

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAŞ BOYUN KANSERLERİ VE TEDAVİ STRATEJİLERİNİN
HPV İLE İLİŞKİSİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI**

ERSOY DOĞAN

ORCID: 0000-0003-0539-4232

ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
TEMEL ONKOLOJİ DOKTORA TEZİ

İZMİR
OCAK 2023
TEZ KODU: DEU.HSI.PhD-2013970092

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAŞ BOYUN KANSERLERİ VE TEDAVİ STRATEJİLERİNİN
HPV İLE İLİŞKİSİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI**

ERSOY DOĞAN

ORCID: 0000-0003-0539-4232

ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
TEMEL ONKOLOJİ DOKTORA TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İlhan ÖZTOP

ORCID: 0000-0002-0425-0651

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından
2013.KB.SAĞ.066 proje numarası ile desteklenmiştir.

İZMİR
OCAK 2023

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE
ETİK BEYANI

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğum **“Baş Boyun Kanseri ve Tedavi Stratejilerinin HPV ile İlişkisinin İn Vitro Araştırılması”** başlıklı doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurullar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ersoy Doğan

03.01.2023

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ii
KISALTMALAR	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
1.1. Problemin Tanımı	1
1.2. Araştırmanın Amacı	3
1.3. Araştırma Soru ve Hipotezleri.....	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Baş Boyun Kanserlerinin Tanımı	4
2.2. Baş Boyun Kanserlerinin Epidemiyolojisi	5
2.3. Baş Boyun Kanseri Tipleri	6
2.3.1. Larenks Kanseri	7
2.3.2. Oral Kavite Kanseri	8
2.3.3. Nazofarenks Kanseri.....	8
2.3.4. Orofarenks Kanseri	9
2.3.5. Hipofarenks Kanseri	9
2.4. Baş Boyun Kanserlerinde Tedavi.....	10
2.4.1. Cerrahi Tedavi	10
2.4.2. Kemoterapi.....	12
2.4.3. Radyoterapi.....	13
2.5. Human Papilloma Virüsü (HPV).....	14
2.5.1. Baş Boyun Kanserlerinde HPV	14

2.5.2. Karsinogenezde HPV'nin Patolojik Moleküler Mekanizmaları	15
2.5.3. HPV (+) Baş Boyun Kanseri Hastanın Klinik Özellikleri.....	17
2.5.4. HPV (+) Tümörün Klinik Önemi	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Araştırmanın Tipi	18
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı	18
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları.....	18
3.4. Çalışma Materyali	20
3.5. Araştırmanın Değişkenleri.....	21
3.6. Veri Toplama Araçları.....	21
3.6.1. Olgular ve Örnek Hazırlama	21
3.6.2. Primer Hücre kültürü	21
3.6.3. Doz Optimizasyon Deneyleri.....	22
3.6.4. WST-1 ile Hücre Proliferasyonunun Tayini	22
3.6.5. DNA İzolasyonu	23
3.6.7. RT-PCR ile HPV Varlığının Değerlendirilmesi.....	23
3.6.8. Apoptoz, DNA Hasarı ve Hücre Proliferasyonunun Akım Sitometri ile Değerlendirilmesi.....	24
3.7. Verilerin Değerlendirilmesi.....	25
3.8. Araştırmanın Akış Şeması	25
3.9. Etik Kurul Onayı	26
4. BULGULAR	27
4.1. Olgular ve HPV Durumuna Göre Dağılımları.....	27
4.2. Doz Optimizasyon Bulguları	27
4.3. Apoptoz, DNA Hasarı ve Hücre Proliferasyonu Akım Sitometri Bulguları..	29
4.4. Tedavi Yanıtlarının Analizi	44

4.5. Hastaların Baş Boyun Tümörlerinin Patolojik Özelliklerine Göre Tedavi Yanıtları Bulguları.....	48
4.6. HPV Varlığına Göre Proliferasyon, DNA Hasarı ve Apoptoz Bulgularının Karşılaştırılması.....	49
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ	56
7. KAYNAKLAR.....	57
EKLER.....	67
EK-1: Etik Kurul Onayı	67
EK-2: Veri Kayıt Formu.....	68
EK-3: Bilgilendirilmiş Onam Formu.....	69
EK-4: Tez ile İlişkili Makaleler.....	70
EK-5: Tez ile İlişkili Sözlü Bildiri.....	74
EK-6: Özgeçmiş.....	75

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. PCR sonucuna göre HPV değerkendirme skalası.....	24
Tablo 2. Elde edilen tedavi yanıtlarının tüm tedavi gruplarındaki dağılımı	
Tablo 3. Tüm tedavi gruplarında tedavi yanıtlarının istatistiksel karşılaştırma bulguları.....	44
Tablo 4. HPV durumuna göre grup içi farklı tedavi yanıtlarının istatistiksel karşılaştırma bulguları.....	46
Tablo 5. HPV durumuna göre hastalarda yaş ortalamasının gruplardaki tedavi yanıtları ile korelasyonunun istatistiksel karşılaştırma bulguları.....	47
Tablo 6. HPV (-) baş boyun kanserlerinde primer tümör lokalizasyonuna göre proliferasyon düzeyi	48
Tablo 7. HPV durumuna göre farklı tedavilere bağlı proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarındaki değışimlerin karşılaştırılması.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Yerleşim yerine göre baş boyun kanserleri.....	6
Şekil 2. Yüksek riskli HPV onkogenlerinin sinyal yolları.....	16
Şekil 3. Baş boyun kanseri hücre kültürlerinde kemoterapi uygulama grupları.....	19
Şekil 4. Baş boyun kanseri hücre kültürlerinde kemoterapi ve radyoterapi uygulama grupları.....	19
Şekil 5. Kemoterapi uygulamaları sonucu hücre canlılık yüzdeleri	28
Şekil 6. Radyoterapi uygulamaları sonucu hücre canlılık yüzdeleri.....	28
Şekil 7. Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelerinin akım sitometri ile analiz sonuçları.....	31

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AD	: Anabilim Dalı
BBK	: Baş Boyun Kanserleri
BBSHK	: Baş Boyun Skuamöz Hücreli Karsinomu
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
Gy	: Gray
HPV	: Human papilloma virüs
IGRT	: Görüntü kılavuzlu radyasyon terapisi
ISH	: İn situ hibridizasyon
IMRT	: Yoğunluk ayarlı radyoterapi
KRT	: Kemoradyoterapi
KT	: Kemoterapi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
Rb	: Retinoblastom
RT	: Radyoterapi

BAŞ BOYUN KANSERLERİ VE TEDAVİ STRATEJİLERİNİN HPV İLE İLİŞKİSİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

Doktora Tezi

Ersoy DOĞAN

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ONKOLOJİ ANABİLİM DALI

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada HPV (+) ve HPV (-) olan baş boyun kanseri primer hücre kültürlerinde radyoterapi ve kemoterapiye yanıtın karşılaştırılması ve HPV durumuna bağlı olarak en uygun tedavi modelinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Baş boyun kanseri tanısı almış olan 34 hastanın tümörlerinden doku örnekleri toplandı. Tümörlü doku örneklerinden tek hücre süspansiyonları elde edilip %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin, %1 L-glutamin ve %1 fungizon ilaveli RPMI 1640 ortamında kültüre edildi. Her hastanın primer hücre kültürü için alt gruplar şu şekilde tanımlandı: kontrol, sisplatin, setuksimab, sisplatin + setuksimab kombinasyonu, kemoterapi gruplarının 15 Gy radyoterapili kombinasyonları ve sadece radyoterapi. Hücre proliferasyonu (BrdU), DNA hasarı (H2AX) ve apoptoz (PARP) düzeyleri 24 saatlik inkübasyonun ardından akım sitometri ile analiz edildi. HPV Tip 16 ve Tip 18 durumları da gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT PCR) ile değerlendirildi. Veriler hastaların klinik bulguları ile birlikte istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: 24 erkek ve 10 kadın, ortalama yaş ortalaması 58,33 (23-80) olan bir olgu serisi ile çalışıldı. Tümör yerleşimi 10 olguda oral kavite, 4 olguda orofarenks, 14 olguda larenks ve 6 olguda hipofarenks idi. 5 olguda HPV Tip 16 pozitif tespit edildi (%14,7). İstatistiksel değerlendirme sonucunda in vitro sisplatin, setuksimab, sisplatin + setuksimab kombinasyonu ve bu grupların 15 Gy radyoterapili kombinasyonlarının verildiği hücrelerde DNA hasarı, hücre proliferasyonu ve apoptoz açısından HPV (+) ve HPV (-) olgular arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Tek başına 15 Gy radyoterapi verilen alt grupta, hücre proliferasyon indeksi, apoptoz ve DNA hasarlı hücre yüzdelerinde HPV (+) ve (-) olgular arasında istatistiksel anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0,05$). HPV (-) olan olguların tümör hücrelerinde radyoterapi tek başına daha fazla hücre ölümü, apoptoz ve DNA hasarına neden oldu.

Sonuç: Bu in vitro çalışmada baş boyun kanserlerinin primer hücre kültüründe HPV (+) ve HPV (-) olgular arasındaki kemoterapi ve radyoterapi duyarlılığı proliferasyon (BrdU), DNA hasarı (H2AX) ve apoptoz (PARP) analizleri ile değerlendirildi. Bulgularımız sisplatin ve setuksimabın her iki gruba da ek bir etkisinin olmadığını ve radyoterapinin HPV (-) olgularda daha fazla etkin olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Baş boyun kanseri, HPV, Tedavi stratejileri, Hücre kültürü, Radyoterapi, Kemoterapi

Tezin sayfa adedi: 93

Danışman: Prof. Dr. İlhan Öztöğ

IN VITRO EVALUATION OF HEAD AND NECK CANCERS AND THE RELATIONSHIP OF TREATMENT STRATEGIES WITH HPV

DOCTORAL THESIS

Ersoy DOGAN

DOKUZ EYLUL UNIVERSITY HEALTH SCIENCE INSTITUTE

DEPARTMENT OF ONCOLOGY

ABSTRACT

Aim: To compare the treatment responses of primary cell cultures of HPV positive and HPV negative head and neck cancers to radiotherapy and chemotherapy and to determine the optimal treatment modality depending on the HPV status of the tumor.

Method: Tumor resection samples were obtained from 34 patients with head and neck cancer. Single cell suspensions were acquired from tumor samples and cultivated in RPMI 1640 medium supplemented with 10% FBS, %1 penicillin/streptomycin, 1% L-glutamine and 1% fungisomel. The subgroups were planned for each patient's primary cell culture as control, cisplatin, cetuximab, combination of cisplatin +cetuximab and their 15 Gy radiotherapy combinations. Cell proliferation (BrdU), DNA damage (H2AX) and apoptosis (PARP) levels were analyzed after 24 hours by flow cytometry. Expression of HPV 16 and 18 was also detected by Real time PCR. Data was statistically analyzed considering clinical outcomes of patients.

Results: There were 24 male and 10 female patients with a mean age of 58.44 (23-80). Tumor localisation was oral cavity in 10 patients, oropharynx in 4 patients, larynx in 14 patients and hypopharynx in six patients. HPV 16 was positive in 5 cases (14.7%). In vitro evaluation of cytotoxic, apoptotic and DNA damage among HPV16 positive and negative cases did not show statistically significant difference in cisplatin, cetuximab, combination of cisplatin and cetuximab and their 15 Gy radiotherapy combinations ($p>0.05$). There was statistically significant difference for cell proliferation index, apoptosis and DNA damaged cell percentages among HPV 16 positive and negative cases in 15 Gy radiotherapy alone group. Radiotherapy alone caused more cell death, apoptosis and DNA damage in tumor cells of HPV negative group.

Conclusion: In this in vitro study, chemotherapy and radiotherapy sensitivity of primary cancer cell culture of head and neck cancers were analysed and compared among HPV positive and negative cases by proliferation (BrdU), DNA damage (H2AX) and apoptosis (PARP) methods. Our results indicate that cisplatin and cetuximab did not have an additional effect in both groups and radiotherapy was found to be more effective in HPV negative cases.

Keywords: Head and neck cancer, HPV, Treatment strategies, Cell culture, Radiotherapy, Chemotherapy

Page number: 93

Advisor: Prof İlhan Oztop

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. Problemin Tanımı

Baş boyun kanserleri (BBK) dünyada en sık görülen altıncı kanser çeşidi olup tüm kanserlerin yaklaşık %5'ini oluşturmaktadır (1-3). BBK'nin büyük çoğunluğu üst sindirim ve solunum yolu mukozasından kaynaklanan skuamöz hücreli kanserlerdir ve baş boyun skuamöz hücreli karsinomu (BBSHK) olarak adlandırılır. Adenokarsinomlar, tükürük bezi tümörleri ve mezenkimal tümörler daha az görülmektedir. BBK'nin görülme sıklıkları kaynaklandıkları alt anatomik bölgeye (oral kavite, larenks, nazofarenks, orofarenks, hipofarenks, burun ve paranazal sinüsler, tükürük bezleri) göre coğrafi farklılıklar göstermektedir. İnsidansında dünya genelinde artış söz konusudur. Ülkemizde primer lezyonun bulunduğu bölgeye göre görülme sıklığı sırasıyla larenks, oral kavite, nazofarenks hipofarenks, orofarenks, burun ve paranazal sinüzler olarak sıralanmaktadır (4). İlerlemiş cerrahi tekniklere ve geliştirilmiş kombine kemoradyoterapi (KRT) uygulamalarına karşın hastalık prognozunda önemli bir gelişme henüz elde edilememiştir. BBK'nin yüksek ölçüde yaşam tarzına, özellikle sigara ve alkol tüketimine bağlı olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda Human Papilloma Virüs (HPV) ile ilişkili kanserlerde artış olduğu tespit edilmiştir ve HPV, BBK gelişiminde önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (2). Dairesel, zarfsız, çift zincirli bir DNA virüsü olan HPV'nin yaklaşık 150 alt tipi raporlanmıştır. Alman virolog Dr. Harald Zur Hausen 2008 yılında HPV ve servikal kanser ilişkisini aydınlatarak Nobel Ödülünü kazanmıştır (5,6). HPV, özellikle de HPV Tip 16, BBK gelişiminde önemli bir onkojenik faktör olarak görülmektedir. Özellikle orofarenks kanserlerinde olmak üzere BBK'lerde giderek artan oranda HPV pozitifliği tespit edilmektedir (7). Bu nedenle, çeşitli çalışmalarda HPV (+) tümör hücrelerinin klinik ve moleküler davranışı araştırılmış, HPV (+) tümörlere karşı spesifik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Buna karşın, halihazırda HPV (+) BBK için spesifik olarak uygulanan tedavi modalitesi bulunmamaktadır (8).

HPV ilişkili BBK klinik ve moleküler özellikler açısından sigara ve alkol ile ilişkili kanserlerden farklıdır (7,9). Bu farklılıkların tedaviye verilen cevabı ve prognozu anlamlı derecede etkilediği düşünülmektedir. Uygulanan tedavi modalitesinden bağımsız olarak HPV (+) BBK'nin daha iyi prognoza sahip olduğu gösterilmiştir (7,8,10).

Daha yoğun tedavi modalitelerinin uygulanması, hastalık prognozunu iyileştirmede ve yaşam süresini uzatmada en önemli strateji olarak kabul edilmektedir. Buna karşın uygulanan tedavinin yoğunlaştırılmasıyla ortaya çıkan toksik etkiler hastaların tedaviyi tolere edebilmelerini güçleştirmekte, tedaviden beklenen sonuçların alınamamasına yol açmaktadır. Günümüzde HPV (+) ve HPV (-) BBK için uygulanan tedavi yöntemlerinde farklılık bulunmamaktadır (8,11). Bununla birlikte her iki kanser grubunun farklı klinik ve moleküler özelliklere sahip olması, iki gruba uygulanacak tedavi şekli ve yoğunluğunun farklı olabileceğini düşündürmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda daha düşük dozlarda KRT kullanılıp hastaların yaşam kalitesini artırabilecek ya da KRT etkinliğini artırabilecek HPV'ye spesifik tedavi yöntemlerinin bulunması amaçlanmıştır (8). Yapılan çalışmalarda HPV (+) kanserlerin tanı anında daha yüksek klinik evre ve servikal lenf nodu metastazına sahip olmalarına karşın hastalık prognozunun ve tedaviye verdikleri cevabın HPV (-) kanserlere kıyasla daha iyi olduğu gösterilmiştir (12-17). Bu durumunun nedenini ortaya koymak amacıyla yapılan çalışmalarda hayvan modelleri ve in vitro hücre hatları kullanılmış olsa da HPV (+) ve HPV (-) taze tümör dokularından elde edilmiş primer hücre kültürlerinde farklı tedavi etkinliklerini karşılaştıran bu çalışmadan önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır (18-22).

Yeni tedavi stratejilerinin klinik uygulamaya geçmeden önce, etkinliklerinin preklinik olarak gösterilmesi amacıyla hücre hatları sıklıkla kullanılmaktadır. Buna karşın bu preklinik çalışmalar sınırlı sayıda mevcut olan hücre hatları üzerinde yapılmaktadır. Hücre hatlarının tüm hastalardan elde edilmemesi ve farklı tedavi yöntemlerinin aynı hücre hattı üzerinde çalışılması, hücre hatları kullanılarak yapılan preklinik çalışmaların etkinliğini sınırlamaktadır. Bu nedenle, günümüzde taze tümör dokularından yapılan kanser hücre kültürleri preklinik çalışmalarda giderek artan sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (8,23,24).

1.2. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmada, hastalardan elde edilen taze tümör dokuları hücre kültürlerinde üretilmiştir. Hücre kültürlerinde üretilen HPV (+) ve HPV (-) BBK için radyoterapi (RT) ve kemoterapi (KT) uygulanmış, tedavilerin tek başına ya da kombine etkileri in vitro test edilmiştir. Literatürde BBK ile ilgili hücre kültürü üzerinde yapılmış olan, prospektif bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, BBK'lerde uygulanması planlanan yeni tedavi stratejilerinin preklinik olarak hücre kültürlerinde test edilmesi ve geliştirilmesi için daha sonraki çalışmalara ışık tutacaktır.

1.3. Araştırma Soru ve Hipotezleri

Bu araştırmanın ana hipotezi, BBK'nin RT ve KT'ye verdiği yanıtın tümörün HPV (+) ya da HPV (-) olmasına göre farklı olacağıdır. Buna dayanarak araştırmada şu soruların yanıtları aranmıştır:

1. HPV durumuna göre BBK'nin RT uygulaması sonrası canlılık düzeyi nasıl değişmektedir?
2. HPV durumuna göre BBK'nin RT uygulaması sonrası DNA hasarı nasıl değişmektedir?
3. HPV durumuna göre BBK'nin RT uygulaması sonrası DNA hasarı ilişkili apoptoz düzeyi nasıl değişmektedir?
4. HPV durumuna göre BBK'nin sisplatin uygulaması sonrası canlılık düzeyi nasıl değişmektedir?
5. HPV durumuna göre BBK'nin sisplatin uygulaması sonrası DNA hasarı nasıl değişmektedir?
6. HPV durumuna göre BBK'nin sisplatin uygulaması sonrası DNA hasarı ilişkili apoptoz düzeyi nasıl değişmektedir?
7. HPV durumuna göre BBK'nin setuksimab uygulaması sonrası canlılık düzeyi nasıl değişmektedir?
8. HPV durumuna göre BBK'nin setuksimab uygulaması sonrası DNA hasarı nasıl değişmektedir?
9. HPV durumuna göre BBK'nin setuksimab uygulaması sonrası DNA hasarı ilişkili apoptoz düzeyi nasıl değişmektedir?
10. HPV durumuna göre BBK'nin sisplatin + setuksimab uygulaması sonrası canlılık düzeyi nasıl değişmektedir?

11. HPV durumuna göre BBK'nin sisplatin + setuksimab uygulaması sonrası DNA hasarı nasıl değişmektedir?
12. HPV durumuna göre BBK'nin sisplatin + setuksimab uygulaması sonrası DNA hasarı ilişkili apoptoz düzeyi nasıl değişmektedir?
13. HPV durumuna göre BBK'nin, sisplatin, setuksimab ve sisplatin + setuksimab uygulamalarının RT ile kombinasyonu sonrası canlılık düzeyi, DNA hasarı ve DNA hasarı ilişkili apoptoz düzeyi nasıl değişmektedir?

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Baş Boyun Kanserlerinin Tanımı

BBSHK, üst sindirim ve solunum yolu mukozasını ihtiva eden oral kavite, orofarenks, nazofarenks, larenks, hipofarenks, burun ve burun boşluğu gibi anatomik yapılardan kaynaklanmaktadır. Hastalığın yerleşim yerine göre epidemiyoloji, etiyoloji ve tedavi anlamında farklılıklar göstermektedir (1,3). Dünyadaki tüm kanserler göz önüne alındığında en sık altıncı sırada görülmektedir. Tüm vakaların yaklaşık % 6'sını oluşturur ve kanserden ölümlerin yaklaşık % 1-2' sinden sorumludur (3,25,26). Farklı alt bölgelerde ortaya çıkan BBK'de tedaviler standart olmayıp aynı bölgede ortaya çıkan ama farklı evredeki kanserlerde bile farklı tedaviler uygulanabilmektedir. Bu nedenle, tedavi planlaması multidisipliner olarak yapılmalıdır. Tedavi sonrası dönemde hastalarda ortaya çıkabilen konuşma, yutma, beslenme gibi fonksiyonel ya da estetik bozukluklar göz önünde bulundurulmalı, hastalar rehabilitasyon programına alınmalıdır.

BBSHK için iki önemli risk faktörü tütün ve alkol kullanımıdır (27). Son yıllarda ise HPV, özellikle de HPV tip 16 ile enfeksiyonun, başta orofarenks kanseri olmak üzere BBSHK patogenezinde rol oynadığı ortaya çıkmıştır (28-31). HPV ile ilişkili orofarenks kanserlerinin, HPV ile ilişkisiz kanserlere kıyasla daha iyi prognoza sahip olması nedeniyle, HPV (+) kanserlerin farklı bir klinik ve biyolojik tümörü temsil ettiği kabul edilmektedir (13,31,33). HPV (+) kanserler daha genç yaşta hastalarda ortaya çıkar, RT ve KT'ye daha duyarlıdırlar. Bu nedenle HPV (+) kanserlerin tedavisinde morbiditenin daha az olması için cerrahiden daha çok KRT kullanılmaktadır (24,32). HPV (+) kanserlerin prognozunun daha iyi olması nedeniyle, son yıllardaki çalışmalarda daha az yoğun tedavi modalitelerinin kullanılıp tedaviye bağlı morbiditenin azaltılıp azaltılamayacağını araştırılmaktadır (34-36).

2.2. Baş Boyun Kanserlerinin Epidemiyolojisi

Dünyada görölen tüm kanserler içerisinde tiroid bezi kaynaklı tümörler hariç tutulduğunda BBK 6. sırada yer almaktadır (1-3). BBK'lerin çoğunluğu (%90), üst sindirim ve solunum yolu mukozasından kaynaklanan skuamöz hücreli kanserdir ve BBSHK olarak adlandırılır. BBSHK insidansında ve anatomik alt bölgelere göre görölme sıklığında coğrafi farklılıklar vardır. Bu farklılık; çevresel kanserojenlere maruziyet, alkol ve sigara kullanımı ve HPV insidansı gibi faktörlerle yakından ilişkilidir (2,5,7).

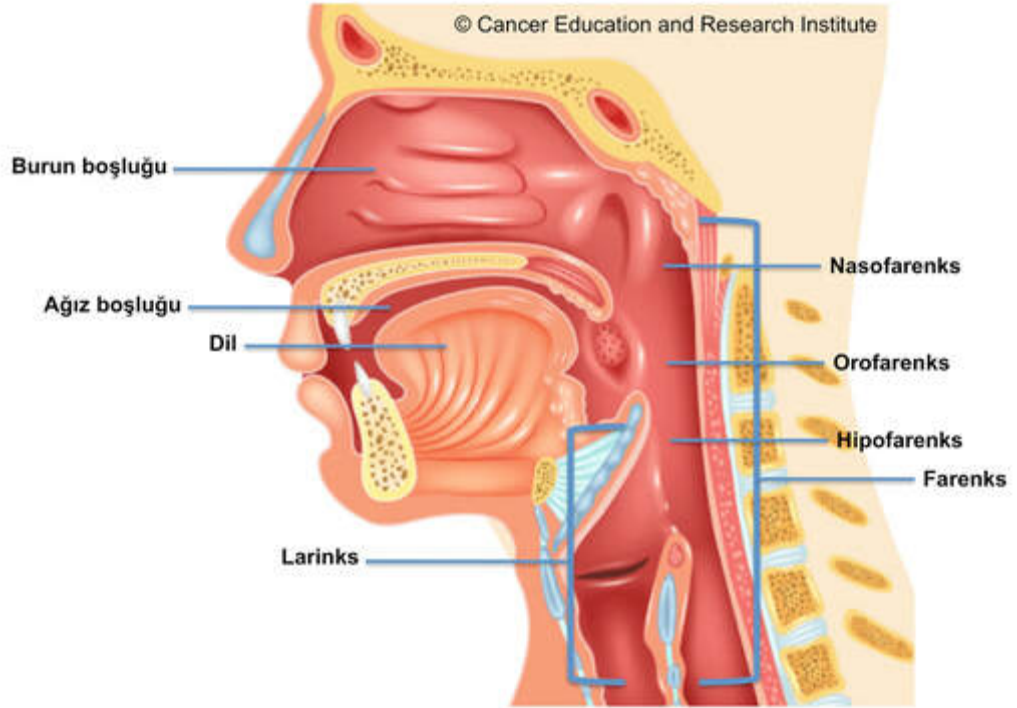
Epidemiyolojik olarak, BBK'nin son on yılda baş boyun kanserinin küresel insidansında önemli bir artış olmuştur (37,38). řu anda, dünya çapında her yıl 650.000'den fazla yeni baş boyun kanseri vakası teşhis edilmektedir ve bunların insidansı gelişmekte olan ölkelerde artmaktadır (2,3,39). Genel olarak, BBK siyah Afrikalıları beyaz ırktan daha genç yaşta etkiliyor gibi görünmektedir (39,40). Erkekler kadınlardan çok daha sık etkilenir (2,39,40).

BBSHK'nin alt bölgelerinde görölme sıklıkları coğrafi farklılıklar gösterse de tüm dünyada en sık oral kavite tümörleri görölmektedir (3). Ölkemiz ise BBK sıklığı açısından dünyanın diğeri bölgelerinden farklıdır. Sağlık Bakanlığı Kanser Daire Başkanlığı'nın 2015 verilerine göre Türkiye'de en sık görölen BBSHK; larenks kanseridir. Larenks kanseri Türkiye'de erkeklerde tüm kanserler içerisinde 7. sıklıkta görölür ve insidansı her 100.000 kişide 7'dir (4). Dünya genelinde, 1990'dan 2017'ye kadar, larenks ve nazofarenks kanserlerinin insidansının azaldığı, orofarenks, hipofarenks ve oral kavite kanseri insidansının ise arttığı görölmektedir. Güney Asya, en yüksek BBK insidans oranına sahip olup, onu Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya izlemektedir. BBK gelişiminde halen tütün ve alkol ana risk faktörleri olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte HPV'ye bağlı ortaya çıkan kanser oranının, etnik kökene, ölkeye ve tütün kullanım yaygınlığına göre değişmekle birlikte büyük ölçüde arttığı görölmektedir (2,7). Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) HPV'ye atfedilen orofarenks kanseri sayısının sigara kullanımına bağlı ortaya çıkan larenks kanseri gibi diğeri BBK'lerden daha fazla olduğu bilinmektedir (7). Bu nedenle BBK gelişimini önlemek için birçok ölkede HPV aşısı giderek artan sayıda önerilmektedir. Bu etiyolojik faktörlerin dışında bazı meslek grupları da, yüksek BBK riskiyle ilişkilidir. Meyve ve sebze tüketiminin BBK'ye karşı koruyucu etkisinin

olduğu bildirilmektedir (41). Tüm bu etiyolojik nedenler göz önüne alındığında, BBK insidansını azaltmak için, tütün kullanımının ve alkol tüketiminin azaltılması ve HPV aşılama kapsamının genişletilmesi en önemli hedeftir. Meslekte kanserojenlerin azaltılması, işçilerin kanserojen maruziyetlerinden korunması, daha iyi beslenme eğitimi ve meyve ve sebzelere kolay ve uygun maliyetli erişim, BBK insidansın azalmasına katkıda bulunabilir (41,42).

2.3. Baş Boyun Kanseri Tipleri

BBSHK, baş boyun bölgesinde yerleştikleri alana göre adlandırılmaktadır. Buna göre 6 ana tip BBK bulunur. Bunlar larenks, oral kavite, nazofarenks, orofarenks, hipofarenks ve burun boşluğu ve sinüs kanserleridir. (Şekil 1).



Şekil 1. Yerleşim yerine göre baş boyun kanserleri

2.3.1. Larenks Kanseri

Larenks boyun orta bölümünde, yutak ile trakea arasında yerleşen organdır. Larenksin 3 temel görevi vardır. Bunlar; beslenme sırasında aspirasyonun önlenmesi, ses üretimi ve nefes almadır. Larenks anatomik olarak supraglottis, glottis ve subglottis olarak adlandırılan 3 alt bölüme ayrılır. Larenks kanserleri her üç bölgede ayrı olarak ortaya çıkabileceği gibi tümör birden fazla alt bölgeyi de tutabilir. Larenks kanserleri için en önemli risk faktörü tütün kullanımıdır (9). Larenks kanserlerinde tedavi kanserin yerleştiği alan ve evresi göz önüne alınarak planlanır. Primer tedavi seçenekleri arasında cerrahi ve RT bulunur. RT daha çok erken evre glottik larenks kanserlerinde primer tedavi olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, total larenjektomi yapılması gereken bazı hastalarda organ koruma amacıyla, komorbid hastalıkları nedeniyle cerrahiye uygun olmayan ya da cerrahi tedavi olmak istemeyen hastalarda da kullanılabilir. RT'nin diğer kullanım alanı ise tek başına ya da KT ile birlikte cerrahi sonrası adjuvant tedavilerdir.

Günümüzde larenks kanserlerinin cerrahi tedavisinde üç seçenek bulunmaktadır. Bunlar, transoral cerrahiler, açık parsiyel larenjektomiler ve total larenjektomidir. Bu cerrahilerin kapsamı arttıkça yaştan bağımsız olarak komplikasyon oranları artar, sağkalım oranları ise azalır (43).

Transoral cerrahiler genellikle erken evre kanserlerde uygulanmaktadır ve trakeotomi, nazogastrik beslenme gibi ek morbidite getirecek işlemlere gerek duyulmaz. Bu durum ek komorbid hastalıkları olan hastalarda iyi tolere edilir. Ayrıca özellikle glottik erken evre kanserlerde lenf nodu metastaz riskinin düşük olması nedeniyle boyun diseksiyonuna gerek duyulmamaktadır.

Ancak açık parsiyel cerrahilerde genellikle trakeotomi uygulanır. Sesin oluşumuna katılan larengeal yapılar hasar görür. Ek olarak bu cerrahilerde yutma fonksiyonunu sağlayan ve aspirasyonu engelleyen larengeal kaslar kesilir. Bu nedenle konuşma, yutma ve aspirasyonu engelleme işlevleri ciddi oranda etkilenir. Bu nedenle bu hastaların uzun süre konuşma ve yutma terapileri almaları gerekmektedir. Ancak akciğer rezervi, rehabilitasyona uyum yaşla birlikte azaldığı için bu cerrahiler ileri yaş hastalarda yüz güldürücü olmayabilir. Aspirasyon pnömonisi bu hastalarda en korkulan komplikasyonlardan biridir. Parsiyel açık cerrahilerde hasta seçimi; motive olmuş hasta ve hasta yakınının olması, hastanın uzun rehabilitasyon sürecine uyumlu mental durumunun olması, yaygın parankim hasarı olmayan iyi akciğer rezervinin varlığı gibi durumlara bağlıdır (44).

2.3.2. Oral Kavite Kanseri

Oral kavite kanserleri sıklıkla sigara içen, ileri yaşlı ve erkek hastalarda görülmektedir. Tanı anında hastaların yarısının 65 yaş ve üzerinde, yaklaşık % 22'sinin ise 75 yaş ve üzerinde olduğu belirtilmektedir (45). Oral kavite kanserleri için en önemli risk faktörleri tütün ve alkol kullanımıdır. Bunlara ek olarak HPV de risk faktörleri arasında yer almaktadır. Oral kavite kanserleri dudak, dil, gingiva, ağız tabanı, retromolar trigon, bukkal mukoza ve sert damaktan kaynaklanmaktadır. Oral kavite kanserlerinde mutlak kontrendikasyon bulunmadıkça tedavi olarak cerrahi tercih edilmelidir. Primer RT ya da KRT, cerrahiye kıyasla lokal ve bölgesel hastalık kontrolü açısından daha az başarıya sahiptir (45,46). RT ya da KRT sonrası başarısızlık durumunda lokal ve bölgesel kontrolsüz hastalık tablosu ortaya çıkabilmekte, bu hastalar ilerleyici ağrı ile birlikte estetik ve fonksiyonel kayıplar nedeniyle hayatlarının geriye kalan bölümlerinde ciddi sıkıntılar yaşayabilmektedirler. Bu nedenle, cerrahi dışı tedavi başarısızlığı sonrası ortaya çıkabilecek kontrolsüz lokal ve bölgesel hastalık riskine karşın hastalarda anestezi ve cerrahiye ait riskler göz önüne alınarak cerrahi rezeksiyonlar mümkün olduğunca uygulanmalıdır.

2.3.3. Nazofarenks Kanseri

Nazofarenks burun boşluğunun arka kısmında yer alan, burun boşluğu ve yutağın üst kısmını birleştiren bir geçiş alanıdır. Kafa tabanı, boyun omurları, sfenoid sinüs ve östaki tüpü gibi önemli yapılarla komşudur. Nazofarenks kanserleri ülkemizde tiroid, gırtlak ve oral kavite kanserlerinden sonra en sık görülen BBK'dir. En önemli risk faktörü genetik iken Epstein Barr Virüs, tuzlanmış gıda tüketimi, sigara ve alkol kullanımı çevresel risk faktörleridir. Nazofarenks kanserleri en sık 30-60 yaş aralığında ve daha çok erkeklerde görülür. Nazofarenks kanserlerinde tedavi planlaması kanserin evresi ve çevre yapılara yayılımı göz önüne alınarak yapılır. Nazofarenks kanseri, epidemiyolojisi ve coğrafi dağılımı nedeniyle diğer BBK'den farklıdır. RT ya da KRT bu bölgenin kanserleri için standart tedavi yöntemidir (47). Primer tedavi olarak cerrahi bu hastalar için yapılmamaktadır. Nazofarenkse ulaşım güçlükleri nedeniyle cerrahi tedavi sadece lokal ya da bölgesel nüks durumunda gündeme gelebilir.

2.3.4. Orofarenks Kanseri

Orofarenks, oral kavitenin gerisinde nazofarenks ve larenks arasında bulunan alandır. Orofarenks kanserleri yumuşak damak, uvula, dil kökü, palatin tonsillar ve farenks arka duvarından kaynaklanır. Dünyada orofarenks kanserleri HPV enfeksiyonunun yaygınlaşması ile özellikle son yıllarda dramatik olarak artmaktadır. Orofarenks kanserlerinin tedavisinde önceki yıllarda, agresif cerrahiler uygulanmıştır. Bu cerrahilerin hastalar için dezavantajları; trakeotomi gereksiniminin olması, konuşma, çiğneme ve yutma fonksiyonlarının etkilenmesi ve olası nazogastrik ya da gastrostomi tüpü bağımlılığıdır. Tedaviye postoperatif RT eklenmesi durumunda morbidite ve mortalite riski daha da artmaktadır. Son yıllarda KT ve RT alanlarındaki gelişmeler organ koruyucu tedavilerin daha çok popülerize olmasını sağlamıştır.

HPV (+) hastaların genel ve hastalığa özgü sağkalımları HPV (-) olanlara göre daha yüksek iken lokal ve bölgesel nüks oranları ise daha düşüktür (7,8). Bu alanda yapılan çalışmaların ışığında, günümüzde HPV (+) hastaların tedavisinde KRT, HPV (-) hastaların tedavisinde ise cerrahi ön plana alınmaktadır.

2.3.5. Hipofarenks Kanseri

Hipofarenks, larenksi yanlardan ve arkadan çevreleyen alan olup temel fonksiyonu yutmanın sağlanmasıdır. Hipofarenks alt bölgelerini larenksin her iki yanında bulunan priform sinüsler, postkrikoid alan ve posterior faringeal duvar oluşturur. Hipofarenks kanserleri en sık priform sinüslerden kaynaklanır. Başlıca risk faktörleri tütün ve alkol kullanımıdır. Bununla birlikte sigara kullanmayan ve anemisi olan kadın hastalarda da görülebilir. Uzun yıllar boyunca hipofarenks kanserlerinin tedavisi için total larengofarenjetomi ile birlikte adjuvan RT uygulanmıştır. Ancak organ koruma protokollerinin orta çıkması ve KT ve RT'deki gelişmeler neticesinde cerrahi tedaviler daha az uygulanmaya, cerrahi tedavi dışı modaliteler daha popüler olmaya başlamıştır (48). Ancak özellikle erken evre tümörlerde larenks fonksiyonlarını koruyan transoral lazer ve robotik cerrahi gibi organ koruyucu cerrahiler de hipofarenks kanserlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Radikal ya da açık cerrahiler daha çok ekstralarengal tümöral uzanımı olan hastalarda ya da KRT sonrası kurtarma cerrahileri için uygulanmaya başlanmıştır (48).

2.3.6. Burun Boşluğu ve Sinüs Kanseri:

Bu bölgenin tümörleri oldukça nadir görülür ve tüm BBK'lerinin % 3'ünü oluşturur (49). Risk faktörleri arasında yaş, alkol ve sigara kullanımı, çevresel faktörler ve HPV enfeksiyonu bulunmaktadır. Çoğunlukta nazal kavite ve maksiler sinüsten kaynaklanır. Genellikle tanı konulduğunda ileri evrededir ve 5 yıllık sağkalım oranları % 30-40'tır (50). Bu tümörlerin altın standart tedavisi cerrahidir. Erken evre sinonazal kanserlerde cerrahi yeterli iken ileri evrede tedaviye adjuvan RT eklenir. Tanı anında intrakranial uzanımı olan, karotis tutulumu olan, rezektabl olmayan tümörlerde indüksiyon KT ile tedaviye başlanabilir (49).

2.4. Baş Boyun Kanserlerinde Tedavi

En iyi tedavi planlaması, tedavi sonrası yanıtın değerlendirilmesi ve hasta takibi için multidisipliner bir yaklaşıma ihtiyaç vardır. Ekipte cerrahlar, radyasyon onkologları, medikal onkologlar, patologlar, radyoloji uzmanları, nükleer tıp uzmanları, konuşma ve yutma patoloğları, diyetisyenler gibi farklı branşlardan uzmanlar yer almalıdır. Yapılan bir çalışmada, multidisipliner tümör konseyinin, özellikle yeni tanı almış baş boyun kanserli hastalarda tanı ve tedavi kararlarını önemli derecede etkilediği bildirilmiştir (51).

2.4.1. Cerrahi Tedavi

2.4.1.1. Primer Tümör Rezeksiyonu

RT uygulanmaya başlamadan önce, cerrahi baş boyun kanseri hastaları için tek tedavi yöntemi olarak kullanılırken RT'nin kullanılmaya başlamasıyla cerrahi yerine RT önerilmeye başlanmıştır (52). İlerleyen zamanlarda iki tedavi yöntemi kombine olarak birlikte kullanılmaya başlanmıştır (53). Zaman içerisinde kanserin cerrahi rezeksiyonunu takiben ortaya çıkan fonksiyonel ve kozmetik bozuklukları en aza indirmek amacıyla teknolojik gelişmeler ve yeni cerrahi teknikler ortaya çıkmıştır (54,55). Kanser tedavisinde daha az invaziv tedavi modaliteleri ile daha iyi hastalık prognozu elde edilebilmiştir. (56). Yine benzer şekilde kanser rezeksiyonu sonucunda ortaya çıkan organ ve fonksiyon kayıplarının önüne geçebilmek amacıyla cerrahi yerine RT ya da RT ile birlikte KT'nin kullanıldığı organ koruma protokolleri popülarite kazanmıştır.

Oral kavite kanserlerinde cerrahi hala ana tedavi seçeneğidir ve mutlak

kontrendikasyon bulunmadıkça tedavi olarak cerrahi tercih edilmelidir. Primer RT ya da KRT, cerrahiye kıyasla lokal ve bölgesel hastalık kontrolü açısından daha az başarıya sahiptir (57,58). RT ya da KRT sonrası başarısızlık durumunda lokal ve bölgesel kontrolsüz hastalık tablosu ortaya çıkabilmekte, bu hastalar ilerleyici ağrı ile birlikte estetik ve fonksiyonel kayıplar nedeniyle hayatlarının geriye kalan bölümlerinde ciddi sıkıntılar yaşayabilmektedirler (58). Bu nedenle, cerrahi dışı tedavi başarısızlığı sonrası ortaya çıkabilecek kontrolsüz lokal ve bölgesel hastalık riskine karşın hastalarda anestezi ve cerrahiye ait riskler göz önüne alınarak agresif cerrahi rezeksiyonlar mümkün olduğunca uygulanmalıdır. Cerrahi rezeksiyon uygulanan hastaların postoperatif dönemde kozmetik ve fonksiyonel açıdan yaşam kalitelerinin artırılması amacıyla uygun rekonstrüksiyon yöntemlerinin kullanılması da önemlidir (59).

2000’li yıllarda lazerin ve robotik cerrahinin uygulamaya geçmesiyle orofarenks kanserlerinin tedavisinde transoral cerrahiler popülerize olmaya başlamıştır. HPV (+) hastaların genel ve hastalığa özgü sağkalımları HPV (-) olanlara göre daha yüksek iken lokal ve bölgesel nüks oranları ise daha düşüktür (8,13). Bu çalışmaların ışığında, HPV (+) hastalarda KRT, HPV (-) hastalarda ise cerrahi ön plana alınabilir. Açık cerrahilerde tümöre ulaşım için mandibulotomi, yutma ve çiğneme kaslarının bölünmesi gibi morbiditesi yüksek olan işlemler uygulanabilmektedir. Çiğneme, yutma, konuşma gibi işlemlerin temel yapısı olan kasların kesilmesi hastalarda hem postoperatif beslenmeyi hem de iyileşmeyi kötü etkiler. Bu nedenle açık cerrahiler sonrası estetik, fonksiyonel ve yaşam kalitesi sonuçları diğer tedavi yöntemlerine göre daha kötüdür (13). Ancak özellikle erken evre orofarenks kanserlerinde transoral cerrahiler, onkolojik prensiplerden ödün vermeden açık cerrahi ile ilişkili morbiditeyi belirgin şekilde azaltmaktadır. Ayrıca transoral cerrahi uygulanan hastalarda trakeotomi gereksinimi oldukça azdır, trakeotomi uygulananlarda da kalıcı trakeotomi oranı ise %1’in altındadır. Özellikle transoral cerrahi sonrası hastaların % 80’inden fazlası normal diyeti tolere edebilmektedir. Uzun süreli nazogastrik tüp ya da gastrostomi bağımlılığı % 20’nin altındadır. Bu nedenlerle ortalama hastanede yatış süresi daha kısadır (13).

Günümüzde hipofarenks kanserlerinin tedavisi için üç cerrahi seçenek mevcuttur; radikal açık cerrahi (total larengofarenjektomi veya total larenjektomi + parsiyel farenjektomi), parsiyel açık cerrahi (parsiyel farenjektomi + parsiyel larenjektomi) ve parsiyel transoral lazer/robotik (veya minimal invaziv) cerrahi (48).

Hipofarenks kanserlerinde servikal lenfatik metastaz oranlarının yüksek olması nedeniyle primer tümör rezeksiyonuna ek olarak boyun diseksiyonu da eklenmelidir. Yapılan cerrahinin büyüklüğüne göre komplikasyon oranları da artmaktadır.

2.4.1.2. Boyun Diseksiyonu

BBK’de boyun diseksiyonu yapılış amacına göre elektif, törapatik, planlı ve kurtarma boyun diseksiyonu olmak üzere dörde ayrılabilir. Elektif boyun diseksiyonu, klinik evrelemede metastatik lenf nodu saptanmayan (kN0), buna karşın primer tümörün yüksek lenfatik metastaz riski olması durumunda uygulanan boyun diseksiyonudur. BBK’de prognozu belirleyen en önemli faktör servikal lenf nodu metastazının varlığıdır (60). Bu nedenle kN0 olan ve servikal lenf nodu metastaz olasılığı yüksek olan kanserlerde elektif boyun diseksiyonunun uygulanması önerilmektedir (60,61). Klinik olarak lenf nodu metastazı olan tüm hastalarda ise primer tümör rezeksiyonu ile birlikte eş zamanlı terapötik boyun diseksiyonu yapılmalıdır. Boyun diseksiyonu sonrası patolojik incelemede lenf nodu metastazının olması durumunda adjuvan RT uygulanabilirken, metastatik lenf nodunda ekstrakapsüler invazyonun olması ise konkomitan KRT endikasyonudur.

Planlı boyun diseksiyonu ise kN2-N3 olan ve RT ya da KRT uygulanan hastalara, tedavi sonrası 6.-8. haftada tedavi yanıtından bağımsız olarak uygulanan boyun diseksiyonudur. KRT sonrası primer alanda tümörü ve uzak metastazı olmayan hastalarda erken dönemde saptanan rezidüel ya da geç dönemde ortaya çıkan rekürren hastalık için uygulanan boyun diseksiyonudur (62).

2.4.2. Kemoterapi

KT tek başına palyatif bir tedavi olarak kullanılabilir, bununla birlikte küratif bir tedavi olarak RT’den önce (indüksiyon veya neoadjuvan olarak), RT’nin yanında (eşzamanlı olarak) ya da bazı durumlarda cerrahiden sonra verilebilen RT ile kombine (adjuvan olarak) edilmektedir (63). RT ve KT kombinasyonunun, özellikle ilerlemiş hastalığı olan hastalarda nispeten düşük toksisiteyi korurken bölgesel metastazı azalttığı ve hayatta kalma oranlarını iyileştirdiği bildirilmiştir (64,65). Uzak metastazı azaltmak için kombine indüksiyon ve eş zamanlı KRT kullanımı giderek artmaktadır (66,67). Lokal olarak ilerlemiş, rezeke edilemeyen tümörü olan baş boyun kanserli hastalar, kötü performans durumu veya komorbid hastalıklar nedeniyle kontrendikasyon olmadığı sürece KRT ile tedavi edilebilir (68).

Akut yan etkiler KT için en önemli sınırlamadır, ancak son zamanlarda geç toksisite ve yan etkilerin de arttığına dair kanıtlar artmaktadır (69,70). BBK için KRT sonrası hasta memnuniyeti ve yaşam kalitesi hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Sisplatinin tedavi sırasında antioksidan savunma sistemindeki azalmanın yanı sıra çoklu doku ve organ toksisitesine de neden olduğu bildirilmiştir. Sisplatin ile ilişkili toksik yan etkiler arasında ototoksisite, nefrotoksisite, hepatotoksisite ve kardiyotoksisite bulunur (71). Baş boyun kanserli hastalar için bir başka altın standart olan 5-Fluorourasil'in de erken ve geç yan etkilere neden olduğu bildirilmiştir. Bu etkiler, daha az şiddetli ishal, mide bulantısı, kusma, ağız yaraları, nötropeni ve trombositopeniden daha az yaygın olan ancak yaşamı tehdit eden nörotoksisite ve kardiyotoksisiteye kadar çeşitlilik gösterir (72).

Bonner ve ark. tek başına RT ile karşılaştırıldığında, yüksek doz RT ve setuksimabın eşzamanlı bir kombinasyonu ile tedavi edilen ilerlemiş baş boyun kanseri hastalarında lokal ve bölgesel kontrolün arttığını belirtmiştir ve bu sonuç tedavide monoklonal antikorların rolü olabileceğini düşündürmüştür (73). Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), BBK'de yüksek oranda eksprese edilir ve aşırı ekspresyonu, daha kötü prognozla ilişkilidir (74). EGFR'yi hedefleyen bir monoklonal antikor olan ve BBK için klinik uygulamada rutin olarak kullanılan tek hedefli tedavi olan setuksimabın, özellikle ileri ve tekrarlayan hastalıklarla baş boyun kanseri hastalarının sağkalımını önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (73,75). Setuksimabın yan etkilerinden bazıları klasik akneiform deri döküntüsü, hipomagnezemi, infüzyon reaksiyonları riski ve daha az görülen anafilaktik reaksiyondur (75,76). Son zamanlarda ortaya çıkan bir başka ajan grubu, tirozin kinaz inhibitörleridir. Bunlar, tümör büyümesini, invazyonu ve metastazı teşvik eden hücresel yollarda gerekli olan spesifik tirozin kinazları bloke ederek hareket eden bir kemoterapötikler sınıfıdır (77).

2.4.3. Radyoterapi

Baş boyun kanseri hastalarının yaklaşık % 40'ı tedavileri sırasında RT almaktadır. Bu hastaların büyük çoğunluğu cerrahi sonrası adjuvan tedavi olarak RT almaktadırlar. RT, BBK tedavisinde geleneksel bir yöntemdir. RT'nin temel amacı, özellikle omurilik, iç kulak, tükürük bezleri ve karotis arter gibi önemli yapıları etkilemeden tümöre terapötik radyasyon dozu vermektir (78). Günümüzde baş boyun RT'sinde risk altındaki bu organların korunmasına yardımcı olmak için, 3 boyutlu bilgisayarlı tomografi tabanlı görüntüleme kullanılarak dikkatli bir planlama

yapılmaktadır. RT geleneksel olarak 1.8-2.0 Gray (Gy) fraksiyonları şeklinde, günde bir kez, haftada 5 gün, 6 veya 7 hafta süreyle toplam 70 Gy'ye çıkacak şekilde verilir.

Çevre dokuları korumak için iyi bilinen bir yöntem, kansere iyileştirici yüksek radyasyon dozu verirken çevredeki dokulara radyasyonu azaltan yoğunluk ayarlı radyoterapi (IMRT) ve görüntü kılavuzlu radyasyon terapisinin (IGRT) kullanılmasıdır (79).

RT çoğunlukla cerrahi sonrası adjuvan tedavi olarak kullanılmaktadır. BBK'nin kaynaklandığı alana göre değişmekle birlikte adjuvan RT endikasyonları; lokal ileri kanserler, kıkırdak ve kemik invazyonu, servikal lenf nodu metastazının varlığıdır. Günümüzde BBK tedavisinde RT'nin primer tedavi seçeneği olarak kullanıldığı alanlar vardır. Erken evre glottik larenks kanserlerinde cerrahi tedaviye alternatif olarak RT yaygın olarak kullanılmaktadır. Total larenjektomi gerektiren bazı ileri evre larenks kanserlerinde ve hipofarenks kanserlerinde ise, organ koruma protokolü olarak tek başına ya da KT ile kombine olarak kullanılabilir.

2.5. Human Papilloma Virüsü (HPV)

HPV, deri ve mukoza zarlarını enfekte eden bir DNA virüsüdür. Bugüne kadar 100'den fazla HPV türü tanımlanmıştır. Önceki çalışmalar rahim ağzı kanserinde HPV ile ilişkili karsinogenezin rolünü incelemiştir. Rahim ağzını enfekte eden HPV, yüksek ve düşük riskli gruplara ayrılır (6). HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 68, 69 ve 73 yüksek riskli HPV olarak sınıflandırılır. Ayrıca farenks kanserlerinin en az %12'si, ağız kanserlerinin %3'ü ve orofarengeal kanserlerinin %30-60'ı HPV enfeksiyonundan kaynaklanmaktadır (25).

2.5.1. Baş Boyun Kanserlerinde HPV

Son yıllarda dünyada BBSHK insidansında bir artış bildirilmiş ve tüm dünyada ilgi görmüştür (2,3). BBSHK keratinize veya nonkeratinize tipte olabilir. Keratinize yassı hücreli karsinom daha çok yaşlı erkeklerde görülür ve sigara ve alkol tüketimi ile yakın ilişkilidir. Nonkeratinize yassı hücreli karsinom ise tütün ve alkol kullanmayan ya da kullanımı az olan erkeklerde en sık 40-55 yaşlarında görülür ve HPV DNA pozitifliği karakteristik özellik olarak saptanır (15).

ABD gibi gelişmiş ülkelerde sigara içme oranı giderek düştüğü için, HPV (-) olan, tütün ve alkolle ilişkili olan orofarenks kanseri insidansı giderek azalmaktadır. Buna karşın HPV ilişkili orofarenks kanseri insidansında ise belirgin bir artış

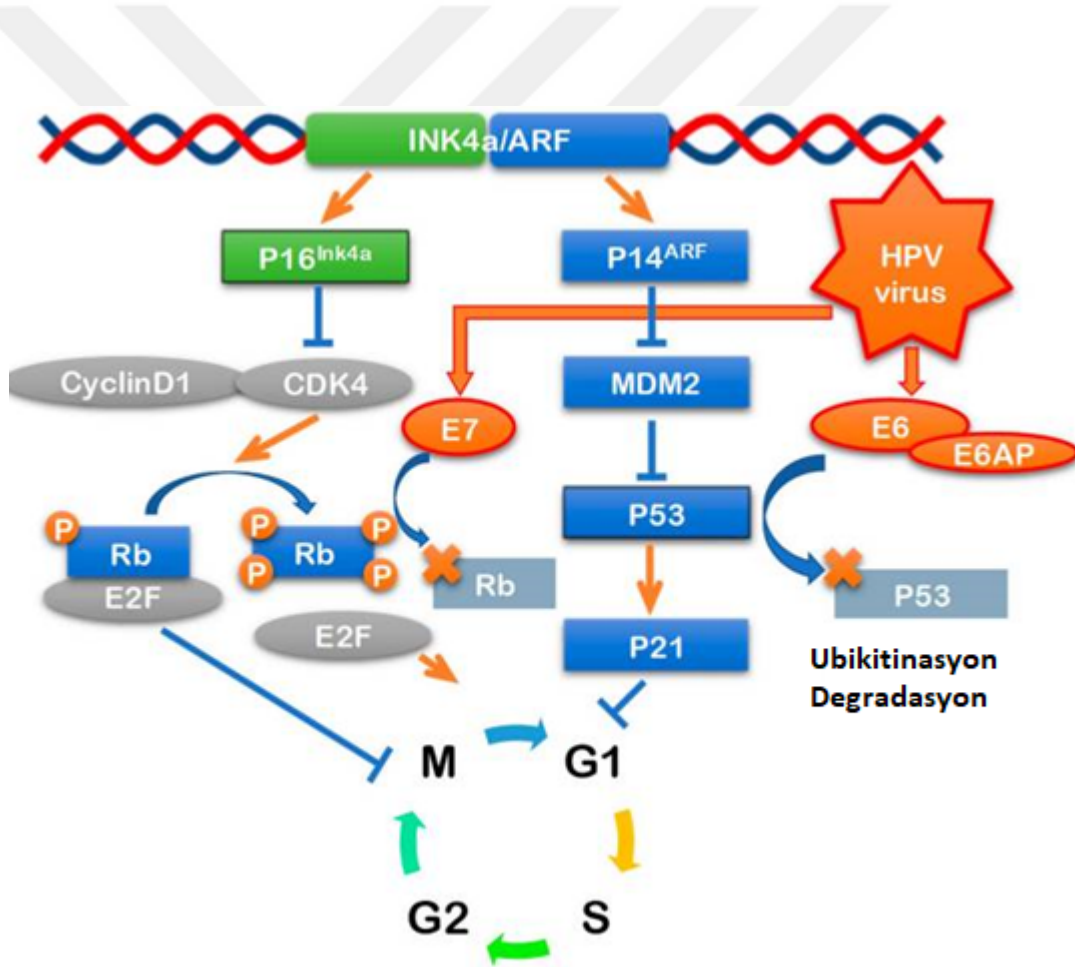
görülmektedir (1-3). Gözetim, Epidemiyoloji ve Son Sonuçlar (SEER) programından elde edilen veri havuzu verilerine göre, HPV (-) kanserlerin prevalansı 1988'den 2004'e kadar %50 azalırken, HPV (+) orofarenks kanseri ise %225 artmıştır (80). HPV (+) orofarenks kanserleri, HPV enfeksiyonu ile ilişkisi olan ve HPV (-) kanserlere kıyasla daha iyi prognozu olan ayrı bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Yapılan birçok çalışmada, tümör dokularında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), in situ hibridizasyon (ISH) ya da immünohistokimyal boyama ile p16 pozitifliği saptanarak tanımlanan HPV (+) orofarenks kanserli hastaların, HPV (-) orofarenks kanserli hastalara kıyasla daha iyi genel ve hastalıksız sağkalıma sahip oldukları gösterilmiştir (12-14).

Yapılan prospektif bir çalışmada 253 yeni tanı almış ya da tekrarlayan baş-boyun kanserli hastaların % 25'inde HPV (+)'liği tespit edilmiştir. Özellikle orofarenks yerleşimi ve düşük tümör derecesinin HPV (+) olma olasılığını artırdığı görülmüştür (29). HPV (+) orofarenks kanserleri, esas olarak dil kökünde ve palatin tonsillerde ortaya çıkar. Palatin tonsillerde ya da dil kökünde ortaya çıkan orofarenks kanserlerinin yaklaşık % 62'si HPV (+) iken, orofarenksin diğer bölümlerinde yerleşen kanserlerde yaklaşık % 25 HPV (+)'liği görülmektedir (11).

2.5.2. Karsinogeneze HPV'nin Patolojik Moleküler Mekanizmaları

HPV ile ilişkisiz BBSHK'de özellikle de sigara ve alkol kullanan hastalarda sıklıkla p53 mutasyonları vardır (81). 9p21-22 delesyonu onkojenik sürecin erken safhalarında gözlenmektedir ve sonuç olarak tümör baskılayıcı gen p16'nın işlevi kaybolmaktadır (82). p16 geni tarafından üretilen P16INK4a, siklin 1-siklin bağımlı kinaz 4/siklin bağımlı kinaz 6 (CDK4/CDK6) ile bir kompleks oluşturur, Retinoblastoma (Rb) geninin fosforilasyonunu ve transkripsiyon faktörü E2F ile ilişkili hücre rotasyonunu (pRB yolağı) inhibe etmektedir (83). HPV ile ilişkili BBK'de wild tip p53 mevcuttur ve mutasyonlar sadece %10 veya daha az oranda meydana gelmektedir. Bununla birlikte, HPV'nin viral proteini olan E6, p53'ü inaktive ederek işlevinde azalmaya neden olmaktadır. Viral protein E6, E6AP isimli hücrel proteini uyarak p53 proteinine bağlanmasını sağlar ve p53'ün yıkımına neden olur. E6 ekspresyonu olan hücrelerde fonksiyonel p53 bulunmamaktadır. p53'ün hücrel yanıt oluşturması gereken DNA hasarı gibi durumlarda, p53'ün görevini yapamaması sonucunda DNA hasarı onarılamaz. HPV'nin diğer viral proteini olan E7, konakçı hücrelerin hücre döngüsünü kontrol eden fosforile edilmiş Rb'yi inaktive eder. E7

proteini, pRb'nin hipofosforile şekline bağlanır (84). Hipofosforile Rb, çoğalmayı indükleyen E2F transkripsiyon faktörü ile inaktif kompleks halindedir ve bu kompleks hücre çoğalmasını engeller. Rb'nin fosforileasyonu sonucunda Rb-E2F kompleksi çözülür ve E2F transkripsiyon aktivitesinin inhibisyonu ortadan kalkar. Sonuç olarak Rb'nin fosforileasyonu sonucunda hücre siklusunda bölünmenin esas engeli ortadan kalkar ve hücre çoğalmaya başlar. p16, siklin D1 ve siklin bağımlı kinaz (CDK) 4/6'nın kompleks oluşumunu inhibe eden bir CDK baskılayıcı kodlayan bir tümör baskılayıcı gendir. Siklin D1 ve CDK 4/6 kompleksi, Rb proteininin fosforilasyonu sonucu E2F'nin salınması yoluyla hücre döngüsünü ilerletirken, Rb proteini/E2F kompleksi, p16'nın transkripsiyonunu da baskılamaktadır. Böylece HPV-E7, Rb proteinini inaktive ettiğinde, p16 aşırı eksprese olmaktadır (85) (Şekil 2).



Şekil 2. Yüksek riskli HPV onkogenlerinin sinyal yolları

Bu nedenle, moleküler seviyedeki fenotip, HPV (+) ve HPV (-) BBK arasında tamamen farklıdır. HPV'nin BBK'de saptanması için, tipe özgü PCR, gerçek zamanlı PCR, in situ hibridizasyon, serum antikör deneyleri, immünohistokimyasal olarak p16 tespiti gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (86).

2.5.3. HPV (+) Baş Boyun Kanseri Hastanın Klinik Özellikleri

Moleküler-genetik ayrımlara ek olarak HPV (+) kanserler, HPV (-) kanserlere göre demografik, klinik ve histopatolojik olarak farklılıklar göstermektedirler. HPV (+) BBSHK'li hastalar HPV (-) BBSHK'li hastalar ile karşılaştırıldığında ortalama olarak yaklaşık 5 yıl daha genç olma eğilimindedir (11). HPV (+) BBK'lerin çoğunluğu, baş ve boynun diğer anatomik bölgelerine kıyasla büyük ölçüde orofarenksteki lingual ve palatin tonsillerden kaynaklanmaktadır (16). Tanı anında HPV (+) hastalarda servikal lenf nodu metastazları daha sık görülmektedir ve bu hastalar daha ileri klinik evreye sahiptirler (16,17). Bununla birlikte HPV (+) kanseri olan hastalar daha iyi klinik seyir göstermektedirler (87). Histopatolojik olarak, HPV (+) kanserler basaloid, nonkeratinized ve kötü diferansiye histolojiye sahip olma eğilimindedir (88).

2.5.4. HPV (+) Tümörün Klinik Önemi

BBSHK'nin HPV ile ilişkisinin tespitinin gelecekte kanserin teşhisi, prognozu, tedavisi ve önlenmesi açısından etkilerinin olacağı düşünülmektedir (87,88). Metastatik boyun kitlesi yakınması ile başvuran hastaların servikal metastatik lenf nodlarında HPV tespitinin yapılması ile, yüksek özgüllükle primerin orofarenks yerleşimli olduğu gösterilebilir. HPV (+) kanserli hastaların, prognoz ilişkili çalışmaların çoğunda HPV (-) tümörü olan hastalarla karşılaştırıldığında daha iyi prognoza sahip oldukları görülmüştür. Bugüne kadar yapılan çalışmalar, HPV (+) hastaların, HPV (-) hastalara kıyasla kanserden ölme riskinde % 60 ila % 80 oranında azalma olabileceğini göstermiştir (31). Sigara içmeme eğiliminde olan bu hastalarda, KRT'ye duyarlılığın fazla olması, viral antijenlere karşı gelişen immün cevabın varlığı ve alan kanserizasyonunun olmaması gibi faktörler sağkalımın daha fazla olmasının nedenleri olarak gösterilmektedir (10,33). HPV (+) kanserlerde p53'ün E6 ile ilişkili degradasyonu nedeniyle, HPV (+) tümörler, HPV (-) tümörlere kıyasla RT'ye ve

KT'ye karşı daha iyi bir yanıt vermektedir (88). Bu nedenle günümüzde HPV (+) hastalarda KRT, HPV (-) hastalarda ise cerrahi tercih edilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

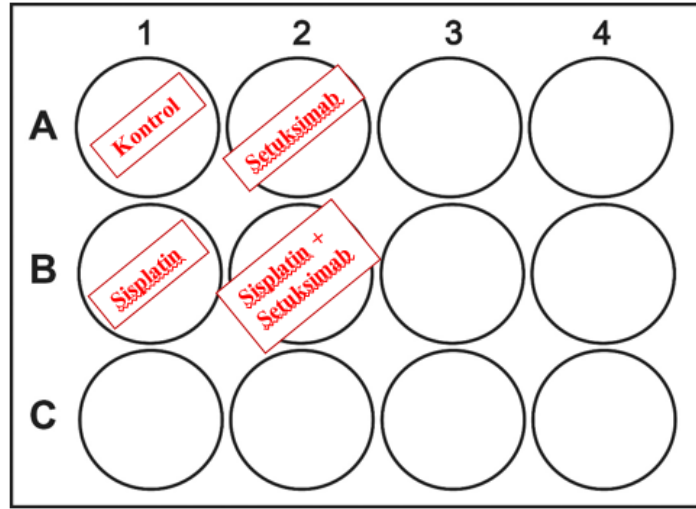
Bu çalışma, hücre kültürlerinde üretilen HPV (+) ve HPV (-) BBK'lere RT ile kombine KT'nin ya da tek başına RT'nin etkilerinin in vitro olarak test edilmesini sağlayan olgu-kontrol türünde bir araştırmadır. Elde edilen sonuçlar HPV (+) ve HPV (-) kanserlere yönelik yeni tedavi stratejilerinin geliştirilebilmesi için daha sonraki çalışmalara ışık tutacaktır.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

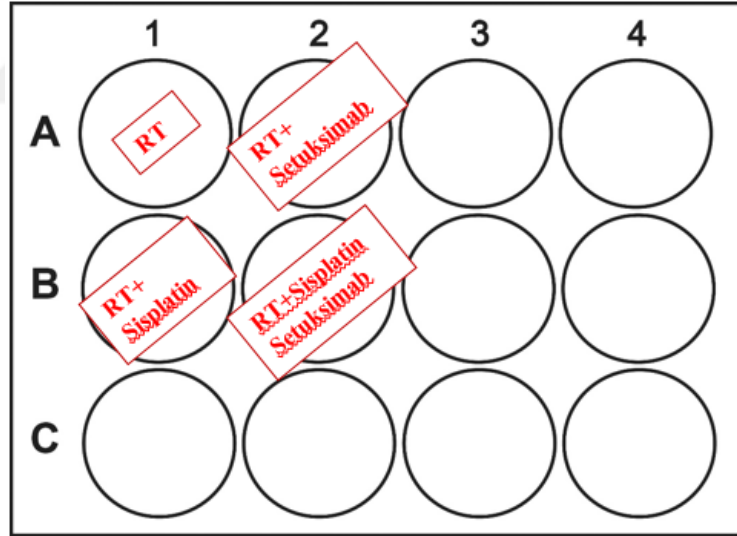
Araştırmanın vaka toplama kısmı Dokuz Eylül Üniversitesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda; in vitro deneysel uygulamalar Temel Onkoloji Anabilim Dalı'nda, RT uygulamaları Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda 2016-2019 yılları arasında gerçekleşmiştir.

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Araştırma evrenine Dokuz Eylül Üniversitesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda BBK tanısı alan ve daha önce hiç tedavi almamış olan 34 olgu dahil edilmiştir. Çalışma grupları dahilinde; tedavi uygulanmayan, sisplatin alan, setuksimab alan, sisplatin+setuksimab alan, sadece RT alan, RT + sisplatin alan, RT+setuksimab alan ve RT + Sisplatin + Setuksimab alan olmak üzere toplam 8 grup bulunmaktadır (Şekil 3 ve Şekil 4).



Şekil 3. Baş boyun kanseri hücre kültürlerinde KT uygulama grupları



Şekil 4. Baş boyun kanseri hücre kültürlerinde RT ve KRT uygulama grupları

3.4. Çalışma Materyali

- ✓ anti PARP antikoru
- ✓ anti H2AX antikoru
- ✓ anti BrdU antikoru
- ✓ Akım sitometri akış sıvısı
- ✓ İnkübatör ana kartı (thermo için)
- ✓ Tüp rakı renkli plastik
- ✓ Kriyotüp kutusu (cryo box)
- ✓ Mikrofiltre 70 mikrom steril
- ✓ Otoklav bandı buhar
- ✓ Petri kutusu 15mm çapında
- ✓ Alüminyum folyo
- ✓ Otomatik pipet seti (0,5-10; 10-100; 100-1000 ul)
- ✓ Pipet tabancası 1-100 ml (pipette aid)
- ✓ Manuel pipet steril 2 ml
- ✓ Manuel pipet steril 10 ml
- ✓ Hücre kazıyıcı (cell scraper)
- ✓ Lam saklama (taşıma) kutusu, 100 lamlık
- ✓ Penisilin / streptomisin
- ✓ D-PBS (dulbecco fosfat tamponlu tuz çözeltisi)
- ✓ RPMI-1640 medium 500 ml
- ✓ FBS fetal dana (fetal bovine) serum inaktive edilmiş 100 ml
- ✓ DMEM [dulbecco's modified eagle medium] 500 ml.
- ✓ Pastör pipeti 3 ml
- ✓ Gazlı bez (7.5x7.5 cm)
- ✓ Lam 100lük
- ✓ Pipet ucu mavi 0-1000 mikrol
- ✓ Flask 75 cm²
- ✓ Pipet ucu sarı 20-200 mikrol
- ✓ Filtreli santrifüj tüpü 4 ml (24 adet/paket)
- ✓ Yüzey kapaklı kuyucuklu slayt
- ✓ Flask 25 cm²
- ✓ Kriyovial steril, polipropilen 2 ml.

- ✓ Lamel 24x50 100lük
- ✓ Eldiven pudrasız lateks
- ✓ Lam polilizin kaplı
- ✓ İnsülin enjektörü (100 ad/kutu)
- ✓ Bistüri ucu no:24 (100 ad/kutu)
- ✓ Deney hayvanları altlığı
- ✓ Kadmiyum standart solüsyonu
- ✓ Tripsin EDTA solüsyon
- ✓ L-glutamin

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Araştırmanın bağımlı değişkeni: PARP ekspresyonu değişimi, H2AX değişimi, BrdU değişimi, total canlılık değişimi

Araştırmanın bağımsız değişkeni: Gruplar

3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1. Olgular ve Örnek Hazırlama

Patolojik olarak ispatlanmış baş boyun kanseri olan 34 hastadan (24 erkek, 10 kadın) cerrahi rezeksiyon sonrası, yeterli miktarda tümör hücresi içeren taze tümör dokuları alındı. Örnekler alınmadan önce hastalara bilgilendirilmiş gönüllü olur formu okutulup imzalatıldı. Alınan taze tümör dokusu soğuk zincirle RPMI hücre kültürü ortamı içerisinde laboratuvara işlenmek üzere transfer edildi. Örneklerden steril koşullarda polilizinli lam üzerine imprint alındıktan sonra tümör hücrelerinin yeterliliği toludin mavisi ile boyanarak tespit edildi. Örneklerden DNA izolasyonu için bir kısmı -80°C 'de saklandı. Kalan doku da primer hücre kültürü için kullanıldı.

3.6.2. Primer Hücre kültürü

Laminar akışlı kabinet içerisinde kalan doku RPMI ortamında bistüri ile parçalara ayrıldıktan sonra steril filtreden geçirildi. Böylelikle tek hücre süspansiyonu elde edilmiş oldu. Santrifüjle elde edilen hücre pelleti 1 ml RPMI ortamında (%10 FBS, %1 L-Glutamin, %1 penisilin/streptomisin ve %1 anti-mikotik ilaveli) resüspanse edilip 10 µl'si alınıp 20 µl tripan mavisi ile boyanarak hücre canlılığı ve toplam hücre sayısı tespit edildi.

3.6.3. Doz Optimizasyon Deneyleri

Ön deneyler ile birkaç olguda sisplatin, setuksimab ve RT için doz optimizasyonu yapıldı.

İlaç denemeleri: 96 kuyucuklu plate içine ekilen hücreler 37°C'de %5 CO₂ içeren etüvde 24 saat inkübe edildi. Daha sonra hücrelerin adhezyonunu bozmadan ortamlar uzaklaştırılarak BBK tedavi protokollerinde kullanılan ve hedefe yönelik kanser tedavilerinde kullanılan ajanlar olan sisplatin ve setuksimab sırasıyla 0,22 µg/ml, 0,4 µg/ml ve 0,2µM, 4,1 µM dozlarda bu hücrelere kültür ortamı içerisinde 100 µl/ kuyucuk olacak şekilde eklendi. 37 °C %5 CO₂ içeren etüvde 24 saat inkübasyon sonrasında 10 µl/ kuyucuk WST-1 eklendi. 37 °C %5 CO₂ içeren etüvde 2 saat inkübe edildikten sonra 450 nm/630 nm dalga boylarında ELISA da absorbansları okutularak kontrol grubu ile kıyaslanarak canlılık yüzdeleri dolayısıyla kemoterapötik ajanların sitotoksik etkinliği belirlendi.

RT uygulaması: 96 kuyucuklu plate içine ekilen hücreler 37°C %5 CO₂ içeren etüvde 24 saat inkübe edildi. Hücrelerin bulunduğu plate radyasyon onkolojisinde 7, 10, 15 Gy aralıkta tek doz foton ile irradiye edildi. 24 saat sonunda hücre canlılık testi WST yapıldı.

3.6.4. WST-1 ile Hücre Proliferasyonunun Tayini

WST-1 çalışma prensibi: Sitotoksik etki ve metabolik aktivitenin belirlenmesi için yapılan WST-1 testi canlı hücrelerden tetrazolium tuzlarının ayrıştırılmasına dayanan non-radyoaktif, spektrofotometrik, kolorimetrik bir testtir. Tetrazolium tuzları hücresel enzimler tarafından formazan tuzlarına dönüştürülmektedir. Canlı hücre sayısındaki artış örneklerdeki mitokondriyal dehidrogenaz aktivitesinde artmaya yol açmaktadır. Enzim aktivitesinin güçlenmesiyle birlikte kültürdeki hücrelerde metabolik olarak aktif halde bulunan hücrelerin miktarı ile doğrudan korele olarak formazan ile boyanan hücre formunda artış olmaktadır. Formazan boya metabolik olarak aktif olan hücreler tarafından üretilmekte olup, spektrofotometre ile belirtilen dalga boyunda boyanan hücrelerin absorbansı ölçülmektedir.

Hücrelerin bulunduğu 96 kuyucuklu plate içinde boş bir kuyucuğa da sadece ortam koyularak kör olarak kullanıldı. 100 µl/kuyucuk hücre için her kuyucuğa 10 µl/kuyucuk WST1 hücre proliferasyon reaktifi eklenerek (1:10 dilüsyon) hücreler 35°C %5'lik CO₂ etüvde 2 saat inkübasyona bırakıldı. Plate çalkalayıcıda 1 dakika

çalkalandıktan sonra ELISA okuyucuda 450 nm de okutuldu. Referans dalga boyu olarak 600 nm den fazlası (630 nm) seçildi. Kontrol grubunun absorbans ortalamaları %100 canlılık olarak kabul edilerek diğer absorbanslar karşılaştırılarak hücre canlılık yüzdeleri tayin edildi.

3.6.5. DNA İzolasyonu

Primer kültür haricinde HPV varlığının tespiti için ayrılan bir kısım tümör dokusundan DNA izolasyonu gerçekleştirildi. DNA izolasyonu Roche *High Pure Viral Nucleic Acid Kit* kullanılarak, üretici firmanın protokolüne göre yapılmıştır. Dokuların üzerine 50 µl Proteinaz K ve 200 µl Liziz buffer ilave edilerek 55°C de 1 saat bekletildi. İnkübasyon tamamlandıktan sonra örneklerin üzerlerine 200 µl Binding Buffer (poly A İçeren) ve 50 µl Proteinaz K eklenerek iyice karıştırıldı. 10 dk 72°C’de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra her tüpe 100 µl *Binding Buffer* eklendi ve pipetle karıştırılıp DNA’ların çökmesi sağlandı. Hasta sayısı kadar koleksiyon tüpü çıkartıldı ve her birine filtreli tüp yerleştirildi ve hazırlanan karışım tüplere aktarıldı. 8000x g de 1 dk santrifüj edildi. Koleksiyon tüpleri atılıp yenileri takıldı. Her tüpe 500 µl inhibitör uzaklaştırma tamonu eklendi. 8000x g de 1 dk santrifüj edildi. Koleksiyon tüpleri atıldı ve filtreli tüpler yeni tüplere takıldı. Her tüpe 450 µl yıkama tamponu eklendi. 8000x g de 1 dk santrifüj edildi. Koleksiyon tüpleri atılıp yenileri takıldı. Her tüpe 450 µl yıkama tamponu eklendi. 8000x g de 1 dk santrifüj edildi. Koleksiyon tüpleri boşaltılıp tekrar 13000x g de 10 saniye çevrildi. Koleksiyon tüpleri atılıp filtreli tüpler 1,5ml lik ependorflara alındı. Her tüpe önceden ependorflara bölünerek hazırlanmış ve 72°C’de bekleyen elusyon tamponundan 50 µl eklendi. 8000x g de 1 dakika santrifüj yapıldı. Filtreli tüpler atıldı ve DNA’lar ependorf içinde elde edilmiş oldu.

3.6.7. RT-PCR İle HPV Varlığının Değerlendirilmesi

Örneklerden elde edilen viral DNA’lar HPV 16, HPV 18 ve Beta G karışımları ile Roche *LightCycler 480II* cihazı ile çalışıldı. PCR reaksiyonlarını hazırlamak için HPV 16 ve HPV 18 2x PCR *master* karışım, izole edilmiş DNA, HPV 16 ve HPV 18 pozitif kontrolleri ve nükleaz içermeyen su reaksiyon başına son hacim 20 µl olacak şekilde kit protokolü içinde belirtilen miktarlarda karıştırıldı. Her *run* için HPV 16 ve 18 negatif kontrolleri ve pozitif kontrolleri kullanıldı. Her *run* için 5 µl negatif kontrol ve 15 µl PCR *master* karışım PCR tüpüne eklendi. Ayrıca her *run* için 5 µl pozitif kontrol ve 15 µl PCR *master* karışım PCR tüpü içine eklendi. PCR programı şu şekilde yapıldı:

- *Cycle 1*; 95 °C de 3 dakika,
- *Cycle 2* (40x); birinci adım 94 °C de 15 saniye, ikinci adım 60 °C 30 saniye, üçüncü adım 72 °C 45 saniye,
- *Cycle 3*; 72 °C 5 dakika,
- *Cycle 4*; 4°C de bitecek şekilde çalışıldı.

HPV 16 ve HPV 18 pozitifliği Tablo 1'e göre değerlendirildi. Herhangi biri pozitif ise olgu HPV ilişkili kabul edildi.

Tablo 1. PCR sonucuna göre HPV Değerlendirme Skalası

Parametre	Ct	Beta Globulin	Sonuç
HPV 16	Pozitif	Pozitif	HPV 16 Pozitif
HPV 16	Negatif	Pozitif	HPV 16 Negatif
HPV 16	Negatif	Negatif	İzolasyon tekrar
HPV 18	Pozitif	Pozitif	HPV 18 Pozitif
HPV 18	Negatif	Pozitif	HPV 18 Negatif
HPV 18	Negatif	Negatif	İzolasyon tekrar

3.6.8 Apoptoz, DNA Hasarı ve Hücre Proliferasyonunun Akım Sitometri ile Değerlendirilmesi

Bu çalışma için BD Pharmingen firmasının apoptoz, DNA hasarı ve hücre proliferasyonu için üçlü akım sitometri ticari kitinden yararlanıldı. Hücreleri in vitro işaretlemek için her kuyucuğa 10 µl BrdU solüsyonu (1x DPBS içindeki 1 mM BrdU solüsyonundan) eklendi ve 45 dk inkübatörde bekletildi. Hücre yüzey antijenleri ile immünfloresan boyama için BrdU atımlı hücreler 50 µl boyama tamponu içinde akım sitometri tüplerine alındı. Hücreler 100 µl BD Sitofiks/Sitoperm fiksasyon/Permeabilizasyon solüsyonunda 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilerek fikse edilip permeabil hale getirildi. Daha sonra 1 ml 1X BD Perm/Yıkama tamponu eklenip 250 g'de santrifüjlendi. Süpernatant uzaklaştırıldı. 100 µl BD Sitofiks/Sitoperm Plus Permeabilizasyon tamponu içinde buz üzerinde 10 dk inkübasyonun ardından yıkama işlemi yapıldı. Hücrelerin re-fiksasyonu için 100 µl BD Sitofiks/Sitoperm fiksasyon/Permeabilizasyon solüsyonunda 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyon ve ardından yıkama yapıldı. Hücreler 100 µl dilüe edilmiş olan DNaz içinde resüspanse edildi ve 1 saat 37°C 'de inkübe edildi. Yıkama ardından

hücreler 20 µl BD Perm/Yıkama tamponunda resüspanse edilerek üzerine PerCP-Cy™5.5 Anti-BrdU (5 µl/test), Alexa Fluor® 647 Mouse Anti-H2AX (pS139) (5 µl/test), PE Anti-Cleaved PARP (Asp214) (5 µl/test) şeklinde antikorlar eklendi. 20 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Hücreler yıkandıktan sonra 1 ml tampon içerisinde resüspanse edilip akım sitometri analizi gerçekleştirildi.

3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Elde edilen verilerin analizi SPSS istatistik programının 24.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma biçiminde verildikten sonra nonparametrik Mann Whitney U ve Ki kare testleri kullanıldı ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

3.8. Araştırmanın Akış Şeması

Taze dokuların toplanması ve RPMI ortam içinde soğuk zincirle laboratuvara transferi

↓
Lama imprint alınması ve toludin mavisi ile boyama

↓
Dokunun bir kısmı ile DNA izolasyonu

↓
Dokunun kalan kısmından tek hücre süspansiyonu eldesi

↓
Hücre sayımı ve tripan mavisi ile canlılık kontrolü

↓
Sisplatin, setuksimab ve RT için doz optimizasyonu

↓
Bulunan dozlar ile primer hücre kültürünün 24 saat inkübasyonu

↓
Akım sitometri ile hücre proliferasyonu, apoptoz ve DNA hasarı analizi

↓
Tüm olgularda HPV 16 ve HPV 18 'in RT-PCR ile değerlendirilmesi

↓
HPV pozitif ve negatif olguların ilaç yanıtlarının karşılaştırılması

↓
Klinik verilerin toplanması

↓
İstatistiksel Analiz

↓
Literatür taramasının güncellenmesi

↓
Tez yazımı

3.9. Etik Kurul Onayı

Tüm çalışmalar Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 2013/20-16 protokol no'lu onayı doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.



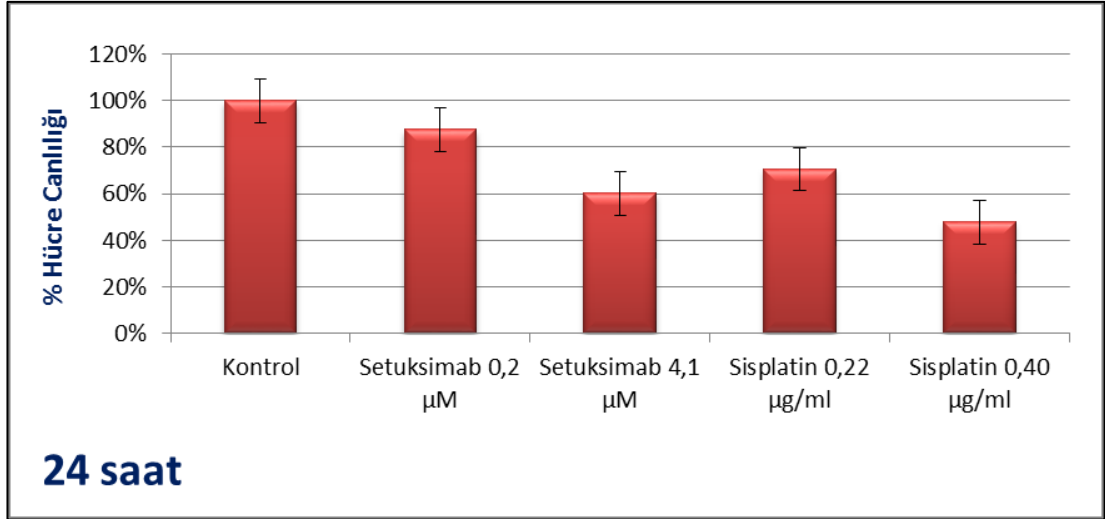
4. BULGULAR

4.1. Olgular ve HPV Durumuna Göre Dağılımları

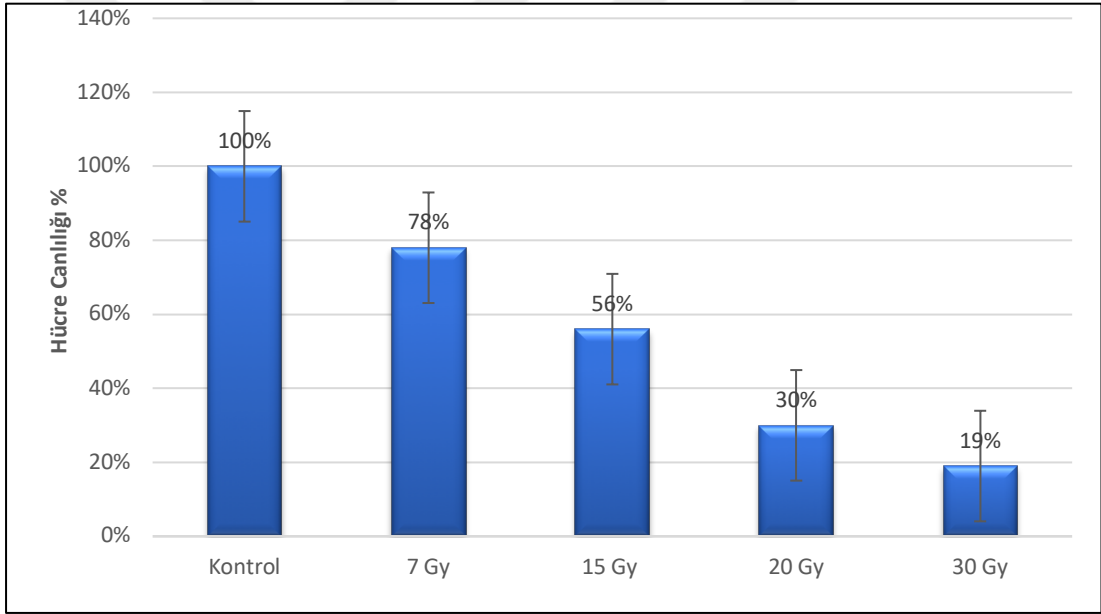
Bu çalışmaya dahil edilen 34 olgunun 24 ü erkek (%70,6) 10 'u kadın (%29,4) olarak dağılım gösterdi. Tümör lokalizasyonları 10 olguda oral kavite (%29,4), 4 olguda orofarenks (%11,8), 14 olguda larenks (%41,2) ve 6 olguda hipofarenksti (%17,6). Diferansiyasyon durumlarına bakıldığında 10 olgu kötü diferansiye (%31,3), 16 olgu orta diferansiye (%50) ve 6 olgu iyi diferansiye idi (%18,8). Evre 1 olgu sayısı 6 (%17,6), Evre 2 olgu sayısı 8 (%23,5), Evre 3 olgu sayısı 9 (%26,5) ve Evre 4 olgu sayısı 11 (%32,4) şeklinde dağılım gösterdi. HPV (+) olan 5 olgu tespit edildi (%14,7). HPV (-) olan 29 olgunun 21 i erkek (%72,4) ve 8 i kadın (%27,6) iken HPV (+) 5 olgunun 3 'ü erkek (%60) ve 2'si kadındı (%40). HPV (-) olan tümörlerin 8'i oral kavite (%27,6), 3'ü orofarenks (%10,3), 12'si larenks (%41,4) ve 6'sı hipofarenks (%20,7) yerleşimli idi. HPV (+) olan 5 tümörün 2'si oral kavite (%40), 2'si larenks (%40) ve biri orofarenks (%20) yerleşimli idi. HPV (-) olan tümörlerden 9'u kötü diferansiye (%33,3), 15'i orta diferansiye (%55,6) ve 5'i iyi diferansiye (%11,1) iken HPV (+) olan 3 olgu kötü diferansiye (%20), 1 olgu orta diferansiye (%20) ve 1 olgu iyi diferansiye (%60) idi. Bununla beraber HPV (-) olan olguların 5 i Evre 1 (%17,2), 7'si Evre 2 (%24,1), 7 'si Evre 3 (%24,1) ve 10 'u Evre 4 (%34,5) iken HPV (+) olan olguların 1'i Evre 1 (%20), 1'i, Evre 2 (%20), 2 'si Evre 3 (%40) ve 1 'i Evre 4 (%20) idi.

4.2. Doz Optimizasyon Bulguları

Literatür değerlendirmesine göre bulunan, klinik ile uyumlu olan setüksimab dozları 0,2 µM ve 4,1 µM iken sisplatin dozları 0,22 µg/ml ve 0,4 µg/ml olarak hazırlandı. Yapılan WST-1 hücre proliferasyon testine göre canlılık yüzdeleri tespit edildi (Şekil 5 ve 6).



Şekil 5. Kemoterapi uygulamaları sonucu hücre canlılık yüzdeleri



Şekil 6. Radyoterapi uygulamaları sonucu hücre canlılık yüzdeleri

Bu verilere dayanarak tüm olgulara 15 Gy RT, 4,1 µM setuksimab ve 0,40 µg/ml sisplatin ve kombinasyonlarının uygulanmasına karar verildi.

4.3. Apoptoz, DNA Hasarı ve Hücre Proliferasyonu Akım Sitometri Bulguları

PCR analizlerine göre hastaların 29'u HPV (-) (HPV 16 ve HPV 18 negatif), 5'i HPV (+) (HPV 16 pozitif ve HPV 18 negatif) olarak dağılım göstermiştir. Yukarıda belirtilen ilaç ve RT uygulamalarına göre;

HPV (+) vakalarda BrdU ile tespit edilen proliferasyon yüzde ortalama değerleri; kontrol grubunda $92,48 \pm 2,33$, sisplatin verilen grupta $57,06 \pm 15,75$, setuksimab verilen grupta $82,08 \pm 10,35$, sisplatin ve setuksimab kombinasyonu grubunda $54,94 \pm 23,49$ bulunmuştur. Buna ek olarak sadece RT uygulananlarda ortalama proliferasyon yüzdesi $80,26 \pm 9,00$, RT ve sisplatin kombinasyonunda $59,38 \pm 13,28$, RT ve setuksimab kombinasyonunda $72,30 \pm 9,52$ ve son olarak RT+ sisplatin + setuksimab kombinasyonunda ise $43,50 \pm 15,63$ olarak bulundu.

HPV (+) vakalarda PARP ekspresyonu ile tespit edilen DNA hasarı ilişkili apoptoz yüzde ortalama değerleri; kontrol grubunda $4,76 \pm 2,45$, sisplatin verilen grupta $40,20 \pm 16,74$, setuksimab verilen grupta $18,66 \pm 8,06$, sisplatin ve setuksimab kombinasyonu grubunda $40,64 \pm 23,88$ bulunmuştur. Buna ek olarak sadece RT uygulananlarda apoptoz yüzdesi $13,56 \pm 9,23$, RT ve sisplatin kombinasyonunda $34,30 \pm 12,43$, RT ve setuksimab kombinasyonunda $24,20 \pm 9,52$ ve son olarak RT+ sisplatin + setuksimab uygulanmasıyla ise $51,78 \pm 17,13$ olarak bulundu.

HPV (+) vakalarda H2AX ekspresyonu ile tespit edilen DNA hasarı yüzde ortalama değerleri; kontrol grubunda $6,76 \pm 4,04$, sisplatin verilen grupta $29,76 \pm 13,75$, setuksimab verilen grupta $17,54 \pm 12,62$, sisplatin ve setuksimab kombinasyonu grubunda $31,42 \pm 16,96$ bulunmuştur. Buna ek olarak sadece RT uygulananlarda DNA hasarı yüzde ortalama değeri $11,28 \pm 5,75$, RT ve sisplatin kombinasyonunda $36,34 \pm 19,39$, RT ve setuksimab kombinasyonunda $23,26 \pm 6,06$ ve son olarak RT+ sisplatin + setuksimab uygulanmasıyla $47,14 \pm 26,86$ olarak bulundu.

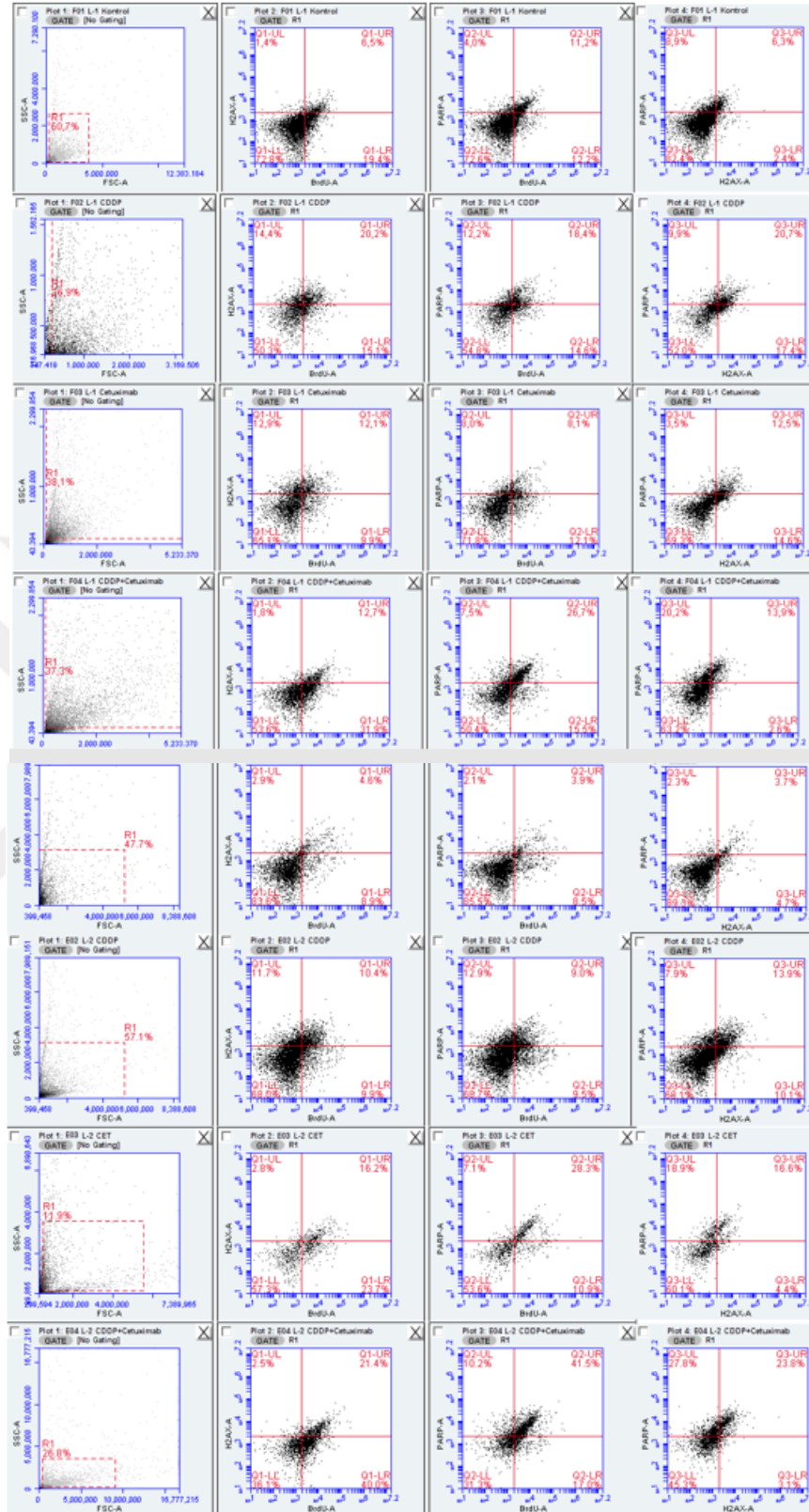
HPV (-) vakalarda BrdU ile tespit edilen proliferasyon yüzde ortalama değerleri; kontrol grubunda $88,81 \pm 5,19$, sisplatin verilen grupta $68,13 \pm 11,79$, setuksimab verilen grupta $76,78 \pm 9,89$, sisplatin ve setuksimab kombinasyonu grubunda $57,07 \pm 14,47$ bulunmuştur. Buna ek olarak sadece RT uygulananlarda ortalama proliferasyon yüzdesi $70,57 \pm 9,82$, RT ve sisplatin kombinasyonunda $49,80 \pm 13,69$, RT ve setuksimab kombinasyonunda $64,70 \pm 6,66$ ve son olarak RT+ sisplatin + setuksimab uygulanmasıyla $36,67 \pm 15,50$ olarak bulundu.

HPV (-) vakalarda PARP ekspresyonu ile tespit edilen DNA hasarı ilişkili apoptoz yüzde ortalama değerleri; kontrol grubunda $7,15 \pm 3,73$, sisplatin verilen

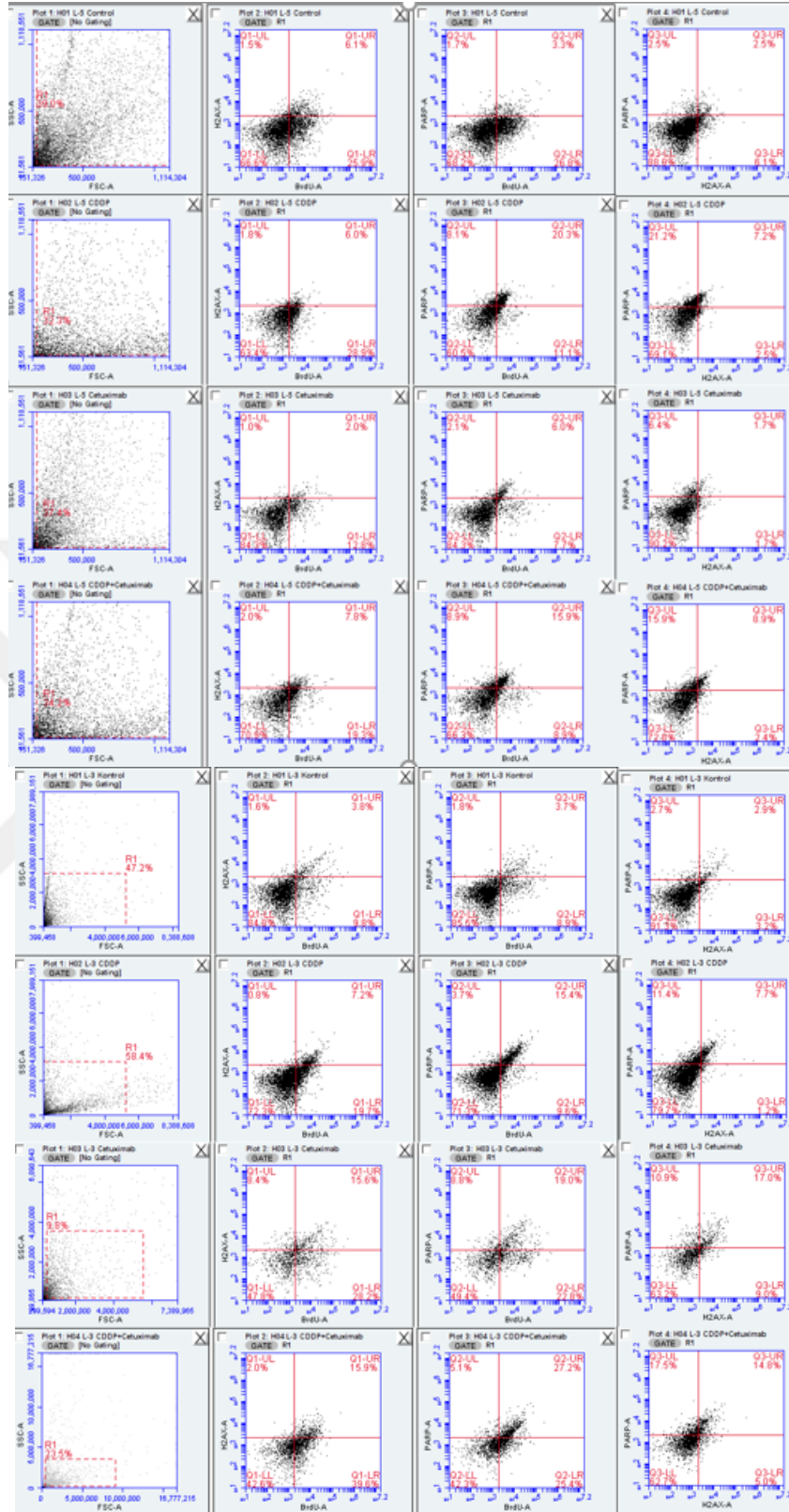
grupta $25,25 \pm 11,26$, setuksimab verilen grupta $20,04 \pm 10,02$, sisplatin ve setuksimab kombinasyonu grubunda $38,29 \pm 13,23$ bulunmuştur. Buna ek olarak sadece RT uygulananlarda ortalama DNA hasarı ilişkili apoptoz yüzdesi $24,12 \pm 9,50$, RT ve sisplatin kombinasyonunda $42,46 \pm 13,86$, RT ve setuksimab kombinasyonunda $30,39 \pm 9,70$ ve son olarak RT+ sisplatin + setuksimab uygulanmasıyla $59,14 \pm 16,05$ olarak bulundu.

HPV (-) vakalarda H2AX ekspresyonu ile tespit edilen DNA hasarı yüzde ortalama değerleri; kontrol grubunda $7,72 \pm 4,02$, sisplatin verilen grupta $26,93 \pm 12,24$, setuksimab verilen grupta $16,15 \pm 9,74$, sisplatin ve setuksimab kombinasyonu grubunda $40,13 \pm 14,84$ bulunmuştur. Buna ek olarak sadece RT uygulananlarda DNA hasarı yüzde ortalama değerleri $21,33 \pm 9,49$, RT ve sisplatin kombinasyonunda $41,81 \pm 13,69$, RT ve setuksimab kombinasyonunda $31,03 \pm 10,85$ ve son olarak RT+ sisplatin + setuksimab uygulanmasıyla $53,28 \pm 17,49$ olarak bulundu.

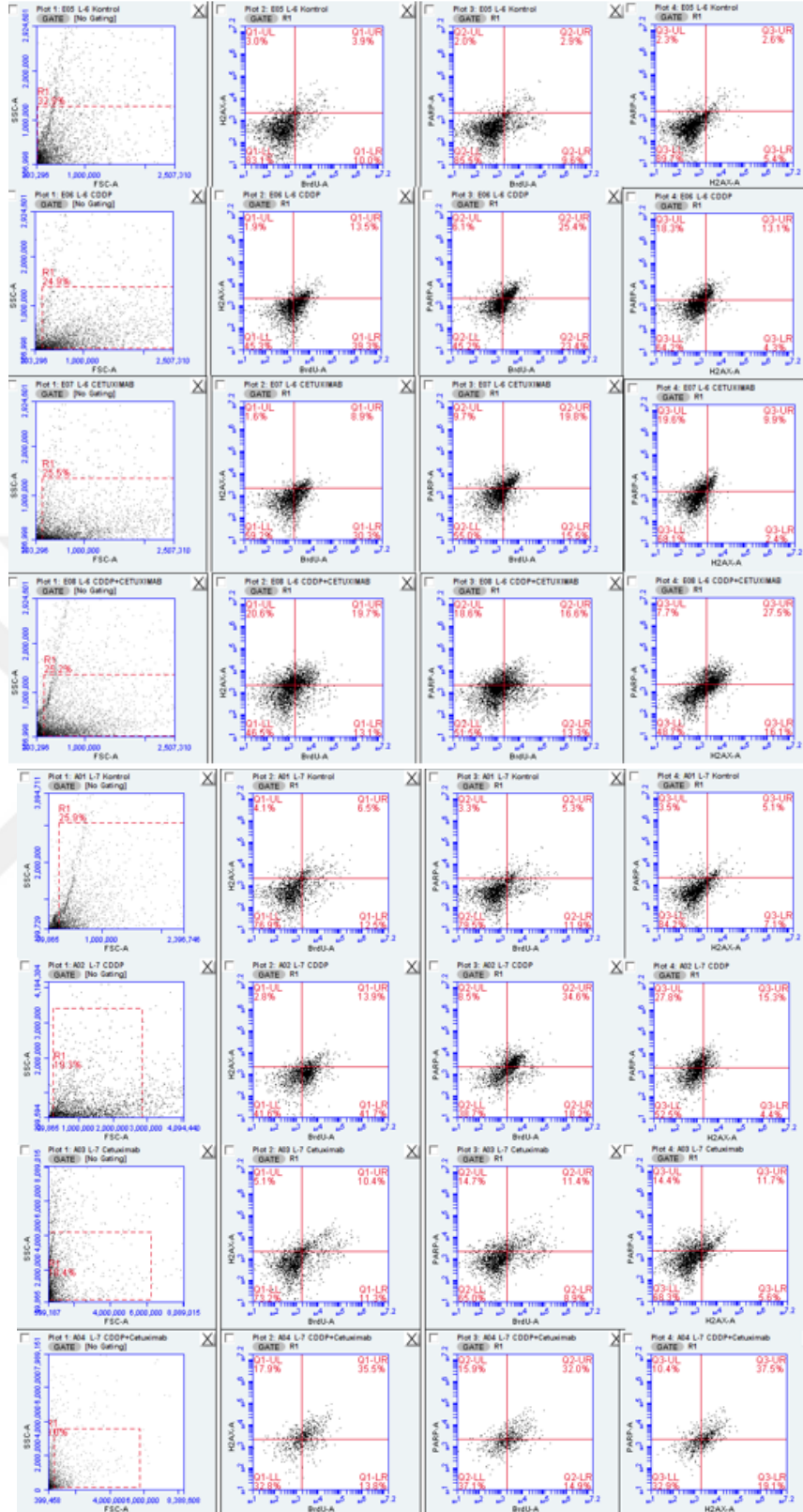
Belirtilen bu değerler Şekil 7’de yer alan akım sitometri “*dot plot*” analizleri ile elde edilmiştir.



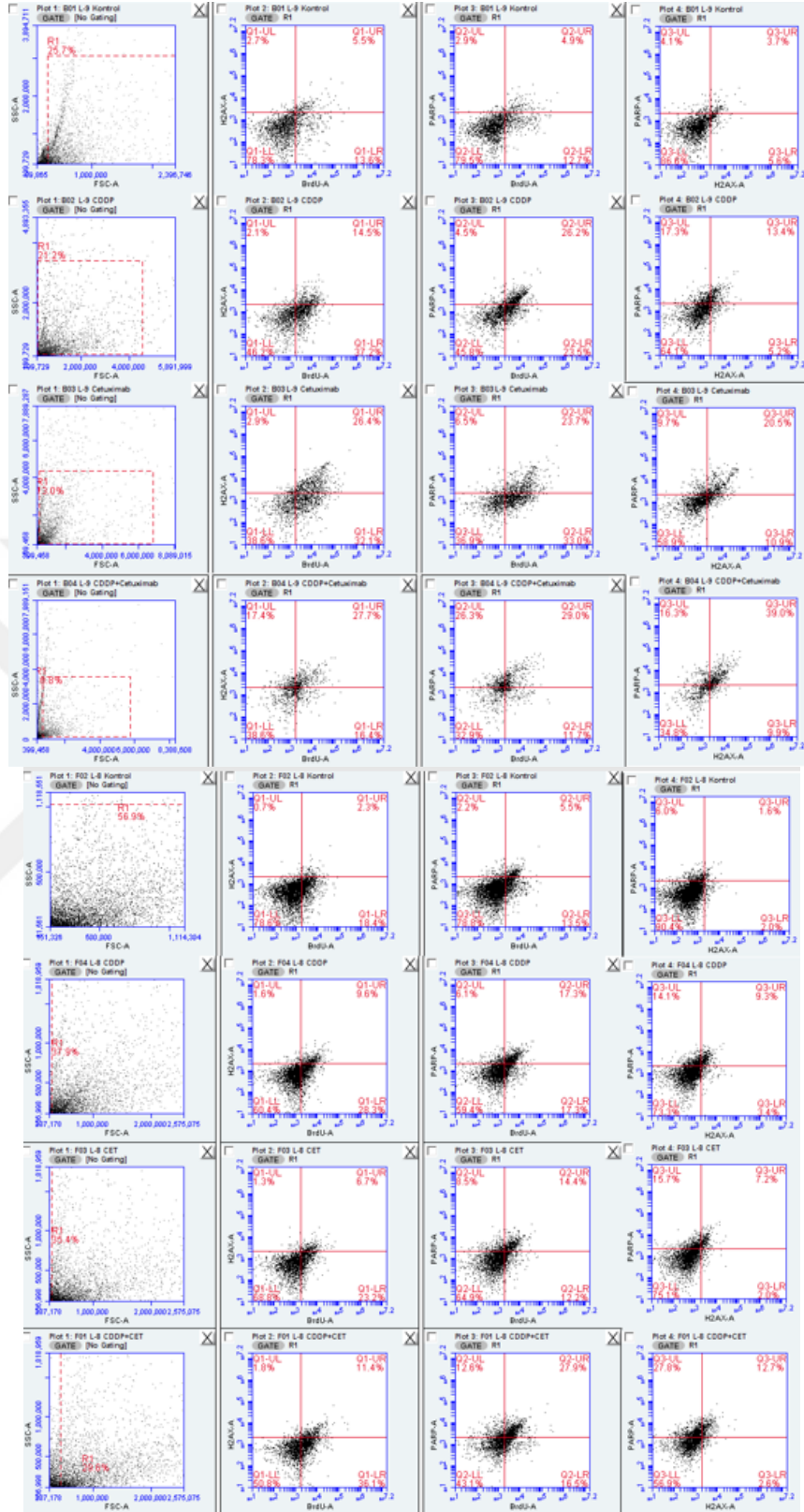
Şekil 7. Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



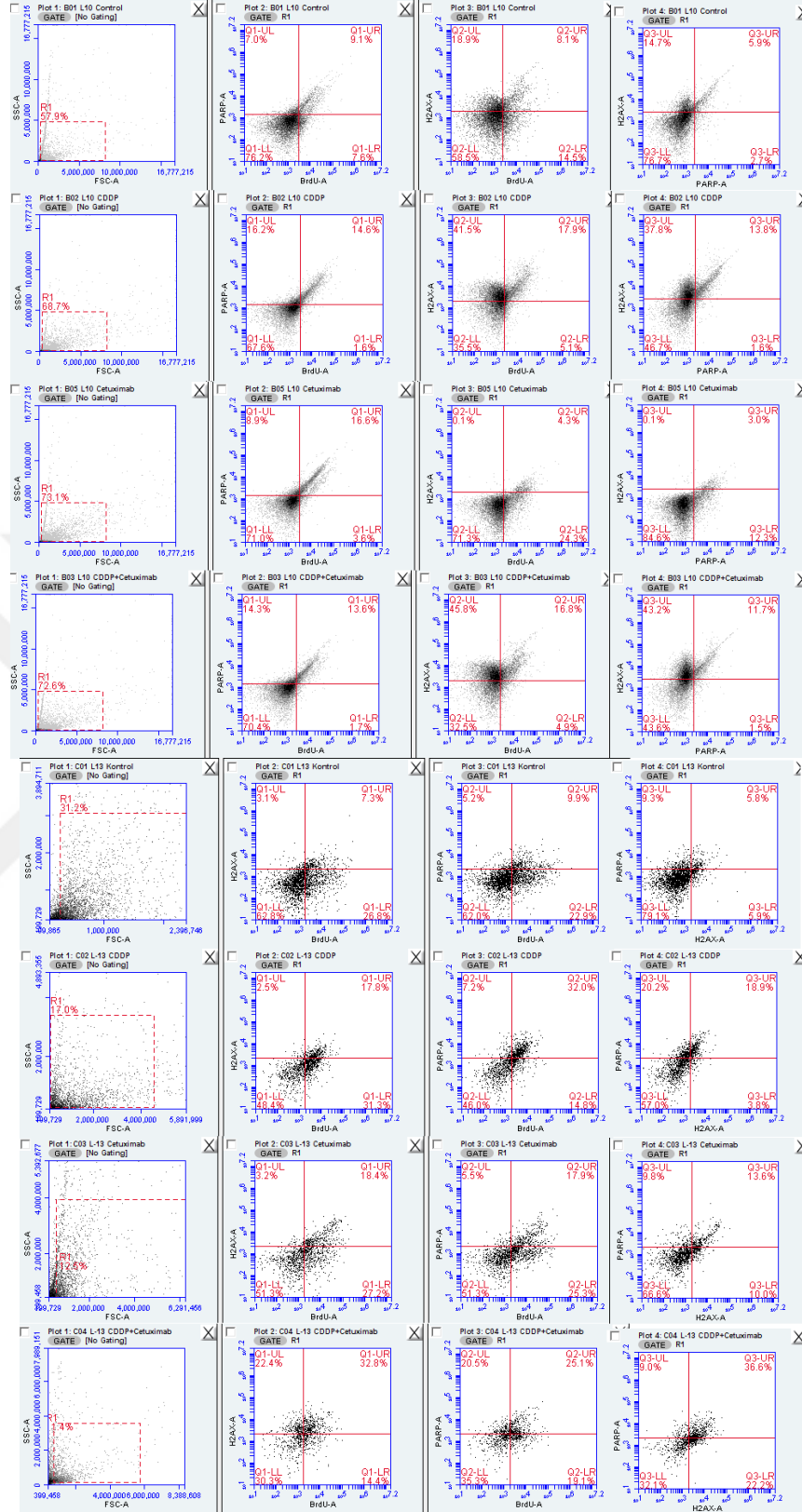
Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



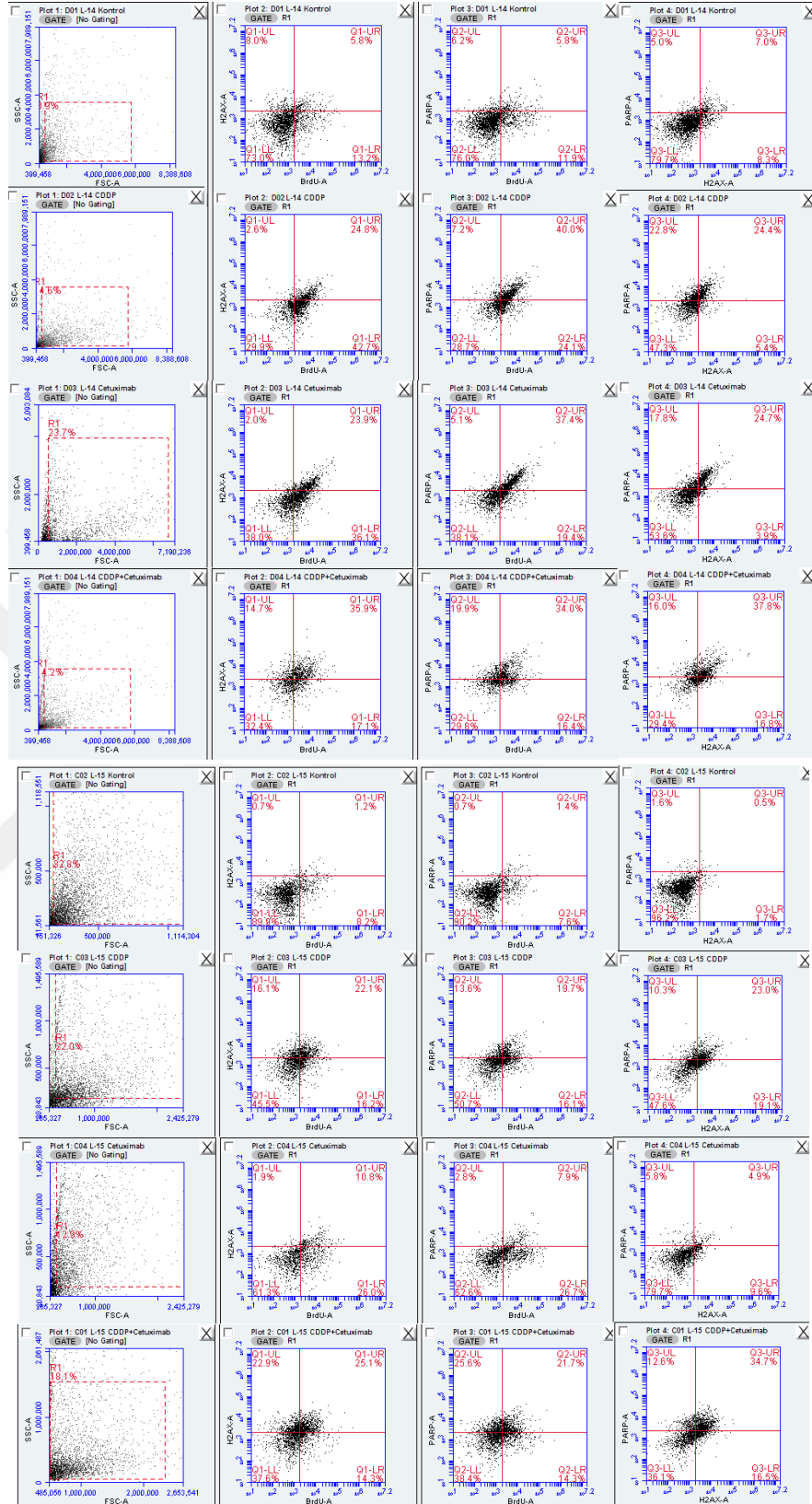
Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



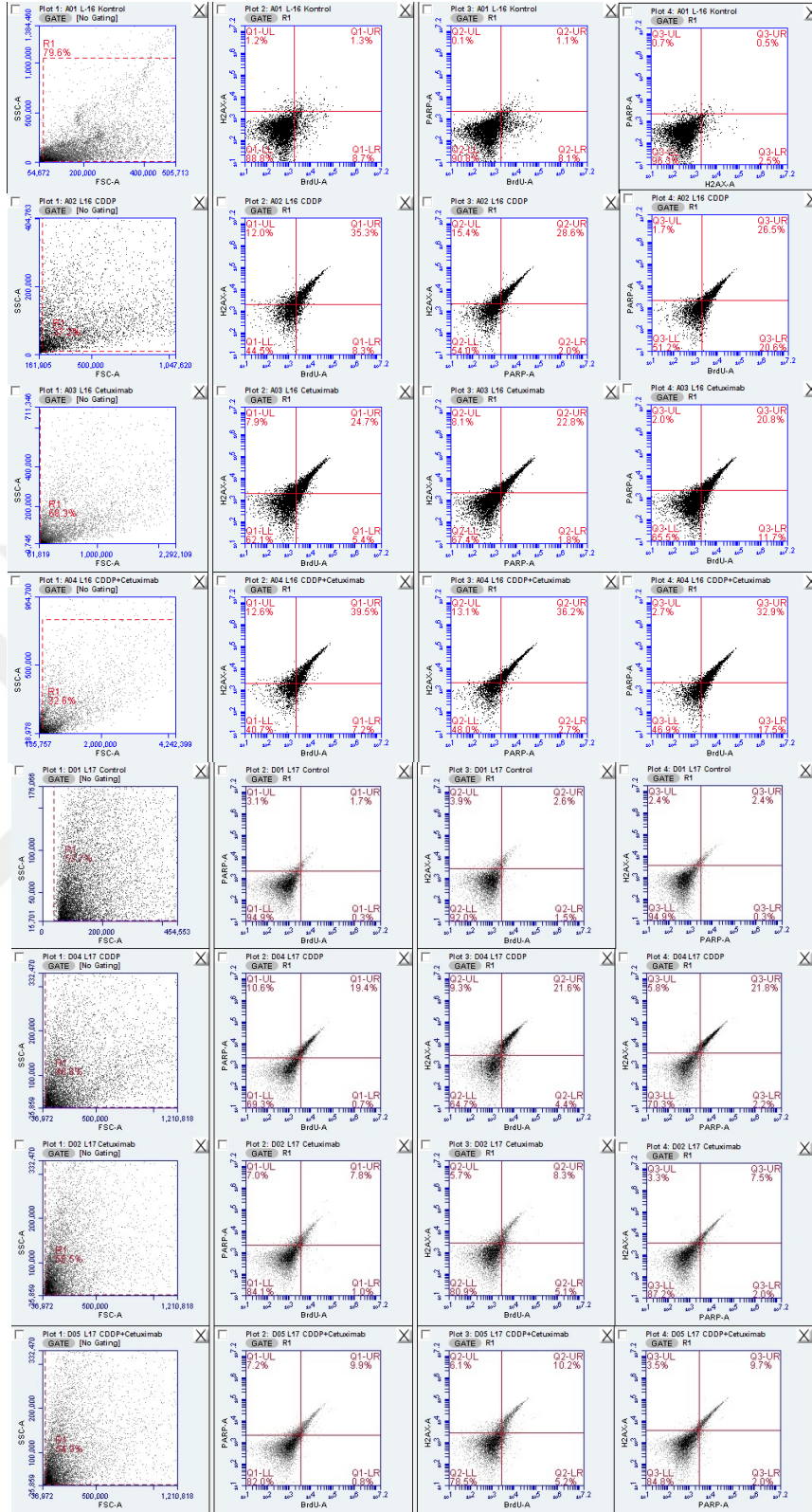
Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



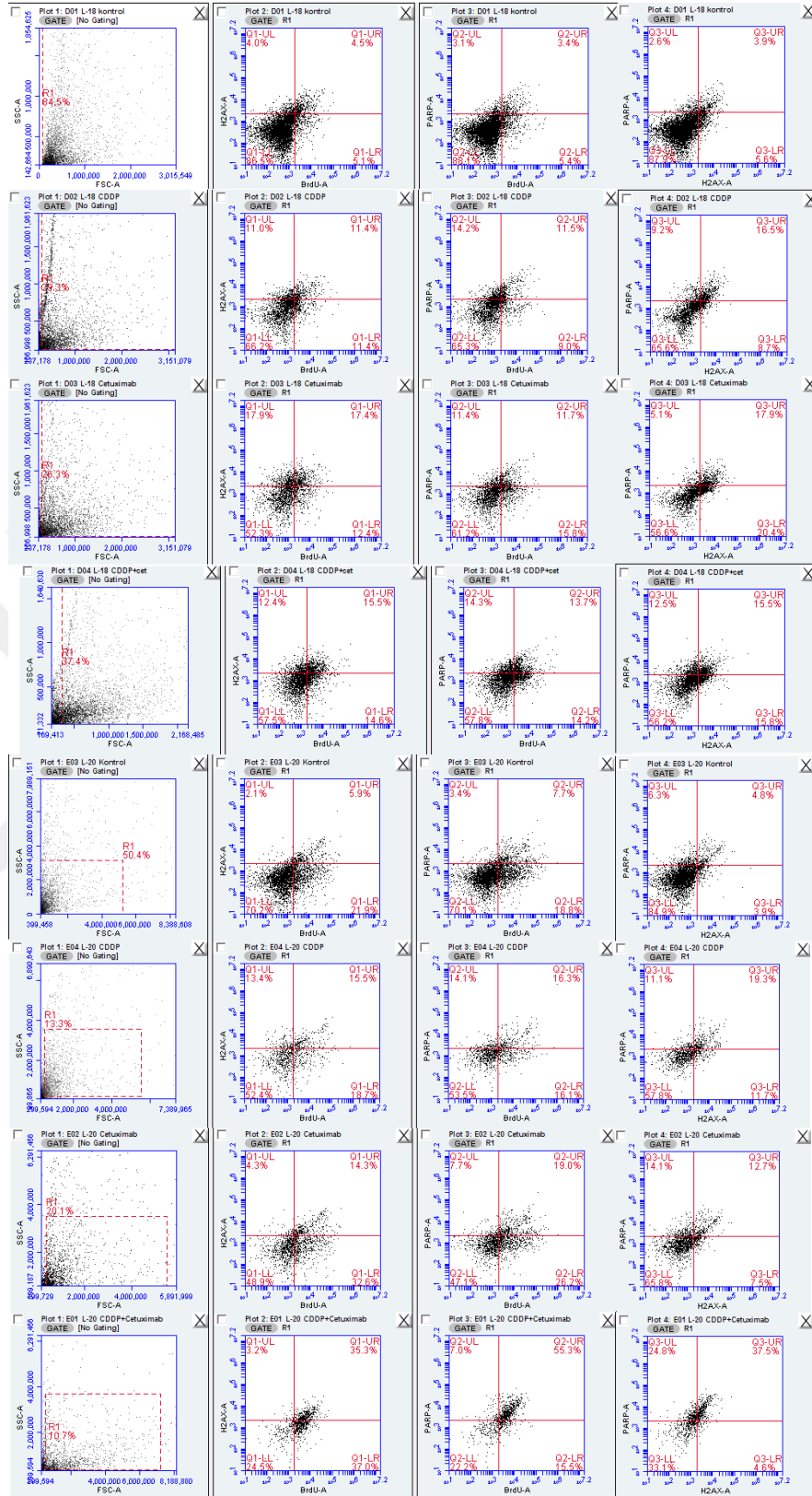
Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



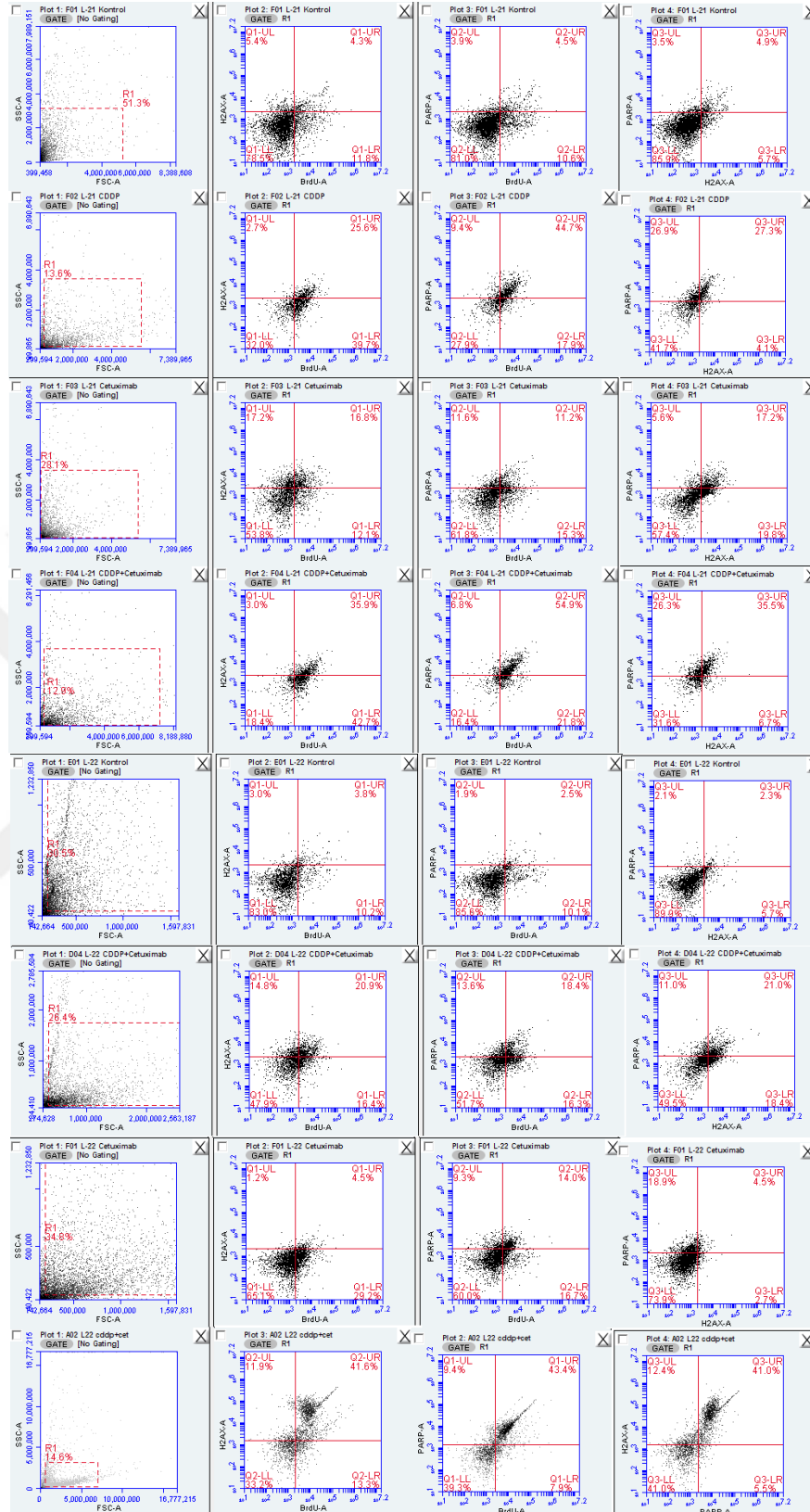
Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



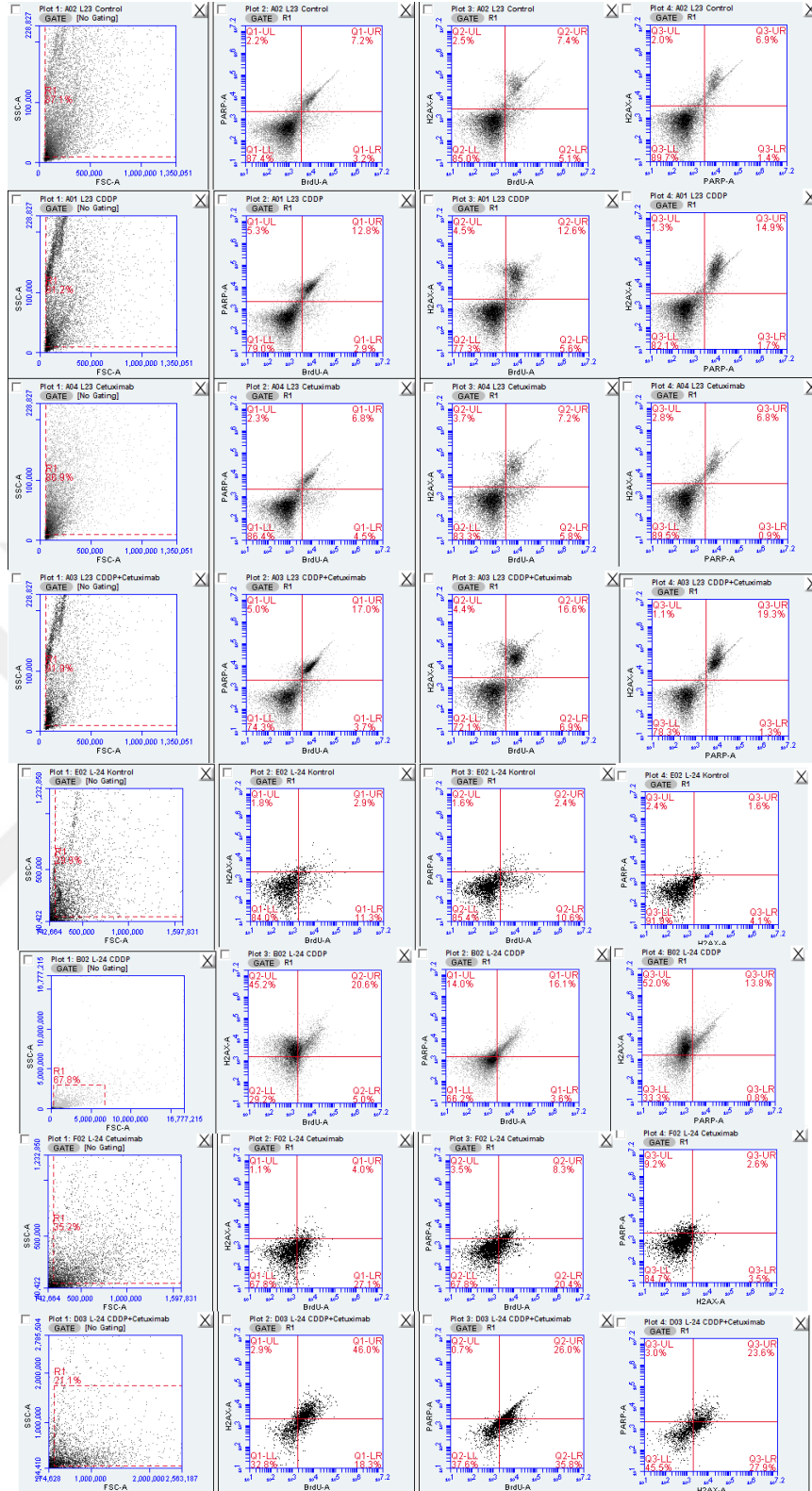
Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



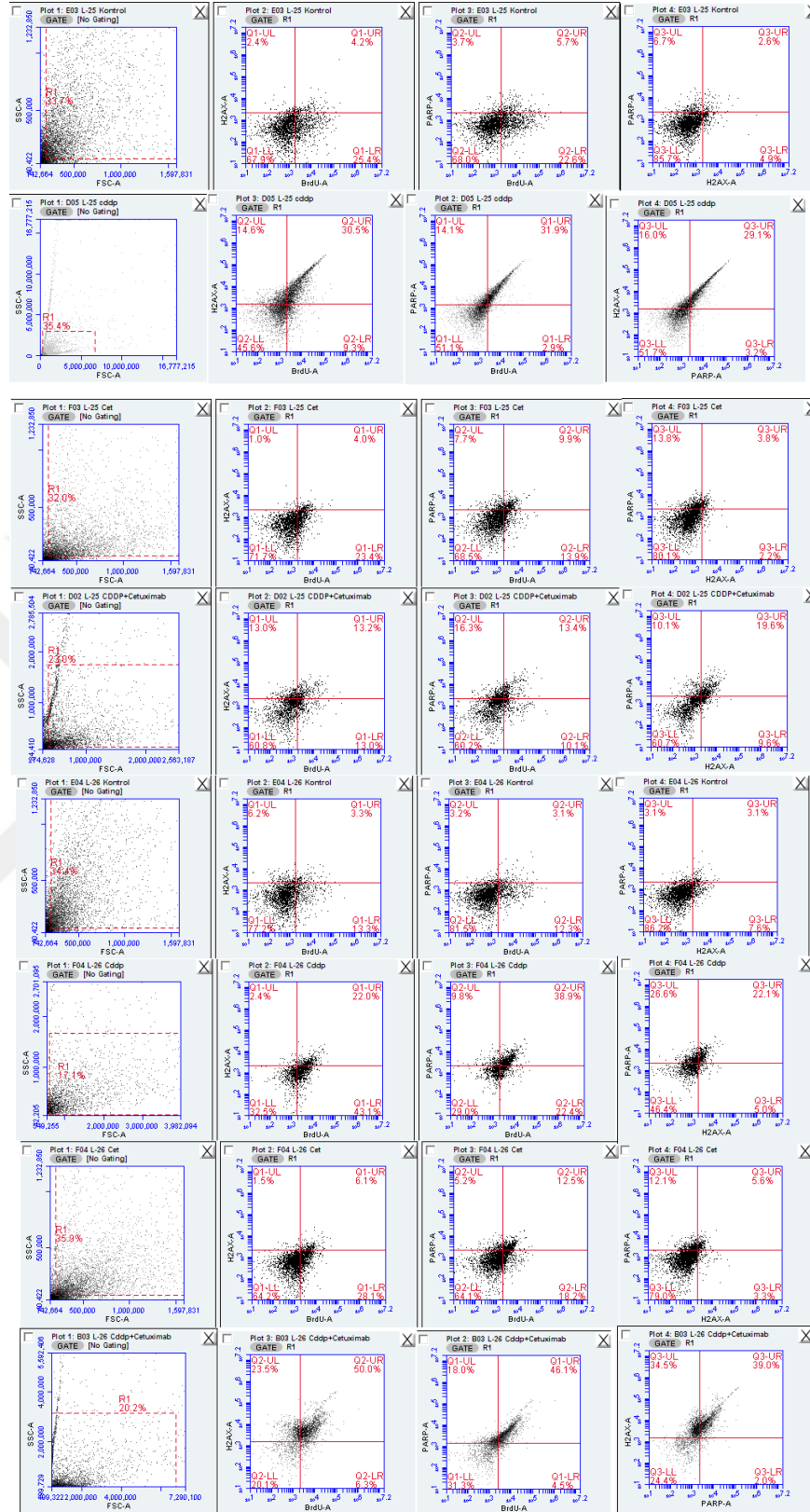
Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



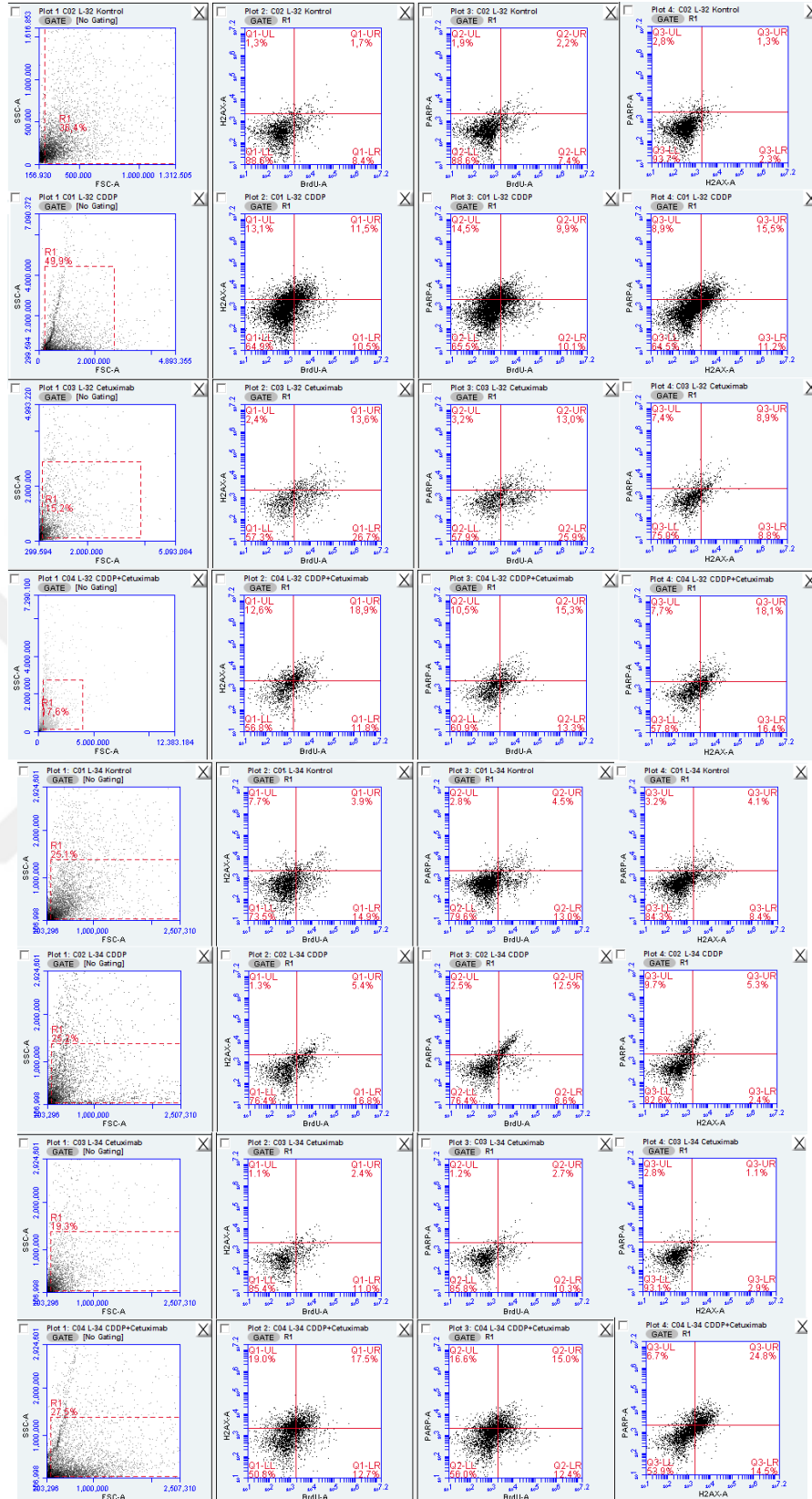
Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



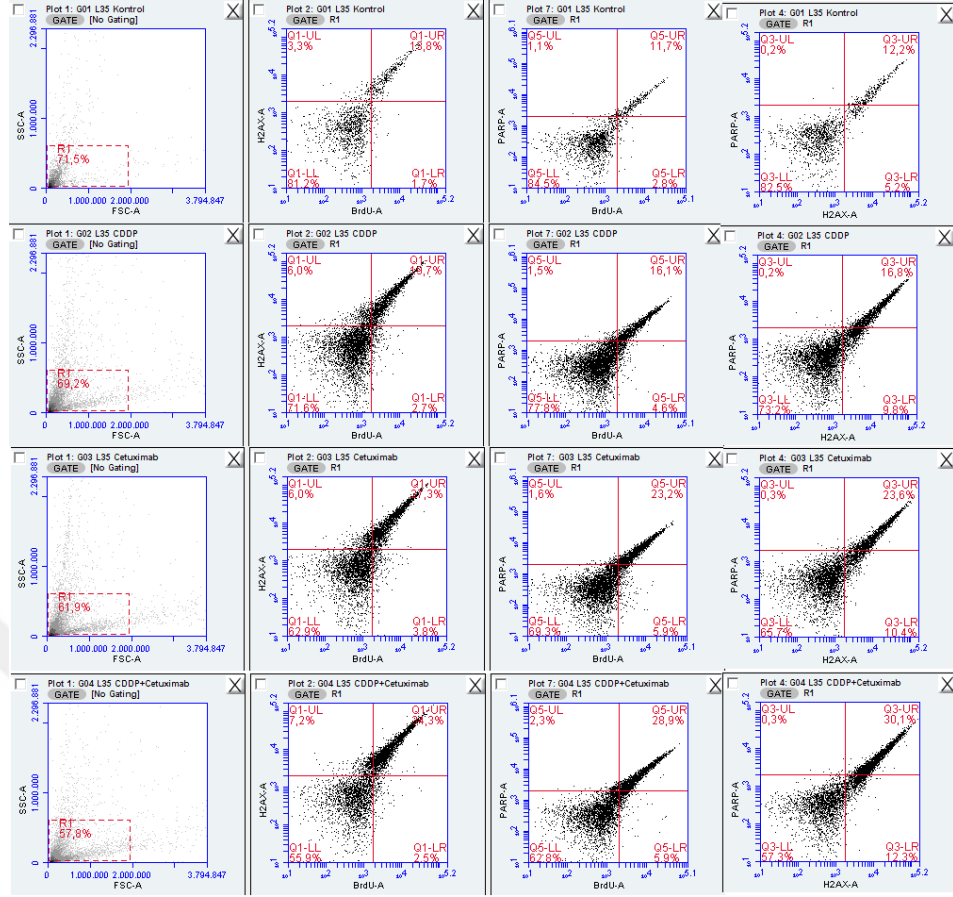
Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları



Şekil 7 (devamı). Gruplara göre vakaların proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdelерinin akım sitometri ile analiz sonuçları

4.4. Tedavi Yanıtlarının Analizi

Tedavi sonrası tüm tümörlerde elde edilen farklı tedavi gruplarındaki proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı bulguları Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Elde edilen tedavi yanıtlarının tüm tedavi gruplarındaki dağılımı

	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Deviasyon
Proliferasyon				
Kontrol	76,1	96,7	89,350	5,0227
Sisplatin	33,3	88,3	66,503	12,8000
Setuksimab	54,4	95,7	77,559	9,9835
Sisplatin + Setuksimab	22,1	80,7	56,753	15,6560
RT	48,6	88,1	71,991	10,1883
RT + Sisplatin	26,1	74,8	51,206	13,8669
RT + Setuksimab	41,3	80,9	65,818	9,8798
RT+ Sisplatin + Setuksimab	7,3	62,5	37,674	15,4801
Apoptoz				
Kontrol	1,2	15,2	6,794	3,6399
Sisplatin	10,0	65,8	30,009	12,6495
Setuksimab	3,9	42,5	19,838	9,6620
Sisplatin + Setuksimab	13,2	73,5	38,635	14,7782
RT	5,2	45,3	22,571	10,0651
RT + Sisplatin	18,5	72,3	41,259	13,7946
RT + Setuksimab	14,3	52,2	29,479	9,7876
RT+ Sisplatin + Setuksimab	32,4	88,4	58,056	16,1575
DNA Hasarı				
Kontrol	2,2	17,4	7,579	3,9726
Sisplatin	7,7	65,8	27,350	12,2913
Setuksimab	3,4	37,0	16,356	10,0027
Sisplatin + Setuksimab	11,3	73,5	38,847	15,2174
RT	3,9	40,6	19,850	9,6713
RT + Sisplatin	17,8	67,3	41,006	14,4416
RT + Setuksimab	10,2	48,7	29,885	10,5901
RT+ Sisplatin + Setuksimab	7,4	88,1	52,374	18,7586

Tüm farklı gruplardaki proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı bulguları parametrik olmayan Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 3).

Tablo 3. Tüm tedavi gruplarında tedavi yanıtlarının istatistiksel karşılaştırma bulguları

	Proliferasyon	DNA hasarı	Apoptoz
<i>N=34</i>	<i>p değerleri</i>		
Kontrol	0,926	0,897	1,000
Sisplatin	0,515	0,238	0,322
Setuksimab	0,669	0,445	0,867
Sisplatin+Setuksimab	0,809	0,809	0,696
RT	0,926	0,926	0,897
RT+Sisplatin	0,752	0,752	0,780
RT+Setuksimab	0,589	0,589	0,897
RT+Sisplatin+Setuksimab	1,000	1,000	0,838

HPV (-) ve HPV (+) tümörler kendi içinde, uygulanan farklı tedaviler sonrası elde edilen proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı bulguları açısından parametrik olmayan Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4).

Tablo 4. HPV durumuna göre grup içi farklı tedavi yanıtlarının istatistiksel karşılaştırma bulguları

	Proliferasyon	DNA hasarı	Apoptoz
<i>HPV (+) n=5</i>	<i>p değerleri</i>		
Kontrol	0,400	0,200	0,400
Sisplatin	0,200	1,000	0,200
Setuksimab	1,000	1,000	0,800
Sisplatin+Setuksimab	0,400	1,000	0,400
RT	0,200	0,200	0,200
RT+Sisplatin	0,200	0,400	0,200
RT+Setuksimab	0,200	1,000	0,200
RT+Sisplatin+Setuksimab	0,200	0,800	0,200
<i>HPV (-) n=29</i>	<i>p değerleri</i>		
Kontrol	0,649	0,401	0,518
Sisplatin	0,218	0,401	0,083
Setuksimab	0,720	0,615	0,649
Sisplatin+Setuksimab	0,237	0,237	0,200
RT	0,324	0,301	0,324
RT+Sisplatin	0,582	0,114	0,218
RT+Setuksimab	0,756	0,649	0,401
RT+Sisplatin+Setuksimab	0,487	0,075	0,401

Pearson korelasyon testine göre yaş ortalamaları ile farklı gruplardaki tedavi yanıtları değerlendirildiğinde HPV (-) vakalarda kendi içerisinde istatistiksel anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır ($p>0,05$). HPV (+) hastalarda ise sadece setuksimab alan hastalarda yaş ile proliferasyon, DNA hasarı ve DNA hasarına bağlı apoptoz miktarı arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. HPV durumuna göre hastalarda yaş ortalamasının gruplardaki tedavi yanıtları ile korelasyonunun istatistiksel karşılaştırma bulguları

	Proliferasyon	DNA hasarı	Apoptoz
<i>HPV (+)</i>	<i>p değeri</i> <i>r değeri</i>		
Kontrol	0,704 -0,235	0,758 0,192	0,986 0,011
Sisplatin	0,232 -0,653	0,827 -0,136	0,199 0,688
Setuksimab	0,020* -0,935	0,011* -0,956	0,034* -0,907
Sisplatin+Setuksimab	0,807 0,152	0,024* -0,925	0,738 -0,207
RT	0,205 -0,682	0,837 -0,128	0,310 0,575
RT+Sisplatin	0,312 -0,574	0,712 0,228	0,332 0,554
RT+Setuksimab	0,940 0,047	0,090 -0,819	0,833 -0,132
RT+Sisplatin+Setuksimab	0,937 0,049	0,318 -0,567	0,907 -0,073
<i>HPV (-)</i>	<i>p değeri</i> <i>r değeri</i>		
Kontrol	0,261 -0,216	0,965 -0,009	0,224 0,233
Sisplatin	0,155 -0,271	0,543 -0,118	0,413 0,158
Setuksimab	0,931 0,017	0,807 -0,047	0,625 -0,095
Sisplatin+Setuksimab	0,953 -0,011	0,499 -0,131	0,828 0,042
RT	0,490 -0,134	0,269 0,212	0,442 0,148
RT+Sisplatin	0,961 0,010	0,597 0,102	0,643 0,090
RT+Setuksimab	0,288 0,204	0,837 -0,040	0,197 -0,247
RT+Sisplatin+Setuksimab	0,544 0,118	0,994 -0,001	0,841 -0,039

4.5. Hastaların Baş Boyun Tümörlerinin Patolojik Özelliklerine Göre Tedavi Yanıtları Bulguları

Hastaların patolojik evreleri, diferansiyasyon düzeyleri, göz önüne alınarak parametrik olmayan Kruskal Wallis testi ile tüm vakalarda farklı tedavilere proliferasyon, DNA hasarı ve apoptoz bakımından istatistiksel anlamlı fark göstermediği tespit edildi ($p>0,05$). Benzer şekilde HPV (-) ya da HPV (+) vakalarda da kendi içerisinde istatistiksel anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$).

Ancak HPV (-) hastalar arasında Kruskal Wallis testine göre RT+ sisplatin + setuksimab kombinasyonu alan grupta primer tümör lokalizasyonuna göre proliferasyon düzeyinde farklılık görülmüştür. Buna göre primer tümör lokalizasyonu hipofarenks olan HPV (-) hastalarda proliferasyon düzeyi istatistiksel anlamlı olarak en yüksek bulunmuştur ($p=0,038$) (Tablo 6).

Tablo 6. HPV (-) baş boyun kanserinde primer tümör lokalizasyonuna göre proliferasyon düzeyi

<i>Primer tümör lokalizasyonu</i>	<i>Ortalama $\pm$ SD</i>	<i>p değeri</i>
	<i>RT+Sisplatin+Setuksimab</i>	
Oral kavite	56,16 $\pm$ 12,11	0,038*
Orofarenks	69,13 $\pm$ 12,09	
Larenks	65,19 $\pm$ 16,41	
Hipofarenks	41,02 $\pm$ 14,75	

4.6. HPV Varlığına Göre Proliferasyon, DNA Hasarı ve Apoptoz Bulgularının Karşılaştırılması

HPV (+) ve HPV (-) gruplarda proliferasyon, DNA hasarı ve DNA hasarı ilişkili apoptoz düzeyleri Mann Whitney U testi ile değerlendirildiğinde RT alan grupta proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdeleri istatistiksel anlamlı fark göstermiştir (sırasıyla $p=0,049$, $p=0,022$ ve $p=0,025$). Buna göre HPV (+) vakalarda sadece RT verilen grupta proliferasyon daha yüksek olup, apoptoz ve DNA hasarı daha düşük düzeydedir (Tablo 7). Sisplatin, Sisplatin + Setuksimab, RT + Sisplatin, RT + Setuksimab ve RT + Sisplatin + Setuksimab tedavileri sonucunda elde edilen proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarı yüzdeleri HPV (+) ve HPV (-) gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

Tablo 7. HPV durumuna göre farklı tedavilere bağı proliferasyon, apoptoz ve DNA hasarındaki değişimlerin karşılaştırılması

	HPV (+)	HPV (-)	P değeri
Proliferasyon			
Kontrol	92,48±2,33	88,81±5,19	0,133
Sisplatin	57,06±15,75	68,13±11,79	0,073
Setuksimab	82,08±10,35	76,78±9,89	0,280
Sisplatin + Setuksimab	54,94±23,49	57,07±14,47	0,784
RT	80,26±9,00	70,57±9,82	0,049*
RT + Sisplatin	59,38±13,28	49,80±13,69	0,258
RT + Setuksimab	72,30±9,52	64,70±6,66	0,157
RT+ Sisplatin + Setuksimab	43,50±15,63	36,67±15,50	0,370
Apoptoz			
Kontrol	4,76±2,45	7,15±3,73	0,180
Sisplatin	40,20±16,74,	28,25±11,26	0,163
Setuksimab	18,66±8,06	20,04±10,02	0,773
Sisplatin + Setuksimab	40,64±23,88	38,29±13,23	38,635
RT	13,56±9,23	24,12±9,50	0,022*
RT + Sisplatin	34,30±12,43	42,46±13,86	0,270
RT + Setuksimab	24,20±9,52	30,39±9,70	0,196
RT+ Sisplatin + Setuksimab	51,78±17,13	59,14±16,05	0,355
DNA Hasarı			
Kontrol	6,76±4,04	7,72±4,02	0,625
Sisplatin	29,76±13,75	26,93±12,24	0,642
Setuksimab	17,54±12,62	16,15±9,74	0,779
Sisplatin + Setuksimab	31,42±16,96	40,13±14,84	0,243
RT	11,28±5,75	21,33±9,49	0,025*
RT + Sisplatin	36,34±19,39	41,81±13,69	0,443
RT + Setuksimab	23,26±6,06	31,03±10,85	0,132
RT+ Sisplatin + Setuksimab	47,14±26,86	53,28±17,49	0,508

5. TARTIŞMA

Üst sindirim ve solunum yolu mukozasından kaynaklanan BBSHK için klasik risk faktörleri arasında sigara, alkol tüketimi ve HPV enfeksiyonları bulunmaktadır (1-3). Günümüzde bu kanserler HPV durumuna göre HPV (+) ve HPV (-) olmak üzere iki farklı gruba ayrılmaktadır. HPV, BBK için bilinen bir onkojenik ajan haline gelmiş olup günümüzde HPV (+) BBK vakalarının, özellikle de HPV (+) orofarenks kanseri vakalarının insidansı giderek artmaktadır (2,3). HPV (+) BBK farklı karsinogenez yollarını takip etmekte ve sağkalım, prognoz ve tedavi yanıtı açısından farklı klinik davranışlar göstermektedir. HPV ile ilişkili BBK'lerin, HPV (-) olanlara kıyasla daha iyi tedavi yanıtları ve sağkalım oranlarının olduğu bilinmektedir (11-13,87). HPV Tip 16, BBK ile en sık ilişkilendirilen alt türdür (5). Tümörün HPV ile ilişkisi, HPV varlığının PCR ya da ISH ile belirlenmesi ile ya da tümör örneklerinde immünohistokimyasal olarak artmış p16 protein ekspresyonunun saptanması ile ortaya konabilir (86). HPV (+) BBSHK'lerin tedavi yanıtlarının, klinik seyirlerinin ve prognozlarının farklı olması, bu kanserlerde mevcut standart tedavilerin yerine farklı kombine tedavi alternatifleri kullanılabileceğini düşündürmektedir (16-17). Bu nedenle, HPV (+) tümörlerin iyi klinik seyirli olmaları göz önünde bulundurularak daha az yoğunlukta ve farklı tedavilerin verilir verilemeyeceğine yönelik yapılan çalışmalar artış göstermiştir (33-35,89). Bu bilgilere dayanarak bu çalışmada HPV (+) ve HPV (-) olan BBK primer kültürlerinde RT ve KT yanıtını karşılaştırmak ve tümörün HPV durumuna bağlı olarak en uygun tedavi modelini ortaya koymak amaçlanmıştır. Bu amaçla, çalışmaya dahil edilen 34 olgunun 24 ü erkek (%70,6) 10 'u kadın (%29,4) olarak dağılım göstermiştir. Bu olguların 29 'u HPV (-), 5 'i ise HPV (+) olarak bulunmuştur. Çalışma grupları dahilinde; HPV (-) ve HPV (+) tümörlerde; tedavi uygulanmayan, sisplatin alan, setuksimab alan, sisplatin+setuksimab alan, sadece RT alan, RT + sisplatin alan, RT+setuksimab alan ve RT+sisplatin+setuksimab alan olmak üzere toplam 8 grup tanımlanmıştır. HPV (-) ve HPV (+) tümörler uygulanan farklı tedavilere göre DNA hasarı, hücre proliferasyonu ve apoptoz açısından karşılaştırılmıştır.

Katzel ve ark. tedavi edilen evre II-IVB baş boyun kanserli 223 kadın ve 661 erkek hastanın tedavi sonuçlarını değerlendirmiştir (90). Hastane sisteminden alınan kanser kayıt verilerinin analizine göre baş boyun kanseri olan kadınların erkeklerle kıyaslandığında yoğun KT ve RT'ye daha az duyarlı olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda ise kadın ve erkekler arasında tedavi yanıtı açısından benzer bir fark tespit edilmemiştir.

Götz ve ark. HPV (+) BBSHK'deki farklılıkları değerlendirilmek amacıyla 2004 ve 2014 yılları arasında yayımlanmış olan 139 çalışmanın meta analizini gerçekleştirmiştir (91). Buna göre HPV (-) hastaların yaş ortalaması HPV (+) hastalara göre daha yüksek gözlenmiş ancak bu durum tedavi yanıtı ile istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde HPV durumuna göre hastalarda yaş ortalamasının gruplardaki tedavi yanıtları ile korelasyonu saptanmamıştır.

Yapılan çalışmalarda HPV (+) orofarenks kanseri olan hastalarının daha iyi prognoz gösterdiği belirtilmiştir (87). HPV (+) tümörlerin daha iyi prognoza sahip olmalarının nedeni tam olarak bilinmemektedir. Tümörün HPV (+) olması iyi prognostik bir faktör olarak kabul edilmekte, bu durum HPV (+) tümörlerin RT ve KT'ye daha duyarlı olmalarına bağlanmaktadır. Literatürde HPV (+) tümörlerin RT ve KT'ye olan duyarlılığını ve bunun olası mekanizmalarını inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır (92). Özcan ve ark. HPV durumuna göre RT duyarlılığını değerlendirdikleri derlemede, HPV (+) hastaların RT'ye olan duyarlılığının HPV (-) hastalara kıyasla daha fazla olduğunu belirtmişlerdir (93). Liu ve ark. HPV ve RT duyarlılığı ilişkisini değerlendirdikleri çalışmalarında HPV (+) BBSHK hastaların RT ve RT'ye karşı daha yüksek duyarlılığa bağlı olarak sağkalım oranlarının da arttığını göstermişlerdir (94). HPV pozitifliği, artan RT duyarlılığı ile ilişkili olmasına rağmen, altta yatan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. HPV (+) tümörlerin RT ve RT'ye daha duyarlı olmalarının bir nedeni olarak, HPV (+) tümörlerin sahip olduğu viral proteinlere karşı insan vücudunda indüklenen immün cevabın tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasını kolaylaştırdığı düşünülmektedir (21,95).

Literatürde hücre hatları kullanılarak in vitro ortamda yapılan çalışmaların çoğunda HPV (+) tümör hücrelerinin RT'ye daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (19-22). Bununla birlikte bazı in vitro çalışmalarda ise HPV (+) tümörlerin HPV (-) tümörlere kıyasla RT ve KT'ye daha dirençli oldukları bulunmuştur (21,95). Hücre hatları kullanılarak, kanser hücrelerinin tedaviye yanıtının değerlendirildiği çalışmaların, tedavilerin canlı ortamda verilmemesi nedeniyle bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Son yıllarda canlı konağın bu duruma etkisini araştırmak için ksenograft üzerinde yapılan çalışmalar tümör oksijenizasyonunun ve immün cevabın tedavi yanıtını önemli derecede etkilediğini göstermiştir (95,96). Bu çalışmalarda

hücre hatları kullanılarak hücre kültürlerinde üretilen tümör hücrelerinin fare gibi ksenograft üzerinde üretilen kanser hücrelerinden daha farklı tedavi yanıtlarının olduğu gösterilmiştir. Bu durumun HPV (+) tümörlere karşı intakt immün cevabın var olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle insandaki canlı tümör hücreleri de tedaviye yanıt anlamında farklılık gösterebilmektedir. Bunun en önemli nedenlerinden biri olarak HPV (+) tümörlere karşı ortaya çıkan immün cevabın tedaviye yanıtta önemli rol oynaması olarak gösterilmektedir.

Spanos ve ark. HPV (+) ve HPV (-) hücre hatlarının artan radyasyon dozlarına verdikleri yanıtı değerlendirdikleri çalışmalarında HPV (+) hücre hatlarının RT'ye daha dirençli olduğunu göstermişlerdir (95). Aynı çalışmada, HPV (+) ve HPV (-) fare epitel hücreleri kullanılan in vivo ortamda ise HPV (+) tümörlerin HPV (-) hücre kültürlerine kıyasla RT'ye daha duyarlı oldukları görülmüştür. Nagel ve ark. ise HPV (+) ve HPV (-) hücre hatlarının RT duyarlılıkları arasında fark olmadığını göstermişlerdir (21). Yine bu çalışmada HPV (+) ve HPV (-) hücre hatlarının RT'ye ve setuksimaba verdikleri tedavi yanıtı arasında fark bulunmamış, HPV (-) hücre hatlarının sisplatine daha duyarlı oldukları gösterilmiştir. Bu durumun nedeninin tümör oksijenizasyonu ve tümör hücrelerine karşı ortaya çıkan immün cevabın olduğu düşünülmektedir.

Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer şekilde HPV (+) ve HPV (-) tümörlerde sisplatin ve setuksimabın birlikte kullanıldıklarında ya da RT ile kombine edildiklerinde tedavi yanıtları arasında fark olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte HPV (-) tümörlerin RT'ye daha duyarlı oldukları görülmüştür. Sisplatin, setuksimab, sisplatin + setuksimab kombinasyonu ve bu grupların 15 Gy RT'li kombinasyonlarının verildiği tümör hücrelerinde DNA hasarı, hücre proliferasyonu ve apoptoz açısından HPV (+) ve HPV (-) olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Buna karşın tek başına 15 Gy RT'nin daha fazla hücre ölümü, apoptoz ve DNA hasarına neden olduğu tespit edilmiş olup hücre ölümü, apoptoz ve DNA hasarı açısından HPV (+) ve HPV (-) olgular arasında istatistiksel anlamlı farklılık tespit edilmiştir.

Definitif KRT, lokal ileri baş boyun kanseri olan hastalar için standart bir tedavidir. Bu hastalara optimal bireyselleştirilmiş tedavi uygulamak için, heterojen tümörlerin prognostik özelliklerine göre alt gruplara ayrılmasına ihtiyaç vardır. HPV (+) BBK'nin KRT yanıtlarının daha iyi olduğu bilinse de halihazırda HPV (+) ve HPV (-) baş boyun kanserlerinin tedavisi arasında farklılık bulunmamaktadır (24). Her iki

grupta da primer tedavi ya da cerrahi sonrası adjuvant tedavi olarak sisplatin bazlı KT ve RT kombinasyonu uygulanmaktadır. Bununla birlikte bu tedavilerin toksik etkilerinden kaçınabilmek amacıyla yoğunluğu azaltılmış tedavi stratejilerinin yanı sıra daha az toksik ajanların sisplatin yerine kullanıldığı birçok çalışma yapılmıştır (34-36,97,98). Bu çalışmalarda sisplatine kıyasla daha az toksik olduğu düşünülen ve bir monoklonal anti-EGFR antikoru olan setuksimab, sisplatin ile karşılaştırılmıştır. Tüm BBK göz önüne alınarak yapılan çalışmalarda, setuksimaba ait tedavi sonuçlarının sisplatin ile kıyaslandığında daha kötü olduğu bulunmuştur (99). Bununla birlikte HPV (+) orofarenks kanserlerinin prognoz ve tedaviye yanıt açısından diğer BBK'den farklı olduğu göz önünde bulundurularak, HPV (+) orofarenks kanserlerinde daha iyi tedavi sonuçlarının elde edilebileceği düşünülmüş ve bu amaçla HPV (+) orofarenks kanserlerine spesifik birçok araştırma yapılmıştır.

Sadece RT ile kıyaslandığında sisplatin ile birlikte RT uygulanmasının akut toksik etkilerinin çok daha fazla olduğu bilinmektedir. Ek olarak kserostomi ve disfaji gibi uzun dönemde ortaya çıkan sekelleri de artırmaktadır (34-35,99,100). Özellikle HPV (+) orofarenks kanseri olan ve sağkalım süresi uzun olan genç hastalarda bu tür yan etki ve sekeller hayat kalitesini oldukça düşürmektedir. Bu hastalar için toksisiteyi azaltırken tümöre yönelik etkinliği azaltmayacak şekilde tedavi dozunun düşürülmesi günümüzde üzerinde çok durulan bir yaklaşım olmuştur (99). Bu yaklaşımlardan bir tanesi de toksisitesi yüksek olan sisplatin yerine setuksimabın kullanımıdır (73,75,89,99).

RT, BBK'de EGFR ekspresyonunu artırarak direnç gelişimine neden olabilir. Bir EGFR inhibitörü olan setuksimab RT ile birlikte uygulandığında bu direnç gelişimini aşmaya yardımcı olabilir. Yapılan bazı çalışmalarda BBK tedavisinde RT'ye setuksimab eklenmesinin genel sağkalımı anlamlı olarak artırdığı gösterilmiştir ve setuksimab, sisplatinin daha az toksik olan bir alternatifi olarak önerilmiştir (101). Buna karşın HPV (+) orofarenks kanserlerinde setuksimab ile EGFR inhibisyonunun diğer BBK kadar tedavide etkin olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (99).

Mehanna ve ark. tarafından yapılan De-ESCALaTE çalışmasında HPV (+) orofarenks kanserli hastalarda RT'ye ek olarak uygulanan setuksimab ve sisplatin toksisite, sağkalım ve rekürrens açısından karşılaştırılmıştır (102). Bu çalışmada setuksimabın tedavi toksisitenin azaltılmasına katkısının olmadığı gibi tümör kontrolü ve sağkalımın da istatistiksel anlamlı olarak daha kötü olduğu bulunmuştur. Bu

Çalışmada, HPV (+) orofarenks kanserli hastaların tedavisinde sisplatin ve RT kombinasyonunun kullanılması önerilmiştir.

Çalışmamızda ise setuksimab ve sisplatin arasında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Ancak alışmamızda HPV (+) hastalarda, sadece setuksimab alan hastalarda yaş ile proliferasyon, DNA hasarı ve DNA hasarına bağlı apoptoz miktarı arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. Bir başka deyişle bu hastalarda yaş arttıkça proliferasyon, DNA hasarı ve DNA hasarına bağlı apoptoz azalmaktadır.

Bu alışma, daha önce hiç tedavi almamış BBK vakalarında standart tedavi yaklaşımlarının HPV durumu ile primer kùltürde ilişkilendirildiği ilk çalışma olup literatùre yaptığı katkı ile özgün bir değere sahiptir. Ancak çalışmanın önemli bir sınırlaması vakaların sadece 5'inin HPV (+) olmasıdır. Bu nedenle ilerleyen çalışmalarda daha fazla HPV (+) BBK vakasının değeriendirilmesi yararlı olacaktır.

6. SONUÇ

HPV (+) ve HPV (-) olan BBK primer kültürlerinde RT ve KT'ye yanıtını karşılaştırmak ve tümörün HPV durumuna bağlı olarak en uygun tedavi modelini ortaya koymak amaçlanan bu çalışmada şu sonuçlar elde edilmiştir:

- HPV durumuna göre hastalarda yaş ortalamasının gruplardaki tedavi yanıtları ile korelasyonu saptanmamıştır.
- HPV (+) hastalarda sadece setuksimab alan hastalarda yaş ile proliferasyon, DNA hasarı ve DNA hasarına bağlı apoptoz miktarı arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. Bir başka deyişle bu hastalarda yaş arttıkça proliferasyon, DNA hasarı ve DNA hasarına bağlı apoptoz azalmaktadır.
- HPV (-) hastalar arasında primer tümör lokalizasyonu hipofarenks olanlarda proliferasyon düzeyi en yüksek bulunmuştur.
- HPV (+) vakalarda sadece RT verilen tümörlerde proliferasyon daha yüksek olup, apoptoz ve DNA hasarı daha düşük düzeydedir.

7. KAYNAKLAR

1. Vigneswaran N, Williams MD. Epidemiologic trends in head and neck cancer and aids in diagnosis. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2014 May;26(2):123-41.
2. Mifsud M, Eskander A, Irish J, Gullane P, Gilbert R, Brown D ve ark. Evolving trends in head and neck cancer epidemiology: Ontario, Canada 1993-2010. Head Neck. 2017 Sep;39(9):1770-78.
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. CA Cancer J Clin. 2017 Jan;67(1):7-30. doi: 10.3322/caac.21387.
4. Türkiye Sağlık Bakanlığı, Türkiye Kanseri İstatistikleri. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdb/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2016.pdf.
5. Kreimer A.R, Clifford G.M, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: A systematic review. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. 2005;14:467-75.
6. Walboomers J.M, Jacobs M.V, Manos M.M, Bosch F.X, Kummer J.A, Shah K ve ark. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J. Pathol. 1999;189:12-19.
7. Ferris R.L, Martinez I, Sirianni N, Wang J, Lopez-Albaitero A, Gollin S.M ve ark. Human papillomavirus-16 associated squamous cell carcinoma of the head and neck (SCCHN): A natural disease model provides insights into viral carcinogenesis. Eur. J. Cancer. 2005;41:807-15.
8. De Felice F, Tombolini V, Valentini V, de Vincentiis, Mezi S, Brugnoletti O ve ark. Advances in the Management of HPV-Related Oropharyngeal Cancer. J Oncol. 2019;2019:9173729.
9. Shaw, R., Beasley, N. Aetiology and risk factors for head and neck cancer: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. J Laryngol Otol 2016; 130: S9–S12.
10. Kofler B, Laban S, Busch CJ, Lörincz B, Knecht R. New treatment strategies for HPV-positive head and neck cancer. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2014;271(7):1861-67.
11. Kobayashi K, Hisamatsu K, Suzui N, Hara A, Tomita H, Miyazaki T. A Review of HPV-Related Head and Neck Cancer. J Clin Med. 2018;7(9):241.

12. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tan PF ve ark. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2010;363: 24-35.
13. Vu HL, Sikora AG, Fu S. HPV-induced oropharyngeal cancer, immune response and response to therapy. *Cancer Lett.* 2010;28:149-55.
14. Marur S, D'Souza G, Westra WH, Forastiere AA. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol* 2010; 11: 781-9.
15. Mehanna H, Beech T, Nicholson T, El-Hariry I, McConkey C, Paleri V ve ark. Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal and nonoropharyngeal head and neck cancer-systematic review and meta-analysis of trends by time and region. *Head Neck* 2013; 35: 747-55.
16. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H ve ark. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:261-9.
17. Licitra L, Perrone F, Bossi P, Mariani L, Artusi R, Oggionni M ve ark. High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2006;24:5630-6.
18. Rieckmann T, Tribius S, Grob TJ, Meyer F, Busch CJ, Petersen C ve ark. HNSCC cell lines positive for HPV and p16 possess higher cellular radiosensitivity due to an impaired DSB repair capacity. *Radiother Oncol* 2013;107:242-6.
19. Arenz A, Ziemann F, Mayer C, Wittig A, Dreffke K, Preising S ve ark. Increased radiosensitivity of HPV-positive head and neck cancer cell lines due to cell cycle dysregulation and induction of apoptosis. *Strahlenther Onkol* 2014;190:839-46.
20. Ziemann F, Arenz A, Preising S, Wittekindt C, Klusmann JP, Engenhart-Cabillic R ve ark. Increased sensitivity of HPV-positive head and neck cancer cell lines to x-irradiation $\pm$ Cisplatin due to decreased expression of E6 and E7 oncoproteins and enhanced apoptosis. *Am J Cancer Res.* 2015 Feb 15;5(3):1017-31.
21. Nagel R, Martens-de Kemp SR, Buijze M, Jacobs G, Braakhuis BJ ve ark. Treatment response of HPV-positive and HPV-negative head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Oral Oncol.* 2013 Jun;49(6):560-6.

22. Lin CJ, Grandis JR, Carey TE, Gollin SM, Whiteside TL, Koch WM ve ark. Head and neck squamous cell carcinoma cell lines: established models and rationale for selection. *Head Neck* 2007;29(2):163-88.
23. Reid YA. Best practices for naming, receiving, and managing cells in culture. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2017;53(9):761-74
24. Olthof NC, Straetmans JM, Snoeck R, Ramaekers FC, Kremer B, Speel EJ. Nextgeneration treatment strategies for human papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma: where do we go? *Rev Med Virol* 2012;22(2):88-105.
25. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55:74-108.
26. National Comprehensive Cancer Network: Clinical Practice Guidelines in Oncology. Head and Neck Cancer v1; 2017. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
27. Decker J, Goldstein JC. Risk factors in head and neck cancer. *N Engl J Med* 1982;306:1151-5.
28. Leemans CR, Braakhuis BJ, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer* 2011;11(1):9-22.
29. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L ve ark. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:709-20.
30. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM ve ark. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007;356:1944-6.
31. Weinberger PM, Yu Z, Haffty BG, Kowalski D, Harigopal M, Brandsma J ve ark. Molecular classification identifies a subset of human papillomavirus – associated oropharyngeal cancers with favorable prognosis. *J Clin Oncol* 2006;24:736-47.
32. Baxi S, Fury M, Ganly I, Rao S, Pfister DG. Ten years of progress in head and neck cancers. *J Natl Compr Canc Netw.* 2012;10(7):806–810
33. Dayyani F, Etzel CJ, Liu M, Ho CH, Lippman SM, Tsao AS. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol* 2010;2:15.

34. O'Sullivan B, Huang SH, Siu LL, Waldron J, Zhao H, Perez-Ordóñez B ve ark. Deintensification candidate subgroups in human papillomavirus-related oropharyngeal cancer according to minimal risk of distant metastasis. *J Clin Oncol* 2013; 31: 543-50.
35. Chera BS, Amdur RJ, Tepper JE, Tan X, Weiss J, Grilley-Olson JE ve ark. Mature results of a prospective study of deintensified chemoradiotherapy for low-risk human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2018;124(11):2347-54.
36. Chen AM, Felix C, Wang PC, Hsu S, Basehart V, Garst J ve ark. Reduced-dose radiotherapy for human papilloma virus associated squamous-cell carcinoma of the oropharynx: a single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2017;18(6):803-11.
37. Fan CY. Epigenetic alterations in head and neck cancer: prevalence, clinical significance, and implications. *Curr Oncol Rep.* 2004;6:152-161.
38. Ringstrom E, Peters E, Hasegawa M, Posner M, Liu M ve ark. Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res.* 2002;8:3187-92.
39. Gilyoma JM, Rambau PF, Masalu N, Kayange NM, Chalya PL. Head and neck cancers: a clinico-pathological profile and management challenges in a resource-limited setting. *BMC Res Notes.* 2015;8:772.
40. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun M. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin.* 2006;56:106-30.
41. Lo Nigro C, Denaro N, Merlotti A, Merlano M. Head and neck cancer: improving outcomes with a multidisciplinary approach. *Cancer Manag Res.* 2017;9:363-71.
42. Aupérin A. Epidemiology of head and neck cancers: an update. *Curr Opin Oncol.* 2020;32(3):178-86.
43. Crosetti E, Caracciolo A, Molteni G, Sprio AE, Berta GN, Presutti L ve ark. Unravelling the risk factors that underlie laryngeal surgery in elderly. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2016 Jun;36(3):185-93.
44. Obid R., Redlich M., Tomeh C. The Treatment of Laryngeal Cancer. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.* 2019;31(1):1-11.

45. Chen JJ, Shah JL, Harris JP, Bui TT, Schaberg K, Kong CS ve ark. Clinical Outcomes in Elderly Patients Treated for Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2017 Jul 15;98(4):775-83.
46. Ettinger K.S., Ganry L., Fernandes R.P. Oral cavity cancer. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am*. 2019;31(1):13-29.
47. Al-Sarraf M., LeBlanc M., Giri P.G., Fu K.K., Cooper J., Vuong T. Chemoradiotherapy versus radiotherapy in patients with advanced nasopharyngeal cancer: phase III randomized Intergroup study 0099. *J. Clin. Oncol*. 1998;16(4):1310-17.
48. Takes RP, Strojan P, Silver CE, Bradley PJ, Haigentz M Jr, Wolf GT ve ark. International Head and Neck Scientific Group. Current trends in initial management of hypopharyngeal cancer: the declining use of open surgery. *Head Neck*. 2012 Feb;34(2):270-81.
49. Zhou AH, Chung SY, Patel VR, Unsal AA, Hsueh WD, Baredes S ve ark. Do geographic differences or socioeconomic disparities affect survival in sinonasal squamous cell carcinoma? *Int Forum Allergy Rhinol*. 2017 Dec;7(12):1195-1200.
50. Sanghvi S, Khan MN, Patel NR, Yeldandi S, Baredes S, Eloy JA. Epidemiology of sinonasal squamous cell carcinoma: a comprehensive analysis of 4994 patients. *Laryngoscope*. 2014 Jan;124(1):76-83.
51. Wheless SA, McKinney KA, Zanation AM. A prospective study of the clinical impact of a multidisciplinary head and neck tumor board. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010 Nov;143(5):650-4.
52. Colledge L. Treatment of cancer of pharynx and larynx. *Br. Med. J*. 1938;2(4046):167-168.
53. Gibson M.K., Forastiere A.A. Multidisciplinary approaches in the management of advanced head and neck tumors: state of the art. *Curr. Opin. Oncol*. 2004;16(3):22-4.
54. Hernández-Vila C. Current prognosis and quality of life following surgical treatment for head and neck squamous cell carcinoma. *Plastic Aesthetic Res*. 2016;3(6):203-10.
55. Liu J.C., Shah J.P. Surgical technique refinements in head and neck oncologic surgery. *J. Surg. Oncol*. 2010;101(8):661-8.

56. Wong R.J., Shah J.P. The role of the head and neck surgeon in contemporary multidisciplinary treatment programs for advanced head and neck cancer. *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2010;18(2):79-82.
57. Spiotto MT, Jefferson G, Wenig B, Markiewicz M, Weichselbaum RR, Koshy. Differences in Survival with Surgery and Postoperative Radiotherapy Compared With Definitive Chemoradiotherapy for Oral Cavity Cancer: A National Cancer Database Analysis. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2017 Jul 1;143(7):691-9.
58. Fujiwara RJT, Burtneess B, Husain ZA, Judson BL, Bhatia A, Sasaki CT ve ark. Treatment guidelines and patterns of care in oral cavity squamous cell carcinoma: Primary surgical resection vs. nonsurgical treatment. *Oral Oncol.* 2017 Aug;71:129-37.
59. de Bree R, Rinaldo A, Genden EM, Suarez C, Rodrigo JP, Fagan JJ. Modern reconstruction techniques for oral and pharyngeal defects after tumor resection. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2008;265(1):1-9.
60. Dogan E, Cetinayak HO, Sarioglu S, Erdag TK, Ikiz AO. Patterns of cervical lymph node metastases in oral tongue squamous cell carcinoma: implications for elective and therapeutic neck dissection. *J Laryngol Otol.* 2014 Mar;128(3):268-73.
61. D'Cruz AK, Vaish R, Kapre N, Dandekar M, Gupta S, Hawaldar R. Elective versus therapeutic neck dissection in node-negative oral cancer. *N. Engl. J. Med.* 2015;373(6):521-29.
62. Ferlito A, Corry J, Silver CE, Shaha AR, Thomas Robbins K, Rinaldo A. Planned neck dissection for patients with complete response to chemoradiotherapy: a concept approaching obsolescence. *Head Neck.* 2010;32(2):253-61.
63. Choong N, Vokes E. Expanding role of the medical oncologist in the management of head and neck cancer. *CA Cancer J. Clin.* 2008;58(1):32-53.
64. Argiris A, Haraf DJ, Kies MS, Vokes EE. Intensive concurrent chemoradiotherapy for head and neck cancer with 5-Fluorouracil- and hydroxyurea-based regimens: reversing a pattern of failure. *Oncologist.* 2003;8(4):350-60.

65. Iqbal MS, Chaw C, Kovarik J, Aslam S, Jackson A, Kelly J. Primary concurrent chemoradiation in head and neck cancers with weekly cisplatin chemotherapy: analysis of compliance, toxicity and survival. *Int. Arch. Otorhinolaryngol.* 2017;21(2):171-77.
66. Brizel DM, Vokes EE. Induction chemotherapy: to use or not to use? That is the question. *Semin. Radiat. Oncol.* 2009;19(1):11-6.
67. Haddad RI, Posner M, Hitt R, Cohen EEW, Schulten J, Lefebvre JL ve ark. Induction chemotherapy in locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: role, controversy, and future directions. *Ann. Oncol.: Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 2018;29(5):1130-40.
68. Adelstein DJ, Li Y, Adams GL, Wagner H Jr, Kish JA, Ensley JF. An intergroup phase III comparison of standard radiation therapy and two schedules of concurrent chemoradiotherapy in patients with unresectable squamous cell head and neck cancer. *J. Clin. Oncol.* 2003;21(1):92-8.
69. Bentzen SM, Trotti A. Evaluation of early and late toxicities in chemoradiation trials. *J. Clin. Oncol.* 2007;25(26):4096-4103.
70. O'Neill CB, Baxi SS, Atoria CL, O'Neill JP, Henman MC, Sherman EJ. Treatment-related toxicities in older adults with head and neck cancer: a population-based analysis. *Cancer.* 2015;121(12):2083-89.
71. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur. J. Pharmacol.* 2014;740:364-78.
72. Focaccetti C, Bruno A, Magnani E, Bartolini D, Principi E, Dallaglio K. Effects of 5-fluorouracil on morphology, cell cycle, proliferation, apoptosis, autophagy and ROS production in endothelial cells and cardiomyocytes. *PLoS ONE.* 2015;10(2) e0115686-e115686
73. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Cohen RB, Jones CU, Sur RK. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol.* 2010;11(1):21-8.
74. Ang KK, Berkey BA, Tu X, Zhang HZ, Katz R, Hammond EH. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res.* 2002;62(24):7350-6.

75. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, Remenar E, Kawecki A, Rottey S. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N. Engl. J. Med.* 2008;359(11):1116-27.
76. Price KAR, Cohen EE. Current treatment options for metastatic head and neck cancer. *Curr. Treat. Options Oncol.* 2012;13(1):35-46.
77. Blaszcak W, Barczak W, Wegner A, Golusinski W, Suchorska W.M. Clinical value of monoclonal antibodies and tyrosine kinase inhibitors in the treatment of head and neck squamous cell carcinoma. *Med. Oncol.* 2017;34(4) 60.
78. Dirix P, Nuyts S. Evidence-based organ-sparing radiotherapy in head and neck cancer. *Lancet Oncol.* 2010;11(1):85-91.
79. Wang X, Eisbruch A. IMRT for head and neck cancer: reducing xerostomia and dysphagia. *J Radiat Res.* 2016;57(S1):i69–i75.
80. Pytynia KB, Dahlstrom KR, Sturgis EM. Epidemiology of HPV-associated oropharyngeal cancer. *Oral Oncol.* 2014 May;50(5):380-6.
81. Carlos de Vicente J, Junquera Gutierrez L.M, Zapatero A.H, Fresno Forcelledo M.F, Hernandez-Vallejo G ve ark. Prognostic significance of p53 expression in oral squamous cell carcinoma without neck node metastases. *Head Neck.* 2004;26:22-30.
82. Reed AL, Califano J, Cairns P, Westra WH, Jones R.M, Koch W ve ark. High frequency of *P16* (CDKN2/MTS-1/INK4A) inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 1996;56:3630-33.
83. Satyanarayana A, Rudolph K.L. *P16* and ARF: Activation of teenage proteins in old age. *J. Clin. Investig.* 2004;114:1237-40.
84. Perrone F, Suardi S, Pastore E, Casieri P, Orsenigo M, Caramuta S ve ark. Molecular and cytogenetic subgroups of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2006;12:6643-51.
85. Romagosa C, Simonetti S, Lopez-Vicente L, Mazo A, Lleonart ME, Castellvi J ve ark. *P16*(Ink4a) overexpression in cancer: A tumor suppressor gene associated with senescence and high-grade tumors. *Oncogene.* 2011;30:2087-97.
86. Melkane AE, Mirghani H, Aupérin A, Saulnier P, Lacroix L, Vielh P, ve ark. HPV-related oropharyngeal squamous cell carcinomas: a comparison between three diagnostic approaches. *Am J Otolaryngol.* 2014 Jan-Feb;35(1):25-32.

87. Ragin CC, Taioli E. Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: review and meta-analysis. *Int JCancer* 2007;121:1813-20.
88. Klussmann JP, Mooren JJ, Lehnen M, Claessen SM, Stenner M, Huebbers CU ve ark. Genetic signatures of HPV-related and unrelated oropharyngeal carcinoma and their prognostic implications. *Clin Cancer Res.* 2009;15:1779-86.
89. Gillison ML, Trotti AM, Harris J, Eisbruch A, Harari PM, Adelstein DJ ve ark. Radiotherapy plus cetuximab or cisplatin in human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer (NRG Oncology RTOG 1016): a randomised, multicentre, non-inferiority trial. *Lancet* 2019;393(10166):40-50.
90. Katznel JA, Merchant M, Chaturvedi AK, Silverberg MJ. Contribution of demographic and behavioral factors on the changing incidence rates of oropharyngeal and oral cavity cancers in Northern California. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2015;24:978-84.
91. Götz C, Bischof C, Wolff KD, Kolk A. Detection of HPV infection in head and neck cancers: Promise and pitfalls in the last ten years: A meta-analysis. *Mol Clin Oncol.* 2019; 10(1): 17-28.
92. Lassen P. The role of Human papillomavirus in head and neck cancer and the impact on radiotherapy outcome. *Radiother Oncol.* 2010 Jun;95(3):371-80.
93. Özcan-Wahlbrink M, Schiffers C, Riemer AB. Enhanced Radiation Sensitivity of Human Papillomavirus-Driven Head and Neck Cancer: Focus on Immunological Aspects. *Front Immunol.* 2019;10:28-31.
94. Liu C, Mann D, Sinha UK, Kokot NC. The molecular mechanisms of increased radiosensitivity of HPV-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC): an extensive review. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2018;47(1):59.
95. Spanos WC, Nowicki P, Lee DW, Hoover A, Hostager B, Gupta A ve ark. Immuneresponse during therapy with cisplatin or radiation for human papillomavirusrelated head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;135(11):1137-46.
96. Williams R, Lee DW, Elzey BD, Anderson ME, Hostager BS, Lee JH. Preclinical models of HPV+ and HPV- HNSCC in mice: an immune clearance of HPV+ HNSCC. *Head Neck* 2009;31(7):911-8.

97. Pajares B, Trigo JM, Toledo MD, Álvarez M, González-Hermoso C, Rueda A ve ark. Differential outcome of concurrent radiotherapy plus epidermal growth factor receptor inhibitors versus radiotherapy plus cisplatin in patients with human papillomavirus-related head and neck cancer. *BMC Cancer* 2013; 13: 26.
98. Reimers N, Kasper HU, Weissenborn SJ, Stützer H, Preuss SF, Hoffmann TK, ve ark. Combined analysis of HPV-DNA, p16 and EGFR expression to predict prognosis in oropharyngeal cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1731-38.
99. Rieckmann T, Kriegs M. The failure of cetuximab-based de-intensified regimes for HPV-positive OPSCC: A radiobiologists perspective. *Clin Transl Radiat Oncol*. 2019 May 22;17:47-50.
100. Bonner JA, Giralt J, Harari PM, Baselga J, Spencer S, Bell D ve ark. Association of human papillomavirus and p16 status with mucositis and dysphagia for head and neck cancer patients treated with radiotherapy with or without cetuximab: Assessment from a phase 3 registration trial. *Eur J Cancer* 2016; 64:1-11.
101. Kriegs M. Radiosensitization of HNSCC cells by EGFR inhibition depends on the induction of cell cycle arrests. *Oncotarget*. 2016;7(29):45122-33.
102. Mehanna H, Robinson M, Hartley A, Kong A, Foran B, Fulton-Lieuw T, ve ark. Radiotherapy plus cisplatin or cetuximab in low-risk human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer (De-ESCALaTE HPV): an open-label randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 2019Jan5;393(10166):51-60.

EKLER

EK-1: Etik Kurul Onayı

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2015/04-47	Tarih: 12.02.2015
	Prof.Dr.Ahmet Ömer İKİZ'in sorumlusu olduğu "Baş Boyun Kanserlerinde Tedavi Stratejilerinin HPV ile İlişkisinin İn Vitro Araştırılması" isimli klinik araştırmaya ait 10.02.2015 tarihli araştırma dilekçesine ilişkin olarak: -Çalışma adının "Baş Boyun Kanseri ve Tedavi Stratejilerinin HPV ile İlişkisinin İn Vitro Araştırılması" olarak değiştirilmesi ile ilgili belgeler incelenerek bilgi edinilmiş ve uygun bulunmuştur.	
ETİK KURUL BİLGİLERİ		
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyî Klinik Uygulamaları Kılavuzu	
ETİK KURUL ÜYELERİ		

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsi yet	Araştırma ile ilişkili mi?	
Prof.Dr.Banu ÖNVURAL (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒
Prof.Dr.Ş Reyhan UÇKU (Başkan Yardımcısı)	Halk Sağlığı	DEU Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.	Kadın	E ☐	H ☒
Prof.Dr.Nejat SARIOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒
Prof.Dr.Ece BÖBER	Pediyatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒
Prof.Dr.Vesile ÖZTÜRK	Nöroloji	DEU Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒
Prof.Dr.Ahmet Turan IŞIK	Geriatri	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒
Prof.Dr.Mukaddes GÜNELİ	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒
Prof.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒
Prof.Dr.Nihal GELECEK	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐	H ☒
Doç.Dr.Müge KIRAY	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒
Doç.Dr.Şeyda Seren INTEPELER	Hemşirelik Yönetimi	DEU Hemşirelik Fakültesi Hemşirelik Yönetimi A.D	Kadın	E ☐	H ☒
Doç.Dr.Sefa KIZILDAĞ	Tıbbi Biyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D	Erkek	E ☐	H ☒
Doç.Dr.Sevda ÖZKARDEŞLER	Anesteziyoloji	DEU Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.	Kadın	E ☐	H ☒
Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN	Hukuk	DEU Tıp Tarihi ve Etik A.D	Erkek	E ☐	H ☒
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐	H ☒

EK-2. Olgu Kayıt Formu

OLGU KAYIT FORMU

Hasta Adı-Soyadı:

Cinsiyeti:

Yaşı:

Primer tümör lokalizasyonu:

Primer tümör patolojisi:

Tümör evresi:

Uygulanan tedavi:

HPV durumu:

HPV 16:

HPV 18:

Canlılık Testleri: %

Kontrol

Sisplatin:

Cetuximab:

Radyoterapi:

Kombinasyonlar:

EK-3. Bilgilendirilmiş Onam Formu

“BAŞ BOYUN KANSERLERİ VE TEDAVİ STRATEJİLERİNİN HPV İLE İLİŞKİSİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI” ÇALIŞMASI BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın

Baş boyun bölgesi kanserleri dünyada en sık görülen kanserler arasında yer almaktadır. Baş boyun kanserlerinde en önemli iki risk faktörü sigara ve alkol tüketimidir. Bununla birlikte, son yıllarda Human Papilloma Virüs (HPV) adı verilen virüsün özellikle orofarenks olarak adlandırılan ağız içi ve yutak bölgesi kanserlerinin oluşumunda etkisi olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda bu virüsün tespit edildiği kanserlerin kemoterapi (ilaç tedavisi) ve radyoterapiye (ışın tedavisine) daha iyi yanıt verdiği ve hastalık seyrinin bu virüsü taşımayan kanserlere kıyasla daha iyi olduğu gösterilmiştir. Buna karşın halihazırda bu virüsün tespit edildiği kanserlerde kullanılan kabul edilmiş, standart bir tedavi bulunmamaktadır.

Bu çalışmada öncelikle hastaların tümörlü dokularından örnekler alındıktan sonra, tümörlü dokuların virüsü taşıyıp taşımadığına bakılacaktır. Daha sonra virüsü taşıyan ve taşımayan tümör dokuları özel laboratuarlarda, kanser hücre kültürlerinde üretildikten sonra hücre kültürlerine ilaç tedavisi, ışın tedavisi ya da her ikisi birden uygulanacak ve kanser hücrelerinin bu tedavilere verdikleri cevap incelenecektir. Çalışma sonucunda virüsü taşıyan ve taşımayan hastaların tedavisinde en etkili yöntemin tespit edilmesi amaçlanmaktadır.

Çalışma boyunca uygulanacak tüm girişimler hastalığınızın gerektirdiği biçimde gerçekleştirilecektir ve yapılmakta olan çalışma hastalığınızın tedavi planlamasını etkilemeyecektir. Size uygulanacak olan tedavi yöntemi sizin ve hastalığınızın özellikleri göz önüne alınarak yapılacak, her hastaya yapılan standart işlemler yapılacak ve operasyonunuz da hastalığınızın gerektirdiği standartta uygulanacaktır. Bu çalışmada ameliyatınızda elde edilen ve patolojik incelemeye gönderilecek doku örneklerinden bir kısmı çalışma için kullanılacaktır.

Çalışma süresince, değerlendirme aşamasında ve bilimsel yayın aşamasında kimlik bilgileriniz mutlaka gizli tutulacaktır.

Tüm yukarıda yazılanları okudum ve bana ayrıca ayrıntılı olarak anlatıldı. İstedğim aşamada çalışmadan çıkabileceğim iletili. Araştırma için gerekli harcamaların tarafıma veya bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kurumuna yüklenmeyeceği konusunda bilgilendirildim. Bu koşullarda söz konusu çalışmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün adı ve soyadı, imzası, adresi

Açıklamaları yapan araştırmacının adı ve soyadı, imzası

Dr. Ersoy Doğan

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden görevlinin adı ve soyadı, imzası, görevi

EK-4.1 Tez ile İlişkili Makale 1

Patterns of cervical lymph node metastases in oral tongue squamous cell carcinoma: implications for elective and therapeutic neck dissection

By: Dogan, E (Dogan, E.) ^[1]; Cetinayak, HO (Cetinayak, H. O.) ^[2]; Sarioglu, S (Sarioglu, S.) ^[3]; Erdag, TK (Erdag, T. K.) ^[1]; Ikiz, AO (Ikiz, A. O.) ^[1]

[View Web of Science ResearcherID and ORCID](#) (provided by Clarivate)

JOURNAL OF LARYNGOLOGY AND OTOLGY

Volume: 128 Issue: 3 Page: 268-273

DOI: 10.1017/S0022215114000267

Published: MAR 2014

Indexed: 2014-06-18

Document Type: Article

Abstract

Objectives: To determine the patterns of lymph node metastases in oral tongue carcinomas, and examine the implications for elective and therapeutic neck dissection.

Method: The study entailed a retrospective analysis of 67 patients with previously untreated oral tongue squamous cell carcinoma who had undergone simultaneous glossectomy and neck dissection.

Results: Of the 40 clinically node-negative patients, 7 patients had metastatic lymph nodes on pathological examination. No occult metastasis was found at level IV. Of the 27 clinically node-positive patients, the incidence rate of level IV metastasis was 11.1 per cent (3 out of 27 patients). No 'skip metastases' were found at level IV. Level IV metastases were significantly related to clinically staged nodes categorised as over 2a ($p = 0.03$) and metastasis to level III ($p = 0.01$).

Conclusion: Routine inclusion of level IV in elective neck dissection is not necessary for clinically node-negative patients with oral tongue squamous cell carcinoma. Furthermore, extended supraomohyoid neck dissection with adjuvant radiotherapy can be sufficient in the treatment of selected patients with clinically node-positive necks.

Keywords

Author Keywords: Tongue; Squamous Cell Carcinoma; Neck Dissection; Neoplasm Metastasis; Pathology

Keywords Plus: SUPRAOMOHYOID NECK; SKIP METASTASES; SELECTIVE NECK; LEVEL-IV; CANCER; MANAGEMENT; T1

Citation Network

In Web of Science Core Collection

27

Citations

[Create citation alert](#)

30

Times Cited in All
Databases

23

Cited References

[View Related Records](#)

[+ See more times cited](#)

Citing items by classification

New

Breakdown of how this article has been mentioned, based on available citation context data and snippets from 5 citing item(s).

Background	3
Basis	0
Support	1
Differ	0

17 ?

JOURNAL OF LARYNGOLOGY AND OTOLGY

Publisher: CAMBRIDGE UNIV PRESS, EDINBURGH BLDG, SHAFTESBURY RD, CAMBRIDGE, ENGLAND, CB2 8RU

ISSN / eISSN: 0022-2151 / 1748-5460

Web of Science Core Collection: Science Citation Index Expanded

Additional Web of Science Indexes: Biological Abstracts | BIOSIS Previews | Current Contents Clinical Medicine | Essential Science Indicators

[Share This Journal](#)

[View profile page](#)

* Requires free login.

EK-4.2 Tez ile İlişkili Makale 2

Elective superior mediastinal dissection for laryngeal carcinoma involving subglottis

By: Dogan, E (Dogan, Ersoy) ^[1]; Aslier, NGY (Aslier, Nesibe Gul Yuksel) ^[1]; Cetinayak, HO (Cetinayak, Hasan Oguz) ^[2]; Erdag, TK (Erdag, Taner Kemal) ^[1]; Sarioglu, S (Sarioglu, Sulen) ^[3]; Ikiz, AO (Ikiz, Ahmet Omer) ^[1]

[View Web of Science ResearcherID and ORCID](#) (provided by Clarivate)

ACTA OTO-LARYNGOLOGICA

Volume: 134 Issue: 12 Page: 1275-1280

DOI: 10.3109/00016489.2014.952335

Published: DEC 2014

Indexed: 2014-12-17

Document Type: Article

Abstract

Conclusion: Despite the low incidence of superior mediastinal metastasis (SMM) we recommend elective superior mediastinal dissection (ESMD) and close follow-up for all patients with laryngeal carcinoma involving the subglottis, because higher peristomal recurrence (PR) rates and lower survival rates were observed in the presence of SMM numerically even though statistical support was lacking. Background: This study was undertaken to identify the incidence of SMM and to evaluate the need for ESMD in laryngeal tumors involving the subglottis. Methods: Medical records of patients who had undergone total laryngectomy for laryngeal carcinoma were reviewed retrospectively and 68 patients (45 with ESMD and 23 without ESMD) who had pathologically proven subglottic involvement were included in the study. Results: SMM was found in 3 of 45 (6.6%) patients who underwent ESMD. The PR rate was higher in patients with SMM (66.7%) than in patients without SMM (9.5%) and the presence of SMM was significantly related to PR ($p = 0.043$) in univariate analysis. However, this relationship was not preserved in multivariate analysis. The 3- and 5-year survival rates of patients with SMM were lower (both 66.7%) than patients without SMM (83.3% and 76.2%, respectively), but decreased survival rates did not differ statistically from the survival rates of 42 patients without SMM.

Keywords

Author Keywords: Metastasis; peristomal recurrence; subglottic involvement; superior mediastinal metastasis; laryngectomy

Keywords Plus: SQUAMOUS-CELL CARCINOMA; LYMPH-NODE DISSECTION; CERVICAL ESOPHAGUS; NECK DISSECTION; CANCER; HYPOPHARYNX; CLASSIFICATION; TERMINOLOGY; HEAD

Citation Network

In Web of Science Core Collection

1

Citation

Create citation alert

1

Times Cited in All Databases

17

Cited References

[View Related Records](#)

+ See more times cited

You may also like...

Babu, S; Varghese, BT; Sebastian, P; et al.
[Evaluation of stapled closure following laryngectomy for carcinoma larynx in an Indian tertiary cancer centre](#)
INDIAN JOURNAL OF CANCER

Motta, G; Esposito, E; Motta, S; et al.
[T1-T2-T3 glottic tumors: Fifteen years experience with CO2 laser](#)
ACTA OTO-LARYNGOLOGICA

Al-Khatib, T; Mendelson, AA; Hier, M; et al.



ACTA OTO-LARYNGOLOGICA

Publisher: TAYLOR & FRANCIS LTD , 2-4 PARK SQUARE, MILTON PARK, ABINGDON, England, OXON, OX14 4RN

ISSN / eISSN: 0001-6489 / 1651-2251

Web of Science Core Collection: Science Citation Index Expanded

Additional Web of Science Indexes: Current Contents Clinical Medicine | Current Contents Life Sciences | Essential Science Indicators

EK-4.3 Tez ile İlişkili Makale 3 (Yayına Kabul Edildi)

Comparison of the Prognoses of Laryngeal Preneoplastic Lesions based on Ljubljana and World Health Organization Classifications

Abstract

Objective

To evaluate the prognosis of patients with laryngeal preneoplastic lesions based on Ljubljana classification (LC, Revised LC) and World Health Organization Dysplasia System (WHO-DS) 2005 and 2017

Materials and Methods

Patients diagnosed with a laryngeal preneoplastic lesion in our clinic between 2005 and 2018 were included in the study. Biopsy preparations of patients were re-examined by the pathology unit and classified based on LC, Revised LC, WHO-DS 2005, and WHO-DS 2017. Patients with carcinoma were identified during follow-up. The prognosis of preneoplastic lesions was statistically analyzed based on carcinoma development and duration using these four different classifications.

Results

Carcinoma developed in 16 of 142 patients after repeated biopsy. The risk for carcinoma development was found to be higher in atypical hyperplasia than in squamous cell hyperplasia and basal-parabasal cell hyperplasia according to LC (p: 0.027 and 0.035), indicating no statistically significant difference; in the high-grade squamous intraepithelial lesion (SIL) than in low-grade SIL according to revised LC (p: 0.04); in atypical hyperplasia than in other groups according to WHO-DS 2005; and in high-grade dysplasia than in low-grade dysplasia according to WHO-DS 2017 (p: 0.013).

The Cox regression analysis demonstrated that the risk of developing carcinoma statistically increased with age in all classifications, independent of the severity of dysplasia. Gender does not affect carcinoma development.

TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES

Publisher: SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL RESEARCH COUNCIL TURKEY, ATATURK BULVARI NO 221, KAVAKLIDERE, ANKARA, Turkey, TR-06100

ISSN / eISSN: 1300-0144 / 1303-6165

Web of Science Core Collection: Science Citation Index Expanded

Additional Web of Science Indexes: Essential Science Indicators

EK-4.4 Tez ile İlişkili Makale 4 (Dergiye Gönderim Belgesi)

European Archives of Oto-Rhino-Laryngology					
Home	Main Menu	Submit a Manuscript	About	Help	
← Submissions Being Processed for Author					
Page: 1 of 1 (1 total submissions) Results per page: 10					
Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
View Submission View Reference Checking Results	EAOR-D-23-00004	In Vitro Evaluation of Treatment Responses in Primary Cell Cultures of HPV Positive and HPV Negative Head and Neck Squamous Cell Carcinoma	02 Jan 2023	02 Jan 2023	Submitted to Journal
Page: 1 of 1 (1 total submissions) Results per page: 10					

European Archives of Oto-Rhino-Laryngology

In Vitro Evaluation of Treatment Responses in Primary Cell Cultures of HPV Positive and HPV Negative Head and Neck Squamous Cell Carcinoma

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	EAOR-D-23-00004
Full Title:	In Vitro Evaluation of Treatment Responses in Primary Cell Cultures of HPV Positive and HPV Negative Head and Neck Squamous Cell Carcinoma
Article Type:	Head & Neck (Original Article)
Keywords:	Head and neck cancer, HPV, cell culture, radiotherapy, chemotherapy
Corresponding Author:	ERSOY DOGAN, M.D. Dokuz Eylul University Medical School, Izmir, Turkey Izmir, TURKEY
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Dokuz Eylul University Medical School, Izmir, Turkey
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	ERSOY DOGAN, M.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	ERSOY DOGAN, M.D. Pinar Ercetin Barbaros Aydın Ahmet Omer İkiz Zekiye Altun Ilhan Oztop Fadime Akman Safiye Aktas
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	
Abstract:	Purpose: To compare the treatment responses of primary cell cultures of HPV positive and HPV negative head and neck squamous cell carcinoma to radiotherapy and chemotherapy and to determine the optimal treatment modality depending on the HPV status of the tumor. Method: Tumor resection samples were obtained from 34 patients with head and neck cancer. Single cell suspensions were acquired from tumor samples and cultivated in RPMI 1640 medium supplemented with 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin, 1% L-glutamine and 1% fungisomel. Eight subgroups were planned for each patient's primary cell culture as control, cisplatin, cetuximab, radiotherapy, combination of cisplatin +cetuximab and their 15 Gy radiotherapy combinations. Cell proliferation (BrdU), DNA damage (H2AX) and apoptosis (PARP) levels were analyzed after 24 hours by flow cytometry. Expression of HPV 16 and 18 were also detected by Real time PCR and immunohistochemistry. Data was statistically analyzed considering clinical characteristics of patients. Results: There were 24 male and 10 female patients with a mean age of 58.44 (23-80 years). Tumor localization was oral cavity in 10 patients, oropharynx in four patients, larynx in 14 patients and hypopharynx in six patients. HPV 16 was positive in five cases (14.7%). In vitro evaluation of cytotoxic, apoptotic and DNA damage among HPV 16 positive and negative cases did not show statistically significant difference in cisplatin, cetuximab, combination of cisplatin and cetuximab and their 15 Gy

EK-5: Tez ile İlişkili Sözlü Bildiri

115 1st International Cell Death Research Congress-Turkey

PP-47

IN VITRO EVALUATION OF HPV STATUS AND ITS RELATION WITH TREATMENT STRATEGIES IN HEAD AND NECK CANCERS

Ersoy Doğan², Pınar Erçetin¹, Barbaros Aydın³, Ahmet Ömer İkiz², Zekiye Altun¹, İlhan Öztö⁴, Fadime Akman³, Safiye Aktaş¹

¹ | Dokuz Eylül University School of Medicine Department of Basic Oncology

² | Dokuz Eylül University School of Medicine Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery

³ | Dokuz Eylül University School of Medicine Department of Radiation Oncology

⁴ | Dokuz Eylül University School of Medicine Department of Clinical Oncology

Purpose: To compare the treatment responses of primary cell culture HPV positive and HPV negative head and neck cancers to radiotherapy and chemotherapy and to determine the optimal treatment modality depending on the HPV status of the tumor.

Method: Tumor resection samples were obtained from 34 patients with head and neck cancer. Single cell suspensions were acquired from tumor samples and cultivated in RPMI 1640 medium supplemented with 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin, 1% L-glutamine and 1% fungisomel. 8 subgroups were planned for each patient's primary cell culture as control, cisplatin, cetuximab, combination of cisplatin +cetuximab and their 15 Gy radiotherapy combinations. Cell proliferation (BrdU), DNA damage (H2AX) and apoptosis (PARP) levels were analyzed after 24 hours by flow cytometry. Expression of HPV 16 and 18 was also detected by Real time PCR. Data was statistically analyzed considering clinical outcomes of patients.

Results: There were 24 male and 10 female patients with a mean age of 58.44 (23-80). Tumor localisation was oral cavity in 10 patients, oropharynx in 4 patients, larynx in 14 patients and hypopharynx in six patients. HPV 16 was positive in 5 cases (14.7%). In vitro evaluation of cytotoxic, apoptotic and DNA damage among HPV16 positive and negative cases did not show statistically significant difference in cisplatin, cetuximab, combination of cisplatin and cetuximab and their 15 Gy radiotherapy combinations ($p>0.05$). There was statistically significant difference for cell proliferation index, apoptosis and DNA damaged cell percentages among HPV 16 positive and negative cases in 15 Gy radiotherapy alone group. Radiotherapy alone caused more cell death, apoptosis and DNA damage in tumor cells of HPV16 negative group.

Conclusion: In this in vitro study, chemotherapy and radiotherapy sensitivity of primary cancer cell culture of head and neck cancers were analysed and compared among HPV positive and negative cases by proliferation (BrdU), DNA damage (H2AX) and apoptosis (PARP) methods. Our results indicate that cisplatin and cetuximab did not have an additional effect in both groups and radiotherapy was found to be more effective in HPV negative cases.

Keywords: Head and neck cancer, HPV, treatment strategies

4-7 May 2016



EK-6 ÖZGEÇMİŞ



ERSOY DOĞAN

Kişisel Bilgiler

İletişim Bilgileri

İletişim Adresi

Telefon

E-posta

İnternet Sayfası

Öğrenim Bilgileri

07 Temmuz 2004 - 07 Temmuz 2008 (4 yıl 1 ay)
DİĞER (Dokuz Eylül Üniversitesi), TÜRKİYE
DİĞER, DİĞER
Eğitim Alt Alanı: KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI

31 Ekim 1998 - 31 Ekim 2002 (4 yıl 1 ay)
DİĞER (Ankara Üniversitesi), TÜRKİYE
DİĞER, DİĞER
Diploma Numarası: 13581

Deneyim / İşyeri Bilgileri

01 Ocak 2016 - Şu Anda (7 yıl) (Tam Zamanlı)
DOÇ. DR., DOÇ. DR., DİĞER (Dokuz Eylül Üniversitesi)

01 Ocak 2003 - 01 Ocak 2016 (13 yıl 1 ay) (Tam Zamanlı)
DOÇ. DR., DOÇ. DR., DİĞER (Dokuz Eylül Üniversitesi)

01 Ocak 2003 - 01 Ocak 2016 (13 yıl 1 ay) (Tam Zamanlı)
DOKTORALİ ÖĞRETİM ÜYESİ, DOÇ. DR., DİĞER (Dokuz Eylül Üniversitesi)

01 Ocak 2003 - 01 Ocak 2015 (12 yıl 1 ay) (Tam Zamanlı)
DOKTORALİ ÖĞRETİM ÜYESİ, YRD. DOÇ. DR., DİĞER (Dokuz Eylül Üniversitesi)

Yabancı Dil Bilgileri

İNGİLİZCE (Okuma: İyi, Yazma: İyi, Konuşma: İyi)

Ar-Ge Yetkinlik

M. ASLIER, E. DOĞAN, A. Ö. İKİZ, S. SARIOĞLU, F. AKMAN & E. A. GÜNERİ, Evaluation of Lateral Temporal Bone Resection in Locally Advanced Tumours of the Parotid Gland, *Indian Journal of Otolaryngology and Head Neck Surgery*, 2019, 2231-3796, 71, 52, 1402-1407.

H. O. ÇETİNYAK, E. DOĞAN, A. KURU, N. DAĞDELEN, B. AYDIN, C. UYAY, İ. ER & F. AKMAN, Outcome of Early-Stage Glottic Laryngeal Carcinoma Patients Treated with Radical Radiotherapy Using Different Techniques, *JOURNAL OF ONCOLOGY*, 2019, 1687-8450, 2019, 1-9.

A. ÇAKIR ÇETİN, E. DOĞAN, H. ÖZAY, Ö. KÜMÜŞ, T. K. ERDAĞ, S. SARIOĞLU & A. Ö. İKİZ, Submandibular gland invasion and feasibility of gland-sparing neck dissection in oral cavity carcinoma, *The Journal of Laryngology Otology*, 2018, 0022-2151, 132, 5, 446-451.

B. KASAP DEMİR, D. ÖZMEN, G. KIRKIM, E. DOĞAN, A. SOYLU, M. B. ŞERBETÇİOĞLU & S. KAVUKÇU, Cyclosporine causes no hearing defect in paediatric patients with nephrotic syndrome, *INTERNATIONAL JOURNAL OF AUDIOLOGY*, 2017, 1499-2027, 56, 9, 701-705.

S. SARIOĞLU, G. AKTÜRK, N. G. Y. ASLIER, D. B. YILMAZ, T. O. BAŞOKÇU & E. DOĞAN, Atypical Carcinoid Tumor and Chondroid and Glandular Hamartoma of the Arythenoid Region, *Journal of Craniofacial Surgery*, 2016, 0000-0000.

A. MUSTAFA, E. DOĞAN, M. C. ECEVİT, T. K. ERDAĞ & A. Ö. İKİZ, The treatment of pharyngoesophageal perforation following anterior cervical spine intervention, *AURIS NASUS LARYNX*, 2016, 0000-0000, 359-365.

S. SARIOĞLU, A. NİLHAN, S. İPLİKÇİ, B. AYDIN, E. DOĞAN, Ş. M. ÜNLÜ, H. ELLİDOKUZ, E. ADA, F. AKMAN & A. Ö. İKİZ, Tumor deposits in head and neck carcinomas, *HEAD AND NECK-JOURNAL FOR THE SCIENCES AND SPECIALTIES OF THE HEAD AND NECK*, 2016, 1043-3074, 256-60.

E. DOĞAN, N. G. YÜKSEL ASLIER, N. G. YÜKSEL ASLIER, E. DOĞAN, E. DOĞAN, S. SARIOĞLU, S. SARIOĞLU, A. Ö. İKİZ & A. Ö. İKİZ, A case of laryngeal leiomyosarcoma with co-existent tuberculous mediastinal lymphadenopathy, *Kulak Burun Boğaz İhtisas Dergisi*, 2015, 1300-7475, 25, 2, 113-117.

E. CECEN, E. CECEN, P. ERCETİN, P. ERCETİN, G. KIRKİM, G. KIRKİM, A. PAMUKOĞLU, A. PAMUKOĞLU, S. AKTAS, S. AKTAS, Z. ALTUN, Z. ALTUN, E. DOĞAN, E. DOĞAN, N. OLGUN & N. OLGUN, Apoptotic Effects of Sanguinarine on the Organ of Corti 1 Cells: Comparison with Cisplatin, *JOURNAL OF INTERNATIONAL ADVANCED OTOLOGY*, 2015, 1308-7649, 11, 1, 19-22.

M. C. ECEVİT, M. C. ECEVİT, T. K. ERDAG, T. K. ERDAG, E. DOĞAN, E. DOĞAN, S. SUTAY & S. SUTAY, Effect of steroids for nasal polyposis surgery: A placebo-controlled, randomized, double-blind study, *LARYNGOSCOPE*, 2015, 0023-852X, 125, 9, 2041-2045.

M. C. ECEVİT, M. C. ECEVİT, G. ZEYBEK, G. ZEYBEK, A. KIRAY, A. KIRAY, S. CİRPAN, S. CİRPAN, I. ERGUR, I. ERGUR, E. DOĞAN, E. DOĞAN, S. SUTAY & S. SUTAY, Sphenovomerine Suture: A Useful Landmark for Locating Sphenoid Sinus Ostium, *JOURNAL OF CRANIOFACIAL SURGERY*, 2015, 1049-2275, 26, 1, 264-267.

B. K. DEMİR, B. K. DEMİR, D. OZMEN, D. OZMEN, G. KIRKİM, G. KIRKİM, E. DOĞAN, E. DOĞAN, A. SOYLU, A. SOYLU, B. SERBETÇİOĞLU, B. SERBETÇİOĞLU, S. KAVUKCU & S. KAVUKCU, THE EVALUATION OF HEARING IN PEDIATRIC PATIENTS WITH NEPHROTIC SYNDROME RECEIVING CYCLOSPORINE, *PEDIATRIC NEPHROLOGY*, 2015, 0931-041X, 30, 9, 1696-1697.

E. DOĞAN, E. DOĞAN, T. K. ERDAĞ, T. K. ERDAĞ, A. O. İKİZ, A. O. İKİZ, A. GÜNERİ, A. GÜNERİ, S. SARIOĞLU & S. SARIOĞLU, Intramasseteric Solitary Fibrous Tumor, JOURNAL OF CRANIOFACIAL SURGERY, 2013, 1049-2275, 24, 2, E157-E159.

E. DOĞAN, M. DURMUŞOĞLU, M. DURMUŞOĞLU, E. DOĞAN, E. DOĞAN, M. C. ECEVİT, M. C. ECEVİT, T. K. ERDAĞ & T. K. ERDAĞ, Osteopetrozise ikincil gelişen mandibula osteomyeliti: olgu sunumu, Türk Otolarengoloji Arşivi, 2013, 0304-4793, 51, 3, 98-100.

E. DOĞAN, E. DOĞAN, E. DOĞAN, M. C. D. M. ECEVİT, M. C. D. M. ECEVİT, S. SÜTAY & S. SÜTAY, Revizyon septorinoplastide aurikula ve kosta kırığının kullanımı, Türk Rinoloji Dergisi, 2013, 1305-4732, 2, 3, 95-101.

E. DOĞAN, T. K. ERDAĞ, T. K. ERDAĞ, E. DOĞAN, E. DOĞAN, A. Ö. İKİZ & A. Ö. İKİZ, Rinoloji yayınlarımızın science citation index kapsamında dünyadaki yeri, KBB-Forum, 2013, 1303-3263, 12, 3, 62-69.

E. DOĞAN, E. DOĞAN, E. DOĞAN, M. DURMUŞOĞLU, M. DURMUŞOĞLU, T. K. ERDAĞ & T. K. ERDAĞ, Türk ulusal rinoloji kongrelerinde sunulan bildirilerin yayınlanma oranları, Kulak Burun Boğaz İhtisas Dergisi, 2013, 1300-7475, 23, 5, 282-287.

E. DOĞAN, E. A. GÜNERİ, E. A. GÜNERİ, E. DOĞAN & E. DOĞAN, Vestibüler rehabilitasyonda yeni yaklaşımlar ve vestibüler implantasyon, Türkiye Klinikleri J E.N.T.-Special Topics , 2013, 1308-1047, 6, 3, 101-106.

E. DOĞAN, E. DOĞAN, E. DOĞAN, S. SARIOĞLU, S. SARIOĞLU, E. ADA, E. ADA, H. O. ÇETİNAYAK, H. O. ÇETİNAYAK, T. K. ERDAĞ, T. K. ERDAĞ, M. C. ECEVİT, M. C. ECEVİT, E. A. GÜNERİ, E. A. GÜNERİ, A. Ö. İKİZ & A. Ö. İKİZ, Comparison of clinical and pathological staging in oral cavity cancers, Kulak Burun Boğaz İhtisas Dergisi, 2012, 1300-7475, 22, 6, 305-310.

E. DOĞAN, E. DOĞAN, N. G. YUKSEL, N. G. YUKSEL, M. C. ECEVİT, M. C. ECEVİT, A. YAMAN, A. YAMAN, A. T. BERK, A. T. BERK, S. SUTAY & S. SUTAY, Microdebrider assisted endoscopic marsupialization of congenital intranasal nasolacrimal duct cysts, INTERNATIONAL JOURNAL OF PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY, 2012, 0165-5876, 76, 4, 488-491.

E. DOĞAN, E. DOĞAN, E. DOĞAN, N. G. YÜKSEL ASLIER, N. G. YÜKSEL ASLIER, F. AKMAN, F. AKMAN, S. SARIOĞLU, S. SARIOĞLU, A. Ö. İKİZ & A. Ö. İKİZ, Total larenjektomi sonrası peristomal nüks, KBB-Forum, 2012, 1303-3263, 12, 2, 19-25.

E. DOĞAN, E. DOĞAN, E. DOĞAN, T. K. ERDAĞ, T. K. ERDAĞ, S. SARIOĞLU, S. SARIOĞLU, GÜNERİ, GÜNERİ, E. ALPİN & E. ALPİN, Metastatic adenocarcinomas of the temporal bone: a report of three cases, Kulak Burun Boğaz İhtisas Dergisi, 2011, 1300-7475, 21, 5, 285-289.

E. DOĞAN, E. DOĞAN, T. K. ERDAĞ, T. K. ERDAĞ, S. SARIOĞLU, S. SARIOĞLU, M. C. ECEVİT, M. C. ECEVİT, A. O. İKİZ, A. O. İKİZ, E. A. GÜNERİ & E. A. GÜNERİ, The preventive effect of N-nitro L-arginine methyl ester in experimentally induced myringosclerosis, INTERNATIONAL JOURNAL OF PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY, 2011, 0165-5876, 75, 8, 1035-1039.

S. AKAR, S. AKAR, E. DOĞAN, E. DOĞAN, Y. GOKTAY, Y. GOKTAY, G. CAN, G. CAN, N. AKKOC, N. AKKOC, S. SARIOĞLU, S. SARIOĞLU, F. ONEN & F. ONEN, Nasal Septal Perforation in a Patient with Takayasu's Arteritis; a Rare Association, INTERNAL MEDICINE, 2009, 0918-2918, 48, 17, 1551-1554.

E. DOĞAN, M. C. ECEVİT, M. C. ECEVİT, N. ÖZALP DEVSEREN, N. ÖZALP DEVSEREN, T. K. ERDAĞ, T. K. ERDAĞ, E. DOĞAN, E. DOĞAN, A. Ö. İKİZ, A. Ö. İKİZ, GÜNERİ, GÜNERİ, ATAMAN & ATAMAN, Tiroglossal duktus kisti revizyon

cerrahisinde Sistrunk işleminin yeri, Kulak Burun Boğaz Klinikleri, 2007, -, 9, 1-3, 14-18.

Bildiriler

E. DOĞAN, SEPTORİNOPLASTİDE KONKAL VE KOSTAL KIKIRDAK GREFT KULLANIMI: KLİNİK DENEYİMİMİZ, Sözlü Sunum, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2014, 27 Ekim 2014.

E. DOĞAN, PEDIATRIC NASOPHARYNGEAL CARCINOMA: DOKUZ EYLUL HEAD AND NECK TUMOUR GROUP EXPERİENCE, Poster Sunumu, 12TH INTERNATIONAL CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY, 31 Mayıs 2014, 31 Mayıs 2014.

E. DOĞAN, THE CONTRİBÜTION OF EUROPEAN COUNTRIES TO THE PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY LİTERATURE EVALUATED İN SCI JOURNALS, Sözlü Sunum, 12TH INTERNATIONAL CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY, 31 Mayıs 2014, 31 Mayıs 2014.

E. DOĞAN, BİBLİOMETRİC ANALYSIS OF EUROPEAN ARCHİVES OF OTO-RHİNO-LARYNGOLOGY JOURNAL BETWEEN 1990 AND 2013 AT 5-YEAR İNTERVALS, Sözlü Sunum, OTOLOGY JUUBİLEE: 150 YEARS OF THE ARCHİVES FOR OTOLOGY, 07 Mayıs 2014, 07 Mayıs 2014.

E. DOĞAN, RADİKAL RADYOTERAPİ UYGULANMIŞ HİPOFARENKS KANSERLİ HASTALARDA TEDAVİ YÖNTEMİNİN SONUÇLARA ETKİSİ, Poster Sunumu, 11.ULUSAL RADYASYON ONKOLOJİSİ KONGRESİ, 23 Nisan 2014, 23 Nisan 2014.

E. DOĞAN, T2N0 GLOTTİK LARENKS KARSİNOMLU HASTALARDA RADİKAL RADYOTERAPİ İLE YEREL-BÖLGESEL KONTROL SONUÇLARI, Poster Sunumu, 11.ULUSAL RADYASYON ONKOLOJİSİ KONGRESİ, 23 Nisan 2014, 23 Nisan 2014.

E. DOĞAN, PHARYNGOCUTANEOUS FİSTULA AFTER TOTAL LARYNGECTOMY: POSSİBLE RİSK FACTORS WITH EMPHASİS ON SALVAGE SURGERY AND HEAVY SMOKİNG, Poster Sunumu, 10TH CONGRESS OF THE EUROPEAN LARYNGOLOGİCAL SOCIETY, 09 Nisan 2014, 09 Nisan 2014.

E. DOĞAN, SANGUİNARİNE HAS İN VİTRO LESS OTOTOXİC EFFECT THAN CİSPLATİN, Poster Sunumu, EACR-SPONSORED 2ND ANTİCANCER AGENTS CONGRESS: TARGETİNG CANCER STEM CELLS, 01 Nisan 2014, 01 Nisan 2014.

E. DOĞAN, METRANİDAZOLE BAĞLI ENSEFALOPATİ, Poster Sunumu, 49.ULUSAL NÖROLOJİ KONGRESİ, 15 Kasım 2013, 15 Kasım 2013.

E. DOĞAN, ENDOSKOPIK ORTA KULAK CERRAHİSİ: ERKEN DÖNEM SONUÇLARIMIZ, Sözlü Sunum, 35. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 02 Kasım 2013, 02 Kasım 2013.

E. DOĞAN, ERKEN EVRE DUDAK KANSERLERİNDE ELEKTİF BOYUN DİSEKSİYONUNUN YERİ, Poster Sunumu, 35. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 02 Kasım 2013, 02 Kasım 2013.

E. DOĞAN, ERİTROPOETİNİN SİSPLATİN OTOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİ, Sözlü Sunum, 35. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 02 Kasım 2013, 02 Kasım 2013.

E. DOĞAN, FUNGAL RİNOSİNÜZİTLER: 10 YILLIK KLİNİK DENEYİMİMİZ, Poster Sunumu, 35. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 02 Kasım 2013, 02 Kasım 2013.

E. DOĞAN, LOKAL İLERİ EVRE PAROTİS TÜMÖRLERİNİN CERRAHİ TEDAVİSİNDE LATERAL TEMPORAL KEMİK REZEKSİYONU, Poster Sunumu, 35. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 02 Kasım 2013, 02 Kasım 2013.

Kasım 2013.

E. DOĞAN, PEDIATRİK TRAKEOTOMİ: 13 YILLIK SONUÇLARIMIZ, Sözlü Sunum, 35. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 02 Kasım 2013, 02 Kasım 2013.

E. DOĞAN, ULUSAL KBB KONGRELERİNDE SUNULAN BİLDİRİLERİN ANALİZİ VE YAYINA DÖNÜŞTÜRÜLME ORANI, Sözlü Sunum, 35. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 02 Kasım 2013, 02 Kasım 2013.

E. DOĞAN, YETİŞKİNLERDE İŞİTME CİHAZI MEMNUNİYET ENVANTERİ ÜZERİNE DAVRANIŞ TİPİ VE ÖFKE PARAMETRELERİNİN ETKİSİ, Sözlü Sunum, 35. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 02 Kasım 2013, 02 Kasım 2013.

E. DOĞAN, TUMOR DEPOSITS IN HEAD AND NECK SQUAMOUS CARCINOMAS, Poster Sunumu, 25TH EUROPEAN CONGRESS OF PATHOLOGY, 31 Ağustos 2013, 31 Ağustos 2013.

E. DOĞAN, DÖRT ULUSAL RİNOLOJİ KONGRESİNDE SUNULMUŞ OLAN BİLDİRİLERİN BİLİMSEL MAKALEYE DÖNÜŞTÜRÜLME ORANLARI, Sözlü Sunum, 9. TÜRK RİNOLOJİ KONGRESİ, 23 Mayıs 2013, 23 Mayıs 2013.

E. DOĞAN, RİNOLOJİ YAYINLARIMIZIN SCİENCE CİTATION INDEX KAPSAMINDA DÜNYADAKİ YERİ, Sözlü Sunum, 9. TÜRK RİNOLOJİ KONGRESİ, 23 Mayıs 2013, 23 Mayıs 2013.

E. DOĞAN, HEARING AND BALANCE PROBLEMS OF PATİENTS WITH ENLARGED VESTIBULAR AQUADUCT SYNDROME, Poster Sunumu, VERTİGO ACADEMY INTERNATIONAL I, 15 Kasım 2012, 15 Kasım 2012.

E. DOĞAN, AKUT KOKLEAR İŞİTME KAYIPLARINDA UZUN SÜRELİ TRANSTİMPANİK STEROİD TEDAVİSİ SONUÇLARIMIZ, Sözlü Sunum, 34. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 10 Ekim 2012, 10 Ekim 2012.

E. DOĞAN, DÖRT ULUSAL KBB DERGİSİNİN 2002/2010 YILLARI ARASINDAKİ NİTELİKSEL VE NİCELİKSEL ANALİZİ, Sözlü Sunum, 34. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 10 Ekim 2012, 10 Ekim 2012.

E. DOĞAN, DİL KANSERLERİNDE BOYUN METASTAZLARININ BÖLGELERE GÖRE DAĞILIMI VE BOYUN DİSEKSİYONU TİPİNİN SEÇİMİ, Sözlü Sunum, 34. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 10 Ekim 2012, 10 Ekim 2012.

E. DOĞAN, HER AĞIZ TABANI APSESİ LUDWİG ANJİNİ DEĞİLDİR: İKİ FARKLI OLGU İŞİĞİNDE GERÇEK LUDWİG ANJİNİ, Poster Sunumu, 34. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 10 Ekim 2012, 10 Ekim 2012.

E. DOĞAN, LARİNGEAL LEİOMİYOSARKOMA: OLGU SUNUMU, Poster Sunumu, 34. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 10 Ekim 2012, 10 Ekim 2012.

E. DOĞAN, TİP 1 TİMPANOPLASTİ SONUÇLARIMIZ, Poster Sunumu, 34. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 10 Ekim 2012, 10 Ekim 2012.

E. DOĞAN, ÇOCUK HASTADA EKSTERNAL RİNOPLASTİ YAKLAŞIMI İLE NAZAL GLİOM EKSİZYONU, Poster Sunumu, 34. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 10 Ekim 2012, 10 Ekim 2012.

E. DOĞAN, INTRAOPERATIVE MONITORING OF RECURRENT LARYNGEAL NERVE İN THYROID SURGERY, Poster Sunumu, 8TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON HEAD AND NECK CANCER, 21 Temmuz 2012, 21 Temmuz 2012.

E. DOĞAN, AIR-GUN PELLET İNJURY OF THE NECK LEADING TO MEDIASTINITIS, Poster Sunumu, 11TH INTERNATIONAL CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY, 20 Mayıs 2012, 20 Mayıs 2012.

E. DOĞAN, NEUROFIBROMA OF THE NASAL DORSUM İN A PEDIATRIC PATIENT, Poster Sunumu, 11TH INTERNATIONAL CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY, 20 Mayıs 2012, 20 Mayıs 2012.

E. DOĞAN, RADİKAL RADYOTERAPİ UYGULANMIŞ LOKAL İLERİ LARENKS KANSERLİ HASTALARDA TEDAVİ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ, Poster Sunumu, 10. ULUSAL RADYASYON ONKOLOJİSİ KONGRESİ, 19 Nisan 2012, 19 Nisan 2012.

E. DOĞAN, BAŞ BOYUN BÖLGESİNİN KESİCİ DELİCİ ALET YARALANMASI: SIRA DIŞI BİR BIÇAK YARALANMASI, Poster Sunumu, 33. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 26 Ekim 2011, 26 Ekim 2011.

E. DOĞAN, KOTER TEKNİĞİ İLE POSTERİOR KORDOTOMİ, Sözlü Sunum, 33. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 26 Ekim 2011, 26 Ekim 2011.

E. DOĞAN, LARENKS KANSERLERİNDE RETROSTERNAL DİSEKSİYON SPESMENİNDE METASTAZ SIKLIĞI, Poster Sunumu, 33. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 26 Ekim 2011, 26 Ekim 2011.

E. DOĞAN, NAZAL SEPTUMA METASTAZ YAPMIŞ RENAL HÜCRELİ KARSİNOM: OLGU SUNUMU, Poster Sunumu, 33. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 26 Ekim 2011, 26 Ekim 2011.

E. DOĞAN, ENDOSCOPIC MARSUPIALIZATION OF CONGENİTAL NASOLACRİMAL DUCT CYSTS, Poster Sunumu, AMERICAN ACADEMY OF OTOLARYNGOLOGY-HEAD AND NECK SURGERY FOUNDATION ANNUAL MEETING AND OTO EXPO, 11 Eylül 2011, 11 Eylül 2011.

E. DOĞAN, MORPHOMETRY AND MORPHOLOGY OF THE NASAL BONES AND PIRIFORM APERTURES İN THE WEST ANATOLIAN PEOPLE, Poster Sunumu, JOINT MEETING OF ANATOMICAL SOCIETIES, 19 Mayıs 2011, 19 Mayıs 2011.

E. DOĞAN, SPHENOIDAL CONCHA: AN ENDOSCOPIC LANDMARK FOR DETERMINING THE LOCATION OF SPHENOIDAL SINUS OSTIUM, Poster Sunumu, JOINT MEETING OF ANATOMICAL SOCIETIES, 19 Mayıs 2011, 19 Mayıs 2011.

E. DOĞAN, RADİKAL RADYOTERAPİ UYGULANAN YEREL İLERİ LARENKS KANSERLİ HASTALARDA TEDAVİ SONUÇLARI, Poster Sunumu, 19.ULUSAL KANSER KONGRESİ, 20 Nisan 2011, 20 Nisan 2011.

E. DOĞAN, ANİ İŞİTME KAYBI TANISI KONULAN HASTALARDA TEDAVİ SONUÇLARIMIZ, Sözlü Sunum, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

E. DOĞAN, DİSFAJİ VE FORESTİER HASTALIĞI, Poster Sunumu, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

Ekim 2010.

E. DOĞAN, HİPOFARENKS KANSERLERİNİN TEDAVİSİNDE CERRAHİ+ADJUVAN TEDAVİ VE KEMORADYOTERAPİ SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI, Poster Sunumu, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

E. DOĞAN, KOMBİNE LARİNGOSEL: 2 OLGU SUNUMU, Poster Sunumu, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

E. DOĞAN, OSTEOPETROZİSLİ ÇOCUK HASTADA MANDİBULA OSTEOMYELITİ, Poster Sunumu, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

E. DOĞAN, PEDIATRİK OLGUDA 4. BRANKİAL YARIK ANOMALİSİ, Poster Sunumu, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

E. DOĞAN, TEMPORAL KEMİĞİN METASTATİK TÜMÖRLERİ, Poster Sunumu, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

E. DOĞAN, TRAKEAYA İNVAZYON GÖSTEREN TİROİD BEZİ SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMU, Poster Sunumu, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

E. DOĞAN, UZAK ORGAN METASTAZI İLE SEYREDEN SUBMANDİBULAR GLANDIN POLİMORFÖZ DÜŞÜK DERECELİ ADENOKARSİNOMU: OLGU SUNUMU, Poster Sunumu, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

E. DOĞAN, İNTRAMASSETERİK SOLİTER FİBRÖZ TÜMÖR, Poster Sunumu, 32. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 27 Ekim 2010, 27 Ekim 2010.

E. DOĞAN, RAT TİMPANİK MEMBRANINDAC DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN MİRİNGOSKLEROZ GELİŞİM SÜRECİNE N-NİTRO L ARJİNİN METİL ESTERİN ETKİSİ, Sözlü Sunum, 30. TÜRK ULUSAL KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 08 Ekim 2008, 08 Ekim 2008.

E. DOĞAN, DİL VE AĞIZ TABANI KANSERLERİNDE CERRAHİ SONRASI FİSTÜL GELİŞİMİNİ ETKİLEYEN PROGNOSTİK FAKTÖRLER, Poster Sunumu, 29. ULUSAL TÜRK KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 26 Mayıs 2007, 26 Mayıs 2007.

E. DOĞAN, NERVUS VAGUS TÜMÖRLERİNDE KLİNİK DENEYİMLERİMİZ, Poster Sunumu, 29. ULUSAL TÜRK KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 26 Mayıs 2007, 26 Mayıs 2007.

E. DOĞAN, ORAL KAVİTE TÜMÖRLERİNDE KLİNİK PATOLOJİK EVRELEME, Poster Sunumu, 28. TÜRK OTORİNOLARİNGOLOJİ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 21 Mayıs 2005, 21 Mayıs 2005.

E. DOĞAN, ÇOCUK VE YETİŞKİNLERDE TİROGLOSSAL DUKTUS KİSTİ BULGULARI VE TEDAVİSİ, Poster Sunumu, 28. TÜRK OTORİNOLARİNGOLOJİ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KONGRESİ, 21 Mayıs 2005, 21 Mayıs 2005.

E. DOĞAN, PEDIATRİK MALİGN BAŞ BOYUN TÜMÖRLERİ VE TEDAVİ SONUÇLARIMIZ, Poster Sunumu, BAŞ BOYUN KANSERLERİNDE MULTİ DİSİPLİNER YAKLAŞIM KONGRESİ, 25 Eylül 2004, 25 Eylül 2004.

Sayfa 8 / 9

Oluşturma Zamanı: 31 Aralık 2022 16:52:50

E. DOĞAN, PATHOLOGİC EVALUATION OF TONSİLLECTOMY AND ADENOİDECTOMY SPECIMENS IN THE PEDIATRIC POPULATION: IS IT NECESSARY? , Poster Sunumu, 5TH EUROPEAN CONGRESS OF OTO-RHİNO-LARYNGOLOGY HEAD AND NECK SURGERY, 11 Eylül 2004, 11 Eylül 2004.

TÜBİTAK Burs ve Destekleri

Panelistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Hakemlik/Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
Raportörlük Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0

