

Baş Boyun Skuamöz Hücreli Tümörlerinde Telomer Uzunluğunun ve Klinik Kullanımının Değerlendirilmesi

Evaluation of Telomere Length and its Clinical Use in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma

Dr. Özgül GERGİN, Dr. Selçuk İNANLI

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları AD, İstanbul

ÖZET

Amaç: Telomerler, hedefe yönelik tedaviler açısından ümit vaat etmektedir ve telomer spesifik olası tedaviler gelişim aşamasındadır. Son yıllarda baş boyun kanserlerinde telomer uzunluğu birçok yayında çalışılmıştır. Ancak çalışmalarda klinik ve prognostik ilişki çelişkilidir. Bu çalışmamızda baş boyun kanseri tanısı ile cerrahi tedavi uygulanan hastalarda, klinik belirteçler ile telomer uzunluğu arasındaki ilişkiyi ve bunun olası klinik önemini değerlendirdik.

Gereç ve Yöntemler: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 2009-2011 yılları arasında refere edilen ve daha önce herhangi bir tedavi almamış 33 baş boyun kanseri hastası çalışmaya dahil edildi. Doku örnekleri cerrahi rezeksiyon esnasında alındı. Kontrol dokuları tümör olmadığı bilinen kas dokusundan alındı. Tüm hastalarda şu parametreler değerlendirildi: hasta yaşı, tümörün lokalizasyonu ve histopatolojik derecesi, N- ve T- evresi ve sigara-alkol kullanımı ve relaps.

Bulgular: Ortalama telomer uzunluğu tümör dokularında normal dokuya göre azalmış olarak izlenmiştir ($p<0,05$). Telomer uzunluğu ile tümör derecesinin 2 ve 3 olması, T evresinin 2 ve 3 olması ve sigara kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0,05$).

Sonuç: Çalışmamızda tümör dokularında saptanan telomer uzunlukları; sigara kullanan ve cerrahi patolojisi ileri evre ve derecede rapor edilen hastalarda anlamlı olarak daha kısa bulunmuştur. Telomer uzunluğunun tespiti, baş boyun skuamöz hücreli tümör hastalarının klinik değerlendirmesinin yanında cerrahi sonrası yakın izlem ve ek tedaviler gerektiren hastaların belirlenmesi açısından potansiyele sahiptir.

Anahtar Sözcükler

Telomer; telomere uzunluğu, telomer homeostazi, baş boyun kanseri

ABSTRACT

Objective: Studies on telomeres are promising for targeted therapies, and telomere specific therapies are under progress. In recent years, telomere length in head and neck cancer have been investigated in many studies. However, there are conflicting results regarding correlation with prognosis. In this study, we compared clinical markers with telomere length in patients with head and neck cancer, who were treated with surgical resection and evaluated their possible clinical application.

Material and Methods: A total of 33 untreated head and neck cancer patients referred to the Marmara University School of Medicine Pendik Education and Research Hospital between 2009 and 2011 were included in the study. Tissue specimens were collected at the time of surgical resection. An adjacent normal muscle tissue specimen without tumoral involvement was also collected. The following parameters were evaluated: patient age, the localization of the tumor, histopathological grade, T and N stage, smoking status-alcohol use and recurrence.

Results: Mean telomere length was observed to be significantly shorter in malignant tissues compared to the adjacent normal tissues ($p<0.05$). Telomere length has been correlated significantly with tumor grade of II and III, T stage of 2 and 3 and tobacco smoking ($p<0.05$).

Conclusion: In this study, telomere length was found significantly shorter in patients who smoked and had high grade tumors and advanced stage tumors. Telomere length analysis has the potential for clinical evaluation and for identifying those patients, who need a close follow-up and vigorous adjuvant treatment after surgery for head and neck squamous cell cancer.

Keywords

Telomere; telomere length, telomere homeostasis, head and neck neoplasms

Çalışmanın Dergiyeye Ulaştığı Tarih: 17.06.2015

Çalışmanın Basıma Kabul Edildiği Tarih: 06.09.2015

≈

Yazışma Adresi

Dr. Özgül GERGİN

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi,

Kulak Burun Boğaz Hastalıkları AD,

İstanbul, TÜRKİYE

E-posta: gerginozgul@yahoo.com

GİRİŞ

Baş ve boyun kanserleri, dünyada en çok görülen beşinci kanser tipidir.¹ Son yıllarda giderek gelişen cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi teknikleri baş ve boyun kanserli hastaların tedavisini de önemli oranda olumlu bir şekilde etkilemiştir. Ancak tüm bu gelişmelere karşın baş boyun kanserli hastaların sağkalım oranlarında son 30 yıldır önemli bir değişiklik izlenmemiştir.² Bu nedenle, baş boyun kanserlerinin teşhisi ve hedefe yönelik tedavileri için yeni metotlara ihtiyaç duyulmaktadır. Telomer uzunluğunun tespiti bu amaçla yapılabilecek bir metottur.

Telomer, kromozomların sonunda yer alan, arka arkaya tekrarlanan (TTAGGG) 6 nükleotidden oluşan basit bir seridir.³ Bu kısa nükleotid dizini kromozomların bölünmesi esnasında bütünlüğün salınması, ekzonükleolitik azalmadan korunma ve kromozom füzyonlarının engellenmesinde kritik bir öneme sahiptir. Ayrıca bu dizin her bölünmede kısalarak somatik hücrelerin çoğalma kapasitelerini adeta bir mitotik saat gibi kontrol eder. Telomeraz enzimi ise telomerik kısalmayı telomer sentezleyerek engeller. Telomeraz enzimi somatik hücrelerde sessizken, embriyonik ve kök hücrelerde aktiftir. Hücre malignleştikçe telomeraz aktivitesi de artar.^{3,4} Son yıllarda baş boyun kanserlerinde telomer uzunluğu ve telomeraz aktivasyonu hakkında yapılan yayınlar olsa da, telomer uzunluğu çalışmalarına daha az sıklıkla rastlanmaktadır.

Bu çalışmamızda baş boyun kanseri tanısı ile cerrahi tedavi uygulanan hastalarda, klinik belirteçler ile telomer uzunluğu arasındaki ilişkiyi ve bunun olası klinik önemini değerlendirdik.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hasta ve Doku Örneklerinin Toplanması

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 2009-2011 yılları arasında refere edilen 33 tedavi almamış baş boyun kanseri hastası çalışmaya dahil edildi. Bu çalışma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesi tarafından onaylanmış ve hastaların tümünden bilgilendirilmiş olur formu alınmıştır. Histopatolojik evrelemede Amerika Kanser Komitesi (AJCC)'nin 2010 yılında düzenlediği TNM klasifikasyon sistemi kullanıldı.⁵ Hastalık; klinik, radyolojik ve histopatolojik olarak konfirme edildi.

Doku örnekleri cerrahi işlem esnasında alındı. Kontrol dokuları tümör olmadığı bilinen kas dokusundan alındı. Tüm dokular çıkarıldıktan hemen sonra sıvı nitrojen içerisinde dondurulduktan sonra -80 °C derecede saklandı.

Dokulardan DNA Ekstre Edilmesi

Dokulardan genomik DNA elde etmek için QIAGEN QIAamp DNA Mini kit kullanıldı. Tümör ve kontrol örnekleri 25 mg'ı aşmayacak miktarda alikodlandı. Bu dokular 200 ml PBS içinde el homojenizatörü ile homojenize edildikten sonra 100 µL ATL tamponu ve 20 µL Proteinaz K eklendi. 56 °C derece ısı banyosunda çalkalanarak 2 saat bekletildi. 4 µL RNAaz eklendi. Oda ısısında 2 dakika bekledikten sonra AL tampon eklendi. 70 °C derecede 10 dakika ısı bloğunda bekletildi. 200 µL etanol eklendikten sonra karışım mini kolanlara çıkartıldı. Bu kolonlar 6000 g de 1 dakika santrifüje edildikten sonra süzülen alt kolon değiştirildi. Üst kolon üzerlerine 500 µL AW 1 solüsyonu eklendi, 6000 g de 1 dakika santrifüje edildi. Alt kolon tekrar değiştirildi. Üst kolona 500 µL AW2 solüsyonu eklendi ve 20000 g de 3 dakika santrifüje edildi. Alt kolon 1.5 mikrelitrelik eppendorf ile değiştirildi. Üst kolona 200 µL AE tampon eklendi. 6000 g de 1 dakika santrifüje edildi. Süzülen 200 µL etiketlenerek -20 °C derecede saklandı. DNA örneklerinin konsantrasyonları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Telomer Uzunluğunun Ölçülmesi

Telomer uzunluğu ölçümü Telo TAGGG Telomere Length Assay, Roche, (Boehringer Mannheim, Almanya) kiti kullanılarak ölçüldü. 15 mikrogram DNA 20 ünite Hinf I ve 20 ünite Rsa enzimleri ile 37 °C derecede 2 saat sindirildi. Sindirilmiş ürün yüzde 0.8 agarose jelde 5 V/cm olacak şekilde yürütüldü. Elektroforez sonrasında jel 0.25 M HCl ile depürine edildi, 0.4 M NaOH/1.5 M NaCl ile denatüre edildi ve 0.5 M tris/3 M NaCl pH 7.5 ile nötralize edildi. Sonrasında DNA positive olarak şarj edilmiş naylon membrana (Boehringer Mannheim, Almanya) kapiller yöntem ile gece boyu 20X SSC kullanılarak transfer edildi. Transfer edilen membran etüvde 120 °C derecede 20 dakika bekletilerek sabitlendi. Çıkarılan membran 2X SSC ile iki kez yıkandıktan sonra DIG Easy Hyb Granules solüsyonu ile 42 °C derecede 1 saat kadar prehibridize edildi. Solüsyon döküldükten sonra üzerine Telomerik prob (TTAGGG) eklenmiş DIG Easy Hyb Granules solüsyonu ile 3 saat hibridize edildi. Çıkarılan membran 2x SSC/%0.1 SDS yıkama solüsyonu ile 15-25 °C derecede 2 kere 5 dakika yıkandı. Mem-

bran tekrar 0.2X SSC/%0.1 SDS yıkama solüsyonu ile 50 °C derecede 2 kere yıkandı. Membran kittede mevcut olan yıkama solüsyonu ile 1-5 dakika 15-25 °C derecede yıkandı. Sonrasında membran kittede mevcut olan duraklatıcı solüsyon ile 30 dakika 15-25 °C derecede inkübe edildi. Ardından membran anti-DIG-AP solüsyonu ile 30 dakika 15-25 derecede inkübe edildi. Membran kittede mevcut olan yıkama solüsyonu ile 2 kere 15 dakika 15-25 derecede yıkandı. Sonrasında membrane kittede mevcut olan detection buffer ile 2-5 dakika 15-25 derecede inkübe edildi.

Membran yıkamadan alındıktan sonra DNA yüzü yukarıda olacak şekilde kurutma kağıdı üzerine alındı. Ardından membran yine DNA yüzü yukarı bakacak şekilde hibridizasyon poşetine konuldu, üzerine 40 damla (yaklaşık 3 ml) kittede mevcut olan substrat solüsyonundan eklendi. Membran ile hibridizasyon poşeti arasında balon oluşmamasına dikkat edildi ve membran 5 dakika inkübe edildi ve fazla solüsyon dışarı sızdırıldı. Hazırlanan membran, karanlık odada X-ray filmi üzerine alındı ve 20 dakika bekletildi. Ardından solüsyonlarda yıkanarak film sonuçları elde edildi.

Verilerin değerlendirilmesi

Hastalara ait kontrol ve tümör dokularında telomer uzunlukları ölçüldü ve her iki doku arasındaki dağılım karşılaştırıldı. Tümör dokularına ait ortalama telomer uzunluğu değeri hesaplandı. Ortalama tümör telomer uzunluğu değerine göre hastalar iki gruba ayrılarak, şu parametreler açısından karşılaştırıldı: hasta yaşı, sigara-alkol kullanımı, tümör lokalizasyonu ve histopatolojik derecesi, T- ve N- evresi, ve relaps.

Verilerin Standardizasyonu ve İstatistiksel Analiz

Telomer uzunluk pikleri için moleküler analiz ve ritabanı kullanıldı. Veriler "SPSS 16.0" istatistik programı ile "student's t-test" ve "one-way ANOVA" yöntemi ile analiz edildi ve bulunan değerlerin $p < 0,05$ olması istatistiksel olarak anlamlı olarak nitelendirildi.

BULGULAR

Hastaların demografik ve histopatolojik özellikleri

Hastaların 28 (%84,8)'i erkek, 5 (%15,2)'i kadın idi. Hastaların yaş ortalaması 59,5 yıl olarak hesaplandı. Hastaların 21 (%63,6)'i 60 yaş altı, 12 (%36,4)'si 60 yaş üstü idi. Onyeddi (%51,5) hastada larinks kanseri, 11 (%33,3) hastada oral kavite kanseri, 3 (% 9,1) hastada paranasal sinüs kanseri ve 2 (%6,1) hastada orofarinks kanseri mev-

cuttu. Tümör derecesi hastaların 5 (%15,2)'inde 1. Derece (iyi diferansiye), 23 (%69,6)'ünde 2. Derece (orta diferansiye) ve 5 (%15,2)'inde 3. derece (az diferansiye) olarak rapor edildi. Tümör büyüklüğü hastaların 3 (%9,1)'ünde T1, 10 (%30,3)'unda T2, 14 (%42,4)'ünde T3 ve 6 (%18,2)'sında T4 olarak; bölgesel lenf nodu ise hastaların 23 (%69,7)'ünde N0, 7 (%21,2)'sinde N1, 3 (%9,1)'inde N2 olarak evrelendi. Hastaların 19 (%57,6)'unda sigara, 11 (%33,3)'inde alkol kullanımı mevcuttu. Otuz üç hastanın 8 (%24,2)'inde relaps saptandı. Hastaların klinik ve patolojik özellikleri Tablo 1'de verildi.

Telomer Uzunluğu Değerlendirmesi

Kontrol ve tümör dokularına ait telomer uzunlukları Southern Blot analizi ile değerlendirilmiştir. Her kontrol ve tümör çeşidine ait birer örnek Şekil 1a ve b'de gösterilmektedir: Şekil 1a' da farklı tümör lokalizasyonlarına (orofarinks, paranasal sinüs, oral mukoza, ve larinks) sahip dört hastaya ait kontrol dokularının telomer uzunlukları görülmektedir. Kontrol dokusu telomer uzunlukları; orofarinkste 12,8 kb, paranasal sinüste 12,8 kb, oral mukozada 10,8 kb ve larinkste 6,7 kb olarak ölçülmüştür. Şekil 1b'de ise, aynı hastaların tümör dokularına ait telomer uzunluk ölçümleri gösterilmiştir. Orofarinks tümör dokusu telomer uzunluğu 4,0 kb, paranasal sinüs tümör dokusu telomer uzunluğu 4,0, oral mukoza tümör dokusu telomer uzunluğu 3,2 kb ve larinks tümör dokusu telomer uzunluğu 1,5 kb olarak ölçülmüştür.

Telomer uzunluğunun kontrol ve tümör dokularındaki istatistiksel dağılım ve ortalamaları Tablo 2'de verildi. Ortalama telomer uzunluğu tümör dokularında normal dokuya göre azalmış olarak izlendi ($p < 0,05$).

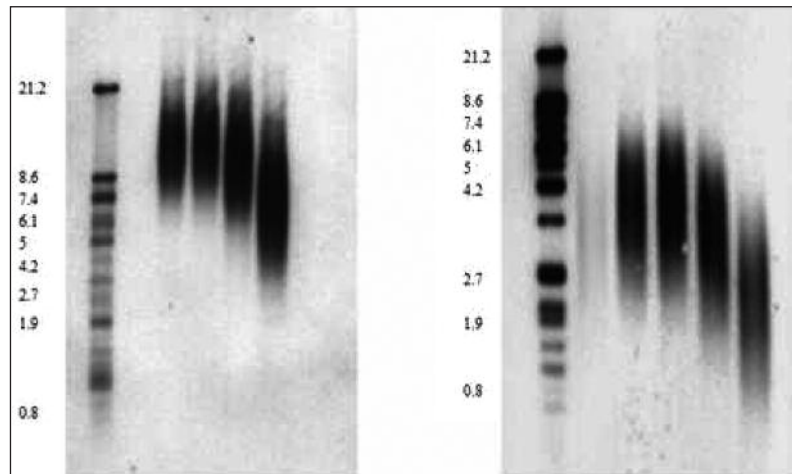
Telomer Uzunluğu Değerlerinin Klinikopatolojik Parametreler ile Karşılaştırılması

Tümör dokularındaki ortalama telomer uzunluğu 7 kb olarak hesaplandı ve hastalar bu ortalama değerinin altında ve üstünde olmak üzere iki gruba ayrıldı. Her iki grup; yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tümör histopatolojik derecesi, T evresi, N evresi, sigara-alkol kullanımı ve relaps varlığı açısından karşılaştırıldı (Tablo 3). Sonuçlar değerlendirildiğinde, 60 yaşın altındaki hastalarda telomer uzunluğunun anlamlı ölçüde kısa olduğu görüldü ($p < 0,05$) ancak 60 yaşın üstünde bu fark izlenmedi. Erkek hastalarda telomer uzunluğu kısa saptandı ancak kadın hastaların sayısının az olması dolayısıyla bu sonuç anlamlı bulunmadı.

Tablo 1. Hasta demografisi.

Hasta No	Lokalizasyon	Histolojik tip	Cinsiyet/Yaş	Tm derecesi	Tm T evresi	Tm N evresi	Sigara/alkol	Relaps
1	Larinks	SHK	E/47	2	2	0	+/+	H
2	Oral kavite	SHK	K/80	2	4	2	-/-	H
3	Oral kavite	SHK	E/58	3	3	2b	+/+	E
4	Larinks	SHK	E/55	2	3	1	-/-	H
5	Oral kavite	SHK	E/71	3	2	1	+/-	H
6	Oral kavite	SHK	E/89	2	2	0	-/-	H
7	Oral kavite	SHK	E/758	2	4a	2b	-/-	E
8	Paranasal	SHK	K/44	3	3	0	-/-	E
9	Orofarinks	SHK	E/37	2	2	0	+/+	H
10	Oral kavite	SHK	E/54	1	1	0	+/-	H
11	Larinks	SHK	E/49	1	1	0	-/-	H
12	Oral kavite	SHK	K/62	2	2	0	+/+	H
13	Larinks	SHK	E/59	2	4a	2a	+/-	E
14	Orofarinks	SHK	E/83	2	3	0	-/-	H
15	Larinks	SHK	E/55	2	1	1	+/-	H
16	Larinks	SHK	E/55	2	3	0	+/+	H
17	Larinks	SHK	E/62	2	3a	0	-/-	H
18	Paranasal	SHK	E/58	2	4	0	+/+	E
19	Larinks	SHK	E/81	2	2	0	+/-	H
20	Larinks	SHK	E/59	2	2	0	+/+	H
21	Larinks	SHK	E/67	3	3	2b	-/-	E
22	Larinks	SHK	E/46	2	2	0	-/-	H
23	Oral kavite	SHK	E/65	2	4	2	+/+	E
24	Oral kavite	SHK	K/55	1	2	0	+/-	H
25	Larinks	SHK	E/55	2	3	0	+/-	H
26	Larinks	SHK	E/47	2	3	0	+/-	H
27	Larinks	SHK	E/62	1	3	0	+/+	H
28	Larinks	SHK	E/50	2	2	0	+/+	E
29	Oral kavite	SHK	E/46	2	4	2	-/-	H
30	Larinks	SHK	E/78	2	3	2	-/-	H
31	Larinks	SHK	E/55	2	3	0	+/+	H
32	Oral kavite	SHK	K/77	1	3	0	-/-	H
33	Paranasal	SHK	E/743	2	3	0	-/-	H

SHK: Skuamöz hücreli kanser; H: Hayır; E: Evet.



Şekil 1. a) 1. sırada marker, 2. sırada orofarinks kontrol dokusu (12.8 kb), 3. sırada paranasal sinüs mukoza kontrol dokusu (12.8 kb), 4. sırada oral mukoza kontrol dokusu (10.8 kb), 5. sırada larinks kontrol dokusu (6.7 kb) telomer uzunluklarının değerlendirilmesi görülmektedir. **b)** 1. sırada marker, 2. sırada orofarinks tümör dokusu (4.0 kb), 3. sırada paranasal sinüs tümör dokusu (4.0 kb), 4. sırada oral mukoza tümör dokusu (3.2 kb), 5. sırada larinks tümör dokusu (1.5 kb) telomer uzunluklarının değerlendirilmesi görülmektedir.

Tablo 2. Telomer uzunluğunun kontrol ve tümör dokusundaki istatistiksel dağılım ve ortalaması.

	Dağılım	Ortalama	P değeri
Tümör Dokusu (33)	4,3-9,1	7,0	<0,05
Kontrol Doku (33)	5,9-12,2	10,6	

Tümör lokalizasyonu değerlendirildiğinde larinks ve oral kavite tümörlerinde telomer uzunluğunun anlamlı ölçüde kısa olduğu görüldü ($p<0,05$). Diğer tümör lokalizasyonlarında ise hasta sayısı değerlendirme yapmak için az bulundu.

Tümör histopatolojik derecesi ve T evresi değerlendirildiğinde hasta sayısının yüksek olduğu orta diferansiye, az diferansiye, T2 ve T3 tümörlerde telomer uzunluğu anlamlı derecede kısa bulundu ($p<0,05$).

Tümör N evresi değerlendirildiğinde hasta grubunun fazla olduğu N0 hastalarda telomer uzunluğu kısa bulundu ancak N1 ve N2 hastalarda hasta grubunun sayıca yetersiz olması nedeniyle anlamlı bir değerlendirme yapılamadı.

Sigara kullanan hastalarda telomer uzunluğu anlamlı derecede kısa bulundu ($p<0,05$). Ancak alkol kullanımını ile bir ilişki saptanmadı.

Takiplerinde relaps saptanan hastalarda telomer uzunluğu açısından anlamlı ilişki izlenmedi.

TARTIŞMA

Baş boyun kanserleri tüm dünyada hala mortalitesi ve morbiditesi yüksek hastalıklardan biridir. Tedavi yön-

Tablo 3. Tümör dokularındaki telomer uzunluğunun klinikopatolojik veriler ile karşılaştırılması (*student t test)/

Değişken	Telomer uzunluğu		Toplam (%)	p*
	<7 kb	>7kb		
Yaş				
<60	19	2	21 (63,6)	<0,05
>60	8	4	12 (36,4)	>0,05
Cinsiyet				
E	24	4	28 (84,8)	<0,05
K	3	2	5 (15,2)	>0,05
Lokalizasyon				
Larinks	14	3	17 (51,5)	<0,05
Oral kavite	9	2	11 (33,3)	<0,05
Paranasal	2	1	3 (9,1)	>0,05
Orofarinks	2	0	2 (6,1)	>0,05
Tümör histopatolojik derecesi				
1 (iyi)	3	2	5 (15,2)	>0,05
2 (orta)	19	4	23 (69,6)	<0,05
3 (az)	5	0	5 (15,2)	<0,05
Tümör T evresi				
T1	1	2	3 (9,1)	>0,05
T2	9	1	10 (30,1)	<0,05
T3	12	2	14 (42,4)	<0,05
T4	5	1	6 (18,2)	>0,05
Tümör N evresi				
N0	20	3	23 (69,7)	<0,05
N1	5	2	7 (21,2)	>0,05
N2	2	1	3 (9,1)	>0,05
Sigara kullanımı				
+	18	1	19 (57,6)	<0,05
-	9	5	14 (42,4)	>0,05
Alkol kullanımı				
+	8	3	11 (33,3)	>0,05
-	19	3	22 (66,7)	>0,05
Relaps				
+	4	4	8 (24,2)	>0,05
-	23	2	25 (75,8)	<0,05

temlerindeki tüm gelişmelere rağmen özellikle ileri evre hastalarda prognoz düşüktür. Lokalize hastalığı olan hastalarda doğru eradikasyon yapılmaması ve lökorejyonel metastazlar, uygulanan tedavilerin başarısızlığındaki başlıca sebeplerdir.⁶ Moleküler yaklaşımlar, sık rastlanan kanserlerin tanı ve tedavisinde yeni gelişmelere imkan sağlamaktadır. Son yıllarda güncel bir konu olan telomer uzunluğu, telomeraz enzim aktivitesi ve telomer dinamikleri, kanser gelişiminde rol oynamalarının yanı sıra geliştirilebilecek tanı ve tedavi yöntemleri açısından da umut vaat etmektedir.⁷ Yapılan çalışmalarda telomer uzunluğu, farklı tipteki tümör dokularında, premalign ve normal dokulara oranla daha kısa olarak bulunmuş ve bu bulguların hızlı proliferasyon ve artmış kanser riski ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.^{8,9} Mesane, özofagus, mide, over ve böbrek kanserlerinde yapılan çalışmalarda telomer uzunluğunun normal dokulara oranla kısaldığı bildirilmiştir.^{10,11} Ancak non-Hodgkin lenfoma, meme, akciğer ve kolorektal kanserlerinde yapılan çalışmaların sonuçları farklılıklar göstermektedir.¹²⁻¹⁴ Telomer uzunluğunun ve dinamiklerinin diğer alanlardaki potansiyel kullanımlarına karşın, baş boyun kanserlerinde telomer uzunluğunun karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği çalışmalar sınırlı sayıdadır.¹⁵⁻¹⁷

Çalışmamızda baş boyun kanseri nedeniyle opere edilen hastalardan elde edilen kanserli dokularda saptanan telomer uzunluğunun, kontrol grup olarak değerlendirilen ve aynı hastalardan alınan tümör çevresindeki sağlıklı kas dokularında değerlendirilen telomer uzunluklarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kısa ölçüldüğü saptandı ($p<0,05$). Benzer şekilde yapılan diğer iki çalışmada, Patel ve ark. baş boyun kanseri hastalarında ve Sainger ve ark. da oral kavite kanseri hastalarında telomer uzunluklarının tümör dokularında çevredeki sağlıklı olduğu düşünülen dokulardakilere oranla azalmış olduğu bildirmişlerdir.^{15,17} Buna karşın yakın tarihli diğer bir çalışmada ise, incelenen hastaların yarısında tümörün yakınında çevredeki sağlıklı dokuda değerlendirilen medyan telomer uzunlukları tümör dokusuna oranla kısalmış saptanmıştır.¹⁶ Ancak bu hastaların takiplerinde daha yüksek oranda mukozal başarısızlık izlenmesi bu dokuların da biyolojik olarak normal olmadıklarını ve tümör çevresindeki sağlıklı gözükten dokularda kısalmış telomer uzunluğu saptanan hastalarda bu bulgunun bir biyo-belirteç olarak takiplerde anlamlı olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızdaki hastalar tümör dokularındaki ortalama telomer uzunluğu değerinin altında ve üstünde olmak üzere iki gruba ayrılarak değerlendirildiğinde, telomer uzunluğu ortalamadan kısa saptanan grupta daha yüksek oranda orta diferansiye ve az diferansiye tümör histopatolojik derecesine ve de T2/T3 tümör evresine rastlandı. Benzer şekilde, Patel ve arkadaşlarının baş boyun kanserli hastalarda yaptıkları ve telomer uzunluğunun kanser dokularında terminal restriksiyon fragment (TRF) Southern Blot yöntemi ile değerlendirildiği çalışmada, zirve TRF değeri malign dokulardaki medyan TRF değerinden daha düşük saptanan hastaların yüksek saptanan hastalara oranla daha kötü histopatolojik sonuçlara ve de takiplerde daha kötü sağkalım gösterdikleri bildirilmiştir.¹⁵

Kronik olarak kanserojenlere maruz kalma sonucunda hücresel mekanizmalarında defektlerin meydana gelmesi bilinen bir sonuçtur. Çalışmamızda tümör dokularındaki telomer uzunlukları, tütün kullanım öyküsü olan hastalarda kullanmayan gruptaki hastalara oranla anlamlı derecede kısa bulundu. Sonuçlarımızla uyumlu olarak Wu ve ark.nın telomer disfonksiyonu ve kısaldığını; baş boyun, mesane, akciğer ve renal hücreli kanser gibi değişik kanserlerde değerlendirdikleri çalışmada, özellikle baş boyun kanserli hastalarda telomer kısaldığı oranı daha yüksek bulunmuş ve bunun sigara ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.¹¹

Telomer-telomeraz hipotezine göre telomeraz enzimi, telomer uzunluğunun kritik olarak kısalmışından sonra aktive olmaktadır. Bunun sonucunda da malign hücrelerde telomerler oluşan kısalmının ardından meydana gelen telomeraz enziminin aktivasyonu ile stabilize olmaktadır. Telomer uzunluğu dinamikleri telomer uzunluğunun kısalması (ör:hücre proliferasyonu) ile telomer uzatma mekanizmaları (ör:telomeraz) arasında dengelenmektedir.¹⁸ Telomeraz enzimi, telomer uzunluğunun kritik olarak kısalmışından sonra aktive olmaktadır ve telomer boyutlarının stabilizasyonunda görev almaktadır. Baş boyun tümörlerinde yapılan çalışmalara bakıldığında telomer uzunluğunun kısalması ile orantılı olarak telomeraz gen aktivitesinde artış saptandığını bildiren sınırlı sayıda yayın mevcuttur.¹⁹⁻²¹ Çalışmamızın sonuçları ve literatürdeki diğer çalışmaların sonuçlarından yola çıkarak, eksizye edilen tümörde ve tümöre yakın dokularda telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesinin değerlendirilmesi cerrahi rezeksiyon sonrasında lokal nüks açısından olası riskin belirlenmesi için potansiyel sahip yaklaşımlardır ve bu konuda daha fazla sayıda ve daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇ

Çalışmamızda tümör dokularında saptanan telomer uzunlukları; sigara kullanan ve cerrahi patolojisi ileri evre ve

derecede rapor edilen hastalarda anlamlı olarak daha kısa bulunmuştur. Telomer uzunluğunun tespiti, baş boyun skuamöz hücreli tümör hastalarının klinik değerlendirmesinin yanında cerrahi sonrası yakın izlem ve ek tedaviler gerektiren hastaların belirlenmesi açısından potansiyele sahiptir.

KAYNAKLAR

1. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011;61(4):212-36.
2. Ho AS, Kraus DH, Ganly I, Lee NY, Shah JP, Morris LG. Decision making in the management of recurrent head and neck cancer. *Head Neck Surg* 2014;36(1):144-51.
3. Kunicka Z, Mucha I, Fajkus J. Telomerase activity in head and neck cancer. *Anticancer Res* 2008;28(5B):3125-9.
4. Jefferies S, Foulkes WD. Genetic mechanisms in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncol* 2001;37(2):115-26.
5. Takes RP, Rinaldo A, Silver CE, Piccirillo JF, Haigentz M, Jr, Suarez C, et al. Future of the TNM classification and staging system in head and neck cancer. *Head Neck Surg* 2010;32(12):1693-711.
6. Zender CA, Petruzzelli GJ. Why do patients with head and neck squamous cell carcinoma experience distant metastases: can they be prevented? *Curr Opin Otolaryngol* 2005;13(2):101-4.
7. Buseman CM, Wright WE, Shay JW. Is telomerase a viable target in cancer? *Mutat Res* 2012;730(1-2):90-7.
8. Wentzensen IM, Mirabello L, Pfeiffer RM, Savage SA. The association of telomere length and cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidem Biomar* 2011;20(6):1238-50.
9. Prescott J, Wentzensen IM, Savage SA, De Vivo I. Epidemiologic evidence for a role of telomere dysfunction in cancer etiology. *Mutat Res* 2012;730(1-2):75-84.
10. Takubo K, Fujita M, Izumiyama N, Nakamura K, Ishikawa N, Poon SS, et al. Q-FISH analysis of telomere and chromosome instability in the oesophagus with and without squamous cell carcinoma in situ. *J Pathol* 2010;221(2):201-9.
11. Wu X, Amos CI, Zhu Y, Zhao H, Grossman BH, Shay JW, et al. Telomere dysfunction: a potential cancer predisposition factor. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(16):1211-8.
12. Chen HJ, Liang CL, Lu K, Lin JW, Cho CL. Implication of telomerase activity and alternations of telomere length in the histologic characteristics of intracranial meningiomas. *Cancer* 2000;89(10):2092-8.
13. Shen J, Terry MB, Gurvich I, Liao Y, Senie RT, Santella RM. Short telomere length and breast cancer risk: a study in sister sets. *Cancer Res* 2007;67(11):5538-44.
14. Kumaki F, Kawai T, Hiroi S, Shinomiya N, Ozeki Y, Ferrans VJ, et al. Telomerase activity and expression of human telomerase RNA component and human telomerase reverse transcriptase in lung carcinomas. *Hum Pathol* 2001;32(2): 188-95.
15. Patel MM, Parekh LJ, Jha FP, Sainger RN, Patel JB, Patel DD, et al. Clinical usefulness of telomerase activation and telomere length in head and neck cancer. *Head Neck Surg* 2002;24(12):1060-7.
16. Boscolo-Rizzo P, Rampazzo E, Perissinotto E, Piano MA, Giunco S, Baboci L, et al. Telomere shortening in mucosa surrounding the tumor: biosensor of field cancerization and prognostic marker of mucosal failure in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2015;51(5):500-7.
17. Sainger RN, Telang SD, Shukla SN, Patel PS. Clinical significance of telomere length and associated proteins in oral cancer. *Biomark Insights* 2007;2:9-19.
18. Colgin LM, Reddel RR. Telomere maintenance mechanisms and cellular immortalization. *Curr Opin Genet Dev* 1999;9(1):97-103.
19. Liao J, Mitsuyasu T, Yamane K, Ohishi M. Telomerase activity in oral and maxillofacial tumors. *Oral Oncol* 2000;36(4):347-52.
20. Sebastian S, Grammatica L, Paradiso A. Telomeres, telomerase and oral cancer. *Int J Oncol* 2005;27(6):1583-96.
21. Zhang S, Dong M, Teng X, Chen T. Quantitative assay of telomerase activity in head and neck squamous cell carcinoma and other tissues. *Arch Otolaryngol* 2001;127(5):581-5.