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

LARİNGEAL BİYOPSİ YAPILAN HASTALARDA OKSİDATİF STRESİN BİYOGÖSTERGESİ OLAN 8-OHdG MİKTARININ BİYOPSİ MATERYALİ, KAN, İDRARDA ÖLÇÜLMESİ

Dr. Muhammet Recai MAZLUMOĞLU

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Özgür YÖRÜK

Uzmanlık Tezi
ERZURUM-2014

İÇİNDEKİLER

ONAY ..... **III**
TEŞEKKÜR ..... **IV**
ÖZET ..... **V**
ABSTRACT ..... **VI**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **VII**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **VIII**
KISALTMA LİSTESİ ..... **IX**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Larenksin Benign Neoplazmları 3
2.1.1. Vokal kord nodülleri 3
2.1.2. Vokal kord polipleri 5
2.2. Larenksin Malign Neoplazmları 6
2.2.1. Anatomi ve embriyoloji 6
2.2.2. Larenks kanseri tanısı 7
2.2.3. Larenks kanserlerinde evreleme 8
2.2.4. Larenks kanserlerinde tedavi 10
2.2.4.1. Glottik kanser tedavisi 11
2.2.4.2. Subglottik kanser tedavisi 15
2.2.4.3. Supraglottik kanser tedavisi 15
2.2.4.4. Transglottik kanser tedavisi 15
2.3. Laringeal Oksidatif Stres ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) 16
2.3.1. Oksidatif stres vereaktif oksijen türleri 16
2.3.2. Guanin bazında oksidatif hasar oluşumu 16
2.3.3. Sigara ve 8-Hidroksiguanin ilişkisi 18
2.3.4. DNA Onarım-hasar dengesi 19
2.3.5. 8-OHdG Üretiminin artışı ve ölçüm metodları 20
3. GEREÇ ve YÖNTEM **22**
3.1. Doku, Kan ve İdrar Örneklerinin Alınması 24
3.2. 8-OHdG Tayini 24
3.3. İdrarda Kreatinin Tayini 26

3.4. İstatistiksel Analiz 26
4. BULGULAR 27
4.1. Demografik Bulgular 27
4.2. Kan ve İdrar 8-OHdG Değerleri 28
4.3. Doku 8-OHdG Değerleri 31
5. TARTIŞMA 33
SONUÇ ve ÖNERİLER 39
KAYNAKLAR 40

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nın 28/01/2013 tarih ve 9 sayılı yazısı ile "**Laringeal Biyopsi Yapılan Hastalarda Oksidatif Stresin Biyogöstergesi Olan 8-OHdG Miktarının Biyopsi Materyali, Kan, İdrarda Ölçülmesi**" adlı tez konusunun araştırma görevlisi Dr. M. Recai MAZLUMOĞLU tarafından çalışması uygun görülmüştür. Seçilen konu incelenmek üzere Atatürk Üniversitesi İlaç Dışı Etik Kurulu Başkanlığı'nca görüşülmüş ve 26/12/2013 tarih ve 01 sayılı oturumunun 7 nolu kararı ile etik kurallara uygun görülmüştür.

Çalışma Cerrahi Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nca 11/04/2013 tarih ve 1 sayılı oturumunun 1 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir. 13.03.2014

Prof. Dr. Enver ALTAŞ

KBB Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamın her aşamasında ilgisini, her konuda desteğini, değerli bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez hocam Doç. Dr. Özgür YÖRÜK'e, uzmanlık eğitimim süresince bana yol gösteren, geniş bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarım Prof. Dr. Enver ALTAŞ'a, Prof. Dr. Bülent AKTAN'a, Prof. Dr. Harun ÜÇÜNCÜ'ye ve Yrd. Doç. Dr. Vahit MUTLU'ya

Örneklerin biyokimyasal değerlendirilmesine katkıda bulunan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a, Yrd. Doç. Dr. Hakan ALP'e, verilerin istatistiksel analizine katkıda bulunan Halk Sağlığı Anabilim Dalı Araştırma görevlisi Dr. Ercan Özyıldırım'a ve biyopsilerin değerlendirilmesinde emeği geçen tüm Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve çalışanlarına,

Asistanlık dönemim boyunca dostluklarını ve desteklerini daima yanımda hissettiğim asistan arkadaşlarıma, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda görevli tüm hemşire, teknisyen ve personel arkadaşlarıma,

Beni özveri ve sabırla yetiştiren, her türlü maddi ve manevi imkanlarını esirgemeyen saygıdeğer babam Hasan Mazlumoğlu ve annem Emine Mazlumoğlu'na, hayatım boyunca her an desteklerini arkamda hissettiğim çok sevgili abim Abdurrahim Mazlumoğlu ve ablam Hayrunnisa Çavuşoğlu'na ve canım kardeşim Sertaç Mazlumoğlu'na,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Muhammet Recai MAZLUMOĞLU

ÖZET

Laringeal Biyopsi Yapılan Hastalarda Oksidatif Stresin Biyogöstergesi Olan 8-OHdG Miktarının Biyopsi Materyali, Kan, İdrarda Ölçülmesi

Amaç: Vokal kord patolojilerinin ilk semptomu ses kısıklığıdır. Vokal kord lezyonları benign mukozal patolojiler olabileceği gibi larenks kanseri de olabilir. 8-OHdG metabolizmanın uğradığı oksidatif DNA hasarının biyogöstergesi olarak, kanserle ilişkisi son yıllarda araştırılan bir biyomoleküldür. Bu çalışmada laringeal patolojisi bulunan hastalarda, 8-OHdG ölçümleriyle laringeal oksidatif DNA hasarlarının karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: 2012-2014 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda vokal kord benign mukozal lezyonu (nodül ve polip) sebebiyle lezyon eksizyonu veya larenks kanseri tanısıyla total larenjektomi yapılan 53 hasta ve 64 kişilik kontrol grubundan oluşan toplam 117 kişi incelendi. Vokal kordda benign lezyonu bulunan hastaların; eksizyon materyali, larenjektomi yapılan hastaların; tümöral doku, tümör içermeyen larenks mukozası, kan ve idrar örnekleri, kontrol grubundan ise; kan ve idrar örnekleri alınarak 8-OHdG seviyeleri değerlendirildi ve 6 grup oluşturuldu; Grup 1: Kontrol-Sigara Kullanmamış, Grup 2: Kontrol-Sigara Kullanıp Bırakmış, Grup 3: Kontrol- Sigara Kullanan Grup 4: Larenks Kanser Tanılı Hasta (Tümöral Doku) Grup 5: Larenks Kanser Tanılı Hasta (Non-Tümöral Mukoza) Grup 6: Benign Vokal Kord Lezyonu Bulunan Hasta (Nodül-Polip).

Bulgular: 8-OHdG seviyeleri sigara kullanmamış kontrol grubu, sigarayı bırakmış kontrol grubu, sigara kullanan kontrol grubu ve larenks kanserli hasta grubu arasında değerlendirildiğinde hem kan, hem de idrar seviyeleri larenks kanserli hasta grubunda diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0.000). 8-OHdG tümör dokuları, non-tümöral mukoza ve nodül-polip dokuları arasında değerlendirildiğinde tümör dokularındaki seviyelerin diğer dokulardan anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu (p=0.000).

Sonuç: Larenks kanseri kan ve idrara yansıyan tümöral dokuda lokalize bir oksidatif strese neden olur. Larenks kanserinde doku ve idrar 8-OHdG seviyelerinin ölçümüyle hastalığın tanı ve prognozuyla ilgili fikir sahibi olabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünüldü. Metabolizmanın sigara dumanı sebebiyle maruz kaldığı oksidatif stresi kan ve idrardaki 8-OHdG seviyelerine göre yorumlamanın uygun olmadığı görüldü.

Anahtar Sözcükler: Oksidatif stres, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), Larenks Kanseri

ABSTRACT

Measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine Level of Laryngeal Biopsy Performed Patient's Urine, Tissue and Blood as a Bioindicator of Oxidative Stress

Aim: Disphony is the first symptom of vocal fold pathologies. Vocal fold lesions may be larynx cancer as well as benign mucosal pathologies. Recently8-OHdG has been under investigation about its relationship with cancer as a bioindicator of oxidative DNA damage. İn this study we aimed to comporeDNA damage in patients with measuring 8-OHdG levels.

Materials and Methods: Inthis study 117 participient were evaluated, 64 of them were included in control group an 53 of them were patients with total laryngectomy due to diagnosis of larynx cancer or benign mucosal lesions (nodule-polip) excision from vocal folds in Ataturk University Medical Faculty Ear, Nose and Throat Department in between 2012-2014. 6 groups are formed by examining 8-OHdG levels in excision material of patients with benign vocal fold lesion and tumoral tissue, non-tumoral containing larynx mucosa, urine and blood samples of patients laryngectomy and control group urine and blood samples. Group 1: Control-never smoke, Group 2: Control-give up smoking, Group 3: Control-smoking, Group 4: Larynx cancer patient-tumoral tissue, Group 5: Larynx cancer patient-nontumoral tissue, Group 6: Nodule-polip.

Findings: 8-OHdG levels of larynx cancer patients' urine and blood samples have been found significiantly increased compared to never smoke control group, give up smoking control group, smoking control group (p=0, 000). On the other hand, 8-OHdG levels have been found significiantly incresed through tumoral tissues than non-tumoral mucosa and nodule-polip tissues (p=0,000).

Results: Larynx cancer leads a localized oxidative stres in tumoral tissue reflecting blood and urine. It has been considered that more studies are needed to evaluate the volue of 8-OHdG level measurement in diagnosis and prognosis of larynx cancer. Additionally, it has been shown that urine and blood 8-OHdG level interpretation through cigarette smoke exposure is not appropriate foroxidative stres assesment.

Keywords: Oxidative stres, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8- OHdG), larynx cancer

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Grupların demografik özellikleri 28
Tablo 2. Kan ve idrar 8-OHdG değerlerinin karşılaştırılması..... 29
Tablo 3. Doku 8-OHdG/10^6dG değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması 31

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hidroksil radikali ile guanin bazının reaksiyonu 17
Şekil 2. Guanin ürünlerinin oluşumu..... 18
Şekil 3. 8-Hidroksi-2'–deoksiguanozin 21
Şekil 4. Kandaki 8-OHdG/10^6dG değerlerinin gruplara göre değişimi..... 30
Şekil 5. İdrardaki 8-OHdG değerlerinin gruplara göre değişimi..... 30
Şekil 6. Dokudaki 8-OHdG/10^6Dg değerlerinin gruplara göre değişimi 32

KISALTMA LİSTESİ

AJCC	American Joint Commitee on Cancer
BER	Base excision repair, baz çıkarma onarım yolağı
C	Karbon
CE-EC	Kapiller elektroforez-elektrokimyasal tayin
ELISA	Enzim bağlı immün assay
FAL	Frontoanterior larenjektomi
FLL	Frontolateral larenjektomi
GC-MS	Gaz kromatografisi – kütle spektrometrisi
HOO•	Hidroperoksil radikali
HPLC-EC	Yüksek basınçlı likidkromatografisi - elektrokimyasal dedektör
HPLC-MS/MS	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi – tandem kütlespektrometrisi
LCMS/MS	Sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LCMS/MS)
NO•	Nitrik oksit radikali
OH•	Hidroksil radikali
O2-	Süperoksit anyon radikali
ROT	Reaktif oksijen türleri
SCC	Skuamöz hücreli karsinom
SOD	Süperoksit dismutaz
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
8-OHdG	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
8-OHG	8-hidroksiguanin

1. GİRİŞ

Kulak Burun Boğaz kliniklerine ses kısıklığı sikayeti ile basvuran hastaların %50 'den fazlasında neden vokal kordun benign mukozal hastalıklarıdır (1). Vokal kordun benign mukozal lezyonları ile ilgili terminoloji tam olarak yerleşmemistir. Avrupa Larengoloji Topluluğu bu durumun tartışılmakta olduğunu bildirmistir (2, 3).

Rosen ve Murry organik ses hastalıklarını dört gruba ayırmışlardır: Lökoplaki, karsinom gibi lezyonları içeren epitel patolojileri, reinke ödemi, nodül, polip gibi lezyonları içeren lamina propria patolojileri, granülomatöz enfeksiyon gibi lezyonları içeren aritenoid patolojileri, web ve stenozu içeren diğer patolojiler başlıkları ile bir sınıflama yapmışlardır. Vokal kord nodülü ile polip ayrımı zordur. Çünkü her ikisi de süperfisyel lamina proprianın patolojik değişikliği olarak oluşmaktadır (4).

Larenks kanserleri tüm malignitelerin %2-5'ini ve baş boyun tümörlerinin de %20-25'ini oluşturur (5).

Vokal kord patolojilerinin ilk semptomu ses kısıklığıdır. Ses kaba, çatallı veyaeforlu tarzdadır. Hastalarda konuşma ve ses için zorlama bulunur. Bu lezyonların incelenmesinde detaylı bir öykü ve endoskopik tetkiki de içeren laringeal muayene kullanılır (6). Direkt laringoskopi ile larenksin ekstrensek ve intrensek tüm alanları gözlenir ve gerekirse biyopsi alınır. Larenksin direkt görüntülenmesinde rijid ve fleksibl endoskoplar kullanılabileceği gibi genel anestezi altında mikrolaringoskopi de kullanılabilmektedir (7).

Oksidatif stres, serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Serbest radikaller dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron içeren kısa ömürlü, oldukça kararsız ve etkin moleküller olarak tanımlanmaktadır. Bu moleküller genom instabilitesi, yaşlanma, dejeneratif hastalıklar ve malignite gibi pek çok oluşumda rol almaktadır.

Son yıllarda yapılan araştırmalarda oksidatif DNA hasar göstergesi olarak sıklıkla baz hasarlarının üzerinde durulmuştur. Guanin bazının 4,5 veya 8. pozisyonlarında yer alan karbon (C) atomlarına hidroksil (OH•) radikali katılarak çeşitli ürünler oluşturmaktadır. DNA'da yaklaşık 15 adet guanin ürünü tanımlanmıştır. Bunların içinde en fazla oluşanlardan birisi de 8-hidroksiguanin (8-OHG) ' dir. 8-OHG, DNA replikasyonu sırasında adenin ile yanlış eşleşme yaparak GC→TA

transversiyonuna sebep olmaktadır (8). 8-OHdG, 8-OHG'nin deoksiriboz'a bağlanmış şekli olan bir modifiye nukleozittir ve ekzonukleazlar olarak adlandırılan enzimlerin okside olmuş DNA'yı onardığında üretilen bir baz modifikasyonudur (9). İşte 8-OHdG metabolizmanın uğradığı oksidatif stres yükünün biyogöstergesi olarak, kanserle ilişkisi son yıllarda araştırılan bir biyomoleküldür.

Bu çalışma ile 8-OHdG'nin, benign, malign ve premalign laringeal patolojisi bulunan hastaların laringeal doku, kan, idrardaki miktarları belirlenerek oksidatif stresin ve laringeal patolojilerin biyogöstergesi olup olmadığı ve demografik-yaşam tarzına bağlı değişiklikler gösterip göstermediğinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

Vokal kord patolojilerinin ilk semptomu ses kısıklığıdır. Ses kaba, çatallı veya eforlu tarzdadır. Hastalarda konuşma ve ses için zorlama bulunur. Bu lezyonların incelenmesinde detaylı bir öykü ve endoskopik tetkiki de içeren laringeal muayene kullanılır (6).

2.1. Larenksin Benign Neoplazmları

Kulak Burun Boğaz kliniklerine ses kısıklığı sikayeti ile basvuran hastaların %50 'den fazlasında neden vokal kordun benign mukozal hastalıklarıdır (1). Bu benign neoplazmlar, inflamatuar hastalıklardan sonra en sık görülen patolojilerdir. Larenksin benign neoplazmları, enflamatuar psödotümörler ve gerçek benign neoplazmlar olmak üzere başlıca iki grupta toplanır. Birinci grup içinde vokal kord nodülleri, vokal kord polipleri, ventriküler eversiyon, larenks amiloidozu, reinke ödemi ve larenks granülomları bulunur. İkinci grupta ise kistik neoplazmlar, larengosel, sulkus vokalis, lipom, vasküler tümörler, kondrom, Abrikossof tümörleri, nörojenik tümörler, plazmositomlar, glandüler tümörler, fibrom ve papillomlar bulunur. Bu neoplazmların bazıları medikal tedavi, bazıları ses terapisi ve bazıları ise cerrahi tedaviyi gerektirir.

2.1.1. Vokal kord nodülleri

Yanlış fonasyon tekniği sebebiyle vokal kordlardaki kronik travmaya bağlı oluşan benign lezyonlardır (11).

Vokal kord nodülleri sıklıkla erkek çocuklarda ve kadınlarda görülür. Bu tip kişiler genellikle seslerini fazla kullanırlar. Mesleki faktörler ve içgüdülerinin sesi aşırı kullanmaya zorlamasının nodül oluşumundaki yeri önemlidir (12).

Vokal kordların yalnız ön 2/3'ü (membranöz kısım) vibrasyona katılır. Çünkü aritenoid kıkırdaklar arka 1/3'te yer alır. Çok güçlü veya uzun süre devam eden vibrasyonlar membranöz kısmın ortasında ödem ve konjesyona yol açar. Sesin uzun süre kötü kullanılması Reinke'nin potansiyel boşluğunda hyalinizasyon, muhtemelen de üzerindeki epitelde kısmi kalınlaşmaya neden olur. Nodüllere bağlı mukozal kitledeki değişim, kordun serbest kenarının incelme yeteneğinde azalma ve yetersiz glottik kapanma sonucu vokalsemptomlara neden olur (13).

Histopatolojik olarak, epitel hiperplazisi ve ödem görülen kapiller ağdan zengin hücre infiltrasyonundan oluşan inflamatuar koryon tabakası izlenir. Nodül ve polipleri histopatolojik olarak ayırt etmek mümkün değildir (10).

Hastalar kronik veya tekrarlayan ses kısıklığı tarif ederler. Bazen ses kısıklığı bir üst solunum yolu enfeksiyonu ya da akut larenjitten sonra başlar fakat daha sonra tam olarak iyileşmez. Bu durumu hasta enfeksiyona bağlayıp eski alışkanlıklarına devam eder. Kronik nodülü olan şarkıcılar, nodül orta boyuta ulaşmadığı sürece konuşma sesindeki değişiklikten habersizdir (13).

Nodüllü hastalarda bazen larenksin indirekt incelemesi normaldir ve larenksin kronik larenks irritasyonu olarak kabul edilir. Bu tür hastalara videostroboskopi uygulanması çok küçük değişiklikleri bile gösterebilir. Nodüller büyüklük, simetri ve renk gibi özellikleri açısından değişiklik göstermektedir. Bunlar genellikle nodülün ne kadar süredir var olduğuyla ilgili özelliklerdir (14, 15). Nodüller genellikle bilateral ve simetriktir. Bazen büyüklükleri asimetrik veya tamamen tek taraflı olabilir. Tek taraflı olduğunda karşı tarafta bir çukurlaşma olabilir. Nodüller hemisferik, konik veya boyu eninden fazla bir görüntüdedir. Klasik olarak dikensi veya nodotize olarak belirtilir (15, 16).

Tedavide medikal, davranışsal ve cerrahi tedavi olarak üç yaklaşım vardır. Medikal tedavi, larenksin hidrasyonu ve yağlanmasına odaklıdır. Ayrıca sekonder olarak alerji ve reflü tedavi edilebilir (13). Davranışsal tedavide, vokal kord nodüllerinin etyolojisinin temelde davranışsal olduğu göz önüne alınır ve şikayetleri enfeksiyon sonrası başlayan hastalarda bile ses terapisi primer önem taşır. Özellikle şarkıcı olmayan hastalarda semptomlarda düzelme izlenir. Buna rağmen aylardan yıllara kadar süregelmiş nodüller, alanında tecrübeli kişiler tarafından yapılan ses terapisine rağmen gerilemeyebilir. Semptomlardaki düzelme ile görülen bulguların kaybolması arasında tam bir ilişkiden söz edilemez (17). Cerrahi tedavi, nodül küçülmesine rağmen kaybolmuyorsa veya en az 3 aylık ses terapisine rağmen hasta sesinden memnun değilse düşünülür. Yapılan hassas cerrahi müdahale ile alınan sonuçlar şarkıcılarda bile yüz güldürücüdür. Cornut ve Bouchayer, laringeal mikrocerrahi ile tedavi ettikleri 160 şarkıcı üzerinde yaptıkları çalışmada vakaların çoğunda şarkı söyleme sesinin tüm özellikleriyle tamamen geri döndüğünü bildirmişlerdir (18).

2.1.2. Vokal kord polipleri

Vokal kord poliplerine daha çok erkeklerde rastlanmakta ve etyolojisi nodüllere göre farklılık göstermektedir. Bazı hastalarda şiddetli bir ses eforundan sonra oluşmakta ve hasta bunun tarihini net olarak belirtmektedir. Genellikle akut larenjite yol açan faktörler poliplere de neden olabilmektedir (10). Bazı hastalarda aspirin ve antikoagülan kullanma hikayesi vardır.

Anjiyomatöz polip şiddetli ve uzamış bir ses eforu sonrası görülebilir. Subepitelyal küçük bir damarın travmasına yol açan aşırı bir ses çabası, vokal kordun serbest yüzeyi veya üst yüzünde anjiyomatöz bir polibin oluşmasına neden olabilir (10)

Ödematöz, enflamatuar, fibröz ve hyalen tipler larenjitlerde bulunan sıradan enflamatuar proseslerdir. Histolojik olarak psödomiksomatöz larenjit, ödematöz polipten ayırt edilemez (10).

Poliplerin, vokal kordların serbest kenarına, membranöz kısmına ve orta bölümüne yerleşmesi doğaldır. Çünkü bu noktada ekstrensek faktörlerin yeni etkileri ve vokal travmalar üst üste eklenmetktedir (19).

Hemorajik polipler, tipik nodüllerden genellikle daha büyüktürler ve erken evrede koyu ve kanamalı görülebilirler. Uzun süreli hemorajik polipler ise vasküler yapısını kaybederek saplı hale gelebilir ve solunum esnasında glottisten içeri ve dışarı hareket edebilirler. Ses çıkarma esnasında bu polip vokal kordun üstüne çıkarak fonasyonu etkilemeyebilir (13).

Tedavide medikal, davranışsal ve cerrahi olarak üç tedavi yöntemi vardır. Medikal tedavide, mümkünse antikoagülan ilaçlar kesilip, reflü kontrol altına alınmalıdır. Davranışsal tedavide, hastalara kısa süreli ses terapisi verilir ve ses bakımı hakkında bilgilendirilir. Bazı erken ve küçük hemorajik polipler birkaç ay süren konservatif tedaviden sonra tamamen kaybolabilir. Cerrahi eksizyon genel olarak vokal kordun görüntüsünü düzeltmek, titreşim fonksiyonu ve ses kapasitesini geri kazandırmak için yapılır. Yakın bir zamanda gelişen hemorajik polipler küçük bir insizyonla boşaltılabilir çünkü bunların emilimi uzun zaman alıp kronik hemorajik polipe dönüşebilir. Uzun süreli poliplerde traşlama da yapılmalıdır. Polip dışında vokal kord hareketini sınırlayıcı bir lezyon yoksa dikkatli bir eksizyondan sonra fonasyon fonksiyonları mükemmel olarak geri döner (13).

2.2. Larenksin Malign Neoplazmları

Diğer organ sistemlerinin kanserleriyle kıyaslandığında larenks kanserinin insidansı oldukça düşüktür. Larenks kanseri dünyada 1 yıl içerisinde tanı konulan kanserlerin yaklaşık %2-5'ini oluşturur. Bir başka bakış açısıyla larenks kanserinin başka organ kanserlerine oranı erkeklerde 1/54, kadınlarda ise 1/775'tir (20).

Larenks kanseri erkeklerde kadınlara göre 5 kat daha sık görülür. En sık yerleşim yeri glottik bölge olmakla birlikte (%55-75), ikinci sıklıkta supraglottik (%24-42), en nadir olarak da subglottik bölgede (%1-6) görülür. (10). Ayrıca en sık 5, 6 ve 7. dekatlarda görülürler.

Larenks kanserinin en büyük etkeni sigara kullanımıdır. Sigara içmeyenlerde larenks kanseri görülme oranı son derece düşüktür. Kanser riski içilen sigara miktarı ile doğru orantılıdır ve nitrozaminleri emen filtrelerin kullanılması halinde kanser gelişme riskinin düştüğü bildirilmiştir. Sigaranın bırakılmasından 5-6 yıl sonra kanser gelişme riski düşmeye başlar ve 10-15 yıl sonra hiç sigara içmeyenlerle eşit seviyeye geriler (21, 22).

Alkolün etkisi sigaranın etkisini artırıcı yöndedir ve glottik bölgeden çok supraglottik kanserlerde etkendir (10).

Larengeal kanserlerin herediter predispozisyonu bu hastalarda belirlenen arilhidrokarbon hidroksilaz düzeylerina bağlanmıştır. Herpes simplex enfeksiyonundagözlenen larenks kanseri insidansındaki artış da bu hastalardaki baskılanmış immüniteye bağlanmıştır. Bunlar dışında laringoseller ve p53 gen mutasyonu suçlanan diğer etkenlerdir. Düşük doz radyasyonun tiroid ve tükrük bezlerinde kanserojen etkisi gösterilmesine karşın larenks kanserine etkisi gösterilememiştir (23-25).

2.2.1. Anatomi ve embriyoloji

Larenksin embriyolojik gelişimi ve anatomisi laringoloji uzmanları tarafından incelenmiş olup kanserin biyolojik yayılımı ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür. Supraglottis, glottis ve subglottis olarak yapılan cerrahi bölünme anatomik ve embriyolojik olarak uyumludur ve tarihsel olarak tümör invazyon ve davranışlarını öngörmede değer taşımıştır. Supraglottisin bukkofaringeal primordiumdan orta hat

birleşmesi olmadan geliştiği gösterilmiş ve orta hat bariyeri oluşmadığından bilateral hastalık riski ortaya konmuştur. Oysa glottik bölgedeki tümörler sıklıkla ipsilateral metastaz yapmaktadır (26).

Supraglottik bölge ventriküler bandlar, aritenoid kıkırdaklar, epiglot ve ariepiglottik bandları içerir. Larengeal ventriküller seviyesinden geçen horizontal hat supraglottik ve glottik bölgelerin sınırını oluşturur. Glottik bölgenin alt sınırını ise vokal kordların serbest kenarının 1 cm altından geçen horizontal hat belirler. Subglottik bölge de bu hat ile krikoid kartilaj alt kenarına kadar olan bölgedir (27).

Preepiglottik boşluk, süperiorda hyoepiglottik ligaman ile vallekular mukoza, anteriorda tirohyoid membran ile tiroid kıkırdak, posteriorda ise epiglot ile tiroepiglottik ligaman tarafından sınırlanır. Paraglottik boşluk larenks girişinin dışında lokalizedir ve tiroid ala, konus elastikus ile kuadrangüler membrandan oluşur. Posteriorda paraglottik boşluğu sinüs priformisi örten mukoza sınırlar. Bu boşluk infero-anteriorda tiroid ve krikoid kıkırdaklar arasındaki boşlukla devamlılık gösterir ve tümörün larenks dışına invazyonuna potansiyel olanak sağlar (28).

Bu kıkırdaklar ve membranlar endolarengeal tümörün yayılımını engelleyen doğal bariyerlerdir. Epiglot üzerinde çok sayıda delikler bulunur ve epiglotun larengeal yüzeyinde bulunan tümör bu delikler yoluyla preepiglottik bölgeye ulaşır. Ön kommisür diğer bir potansiyel tümör yayılım noktasıdır. Çünkü bu kısımda tiroid kartilajın iç perikondriumu yoktur, dolayısıyla zayıf bir bölgedir. Supraglottik lenfatikler tirohyoid membran üzerinden drene olurken, subglottik lenfatikler krikotiroid membran üzerinden drene olur. Glottik bölgenin lenf drenajı olmadığı için bu bölgedeki tümörler paraglottik bölge ve ön kommisür yoluyla tiroid kartilaj invazyonu yaparak yayılır (27).

2.2.2. Larenks kanseri tanısı

Kanser dernekleri ve hekimler, toplumu dört haftadan daha uzun süren ses kısıklığı olması durumunda mutlaka hekime başvurmaları konusunda eğitmişlerdir (26).

Glottik lezyonlarda ses kısıklığı erken belirtidir ve vokal kordların normal vibrasyonunun bozulması sebebiyle oluşur. Daha ileri glottik lezyonlarda ise boğaz ağrısı, otalji ve solunum sıkıntısı şikayetlerioluşabilir. Supraglottik kanserlerde ise ses kısıklığından çok ‘‘hım hım’’ konuşma ya da ‘‘sıcak patates sesi-hot potato voice’’ diye

tarif edilen ses değişikliği ortaya çıkar. Odinofajiye supraglottik kanserlerde ses kısıklığından daha sık rastlanır. Refere otalji, boyunda kitle, disfaji, hemoptizi, kilo kaybı, solunum yolu obstrüksiyonu oluşabilecek diğer semptomlardır. Subglottik tümörler havayolu obstrüksiyonu oluşuncaya kadar hiç belirti vermeyebilir ve bu sırada kanser çok ilerlemiş olabilir (27).

Ses kısıklığı ya da belli belirsiz boğaz yakınmaları bulunan bir hastada larengeal muayene çok önemlidir. Muayenede bütün larengeal yapıların üzerini örten mukoza dikkatlice incelenmelidir. Muayene ayna ya da fiberoptik endoskopla yapılabilir ve amacı mukozanın görünümünü ve yapısını değerlendirmek, endolarengeal kitle ya da ülserleri incelemek, vokal kord hareketlerini izlemektir. Özellikle tuzak bölgeler olan vallekula, piriform sinüsler ve subglottik alana dikkat edilmelidir. Klinik muayenenin son aşaması boyun palpasyonudur ve lenfadenopati varlığı, larengeal kıkırdaklar, preepiglottik boşluk değerlendirilmelidir (27).

Genel anestezi altında yapılan direkt larengoskopi ameliyat öncesi evrelendirme için çok önemlidir. Bu sırada biyopsi de alınabilir. Biyopsi alınırken şüpheli lezyonların nekrotik kısımlarından yapılan biyopsiler yanlış negatif sonuçlar verebilir. Diagnostik larengoskopide ventrikül ve subglottik bölgeler tartışmalı alanlardır. Özellikle vejetan, büyük tümörlerde bu bölgeler hakkında kesin tanı cerrahi eksplorasyon sonrası konur ve yapılacak cerrahinin kararı bu sırada verilebilir. Rutin olarak özefagus, trakea sekonder primer tümörler açısından incelenmelidir (29).

Bilgisayarlı tomografi tümörün hacmi, uzanımı, kıkırdak invazyonu ve muayenede görülemeyen bölgelerin durumu hakkında çok önemli bilgiler verir. Manyetik rezonans görüntülemede ise submukozal tümör uzanımını bilgisayarlı tomografiden daha iyi değerlendirilir. Ama bugün iki nedenle bilgisayarlı tomografi manyetik rezonans görüntülemeye tercih edilmektedir; bilgisayarlı tomografi çok daha ucuzdur ve boyun metastazlarını göstermekte ikisinin değeri aynıdır (29).

2.2.3. Larenks kanserlerinde evreleme

Larenks kanserli hastalarda TNM evrelemesi; T (tümör), N (lenf nodu), M (metastaz), American Joint Commitee on Cancer (AJCC) 2002 kriterlerine göre yapıldı (30).

Supraglottis

- T1: Unilateral, supraglottisin bir bölgesine sınırlı
- T2: >1 supraglottik bölgede veya glottis, vallekula, dil kökü, piriform sinüs medial duvarı tutulumlarından biri
- T3: Vokal kord fiksasyonu veya preepiglottik boşluk, postkrikoid tutulumlardan birisi
- T4a: Tiroid kıkırdak tutulumu veya nonlaringeal yumuşak doku tutulumu
- T4b: Prevertebral boşluk veya mediasten invazyonu, karotis invazyonu

Glottis

- TX: Primer tümör değerlendirilemedi
- T0: Primer tümörü gösteren bir bulgu yok
- T1: Tümör vokal kord (lar) ile sınırlı (anterior veya posterior komissürü tutabilir), mobilite normal
- T1a: Tümör bir vokal kordla sınırlı
- T1b: Tümör her iki vokal kordu da tutmuştur
- T2: Tümör supraglottis veya subglottise yayılmış veya vokal kord mobilitesi bozulmuş
- T3: Vokal kord fikse durumdayken larenks dışına çıkmamış tümör veya paraglottik boşluğu invaze etmiş veya minör tiroid kıkırdak erozyonu mevcut
- T4a: Tiroid kıkırdak tutulumu veya nonlaringeal yumuşak doku tutulumu
- T4b: Prevertebral boşluk veya mediasten invazyonu, karotis invazyonu

Subglottis

- T1: Subglottise sınırlı
- T2: Vokal korda yayılmış, vokal kord hareketi normal ya da kısıtlı
- T3: Vokal kord fiksasyonu
- T4a: Tiroid kıkırdak tutulumu veya nonlaringeal yumuşak doku tutulumu
- T4b: Prevertebral boşluk, mediasten veya karotis invazyonu

Bölgesel lenf nodları (N)

N0: Lenf nodu negatif

N1: Tek taraflı 3 cm den küçük lenf nodu

N2a: Tek taraflı 3 cm den büyük 6 cm den küçük lenf nodu

N2b: Tek taraflı 6 cm den küçük lenf nodları

N2c: Bilateral veya kontralateral birden fazla 6 cm den küçük lenf nodları

N3: Tek yada birden fazla 6 cm den büyük lenf nodu

Uzak metastaz (M)

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

Evreleme

Evre I; T1

Evre II; T2

Evre III; T3 veya N1

Evre IVa; T4a veya N2

Evre IVb; T4b veya N3

Evre IVc; Uzak metastaz

2.2.4. Larenks kanserlerinde tedavi

Larenks kanserlerinin tedavisinde günümüzde geçerli iki ana tedavi yöntemi mevcuttur; cerrahi ve radyoterapi. Kür amaçlı primer tedavi olarak uygulanan radyoterapi başarısızlığında kurtarma tedavisi olarak cerrahiye başvurulmaktadır. Ayrıca, planlanmış tedavi olarak radyoterapi+cerrahi veya cerrahi+radyoterapi ve larenks koruma tedavisi olarak planlanan kemo-radyoterapi uygulanmaktadır. Kemoradyoterapi başarısız kaldığında da yine kurtarma cerrahisi tek seçenektir. Bütün bunlar cerrahi tedavinin en sık başvurulan tedavi şekli olduğunu gösterir (27).

Her tedavi yönteminin avantaj ve dezavantajları vardır. Hekimin, hasta için en uygun tedaviyi planlaması ve bir yönteme körü körüne bağlı kalmaması gerekir. Larenksteki tümörün yeri, yayılımı, evresi, boyun metastazlarının varlığı, hastanın genel durumu, hangi tedaviyle en çok kür şansının olabileceği ve larenks işlevlerinin ne kadar korunabileceği, hastanın ve hekimin tercihi, tedavi seçimi konusunda öncelikli parametrelerdir (27).

2.2.4.1. Glottik kanser tedavisi

Histolojik olarak genellikle iyiden orta dereceye kadar diferansiye olup, erken hastalık boyun metastazı olmaksızın daha uzun süreyle glottik kompartmana sınırlı kalır. Bunun olası nedenleri vokal korddaki seyrek submukozal lenfatik ağ ve iyi diferansiye bir karsinomun biyolojik davranışıdır (26).

Premalign lezyonlarda tedavi: Glottik bölge premalign lezyonlarında mikrolarengoskopik stripping en sık uygulanan tedavi şeklidir. Mikrolarengoskopik transoral eksizyon konvansiyonel süspansiyon mikrolarengoskopi aletleriyle yapılabildiği gibi, lazer de uygulanabilir. Kontrollerde malign hücre varsa ya kordektomi yada radyoterapi uygulanır. Larengoskopik kontrollerin negatif biyopsi bulgularına rağmen 2-3 ayda bir tekrarı ve hastanın sigara ve alkolden uzak durması önerilir (31, 32).

Erken evre glottik tümörlerde tedavi: Vokal kordların erken evre tümörleri hakkında tam bir görüş birliği bulunmamaktadır. Genellikle T1-T2 glottik tümör erken evre olarak kabul edilirken, son zamanlarda bazı seçilmiş T3 tümörlerde bu grupta kabul edilmektedir. Buna karşın kord mukozasının laminapropriasında sınırlı, kord hareketlerini bozmamış tümörlerin erken evreli olarak kabul edilmesi öne sürülmektedir. Vokal kordların T1 tümörleri olarak milimetrik boyutta çok sınırlı tümörden her iki kordu boydan boya yüzeysel olarak tutan tümöre kadar geniş spektrumlu tümörler anlaşılmaktadır. Bu nedenle supraglottik tümörlerdeki gibi tek bir cerrahi tedavi şekli söz konusu değildir (27).

Konvansiyonel mikrolarengoskopik rezeksiyon: Süspansiyon larengoskopisi ile mikropens ve mikromakaslar ile yapılan rezeksiyonda vokal kord 1/3 orta kısımda

lokalize yüzeyel lezyonların rezeksiyonu, stripping ve rezeksiyon şeklinde yapılır. Ön kommisüre uzanan lezyonlarda emniyetli rezeksiyon sınırı sağlanamaz (27).

Mikrolarengoskopik lazer cerrahisi: Lazer ile kord mukozası soyulabildiği gibi parsiyel ve total kordektomi de yapılabilir. En uygun lokalizasyon vokal kordun 1/3 orta kısmıdır. Ön kommisüre yakın T1 tümörlerde nüks oranı yüksek bulunmuştur (27).

Radyoterapi: Mobilmembranöz vokal kord kanserinin tedavisi geleneksel olarak radyoterapidir. Erken glottik kanserlerde radyoterapinin cerrahiye oranla sesi daha iyi koruduğu ileri sürülmektedir. Premalign lezyonlarda, insitu karsinom, ciddi displazi, mikroinvaziv karsinom ve displazinin hafif, orta şekilleri genellikle bir arada bulunur. Glottik düzlemde, uzun süre aynı kanserojene maruz kalındığı için " alan kanserizasyonu" nedeniyle malign tümör ile hastalıklı mukoza bir aradadır. Radyoterapi glottik kanseri yok eder, ancak hastalıklı mukozayı sağlamlaştırmaz. Özellikle premalign lezyonlarda radyoterapi yerine endoskopik mikrolarengoskopik tedavi daha ucuz, daha kısa zaman alan ve aynı küratif tedavi şansı tanıyan bir seçenektir. Radyoterapide kür şansı ön ve arka komissüre yaklaşan tümörlerde azalmaktadır. Bu lezyonlardaradyoterapiden sonraki başarısızlıklarda, çoğu kez parsiyel larenjektomi olanağı azalmaktadır (29, 33, 34).

Konvansiyonel vertikal parsiyel larenjektomi teknikleri: Glottik erken evreli tümörlerde uygulanan bu yöntemler; larengofissür kordektomi, frontolateral larenjektomi (FLL), frontoanterior larenjektomi (FAL) ve standart hemilarenjektomidir. Bu yöntemler transservikal açık cerrahi tekniklerdir.

Larengofissür kordektomi ve modifikasyonları erken glottik kanserler için temel koruyucu cerrahi girişimlerdir. Larenks kanser cerrahisinin en eski yöntemidir. Uygun endikasyonda %95'in üzerinde kür şansı vardır. Endikasyon olarak vokal kordun hareketini bozmayan, arkada vokal prosese, önde ise ön komissüre uzanmayan T1 glottik tümörlerde uygulanır. Kordektomide, kordun tümü ön komissürden arkada vokal prosese kadar ventrikül tabanı, subglottik mukoza ve iç perikondrium ile birlikte enblok olarak çıkarılır. Kordektomiden sonra larengoplasti zorunlu değildir. Genellikle çıplak alan sekonder iyileşmeye bırakılır. Gelişen skar dokusu yeni vokal kord görevini üstlenir (27).

Frontolateral ve frontoanterior larenjektomi, özellikle ön kommisür tutulumu olan olgularda uygulanan yöntemlerdir. Larenks glottik kanserlerinin yaklaşık1/3'ünde tanı sırasında ön komissüre uzanım vardır. Ön komissür, larenks kanseri tedavisinde üzerinde önemle durulması gereken bölgedir. Glottik ve orta hat supraglottik kanserlerde potansiyel yayılım yoludur (35).FLL ve FAL teknikleri ön komissürde lokalize veya karşı vokal korda geçen, kordun 1/3 anterior bölümünden fazla rezeksiyon gerektirmeyen (T1a, T1b) glottik kanserlerde uygulanır. Bu teknikler aslında larengofissür kordektominin genişletilmiş modifikasyonlarıdır. FLL'de rezeksiyona vokal kord, ön komissür ve karşı kordun 1/3 anterior kısmı ile tiroid kıkırdak vertikal anterior segmenti dahil edilir. FAL'de ön komissür ile her iki kordun 1/3 ön bölümü santral tiroid kıkırdak ile en blok olarak çıkarılır. Rezeksiyondan sonra oluşan defekt için rekonstrüksiyon gerekli değildir. Primer kapatılır ya da sekonder iyileşmeye bırakılabilir. Karşı kordun yarısından fazla rezeksiyon gerektiren bilateral glottik tümörlerde larengoplastili genişletilmiş FLL ve FAL teknikleri uygulanabilir. Uygulanan diğer yöntemler; Tucker'ın epiglottik larengoplastili neartotal larenjektomi tekniği, horizontal glottektomi (tirokrikoidopeksi), krikohyoidoepiglottopeksi, krikohyoidopeksi ve hemilarenjektomi teknikleridir (27).

İleri evre glottik tümörlerde tedavi: Glottisin T3-T4 ileri evre tümörlerinde uygulanan cerrahi tedavi total larenjektomi ve onun alternatifi olan subtotal larenjektomidir. Konservasyon cerrahisinde uygun bir rekonstrüksiyonla işlev görebilen bir larenks kalması için bulunması gereken en küçük ünite "aritenoid ünitesi"dir. Aritenoid ünitesi, hareketli aritenoid, ona bağlı vokal kord ve ventriküler bandın bir bölümü ve sağlam krikoid bölgelerini içerir. Krikoid bölgesi konservasyon cerrahisinin sınırıdır. Krikoid bölgede lenfatik drenaj sirküler tarzda olup parsiyel rezeksiyona onkolojik yönden olanak tanımaz (27).

Erken seçilmiş T3 olarak vokal kasın (m. thyroarytenoideus internus) infiltrasyonu veya tiroid iç perikondriumunu fikse ederek kordun hareketini engelleyen; ancak, krikoid ve tiroid kıkırdağı tutmayan, krikoaritenoid eklemi infiltre etmeyen unilateral paraglottik bölge tutulumu anlaşılmaktadır. Bu durumda yapılacak rezeksiyondan sonra uygun rekonstrüksiyonla larenksin 3 ana fonksiyonu respirasyon, fonasyon ve aspirasyonsuz yutma sağlanmaktadır (27).

Cevanşir'in (36) larengostomalı iki evreli horizontal vertikal (3/4) larenjektomisi'nin T3 transglottik tümörler için 5 yıllık kür oranı %73'tür.

Totale yakın (neartotal) larenjektomi: 1980 yılında Pearson (37) tarafından T3 glottik lezyonlarda total larenjektomiye alternatif olarak, genişletilmiş hemilarenjektomi adıyla tanımlanmıştır. Bu teknik fonasyonu sağlamaya yönelik olup, kalıcı trakeotomi gerektirmektedir. Bu nedenle konservasyon cerrahisi olarak kabul edilemez. Near total larenjektomi geniş supraglottik tümörlerde yaygın dil kökü tutulumu nedeniyle aspirasyonu önlemek fonasyonu sağlamak için total larenjektomiye iyi bir alternatiftir (27).

Total larenjektomi: Standart ve genişletilmiş rekonstrüktif parsiyel larenjektomi tekniklerine rağmen ileri derecede invaze tümörler onkolojik olarak ancak total larenjektomi ile tedavi edilebilir. Total larenjektomi, solunum ve sindirim yollarının tam seperasyonu ve larenksin servikal trakea 3. ve 4. halkaları ile birlikte en blok rezeksiyonu ile uygulanan klasik cerrahi tekniktir. Günümüzde uygun endikasyon ve hasta seçimi ile total larenjektomi oranı %15-30'a kadar indirilebilmiştir. Artık total larenjektomi larenks kanser cerrahisinde altın standart cerrahi değil mutlak endikasyonda başvurulacak en son cerrahi girişimdir (37). Başlıca endikasyonları tiroid ve krikoid kıkırdak infiltrasyonu, subglottik krikoid bölge infiltrasyonu, iki aritenoidin tutulumu, interaritenoid bölge tutulumu, her iki ventrikül tutulumudur (27).

Radyoterapi: İleri evre glottik tümörlerde radyoterapi bir çok merkezde kür amaçlı veya kemoterapi ile birlikte kombine tedavi şeklinde uygulanmaktadır. Küratif amaçlı primer radyoterapi taraftarları radyoterapi ile hastanın larenksinin korunabileceğine, ancak başarısızlıkta cerrahinin gerektiğine inanmaktadır. T3 glottik tümörlerde radyoterapinin tek başına kür şansı %20-30 olup kurtarma cerrahisi ile birlikte %50'ye ulaşmaktadır. Radyoterapiden önce mevcut olan konservasyon cerrahisi şansı, kurtarma cerrahisinde kaybolmaktadır. Ayrıca radyoterapiden sonra yara iyileşme sorunu vardır. Bütün bu nedenler kurtarma cerrahisini total larenjektomi şekline dönüştürür. Hasta tek ve daha uygun tedavi yerine iki kere tedavi almak zorunda kalmaktadır. Radyoterapiyi, postoperatif adjuvan tedavi olarak uygulamak daha uygun olup bütün evreler için larenks kanser tedavisinde cerrahinin kür şansı radyoterapidendaima daha fazladır (27).

Boyun tedavisi: Erken evre glottik T1'de %5, T2'de %7'nin altında olan servikal metastaz oranı, T3 ve T4 %30-40'a ulaşmaktadır. Bu nedenle ileri evre glottik tümörde uygulanacak cerrahiye ipsilateral elektif boyun diseksiyonu eklenmelidir. Elektif boyun diseksiyonu fonksiyonel boyun diseksiyonu şeklinde uygulanır. İleri evreli boyun tutulumunda diseksiyonun şekli değiştirilebilir (27).

2.2.4.2. Subglottik kanser tedavisi

Subglottik tümörün primer lokalizasyonunu belirlemek genellikle güçtür. Çoğu kez glottik ve transglottik tümörler inferior yayılım ile subglottisi infiltre eder.

Subglottis, supraglottis gibi embriyolojik olarak tek bir bölge olarak gelişmiştir. Glottisteki gibi simetrik anatomik bölünme yoktur. Derin lenfatik drenaj sirküler olduğundan parsiyel cerrahiye uygun değildir. Subglottik kanserin tedavisinde tek cerrahi yöntem total larenjektomidir. Yüksek peristomal nüks ve bölgesel lenfatik metastaz riski nedeniyle tiroidektomi ile birlikte, paratrakeal, rekürrensiyel, üst mediasten ve inferior juguler bölge diseksiyonu uygulanmalıdır. Radyoterapi ganglion metastazı varlığında adjuvan olarak tedaviye eklenir (27).

2.2.4.3. Supraglottik kanser tedavisi

Supraglottik bölge bukkofarengeal traktustan gelişir. Bu gelişim anatomik ve lenfatik bölümleşmeye neden olup suprglottik bölge konservasyon cerrahisinin temelini oluşturur (38).

Supraglottik kanser tedavisinde standart cerrahi supraglottik larenjektomi veya total larenjektomidir. Günümüzde rekonstrüktif konservasyon cerrahisinde total larenjektomiye alternatif geliştirilen suprakrikoid subtotal larenjektomi, horizontovertikal (3/4) larenjektomi, genişletilmiş supraglottik larenjektomi ve neartotal larenjektomi uygun endikasyonlarda uygulanabilir (27).

2.2.4.4. Transglottik kanser tedavisi

Çift taraflı transglottik tümörlerde sadece total larenjektomi önerilirken, seçilmiş unilateral tümörlerde konservasyon cerrahileri uygulanabilir. Ünilateral transglottik

tümörlerde uygulanan konservatif tedavi yöntemleri horizontal vertikal larenjektomi, suprakrikoid subtotal larenjektomi ve neartotal larenjektomidir (27).

2.3. Laringeal Oksidatif Stres ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)

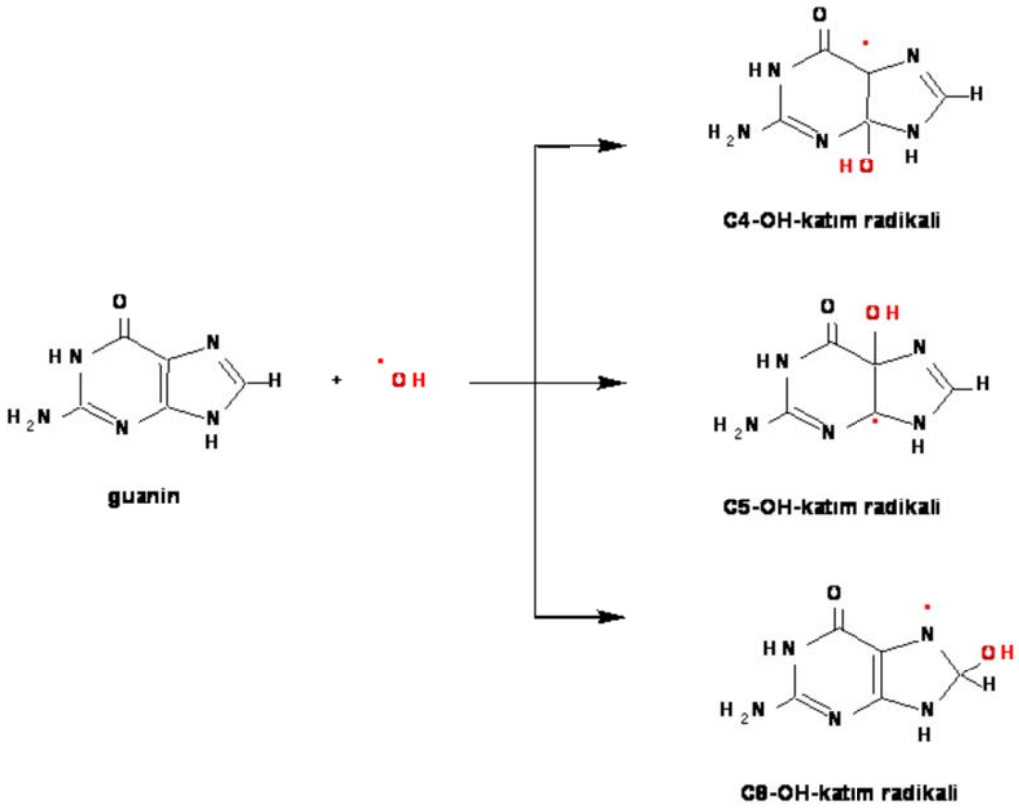
2.3.1. Oksidatif stres vereaktif oksijen türleri

Oksidatif stres, serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller tarafına bozulmasıdır. Serbest radikaller dış orbitallerinde eşlenmemiş elektroniçeren kısa ömürlü, oldukça kararsız ve etkin moleküller olaraktanımlanır. Bu moleküller gen instabilitesi, yaşlanma, dejeneratif hastalıklar ve kanser gibi oluşumlarda rol oynamaktadır. Metabolizmadaki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Yaşayan hücrelerde hem endojen hem de ekzojen olaylarda devamlı reaktif oksijen türleri (ROT) oluşur (8).

Prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine bozulması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ilebiyomoleküllerde hasar oluşturmaktadır. DNA da, bütün moleküller gibi spontan kimyasal oksidatif hasaramaruz kalır. DNA'nın günde 10^3 kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür (39). Oksidatif mekanizmalar, kanser oluşumununbütün evrelerinde potansiyel etkiyesahiptirler. Süperoksit anyon radikali (O2-), hidroksil radikali (OH•), nitrikoksit radikali (NO•), veya hidroperoksil (HOO•) gibi ROT'lar hücrelerde metal katalizlidönüşümden sonra veya doğrudan DNA hasarı oluşturur. Bu DNAhasarı da oksidatif DNA hasarı olarak tanımlanır ve mutajenez, karsinojenezve yaşlanma gibi biyolojik süreçlerin etyolojisinde rol oynar (40).

2.3.2. Guanin bazında oksidatif hasar oluşumu

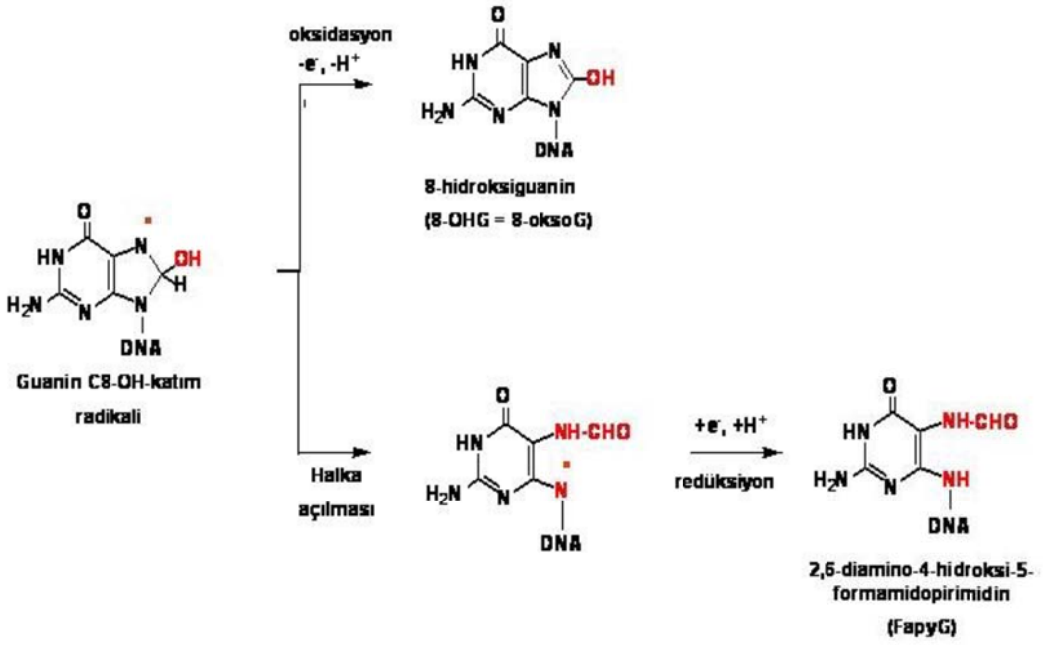
Son yıllarda yapılan çalışmalarda oksidatif DNA hasargöstergesi olarak sıklıkla baz hasarları araştırılmıştır. DNAbazlarında serbest radikallerin reaksiyonları sonucunda 20'den fazla ana ürün oluşmaktadır. OH• radikallerinin reaksiyonlarısonucu pürin ve pirimidin bazlarında değişiklikler meydana gelmektedir. Guanin bu bazlar içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip bileşiktir. Bu sebeple de ROT'unbaşlıca hedefidir (8, 41).Guanin bazının 4, 5 veya 8. pozisyonlarında yer alan C atomlarına OH•radikali katılarak çeşitli ürünler oluşturmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Hidroksil radikali ile guanin bazının reaksiyonu (8)

DNA'da birçok guanin ürünü tanımlanmıştır. Bunların içinde en fazla oluşanlar 7,8-dihidro-8-hidroksiguanin (8-OHG) veFapyG'dir (Şekil 2). Oksidatif stresin biyogöstergesi olarak kabul edilen 8-OHG, DNA replikasyonunda adenin ile yanlış eşleşme yaparak GC→TA transversiyonuna neden olur (42, 43). Sugimura ve ark.[44]akciğer kanseriyle ilgili yaptıkları çalışmada 8-OHG'nin hücresel oksidatif stresemaruziyet sonucunda DNA'da çok miktarda oluştuğu ve DNA'da artmış 8-OHG miktarının kanser riskini artırdığını belirlemişlerdir.

8-OHdG, 8-OHG'nin deoksiriboz'a bağlanmış hali olan modifiye bir nukleozittir ve ekzonukleazların okside olmuş DNA'yı onardığında oluşan bir bazmodifikasyonudur (9) (Şekil3).



Şekil 2. Guanin ürünlerinin oluşumu (8)

2.3.3. Sigara ve 8-Hidroksiguanin ilişkisi

Sigara dumanı iyi bilinen bir ROT kaynağı olduğundan kanser oluşmasında önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Sigara dumanından oluşan ROT'ların, insan hücre kültüründe DNA'da tek sarmal kırıkları ve baz değişimini indüklediği gösterilmiştir. Sigarada bulunan oldukça karsinojenik bir bileşik olan benzo[a]pirenin, hayvan dokularında 8-OHG oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda sigara içenlerin akciğer DNA'sında yükselmiş 8-OHG seviyesi gözlenmesi ve sigara sayısı ile 8-OHG seviyesi arasındaki korelasyonun araştırılması sonucu sigara dumanı karsinojenezi ve 8-OHG oluşumu arasındaki bağlantı gösterilmiştir (45, 46). Bunun yanı sıra Elahi ve ark. orolaringeal kanser riskiyle ilgili yaptıkları çalışmada hem periferal lökosit DNA'larında hem de oral mukoza çekirdeklerinde sigara içenlerin 8-OHG seviyelerinin içmeyenlerle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu bulunmuştur (47).

Akciğer dokularında oksidatif stres ve sigaranın etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda 8-OHdG seviyeleri ölçülmüş ve sigara içenlerin 8-OHdG seviyeleri sigara içmeyenlere göre yüksek bulunmuştur. Günlük içilen sigara miktarıile

8-OHdG seviyesi arasında da pozitif korelasyon bulunmuştur. Ayrıca sigara içip bırakanların 8-OHdG seviyeleri de yine hiç içmemiş olanlara göre yüksek bulunmuştur. Sigara içenlerin 8-OHG ve 8-OHdG seviyelerinin dahayüksek olması nedeniyle sigara kullanımının akciğer DNA'sında oksidatifhasarı indüklediği söylenebilmektedir. Bütün bu veriler, 8-OHG ve 8-OHdG oluşumunun kanserde önemli bir yer tuttuğunu göstermektedir (8, 45, 46, 48).

2.3.4. DNA Onarım-hasar dengesi

DNA'da oksidatif hasar neticesinde oluşan modifiye bazlar, mutajenik özellikleri dolayısıyla hücreyi tehdit eden bir potansiyele sahiptir. Metabolizma, kendini bu oksidatif hasarın zararlarını azaltarak ya da oluşmuş hasarları tamir ederek korur (9).

Çeşitli sebeplerle hücrelerin maruz kaldığı ROT, antioksidanlar ve antioksidan enzimler ile nötralize edilir. Bu mekanizma dışında oksidatif DNA hasarına karşı ikinci bir savunma yolu da DNA onarım mekanizmasıdır. Hasara uğramış biyomoleküller onarılır ya da yerlerine yenileri üretilir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidazlar gibi enzimler antioksidan mekanizmada işlev görürken bu savunmayı aşan hasarlar içinse DNA onarım mekanizmasıgörev almaktadır (48). Onarım DNA'da kodlanan genetik bilginin doğruluğunun devam ettirilmesi için önemlidir. DNA onarımmekanizmasına rağmen, vücutta oksidatif olarak modifikasyona uğramış DNA'lar tesbit edilmesi gerçekte serbest radikal hasarının tam olarak engellenemediğini gösterir. İnsan dokularında saptanan DNA'daki 8-OHdG vediğer hasarlıbazların oluşumu ve onarımı neredeysebirbirine eşittir. Bu oran vücut antioksidan durumuna bağlıolarakdeğişir (9).

DNA hasar ürünlerinin onarım yolları, baz çıkarma onarım yolağı (Base excision repair; BER), nükleotid eksizyonu, fotoreaktivasyon, rekombinasyon ve gen dönüşümü olmasına rağmen, okside bazların onarımında asıl olarak DNA glikozilazların başlattığı BER görev almaktadır. OGG1 veMYH genleri, DNA'da 8-OHG lezyonu için baz çıkarma onarım proteinini kodlamakta görevlidir. DNA glikozilaz enzimleri, hasar görmüş baz ve şeker kalıntısı arasındaki glikozidik bağı koparark onarım yolunun ilk basamağında görev alır. Bunu takiben nükleotid boşluk DNA polimeraz tarafından doldurulur. Oluşan iki zincir DNA ligaz tarafından bağlanarak DNA orijinal halini alır. Ayrıca 8-OH-dGTPaz enzimi nükleotid havuzundaki oksitlenmiş guaninini (8-OH-

dGTP) tanıyarak defosforilasyonla 8-OH-dGMP'ye dönüştürür. Böylece hasarlı nükleotidin DNA'ya yanlış bağlanmasını önler. Bunlar dışında 8-OHG ve 8-OHdG için üzerinde çalışılan çeşitli onarım yolakları mevcuttur (8, 9, 49, 50, 51, 52).

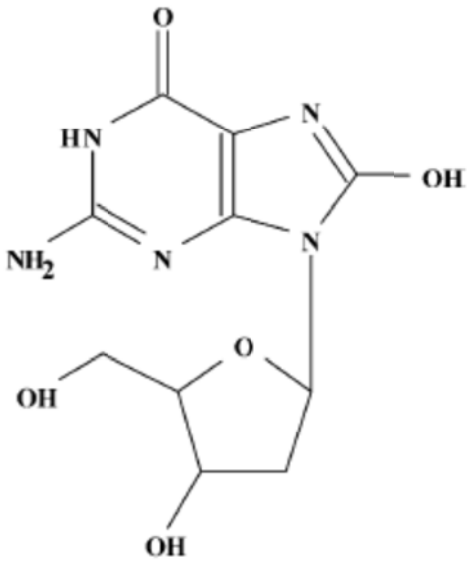
2.3.5. 8-OHdG Üretiminin artışı ve ölçüm metodları

ROT üretiminin artmasına sebep olan tüm etkenler, 8-OHdG oluşumuna yani oksidatif DNA hasarına katkıda bulunur. Oksijen radikali üreten ajanlar; sigara dumanı, asbestozis, x-ışınları, okside olmuş doymamış yağ asitleri, gama ışını, paraquat, kainik asit, dietilbutilesterol, benzen, fecapenene, furocoumarin hydroperoxide, ultraviyole ve Ni bileşiklerigibi maddeler tarafından, deoxyguanosin'den 8-OHdG oluşumu invitro olarak gösterilmiştir. Ayrıcakanserojen maddelerin verilmesinden sonra hayvandokularında 8-OHdG düzeyinin arttığına dair birçokaraştırma da mevcuttur (9).

Oksidatif stres sonucu oluşan maddeler DNA'dan uzaklaştırılarak kandolaşımına ve oradan da idrara geçerler (53). DNA'da veya hücresel havuzdahasarlı nükleotid ürünlerinin üriner atılımını belirlemek, ilgilikanserojenlere maruziyetin önemli bir belirteci, ayrıca kanser riskinitahmin etmenin bir yoludur. Nükleotid havuzunda veya DNA'da guaninin oksidasyonu üriner 8-OHdG atılımına yol açmaktadır. Çok sayıdakioksidatif DNA hasar ürünleri arasında ölçümüngöreceli olarak dahakolay olması ve mutajenik özelliğinden dolayı en çok çalışılan bileşik 8-OHdG'dir.8-OHdG ve 8-OHG'nin idrarla atılımını artıran birçok faktör vardır. Başta sigara dumanı olmak üzere, dizelegzosu, poliaromatik hidrokarbon ve benzen gibi mesleki kaynaklıhava kirliliğine yüksek maruziyet, fazla yoğunlukta egzersiz (maraton koşmak), denizden oldukça yüksek seviyelerde yaşamak, radyasyon veya kemoterapi şeklinde uygulanan kanser tedavileri bunlardandır (8).

Hücre ve dokularda, birçok purin ve pirimidin lezyonunun tespiti ve miktar analizi amacıyla çok sayıda analitik teknik kullanılmaktadır.Bunlar; sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LCMS/MS), tandem kütle spektrometrisi, yüksek basınçlı likidkromatografisi- elektrokimyasal dedektör (HPLC-EC), kapiller elektroforez-elektrokimyasal tayin (CE-EC), gaz kromatografisi–kütle spektrometrisi (GC-MS), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi–tandem kütlespektrometrisi (HPLC-MS/MS), modifiye comet ve enzim bağlı immünassay (ELISA) yöntemleridir. HPLC-EC kullanılarak kantitatif 8-OHdG analizi, son derecede duyarlı, seçici ve en sık kullanılan

yöntemdir. 20 fmol kadar 8-OHdG bu metod ile belirlenebilmektedir (8, 9, 53). 8-OHdG'nin HPLC-EC ile analizindesırasıyla, ekstrakte edilen DNA'nın enzimatik hidrolizi, hidrolizatın okside DNA analizi yapılması için hazırlanması vekolona enjekte edilmesi işlemleri uygulanır. Bütün bu işlemler DNA'da yapay hasar oluşturur (54). Fakat HPLC-EC'nin yüksek teknik gerektirmesi, analiz zamanınınuzun ve pahalı olması nedeniyle prosedürün kliniklaboratuarlarda kullanımı oldukça zordur. Bu sebeplealternatif yöntemler ortaya çıkmıştır. ELISA yöntemi HPLC-EC yöntemine göre daha az zaman alan, hassas bir yöntemdir. ELISA ölçümlerinin HPLC-EC yönteminden elde edilen sonuçlara göre dahayüksek çıkmasına rağmen ELISA ve HPLC-EC yöntemlerinden çıkansonuçlar arasında iyi bir korelasyon vardır. GC-MS yöntemi isetürevlendirme sırasında oluşabilecek ekstra oksidasyondan dolayı problemlere yol açmaktadır (8).



Şekil 3. 8-Hidroksi-2'–deoksiguanozin (55)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

2012 ve 2014 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda vokal kordda benign mukozal lezyon/polip-nodül sebebiyle eksizyon yapılan 18 hasta, larenk kanseri (yalnız glottik bölge skuamöz hücreli karsinomları-SCC) tanısıyla total larenjektomi uygulanan 35hastadan oluşan toplam 53 hasta ve kontrol grubundaki 64 gönüllüden oluşan toplam 117 kişi araştırmaya dahil edildi.

Lezyon eksizyonu yapılan hastalardan; eksizyon materyalinin yeterli ve patolojik tanıyı etkilemeyecek bir kısmı alındı. Larenjektomi yapılan hastalardan; çıkarılan larenksteki malign dokunun bir kısmı, malign dokudan en az 1 cm uzaklıkta ve aynı kompartmandaki normal mukoza-submukoza dokusu, idrar ve kan örnekleri alındı. Kontrol grubundan ise larenks doku örneği alınamadığı için kan ve idrar örnekleri alındı. Bu materyallerin her birinden 8-OHdG ölçümü yapıldı. Ayrıca her hastadan spot idrarda kreatinin tayini için idrar örnekleri alındı.

Hastalar biyopsi sonuçlarına göre benign mukozal lezyon (nodül veya polip) ve malign (skumöz hücreli karsinom) olarak sınıflandırıldı. Malign hastalardanalınan doku örnekleri de 'tümör dokusu' ve 'non-tümöral mukoza dokusu' olarak iki gruba ayrıldı. Sonuç olarakdoku örnekleri; nodül-polip, tümör dokusu, non-tümöral mukoza olarak 3 grupta incelendi. Kontrol grubu da kendi içerisinde sigara kullananlar, sigara kullanıp bırakmış olanlar ve hiç sigara kullanmamış olanlar olarak 3 gruba ayrıldı ve toplamda 6 grup oluşturuldu; Grup 1: Kontrol-Sigara Kullanmamış, Grup 2: Kontrol-Sigara Kullanıp Bırakmış, Grup 3: Kontrol- Sigara Kullanan Grup 4: Larenks Kanser Tanılı Hasta (Tümöral Doku) Grup 5: Larenk Kanser Tanılı Hasta (Non-Tümöral Mukoza) Grup 6: Benign Vokal Kord Lezyonu Bulunan Hasta (Nodül-Polip).Kan ve idrar 8-OHdG değerleri kanserli hasta ve kontrol grubunu içerecek şekilde incelendi.

Bu gruplarda nodül-polip tanılı ortalama 47, 6 yaşında 18 hasta, larenks kanseri tanılı ortalama 57, 7 yaşında 35 hasta mevcuttu. Kontrol grubunda yaş ortalaması 54, 3 olan toplam 64 kişi mevcuttu ve kontrol grubunda sigara kullanan 24, kullanıp bırakmış olan 21 ve hiç kullanmamış olan 19 kişi çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu ve diğer gruplardaki hastalar (larenks kanseri olanlar dahil) daha önce radyoterapi ve/veya kemoterapi almamış kişilerden seçildi.

Ayrıca bütün hastalar ve kontrol grubunda 8-OHdG seviyelerini etkileyebilecek faktörlerin değerlendirildiği bir bilgi formu düzenlendi (8).

ANKET FORMU

1- Adı Soyadı:

2- Yaş:

3- Cinsiyet:

4- Medeni Hali:

5- Doğum Yeri:

6- Ağırlık:

7- Boy:

8- Meslek/çalışma süresi:

9- Yaşadığınız şehir ve süresi:

10- Düzenli kullanılan ilaçlar:

11- Kadın ise;

Menapozal durum:
Premenapoz ( ) son menstrüasyon periyodunun kaç gün önce olduğu:
Postmenapoz ( ) son menstrüasyon periyodunun kaç yıl önce olduğu:
Menapoz yaşı:

12- Sigara içme alışkanlığı;

Kullanıyorum ( ) Hiç içmedim ( ) Eskiden içerdim ( )
Sigaraya başlama ve bırakma yaşı=..... ve.....
Ne kadar süre önce sigarayı bıraktınız?.....
Ne kadar süredir sigara içiyorsunuz?.....
Miktarı (Günde kaç adet) :

13- Sigara içilen ortamlarda sıkça bulunuyor musunuz? Evet ( ) Hayır ( )

14- Alkol alıyor musunuz? Hayır ( ) Evet ( ) Kaç yıldır kullanıyorsunuz?:

Nadiren ( ) Haftada bir ( ) Haftada 2- 3 ( ) Haftada 4- 5 ( ) Her gün ( )

15- Aile bireylerinde genetik bir hastalık var mı? Hayır ( ) Evet ( ) Nedir=

Sizde …….

16- Ailenizde, Kanserden ölen? Türü:

17- Daha önce Kemoterapi ve/veya Radyoterapi tedavisi aldınız mı?

EVET ( ) HAYIR ( )

3.1. Doku, Kan ve İdrar Örneklerinin Alınması

Opere olacak hastalardan pre-operatif dönemde, kontrol grubundan ise polikliniğe başvurduğunda idrar ve kan örneklerialındı. Biyopsi yapılacak hastalara genel anestezi altında direk mikrolarengoskopi yapılarak biyopsi alındı. Bu işlem sırasında kimyasal ya da elektrokoter kullanılmadı. Biyopsi materyalinden, patolojik sonucu etkilemeyecek şekilde örnekler ayrıldı. Ayrıca patolojik tanısı SCC olan, glottik bölge kaynaklı ve total larenjektomi yapılan hastaların larenjektomi spesmeninden, malign doku ve bu malign dokudan 1 cm uzaklıktaki malignite içermeyen yine glottik kompartmandaki sağlam dokudan mukoza-submukozayı içeren örnekler alındı. Bu dokular larenjektomi spesmeni formaldehite konulmadan önce alınarak, bekletilmeden, -20^0C'de, boş bir şişe içerisindeve buz üzerinde analiz zamanına kadarmuhafaza edildi.

3.2. 8-OHdG Tayini

Doku ve Kanda DNA İzolasyonu: Serum, 2500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilip-20^0C 'de bekletildikten sonra elde edildi. EDTA'lı 2 ml kan, 3 ml eritrosit lysis buffer ile karıstırıldıktan sonra 10 dakika buz içerisinde bekletildi. Bu işlemlerden sonra 10 dakika boyunca 3500 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstte kalan kısıma supernatant altta kalan tortuya da pellet denir. Supernatant atıldı. Altta kalan pellet sodium dodecyl sulphate (%10 v/v) proteinase K (20 MG/ML) ve 1.9 ml lökosit lysis buffer ile karıstırıldı. Bu karışım 65^0C'de 1 saat bekletildikten sonra 0.8 ml 9.5 M amonyum asetat ile karıştırıldı. Karıştırıldıktan sonra 3500 rpm'de 25 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstte kalan supernatant steril bir tüpe alındı ve 4 ml saf ethanol damlatıldıktan sonra DNA çökertildi.DNA örneği tris EDTA (10 Mm, ph: 7.4) içinde çözüldükten sonra hidroliz edildi.

50-200 mg doku buzda ya da +4 ^{0}C'de 1 mL homojenizasyon tamponuyla (30mM Tris pH 8, 10 mM EDTA, 10 mM 2-merkapto etanol, %0.5 (v/v) Triton X100) mekanik homojenizatör ile homojenize edildi. Elde edilen karışım 10 dakika 1000 g'de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Elde edilen pellet 1 ML ekstraksiyon tamponuyla (0.1 M Tris pH 8, 0.1 M NaCI, 20 mMEDTA) tekrar süpanse edildi. 30 saniye vortex'lenerek homojen hale getirildi ve 1000 g'de 2 dakika santrifüj edildi. Elde edilen pellet tekrar ekstraksiyon tamponuyla süspanse edildi.Süspansiyon vortex'lendi ve iyice karışması sağlandı.Karışıma 400 µL fenol eklendi ve 1 dakika kuvvetlice

vortex'lendi.Fazların ayrılması için oda sıcaklığında 10 dakika beklendi ve üst faz ayrılarak temiz bir tüpe konuldu.Temiz tüpe alınan kısma 400 µL kloroform-izopropanol eklendi (24: 1) 10000 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve üst faz yine temiz bir tüpe alındı. Son santrifüjden elde edilen karışıma 40 µL 3 M sodyum asetat pH 5 ve 800 µL buz soğukluğunda etanol eklenerek yavaşça alt üst edilerek karışması sağlandı. 10000 g'de 15 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan kısım tamamen uzaklaştırıldı ve altta kalan kısma 1 mL %70 lik etanol eklendi (108)

Hidroliz İşlemi: Son olarak elde edilen 1 mL'lik karışıma 0.5 mL %60'lık formik asit eklendi. Tüplerin ağzı kapatıldı.60 dakika 150 ^{0}C'de bekletildi.Tüplerin soğuması beklendi. Soğuyan tüplerdeki formik asitin uzaklaşması için oda sıcaklığında bekletildi ve yaklaşık 1 mL'lik karışım -20^{0}C de çalışma gününe kadar saklandı (109).

Spot İdrarda 8-OHdG Analizi: Hastalardan alınan spot idrarlar 1500 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra çalışma gününe kadar -80^{0}C'de saklandı.İdrar örnekleri HPLC sisteminde çalışılmadan önce Rebelove ark. tarafından tanımlanan ön işlemler uygulandı (111). Öncelikle ticari olarak elde edilen 5mL'lik C19 cartridge'lere 6 mL methanol eklendi. Tamamen boşalması beklendikten sonra 3 mL su eklendi. Suyun da tamamen boşalması beklendi ve 50 mM pH 6.1, 6 mL fosfat tampon eklendi. Tampon da kolondan tamamen ayrıldıktan sonra idrar örneği cartridges'e tatbik edildi. İdrar örneği de cartridge'den ayrıldıktan sonra 2 kez 3 mL'lik fosfat tampon ile yıkandı ve son olarak 3mL %20 metanol-fosfat tampon (50mM, pH 6.1) karışımı kolondan geçirildi. Bu son eklenen temiz bir tüpte toplandı.İdrar analizinde Agilent 1200 marka HPLC sistemikullanıldı (gradienpompa, autosampler, kolonfırını) HPLC sistemine Water marka elektrokimyasaldedektörve UV dedektörbağlandı.

HPLC Analizi: 8-OHdG ve dG çeşitli dalga boylarında HPLC-UV ve HPLC-ECD elektrokimyasal dedektörlerle HPLC'de ölçüldü. HPLC analizinden önce hidrolize DNA örnekleri HPLC eluent ile yeniden çözüldü.Son hacim 1ml oldu.20 µL son hidrolizat HPLC-ECD (HP, HP 1049A ECD detector, Agilent 1100 modular sistemler HP 1049A ECD dedektör, Almanya) yöntemiyle analiz edildi. Kolon, ters faz –C18 (RP-C18) analitik kolon (250 mm × 4.6 mm × 4.0 µm, Phenomenex, CA) mobil faz, dakikada 1 ml akış hızına sahip olan asetonitril (97: 3, v/v) içeren 0.05 M potasyum fosfat [pH 5.5] tamponundan meydana gelmekteydi. dG konsantrasyonu 245 nm' de

absorbansı ölçülerek, 8-OHdG elektrokimyasal okumayla (600 mV) gözlemlendi. dG ve 8-OHdG, Sigma marka dG ve 8-OHdG standartları kullanılarak miktarları belirlendi. DNA hasarı göstergesi olarak 8-OHdG/10^6 dG olarak verildi. Üriner 8-OHdG ise idrar kreatinin miktarıyla oranlanarak μg/g kreatinin olarak verildi (108, 110).

3.3. İdrarda Kreatinin Tayini

Üriner 8-OHdG seviyelerinin ölçümünde bireylerden 24 saatlik idrar toplamanın zor bir yöntem olması sebebiyle spot idrar örneği kullanılmıştır. İdrardaki 8-OHdG miktarı, bireylerin idrar dilüsyonlarındaki farktan etkileneceği için spot idrardaki 8OHdG atılımının kreatinin ile oranlanarak değerlendirilmesi gerekmektedir (107).

Hasta idrarları ependorf tuplerine alındı ve çalışma yapılana kadar -80 C'de depolandı. İdrar numuneleri hazır ticari kit (Beckman) kullanılarak Beckman Coulter (JAPAN) otoanalizöründe çalışıldı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde SPSS bilgisayar paket programı kullanıldı. Veriler sayı, yüzde, ortalama ve standart sapma olarak verildi. Dağılımın normal dağılıma uyum durumu Kolmogorow Smirnow Testi'yle analiz edildi. Gruplar arası yaş, kan, idrar, doku, vücut kitle indeksi (VKİ) karşılaştırmaları Kruskal Wallis Testi'yle analiz edildi. Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek amacıyla Mann Whitney U Testi'yle ikili karşılaştırmalar yapıldı. Bu ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi uygulandı. Bonferroni düzeltmesinin uygulandığı ikili karşılaştırmalar dışındaki analizlerde anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Bulgular

Laringeal oksidatif stresi 8-OHdG ölçümleriyle değerlendirmek amacıyla 35 larenks kanseri (29 erkek, 6 kadın), 18 vokal kord nodül-polip'i (15 erkek, 3 kadın) tanılı toplam 53 hasta ve 64 kişilik (54 erkek, 10 kadın) kontrol grubundan oluşan toplam 117 birey incelenmiştir. Kontrol grubunda sigara kullanmamış 19 (16 erkek, 3 kadın), sigara kullanıp bırakmış 21 (18 erkek, 3 kadın), sigara kullanan 24 (20 erkek, 4 kadın) birey mevcuttu.

Gruplar yaş ortalaması açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi (p=0.01). Bu farkın hangi iki grup arasındaki farktan oluştuğunu belirlemek için yapılanMann Whitney U ikili karşılaştırma testinde farklılığın larenks kanseri grubuyla, nodül-polip grubu arasında olduğu saptandı (p=0.002). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda yaş açısından istatistiksel fark saptanmadı. Gruplar VKİve erkek/kadın oranı açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p> 0.05).

Sigara kullanma durumuna göre değerlendirildiğinde kontrol grubu bu açıdan sınıflandırılmış olup, larenks kanser grubunun tamamı sigara kullanmaktaydı, nodül-polip grubunda ise 16 hasta sigara kullanmakta, 1 hasta kullanmamış, 1 hasta kullanıp bırakmış olarak değerlendirildi. Çalışmadaki bireylerin hiçbiri daha önce radyoterapi/kemoterapi tedavisi almamış, alkol kullanmadıklarını ifade eden bireylerden oluşmaktaydı.

Tablo 1. Grupların demografik özellikleri

Grup		Sayı (N)	Yüzde (%)	VKİ	Yaş
Kontrol-Sigara Kullanmamış	Erkek	16	84.2		
	Kadın	3	15.8		
	Toplam	19	100	29.1	54.8
Kontrol-Sigarayı Bırakmış	Erkek	18	85.7		
	Kadın	3	14.3		
	Toplam	21	100	27.2	57.5
Kontrol-Sigara Kullanan	Erkek	20	83.3		
	Kadın	4	16.7		
	Toplam	24	100	26.5	51.1
Larenks Kanseri	Erkek	29	82.9		
	Kadın	6	17.1		
	Toplam	35	100	26.3	57.7
Nodül-Polip	Erkek	15	83.3		
	Kadın	3	16.7		
	Toplam	18	100	26.6	47.6
P			**>0.05**	**>0.05**	**0.01***

* istatistiksel olarak anlamlıdır.

4.2. Kan ve İdrar 8-OHdG Değerleri

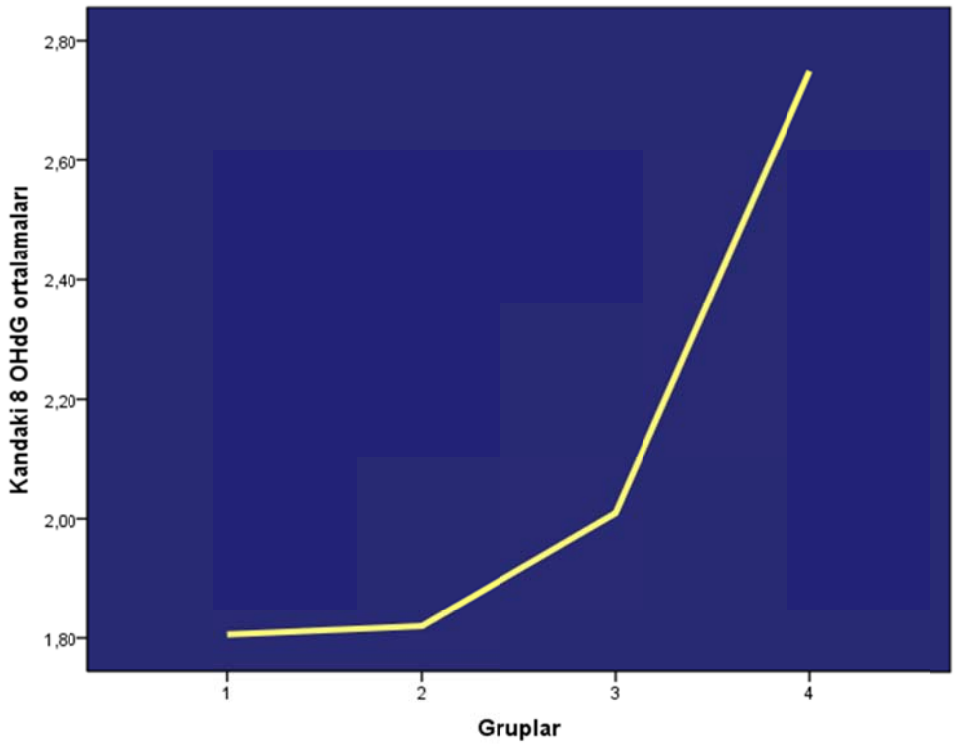
8-OHdG'nin kan ve idrar değerleri 3 kontrol grubu ve larenks kanserli grup arasında karşılaştırıldı. Gruplar arasında kandaki 8-OHdG/10^6dG'nin sigara içmemiş kontrol grubundaki seviyesi 1.8±0.4, sigarayı bırakmış kontrol grubundaki seviyesi 1.8±0.7, sigara kullanan kontrol grubundaki seviyesi 2.0±0.8, larenks kanserli hasta grubundaki seviyesi 2.7±0.9 olarak saptandı. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0.000). Farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını tespit etmek amacıyla yapılan, grupların 2'li karşılaştırmaları sonucunda farklılığın larenks kanserli gruptan kaynaklandığı tespit edilmiştir.Ayrıca sigara kullananlarda hiç sigara kullanmamış ve sigara kullanıp bırakmış olan gruba göre değerlerin hafif yüksek olduğu fakat bu yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Bu sonuçlarla sigara kullanımı ile kan 8-OHdG/10^6dG seviyeleri arasında bir ilişki bulunmadığı fakat malignitenin bu seviyelerde etkili olabileceği görüldü (Şekil 4).

Gruplar arasında idrardaki 8-OHdG'nin sigara içmemiş kontrol grubundaki seviyesi 2.2±1, sigarayı bırakmış kontrol grubundaki seviyesi 2.6±0.8, sigara kullanan kontrol grubundaki seviyesi 4.2±2.8, larenks kanserli hasta grubundaki seviyesi 5.5±2.3 olarak saptandı. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0.000). Farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını tespit etmek amacıyla yapılan, grupların 2'li karşılaştırmaları sonucunda farklılığın kan değerlerinde olduğu gibi larenks kanserli gruptan kaynaklandığı tespit edilmiştir.Ayrıca sigara kullananlarda hiç sigara kullanmamış ve sigara kullanıp bırakmış olan gruba göre değerlerin hafif yüksek olduğu fakat bu yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Bu sonuçlarla sigara kullanımı ile idrar 8-OHdG seviyeleri arasında bir ilişki bulunmadığı fakat malignitenin bu seviyelerde etkili olabileceği görüldü (Şekil 5).

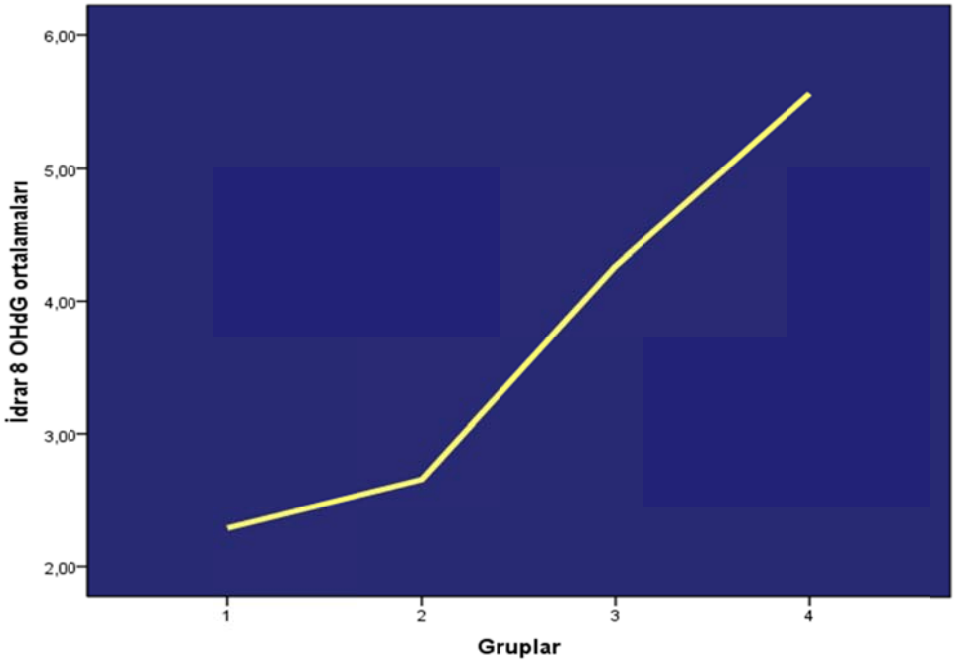
Tablo 2. Kan ve idrar 8-OHdG değerlerinin karşılaştırılması

Grup	**Kan 8-OHdG/10^6dG±SD**	**İdrar 8-OHdG±SD**
Kontrol-Sigara İçmemiş	1.8±0.4	2.2±1
Kontrol-Sigarayı Bırakmış	1.8±0.7	2.6±0.8
Kontrol-Sigara Kullanan	2.0±0.8	4.2±2.8
Larenks Kanseri	2.7±0.9	5.5±2.3
p	**0.000***	**0.000***

- İstatistiksel olarak anlamlıdır.



Şekil 4. Kandaki 8-OHdG/10^6dG değerlerinin gruplara göre değişimi



Şekil 5. İdrardaki 8-OHdG değerlerinin gruplara göre değişimi

4.3. Doku 8-OHdG Değerleri

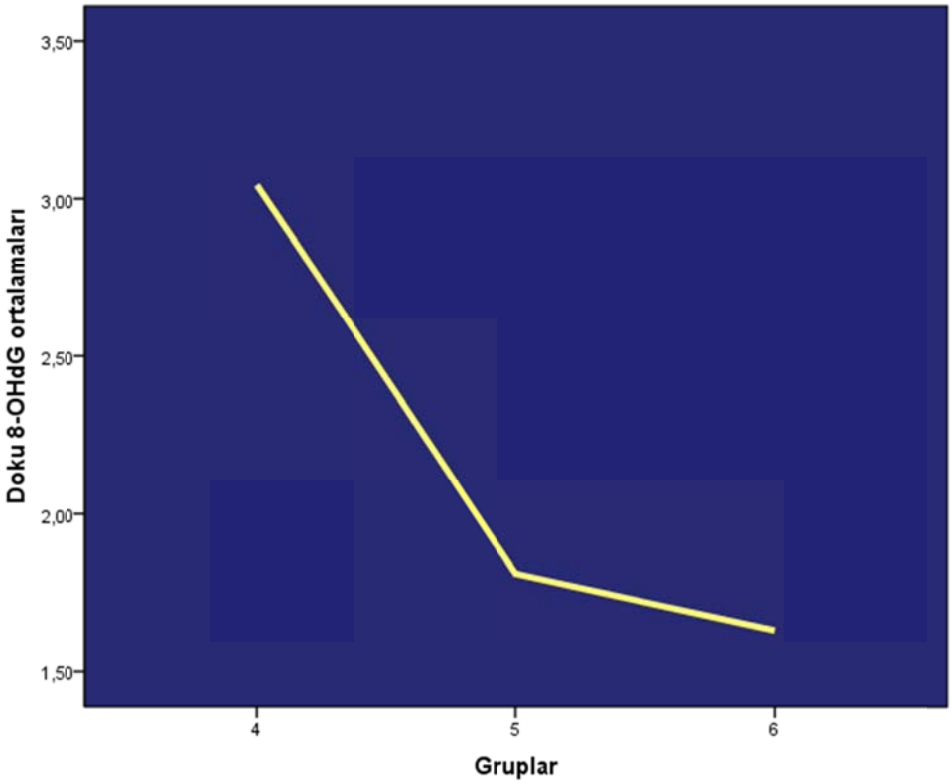
8-OHdG'nin doku değerleri larenks kanserli hastadaki tümör dokusu, larenks kanserli hastadaki non-tümöral mukoza dokusu ve vokal kord nodül-polip dokusunda karşılaştırıldı.

8-OHdG/10^6dGtümör dokularındakiortalama değeri 3±1.1, non-tümöral mukoza dokularındaki ortalama değeri 1.8±0.8, nodül-polip dokularındaki ortalama değeri 1.6±0.5 olarak bulundu. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0.000). Farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını tespit etmek amacıyla yapılan, grupların 2'li karşılaştırmaları sonucunda farklılığın larenks kanserli gruptan kaynaklandığı tespit edilmiştir (p= 0.000).Non-tümöral mukoza ile nodül-polip dokusu arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı (ikili karşılaştırmada kullanılan Mann Whitney U Test için p>0.005).

Tablo 3. Doku 8-OHdG/10^6dG değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması

	Tümör Dokusu±SD	**Non-Tümöral Mukoza±SD**	**Nodül-Polip±SD**	**p**
Doku 8-OHdG/ 10^6dG	3±1.1	1.8±0.8	1.6±0.5	**0.000***
N	35	35	18	

* İstatistiksel olarak anlamlıdır.



Şekil 6. Dokudaki 8-OHdG/10^6Dg değerlerinin gruplara göre değişimi

5. TARTIŞMA

Kulak Burun Boğaz kliniklerine ses kısıklığı sikayeti ile basvuran hastaların %50 'den fazlasında neden vokal kordun benign mukozal hastalıklarıdır (1). Bunlar arasında en sık görülenler vokal kord polipleri ya da nodülleridir. Ses kısıklığına yol açan patoloji benign mukozal bir lezyon olabileceği gibi larenks kanseri de olabilir.

Larenks kanseri erkeklerde kadınlara göre 5 kat daha sık görülür. En sık yerleşim yeri glottik bölge olmakla birlikte (%55-75), ikinci sıklıkta supraglottik (%24-42), en nadir olarak da subglottik bölgede (%1-6) görülür. Ayrıca en sık 5, 6 ve 7. dekatlarda görülürler. Larenks kanserinin en büyük etkeni sigara kullanımıdır. Alkolün etkisi sigaranın etkisini artırıcı yöndedir ve glottik bölgeden çok supraglottik kanserlerde etkendir (10). Çalışmamızdaki larenks kanseri tanılı hastaların tamamı glottik bölge kaynaklı seçilmiş olup, %82, 9 erkek, yaş ortalaması 57, 7, %100 sigara kullanmaktaydı. Erkek/kadın oranının bizim çalışmamızda diğer çalışmalardan yüksek bulunmasının sebebinin, bölgesel olarak kadınların sigara kullanım oranının düşük olması ve sadece glottik bölge tümörlerinin çalışmaya dahil edilmesi olabileceği düşünüldü.

Prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine bozulması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllerde hasar oluşturmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda oksidatif DNA hasar göstergesi olarak sıklıkla baz hasarları araştırılmıştır (39). DNA'da oluşan oksidatif hasarlar tüm kanser türlerinde olduğu gibi larenks kanseri için de bir risk faktörüdür. DNA'da ve hücresel nükleotid havuzundaki hasarlı nükleotid ürünlerinin idrar, kan ve dokularda ölçümü, karsinojenlere maruziyetin önemli bir biyogöstergesi olarak kanser riskinin tahmininde kullanılabilir. Guanin bazının oksidasyonu sonucu oluşan biyomoleküllerden biri olan 8-OHdG, kolay ölçülmesi ve G: C→T: A transversiyonları sonucunda mutajenik özellik gösterdiğinin iyibilinmesi nedeniyle üzerinde en çok çalışılan bileşiklerden birisidir. Çalışmamızda doku, idrar ve kan örneklerinde HPLC-EC yöntemiyle 8-OHdG miktarları belirlenmiş ve radyoterapi/kemoterapi almamış larenks kanserli hastalarla, benign mukozal lezyonu bulunan hastalar ve sağlıklı bireyler arasında oksidatif hasar açısından fark olup olmadığı ve demografik özelliklerine göre 8-OHdG atılımının değişip değişmediği gözlenmiştir.

8-OHdG ölçümüyle ilgili günümüzde standart bir yöntem bulunmamasına rağmen ilk olarak Floyd ve ark. (56) tarafından başlayan ve daha sonra yapılan araştırmalarda LCMS/MS, HPLC-EC, CE-EC, GC-MS, HPLC-MS, modifiye cometve ELISA gibi yöntemler kullanılmıştır. Ayrıca Yoshida ve ark. (63) Japon popülasyonunda yaptıkları çalışmadaELISA yönteminde belirlenen değerlerin HPLC-EC ile elde edilen sonuçlara göre daha yüksek çıkmasına karşın ELISA ve HPLC-EC yöntemlerinden çıkan değerler arasında iyi bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda, yüksek teknik güç gerektirmesi, ölçüm zamanı uzun ve pahalı bir yöntem olmasına rağmen üzerinde en çok çalışılan yöntemlerden biri olması ve güvenirliğini göz önünde bulundurarak HPLC-EC yöntemini kullandık (54, 56, 57-63).

Metabolizmadaki 8-OHdG miktarını etkileyen, yaş, vücut kitle indeksi, cinsiyet, sigara kullanımı, diyet, mesleki-mesleki olmayan hava kirliliği, radyo/kemoterapi, metabolizma hızı, yüksek rakımda yaşamak, alkol kullanımı gibi birçok faktor bulunmaktadır (8).

Son yıllarda yapılan çalışmaların genel olarak desteklediği nokta 8-OHdG seviyelerinin yaşla paralel olarak arttığıdır (64, 66, 46, 67, 68). Fraga ve ark. (64) araştırmalarında rat dokularındaki 8-OHdG seviyesinin, beyin ve testis dokusu dışında zamanla arttığını bulmuşlardır.Hirano (41) ratlarda yaptığı çalışmada yaşın dokulardaki 8-OHdG seviyelerini değiştirmediğini bildirmiştir. Ayrıca Kasai ve ark. (65) 18-58 yaşlarındaki 318 sağlıklı erkekte yaptıkları çalışmada yaşla birlikte idrardaki 8-OHdG seviyelerinin azaldığını belirtmiştir. Yaşın 8-OHdG değerlerini etkileyebileceği konusunda yapılmış olan daha önceki çalışmalar dikkate alınarak çalışmamızda kontrol grubunun larenks kanser grubu ile yaş değerleri açısından uyumlu olmasına dikkat edildi. Bu nedenle yaşın 8-OHdG seviyelerine etkisiyle ilgili değerlendirme yapmadık.

Vücut kitle indeksi (VKİ) ve cinsiyet ile 8-OHdG seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalardaki genel sonuç VKİ ile 8-OHdG arasında negatif bir ilişki olduğu ve erkeklerde kadınlardan daha yüksek seviyelerin bulunduğudur (69, 70, 65). Loft (70), Kasai (65) ve Irie'nin (69) yaptıkları farklı çalışmalardaki ortak sonuç VKİ arttıkça üriner 8-OHdG seviyelerinin azaldığıdır. Ayrıca Irie'nin (69) çalışmasındaki 286 erkek ve 86 kadının üriner 8-OHdG seviyeleri kıyaslandığında erkeklerde belirlenen seviyelerin kadınlardan yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçların sebebi erkeklerde ve

zayıflardaki metabolizma hızının yüksek olması sebebiyle ROT üretimindeki artış olarak düşünülmüştür (70). Çalışmamızdaki bütün gruplarda VKİ ve erkek/kadın oranı birbirleriyleuyumlu olup bu değişkenlerin 8-OHdG değerleri üzerine etkisiyle ilgili değerlendirme yapmadık.

Sigara kullanımının metabolizmada 8-OHdG miktarını artırdığını gösteren birçok çalışma mevcuttur (44-47, 67, 70-73). Elahi ve ark. (47) yaptığı çalışmada hem periferal lökosit hem de oral mukoza hücrelerinde 8-OHdG miktarını sigara kullananlarda kullanmayanlara göre yüksek bulmuşlardır. Asami ve ark. (45) çalışmalarında sigara kullananların periferal lökositlerindeki 8-OHG miktarının sigara kullanmayanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yine Asami ve ark. (71) yaptıkları diğer bir çalışmada sigara kullananlar, kullanıp bırakmış olanlar ve hiç sigara kullanmamış kişilerin akciğer dokularında 8-OHdG seviyelerini belirlemiş ve sigara kullananlarda en yüksek, hiç sigara kullanmamış kişilerde en düşük seviyeleri tespit etmiş ve günlük içilen sigara miktarı ile 8-OHdG artışını korele bulmuşlardır.Loftve ark. (70) çalışmasında sigara kullananlarla kullanmayan kişilerin idrarlarındaki 8-OHdG miktarları karşılaştırılmış ve sigara kullananlarda bu seviye %50 daha fazla bulunmuştur. Chiang ve ark. (74) sigara dumanına maruziyet seviyesinin plazmadaki göstergelerinden olan 4- (methylnitrosamino) -1- (3-pyridyl) -1-butanone'u idrar ve plazma 8-OHdG seviyeleriyle kıyaslamış ve pasif sigara içicilerindeki sigara dumanına maruziyet derecesi ile plazma 4- (methylnitrosamino) -1- (3-pyridyl) -1-butanone seviyeleri ve plazma-idrar 8-OHdG seviyelerini birbirleriyle korele bulmuştur. Bizim çalışmamızda kontrol grubundaki sigara kullanmamış kişiler ve kullanıp bırakmış kişiler arasında kan ve idrar 8-OHdG değerleri açısından fark görülmedi. Sigara kullanan kişilerdeki kan ve idrar değerlerinin bu gruplardan hafif yüksek olmasına rağmen bu yüksekliğin istatistiksel bir fark oluşturmadığı görüldü. Fakat malign hastalardaki bu değerlerin diğer bütün kontrol gruplarından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği bulundu.

Diyet ve antioksidanların 8-OHdG seviyelerine etkileriyle ilgili yapılan çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar bildirilmiştir. Bazı hayvan deneylerinde normal diyet ve nükleik asitten fakir diyetin 8-OHdG atılımı üzerine etkileri gösterilirken insanlarda bu gösterilememiştir (51, 55, 65, 69, 75). Dolayısıyla diyetin 8-OHdG üzerine etkilerinde görüş birliğine varabilmek için yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kirli hava içerdiği ozon, aldehid, metal ve nitrojen oksit gibi maddeler nedeniyle oksidatif hasara yolaçar. Hava kirliliğine maruz kalma süresi ile oksidatifDNA hasarı arasında doğrusal bir ilişki vardır. Mesleki-mesleki olmayan hava kirliliğinin 8-OHdG seviyelerine etkileriyle ilgili birçok çalışma yapılmıştır (67, 76-81). Lagorio ve ark. (67) benzene maruziyet miktarı ile idrardaki 8-OHdG seviyelerini belirlemiş ve ikisi arasında anlamlı korelasyon bulmuşlardır. Chuang ve ark. (77) yaptıkları çalışmada taksi şoförlerinin idrarlarındaki 8-OHdG miktarının diğer kent sakinlerine göre anlamlı derecede yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Nagashima ve ark. (80) fare soluk borusuna dizel atıkları vermiş ve uygulanan dozla orantılı olarak 8-OHdG'nin arttığını belirtmişlerdir. Akciğer DNA'sında 8-OHdG artışının mutasyonların gelişiminde kritik olduğunu ve bununda akciğer kanseri oluşumunda önemli bir basamak olduğunu ileri sürmüşlerdir. Fan ve ark. (82) çocuklar üzerinde yaptıkları çalışmada okula ulaşımda hava kirliliğine maruziyet miktarına göre 2 grup oluşturmuş ve bu gruplarda, idrardaki polisiklik aromatik hidrokarbon metabolitleri ve 8-OHdG miktarlarını ölçmüşlerdir. Bu iki grup arasında hem polisiklik aromatik hidrokarbon metabolit düzeyi hem de 8-OHdG düzeyi hava kirliliğine daha fazla maruz kalan grupta diğer gruba göre yüksek bulunmuştur.

Radyoterapi ve/veya kemoterapi alan hastalarda idrarda artmış ürik asit seviyelerine rağmen, yapılan çalışmalarda idrar ve kan hücrelerindeki 8-OHdG seviyelerinin her zaman artmadığı görülmüştür. Bu durum idrarda ölçülen oksidatif DNA lezyonlarının diyete mi, hücre yapım-yıkımına mı yoksa DNA onarımına mı bağlı olduğunun tartışılmasına yol açmaktadır (8, 51, 55, 83-85). Yamazaki ve ark. (85) meme, dil, prostat, ösefagus ve serviks kanseri tanılı hastaların tedavi öncesi idrar 8-OHdG değerlerini cerrahi+radyoterapi/kemoterapi tedavileri sonrası ölçülen idrar 8-OHdG değerleriyle kıyaslamış ve farklı kanser türlerinde farklı sonuçlar bulmuştur. Pirich ve ark. (83) radyasyon sinovektomisi uygulanan artritli hastalarda tedavi sonrası idrar 8-OHdG değerlerinde anlamlı değişiklik izlenmediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki tüm hastalar radyoterapi ve kemoterapi almamış hastalardan oluşmaktaydı ve bu tedavilerin 8-OHdG üzerine etkileri ve etki mekanizmasının anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Yüksek rakımda yaşamanın oksidatif stresle ilişkisini araştırdıkları bir çalışmada Chao ve ark. (86) yüksek irtifanın fazla oksijen tüketimine bağlı olarak oksidatif stresi artırdığını ve bu kişilere antioksidan vermenin DNA hasarını azalttığını savunmuştur. Miller ve ark. (87) tırmanma sporcuları üzerinde yaptıkları çalışmada yüksek irtifanın kandaki oksidatif stresi artırdığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmadaki tüm hastalar ve kontrol grubundaki kişiler benzer rakımda yaşamaktaydı.

Alkol kullanımı ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada Sakano ve ark. (88) sağlıklı bireyleri araştırmış ve alkol kullanımının idrar 8-OHdG değerlerini değiştirmediğini belirtmişlerdir. Yoshida ve ark. (89) orta düzeyde alkol tüketicileri üzerinde yaptığı çalışmada ise bu grupta idrar 8-OHdG düzeyinin düşük olduğu belirlenmiştir. Wong ve ark. (90) araştırmalarında ise alkol tüketiminin idrar 8-OHdG seviyelerini artırdığı fakat bu artışın alkol tüketim miktarı ile korele olmadığı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grubundaki kişiler alkol kullanmadıklarını belirtmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalar değerlendirildiğinde ortaya çıkan farklı sonuçlar, alkolün idrar ve plazma 8-OHdG değerleri üzerine etkisinin net olarak bilinmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Farklı kanser türlerinde 8-OHdG seviyeleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (8, 91-106). Karahalil ve ark. (97) akciğer kanseriyle ilgili çalışmalarında kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında idrar 8-OHdG miktarları arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Loft ve ark. (99), Erholaa ve ark (98) da aynı şekilde idrar 8-OHdG miktarlarında anlamlı fark olmadığını bulmuşlardır. Çobanoğlu ve ark. (100) çalışmasında ise 8-OHdG değerleri akciğer kanserli hastalarda yüksek bulunmuştur. Yamamoto ve ark. (92) jinekolojik kanserli hastalarda yaptıkları araştırmada idrar 8-OHdG değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Xu ve ark. (101) papiller seröz over kanserli hastaları araştırdıkları çalışmada kanser dokusu, kanser içermeyen normal doku, seröz kistadenom dokusu ve normal over dokusundaki 8-OHdG seviyelerini değerlendirmişlerdir. Bu dokular arasında high-grade papiller seröz over kanser dokusu ile bu hastalardaki normal doku arasında anlamlı fark bulmuşlardır. Ayrıca papiller seröz over kanserli dokudaki 8-OHdG değerleri ile hastalıksız yaşam süreleri arasında negatif korelasyon tesbit etmişlerdir. Miyake ve ark. (93) prostat kanseri tanılı hastalarda yaptıkları çalışmada üriner 8-OHdG değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Ayrıca hormonoterapi sonrası ölçülen değerlerin tedavi öncesi değerlerden daha düşük olduğunu fakat cerrahi sonrası

değerlerin bu şekilde düşüş göstermediğini belirtmişlerdir. Ma ve ark. (102) çalışmalarında gastrik kanserli hastaların serum 8-OHdG değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Plachetka ver ark. (103) kolorektal adenokarsinom tanılı hastalarda yaptıkları çalışmada kanserli doku ve normal mukozadaki 8-OHdG seviyelerini değerlendirmiş ve malign dokudaki 8-OHdG seviyelerini normal mukozaya göre daha yüksek bulmuşlardır. Kubo ve ark. (104) ösefagus kanserli hastalar üzerinde yaptıkları benzer çalışmada da kanserli dokuların normal mukozaya göre daha fazla 8-OHdG içerdiği belirtilmiştir. Savic-Radojevic ve ark. (105) transizyonel hücreli mesane kanserli hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada üriner 8-OHdG değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızdatümör dokusundaki 8-OHdG seviyelerinin aynı hastalardaki tümörsüz larenks mukozasına ve farklı hastalardaki laringeal nodül-polip dokularına göre anlamlı derecede yüksek olduğunu fakat non-tümöral dokularla nodül-polip dokularında anlamlı bir fark olmadığını gördük. Bu sonuçlar Plachetka (103) ve Kubo' nun (104) çalışmalarını destekler nitelikteydi. Ayrıca larenks kanseri tanılı hastaların idrar ve kan 8-OHdG değerlerinin bütün kontrol gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu belirledik.

Oksidatif DNA hasarının idrar ve plazmadaki biyogöstergelerinin malign hastalıklarda artabileceği yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu durumun özellikle ileri evre malignitelerde metabolizmada yüksek seviyelere ulaşan oksidatif stres, inflamasyon ve doku yapım-yıkımı sonucunda olabileceği düşünülebilir. Bu hastalardaki artmış lökosit aktivasyonu ve sitokin salınımının da oksidatif stres ürünlerinin artışına neden olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu ürünlerin idrar ve plazmada tesbit edilmesinin tüm vücudun oksidatif stres yükünü gösterebileceği de göz ardı edilmemelidir (8, 94, 106).Bu yüzden oksidatif stres ürünlerinin malign dokulardaki seviyelerini normal dokularla karşılaştıran çalışmaların yorumlanması önemlidir. Malign dokulardaki 8-OHdG miktarının benign dokulara göre yüksek bulunması, yaşlanma ile birlikte malign dokulardaki lokal oksidatif stresi, ayrıca oksidatif stresin ve antioksidanların karsinogenezde önemli olduğunu göstermektedir (103). Fakat oksidatif stres ürünlerinin, özellikle de 8-OHdG seviyelerinin malign hastalıklarda diagnostik ve/veya prognostik değeriyle ilgili elimizde yeterli bilgi bulunmamaktadır (101-104).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Laringeal oksidatif stresin idrar, kan ve dokudaki 8-OHdG seviyelerine göre değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmamızda; sigara kullanımının sağlıklı bireylerde idrar ve kan 8-OHdG seviyelerine etki etmemesimetabolizmanın sigaraya bağlı olarak maruz kaldığı oksidatif stresin kan ve idrardaki 8-OHdG seviyelerine göre yorumlanamayacağını göstermiştir.

Larenks squamöz hücreli kanser tanısı konmuş hastalarla, vokal kordda benign lezyonu bulunan (nodül ve polip) hastaların dokularındaki 8-OHdG seviyeleri karşılaştırıldığında; Non-tümöral mukoza ve nodül-polip dokularındaki 8-OHdG seviyelerinin farklı olmaması fakat tümör dokularındaki seviyelerin bu iki gruptan yüksek olması, malignitenin etraf dokularda oksidatif strese neden olmadığını ancak tümöral dokuda lokalize bir oksidatif stresin bulunduğunu düşündürmektedir.

Larenks kanseri tanılı hastalarla kontrol grubundaki bireylerin kan ve idrar 8-OHdG seviyeleri değerlendirildiğinde; kanserli hastaların kan ve idrar 8-OHdG seviyelerinin yüksek olması larinks kanserinin metabolizmada kan ve idrara yansıyan bir oksidatif strese neden olduğu göstermiştir.

Doku, kan ve idrar 8-OHdG seviyelerinin yüksekliği larinks kanserinin vücutta oksidatif strese neden olduğunu göstermektedir. Bu durumun malignitelerde vücutta oluşan inflamasyon ve hücre yapım-yıkımı sonucunda oluşabileceği düşünüldü. Larinks kanseri ve diğer kanser türlerinde doku ve idrar 8-OHdG seviyelerinin ölçümüyle hastalığın tanı ve prognozuyla ilgili fikir sahibi olabilmek için elimizdeki bilgilerin yetersiz olduğu ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Bastian WR. Benign vocal fold mucosal disorders. In Cummings CW, ed. Otolaryngology Head and Neck Surgery, St Louis, Mosby Company, 1998; 2096-2129.
2. Poels PlP, de long FJCRS, Schutte HK. Consistency of the preoperative and intraoperative diagnosis of benign vocal fold lesions. 1 Voice, 2003; 17: 425-433.
3. Oejonckewe PH, Bradley P, Clemente P, et al. A basic protocol for functional assessment of voice pathology, especialy for investigating the efficacy of (phono surgical) treatments and evaluating new assessment techniques. Guideline elaborated by commitee on phoniatrics of the European
4. Rosen CA, Murry T. Nomenclature of voice disorders and vocal pathology. Otolaryngol Clin N Amer, 2000; 33: 1035 -1045.
5. Cummings CW. Otolaryngology Head and Neck Surgery. Mosb. Co. St. Louis Toronto, Vol. 3 1993.
6. Johns MM. Update on the etiology, diagnosis, and treatment of vocal fold nodules, polyps, and cysts. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg, 2003; 11: 456-461.
7. Kaya S. Larenks Hastalıkları. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara. 2002.
8. Emerce E. DNA onarım enzimi OGG1 SER326CYS polimorfizmi ile akciğer kanseri ilişkisinin Türk popülasyonunda araştırılması ve oksidatif hasarın biyogöstergesi 8-OHdG ölçümü. Gazi ÜniversitesiSağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2007.
9. Yokuş B. Çakır DÜ. İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkerı; 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine. T Klin Tıp Bilimleri 2002; 22: 535-543.
10. Çelik O. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi, İstanbul, Güneş Tıp Kitabevi, 2. Baskı, 2007; 689-95.
11. Basut O. Larenks ve Hastalıkları, 2003; 1-11.
12. Koç C. Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, Güneş Tıp Kitabevi, 4. Baskı, İstanbul, 2007; 2150-85.
13. Bastian RW, Nagorsky MJ; Laryngeal image biofeedback, Laryngoscope1987; 97: 1346.
14. Brockmuehl F. Die Behandlung und prognose des Kehlkopfkrebes in der DDR von 1956-1966 und epidemiologicsh Gesichtspunken. Berlin: Habel, 1977.

15. Wynder EL and Stellman SD. Comparative epidemyology of tobacco-related cancers. Cancer Res 1977; 4608-22.
16. Hirano M. Bless DM. Videostroboscopic examination of the larynx. San Diego: Singular Publishing Group, 1993.
17. Bastian RW, Delsupehe KG: İndirect larynx and pharynx surgery: a replacement for direct laryngoscopy, Laryngoscope 1996; 160: 1280
18. Cornut G, Bouchayer. Contribution of endolaryngeal microsurgery in the treatment of vocal disorders, J Med Lyon 1971; 52: 1525-6.
19. Lehmaun W, Pidoux JM, Widman JJ. Larynx microlaryngoscopy and histopathology, Genova: Inpharzan med Pub, 1981.
20. Brockmuehl F. Die Behandlung und prognose des Kehlkopfkrebes in der DDR von 1956-1966 und epidemiologicsh Geslchtspunken. Berlin: Habel, 1977.
21. Winder EL, Stellman SD. Comparative epidemiology of tobacco-related cancers, Cancer Res 1977; 37: 4608-22.
22. Winder EL, Stellman SD. Impact of long-term fitler cigarratte usage on lung and larynx cancer risk: a case control study, J Natl Cancer Inst 1979; 62: 471-7.
23. Trell E, Korsgaard R, Hood B, et al. Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and laryngeal carsinomas. Lancet 1976; 17: 140-8.
24. Loning T, Meichsner M, Milde-Langosch K, et al. HPV DNA delection in tumours of the head and neck: a comparative light microscopy and DNA hybridization study. ORL J. Otorhinolaryngol. 1987; 49: 259-69.
25. Lawson S, Som M. Second primer cancer after irridation of laryngeal cancer. Ann Otol Rhinol Laryngol 1975; 84: 771-5.
26. Koç C. Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, Güneş Tıp Kitabevi, 4. Baskı, İstanbul, 2007; 2222-75.
27. Çelik O. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi, İstanbul, Güneş Tıp Kitabevi, 2. Baskı, 2007; 697-725.
28. Lee KJ. Essential Otolaryngology. Stamford: Appleton and Lange, 1995.
29. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi Ltd Şti, 2003; 1183-1216.
30. P Greene F, Page D, Fleming I, and others. AJCC cancer staging manual: part II head and neck sites, ed 6, New York, Springer Verlag, 2002; pp: 17-18.

31. Ferlito A. Friedman I, Rinaldo A. Laryngeal epithelial changes, diagnosis and therapy. In: Ferlito A, ed. Diseases of the Larynx. London: Arnold, 2000; 579-585.
32. Remacle M, Eckel HE, Antonelli A, et al. Endoscopic cordectomy. Aproposal for a classification by the Working Committee, European Laryngological Society. Eur Arch Otorhinolaryngol 2000; 257: 227-231.
33. Ferlito A. Friedman I, Rinaldo A. Laryngeal epithelial changes, diagnosis and therapy. In: Ferlito A, ed. Diseases of the Larynx. London: Arnold, 2000; 579-585.
34. Tucker HM. Malignant noplasms. İn: TuckerHM, ed. The larynx. 2nd ed. Newyork: Thieme, 1993; 288-323.
35. Bagatella F, Bignardi L. Behavior of cancer of the anterior commissure of the larynx. Laryngoscope 1983; 93: 353-6.
36. Cevanşir B, Başerer N, Yazıcıoğlu E. Laryngectomies partielles fronto laterales et fronto anteriores. In: Sunar O, Altuğ T, Devranoğlu İ, eds. Proceedings of the XV. World Congress of ORL Head and Neck Surgery, Vol II İstanbul 1993; 798-801.
37. Pearson BW, Woods RD 2nd, Hartman DE. Extended hemilaryngectomy for T3 glottic carcinoma with preservation of speech and swallowing. Laryngoscope1980; 90: 1950-61.
38. Sasaki CT, Carlson RD. Malignant neoplasms of the larynx. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schüller DE, eds. Otolaryngology Head and Neck Surgery, ‘nd ed. St Louis: Mosby Comp, 1986; 1925-54.
39. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. Cerrahpaşa J Med 2004; 35: 159-169.
40. Boiteux S, Radicella JP. Base excision repair of 8-hydroxyguanine protects DNA from endogenous oxidative stress.Biochimie. 1999; 81 (1-2) : 59-67.
41. Hirano T, Yamaguchi R, Asami S, Iwamoto N, Kasai H. 8-Hydroxyguanine levels in nuclear DNA and its repair activity inrat organs associated with age. The Journal of Gerantology 1996; 51: 303-8.
42. Klunglanda A, Bjellandb S. Oxidative damage to purines in DNA: Roleof mammalian Ogg1. DNA Repair 2007; 6: 481–488.
43. Le Marchand L, Donlon T, Lum-Jones A, Seifried A, Wilkens LR.Association of the hOGG1 Ser326Cys Polymorphism with Lung Cancer Risk. Cancer Epidemiology, Biomarkers &Prevention 2002; 11: 409-412.

44. Sugimura H, Kohno T, Wakai K, Nagura K, Genka K, Igarashi H, et al. hOGG1 Ser326Cys Polymorphism and Lung Cancer Susceptibility. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 1999; 8: 669-674.
45. Asami S, Hirano T, Yamaguchi R, Tomioka Y, Itoh H, Kasai H. Increase of a Type of Oxidative DNA Damage, 8-Hydroxyguanine, and Its Repair Activity in Human Leukocytes by Cigarette Smoking. Cancer Research 1996; 56: 2546-2549.
46. Loft S, Poulsen HE. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. J Mol Med 1996; 74 (6) : 297-312.
47. Elahi A, Zheng Z, Park J, Eyring K, McCaffrey T, Lazarus P.The human OGG1 DNA repair enzyme and its association with orolaryngeal cancer risk. Carcinogenesis, 2002; 23 (7) : 1229-1234.
48. Collins AR. Oxidative DNA damage, antioxidants, and cancer.BioEssays 1999; 21: 238–246.
49. Haghdoost S, Sjölander L, Czene S, Harms-Ringdahl M.Thenucleotide pool is a significant target for oxidative stress. Free RadicalBiology & Medicine 2006; 41: 620–626.
50. Bjelland S, Seeberg E. Mutagenicity, toxicity and repair of DNA basedamage induced by oxidation. Mutation Research 2003; 531: 37–80.
51. Olinski R, Rozalski R, Gackowski D, Foksinski M, Siomek A, CookeMS. Urinary Measurement of 8-OxodG, 8-OxoGua, and 5HMUra: ANoninvasive Assessment of Oxidative Damage to DNA. Antıoxıdants &Redox Sıgnalıng, 2006; 8 (5-6) : 1011-1019.
52. Olinski R, Gackowski D, Rozalski R, Foksinski M, Bialkowski K.Oxidative DNA damage in cancer patients: a cause or a consequence ofthe disease development? Mutation Research 2003; 531: 177–190.
53. Dizdaroglu M, Karakaya AE, Advances in DNA damage andrepair. Kluwer Academic/Plenium Publishers. Newyork. 1999; 67-87.
54. Helbock HJ, Beckman KB, Shigenaga MK, Walter PB, Woodall AA, Yeo HC, Ames BN. DNA oxidation matters; The HPLCelectrochemical detection assay of 8-oxo-deoxyguanosine and 8-oxo-guanine. Proc Natl Acad Sci 1998; 95 (1) : 288-93.

55. Cooke MS, Evans MD, Dove R, Rozalski R, Gackowski D, Siomek A, DNA repair is responsible for the presence of xidatively damaged DNA lesions in urine. Mutation Research 2005; 574: 58–66.
56. Floyd RA, Watson J, Wong PK. Hydroxyl free radical adduct of deoxyguanosine: sensitive detection and mechanism of formation. Free Radical Res.Commun 1986; 1: 163-72.
57. Wua LL, Chioud CC, Change PY, Wua JT. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. Clinica Chimica Acta 2004; 339: 1 –9.
58. Kima J, Hyun J, Hayakawa H, Choi S, Choi J, Chung M. Exogenous 8-oxo-dG is not utilized for nucleotide synthesis but enhances the accumulation of 8-oxo-Gua in DNA through error-prone DNA synthesis. Mutation Research 2006; 596: 128–136.
59. Shimoi K, Kasai H, Yokota N, Toyokuni S, Kinae N. Comparison between High-Performance Liquid Chromatography and Enzyme-linked Immunosorbent Assay for the Determination of 8-Hydroxy-2 -deoxyguanosine in Human Urine. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 2002; 11: 67–770.
60. Collins AR, Dusinska M, Gedik CM, Stetina R. Oxidative Damage to DNA: Do We Have a Reliable Biomarker? Environmental Health Perspect, 1996; 104 (S3).
61. Halliwell B. Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: The biomarker concept. Nutrition Reviews 1999; 57 (4) : 104-13.
62. Jaruga P, Speina E, Gackowski D, Tudek B, Olinski R. Endogenous oxidative DNA base modifications analysed with repair enzymes and GC/MS technique. Nucleic Acid Res 2000; 28 (6) : 16-20.
63. Yoshida R, Ogawa Y, Kasai H. Urinary 8-Oxo-7, 8-dihydro-2 - deoxyguanosine Values Measured by an ELISA Correlated Well with Measurements by High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention2002; 11: 1076–1081.
64. Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames BN. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2_-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. Proceedings of National Academy of Sciences, USA 1990; 87: 4533–4537.

65. Kasai H, Iwamoto-Tanaka N, Miyamoto T, Kawanami K, Kawanami S, Kido R, Ikeda M. Life style and urinary 8-hydroxydeoxygua-nosine, a marker of oxidative DNA damage: effects of exercise, working conditions, meat intake, body mass index, and smoking. Japanese Journal of Cancer Research 2001; 92: 9–15.
66. Shigenaga MK, Ames BN. Assay for 8-hydoxy-2'-deoxyguanosine; A biomarker of in vivo oxidative DNA damage. Free Radic Biol&Med 199; 10: 211-6.
67. Lagorio S, Tagesson C, Forastiere F, Iavarone I, Axelson O, Carere A. Exposure to benzen and urinary concentrations of 8-hydroxydeoxyguanosine, a biological marker of oxidative damage to DNA. Occup and Enviro Med 1994; 51: 739-43.
68. Ames.BN. Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer. Free Rad Res Commun. 1989; 7: 121-8.
69. Irie M, Tamae K, Iwamoto-Tanaka N, Kasai H. Occupational and lifestyle factors and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine. Cancer Sci 2005; 96 (9) : 600– 606.
70. Loft S, Vistisen K, Ewertz M, Tjonneland A, Overvad K, Poulsen HE. Oxidative DNA damage estimated by 8-hydroxydeoxyguanosine excretion in humans: influence of smoking, gender and body mass index. Carsinogenesis 1992; 13 (12) : 2241-7.
71. Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, Itoh H, Kasai H. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung.Carcinogenesis 1997; 18 (9) : 1763–1766.
72. Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of celluler oxidative stress during carcinogensis. Mutation Research. 1997; 387: 147-63.
73. Kiyosawa H, Suko M, Okudaria H, et al. Cigarette smoking induces formation of 8OhdG, one of the oxidative DNA damage, in human peripheral leukocytes. Free Radic Res.1990; 11: 23-7.
74. Chiang HC, Huang YK, Chen PF, Chang CC, Wang CJ, Lin P, Lee HL. 4-(Methylnitrosamino) -1- (3-pyridyl) -1-butanone is correlated with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in humans after exposure to environmental tobacco smoke. Science of the Total Environment. 2012; 414: 134-9.

75. Tarng DC, Huang TP, Liu TY, Chen HW, Sung YJ, Wei YH. Effect of vitamin E-bonded membrane on the deoxyguanosine level in leukocyte DNA of hemodialysis patients. Kidney _nt. 2000; 58 (2) : 790-9.
76. Avogbe PH, Ayi-Fanou L, Autrup H, Loft S, Fayomi B, Sanni A. Ultrafine particulate matter and high-level benzene urban air pollution inrelation to oxidative DNA damage. Carcinogenesis 2005; 26 (3) : 613—620.
77. Chuang CY, Lee CC, Chang YK, Sung FC. Oxidative DNA damage estimated by urinary 8-hydroxydeoxyguanosine: influence of taxi driving, smoking and areca chewing. Chemosphere 2003; 52: 1163–1171.
78. Calderon GL, Wen-wang L, Zhang YJ. Rodriquez AA. et.al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a major mutagenic oxidative DNA lesion, and DNA strand breaks in nasal respiratory epitheium of children exposed to urban pollution. Environ Health Perspect 1999; 107 (6) : 469-74.
79. Lunec J. ESCODD: European Standarts comittee on Oxidative DNA Damage. Free Radic Res 1998; 29: 601-8.
80. Nagashima M, Kasai H, Yokota J. Formation of an oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in mause lung DNA after intratracheal installation of diesel exhaust particles and effects of high dietary fat and beta-carotene on this process. Carsinogenesis 1995; 16: 1441-5.
81. Fung H, Kow YW, Houten BV, Mossman BT. Patterns of8hydroxy-2'-deoxyguanosine formation in DNA indications ofoxidative stress in rat and human pleural mesothelial cells afterexposure to crocidolite asbestos. Carsinogenesis 1994; 18 (4) : 825-32.
82. Fan R, Wang D, Mao C, Ou S, et al. Preliminary study of children's exposure to PAHs and its association with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in Guangzhou, China. Environment İnternational 2012; 42: 53-58.
83. Pirich C, Pilger A, Schwameis E, et al. Radiation synovectomy using 165Dy ferric-hydroxide and oxidative DNA damage in patients with different types of arthritis. The Journal of Nuclear Med 2000; 141 (2) : 250-6.
84. Cooke MS, Evans MD, Lunec J. DNA Repair: Insights from Urinary Lesion Analysis Free Radical Research 2002; 36 (9) : 929–932.

85. Yamazaki H, Inoue T, Koizumi M, et al. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine excretion as a biomarker for estimating DNA oxidation in patients undergoing external radiotherapy and/or brachytherapy. Oncol Rep. 2005; 13 (5) : 847-51.
86. Chao WH, Askew EW, Roberts DE, Wood SM. Oxidative stres in humans during work at moderate altitude. The Journal of Nutrition 1999; 129 (11) : 2009-12.
87. Miller LE, McGinnis GR, Kliszczewicz B, et al. Blood oxidative-stress markers during a high-altitude trek. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2013 Feb; 23 (1) : 65-72.
88. Sakano N, Takahashi N, Wang DH, et al. Plasma 3-nitrotyrosine, urinary 8-isoprostane and 8-OHdG among healthy Japanese people. Free Radic Res. 2009 Feb; 43 (2) : 183-92.
89. Yoshida R, Shioji I, Kishida A, Ogawa Y. Moderate alcohol consumption reduces urinary 8-hydroxydeoxyguanosine by inducing of uric acid. Ind Health. 2001 Oct; 39 (4) : 322-9.
90. Wong RH, Yeh CY, Hsueh YM, et al. Association of hepatitis virus infection, alcohol consumption and plasma vitamin A levels with urinary 8-hydroxydeoxyguanosine in chemical workers. Mutation Research, 2003 Mar 3; 535 (2) : 181-6.
91. Tagesson C, Källberg M, Klintenberg C, Starkhammar H. Determination of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine by automated coupled-column high performance liquid chromatography: a powerful technique for assaying in vivo oxidative DNA damage in cancer patients. Eur J Cancer 1995; 31A (6) : 934-40.
92. Yamamoto T, Hosokawa K, Tamura T, Kanno H, Urabe M, Honjo H. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) levels in women with or without gynecologic cancer. J Obstet Gynaecol Res 1996; 22 (4) : 359-63.
93. Miyake H, Hara I, Kamidono S, Eto H. Oxidative DNA damage in patients with prostate cancer and its response to treatment. J Urol. 2004; 171 (4) : 1533-6.
94. Rozalski R, Gackowski D, Roszkowski K, Foksinski M, Olinski R. The Level of 8-Hydroxyguanine, a Possible Repair Product of Oxidative DNA Damage, Is Higher in Urine of Cancer Patients than in Control Subjects. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 2002; 11: 1072–1075.

95. Gackowski D, Speina E, Zielinska M, Kowalewski J, Rozalski R, Siomek A et al. Products of Oxidative DNA Damage and Repair as Possible Biomarkers of Susceptibility to Lung Cancer. Cancer Research 2003; 63: 4899–4902.
96. Prieme H, Loft S, Klarlund M, Gronbæk K, Tonnesen P, Poulsen HE. Effect of smoking cessation on oxidative DNA modification estimated by 8-oxo-7, 8-dihydro-29-deoxyguanosine excretion. Carcinogenesis 1998; 19 (2) : 347–351.
97. Karahalil B, Emerce E, Koçer B, Han S, Alkış N, Karakaya AE. *OGG1 gene polimorphism and 8-OHdG levels in lung cancer patients.* Arh Hig Rada Toksikol 2008; 59: 241-250.
98. Erholaa M, Toyokunib S, Okadab K, Tanakab T, Hiaib H, Ochic H et al. Biomarker evidence of DNA oxidation in lung cancer patients: association of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine excretion with radiotherapy, chemotherapy, and response to treatment. FEBS Letters1997; 409: 287-291.
99. Loft S, Svoboda P, Kasai H, Tjønneland A, Vogel U, Moller P, Overvad K, Raaschou-Nielsen O. Prospective study of 8-oxo-7, 8-dihydro-20- deoxyguanosine excretion and the risk of lung cancer. Carcinogenesis2006; 27 (6) : 1245-1250.
100. Çobanoğlu U, Demir E, Çebi A, et al. Lipid peroxidation, DNA damage and coenzyme Q10 in lung cancer patients--markers for risk assessment? Asian Pac J Cancer Prev. 2011; 12 (6) : 1399-403.
101. Xu X, Wang Y, Guo W, et al. The significance of the alteration of 8-OHdG in serous ovarian carcinoma. J Ovarian Res. 2013 Oct 29; 6 (1) : 74.
102. Ma Y, Zhang L, Rong S, et al. Relation between gastric cancer and protein oxidation, DNA damage, and lipid peroxidation. Oxid Med Cell Longev. 2013; 2013: 543760.
103. Plachetka A, Adamek B, Strzelczyk JK, et al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in colorectal adenocarcinoma--is it a result of oxidative stress? Med Sci Monit. 2013 Aug 21; 19: 690-5.
104. Kubo N, Morita M, Nakashima Y, et al. Oxidative DNA damage in human esophageal cancer: clinicopathological analysis of 8-hydroxydeoxyguanosine and its repair enzyme. Dis Esophagus. 2013 Aug 1; doi: 10.1111.

105. Savic-Radojevic A, Djukic T, Simic T, et al. GSTM1-null and GSTA1-low activity genotypes are associated with enhanced oxidative damage in bladder cancer. Redox Rep. 2013; 18 (1) : 1-7.
106. Loft S, Moller P. Oxidative DNA Damage and Human Cancer: Need forCohort Studies. Antioxid. Redox Signal. 2006; 8: 1021–1031.
107. Korkmaz GG, Buğdaycı G, Güçtekin A. Hipertansiyonlu hastalarda mikroalbüminüri tarama testi: Spot idrarda albumin/kreatinin oranı. TürkiyeKlinikleri J. Med Sci 2005; 25: 1-5.
108. Shigenaga MK, Aboujaoude EN, Chen Q & Ames BN (1994) : Assays of oxidative DNA damage biomarkers 8-oxo-2 ¢ -deoxyguanosine and 8-oxoguanine in nuclear DNA and biological fluids by high-performance liquid chromatography with electrochemicaldetection. Methods Enzymol 234: 16–33.
109. Mosca F, Fattorini D, Bompare S, et al. Assay of Coenzym Q10 in Plasma by single Dilution Step. Analitical Biocehmistry 305, 49-54.
110. Armstrong D. Free radical and antioxidant protocols. Introduction. *Methods Mol Biol*. 1998; **108**: 5–8.
111. Rebelo IA, Piedade JAP, Oliveira-Brett AM. Development of an HPLC method with electrochemical detection of femtomoles of 8-oxo-7, 8-dihydroguanine and 8-oxo-7, 8-dihydro-2'deoxyguanosine in the presence of uric acid. Talanta 2004; 63: 323-31.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

KBB HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Laringeal Biyopsi Yapılan Hastalarda Oksidatif Stresin Biyogöstergesi Olan 8-OHdG Miktarının Biyopsi Materyali, Kan, İdrarda Ölçülmesi

Dr. M.Recai MAZLUMOĞLU

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi	: 13.11.2009
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi	: 13.03.2014
Uzmanlık Sınavı Tarihi	: 13.03.2014
Tez Danışmanı	:Doç.Dr.Özgür YÖRÜK
Jüri Başkanı	: Prof.Dr.Enver ALTAŞ
Jüri Üyesi	: Prof.Dr.Bülent AKTAN
Jüri Üyesi	: Prof.Dr. Harun ÜÇÜNCÜ
Jüri Üyesi	: Prof.Dr.Nazım DOĞAN
Jüri Üyesi	: Doç.Dr.Özgür YÖRÜK

Prof. Dr.Enver ALTAŞ
KBB Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

MART -2014
ERZURUM