(1). 1829 yılında Babington, aksettirici ışıklar kullanarak larenksin içini gösterecek pratik bir alet yapmış ve larenkse yönelik ilk endoskobiyi gerçekleştirmiştir.(1). 1854 yılında Manoel Garcia indirek larengoskobiyi bulmuştur.(1) Bu tarih larengolojinin miladı olarak kabul edilmektedir.(1). Kanser nedeniyle larenjektomi ilk olarak Billroth tarafından 1873 yılında yapılmıştır(1). Gluck 20.yüzyılın başında ilk olarak hemilarenjektomiden bahsetmiştir.(1). 1895'te röntgenin x-ray'ı bulmasıyla, konvansiyonel grafiler ile larengeal lezyonları göstermek için denemeler yapıldı.(2). 1960 yıllarda Capitanio ve Kirkpatric x-ray'ın larengolojide kullanımından ayrıntılı olarak bahsetmiştir.(2) Ayrıca 1960'lı yıllarda ilk tümör belirleyicisi olan CEA(Karsinoembriyogenik antijen)'nin Gold ve Fredman tarafından bulunmasına rağmen,baş boyun kanserlerinde araştırılması ilk olarak 1975 yılında Silverman tarafından yapıldı (3)1980 yılında Archer ve Moncusa larenks kanserinin ayrıntılı incelenmesinde CT'yi kullandılar(2) Hoover, 1987 yılında larenks kanserinin incelenmesinde MR'ı kullandı ve avantajlarından bahsetti(2) Kısaca 1980'li yıllardan sonra larenksin ayrıntılı incelenmesinde x-ray grafilerinin yerini CT ve MR' a bırakmıştır.(2) Aynı şekilde 1985 yılından beri larenks kanserinde teşhiste kullanılacak, ayrıca prognozu değerlendirecek yeni çalışmalar devam etmektedir.

LARENKS ANATOMİSİ

Larenks, sindirim ve solunum sistemlerinin kesişim yerinde yerleşen, yaşam için temel ihtiyaç maddeleri olan hava ve gıda alımında merkezi öneme sahip olan kompleks sfinkterik bir tahliye organıdır. Dil ve hyoid kemik altında, trakea'nın üstünde, farenks ve özefagus'un önünde bulunur. Şekil olarak tepesi aşağıda tabanı yukarda üç yüzlü piramide benzetilebilir. Larenks cins ve yaş'a göre büyüklük, şekil ve yerleşim yeri farklılığı gösterir. Yenidoğan döneminde atlasın alt sınırından geçen yatay düzlem ile 4.servikal vertebra cisminin alt sınırından geçen yatay düzlem arasındayken, yaşla beraber aşağı doğru kayarak yetişkinde üst sınırı 3.servikal vertebra cisminin alt sınırıyla 6.servikal vertebra cisminin alt sınırından geçen düzlem arasına yerleşmiştir. Özellikle erkek çocuklarda yaşla beraber vokal kordlardaki uzama neticesinde ses'de kalınlaşma olur. Yine erkeklerde, tiroid kartilaj laminaları arasındaki açı bayanlara nazaran daha dar olduğu için (90 derece) halk arasında 'adem elması' olarak adlandırılan çıkıntı görülür. Aynı açı bayanlarda 120 derece'dir. Kız çocuklarındaki larenks yapılarına ait gelişme erkek çocuklarına nazaran daha yavaştır. Larenksi oluşturan kıkırdaklarda 20 yaşından sonra kemikleşme başlar. Elastik kıkırdak özelliği taşıyan epiglot ve aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntısında bu kemikleşme görülmez.

Larenks, arka yüzünde farenksin larengeal parçası ile komşuluk yapar. Bu bölgede yukarda epiglotu farenkse bağlayan *plika faringoepiglottikalar* vardır. Bu plikaların hemen altında ve larenks girişinin yanlarında yukarıdan aşağı doğru uzanan oluklara *piriform sinüs* adı verilir. Piriform sinüs özellikle sıvı gıdaların geçişinde görev almaktadır. Larenks girişinin arka kenarında ve orta hatta bulunan çentiğe *incisura interaritenoida* adı verilir. Larenkse önden bakıldığında büyük kısmını larenksin en büyük kıkırdağı olan tiroid kıkırdak oluşturur. Tiroid kıkırdağın hemen altında krikoid kıkırdak yerleşmiştir. Tiroid kıkırdak yukarıda hyoid kemikle, aşağıda krikoid kıkırdakla bağ ve membranlar aracılığıyla bağlantı halindedir. Larenksle dil kökü arasındaki bağlantıyı *plika glossoepiglottika mediana* ve *lateralisler* sağlar.

Larenkse içerden bakılacak olursa bazı girinti ve çıkıntılar ile karşılaşırız. En önemli çıkıntıları sağlı sollu birer adet olan yukarda ventriküler bantlar aşağıdaysa kord vokaller yapar. Bu iki çıkıntıyla larenks boşluğu yukardan aşağıya doğru üç kompartmana ayrılmış olur. Bunlardan yukarıda olana vestibulum ortadakine

ventrikül adı verilir.Kord vokaller önde tiroid laminaların birleşim yerinin ortasına denk gelen ve ön komissür adını alan yere yapışır.Kord vokaller arkada ise aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntısına tutunur.Ventriküler bantlar ise önde ön komissürün yaklaşık 3rhmm üstüne yapışır.

Larenks kıkırdak, kas.membran ve bu yapıların üzerini örten mukoza örtüsünden oluşan bir organdır. Larenksin kıkırdaklarını incelerken tek ve çift olanlar şeklinde sınıflandırabiliriz .Bunlardan tek olanlartiroid, krikoid ve epiglottur. Çift olanlar ise:aritenoid , küneiform(vvrisberg), kornikülat(santörini) ve sesamoid kıkırdaklardır.

Larenks'in kıkırdakları:

Tiroid kıkırdak; Boyun orta hatta, birbirine önde bağlanan beşgen 2 adet laminadan oluşan larenksin en büyük kıkırdağıdır.Erkeklerle bayanlar arasında orta hattaki birleşim açısıyla beraber tiroid laminaların şekil ve pozisyonlarıda farklılıklar gösterir.Tiroid laminaların üst ve alt arka kenerlarından aşağı ve yukarı doğru çıkıntılar(boynuz) uzanmaktadır. Bunlardan yukarda olanı hyoid kemikle tirohyoid ligaman vasıtasıyla, aşağıda olanı ise krikoid kıkırdak ile krikotiroid eklem vasıtasıyla bağlantı halindedir.Tiroid kartilaj yaşla beraber kemikleşebilen, hyalen kıkırdak yapısında olan bir kıkırdaktır.(Satalof anatomi bölümü 3-4 nolu yayınlar) Kemikleşme 20 yaş civarında ve aşağı boynuza yakın bölümden başlar.Erkeklerde bayanlara nazaran daha erken yaşlarda olmaktadır.Kıkırdağın dış yüzü kalın bir perikondrium ile döşelidir.İç yüzü örten perikondrium daha ince olup ön komissüre denk gelen yerde bulunmaktadır. Bu durum özellikle tümör yayılımı açısından büyük öneme sahiptir.

Krikoid kıkırdak; Hyalen kıkırdak yapısında ve tüm solunum sistemi boyunca tam bir halka oluşturan tek kıkırdaktır.Krikoid kartilaj, önde yerleşen bir arkla, arkada daha geniş olan laminadan oluşur.Lamina'nın üst kenerlarıyla aritenoid kıkırdak eklem yapar.Arka ve yan kenarlara ise tiroid kıkırdağın inferior boynuzu eklem yapar.Krikoid kıkırdak yukarda krikotiroid membran vasıtasıyla tiroid kıkırdak ile bağlantıdayken aşağıda trakea'nın ilk halkasıyla devamlılık gösterir.

Aritenoid kıkırdak:Krikoid kıkırdağın laminasınınüst yan yüzüne oturan bir çift kıkırdaktır.Sesin oluşumunda anahtar role sahip olan kord vokallerin yapıştığı ve üst bölümde yerleşen vokal çıkıntı ile intrinsik larenks kaslarının yapıştığı müsküler

çıkıntı adını alan iki adet çıkıntı vardır.Taban konkav olup krikoid kıkırdakla sinovyal eklem ile birleşir.Genel olarak hyalen kıkırdak olmakla beraber apeksde elastik kıkırdak özelliği taşır.Kemikleşme 30 yaş civarında başlamaktadır.(satalof ,sayfa 57, Yayın 3-4) Kıkırdağın apeksi kornikulat kıkırdakla eklem yapmaya uygun olarak konkav özellik gösterir.Kıkırdağın ön dış yüzünde bulunan iki adet çukurluktan üsttekine plika ventrikularis tutunurken aşağıda yerleşen ve fovea oblanga adını alan bölgeye tiroaritenoid kas (vokal kas) tutunur.

Epiglot/Larenks girişinin önünde, dilkökü ve hyoid korpusunun arkasında yerleşen ince yaprağa benzeyen kıkırdaktır. Daha dar olan alt ucu tiroepiglottik ligaman ile tiroid notch'un hemen altında ve laminaların birleşim yerine tutunur.Epiglotun serbest olan yan kenarları ariepiglottik kıvrım vasıtasıyla devamlılık gösterir.Epiglot ön yüzde plika glossoepigottika lateral ve medial adını alan kıvrımlar vasıtasıyla dil köküne bağlanır.Bu plikalar arasında yerleşen çukurluğa ise vallekula adı verilir.Epiglot ile tirohyoid membran arası yağ dokusu ile dolu olup pre-epiglottik boşluk adını alan bölge vardır.Epiglot fibro-elastik kıkırdak yapısında olup ileri yaşlarda dahi kıkırdaklaşmaz.Epiglot kıkırdak üzerinde bulunan çok sayıdaki delikten müköz glandların boşaltıcı tüpleri geçmektedir. Bu özellik klinikte önem taşımaktadır.

Küneiform ve kornikulat kartilajlar:Kornikülat kıkırdak aritenoid kıkırdağın apeksine sinovyal bir eklem aracılığıyla bağlanan elastik fibrokartilaj yapısında olan bir kıkırdaktır.Küneiform kıkırdak ise daha önde ve ariepiglottik kıvrım içinde yerleşen yine elastik fibrokartilaj yapısında olan bir kıkırdaktır.Bu kıkırdakların ariepiglottik kıvrımın direncini arttırdığına inanılmaktadır.

Larenksin kasları:

Larenks kaslarını intrinsik ve ekstrinsik kaslar olarak iki gruba ayırarak inceleyebiliriz. Ekstrinsik kaslar larenksin stabilizasyonunu sağlarlarken intrinsik olanlar larenksin değişik fonksiyonların başarılmasında aktif görev almaktadır.Ekstrinsik kaslar larenks ile çevre yapılar arasında bağlantı sağlamaktadır. İntrinsik kaslar larenks kıkırdakları arasındadır. İntrinsik kaslar; 5 adet olup bunlardan 4 adeti çift iken 1 adeti tek kasdır.Çift kaslar; m.krikotiroideus, m.krikoaritenoides posterior, m.krikoaritenoides lateralis, ve m.tiroaritenoides'dur. Tek olan ise m. aritenoides'dur

M.Krikotiroideus: Krikoid ve tiroid kıkırdaklar arasında bulunan ve rektal ve oblik 2 kısımdan oluşan bir kastır.intrinsik grup içinde larenksin kıkırdak iskelet yapısının dışında yerleşen tek kasdır.Kas lifleri Krikoid kıkırdağın önde yerleşen arkının lateraline tutunarak başlar.Kas lifleri geriye doğru uzanırken 2 gruba ayrılırlar.Kasıldığı zaman tiroid kartilajı diğer kaslarında yardımıyla tespit eder.Aynı zamanda krikoid kıkırdağın arkusunu yukarı doğru çektiğinden krikoid kıkırdağın laminasını ve onun üzerinde yerleşen aritenoid kıkırdağın arkaya doğru kaymasına neden olur. Aritenoid kıkırdak arkaya kayması nedeniyle kord vokal ön-arka uzunluğu artacağından dolayı kordlar gerilir ve uzar.

M.Krikoaritenoides posterior: Larenksin arka yüzünde yerleşen kas 'postikus' ismiylede bilinmektedir.Krikoid kıkırdağın laminasının arka yüzünün ortasındaki çukurluktan tutunarak başlar.Lifler yukarı ve dışyana doğru uzanarak aritenoid kıkırdağın tabanında ve arka kısmında bulunan müsküler çıkıntıya tutunarak sonlanır. Kasıldığı zaman müsküler çıkıntı arka ve aşağı doğru çekilir. Bu sırada vokal çıkıntı bir miktar yükselir; ve dışa doğru çekilir.Bu esnada vokal çıkıntıların birbirinden uzaklaşması neticesinde rima glottis genişler.Bu kas rima glottisi genişleten tek larenks kasıdır.

M.Krikoaritenoid lateralis: Krikoid kıkırdağın arkusunun yan üst kısmı ile konuş elastikusa tutunarak başlar.Kas lifleri yukarı ve arkaya doğru giderek aritenoid kıkırdağın müsküler çıkıntısının ön kenarında sonlanır. Kas liflerinin kasılmasıyla rima glottis kapanır.M.Krikoaritenoides posterior'un antagonisti olan kasdır.

M.Tiroaritenoides:Vokal ve lateral olmak üzere 2 parçası vardır.Bunlardan medialde yerleşen vokal kısmı angulus tiroidea ve ligamentum vokalenin tutunduğu yerin hemen altına tutunarak başlar. Lifler plika vokalis içinde geriye doğru giderek aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntısına tutunur. Kasıldığında vokal plika gerilir, ve kalınlaşır. Lateral parça kasıldığında larenks girişi daralır.

M.Aritenoides:Bir çift Oblik ve tek transvers olmak üzere 2 parçası vardır. Oblik parça aritenoidin müsküler çıkıntısına tutunarak başlar; kas lifleri orta hatta çapraz yaparak karşı aritenoidin tepesinde sonlanırlar. Transvers parça aritenoid kıkırdağın dış kenarına tutunarak başlar.Lifler yatay planda ilerler ve karşı tarafın aritenoid kıkırdağına tutunur.Heriki kısımda kasıldığı zaman rima glottisde daralmaya neden olur.

Larenks'in membranları:

Tirohyoid membran:Bu membran hyoid kemiğin posterosüperior kenarıyla tiroid kıkırdağın üst kenarı arasında yerleşmektedir. Bu membran medial ve lateralde kalınlaşma göstermektedir. Medialdekine medial tirohyoid ligaman lateraldekine ise lateral tirohyoid ligaman adı verilir.Sinir ve arterleri içeren süperior larengeal demet bu membranı delerek larenks içine girer.

Kuadrangüler membran:Epiglotun serbest kenarlarına tutunarak başlar. Arkaya doğru ilerleyerek aritenoid kıkırdağın arkasına uzanarak sonlanır Heriki larenks yarımında birer adettir. Membranın üst kenarı ariepiglottik kıvrımı oluşturmaktadır.Bu kıvrım piriform sinüsün medial sınırını yapmaktadır. Alt kenar epiglotun aşağı kenarına tutunarak başlar.Aritenoidin vokal çıkıntısına (vestibuler kıvrım) tutunarak sonlanır. Alt kenar yalancı kord vokale denk gelmektedir. Membranın alt ve üst kenarları kalınlaşarak aşağıda vestibuler ligamanı yukarda ariepiglottik ligamanı oluşturlar.

Triangüler membran:Herbir larenks yarımında birer adet olan fibroelastik yapılı bir membrandır Altta tiroid kıkırdağa; önde krikoid ve tiroid kıkırdaklara tutunmuştur. Bu membranın serbest olan üst yüzü kalınlaşarak vokal ligamanı oluşturur. Bu ligaman önde tiroid kıkırdağa tutunduğu bölgede broyle ligamanı adını alır. Bu ligamanın tutunduğubölgede tiroid kıkırdak iç perikondriumunun olmayışı nedeniyle larengeal malignensilerin yayılımı açısından önemlidir. Heriki membran beraberce konuş elastikusu meydana getirmektedir. Konuş elastikus önde kalınlaşarak krikotiroid ligamanı oluşturmaktadır.

Krikotiroid membran:Krikoid ile tiroid kıkırdak arasında ve ün yüzde yerleşen bir membrandır. Klinikte özellikle acil trakeotomi gereken vakalarda havayolu temini açısından önemlidir. Ancak krikotiroid membranı geçerek açılan trakeotomi vakalarında larengotrakeal stenoz ihtimalinin yüksek oluşu nedeniyle bu vakaların kısa süre içinde trakeal bölgeden açılacak havayoluna geçilmesi önemlidir. Larenks malignitelerinde bu membran üzerinde yerleşen ve delphian nodu olarak adlandırılan lenf nodu varlığı klinikte önemlidir.

LARENKS FİZYOLOJİSİ

Larenksin fonksiyonları dört tanedir.

1)Koruyucu fonksiyonu:Koruyucu fonksiyonlarından öksürük alt solunum

yollarını korumayı amaçlayan ve yabancı partiküllerin dışarı atılmasını sağlayan refleks bir olaydır. Mekanizması: larenjel mukozanın uyarılması ile kord vokal ve bant ventrikül kapanır, subglottik basınç yavaşça artar ve belli bir seviyeye ulaşınca larenks aniden açılır, aşağıda biriken basınçlı hava patlar tarzda yukarı çıkar, bu hava ile mukus ve yabancı maddeler dışarı atılır. Diğer bir koruyucu fonksiyonu sayesinde larenks yiyecekleri özefagusa yönlendirerek solunum yollarını korur. Bu görevini; yutma sırasında solunum refleksinin inhibisyonu, glottik sfinkterin kapanması, larenks yukarı ve öne gelerek larengeal girişin dil kökü ve epiglott tarafından kapanmasıyla yapar.

2)Solunum:Solunum sırasında, frenik sinir uyarısı ile diaframın aşağı inışı başlamadan önce nlarengeus inferior uyarısı ile glottik açıklık sağlanır. Bu açılmayı hiperkapni ve solunum yolu obstrüksiyonu gibi durumlar stimüle ederler. Arteryal oksijenasyonun artışı ve hiperventilasyon ise inhibe eder.

3)Konuşma:Konuşma üç sisteminin kombine çalışmasıyla olur.Birincisi basınçlı havanın çıkışını sağlayan jeneratör sistemki bunu oluşturan organ akciğerdir.İkincisi vibratör sistem ki bunun organı larenkstir. Üçüncü sistem ise rezonatör sistemdir. Bunun içindeki yapılar farenks, dil, damak, dudaklar, burun ve paranazal sinüslerdir. Jeneratör sistemin oluşturduğu basınçlı havayı kord vokallerin addüksiyonları ve vibrasyonları ses haline getirir. Bu vibrasyonların oluşması hususunda iki teori vardır. Birincisi Myoelastik-aerodinamik teoridir ki buna göre kord vokallerde vibrasyon, basınçlı havanın geçişi esnasında pasif olarak oluşmaktadır. Bir diğer teori ise Nörökronaksik teoridir ki buna göre, santral kaynaklı impulslar rekürrens yoluyla tiroaretenoid kasın kasılmasına, dolayısıyla vibrasyona neden olur. Bugün için kabul edilen görüş Myoelastik-aerodinamik teoridir.

4)Tespit:Karın ve göğüs kaslarının daha fazla kasılabilmesine olanak vermek amacıyla larenks,kapanarak intratorasik basıncı artırır. Ağır kaldırma, ağaca tırmanma gibi efor gerektiren durumlarda larenksin bu fonksiyonu önemli rol oynar.(4).(larenks fizyolojisine ait bilgiler Editörlüğünü Paparella'nın yaptığı Otolaryngology kitabının 2.cildinin Phisiology of The Larynx bölümünden alınmıştır.

LAREKS KARSİNOMLARI:

İnsidans ve Epidemiyoloji

Tüm vücut kanserlerine göre nadir kanserlerdir. Oral kavite ve tiroit kanserleri ile aynı sıklıkta rastlanır. Erkeklerde tüm malign tümörlerin %2.3 oluştururken; bu oran kadınlarda %0.4 tür.(8) Larenks kanserlerinin ' görülme sıklığı ülkelere göre de değişmektedir. Örneğin İtalya, İspanya, Polonya, Fransa'da 10/100000 üzerinde bir insidansdan bahsedilirken, bu oranın Japonya, Norveç, İsveçte 3/100.000 altında olduğu bildirilmiştir. (9)Genelde Larenks kanserlerinin Erkek/Kadın görülme sıklığı 10 iken, bu oran ülkelere göre değişmektedir. Örneğin Finlandiya'da bu oran 23'e, İtalya'da ise 32'ye kadar yükselmektedir. (9)(10). Wynder ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada kadınlarda yükselen sigara tiryakiliği oranına bağlı olarak 14.9/1 lik oranın 4.6/1'e yükseldiği göstermektedir. (11) Barclay ve Rao'nun 46 coğrafik bölgede yaptığı analiz ışığında kadınlarda larenks kanseri sıklığını 100.000'de 0.4 olarak bildirilmiştir. (7). Endüstriyel alanlarda görülme sıklığı, kırsal alanlarda görülenden 2-3 kat daha fazladır.(12).(13). Irklar arası dağılımına bakılınca insidansın köken ülkeyle aynı olduğu görülmüştür. Örneğin Hawai'deki Japonlarda görülme insidansı Japonya'daki ile aynı iken, beyaz ırkta görülme sıklığı ABD ile aynı orandadır. (9)

ABD'deki siyah ırkta görülme sıklığı son yüzyılda artmıştır. (14). Yaşa göre görülme sıklığı ise 5., 6. ve 7. Dekadda yoğunlaşmıştır. En fazla görülme ise %40 ile 6. dekaddadır. Literatürde 30 yaş altı görülme sıklığı %1 olarak bildirilmiştir. (10).

Tümörün lokalizasyonu yönünden ABD'de yapılan geniş bir araştırmada %60'ı glottik, %30'u supraglottik ve %10'u marjinal yerleşimli olduğu görülmüştür. (15). Larenks kanserlerinin mortalite yönünden, dünya yüzeyindeki değerlendirmesine bakılınca, az gelişmekte olan ülkelerde yüksek oranda olduğu, bu ülkelere ait istatistik ve medikal raporların yetersizliği asıl sonuçların ortaya çıkışını engellemektedir. (3). ABD kanser derneğine göre larenks kanserlerinin mortalitelerindeki oranlarda bir değişme olmadığı görülmüştür. (10).

Risk Faktörleri :

Tütün: Sigara kanser ile larenks kanseri oluşumu arasında yakın ilişki vardır. (3). Larenks kanseri olma insidansı günlük içilen sigara sayısı ile artar (14).

Erken sigaraya başlama ve çok sigara içme bu insidansı yükseltmektedir. (16) Homburger laboratuvarında, sigara dumanı ile deney hayvanlarında laringeal karsinom oluşturmayı başarmıştır (17). Auerbach sigara içenler ve içmeyenlerde

atipi ve karsinoma insidansını incelemiştir. (18). Ryan ve arkadaşları sigaraya bağlı olarak aşırı keratizasyon, epitelyal hiperplazi, skuamöz metaplazi, ödem ve kronik inflamasyon tespit etmiştir. (3). Genel kanı, larenks kanserli hastaların %88-89'i hayatlarının belli bir sürecinde sigara kullanmıştır ve %50'den fazlası da günde 1 paketin üzerinde sigara kullanmıştır.(15). Sigara içmeyenlere oranla içenlerde kanser olma riski 6.1 ila 15.8 kat arasında daha fazla değişmektedir. (14).

İki paketin üzerinde sigara içenlerde larenks kanserinden ölme riski 13 kat artmaktadır. (15).Araştırmalarda kansere neden olan primer maddenin nikotinden ziyade polisiklik aromatik hidrokarbonlar içeren rezidüel katranın olduğu görülmüştür. (15).

Alkol: Alkoliklerde larenks karsinomlarının daha sık görülmesinin sebebi, riboflavin ve diğer vitaminlerin eksikliğine, immunoglobulin ve diğer immunomolekül seviyelerindeki değişikliklere, kötü beslenme ve siroza bağlanmıştır. (19). Kırmızı şarapla beraber tütünün yüksek oranda beraber kullanıldığı ülkelerde (Fransa, İspanya) supraglottik larenks kanserlerinin yüksek oranda görüldüğü gözlenmiştir. (20). Tek başına alkol alımının larenks kanseri yapmadığını iddia edenler de vardır.

Diet: Çeşitli araştırmacılar diet ile larenks kanseri arasında ilişkiye parmak basmışlardır. Yetersiz beslenme sonucu larenks kanseri insidansının artacağı vurgulanmıştır. (20). Hiranandani, Hindu çayında sönmüş kirecin irritatif etkisi ile postkrikoid karsinom yaptığını tespit etmiştir. (21). Stocks, kadınlarda çay tiryakiliği ile larenks kanseri arasındaki ilişkiyi vurgulamıştır. (22).

Çevre: Bu husustaki çalışmalar alkol ve sigaranın, ekarte edilmemesinden dolayı tam olarak yapılamamaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda risk altındaki kişiler: Çiftçiler, odun işiyle uğraşanlar, nikel işçileri, hardal gazı işçileri, termal yanıklara maruz kalanlar, kömür, lastik işçileri, insektisit ile uğraşanlar, deri sektöründe çalışanlar, krom madencileri, asbestosis işiyle uğraşanlar takip edilmiş, takiplerin sonunda bazıları asbestosisin 20 kat fazla patolojik etken olduğunu iddia etmesine karşılık, bazıları bunların minör faktörler olduğunu vurgulamıştır. (23).

Radyasyon:İonize radyasyonun larenks kanserine sebep olduğu ilk olarak 1930'da Von Ericken tarafından ortaya atılmıştır.(19).Graves hastalığında terapötik dozlarda iod kullanımının larenks kanserindeki etkinliği söylenmiştir.(24).

Alfa-partiküllerine maruz kalınanında larenks kanseri yaptığı gösterilmiştir. (25). Baş boyun kanserlerinden primer tedavi olarak radyoterapi uygulandıktan yıllar sonra oluşan tümörlerin, nüksten ziyade irradiasyona bağlı olarak oluşan ikinci primer tümör olduğu iddia edilmiştir. (26). Radyasyona maruz kalma ile tümör oluşması arasındaki süre çok uzun olduğundan oluşan tümör patolojinin sonucu mu yoksa radyasyona bağlı mı aydınlatılamamıştır. (8). Sasaki radyasyona bağlı bir asinik hücreli tümör, bir fibrosarkom, iki skuamöz hücreli karsinom bildirilmiştir. (14).

Larengial Keratozis: Yapılan araştırmalarda, prekanseroz lezyonlar içerisinde keratozis diğer lezyonlarda oranla daha yüksek oranda karsinoma sebep olduğu saptanmıştır. (8). Crusman larengeal keratozisin %3,25 ile 4.3 arasında invaziv kansere dönüştüğünü göstermiştir (27).

Larengial papillom:İşinlanmamış juvenil papillomlarda malignite ihtimali çok düşük oranlardadır.Papillom zemininden gelişen larengeal karsinomlarda ,daha önce radyoterapi uygulanması sebep sayılmıştır.(28).

Viral Enfeksiyon:Herpes simplex enfeksiyonlarının larenks kanserinde bir etken olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur.CEA (Karsinoembriyonik antijen) ve herpes simplex antijenleri yüksek olan bir dizi larenks kanserli hastalar tespit edilmiştir.(15).Bu hastalarda kanser oluşma riski immun sistem supresyonuna bağlanmıştır.(15).Bazı larenks verrüköz karsinomlarında human papillom virüs tespit edilmesi etyolojik faktör olduğu kuşkusunu akla getirmektedir.(1).

Heredité:Larengeal malignitelerde hereditenin etken olabileceği uzun zamandır araştırılmaktadır.Arilhidrokarbon hidroksilaz enzimi bazı larenks kanserli kişilerde herediteye bağlı olarak .yüksek oranda tespit edilmiştir.(8).Bu enzimde polisiklik aromatik hidrokarbonların epoksitlere dönüşümüne neden olmakta dolayısıyla yüksek oranda dumana maruz kalan bu kişilerde kanser riski artmaktadır(29). Birkaç çalışmada %7-15'lik bir larengeal kanserli grupta diğer aile fertlerinde de aynı tanıya rastlanmıştır.(15). Iwamoto, larenks kanserli hastaların %56.Tinin akrabalarında mide, akciğer yada larenks karsinomu gözlemiştir (30).

Plummer- VVinson Sendromu:Atrofik gastrit-glossit, sideropenik displazi ve aklorohidri ile karakterize olan bu hastalıkta sıklıkla postkrikoid karsinom oluşur (31).%95 oranında orta yaş ve üstü kadınlarda gözlenen bu patolojide %30 sıklıkta

karsinom oluştuğuna dair yayınlar mevcuttur.

Gastroözefagial reflü:Gastroözefagial reflü özefagustaki pH'ın 4'ün altına düşmesi olarak tarif edilmiştir.(32). Larenks kanserinin oluşumunda reflünün etkisi araştırılan bir başka konudur. Gastroözefagial reflünün larenks kanserine neden olduğu çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir. Dennish ve Castell sigaranın normal insanda alt özefagial sütrüktürde basıncı düşürerek reflüye neden olduğunu bulmuştur.(33). Aynı araştırmada reflü hastalığı olan geniş bir seride %92 oranında sigara içildiğini göstermiştir(33). Reflü ile sigara/alkol kullanımı arasında yakın ilişki saptanması, özellikle larenks karsinomu olmak üzere üst hava-sindirim yolu kanserinin gelişiminde gastroözefagial reflü hastalığının da önemli bir kofaktör olduğu ortaya konulmuştur (32). Bazı araştırmacılar sigarayı ortadan kaldırarak sadece reflünün larengeal kanser yaptığını ortaya koymaya çalışmışlardır.Morhson hayat boyu sigara içmeyen vokal kord 2/3 ön kısım T1 evre, yassı hücre kanserli 6 hastanın 5'inde baryumlu özefagografi ile anormal sonuçlar elde etmiş (Sliding hernili 4 hasta .reflülü 4 hasta ($Ph < 4$)),20 yıllık tümör kayıtlarını yeniden gözden geçirmiş ve ilaveten 21 larenks skuamöz hücreli kanserin sigara içmediğini tespit etmiş ve bunlarda pozitif reflü hikayesini %48 oranında bulmuştur (34).

Patoloji:

Larenkste oluşan tüm malign tümörlerin %95-98'i skuamöz hücrelerden kaynaklanan karsinomlardır.Karsinomların hücrel dejenerasyonu derecelerine göre farklılık gösterir. Vokal kord tümörleri genelde differansiye tümörler iken, priform sinüs ariepiglottik kıvrım ve hipofarenksi tutan lezyonlar daha az differansiye tümörlerdir. İzole hiperkeratozislerin invaziv Kansere dönüşüm insidansı düşük olmasına rağmen (%3), hemen her zaman hiperkeratozis karsinoma insitu ve invaziv karsinomaya eşlik eder. Hiperkeratinize lezyonlar genelde vokal kordda lokalizedir sigara veya travmaya bağlıdır. Bazen beyaz renkte lökoplaki görülür (3).

insitu karsinomların gross olarak hiperkeratosis yada karsinomdan ayrılması çok zordur. Karakteristik görüntü kordların yüzey damarlanmasında dolgunlaşma ve hiperemi saptanır, damarlar kıvrımlı yada U şeklini almıştır. Larenks'in herhangi bir yerini tutabileceği gibi, sıklıkla lezyon vokal korda lokalizedir. Sıklıkla bu lezyon invaziv kansere eşlik eder. Yani insitu karsinom tedavi

edilmeyip kendi haline bırakılırsa invaziv karsinoma dönüşür (3).

Larenks karsinomlarının çoğu keratinize tiptedir. Bununla birlikte non keratinize tiplerin daha sık rastlandığına dair raporlar da vardır. Tümörlerin geri kalanları arasında verrükoz karsinom, anaplastik karsinom, psödosarkoma, adenokarsinoma ve sarkoma sayılabilir. Bu maligniteler farklı biyolojik davranış biçimleri ve tedavi metodları nedeniyle tek tek ele alınmalıdır. Ayrıca transisyonel hücreli, bazal hücreli ve lenfoepitelyal tümörlere ait sporadik vakalar rapor edilmiştir. Blastomitoz gibi bazı patolojilerin skuamöz hücreli karsinomu taklit edebileceği unutulmamalıdır. (3).

Klinik olarak yayılım:

1)Supraglottik kanserlerde: 160 larenjektomili piyeste Bocca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ne kadar büyük olursa olsun supraglottik tümörlerin ventrikülü tutmadığını bildirmiştir (35),(36). Yapılan araştırmalar bunun nedenini, supraglottik bölgenin bukkofarengeal yarıktan, glottik ve subglottik bölgenin ise trakeobronşial yarıktan gelişmesinden dolayı iki bölge arasındaki embriyolojik ' demerkasyona bağlamaktadır. (37). Supraglottik lezyonlar en sık preepiglottik alana yayılırlar(35).(36).(37).(38).(39). Bu alana yayılım epiglot kıkırdak üzerindeki deliklerden epiglot kıkırdağın parçalanmasıyla ve tiroepiglottik ligamanın zedelenmesiyle olabilir (37). Preepiglottik alanı oluşturan fibro elastik yapıdan oluşan sınırlar tümörün bu alan içerisinde hapsolmasını sağlar. Paraglottik alana invazyon, preepiglottik bölgedeki tümörün fibroelastik bariyeri parçalamasıyla veya band tümörlerinin istilasıyla olabilir.(35,36,37).(40).

2)Glottik kanserlerde:Glottik kanserlerin supraglottik bölgeye yayılımı nadirdir.%10 olguda yalancı kord ve epiglot invazyonu görülür (41). Yayılım genelde ön komissüre ve oradan da subglottik bölgeye olur. Glottik kanserin subglottik bölgeye yayılımı genelde konuş elastikus tarafından engellenmektedir. Tiroid kıkırdak ile konuş elastikus arasındaki bölge muköz bezlerden zengin olduğu için bu bölgede ilerleyen tümör krikoid membrana ulaşarak larenks dışına çıkabilir (42).(43). Kord fiksasyonu olan piyeslerde yapılan çalışmalarda tümörün paraglottik bölgeye yayıldığı ve genelde aritenoid eklem tutulumu olmadığı gösterilmiştir (40)

(44).Sıklık sırasına göre tiroaritenoid kas, lateral krikoaritenoid kas, interaritenoid kas ve posterior krikoaritenoid kas tutulur (44).

3)Subglottik Kanserlerde: Konus elastikus bazen subglottik tümörün glottik bölgeye yayılımına neden olabilir (45). Subglottik tümörler genelde krikotiroid membranı delerek larenks dışına yayılırlar ve tiroid glandı invaze edebilirler (44), (46). Krikoid ve tiroid kıkırdağa yayılım %50'nin üzerinde olup, aritenoid kıkırdak invazyonundan daha sık görülmektedir (44)(46).

4)Kıkırdak İnvazyonu: Tiroid kıkırdağa tümör invazyonuna karşı koruyan en önemli iç yapı perikondriumdur. Yaeger ve Archer, tiroaritenoid kasın kollegen liflerinin iç perikondriumu geçerek direk tiroid kartilaja yapıştığını göstermiştir. Birbirine yapışık halde iç perikondriuma giren kollegen, tümör invazyonu ile birbirinden ayrılmakta ve tümör hücrelerinin kıkırdağa rahatça ulaşabilecekleri bir temel meydana getirmektedir (38). Ön komissürde iç perikondriumun olmaması ve ön komissür ligamanının doğrudan tiroid kıkırdağa yapışması bu bölgeyi tümör invazyonuna karşı zayıf kılmaktadır (38). Ligaman boyunca ilerleyen tümör hücreleri kolaylıkla tiroid kıkırdak invazyonuna neden olurlar (38). Kıkırdak tutulumunun genelde kemikleşmiş bölgelerde olduğu dolayısıyla invazyonun kemikleşmenin erken başladığı alt boynuza yakın arka bölüm ve alt kenar boyunca orta hatta kadar olan kısımda görülebileceği belirtilmektedir.(38),(39),(47),(44).

TNM Sistemi:

İlk olarak 1940 yılında Denoix tarafından ortaya atılan TNM sistemi, 'Union Internationale Contre le Cancer'(UICC) tarafından 1950 yılında tümörün lokal yayılımı ve anatomik bölgelerin tarif edilmesiyle geliştirilmeye başlandı. Daha sonraki yıllarda edinilen bilgiler ışığında değişikliklere uğrayan sistem 'American Joint Comitte' (AJC) tarafından 1988-1992 yıllarında UICC'nin esaslarına bağlı kalınarak yeniden düzenlendi (3) (66).

Tablo 1. TNM sistemi T (Tumor), N (lenf nodu), M (Metastaz) öğelerini

kapsamaktadır TNM sistemine göre tümör değerlendirmesi bölgelere göre şu şekildedir (3).

Primer Tümör (T)

Tx: Primer Tümör değerlendirilemiyor.

To: Primer karsinom

Tis: İnsitu karsinom

Supraglottis

T1: Supraglottik bölgenin yalnız bir bölümünde tümör, kord mobilitesi normal.

T2: Supraglottik bölgenin birden çok kısmındaki yada glottik bölgeye inmiş tümör, kord mobilitesi normal.

T3: Tümör larenks sınırları içerisinde, kord fiksasyonu yapmış ve/veya postkrikoid bölge, piriform sinüs medial duvarı veya preepiglottik bölgeye yayılmış

T4: Tiroid kartilaj invazyonu ve/veya larenks ötesi yapılara yayılım.

Glottis

T1:Tümör kordlarda sınırlı, hareketlilik normal, ön komissür tutulmuş olabilir.

T1a: Tek bir kord tutulmuş

T1b: Her iki kord tutulmuş

T2: Tümör supra ve/veya subglottis'e yayılmış ve/veya kord hareketliliği kısıtlı.

T3: Tümör larenks sınırları içerisinde, kord fiksasyonu var.

T4: Tiroid kartilaj invazyonu ve/veya larenks ötesi yapılara yayılım.

Subglottis

T1: Tümör subglottis ile sınırlı.

T2: Tümör kordlara uzanmış, hareket kısıtlılığı olabilir.

T3: Tümör larenks sınırları içerisinde, kord fiksasyonu var.

T4: Tiroid veya krikoid kartilaj invazyonu va/veya larenks ötesi yapılara

Yayılım

Nodal değerlendirme(N)

Nx: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor

No: Bölgesel nodal metastazı yok

N1: 3 cm'den küçük tek bir ipsilateral nod

N2: 3 cm'den büyük 6 cm'den küçük tek bir ipsilateral, multipl ipsilateral nod yada hepsi 6 cm'den küçük bilateral yada kontrilateral nodlar

2a: 3-6 cm'lik tek bir ipsilateral nod

2b: Hepsi 6 cm'den küçük multipl ipsilateral nod

2c: Hepsi 6 cm'den küçük bilateral yada kontrilateral nodlar

N3: 6 cm'den büyük nod metastazı

Uzak Metastaz (M)

Mx: Uzak metastaz varlığı değerlendirilemiyor Mo: Uzak metastaz yok M1: Uzak metastaz var

Evre Gruplaması:

Evre 0: TisNoMo

Evre 1: T1NoMo

Evre 2: T2NoMo

Evre 3: T3NoMo/T1N1Mo/T2N1Mo/T3N1Mo

Evre 4: T4NoMo/Herhangi bir T ile N2Mo-N3Mo/Herhangi bir T ve herhangi bir N ile M1

Prognozu Etkileyen Faktörler:

1)Primer lezyonun lokalizasyonu ve lezyonun boyutu

2)Servikal metastaz 3)Hücrel faktörler

1)Lokalizasyon ve lezyonun boyutu:

a)Supraglottik kanserlerde: Bu bölgeye lokalize kanserler merkezdeki nekrotik alanlar ve kenarlardaki ekzofitik tomurcuklanmalarla karakterize büyük ve amorf lezyonlardır (15). Bölgesel invazyon gösterirler ve sefalik planda ilerlemeye eğilimlidirler (15). Glottise invazyonu engelleyen bir bariyerden söz edilmektedir.Bu kanserler ,mukozal örtüyü takip ederek epiglota sıçrayabilirler (15). Ariepiglottik

kıvrım vasıtasıyla vallekulaya ilerleyip dil kökünü invaze edebilirler (15). Ayrıca piriform sinüs ve endolarenks tutulumu ihtimal dahilindedir (15). Epiglot kartilaj üzerindeki foraminaller vasıtasıyla vallekula ve dilkökü tutulumuna sık rastlanır (15). Supraglottik kanserlerde daha inferior bölgede lokalize tümörler, marjinal tümörlere oranla daha iyi prognoza sahip oldukları belirtilmiştir (15). İnfrahyoid epiglot tümörleri, suprahoid gruba göre daha kötü prognozludur (15).

b)Glottik kanserlerde: Glottik veya vokal kord yerleşik tümörler iyi diferansiye, yavaş büyüyen ve yayılımı belirli olan lezyonlardır (15). Lokal olarak kan damarlarına ait planlar boyunca ilerlediklerini düşündüren kanıtlar mevcuttur (15). Ön arka planda hem anterior komissüre hem de karşı vokal korda doğru genişleyebilirler (15). Vokal ligaman ve vokalis kasını infiltre ederek ventriküle, supra ve subgottis bölgeye yayılabilirler, kartilaj invazyonu genelde geç dönemde ve özellikle ön komissürde olup, ekstralarengeal yayılma hastalığının ilerleyen aşamalarında rastlanır, bu yayılma inferior kornu altından ve krikotiroid membran yoluyla olur (15). Bir glottik tümör epiglot kökünü ve ön komissürü tuttuğu zaman %75 perikondrium hasarı veya kıkırdak destrüksiyonu ile kartilajenöz larenks dışına çıkış söz konusu olmaktadır (15). Bu bölgede direk tümör yayılımını kısıtlayan yapılar önde Broyl's ligamanı, lateralde konus elastikusdur (15). Kord fiksasyonu genellikle derin invazyonu (en azından tiroaritenoid kas tutulumu) düşündürür ve prognozu kötüleştirir. Bu tip lezyonların daha geniş rezeksiyonu şarttır (14).

c)Subglottik kanserlerde: Bu kanserler, daha belirsiz hudutlu, daha az ekzofitik veya daha az ülserleşme eğilimli lezyonlardır (15). Submukozal ve halka tarzı yayılım daha fazladır (15). Primer subglottik lezyonlar nadir olmakla beraber (%2), subglottik yayımlı glottik tümörler daha sıktır (%25) (15). Krikotiroid membran vasıtasıyla ekstralarengeal yayılım ve hipofarenks, trakea ile tiroid glandın direkt tutulumu söz konusudur (15).

d)Transglottik kanserlerde: Bu tip tümörler eşlik eden destek çatı tutulumunun ve ekstralarengeal yayılımının fazla olması nedeniyle özel önem arzederler (14). Ventrikülü çaprazladıkları için paraglottik bölge tutulumu mevcuttur (14). Ayrıca tiroid kartilaj alasıyla lateraldeki ve hipofarenks ile medialdeki yakın komşuluk, yayılım oranlarını artırmaktadır (14).

2)Servikal Metastaz:

Servikal lenf nodlarında metastaz varlığı, prognozu etkileyen en önemli faktörlerden birisidir (18). Müracaat anında servikal nod pozitifliği sağ kalım 1/3 oranında etkilemektedir (48). Servikal metastaz, tümörün lokalizasyonu, boyutu ve primer lezyonun hücresel diferansiyasyonuna bağlıdır (15). Suarez'in yaptığı bir çalışmada lenf nodu cevap paternlerinin ilerki prognozun tespitinde yardımcı olabileceğini savunmaktadır (49). Pattern 1 (lenfosit hakimiyeti) ve pattern 2 (germinal merkez hakimiyeti)'nin Pattern 3 (nonstimüle nodlar)'e göre daha az nodal metastaz oranına sahip oldukları; iyi differansiye karsinomların ve stage 1-3 lezyonların pattern 1-2 nodlara sahip oldukları belirtilmiştir (49). Aynı şekilde pattern 1'den 3'e doğru sağ kalım giderek azalmaktadır (49).

a)Supraglottik tümörlerde servikal metastaz: İlk teşhis anında bu tip kanserlerde servikal metastaz oranı %35-43'dir T2 supraglottiklerde bu oran %43'tür (50). İpsilateral nodda hastalığın mevcudiyetinden 2 yıl içerisinde %40-50 arasında kontralateral tutulum ortaya çıkar (51). Marjinal ariepiglottik kıvrım tümörleri gibi davranırlar ve çoğunlukla juguler zincir ve paratrakeal bölgeye olmak üzere %60 sıklıkta metastaz yaparlar (52). Bilateral nod oluşu ihtimali tür kanserlerde %10 civarındadır (52).

b)Glottik tümörlerde servikal metastaz: Glottik bölgenin ufak çaplı kanserlerinde servikal metastaz insidansı yok gibidir (15). T1 glottik tümörde metastaz ihtimali %0,5-3 kadardır (15). Glottik tümörlerde tümör büyüdükçe lokal metastaz ihtimali artar (15). Tümör 2 cm'nin altında ise metastaz oranı %15 civarındadır (15). 2 cm'yi geçince bu oran %40'ı aşabilir (15). Transglottik bir karsinomun %50 lokal metastaz oranı mevcuttur (15). Aritenoide doğru yayımlı glottik tümörlerin metastaz oranı düşük olmakla birlikte aritenoid salim olanlara oranla %4 daha fazla riski vardır (15). Anterior komissür tümörlerinde %8'lik bir metastaz oranı mevcuttur (15). 2 cm'den fazla subglottik yayımlı tümörlerde metastaz oranı %30-40 kadardır (15). Yalnız bunlar paratrakeal nodlara, Delphian noduna, internal juguler ven boyunca üst derin zincirine ve kontralateralde alt boyuna metastaz yaptıklarından tespiti oldukça güçtür (15). Vokal kord fiksasyonu olan tümörde servikal metastaz oranı %14-30 kadardır (51). Kord fiksasyonu ve subglottik yayımlı T3 lezyonlarda %5 delphian nodu metastazı ihtimali olup, %40 civarında tiroid gland

ve üst trakea özofageal nodlarda tutulum meydana gelebilir (51).

c)Subglottik tümörlerde servikal metastaz:Primer subglottik yada 5 cm'den fazla inferior yayımlı glottik tümörlerin servikal metastaz insidansı yaklaşık %25'tir. Ancak son dönemlerde paratrakeal nod metastazı oranı %60 olarak rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada primer subglottiklerde 5/8, subglottik yayımlı glottik tümörlerde 10/17 oranında servikal metastazlardan bahsedilmiştir (15).

d)Transglottik tümörlerde servikal metastaz: Bu grupta %20'si gizli olmak üzere %30-50 civarı boyun metastazı mevcuttur. Mc Gavran %31 (44), Bauer (53), ise %38'lik oranlar bildirilmiştir. Eğer lezyon yalnızca kord ve bandı tutmuş ise bu oran %10 kadardır. Epiglot, kord ve band tutulursa %25' okült pozitif olmak üzere %50 metastaz insidansı mevcuttur (14).

3)Hücresel Faktörler:

Birçok araştırma ile larenks kanserlerinde hücresel diferansiyasyon ile biyolojik davranış ve prognoz arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. 95 larenks kanserli hastada Mc Gavran diferansiyasyon derecesi ile metastatik yayılım arasında zıt ilişki kurmuştur.İyi diferansiye tümörde servikal metastaz %11, orta diferansiye grupta %22 ve az diferansiye tümörde %49 olarak bulmuştur (3).

Tümör diferansiyasyonundaki histolojik evreleme klasik şekilde Broder'in keratinizasyon derecesi üzerine kurulu sistemi ile yapılmakta ve sınırlı prognostik değer taşımaktadır. Hücre popülasyonunun multifaktoriyel analizi (yapı, diferansiyasyon, nükleer polimorfizm, mitoz) ve tümör-konak ilişkisi (invazyon türü, invazyon evresi, vasküler invazyon, hücresel cevap), daha umut vericidir (3).

Jacobson 230 glottik kanserli hastanın analizinde 5 yıllık sağ kalım ve nüks durumunun TNM klasifikasyonuna göre histolojik evreleme sistemi ile daha başarılı şekilde tahmin edildiği bildirilmiştir (54). Koshima, larenks kanserinde metastaz insidansının, konağın immun cevabını gösteren lenfosit infiltrasyonundan bağımsız olduğunu öne sürmektedir (55). Hiranandani, servikal lenf nodunda retiküler hiperplazi varlığının iyi bir prognostik işaret olduğunu belirtmiştir (56). Berlinger ve Pohris lenfositik stimülasyon varlığını 5 yıllık sağkalım oranlarını iyi yönde etkilediğini ve lenfosit düşüklüğü olan hastaların sonuçta tümöre yenik düştüklerini tespit etmişlerdir (57).(58). Bunun yanında Gilmore ise, yaptığı çift kör retrospektif çalışma sonucunda lenf nodu morfolojisi ile sağkalım yada metastaz

arasında herhangi bir paralellik saptayamamıştır (59). Tedavi görmemiş 264 adet baş-boyun kanserli hastada natural killer (NK) aktivitesinde eksiklik bir çalışmada gösterilmiştir (60).

Bir başka araştırmada larenks kanserli hastada T4/T8 oranı tümörün evresiyle paralellik gösterip progresif yükseldiği görülmüştür (61). Hastalısız sağkalım oranlarındaki düşüş, yüksek T4/T8 oranına ve T:8 ile T:11 hücre miktar yüzdelere azalmaya eşlik etmektedir. T8 hücre yüzdesi prognostik önemini tümör evresi T ve N sınıfları ve tümör lokalizasyonu gibi diğer parametrelere göre düzeltme yapıldığı şartlarda bile sürdürmektedir (61). Böylece erken hastalık evresindeki kişilerde ilerki kötü prognozu bu immün değişiklikle tespit etmek olanaklı hal almıştır (61). Ayrıca son zamanlarda geliştirilen prognostik belirteçler P₅₃ ekspresyonu (62) onkojen tanımlanması (63) ve anjiogenez derecesidir. (64).

LARENKS KANSERİNDE TANI YÖNTEMLERİ:

1)Klasik:

Muayene esasına göre larenks kanserini teşhis etmeye çalışılmaktadır:
Semptomlar: Ses değişikliği, larenks kanserlerinde başlıca semptomlardan birisidir. Glottik tümörlerde kord vokal mukozasının veya aritenoid kasının tutulumuna bağlı ses kısıklığı olabileceği gibi, supraglottik tümörlerde mekanik etkiye bağlı boğuk bir ses oluşabilir (15).

Dispne ve stridor daha geç oluşan hava yolu obstrüksiyonuna bağlı bir semptomdur. Supraglottik tümörlerde X. kafa çiftine bağlı kulaklarda, yansıyan ağrı hissedilebilir (15). Ayrıca hemoptizi, kilo kaybı, halitozis ve boyunda şişlik görülebilecek diğer semptomlardır (15).

Fizik Muayene:

İndirek larengoskopi: Alın aynası, ışık kaynağı ve larenks aynası ile larenkse ait lezyonlar görülmeye çalışılır. En basit yöntemlerden birisidir.

Hopkins Larenks Teleskopu: Rijid, 90 derece açılı, görüntüyü 4 defa büyütürken taşıyan optik cihazla larenksin incelenmesi.

Fiberoptik Rinolarengoskop: Koordinasyonu bozuk hastalarda iyi bir şekilde larenksi görmek için kullanılabilir. Pahalı bir cihazdır.

I

Direk Larengoskopi: Rijid sistem endoskop ile larenksin incelenmesi. Bu işlem sırasında gerekli ise biopsi yapılabilir. Genel veya lokal anestezi ile yapılır.

2)Biyopsi:

Direk larengoskopi ile alınan parçanın histopatolojik incelenmesidir. Kesin tanı için yapılması gereklidir (15).

3)Radyoloji:

Radyoloji daha çok tümörün yayılımının incelenmesi için kullanılan bir yöntemdir. Laminografi, Larenks xerografisi, sıvı propylidore (dionosil) kullanılarak yapılan larengografi, ilk başlarda kullanılan görüntüleme yöntemi isede bugün yerini CT ve MR'a bırakmıştır. CT ve MR ile larengeal kitleleri daha ayrıntılı değerlendirebilmekteyiz (15).

Bazı araştırmalar baş-boyun kanserli hastalarda tümör görüntülemesi için Thallium-klorid ve Tcnetium-99m(v) dimercaptosuccinic asit kullandılar. Yine aynı amaçla tümör antijenine karşı gelişen antikörlerin radyasyonla işaretlenerek görüntüleme çalışmaları yapıldı (15).

Bilgisayarlı Tomografi (CT): Rutin olarak kullanılmaktan çok klinik muayeneye ve endoskopik incelemeye yardımcı olmak için kullanılmaktadır. Karsinomun submukozal yayılımını ve kıkırdak harabiyetini ayrıntılı gösterir. Larengoskopi ile ulaşılması mümkün olmayan bölgelerde tanıya yardımcı olmaktadır. Tümör dokusu CT'de artmış yumuşak doku yoğunluğu olarak ve larenksin normal simetrik yapısının bozulması olarak tanınır. Ancak hiçbir zaman patolojiyi göstermez. Ön komissüre ulaşmış tümörler tiroid kıkırdağa, preepiglottik bölgeye, karşı korda ve subglottik bölgeye yayılma gösterebilmektedirler. Subglottik yayılmalarda seviyenin kordlarla ilişkisini göstermek CT ile mümkündür. Larenks karsinomlarının yayılmasında en önemli yollardan biri paralarengeal bölgedir. Bu bölge, CT de tiroid kıkırdağın yanında ince, yağ yoğunluğunda (sıfır yoğunluk) görülür. Supraglottik tümörlerde preepiglottik bölge yayılımını klinik olarak göstermek mümkün değildir. CT ile preepiglottik bölge ve paralarengeal bölgeleri görüntüleme oldukça güvenlidir (65).

Manyetik rezonans (MR): Diğer baş-boyun radyolojik tetkiklerinde olduğu

gibi, MR'dan beklenen, esas olarak tümörün ve hastalığın yayılımını göstermektir. Larenksin konservatif cerrahisi için tümör sınırları çok iyi bilinmelidir. Boyunda gizli metastazlar MR ile daha rahat tanınabilmektedir. MR larenks için şu amaçlarla kullanılmaktadır.

1)Ön ve arka komissür incelemesinde

2)Supraglottik yayılmanın araştırılmasında (preepiglottik bölge, paralarengeal bölge, piriform sinüsler, vallecula)

3)İnfraglottik yayılımın araştırılmasında

4)Boyun yumuşak doku, dil kökü, postkrikoid bölge gibi larenks dışına yayılma düşünüldüğünde

5)Servikal adenopatileri göstermede

6)Kıkırdak tutulumunu görüntülemeye

7)Karotis arter tutulumu düşünüldüğünde

Ancak MR'da da CT'de olduğu gibi kemik ve kıkırdak tutulumu yanıltıcı olabilir. Bu, larenks kıkırdaklarındaki düzensiz kireçlenme odaklarından kaynaklanmaktadır (65).

Ultrasonografi: Baş-boyun cerrahisinde ultrasonografinin kullanılması artmaktadır.

B-mod sonografinin en büyük avantajı radikal cerrahi veya radyoterapi uygulanmış sert nedbeleşmiş boyunlarda tümör incelemesi yapılabilmesidir. Ayrıca B-mod sonografi baş-boyun kanserli hastaların takip döneminde, erken safhada tümör nüksü veya kalan tümörün tespitinde kullanılan önemli bir yöntemdir (15).

4)Seroloji:

Baş-boyun kanserlerinin tümör belirleyicileri araştırılmaktadır. Serumdaki tümör belirleyiciler ile yapılan bir çalışmada tedavinin izlenmesi kadar kanserin erken tanısında gündeme getirildi. Primer tümörlü hastalar (n=110) 'Union Internationale Contre le Cancer' (UICC)'ın 1978'deki sınıflamasına göre T1-2 ve T3-4 olacak şekilde iki gruba ayrıldı, ve bunlar bilinen nüksü olan diğer gruba (n=105) beraber değerlendirmeye alındı. B2-mikroglobulin, immunglobulin E

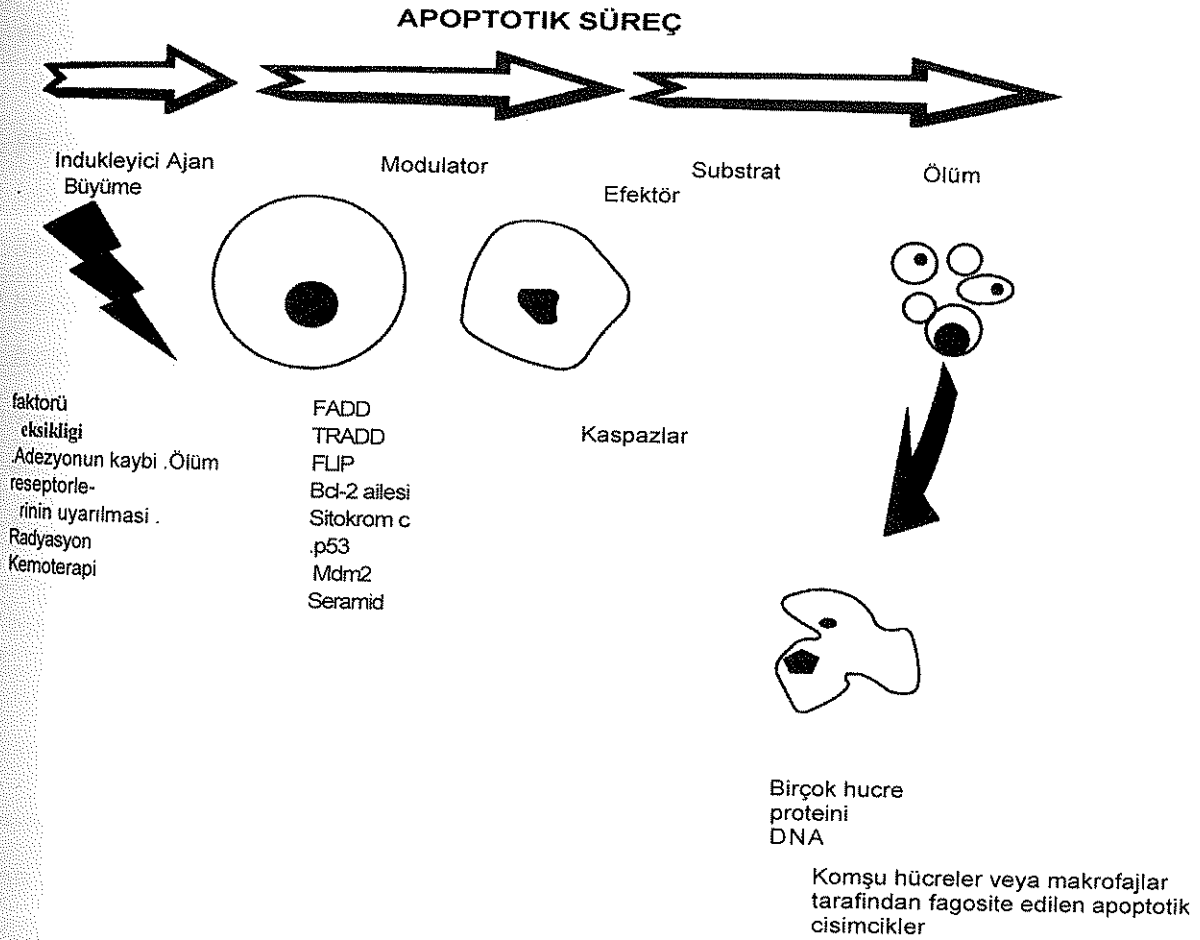
(IgE), ferritin, N actyl neurominic asit (sialic asit, NANA) ve phosphoexose-isomerase (PHI) ölçümleri yapıldı. Neticede özellikle Ig E, NANA ve ferritinin ileri tetkikinin yapılabileceği ortaya çıktı. Bu biyolojik serum belirleyicilerin ancak tekrarlayan çalışmalarla kanser tedavisinde yeri olabilir (15).

Apoptozis:

Apoptozis klasik hücre ölüm şekli olarak bilinen nekrozisden birçok özelliği açısından oldukça farklı olan bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Biyolojik bilimler literatüründe apoptozis terimi, ilk defa İskoçyalı araştırmacılar olan Kerr, Wyllie ve Currie (67) tarafından 1972 yılında kullanılmış ve canlı dokulardaki hücre azalmalarından sorumlu olan, yapısal olarak özgün bir hücre ölüm tipi olarak tanımlanmıştır. Apoptozis veya, daha genel anlamda söylemek gerekirse, hücre ölümü uzun süre araştırmacıların çok ilgilenmedikleri bir alan olarak kalmıştır. Fakat apoptozisin gelişim biyolojisinde, normal doku "turnover"ında ve immün sistem hücrelerinin sitotoksik fonksiyonları gibi bazı önemli fizyolojik süreçlerdeki rolü ortaya çıktıkça önemi de hızla artmıştır. Üstelik, oto immün bozuklukların, AIDS'in, Alzheimer hastalığının da dahil olduğu bazı majör nörode-jeneratif bozuklukların ve hatta malinitelerin dahil olduğu daha birçok patolojik durumlarda da rol aldığı anlaşılmıştır. Bu yüzden, son yıllarda yayınlanmış çalışma sayısı açısından bakıldığında, bir şekilde apoptozisle ilgili çalışmaların pik yapmış olduğu görülür.

Apoptozis aynı zamanda programlanmış hücre ölümü, fizyolojik hücre ölümü veya hücre intiharı olarak da bilinir. Her hücre doğar, belli bir süre (hücre tipine göre günlerden yıllara kadar değişen bir süre) yaşar ve sonra ölür. Bu durum fizyolojik olarak her saniye yaklaşık bir milyon hücremizin ölmesiyle bir ömür boyu sürer. Buradaki ölüm mekanizması apoptozistir. Apoptozisi programlanmış hücre ölümü olarak ifade etmek üzerinde tartışılan bir konu olmasına rağmen sıkça kullanılan bir yaklaşımdır. Apoptozisi anlamak için nekrozisle karşılaştırılarak öğrenilmesi faydalı olacaktır. Bunun için nekrozisle apoptozis karşılaştırılmıştır. Nekrozis fizyolojik bir ölüm şekli olmamasına rağmen apoptozis hem fizyolojik hem de patolojik şartlar altında meydana gelebilir. Diğer bir ifadeyle apoptozis hem sağlıkta hem de hastalıkta karşımıza çıkmaktadır. Apoptozis normal hücre "turnover"ında rol alan bir hücre ölüm şekli olduğundan lenfositlerin timusdaki klonal seleksiyonunda ve inflamatuvar reaksiyon sonrasında ortamdan uzaklaştırılmasında, embriyonik gelişim esnasında, deride keratinositlerin yüzeye doğru göç edip epidermisin en üstteki tabakası olan stratum

korneum'u oluşturmalarında, barsak kriptlerindeki epitel hücrelerinin "turno-ver"ında, menstruasyon esnasında uterus duvarında gerçekleşen epitel doku dökülmesinde ve hatta gözde lensin oluşumunda gözlenebilir. Her saniye yaklaşık bir milyon hücremiz apoptozisle bedenden uzaklaştırılmaktadır. Ve yapım (mitozis) ile yıkım (apoptozis) arasında kontrollü bir denge vardır. İşte bu dengenin apoptozisin lehine veya aleyhine bozulması birçok önemli hastalığın patogeneze katkıda bulunur. Örneğin, apoptozis bazı viral enfeksiyonlarda (Epstein-Barr, insan papillom virüsü) baskılanabildiğinden, kanser gelişimine katkıda bulunabilir. Ayrıca, oto-reaktif lenfositlerin ortamdaki apoptozisle uzaklaştırılmaması veya geç uzaklaştırılmaları sonucu oto immün bozukluklar oluşabilmektedir. Oysa, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda veya AIDS'de apoptozisin aktive olmasıyla artmış hücre kayıpları (nöron, T-lenfositler) gerçekleşmektedir.



şekil: 1

Apoptozis morfolojik olarak özgündür. Nekrozis-te hücre içine aşırı sıvı girmesi sonucu hücre şişerken "cell swelling", apoptotik hücre tam tersine küçülür "cell shrinkage". Nekroziste kromatin patterni hemen hemen normal hücredeki görüntüye benzerdir ama apoptotik hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır "chromatin aggregation" ve kondanse olur "chro-matin condensation". Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder ve hücre içinden dışına hücre içi materyallerinin çıkışı gerçekleşir. Oysa apoptotik hücre membranı intaktır ve üzerinde küçük cepecikler "membrane blebs" oluşur. Nekrotik hücre sonra lizise uğrar ama apoptotik totik hücre küçük cisimciklere "apoptotik bodies" parçalanır (Şekil 1). Apoptotik cisimcikler membranla kaplıdır değişen miktarlarda nükleus, veya diğer hücre içi yapılar içerirler. Nekroziste hücre içeriği dış ortama salıverildiğinden inflamasyon reaksiyonu uyarılır ama apoptoziste apoptotik hücre veya cisimcikler komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edildiklerinden inflamasyon oluşmaz. Apoptozisin en önemli özgün yönü ("hallmark") DNA'nın internukleozomal bölgelerden yaklaşık 180-200 baz çifti veya bunun katları boyutunda DNA parçaları oluşturacak şekilde parçalanmasıdır. Bu durum agaroz jel elektroforezinde merdiven görüntüsü imajının "ladder pattern" ortaya çıkmasına neden olur. Ama bu durum hücre tipine bağlı olarak değişebilir ya da sadece yaklaşık 50 kilo baz çifti (kbp) boyutunda bir DNA fragmentasyonu da görülebilir. DNA'yı parçalayan birCa/Mg-bağımlı endonükleazdır. Ayrıca, DNA-ase I ve II'de DNA parçalanmasından sorumludur. Hangi parçalayıcı enzimin rol alacağı hücre tipine ya da uyarının özelliğine göre değişebilir. Apoptotik hücrede görülen önemli değişikliklerden biri normalde plazma membranının iç yüzünde bulunan fosfatidilserin'in erken evrede membranın dış yüzüne doğru transloke olmasıdır "phosphatidylserine translocation". Bu mekanizma apoptotik hücrelerin komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmasını sağlar.

Apoptozisin modölatör (medyatör) leri:

Apoptozis çok sayıda ve çeşitte medyatör tarafından düzenlenir. Bunlar arasında, bazı iyonlar (kalsiyum), moleküller (seramid), genler (c-myc), proteinler (p53) ve hatta organeller (mitokondri) bulunmaktadır. Bazı medyatörler hücre tipine özgüdür, bazıları da apoptotik stimulusun çeşidine göre farklılık gösterebilirler. Apoptotik süreç boyunca hücre içine sürekli kalsiyum girişi olur. Kalsiyum iyonları endonükleaz aktivasyonunda, doku transglutaminaz aktivasyonunda, gen regülasyonunda, proteazların aktivasyonunda ve hücre iskeleti organizasyonunda rol

alabilirler. Fakat hücreye kalsiyum girişi apoptozisin gerçekleşmesi için esansiyel değildir.

Bcl-2 ailesi, üyelerinin bir kısmının apoptozisi indüklediği (Bax, Bad, Bid, Bcl-Xs), bir kısmının ise inhibe ettiği (Bcl-2, Bcl-XL) geniş bir ailedir. Bu ailenin üyeleri kendi aralarında homo veya hetero-dimerler oluştururlar. Hücrenin yaşayabilirlik durumu ("survival") bu ailenin pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyelerinin rölâtif oranına bağlıdır. Bu hetero dimerlerden biri olan Bcl-2/Bax (ikisinin oranı) bazı hematolojik malinitelerde prognostik markır olarak görülmektedir. Çünkü oranın artması ya da azalması apoptozisin inhibisyonu veya aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu da prognozu belirleyici bir değer taşıyabilir. Bcl-2 geni ilk olarak insan B hücreli foliküler lenfomada tanımlanmıştır. Bu lenfoma tipinde, Bcl-2 normalden uzun yaşam sürelerine neden olur. Böylece malinite oluşumuna zemin hazırlamaktadır.

Bcl-2 özellikle mitokondri dışı membranında bulunmakta ve iyon transportunu düzenlemektedir. Bax sitozolde bulunur ve apoptotik uyarı alınması halinde mitokondri membranına bağlanır, burada küçük delikçikler "pore" oluşumunu indükler, böylece selektif iyon permeabilitesi kaybolur, Sonuçta sitokrom c ve apoptozis-indükleyici faktör olarak bilinen AIF'ün mitokondriden sitozole çıkmasını sağlar. Bcl-2'nin ayrıca mitokondri ile olan ilişkisinden dolayı antioksidan bir etkiye sahip olduğu ve böylece oksidan stresin neden olduğu apoptozisi baskılayabildiği bulunmuştur. Seramid, membrana bağlı asit sfingomyelinaz aktivasyonunun bir ürünüdür. Plazma membran hasarına karşı bir sinyal olduğu düşünülmektedir p53, hücrede bir şekilde (radyasyon, kemoterapi etkisiyle) DNA hasarı ("single or double-strand breaks", nükleotid eksikliği) oluştuğunda, eğer hasar onarılabilecek düzeyde ise hücre siklusunu G1 fazında durdurur ve hücreye DNA'sını tamir edebilmesi için zaman kazandırır. Eğer DNA hasarı tamir edilemeyecek kadar büyükse bu durumda p53 apoptozisi indükler. p53'ün apoptozisi indüklemesi Bax'ın ekspresyonunu artırması böylece Bcl-2/Bax oranını değiştirmesi yoluyla gerçekleşir. Bazı virüsler (insan papillom virüsü, Epstein-Barr virüsü, adenovirüs tip 12) ya p53'ü inaktive ederek ya da Bax'a bağlanarak apoptozisi bloke ederler, böylece bu hücrelerin enfekte ettikleri hücreler doğal hücre ölüm mekanizmasından kurtulduklarından virüsle indüklenen karsinogeneze bu yolla katkıda bulunurlar. p53 ayrıca bir transkripsiyon faktörü olan Mdm2 (murine double minute 2) tarafından da ya transkripsiyonu "down" regüle edilerek ya da kendisine bağlanılarak hem aktivitesi inhibe edilir hem de yıkımı hızlandırılır. Fakat, DNA'nın

hasarlanması halinde p53'ün fosforilasyonu artar ve buna bağlı olarak da Mdm2'den ayrılır, böylece yarılanma ömrü uzadığı için de aktivitesi artar. Sitokrom c mitokondri iç membranında bulunan elektron transport zincirinin bir proteindir. Son yıllarda anlaşılan önemiyle apoptozis sürecinde merkezi bir konuma oturmuştur. Bu yüzden de sitokrom c'nin mitokondriden sitoplazmaya saliverilmesi apoptozis yoluna girmiş bir hücrede irreversibl bir döneme girildiğini işaret eder. Sitokrom c, mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamış bir şekilde mitokondriden apoptozis-indükleyici faktör ("AIF, apoptosis-inducing factor") ile birlikte sitoplazmaya salınır. Sitokrom c sitoplazmik protein olan Apaf-1 ("apoptotic protease activating factor-1")'e bağlanır ve onu aktive eder, ardından ATP'nin de katılımıyla apoptozom adı verilen bir kompleks oluşur. Bu kompleks inaktif olan prokaspaz-9'un aktif kaspaz-9 haline dönüşmesini sağlar. Aktif kaspaz-9 ise efektör kas-pazlardan pro kaspaz 3'ü aktive eder, Aktif kas-paz 3, kaspazla-aktifleşen deoksiribonükleaz in-hibitörünü ("ICAD, inhibitor of caspase-activated deoxyribonuclease") inaktifleştirir, böylece ICAD'ün bağladığı kaspazla-aktifleşen deoksiribonükleaz ("CAD, caspase-activated deoxyribo-nuclease") serbestleşir ve bu da apoptozisin karakteristik bulgularından biri olan kromatin kondensasyonuna ve oligonükleozomal DNA frag-mentasyonuna neden olur. Buraya kadar ki mekanizma kaspaz-bağımlı apoptozisi gösterir, oysa kaspaz-bağımsız apoptozisin varlığı da bilinmektedir. Kaspaz-bağımsız apoptozis yine mitokondriden saliverilen bir faktör olan AIF'ün etkisiyle gerçekleştirilir. Fakat, AIF'ün etkilediği nükleazın ne olduğu henüz bilinmemektedir (68). Kaspaz ("caspase")'lar, zimojen (inaktif prekürsör) olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein yer aldığından sistein proteazlar olarak adlandırılan bir grup enzimlerdir. Şu ana kadar 14 tanesi tanımlanmıştır ve çoğu apoptoziste rol almaktadır. Kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek preteolitik bir kaskad (şelale tarzı reaksiyon dizisi)'a neden olurlar. Bazıları (Kaspaz 2, 8, 9, 10) başlatıcı kaspazlar olarak bilinirken bazıları da (3, 6, 7) efektör kaspazlar olarak bilinir. Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kas-pazlara naklederler. Efektör kaspazlar ise ilgili proteinleri (örneğin, hücre iskeleti proteinleri ak-tin veya fodrin, nükleer membran proteini lamin A, DNA tamirinde rol alan poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP)) parçalayarak apoptotik hücre morfolojisinin meydana gelmesine neden olurlar. İlk tanımlanan enzim ICE (interlökin 1-b dönüştürücü enzim)'dir ve pro kaspaz 1 olarak bilinir. Kaspaz kaskadı, sitokrom c'nin sitoplazmaya sa-liverilmesiyle pro kaspaz 9'un aktivasyonu yoluyla aktifleştirildiği gibi, kaspazlar da sitokrom c'nin saliverilmesine neden olabilirler. Bir

kaspaz inhibitörleri ailesi olan IAP ("inhibitors of apopto-sis")'leri kaspazları selektif olarak inhibe ederler, böylece apoptotik mekanizmayı durdururlar. Bu inhibitörler birçok malin hücreler tarafından aşırı eksprese edilmektedirler. IAP'leri ayrıca hücre siklusunu da etkileyerek apoptozisi durdurabilirler. Kaspazlardaki defektler oto immün hastalıklara, kansere ve bazı nörolojik bozuklukların oluşumuna katkıda bulunabilir (69). Hatta, kaspaz 8'in nöroblastomada tümör süpresörü olarak işlev gördüğü bulunmuştur (70). Granzim ("Granzyme") ler, patojenle enfekte edilmiş hücrelerin veya tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında etkin rol alırlar. Perforinler ve grenzimler normal olarak sitotoksik lenfositlerin (CTL) ve "natural killer (NK) celi" lerin sitoplazmik granüllerinde bulunurlar. CTL'lerinin hedef hücreye bağlanmasıyla perforinler salgılanır ve hedef hücrenin membranına bağlanarak membranda porlar meydana getirirler. Perforin porlar sitozolik kalsiyum düzeylerinin hızla artmasına yol açar. Beraberinde salgılanan ve bir serin proteaz olan granzimin de bu porlar aracılığıyla hücreye girmesiyle hücre içinde pro kaspaz 8'in aktivitesi, dolayısıyla kaspaz kaskadı başlatılır. Bu da enfekte hücreyi (veya kanser hücrelerini) apoptozise götürür.

Apoptozisin indüklenmesi:

Apoptozis klasik olarak, hücre ölüm reseptörleri olarak bilinen Fas (diğer isimleriyle APO-1, CD95) ve tümör nekroz faktör reseptörü-1 (TNFR-I)'in ilgili ligandları ile etkileşime girmesi (uyarılmalari) sonucu indüklenir. Bu hücre yüzey reseptörleri membranda bulunur ve TNFR ailesinin üyesidirler.

Fas lenfoid hücrelerde, hepatositlerde, bazı tümör hücrelerinde, akciğerlerde, hatta miyokard-da bulunurlar. İlgili ligandına Fas ligand (FasL) denir. FasL, tümör nekroz faktör (TNF) ailesinin bir üyesidir. FasL sitotoksik T lenfositlerinde ve "natural killer" hücrelerde bulunur. Fas ve TNFR-1, ligandlarıyla bağlandıklarında ölüm uyarısı almış olduklarından bir seri protein:protein interaksyonlarından geçerler. Öncelikle kendilerine doğal olarak bağlı bulunan ve ölüm bölgeleri ("death domain") adı verilen TRADD ("TNFR-1 associated death domain") ve FADD ("Fas associated death domain") ile interaksiyona girerler. Bu ölüm bölgeleri ise pro kaspaz 8'i aktif leşti rerek kaspazların kaskad tarzında aktivasyonlarını başlatırlar. Hücre içinde ayrıca bu ölüm bölgelerini inhibe eden proteinler de bulunmaktadır. Örneğin, kaspaz 8 (FLICE) FLIP ("FLICE-inhibitory pro-te-in")'i inhibe eder.

Apoptozis yukarıda da belirtildiği gibi genotoksik ajanların etkisiyle yaratılan ağır DNA

hasarına yanıt olarak p53'ün aktivasyonu ile başlatılabilir. Plazma membran hasarına bağlı olarak sfingomiyelinaz aktivitesine bağlı olarak seramid oluşumu da apoptozisi başlatabilir. Apoptozis ayrıca reaktif oksijen radikallerinin (oksidatif stres) hem mitokondri hem plazma membranı hem de genom üzerinde oluşturabileceği hasarlara bağlı olarak da başlatılabilir(71).

Hücre siklusu ile apoptozisin entegrasyonu:

Bu entegrasyonda anahtar faktör bir tümör supresör gen ürünü bir protein olan p53'dür. Normalde esas fonksiyonu, DNA bir şekilde (radyasyon veya bazı ilaçlar etkisiyle) hasarlandığı zaman, hücre siklusunu (proliferasyonu) durdurup hücrenin hasarlanmış DNA'sını tamir etmesi için ona zaman kazandırmasıdır. Bu yüzden gen koruyucusu "guardian of the genome" olarak da tanımlanır. p53 bilindiği gibi kanser hastalarında mutasyonu en sık görülen proteindir ve kanserlerin %50-55'inde mutanttır. p53 normal olarak bir CKI'ü olan p21'in sentezini artırarak proliferasyonu bloke eder. p21, siklin-CDK kompleksini bağlanarak inaktive eder. Böylece, bu kompleks pRb'yi fosforile edemeyeceğinden E2F ailesi de pRb'den ayrılamayacağı için siklus ilerletici işlevini yerine getiremez ve Sonuçta hücre siklusu durur . Hücre siklusunun durması hücreye zaman kazandırır ve hücre hasarlanmış DNA'sını tamir eder. Ama hasar tamir edilemeyecek kadar büyükse bu kez p53 hücreyi apoptozise götürür(72).

TÜMÖR OLUŞUMUNDA VE DEFANSINDA FAS ARACILIKLI APOPTOSİS

Programlanmış hücre ölümü embryogenesis, morfogenez, bağışıklık sistemi, hücre popülasyonunun düzenlenmesinde, bulaşıcı hastalıklarda savunma mekanizması olarak ve muhtemelen yaşlanmada merkezi bir rol oynamaktadır. Programlı hücre ölümü metazoda apoptozisin karakteristik özelliklerini sergiler(73,74). Apoptozise sebebiyet veren hücre içi yollar, hücre büyümesi ve çeşitlenmesinde var olanlar kadar karmaşıktır(75). Hücre büyümesini sinyaliz eden yollardaki hatalar gibi, apoptotik sinyal transdüksiyon yollarındaki hatalarda tümörleride içeren bir dizi hastalığa yol açarlar(76). Hücre büyüme ve programlanmış hücre ölümü arasındaki denge, doku homeostasisini idame ettirmektedir. Hücreler ya ölüm oranları normal düzeyde ama büyüme oranları yüksekse, ya da proliferasyon oranları normal ama ölüm oranları düşükse birikirler. Normalde ölmesi beklenen hücreler pro-apoptotik proteinlerin işlevsel olarak kaybıyla ya da anti-apoptotik proteinlerin kazanımıyla ayakta kalır birikir ve tümör oluşumlarına katkıda bulunabilirler. Kötü

hüyu dönüşüm ve tümör ilerlemesi bir dizi genetik değışimi içeren karmaşık süreçlerdir. Tümörlü hücre yüzeyindeki sunulan antijenler tümör hücrelerine karşı bir bağışıklık tepkisini harekete geçirirler(77). Genelde tümör hücreleri ortadan kalkarlar.Ama bazı durumlarda bağışıklık sisteminin denetiminden kurtulmak için tümör hücreleri karşı atak başlatırlar.Bu durumda tümör hücresi kendisinin direnç sahibi olduğu ölüm faktörlerini ortaya çıkarır ve böylelikle saldıran sitotoksik T-Lenfositleri yada doğal katil hücrelerde apoptosisi uyandırır(78,79).

APO-1 ve CD-95 olarak anılan FAS'ın esas fonksiyonu apoptosisi tetiklemesidir.Fas proteini, tip 1 membran protinlerinden tümör nekroz faktör (TNF) reseptör ailesine aittir.TNF resptörleri TNF-R1 ve TNF-R2,düşük afiniteli sinir büyüme faktörü (NGF) ve CD-40 bu ailenin en önemli üyeleridir.(80,81). TNF reseptör ailesinin çoğu üyesi immun sistemin düzenlenmesinde ve dengesinin sağlanmasında tanımlanmış rollere sahiptirler.Sistin zengini ekstrasellüler bir alan ile sınırlı,TNF reseptör ailesi üyelerinin dizi(sekans)homoloğu ligand reseptör bağlantısına aracılık eder.FAS ve TNF-R1 yaklaşık 70 aminoasitten oluşan apoptosis sinyali gerektirebilecek herhangi bir enzimatik faliyette bulunmayan ve bu yüzden "ölü alan" olarak adlandırılan (death domain) bir ortak intrasellüler alan paylaşırlar(82,83). TNF resaptör ailesine ait "ölü alan" (death domain) benzeri bir diziliş yakın zamanda en az 3 yeni proteinde;ki bunlar DR-3,(84,85,86,87,88), TRAIL reseptör(90).CAR1(90) de bulunmuştur.Gelişme esnasında gerçekleşen hücre ölümleriyle ilişkilendirilen *Drosophila melanogaster reaper* genin ürünüyle ciddi benzerlik arz etmesinin tanıklık ettiği gibi,ölü alan (death domain), metazoon evrim boyunca korunmuştur(81). Bir FAS trimerinin de aynı TNF -R1 için olduğu gibi, agonistik antikorların yada doğal ligand bağlanmasıyla apoptotik sinyal ilettiğine, ilişkin kanıt bulunmaktadır(91,92).FAS ligand TNF ailesine ait tip 2 membran proteindir. FAS ligand c DNA'nın kodladığı 40kDa tip 2 zar proteinin zar ötesi alan (transmembran domain)'ı bulunup lider dizilişi (leader sequence)(93)bulunmamaktadır ve dış alandaki diziliş benzerliği yüzünden FAS ligandı TNF ailesine aittir (94). FAS ligandın aynı zamanda zar ötesi alanında metelloproteinazlar tarafından ayrılmış aktif eriyebilir formunda bulunur (95,96). FAS bir çok dokudan çıkarken FAS ligand normal durumlarda aktive T-lenfositlerden veya ayrıcalıklı immun dokulardan salgılanırlar(97,98,78,79). Yapılan son araştırmalar FAS aracılıklı apoptosise varan intrasellüler yolların teşhisine odaklanmıştır.FAS'ın kendisinin enzimatik aktivitesi

bulunmamaktadır.Bu sebepten dolayı apoptotik sinyalin FAS bağlayıcı proteinler ve/veya FAS modifikasyonu yolu ile olması gerekir.Kendisini ve ötesini harekete geçiren karmaşık bir hiyerarşi oluşturan bir sistin proteaz ailesi olarak,kaspas ailesi proteinleri FAS ve TNF-R1'in ana ölüm yolunda bulunurlar(99,100,101,103). Kaspasların son ürünlerinin ayrılmasının hücrenin apoptotik değişimlerine yol açtığı düşünülür ki bu süreç yapısal proteinleri olduğu kadar enzimleride sinyal aktarımında kullanılır.Son zamanlarda bazı proteinlerin stimule FAS reseptörünün intrasellüler alanına bağlandığı teşhis edilmiştir.Bunların bir çoğu FAS'la kendi ölü alan(death domain) benzeri bölgeleri aracılığıyla ilişkilenebilmektedir (104,105,106,107,85). FAS ile doğrudan ilişkili bu proteinlerin ölüm makinesinin nihai kaspaslarına uyarlanması kaspas 8(eskiden FLICE/MACH olarak adlandırılan) ile olur ki bu kaspas kendi ölüm efektör alanı ile (DED) fas ilişkili protein'e bağlanır (108,109,110,111). Bağlanmadan sonra kaspas 8 ayrılır ve sistin proteaz faaliyetiyle bir heteotetramer oluşturur,sitozole karışan bu yapı diğer kaspasları da faaliyete geçirir(112).FAS ile ilişkili pek çok kinazlarda(tirozin ve serin/tirionin kinaz) tanımlanmıştır.FAS tarafından başlatılan ana ölüm yolunu hücre bağımlı bir şekilde module edebilirler(113).FAS aracılıklı apoptosis kaspas inhibitörleri tarafından engellenebilir (114,115,116,103). Bir anti-apoptotik protein olan Bcl-2 FAS aracılıklı apoptosisi, lenfositlerde değil ama hepatositlerde engeller (117,118).FAS sistemi B ve T lenfosit gelişimini ve işlevini module etmekte önemli rol oynar(119).En iyi anlaşılan işlevleri;

1-)Antijenle aktivasyondan sonra T-lenfositleri FAS'a ek olarak FAS ligand'ta salgırlar,buna müteakip çözünür FAS ligand faaliyetteki T-lenfositlerini kardeş hücreyi öldürme yada intihara sürüklenme yolu ile bağışıklık tepkisini azaltır(120,121,122,123).

2-)Aktive olmuş sitotoksik T-lenfositleri,bununla ilişkisiz olarak, FAS sensitif hedef hücrelerde apoptosise yol açar.FAS/FAS ligand sistemi perforin/granzymB sisteminden bağımsız olarak öldürür(124,125,126,127).

3-)FAS ligand salgılanması transplantlara faaliyetteki sitotoksik T-lenfositleri ve doğal katil hücreler tarafından sızılmasını ve onların yok edilmesini engelleyerek korur,ve böylelikle bağışıklık ayrıcalığına katkıda bulunur(128,129,130,131,132,78,79,92)

FAS LİGAND SALGILANMASI İLE TÜMÖRÜN KORUNMASI

FAS aracılıklı apoptosis'e karşı hassas dokuların yok olmasını önlemek için, FAS ligand , salgılanmasının sıkı şekilde kontrol edilmesi gerekir. Apoptosis reseptörü olan FAS'ın pek çok farklı dokuda niçin salgılandığı henüz açık olmamakla beraber, Fas deney faresinde karaciğer hiperplazisi gözleendiğinden , karaciğerdeki fas salgılanmasının yüksek seviyesi, yaralı hepatositlerin ortadan kaldırılmasında ve/veya sabit bir hücre sayısının idamesinde aktif olabilir diye düşünülmektedir(133,134). Agonistik monoklonal anti-FAS antikorların fareye enjeksiyonu karaciğerin iflası ile 3 saat içinde ölüme yol açtığından FAS aracılıklı apoptosis hepatositlerde işlevseldir(133). Aktive olmuş T-lenfositler tarafından üretilen FAS ligand ve TNF-alfa viral ve bakteriyel infeksiyonlardan sonra hepatositlerde apoptosisi indüklemeye yolu ile hepatit gelişimine katkıda bulunabilir(135,136). Her nasılsa FAS ligandın intraperitoneal enjeksiyonu implante olmuş FAS salgılayan lenfoma hücrelerini karaciğere zarar vermeden yok ederler(137). Karaciğerde FAS salgılaması azaldığında yada yok olduğunda hali hazırda sebebi bilinmeyen bir şekilde , ortadan kalkan karaciğer hücreleri ayakta kalırlar(138). Ayakta kalan bu hücreler daha ileri mutasyonlar için, zaman kazanırlar ve bunlardan bazıları hücre büyümesine ve tümör antikorlarının salgılanmasına katkıda bulunabilirler. Tümör bu aşamada bile; Eyer tümör antijeni sitotoksik T lenfositler tarafından tanınırsa ortadan kaldırılabilir(77). FAS'ın yokluğunda, FAS-negatif hücrelerin sitotoksik T lenfositler tarafından öldürülmesi perforin/granzyme B yoluyla gerçekleşir(124,125). FAS'ın yitirilmesinin en ciddi sonuçları bu hücrelerin FAS aracılıklı apoptosis yoluyla kendilerini ortadan kaldırmadan FAS ligandı salgılayacak hale gelmeleriyle ortaya çıkar(şekil 1). FAS ligandlarıyla FAS salgıyan lenfositlere karşı saldırı düzenleyebilirler. Tümör antikor MHC-1 kompleksleriyle aktive olan T-lenfositleri ki bunların normalde tümör hücrelerini öldürmeleri beklenir, FAS aracılıklı apoptosis yoluyla ortadan kalkarlar(138,78). Böylelikle FAS ligand her zaman bağışıklık ayrıcalığına yol açmasa da, FAS ligand salgılayan tümör bağışıklık ayrıcalığına sahip bir alanmış gibi davranır.

Tümör hücreleri tarafından FAS ligand, salgılanması ve sızan(infiltre) FAS salgılayan aktive olmuş sitotoksik T-lenfositlerinin müteakip ölümü genel bir fenomeni andırmaktadır. Melanomlar dahil birkaç solid tümörde gerçekleşmektedir(139). Melanoma lezyonlarındaki tümör hücreleri, FAS salgılaması

olmaksızın,FAS ligandı çözelti(soluble) formuyla beraber bulundurabilir(139).

Astrositomalar ve çoğu astrositoma hücre dizileri,işlevsel FAS ligandı salgıladıklarından ve FAS ligandı beynin bağışıklık ayrıcalığının sorumlusu olabileceğinden,astrositomaların gelişimine katkıda bulunabilir(140,141).Parental astrositler FAS ve FAS ligandı açısından negatiftir.Parental hücrelerde FAS salgılanmasının ve FAS hassasiyetinin bulunamadığı vakalarda FAS ligandı salgılanmasının kazanımı önceden FAS kaybı olmaksızın gerçekleşir.

FAS ligandı yardımıyla bağışıklıktan sıyrılma primer ve metastatik kolon kanserindeki hücre dizilerinde belirlenmiştir.Kolon kanseri hücre dizileri aktive T-lenfositlerde apoptosis indükleyen işlevsel FAS ligand salgılar(142,143).SW620 kolon kanser hücre dizisi FAS salgılar ama FAS aracılıklı apoptosise dirençlidir(142).Bu sebeple FAS ligandın salgılanması bu hücrelere zararsızdır.

FAS ligand salgılanmasının tümörün ortadan kalkmasına yol açtığı,bu modelle çelişen sonuçlar da betimlenmiştir(144).FAS ligand c DNA yapıları ile transfekte edilen bazı FAS-negatif tümör hücre dizileri farelere enjekte edilmiştir.Transfekte olmamış kontrol tümör hücreleriyle karşılaştırıldıklarında,FAS ligandı salgılayan tümör hücreleri, nötrofil aracılıklı primer reddi müteakip sitotoksik T-lenfositleri yoluyla bağışıklığa yol açarlar.İşgalci nötrofillerin FAS pozitif oldukları kanıtlanmıştır (144), ve neden FAS ligandı salgılayan tümör hücreleri tarafından öldürülmedikleri anlaşılamamıştır.Benzer şekilde, FAS ligandı pankreatik beta hücrelerine genetik olarak transfer edildiğinde granulositik inflamatuvar tepki indükler (145,146).FAS ligandı salgılanmasının hangi kesin şartlar altında nötrofil istihdam ettiği ve onların sitotoksik mekanizmalarını harekete geçirdiği veya sitotoksik T-lenfositlerinde apoptosisi ne indüklediği hali hazırda bilinmemekte ve yoğun bir tartışma konusu olarak kalmaktadır (147,148,92). Bugüne kadar, transfekte myoblastlar haricinde(131),nötrofil aracılıklı imha sadece transfekte transplatlarda gözlenmiştir, FAS ligand pozitif tümörlerin doğal koşullarda yok olup olmadıkları henüz kesinlik kazanmamıştır.

Löseminin ve lenfomanın bazı türleri FAS ligand karıştırırlar ki buda potansiyel olarak tüm FAS duyarlı dokular için zararlıdır (149). FAS ligand pozitif hepatik metastatik tümörler FAS salgılayan hepatositlerde apoptosisi indükler (143).

Etkilenen hastalarda gözlenen sistemik doku zedelenmesi malign hücreler

tarafından üretilen çözelti(soluble) FAS ligandına bağlı olabilir.Bu yüzden,anti-FAS ligand antikorların yada matrix metelloproteinaz inhibitörlerinin ki,bunlar çözelti(soluble) FAS ligandı oluşumunu engeller,nötralize edilmesi böylesi yan etkilerin engellenmesinde yardımcı olabilir (149).Lösemi ve lenfomada FAS ligand salgılanmasının tümör hücrelerini sitotoksik lenfositlere karşı koruyup korumadığı, konusu henüz aydınlatılmamıştır.

Membrana bağlı FAS ligand tarafından saldıran lökositlerin öldürülmesi de, çözelti(soluble) FAS ligandı tarafından indüklenen sistemik doku zedelenmeside alternatif tutunma(splicing) yoluyla meydana gelen çözelti(soluble) FAS tarafından engellenebilir.Çözelti(soluble) FAS'ın formları birkaç hücre dizisinin supernatantlarında ve maligniteye sahip hastalarda teşhis edilmiştir(150,151). Çözelti(soluble) FAS tümör oluşumunda(tumorigenesis) FAS liganda bağlanmak yoluyla çifte rol oynar.FAS ligandını hareketsiz hale getirerek FAS-duyarlı tümör hücresi FAS aracılıklı apoptosiz geçirmek için tetiklenemez ve bu yolla çözelti FAS tümör ilerlemesine katkıda bulunur.Bu hastalarda tümör ilerlemesine rağmen sistemik doku zedelenmesi daha az olur.Öte yandan,çözelti FAS fas ligandı inaktive ettiğinde FAS-dirençli ve FAS ligand salgılayan tümör hücresi tümör antijenlerine karşı FAS-duyarlı sitotoksik T-lenfositlerinde apoptosizi indükleyemeyecektir.Eyer sitotoksik T-lenfositleri hala tümör hücrelerini öldürmeye muktedir ise,bu perforin/granzym B yoluyla olacaktır.Böylece FAS-ligand salgılayan tümörlerde çözelti(soluble) FAS bulunması yararlı bir rol oynayabilir.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda Aralık 2000 – Ekim 2003 tarihleri arasında Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniğinde larinks karsinomu nedeniyle opere edilerek Patoloji laboratuvarında incelenen olgular tarandı ve seçilen 60 olgu çalışma kapsamına alındı.

Olgulara ait tüm preparatlar yeniden gözden geçirilerek değerlendirildi. İmmunhistokimyasal inceleme için tümöre ait en uygun bloklar seçildi. Yaş, cinsiyet, tümör boyutları ve lokalizasyona ait bilgiler arşiv kayıtlarından elde edildi.

Her olguda aşağıdaki faktörlere bakıldı:

- a) **Tanı anındaki yaş:** < 60 yaş:1 ve > 60 yaş: 2 olmak üzere 2 grupta değerlendirildi.
- b) **Tümör boyutu:** Primer tümörün en büyük çapı, tümör boyutu olarak ölçüldü ve gruplara ayrıldı.
 - < 4 cm : 1
 - > 4 cm : 2
- c) **Histolojik grade:** Keratinizasyon derecesi, pearl formasyonu, tümör hücreleri arasındaki intersellüler köprülerin varlığı dikkate alınarak iyi, orta ve az diferansiye (Grade 1,2,3) olarak sınıflandırıldı.
- d) **Tümör lokalizasyonu:** Tümör, larinksteki yerleşim yerine göre gruplara ayrıldı.
 - Supraglottik : 1
 - Glottik : 2
 - Transglottik : 3
- e) **Doku cevabı:** Tümör çevresi lenfoplazmositer ve desmoplastik reaksiyon subjektif olarak zayıf: 1, orta: 2 ve şiddetli: 3 şeklinde değerlendirildi.
- f) **Lenf damarı invazyonu:** Yok:0, invazyon var: 1 olarak değerlendirildi.
- g) **Kan damarı invazyonu:** Yok:0, invazyon var: 1 olarak değerlendirildi.
- h) **Perinöral invazyon:** Yok:0, invazyon var: 1 olarak değerlendirildi.

- i) **Kıkırdak invazyonu** : Yok:0, invazyon var: 1 olarak değerlendirildi.
- j) **TNM sistemine göre**, primer tümör (T), lenf nodlarının durumu (N), uzak metastaz varlığı ya da yokluğu değerlendirildi. Evrelendirme yapıldı. Ayrıca;
T1 - T2: 1; T3 -T4: 2,
Lenf nodu metastazı yok: 0, lenf nodu metastazı var:1,
Evre1 – Evre 2: 1; Evre3 – Evre4: 2 olarak gruplandırıldı.
- k) **Sağkalım**: Çalışma kapsamına alınan 60 vakanın 46' sının takip sonuçları değerlendirildi. 14 hastaya ulaşamadı.

İMMÜNOHİSTOKİMYA

Tümörlerin 2-3 µm' lik parafin kesitleri, önceden Histogrip' le (Zymed) muamele edilmiş lamlara alınarak, bir gece etüvde 37°C' de bekletildi. Kesitler kesilende berraklaştırılıp, alkol içerisinde rehidrate edildi. Antijeni açığa çıkarmak için, kesitler 10mM sitratlı tampon (pH 6) içerisinde mikrodalga fırında 3x5 dakika ısıtıldı. Aynı tampon içerisinde 20 – 30 dakika oda ısısında soğumaya bırakıldı. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, kesitlere % 3' lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılıp 10 dakika beklendi. Daha sonra sırasıyla, protein blok solusyonu (TA-125-UB, Lab Vision Corp. Fremont, CA, USA, 10dak.) , primer antikor, sekonder antikor (TA-125-BN, Lab Vision Corp. Fremont, CA, USA, 10 dak) ve streptavidin-HRP ile işleminden geçirildi (TA-125-HR, Lab Vision Corp. Fremont, CA, USA,10dak.). Kromojen olarak aminoethyl carbazole (TA-125-HA, Lab Vision Corp. Fremont, CA, USA, 20 dak) kullanıldı. Her işleminden sonra kesitler PBS ile çalkalandı. Son olarak Mayer hematoksilen ile zıt boyama yapıp, kapatıldı.

İmmünohistokimyada şu antikorlar kullanıldı: **CD95 (FAS) Ab-3** (Klon 95 CO₃, Mouse monoklonal antibody Neomarkers, Fremont, CA, USA, 1/20 dilüsyon 120 dak), **Fas Ligand Ab-1** (Klon FSL01, Mouse monoklonal antibody, Neomarkers, Fremont, CA, USA, 1/15 dilüsyon 180 dak),
Negatif kontroller, primer antikor basamağının atlanması ile yapıldı. Pozitif kontroller; Fas için ince barsak mukozası ve lenf nodu kesitleri, FasL için prostat ve testis kesitleri kullanıldı.

BULGULAR:

tablo:1

Protokol	Yaş	Çap	Grade	Lokal	İltihabi yanıt	Desm. yanıt	Lenf d.	Kan d.	Perinöral inv.	kıkırdak inv.	T	N	Evre	Fas	FasL	Sağkalım ve takip süresi
8077	55	1	1	2	2	2	0	0	0	0	1	0	1	3	1	
8091	72	2,5	2	2	2	1	0	0	0	1	4	0	4	3	2	sağ 39 ay
1818	69	2,5	2	1	3	1	0	0	0	0	2	0	2	3	2	sağ 38 ay
2057	69	1	3	2	3	1	0	0	0	0	2	0	2	2	2	sağ 37 ay
3068	71	6	3	1	3	1	1	0	0	1	4	2	4	2	1	Ex 28 ay
3655	60	3	3	1	2	1	0	0	0	0	3	0	3	2	2	
3954	43	5	2	3	3	1	0	0	0	0	3	0	3	2	2	Sağ 34ay
4636	76	4	2	3	2	3	0	0	0	0	3	0	3	1	2	Ex 21 ay
4698	52	3	3	1	2	1	1	0	1	1	4	0	4	2	2	sağ 33 ay
4895	45	3	3	1	3	2	0	0	0	1	4	0	4	2	2	
5245	68	4,5	3	1	3	2	1	0	0	0	4	0	4	2	3	EX 17ay
5498	53	2,5	2	1	2	2	1	0	0	1	4	0	4	2	2	
5537	62	3	3	1	3	1	0	0	0	0	2	0	2	3	2	EX 23 ay
7547	51	9	2	1	1	1	1	0	0	0	4	2	4	1	2	EX 23 ay
995	58	3	1	2	1	2	0	0	0	1	4	0	4	2	3	sağ 25 ay
1137	52	3	3	3	2	2	1	1	1	1	4	1	4	2	2	sağ 25 ay
1589	65	2,5	2	2	3	2	0	0	0	0	2	0	2	3	3	sağ 24 ay
2730	60	6	2	1	2	2	0	0	0	0	3	0	3	3	3	
2772	52	3,5	3	1	2	2	1	0	0	0	3	1	3	3	3	sağ 23 ay
3966	49	6,2	2	1	2	3	0	0	0	0	3	0	3	1	2	sağ 22 ay
4775	63	4	2	3	3	2	1	0	1	1	4	1	4	2	3	sağ 21 ay
5345	65	3	2	3	2	2	0	0	0	0	3	0	3	3	4	
5361	35	4	3	1	1	2	1	1	1	0	3	3	4	2	2	Ex 15 ay
5524	62	5	3	3	1	1	1	0	1	1	4	1	4	2	2	
5789	62	4	3	3	2	1	1	0	0	0	3	0	3	2	2	
6964	50	3	3	3	2	3	1	0	1	1	4	2	4	3	3	Ex 15 ay
7022	48	3	2	1	3	2	1	0	0	0	2	2	4	2	2	sağ 16 ay
7983	73	4,5	3	2	2	2	1	1	1	0	3	2	4	2	2	sağ 15 ay
2	54	5	3	3	1	1	1	0	1	0	4	2	4	1	2	Ex 8 ay
173	41	3	3	1	2	1	0	0	0	0	2	1	3	3	3	sağ 14 ay
647	69	3,5	3	1	1	3	1	1	1	1	4	0	4	1	3	sağ 14 ay
1039	56	3	3	3	1	3	1	0	1	0	3	3	4	1	2	sağ 13 ay
1272	60	2,5	2	2	2	3	1	0	0	0	2	0	2	3	2	sağ 13 ay
1544	52	6	3	1	1	2	1	0	0	0	3	2	4	2	2	
1733	43	5	3	3	2	1	1	0	1	1	4	0	4	2	2	sağ 12 ay
1906	66	3	2	3	1	2	0	0	0	0	3	0	3	3	2	sağ 12 ay
2204	63	4,3	3	1	1	2	1	0	0	1	4	0	4	2	2	
3350	74	3	1	3	2	1	0	0	0	0	3	0	3	2	2	
3697	45	3,5	3	1	2	2	1	0	0	1	4	2	4	2	2	sağ 10 ay
4020	61	1	2	2	2	2	0	0	0	0	1	0	1	2	2	
4593	61	3,5	3	1	2	2	1	1	1	1	4	1	4	2	2	sağ 9 ay
4646	59	4	3	1	1	1	1	0	0	0	4	1	4	2	2	Ex 4 ay
4866	69	3,5	2	3	3	1	0	0	0	0	3	0	3	2	2	sağ 9 ay
5487	50	1	1	2	3	1	0	0	0	0	1	0	1	2	2	sağ 8 ay
5522	57	5	2	3	1	2	0	0	1	0	3	0	3	2	2	
5851	52	3,5	1	3	2	1	0	0	0	0	3	0	3	2	2	sağ 8 ay
6292	45	12	2	3	1	2	0	0	0	0	4	0	4	2	2	sağ 8 ay
7124	82	4	3	1	3	3	0	0	0	1	4	0	4	2	2	sağ 7 ay
7435	55	3,5	1	2	2	3	0	0	0	0	3	0	3	2	2	
7569	70	4	1	2	2	3	1	0	0	1	4	0	4	2	2	sağ 6 ay
7585	49	5	3	1	1	1	1	1	0	0	3	3	4	1	1	sağ 6 ay
7601	61	1	1	2	2	1	0	0	0	0	1	0	1	2	2	sağ 6 ay
7840	65	3,5	1	3	2	2	0	0	0	0	3	0	3	2	3	sağ 6 ay
8257	60	2	2	2	3	1	0	0	0	0	2	0	2	3	2	sağ 6 ay
8420	62	5	1	3	3	3	0	0	0	0	3	0	3	3	3	sağ 5 ay
9093	60	2,5	3	2	3	2	1	0	0	0	3	2	4	2	2	sağ 5 ay
9167	63	8	2	3	1	2	1	0	0	0	4	1	4	2	3	sağ 5 ay
9421	44	5	2	3	3	2	0	0	0	1	4	0	4	3	4	sağ 5 ay

9469	59	4	2	1	3	1	0	0	0	0	2	0	2	3	3	sağ 5 ay
9698	51	4,5	1	3	3	3	0	0	0	0	4	0	4	2	3	sağ 5 ay

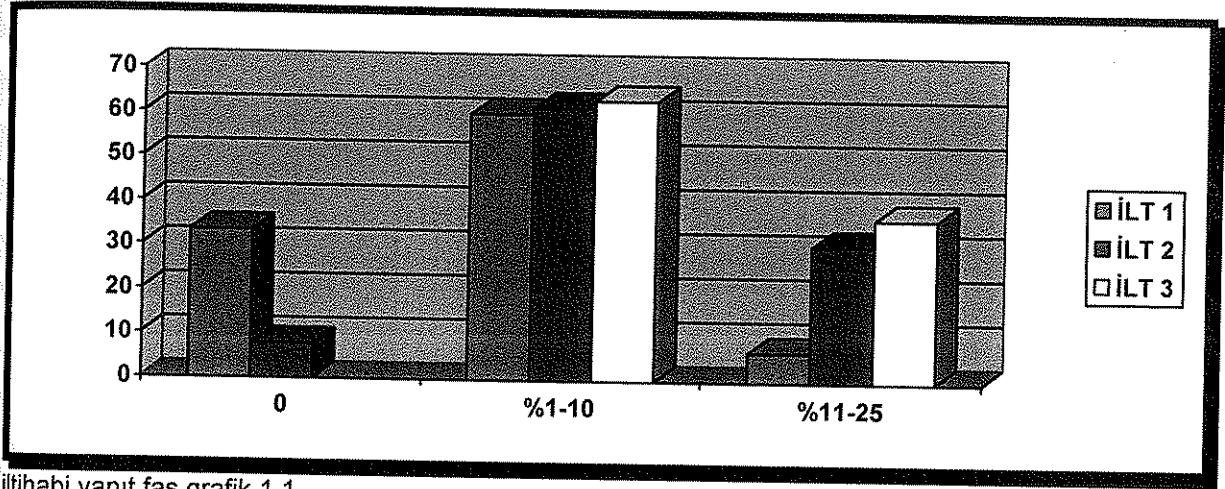
Çalışmamızda Aralık 2000 – Ekim 2003 tarihleri arasında Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniğinde larinks karsinomu nedeniyle opere edilerek Patoloji laboratuvarında incelenen olgular tarandı ve seçilen 60 olgu çalışma kapsamına alındı.

- Çalışma kapsamına alınan 60 hastanın 1' i kadın, diğerleri erkektir.
- Yaş: Olgular 35-82 yaşları arasında olup, ortalama yaş 58,3 Olguların 34' ü (% 56,7) 60 yaş ve altında olup, 26' sı (% 43,3) 60 yaşın üzerindedir(Tablo:1).
- Tümör çapı: 1-12 cm arasında değişmekte olup, ortalama çap 3,86cm Tümör çapı; 41 (% 68,3) olguda 4 cm' den küçük, 19 (% 31,7) olguda 4 cm' den büyüktür(Tablo:1)
- Histolojik grade: Tümörlerin 11' i (% 18,3) Grade I, 22' si (% 36,7) Grade II, 27' si (% 45) Grade III' tür(Tablo:1).
- Tümör lokalizasyonu: Tümör olguların 24' ünde (% 40) supraglottik, 14' ünde (% 23,3) glottik, 22' sinde (% 36,7) transglottik yerleşimlidir.
- Tümör çevresi lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu: 15 (% 25) olguda zayıf, 26 (% 43,3) olguda orta, 19 (% 31,7) olguda şiddetli olarak değerlendirildi(Tablo:1)
- Tümör çevresi desmoplastik reaksiyon: 23 (% 38,3) olguda zayıf, 26 (% 43,3) olguda orta, 11(% 18,3) olguda şiddetli olarak değerlendirildi(Tablo:1).
- Lenf damarı invazyonu: 28 (% 46,7) olguda mevcut olup, 32 (% 53,3) olguda mevcut değildir(Tablo:1).

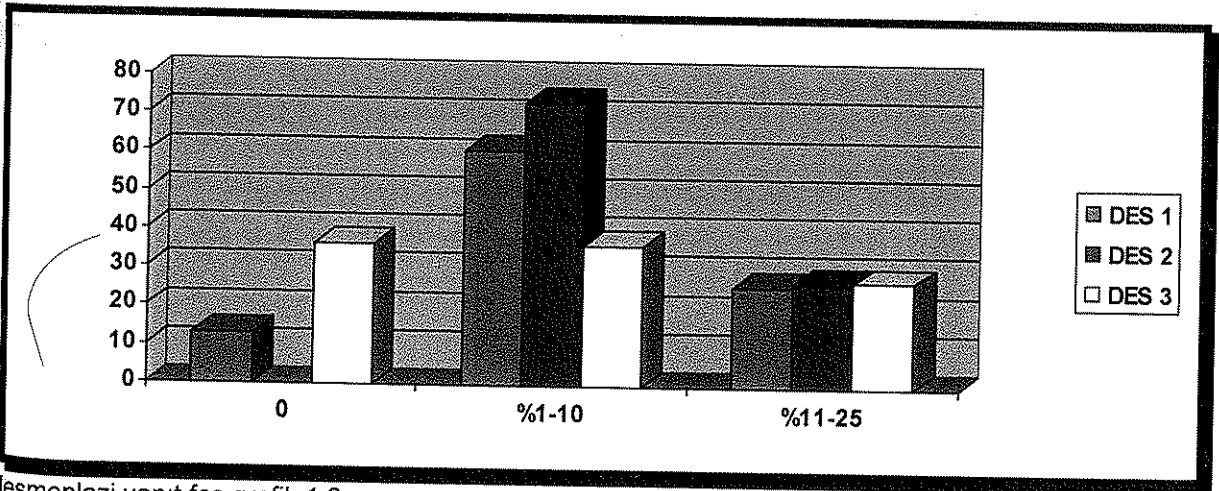
- Kan damarı invazyonu: 6 (% 10) olguda mevcut olup, 54 (% 90) olguda mevcut değildir(Tablo:1).
- Perinöral invazyon:13 (% 21,7) olguda mevcut olup, 47 (% 78,3) olguda mevcut değildir(Tablo:1)
- Kıkırdak invazyonu: 18 (% 30,0) olguda mevcut olup, 42 (% 70,0) olguda mevcut değildir(Tablo:1).
- A.J.C.C.'ye göre vakaların Primer tümör (T) kategorisi : 4 (% 6,7) olgu T1, 9 (% 15) olgu T2, 22 (% 36,7) olgu T3, 25 (% 41,6) olgu T4 kategorisinde bulundu(Tablo:1).
- Boyun diseksiyon materyalinin değerlendirilmesi ve lenf nodu durumu (N): 60 olgunun 54' üne (% 90) boyun diseksiyonu yapıldığı, 20 (% 37,0) olguda lenf nodu tutulumu olduğu tespit edildi. 8 olgu N1, 9 olgu N2, 3 olgu N3 olarak değerlendirildi(Tablo:1)
- Evre: Olguların 4' ü (% 6,7) evre 1, 7' si (% 11,7) evre 2, 17' si (% 28,3) evre 3, 32' si (% 53,3) evre 4 olarak değerlendirildi(Tablo:1)
- Fas : 7 (% 11,7) olguda boyanma izlenmezken, 37 (% 61,7) olguda % 1-10, 16 (% 26,7) olguda % 11-25 oranında boyanma izlenmiştir(Tablo:1).
- Fas ligand: 3 (% 5) olguda boyanma izlenmezken, 41 (% 68,3) olguda % 1-10, 14 (% 23,3) olguda % 11-25, 2 (% 3,3) olguda % 26-50 oranında boyanma izlenmiştir(Tablo:1).
- Sağkalım: Çalışma kapsamına alınan 60 hastanın 46'sının (% 76,6), 6 -39 aylık (ort 15,28ay) takip sonuçlarında, 9' unun ex olduğu, 37' sinin hastalıksız olarak yaşamlarına devam ettikleri saptandı(Tablo:1)

Fas: İmmünohistokimya ile pozitif reaksiyon intrasitoplazmik granüler boyanma şeklinde görüldü. Boyanma tümör hücrelerinde ve stromal lenfoplazmositer hücrelerde izlendi. 7 (%11,7) olguda boyanma izlenmezken, 37 (%61,7) olguda % 1-

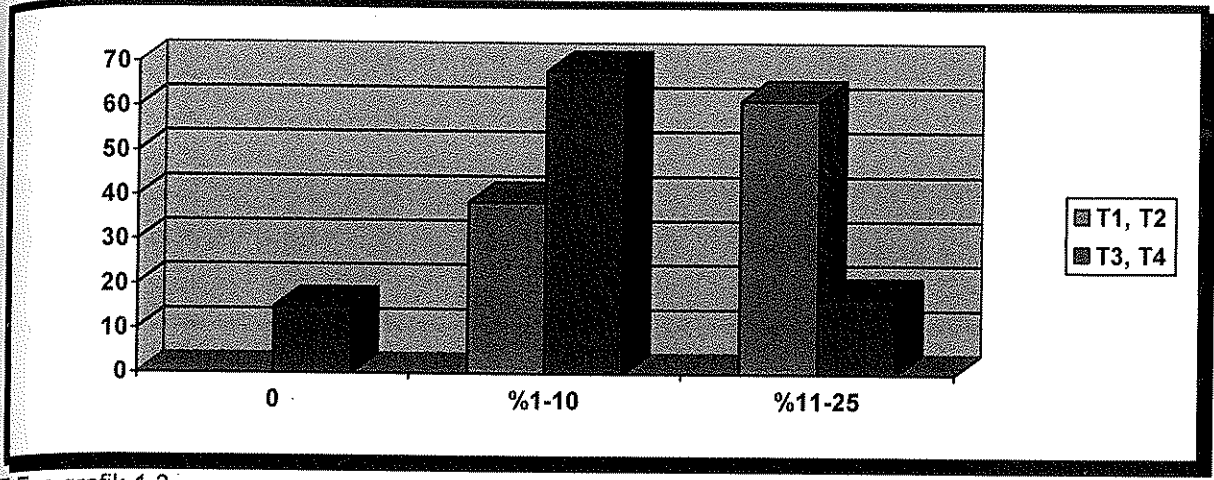
10, 16 (%26,7) olguda % 11-25 oranında boyanma izlendi. Fas ile iltihabi yanıt ($p=0,019$) arasında pozitif ilişki saptandı (grafik 1.1). Buna göre iltihabi yanıtın zayıf olduğu olgularda Fas ile boyanma zayıf (%1-10) izlenirken ya da hiç izlenmezken, iltihabi yanıt arttıkça Fas ile boyanma oranı artmaktadır. Ayrıca Fas ile desmoplazik yanıt ($p=0,033$) (grafik 1.2), T kategorisi ($p=0,004$), evre ($p=0,007$), lenf damarı invazyonu ($p=0,023$) (garfik 1.3,1.4,1.5) arasında ters ilişki saptandı. Buna göre desmoplazik yanıtın şiddetli olduğu ve lenf damarı invazyonu pozitif, T3-T4, evre 3-4 tümörlerde Fas ile zayıf boyanma izlenmekte ya da boyanma izlenmemektedir. Olgularda Fas ile yaş, çap, grade, lokalizasyon, kan damarı invazyonu, perinöral invazyon, kıkırdak invazyonu, lenf nodu tutulumu ve sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterilemedi.



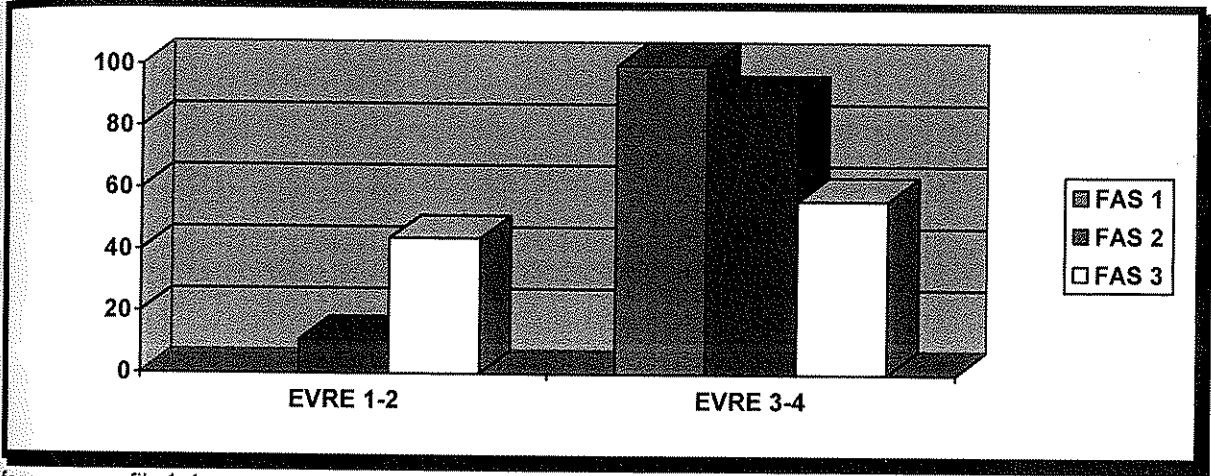
iltihabi yanıt,fas grafik 1.1



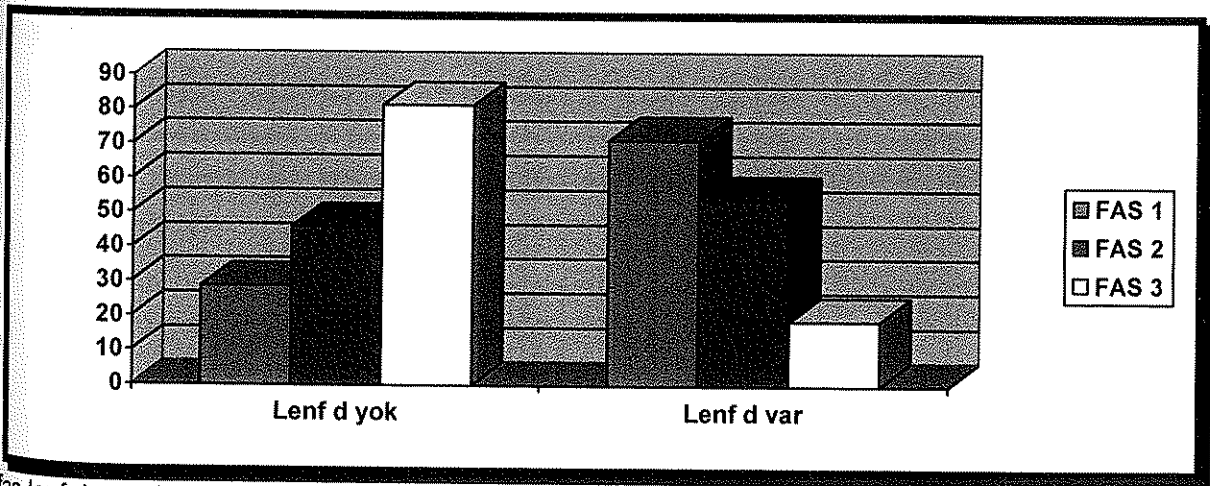
desmoplazi yanıt,fas grafik 1.2



T-Fas grafik 1.3



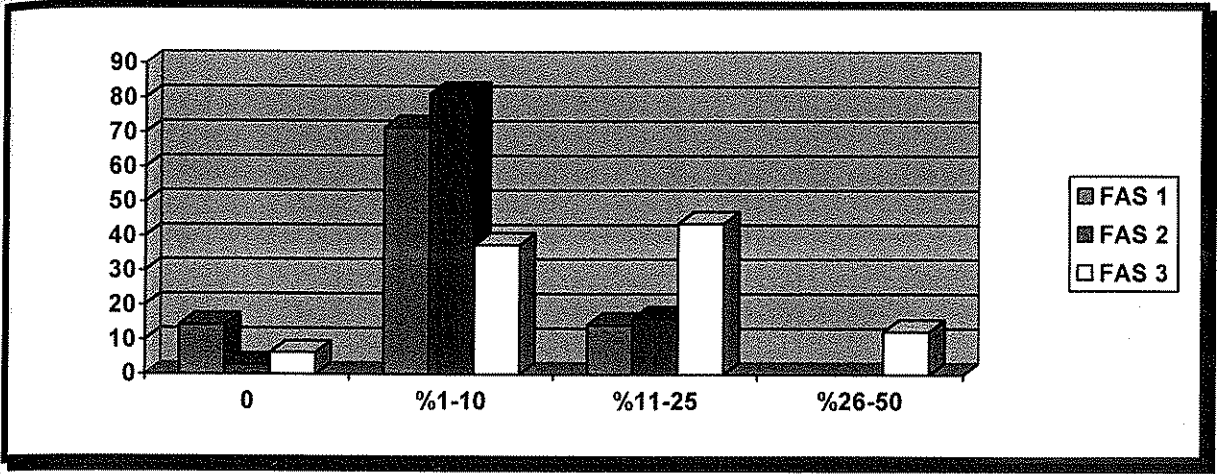
fas-evre grafik 1.4



fas-lenf damar invazyonu grafik1.5

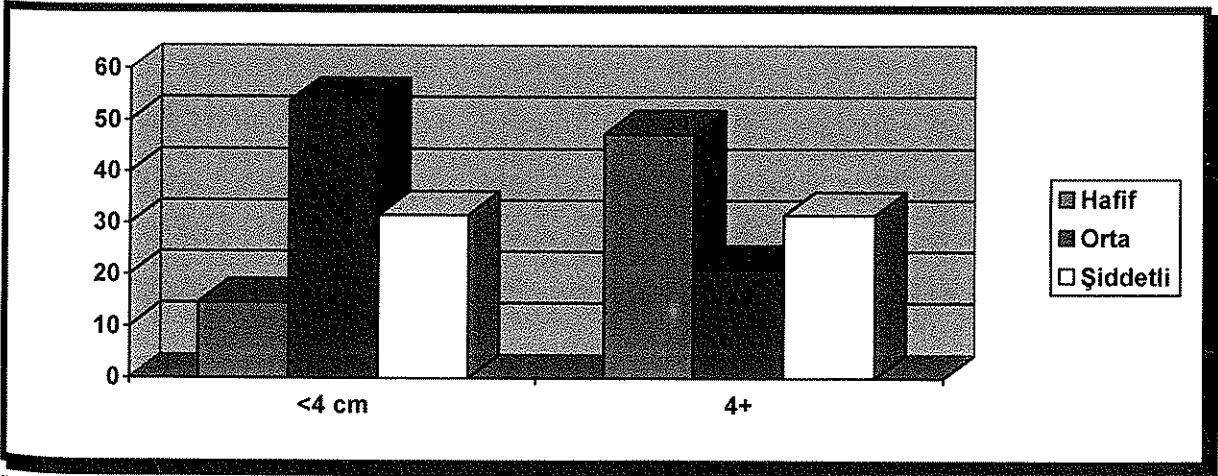
Fas Ligand (Fas L): İmmünohistokimya ile pozitif reaksiyon intrasitoplazmik granüler boyanma şeklinde görüldü. Boyanma tümör hücrelerinde ve stromal lenfoplazmositer

hücrelerde izlendi. 3 (%5) olguda boyanma izlenmezken, 41 (%68,3) olguda % 1-10, 14 (%23,3) olguda % 11-25, 2 (%3,3) olguda % 26-50 oranında boyanma izlendi. Olgularda FasL ile karşılaştırılan diğer parametreler arasında ilişki gösterilemedi **Fas ve FasL arasındaki ilişki:** Tümör hücrelerinde Fas ve FasL oranları arasında ilişki gösterilemedi (grafik 1.6).

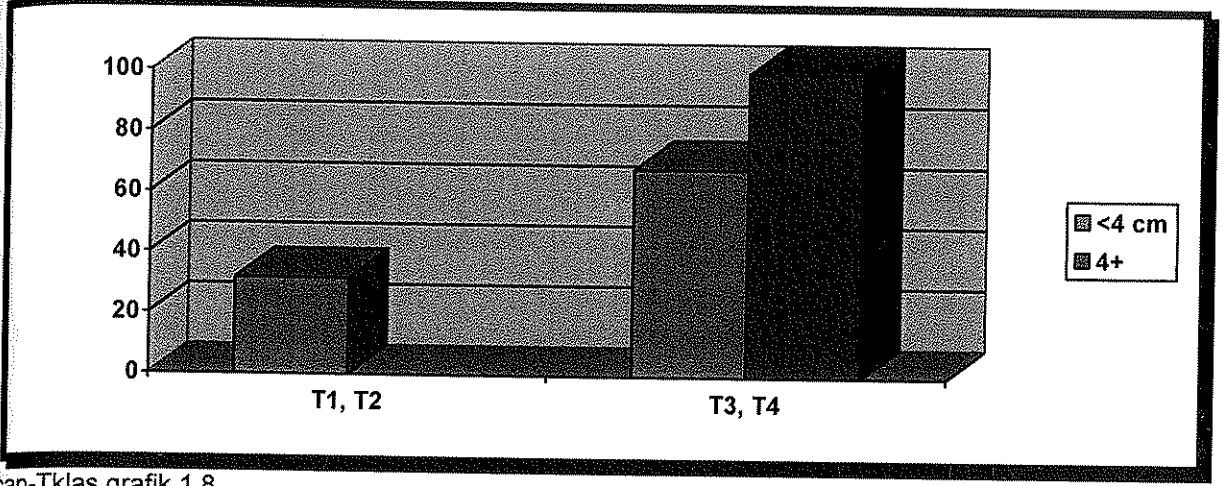


fas-fasL grafik 1.6

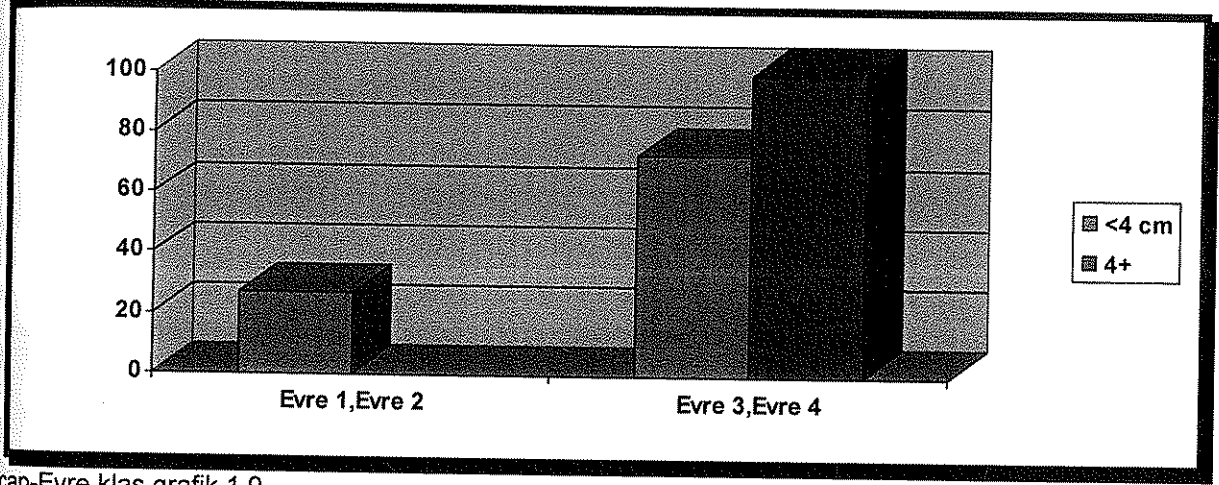
Diğer: Çalışmada kullandığımız parametrelerin kendi aralarındaki istatistiksel ilişkilerini de değerlendirdik. Yaş ile diğer parametreler arasında ilişki gösterilemedi. Tümör çapı; tümör çevresi lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu ($p=0,013$), primer tümör (T) ($p=0,005$) ve evre ($p=0,012$) (grafik 1.7,1.8,1.9) ile ilişkili bulundu. Buna göre çapı 4 cm'den büyük tümörlerde, iltihabi yanıtın 4 cm' den küçük tümörlere göre daha zayıf olduğu gözlenmektedir. Ayrıca T3-4 ve evre 3-4 tümörlerin tamamının tümör çapı 4cm'den büyüktür.



tümör çapı-iltihabi yanıt grafik 1.7

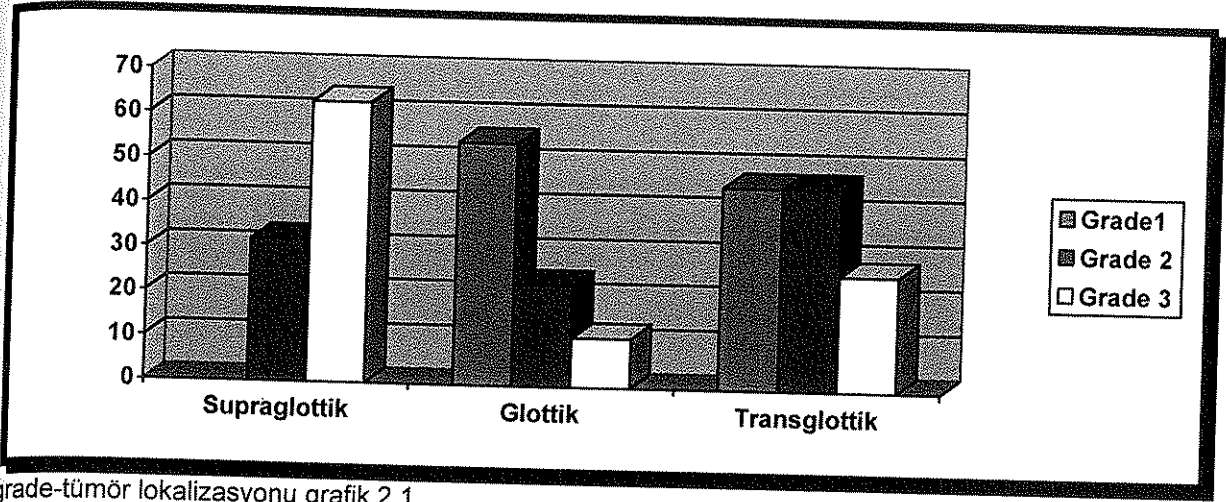


çap-Tklas grafik 1.8

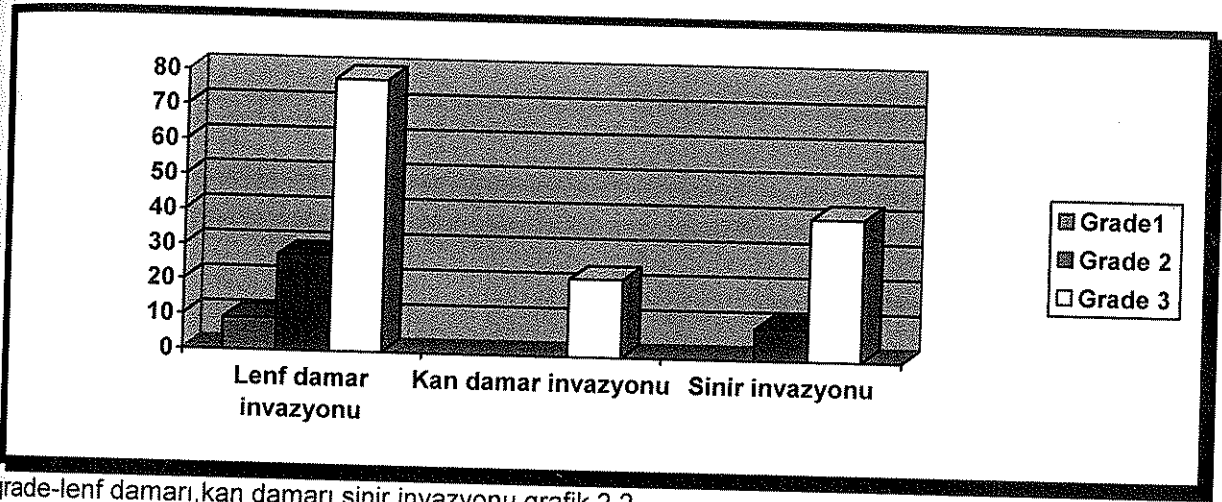


çap-Evre klas grafik 1.9

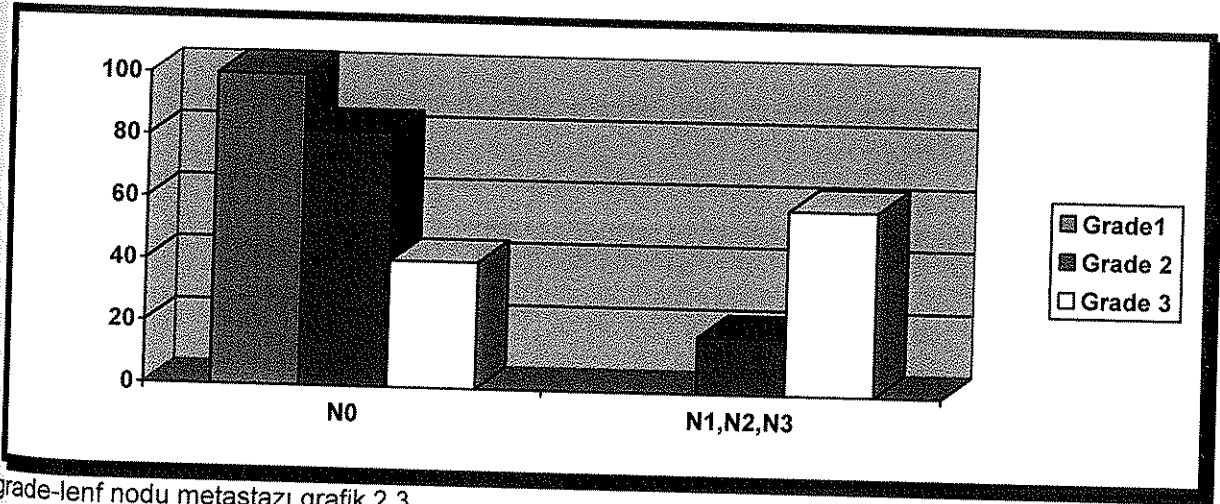
Tümör histolojik grade ile lokalizasyon ($p=0,003$) arasında ilişki saptandı (grafik 2.1) Glottik tümörler daha çok grade 1, supraglottik tümörler ise grade 3 olarak izlenmektedir. Ayrıca grade ile lenf damarı invazyonu ($p=0,000^*$), kan damarı invazyonu ($p=0,017$), perinöral invazyon ($p=0,004$) (grafik 2.2) ve lenf nodu metastazı ($p=0,000^*$) (grafik 2.3) arasında pozitif ilişki saptandı. Grade arttıkça lenf damarı, kan damarı, perinöral invazyon görülme oranı ve lenf nodu metastazı artmaktadır. Grade ile çap, iltihabi yanıt, desmoplastik yanıt ve evre arasında ilişki gösterilemedi.



grade-tümör lokalizasyonu grafik 2.1



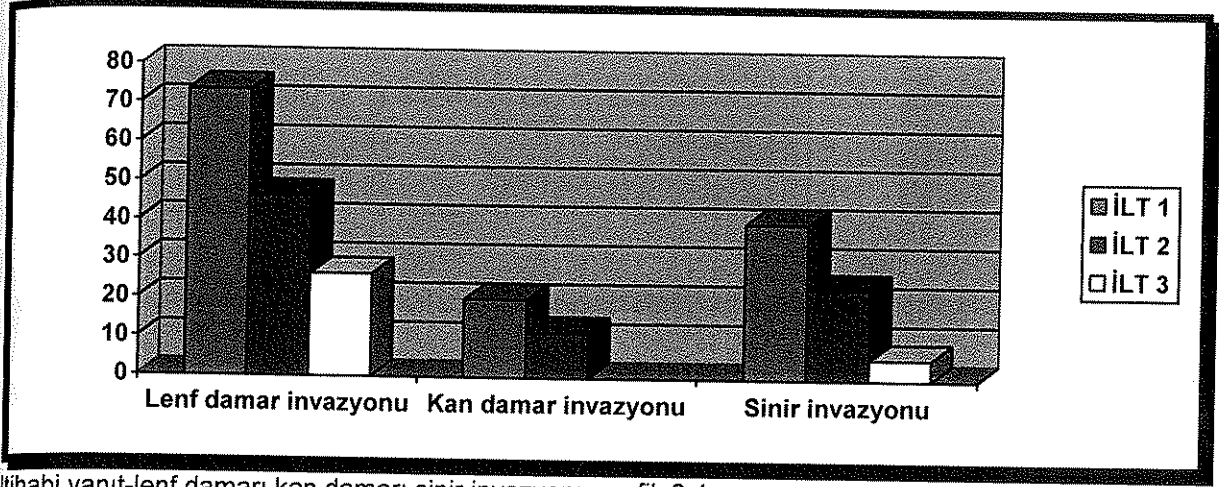
grade-lenf damarı, kan damarı, sinir invazyonu grafik 2.2



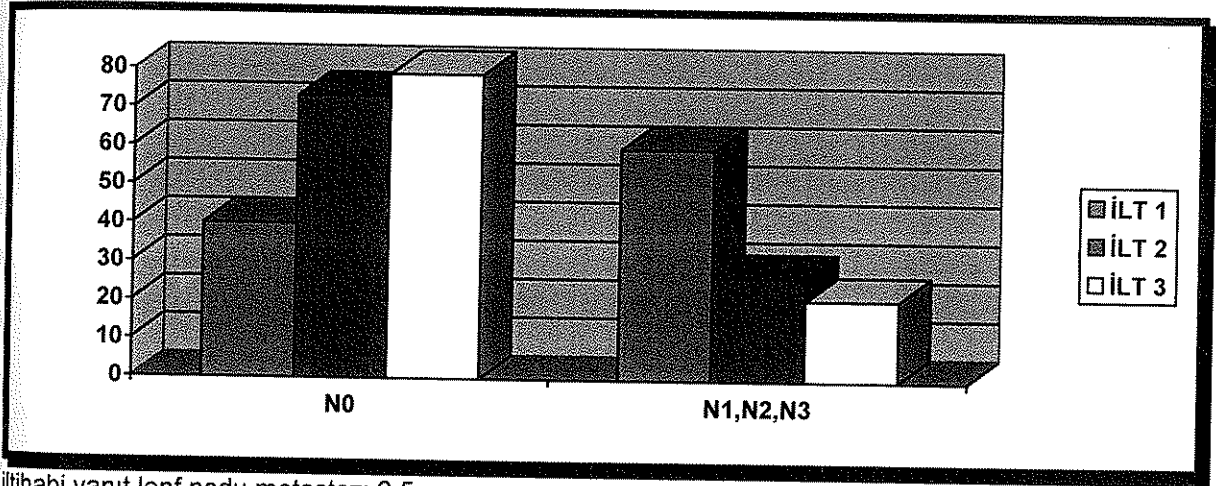
grade-lenf nodu metastazı grafik 2.3

Tümör çevresi iltihabi yanıt, lenf damar invazyonu ($p=0,024$), perinöral invazyon ($p=0,49$) (grafik 2.4), T ($p=0,012$) (grafik 2.5), lenf nodu metastazı ($p=0,037$) (grafik

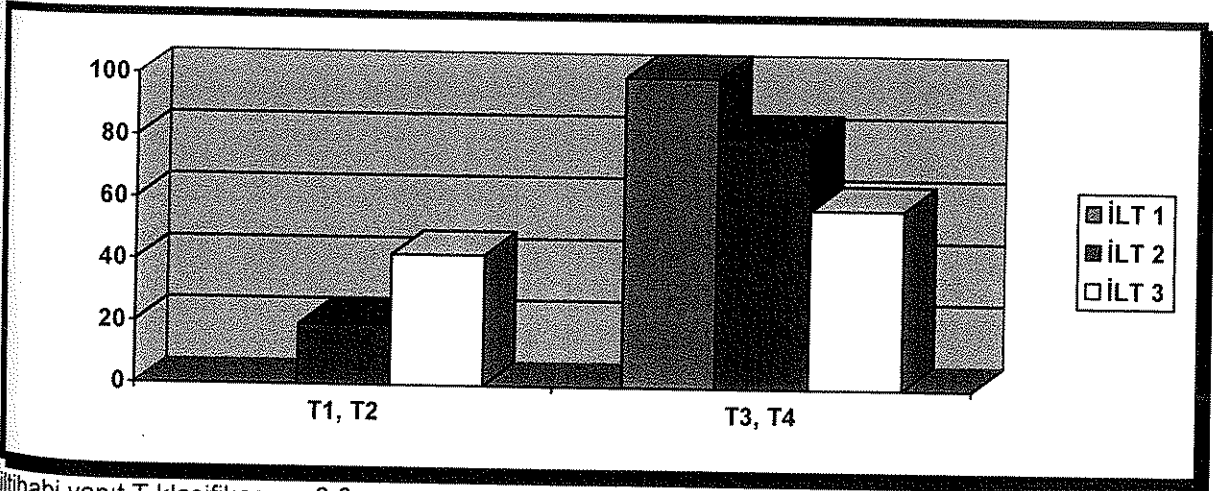
2.6) ve evre ($p=0,020$) (grafik 2.7) ile ilişkili bulundu. Lenf damarı invazyonu ve perinöral invazyon gözlenen, lenf nodu (+), T3-4 ve evre3-4 tümörlerde tümör çevresinde iltihabi yanıt zayıf olarak izlenmektedir.



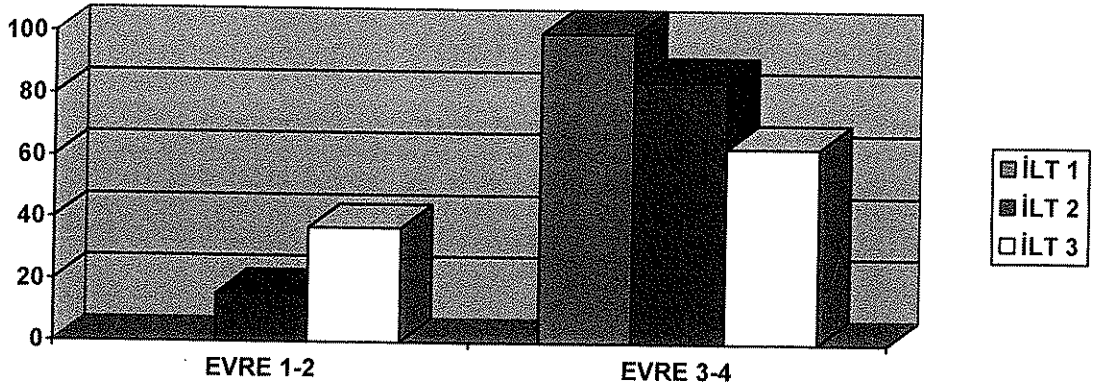
iltihabi yanıt-lenf damarı,kan damarı,sinir invazyonu grafik 2.4



iltihabi yanıt,lenf nodu metastazı 2.5

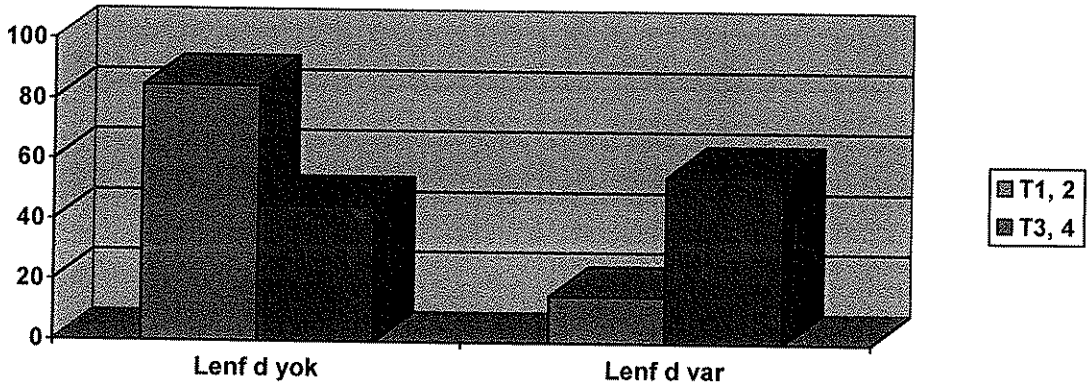


iltihabi yanıt,T klasifikasyon 2.6



iltihabi yanıt, evre klasifikasyon grafik 2.7

Primer tümör (T) ile lenf damar invazyonu ($p=0,011$) arasında pozitif ilişki saptandı (grafik 2.8). T3-4 tümörlerde lenf damar invazyonu görülme oranı artmaktadır.



T- lenf damar invazyonu grafik 2.8

Sağkalım ile diğer parametreler arasında ilişki gösterilemedi.

TARTIŞMA

Yayılma ile ölüm arasındaki denge bozulduğundan tümör oluşur. Tümör antijenleri tümör hücrelerini yok edebilecek bir bağışıklık reaksiyonuna yol açabilirler. Her iki adımda da Fas sistemindeki hatalar tümör oluşumuna katkıda bulunur(152).

Retrospektif çalışmamızda laringeal skuamoz hücreli kanserde Fas ve Fas-ligand ekspresyonu(salınımı) araştırdık ve klinik-patolojik parametrelerle olan ilişkisini analiz ettik. Fas ve Fas ligand ekspresyonunun (salınımının) sağ kalımla ilişkisini değerlendirdik.

T KLAS	1		2		3	
	n	%	n	%	Ki-kare	p
FAS						
1			7	14,9		
2	5	38,5	32	68,1		
3	8	61,5	8	17,0	10,95	0,004*

TABLO:2

Önemli bir sonuç olarak, tümörün T evresi arttıkça (tablo:2), ileri evre tümörlerde (tablo:3) Fas immunoreaktivitesi azalmakta olduğunu gözlemledik. Bu bize şunu gösteriyordu ki, hücre yüzeyindeki Fas reseptörlerin down-regulasyon'a uğraması, tümörün evresindeki ve T evresindeki artışla eşlik etmekte.

FAS	1		2		3			
	n	%	n	%	n	%	Ki-kare	p
EVREKLAS								
1			4	10,8	7	43,8		
2	7	100,0	33	89,2	9	56,3	9,87	0,007*

TABLO:3

Fas salınımının baş-boyun kanserlerindeki klinik önemi henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Bu organ tümörlerindeki Fas salınımıyla ilgili daha önceki çalışmalar

sınırlı sayıda specimen içerir ve çelişkili sonuçlar verir (153).

Her ne kadar dil kanserinde Fas'ın yüksek seviyede salınımı bulunduysa da(154), oral skuamoz hücreli kanserlerin diğer serilerinde normal epitel ile karşılaştırıldığında,önemli miktardaki Fas reseptörlerinin supresyona uğradığı görülmüştür(155).Muraki ve arkadaşları iyi ve orta diferensiye oral karsinomlarda Fas salınımıyla klinik evreleme arasında ilişki bulurken,kötü diferensiye oral karsinomlarda böyle bir ilişki gözlemlememişlerdir(156).

Buna benzer aykırı sonuçlar özafagial skuamoz hücreli karsinomlardan'da alınmıştır(158,159,160).

Görünen odur ki Fas'ın down regulasyon'u bazı tümörlerin özelliği olarak sergilenmektedir. Bu hipotez larenks karsinomlarında yaptığımız Fas boyaması sonucu elde ettiğimiz geniş dağılımlı sonuçları bulunan çalışmamızla aynı doğrultudadır. fakat skuamoz epitelin malign transformasyonunda zorunlu bir basamak değildir(153).

ILTKLAS	1		2		3		Ki-kare	p
	n	%	n	%	n	%		
FAS								
0	5	33,3	2	7,7				
%1-10	9	60,0	16	61,5	12	63,2		
%11-25	1	6,7	8	30,8	7	36,8	11,77	0,019*

TABLO:4

Elde ettiğimiz bir başka önemli sonuçta,Fas immunoreaktivitesi ile lenfoplasmositik stroma reaksiyonu arasında pozitif ilişkiydi(tablo 4).Bu sonuç bize hücre yüzeyindeki Fas reseptörlerinin down-regulasyonunun,tümör stromasına infiltre eden iltihabi hücrelerin yokluğuyla beraber olabileceğini gösterdi.

Aynı sonuçlar yakın zamanda murine tümör hücreleri üzerinde yapılan gen transfer deneylerinden de alınmıştır(157).

İnaktif Fas salgılayan veya Fas bulunmayan tümör hücreleri T-lenfosit infiltrasyonunu indüklemeyen, membranları üzerinde Fas reseptör salgılayan

transfer edilmiş tümör hücreleri T-lenfosit infiltrasyonunu indükler. tümör hücresi üzerinde salgılanan Fas, immun hücre infiltrasyonunu in vivo olarak indükler. Ancak bu durumun etki mekanizması açıklanmamıştır. Belki de aşırı Fas salgılayan tümör hücrelerin apoptosisi ve bunu izleyen fagositoz kemotaktik maddeler açığa çıkarır ve iltihabi hücreler reaksiyona katılır.(153).

Shibakita ve arkadaşları özafagial skuamoz hücreli karsinomlarda kuvvetli Fas-ligand salınımı ile CD8 T-lenfositlerde azalma arasında ilişki olduğunu belirtmiştir(161). Kase S. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Fas-ligand salınımındaki frekans sırasıyla T3 skuamoz hücreli özafagial karsinomda yüksek miktarda iken bunu T2 skuamoz hücreli özafagial karsinom, daha sonrada displaziler izlemektedir(162). Shibakita Fas-ligand salınımıyla sağkalım arasında ilişki bulamamıştır(161). Özafagial skuamoz hücreli karsinomlarda Fas-ligand salınımı ile tümör progresyonu ve kötü prognoz arasında ilişki olabileceği belirtilmiştir(162).

Ewing sarkomaların metastatik tümörleri Fas-ligandı primer tümörüne göre daha sık ve daha fazla salgılar(163). Buna benzer şekilde Fas-ligandı agresif olmayan non-Hodgkin lenfomalarda daha zayıf salgılanırken agresif non-Hodgkin lenfomalarda daha güçlü salgılanır(164). Agresif histoloji gösteren ve geniş/lokal invazif/tekrarlayan kötü prognostik özellikler sergileyen papiller tiroid karsinomların iyi diferensiye ve kötü prognostik özellikleri olmayan tiroid karsinomlarına göre daha güçlü Fas-ligand immunoreaktivitesi gösterdiği belirtilmiştir(165). Mitsiades ve arkadaşları tiroid karsinomlarında Fas-ligand salınımının agresif fenotiple korele olduğu sonucuna varırken bunun muhtemelen malign dönüşüm sırasında kazanıldığına inanmaktadırlar(165).

Tiroid karsinomlarında bazen yoğun lenfositik infiltrasyonun bizi Hashimoto tiroidit teşhisine götürürken bazende lenfositik infiltrasyonun papiller karsinomunda iyi prognoz belirtisi olacağı vurgulanmıştır(166,167,168,169). Bu bulgular ışığında aklımıza şu soru geliyor bu lenfositik atak karşısında tümör hücreleri nasıl kurtuluyor? Ve nasıl progresif ,sıklıkla da metastatik hastalığa yol açıyor. Birçok mekanizma öneriliyor bu sorular için. Tümör hücresi üzerinde salınımı kaybolan MHC antijenleri veya tümör hücresinin TGFB ve buna benzer immun supresif faktörlerin salgılanması gibi. İşte bu immunsupresiflerden biride kanser hücrelerini koruyan mekanizmaya sahip Fas-ligand'tır.

Fas-ligand salgılayan tümör hücreleri özellikle Fas salgılarken nasıl oluyorda kendileri apoptotik ölüme gitmiyorlar(170)?Tiroid kansinonlarının tümör specimenlerinde yapılan araştırmada tiroid kanser hücrelerinde apoptosise az oranda rastlanmıştır(171).Bu sonuca göre foliküler hücrelerde apoptotik ölümü başlatan Fas-ligand up-regulasyonun olduğu Hashimoto tiroiditinin tersine, Fas-ligand salınımı neoplastik tirosit hücrelerinde ölümeye yol açmak yerine immun sistemde apoptosise neden olmakta ve muhtemelen bu mekanizmadan tümör hücresi apoptotik yoldaki bir defekt sayesinde kurtulmaktadır.Gerçektende Mitsiades ve arkadaşları TSH varlığında veya yokluğunda Fas reseptörüne bağlanma aktivitesi bulunan CH11 antikoru ile yapılan deneyde tiroid kanser hücrelerinin apoptosise dirençli olduğu gösterilmiştir.Fakat bir protein sentez inhibitörü olan sikloheximid tümör hücrelerini CH11 ile indüklenen hücre ölümüne (apoptosis) duyarlı hale getirir(165).Arscott ve arkadaşları (172,173) kabul ettiği gibi buradan kısa ömürlü proteinlerin FAS aracılıklı apoptosisi inhibe ettiği ve muhtemelen hücreyi intihardan koruduğu anlaşıyor.

Yapılan deneylerde Baş ve Boyun bölgesinin skuamoz hücreli kansinoması aktive lenfositlerin ölümünü doğrudan indüklediği gösterilmiştir. Fakat bu olay şöylede mümkündür: tümör hücreleri immun hücreleri aktive eder,bu hücreler üzerinde Fas ligand up-regulasyonunu indükler bu da daha sonra birbirlerini öldürecek olan lenfositlerde hücre ölümünün tetiklenmesini ve aktivasyonunu kolaylaştırır(174).3 bulgu bize tümörün lenfosit hücre ölümünün indüklenmesinde rol oynadığını kuvvetlice gösterir.

a-)Fas-ligand'ın tümör hücresi üzerinde salınımının aktive lenfositlerinden salınımından hatırı sayılır şekilde fazla olduğu bulunmuştur.

b-)Tümörün anti-FasL antikoru veya FasFc simerik proteini ile inkubasyonu(175) lenfositlerdeki apoptosisi parsiyel olarak bloke eder,

c-)Fas-ligand transfer edilmiş supernatant tümör hücreleri Jurkat hücrelerde apoptosisi indükler(175)

Yapılan çalışmalarda Baş ve boyunun skuamoz hücreli kanseri VP-16 gibi apoptotik indukleyicilere duyarlı iken,CH11 gibi agonistik antikorlara dirençli olduğunu fark ettik.(175).Bu sonuca tiroid specimenlerindeki kanserli hücrelerde de rastlandığını yukarda belirtmiştik.Bu türden bir sonuç tümör hücrelerinin kuvvetlice Fas dirençli olduğunu,tümör hücreleri üzerindeki Fas-ligand yada

plasmada/serumdaki Fas-ligand yoluyla meydana gelen apoptosisten kendini koruduğunu gösterir.

Baş ve boyun skuamoz hücreli kanserleri Fas dirençliliği gibi immun effektor hücrelerinden kaçışa,ek korunma mekanizması olarak bcl-2 salgılayarak katkıda bulunur(175).Fas'ın COOH terminaline etki ederek apoptotik sinyali engelleyen Fas ilişkili fosfataz-1,protein kinaz C,FLICE protein inhibitörü FLIP ek korunma mekanizmalarına örneklerdir.

Diğer taraftan Bağışıklık hücreleri kendilerini tümörün indüklediği hücre ölümünden değişik stratejilerle korurlar.Bu stratejiler kaspasların aktivasyonu ile apoptosisin blokajı, IL-2 veya IL-12 gibi sitokinlerle tedaviyi içerir(175).

Fas homoloğu ölüm alanı içeren ve apoptosisi indükleyen TNF reseptör ailesinden en azından 5 üye bilinmektedir. TNF reseptör ailesine ait bu reseptörler ve onların ligandları FAS sisteminde,örtüşen veya benzer işlevlere sahip olabilirler.Ek olarak farklı yeteneklerle apoptosis indükleyen 2 FAS alleli tanımlanmıştır.Bu sistemlerin tümör oluşumuna katkıları teşhis edilmeyi beklemektedir.Sitoplazmik FAS bağlantılı proteinler ve kaspaslar apoptosisi etkileyen ileriki hedeflerimiz olmalıdır(152).

SONUÇLAR

- 1-) Çalışmamızda Aralık 2000 – Ekim 2003 tarihleri arasında Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniğinde larinks karsinomu nedeniyle opere edilerek Patoloji laboratuvarında incelenen olgular tarandı ve seçilen 60 olgu çalışma kapsamına alındı.
- 2-) Fas ile iltihabi yanıt ($p=0,019$) arasında pozitif ilişki saptandı.İltihabi yanıtın zayıf olduğu olgularda Fas ile boyanma zayıf (%1-10) izlenirken ya da hiç izlenmezken, iltihabi yanıt arttıkça Fas ile boyanma oranı arttığı görüldü.
- 3-) Ayrıca Fas ile desmoplazik yanıt ($p=0,033$) arasında ters ilişki saptandı. Desmoplazik yanıtın şiddetli olduğu tümörlerde Fas ile zayıf boyanma izlenmekte ya da boyanma izlenmemektedir.
- 4-) Olgularda Fas ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterilemedi.
- 5-) FasL ile karşılaştırılan diğer parametreler arasında ilişki gösterilemedi.
- 6-) Çapı 4 cm'den büyük tümörlerde, iltihabi yanıtın 4 cm' den küçük tümörlere göre daha zayıf olduğu görüldü.
- 7-) Tümör histolojik grade ile lokalizasyon ($p=0,003$) arasında ilişki saptandı Glottik tümörler daha çok grade 1, supraglottik tümörler ise grade 3 olarak izlendi.
- 8-) Grade arttıkça lenf damarı, kan damarı, perinöral invazyon görülme oranı ve lenf nodu metastazı artmaktadır.
- 9-) T3-4 tümörlerde lenf damar invazyonu görülme oranı artmaktadır.
- 10-) FAS salınımının up-regulasyonu larenks kanserlerinde stromal dokuya baışıklık sistemin hücrelerinin infiltrasyonunu artırır.
- 11-)FAS/FAS-LİGAND sisteminin klinik parametrelerle ilişkisinin olmadığı görüldü.Bu muhtemelen tümörün fas aracılıklı apoptosisten değişik stratejiler üreterek kaçtığını gösterir.
- 12-)Sonuç olarak FAS/FAS-LİGAND sisteminin tek başına prognostik bir gösterge olarak yararlı olamayacağı fikrindeyiz.Bu konuda daha fazla hasta sayısı, daha uzun takip süresi ile geniş kapsamlı çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

- 1-Senocak, F.:Kronolojik Otolarengoloji Tarihçesi.İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları.Rektörlük No:2065 Dekanlık No:31 Hilal Matbaacılık Kollektif Şirketi.syf 1975;60-83
- 2-Wippoldll F.J.;Glazer H.S. :Diagnostic imaging of the larynx. In:Otolaryngology-Head and Neck Surgery.Vol. 3. Cummings CW,Fredickson JM(Eds.).C.V. Mosby Company,St. Louis,Missouri,pp. 1993.
- 3-Öktem,F.:Larenks Kanserinde DNA akım Sitometrisi sonuçlarıyla Prognoz arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.Uzmanlık Tezi;İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi KBB. Kliniği,İstanbul-1994.
- 4-Kirchner J.A.:Phisiology of The Larynx. Otolaryngology Vol. 2.Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL (Eds). W. B. Saunders Company,Philadelphia, 1991;pp.2307-2369,
- 5-Hüseyin Sipahioğlu ,Medikal Onkolojide Tedavi Prensipleri Ve protokolleri,Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd.Şti, 1981;syf 2-3;Ankara,
- 6-Medes,G.,Reimann, S.P.,Normal Growth and Cancer, J.B.,Lippicott Company, Philadelphia.U.S.A, s:1-5,Kongre katalog, 1963;No:63-12502
- 7-Köksal ,M..Genel Onkoloji (Genel Tümör Bilimi),A.Ü. Tıp Fakültesi, Ayyıldız Matbaası, 1965;s:1-2, Ankara
- 8-Thawley SE:Cysts and Tumors of The Larynx. In:Otolaryngology Vol. 2.Paparella MM, Shumrick DA,Gluckman JL,WL-(Eds).W.B. Saunders Company,Philadelphia,1991;pp.2307-2369
- 9-Robin PE.Olofsson J.Tumours of The Larynx. In:Scott-Brown's Otolaryngology. Vol 5.Kerr AG, Stell PM (Eds).Butterworths and Co., London , 1987; pp 186-234
- 10-Lawson W, Biller HF, Suen JY.Cancer of The Larynx.In:Cancer of The Head and Neck .Myers EN, Suen Livingstone Inc.,New York, 1989; pp. 531-591
- 11-Wynder EL: Environmental factors in cancer of the larynx .A second lood. Cancer 1976; 38:1591
- 12-Doll R:The Epidemiology of cancer .Cancer 1980;5:2475.
- 13-Martenensson B Epidemiological aspects on laryngeal carcinoma in Scandinavia.Laryngoscope 1975;85:1185

- 14-Sasaki CT, Carlson RD.Malignant Neoplasms of the Larynx.In:Otolaryngology-Head and Neck Surgery.Vol.3.Cummings CW,Fredrickson JM(Eds).C.V.Mosby Company ,St .Louis.Missouri, 1986; pp. 1987-2017
- 15- Kaiser TN.Spector GJ:Tumours of The Larynx andLaryngopharynx In:Diseases of The Nose ,Throt ,Ear ,Head and Neck .Ballenger JJ(Ed.).Lea and Febiger.Malvem, Pennsylvania, 1991; pp 682-746
- 16-Breslow NE, Eustrom JE, Geographic correlation between cancer mortality rates and alcohol-tobacco consumption in the US J Nat Cancer Inst 1974;53;631
- 17- Homburger F, 'Smokers l_arynx' and carcinoma of the larynx in Syrian hamsters exposed to cigarette smoke.Laryngoscope 1975; 85; 1874
- 18-Auerbach O,Hammond EC ,Garfinkel L:Histologic changes in the larynx in relayion to smoking haits.Cancer 1970; 25:92
- 19-Stevens J, Synergistic effect of alcohol on epidermoid carcinogenesis in the larynx.Otolaryngoi Head and Neck Surg 1979; 87:751
- 20-De Stefani E ,Correa P, Orregia F: Risk factors for laryngeal cancer.Cancer 1987; 60:3087
- 21-Hiranandi LH, Panel on epiderniology and eyiology of laryngeal carcinoma Laryngoscope 1975;85:1 197
- 22-Stocks P:Cancer mortality in relation to national consumption of cigarettes.solid fuel ,tea and coffee.Brit J Cancer 1970; 24:215
- 23-Airoidi M, Piantino P, Pacchioni D:Gastrointestinal associated-antigen (GICA)in oral carcinoma.Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1986; 61:263
- 24-King ER Carcinoma of larynx occuring in a patient receiving therapeutic doses of 1131 Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1954; 59:313
- 25-Peller S:Lung canceramong mine workers in Joachimsthal.Hum Biol 1939; 11:130
- 26-Lawson S,Som M.Second primary cancer after irradiation of laryngeal cancer.Ann Oto.Rhinol Laryngol 1975; 84:771
- 27-Crissman JD, Laryngeal keratosis and subsequent carcinoma Head NeckSurgl: 1979; 386
- 28-Keim RJ :Malignantchangeof laryngeal papillomas:A case report.Otolaryngol Head Neck Surg 1980; 88:773

- 29-Trell E:Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and laryngeal cancer.Lancet 1976;111:140
- 30-Iwamoto H:An epidemiological study of laryngeal cancer in Japan (1900-1909).Laryngoscope 1975; 85:1162
- 31-Laury MC Johnson ME, Danes BS:Invitro hyperdiploidy in head and neck cancer.Agenetic predisposition? Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1987;113:1230
- 32-Karaman E: Gastrozefagial reflü hastalığının otolaringolojik semptom ve bulguları,Uzmanlık Tezi ;i.U. Cerrahpaşa tip fakültesi K.B.B Kliniği
- 33- Dennish G.W.and Castell D.O inhibitor effect of smoking on the lower esophageal Sphincter .N Engl.Med.J.284:1136-1137
- 34-Morrison M.D:Is choronic gastroesopgeal reflux a causative factor in glottic carcinoma:Otolaryngeal Head Neck Surg. 1988; 99:370-373
- 35-Bocca E:Limitations of supraglottic laryngectomy and conservative neck dissection.In:Workshops from the Centennial Conference on Laryngeal Cancer.Alberti PW, Bryce DP (Eds).Appleton-Century-Crofts,East Norwalk.CT, 1976; pp.395-411
- 36-Bocca E:Supraglottic cancer.Laryngoscope 1975; 85:1318
- 37-Lam KH ,Wong J. The preepiglottic and paraglottic spaces in relation to spread of carcinoma of the larynx.Am J Otolaryngol 1983; 4:81
- 38-Yeager VL.Archer CR:Anatomical routes for cancer invasion of laryngeal cartilages.Laryngoscope 1982; 92:449
- 39-Micheau C, Luboinski B.Sancho H, Cachin Y.Modes on invasion of the larynx.Cancer 1976; 38:346
- 40-Kirchner JA:Two hundred laryngeal cancers:Patterns of growth and spread as seen in serial section.Laryngoscope 1977; 87:474.
- 41-Walther EK, Dahlmann N.Gorgulla HT.Tumormarkers in the diagnosis and follow up of head and neck cancer role of CEA,CA19-9,SCC Ag.TK and dTTPase Head-Neck 15(3):230,199
- 42-Szymendera J.Clinical usefulness of three monoclonal antibody, defined tumor markers:CA19-9,CA50 and CA125.Tumor Biol 7:313,198
- 43-Straka MB, Wagner RL, Johnson JT, Kachman KK,Eibling DE:The lack of utility of a tumor marker panel in head and neck carcinoma SCC Ag,CEA,LASA and CA125 .Arch Otolaryngol head-Neck Surg 1992;118(18):802
- 44-Olofsson J:Growth and spread of iaryngeal carcinoma In:Workshops from

the Centennial Conference on Laryngeal Cancer. Alberti PW, Bryce DP (Eds). Appleton-Century-Crofts, East Norwalk, CT, 1976; pp.40-53

45-Zoller J, Fiehn W, Mende U, Hotz G. The diagnostic value of the tumor markers CEA, CA19-9, CA125, CA15-3 and SCCAg for the detection of recurrent tumors in patients with tumor of the head and neck. *Dtsch-Z-Mund Kiefer-Gesichetschir* 1990; 14(4):254

46-Lund WS: Classification of subglottic tumors and discussion of their growth and spread. In: Workshop from the Centennial Conference on Laryngeal Cancer. Alberti PW, Bryce DP (Eds). Appleton-Century-Crofts, East Norwalk, CT, 1976; pp.63

47-Harrison DFN, Thawley SE: Surgical therapy of the larynx. In: Comprehensive Management of Head and Neck Tumors. Voll W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1987; pp.929-1013

48-Carr BI: Cancer in Bangladesh a model for some problems and proposed solutions in the Third World. *Cancer Detect Prev* 1986; 9:195

49-Soto Ortega I, Suarez Nieto C, Fresno Forcelledo MF: Lymph node response and its relationship to prognosis in carcinomas of the head and neck. *Clin Otolaryngol* 1987; 12:241

50-Cummings CW: Incidence of nodal metastases in T2 supraglottic carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1974; 99:268

51-Biller HF: Delayed contralateral cervical metastases with laryngeal and laryngopharyngeal cancer. *Laryngoscope* 1971; 81:1499

52-Breiting E: Spread and mode of metastases of supraglottic laryngeal carcinoma. *ORL J Otolaryngol Relat Spec* 1979; 41:288

53-Bauer WC, Edwards DL, McGavran MH: A critical analysis of laryngectomy in the treatment of epidermoid carcinoma of the larynx. *Cancer* 1902; 15:263

54-Jakobsson PA: Histologic grading of malignancy and prognosis in glottic carcinoma of the larynx. In: Workshops from the Centennial Conference on Laryngeal Cancer. Alberti PW, Bryce DP (Eds). Appleton-Century-Crofts, East Norwalk, CT, 1976; pp.847

55-Kashima HK: The characteristics of laryngeal cancer correlating with cervical lymph node metastases. In: Workshops from the Centennial Conference on Laryngeal Cancer. Alberti PW, Bryce DP (Eds). Appleton-Century-Crofts, East

Norwalk,CT, 1976; pp.85,

56-Brown A.Lally E.Frankel A:The association of the Ig a levels of serum and whole saliva with the progression of oral cancer.Cancer 1975; 35:1154

57-Berlinger NT, Tsakraklides V, Pollak K:Prognostic significance of lymph node histology in patients with squamous cell carcinoma of the larynx or oral cavity.Laryngoscope 1976; 86:792

58-Pohris E, Eichhorn T, Glanz H, Kleinsasser O:Immunohistological reaction patterns of cervical lymph nodes in patients with laryngeal carcinomas .Arch Otorhinolaryngol 1987; 244:278

59-Gilmore BB, Repda DA, Batsakis JG:Carcinoma of the larynx lymph node reaction patterns.Laryngoscope 1976; 88:131

60-Schantz PS , Brown BW, Lira E:Evidence for the role of natural immunity in the control of metastatic spread of head and neck cancer.Cancer Immunol Immunother 1987; 25:141

61-Wolf GT, Schmaltz S ,Hudson J:Alterations in T- lymphocyte subpopulations in patients with head and neck cancer Correlations with prognosis.Arch Otolaryngol head and neck Surg 1987;13:1200

62-Gasparini G ,Weidner N,Berilacqu P ,et al.Tumor microvessel density,p53 expression, tumor size, and peritumoral lymphatic vessel invasion are relevant prognostic markers in node-negative breast carcinoma. J Clin Oncol. 1994; 12:454-466

63-Weinstat-Saslow D,Steed PS.Angiogenesis and colonization in the tumor metastatic process:basic and applied advances.FASEB J.1994;8:401-408

64-Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent?J Natl Cancer Inst .1990;82:4-6.

65-Wippoidl FJ, Glazer HS:Diagnostic imaging of the larynx in Otolaryngology head and neck Surgery vol .3.Cummings CW,Fredrickson JM(Eds).C.V.Mosby Company,St.Louis,Missouri,pp.1993

66-Murray JD,Grant W,Carlston MD et al.Tumor angiogenesis as a prognostic factor in laryngeal cancer.Am J Surg 199;174:523-526

67- Kerr JF & Winterford CM: Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. Cancer, 73, 2013-2026, 1994.

68- Hunot S & Flavell RA: Death of a monopoly? Science, 292, 865-866, 2001.

- 69- Kidd VJ, Lahti JM, Teitz T: Proteolytic regulation of apoptosis. *Semin Cell Dev Biol*, 11, 191-201, 2000.
- 70- Teitz T, Wei T, Valentine MB, ve ark: Caspase 8 is deleted or silenced preferentially in childhood neuroblastoma amplification of MYCN. *Nat Med*, 6, 529-35, 2000.
- 71- Engin K. Özyardımcı N. Akciğer kanserleri tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar bölüm 1 36-37 2001.
- 72- Kawabe S, Munshi A, Zumstein LA, ve ark: Adenovirus-mediated wild-type p53 gene expression radiosensitizes non-small cell lung cancer cells but not normal lung fibroblasts. *Int J Rad Biol*, 77, 185-194, 2001.
- 73- Kerr, J.F.R., Wyllie, A.H., and Currie, A.R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 26, 239-257.
- 74- Jacobson, M.D., Weil, M., and Raff, M.C. (1997). Programmed cell death in animal development. *Cell* 88,348-354.
- 75- White, E. (1996). Life, death, and the pursuit of apoptosis. *Genes and Develop.* 10,1-15. Yagita, H., Seino, K.-I., Kayagaki
- 76- Hale, A.J., Smith, C.A., Sutherland, L.C., Stoneman, V.E.A., Longthorne, V.L Culhane, A.C., and Williams, G.T. (1996). Apoptosis: molecular regulation of cell death. *Eur. J. Biochem.* 236,1 -26.
- 77- Boon, T, Coulie, P.G., and Van den Eynde, B. (1997). Tumor antigens recognized by T cells. *Immunol. Today* 18,267-268.
- 78- Nagata, S. (1996), Fas ligand and immune evasion. *Nat. Med.* 2, 1336-1307.
- 79- Walker, P.R., Saas, P., and Dietrich, P.-Y. (1997). Role of Fas ligand (CD95L) in immune escape: the tumor cell strikes back. *J. Immunol.* 158,4521-4524.
- 80- Nagata, S.. and Golstein, P. (1995). The Fas death factor. *Science* 267.1449-1456.
- 81- Golstein, P., Marguet, D., and Depraetere, V. (1995). Homology between reaper and the cell death domain of Fas and TNFR1. *Cell* 81,185-186.
- 82- Itoh, N., and Nagata, S. (1993). A novel protein domain required for apoptosis. Mutational analysis of human Fas antigen. *J. Biol. Chem.* 268,10932 -10937.

- 83- Tartaglia, L.A., Ayres, T.M., Wong, G.H., and Goeddel, D.V. (1993). A novel domain within the 55 kd TNF receptor signals cell death. *Cell* 74,845-853.
- 84- Chinnaiyan, A.M., O'Rourke, K., Yu, G.-L., Lyons, R.H., Garg, M., Duan, R., Xing, L, Gentz, R., Ni, J., and Dixit, V.M. (1996b). Signal transduction by DR3, a death domain-containing receptor related to TNFR-1 and CD95. *Science* 274,990-992.
- 85- Chinnaiyan, A.M., Tepper, C.G., Seldin, M.F., O'Rourke, K., Kischkel, R, Hellbardt, S., Krammer, PH., Peter, M., and Dixit, V.M. (1996a). FADD/MORT1 is a common mediator of CD95 (Fas/APO-1) and tumor necrosis factor receptor-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 277,4961 - 4965.
- 86- Marsters, S.A., Sheridan, J.R, Donahue, C.J., Pitti, R.M., Gray, C.L., Goddard, A.D., Bauer, K.D., and Ashkenazi, A. (1996). Apo-3, a new member of the tumor necrosis factor receptor family, contains a death domain and activates apoptosis and NF- κ B. *Curr. Biol.* 6,1669-1676.
- 87- Kitson, J., Raven, T., Jiang, Y.-R, Goeddel, D.V., Giles, K.M., P. K.-T., Grinham, C.J., Brown, R., and Farrow, S.N. (1996). A death-domain-containing receptor that mediates apoptosis. *Nature* 384,372-375.
- 88- Bodmer, J.L., Burns, K., Schneider, P., Hofmann, K., Steiner, V., Thome, M., Bornand, T., Hahne, M., Schroeter, M., Becker, K., Wilson, A., French, L.E., Browning, J.L, and MacDonald, H.R. (1997). TRAMP, a novel apoptosis-mediating receptor with sequence homology to tumor necrosis factor receptor I and Fas (Apo-1/CD95). *Immunity* 6,79-88.
- 89- Pan, G., O'Rourke, K., Chinnaiyan, A.M., Gentz, R., Ebner, R., Ni, J., and Dixit, V.M. (1997). The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 276,111-113.
- 90- Brojatsch, J., Naughton, J., Rolls, M.M., Ziegler, K., and Young, J.A.T. (1996). CAR1, a TNFR-related protein, is a cellular receptor for cytopathic avian leukosis-sarcoma viruses and mediates apoptosis. *Cell* 87,845-855.
- 91- Tanaka, M., Suda, T, Takahashi, T., and Nagata, S. (1995). Expression of the functional soluble form of human Fas ligand in activated lymphocytes. *EMBOJ.* 74,1129-1135.
- 92- Green, D.R., and Ware, C.F (1997). Fas-ligand: privilege and peril. *Proc. Natl.Acad. Sci. USA* 94, 5986-5990.
- 93- Suda, T, Takahashi, T, Golstein, P., and Nagata, S. (1993). Molecular cloning and

- expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell* 75, 1169-1178.
- 94- Smith, C.A., Farrah, T, and Goodwin, R.G. (1994). The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation, and death. *Cell* 76,959-962.
- 95- Kayagaki, N., Kawasaki, A., Ebata, T, Ohmoto, H., Ikeda, S., Inoue, S., Yoshino, K., Okumura, K., and Yagita, H. (1995). Metalloproteinase-mediated release of human Fas ligand. *J. Exp. Med.* 182,1777-1783.
- 96- Mariani, S.M., Matiba, B., Baumler, C, and Krammer, RH. (1995). Regulation of cell surface APO-1 /Fas (CD95) ligand expression by metalloproteases. *Eur. J. Immunol.* 25,2303-2307.
- 97- Crispe, I.N. (1994). Fatal interactions: Fas-induced apoptosis of mature Tcells. *Immunity* 7,347-349.
- 98- Suda, T, Okazaki, T, Naito, Y, Yokota, N., Aral, S., Ozaki, K., Nakao, K., and Nagata, S. (1995). Expression of the Fas ligand in cells of Tcell lineage. *J. Immunol.* 754,3806-3813.
- 99- Alnemri, E.S., Livingston, D.L., Nicholson, D.W., Salvesen, G., Thornberry, N.A., Wong, W.W., and Yuan, J. (1996). Human ICE/Ced-3 protease nomenclature. *Cell* 87,171.
- 100- Enari, M., Hug, H., and Nagata, S. (1995). Involvement of an ICE-like protease in Fas-mediated apoptosis. *Nature* 375, 78-81.
- 101- Zhivotovsky, B., Burgess, D.H., Vanags, D.M., and Orrenius, S. (1997). Involvement of cellular proteolytic machinery in apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 230,481 -488.
- 102- Müller, M., Strand, S., Hug, H., Heinemann, E.-A., Walczak, H., Hofmann, W.J., Stremmel, W., Krammer, PH., and Galle, P. (1997). Drug-induced apoptosis in hepatoma cells involves activation of p53 and is mediated by the CD95 (APO1/Fas) receptor/ligand system. *J. Clin. Invest.* 99, 403-413.
- 103- Miller, D.K. (1997). The role of the caspase family of cystein proteases in apoptosis. *Sem. Immunol.* 9,35-49.
- 104- Boldin, M.P., Varfolomeev, E.E., Pancer, Z., Mett, I.L., Camonis, J.H., and Wallach, D.

- (1995). A novel protein that interacts with the death domain of Fas/APO1 contains a sequence motif related to the death domain. *J. Biol. Chem.* 270,7795-7798.
- 105- Chinnaiyan, A.M., O'Rourke, K., Tewari, M., and Dixit, V.M. (1995). FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis. *Cell* 87,505-512.
- 106- Kischkel, F.C., Hellbardt, S., Behrmann, I., Germer, M., Pawlita, M., Krammer, P.H., and Peter, M.E. (1995). Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *EMBO J.* 14,5579-5588.
- 107- Stanger, B.Z., Leder, P., Lee, T., Kijm, E., and Seed, B. (1995). RIP: a novel protein containing a death domain that interacts with Fas/APO-1 (CD95) in yeast and causes cell death. *Cell* 87, 513-523.
- 108- Boldin, M.P., Goncharov, T.M., Goltsev, Y.V., and Wallach, D. (1996). Involvement of MACH, a novel MORT1/FADD-interacting protease, in Fas/Apo-1- and TNF receptor-induced cell death. *Cell* 85,803-815.
- 109- Muzo, M., Chinnaiyan, A.M., Kischkel, F.C., O'Rourke, K., Shevchanko, A., Ni, J., Scaffidi, C., Bretz, J.D., Zhang, M., Gentz, R., Mann, M., Krammer, P.H., Peter, M.E., and Dixit, V.M. (1996). FLICE, a novel FADD-homologous ICE/Ced-3-like Protease, is required to the CD95 (Fas/Apo-1) death-inducing signaling complex. *Cell* 85,817-827.
- 110- Fraser, A., and Evan, G. (1996). A license to kill. *Cell* 85, 781 -784.
- 111- Chinnaiyan, A.M., and Dixit, V.M. (1997). Portrait of an executioner: the molecular mechanism of Fas/APO-1 -induced apoptosis. *Sem. Immunol.* 9,69-76.
- 112- Meier, J.R., Scaffidi, C., Kischkel, F.C., Shevchenko, A., Mann, M., Krammer, P.H., and Peter, M.E. (1997). FLICE is activated by association with the CD95 death-inducing signaling complex (DISC). *EMBO J.* 16,2794-2804.
- 113- Peter, M.E., Kischkel, F.C., Hellbardt, S., Chinnaiyan, A.M., Krammer, P.H., and Dixit, V.M. (1996). CD95(APO-1/Fas)-associating signalling proteins. *Cell Death Diff.* 3,161 -170.
- 114- Enari, M., Hug, H., and Nagata, S. (1995). Involvement of an ICE-like protease in Fas-mediated apoptosis. *Nature* 375, 78-81.

- 115- Los, M., van de Craen, M., Penning, L.C., Schenk, H., Westendorp, M., Baeuerle, P.A., Droge, W., Krammer, P.H., Fiers, W., and Schulze-Osthoff, K. (1995). Requirement of an ICE/Ced-3 protease for Fas/APO-1 -mediated apoptosis. *Nature* 375, 81-83.
- 116- Tewari, M., and Dixit, V.M. (1995). Fas- and tumor necrosis factor-induced apoptosis is inhibited by the poxvirus crmA gene product. *J. Biol. Chem.* 270, 3255-3260.
- 117- Lacronique, V., Mignon, A., Fabre, M., Violet, B., Rouquet, N., Molina, T., Porteu, A., Henrion, A., Bouscary, D., Varlet, P., Joulin, V., and Kahn, A. (1996). Bcl-2 protects from lethal hepatic apoptosis induced by an anti-Fas antibody in mice. *Nat. Med.* 2, 80-86.
- 118- Rodriguez, I., Matsuura, K., Khatib, K., Reed, J.C., Nagata, S., and Vasalli, P. (1996). A bcl-2 transgene expressed in hepatocytes protects mice from fulminant liver destruction but not from rapid death induced by anti-Fas antibody injection. *J. Exp. Med.* 183, 1031-1036.
- 119- Malaba, B., Mariani, S.M., and Krammer, P.H. (1997). The CD95 system and the death of a lymphocyte. *Sem. Immunol.* 9, 59-63.
- 120- Brunner, T., Mogli, R.J., LaFace, D., Yoo, N.J., Mahboubi, A., Echeverri, F., Martin, S.J., Force, W.R., Lynch, D.H., Ware, C.F., and Green, D.R. (1995). Cell-autonomous Fas (CD95)/Fas-ligand interaction mediates activation-induced apoptosis in T-cell hybridomas. *Nature* 373, 441-444.
- 121- Dhein, J., Walczak, H., Baumler, C., Debatin, K.-M., and Krammer, P.H. (1995). Autocrine T cell suicide mediated by APO-1 (Fas/CD95). *Nature* 373, 438-441.
- 122- Ju, S.-T., Panka, D.J., Cui, H., Ettinger, R., El-Khatib, M., Sherr, D.H., Stanger, B.Z., and Marshak-Rothstein, A. (1995). Fas (CD95)/FasL interactions required for programmed cell death after T-cell activation. *Nature* 373, 444-448.
- 123- Strasser, A. (1995). Death of a T cell. *Nature* 373, 385-386.
- 124- Lowin, B., Hahne, M., Mattmann, C., and Tschopp, J. (1994). Cytolytic T-cell cytotoxicity is mediated through perforin and Fas lytic pathways. *Nature* 370, 650-652.
- 125- Kagi, D., Vignaux, F., Ledermann, B., Burki, K., Depraetere, V., Nagata, S., Hengartner, H., and Golstein, P. (1994). Fas and perforin pathways as major

mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science* 265,528-530.

126- Henkart, PA. (1994). Lymphocyte-mediated cytotoxicity: two pathways and multiple effector molecules. *Immunity* 7,343-346.

127- Berke, G. (1995). The CTL's kiss of death. *Cell* 87,9-12.

128- Bellgrau, D., Gold, D., Selawry, H., Moore, J., Franzusoff, A., and Duke, R.C. (1995). A role for CD95 ligand in preventing graft rejection. *Nature* 377,630-632.

129- Griffith, T.S., Brunner, T., Fletcher, S.M., Green, D.R., and Ferguson, T.A. (1995). Fas ligand induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 270,1189-1192

130- Griffith, T.S., Yu, X., Herndon, J.M., Green, D.R., and Ferguson, T.A. (1996). CD95-induced apoptosis of lymphocytes in an immune privileged site induces immunological tolerance. *Immunity* 5, 7-16.

131- Lau, H.T., Yu, M., Fontana, A., and Stoeckert Jr., C.J. (1996). Prevention of islet allograft rejection with engineered myoblasts expressing FasL in mice. *Science* 273,109-112.

132- Abbas, A.K. (1996). Die and let live: eliminating dangerous lymphocytes. *Cell* 84,655-657.

133- Ogasawara, J., Watanabe-Fukunaga, R., Adachi, M., Matsuura, A., Kasugai, T., Kitamura, Y., Itoh, N., Suda, T., and Nagata, S. (1993). Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature* 364,806-809.

134- Galle, P.R., Hofmann, W.J., Walczak, H., Schaller, H., Otto, G., Stremmel, W., Kramer, P.H., and Runkel, L. (1995). Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor and ligand in liver damage. *J. Exp. Med.* 182,1223-1230.

135- Kondo, T., Suda, T., Fukuyama, H., Adachi, M., and Nagata, S. (1997). Essential roles of the Fas ligand in the development of hepatitis. *Nat. Med.* 3,409-413.

136- French, L.E., and Tschopp, J. (1997). Thyroiditis and hepatitis: Fas on the road to disease. *Nat. Med.* 3,387 - 388.

137- Rensing-Ehl, A., Frei, K., Flury, R., Matiba, B., Mariani, S.M., Weller, M., Aebischer, P., Krammer, P.H., and Fontana, A. (1995). Local Fas/APO-1 (CD95) ligand-mediated tumor cell killing in vivo. *Eur. J. Immunol.* 25,2253-2258.

- 138- Strand, S., Hofmann, W.J., Hug, H., Muller, M., Otto, G., Strand, D., Mariani, S.M., Stremmel, W., Kramer, P.H., and Galle, P.R. (1996). Lymphocyte apoptosis induced by CD95 (APO-1/Fas) ligand-expressing tumor cells - a mechanism of immune evasion? *Nat. Med.* 2,1361 -1366.
- 139- Hahne, M., Rimoldi, D., Schroter, M., Romero, P., Schreier, M., French, L.E., Schneider, P., Bornand, T., Fontana, A., Lienard, D., Cerottini, J.-C, and Tschopp, J. (1996). Melanoma cell expression of Fas(Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape. *Science* 274,1363 -1366.
- 140- French, L.E., Hahne, M., Viard, I., Radlgruber, G., Zanone, R., Becker, K., Muller, C, and Tschopp, J. (1996). Fas and Fas ligand in embryos and adult mice: ligand expression in several immune-privileged tissues and coexpression in adult tissues characterized by apoptotic cell turnover. *J. Cell Biol.* 733,335 -343.
- 141- Saas, P., Walker, P.R., Hahne, M., Quiquerez, A.-L, Schnuriger, V., Perrin, G., French, L., Van Meir, E.G., de Tribolet, N., Tschopp, J., and Dietrich, P.-Y. (1997). Fas ligand expression by astrocytoma in vivo: maintaining immune privilege in the brain? *J. Clin. Invest.* 99,1173-1178.
- 142- O'Connell, J., O'Sullivan, G.C., Collins, J.K., and Shanahan, F. (1996). The Fas counterattack: Fas-mediated T cell killing by colon cancer cells expressing Fas ligand. *J. Exp. Med.* 784, 1075-1082.
- 143- Shiraki, K., Tsuji, N., Shioda, T, Isselbacher, K.J., and Takahashi, H. (1997). Expression of Fas ligand in liver metastases of human colonic adenocarcinomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 6420-6425.
- 144- Seino, K.-I., Kayagaki, N., Okumura, K., and Yagita, H. (1997). Antitumor effect of locally produced CD95 ligand. *Nat. Med.* 3, 165-170.
- 145- Allison, J., Georgiou, H.M., Strasser, A., and Vaux, D.L. (1997). Transgenic expression of CD95 ligand on islet p cells induces a granulocytic infiltration but does not confer immune privilege upon islet allografts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94,3943-3947.
- 146- Kang, S.-M., Schneider, D.B., Lin, Z., Hanahan, D., Dicher, D.A., Stock, P.G., and Baekkesov, S. (1997). Fas ligand expression in islets of Langerhans does not confer immune privilege and instead targets them for rapid destruction. *Nat. Med.* 3, 738-743.
- 147- Yagita, H., Seino, K.-I., Kayagaki, N., Okumura, K., Duke, R.C., Franzusoff, A., and

- Bellgrau, D. (1996). CD95 ligand in graft rejection. *Nature* 379,682-683.
- 148- Lau, H.T., and Stoeckert, C.J. (1997). FasL-too much of a good thing? *Nat. Med.* 3,727-728.
- 149- Tanaka, M., Suda, T., Haze, K., Nakamura, N., Sato, K., Kimura, F., Motoyoshi, K., Mizuki, M., Tagawa, S., Ohga, S., Hatake, K., Drummond, A.H., and Nagata, S. (1996). Fas ligand in human serum. *Nat. Med.* 2,317-322.
- 150- Cheng, J., Zhou, T, Liu, C, Shapiro, J.P., Brauer, M.J., Kiefer, M.C., Barr, P.J., and Mountz, J.D. (1994). Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* 263,1759-1762.
- 151- Mic s, G.P., Shen, Y, and O.en-Schaub. L.B. (1996). Elevated soluble Fas (sFas) levels in nonhematopoietic human malignancy. *Cancer, Res.* 56,3870-3874.
- 152-Hug H.Fas-Mediated Apoptosis in tumor formation and defense *Biol.Chem.,Vol.378,pp.1405-1412 1997*
- 153-Martin C. Jackel,MD, Christina Mitteldorf,Stefan Schweyer,MD, Laszlo Füzesi,MD clinical relevance of fas (apo-1/CD95) expression in laryngeal squamous cell carcinoma *Head Neck* 23:646-652,2001.
- 154- Sundelin K, Jadner M, Norberg-Spaak L, Davidsson A, Hellquist HB. Metallothionein and Fas (CD95) are expressed in squamous cell carcinoma of the tongue. *Eur J Cancer* 1997;33:1860-1864.
- 155- Loro LL, Vintermyr OK, Johannessen AC, Liavaag PG, Jonsson R. Suppression of Fas receptor and negative correlation of Fas ligand with differentiation and apoptosis in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1999; 28:82-87.
- 156- Muraki Y, Yoshioka C, Tadcishi A, Fukuda J, Haneiji T, Kobayashi N. Localization of Fas antigen in oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1999;37: 37-40.
- 157- Lee JK, Sayers TJ, Brooks AD, et al. IFN-g-dependent delay of in vivo tumor progression by Fas overexpression on murine renal cancer cells. *J Immunol* 2000; 164: 231-239.
- 158- Leithauser F, Dhein J, Mcchtersheimer G, et al. Constitutive and induced expression of APO-1, a new member of the nerve growth factor/tumor necrosis factor

- receptor superfamily, in normal and neoplastic cells. *Lab Invest* 1993;69:415-429.
- 159- Gratas C, Tohma Y, Bamas C, Taniere P, Hainaut P, Ohgaki H. Up-regulation of Fas (APO-1/CD95) ligand and down-regulation of Fas expression in human esophageal cancer, *Cancer Res* 1998;58:2057-2062.
- 160- Bennett MW, O'Connell J, O'Sullivan GC, et al. The Fas counterattack in vivo apoptotik depletion tumor infiltrating lymphocytes associated with Fas ligand expression by human esophageal carcinoma .*J Immunol* 1998;160:5569-5675.
- 161-Shibakita M, Tachibana M, Dipok KD, Kotoh T, Kinugasa S, Kubota H, Masunaga R and Nagasue N:Prognostic signifiance of fas and fas ligand expression in human esophageal cancer.*clin cancer res* 5:2464-2469,1999.
- 162-Kase S, Osaki M, Adachi H, Tsujitani S, Kaibara N, Ito H:Expresion of fas ligand in esophageal tissue mucosa and carsinomas 292-297 2001.
- 163-Mitsiades N, Poulaki V, Kotoula V, Leone A, Tsokos M.1998 Fas ligand is present in tumors of the Ewing's sarcoma family and is cleaved into a soluble form by a metalloproteinase.*Am J Pathol.* 153:1947-1956.
- 164-Mullauer L, Mosberger I, Chott A.1998 Fas ligand expression in nodal non Hodgkin's lymphoma.*Mod Pathol.* 11:369-375.
- 165- Mitsiades N, Poulaki V, Mastorakos G, Balafouta S.T, Kotoula V, Koutras D.A, Tsokos M.Fas ligand expression in throid carcinomas:a potential mechanism of immune evasion *J Clin Endocrinol Metab* 84:2924-2932,1999.
- 166-Fiumara A, Belfiore A, Russa G, 1997 in situ evidence of neoplastic cell phagocytosis by macrophages in papillary thyroid cancer.*J Clin Endocrinol Metab.*82:1615-1620
- 167- McConahey WM, Hay ID, Woolnei LB, van Heerden | A, Tayloi WF. 1986 Papillary thyroid cancer treated at the Mayo Clinic, 1946 through 1970: initial manifestations, pathologic findings, therapy, and outcome. *Mayo Clin l'roc.* 61:578-9%.
- 168- Segal K, Ben-Bassat M, Avraham A, Har-El G, Sidi }. 1985 Hashimoto's thyroiditis and carcinoma of the thyroid gland. *Int Surg.* 70:205-209.
- 169- Manrini A, Rabitti C, Conte G, Gullotta G, De Marinis L. 1993 Lymphocytic infiltration in thyroid neoplasms. Preliminary prognostic assessments. *Min*

erva Our. 48:1283-1288.

170- Tanimoto C, Hirakawa S, Kawasaki H, Hayakawa N, Ota Z. 1995 Apoptosis in thyroid diseases: a histochemical study. *Endocr J.* 42:193-201

171- Basolo F, Pollina L, Fontanini G, Fiore L, Pacini F, Baldanzi A. 1997 Apoptosis and proliferation in thyroid carcinoma: correlation with Bcl-2 and p53 protein expression. *Br J Cancer.* 75:537-541.

172- Arscott PL, Knapp J, Rymaszewski M, et al. 1997 Fas (ArCM, CD95)-mediated apoptosis in thyroid cells is regulated by a labile protein inhibitor. *Endocrinology.* 138:5019-5027.

173- Arscott PL, Baker Jr JR. 1998 Apoptosis and thyroiditis. *Clin Immunol Immunopathol.* 87:207-217.

174- Chapell, D.B. and Restifo, N.P. T cell-tumor: a fatal interaction ? *Cancer Immunol. Immunother.*, 279:6-10, 1998.

175- Brian R. Gastman, Torsten E, Atarashi Y, Saito T, Balkir L, Rabinowich H, Whiteside T.L.: Fas ligand is expressed on human squamous cell carcinomas of the head and neck, and it promotes apoptosis of T lymphocytes. *Cancer Research* 59, 5356-5364 1999.