



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

**ORAL KAVİTE YASSI HÜCRELİ
KARSİNOMLARINDA SİĞARA
KULLANIMININ KANSER
YOLAKLARINA ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

BÜLENT EVREN ERKUL

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. YUSUF TUTAR**

**MOLEKÜLER ONKOLOJİ ANA BİLİM DALI
MOLEKÜLER ONKOLOJİ DOKTORA PROGRAMI**

**DOKTORA TEZİ
NİSAN/2024**

İTHAF

“Tüm Oral Kavite Kanser hastalarına ithaf ediyorum”

TEŞEKKÜR

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Onkoloji Anabilim Dalı Moleküler Onkoloji doktora programında yürütmüş olduğum doktora tezinde gerek bilgi ve deneyimleri gerekse tez konumun belirlenmesi ve planlanması sürecinde her türlü desteği sağlayan ve bu dönemde bilimsel anlamda bana yol gösteren, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Yusuf TUTAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim. Ayrıca tezim için gerekli doku örneklerinin sağlanması ve hazırlanmasında sonsuz yardımları olan değerli ağabeyim Prof.Dr İsmail Yılmaz'a teşekkür ederim. Tezimin laboratuvar bölümünde desteklerini esirgemeyen ve büyük katkılar sağlayan Ayşe Büşranur Çelik'e ve tüm tez sürecinde her konuda destek veren Kezban Uçar'a destekleri için teşekkür ederim. Tüm akademik hayatım ve doktora dönemimde beni destekleyen çok kıymetli eşim Banu Erkul'a, benim ve eşimin en değerli varlıkları, beni hep gülerek ve sevgi ile kucaklayan biricik kızım ve oğlum Alya ve Can'a sonsuz sevgim ile teşekkür ederim. Beni yetiştiren, iyi bir insan, doktor, bilim adamı olmam hayatın her alanında örnek olan, destekleyen sevgili annem Reyhan Alpaslan ve babam İbrahim Erkul'a şükranlarımı ve sevgimi sunar, teşekkür ederim. Bugüne kadar akademik çalışma hayatımda hep yanımda olan tüm meslektaşlarıma ayrıca şükranlarımı iletirim.

Bu tez çalışmasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi-BAP 2023/013 no'lu proje ile tüm maddi imkânları sağlayan Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Proje birimine vermiş oldukları destek için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. ORAL KAVİTE ANATOMİSİ	2
2.1.1. Dudak.....	3
2.1.2. Bukkal Mukoza.....	3
2.1.3. Ağız Tabanı.....	3
2.1.4. Retromolar Trigon	4
2.1.5. Alveolar Ark	4
2.1.6. Sert Damak	4
2.1.7. Dil	5
2.2. ORAL KAVİTE KANSERLERİ.....	6
2.2.1. Epidemiyoloji.....	6
2.2.2. Etyoloji.....	8
2.2.3. Patoloji.....	9
2.2.4. Tanı ve Evreleme	12
2.2.5. Tedavi Yöntemleri	15
2.2.6. Sağkalım ve Takip	16
2.2.7. Korunma ve Önleme	17
2.3. ORAL KAVİTE KANSERLERİNİN MOLEKÜLER PATOGENEZİ	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. ÇALIŞMAYA DAHİL OLAN DOKULAR VE ÇALIŞMAYA EDİLME KRİTERLERİ	26
3.2. ÖRNEKLERİN ÇALIŞMA ANALİZİ İÇİN HAZIRLANMASI.....	26
3.2.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	26
3.2.2. RNA İzolasyonu	27
3.2.3. cDNA Sentezi	28

3.3. KANSER YOLAK ANALİZİ	29
3.4. GEN ZENGİNLEŞTİRME ÇALIŞMALARI	30
3.5. İSTATİSTİK YÖNTEMLERİ	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. RNA İZOLASYON SONUÇLARI	31
4.2. SİNYAL YOLAK ANALİZLERİNİN DEĞERLENDİRMESİ	31
4.2.1. Sigara İçen Grubun Sonuçları.....	33
4.2.2. Sigara İçmeyen Grubun Sonuçları	38
4.2.3. Sigara İçen ve İçmeyen Grupların Karşılaştırma Sonuçları	44
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	60
KAYNAKLAR	61

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1: Ekleniecek madde miktarları	28
Tablo 3.2: Uygulama özellikleri	29
Tablo 3.3: Gerçek zamanlı PCR bileşenleri.....	29
Tablo 3.4: Gerçek zamanlı PCR reaksiyon koşulları.....	29
Tablo 3.5: Kanseri yolak analizinde qPCR için kullanılan genlerin listesi	30
Tablo 4.1: Sigara içen grupta PCR analizi sonucunda mRNA ifadesi azalan genlerin listesi	32
Tablo 4.2: Sigara içen grupta PCR analizi sonucunda mRNA ifadesi artan genlerin listesi	32
Tablo 4.3: Sigara içmeyen grupta PCR analizi sonucunda mRNA ifadesi azalan genlerin listesi	33
Tablo 4.4: Sigara içmeyen grupta PCR analizi sonucunda mRNA ifadesi artan genlerin listesi	33
Tablo 4.5: Sigara içen gruptaki genlerin ifade sonuçları	34
Tablo 4.6: Sigara içen grupta genlerin ekspresyon sonuçları	34
Tablo 4.7: Enrichr analizine alınan genler	35
Tablo 4.8: Sigara içmeyen gruptaki genlerin ifade sonuçları	39
Tablo 4.9: Sigara içmeyen grupta genlerin ekspresyon sonuçları	39
Tablo 4.10: Enrichr analizine alınan genler	40
Tablo 4.11: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasında anlamlı farklılık olan genlerin ifade sonuçları.....	44
Tablo 4.12: Enrichr analizine alınan genler	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Oral kavite anatomisi (Kırmızı boyalı alan oral kavite).....	2
Şekil 2.2: Globocan 2022 Dünya Kanser Verilerine göre dudak ve oral kavite kanserleri insidans (10).....	7
Şekil 2.3: Globocan 2022 Türkiye’de yaşa standardize edilmiş 100000 kişide görülme insidansı (10).....	8
Şekil 2.4: Yassı Hücre Karsinomalı hasta	10
Şekil 2.5: Yassı Hücre Karsinomalı hasta	10
Şekil 2.6: Yassı Hücre Karsinomalı hasta	10
Şekil 2.7: Minör Tükürük Bez Karsinomalı hasta.....	11
Şekil 2.8: Mukozal Malign Melanomalı hasta	12
Şekil 2.9: NCNN TNM Sınıflandırması (33)	14
Şekil 2.10: NCNN TNM Sınıflandırması (33)	14
Şekil 2.11: NCNN TNM Evrelemesi (33).....	15
Şekil 2.12: Dil yassı hücreli karsinoma eksizyon materyali	16
Şekil 2.13: TCGA programı ile OKYHK tümör numunelerinde en sık mutasyona uğrayan genleri- Cancer Genome Atlas Network’dan (42)	19
Şekil 2.14: BBK'de en sık mutasyona uğrayan genler- Mendelshon J’dan (53).....	21
Şekil 2.15: BBK’da en sık görülen kanser yolakları ve birbirleri ile ilişkileri- Mendelshon J’dan (53)	21
Şekil 4.1: Sigara içen grubumuzun Enrichr KEGG veri tabanında elde edilen Bar Grafik olarak gösterilen genel sinyal yolakları analiz sonucu	36
Şekil 4.2: Enrichr KEGG veri tabanında clustergramda gösterilen genler ve sinyal yolak analiz sonuçları	36
Şekil 4.3: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolak analizleri sonuçlar.....	37
Şekil 4.4: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolak analizleri	37
Şekil 4.5: Reactome veritabanında ilişkilendirildiği yolaklar	38

Şekil 4.6: Sigara içmeyen grubumuzun Enrich KEGG veri tabanında Bar Grafik olarak gösterilen genel sinyal yolları analiz sonucu	40
Şekil 4.7: Enrichr KEGG veri tabanında clustergramda gösterilen genler ve sinyal yolları analiz sonuçları	41
Şekil 4.8: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolları analizleri	41
Şekil 4.9: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolları analizleri	42
Şekil 4.10: Reactome veritabanında ilişkilendirildiği yollar	43
Şekil 4.11: Sigara içen ve içmeyen gruplara arası ortak ilişkili genlerin Enrichr KEGG veri tabanında bar grafik olarak gösterilen genel sinyal yolları analiz sonucu	45
Şekil 4.12: Enrich KEGG veri tabanında clustergramda elde edilen genler ve sinyal yolları analiz sonuçları	46
Şekil 4.13: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolları analizleri.	46
Şekil 4.14: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolları analizleri	47
Şekil 4.15: Reactome veritabanında ilişkilendirildiği yollar	48
Şekil 4.16: Anjiyogenez ilişkili genlerdeki değişimler	49
Şekil 4.17: Apoptoz ilişkili genlerdeki değişimler.....	50
Şekil 4.18: Hücre döngüsü ilişkili genlerdeki değişimler	50
Şekil 4.19: Hücre yaşlanma ilişkili genlerdeki değişimler	50
Şekil 4.20: DNA hasarı ve onarımı ilişkili genlerdeki değişimler	51
Şekil 4.21: EMT ilişkili genlerdeki değişimler	51
Şekil 4.22: Hipoksi ilişkili genlerdeki değişimler	51
Şekil 4.23: Metabolizma ilişkili genlerdeki değişimler	52
Şekil 4.24: Telomeraz ilişkili genlerdeki değişimler.....	52
Şekil 4.25: HSP ilişkili genlerdeki değişimler	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devleti
AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
ANOVA	: Varyans Analizi
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
BBK	: Baş Boyun Kanseri
BBYHK	: Baş Boyun Yassı Hücreli Karsinoma
BMI	: Vücut Kitle İndeksi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EBV	: Epstein-Barr Virüs
EGFR	: Epidermal Growth Faktörün Reseptörü
EMT	: Epitelyalden Mezenkimal Geçiş
GAL	: Galanin
GWAS	: Oral Kavite Genom Çapında İlişkilendirme Çalışması
HPV	: Human Papilloma Virus
HPV	: İnsan Papilloma Virüsü
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
OKYHK	: Oral Kavite Yassı Hücreli Karsinoma
Ort	: Ortalama
PET-BT	: Pozitron Emisyon BT
RTK	: Reseptör Tirozin Kinaz
SAİ	: Sigara İçmeyen-Alkol Kullanmayan
SD	: Standart Deviasyon

SPSS : Statistical Package for Social Sciences

TCGA : Kanser Genom Atlası



ORAL KAVİTE YASSI HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA SİĞARA KULLANIMININ KANSER YOLAKLARINA ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Amaç: Oral kavite yassı hücre karsinomalı hastalar içinde sigara içmeyen hastalar son dönemlerde sayısı artmakta olan ayrı bir gruptur. Etiyolojisinde en sık neden olan sigara içen grup ile farklı bir grup olan sigara içmeyen hasta grupları arasında farklı kanser yolaklarının varlığını olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda bu iki grup arasındaki kanser yolaklarını araştırılması ve bulduğumuz sonuçlar ile ileride sigara içmeyen grup için yeni çalışmalar başlanmasını ışık tutması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 18 yaş üzeri sigara içen ve sigara içmeyen olmak üzere iki grup dahil edildi. Her iki grupta 15'er hasta yer aldı. Doku örnekleri Sultan 2. Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Oral kavite yassı hücre karsinoma nedeni ile ameliyat olmuş ve patoloji kliniğine patolojik inceleme için gönderilmiş hastaların dokularından çalışıldı. Dokulardan RNA izolasyonu sonrası elde edilen bu RNA'lar dan daha önce farklı kanser yolaklarında tespit edilen 55 genin ekspresyon düzeyleri tespit edildi. Gen zenginleştirme analizi işlemleri Reactom ve Enrichr web siteleri kullanılarak yapılarak ve moleküler kanser yolaklarının mekanizmaları ortaya kondu.

Bulgular: Sigara içen grupta en çok MAPK sinyal yolağı, apoptozis, çeşitli farklı kanser yolakları, küçük hücreli kanser, EBV enfeksiyon, PI3K-Akt sinyal yolağı ve p53 sinyal yolağının etkilendiği, sigara içmeyen grupta ise en çok lipid ve ateroskleroz, hücre sirkülasyonu, nörodejeneratif yolaklar, apoptozis, MAPK sinyal yolağı, PI3K-Akt sinyal yolağı, Amyotrofik lateral skleroz, Human T hücreli lösemi ve HIF-1 sinyal yolaklarının etkilendiği tespit edilmiştir. İki grup karşılaştırması sonucu en çok hücre sirkülasyonu, PI3K-Akt sinyal yolağı, PPAR sinyal yolağı, viral karsinogenezis, hücre yaşlanma, ferroptosis, Wnt sinyal yolağı, yağ asit degradasyonu ve Epstein-Bar virus enfeksiyon sinyal yollarının etkilendiği tespit edildi.

Sonuç: Sigara içmeyen Oral kavite yassı hücre karsinoma'lı hastalar yaptığımız sinyal yolak analizlerine göre farklı bir etyopatogenez ile ilerleyen, etyolojik faktörlerden etkilenen özellikli bir grup olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Moleküler, Oral Kavite Yassı Hücreli Karsinoma, Sigara, Sinyal Yolak.



EVALUATION OF THE EFFECT OF SMOKING ON CANCER PATHWAYS IN ORAL CAVITY SQUAMOUS CELL CARCINOMA

ABSTRACT

Aim: Among patients with oral cavity squamous cell carcinoma, non-smoking patients are a separate group whose number has been increasing recently. We think that there may be different cancer pathways between the smoking group, which is the most common etiology, and this non-smoking patient group, which is a different group. Our study aims to investigate the cancer pathways between these two groups and to shed light on the results that we found to start new studies for the non-smoking group in the future.

Materials and Methods: Two groups were included in the study: smokers and non-smokers over the age of 18. There were 15 patients in both groups. Tissue samples were studied from the tissues of patients who underwent surgery for oral cavity squamous cell carcinoma at Sultan 2. Abdülhamid Han Training and Research Hospital and were sent to the pathology clinic for pathological examination. The expression levels of 55 genes previously detected in different cancer pathways were determined from these RNAs obtained after RNA isolation from tissues. Gene enrichment analysis was performed using Reactom and Enrichr websites and the mechanisms of molecular cancer pathways were revealed.

Results: In the smoking group, the MAPK signaling pathway, apoptosis, various different cancer pathways, small cell cancer, EBV infection, PI3K-Akt signaling pathway and p53 signaling pathway were most affected. In the non-smoker group, it was determined that lipid and atherosclerosis, cell circulation, neurodegenerative pathways, apoptosis, MAPK signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, Amyotrophic lateral sclerosis, Human T-cell leukemia and HIF-1 signaling pathway were most affected. As a result of the comparison of the two groups, it was determined that cell circulation, PI3K-Akt signaling pathway, PPAR signaling pathway, viral carcinogenesis, cellular senescence, ferroptosis, Wnt signaling pathway, fatty acid degradation and Epstein-Bar virus infection signaling pathway were most affected.

Conclusion: Non-smoking patients with oral cavity squamous cell carcinoma were found to be a special group that progresses with a different etiopathogenesis and is affected by etiological factors, according to our signal pathway analysis.

Key Words: Molecular, Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma, Smoking, Signaling Pathway.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Oral kavite yassı hücreli karsinoma (OKYHK) dünya çapında sık görülen malignitelerden biridir ve ABD'de 2019 yılında oral kavite ve farenks kanserlerinin tahmini insidans oranı 53.000, ölüm oranı ise 10.860'tır (1). OKYHK oldukça heterojendir ve birçok genetik değişiklik içererek onları spesifik hedefe yönelik ilaçlara dirençli hale getirir. Geleneksel risk faktörleri arasında tütün mamullerinin kullanımı, alkol tüketimi, betel fıstığı çiğneme, HPV ve Fanconi anemisi gibi genetik yatkınlık yer almaktadır (2). Son yıllarda tedavi ve teknolojiye ilerlemelere rağmen, erken teşhis belirteçlerinin eksikliği, metastazla sık ilişki ve etkili kemoterapötik ajanların eksikliği nedeniyle mortalite yüksek olmaya devam etmektedir (3,4). Yaklaşık %60'lık beş yıllık hayatta kalma oranıyla, hastalık sürecini anlamak ve daha iyi önleyici ve tedavi edici stratejiler belirlemek için kritik bir klinik ve moleküler bilgi ihtiyacı vardır.

OKYHK'ları sıklıkla yaygın ve multifokal olup hastalar için yüksek morbiditeye neden olur. Sigara içmeyen hastalarda OKYHK artmasına rağmen, bu hastalarda karsinogenez süreci hakkında çok az şey bilinmektedir. Bir veya birden fazla OKYHK gelişen, sigara içmeyen ve sigara içen hastalarda karsinomanın klinikopatolojik ve moleküler özelliklerini anlayan ve karşılaştıran az sayıda çalışmalar vardır (5). Sigara içmeyen OKYHK'lı hasta grubu spesifik fakat etyoloji ve kanser mekanizması açısından pek çalışılmış bir grup değildir. Klinik farkındalık olsa da moleküler düzeyde yeterli çalışma yoktur.

Bu çalışmada amacımız OKYHK'da etyolojide sigaranın etkisinden başka farklı bir grup olan sigara içmeyen hasta grubunda farklı bir kanser yolağının varlığını tespit etmek ve sigara için grup ile kanser yolaklarını karşılaştırmaktır. Bu çalışmanın sonuçları ile özellikle sigara içmeyen OKYHK'lı hastalarda etyolojiye göre bireysel hasta yaklaşımı sağlamak, yeni tespit edilen yolaklara göre ileride yapılacak tedavi amaçlı yeni çalışmalar başlanmasını sağlamak, yolak özelliklerine göre sigaradan başka bir etyolojik faktörün varlığının araştırılması için yeni çalışmalara ışık tutması amaçlanmaktadır.

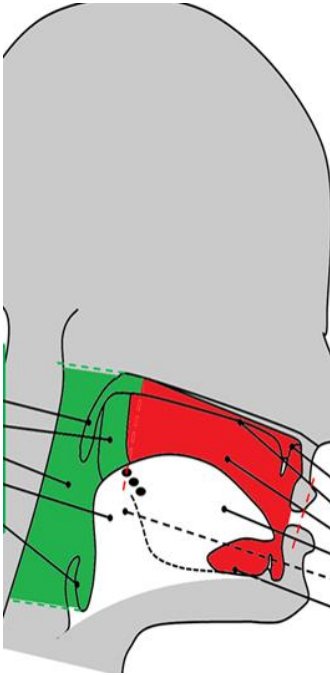
Bu çalışma ile sigara içen ve içmeyen hastaların klinik özelliklerinin moleküler özellikler ile birleştirilmesi ile özgün bir model oluşacaktır ve hem gelecek çalışmalar için zemin hazırlayacak hem de hasta tanı ve tedavi yaklaşımı için önemli bir bilimsel çalışma olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ORAL KAVİTE ANATOMİSİ

Oral kavite, ön tarafta üst ve alt dudak vermillion sınırı, arkada orofarengeal isthmus olarak tanımlanan arka alt tarafta dilin 2/3'lük ön tarafının arka sınırını oluşturan circumvallat papillaların olduğu hat ve arka üstte sert damak yumuşak damak birleşke hattına kadar uzanan düzlem içinde kalan alana verilen addır. Oral kavitenin içinde alt bölümler; dudağın oral kaviteye bakan mukozal yüzü, bukkal mukoza, retromolar trigon, ağız tabanı, dil ön 2/3'lük kısım, sert damak ve alt ve üst alveolar ark gingival bölge, dişler ve sert damaktır. Non-keratinize çok katlı yassı epitelden oluşan müköz membranla örtülüdür. Yakınlıklarına rağmen bu alt bölgeler, onkolojik tedavinin planlanmasında dikkate alınması gereken farklı anatomik özelliklere sahiptir (6).

Gerçek oral kavite dental kemerler arasına sıkışmış, üstte damak, altta dil ve ağız tabanı, dış yanda dişlerin lingual yüzleri, lingual gingivalar ve lingual alveolar mukoza, arkada yumuşak damağın dikey bölümü ve yumuşak damaktan dil tabanı kenarlarına uzanan plikaların önde bulunanı arasında kalır. Bu kavitenin önünde dişler ile bukkal mukoza ve dudaklar arasında kalan bölgeye vestibül denir (Şekil 2.1.)



Şekil 2.1. Oral kavite anatomisi (Kırmızı boyalı alan oral kavite)

2.1.1. Dudak

Ağız girişindeki hareketli yapılar olup dudağın vermillion zonu arkasındaki mukozal kısmı oral kavite içinde kabul edilir. Dudakların arteriyel kanlanması fasiyal arterin labial dalının üst ve alt dalları ile olur. Üst dudak innervasyonu maksiller sinirin infraorbital dalı, alt dudak ise inferior dental sinirin mental dalı ile olur. Dudak bölgesindeki kasların innervasyonu alt dudak için fasiyal sinirin servikal dalı ve marjinal mandibular dalı ile, üst dudak ise fasiyal sinirin bukkal dalı ile olur.

Üst dudak lenf nodu drenajı bukkal ve parotis bezi lenf nodlarına, oradan prevasküler fasiyal lenf nodu ve submandibular lenf nodları yolu ile üst derin servikal lenf nodlarına olur. Alt dudak ise önce fasiyal yüzeyel lenf nodlarına sonra submandibular lenf nodları yolu ile üst derin servikal lenf nodlarına drene olur. Alt dudak orta kısmı önce submental lenf nodlarına veya bazen direk derin servikal lenf nodlarına direk drene olabilir.

2.1.2. Bukkal Mukoza

Bukkal mukoza dudak ve yanağın iç yüzeyini kaplayan mukoza alanıdır ve oral kavitenin lateral sınırlarını oluşturur. Ağız komissüründen arkada retromolar trigona kadar olan alanı kaplar. Retromolar trigon ile arkadaki sınırı üstte maksiller çıkıntı ile üçüncü molar diş arasındaki hayali çizgi oluşturur. Üst ve alt sınırı gingivabukkal sulkus oluşturur. Mukoza non-keratinize çok yassı hücreli epitel ile kaplıdır ve mukoza lateralde masseterik alan ile oral kaviteyi ayırır. Parotis bezinin duktal kanalı olan Stenon kanalı üst molar dişin hizasında buksinatör kası deldikten sonra bukkal mukozayı geçerek ostiumu ile oral kaviteye açılır. Bukkal mukoza eksternal karotid arterin süperfisiyel temporal dalından gelen dallar ile beslenir. Duyusal innervasyon trigeminal sinirin mandibular dalı alınır. Lenfatik drenajı fasiyal ve submandibular lenf nodları ile üst derin servikal lenf nodlarına olur. Mukoza ile cilt arasındaki kalınlık yaklaşık 2 cm.dir.

2.1.3. Ağız Tabanı

Arka altta alveolar arkaların iç yüzeyinden dilin alt yüzeyine uzanan ağız tabanı kaslarını örten, arka üst sınırı tonsillerin ön plika alt kısmı oluşturan mukoza ile kaplı alandır. Frenulum ortada ikiye ayırır. Non-keratinize çok katlı yassı epitel ile kaplı olup bukkal mukozaya göre daha submukozal hatta sahiptir. Mukoza altında minör tükürük bezleri, sublingual bezler, submandibular bezin duktal kanalı olan Wharton kanalı,

hipoglossal ve lingual sinirler ve ağız tabanı kasları bulunur. Bu kaslar mylohyoid, genioglossus ve hyoglossus kaslardır. Duyusal innervasyonu trigeminal sinirin mandibular dalının lingual siniri alır. Lenfatik drenaj ön kısımda submental diğer bölgeler submandibular lenf nodlarından üst derin servikal lenf nodlarına olur. Ek olarak mylohyoid kas üzerindeki derin dil lenf nodlarında drenaj olabilmektedir. Orta hatta yakın yapılar bilateral lenf nodlarına drene olabilir.

2.1.4. Retromolar Trigon

Mandibula ramusunu kaplayan mukozanın olduğu bölgeye denir. Üçgen şekline benzer. Tabanını üçüncü alt molar diş, üstte maksiller çıkıntı, lateralde bukkal mukoza, medialde tonsil ön plikası oluşturur. Non-keratinize yassı hücreli epitel ile örtülüdür. Trigeminal sinirin mandibular dalının bukkal dalı duyusal innervasyonunu sağlar. Lenfatik drenaj submandibular lenf nodlarından üst derin boyun lenf nodlarına dökülür.

2.1.5. Alveolar Ark

Alveolar arklar maksilla ve mandibula alveolar çıkıntılarını ve onları örten mukozayı içerir. Mukozalar kemiğin periostunun derinine ilerler. Maksiller diş arkını üzeri çok katlı yassı epitel ve mukoperiost ile kaplı kemik alveolar çıkıntı destekler. Lateralde bukkal mukoza, gingival sulkusta dudaklar ve medialde sert damak ile birleşir. Mandibular alveolus mandibulanın oral kavitedeki bölümüdür. Mandibular diş arkını mukoperiost ile kaplı kemik alveolar çıkıntı destekler. Lateralde bukkal mukoza, gingival olukta dudaklar ve medialde ağız tabanı ile devam eder. Arkada retromolar trigona uzanır. Duyusal innervasyonu trigeminal sinirin mandibular dalı alır. Lenfatik drenajı submandibular ve submental lenf nodlarına oradan üst derin servikal lenf nodlarına olur. Üst alveolların innervasyonunu maksiller sinirin dalları alır.

2.1.6. Sert Damak

Maksiller alveolusun ortasında at nalı şeklindedir. Tüm damağın yaklaşık dörtte üçünü oluşturur. Maksillanın palatin çıkıntısı, horizontal damak laminası ve palatin kemiklerden oluşmuştur. Mukozası alttaki periosta kuvvetli bir şekilde yapışır. Bu mukoperiostal birleşme maksiller alveoldan yumuşak damağa kadar uzanır. Mukozası altında minor tükürük bezleri yerleşmiştir.

Sert damak arkada palatin kemiğin arka köşesinde yumuşak damak ile birleşir. Sert damak büyük palatin arter dallarıyla beslenir. Damağın venleri eksternal palatin ven ile fasiyal ve faringeal vende sonlanır. Trigeminal sinirin maksiller dalı ile mukozanın duyuşal innervasyonu alınır. Sert damak ön kısmını nazopalatin sinir, arka kısmını büyük palatin sinir innerve eder. Lenfatik drenaj submandibular nodlara, posteriorda retrofaringeal lenf nodlarına drene olur.

2.1.7. Dil

Dil tat alma, deglutasyon ve konuşmayı kolaylaştıran özel bir organdır. Bir kısmı oral kavitede bir kısmı orofarinkste yerleşimlidir. Dilin 2/3 ön tarafındaki serbest ve hareketli bölgeye ön veya oral dil denir. Arka sınırını circumvallat papillaların oluşturduğu horizontal hat oluşturur. Posteriorunda hareketsiz yoğun lenfoid doku içeren orofarinks içinde yerleşimli arka dil veya dil kökü olarak tabir edilen alan oluşturur. Ön dil yerleşiminin tarif edilmesi açısından lateral alan, ventral ve dorsal alan ve tip olarak alt kısımlara ayrılabilir. Ventral ve yan duvarlar non-keratinize çok katlı yassı epitel ile ağız tabanı ile devam ederken, tip ve dorsal yüz kalın keratinize yassı hücreli epitel ile kaplı olup bazı alanları tat tomurcukları içerir. Mukoza yapısı altında dilin intrinsek ve ekstrinsek kasları vardır ve yapışiktır.

Dilin intrinsek kasları vertikal, transvers ve inferior ve süperior longitudinal kasları içerir. Çiğneme, yutma ve konuşma sırasında aktif rol oynar ve esnek yapıya sahiptir. Hyoid kemiğe bağlı değildir. Ekstrinsek kaslar ise hyoid kemiğe bağlı hiyoglossus, sert damağa bağlı palataglossus, stiloid kemiğe bağlı styloglossus ve mandibula ve hyoid kemiğe bağlı genioglossusu içerir. Bu kaslar ile dil stabilize olur ve kasılması ile şeklini ve pozisyonunu değiştirebilir. En büyük kas genioglossus kası ve dil ana şekil veren kasdır.

Dilin arteriyel kanlanması eksternal karotid arterin lingual dalı ve fasiyal arter ve assenden faringeal arterin uç dallarınca olur. Dilin tam ortasında fibröz avasküler arkaya vertikal uzanan bir septal yüzey ile kaplıdır. Venöz drenaj lingual venler ile internal juguler vene olur. Önde lingual venler fasiyal ven ile birleşerek internal juguler vene dökülür.

Palataglossus kası faringeal pleksus ile innerve olurken diğer tüm kaslar hiyoglossal sinir ile innerve olur. Duyusal innervasyonu trigeminal sinirin mandibular

dalının lingual dalı ve cirkumvallat papilla sınırında glossofaringeal sinirler ile sağlanır. Tat duyusu ise fasiyal sinirin korda timpani dalına lingual sinir aracılığı ile ulaştırılır.

Dilin lenfatik drenajı çok yaygın ve karmaşıktır. Dilin ön oral kavite içindeki bölgesinin lenfatikleri marjinal ve santral olarak ikiye ayrılır. Marjinal lenfatikler dilin üçte birlik kısmını, dış yan kenarını ve ventral yüzünün bir kısmını oluşturur. Tip bölgesi submental lenf nodlarından üst derin servikal veya direk alt derin servikal nodlara drene olurken, dilin geri kalan kısmı submandibular lenf nodlarına ve oradan üst derin servikal lenf nodlarına drene olabilir. Her zaman bilateral drenaj özellikle orta hat bölgesinden olabilir.

Dilin papilları korneum tabakasının çıkıntı yapmasıyla oluşur. Tat tomurcukları tüm dil sırtında, kenarlarında bulunur. Sirkumvallat, fungiform, filiform ve basit papillalardan oluşur. Dilin müköz bezleri dilin arka yüzeyinde bulunur, seröz bezleri müköz bezlere ve ayrıca sirkumvallat papillara açılır, ön dilde tükürük bezleri genelde bulunmaz. Bazı serömüsinöz bezler dilin alt yüzeyine açılır.

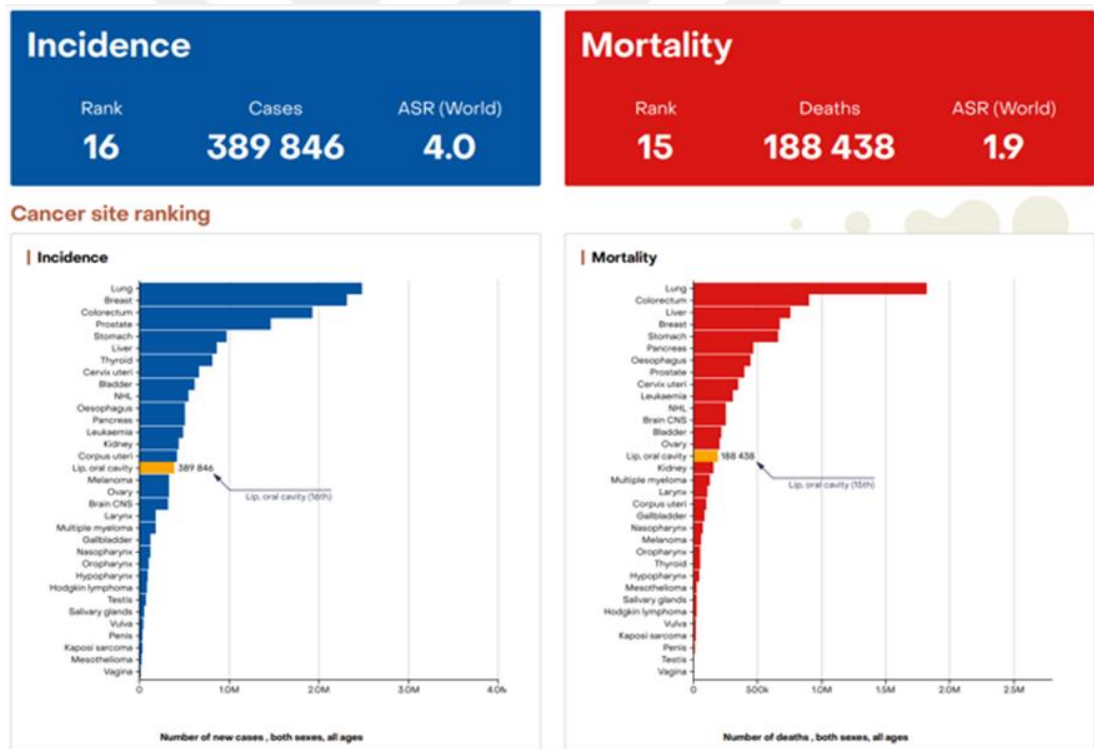
2.2. ORAL KAVİTE KANSERLERİ

Oral kavite kanserleri baş boyun kanserleri içinde heterojenitesi, görülme sıklığı ve tedavi uygulamaları olarak önemli bir yere sahip bir gruptur. En sık görülen histopatolojik tipi yassı hücreli karsinomadır. Tükürük bezi, sarkoma, mukozal melanoma gibi nadir histolojik tiplerde görünmektedir. Yassı hücreli karsinoma erkeklerde ve ileri yaşta daha sık görülmek ile beraber son yıllarda kadın ve genç yaşta da sık görülmeye başlanmıştır. Etiyolojide tütün mamülleri ve alkol en önde gelse de bunları kullanmayan grupta görülebilmektedir. En sık bukkal mukoza ve dilde yerleşimi görülür. Heterojenitesi ve özellikle sigara içmeyen grupta görülmesi ile farklı moleküler patogenez ve kanser yolları kullanıldığı düşünülmektedir. Tedavi yaklaşımında cerrahi ve adjuvan radyoterapi ve/veya kemoterapi en uygun yaklaşım olarak uygulanır. Rekonstrüksiyon yöntemleri ve teknikleri sürekli gelişmektedir. Son yıllarda moleküler patogenez ve tedavi yaklaşımları ile ilgili yeni çalışmalar artmaktadır.

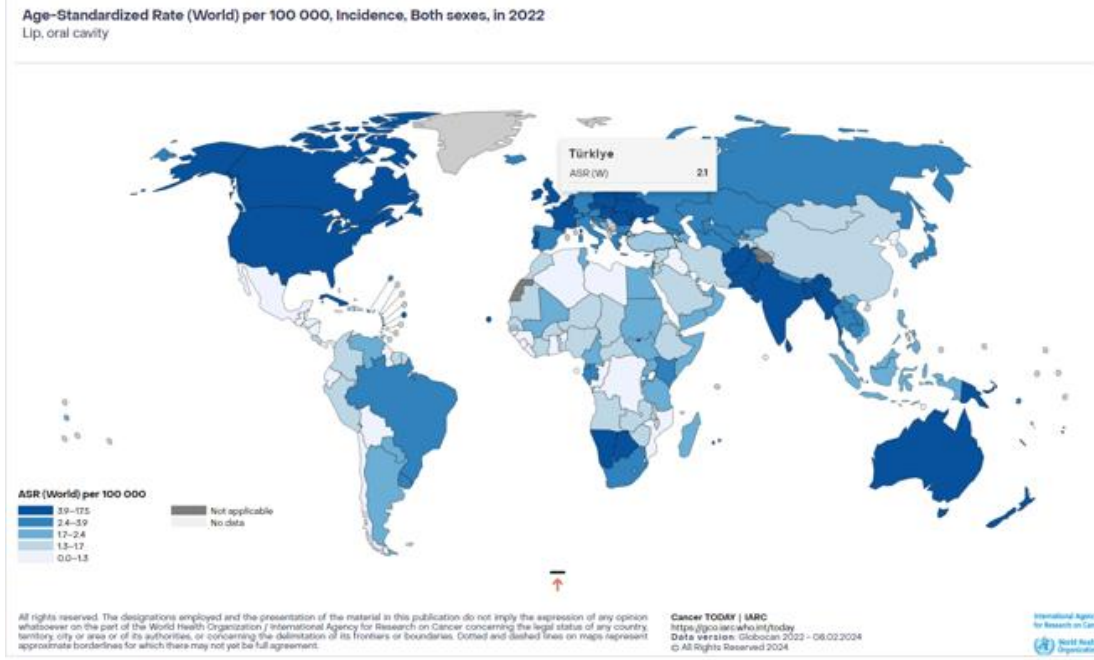
2.2.1. Epidemiyoloji

Oral kaviteyi de kapsayan baş ve boyun kanserleri (BBK) dünya çapında en sık görülen 7. Kanserdir. Her yıl 660.000'den fazla yeni vaka ve 325.000 civarında ölüm nedenidir. Örnek vermek gerekirse Birleşik Krallık'ta oral kavite kanserlerinin son 10

yılda genel görülme sıklığı yüzde 60'a yakın bir artışla yükselmeye devam etmektedir (7). Dünya çapında görülme sıklığı ve ölüm oranı 150.000 daha fazla vakayla erkekler arasında daha yüksek ve dünya çapında erkeklerde 70.000'den fazla ölüm bildirilmiştir. Bununla beraber oral kavite kanserinde artan bir eğilim dünyada olmak ile beraber sigara içiminde azalma ile Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da kadınlarda ve erkeklerde azalma eğilimi vardır (8, 9). Oral kavite kanserlerinde yaşa standardize edilmiş en yüksek insidans (100.000 kişi-yılı başına) Melanezya'da, yani Papua Yeni Gine'de (erkekler=22,2; kadınlar= 11,9), Güney Orta Asya (erkekler= 13,3; kadın= 4,6)) ve Doğu Avrupa (erkek= 9,2; kadın=1,9) dır (9). Globocan 2022 Dünya Kanser Verilerine göre dudak ve oral kavite kanserleri insidans olarak 16, mortalite olarak 15. sıradadır (Şekil 2.2) (10). Türkiye'de yaşa standardize edilmiş 100000 kişide görülme insidansı 2.1 dir (Şekil 2.3) (10).



Şekil 2.2: Globocan 2022 Dünya Kanser Verilerine göre dudak ve oral kavite kanserleri insidans (10)



Şekil 2.3: Globocan 2022 Türkiye’de yaşa standardize edilmiş 100000 kişide görülmeye insidansı (10)

2.2.2. Etiyoloji

Tütün, polisiklik hidrokarbonlar ve nitrozaminler başta olmak üzere birçok kanserojen molekül içerir. Kullanılan tütünün paket yılı ile OKYHK riski arasında doğru orantılı bir etki mevcuttur (11).

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'na göre hem sigara hem alkol OKYHK'de yeterli kanıt bulunan kanserojen maddelerdir (12). Alkol ve tütünün oral ve orofaringeal YHK etiyojisinde sinerjistik bir etkisi olduğu görülmektedir. Tütünün hem tek başına kullanımı hem de alkolle birlikte kullanılması OKYHK riskini artırır (13). Etanol, doğrudan etki gösteren asetaldehite oksitlenir. Kanserogen etkisi vardır ve ayrıca alkol tütün kanserojenleri için “solvent” olduğu düşünülen ağız tabanı gibi yüksek riskli bölgelerde etki yapabilir (14). Son yıllarda alkolün tek başına OKYHK riski üzerinde bağımsız bir etkisi vardır (7). Sadece bir süre boyunca sürekli alkol yüksek tüketiminin ile bile (günde 3'ten fazla içecek) birkaç yılda riski arttırdığı görülmektedir (7).

Tembul çiğneme, gutka ve dumsız tütün kullanımı çoğunlukla Güney Orta Asya ülkelerinde görülür. (8). Hindistan, Pakistan ve Sri Lanka'da tütün genellikle areka ceviziyle birleştirilir, bir betel yaprağına diğer malzemelerle sarılarak yanakta bekletilir

veya çiğnenir ve başta yanak ve ağız tabanı olmak üzere OKYHK riskini artırır. Bir meta-analizde Tembul quid'e maruz kalma ile tütün kullanılsa bile artan ağız kanseri riski oluşturmaktadır (15).

Gelişmiş ülkelerde sigara içmeyen ve alkol tüketmeyen bireylerde OKYHK nadiren görülür (16). İnsan papilloma virüsünün (HPV) OKYHK riskini artırdığını gösteren net çalışmalar yoktur ve klasik etyolojide her zaman gösterilmemek ile beraber tespit oranı %3 kadar düşüktür (17). Baş ve Boyun 5000 kanser araştırması kapsamında, OKYHK'li hastaların laringeal ve orofaringeal tümörlü hastalardan etyolojik olarak bazı farklılıkları vardı. OKYHK'li hastalar daha genç (%43 <60 yaş), daha yüksek oranda kadın (%38), daha az sigara içeren grup olmaları idi (%25 hiç kullanmamak). (18).

Bu çalışmadan da anlaşıldığı üzere özellikle sigara içmeyen gruplarda bilinmeyen bir etiyolojik faktörün farklı bir klinik antite ile OKYHK oluşumunda yeri olabileceği tahmin edilmektedir.

Daha az bilinen risk faktörleri; ailede oral kavite kanseri öyküsü, düşük vücut kitle indeksi (BMI), meyve ve sebzelerden yoksun bir diyet, tip 2 diyabet, kötü ağız sağlığı, düşük sosyo-ekonomik durum, düşük eğitim durumu ve meslek (7,19-23).

Organ nakli hastalarında ve HIV ile enfekte AIDS hastalarında bağışıklık sistemi değişiklikleri gibi konakçı faktörler ve kseroderma pigmentosum, Fanconi anemisi ve ataksi telanjiektazi gibi genetik durumlar, baş ve boyun kanseri vakalarının artmasıyla ilişkilidir (24-28).

Oral kavite kanseri erkeklerde daha sık görülür ve genellikle yaşamın 5. dekadından sonra ortaya çıkar. Yaklaşık %1,5'inin ağız boşluğunda veya sindirim kanalında (gırtlak, yemek borusu veya akciğer) başka bir eşzamanlı primeri olacaktır (11). Primer indeks tedavisinden sonraki ilk on yılda %10 ila %40 oranında metakron tümörler gelişir ve bu nedenle düzenli tedavi sonrası gözetim ve yaşam tarzı değişikliği ikincil korunma için önemli stratejilerdir (11,29).

2.2.3. Patoloji

Yassı hücreli karsinoma tüm ağız kanserlerinin %90'ından fazlasını oluşturur (Şekil 2.4, 2.5 ve 2.6). Diğer malign tümörler epitelden, bağ dokusundan, küçük tükürük bezlerinden, lenfoid dokudan ve melanositlerden kaynaklanabilir veya uzak bir tümörün metastazından kaynaklanabilir.



Şekil 2.4: Yassı Hücre Karsinomalı hasta



Şekil 2.5: Yassı Hücre Karsinomalı hasta



Şekil 2.6: Yassı Hücre Karsinomalı hasta

Çeşitli premalign lezyonlar OKYHK'nin gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Lökoplaki, eritroplaki, oral liken planus ve oral submukoz fibrozis gibi daha yaygın premalign lezyonların malign transformasyon potansiyeli değişkendir (5,11).

Lökoplaki, "klinik veya patolojik olarak başka bir hastalıkla tanımlanamayan beyaz bir yama veya plak" olarak tanımlanan klinik bir terimdir (30). Bu lezyon genellikle sigara ve alkol kullanımıyla ilişkilidir. Dünya çapında lökoplaki prevalansı yaklaşık %2'dir. Displastik değişiklikler hastaların sadece %2-5'inde görülür. Lökoplaki için yıllık malign dönüşüm oranı %1'dir. Malign dönüşüm için risk faktörleri arasında displazi varlığı, kadın cinsiyet, uzun süreli lökoplaki, dil veya ağız tabanında yerleşim, sigara içmeyenlerde lökoplaki, 2 cm'den büyük boyut ve homojen olmayan tip yer alır. Tütün ve alkol kullanımından kaçınmak için yaşam tarzı değişikliğinin yanı sıra eksizyon, doğru tanı ve tedavi için tek kesin yöntemdir.

Eritroplaki, "klinik veya patolojik olarak başka herhangi bir durumun neden olduğu şeklinde tanımlanamayan parlak kırmızı kadifemsi bir yamadır" (30). Bu lezyonların lökoplakiden daha yüksek malignite potansiyeline sahip olması ve sıklıkla displazi ve karsinoma in situ ile ilişkili olması nedeniyle cerrahi eksizyon önerilmektedir (30).

Oral kavitenin yassı olmayan hücreli karsinomları nadirdir. Minör tükürük bezi karsinomları oral kavite kanserlerinin %5'inden azını oluşturur (Şekil 2.7). Sıklıkla sert damakta (%60), dudaklarda (%25) ve yanak mukozasında (%15) ortaya çıkarlar (31,32). Mukoepidermoid karsinom en sık görülen tiptir (%54), bunu düşük dereceli adenokarsinom (%17) ve adenoid kistik karsinom (%15) takip etmektedir (31,32).



Şekil 2.7: Minör Tükürük Bez Karsinomalı hasta

Mukozal melanomlar nadirdir ancak genellikle sert damak ve diş etinde lokal agresif tümörler olarak bulunurlar (Şekil 2.8). Mandibula veya maksillanın osteosarkomunu içeren kemik tümörleri ve ameloblastoma gibi odontojenik tümörler ağız boşluğunda mevcut olabilir ve yüzeyde ülserasyon varsa mukozal lezyonla karıştırılabilir (11, 31).



Şekil 2.8: Mukozal Malign Melanomalı hasta

2.2.4. Tanı ve Evreleme

Ağız içinin kendi kendine göz ile inspeksiyon, muayene ve hekimlerin fizik muayenesi kısmen kolay olmasına rağmen hastalar sıklıkla ileri evre hastalık duumunda tespit edilir. Oral kavite kanseri şüphesi olan hastalarda kapsamlı bir baş-boyun muayenesi zorunludur. İnspeksiyon ve palpasyon, hastalığın yaygınlığı, tümörün boyutu, kemik invazyonu veya cilt bozulmasının varlığı hakkında doğru bir izlenime izin verir. Tümörün çizimleri ve fotoğraf kayıtları ile uygun dokümantasyonu evreleme, tanı, tedavi kararı ve ileri takip açısından faydalıdır.

Klinik TNM evresi ilk karşılaşmada kaydedilmeli ve değerlendirme ilerledikçe değiştirilmelidir. İlk inceleme biyopsi ile teşhisten oluşur. Erişilebilir lezyonlara klinikte insizyonel biyopsi, punch forsepsi, boyundaki lenf nodlarına kalın veya ince iğne aspirasyon biyopsisi kullanılarak yeterli şekilde biyopsi yapılabilir. Bazı hastaların posterior yerleşimli lezyonlara ulaşmak veya ağrı ve trismusla sınırlı bir fizik muayeneyi tamamlamak için genel anestezi altında muayeneye ihtiyacı olacaktır. Radyografik görüntüleme, tümörün yaygınlığı, tümörün komşu kemikle ilişkisinin değerlendirilmesi ve bölgesel lenf düğümlerinin değerlendirilmesi için çok önemlidir. Bilgisayarlı

Tomografi (BT) görüntülemesi, kemik ve boyun lenf nodlarının, özellikle erken kortikal tutulumun ve ekstrakapsüler lenf nodu yayılımının değerlendirilmesi için tercih edilen çalışmadır (11). Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI), yumuşak doku yayılımı ve perinöral invazyon hakkında tamamlayıcı bilgiler sağlar ve aynı zamanda yetişkinde kemik iliğinin yerini normalde yağ aldığı için medüller kemik tutulumunun boyutunu değerlendirmede de faydalıdır (11). Oral kavite kanserli hastaların çoğu uzak metastaz açısından risk altında değildir ve bu nedenle Pozitron Emisyon BT (PET-BT) taramasının ilk değerlendirmedeki rolü tartışmalıdır. Bununla birlikte, eğer ileri evre ise, adjuvan tedavi öngörülüyorsa ve radyoterapi planlaması için PET-BT taraması kullanılacaksa, ameliyat öncesi PET-BT taraması temel olarak faydalı olabilir (11). Lokal olarak ilerlemiş tümörleri olan hastalar, rekonstrüktif cerrah, diş hekimleri, konuşma ve yutma patologları ve sigarayı bırakma ve diğer yaşam tarzı değişiklikleri için davranış terapistleri ile uygun multidisipliner konsültasyonlara ihtiyaç duyar.

TNM sistemi, nispeten basit tasarımı ve kullanıcı dostu olması nedeniyle en yaygın kabul gören prognostik sistemdir. Oral kavite tümörlerinin klinik evrelemesi, primer tümör özellikleri, boyun ve uzak metastazların değerlendirilmesinden oluşur (Şekil 2.9., 2.10). Bu bilgi tümör için TNM evrelemesine olanak sağlar (Şekil 2.11) (33). Primer bölgenin evrelemesinde temel unsurlar tümörün boyutu, derinliği ve derin yapılara invazyondur. Boyuna lenfatik yayılım genellikle adım adım, düzenli ve öngörülebilir bir şekilde gerçekleşir. Boynun lenf nodu basamakları, Amerikan Baş ve Boyun Derneği Kılavuzları tarafından standardize edilmiş terminoloji kullanılarak tanımlanmaktadır (33).

Table 1

American Joint Committee on Cancer (AJCC)

TNM Staging Classification for the Oral Cavity (including mucosa of lip) (8th ed., 2017)

(Nonepithelial tumors such as those of lymphoid tissue, soft tissue, bone, and cartilage, mucosal melanoma, and cutaneous squamous cell carcinoma of the vermilion lip are not included)

Primary Tumor (T)		Regional Lymph Nodes (N)	
TX	Primary tumor cannot be assessed	Clinical N (cN)	
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>	NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
T1	Tumor ≤2 cm with depth of invasion (DOI)* ≤5 mm	N0	No regional lymph node metastasis
T2	Tumor ≤2 cm, with DOI* >5 mm or tumor >2 cm and ≤4 cm, with DOI* ≤10 mm	N1	Metastasis in a single ipsilateral lymph node, 3 cm or smaller in greatest dimension ENE(-)
T3	Tumor >2 cm and ≤4 cm, with DOI* >10 mm or tumor >4 cm, with DOI* ≤10 mm	N2	Metastasis in a single ipsilateral lymph node larger than 3 cm but not larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-); or metastases in multiple ipsilateral lymph nodes, none larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-); or in bilateral or contralateral lymph nodes, none larger than 6 cm in greatest dimension, and ENE(-)
T4	Moderately advanced or very advanced local disease	N2a	Metastasis in a single ipsilateral lymph node larger than 3 cm but not larger than 6 cm in greatest dimension, and ENE(-)
T4a	Moderately advanced local disease Tumor >4 cm, with DOI* >10 mm or tumor invades adjacent structures only (eg, through cortical bone of the mandible or maxilla, or involves the maxillary sinus or skin of the face) Note: Superficial erosion of bone/tooth socket (alone) by a gingival primary is not sufficient to classify a tumor as T4.	N2b	Metastases in multiple ipsilateral lymph nodes, none larger than 6 cm in greatest dimension, and ENE(-)
T4b	Very advanced local disease Tumor invades masticator space, pterygoid plates, or skull base and/or encases the internal carotid artery	N2c	Metastases in bilateral or contralateral lymph nodes, none larger than 6 cm in greatest dimension, and ENE(-)
*DOI is depth of invasion and not tumor thickness.		N3	Metastasis in a lymph node larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-); or metastasis in any node(s) and clinically overt ENE(+)
		N3a	Metastasis in a lymph node larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-)
		N3b	Metastasis in any node(s) and clinically overt ENE(+)

Note: A designation of "U" or "L" may be used for any N category to indicate metastasis above the lower border of the cricoid (U) or below the lower border of the cricoid (L). Similarly, clinical and pathological ENE should be recorded as ENE(-) or ENE(+).

[Continued](#)

Used with permission of the American College of Surgeons, Chicago, Illinois. The original source for this information is the AJCC Cancer Staging Manual, Eighth Edition (2017) published by Springer International Publishing. (For complete information and data supporting the staging tables, visit www.springer.com.)

Version 2.2024, 12/08/2023 © 2023 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN). All rights reserved. NCCN Guidelines® and this illustration may not be reproduced in any form without the express written permission of NCCN.

ST-1

Şekil 2.9: NCNN TNM Sınıflandırması (33)

Table 1 — Continued

American Joint Committee on Cancer (AJCC)

TNM Staging Classification for the Oral Cavity (including mucosa of lip) (8th ed., 2017)

(Nonepithelial tumors such as those of lymphoid tissue, soft tissue, bone, and cartilage, mucosal melanoma, and cutaneous squamous cell carcinoma of the vermilion lip are not included)

Regional Lymph Nodes (N)		Distant Metastasis (M)	
Pathological N (pN)		M0	No distant metastasis
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed	M1	Distant metastasis
N0	No regional lymph node metastasis	Histologic Grade (G)	
N1	Metastasis in a single ipsilateral lymph node, 3 cm or smaller in greatest dimension and ENE(-)	GX	Cannot be assessed
N2	Metastasis in a single ipsilateral lymph node, 3 cm or smaller in greatest dimension and ENE(+); or larger than 3 cm but not larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-); or metastases in multiple ipsilateral lymph nodes, none larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-); or in bilateral or contralateral lymph node(s), none larger than 6 cm in greatest dimension, ENE(-)	G1	Well differentiated
N2a	Metastasis in single ipsilateral node 3 cm or smaller in greatest dimension, and ENE(+); or a single ipsilateral node larger than 3 cm but not larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-)	G2	Moderately differentiated
N2b	Metastases in multiple ipsilateral node(s), none larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-)	G3	Poorly differentiated
N2c	Metastases in bilateral or contralateral lymph node(s), none larger than 6 cm in greatest dimension, and ENE(-)	Prognostic Stage Groups	
N3	Metastasis in a lymph node larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-); or metastasis in a single ipsilateral node larger than 3 cm in greatest dimension and ENE(+); or multiple ipsilateral, contralateral or bilateral nodes any with ENE(+); or a single contralateral node of any size and ENE(+)	Stage 0	Tis N0 M0
N3a	Metastasis in a lymph node larger than 6 cm in greatest dimension and ENE(-)	Stage I	T1 N0 M0
N3b	Metastasis in a single ipsilateral node larger than 3 cm in greatest dimension and ENE(+); or multiple ipsilateral, contralateral or bilateral nodes any with ENE(+); or a single contralateral node of any size and ENE(+)	Stage II	T2 N0 M0
Note: A designation of "U" or "L" may be used for any N category to indicate metastasis above the lower border of the cricoid (U) or below the lower border of the cricoid (L). Similarly, clinical and pathological ENE should be recorded as ENE(-) or ENE(+).		Stage III	T1,T2 N1 M0
			T3 N0,N1 M0
		Stage IVA	T1 N2 M0
			T2 N2 M0
			T3 N2 M0
			T4a N0,N1,N2 M0
		Stage IVB	Any T N3 M0
			T4b Any N M0
		Stage IVC	Any T Any N M1

[Continued](#)

Used with permission of the American College of Surgeons, Chicago, Illinois. The original source for this information is the AJCC Cancer Staging Manual, Eighth Edition (2017) published by Springer International Publishing. (For complete information and data supporting the staging tables, visit www.springer.com.)

Version 2.2024, 12/08/2023 © 2023 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN). All rights reserved. NCCN Guidelines® and this illustration may not be reproduced in any form without the express written permission of NCCN.

ST-2

Şekil 2.10: NCNN TNM Sınıflandırması (33)

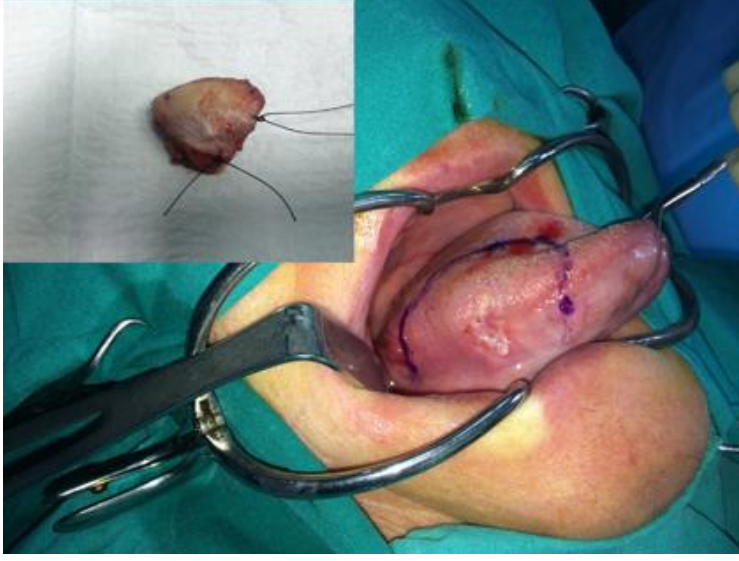
Prognostic Stage Groups			
Stage 0	Tis	N0	M0
Stage I	T1	N0	M0
Stage II	T2	N0	M0
Stage III	T1,T2	N1	M0
	T3	N0,N1	M0
Stage IVA	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4a	N0,N1,N2	M0
Stage IVB	Any T	N3	M0
	T4b	Any N	M0
Stage IVC	Any T	Any N	M1

Şekil 2.11: NCNN TNM Evrelemesi (33)

Nodal metastaz paternlerinin bilinmesi, oral kavite kanserli hastalarda boyun diseksiyonunun tasarımında pratik öneme sahiptir. Klinik olarak negatif boynu olan hasta, seviye I-III'e kadar metastaz açısından en yüksek risk altındadır. Özellikle ön dil kanserinde, seviye IV'e kadar metastazların atlanması meydana gelir. Klinik olarak pozitif boynu olan hastalarda bile seviye V'e metastaz oldukça nadirdir (%1). Oral dil tümörleri, tüm ağız kanserleri arasında boyuna metastaz yapma eğilimi en yüksek olanıdır ve tümör kalınlığı, nodal metastaz riskinin önemli bir belirleyicisidir (34).

2.2.5. Tedavi Yöntemleri

Cerrahi rezeksiyon OKYHK için tercih edilen tedavi yöntemidir. Cerrahi rezeksiyon, sınırların durumu, tümörün yayılması ve histopatolojik özellikler hakkındaki bilgilerle birlikte doğru patolojik evreleme sağlar; bu bilgiler daha sonra riske karşı faydanın değerlendirilmesine dayalı olarak sonraki tedaviyi netleştirmek için kullanılabilir (Şekil 2.12). Lokorejyonel olarak ilerlemiş tümörlerde spesifik endikasyonlar için adjuvan radyoterapi±kemoterapi kullanılır. Olumlu bir sonuç elde etmek için multidisipliner bir ekip kesinlikle gereklidir. Bireysel bir hasta için tedavi seçiminde birçok faktör dikkate alınır. Tedaviye bağlı komplikasyon riski, fizyolojik yaş, komorbid durumlar (örn. kardiyopulmoner durum), yaşam tarzı (sigara veya alkol), cerrahi rezektabilite ve hasta beklentilerine göre değerlendirilmelidir (33).



Şekil 2.12: Dil yassı hücreli karsinoma eksizyon materyali

Lokorejyonel nüks riski yüksek olan hastalarda postoperatif adjuvan tedavi endikedir. Bu, büyük primer tümörleri (pT3 veya pT4), hacimli nodal hastalığı (pN2 veya pN3), nodal seviye IV veya V'e metastazları, pozitif cerrahi sınırları, lenfovasküler invazyonu, perinöral invazyonu ve ekstrakapsüler yayılımı olan hastaları içerir (33). Radyoterapi, postoperatif adjuvan tedavi için geleneksel yöntem olmuştur ve 66-70 Gy'lik dozlar, iyi bir lokorejyonel kontrol ile sonuçlanır (35). İki klinik çalışma, ekstrakapsüler yayılımı olan ve/veya cerrahi sınırları pozitif olan baş-boyun kanseri hastalarda sisplatin kemoterapisinin postoperatif radyoterapi ile eş zamanlı uygulanmasının, lokorejyonel kontrolü ve sağkalımı iyileştirdiğini göstermiştir (tek başına radyoterapiye kıyasla) (36,37). Bununla birlikte, eş zamanlı kemoradyoterapi ciddi morbiditeye neden olabilir.

2.2.6. Sağkalım ve Takip

Memorial Sloan-Kettering Kanser Merkezi'nde analiz edilen bir hasta kohortunda genel 5 yıllık sağkalım %65 üzerindedir (38). Bu, tarihsel kohortlarla karşılaştırıldığında önemli bir gelişmeyi temsil ediyor.

Erken teşhis başarısının temel belirleyicisi olduğundan tedaviden sonraki ilk iki yıl 2-4 ay, daha sonra sonraki üç yıl boyunca 3-6 aylık aralar ile takip önerilir. 5. Yıldan sonrada takipli hastalarda daha yüksek hayatta kalma oranları görüldüğünden yıllık takip devam etmelidir. Hastanın takiplerinde 6 aylık aralıklar ile BT veya MRI görüntülemesi

eklenmeli, senkron ve metakron tümörler açısından akciğer ve özefagus, mide taramaları yapılmalıdır (11,33).

Ek olarak yaşam kalitesi artırmak için çeşitli ölçümler yapılarak hastalığın kendisi ve tedavi yan etkileri kısa orta ve uzun vade olarak takip ve tedavi edilmelidir (33).

2.2.7. Korunma ve Önleme

OKYHK tanısında gecikme sıklıkla artan morbidite ve daha kötü sağkalım oranları ile ilişkilidir (39). Yüksek nüks ve kötü sağkalım oranları göz önüne alındığında OKYHK, önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir (40). Genel anlamda bir tarama programı olmasa da semptom tanımak, kendi kendini muayene etme ve risk faktörleri konusunda farkındalık, tıp fakültesi ve diş hekimliği fakültelerinde malign ve premalign oral kavite hastalıkları muayene yöntemlerinin anlatılmasının artırılması, medyada farkındalık artırılıp, etyolojik nedenlerden insanların uzak tutulmasının artırılması korunma ve önlemede faydalı olacaktır.

2.3. ORAL KAVİTE KANSERLERİNİN MOLEKÜLER PATOGENEZİ

Oral karsinogenez karmaşık bir süreçtir. Normal işlevleri değişen birden fazla genetik olay meydana gelir. Hem onkogenlerin hem de tümör baskılayıcı genlerin bozulması, hücre çoğalmasının artmasına ve hücrelerin birbirine adezyonun kaybına ve metastaz oluşumuna neden olur (41). Ciddi farklılıklar gösteren tümör içi heterojenite, kanserojenlere çevresel maruziyetteki farklılıklar ve hastaların bunlara cevaplardaki farklılıklar (muhtemelen genetik yatkınlık, metabolik veya epigenetik sonucu faktörler), hassas ve detaylı bir yaklaşımı gerektirmektedir (42,43). Yüksek verimli ve başarılı 'omics' teknolojilerinin gelişimi ile araştırmacılar hastalığın tanısal ve prognostik biyobelirteçleri için artık yeni teknolojilerin geliştirilmesine odaklanıyor. Ancak bunların uygulanması açıkça şunları gerektirir: önemli pratik, finansal ve etik hususlar (44).

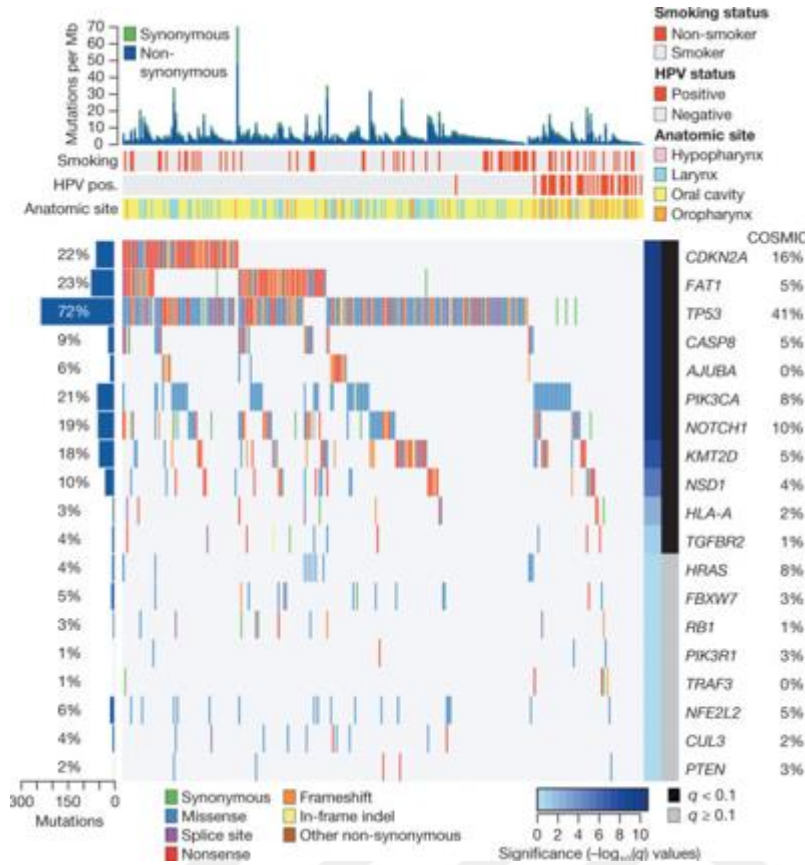
Genetik ve epigenetik profildeki değişiklikler risk tahmini ve prognozun belirlenmesine yardımcı olabilir. Ebeveynlerden gelen ve vücuttaki her sağlıklı hücrede bulunan germline genetiği, kalıtsal genetik kodu ifade eder. Popülasyonlar arasında bu genetik koddaki küçük farklılıklar, alkolü ne kadar hızlı metabolize ettiğimizden ne kadar hızlı aç hissettiğimize kadar her şeyi değiştirebilir. En büyük oral kavite genom çapında ilişkilendirme çalışmasında (GWAS) OKYHK riskine karşı iki yeni bölge belirlendi;

kromozom pozisyonu 2p23.3 (rs6547741, GPN1) ve 9q34.12 (rs928674, LAMC3), ek olarak 9p21.3 (rs8181047, CDKN2B-AS1) (45).

Alkolle ilişkili genlerdeki polimorfizmlerden alkol-dehidrojenaz 1B de (ADH1B; 4q23, rs1229984) dahilaynı zamanda OKYHK duyarlılığında da rol oynamıştır (45). Alkolü metabolize eden diğer genlerin yakınındaki genetik varyantlar da OKYHK ile ilişkilendirilmiştir (46). Gelecekteki risk tahmini ve hedefe yönelik önleme stratejileri için bunun gibi veriler bilgi vermeye yardımcı olabilir.

Kandaki epigenetik değişikliklerin etkisi bazı yüksek riskli hasta grupları için OKYHK 'li kişilerde araştırılmıştır. DNA metilasyonu, sitozin-fosfat-guanin'e metil gruplarının eklenmesi ile (DNAm) epigenetik bir modifikasyondur (47). Baş ve boyun kanserinde perinöral invazyon ile ilgili galanın (GAL) dahil olmak üzere OKYHK 'de değiştirilmiş bir metilasyon profili sunan birçok gen vardır. (48). Daha ileri çalışmalar alkol kullanımı, sigara bağımlılığı, vücut kitle indeksi ve inflamasyon ile ilgili olarak devam etmektedir.

Kanser Genom Atlası (TCGA) programı ile OKYHK tümör numunelerinde en sık mutasyona uğrayan genleri dizilenmiştir (Şekil 2.13) (42). HPV negatif OKYHK 'lerin büyük çoğunluğunda *TP53* fonksiyon kaybı mutasyonları vardır ve önceki bulgularla tutarlı olarak *CDKN2A* inaktivasyonu mevcuttur. *TP53*, “genomun koruyucusu” olarak kabul edilen protein p53 kodlayan bir tümör baskılayıcı gendir. Apoptozu tetikleme ve yasaklamadaki rolü nedeniyle %38-%50 arasında değişen sıklıkta rapor edilmiştir (49). *CDKN2A* iki proteini kodlar, hücre döngüsünün düzenlenmesi yapan tümör baskılayıcı olarak görev yapan p16INK4 buna dahildir (50). Orofaringeal karsinoma ile karşılaştırıldığında oral kavitede daha az yaygındır (51). Epidermal growth faktörün aşırı ifadesi nüks veya metastatik hastalık OKYHK 'deki epidermal growth faktörün reseptörü (EGFR) ile ilişkilendirilmiştir (51) Programlanmış hücre ölüm proteini-1/ligand-1 (PD-1/PD-L1) ekspresyonu ayrıca OKYHK 'de kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (52). Kanserle mücadelede kendi bağışıklık sisteminin PD-1'i hedef alan monoklonal antikorların geliştirilmesi ile daha yoğun tedavi sistemleri gelişimi devam etmektedir (52).



Şekil 2.13: TCGA programı ile OKYHK tümör numunelerinde en sık mutasyona uğrayan genleri- Cancer Genome Atlas Network'dan (42)

Atipik mukozal epitelyumun kanser öncesi bir alanından invazif baş boyun kanserlerinin gelişimsel modelini tanımlamak için 1953'te Slaughter ve arkadaşları tarafından önerilen alan kanserizasyonu teorisi, yüksek nüks insidansında ve ikinci primer tümör oluşumunda rol oynamıştır. Alan Kanserizasyonu Teorisi, epitelyal hücrelerden oluşan kanserle ilişkili genetik veya epigenetik değişiklikler içeren bir veya daha fazla mukozal alanın varlığı olarak tanımlanır (53). Bir alan tanımı gereği preneoplastiktir; displaziye özgü değişiklikler histolojik olabilir veya olmayabilir (54). Lökoplaki, çoğu alanda klinik olarak görünmez olsa da bir alanın klinik belirtisidir. Bir alanı karsinoma dönüştürmek için ek genetik değişikliklere ihtiyaç vardır. Alan ve primer tümör genetik değişiklikleri paylaşır ve ortak bir klonal kökene sahiptir. Klinik olarak bir alan, lokal nükslerin, ikinci alan tümörlerinin ve ilk karsinomun cerrahi rezeksiyonundan sonra ikinci primer tümörlerin kaynağı olabilir. Bölgeler primer tümörden uzaklıklarına veya sonrasında geliştikleri zaman aralığına göre ayırt edilir. Lokal bir nüks, kalan tümör hücrelerinden kaynaklanır ve birincil tümörden 2 cm'den daha az uzaktadır ve/veya

primer tümörden sonraki 3 yıl içinde meydana gelir. İkinci bir primer tümör, primer tümörden 2 cm'den daha uzaktadır ve/veya primer tümörden 3 yıldan daha uzun bir süre sonra ortaya çıkar. Orijinal primer tümöre yol açan aynı alanın bitişik bir kısmından kaynaklanan tümörler, ikinci alan tümörleri olarak tanımlanmıştır (54). Bir alanın kansere dönüşme riskini belirleyen spesifik genetik özellikleri tanımlamaya çalışan çalışmalar, 9p kromozomundaki genetik değişikliklerin, sitokeratin 4 ekspresyonunun azalmasının ve cornulin ekspresyonunun azalmasının potansiyel biyobelirteçler olduğunu göstermiştir (55). Lökoplaki çalışmaları, tipik olarak kromozom 9p kaybı, kromozom 3p kaybı ve kromozom 17p kaybı gibi genetik değişikliklerin varlığı ve progresyon riskiyle ilişkilidir. Normal epitelin *TP63/NOTCH1* ekspresyon gradyanının değişiminin bozulduğu kanser öncesi alanların ve invazif BBK bölgelerinin bir bileşeni olduğuna inanılmaktadır. Mukozadaki normal skuamöz farklılaşma süreci kısmen *TP63* ve *NOTCH1* tarafından kontrol edilir. *TP63*, bazal tabakanın keratinositlerinde eksprese edilir; burada proliferatif potansiyellerini korur ve bazal keratinlerin ekspresyonunu düzenler. *NOTCH1*'in ekspresyonu, alternatif keratinleri eksprese eden spinöz ve granüler katmanlardaki hücrelerin terminal farklılaşmasıyla sonuçlanır (56-57).

OKYHK'nın oral lökoplakiden hiperplazi, displazi, in situ karsinoma ve sonuçta invaziv aşamalara kadar histolojik ilerlemesi karsinomun genetik değişikliklerin oluşması ile meydana geldiğine inanılmaktadır. BBK'de en erken başlatıcı olaylardan biri muhtemelen *TP53* mutasyonlu kanser öncesi hücrelerin klonal çoğalmasıdır. BBK'de en sık mutasyona uğrayan genleri Şekil 2.14'de belirtildiği gibi tanımlamıştır (53,58,59).

Veriler, tümör süpsör genlerdeki fonksiyon kaybı mutasyonlarının OKYHK'de gözlenen baskın genetik patoloji olduğunu göstermektedir (54,58) Bu tümör süpresörler arasında *TP53* gen ürünü p53 yer alır. p53 aracılığıyla sinyal veren bir nükleer fosfoprotein sikline bağımlı kinaz inhibitörü 1 (p21), geleneksel olarak birincil G2 kontrol noktası düzenleyicisi olarak düşünülmesine rağmen, hücre döngüsünün hem G1 hem de G2 kontrol noktalarını etkileyebilir. DNA hasarına yanıt olarak p53 aktivasyonu hücre döngüsünü inhibe eder ve apoptozu önler, hücrenin hasarlı DNA'yı onarması için zaman tanır. DNA hasarı onarılamazsa apoptoz meydana gelir. P53 fonksiyonunun kaybı, hasarlı DNA'ya sahip hücrelerin serbestçe çoğalmasına izin vererek, etkilenen hücrelerin genomunda potansiyel olarak onkogenik mutasyonların birikmesine neden olur. OYHK'da *TP53* mutasyonu en erken ve en sık görülen mutasyondur. Vakaların %50'sinden fazlasında meydana gelen mutasyon, sağkalım oranının azalmasıyla önemli ölçüde ilişkilidir (53).

Displastik oral mukoza lezyonlarının %70 ila %80'inde 9p21'in kromozomal kaybı rapor edilmiştir (45). *CDKN2A* lokusu 9p21 içinde bulunduğundan, bu yollar arasındaki bir arayüzü göstermektedir. İki *CDKN2A* protein ürünü, p16INK4A ve p14ARF/INK4B, hücre döngüsü düzenlemesinde rol oynar. Spesifik olarak, p14ARF/INK4B'nin *MDM2*'yi aşağı regüle ettiği, dolayısıyla p53 seviyelerini düzenlediği bilinmektedir (45,53) Toplamda, p53 fonksiyonunun OKYHK'nin en az %50-60'inde bir veya daha fazla mekanizma yoluyla aşağı regüle edildiğine inanılmaktadır (54) Son zamanlarda yapılan 9p21 kromozomal kaybına ek olarak çalışmalar tümörlerin yaklaşık %7'sinde *CDKN2A* mutasyonlarını ve diğer %20 ile %30'da kopya sayısı kayıplarını göstermiştir (54). p16INK4A kaybı mekanizmasının OKYHK'de prognostik değere sahip olduğu gösterilmiştir: Epigenetik susturmanın daha yüksek nüks oranlarıyla ve silinmenin artan nodal metastaz oranlarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur.

Son olarak, telomerazın sınırsız replikasyon potansiyelini teşvik etmedeki rolü dikkate alınmalıdır. Telomeraz (TERT) aktivitesi, analiz edilen baş boyun yassı hücreli karsinomali vakalarının yaklaşık %80'inde immün boyama yoluyla tespit edilebilir.

Hücre döngüsü değişiklikleri, immünojenitenin azalması, anjiyogenezin teşvik edilmesi ve apoptozun inhibisyonu, OKYHK'nin sağkalımını etkileyen birçok mekanizmadan sadece birkaçıdır. Bu özellikler çeşitli yollardaki genetik ve epigenetik değişikliklerle ortaya çıkar. OKYHK'de özellikle önemli olan reseptör tirozin kinaz

(RTK) bazlı sinyal yollarıdır. Sınıf 1a fosfatidil-inositol-3 kinazlar (*PI3K*), EGFR gibi RTK'lara veya adaptör moleküllere bağlı heterodimerlerdir. *PI3K-AKT* kinaz (*AKT*) sinyal yolu, apoptoz ve hayatta kalmaya karşı dirence aracılık eder. Bu yol, PIP3'ü fosforile eden ve böylece AKT'yi devre dışı bırakan tümör süpresör fosfat ve tensin homologunun (*PTEN*) etkisiyle kontrol altında tutulur. *PTEN* aktivitesi tehlikeye girerse, *PI3K-AKT* sinyallemesi RTK uyarımı ile geri döndürülemez şekilde aktive edilebilir (60) Baş boyun yassı hücreli karsinomalıların yaklaşık %10'unda *PTEN* mutasyonlarının etkisiz hale getirildiği rapor edilmiştir. Dil kanserlerinin yaklaşık %30'unda *PTEN* ekspresyonu saptanamaz ve *PTEN* lokusu heterozigotluğu kaybı baş boyun yassı hücreli karsinomalıların %40'ında gözlemlenmiştir (60).

RAS ailesi GTPazlar (*HRAS*, *KRAS* ve *NRAS*), iki konformasyonel durum arasında geçiş yapan moleküler anahtarlardır: aktif bir GTP'ye bağlı form ve aktif olmayan bir GDP'ye bağlı form. Tanımlanacak ilk RAS efektör yolu, *RAS-RAF-MEK-MAPK* yoluydu. Yol, RTK'lar tarafından yönlendirilen mitojenik sinyallemenin ortak ve temel bir unsurudur ve çeşitli hücrel tepkilerle sonuçlanır. Baş boyun yassı hücreli karsinoma (BBYHK)'nın %3 ila %5'inde bulunan *HRAS* mutasyonlarının *KRAS* veya *NRAS* mutasyonlarından daha yaygın olduğu görülmektedir (58,59). Baş boyun yassı hücreli karsinomalıları için en önemlisi, Prototip ErbB ailesi Tip I RTK'yı kodlayan EGFR (7p12). EGFR yoluyla sinyalleşme, hayatta kalma ve farklılaşma dahil olmak üzere çeşitli hücrel süreçlerde yer aldığından, yollar arasındaki başka bir arayüzü temsil eder. EGFR çoğu epitel dokusunda eksprese edilir ve düzensizliğinin epitelyal onkogeneze katkıda bulunduğu defalarca gösterilmiştir. OKYHK'de, EGFR ekspresyon seviyeleri, karşılık gelen normal mukoza ile karşılaştırıldığında tümör ve tümöre komşu dokuda neredeyse her yerde yüksektir.

OKYHK'deki ekspresyon profili çalışmalarının çoğu, epitelyalden mezenkimal geçiş (EMT) sürecini, özellikle de metastatik profillerini yansıttığı düşünülen çok sayıda gen içerir. EMT, hücrelerin epitelyal fenotipten mezenkimal benzeri fenotipe değiştiği biyolojik bir süreçtir. Epitel hücreleri metastatik yayılım için hücrel esnekliğe sahip olmadığından, bu süreç kanser hücrelerinde yaygın bir olaydır (54) *TP63*, p53 ile ilişkili bir transkripsiyon faktörü olan p63'ü kodlar ve hedef genleri aracılığıyla tabakalı epiteldeki farklılaşmayı, soy spesifikasyonunu düzenler. Normal olarak farklılaşmış olgun epitelde *TP63* ekspresyonu bir gradyan olarak mevcuttur. En yüksek seviye, *NOTCH1* ekspresyonunu antagonize etmeye hizmet ettiği bazal epitel hücrelerinde

meydana gelir. Tabakalar boyunca yüzeysel olarak yükselen *TP63* seviyeleri düşer ve *NOTCH1* seviyeleri artar, bu da epitel hücre tipinin terminal farklılaşmasını tetikler. Displastik mukozada bu düzen kaybolur ve *TP63* ekspresyonu epitelyumun tüm katmanları boyunca belirgindir. Ek olarak, baş boyun yassı hücreli karsinomalıların çoğunluğunda *TP63* aşırı ekspresyonu ve/veya amplifikasyonu görülür ve ekzom dizilimi ile tümörlerin yaklaşık %7'sinde mutasyonlar bulunur (58,59). Buna karşılık, gözlenen *NOTCH* mutasyonlarının büyük ölçüde fonksiyon kaybı tipi mutasyonlardır (58).

Birçok kanser gibi OKYHK de öncelikle bölgesel lenf düğümlerine metastaz yapar. Boyundan daha uzak dokulara metastaz ilişkisi lenf bezi metastazı sayısı ve varlığı ile ilişkilidir. Ekstranodal yayılımın oranı ve yaygın hastalık sağkalımı için önemli prognostik faktörlerdir. Metastaz, sonuçta primer tümörün vücutta uzak bir anatomik bölgeye "tohumlanması" ile sonuçlanan çok yönlü bir süreçtir. Birkaç adım içerir; bunlardan biri, kan dolaşımı veya lenf sistemi yoluyla vücudun diğer bölgelerine erişim sağlamak için primer tümörü çevreleyen hücre dışı matrisin bozunması yoluyla invazyonudur.

İnvazyon bağlamında, normalde büyümeyi engelleme işlevi gören dönüştürücü büyüme faktörü β yolunun (TGF β) OKYHK'de rol oynadığı gösterilmiştir. TGF β ligandları, *TGFBR1* ve *TGFBR2* reseptörlerine bağlanarak *TGFBR1*'in fosforilasyonuna neden olur ve bu da proteinleri aktive eder. *SMAD2*, *SMAD3* *SMAD4*'ün eklenmesiyle bir SMAD kompleksi oluşturulur. Bu kompleks çekirdeğe girer ve TGF β hedef genlerinin ekspresyonunu modüle eden transkripsiyon faktörlerini, ortak aktivatörleri ve ortak baskılayıcıları bağlar. Ayrıca TGF β yolu, EMT sürecinde anahtar bir oyuncu olarak tanımlanmıştır (53). TGF β yolu, TGF β hedef genlerinin ekspresyonunu modüle eder. En yaygın olarak *SMAD2*, *SMAD3*, *SMAD4* ve *TGFBR1* genini içeren 18q delesyonu görülür.

Tümörlerin çapı birkaç milimetreden daha büyük boyutlara ulaşabilmek için kan damarlarına ihtiyaç vardır. Bu damarlar besin ve oksijen dağıtımını ve ayrıca metabolik yan ürünlerin atılmasını kolaylaştırır. Pek çok çalışma, VEGF ekspresyonunu OKYHK prognozuyla ilişkilendirmiştir; Baş boyun yassı hücreli karsinomalıların da VEGF ekspresyonun lenf düğümlerine metastaz ile bir ilişki bulan bir meta-analiz de mevcuttur (54).

RNASeq gibi diğer transkriptom profillemeye teknikleri, tedaviye bireysel genetik yanıtın belirlenmesinde, teşhis ve tedavide gelecekte rol oynayabilir (61). İlk çalışmalar

ayrıca kütle spektrometresi kullanılarak metabolomik, proteomik ve lipidomik profil oluşturma da mümkün olduğunu gösterdi.

Bununla beraber OKYHK 'de moleküler mekanizmalar ve sinyal yolları için net modeller henüz ortaya çıkmamıştır (62). Bunun nedeni örneklem büyüklüğünün küçük olması olabilir (örneğin OKYHK 'nin nispeten daha nadir bir kanser olduğu) ve önemli tümör içi heterojenite. Ayrıca, kanda tanımlanan aynı DNA metilasyon sinyalleri ayrıca tümör dokusunda veya tükürükte de bulunur (63).

Geleneksel biyopsiler doku alanıyla sınırlı olduğundan genellikle görüntüleme incelemelerinin ardından numune alınır. Buna ek olarak dolaşımdaki tümör hücrelerini (CTC'ler) tespit eden 'sıvı biyopsiler', dolaşımdaki tümör DNA'sı (ctDNA), dolaşımdaki tümör, kan veya tükürükten alınan RNA (ctRNA), proteinler veya eksozomlar kanser tespitini kolaylaştırabilir (64). Sıvı biyobelirteçler ayrıca tümör progresyonun 'gerçek zamanlı' izlenmesine veya kişiselleştirilmesine de olanak sağlayabilir. OKYHK için bu biyolojik belirteçler için hassas ve spesifik profiller henüz kurulmamıştır (65). Tüm verilerin toplandığı etik ve idari sorunları olmayan bir bankalar kurulması gereği her geçen gün artmaktadır.

OKYHK 'deki son epidemiyolojik eğilimler, genç hastaların sayısının artışı ile birlikte seyreden tütün kullanımı ve alkol gibi faktörlerin içinde olmadığı yeni bir etyoloji araştırmasını gerektirmektedir. BMI, diyet, ağız sağlığı gibi daha az bilinen riskler, sosyo-ekonomik durum, meslek ve aile öyküsü (genetik), daha fazla araştırmayı gerektirmektedir.

Yüksek veri bankası içeren 'omics' teknolojileri umut verici görünmektedir. Ancak bu tür biyobelirteçler için tekrarlanabilir profillerin detaylı açıklanmaya ihtiyaçları devam ediyor. Bunun nedeni muhtemelen daha düşük vaka sayısının oral kavite karsinomalarında olması ve fazla sayıda tümör içi heterojenite olabilir. Finansal ve etik maliyetler ile genomik testler akademik araştırma kapsamında desteklenmeye devam edilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırmanın yapılması için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) destekleme birimi desteği alınmış (2023/013) ve Etik Kurul Başkanlığı'nın 18.11.2022 tarih ve 25/16 karar sayılı etik kurulu kararı ile yapılmıştır. Laboratuvar çalışmaları Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi laboratuvarında yapılmıştır.

3.1. ÇALIŞMAYA DAHİL OLAN DOKULAR VE ÇALIŞMAYA EDİLME KRİTERLERİ

Bu çalışmada OKYHK tanısı nedeniyle ameliyat olan hastalardan alınan doku örnekleri kullanılacaktır. Hastalar 18 yaş üzeri olacaktır ve sigara içenler ve sigara içmeyen-alkol kullanmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılacaktır. Her iki grupta 15'er hasta yer alacaktır. Doku örnekleri Sultan 2. Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesinde OKYHK nedeni ile ameliyat olmuş ve patoloji kliniğine patolojik inceleme için gönderilmiş hastaların dokularından çalışılacaktır. Dokular Patoloji laboratuvarı arşivinden alınacaktır. Tümör ve tümörün yanındaki aynı hastanın sağlam dokusu ayrı ayrı olarak değerlendirilecektir. Tüm dokular parafin emdirilmiş bloklarda saklanmış patoloji örneklerinden alınacaktır. Doku örneklerinde kanser yolaklarındaki genlerin ekspresyon^[4] düzeyleri incelenecektir.

Çalışmamızda örneklem büyüklüğü güç analizi ile belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre anlamlılık farkını tespit etmek için gereken minimum örneklem büyüklüğü, tip I hata (α) 0,05, etki büyüklüğü 0,8 ve güç($1-\beta$) dikkate alınarak hasta sayıları verilmiştir.

3.2. ÖRNEKLERİN ÇALIŞMA ANALİZİ İÇİN HAZIRLANMASI

3.2.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Tümör ile normal doku arasındaki ifade farklılıklarını da tespit etmek amacıyla, önce hemotoksilen- eozin (H&E) boyalı lamlara arşivden ulaşılacak, mikroskop incelemesi ile tekrar değerlendirilerek hem tümör hem de normal dokunun olduğu lamlar ve bu lamlara ait parafin bloklar, seçilecek ve işaretlenecektir. Seçilen bloklardan 5µm

kalınlığında lizinli lama kesit alınacaktır. Lizinli lamdan 11 numaralı bistüri ucu yardımıyla tümörlü alanlar kazınarak 1,5 ml'lik ependorf tüpüne konacaktır.

3.2.2. RNA İzolasyonu

Toplanan parafin blokları The innuPREP FFPE total RNA Kit markasına ait total RNA izolasyon kiti ile izole edilecektir. Bu kitin adımları şu şekildedir^[f].

Parafine gömülü doku örneklerinden RNA izolasyonu;

1. FFPE malzemesi 1,5 ml veya 2,0 ml reaksiyon tüpüne yerleştirilecek ve reaksiyon tüpü maksimum hızda 1 dakika boyunca santrifüjlenecektir.

2. Reaksiyon tüpü açılacak ve 400 µl Lizis Solüsyonu MA eklenecektir. Numune Proteinaz K, 10 saniye boyunca darbeli vorteksleme ile kuvvetli bir şekilde karıştırılacaktır.

3. Reaksiyon tüpü 65 °C'de 30 dakika boyunca bir termal karıştırıcıda 1.000 rpm'de sürekli çalkalayarak inkübe edilecektir.

4. Lizis adımından sonra numune maksimum hızda 3 dakika boyunca santrifüjlenecektir. Tüp açılacak ve süpernatantı yeni bir tüpe aktarılacak. 1,5 ml reaksiyon tüpü (RNaz içermeyen ve Güvenli Kilitli tüp) peletin bozulmasından ve katı parafin parçacıklarının aktarılmasından kaçınılacaktır.

5. Reaksiyon tüpü 80 °C'de 30 dakika boyunca bir termal karıştırıcıda 1.000 rpm'de sürekli çalkalayarak inkübe edilecektir.

6. Maksimum hızda 3 dakika boyunca santrifüjlenecek ve süpernatantı yeni bir 1,5 ml'lik reaksiyon tüpüne aktarılacaktır.

7. Numuneye 600 ul mutlak etanol (%96-99) eklenecek, 10 saniye boyunca darbeli vorteksleme veya birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleme yoluyla kuvvetlice karıştırılacaktır.

8. 600 ul numune 2,0 ml alıcı tüpte bulunan döndürme filtresine uygulanacaktır. Kapak kapatılacak ve 10.000 x g'de (~12.000 rpm) 1 dakika santrifüjlenecektir. Alıcı tüpü süzüntüyle birlikte atılacaktır. Döndürme filtresi yeni bir 2,0 ml alıcı tüpüne yerleştirilecektir.

9. Kalan numune 2,0 ml alıcı tüpte bulunan döndürme filtresine aktarılacaktır. Kapak kapatılacak ve 10.000 x g'de (~12.000 rpm) 1 dakika boyunca santrifüjlenecektir. Alıcı tüpü süzüntüyle birlikte atılacaktır. Döndürme Filtresine yeni bir 2,0 ml alıcı tüpü yerleştirilecektir.

10. Döndürme Filtresi açılacak ve 500 µl Yıkama Solüsyonu C eklenecek, kapak kapatılacak ve 10.000 x g'de (~12.000 rpm) 1 dakika santrifüj edilecektir. Süzüntü atılacak ve döndürme filtresi tekrar 2,0 ml alıcı tüpüne yerleştirilecektir.

11. Döndürme filtresi açılacaktır ve 650 µl yıkama solüsyonuna BS eklenecek, kapak kapatılacak ve 10.000 x g'de (~12.000 rpm) 1 dakika santrifüj edilecektir. Süzüntü atılacak ve döndürme filtresi tekrar 2,0 ml alıcı tüpüne yerleştirilecektir.

12. Döndürme filtresi açılacak ve 650 µl mutlak etanol (%96-99) eklenecek, kapak kapatılacak ve 10.000 x g'de (~12.000 rpm) 1 dakika santrifüjlenecektir. Süzüntü atılacak ve döndürme filtresi tekrar 2,0 ml alıcı tüpüne yerleştirilecektir.

13. Tüm etanol izlerini gidermek için maksimum hızda 3 dakika boyunca santrifüjlenecektir. 2,0 ml alıcı tüpü atılacaktır.

14. Döndürme Filtresi 1,5 ml elüsyon tüpüne yerleştirilecektir. Döndürme filtresinin kapağı dikkatlice açılacak ve 50 µl RNase içermeyen su eklenecektir. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilecektir. 10.000 x g'de (~12.000 rpm) 1 dakika boyunca santrifüjlenecektir. İkinci bir elüsyon adımı ekstrakte edilen DNA'nın verimini artıracaktır.

Elde edilen RNA'ların spektrofotometre kullanılarak konsantrasyonları ve saflık değerleri belirlenecektir. Bir sonraki kullanıma kadar örnekler -80'de saklanacaktır.

3.2.3. cDNA Sentezi

Toplanan RNA'lardan EuroClone firmasına ait "Wonder RT- cDNA Synthesis Kit" kullanılarak cDNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Bu kitin protokolü aşağıdaki gibidir.

Tablo 3.1. de Eklenecek madde miktarları aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Tablo 3.1: Eklenecek madde miktarları

Bileşik	Miktar
Buffer	4 uL
RNA	1000ng/uL
Enzim	1uL
Su	20uL'a tamamlanır

Tablo 3.2.'de uygulama özellikleri aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Tablo 3.2: Uygulama özellikleri

Sıcaklık (C)	Zaman(dk)
25	10
45	15
85	5

Elde edilen cDNA 'lar bir sonraki kullanıma kadar -20C'de saklanacaktır.

3.3. KANSER YOLAK ANALİZİ

Kanser metabolizmasıyla bazı gen aktivasyonlarının doğrudan ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Kanser yolak sonuçları belirli yolaklardaki genlerin ekspresyon düzeylerinde farklılıklar gösterirse, bu yolaktaki genler araştırılacak ve moleküler mekanizma belirlenmeye çalışılacaktır.

Bu neden ile ilk önce RT-qPCR deneyi Euroclone Syber Green RT-qPCR kiti kullanılarak gerçekleştirilecektir. Bu kitin protokolü aşağıdaki gibidir (Tablo 3.3, 3.4)

Tablo 3.3: Gerçek zamanlı PCR bileşenleri

Bileşenler	İlk hacim
SYBR green master mix	25 µl
Primerler	1 µl
cDNA örneği	1 µl
Steril su	50 µl'e kadar
Toplam hacim 50 µl	

Tablo 3.4: Gerçek zamanlı PCR reaksiyon koşulları

Zaman	Sıcaklık	Döngü
5 dk	95 °C	1
15 sn	95 °C	45
60 sn	60 °C	Floresan okuma

SYBR Green Boyası, çift sarmallı DNA'nın küçük oluşunu bağlar. SYBR Green boyası çift sarmallı DNA'ya bağlandığında floresansın yoğunluğu artar. Daha fazla çift sarmallı ampikon üretildikçe SYBR Yeşil boya floresansı artar. SYBR Yeşil boya herhangi bir çift sarmallı DNA molekülüne bağlanır. PCR karışımı içindeki floresan boyanın DNA'ya bağlanması ve bu sayede bir ct değeri vermesiyle her replikasyon sonrası DNA miktarı belirlenecektir. Elde edilen bu RNA'lar dan daha önce farklı kanser yolaklarında tespit edilen 55 genin ekspresyon düzeyleri tespit edilecektir. Kullanılan genlerin isimleri Tablo 3.5'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlar Livak Metoduna göre hesaplanacaktır.

Tablo 3.5: Kanser yolak analizinde qPCR için kullanılan genlerin listesi

ANGPT2	CDC20	DDB2	SNAI1	TRAP1
FLT1	E2F4	DDIT3	SOX10	CDC37
SERPINF1	STMN1	ERCC5	ATP5A1	TP53
CCL2	MKI67	POLB	EPO	HSP90AB1
TEK	SKP2	SOD1	ACSL4	TERF1
APAF1	AURKA	TBX2	LDHA	CCDN2
XIAP	WEE1	PPP1R15AA	CPT2	LPL
CASP7	BMI1	CDH2	G6PD	CDK4
NOL3	SEPINB2	DSP	UQCRFS1	TERF2IP
BCL2L11	MAP2K1	FOXC2	TNKS2	HSP90AB4
CCND3	MAP2K3	SNAI2	GPD2	HSPB1

3.4. GEN ZENGİNLEŞTİRME ÇALIŞMALARI

Gen zenginleştirme analizi işlemleri Reactom ve Enrichr web siteleri kullanılarak yapılacak ve moleküler kanser yolaklarının mekanizmaları ortaya konacaktır.

3.5. İSTATİSTİK YÖNTEMLERİ

Tüm veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc. Chicago, IL, USA) ile analiz edilecektir. Her grupta ortalama (Ort) $\pm$ standart deviasyon (SD) (minimum/maksimum) değerleri olarak verilecektir. İki'den fazla grup verilerinin bir arada karşılaştırılması one way-ANOVA testi (tek yönlü varyans analizi) ile yapılacaktır. İki grup arasındaki karşılaştırma için unpaired Student t testi kullanılacaktır. P-değeri 0.05' den küçük değerler anlamlı olarak kabul edilecektir.

4. BULGULAR

4.1. RNA İZOLASYON SONUÇLARI

İzolasyon sonucunda spektrofotometre ile RNA konsantrasyonları ve saflık dereceleri belirlenmiştir. RNA konsantrasyonları 200-830 ng/uL ve OD260/280 oranı 1,9-2.1 arasındaki örnekler ile çalışılmaya devam edilmiştir.

4.2. SİNYAL YOLAK ANALİZLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

OKYHK'lı sigara içen ve sigara içmeyen hastaların tümörlü dokuları ile normal dokularındaki hücrelerinden RNA izolasyonları yapıldı. Hücre gruplarındaki gen ekspresyonunda kat değişimi (fold change) hesaplamaları log₂'ye uygun yapıldı. 2 ve üzeri ekspresyon farklılığı görülen yukarı; -2 ve altı ekspresyon farklılığı görülen aşağı regüle olan genler gösterildi.

Genlerin ifade değerleri ise 2- $\Delta\Delta CT$ hesabının kullanılması ile aşağıdaki gibi hesaplandı. Referans olarak GAPDH ve B2M genleri hesaplanarak kullanılmıştır.

$$\Delta CT = CT \text{ örnek} - CT \text{ referans ve}$$

$$\Delta\Delta CT = \Delta CT \text{ ekstraktla muamele edilmiş örnek} - \Delta CT \text{ kontrol}$$

Oral kavite YHK'lı sigara içen ve sigara içmeyen hastaların tümörlü dokuları ile normal dokularındaki hücrelerden elde edilen cDNA örneklerindeki gen değişimlerinin tespit edilmesi için kullanılan 55 kuyucuklu plaka tasarımı ile sigara içen ve içmeyen gruplar arasında anlamlı farklılık olan genlerin değişim sonuçlarını gösteren Tablolar 4.1, 4.2, 4.3, ve 4.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Sigara içen grupta PCR analizi sonucunda mRNA ifadesi azalan genlerin listesi

Genler	Sigara içen	Genler	Sigara içen
ANGPT2	-1,218943837	TBX2	-1,310068579
FLT1	-2,15602648	PPP1R15A	-3,361068671
SERPINF1	-3,488743077	CDH2	-1,506204771
APAF1	-1,659419544	DSP	-2,040256364
XIAP	-1,805557852	SNAI2	-2,254309993
CASP7	-1,132048429	SNAI1	-0,364723523
NOL3	1,193214751	SOX10	-1,323739871
STMN1	-2,223592168	ATP5A1	-1,224990115
MKI67	-1,519700434	EPO	-1,890242284
SKP2	-2,050337618	ACSL4	1,330392376
AURKA	-1,302619123	CPT2	-3,146716319
WEE1	-1,142294174	GPD2	-1,476146402
BMI1	-2,278899197	CDC37	-1,542600457
MAP2K1	-1,731537359	TP53	-4,079010409
MAP2K3	-1,416110713	HSP90AB1	1,465938169
DDB2	-1,912980901	TERF1	-1,290027643
DDIT3	-2,78032158	LPL	-1,417110675
POLB	-1,389698938	HSP90AB4P	-1,108258505
HSPB1	-1,646562698		

Tablo 4.2: Sigara içen grupta PCR analizi sonucunda mRNA ifadesi artan genlerin listesi

Genler	Sigara içen	Genler	Sigara içen
CCL2	1,229941259	SOD1	0,409858857
TEK	1,275535565	FOXC2	1,36566095
BCL2L11	0,452676108	LDHA	0,441009589
CCND3	2,294463583	G6PD	1,614811853
CDC20	1,183507877	UQCRRS1	1,205579867
E2F4	0,414300424	TNKS2	1,566555508
SERPINB2	1,18087537	TRAP1	1,268839895
ERCC5	0,367777947	CCDN2	1,52195672
TERF2IP	1,169776975	CDK4	0,440822525

Tablo 4.3: Sigara içmeyen grupta PCR analizi sonucunda mRNA ifadesi azalan genlerin listesi

Genler	Sigara içmeyen	Genler	Sigara içmeyen
ANGPT2	-2,57002005	DDB2	-0,335521298
FLT1	-1,349103218	DDIT3	-1,385199254
TEK	-0,35390853	POLB	-1,338380754
APAF1	-1,378130549	SOD1	-1,421454559
XIAP	-1,810707408	CDH2	-1,415866785
CASP7	-1,412004064	ATP5A1	-1,854439978
CCND3	-0,551011298	ACSL4	-1,156940796
CDC20	-3,67942974	UQCRFS1	-5,19819338
WEE1	-1,473941516	GPD2	-0,388610367
SERPINB2	-1,896094148	HSP90AB1	-2,373157246
MAP2K1	-0,320292773	CCDN2	-0,391121078
MAP2K3	-1,174565013	HSPB1	-1,540378017

Tablo 4.4: Sigara içmeyen grupta PCR analizi sonucunda mRNA ifadesi artan genlerin listesi

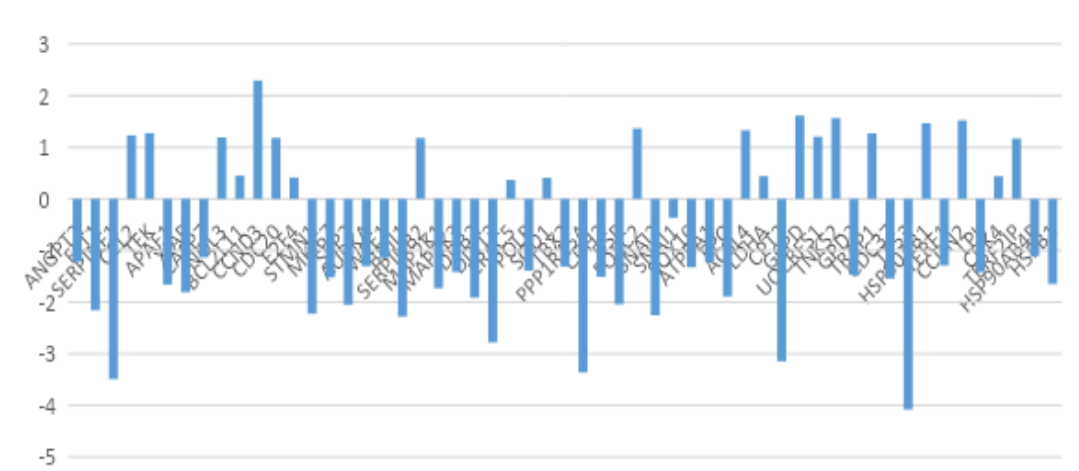
Genler	Sigara içmeyen	Genler	Sigara içmeyen
SERPINF1	2,378651277	SNAI2	2,2920501
CCL2	1,336317029	SNAI1	1,446598883
NOL3	1,44181759	SOX10	1,704488161
BCL2L11	1,306249717	EPO	2,145149608
E2F4	2,310898498	LDHA	1,152094479
STMN1	1,179052763	CPT2	1,816503401
MKI67	1,276698533	G6PD	1,466361
SKP2	1,111211462	TNKS2	1,174070519
AURKA	1,361745867	TRAP1	1,656993007
BMI1	1,263911528	CDC37	1,187793053
ERCC5	1,071563041	TP53	1,6936357
TBX2	0,409411021	LPL	1,259434559
PPP1R15A	4,573960482	CDK4	1,384644485
DSP	1,208206104	TERF2IP	1,256185098
FOXC2	2,024021058	HSP90AB4P	1,29643751

4.2.1. Sigara İçen Grubun Sonuçları

Sigara içen hastalardan toplanan dokular aynı hastaların normal dokuları ile karşılaştırılmıştır. RT-qPCR sonucunda elde edilen ifade sonuçları Tablo 4.5 ve 4.6.'da verilmiştir. Anlamlı farklılık görülen genler belirlenmiş, Reactom ve Enrichr programları kullanılarak gen zenginleştirme analizleri yapılmıştır.

Tablo 4.5: Sigara içen gruptaki genlerin ifade sonuçları

Genler	Sigara içen	Genler	Sigara içen
ANGPT2	-1,218943837	PPP1R15A	-3,361068671
FLT1	-2,15602648	CDH2	-1,506204771
SERPINF1	-3,488743077	DSP	-2,040256364
CCL2	1,229941259	FOXC2	1,36566095
TEK	1,275535565	SNAI2	-2,254309993
APAF1	-1,659419544	SNAI1	-0,364723523
XIAP	-1,805557852	SOX10	-1,323739871
CASP7	-1,132048429	ATP5A1	-1,224990115
NOL3	1,193214751	EPO	-1,890242284
BCL2L11	0,452676108	ACSL4	1,330392376
CCND3	2,294463583	LDHA	0,441009589
CDC20	1,183507877	CPT2	-3,146716319
E2F4	0,414300424	G6PD	1,614811853
STMN1	-2,223592168	UQCRCF1	1,205579867
MKI67	-1,519700434	TNKS2	1,566555508
SKP2	-2,050337618	GPD2	-1,476146402
AURKA	-1,302619123	TRAP1	1,268839895
WEE1	-1,142294174	CDC37	-1,542600457
BMI1	-2,278899197	TP53	-4,079010409
SERPINB2	1,18087537	HSP90AB1	1,465938169
MAP2K1	-1,731537359	TERF1	-1,290027643
MAP2K3	-1,416110713	CCDN2	1,52195672
DDB2	-1,912980901	LPL	-1,417110675
DDIT3	-2,78032158	CDK4	0,440822525
ERCC5	0,367777947	TERF2IP	1,169776975
POLB	-1,389698938	HSP90AB4P	-1,108258505
SOD1	0,409858857	HSPB1	-1,646562698
TBX2	-1,310068579		

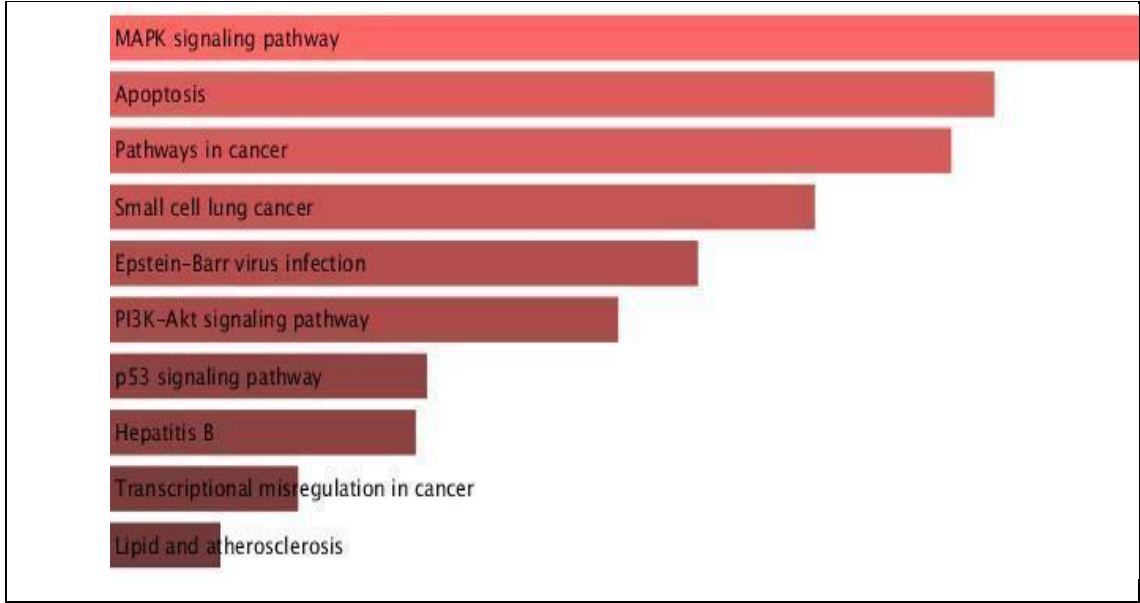
Tablo 4.6: Sigara içen grupta genlerin ekspresyon sonuçları

Çalışmamızda elde edilen sinyal yolak analiz sonuçlarında, sigara içenlerde tümör dokusunda normal dokuya göre 0.5 kattan daha fazla azalan ve 2 kattan daha fazla artan genler anlamlı olarak değerlendirildi. Enrichr ve KEGG 2021 HUMAN veri tabanlarında değerlendirilmiştir ve analizi alınan genler Tablo 4.7.'de verilmiştir.

Tablo 4.7: Enrichr analizine alınan genler

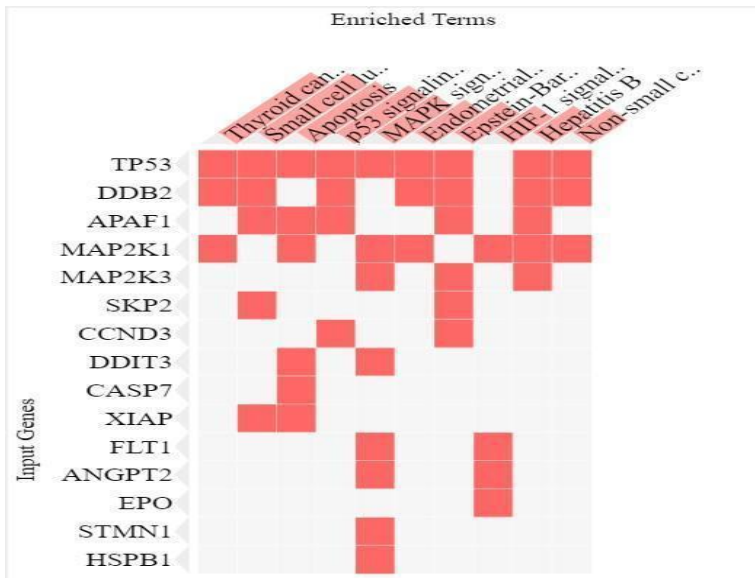
Enrichr Analizine Alınan Genler	Enrichr Analizine Alınan Genler
ANGPT2	POLB
FLT1	TBX2
SERPINF1	PPP1R15A
APAF1	CDH2
XIAP	DSP
CASP7	SNAI2
CCND3	SOX10
STMN1	ATP5A1
MKI67	EPO
SKP2	CPT2
AURKA	GPD2
WEE1	CDC37
BMI1	TP53
MAP2K1	TERF1
MAP2K3	LPL
DDB2	HSP90AB4P
DDIT3	HSPB1

Sigara içen grupta Enrichr veri tabanında yapılan genlerin kanser yolak analizi sonucu en çok MAPK sinyal yolağı, apoptozis, çeşitli farklı kanser yolakları, küçük hücreli kanser, EBV enfeksiyon, PI3K-Akt sinyal yolağı ve p53 sinyal yolağının en sık etkilendiği görülmüştür (Şekil 4.1.).

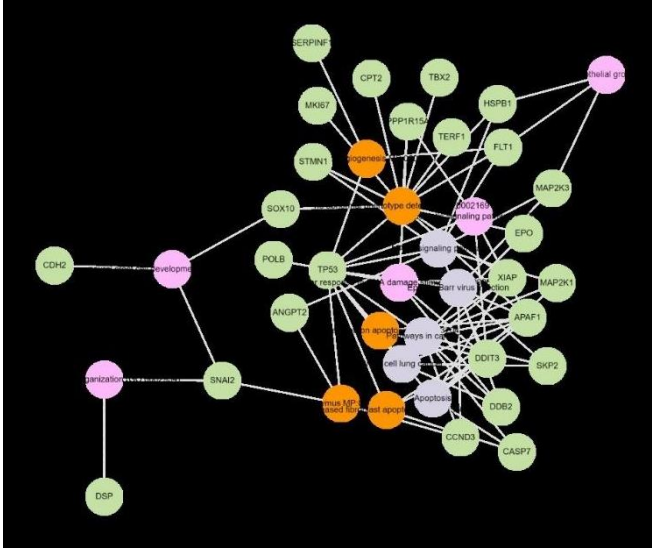


Şekil 4.1: Sigara içen grubumuzun Enrichr KEGG veri tabanında elde edilen Bar Grafik olarak gösterilen genel sinyal yolları analiz sonucu

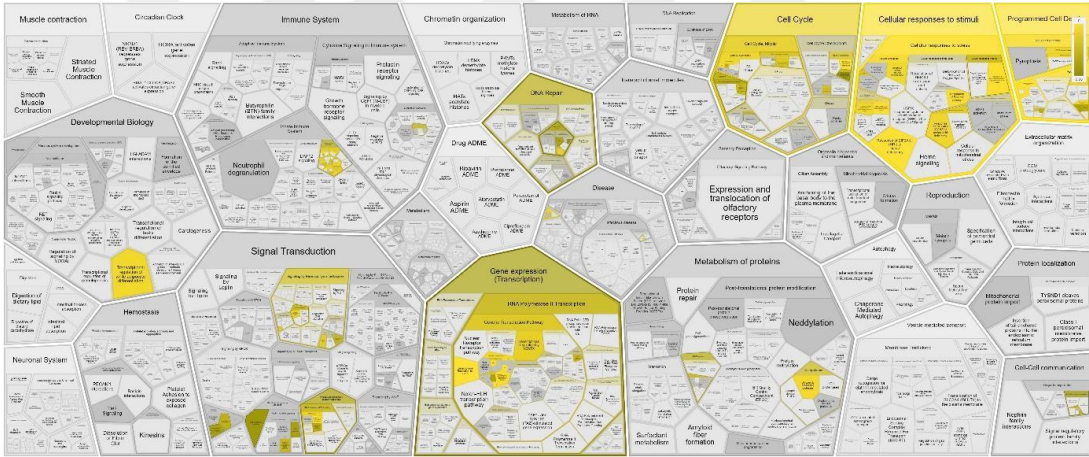
Sigara içen grupla ilişkili genlerin sinyal yolak analiz sonuçları Enrichr ve Reactome veri tabanlarında değerlendirilmiştir. Enrichr KEGG veri tabanından elde edilen sonuçlar Şekil 4.2’de, Reactome veri tabanından elde edilen sonuçlar ise sırasıyla Şekil 4.3, Şekil 4.4. ve Şekil 4.5’te verilmiştir.



Şekil 4.2: Enrichr KEGG veri tabanında clustergramda gösterilen genler ve sinyal yolak analiz sonuçları



Şekil 4.3: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolak analizleri sonuçları



Şekil 4.4: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolak analizleri

The following table shows the 25 most relevant pathways sorted by p-value.

Pathway name	Entities				Reactions	
	found	ratio	p-value	FDR*	found	ratio
Response of EIF2AK1 (HRI) to heme deficiency	6 / 29	0.002	6.18e 10	2.74e 07	10 / 20	0.001
Cellular responses to stress	15 / 1,037	0.067	5.36e 07	9.87e 05	41 / 500	0.034
Cellular responses to stimuli	15 / 1,055	0.068	6.67e 07	9.87e 05	41 / 531	0.036
SMAC (DIABLO) binds to IAPs	3 / 7	4.50e 04	1.75e 06	1.54e 04	4 / 4	2.69e 04
SMAC(DIABLO)-mediated dissociation of IAP:caspase complexes	3 / 7	4.50e 04	1.75e 06	1.54e 04	3 / 3	2.02e 04
SMAC, XIAP-regulated apoptotic response	3 / 8	5.14e 04	2.61e 06	1.64e 04	10 / 10	6.72e 04
Activation of caspases through apoptosome-mediated cleavage	3 / 8	5.14e 04	2.61e 06	1.64e 04	2 / 2	1.34e 04
Cytochrome c-mediated apoptotic response	3 / 15	9.63e 04	1.69e 05	9.32e 04	11 / 12	8.06e 04
TP53 Regulates Transcription of Caspase Activators and Caspases	3 / 20	0.001	3.97e 05	0.002	12 / 17	0.001
Intrinsic Pathway for Apoptosis	4 / 64	0.004	5.65e 05	0.002	25 / 63	0.004
Apoptotic factor-mediated response	3 / 23	0.001	6.00e 05	0.002	21 / 28	0.002
Regulation of TP53 Expression	2 / 4	2.57e 04	8.02e 05	0.003	5 / 5	3.36e 04
Programmed Cell Death	6 / 238	0.015	1.14e 04	0.004	38 / 193	0.013
Apoptosis	5 / 193	0.012	3.90e 04	0.012	32 / 142	0.01
Transcriptional Regulation by E2F6	3 / 46	0.003	4.55e 04	0.013	4 / 33	0.002
Formation of apoptosome	2 / 13	8.35e 04	8.31e 04	0.021	9 / 10	6.72e 04
Regulation of the apoptosome activity	2 / 13	8.35e 04	8.31e 04	0.021	5 / 6	4.03e 04
Transcriptional Regulation by TP53	7 / 484	0.031	8.66e 04	0.021	166 / 258	0.017
ATF6 (ATF6-alpha) activates chaperone genes	2 / 15	9.63e 04	0.001	0.024	1 / 5	3.36e 04
Regulation of gene expression by Hypoxia-inducible Factor	2 / 15	9.63e 04	0.001	0.024	1 / 7	4.70e 04
Regulation of PTEN gene transcription	3 / 68	0.004	0.001	0.028	4 / 15	0.001
ATF6 (ATF6-alpha) activates chaperones	2 / 17	0.001	0.001	0.028	1 / 10	6.72e 04
Regulated Necrosis	3 / 76	0.005	0.002	0.035	6 / 52	0.003
Regulation of BACH1 activity	2 / 20	0.001	0.002	0.035	3 / 8	5.37e 04

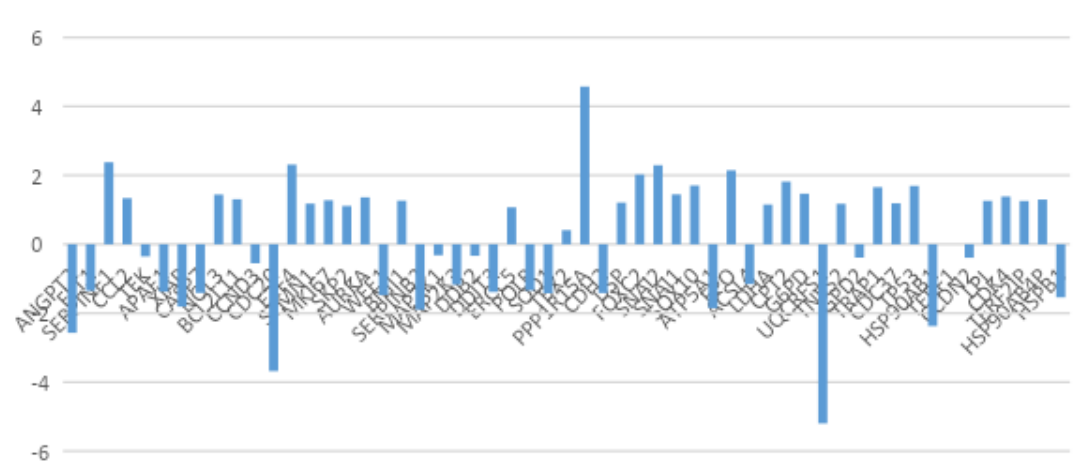
Şekil 4.5: Reactome veritabanında ilişkilendirildiği yollar

4.2.2. Sigara İçmeyen Grubun Sonuçları

Sigara içmeyen hastalarından toplanan dokular aynı hastaların normal dokuları ile karşılaştırılmıştır. RT-qPCR sonucunda elde edilen ifade sonuçları Tablo 4.8 ve 4.9.'da verilmiştir. Anlamlı farklılık görülen genler belirlenmiş, Reactom ve Enrichr programları kullanılarak gen zenginleştirme analizleri yapılmıştır.

Tablo 4.8: Sigara içmeyen gruptaki genlerin ifade sonuçları

Genler	Sigara içmeyen	Genler	Sigara içmeyen
ANGPT2	-2,57002005	PPP1R15A	4,573960482
FLT1	-1,349103218	CDH2	-1,415866785
SERPINF1	2,378651277	DSP	1,208206104
CCL2	1,336317029	FOXC2	2,024021058
TEK	-0,35390853	SNAI2	2,2920501
APAF1	-1,378130549	SNAI1	1,446598883
XIAP	-1,810707408	SOX10	1,704488161
CASP7	-1,412004064	ATP5A1	-1,854439978
NOL3	1,44181759	EPO	2,145149608
BCL2L11	1,306249717	ACSL4	-1,156940796
CCND3	-0,551011298	LDHA	1,152094479
CDC20	-3,67942974	CPT2	1,816503401
E2F4	2,310898498	G6PD	1,466361
STMN1	1,179052763	UQCERS1	-5,19819338
MKI67	1,276698533	TNKS2	1,174070519
SKP2	1,111211462	GPD2	-0,388610367
AURKA	1,361745867	TRAP1	1,656993007
WEE1	-1,473941516	CDC37	1,187793053
BMI1	1,263911528	TP53	1,6936357
SERPINB2	-1,896094148	HSP90AB1	-2,373157246
MAP2K1	-0,320292773	TERF1	#DEĞER!
MAP2K3	-1,174565013	CCDN2	-0,391121078
DDB2	-0,335521298	LPL	1,259434559
DDIT3	-1,385199254	CDK4	1,384644485
ERCC5	1,071563041	TERF2IP	1,256185098
POLB	-1,338380754	HSP90AB4P	1,29643751
SOD1	-1,421454559	HSPB1	-1,540378017
TBX2	0,409411021		

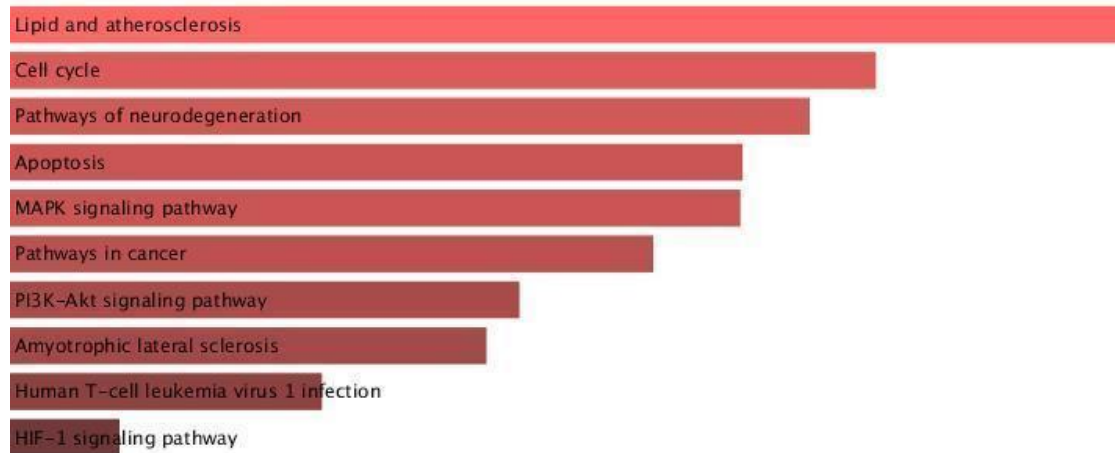
Tablo 4.9: Sigara içmeyen grupta genlerin ekspresyon sonuçları

Çalışmamızda elde edilen sinyal yolak analiz sonuçlarında, sigara içmeyenlerde tümör dokusunda normal dokuya göre 0.5 kattan daha fazla azalan ve 2 kattan daha fazla artan genler anlamlı olarak değerlendirilmiştir, Enrichr ve KEGG 2021 HUMAN veri tabanlarında değerlendirilmiştir ve analizi alınan genler Tablo 4.10.'da verilmiştir.

Tablo 4.10: Enrichr analizine alınan genler

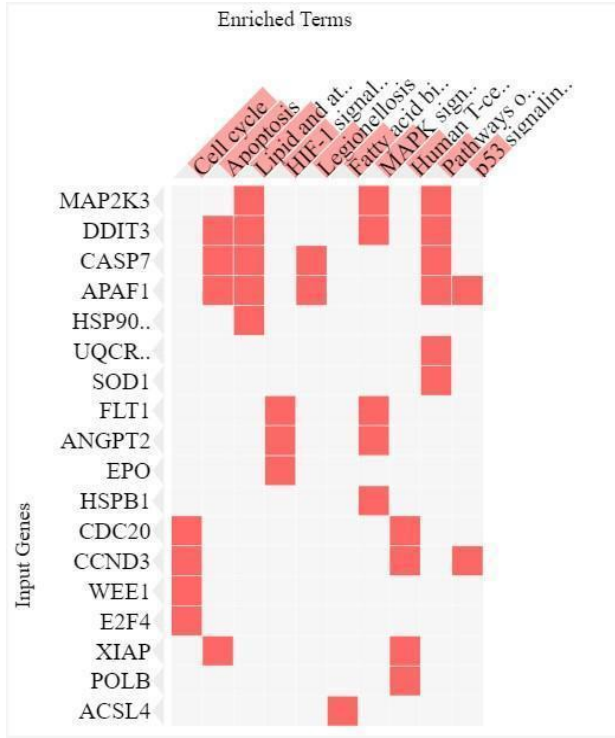
Enrichr Analizine Alınan Genler	Enrichr Analizine Alınan Genler
ANGPT2	POLB
FLT1	SOD1
SERPINF1	PPP1R15A
APAF1	CDH2
XIAP	FOXC2
CASP7	SNAI2
CCND3	ATP5A1
CDC20	EPO
E2F4	ACSL4
WEE1	UQCRRF1
SERPINB2	HSPB1
MAP2K3	HSP90AB1
DDIT3	

Sigara içmeyen grupta Enrichr veri tabanında yapılan genlerin kanser yolak analizi sonucu en çok lipid ve ateroskleroz, hücre sirkülasyonu, nörodejenratif yollar, apoptozis, MAPK sinyal yolağı, PI3K-Akt sinyal yolağı, Amyotrofik lateral skleroz, Human T hücreli lösemi ve HIF-1 sinyal yolağı etkilendiği görülmüştür (Şekil 4.6).

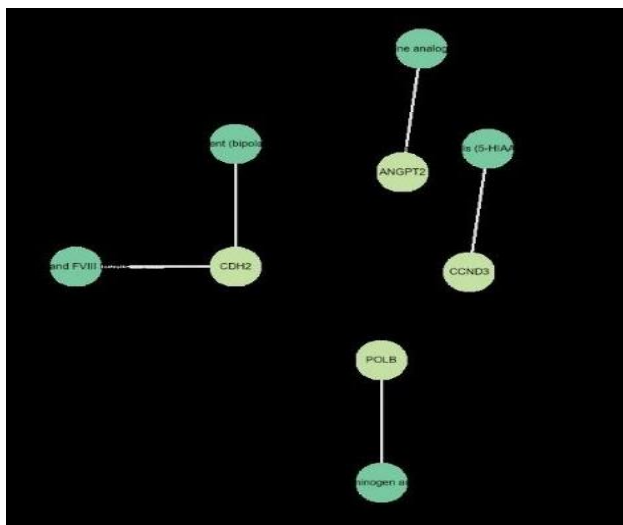


Şekil 4.6: Sigara içmeyen grubumuzun Enrich KEGG veri tabanında Bar Grafik olarak gösterilen genel sinyal yolları analiz sonucu

Sigara içmeyen grupla ilişkili genlerin sinyal yolak analiz sonuçları Enrich ve Reactome veri tabanlarında değerlendirilmiştir. Enrich KEGG veri tabanından elde edilen sonuçlar Şekil 4.7’de, Reactome veri tabanından elde edilen sonuçlar ise sırasıyla Şekil 4.8, Şekil 4.9 ve Şekil 4.10’da verilmiştir.



Şekil 4.7: Enrich KEGG veri tabanında clustergramda gösterilen genler ve sinyal yolak analiz sonuçları



Şekil 4.8: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolak analizleri

The following table shows the 25 most relevant pathways sorted by p-value.

Pathway name	Entities				Reactions	
	found	ratio	p-value	FDR*	found	ratio
Response of EIF2AK1 (HRI) to heme deficiency	6 / 29	0.002	9.23e-11	2.80e-08	10 / 20	0.001
Cellular responses to stress	13 / 1,037	0.067	3.93e-07	4.19e-05	60 / 500	0.034
Cellular responses to stimuli	13 / 1,055	0.068	4.78e-07	4.19e-05	60 / 531	0.036
SMAC (DIABLO) binds to IAPs	3 / 7	4.50e-04	6.98e-07	4.19e-05	4 / 4	2.69e-04
SMAC(DIABLO)-mediated dissociation of IAP:caspase complexes	3 / 7	4.50e-04	6.98e-07	4.19e-05	3 / 3	2.02e-04
SMAC, XIAP-regulated apoptotic response	3 / 8	5.14e-04	1.04e-06	4.47e-05	10 / 10	6.72e-04
Activation of caspases through apoptosome-mediated cleavage	3 / 8	5.14e-04	1.04e-06	4.47e-05	2 / 2	1.34e-04
Cytochrome c-mediated apoptotic response	3 / 15	9.63e-04	6.78e-06	2.51e-04	11 / 12	8.06e-04
Apoptotic factor-mediated response	3 / 23	0.001	2.41e-05	7.96e-04	21 / 28	0.002
Gene and protein expression by JAK-STAT signaling after Interleukin-12 stimulation	4 / 73	0.005	2.82e-05	8.46e-04	2 / 36	0.002
Interleukin-12 signaling	4 / 84	0.005	4.85e-05	0.001	2 / 56	0.004
Interleukin-12 family signaling	4 / 96	0.006	8.11e-05	0.002	2 / 114	0.008
Formation of apoptosome	2 / 13	8.35e-04	4.55e-04	0.01	9 / 10	6.72e-04
Regulation of the apoptosome activity	2 / 13	8.35e-04	4.55e-04	0.01	5 / 6	4.03e-04
Intrinsic Pathway for Apoptosis	3 / 64	0.004	4.86e-04	0.01	21 / 63	0.004
ATF6 (ATF6-alpha) activates chaperone genes	2 / 15	9.63e-04	6.04e-04	0.01	1 / 5	3.36e-04
Regulation of gene expression by Hypoxia-inducible Factor	2 / 15	9.63e-04	6.04e-04	0.01	1 / 7	4.70e-04
ATF6 (ATF6-alpha) activates chaperones	2 / 17	0.001	7.74e-04	0.012	1 / 10	6.72e-04
TP53 Regulates Transcription of Caspase Activators and Caspases	2 / 20	0.001	0.001	0.016	2 / 17	0.001
Response of EIF2AK4 (GCN2) to amino acid deficiency	3 / 115	0.007	0.003	0.039	5 / 16	0.001
ATF4 activates genes in response to endoplasmic reticulum stress	2 / 34	0.002	0.003	0.042	1 / 7	4.70e-04
PERK regulates gene expression	2 / 42	0.003	0.005	0.059	1 / 11	7.39e-04
HSF1 activation	2 / 43	0.003	0.005	0.062	4 / 7	4.70e-04

Şekil 4.10: Reactome veritabanında ilişkilendirildiği yollar

4.2.3. Sigara İçen ve İçmeyen Grupların Karşılaştırma Sonuçları

Sigara içen ve sigara içmeyen grupların PCR sonuçları birbirleri ile karşılaştırılmış, elde edilen ifade sonuçları Tablo 4.11.'de verilmiştir. Reactom ve Enrichr programları kullanılarak gen zenginleştirme analizleri yapılmıştır.

Tablo 4.11: Sigara içen ve içmeyen gruplar arasında anlamlı farklılık olan genlerin ifade sonuçları

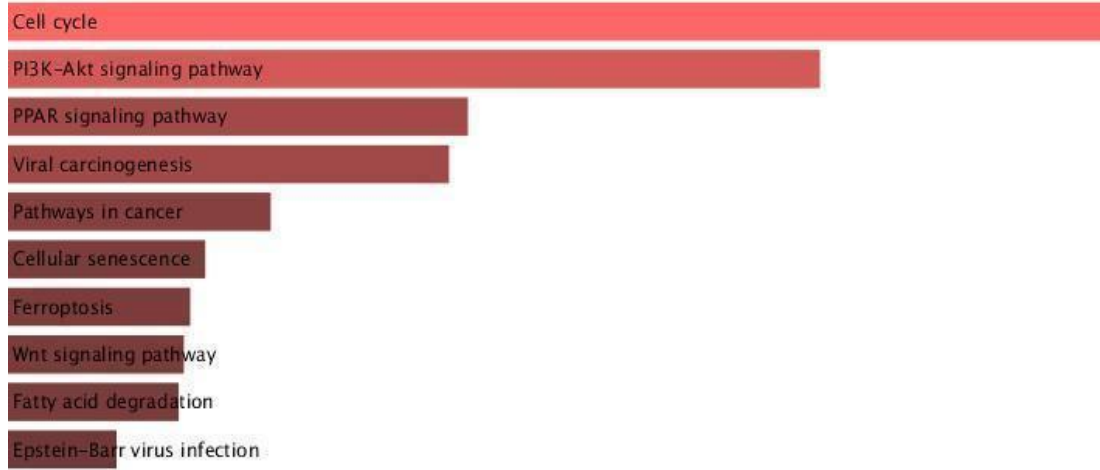


Çalışmamızda elde edilen sinyal yolak analiz sonuçlarında, sigara içenler ve sigara içmeyenler arasında tümör dokusunda anlamlı fark olan genler değerlendirildi. Enrichr ve KEGG 2021 HUMAN veri tabanlarında değerlendirilmiştir ve analizi alınan genler Tablo 4.12.'de verilmiştir.

Tablo 4.12: Enrichr analizine alınan genler

Enrichr Analizine Alınan Genler	Enrichr Analizine Alınan Genler
SERPINF1	DSP
TEK	SNAI2
CCND3	SNAI1
CDC20	SOX10
E2F4	EPO
STMN1	ACSL4
MKI67	CPT2
SKP2	UQCRRF51
AURKA	CDC37
BMI1	TP53
SERPINB2	HSP90AB1
SOD1	CCDN2
TBX2	LPL
PPP1R15A	HSP90AB4P

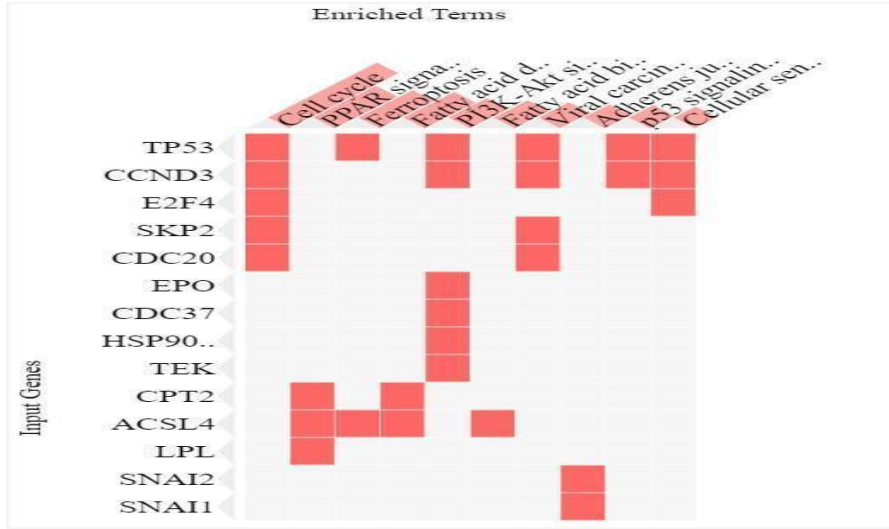
Sigara içen ve içmeyen gruplara arası ortak ilişkili Enrichr veri tabanında yapılan genlerin kanser yolak analizi sonucu en çok hücre sirkülasyonu, PI3K-Akt sinyal yolağı, PPAR sinyal yolağı, viral karsinogenezis, hücresel yaşlanma, ferroptosis, Wnt sinyal yolağı, yağ asit degradasyonu ve Epstein-Bar virus enfeksiyon sinyal yolağı etkilendiği görülmüştür (Şekil 4.11).



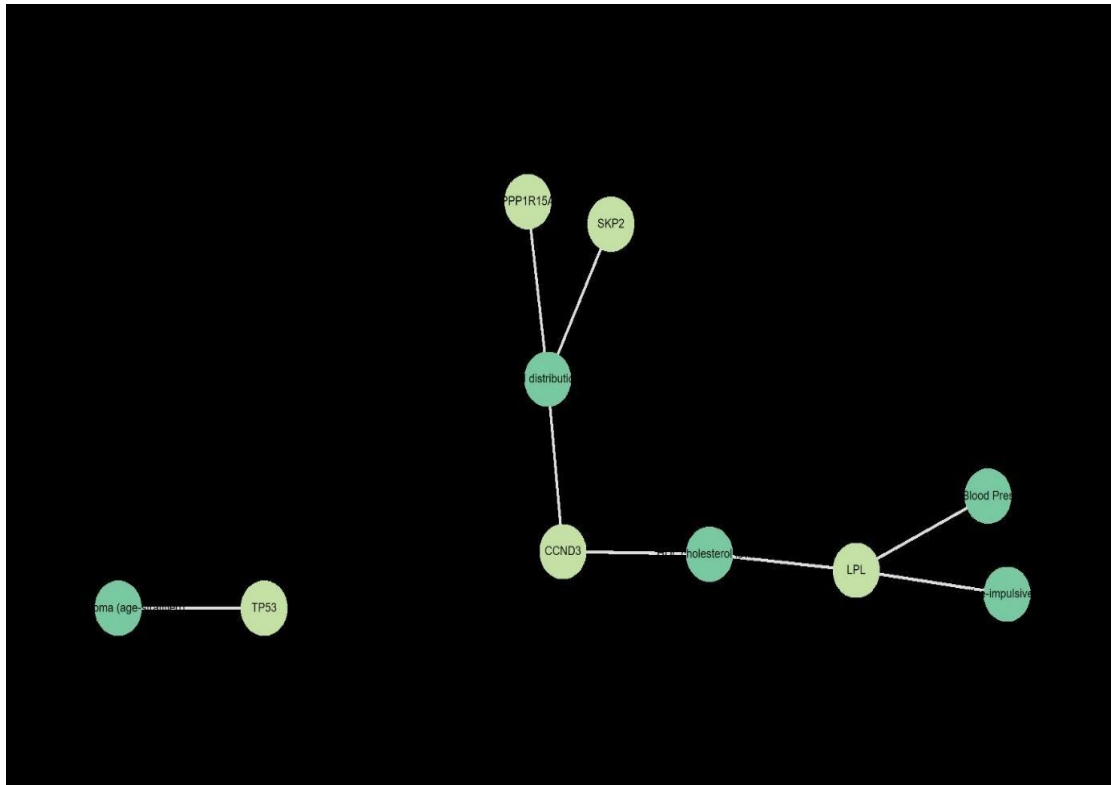
Şekil 4.11: Sigara içen ve içmeyen gruplara arası ortak ilişkili genlerin Enrichr KEGG veri tabanında bar grafik olarak gösterilen genel sinyal yolları analiz sonucu

Sigara içen ve içmeyen gruplara arası ortak ilişkili genlerin sinyal yolak analiz sonuçları Enrichr ve Reactome veri tabanlarında değerlendirilmiştir. Enrichr veri

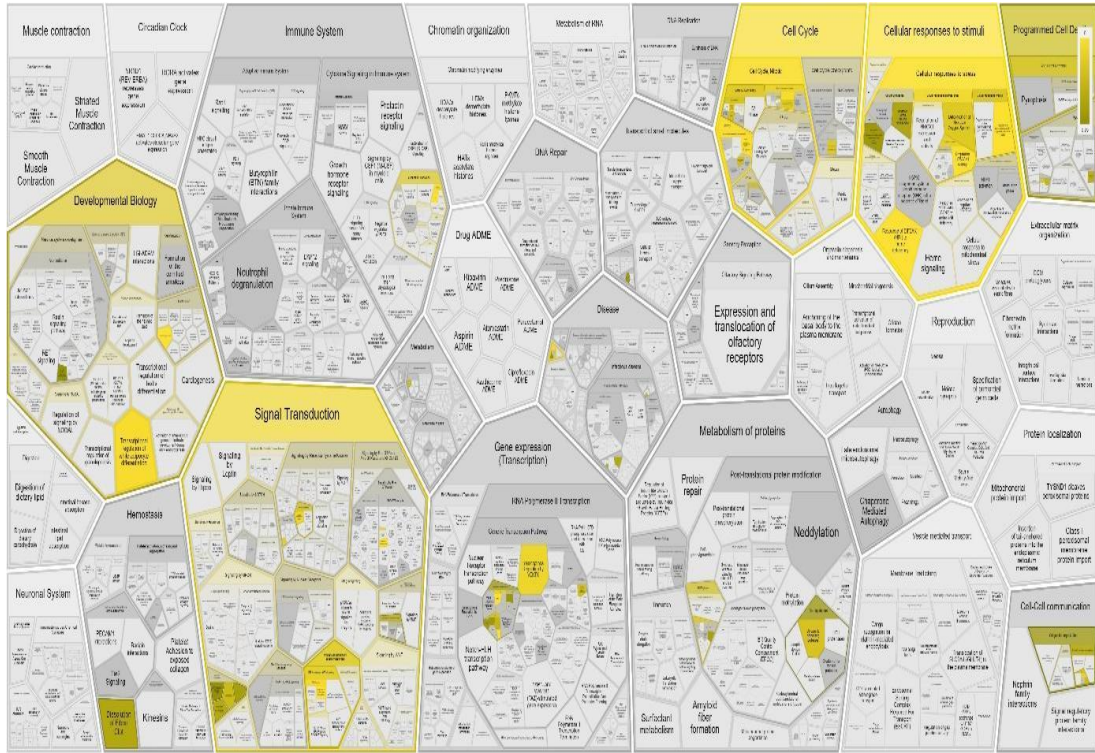
tabanından elde edilen sonuçlar Şekil 4.12’de, Reactome veri tabanından elde edilen sonuçlar ise sırasıyla Şekil 4.13, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15’te verilmiştir.



Şekil 4.12: Enrich KEGG veri tabanında clustergramda elde edilen genler ve sinyal yolak analiz sonuçları



Şekil 4.13: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolak analizleri.



Şekil 4.14: Reactome veri tabanından elde edilen sinyal yolak analizleri

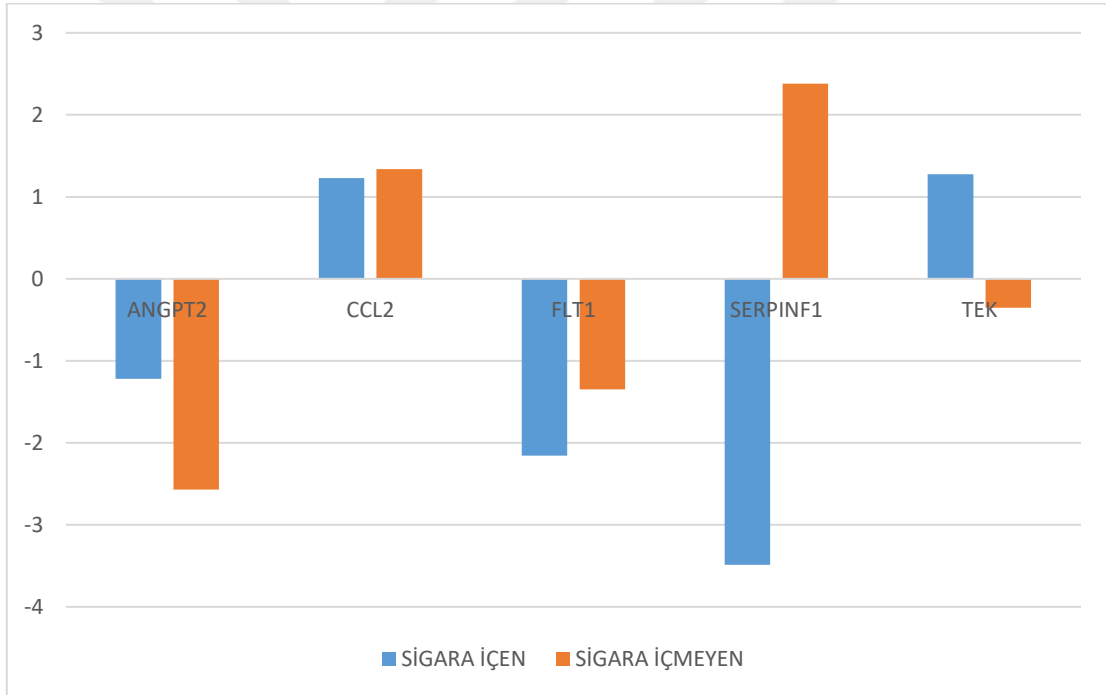
The following table shows the 25 most relevant pathways sorted by p-value.

Pathway name	Entities				Reactions	
	found	ratio	p-value	FDR*	found	ratio
Cellular responses to stress	12 / 1,037	0.067	1.27e-05	0.003	55 / 500	0.034
Cellular responses to stimuli	12 / 1,055	0.068	1.51e-05	0.003	55 / 531	0.036
TP53 Regulates Transcription of Genes Involved in G2 Cell Cycle Arrest	3 / 21	0.001	2.71e-05	0.003	7 / 11	7.39e-04
Regulation of PTEN gene transcription	4 / 68	0.004	3.57e-05	0.003	4 / 15	0.001
Gene and protein expression by JAK-STAT signaling after Interleukin-12 stimulation	4 / 73	0.005	4.69e-05	0.004	2 / 36	0.002
Regulation of TP53 Expression	2 / 4	2.57e-04	5.64e-05	0.004	5 / 5	3.36e-04
Response of EIF2AK1 (HRI) to heme deficiency	3 / 29	0.002	7.02e-05	0.004	3 / 20	0.001
Interleukin-12 signaling	4 / 84	0.005	8.05e-05	0.004	2 / 56	0.004
Interleukin-12 family signaling	4 / 96	0.006	1.34e-04	0.006	2 / 114	0.008
Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) during gastrulation	2 / 8	5.14e-04	2.24e-04	0.009	5 / 5	3.36e-04
Cyclin D associated events in G1	3 / 52	0.003	3.88e-04	0.012	13 / 17	0.001
G1 Phase	3 / 52	0.003	3.88e-04	0.012	13 / 17	0.001
TP53 Regulates Transcription of Cell Cycle Genes	3 / 65	0.004	7.39e-04	0.021	25 / 42	0.003
Regulation of gene expression by Hypoxia-inducible Factor	2 / 15	9.63e-04	7.79e-04	0.021	1 / 7	4.70e-04
Cell Cycle, Mitotic	7 / 596	0.038	9.98e-04	0.025	94 / 357	0.024
APC/C:Cdh1 mediated degradation of Cdc20 and other APC/C:Cdh1 targeted proteins in late mitosis/early G1	3 / 74	0.005	0.001	0.025	6 / 6	4.03e-04
PTEN Regulation	4 / 169	0.011	0.001	0.025	4 / 56	0.004
Regulation of BACH1 activity	2 / 20	0.001	0.001	0.029	3 / 8	5.37e-04
Regulation of MITF-M-dependent genes involved in cell cycle and proliferation	2 / 22	0.001	0.002	0.033	2 / 17	0.001
RHOBTB2 GTPase cycle	2 / 24	0.002	0.002	0.034	1 / 2	1.34e-04
Regulation of mitotic cell cycle	3 / 92	0.006	0.002	0.034	29 / 40	0.003
APC/C-mediated degradation of cell cycle proteins	3 / 92	0.006	0.002	0.034	29 / 40	0.003

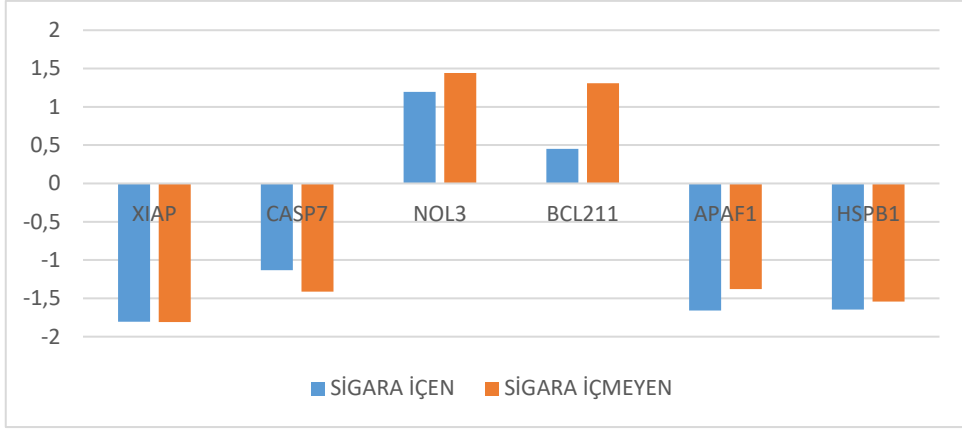
Şekil 4.15: Reactome veritabanında ilişkilendirildiği yollar

Sigara içen ve sigara içmeyen grupların gen değişimleri her yolak için ayrı ayrı sütun grafiklerinde verilmiştir. Anjiyogenez ilişkili *ANGPT2*, *CCL2*, *FLT1*, *SERPINF1* ve *TEK* genlerinin değişimleri Şekil 416.'da, apoptoz ilişkili *APAF1*, *XIAP*, *CASP7*,

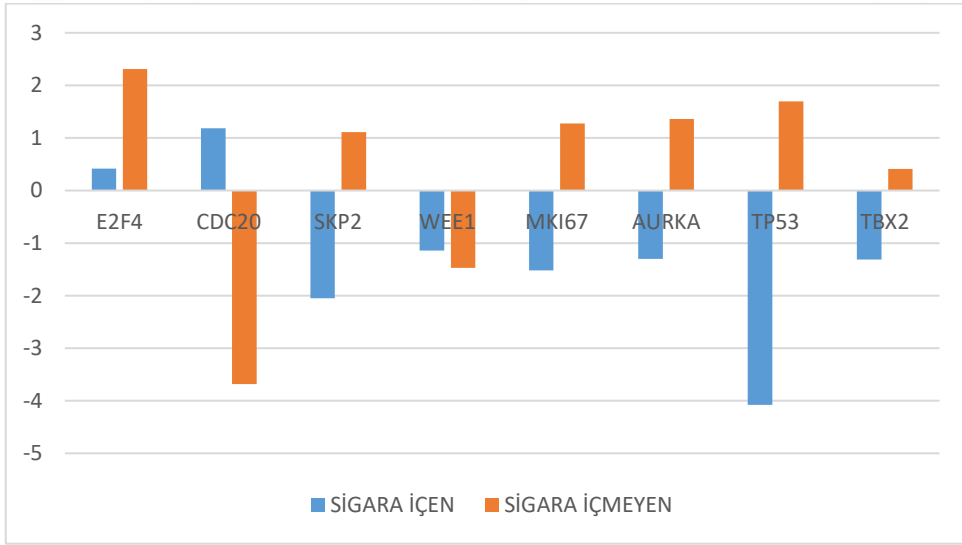
NOL3, *HSPB1* ve *BCL2L11* genlerinin değişimleri Şekil 4.17’de, hücre döngüsü ilişkili *E2F4*, *CDC20*, *SKP2*, *WEE1*, *MKI67*, *TP53*, *TBX2* ve *AURKA* genlerinin değişimleri Şekil 4.18’de, hücre senesesi ilişkili *BM11*, *SERPINB2*, *CCDN3*, *MAP2K3* ve *MAP2K1* genlerinin değişimleri Şekil 4.19’da, DNA hasar ve onarım ilişkili *DDB2*, *DDIT3*, *ERCC5*, *PPPIR15A* ve *POLB* genlerinin değişimleri Şekil 4.20’de, EMT ilişkili *STMN1*, *CDH2*, *DSP*, *FOXC2*, *SNAI1*, *SNAI2* ve *SOX10* genlerinin değişimleri Şekil 4.21’de, hipoksi ilişkili *EPO*, *SOD1* ve *LDHA* genlerinin değişimleri Şekil 4.22’de, metabolizma ilişkili *ACSL4*, *ATP5A1*, *CPT2*, *G6PD*, *UQCERS1*, *GPD2*, *TRAP1* ve *LPL* genlerinin değişimleri Şekil 4.23’de, telomer ve telomerase ilişkili *TERF2IP*, *TERF1* genlerinin değişimleri Şekil 4.24’de, HSP ilişkili *CDC37*, *CDK4*, *HSP90AB1* ve *HSP90AB4P* genlerinin değişimleri Şekil 4.25’te verilmiştir.



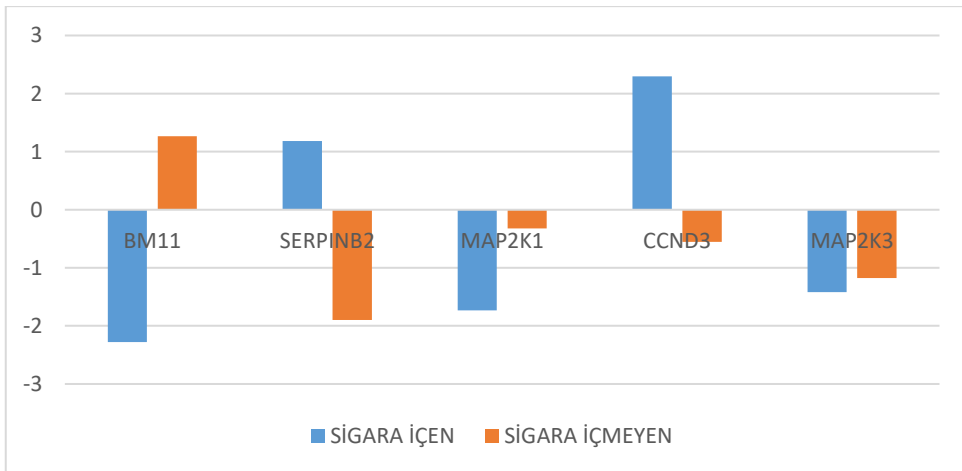
Şekil 4.16: Anjiyogenez ilişkili genlerdeki değişimler



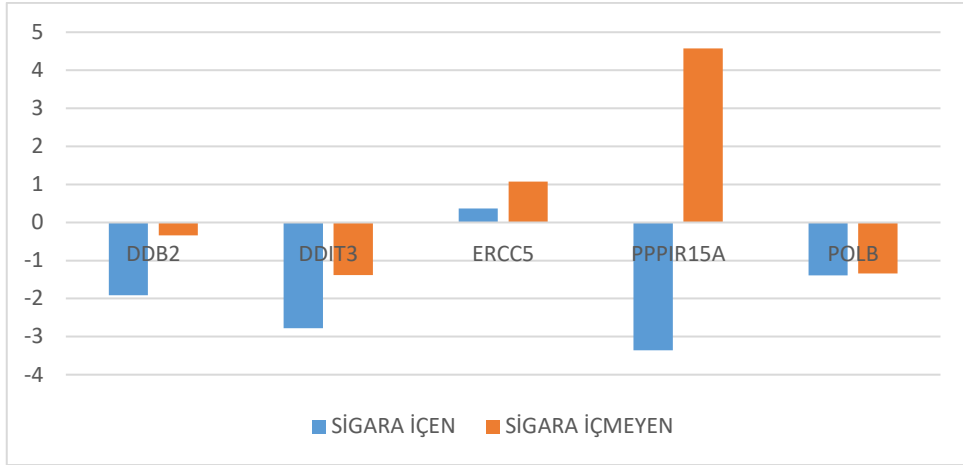
Şekil 4.17: Apoptoz ilişkili genlerdeki değişimler



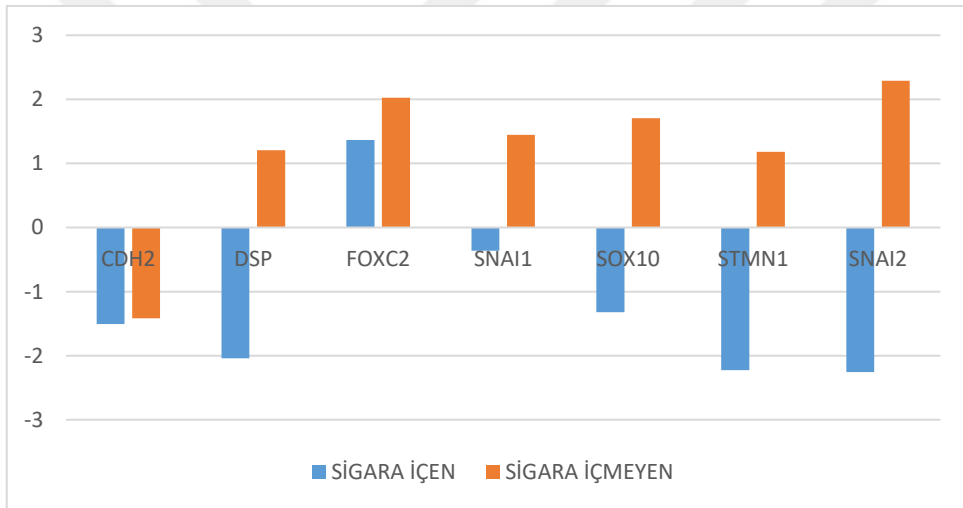
Şekil 4.18: Hücre döngüsü ilişkili genlerdeki değişimler



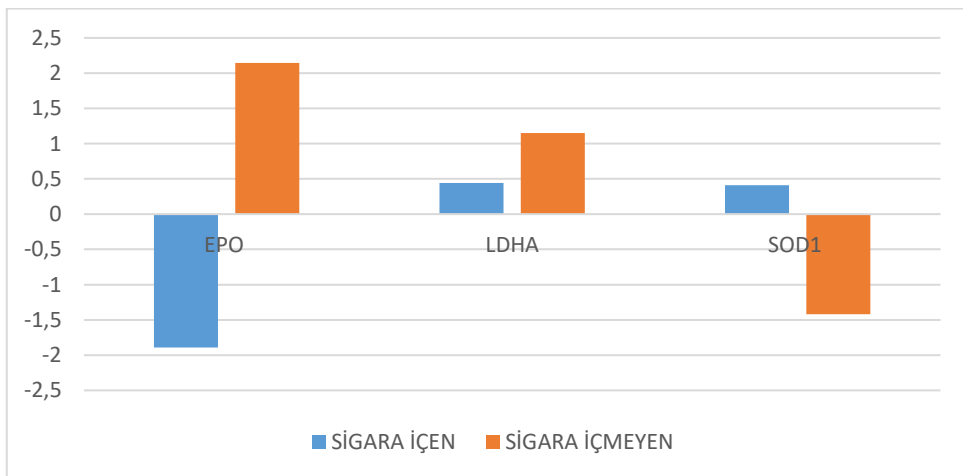
Şekil 4.19: Hücresel yaşlanma ilişkili genlerdeki değişimler



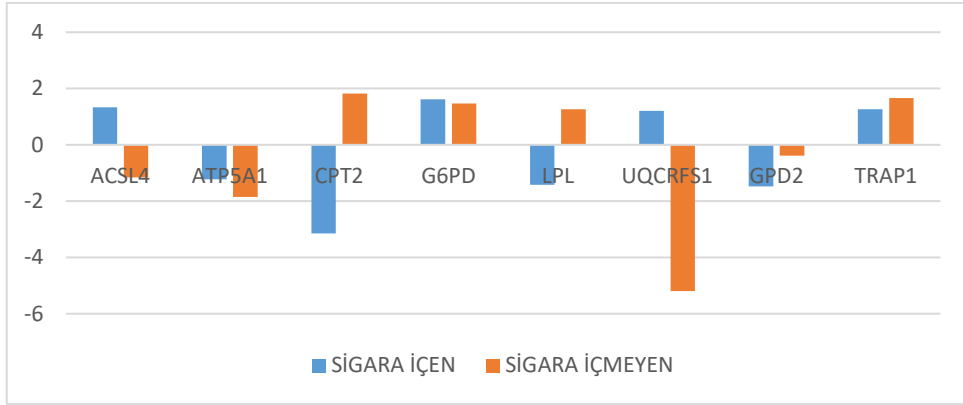
Şekil 4.20: DNA hasarı ve onarımı ilişkili genlerdeki değişimler



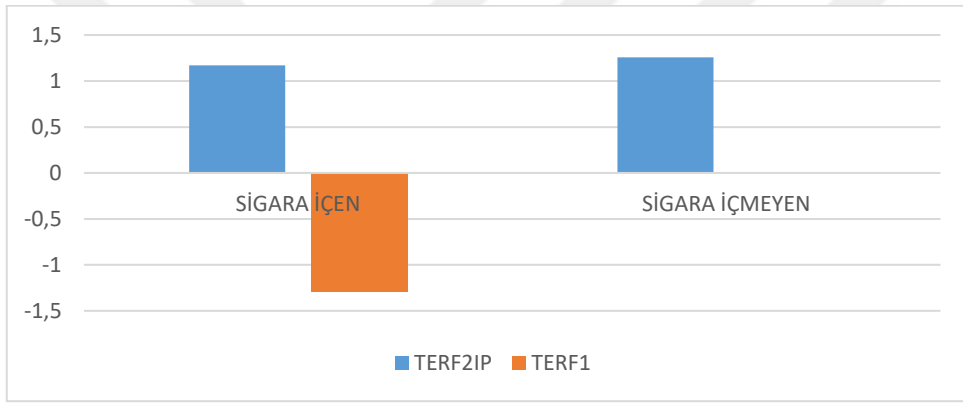
Şekil 4.21: EMT ilişkili genlerdeki değişimler



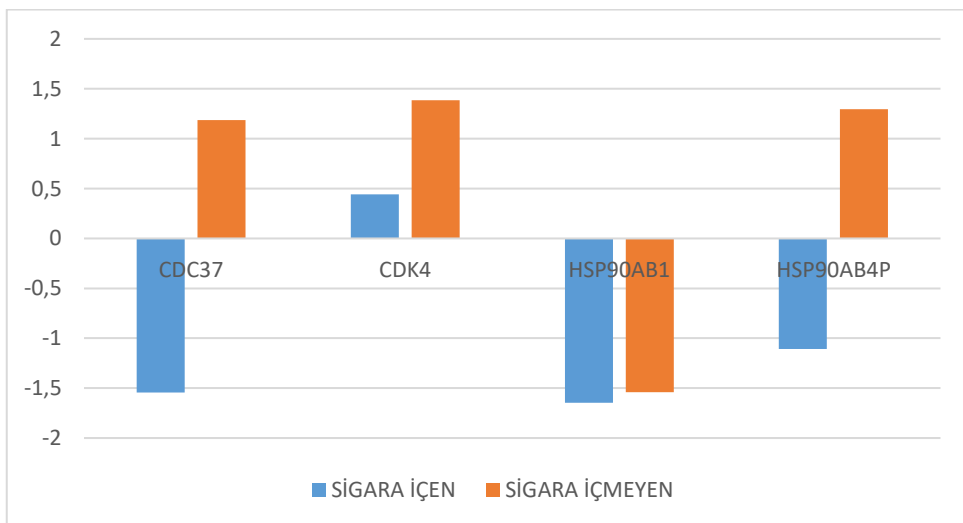
Şekil 4.22: Hipoksi ilişkili genlerdeki değişimler



Şekil 4.23: Metabolizma ilişkili genlerdeki değişimler



Şekil 4.24: Telomeraz ilişkili genlerdeki değişimler



Şekil 4.25: HSP ilişkili genlerdeki değişimler

5. TARTIŞMA

Dünyada 2018 yılı verilerine göre yaklaşık 800.000 yeni BBK tespit edilmiş ve bunların yaklaşık 350.000'ini oral kavite kanserleri oluşturmuştur (66). En sık tipi OKYHK ve en sık Asya kıtasında görülmektedir. OKYHK'lar baş ve boyun tüm kanserleri arasında en sık görülen malignitelerden biridir. Tümör oluşumu genellikle sigara içme, ağır alkol tüketimi gibi alışkanlıklar, dumansız tütün kullanımı, tembul fındık tüketimi, kötü beslenme alışkanlıkları, immün yetmezlik ve Fanconi anemisi, Li-Fraumeni sendromu gibi durumlar ve ataksi telenjiektazi gibi genetik yatkınlıklar ile ilişkilidir (67-68). Son zamanlarda net etyolojik ilişkileri tespit edilmemiş farklı kohortlar tanımlanmış olup bunların içinde sigara içmeyen-alkol kullanmayan (SAİ) bir grup hasta mevcuttur (4). Tüm baş ve boyun karsinomları arasında SAİ'li hastalar OKYHK grubunda da vardır (68,69). Klinikopatolojik ve moleküler birkaç çalışmada SAİ hastalarının OKYHK özellikli bir grup olduğunu göstermiştir. (70-73). Spesifik olarak, SAİ grubu genç yaş kadınlarda dilde ve altıncı ve sekizinci dekatlarda kadınlar arasında dil ve diş eti mukozalarında tespit edilir (72,74). OKYHK'ların tedavisinde ilk seçenek cerrahi olup hastalığın evresine göre adjuvan radyoterapi veya kemoradyoterapi eklenmektedir. Nüks eden ve cerrahi olarak eksize edilemeyecek durumda olan veya metastatik hastalarda kemoterapi ve immünoterapi tek veya kombinasyon şeklinde son yıllarda kullanılmaya başlanmış ve sınırlı da olsa sağkalıma faydaları tespit edilmiştir (68,75). Bununla beraber halen tanı koyduracak, seçilecek tedavi yaklaşımını belirleyecek ve prognozu ortaya koyacak belirteçler OKYHK'lar için yoktur. Sigara içmeyen grubun özellikli bir grup olduğu düşünülürse genomik analizlere, biyoinformatik çalışmalara, histopatolojik yeni değerlendirmelere ve bunların klinikopatolojik özellikler ile ilişkisini gösteren yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır ve bu tip çalışmalar son yıllarda özellikle NGS'in yaygınlaşması ve TCGA'nın BBK'leri içinde kullanılması ile başlamıştır (68,75). Ek olarak mevcut incelemelerin çoğunda genetik ve protein seviyelerinde proliferasyon/apoptoz araştırılmış olsa da DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve miRNA'nın rolü dahil olmak üzere epigenetik değişiklikler de daha az derecede de olsa ağız kanserinde incelenmiştir. OKYHK'deki epigenetik araştırmaların mevcut çalışmaları ve yayınları devam etmektedir.

Bu farklı kanser tiplerinin ve sigara içmeyen gibi özellikli grupların moleküler sinyal yollarının tespit edilmesi de etyopatogenez, tanı belirteçleri ve tedavi seçimi ve cevabının belirlenmesi için çok önem kazanmaktadır. Biz bu çalışmada, farklı etyolojik nedenleri ve farklı moleküler kanser biyolojik yolları olduğunu düşündüğümüz sigara içmeyen grubu ile etyolojide sigaranın neden olduğu klasik OKYHK'larının kanser yollarının karşılaştırılmasını amaçladık.

OKYHK'ları ile ilgili birçok genetik ve moleküler çalışmalar yapılmış ve karsinomaların fizyopatolojisi ortaya konmaya çalışılmıştır. Agrawal ve ark. ve Stransky ve ark. larının çalışmaları sonucu en sık mutasyona uğrayan genlerin *TP53*, *CDKN2A*, *PIK3A*, *FAT1*, *HRAS* ve *NOTCH1* olduğu ve çoğunluğunu tümör süpresör genlerin oluşturduğunu tespit etmişlerdir (68,75-69). Bu mutasyonlar oral kavite dışındaki BBK'ında anlamlı olarak daha sık görülür (60). Bu hasta gruplarının büyük çoğunluğu HPV-negatif hastalardır (60). *NOTCH1* mutasyonu önem arz eden bir durumdur ve oral kavite için özellik gösterip iki yönlü etkileri olabilir (58-60,67-76) Wnt/Beta-katenin sinyal yolağı da mezenkimal dönüşümde önemli olup onkogeneze önemlidir (75). Bu mutasyon oranları ve sıklıkları etnik gruplara göre değişiklikler gösterebilir. Bizde çalışmamızda ondan fazla sinyal yolağında görev yapan 55 adet farklı geni, dokulardan mRNA izolasyonu sonrası PCR ile ekspresyon oranlarına baktık ve gen zenginleştirme analizi işlemleri Reactom ve Enrichr web siteleri kullanılarak yaparak ve moleküler kanser yollarının mekanizmaları ortaya koymaya çalıştık. Sigara içen ve içmeyen grupları karşılaştıran buna benzer bir çalışma bulamadık ve bu çalışmanın ilk çalışmalarından biri olduğu kanaatine vardık.

Yapılan genomik analizlerde mitojenik sinyal yolları (*EGFR*, *PIK3A*, *MYC*, *AKT1*, *mTOR* gibi) ve hücre siklusu yollarındaki (*CDKN2A*, *CCND1* gibi) genlerin mutasyonlarının, kopya sayısındaki artışlar veya epigenetik olarak başta tümör süpresör genlerin sessizleşmesi için metilasyonların, mikroRNA genlerinin durumunun OKYHK'nın oluşmasında önemli rol olduğu gösterilmiştir (67,69,75,77). OKYHK'lar çeşitli moleküler suptiplemeler yapılarak tanı ve tedavi açısından doğru sınıflandırma yöntemleri çalışılmaktadır. Özellikle inflame/mezenkimal HPV-negatif tiplerin immun fenotipe sahip olduğu ve immünoterapiye daha duyarlı olduğunu gösteren yayınlar vardır (68,69,78). *EGFR* yolağını kullanan bazal subtipin daha agresif ve kötü sağkalımı olduğu gösterilmiştir (79). İmmün suptiplemenin de önemli olduğu aşıkardır. Sigara

içmeyenlerde CD274 (programlanmış ölüm-ligandı 1) ekspresyonunun, geleneksel sigara içen ve alkol kullanan oral kavite kanser grubu ile karşılaştırıldığında arttığı tespit edilmiştir (58). Bu nedenle immun yolları inceleyen ve özellikli grup olan sigara içmeyen ile sigara ve alkol içen grupları karşılaştırmak önemlidir. Bu konuda yapılan bir çalışmada SAI grubunda sigara ve alkol içen gruba göre tümör mikroçevresinin farklı olduğu, İnterferon ve PD-1 yollarının zengin, yüksek CD8+ T hücre intratümöral infiltrasyonu olduğu, tümör hücrelerinin daha fazla PD-L1 ve IDO1 eksprese ettiği ve immünoterapiye daha iyi cevap verdiği tespit edilmiştir (69). Bununla beraber bu tiplendirmeler henüz meme, akciğer kanserleri gibi klinik pratiğe girecek kanıtlara ve kullanışa sahip değildir.

Bu hastalığın karmaşık, çok adımlı gelişimini karakterize etmek için geniş bir çerçeve sağlamak üzere kanserin altı ayırt edici özelliği tanımlanmıştır (80). Bunlar proliferatif sinyalleme, sürdürülmesi, büyümeyi baskılayıcılardan kaçınılması, hücre ölümüne direnç, replikatif ölümsüzlüğü sağlama, anjiyogenez, invazyon ve metastaz. Bizim çalışmamızda kullandığımız genlerde bu özellikler ile ilgili sinyal yollarında görev yapan genler ile ilgili olarak belirlenmiş ve yapılmıştır.

OKYHK hastası ve oral epitelyal displazi numuneleri üzerinde yapılan immünohistokimyasal bir çalışmada, dokulardaki hücrelerin %81,48 ve %77,06'sının telomerez eksprese ettiği gözlemlendi; normal oral mukoza kontrollerinde yalnızca %62,91 aktivasyon gözlemlendi (81). Yılmaz ve ark. OKYHK'da diğer BBK'ne göre *TERT* mutasyonu özellikle de genç sigara içmeyen kadın hastalarda daha sık olduğunu göstermişlerdir (82). Bizim çalışmamızda özellikle telomerez için özel anlamlı sinyal yolları bulunmamıştır.

CD44 ve kan mikrodamar yoğunluğu gibi anjiyogenez ile ilişkili faktörlerin, normal epitel ile karşılaştırıldığında OKYHK'de buna paralel olarak arttığı rapor edilmiştir (83). Bizim çalışmamızda özellikle anjiyogenez için özel anlamlı sinyal yolları bulunmamıştır.

Aslında meta-analizler, E-kadherin ekspresyonu azalmış OKYHK hastalarında, normal veya yüksek ekspresyon seviyeleri olanlara kıyasla daha kötü genel prognoz bildirmiştir (84). Biz çalışmamızda hem anjiyogenez hemde EMT ile ilgili genleri içeren yollara da baktık fakat iki grupta da etkin sinyal yollarının varlığını tespit etmedik.

Yetişkin insan vücudunda hücrelerin büyük çoğunluğu proliferatif olmayan durumda bulunur veya hareketsiz durumda (G0 olarak sınıflandırılmıştır) bulunur. Epitel gibi dokuların yenilenmesi içeren hücreler burada hariç tutulabilir (85). Hücresel çoğalmanın kendisi, çoğu zaman birbirini etkileyebilen birçok farklı proteini ve çoklu yolları içeren karmaşık ve sıkı bir şekilde düzenlenmiş bir süreçtir; bunlardaki düzensizlik sıklıkla kanser gelişiminde rol oynar. *Ras*, yalnızca *Ras-MAPK* ekseninde değil aynı zamanda alternatif *PI3K-Akt* sinyalleşme ekseninde fosfoinositid 3-kinazın (*PI3K*) olası doğrudan aktivasyonları yoluyla proliferatif sinyalleşmenin önemli bir aracısıdır (86). Anahtar düzenleyici olan *Ras*, genetik mutasyon ve/veya amplifikasyon yoluyla OKYHK %20'sinden fazlasında genetik olarak serbestleştirilmiştir (87). Buna karşılık, *Ras*'ın her ikisi de aşağı akış efektörleri olan *Raf* ve *MEK*, OKYHK büyük ölçüde daha düşük değişkenlik göstermektedir. İn vitro yeni nesil sıralama çalışmasında, *PI3K*'nin p110 katalitik alt birimini kodlayan *PIK3CA*'daki mutasyonlar, 170 oral kanser öncesi hasta örneğinin %7'sinde gözlemlendi ve 279 oral kanser örneğinde ise en çok mutasyona uğrayan genler arasında gösterildi (88). Bizde çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak hem sigara içen hemde sigara içmeyen grupta *PI3K-Akt* sinyal yolağının en sık etkilenen yolaklardan biri olduğunu tespit ettik.

Sırasıyla p53 ve RB'yi kodlayan *TP53* ve *RB1* genlerinin, OKYHK numunelerinde mutasyonları yaygın olarak gözlemlenir ve kanser öncesi oral lezyonların tahmini %29'unda *TP53*'e mutasyonlar görülür (88,89). *TP53* yolağı OKYHK'ların yaklaşık %70-80 oranında etkilendiği gösterilmiştir (42,90,91). Bu yolak tümör süpresör genlerinin etkilenmesi sonucu hücre ölümü, apoptozis ve diferansiyasyonda önemli etkiler yaratmaktadır. Bizim çalışmamızda da sigara içen grupta literatür ile uyumlu olarak *TP53* yolağının anlamlı olarak etkili olduğunu tespit ettik. Buna benzer durum çalışmamızda *PI3K/AKT/mTOR* sinyal yolağında sigara içen grupta etkilendiği ve literatür ile uyumlu olduğu gözlemlendi (42, 89,90,91).

Bir çalışmada, hastaların 41'i erkek ve 40'ı kadındı; yaşları 32 ile 93 arasında değişiyordu (ortalama 64); 43'ü (%53) sigara içiyordu. Sigara içmeyenler arasında ortalama yaş 68 olan kadınlar daha sık görülürken, sigara içenler ortalama yaş 60 olan erkeklerdi ($P = 0.005$). HPV ve EBV tüm vakalarda negatifti. Hem sigara içmeyenlerde hem de sigara içenlerde en tutarlı ve en erken sitogenetik değişiklikler, heterozigotluk kaybı (LOH) ve tümör baskılayıcı genleri barındıran lokus kayıplarıydı. Yüksek dereceli

displaziye ve OKYHK 'ye ilerleme, LOH'nin ilerleyici eklenmesini, tümör baskılayıcıların kayıp olması ve onkogenik kazanımların artması ile oluyordu (5). Bu çalışmada sonuç olarak sigara içmeyen hastalar çoğunlukla yaşlı kadınlardan oluşmakta ve sigara içen hastalarla benzer oral karsinojenik yolak ve sonuçlar benzer gösterilmiştir (5). Biz ise çalışmamızda önceki çalışmadan farklı olarak sigara içmeyen grup ile sigara içen grupta apoptozis, *MAPK* sinyal yolağı ve *PI3K-Akt* sinyal yolaklarının etkileneşmesi ortak olsa da sigara içen gruptan farklı olarak sigara içmeyen grupta özellikle lipid, yağ asidi degradasyonu, ferroptozis ve ateroskleroz, viral karsinogenezis, hücre sirkülasyonu ve HIF-1 sinyal yolaklarının etkilendiğı tespit ettik.

Çalışmamızda sigara içen grupta apoptozis, çeşitli farklı kanser yolakları, küçük hücreli kanser, EBV enfeksiyon ve p53 sinyal yolaklarının en sık etkilendiğı tespit edilmiş iken, sigara içmeyen grupta en çok lipid ve ateroskleroz, hücre sirkülasyonu, nörodejeneratif yolaklar, apoptozis, Amyotrofik lateral skleroz, Human T hücreli lösemi ve HIF-1 sinyal yolakların etkilendiğini tespit ettik. *MAPK* sinyal yolağı ve *PI3K-Akt* sinyal yolağı iki grupta ortak olarak etkileneşmiş olarak bulduk.

Çalışmamızda sigara içen grupta en sık *MAPK* sinyal yolağı, *TP53*, apoptozis sinyal yolaklarının ve ilgili genlerin varlığını tespit ettik. *MAPK* ve *PI3K-Akt* sinyal yolakları yapılan çalışmalarda çeşitli growth faktörler, stress ve inflamatuvar sitokinler ile aktiveşen bir protein kinaz sinyal yolaklarıdır. EGF ile tetiklenen hücre diferansiyasyonu, proliferasyonu, apoptoziste görev yapar. Tüm BBYHK'lerde olduğı gibi, OKYHK da mutasyonu %20'lere yakın oranlarda çalışmalar ve Kanser Genom Atlas analizlerinde de gösterilmiştir (42, 86, 89-92)

Sub yolaklardan *ERK1/2* oral kanserlerde spesifik öneme sahip olan ve ilaç çalışmaları yapılan yolaklardan biridir (92,93). Bizde çalışmamızda sigara içen grupta bu sinyal yolağının en sık etkilenen yolaklardan biri olarak tespit ettik ve literatür ile uyumlu bulduk.

OKYHK lokal agresif gidebilen, yüksek hipoksi seviyelerine ulaşan bir tümördür (91,92,94). HIF1-3 hipoksi cevap mediatörleridir. Hipoksi *Bcl-2/Twist1* ilişkisini tetikler. *P53* mutasyonları ile HIF sinyalleri etkileneir. Hipoksi kötü prognozistik faktördür (94). Bizim çalışmamızda sigara içmeyen grupta HIF-1 sinyal yolağı etkileneşmiştir. Bu etkileneşmeyi sigara içen grupta izlemedik. İki grup arasında anlamlı fark yaratan bir yolak olarak izlenmiş bulunmaktadır.

Son zamanlarda mikroorganizma antijenlerin varlığının etkileşime girdiğini ve OKYHK proliferasyonunda potansiyel karıştırıcılar olarak hareket ettiğini hem proliferasyonu hem de apoptotik yolları etkilediğini söylenmektedir. Çalışmamızda sigara içmeyen grupta Human T cell-lösemi virüs Tip1 yolağının varlığın tespit ettik ve ek olarak iki grubun karşılaştırmalı analizinde viral karsinogenezis yollarının etkilendiğini belirledik. İki analizde *CCND2* ve *CDC20* genlerinin ortak etkiliği olabileceği analizlerde görüldü. Bu durum çok farklı bir antite olan sigara içmeyen OKYHK etyopatogenezinde virüs varlığının bir etyolojik faktör olabileceğini ifade eden bazı çalışmalar ile uyumlu olabileceğini gösteriyor. Bir çalışmada oral mikrobiomanın oral karsinopatogeneizde rolü olabileceğini bir derlemede ortaya koymuşlar ve mevcut durumun kronik infeksiyon ve enflamasyon ile ilişkili olabileceğini göstermişlerdir (95). Çeşitli mikroorganizmaların apoptozu inhibe ederken ve inflamatuvar mikroçevreyi düzenlerken epitel hücrelerinin proliferasyonunu teşvik ederek tümör oluşumunu uyarabileceğini vurgulamışlardır. Foy ve ark. larının çalışmasında “vur kaç” olarak nitelendirilen viral etyopatogenezin önemli olduğu ve her ne kadar genom entegrasyonu tespit edilmese de erken dönemde anahtar bir rol oynayabileceğini belirtmişlerdir (69). Bununla beraber Yang ve ark. ları sigara içmeyen grupta HPV virüsünün bir etyolojik neden olarak kabul edilemeyeceğini kendi kohortlarına göstermişlerdir (96).

Kronik enflamasyon ve mikroçevrenin çok önemli olduğunu gösteren sigara içmeyen grupta çalışmalar mevcuttur. Foy ve ark.ları sigara içen ve içmeyen gruplarda ve 854 gen ve 29 proteini içeren karşılaştırmalı çalışmalarındaki fonksiyonel yolak analizlerinde, özellikle T hücresi aktivasyonunu içeren bağışıklıkla ilgili yollarda genel bir zenginleşme tespit etmişlerdir (97). Interferon- γ yanıtı ve PD1 sinyali güçlü bir şekilde zenginleştirilmiştir. Bununla beraber biz çalışmamızda hücre döngüsü ile ilgili iki grup karşılaştırmasında ortak yolak bulsakta enflamasyona spesifik yolak bulamadık.

Sigara içmeyen grupta ve karşılaştırmalı grup yolak analizlerinde lipid metabolizması ve ferroptozis ile ilgili yollar tespit ettik. Li ve ark. ları çalışmalarında BBYHK karsinogenezi sırasında IL-6 kaynaklı ferroptoz direncinin kritik rolünü göstermişlerdir (98). Fan ve ark. ları OKYHK’da potansiyel bir prognostik gösterge olabilecek, yağ asidi metabolizmasıyla ilişkili 5 geni kullanarak öngörücü bir skor modeli geliştirmişler ve ilk olarak yağ asidi metabolizmasıyla ilişkili 14 gen, mikrodizi testi ve TCGA veri tabanı analizi ile tanımlanmış ve ardından PCR ile doğrulamışlardır ve bu beş

genin (*ACACB*, *FABP3*, *PDK4*, *PPARG* ve *PLIN5*) prognostik önemi olabileceğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da özellikle karşılaştırma yapılan grupta *PPAR*, lipid metabolizma yollarının varlığı tespit edilmiş olup etyopatogeneizde sigara içmeyen grupta önemli bir rolü olabileceği düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda hem *PPAR* hemde lipid metabolizma yolak analizinde *ACSL4* geninin varlığı bulunmuştur. OKYHK ile ilişkili bu konuda çalışma bulunamamıştır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

OKYHK'lı hastalar arasında farklı bir antite olan sigara içmeyen grubun klasik ve en sık etyolojide yeri olan sigara içen grup ile arasında kanser sinyal yolları açısından fark olup olmadığını göstermeye hedeflediğimiz bu çalışmada;

Hem karşılaştırmalı gruplar arasında hemde sigara içmeyen grupta viral etyoloji ile uyumlu olabilecek bazı kanser yollarının varlığını tespit ettik. Sigara içmeyen grupta lipid, yağ asit metabolizma ve ferroptosis yollarının daha belirgin varlığını tespit ettik. Sigara içen grupta özellikle olmak üzere iki grupta *TP53* ve protein kinaz sinyal yollarının halen en önemli sinyal yolları olduğunu tespit ettik. Hipoksinin ve onun ilişkili kanser yollarının sigara içmeyen grupta sigara içen gruba göre varlığını tespit ettik.

Sigara içmeyen OKYHK'lı hastalar yaptığımız sinyal yolk analizlerine göre farklı bir etyopatogeneze ile ilerleyen, farklı etyolojik faktörlerden etkilenen özellikli bir grup olarak bulunmaktadır. Bu grubun mutasyon analizi ve yolk çalışmalarının kan metabolitleri ile kombine edildiği ve daha iyi prognostik faktör ve hedefe yönelik tedavi belirlenmesi için yeni çalışmalar ile incelenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. (2019). Cancer statistics, *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **69**(1):7–34.
2. Jung K, Kang H, Mehra R. (2018). Targeting phosphoinositide 3-kinase (PI3K) in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). *Cancers Head Neck*. 3:3.
3. Chai AWY, Lim KP, Cheong SC. (2020). Translational genomics and recent advances in oral squamous cell carcinoma. *Seminars in Cancer Biology* **61**:71-83.
4. Rao CV. (2018). Immunomodulatory effects of Momordica charantia extract in the prevention of Oral Cancer. *Cancer Prevention Research*.**11**(4):185–6.
5. de la Oliva J, Larque AB, Marti C, Bodalo-Torruella M, Nonell L, Nadal A et al. (2021). Oral premalignant lesions of smokers and non-smokers show similar carcinogenic pathways and outcomes. A clinicopathological and molecular comparative analysis. *Journal of Oral Pathology & Medicine* **50**(3):280-286.
6. Janfaza P, Nadol JB, Galla RJ, Fabian RL, Montgomery WW. (2001). *Surgical Anatomy of the Head and Neck*. Janfaza P, Fabian RL. Oral Cavity p. 319-366. Lippincott 2001.
7. Gormley M, Gray E, Richards C, Gormley A, Richmond RC, Vincent EE et al. (2022). An update on oral cavity cancer: epidemiological trends, prevention strategies and novel approaches in diagnosis and prognosis. *Community Dental Health Journal* 2022 Aug 30;**39**(3):197-205.
8. Miranda-Filho A, Bray F. (2020). Global patterns and trends in cancers of the lip, tongue and mouth. *Oral Oncology*. 2020 Mar; **102**:104551.
9. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 2021 May;**71**(3):209-249.
10. GLOBOCAN 2022 verileri <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/cancers/1-lip-oral-cavity-fact-sheet.pdf> (cited Januray 2023).
11. Montero PH, Patel SG. (2015). Cancer of the oral cavity. *Surgical Oncology Clinics of North America. Journal*;**24**(3):491-508.
12. Coglianò, V.J., Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Lauby-Secretan, B., et. al. (2011). Preventable exposures associated with human cancers. *Journal of the National Cancer Institute*.;**103**: 1827-1839.
13. Hashibe, M., Brennan, P., Chuang, S.C., Boccia, S., Castellsague, X., Chen, C., et. al. (2019). Interaction between Tobacco and Alcohol Use and the Risk of Head and Neck Cancer: Pooled Analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. **18**: 541-550.
14. Homann, N., Karkkainen, P., Koivisto, T., Nosova, T., Jokelainen, K. and Salaspuro, (1997). M. Effects of acetaldehyde on cell regeneration and differentiation of the upper gastrointestinal tract mucosa. *Journal of the National Cancer Institute*.**89**: 1692-1697.
15. Thomas, S.J., Bain, C.J., Battistutta, D., Ness, A.R., Paissat, D. and MacLennan, (2017). R. Betel quid not containing tobacco and oral cancer: A report on a case–control study in Papua New Guinea and a meta-analysis of current evidence. *International Journal of Cancer*.**120**: 1318-1323.
16. Pelucchi, C., Gallus, S., Garavello, W., Bosetti, C. and La Vecchia, C. (2006). Cancer risk associated with alcohol and tobacco use: focus on upper aero-digestive tract and liver. *Alcohol Research & Health*. **29**:193-198.
17. Farsi, N.J., El-Zein, M., Gaied, H., Lee, Y.C., Hashibe, M., Nicolau, et. al. (2015). Sexual behaviours and head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiology*. **39**:1036-1046.
18. Thomas, S.J., Penfold, C.M., Waylen, A. and Ness, A.R. (2018). The changing aetiology of head and neck squamous cell cancer: A tale of three cancers? *Clinical Otolaryngology*. **43**: 999-1003.
19. Negri, E., Boffetta, P., Berthiller, J., Castellsague, X., Curado, M.P., Dal Maso, et. al. (2019). Family history of cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *International Journal of Cancer*. **124**: 394-401.
20. Lubin, J.H., Muscat, J., Gaudet, M.M., Olshan, A.F., Curado, M.P., Dal Maso, L., et. al. (2011). An examination of male and female odds ratios by BMI, cigarette smoking, and alcohol consumption for cancers of the oral cavity, pharynx, and larynx in pooled data from 15 case-control studies. *Cancer Causes Control*. **22**: 1217-1231.

21. Tseng, K.S., Lin, C., Lin, Y.S. and Weng, (2014). S.F. Risk of head and neck cancer in patients with diabetes mellitus: a retrospective cohort study in Taiwan. *JAMA Otolaryngology Head Neck Surgery*. **140**: 746-753.
22. Hashim, D., Sartori, S., Brennan, P., Curado, M.P., Wunsch-Filho, V., Divaris, K., et. al. (2016). The role of oral hygiene in head and neck cancer: results from International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium. *Annals of Oncology*. **27**: 1619-1625.
23. Conway, D.I., Hovanec, J., Ahrens, W., Ross, A., Holcatova, I., Laggiou, P., et. al. (2021). Occupational socioeconomic risk associations for head and neck cancer in Europe and South America: individual participant data analysis of pooled case-control studies within the INHANCE Consortium. *Journal of Epidemiology and Community Health*. **75**: 779-787.
24. Lishner M, Patterson B, Kandel R, et al. (1990). Cutaneous and mucosal neoplasms in bone marrow transplant recipients. *Cancer*. **65**(3):473-476. [PubMed: 2297638]
25. Shah AT, Wu E, Wein RO. (2013). Oral squamous cell carcinoma in post-transplant patients. *American journal of otolaryngology*. **34**(2):176-179. [PubMed: 23332408]
26. Ficarra G., (1994). Eversole LE. HIV-related tumors of the oral cavity. Critical reviews in oral biology and medicine: *an official publication of the American Association of Oral Biologists*. **5**(2):159-185.
27. Hecht F, Hecht BK. (1990). Cancer in ataxia-telangiectasia patients. *Cancer genetics and cytogenetics*. *Cancer Genet Cytogenet*. **1990 May**; **46**(1):9-19.
28. Kutler DI, Auerbach AD, Satagopan J, et al. (2003). High incidence of head and neck squamous cell carcinoma in patients with Fanconi anemia. *Archives of Otorhinolaryngology-Head & Neck Surgery*. **129**(1):106-112.
29. Liao CT, Kang CJ, Chang JT, et al. (2007). Survival of second and multiple primary tumors in patients with oral cavity squamous cell carcinoma in the betel quid chewing area. *Oral Oncology*. **43**(8):811-819.
30. Neville BW., (2002). Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *CA: a Cancer Journal For Clinicians*. **52**(4):195-215.
31. Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. (2007). Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *Journal of oral pathology & medicine: official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. **36**(10):575-580.
32. Waldron CA, el-Mofty SK, Gnepp DR. (1988). Tumors of the intraoral minor salivary glands: a demographic and histologic study of 426 cases. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*. **66**(3):323-333.
33. TNM CLASIFICATION, <https://www.uicc.org/resources/tnm-classification-malignant-tumours-8th-edition> (cited January 2023)
34. Shah JP, Candela FC, Poddar AK. (1990). The patterns of cervical lymph node metastases from squamous carcinoma of the oral cavity. *Cancer*. **66**(1):109-113.
35. Zelefsky MJ, Harrison LB, Fass DE, et al. (1993). Postoperative radiation therapy for squamous cell carcinomas of the oral cavity and oropharynx: impact of therapy on patients with positive surgical margins. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. **25**(1):17-21.
36. Cooper JS, Pajak TF, Forastiere AA, et al. (2004). Postoperative concurrent radiotherapy and chemotherapy for high-risk squamous-cell carcinoma of the head and neck. *New England Journal of Medicine* **350**(19):1937-1944.
37. Bernier J, Dommene C, Ozsahin M, et al. (2004). Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head and neck cancer. *New England Journal of Medicine* **350**(19):1945-1952.
38. Shah, JP.3 Patel, SG., Singh, B., et al. (2012). *Jatin Shah's head and neck surgery and oncology*. 4. Philadelphia, PA: Elsevier/Mosby.
39. Gómez, I., Seoane, J., Varela-Centelles, P., Diz, P. and Takkouche, B. (2009). Is diagnostic delay related to advanced-stage oral cancer? A meta-analysis. *European Journal of Oral Science*. **117**: 541-546.
40. Macpherson, L.M.D. (2018). Raising awareness of oral cancer from a public and health professional perspective. *British Dental Journal*. **225**: 809-814.
41. Williams, H.K. (2000). Molecular pathogenesis of oral squamous carcinoma. *Molecular Pathology* **53**: 165-172. Cancer Genome Atlas Network. *Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas*. *Nature*. 2015 Jan 29; **517**(7536):576-82.
42. Sankar, P.L. and Parker, L.S. (2017). The Precision Medicine Initiative's All of Us Research Program: an agenda for research on its ethical, legal, and social issues. *Genetic Medicine*. **19**: 743-750.

43. D'Adamo, G.L., Widdop, J.T. and Giles, E.M. (2021). The future is now? Clinical and translational aspects of “Omics” technologies. *Immunology & Cell Biology* **99**: 168-176.
44. Lesseur C, Diergaarde B, Olshan AF, Wünsch-Filho V, Ness AR, Liu G, et.al. (2016). Genome-wide association analyses identify new susceptibility loci for oral cavity and pharyngeal cancer. *Nature Genetics* 2016 Dec;**48**(12):1544-1550.
45. McKay, J.D., Truong, T., Gaborieau, V., Chabrier, A., Chuang, S.-C., Byrnes, G., et. al. (2011). A Genome-Wide Association Study of Upper Aerodigestive Tract Cancers Conducted within the INHANCE Consortium. *PLOS Genetics*. **7**: e1001333.
46. Hulls, P.M., de Vocht, F., Bao, Y., Relton, C.L., Martin, R.M. and Richmond, R.C. (2020). DNA methylation signature of passive smoke exposure is less pronounced than active smoking: The Understanding Society study. *Environmental Research*. **190**: 109971.
47. Russo, D., Merolla, F., Varricchio, S., Salzano, G., Zarrilli, G., Mascolo, M. Et al. (2018). Epigenetics of oral and oropharyngeal cancers. *Biomedical Reports*. **9**: 275-283.
48. Olivier, M., Hollstein, M. and Hainaut, P. (2010). TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Perspectives in Biology*. **2**: a001008-a001008.
49. El-Naggar, A.K., Lai, S., Clayman, G., Lee, J.K., Luna, M.A., Goepfert, H. and Batsakis, J.G. (1997). Methylation, a major mechanism of p16/CDKN2 gene inactivation in head and neck squamous carcinoma. *American Journal of Pathology*.**151**: 1767-1774.
50. Kerawala, C., Roques, T., Jeannon, J.P. and Bisase, B. (2016). Oral cavity and lip cancer: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. *The Journal of Laryngology and Otology*. **130**: S83-S89
51. Ferris, R.L., Blumenschein, G., Jr., Fayette, J., Guigay, J., Colevas, A.D., Licitra, L., et. al. (2018). Nivolumab vs investigator's choice in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: 2-year long-term survival update of CheckMate 141 with analyses by tumor PD-L1 expression. *Oral Oncology*. **81**: 45-51.
52. Mendelshon J, Gray JW, Howley PW, Israel MA, Thompson CB. (2015). *The Molecular Basis of Cancer*. 2015, 4th. Edition.
53. Leemans CR, Braakhuis BJ, Brakenhoff RH. (2011). The molecular biology of head and neck cancer. *Nature Reviews Cancer*. **11**:9-22.
54. Graveland AP, Golusinski PJ, Buijze M, et al. (2011). Loss of heterozygosity at 9p and p53 immunopositivity in surgical margins predict local relapse in head and neck squamous cell carcinoma. *International Journal of Cancer*. **128**:1852-1859.
55. Ikushima H, Miyazono K. (2010). TGFβ signalling: a complex web in cancer progression. *Nature Reviews Cancer*. **10**:415-424.
56. Dotto GP. (2008). Notch tumor suppressor function. *Oncogene*. **27**:5115-5123.
57. Agrawal N, Frederick MJ, Pickering CR, Bettgowda C, Chang K, Li RJ, Fakhry C et al. (2011). Exome sequencing of head and neck squamous cell carcinoma reveals inactivating mutations in NOTCH1. *Science*. 2011 Aug **26**;333(6046):1154-7.
58. N Stransky N, Egloff AM, Tward AD, Kostic AD, Cibulskis K, Sivachenko A et al. (2011). The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science*. 2011 Aug **26**;333(6046):1157-60.
59. Bian Y, Hall B, Sun ZJ, et al. (2012). Loss of TGF-β signaling and PTEN promotes head and neck squamous cell carcinoma through cellular senescence evasion and cancer-related inflammation. *Oncogene*. **31**:3322-3232.
60. Kukurba, K.R. and Montgomery, S.B. (2015). *RNA Sequencing and Analysis*. Cold Spring Harbor Protocols 951-969.
61. Dickinson, A., Saraswat, M., Joenväärä, S., Agarwal, R., Jyllikoski, D., Wilkman, T et al. (2020). Mass spectrometry-based lipidomics of oral squamous cell carcinoma tissue reveals aberrant cholesterol and glycerophospholipid metabolism — A Pilot study. *Translational Oncology*. **13**: 100807.
62. Lim, Y., Sun, C.X., Tran, P. and Punyadeera, C. (2016). Salivary epigenetic biomarkers in head and neck squamous cell carcinomas. *Biomarker Medicine*. **10**: 301-313.
63. Babji, D., Nayak, R., Bhat, K. and Kotrashetti, V. (2019). Cell-free tumor DNA: Emerging reality in oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. **23**: 273-279.
64. Lousada-Fernandez, F., Rapado-Gonzalez, O., Lopez-Cedrun, J.-L., Lopez-Lopez, R., Muineloromay, L. and Suarez-Cunqueiro, M.M. (2018). Liquid Biopsy in Oral Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. **19**: 1704.

65. F. Bray, et al., (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. **68** (6): 394–424.
66. N. Guha, S. Warnakulasuriya, J. Vlaanderen, K. Straif, (2014). Betel quid chewing and the risk of oral and oropharyngeal cancers: a meta-analysis with implications for cancer control, *International Journal of Cancer*. **135**(6):1433–1443.
67. Chai AWY, Lim KP, Cheong SC. (2020). Translational genomics and recent advances in oral squamous cell carcinoma. *Seminars in Cancer Biology*. 2020 Apr; **61**:71-83.
68. Foy JP, Bertolus C, Boutolleau D, Agut H, Gessain A, Herceg Z, Saintigny P. (2020). Arguments to Support a Viral Origin of Oral Squamous Cell Carcinoma in Non-Smoker and Non-Drinker Patients. *Frontiers in Oncology*. 2020 May **21**; 10:822.
69. Devouassoux-Shisheboran M, Puisieux A, Caux C, Zrounba P, Lantuejoul S, Saintigny P. (2017). The immune microenvironment of HPV-negative oral squamous cell carcinoma from never-smokers and never-drinkers patients suggests higher clinical benefit of IDO1 and PD1/PD-L1 blockade. *Annals of Oncology*, 2017 Aug 1; **28**(8):1934-1941.
70. Li R, Faden DL, Fakhry C et al. (2015). Clinical, genomic, and metagenomic characterization of oral tongue squamous cell carcinoma in patients who do not smoke. *Head Neck* 2015; **37**: 1642–1649.
71. Pickering CR, Zhang J, Neskey DM et al. (2014). Squamous cell carcinoma of the oral tongue in young non-smokers is genomically similar to tumors in older smokers. *Clinical Cancer Research* **20**: 3842–3848.
72. Kolokythas A, Zhou Y, Schwartz JL, Adami GR. (2015). Similar Squamous Cell Carcinoma Epithelium microRNA Expression in Never Smokers and Ever Smokers. *PLoS One* **10**: e0141695.
73. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM et al. (2011). Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *Journal of Clinical Oncology* **29**: 4294–4301.
74. Hsu PJ, Yan K, Shi H, Izumchenko E, Agrawal N. (2020). Molecular biology of oral cavity squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*. 2020 Mar; **102**:104552.
75. L.F. Yap, et al., (2015). The opposing roles of NOTCH signalling in head and neck cancer: a mini review, *Oral Diseases*. **21**(7): 850–857.
76. C.R. Pickering, et al., (2013). Integrative genomic characterization of oral squamous cell carcinoma identifies frequent somatic drivers, *Cancer Discovery American Association for Cancer Research*; **3**(7):770–781.
77. V. Walter, et al., (2013). Molecular subtypes in head and neck cancer exhibit distinct patterns of chromosomal gain and loss of canonical cancer genes, *PLoS One*; **8**(2): e56823.
78. C.H. Chung, et al., (2004). Molecular classification of head and neck squamous cell carcinomas using patterns of gene expression, *Cancer Cell*; **5**(5): 489–500.
79. Hanahan D., Weinberg R.A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*.; **144**:646–674.
80. Raghunandan B., Sanjai K., Kumaraswamy J., Papaiah L., Pandey B., Jyothi B. (2016). Expression of human telomerase reverse transcriptase protein in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*; **20**:96–101.
81. Yilmaz I, Erkul BE, Ozturk Sari S, Issin G, Tural E, Terzi Kaya Terzi N et al. (2020). Promoter region mutations of the telomerase reverse transcriptase (TERT) gene in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology* 2020 Jul; **130**(1):63-70.
82. Essa A.A.M., Deraz E.M. (2021). Expression of CD44 (NKI-P1) in oral squamous cell carcinoma associated vascular endothelial cells: A relationship to tumor angiogenesis. *The Saudi Dental Journal*; **34**:21–26.
83. Luo S.L., Xie Y.G., Li Z., Ma J.H., Xu X. (2014). E-cadherin expression and prognosis of oral cancer: A meta-analysis. *Tumor Biology*; **35**:5533–5537.
84. Potten C.S., Loeffler M. (1990). Stem cells: Attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development*; **110**:1001–1020.
85. Bader A.G., Kang S., Zhao L., Vogt P.K. (2005). Oncogenic PI3K deregulates transcription and translation. *Nature Reviews Cancer*; **5**:921–929. doi: 10.1038/nrc1753.
86. Murugan A.K., Munirajan A.K., Tsuchida N. (2012). Ras oncogenes in oral cancer: The past 20 years. *Oral Oncology*; **48**:383–392.
87. Lawrence M.S., Sougnez C., Lichtenstein L., Cibulskis K., Lander E., Gabriel S.B et al. (2015). Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature*; **517**:576–582.

88. William W.N., Lee W.-C., Lee J.J., Lin H.Y., Eterovic A.K., El-Naggar A.K et al. (2019). Genomic and transcriptomic landscape of oral pre-cancers (OPCs) and risk of oral cancer (OC) *Journal of Clinical Oncolog*; **37**:6009.
89. Cheng Y, Chen J, Shi Y, Fang X, Tang Z. (2022). MAPK Signaling Pathway in Oral Squamous Cell Carcinoma: Biological Function and Targeted Therapy. *Cancers (Basel)*. 2022 Sep 23;**14**(19):4625.
90. Seo JH, Yoon G, Park S, Shim JH, Chae JI, Jeon YJ. (2022). Deoxypodophyllotoxin Induces ROS-Mediated Apoptosis by Modulating the PI3K/AKT and p38 MAPK-Dependent Signaling in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Journal Microbiol Biotechnol*. 2022 Sep 28;**32**(9):1103-1109.
91. Tan Y, Wang Z, Xu M, Li B, Huang Z, Qin S, Nice EC, Tang J, Huang C. (2023). Oral squamous cell carcinomas: state of the field and emerging directions. *International Journal of Oral Science* 2023 Sep 22;**15**(1):44.
92. Hsu PJ, Yan K, Shi H, Izumchenko E, Agrawal N. (2020). Molecular biology of oral cavity squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*. 2020 Mar; **102**:104552.
93. Bajrai LH, Sohrab SS, Mobashir M, Kamal MA, Rizvi MA, Azhar EI. (2021). Understanding the role of potential pathways and its components including hypoxia and immune system in case of oral cancer. *Scientific Reports* 2021 Oct 1;**11**(1):19576.
94. Li R, Xiao L, Gong T, Liu J, Li Y, Zhou X, Li Y, Zheng X. (2023). Role of oral microbiome in oral oncogenesis, tumor progression, and metastasis. *Mol Oral Microbiol*. 2023 Feb;**38**(1):9-22.
95. Yang Z, Du W, Zhang X, Chen D, Fang Q, He Y, Yang Y, Li D, Fan J. (2021). Nonsmoking and Nondrinking Oral Squamous Cell Carcinoma Patients: A Different Entity. *Front Oncology*. 2021 Jun 28; **11**:558320.
96. Foy JP, Bertolus C, Michallet MC, (2017). Deneuve S, Incitti R, Bendriss-Vermare N, et.al. The immune microenvironment of HPV-negative oral squamous cell carcinoma from never-smokers and never-drinkers patients suggests higher clinical benefit of IDO1 and PD1/PD-L1 blockade. *Ann Oncology*. 2017 Aug 1;**28**(8):1934-1941.
97. Li M, Jin S, Zhang Z, Ma H, Yang X. (2022). Interleukin-6 facilitates tumor progression by inducing ferroptosis resistance in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Letters* 2022 Feb 28; **527**:28-40.



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Tarihi : 18.11.2022
Toplantı Sayısı : 2022/25
Karar Sayısı : 25/16

Kurulumuza değerlendirilmek üzere sunulan, Prof. Dr. Yusuf Tutar'ın sorumlu, Prof.Dr. İsmail Yılmaz, Kezban Uçar Çifçi ve Merve Nur Al'ın yardımcı araştırmacı olduğu 22/526 kayıt numaralı **"Oral Kavite Yassı Hücreli Karsinomlarında Sigara Kullanımının Kanser Yolaklarına Etkisinin İncelenmesi"** başlıklı proje önerisi kurulumuzun 18.11.2022 tarihli toplantısında değerlendirilmiş ve etik açıdan uygun bulunmuştur.

