

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

DOKTORA TEZİ

**ORAL KAVİTENİN MALİGN VE PREMALİGN
LEZYONLARINDA PAX1 GENİNİN METİLASYON VE
EKSPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

ARDA ÖZTAN

**DANIŞMAN
PROF.DR.GÜLSÜM AK**

**AĞIZ DİŞ ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
AĞIZ HASTALIKLARI DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI**DOKTORA TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Ağız Hastalıkları Programında Doktora öğrencisi Arda Öztan tarafından Prof.Dr.Gülsüm Ak'ın danışmanlığında hazırlanan "Oral kavitenin malign ve premalign lezyonlarında PAX1 geninin metilasyon ve ekspresyonunun araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 26/03/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Meral Üntür
İstanbul Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Cerrahisi AD

Jüri-Danışman

Prof. Dr. Gülsüm Ak
İstanbul Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Cerrahisi AD

Jüri

Prof. Dr. Karfil Göker
Marmara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Cerrahisi AD

Jüri

Prof. Dr. Sabire İşler
İstanbul Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Protetik Diş Tedavisi AD

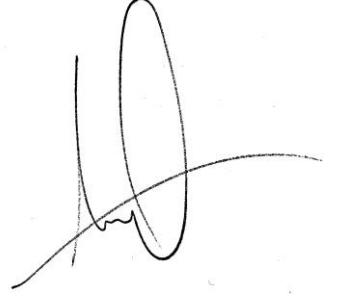
Jüri

Doç. Dr. Ediz Deniz
Yeditepe Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Cerrahisi AD

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Arda ÖZTAN



İTHAF



Aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Araştırmalarının saygınlığı ve devamlılığı konusundaki kararlılığını gözlemleyerek çok şey öğrendiğim, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim, bilgi ve birikimini benden esirgemeyen, gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm tez danışmanım **Prof.Dr.Gülsüm AK'a**,

Araştırma konusunun seçimi ve yürütülmesi sırasında değerli bilimsel önerilerinden faydalandığım, bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren ikinci tez danışmanın **Prof.Dr.Semra DEMOKAN'a**,

Çalışmamıza verdikleri katkıdan dolayı İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi KBB Hastalıkları ve BB Cerrahisi Anabilim Dalı'ndan **Doç.Dr.Murat ULUSAN** ile diğer tüm KBB çalışanlarına,

Olumlu enerjileri ve tüm samimiyetleri ile klinik çalışmalarda hiçbir zaman yardımını esirgemeyen **Ayşem YURTSEVEN, Murat GÜNBATAN, Esra HACIOĞLU, Afra AKBIYIK AZ ve Turgay MOUSTAFA** başta olmak üzere tüm Ağız Diş Çene Cerrahisi ABD çalışanlarına,

Araştırmamız boyunca deneysel ve istatistiksel aşamalarda yardımlarını esirgemeyen **Sena ŞEN, Önder ERYILMAZ, Metehan KARATAŞ ve Begüm BULUŞLU'ya**

Yanımda olduklarını her zaman hissettiğim ve kendimi güvende hissettiren ailem, arkadaşlarım ve her koşulda cesaret aldığım **Ebru OKUR'a** sonsuz teşekkür ederim

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje kodu: TDK-2017-24727)

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. ORAL KAVİTENİN YAPISI.....	4
2.1.1. Oral Kavitenin Anatomik Yapısı	4
2.1.2. Oral Kavitenin Histolojik Yapısı	5
2.2. ORAL KAVİTEDE PREMALİGN DEĞİŞİKLİKLER VE DİSPLAZİ.....	6
2.3. ORAL KAVİTENİN PREMALİGN LEZYONLARI	9
2.3.1. Eritroplaki	9
2.3.2. Lökoplaki	10
2.3.3. Oral Liken Planus.....	13
2.3.4. Kronik Kandidiyazis	16
2.3.5. Oral Submukoz Fibrozis	17
2.3.6. Diskoid Lupus Eritematozus.....	18
2.3.7. Diskeratozis Konjenita.....	18
2.3.8. Aktinik Keratoz.....	19
2.3.9. Ters Sigara İçimine Bağlı Gelişen Damak Lezyonları	19
2.3.10. Dumansız Tütün Kullanımına Bağlı Gelişen Keratoz	20
2.4. ORAL SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM (OSCC)	20
2.4.1. Epidemiyoloji.....	20
2.4.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri	21

2.4.3. Histopatoloji.....	25
2.4.4. Klinik Bulgular	26
2.4.5. Evreleme ve Prognoz	27
2.4.6. Tanı ve Tedavi	30
2.5. EPİGENETİK	30
2.5.1. DNA Metilasyonu	31
2.5.2. DNA Metilasyonu ve Oral Kanser.....	32
2.6. <i>PAX1</i>	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. GEREÇLER.....	36
3.1.1. Materyal	36
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	36
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	37
3.1.4. Kullanılan Kimyasal Karışımlar	38
3.2. YÖNTEMLER.....	38
3.2.1. Materyal Toplama ve Eldesi	38
3.2.2. Tükürük Eldesi.....	38
3.2.3. Serum Eldesi	38
3.2.4. Doku Eldesi.....	39
3.3. DNA İzolasyonu	39
3.4. Bisülfid Modifikasyon İşlemleri.....	40
3.5. RNA İzolasyon İşlemi.....	40
3.6. cDNA Sentezi	40
3.7. Primer Prob Tasarımı.....	41
3.8. QMSP Tekniği ile Metilasyon Seviyesinin Belirlenmesi	41
3.8.1. Metilasyon Deneylerinde Kullanılan Reaksiyon Koşulları	42
3.9. QRT-PCR Yöntemi ile Ekspresyon Seviyelerinin Belirlenmesi	42
3.9.1. Ekspresyon deneylerinde kullanılan reaksiyon koşulları.....	42
3.9.2. Ekspresyon deneylerinde kullanılan reaksiyon karışımı.....	43
3.10. Veri Analizi.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Demografik ve Klinik Özellikler	44
4.2. <i>PAX1</i> Geninin Metilasyon Analiz Sonuçları	47

4.3. <i>PAX1</i> Geninin Ekspresyon Analiz Sonuçları.....	50
4.4. <i>PAX1</i> Geninin Metilasyona Bağlı Ekspresyon Seviyesindeki Azalma	56
4.5. Metilasyon ve Ekspresyon Sonuçlarını Birlikte Değerlendirilmesi.....	57
5. TARTIŞMA	77
KAYNAKLAR	86
HAM VERİLER	98
FORMLAR	99
ETİK KURUL KARARI	100
PATENT HAKKI İZNİ	101
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	102
ÖZGEÇMİŞ	103

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1 : Primer Tümör Sınıflandırması.....	27
Tablo 2 : Bölgesel Lenf Nodu Metastazı Sınıflandırması (N).....	28
Tablo 3 : Uzak Metastaz Sınıflandırması (M)	28
Tablo 4 : Tümör Evrelemesi	28
Tablo 5 : Promoter bölgenin metilasyonuyla susturulan en yaygın genler.....	33
Tablo 6 : Reaksiyon karışımı	41
Tablo 7 : Reaksiyon koşulları	41
Tablo 8 : Metilasyon deneyleri reaksiyon koşulları.....	42
Tablo 9 : Ekspresyon deneyleri reaksiyon koşulları	42
Tablo 10 : Çalışmaya katılanların demografik özellikleri	45
Tablo 11 : Premalign hastaların histopatolojik tanı oranları.....	46
Tablo 12 : Malign grupta tümör tutulunu tipleri.....	46
Tablo 13 : Malign hastaların TNM sınıflaması	46
Tablo 14 : Malign gruptaki hastaların evre, LNT, metasataz ve nüks oranlar.....	47
Tablo 15 : Differansiyasyon derecesine göre tümör, serum ve tükürükte metilasyon ...	57
Tablo 16 : Differansiyasyon derecesine göre metilasyon ve metilasyona bağlı ekspresyon değerleri	57
Tablo 17 : Malign ve premalign grup ekspresyon değişimi ve metilasyon oranları.....	58
Tablo 18 : Malign ve sağlıklı grup metilasyon oranları.....	59
Tablo 19 : Premalign ve sağlıklı grup metilasyon oranları.....	59
Tablo 20 : Tümörde metilasyon varlığını etkileyen faktörlerin incelenmesi.....	60
Tablo 21 : Normal dokuda metilasyon varlığını etkileyen faktörlerin incelenmesi	60
Tablo 22 : Ekspresyon artışını etkileyen faktörlerin incelenmesi.....	61
Tablo 23 : Ekspresyon azalmasını etkileyen faktörlerin incelenmesi.....	61
Tablo 24 : Malign grupta ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığının TNM evrelerine göre oranları	61
Tablo 25 : Evreye göre metilasyon ve metilasyona bağlı ekspresyon oranları	62
Tablo 26 : Evreye göre metilasyon ve metilasyona bağlı ekspresyon değerleri.....	62
Tablo 27 : Malign grupta ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığının LNT varlığına göre oranları.....	63

Tablo 28 : Malign grupta ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığının metastaz varlığına göre oranları.....	64
Tablo 29 : Premalign grupta patolojik tanılara göre ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığı oranları.....	64
Tablo 30 : Premalign grubun tanılarına göre normal ve tümör dokuda metilasyon ve ekspresyon değişimi değerleri	65
Tablo 31 : Differansiyasyon derecesine göre metilasyon değerleri.....	65
Tablo 32 : Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik �zellikleri	65
Tablo 33 : Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon artışı ile karşılaştırılması.....	66
Tablo 34 : Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon azalışı ile karşılaştırılması.....	67
Tablo 35 : Tümör dokusunda metilasyon olan premalign hastaların klinik �zellikleri ..	68
Tablo 36 : Tümör dokusunda metilasyon olan premalign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon artışı ile karşılaştırılması.....	68
Tablo 37 : Tümör dokusunda metilasyon olan premalign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon azalışı ile karşılaştırılması.....	68
Tablo 38 : Tümör ve tükürükte metilasyon olan malign hastaların klinik �zellikleri	69
Tablo 39 : Tümör ve tükürükte metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon artışı ile karşılaştırılması.....	69
Tablo 40 : Tümör ve tükürükte metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon azalışı ile karşılaştırılması.....	70
Tablo 41: OSCC ve OPML gruplarındaki <i>PAX1</i> promoter metilasyonunun özgüllük ve duyarlılık değerleri.....	75

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 : Cinsiyet oranlarının genel ve gruplara göre dağılımı	45
Şekil 2 : Sigara ve alkol kullanımı oranlarının gruplara göre ve genel dağılımı	45
Şekil 3: Malign hastaların TNM sınıflaması evre oranları	46
Şekil 4: %100 metile standart ve dilüsyonlarının ACTB genine ait amplifikasyon eğrileri.....	48
Şekil 5 : %100 metile standart ve dilüsyonlarının hedef <i>PAX1</i> genine ait eğrileri.....	48
Şekil 6 : %100 metile standart ve dilüsyonlarında ACTB ve <i>PAX1</i> genlerine ait standart eğri	48
Şekil 7 : OSCC hastalarına ait tümör, eşlenik normal doku ile serum ve tükürük örneklerindeki metilasyon oranları (β -value)	49
Şekil 8 : OPML hastalarına ait tümör, eşlenik normal doku ile serum ve tükürük örneklerindeki metilasyon oranları (β -value)	49
Şekil 9 : Sağlıklı bireylere ait normal mukoza ile serum ve tükürük örneklerindeki metilasyon oranları (β -value).....	50
Şekil 10 : Hastalara ait örneklerin hedef gen (<i>PAX1</i>) ve referans gendeki amplifikasyon eğrileri.....	51
Şekil 11 : OSCC hastalarının tümör/eşlenik normal doku, serum ve tükürük örneklerinin ekspresyon düzeyleri normalize edilerek $2\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak değerlendirilmesi	52
Şekil 12 : OPML hastalarının tümör/eşlenik normal doku, serum ve tükürük örneklerinin ekspresyon düzeyleri normalize edilerek $2\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak değerlendirilmesi	53
Şekil 13 : Sağlıklı bireylerin mukoza, serum ve tükürük örneklerindeki ekspresyon düzeyleri normalize edilerek $2\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak değerlendirildi	54
Şekil 14 : <i>PAX1</i> geninin ekspresyon düzeyleri ile referans genin (ACTB) OSCC hastalarına ait tümör (T) ve eşlenik normal (N) doku örneklerindeki ekspresyon düzeyleri $2-\Delta\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak hesaplandı.....	55
Şekil 15 : <i>PAX1</i> geninin ekspresyon düzeyleri ile referans genin (ACTB) OPML hastalarına ait tümör (T) ve eşlenik normal (N) doku örneklerindeki ekspresyon düzeyleri $2-\Delta\Delta Ct$ metodu ile relatif olarak hesaplandı.....	56
Şekil 16 : Gruplara göre met-tükürük oranları.....	60

Şekil 17 : LNT varlığına göre ekspresyon artışı, azalışı, metilasyona bağlı ekspresyon azalışı ve tümörde metilasyon oranları	63
Şekil 18 : Malign grup tümör dokusu ile eşlenik normal dokusu arasındaki <i>PAX1</i> metilasyonunu ROC analizi	71
Şekil 19 : Malign grup tümör dokusu ile sağlıklı grup normal dokusu <i>PAX1</i> metilasyonunun ROC analizi	72
Şekil 20 : Malign grup ile sağlıklı grup tükürük örneklerindeki <i>PAX1</i> metilasyonunun ROC analizi.....	72
Şekil 21 : Malign grup ile sağlıklı grup serum örneklerindeki <i>PAX1</i> metilasyonunun ROC analizi.....	73
Şekil 22 : Premalign grup tümör dokusu ile eşlenik normal dokusundaki <i>PAX1</i> metilasyon seviyelerinin ROC analizi	73
Şekil 23 : Premalign grup tümör dokusu ile sağlıklı grup normal dokusundaki <i>PAX1</i> metilasyonunun ROC analizi	74
Şekil 24 : Premalign grup ile sağlıklı grup tükürük örneklerinin <i>PAX1</i> metilasyonunun ROC analizi.....	74
Şekil 25 :Premalign grup ile Sağlık grup serum örneklerindeki <i>PAX1</i> metilasyonunun ROC analizi.....	75
Şekil 26 : Malign ve premalign grupta normal dokuda ve tümör dokuda metilasyon seviyeleri.....	76

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ



ÖZET

Öztan A (2019). Oral kavitenin malign ve premalign lezyonlarında PAX1 geninin metilasyon ve ekspresyonunun araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Oral kanser tüm kanserler arasında görülme sıklığı açısından 6. sırada yer alır ve oral kanserlerin yaklaşık %90 lık kısmını skuamoz hücreli karsinomlar (OSCC) meydana getirir. 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %50 olan OSCC; etyolojisinde yaş, cinsiyet, ırk, sigara ve alkol kullanımı, genetik faktörler, HPV gibi birçok etken bulundurmasının yanı sıra çoğunlukla oral kavitede bulunan premalign lezyonlar (OPML) olarak tanımlanan lezyonların dönüşümü sonucu meydana gelirler. OPML malign transformasyonla ilişkili olması hem displazi gelişimini ve maligniteye dönüşüm riskini önceden belirleyebilecek biyobelirteç olarak kullanılmasında hem de tedavide potansiyel ilaç hedeflerinin belirlenmesinde yararlanılabilir. OSCC'nin moleküler genetiği hakkında önemli bilgiler elde edilmesine rağmen, karsinogenez mekanizması henüz net değildir ve mekanizmayı anlamak çok önemlidir. Oral kavite kolay gözlemlenebilir bir bölgedir ancak OSCC, klinik olarak gözlemlenebildiği aşamada hastalığın ileri evrede olması nedeniyle yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir. Oral kavitenin premalign lezyonlarının hücreleri maligniteye dönüşme riskinin yüksek olduğu lökoplaki grubu, az riskli olan oral liken planus ve oral likenoid displazi grupları, malin grup ve kontrol olarak kullanılacak sağlıklı grup ile çalışma gerçekleştirilecektir. Çalışmamızda epigenetiğin kanser oluşumundaki rolünün anlaşılması ve hastalığın değerlendirilmesi açısından kullanılabilecek biyobelirteç olarak genlerin sağlayabileceği potansiyel aydınlatılmaya çalışılmaktadır

DNA metilasyonu, tümör oluşumu ve progresyonunda önemli bir role sahiptir. Tümör baskılayıcı genlerin promoter bölgelerinde anormal metilasyon ile gerçekleşen gen sessizleşmesi, yeni biyobelirteç arayışı açısından erken tanı ve tarama için umut vaadeden önemli bir mekanizmadır. Çalışmamıza premalign lezyonlardan, literatürde maligniteye dönüşme riski yüksek olduğu bildirilen lökoplaki ile malignite potansiyeli düşük olan oral liken planus ve oral likenoid displazi dahil edilmiştir. Çalışmamızda literatürdeki bu bilgi eksikliğini gidererek OPML'nin maligniteye dönüşüm riski, yüksek ve düşük malignite dönüşüm riski taşıyan OPML grupları arasında ve OPML ile OSCC arasındaki moleküler farklılıklar sağlıklı kişilerden elde edilecek veriler bazında belirlenmiş ve PAX1'in non-invaziv yöntemlerle tanı, teşhis ve tedavide kullanılabilecek bir biyomarker olma potansiyeli incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler : metilasyon, ekspresyon, oral skuamoz hücreli karsinom, oral liken planus, lökoplaki, PAX1

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje kodu: TDK-2017-24727)

ABSTRACT

Öztan, A (2019). Examination of methylation and expression levels of PAX1 gene in oral malign and premalign lesions. İstanbul University, Institute of HealthScience, Oral and Maxillofacial Surgery Department Doctorate Thesis. İstanbul.

Oral cancer is the 6th most common cancer in the World and approximately 90% of oral cancers are squamous cell carcinomas (OSCC). OSCC with a 5-year survival rate of approximately 50%; In addition to having many factors such as age, sex, race, smoking and alcohol use, genetic factors, HPV, they are mostly caused by transformation of lesions which are defined as premalign lesions (OPML) in oral cavity. The relevance of OPML to malignant transformation can be used both as a biomarker for predicting the development of dysplasia and the risk of conversion to malignancy, and for determining potential drug targets in treatment. Although important information about the molecular genetics of OSCC has been obtained, the mechanism of carcinogenesis is not yet clear and it is very important to understand the mechanism. The oral cavity is an easily observable region, but OSCC has high morbidity and mortality due to the advanced stage of the disease at the stage of clinical observation. Premalign lesions of the oral cavity will be treated with leukoplakia group with high risk of conversion to malignancy, oral lichen planus with low risk, oral lichenoid dysplasia groups, malin group and healthy group to be used as control. In our study, the role of epigenetics as a biomarker which can be used to understand the role of epigenetics in cancer formation and to evaluate the disease is tried to be elucidated.

DNA methylation has an important role in tumor formation and progression. Gene mutation with abnormal methylation in promoter regions of tumor suppressor genes is a promising mechanism for early diagnosis and screening in terms of new biomarker search. In our study, leukoplakia, which has been reported to have a high risk of conversion to malignancy, has been included in our study, including oral lichen planus and oral lichenoid dysplasia with low malignancy potential. In the present study, by eliminating this information deficiency in the literature, the risk of conversion of OPML to malignancy, between OPML groups with high and low risk of malignant transformation and molecular differences between OPML and OSCC were determined on the basis of data obtained from healthy individuals. The potential of PAX1 to be a biomarker which can be used in the diagnosis and treatment by non-invasive methods is investigated.

Key Words : methylation, expression, oral squamous cell carcinoma, oral lichen planusi oral leukoplakia, PAX1

This study was supported by Research Fund of Istanbul University (Project No. TDK-2017-24727)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, Dünya Sağlık Örgütü'nün 2015 verilerine göre kardiyovasküler hastalıklardan sonra en ölümcül 2. hastalıktır. 2015 yılında, bulaşıcı olmayan hastalıklar sonucu meydana gelen ölümlerin %22'si (8.8 milyon) kanser kaynaklıdır (90). Oral kavite kanserleri dünya genelinde en sık görülen 6. kanser çeşididir, yıllık tahmini insidansı 275000 civarındadır. Oral kavite kanserlerinin yaklaşık %90'lık bir kısmını oral skuamöz hücreli karsinomlar (OSCC) oluşturmaktadır (109). OSCC 'nin sağ kalım oranı çeşitli tedavilere rağmen %50 civarındadır (64).

Birçok ülkede oral kanserin görülme sıklığı erkeklerde, kadınlara oranla daha yüksektir. Bildirilen cinsiyet farklılıkları, erkeklerin risk faktörlerine olan yatkınlığı ve mesleki özelliklerinden dolayı güneş ışığına (özellikle dudak kanseri) kadınlara oranla daha fazla maruz kalmalarıyla açıklanabilir (109). Oral kanser sıklığı giderek artmakta olan bir hastalıktır ve bunda birçok faktörün rol oynadığı görülmektedir. Sigara ve alkol kullanımına ek olarak tütün çiğnenmesi ve enfiye kullanımı, genetik ve viral etkenler, beslenme alışkanlıkları gibi faktörlerin yanı sıra, oral mukoza hücrelerinde meydana gelen morfolojik değişiklikler sonucu klinik olarak gözle görülebilir premalign lezyonların oluşması hastalığın ortaya çıkmasında rol oynamaktadır (95,134)

Kanser oluşumunda genetik değişiklikler kadar epigenetik değişiklikler de rol oynamaktadır. Epigenetik değişiklikler DNA diziliminde değişiklik meydana getirmeksizin meydana gelen gen ekspresyonundaki kalıtsal değişiklikleri ifade eder. Gen mutasyonlarından daha sık meydana gelmekle birlikte hücrenin ömrü boyunca hatta nesiller boyu devam edebilirler (57). Küçük istisnalar (bağışıklık sisteminin T ve B hücreleri) ile, tüm farklılaşma süreçleri, epigenetik mekanizmalar yoluyla tetiklenir ve korunur. Epigenetik kalıtım, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve RNA aracılı susturmayı içerir. Bu üç birbirinden ayrı ve birbirini takviye eden epigenetik mekanizmalardan birinin bozulması uygun olmayan gen ifadesine, kanser gelişimine ve diğer epigenetik hastalıklara neden olur (108,110). 5-metilcytozin (5-mc) üreten bir enzimatik reaksiyon ile sitozin guanin (CpG) dinükleotidlerinin sitozin kalıntılarında oluşan DNA metilasyonu, epigenetik gen düzenlenmesi için kapsamlı bir şekilde karakterize edilmiş bir mekanizmadır. DNA metilasyonu ile transkripsiyon faktörlerin DNA'ya bağlanması engellenerek gen ekspresyonu düzenlenir Karsinogenezde en fazla

görülen epigenetik değişiklik, tümör supressör genlerin promoter bölgelerindeki DNA metilasyonu sonucu gen ifadesinin baskılanmasıdır (15).

Oral kavite gözle görülür bir alan olmasına rağmen OSCC'nin çoğu teşhis edildiğinde ileri evrededir ve tüm tedavi seçenekleri sonucu 5 yıllık sağkalım oranı %50 civarındadır ve tedavi sonrası 5 yıllık rekürrens oranı %40-50 oranındadır. Ancak hastalık erken teşhis edildiğinde rekürrens oranı %10-20'lere düşmektedir (114,72). Bu sebeple erken teşhis hastalığın prognozunu etkileyen en önemli faktörlerdendir. Klinik muayene ve fırça biyopsisinin duyarlılık ve özgüllüklerinin ağız kanserlerini saptamada yüksek olduğu bildirilmesine rağmen bu yöntemler testi uygulayan kişinin uzmanlığını gerektirir. Bununla birlikte, toludin renklendirme ve VELscope gibi diğer ayırt edici yöntemlerin görsel muayene ile birlikte kullanılması oldukça önemlidir (62). Bu bağlamda yeni biyobelirteçlerin bulunması tanı, tedavi ve hastalığın prognozu açısından oldukça önemlidir (4). Spesifik genlerin DNA hipermetilasyonunun, oral kanserler de dahil olmak üzere birçok kanser türü ile ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Literatürde OSCC'de çevre ile epigenetik etkiler arasındaki etkileşimleri araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Oral kanser tespiti için bir biyolojik belirteç olarak DNA metilasyonu uygun bir yöntemdir. Çevresel faktörler ile epigenetik moleküller arasındaki etkileşimleri anlamak OSCC'yi önlemek veya tespit etmek için yeni biyolojik belirteçlerin bulunmasına yardımcı olabilir (141).

Son çalışmalar HPV enfeksiyonunun da önemli rol oynadığı OSCC ve serviks kanserinin aynı karsinogenez mekanizmalarını paylaştığını bildirmiştir (79,144). Yung-Kai Huang ve ark. tarafından yapılan çalışma, serviks kanserinde DNA metilasyon biyobelirteci olarak kullanılan *PAX1* geninin OSCC teşhisinde potansiyel olarak kullanılabileceği öngörölmüş, *PAX1* metilasyon testinin kanserli ve normal oral mukozayı ayırt etmede yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu, bu sebeple OSCC için bir moleküler ekran olma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (141).

Çalışmamızda OSCC ve OSCC dönüşüm potansiyeli düşük ve yüksek olan oral premalign leazyonların (OPML) 3 alt grubunda, *PAX1* metilasyonu ve ekspresyonunun incelenmesi, teşhis ve prognoz açısından biyobelirteç olarak kullanım potansiyelinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla OSCC ve OPML hastalarında tümör, eşlenik

normal doku, serum ve tükürük örnekleri ile sağlıklı (kontrol) bireylerden de normal mukoza ile serum ve tükürük örnekleri toplanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. ORAL KAVİTENİN YAPISI

2.1.1. Oral Kavitenin Anatomik Yapısı

Oral kavite ön kısımda vermilyon hattı ile arka kısımda orofarinks arasında kalan bölgedir. Alt kısımda ağız tabanı, üstte sert damak, yan bölümlerde yanak mukozaları bulunur. Ağız boşluğu anatomik olarak birçok alt bölgeye ayrılmaktadır. Bunlar, yanak mukozası, maksillar ve mandibular alveolar ark, alt ve üst dudak mukozaları, dişler, dişetleri, retromolar trigon, sert damak, yumuşak damak, dilin 2/3 ön kısmı, ağız tabanı gibi bölümlerdir (68).

Oral kavite dudak seviyesinden başlayıp palatoglossal bölgeye uzanır. Alt kısımda ağız tabanı ve dil, üst kısımda ise sert damak ile sınırlanmıştır. Kaviteyi çevreleyen yanak mukozası ön tarafta dudak komissürlerinden arkada palatoglossal bölgeye kadar devam eder (8).

Maksiller alveolar ark ile yumuşak damak arasında kalan sert damak alttaki kemik dokuyla sıkı bağlantı göstermektedir (8).

Dil ağız tabanının tam orta noktasında yer almaktadır. Dilin alt yüzeyi ile önde ve yanlarda alt dişlerin gingivaları ağız tabanını çevrelemektedir. Ağız tabanı arka bölgede palatoglossal kıvrımlara kadar uzanmaktadır(8)

Oral kavite sindirimin başlaması, tat duyusu, konuşma ve yutma, immünolojik koruma ve tükürük salgısı gibi özel görevlerinin olmasının yanında sindirim sisteminin başlangıcı konumundadır (11).

Sulkus terminalis ve ön tonsil pilikalarından farenksin posterior duvarına uzanan, üstte yumuşak damağın inferior yüzü, altta hyoid kemiğin superiorundan geçen hat ile sınırlı olup, ön-arka pilikalar ile dil kökü, farenks posterior duvarı, palatin ve lingual tonsillerin meydana getirdiği alan orofarenks adını alır ve ağız boşluğunun posteriorunu oluşturur (140).

Oral kavitede çok sayıda submukozal minör tükürük bezi bulunmaktadır. Minör tükürük bezlerini en yoğun gözlendiği alan sert damak ve alt dudaktır. Oral kavite aynı zamanda lenfoid yapılar da bulundurmaktadır. Bunların en büyüğü arka bölümde yer alan; tubal, faringeal, palatin, lingual tonsillerin oluşturduğu Waldeyer halkasıdır. Bu

doku orofarenksi çepeçevre sarar vaziyettedir. Orofarenksin arka kısmında küçük tonsiller tabakalar da izlenmektedir (11,140).

Jugulodigastrik, submandibüler ve submental lenf nodları oral kavitenin lenfatik drenajını sağlar. Submandibüler lenf nodları genellikle gingivadan kaynaklanan lenfatik damarların, submental lenf nodları ise mandibular kesici dişlerin lenfatik damarlarının drenajından sorumludur. Damak bölgesinin drenajı ise jugulodigastrik ve retrofarengeal lenf nodları tarafından sağlanır. Dilin lateral kenarı ile ventral bölümünün drenajı aynı taraftaki submandibüler lenf tarafından sağlanır, uç kısmının lenfatik akımı ise submental lenf nodlarına doğrudur. Dilin arka kısmı ve sirkumvallat papilla çevresindeki bölge unilateral veya bilateral olarak jugulodigastrik, juguloomohyoid veya intermediate lenf nodlarına drene olmaktadır. (8)

Maksilla ve mandibula trigeminal sinir (5. kranyal sinir) tarafından innerve edilir. Trigeminal ganglion (semilunar veya Gasser ganglionu) orta kranyal fossanın tabanında lokalize olup bu yapıdan üç geniş sinir gövdesi çıkmaktadır. Oftalmik dal üst orbital fissür yoluyla göze doğru yol alır. Maksiller dal foramen rotundum yoluyla pterygopalatin fossaya geçer ve burada maksiller alveolar kemiği, üst dişleri, sert damağı innerve eder. Mandibüler dal foramen ovale yoluyla kafa tabanından terk eder, infratemporal fossa boyunca geçer ve inferior alveolar sinir, bukkal sinir ve mental sinir yoluyla alt çeneyi innerve eder (11).

Lingual sinir mandibulanın iç ramusuna yakın bir lokalizasyonda trigeminal sinirin mandibüler kolundan dili sirkumvallat papilla önünde kalan kısmının, ağız tabanı, mandibüler ön lingual gingivanın duyularını innerve eder. Dil tabanı ise 9. kranyal sinir olan glossofarengeal sinir yoluyla innerve edilir. İntrensek dil kaslarının motor innervasyonu ise hipoglossal sinir tarafından sağlanır (11).

2.1.2. Oral Kavitenin Histolojik Yapısı

Oral kavite keratinize veya keratinize olmayan çok katlı yassı epitelden oluşan oral mukoza ile örtülüdür. Mukoza altında konnektif bağ doku tabakası ve en altta lamina propriadan oluşan tabakalardan oluşmaktadır. Majör ve minör birçok minör tükürük bezlerinin salgıları ile mukozanın ıslaklığı sağlanmaktadır. Sinir sonlanmaları bakımından oldukça zengin olan oral mukozada özellikle dil dorsumu ve tat tomurcuklarında özelleşmiş sinir uçları mevcuttur. Lamina propria tabakası altında uzanan submukoza oldukça çeşitlidir ve bu iki tabaka birleşik durumdadır (53).

Keratinize olmayan (non-keratinize) çok katlı yassı epitel ile örtülü alanlar, dudakların iç yüzeyi, yanaklar, ağız tabanı ve dilin ön yüzeyidir. Dudak dış yüzeyi keratinize çok katlı yassı epitel ile örtülüdür. Mukoza altındaki submukozal alanda lamina propria ismini almıştır ve bu bölgede minör tükürük bezleri bulunmaktadır. Sadece insanlara özgü bir yapı olan, derinin keratinize epiteli ile mukozanın non-keratinize epiteli arasındaki geçiş hattına "vermilyon hattı" adı verilmiştir. bu alan orbikularis oris kası ile çevrelenmiştir. Vermilyon hattı konnektif bağ doku arasında kapiller ağ açısından zengindir. Epitelin ince olması sayesinde dudaklar kırmızı rengini almaktadır. Vermilyon hattında tükürük bezi bulunmaz, bu bölgenin ıslaklığı dil ile sağlanmaktadır (53).

Çiğneme kuvvetlerine bağlı olarak sert damak ve dişetleri keratinize çok katlı yassı epitel ile örtülüdür. Ayrıca sert damakta bolca minör tükürük bezi bulunur.

Dilin büyük bir bölümü çizgili kas demetlerinden oluşmaktadır. Lamina propria tabakası kasların konnektif bağ dokusu ile devam eder ve mukozayı sıkıca birbirine bağlar. Yine submukozal alanda dilin ventral bölümüne gidildikçe minör tükürük bezleri görülür. Dilin dorsumu ve lateral bölümleri genel duysal ve tat algısı açısından önemli bölgelerdir. Dilin bu alanı ilgili duyuları sağlayan sinir sonlanmaları içeren özelleşmiş bir mukoza ile örtülüdür.. Dil dorsumunda bulunan papilla adı verilen ince çıkıntılar dilin ventral bölümüne gidildikçe azalmaktadır. Filiform papilla, fungiform papilla, sirkumvallat papilla ve foliat papilla dil papillalarıdır. Filiform papilla histolojik olarak konik yapıda izlenir. Fungiform papillalar mantar şeklinde yapılardır, filiform papilla etrafına saçılmış şekilde bulunurlar. Sirkumvallat papilla ise etrafında geniş oyuk olan yuvarlak yapıdadır ve keratinize olmayan epitel ile çevrilidir. Foliat papillalar insanlarda gelişmiş yapılar değildir Çok sayıda tad tomurcuğu içeren bu yapılar dilin dorsolateral yüzeyinde birbirine paralel iki veya daha fazla çizgilenmeler şeklinde izlenir. (53).

2.2. ORAL KAVİTEDE PREMALİGN DEĞİŞİKLİKLER VE DİSPLAZİ

Tarihsel olarak, diskeratoz, epitelyal atipi, skuamöz intraepitelyal neoplazi ve skuamöz intraepitelyal lezyonlar gibi birçok terim oral kanser gelişimi öncesi meydana gelen epitelyal değişiklikleri tanımlamak için kullanılmıştır. Günümüzde oral bölgede meydana gelen epitelyal değişiklikleri tanımlamak için Oral epitelyal displazi (OED) terimi kullanılmaktadır. OED, oral patologlar tarafından lezyonun olası farklı tanıların

ekarte edilerek hücresel atipi ve yapısal bozulmalarını içeren doku değişikliklerinin değerlendirilmesini sağlayan bir terimdir. Bu sayede WHO tarafından yapılan OED sınıflandırma sistemi de kullanılarak lezyonların objektif bir biçimde değerlendirilmesi mümkün olmaktadır (122).

Displazik değişikliklerin en sık görüldüğü tabaka çok katlı yassı epitel tabakasıdır. Displazik değişiklikler ilk olarak serviks epitelinde tanımlanmıştır. Sonraki dönemlerde larinks, ağız, farinks ve bronş mukozalarını döşeyen epitelde de gözlenmiştir. Oral mukozada görülen OED; çok katlı yassı epitel hücrelerinde gözlenen yapısal değişikliklerin, yassı epitel hücreli karsinomda görülen tümör hücrelerine benzerlikleri dolayısıyla, OSCC'ye dönüşme eğilimini gösterdiği kabul edilir. Displazik değişikliklerin görüldüğü çok katlı yassı epiteli hücreleri, normal mukoza epitel hücrelerine oranla daha fazla kanserleşme eğilimi göstermektedir. Oral kavitede görülen premalign lezyonların da OSCC'ye dönüşebildiği bilinmektedir (105,135)

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından oral kavite ve larinkste oluşan intraepitelyal displazileri sınıflamak için belirlediği kriterlere göre displazi, hücresel atipinin bulunmadığı ve epitel mimarisinin korunduğu hücre sayısındaki artış ile birlikte hiperplazi şeklinde ya da hücre atipisinin görüldüğü hafif, orta, ağır derece displazi ve karsinoma in situ şeklinde adlandırılır (30).

Hücre sayısında artış ile birlikte hiperplazi durumda spinoz tabaka ya da bazal ve parabazal tabakada hücre sayısındaki artışı görülür, hücre atipisi yoktur.(33)

WHO'nun 2017 yılında oluşturduğu tanı kriterlerine göre oral epitelyal displazinin tanısında kullanılan mikroskopik bulgular hücresel değişiklikler ve yapısal değişiklikler olarak ikiye ayrılabilir;

- **Hücresel değişiklikler**

- Nükleusun anormal derecede büyümesi (Anizonükleus)
- Hücrenin anormal derecede büyümesi ve değişik büyüklükte hücrelerin bir arada bulunması (Anizositozis)
- Hiprekromatik çekirdek
- Büyümüş ve sayıca artmış nükleolus
- Atipik mitozlar

- Nükleus/sitoplazma oranının artış göstermesi
- Nükleus şeklinin anormal olması (Nükleer pleomorfizm)
- Hücre şeklinin anormal olması (Hücrel pleomorfizm)

- **Yapısal değişiklikler**

- Düzensiz epitel tabakaları
- Tekli hücrelerde görülen prematür keratinizasyon (Diskeratozis)
- Bazal hücrelerin sayıca artması ve hücrelerde polarite kaybı
- Mitozların artması ve anormal mitozlar
- Damla şeklinde epitel papillalar ve epitel papillalarında dallanmalar
- Epitelyal hücrelerde adezyon kaybı (30)

Hafif derece displazi, yapısal ve hücrel değişikliklerin minimal olduğu ve epitel tabakanın 1/3'lük kısmında sınırlı olduğu bir lezyonu tanımlar. Orta dereceli displazide yapısal ve hücrel değişiklikler epitelinin tam kalınlığının üçte ikisinde görülür. Ağır derece displazi, daha belirgin değişikliklerin epitelin alt üçte ikisini aştığı durumu tanımlar. Karsinoma in situ ağır derece displazinin en şiddetli şekli olarak kabul edilir, hücrel ve yapısal değişiklikler tüm epitelyal kalınlıktaki görülür, anormal mitoz bu duruma eşlik edebilir (122).

Oral epitelyal displazi malign dönüşüm için en önemli prognostik faktör olarak kabul edilebilir. Çoğu araştıracı malign dönüşüm riskinin displazik durumun derecesi arttıkça malign dönüşüm riskinin arttığı konusunda hemfikirdir. Bunun yanında farklı araştırmacılar malign dönüşüm için farklı değerler bildirmişlerdir. Mehanna ve ark. yaptıkları çalışmada malign dönüşüm oranlarını hafif/orta derece displazi için %10,3 ağır derece displazi/karsinoma in situ için %24,1 olarak bildirmiştir. Sperandio ve ark. yaptıkları çalışmada hafif displazi için %6, orta derece displazi için %18 ve ağır derece displazi %39 olarak bildirmiştir. Warnakulasuriya ve ark. bu oranları hafif, orta ve ağır derece displazi için sırasıyla %4.8, %15.7, %26.7 olarak bildirmiştir (74,123,133).

OED'yi klinik olarak ayırt etmek ise mümkün değildir. Kırmızı ve beyaz lezyonlarda displazi şüphesi bulunduğu histopatolojik olarak incelenmesi gerekmektedir. Oral kavitede gözlemlenen kırmızı ve beyaz premalign lezyonların

kanserleşme eğilimini gösteren en önemli bulgu oral epitelyal displazidir. Oral mukoza da beyaz renkli lezyonlar, kırmızı renkli lezyonlara oranla daha sık görülmektedir. Çoğunlukla kırmızı renkli lezyonlarda displazik değişikliklerin görülme olasılığı daha yüksektir. Premalign lezyonlarda histopatolojik olarak gözlenen displazik değişikliklerin kanserleşme eğilimi açısından takip altında tutulması gerekir. OSCC premalign bir lezyondaki displazik değişiklikler sonu hücrelerin kontrolsüz bir biçimde çoğalarak bazal membranı aşması ve bağ dokusu invazyonu yaparak gelişebilir ya da displazi evrelerini atlayarak doğrudan karsinom olarak başlar ve hızla ilerler (20,122).

2.3. ORAL KAVİTENİN PREMALIGN LEZYONLARI

Uluslararası literatürde kanserleşme potansiyeli taşıyan klinik durumların tanımlanması amacıyla “prekürsör”, “pre-kanseröz”, “intra-epitelyal neoplazi”, “prealign” ve “potansiyel malign” gibi farklı terimler kullanılmıştır (134). Premalign terimi patolojik bir terim olmayıp, klinik bulgulara dayanarak kullanılan bir terimdir. Oral kavitenin premalign lezyonları uzun süreler statik durumlarda kalabildikleri gibi seyirleri sırasında malignite gösterebilen lezyonlardır (128).

Oral premalign lezyon tanımı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından “oral kavitede klinik olarak tanımlanabilir öncül bir lezyon veya normal oral mukoza görüntüsünde, kanser gelişimi riski taşıyan lezyonlar” şeklinde yapılmıştır (30). Oral premalign lezyonlar WHO tarafından şu şekilde sıralanmıştır;

- Eritroplaki
- Lökoplaki
- Oral liken planus
- Kronik kandidiyazis
- Oral submukoz fibrozis
- Diskoid lupus eritematozus
- Diskeratozis konjenita
- Aktinik keratoz
- Ters sigara içimine bağlı gelişen damak lezyonları
- Dumansız tütün kullanımına bağlı gelişen keratoz (30)

2.3.1. Eritroplaki

Eritroplaki WHO tarafından klinik ya da histopatolojik olarak başka bir hastalıkla tanımlanamayan, silindiğinde ortamdan uzaklaştırılamayan parlak kırmızı,

kadifemsi plak veya yama şeklinde lezyonlar olarak tanımlamıştır. Çevre mukozadan düzensiz sınırlarla ayrılmış olan lezyon mukozada meydana gelen atrofi nedeniyle sıg bir çöküntü görünümündedir. Kırmızı arka plan üzerinde sarı-beyaz granüllü olabilir, yüzeyi düzensizdir. Bazı durumlarda lökoplakinin beyaz lezyonları ile birlikte görülebilir, bu durumdaki lezyonlar eritrolöklaki adını alır (135). Genellikle asemptomatik olan lezyonlara bazı durumlarda ağrı ve yanma şikayetleri eşlik edebilir (92). Lezyonların lokalizasyon erkek ve kadın popülasyonunda farklılıklar gösterebilir. Kadın popülasyonda sıklıkla diş eti, alveol mukozası, mandibular sulkuslarda görülürken, erkeklerde sıklıkla dil kenarı ve ağız tabanı yerleşimli görülmektedir (135).

Lezyon histopatolojik olarak incelendiğinde keratin tabakasının çok ince olduğu görülür. Epitelin bazı bölümlerinde akantoz veya atrofi alanları görülebilir. Görüntü hafif, orta ya da ağır derece displaziden OSCC'ye kadar değişebilir. Klinik olarak eritroplaki tanısı konulmuş lezyonlar histopatolojik olarak incelendiğinde yarısına yakın bir kısmının ağır displazi, karsinoma in situ veya invaziv karsinom tanısı aldığı görülmüştür (23,130). Malign dönüşüm potansiyeli en yüksek kabul edilen oral mukozal lezyon olarak kabul edilen eritroplaki lezyonlarında bu sebeple biyopsi şarttır (88).

2.3.2. Lökoplaki

Beyaz anlamına gelen “leuko” ve leke anlamına gelen “plakia” sözcüklerinin bir araya gelmesi ile oluşan lökoplaki terimi WHO tarafından oral mukozanın bilinen diğer hastalık ve rahatsızlıklarının haricinde kanser riski taşıyan beyaz plakları olarak tanımlanmıştır (134). Klinik görünüm olarak oral mukozada görülen diğer hastalıklar ya da bozukluklar ile açıklanamayan, silindiğinde uzaklaşmayan beyaz lezyonlara lökoplaki ön tanısı koyulur. Histopatolojik incelemede başka bir hastalık ya da bozukluğun varlığının gösterilemediği ve tütün vb. çiğneme alışkanlığı haricindeki etyolojik faktörlerin elimine edildiği durumda lökoplakinin kesin tanısı koyulabilir (35). Histopatolojik inceleme kesin tanı için gerekli olmasının yanı sıra olası malign dönüşümünün değerlendirilmesi için mutlaka gereklidir (135).

Çeşitli coğrafyalar ve kültürel farklılıkların yanı sıra tütün kullanımı ve beslenme alışkanlıkları gibi lökoplaki için önemli olan etyolojik faktörler de göz önünde bulundurulduğunda lezyonun global prevalansı %1,7-2,7 arasında değişmektedir (77). Oral lökoplaki 30 yaş üstü hastalarda daha çok görülmekle birlikte 50 yaş üzeri

lezyonun en sık görüldüğü dönemdir. Erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülür (112,130).

Oral lökoplakinin etyolojisi tam olarak açıklanamamıştır. Tütün kullanımı en önde gelen etken olarak düşünülmekte ve alkol kullanımı, Human Papilloma Virüs (HPV), Candida albicans, beslenme bozuklukları ve kronik irritasyonlar gibi diğer durumlar etyolojik etkenler olarak değerlendirilmektedir.

Oral lökoplakinin etyolojisinde en ciddi etken tütün kullanımı olarak değerlendirilmektedir. Tütün kullanımı farklı coğrafyalarda dumansız olarak, tütün içeren maddenin ağızda yanak içerisinde tutulması veya çiğnenmesi şeklinde de kullanılmaktadır. Kullanılan bu maddelerin ismi farklı coğrafyalarda farklı isimler (Betel quid, Maraş otu, Areca nut vb.) almaktadır. Oral lökoplaki lezyonlarının görüldüğü hastaların yaklaşık %80 oranında sigara ve tütün ürünleri kullandığı görülmektedir (31). Tütün ve ürünlerinin kullananlarda oral kanser riskinin kullanmayanlara oranla 7-10 kat fazla olduğu bilinmesine karşın, oral lökoplakilerde malign transformasyon ve lezyonun prognozu açısından bakıldığında tütün kullanmayanlarda görülen lezyonların daha iskli olduğu belirlenmiştir (31, 44,60).

Alkol kullanımının bağımsız olarak lökoplaki oluşumunda etyolojik faktör olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceği konusu tartışmalıdır (113,127). Alkol kullanımının oral kanser ve premalign lezyonlarda bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceğini gösteren çalışmalar olmasına rağmen bu konudaki genel görüş, alkol kullanımının birincil bir etken değil mevcut riski artırıcı destekleyici bir etken olduğudur (113,66).

Candida albicans lökoplaki etyolojisinde adı geçen bir diğer etkidir. Eritroplakilerde daha sık görülmesine karşın lökoplaki lezyonlarında da rastlanabilen candida albicans enfeksiyonlarının lezyona etken mi olduğu yoksa, sonradan lezyon üzerinde olduğu net değildir (44,87). Güncel görüş tanı sırasında ayırıcı tanıda candida albicans enfeksiyonunun da düşünülmesi ve elimine edilmesi yönündedir (31, 78).

Human Papilloma Virüs (HPV) ile ilgili Miller ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada oral premalign lezyonlar ve malignite arasındaki ilişki incelenmiş ve oral lökoplaki bulunan bireylerde (%22) normal epitele (%10) oranla daha yüksek oranda HPV saptanmıştır (103). Çalışmada normal epitele oranla prekanseröz lezyonlarda 2-3 kat ve karsinomlarda 4-5 kat daha yüksek oranda HPV saptanabileceği belirtilmiştir,

bunun yanında birçok çalışmada HPV ile premalign ya da malign durum arasında ve oral lökoplaki lezyonlarının herhangi bir klinik tipi ile arasında net bir ilişki saptanamamıŐtır (105,106,129).

Oral l koplakilerin oral mukozadaki lokalizasyonları incelendiğinde sıklıkla ağız tabanı, bukkal mukoza, bukkal kommisurlar, dilin lateral yüzeyleri ve alveol kretleri yerleşimli olduğu görülmüştür (87).

Oral lökoplakiler yüzey özellikleri ve klinik görüntülerine göre homojen ve non-homjen lökoplakiler olarak 2 ana grupta incelenir. Homojen lezyonlar;  evre dokulardan belirli bir sınırla ayrılabilen, uniform özelliktedir. Lezyonun tüm bölümleri aynı kalınlıktadır (134). Homojen tip lökoplakiler uzun süre değişime uğramadan kalabilir ya da zamanla kaybolabilirler Malign dönüşüm riski homojen tipte düşüktür, çoğu durumda prognozu iyi olmasına rağmen epitelyal displazi ve malign dönüşüme karşı lezyonun takibi önemlidir (129). Non-homjen lökoplakiler düzensiz yüzey özellikleri gösteren sıklıkla beyaz, beyaz-kırmızımsı renge sahip lezyonlardır. Bu tip kendi içinde klinik özelliklerine göre verrüköz, benekli, nodüler gibi alt gruplara ayrılmaktadır. Non-homjen oral l koplakilerin malign dönüşüm oranı homojen l koplakilere oranla daha yüksektir. Eritrol koplaki adını alan kırmızı-beyaz lezyonların bir arada görüldüğü tip malign dönüşüm açısından en riskli lezyondur (128).

Lezyon histopatolojik olarak incelediğinde, hiperplaziden OSCC'ye kadar bir çok farklı Şekilde tanımlanabilir (31). Histopatolojik olarak lezyonun özellikleri hiperplazi ve epitel atrofisi arasında değisebilir, bu iki durumda da hiperkeratoz izlenebilir. Lökoplaki lezyonlarının spesifik görüntüsü olan beyaz plak Şeklindeki görüntü hiperkeratoz ve bağ dokusundaki vasküler yapıyı gizleyen spinal tabakanın kalınlaŐması sonucu oluşur (31, 86).

Oral lökoplaki oral mukozada en sık görülen premalign lezyondur. Değerler farkı çalışmalarda değişik oranlarda bildirilmesine karşılık, lezyonun malign dönüşümü için en sık bildirilen aralık %2-6 arasındandır. Yapılan  alıŐmalar sonucunda malign dönüşüme yatkınlık ile ilgili bazı özellikler tespit edilmiştir (31).

- Dil ve/veya ağız tabanındaki lezyonlar,
- Tütün kullanmayan bireylerde görülen lezyonlar,
- Kadınlarda görülen lezyonlar,

- Candida albicans enfeksiyonunun eşlik ettiği lezyonlar,
- Non-homojen tipteki lezyonlar,
- Epitel displazinin görüldüğü lezyonlar,
- Uzun süre müdahale edilmeyen lezyonlar malign dönüşüm açısından daha risklidir (66,104).

Oral lökoplakinin tedavisinde ilk olarak lezyona sebep olan predispozan faktörlerin ele alınması ve ortadan kaldırılması gereklidir. Lezyonun klinik tipi, lokalizasyonu, büyüklüğü, displazi varlığı gibi etkenler tedavi planlamasını şekillendirir. Tedavide en çok kullanılan yöntem lezyonun cerrahi eksizyonudur. Cerrahi eksizyon sonrası rekürrens oranı %20-35 arasında değişmektedir (131). Lökoplakinin malign dönüşümü lezyon sınırları dışında kalan alanda da meydana gelebilmekte bu yüzden lezyonun cerrahi olarak eksizyonu bu durumu tam olarak engelleyememektedir. Lökoplaki için cerrahi uygulanmış olsun ya da olmasın ilk yıl içerisinde 3 ay aralıklarla klinik takip önerilir. Lezyon stabil durumda olması durumunda takip aralıkları 6 aya çıkarılabilir, ancak lezyonun klinik görüntüsünde meydana gelen bir değişiklik olduğunda histopatolojik inceleme gereklidir (134).

2.3.3. Oral Liken Planus

Oral liken planus (OLP) oral mukozanın kronik ve enflamatuvar oto-immün bir hastalığıdır. Oral mukozanın enfeksiyöz olmayan hastalıkları arasında prevalansı en yüksek olan hastalıktır. OLP'nin global prevalansı yapılan farklı çalışmalardaki hesaplamalara göre %1,27 ile %1,9 arasında, Türk popülasyonundaki prevalansı ise %0,5 ile %0,8 arasında değişmektedir (7,73,82,14). Hastalık yaşamın 5. ve 6. dekatları arasında ve kadınlarda erkeklerden iki kat daha fazla görülmekle birlikte, tüm yaş gruplarında görülebilir. Çocuklarda OLP benzeri lezyonların çok nadir görüldüğü vakalar literatürde bulunmaktadır (28,33).

Liken planus (LP) hastalarının yaklaşık 1/3'ünde ağız mukozasında da lezyonlar mevcuttur. LP hastalığında lezyonları ilk ağız mukozasında ortaya çıkan hastaların %15'lik kısmında bu lezyonları takiben ciltte de lezyonların çıktığı bildirilmiştir (28).

Hastalık genelde oral mukozada karakteristik yerleşim gösteren ve belirgin klinik bulgulara sahip bir formdadır. Retiküler, atrofik (eritematöz) ve ülseratif (eroziv, büllöz) olmak üzere üç temel klinik tipi bulunmaktadır. Oral mukozada lezyonlar

genellikle bu klinik tiplerin karışımı şeklinde görülürler (28,29). Retiküler lezyonlar hemen her zaman eroziv ve eritematöz lezyonlara eşlik eder ancak diğer formlardan izole olarak da görülebilir. Subepitelyal alandaki enflamasyonun şiddeti OLP'nin farklı klinik tiplerde görülmesine sebep olur. Enflamasyon şiddetinin hafif olduğu durumlarda hiperkeratoz oluşurken, yoğun enflamasyon epitelin bozulmasına sebep olur ve histopatolojik olarak atrofi, erozyon veya ülserasyonun meydana geldiği alanlar gözlemlenir (115).

Retiküler tip OLP'nin en sık karşılaşılan tipidir. Hiperkeratotik beyaz çizgilerden oluşan ve Wickham çizgileri olarak adlandırılan oluşan ağlar, papüller ve plakların varlığı OLP için karakteristik özelliiktir. Retiküler tip OLP sıklıkla her iki yanak mukozasında ve nadiren dudak mukozasında görülmekle birlikte oral mukozanın tüm bölgelerinde yerleşim gösterebilir (36,37). Retiküler OLP genellikle asemptomatiktir ve tedaviye ihtiyaç duyulmaz. Ağrı varlığında hasta kandida enfeksiyonları açısından değerlendirilmelidir (50).

Atrofik (eritematöz) tip OLP'de karakteristik olarak homojen kırmızı alanlar görülür. Eritematöz lezyonların periferinde retiküler forma benzer beyaz çizgiler görülebilir. Yapışık diş etini etkileyen atrofik tipteki OLP'ye beyaz çizgi ya da plakların eşlik etmediği durumlarda ortaya çıkan tablo deskuamatif gingivitis adını alır. Lezyonun periferinde yer alan beyaz çizgiler ve plaklar subepitelyal enflamasyonun merkezden periferine gidildikçe azaldığının göstergesidir. Bu tarz durumlarda sadece klinik olarak tanı koymak oldukça zordur ve mutlaka histopatolojik inceleme gereklidir (37).

OLP hastalarında en sık görülen semptomlar ağrı ve yanmadır. Bu semptomlar özellikle atrofik ve eroziv formlarda görülür. Hafif mukozal hassasiyetten devamlı ve kısıtlayıcı ağrıya uzanan bir çeşitlilik gösteren bu semptomlar sıklıkla alevlenme ve gerileme dönemleri ile yıllarca devam edebilirler. Hastalığın alevlenme döneminde eritem veya ülserasyonun artmasına bağlı olarak bu duruma eşlik eden ağrı ve hassasiyet artış gösterir; gerileme döneminde eritem veya ülserasyonla birlikte şikayetler de azalır. Hastalar beyaz çizgiler, papül veya plakların görüldüğü semptomsuz gerileme döneminde ya da retiküler tip OLP'de çoğunlukla hastalığın farkında değildir (37). İmmün sistemde dengesizliğe yol açabilecek psikolojik stres, hastalık vb. durumlara bağlı olarak semptomsuz olarak devam eden OLP alevlenebilir. OLP lezyonlarında sekonder olarak meydana gelebilen kandida enfeksiyonları da ağrı, hassasiyet gibi semptomlara yol açabilir (99).

Yalnız gingival bölgede yerleşimli OLP'lerin klinik olarak tanı özellikle plak şeklindeki keratotik lezyonlar, hiperkeratoz veya lökoplazi ile benzerliğinden dolayı zordur. Deskuamatif gingivitis tarzı durumlarda ise tanı daha da güçleşmektedir. Pemfigoid, pemfigus, lineer IgA hastalığı, lupus eritematosus, alerjik reaksiyonlar ve kandidiyazis tarzı lezyonlar benzer klinik tablolara yol açabileceğinden ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Bu sebeple kesin tanı için mutlaka histopatolojik inceleme gereklidir ve immüno Floresan inceleme benzer hastalıkları birbirlerinden ayırt etmek için faydalı olabilir (37).

OLP hastalığının etyolojisi net olarak açıklanamamaktadır ancak yapılan çalışmalarda hücrel immunolojik mekanizmaların hastalığın patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. Sigara kullanımı, amalgam dolgu vb. dental materyaller, hepatit, ilaçlar, oral hijyen bozukluğu gibi etkenlerin yanı sıra travmanın da hastalığı etkileyen faktörler arasında bulunduğu düşünülmektedir. Tükürük akışının azalmasına bağlı oluşan ağız kuruluğunun OLP oluşmasında bir etken olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. OLP hastalarında psikolojik bozukluklara yatkınlık izlenmektedir (96). Klinik olarak daha agresif ve semptomatik seyreden özellikle eroziv tip OLP hastalarında, depresyon skorlarının yüksek olduğu ve bu hastalarda OLP oluşumuna sebep olan faktörleri tetikleyen mekanizmalar olduğu ileri sürülmüş ve yapılan araştırmalarda bu durumu destekleyen bulgular saptanmıştır. OLP lezyonlarına bağlı ortaya çıkan anksiyete; stres ve kortizol salgısındaki artış ile OLP arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Bu sebeple gereğinde bu hastalara psikolojik destek verilmesi öneriler arasındadır (29).

Hastalığın patogenezinin etkileyen mekanizmalar genel olarak antijene özgü ve antijene özgü olmayan olarak ikiye ayrılabilir. Antijene özgü mekanizma bazal keratinositler tarafından antijen sunumu ve CD8+ sitotoksik T hücreleri tarafından antijen spesifik keratinositlerin öldürülmesini kapsar. Antijene özgü olmayan mekanizmalar ise OLP'de bulunan mast hücre degranülasyonunu ve matriks metalloproteinaz aktivasyonunu içerir. Bu mekanizmalar yüzeyel lamina propriada T hücre birikimi, bazal membran yıkımı, intra epitelyal T hücre migrasyonu ve keratinosit apoptozisine neden olur. Bu bilgiler OLP'nin T hücre aracılı bir otoimmün hastalık olduğu görüşünü desteklemektedir (125).

Oral premalign lezyonların OSCC dönüşümü tam olarak bilinmemekle birlikte yıllık %2'den daha az olduğu düşünülmektedir (130). Yapılan çalışmalarda OLP'nin

kansere dönüşüm oranını yıllık %3,7 ile %1'in altında gibi farklı değerler bildirilmiştir (84,76). Kronik enflamatuvar otoimmün bir hastalık olan OLP'nin meydana getirdiği enflamatuvar çevre dokunun, normal epiteldeki kanserleşmeyi arttırmanın yanı sıra tütün ve alkol gibi OSCC dönüşümünde önemli rol oynayan çevresel karsinojenlerin oluşturduğu moleküler değişiklikler üzerinde şiddetlendirici ve predispozan bir etki meydana getirdiği öne sürülmüştür. OSCC dönüşüm oranı düşük görünmesine rağmen OLP hastalarında görülen kanser insidansındaki artış bu hastalığın potansiyel malign bir durum olduğunu destekler niteliktedir (48).

Günümüzde OLP'nin kesin tedavisi yoktur. Ağız hijyenin ideal durumda tutulmasının hastalığın şiddetini azalttığı düşünülmektedir ancak semptomların alevlendiği durumda bu hastalar için çok zor olabilmektedir. Lezyon üzerinde mekanik travma meydana getirebilecek unsurların da semptomların alevlenmesine sebep olabileceğinden ortadan kaldırılması gerekmektedir (27). Asemptomatik olan retiküler tip OLP tedaviye ihtiyaç duymaz. Hastalığın temel tedavi prensibi semptomatiktir. Hastalığın tedavisinde semptomların şiddetinin ve süresinin azaltılması hedeflenmektedir. Hastalığın şiddetine göre topikal ve sistemik kortikosteroidler OLP tedavisinde en sık kullanılan ilaçlardır. Bununla birlikte semptomatik atrofik ve ülseratif lezyonların görüldüğü OLP'li bireyler için halen yeni tedavi yöntemleri araştırılmaktadır (26,69).

2.3.4. Kronik Kandidiyazis

Oral kandidiyazis etyolojisinde çoğunlukla *Candida albicans*'un rol oynadığı oral mukozada en sık görülen fungal enfeksiyondur. *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis* etiyolojide karşımıza çıkan diğer etkenlerdir. Oral kandidiazis; psödomembranöz kandidiyazis, kronik atrofik kandidiyazis, kronik hiperplastik kandidiyazis, akut atrofik kandidiyazis ve mukokütanöz kandidiyazis olarak alt sınıflara ayrılabilir (59).

Kronik hiperplastik kandidiyazis bilinen diğer adıyla kandidal lökoplaki, oral mukozada tipik olarak beyaz bir yama olarak ortaya çıkan bir oral kandidiyazis tipidir. Hastalığın majör etiyolojik ajanı, *Candida albicans*'dır. Vitamin eksikliği ve immün baskılama gibi diğer sistemik etkenler de predispozan faktör olarak katkıda bulunabilir. Lezyonların oral lökoplakiden ayrılması klinik olarak zordur, en sık görülen bölgeler yanak içi, dudak ve dildir (121). Ayırıcı tanı mikroskopik incelemede görülen kandida

hifleri ile yapılır. Klinik olarak lezyonlar semptomsuzdur ve uygun antifungal tedavi ve altta yatan beslenme veya diğer eksikliklerin düzeltilmesinden sonra gerilemektedir. Lezyonlar uzun süre tedavi edilmediği durumlarda epitelyal displazi ve malign dönüşüm görülebilir (36,128).

2.3.5. Oral Submukoz Fibrozis

Oral mukoza, farenks ve özafagusun 2/3'ünü etkileyebilen sarı-beyaz renk değişimiyle şeklinde görülen bir kollagen bozukluğu olan oral submukoz fibrozis (OSF) özellikle Pakistan ve Hindistan gibi Güneydoğu Asya ülkelerinde "betel quid, gutka, areca nut" şeklinde farklı isimler verilen doğal bitkilerin ağız içerisinde tutulması sonucu meydana gelir (37). Bunların yanı sıra, acı biber, lime, tütün benzeri kronik iritan maddelerin kullanılması, beslenme bozukluğu, bakteriyel enfeksiyonlar gibi etkenler de etyolojide rol oynamaktadır. Kullanım alışkanlığına bağlı olarak lezyonların lokalizasyonu değişiklik gösterebilir. Özellikle damak ve yanak mukozası bu lezyonların en sık rastlandığı bölgelerdir (20,37).

Lezyonun bulunduğu bölgedeki mukoza atrofik ve soluk bir görünümündedir. Soluk görüntünün temel sebebi submukozal tabakanın fibrozisi ve yerel dolaşım bozukluğudur. Hastalığın ilerleyen evresinde atrofik epitel altında oluşan fibrotik bantlar konuşma, dil hareketleri ve ağız açma becerisini olumsuz yönde etkiler. Yanma hissi, vezikül oluşumu, ülserasyon, pigmentasyon, tekrarlayan stomatit, tat eksikliği, mukozanın gittikçe sertleşmesi, kulak ağrısı gibi klinik bulgular hastalığa eşlik edebilir. Lezyonlar kimi zaman eritroplaki ve lökoplaki benzeri lezyonlarla birlikte görülebilir (93,37).

OSF'nin karakteristik özellikleri ve areca nut vb. ürünlerin çiğneme alışkanlığının varlığı tanı için önemlidir. OSF tanısını koyabilmek için; palpe edilebilir fibröz bant varlığı, sert ve kösele hissi veren mukoza dokusu, OSF ile uyumlu histopatolojik özelliklerle beraber görülen beyazlamış mukoza gibi özelliklerin en az birinin görülmüş olması gerekir (37).

OSF'nin malign dönüşüm oranı %2-8 arasında değişmektedir ve OSF hastalarında normal bir bireye göre 19 kat daha fazla OSCC gelişimi riski vardır (37,93). OSF'nin OSCC dönüşümü erkeklerde kadınlara oranla (32,1:1) daha fazladır. Tedavide öncelikle etyolojik faktörlerin elimine edilmesi gerekmektedir (101).

Steroidler, İodin-B-Kompleks, hyaluronidaz, plasenta ekstresi gibi ilaçlar tedavide kullanılan ajanlardır (20,36).

2.3.6. Diskoid Lupus Eritematozus

Lupus eritematozus, etyolojisi tam olarak açıklanamamış oto-immün bir deri hastalığıdır. Diskoid Lupus Eritematozus (DLE) ve Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) olarak iki tipi vardır. DLE'de %15-20 oranında, SLE'de %35-40 oranında oral tutulum görülür. DLE yaşamın en çok 3. ve 4. dekatında ortaya çıkar (59). Hastalığın prevalansı %0.5'ten azdır ve kadınlarda erkeklere oranla 1.8:1 daha fazla görülür (41).

Oral lezyonlar bazı durumlarda hastalığın ilk belirtisi olmaktadır. Genel tutulumu olan hastalığın oral lezyonlarını klinik olarak lökoplakiden ve OLP'den ayırt etmek zordur. DLE'nin oral lezyonları, çevre mukozadan hafifçe kabarık ya da çöküntü yapmış, sınırlı telenjektatik bir çizgi ile çevrili olabilen eritemli bir alan içerisinde beyaz yama veya benek şeklindeki lezyonlardır (36,128).

DLE lezyonlarının malign dönüşümü genellikle alt dudak ve beyaz ırkta görülür. Afrika ve Amerikalılarda malign dönüşümün rapor edildiği bazı çalışmalar da vardır (3,42). Ma ve ark. yaptığı bir çalışmaya göre alt dudak SHK'lerinin %5,5'inin DLE'den kaynaklanmaktadır, Liu ve ark. göre ise bu oran %6,8'dir (63,67). DLE lezyonları için epitelyal displazi ve 60 yaş üstü hastalar malign dönüşüm için birincil risk faktörleri olarak görülürken, sigara kullanımının katkıda bulunan bir diğer faktör olabileceği düşünülmektedir. DLE tedavisinde sistemik ve topikal kortikosteroidler sıklıkla kullanılır (63).

2.3.7. Diskeratozis Konjenita

Diskeratozis konjenita (DK) nadir görülen kalıtsal bir hastalıktır. Tırnak distrofisi, retiküler cilt pigmentasyonu ve oral lökoplazi üçlüsü hastalığın karakteristik özelliğidir. DK nüfusu 1/1.000.000 oranında etkileyebilir, cinsiyet dağılımı olarak büyük çoğunlukla 13:1 erkek popülasyonda görülür. Hastalığın ortaya çıkma yaşı 5 ile 13 arasındadır (5,118). Vakaların yaklaşık %80'inde beyaz keratotik yamalar şeklinde oral lezyonlar görülür. Bukkal mukoza, dil, orofarenks lezyonlardan çoğunlukla etkilenene bölgelerdir. Ektodermal anomaliler ve nötropeni ciddi periodontal yıkıma yol açabilir (5,102).

DK'nin malign dönüşüm potansiyeli WHO tarafından da değerlendirilmiş, Ray ve ark. tarafından yapılan çalışmada dil üzerindeki DK lezyonunun malign dönüşüm

gösterdiği tespit edilmiştir (102). DK için etkin bir tedavi yoktur, bleomisin, A vitamini, steroidler, testosteron ve cerrahi yaklaşım tedavi seçenekleri değerlendirilmektedir (5).

2.3.8. Aktinik Keratoz

Dudağın aktinik keratozu (aktinik keilit) sıklıkla alt dudağı tutan premalign bir durumdur. Uzun ve yoğun güneş ışığına maruz kalmak lezyonlar ile ilişkilidir. Lezyonların klinik görüntüsü, yaygın atrofik, erozif, ülseratif veya keratotik plaklardır. Bu bulgulara ek olarak, kuruluk, pullu lekeler, şişlik, enine fissürler, kabuklanma ve lekelenmeler görülebilir. Malign dönüşüm riski yüksek olan bir lezyondur. Erkek popülasyonda en sık görülen 10. kanser olarak bildirilen dudak kanserinin başlıca nedenlerinden biri dudağın aktinik keratozudur. Vakaların %6-10'u zamanla malign dönüşüme uğramaktadır (41,136). Kwon ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, aktinik keratoz kaynaklı skuamöz hücreli karsinomların (SHK) metastatik eğilimlerinin kutanöz kaynaklı SHK'den daha fazla olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada, kanama, sertlik, kalıcı ağrı varlığının malign dönüşümünün belirteçleri olarak görülmesi gerektiğine işaret edilmiştir (56).

Cerrahi, kriyoterapi, elektrocerrahi, topikal retinoidler, 5-fluorouracil krem, fotodinamik tedavi, CO2 lazer ablasyonu ve vermilyonektomi dahil olmak üzere aktinik keratoz için çeşitli tedavi yöntemleri bulunmaktadır (136).

2.3.9. Ters Sigara İçimine Bağlı Gelişen Damak Lezyonları

Ters sigara içimi, yerel dilde chutta (katlamak, sarmak anlamına gelen) adı verilen el yapımı bir puronun yanan ucunun ağzın içinde kalacak şekilde dumanının solunması ile gerçekleştirilen bir eylemdir. Hindistan'ın belirli bölgelerinde, özellikle balıkçılıkla uğraşan yetişkin popülasyonda oldukça yaygın bir alışkanlıktır. Aynı zamanda Güney Amerika, Karayipler, Hollanda, Kolombiya'nın kırsal bölgelerinde bazı popülasyonlarda da ters sigara içilmesi bildirilmiştir (126). Ters sigara içme alışkanlığı kadınlarda erkeklere oranla 6 kat daha fazla görülür. Bunun sebebi olarak, kadınların sigara içme alışkanlığını kocaları ve ebeveynlerinden gizleme isteği, ev işlerinde ve balıkçılıkta güçlü rüzgar ve su sıçraması sonucu sigaranın yanan ucunun muhafaza edilmesi gösterilmektedir (35).

Ters sigara içimi olan hastalarda oral mukozanın klinik görünümünün, konvansiyonel sigara içen ve sigara içmeyen bireylerden farklı olduğu bildirilmiştir. Ters sigara içenlerde yaygın olarak etkilenen alanlar damak ve dildir (91). Bu

alışkanlıkla ilişkili lezyonlar palatal hiperkeratoz, lökoplaki, eritroplaki, ülserasyon, hiperpigmente ve depigmente alanlardan maligniteye kadar uzanmaktadır (75).

2.3.10. Dumansız Tütün Kullanımına Bağlı Gelişen Keratoz

Dumansız tütün, ürünün yakılmadan kullanıldığı tütün formlarını ifade eder. Dumansız tütün ürünlerinin 30'dan fazla karsinojenik ajan içerdiği tahmin edilmektedir. Özellikle Güney Asya'da yaygın olan dumansız tütün kullanımı, kültürel ve sosyal olarak kabul edilebilir bir alışkanlıktır (143). Son yıllarda yayınlanan WHO raporuna göre, tüm dünyadaki dumansız tütün yükünün %90'ı Güney Asya ülkelerinde yatmaktadır (120). Güney Asya, Pakistan, Hindistan, Sri Lanka, Bangladeş, Butan, Nepal, Afganistan ve Maldivler içerir. Bu ülkelerde, genellikle bölgesel şartlara göre yetişen farklı dumansız tütün ürünleri kullanılır (143).

Dumansız tütün kullanımına bağlı gelişen keratoz, tütünün ağız içerisinde tutulduğu lokalizasyona göre değişmek üzere çoğu kez bukkal veya labial yanak mukozasında beyaz bir plak ile karakterizedir. Mukozal değişim derecesi tütünün kalitesi ve türüne, tütün kullanım sıklığına ve konak duyarlılığına bağlıdır. Erken dönemlerde, lezyon mukozada eritem ve hafif derecede hiperkeratoz şeklindedir, kullanım süresi uzadıkça mukozada hiperkeratoz ve buna bağlı grimsi-beyaz plak şeklinde lezyonlar oluşur. Dumansız tütün keratozunun gelişmesi yaklaşık 5 yıl sürer. Lezyonda epitelyal displazi gelişimi meydana gelebilir ve OSCC dönüşüm riski, dumansız tütün kullananlarda, kullanıcı olmayanlara göre dört kat daha fazladır. Hastaların% 98'inde lezyonlar, alışkanlığın kırılması 2 ila 6 hafta içinde normal bir mukozaya geriler. 6 haftadan uzun kalan bir lezyonun gerçek bir lökoplaki veya karsinom olduğu düşünülmeli ve mutlaka biyopsi yapılmalıdır (41).

2.4. ORAL SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM (OSCC)

2.4.1. Epidemiyoloji

Oral kavitede görülen kanserlerin %90'ından fazlası OSCC'lerdir. Oral kanser (orofaringeal bölge de dahil edildiğinde) dünyadaki en yaygın 6. kanser tipidir. Oral kanserin epidemiyolojisi ele alındığında, insidansta görülen belirgin varyasyon sebebiyle dünyanın belirli coğrafi bölgeleri ayrı olarak düşünülmelidir. 2012 yılında 300.373 bildirilen yeni vaka ile birlikte hastalığın yaşa göre standardize edilmiş dünya çapındaki insidansı 100.000 nüfus başına 4.0 ve dünya çapındaki ölüm oranı 100.000 nüfus başına 1.9 olarak bildirilmiştir. OSCC insidansının en yüksek olduğu bölge

özellikle Güney Asya'dır (Hindistan, Pakistan, Sri Lanka, Tayvan, Çin). Doğu ve Batı Avrupa (Macaristan, Slovakya, Slovenya ve Fransa), Latin Amerika ve Karayipler (Brezilya, Uruguay ve Porto Riko) ve Melanezya (Papua Yeni Gine) OSCC insidansının yüksek olduğu diğer bölgelerdir. Dünya genelinde, oral kanser insidansı erkeklerde (5.5:100.000), kadınlara oranla (2.5:100.000) daha yüksektir. Bununla birlikte, Hindistan ve Tayland'da bu oran tersine, sırasıyla 1:2 ve 1:1.156 oranla kadınlar lehinedir. Oral kanser vakalarının çoğu 50-70 yaşlarında görülür. Sigara içme oranları azaldıkça oral kanser insidansında azalma görülürken, bazı ülkelerde genç hastalarda görülen oral kanser vakalarında hafif artışlar bildirilmiştir (30).

Ülkemizdeki mevcut kayıt sistemlerinin tam olarak işletilememesi sebebiyle OSCC insidansı hakkında net verilere ulaşılması mümkün değildir. 1982 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından kanser bildirim zorunlu hastalıklar listesine eklenmiş ve bildirimler Kanser Savaş Daire Başkanlığı tarafından yapılmaya başlanmıştır (54). 1999 yılında bildirim oranları 35-40/100,000 civarında saptanırken, hastalığın gerçek sıklığının 150-200 / 100,000 olduğu tahmin edilmiştir (54,137). 1990-1992 yılları hastanelerde yatmakta olan hastalar üzerinde yapılan bir araştırmada oral kavite ve farinks kanserinin insidansı erkeklerde %3,11, kadınlarda %2,32 olarak bulunmuştur. Kanser Daire Başkanlığının 2004-2009 arası verilerine bakıldığında 3560 ağız-farinks bölgesi kanseri bildirilmiştir. Bu vakaların 776'sı dudak, 552'si dil, 520'si ağız mukozası, 381'i tükürük bezleri ve 150'si tonsiller ile alakalı vakalardır. Türkiye'de oral kanser insidansı %1,7 mortalite oranı ise %1 olarak bildirilmiştir (83).

2.4.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

OSCC'nin etiyolojisi multifaktöryeldir. Etiyolojisinde başta tütün ve alkol kullanımı, genetik yatkınlık, beslenme bozuklukları, geçirilmiş benzer hastalıklar, virütik hastalıklar, radyasyon, kötü ağız hijyeni, kronik enfeksiyonlar, kronik travma ve immün sistem bozukluklarının rolü vardır. Bu faktörler ayrı ayrı sinerjik olarak hareket etmektedirler (109).

Tütün kullanımı, yalnız başına milyonlarca kanser ölümüne neden olduğu için en önemli kanser riski olarak devam etmektedir. Sigara içmenin neden olduğu neoplastik hastalıklar arasında akciğer kanserleri, ağız boşluğu, farinks, larinks, özofagus, idrar kesesi, böbrek, pelvis ve pankreas yer alır. Sigara ve oral kavite kanseri arasındaki ilişki epidemiyolojik çalışmalarla net bir şekilde ortaya koyulmuştur (40). Tütün dumanında

en önemli karsinojenler aromatik hidrokarbon benzopiren ve tütün spesifik nitrozaminlerdir. Hayvan çalışmaları, tütün ürünlerindeki bu maddelerin ağız boşluğu, akciğer, özofagus ve pankreas tümörlerine neden olduğunu göstermiştir. Tütün dumanıyla ortaya çıkan nitrozaminler ve bunların metabolitleri, DNA replikasyonunda yer alan kritik mutasyonlardan da sorumludur. Bu sebeple tütünün baş-boyun kanserlerine genetik yatkınlık üzerinde de rolü olduğu düşünülmektedir (117)

Tütünün tüm formları kanserojendir ve dumansız tütünün oral ve faringeal kansere yol açtığına dair kanıtlar yakın zaman önce değerlendirilmiş ve onaylanmıştır. Dumansız tütün, dünyanın farklı bölgelerinde, farklı isimlerde ve birçok biçimde kullanılmaktadır. Çalışmalar, bu ürünlerin ağız kanseri premalign, yani lökoplaki, eritroplaki ve oral submüköz fibrozis gibi lezyonlarla olan ilişkisini göstermiştir (6).

Marihuana olarak da bilinen kenevir bitkisinin kurutulmuş çiçekli yaprakları sigara olarak içilebilir ve kanabinoidler de yakıldığında benzopiren, fenoller, fitosteroller, asitler ve terpenler gibi güçlü karsinojenler salgırlar. Çalışmalar, marihuana içiminin ağız kanseri gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olmadığını göstermiştir. Bunun yanında tütün genellikle karıştırılarak marihuana içiminin bir parçasını oluşturur (45).

Alkol, oral kanserinin gelişiminde rol oynayan bir diğer faktördür. Alkollü içecekler, özellikle ağız boşluğu, farinks, larinks, yemek borusu ve karaciğerin tümörleri olan insanlara karsinojenik olarak kabul edilmiştir. Yapılan hayvan çalışmalarında etanolün kanserojen etkisi tam olarak kanıtlanmamış olsa da alkol tüketiminin, oral kanser gelişiminde tütün kullanımı ile sinerjik olarak etki gösterdiği gösterilmiştir (47). Hint popülasyonunda sigara içen ve içmeyen alkol kullanıcıları üzerinde yapılan bir çalışmada, alkolün oral lökoplaki için bağımsız bir risk faktörü olduğu bulunmuştur (49). Bununla birlikte sigara içmeyen alkol kullanıcılarında oral epitelyal displazi oluşumunu değerlendiren bir çalışmada, oral epitelyal displazi gelişiminde alkolün ancak tütün kullanımı ile birlikte değerlendirildiğinde çok önemli rolü olduğu bulunmuştur. Alkol aynı zamanda, epitelyal atrofi ile karakterize morfolojik değişiklikler göstererek mukozanın geçirgenliğinin artmasına, bu sebeple karsinojenlerin oral mukozaya daha kolay etki etmesine neden olmaktadır. Bu nedenlerden ötürü, alkol ve tütün kullanımının önemli bir risk faktörü olduğu bulunsada, alkolün oral karsinogeneizde bağımsız bir faktör olarak rolü hala belirsizdir (46).

Diyet ve beslenme ile kanser gelişimi riski arasındaki ilişki, birçok epidemiyolojik ve laboratuvar çalışması ile ortaya koyulmuştur (52). Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından yapılan araştırmalarda düşük meyve ve sebze alımının kanser gelişim riskini arttırdığı, daha fazla meyve ve sebze tüketimi, özellikle havuç, domates ve yeşil biber tüketimi, oral ve faringeal kanser riskini azalttığı gösterilmiştir (55). Balık, bitkisel yağ, zeytinyağı, ekmek, tahıllar, baklagiller, protein, yağ, taze et, tavuk, karaciğer, karides, ıstakoz ve lif kanser gelişimine karşı koruyucu özellik gösteren gıdalardır. A, C, E vitaminleri, karotenoidler (β karoten), potasyum ve selenyum gibi mikrobeyinlerin oral kanser gelişimin azalttığına dair önemli kanıtlar bulunmaktadır. β karoten, C vitamini, E vitamini, retinol DNA mutasyonlarına, enzimatik aktivitede değişikliklere ve hücrel membranların lipid peroksidasyonuna neden olabilen serbest radikal reaksiyonlarının azaltılmasında önemli rol oynayan antioksidanlardır ve kanser gelişimine karşı koruyucu özellik gösterirler (52).

Virüsler, oral skuamöz epitel de dahil, yassı epitelin malign özellik gösteren tümörlerinin gelişmesinde güçlü bir şekilde rol oynamaktadır. Viral enfeksiyonlar genellikle, virüsler konağın hücrel mekanizmalarına müdahale ederek malign dönüşümü teşvik etmekten sorumludurlar. Bu viral genler ve gen ürünleri hücre büyümesini ve çoğalmasını etkiler. Bazı viral genler, konağın DNA'sına eklenerek malign dönüşüme neden olan onkogenler haline gelen proto-onkogenler şeklinde etki ederler (85). Oral kanser gelişiminde rol oynayan başlıca virüsler, Epstein Barr Virus (EBV), Human Papilloma Virus (HPV) ve Herpes Simpleks (HSV) virüsüdür. EBV immün sistem baskılanış hastalarda oral kılıklı lökoplaki ve lenfoproliferatif hastalıklara sebep olur. Prevalans çalışmaları OSCC hastalarında EBV varlığını göstermiştir nedensel bir ilişki ortaya koyulamamıştır. Bu nedenle OSCC ve EBV arasındaki ilişki net değildir (51). HPV oral karsinogeneizde en yaygın rol oynayan virüslerdir. Papillomlar, kondiloma asuminatum, verruka vulgaris ve fokal epitelyal hiperplazi (Heck hastalığı) gibi benign proliferatif lezyonlara da neden olan HPV'nin bazı türleri (HPV 16, 18, 31, 33, 35 ve 39) "Yüksek Riskli" olarak adlandırılır ve OSCC ile güçlü bir ilişki içerisinde. HPV, E6 ve E7 olmak üzere iki ana onkoproteinini kodlar. E6 ve E7 proteinlerinin sırasıyla p53 ve Rb tümör süpresör genlerini bağlayıp yok ettiği gösterilmiştir, bu sayede DNA replikasyonu, DNA onarımı ve apoptoz üzerinde kontrol kaybı ile hücre döngüsünü bozar. Birçok çalışma normal oral mukozada, OSCC ve

displazi gelişen lezyonlarda HPV varlığını, oral karsinogenezde spekülatif HPV rolünü ortaya koymuştur (111).

Kandida türlerinin, özellikle *Candida albicans*'ın neden olduğu mantar enfeksiyonları, oral premalign lezyonların patogeneğinde rol oynar. *Candida* invazyonunun oral premalign lezyonlarda sekonder bir olay mı yoksa nedensel mi olduğuna dair şüpheler hala belirsiz ve tartışmalıdır (55). Malign dönüşüm gösteren lökoplakiler, özellikle nodüler lökoplakiler üzerinde *candida albicans* hiflerine rastlanmıştır, bunun yanında kandidanın karsinogenezde rol oynayan nitrozamin ve kimyasallar üretmek için gerekli maddelere sahip olduğunu gösteren kanıtlar vardır (94)

İmmün sistemi baskılanmış bireyler oral kanser gelişimine daha eğilimlidir. İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile enfekte olan hastalar, OSCC'den farklı olmakla birlikte, Kaposi sarkomu ve lenfoma gibi malign tümör gelişimine yatkındır. İmmünsüpterse organ nakli hastaları üzerindeki araştırmada dudak kanseri gelişiminin sık görüldüğü ve olası nedeninin güneş ışınlarına ve sigara içmek gibi diğer risk faktörlerine daha fazla maruz kalmaya bağlı olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, immünosüpresyonun dudak kanseri gelişimi ile doğrudan rolü çalışmalarda kanıtlanmamıştır (2,142).

Bazı bireyler mesleki riskler sonucu oral kanser gelişimine daha yatkındır. Güneş altında çalışan bireyler aşırı güneş ışını radyasyonu / ultraviyole (UV) ışınlarına maruz kalmanın sonucu olarak dudak kanseri gelişimi açısından risk altındadır. UV ışınlar OSCC'lere dönüşebilen aktinik keilite neden olur. Kükürt dioksit, asbest, pestisit gibi kanserojenlere maruz kalınması ve güçlü inorganik asitlerden gelen dumanların ve fosil yakıtların yakılmasının da oral mukoza, farinks ve larinks kanserine neden olduğu bilinmektedir (55).

Kötü ağız hijyeni, kötü yapılmış restorasyonlar ve çürük ya da kırık keskin dişlerin yarattığı kronik travma ve kötü protezlerden kaynaklanan kronik ülserasyonun, diğer risk faktörlerinin de varlığında malign gelişimi teşvik ettiği öngörülmektedir. Kronik travmaya sebep olan diş faktörlerinin, genellikle sigara ve alkol tüketimi gibi risk faktörleri ile bir arada bulunduğundan, oral kanser gelişimini tek başına etkileyip etkilemediğini kanıtlamada zorluklar bulunmaktadır (55).

Genetik yatkınlık OSCC gelişiminde önemli bir risk faktörüdür. Copper ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 105 baş ve boyun kanseri hastasının birinci derece akrabaları izlenmiş, bu kişileden 31'inde solunum yolu ve üst solunum yolu kanseri

kanseri geliştiği saptanmıştır (21). Bununla birlikte, oral kansere genetik ya da ailesel yatkınlığı belirlemeye yönelik toplum temelli çalışmalar, sigara ve alkol gibi risk faktörleri ile sınırlıdır. Ayrıca bazı bireylerin, karsinojenleri veya prokarsinojenleri metabolize edememe ve / veya DNA hasarını tamir etme yetisinde bozulma yatkınlığına yatkın olduğuna inanılmaktadır. Tütün karsinojen metabolizmasından sorumlu olan enzimleri kodlayan genlerdeki (P450 enzimleri ve XME'ler) genetik polimorfizmlerin, tütünün neden olduğu baş ve boyun kanserlerine genetik yatkınlığında da kilit rol oynadığı düşünölmektedir (55).

2.4.3. Histopatoloji

OSCC oral mukozanın katlı sküamoz epitelinden meydana gelen malign bir oluşumdur. Hastalığın en sık görölen tipi %90 olasılıkla yassı epitel hücreli karsinomlardır. Ağız tabanı ve dilin ventral yüzeyleri keratinize olmayan mukoza ile örtölü olduğundan OSCC'den en çok etkilenen bölgelerdir. Karsinojenlerin epitelden kolaylıkla geçmesinin yanı sıra tütün ürünleri ve alkol gibi maddelerin birikim alanı da bu lokalizasyonlar olduğu için lezyonlar bu bölgelerde daha sık görölür (88).

OSCC iyi, orta ve az diferansiye şeklinde derecelendirilir. İyi diferansiye formdaki OSCC'ler normal sağlıklı mukoza epiteline benzerlik gösterirler. Anormal mitozların göröldüğu mitotik aktivite artışı ve belirgin nükleer polimorfizm orta derece diferansiye OSCC'lerde karakteristiktir. Az diferansiye OSCC'lerde tipik ve atipik mitozlara er olarak keratinizasyonun eşlik ettiği immatür hücreler izlenir. Keratinizasyon iyi ve orta derece diferansiye olgularda da izlenmektedir ancak derecelendirme yapılırken önemli bir faktör olarak görölmemektedir. Diferansiyon derecesi lezyonlarda oldukça değişkenlik göstermektedir (8).

Tümörün invazyon şekli infiltratif, ekspansif ya da her ikisini içeren tipte olabilir. Ekspansif büyüyen tümörler büyük adacıklar şeklinde çevre dokuya invazyon mevcuttur ve bu olgularda prognoz daha iyidir. İnfiltratif büyüme küçük, düzensiz, sınırları belirsiz parmaklı çıkıntılar şeklinde invazyon görölür ve bu olguların prognozu daha kötüdür. İyi diferansiye tümörler geniş adalar şeklinde doku invazyonu gösterirken, daha az diferansiye formdaki tümörler pürüzlü ya da parmaklı çıkıntılar şeklinde invaze olurlar (8,135). Komşu mukoza değişen derecelerde epitelyal displazik özellikler gösterir. Perinöral ve lenfovasküler invazyonlar az diferansiye tümörlerde daha sık görölür (138).

2.4.4. Klinik Bulgular

Oral kanserlerde ağrı en sık görülen semptomdur, tüm şikayetlerin yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır. Sıklıkla lezyon belirli boyutlara ulaştığında hastalar ağrı sonrası gerekli merkezlere başvururlar. Bu sebeple ağrı oluşumu ve şiddeti lezyonu evresi ile ilişkili bir durumdur. Ağrı dışında klinik olarak en sık izlenen belirtiler uzun süre iyileşmeyen yara, ülserasyon, ağız kokusu, yutmada güçlük, trismus ve konuşma bozukluğudur. Klinik olarak bu semptomların bir veya birkaçının birlikte bulunduğu durumlarda lezyondan alınacak biyopsi hayati önem taşımaktadır (22).

OSCC'nin en sık görüldüğü bölgeler tükürük toplanma alanı olan dil ve ağız tabanıdır. Dilin skuamöz hücreli karsinomu dudak karsinomları hariç OSCC'lerin %25-40 kadarını oluşturur. Bu lezyonlar sıklıkla asemptomatiktir ve genelde agresif lezyonlardır. Lezyonun ilerlemiş evrelerinde, invazyon derecesine bağlı olarak ağrı ve disfaji semptomları görülebilir. Klinik görüntü iyileşmeyen ülsere görüntüden, kırmızı, beyaz veya kırmızı-beyazımsı lezyonlar şeklinde olabilir. Dilin skuamöz hücreli karsinomu lökoplaki zemininde ortaya çıkabilir. Bu bölgedeki lökoplakiler invaziv skuamöz hücreli karsinomları temsil edebilir ve bu yüzden mutlaka takip altında olması gereken lezyonlardır. Dil üzerinde özellikle OSCC'nin en sık görüldüğü dilin laterali ve arka bölümünde bulunan eritroplazi görünümündeki lezyonların yüksek çoğunluğu klinik olarak teşhis edildiğinde is situ karsinom ya da invaziv karsinom evresindedir. Bu bölge görülmesi zor bir alan olduğundan asemptomatik olgularda lezyon teşhis edildiğinde geç kalınmış olmaktadır. Prognoz olarak bu bölgedeki lezyonlar kötüdür. İlk olarak submandibular ve jugulodigastrik lenf nodu tutulumu bu bölgedeki lezyonlarda sıklıkla görülür, bunun yanında akciğer ve karaciğere uzak metastaz görülebilir (104). OSCC'lerin %15-20 kadarlık bir kısmı ağız tabanı lokalizasyonundadır. Bu bölge dilden sonra en sık OSCC görülen ikinci bölgedir. Bu bölge lezyonları özellikle ağır alkol ve sigara içicileri başta olmakla birlikte ileri yaş erkeklerde daha çok görülür. Premalign lezyon tabanında gelişebileceği gibi uzun süre iyileşmeyen, ülsere yaralar, kırmızı ve beyaz lezyonlar şeklinde klinik görüntü verebilirler. Lezyon genelde asemptomatiktir, derin dokulara invaze olduğunda dil hareketlerinde kısıtlamalara sebep olabilir (119).

OSCC'nin alt dudak tutulumu üst dudak karsinomlarına oranla daha sıktır. Özellikle UV ışın maruziyeti ve sigara kullanımı alt dudak karsinomları için ciddi etyolojik faktörlerdir. Bu bölgede lezyon büyüme hızı oldukça düşüktür ve buna bağlı olarak prognoz genel olarak daha iyidir. 5 yıllık sağkalım %90'ın üzerindedir (104).

Yanak mukozası ve gingiva OSCC'nin görüldüğü diğer lokalizasyonlardır. Bu bölgelerde görülen lezyonlarda özellikle dumansız tütün kullanımı gibi etyolojik faktörler ciddi rol oynamaktadır. Klinik olarak görüntü çoğunlukla beyaz yama şeklindeki lezyonlar ve iyileşmeyen ülser şeklinde görülür. Lezyonlar yavaş büyüyen iyi diferansiye formdadırlar ve metastaz nadiren görüldüğü için prognozları iyidir (104). Yumuşak ve sert damakta görülen OSCC'ler özellikle sert damakta görülen lezyonlar diğer bölgelere göre daha nadirdir. Klinik olarak asemptomatik kırmızı, beyaz plaklar ya da ülser ve keratotik lezyonlar şeklinde görülürler. Bu bölge sigara içiminin ciddi bir etyolojik faktör olarak rol oynadığı bölgedir (91). Ters sigara içimine bağlı gelişen lezyonlar tabanında oluşan OSCC'ler de bu bölgede görülürler. Servikal lenf nodu metastazı ve lezyon boyutlarının büyümesi kötü prognozu işaret eder (104).

2.4.5. Evreleme ve Prognoz

OSCC histolojik olarak ve lokalizasyonuna göre sınıflandırılmasının yanı sıra tümör büyüklüğü, nod metastazı ve uzak metastaz varlığı göz önünde bulundurularak Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) tarafından belirlenen TNM evreleme kriterlerine göre sınıflandırılır. T, primer lezyonu ifade eder, çevre dokulara infiltrasyon derecesi ve tümör boyutuna göre değerlendirilir. N, bölgesel lenf nodu tutulumunu ifade eder, M ise, uzak metastaz varlığını ifade eder.

Tablo 1 : Primer Tümör Sınıflandırması

Primer Tümör Sınıflandırması (T)	
Tx	Cerrahi kurallar dahilinde belirlenemeyen primer tümör
T0	Primer tümöre ait bulgu saptanmadı
Tis	Karsinoma in-situ
T1	Tümör çapı 2cm ya da daha küçük
T2	Tümör çapı 2cm ile 4cm arasında
T3	Tümör çapı 4cm'den büyük
T4a (dudak)	Tümör kortikal kemiği, inferior alveolar siniri, ağız tabanını veya cildi invaze etmiş
T4a (oral kavite)	Tümör kortikal kemiği, dilin ekstenrek kaslarını, maksille sinüsü veya cildi invaze etmiş
T4b	Tümör pterigoid plakayı, kafa tabanını veya internal karotis arteri çevrelemiş

Tablo 2 : Bölgesel Lenf Nodu Metastazı Sınıflandırması (N)

Bölgesel Lenf Nodu Metastazı Sınıflandırması (N)	
Nx	Cerrahi kurallar içinde belirlenemeyen bölgesel lenf nodülü
N0	Klinik olarak bölgesel lenf nodülü metastazı yok
N1	Çapı 3cm. veya 3 cm.'den küçük olan, homolateral, tek lenf nodülü
N2	Klinik olarak pozitif, çapları 3-6 cm. olan, homolateral tek nodül veya klinik olarak pozitif, multipl homolateral nodüller
N2a	Klinik olarak pozitif, çapları 3-6 cm. olan homolateral tek nodül
N2b	Klinik olarak pozitif, çapları 3-6 cm. olan homolateral multipl nodüller
N3	Solid homolateral nodüller, bilateral nodüller veya kontralateral nodüller
N3a	Klinik olarak pozitif, çapları 6 cm.' i geçmeyen homolateral multipl nodüller
N3b	Klinik olarak pozitif bilateral nodül
N3c	Klinik olarak pozitif kontralateral nodül

Tablo 3 : Uzak Metastaz Sınıflandırması (M)

Uzak Metastaz Sınıflandırması (M)	
Mx	Cerrahi kurallar içinde belirlenemeyen uzak metastaz
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Tablo 4 : Tümör Evrelemesi

Tümör Evrelemesi	
Evre 0	Tis N0 M0
Evre 1	T1 N0 M0
Evre 2	T2 N0 M0

Evre 3	T3 N0 M0 / T1 N1 M0 / T2 N1 M0 / T3 N1 M0
Evre 4a	T4a N0-N1-N2 M0 / T1 N2 M0 / T2 N2 M0 / T3 N2 M0
Evre 4b	Herhangi T N3 M0 / T4b Herhangi N M0
Evre 4c	Herhangi T Herhangi N M1

Prognoza etki eden faktörler tümörün histolojik olarak diferansiyasyon derecesi ve metastaz varlığıdır. OSCC prognozunun en iyi olduğu grup metastaz varlığının bulunmadığı ve iyi diferansiye tümörlerdir. Prognozu asıl etkileyen faktörler ise tümörün boyutu, yapılan rezeksiyon ve nodüler metastaz varlığıdır. fakat prognoz esas olarak tümör boyutu, rezeksiyonun tam yapılıp yapılmadığı ve nodal tutulum olup olmadığına bağlıdır. OSCC'ler için prognoz bakıldığında 5 yıllık sağkalım oranı %50 civarındadır (116). Prognoz olarak erkek ve kadın popülasyonu arasında belirgin bir farklılık yoktur. Yaş söz konusu olduğunda fikir, yaşlı hastalarda prognoz daha kötü olduğuna dair görüşler bulunmasının yanında, yaş ve prognoz arasında ilişki saptanamayan çalışmalar da mevcuttur (65,89).

OSCC'ye vasküler rahatsızlıklar, kardiyak aritmi, konjestif kalp yetmezliği, renal ve pulmoner hastalıklar gibi sistemik rahatsızlıkların eşlik ettiği durumlarda prognoz daha kötüdür (97). Sosyoekonomik düzeyi düşük olan hastalarda tıbbi ihtiyaçların karşılanmasındaki güçlük ve oral hijyenin daha kötü olması prognozu olumsuz etkiler (60). Bazı çalışmalar OSCC etyolojisinde önemli bir yer tutan sigara ve alkol tüketiminin yüksek mortalite oranları ile ilişkisini göstermiştir. Bunun yanında tütün çiğneme alışkanlığı bulunan hasta grubunda da prognoz daha kötü bulunmuştur (65).

TNM evrelemesi prognoz etkileyen önemli bir diğer faktördür. Guerra ve ark. yaptığı çalışmaya göre hastalığın erken evrelerinde 5 yıllık sağkalım oranı %82 iken ilerleyen evrelerde %49'dur (38). Lo ve ark. yaptıkları çalışmada evre 1,2,3 ve 4 olgulardaki 5 yıllık sağkalım oranlarını %75, %65, %49 ve %30 olarak bildirmiştir (65). Lenf nodu metastazı varlığı tümörün yüksek oranda rekürrens ve kötü prognoz ile önemli ölçüde ilişkilidir. Primer tümör kalınlığının lenf nodu metastazını etkileyen dolayısıyla mortalite ile ilişkili olduğuna dair çalışmalar da mevcuttur (8).

Perinöral invazyon varlığı OSCC için daha yüksek oranda metastaz olasılığı, daha derin tümör invazyonu ve daha düşük 5 yıllık sağkalım oranı ile koreledir (100). OSCC'de anjiyogenez varlığı lenf nodu metastazı riski ile koreledir ve rekürrensi belirleyen bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (10).

2.4.6. Tanı ve Tedavi

Oral kanserler ve deri kanserleri inspeksiyonda şüphe uyandırmaları hatta teşhis edilebilmeleri ile diğer kanser türlerinden farklıdır. Görülebilir alanlarda olmalarına rağmen çoğu zaman erken tanı mümkün olmaz. Erken tanı tüm kanserlerde olduğu gibi OSCC için de prognozu etkileyen faktörlerin başındadır, ancak hastalığın semptomsuz ilerlemesi vb. gibi sebeplerle hastaların tıbbi merkezlere geç başvurmaları tanı koyulmasını geciktirir. Oral mukozada 3 haftadan uzun süredir bulunan teşhis konulmamış lezyonlar şüphe ile izlenmelidir. Lezyonlardan mutlaka eksizyonel ya da insizyonel biyopsi alıp histopatolojik olarak incelenmelidir (116).

OSCC tedavisi yaş, sistemik durum, tümör lokalizasyonuna, yayılma derecesine ve histolojik tipine bağlı olarak şekillendirilir. Ayrıca hastalığın klinik seyri ve tedavinin yan etkileri arasında bir denge kurulması önemlidir. Genel olarak tedavi seçenekleri cerrahi ve radyoterapi ya da her ikisinin bir arada uygulanmasıdır (54).

Eksizyonu kolay yapılabilecek küçük lezyonlarda, özellikle kemik infiltrasyonu bulunan ve radyoterapi ile başarıya ulaşılamayan olgularda cerrahi tedavi seçeneği olarak belirlenir. Cerrahi tedavide tümör 2 cm'lik cerrahi sınır belirlenerek eksize edilir. Servikal lenf nodlarında metastaz görülen durumlarda selektif boyun diseksiyonu yapılması gerekir (54,116).

Radyoterapi erken ve lokal ileri OSCC'lerde iyonizan radyasyonun kansere ve seçilmiş kanser dışı hastalıklara yönelik olarak kullanıldığı bir tedavi yöntemidir. Radyoterapi sıklıkla cerrahi ve/veya kemoterapi ile birlikte ya da tek başına kullanılmaktadır. Radyoterapi uygulamalarında önceden belirlenmiş olan tümör hacmine, tümör dokusunu çevreleyen normal dokularda olabildiğince az hasar oluşturacak şekilde, önceden hesaplanmış olan iyonizan radyasyon dozunun uygulanması hedeflenmektedir (24). OSCC tanısı alan hastalarda ayrıca sigara, tütün, alkol kullanımını gibi predispozan faktörlerin uzaklaştırılması konusunda destek sağlanmalıdır (116).

2.5. EPIGENETİK

Genetik, DNA dizisinin doğrudan değişmesine bağlı olarak gen aktivitesinde veya fonksiyonunda kalıtsal değişikliklerin araştırılmasıdır. Aksine epigenetik bilimi, DNA'nın kodlayan dizisindeki değişimlerden bağımsız olarak gen hücre döngüsü boyunca gerçekleşen, gen ifadesinde meydana gelen kalıtsal değişiklikler olarak

tanımlanır. Bir organizmada neredeyse tüm hücreler aynı genetik bilgiyi içermesine rağmen, tüm genler tüm hücre tipleri tarafından aynı anda ifade edilmez. Daha geniş anlamda epigenetik mekanizmalar, çok hücreli organizmalarda çeşitli hücreler ve dokularda çeşitlendirilmiş gen ekspresyon profillerine aracılık eder (80).

Genetik modifikasyonlardan farklı olarak, epigenetik değişiklikler geriye dönme potansiyeline sahiptir. Bunun yanında diğer bir gen grubunu etkileyebilir ve sigara, beslenme, kimyasal maddelere maruz kalma gibi çevre faktörler ile modifiye edilebilirler (32). Hücrenin normal süreçlerinde aktif olarak yer alan epigenetik mekanizmalar kanser, otoimmün hastalıklar, diyabet gibi patolojik durumların meydana gelmesinde etkilidir (139).

Epigenetik mekanizmalar, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve RNA aracılı gen susturulması olarak 3 ana grupta toplanabilir (32).

2.5.1. DNA Metilasyonu

Hakkında en çok bilgi sahibi olunan epigenetik mekanizmalardan biri olan DNA metilasyonu dokuya özgü gen ekspresyonu, hücresel farklılaşma ve gelişim genetiğinin temelini oluşturur. DNA metilasyonu sitozinin 5. pozisyonundaki karbonuna metil grubu bağlanması ile meydana gelir (70). Sitozin (C) ve guanin (G) bazlarının sık ve sıralı şekilde bulundukları, CpG adacıkları adı verilen bölgelerde meydana gelen DNA metilasyonu ile transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya bağlanması engellenir ve gen ekspresyonu düzenlenir. Memelilerde DNA metilasyonunu katalizleyen 5 adet DNA metil transferaz enzimi (DNMT) vardır. Bu enzimler DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B ve DNMT3L'dir. En önemli katalitik aktivitelere sahip olan enzimler DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B'dir. DNMT1, DNA zincirinde kurulu olan metilasyon paternlerinin yeni zincirlere aktarılmasından sorumludur. DNMT3A ve DNMT3B'de novo metil transferazlar olarak adlandırılırlar ve gelişimin erken evrelerinde kurulan ilk metilasyon paternlerinin oluşturulmasından sorumlulardır (13,25).

Canlılar ve dokular arası farklılıklar DNA metilasyonunun normal hücrelerdeki hipo ve hipermetilasyon özellikleri sayesinde meydana gelir. Genom boyunca dağılmış olan CpG dinükleotitleri, genellikle tümör baskılayıcı genlerinin promotöründe lokalize olan CpG adaları olarak adlandırılan 0.5-4 kb'lık bölgelerde kümelenmiş olarak bulunur. Büyüme düzenleyici genlerin promoter bölgelerinin CpG adaları, genellikle tümörlerde

hipermetile edilmiş olarak bulunur; bu olay, tümör baskılayıcı genlerin transkripsiyonel susturulmasına neden olur ve kanserin ilerlemesine katkıda bulunur (70). DNA metilasyonunun kaybı ise benign ve malign kanser hücrelerinde karakterize edilen ilk epigenetik değişikliktir. Kanserdeki global DNA hipometilasyonu instabiliteyi artıran ve proto-onkogenleri aktive eden çeşitli genomik sekansları hedefler (13). Dahası, tümörlerde sıklıkla görülen tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybı, genetik kusurlara kıyasla metilasyon yoluyla epigenetik susturmaya daha sık atfedilerek, epigenetik değişikliklerin karsinogenezin her aşamasında önemli bir rol oynadığı hipotezini desteklemektedir (70).

2.5.2. DNA Metilasyonu ve Oral Kanser

Genom çapında gerçekleşen hipometilasyon ve promoter hipermetilasyonu kanser gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır. Küresel olarak DNA hipometilasyonunun, çeşitli mekanizmalarla tümör oluşumuna katkıda bulunduğu dair veriler artmıştır. Bu mekanizmalardan birincisinde, insan genomu boyunca dağılmış bulunan tekrarlayan DNA dizilerinde metilasyonun azalması, artmış kromozomal instabilite ile sonuçlanır. İkincisi, çeşitli endoparazitik elemanların ve proto-onkogenlerin evrimsel olarak korunmuş ve metilasyon ile susturulmuş promoter bölgelerinin bazılarının demetilasyonu, bunların reaktivasyonuna ve karsinogeneze katkıda bulunmalarına yol açabilir. Üçüncüsü, DNA'da meydana gelen metilasyon değişiklikleri, imprinting (genomik damgalanma) kaybı ile oral karsinogeneze katkıda bulunabilir. Bu durumda, hipometilasyon, metile edilmiş sessiz, damgalanmış biallellerin ve gen ekspresyonunun reaktivasyonuna sebep olabilir. Bu mekanizma, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom (HNSCC) dahil olmak üzere çok sayıda farklı tümör varlığında tartışılmıştır (34,80).

Öte yandan, anormal promoter hipermetilasyon OSCC karsinogenezinde bir diğer önemli elemandır. Anormal metilasyon, birçok tümör baskılayıcı geninin promoter bölgeleri içinde bulunan CpG adalarında oluşur. Promoter CpG dinükleotitlerinin hipermetilasyonu, transkripsiyonel susturma ile sonuçlanır. OSCC'de de tespit edilmiş ve birçok kanserin ayırt edici özelliği olan, CpG dinükleotitlerinde 5-metil-sitozinlerin anormal hipermetilasyonu DNA metiltransferazlar (DNMT'ler) ile katalize edilir. Aslında, tümör baskılayıcı genlerin DNA hipermetilasyonu, karsinogenezde daha erken bir olaydır ve kontrolsüz hücresel proliferasyondan

sorumludur, bu da DNA hipermetilasyonunun kanser erken teşhisi için potansiyel bir belirteç olduğunu düşündürmektedir. Bunun yanında kanserde anormal metilasyon için artan farkındalık göz önüne alındığında, potansiyel olarak metilasyonla susturulmuş tümör baskılayıcı genleri yeniden aktive etmeyi amaçlayan DNMT inhibitörleri OSCC için potansiyel tedavi seçenekleri olarak araştırılmaktadır (34,13).

Epigenetik biyobelirteçler, kanserin erken evrelerinde, tedaviye direnç geliştirmek için daha yüksek ya da lokal ve uzak metastaz üretmek için büyük olasılıklar olan tümörlerin tanımlanması için belirteçler olarak hizmet etme potansiyeline sahiptir. Biyobelirteçlerin vücut sıvılarının örneklerini kullanarak keşfi, tarama doğruluğunu ve maliyet etkinliğini iyileştirme ve invaziv yöntemleri azaltma amacı ile araştırılmıştır. DNA metilasyon profilinin belirlenmesi, kanserleri normal hücrelerden ayırt etmenin yanı sıra kanser alt tiplerini tanımlamak ve tedavi sonucunu öngörmek için yaygın olarak kullanılan bir araçtır. HNSCC için tükürük ve oral gargaralar, DNA hipermetilasyon profilini analiz etmek için oral epitelyumdan DNA elde etmek için kullanılmıştır (13).

Gen ifadesinin epigenetik kaynaklı değişime uğraması ile oral karsinogenez gelişimi arasında açık bir korelasyon olmasına rağmen, günümüzde bu net olarak gösterilemese de HNSCC'de 40'tan fazla genin hipermetilasyonu ve çeşitli tümör baskılayıcı genlerinin susturulması tanımlanmıştır (70). Promoter bölgenin metilasyonu ile susturulan en yaygın genler tabloda gösterilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5 : Promoter bölgenin metilasyonu ile susturulan en yaygın genler

Gen Adı	Görevi	Değişiklik
ABO	Kan grubu antijeni	Hipermetilasyon
APC	Sinyal transdüksiyonu	Hipermetilasyon
ATM	Tümör baskılayıcı	Hipermetilasyon
C/EBPα	Tümör baskılayıcı	Hipermetilasyon
CDKN2A	Hücre döngüsü, Heterozigosite kaybı(LOH)	Hipermetilasyon
DAPK	Apoptosis	Hipermetilasyon
DCC	Tümör baskılayıcı	Hipermetilasyon
DKK	Transkripsiyonel regülatör	Hipermetilasyon
E-cadherin	Sinyal transdüksiyonu	Hipermetilasyon

EDNRB	Sinyal transdüksiyonu	Hipermetilasyon
GSTP1	Karsinogen detoksifikasyonu	Hipermetilasyon
H3K4	Histon	Hipermetilasyon
HIN1	Tümör baskılayıcı	Hipermetilasyon
Hmlh1	DNA tamiri	Hipermetilasyon
LHX6	Transkripsiyonel regülatör	Hipermetilasyon
MGMT	DNA tamiri	Hipermetilasyon
MINT		Hipermetilasyon
miR137	Tümör baskılayıcı	Hipermetilasyon
miR193a	Tümör baskılayıcı	Hipermetilasyon
MX1		Hipermetilasyon
p14	Apoptoz, LOH	Hipermetilasyon
p15	Hücre döngüsü, LOH	Hipermetilasyon, delesyon
p16	Hücre döngüsü, LOH	Hipermetilasyon, mutasyon, delesyon
p53	Tümör baskılayıcı	Hipermetilasyon
p73	Apoptoz	Hipermetilasyon
Rb	Tümör baskılayıcı	Hipermetilasyon, mutation
SFRP1	Transcriptional regulator	Hipometilasyon
TIMP3	Epitelyal-mezenkimal etkileşimler	Hipermetilasyon

2.6. PAX1

Tüm canlılarda 5 adet temel gen ailesinden söz edilir. Bu gen aileleri fonksiyonlarına göre “regülatör protein gen ailesi”, “immün sistem proteinleri ailesi”, “motor proteinler ailesi”, “sinyal iletici proteinler ailesi” ve “sınıflandırılmayanlar” şeklinde alt gruplara ayrılır. İnsanda (PAX) ve farede (Pax) iyi karakterize edilmiş, dokuz adet genden oluşan PAX genleri regülatör protein ailesi içerisinde yer alan “Paired-box” gen ailesinin üyesidirler (1,19).

PAX genlerinin dizi temelinde alt gruplara (PAX1 / PAX9, PAX2 / PAX5 / PAX8, PAX3 / PAX7, PAX4 / PAX6) sınıflandırılması, gelişmekte olan embriyonik dokulardaki ekspresyon modelleri ile koreledir. Her bir PAX geni, gelişmekte olan embriyodaki karmaşık soy belirleme işlemlerini düzenleyen farklı bir transkripsiyon faktörü ailesini kodlar. Başlıca rolleri, alternatif RNA eşleştirme ve protein

aktivasyonları veya inhibisyonları gibi kompleks moleküler mekanizmaların kullanımıyla progenitör hücrelerin belirlenmesi ve korunmasıdır. Transkripsiyon faktörleri hücre nükleusundaki spesifik genlerin transkripsiyon işlemlerini kontrol eden proteinlerdir. PAX genleri tarafından kodlanan transkripsiyon faktörleri başlıca fetal gelişim sırasında eksprese olur. Organ gelişiminin doğru bir şekilde sürdürülmesinden ve gelişim sonrası fonksiyonlarını düzgün bir şekilde sürdürmelerinden sorumludurlar. Organogenez sırasında transkribe olan bu transkripsiyon faktörleri terminal farklılaşmanın sonraki aşamaları sırasında yetişkin dokularda kaybolurlar. Bu düzen gelişimini tamamlamış organizmada muhafaza edilir. Bununla birlikte, gelişim tamamlandıktan sonra bile birkaç yetişkin dokuda PAX genleri sınırlı bir şekilde ifade edilir. Buna karşılık, anormal hücre büyümesi ve çoğalması, terminal olarak farklılaşmış dokularda meydana gelen çeşitli neoplastik hastalıklarda gözlemlenen yüksek PAX gen ekspresyonu seviyeleri ile ilişkilidir (72,107).

Transkripsiyon faktörleri fetal gelişim ve organogenez sırasında önemli işlevlere sahiptirler. *PAX1* timus paratiroid ve iskelet; *PAX2*, santral sinir sistemi, böbrek ve göz; *PAX3* ve *PAX7* santral sinir sistemi ve iskelet kası; *PAX4*, pankreas; *PAX5*, santral sinir sistemi; *PAX6*, burun, göz, pankreas ve santral sinir sistemi; *PAX8*, santral sinir sistemi, böbrek, tiroid; *PAX9*, iskelet, timus dış gelişiminde rol oynarlar (12).

PAX1, timus, paratiroid ve aksiyal iskeletin oluşumunda, fetusun gelişimi sırasında kritik bir rol oynar ve omurga gelişmesi için gereklidir. Bu gen aynı zamanda embriyogenez sırasında model oluşumunda rol oynar. *PAX1* olmadan omurga gelişimi tam olarak tamamlanamaz, canlının büyüme ve gelişimi yeterince desteklenemez ki bu durum ölüme yol açabilir. *PAX1*'in Klippel-Feil sendromu ve yüz dismorfizmi, fincan şeklinde alçak kulaklar, işitme kaybı, vertebral defektler dahil iskelet anomalileri, eğimli omuzlar ve hafif zihinsel engellilik ile karakterize Otofasiyaservikal Sendrom gibi hastalıklar ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (98).

Yapılan bazı çalışmalar *PAX1* geninin metilasyon durumunun rahim ağzı kanserinin saptanmasında yararlı bir biyobelirteçler olarak kullanılabileceğini göstermiştir (58,61). Bunun yanında *PAX1* geninin DNA metilasyonunun OSCC için prognostik bir gösterge olabileceği düşünülmektedir (43).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Materyal

“Oral kavitenin malign ve premalign lezyonlarında *PAX1* geninin metilasyon ve ekspresyonunun araştırılması” adlı tez projemiz, İ.Ü. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’na 430527 dosya numarası ile sunuldu. 14/12/2016 gün ve 43 sayılı toplantı sonucunda etik yönden uygunluğu bildirildi. Çalışmamıza katılmaya gönüllü olan OSCC, OPML ve sağlıklı hastaların tamamına hekimleri tarafından gerekli bilgiler verilmiş ve gönüllü onay formları okutulmuş ve imzalatılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan örnekler İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı’na başvurmuş, OSCC tanısı konulmuş hekimleri tarafından halihazırda operasyon kararı alınmış ve daha önce herhangi bir tedavi görmemiş 30 hasta ile İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilimdalı’na başvurmuş, ağız içerisinde OPML şüphesi bulunan ve biyopsi alınan 30 hastadan tedarik edilmiştir. Çalışmada kontrol grubu olarak kullanılan materyaller kendisinde ve ailesinde malign ve benign tümör hikayesi bulunmayan, kanser ya da biyopsi dışı bir nedenle operasyon görecektir olan 30 sağlıklı bireyden elde edilmiştir. Toplamda 90 gönüllüden operasyon öncesinde periferik kan örnekleri alındı. Operasyon sırasında ise, OSCC tanılı ve OPML tanılı hastalardan tümör ve eşlenik normal doku alınırken, sağlıklı hasta grubundan ağız içerisinde normal mukoza örneği alındı. Çalışmanın tüm deneyleri, İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD, Araştırma Laboratuvarları’nda gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Agaroj jel Elektroforez Tankı (BRL Life Technologies, ABD)
- Ultra Derin Dondurucu (-80 °C) (Sanyo, Japonya)
- El homojenizatörü (Qiagen, Almanya)
- Etüv (Hereaus, Almanya)
- Güç Kaynağı (Bio- Metra, Almanya)

- Hassas Terazı (Chyo, Japonya)
- Jel Dökümentasyon Sistemi (Vilber- Lourmat, Almanya)
- LightCycler 480
- Real Time cihazı (ROCHE, Almanya)
- Mikropipetler (Thermo, İsveç)
- Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scientific, ABD)
- Otoklav (Hiramaya, Japonya)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich, Almanya)
- Vorteks (Snijders, Hollanda)

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Agaroza (Wisent MultiCell, Kanada)
- Borik asit (Wisent MultiCell, Kanada)
- Orange G (Merck, Almanya)
- Deoksiribonükleotid trifosfat (Fermentas, Litvanya)
- Ethanol (Riedel De Haen, Almanya)
- Etilen-diamin-tetraasetik-asit (Sigma, Almanya)
- Etidyum Bromür (Sigma, Almanya)
- Taq Polimeraz (Thermo Scientific, Almanya)
- İsoopropanol (Riedel De Haen, Almanya)
- Magnezyum Klorür (Thermo, Litvanya)
- Proteinaz K (Roche, Almanya)
- Ribonükleaz A (Sigma Aldrich, ABD)
- SssI metilaz enzimi (New England Biolabs (NEB), ABD)
- Sodyum Dodesil Sülfat (Merck, Almanya)
- Tris (Applichem, Almanya).

3.1.4. Kullanılan Kimyasal Karışımlar

- **Parçalama Tamponu (1 L):** 155 mM NH₄Cl 10 mM KHCO₃ 0.1 mM EDTA (pH: 8,0)
- **SE Tamponu (1 L):** 75 mM NaCl 25 mM EDTA 30 mM Tris-HCl (pH: 8,0)
- **TE Tamponu (1 L):** 20 mM Tris-HCl (pH: 8,0) 1 mM EDTA (pH: 8,0)
- **Fenol için TE Tamponu (0,5 mL):** 0,25 mM Tris (pH:8,0) 0,5 mM EDTA (pH:8,0)
- **Fenol/Kloroform/İsopropanol:** (1:1) (Fenol/Kloroform) / İsopropanol
- **Proteinaz K:** 20 mg / ml
- **Ribonükleaz A:** 10 mg / ml
- **SDS (1 L):** 100 g sodyumdodesilsülfat (%10; pH:7,2)

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Materyal Toplama ve Eldesi

3.2.2. Tükürük Eldesi

OSCC tanılı, OPML tanılı ve sağlıklı bireyler operasyon öncesi 1 saat içerisinde sıvı ve katı besin alınmaması ve oral temizliğin yapılması konusunda bilgilendirildi. Tükürük toplama işlemi sırasında öncelikle hekimler gözetiminde ağız içi 1dk süre ile çalkalandı ve temizlendi. 5 dk süresince herhangi bir uyaran olmaksızın ağız içerisinde biriktirilen tükürük tüm oral mukozada dolaştırılarak gönüllü bireye verilmiş kap içerisinde toplandı. İşlem tükürük miktarı taklaşık olarak 5 mL olana kadar devam ettirildi.

Tükürük eldesi tamamlandıktan sonra laboratuvara teslim edilen örnekler, izotonik su ile 1:2 oranında sulandırılarak 1950 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüz sonrası pellete zarar vermeden üs sıvı uzaklaştırılarak, pellet üzerine 2-4 mL kadar PBS eklendi, pipetak işlem yapıldı ve 1mL olacak şekilde materyal kriyotüplere bölüştürüldü. Bu materyallere tekrar 1950 rpm'de 3 dk santrifüj işlemi uygulandı. Üst sıvı dökülerek pelletler izolasyon işleminde kullanılmak üzere -80°C'de muhafaza edilmeye başlandı

3.2.3. Serum Eldesi

Operasyon öncesi OSCC tanılı, OPML tanılı ve sağlıklı bireylerden 8-10 mL periferik kan örneği alındı. Toplanan örnekler laboratuvara teslim edildi ve 1950 rpm'de

30 dk boyunca santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrası üstte toplanan sarı faz (serum) 1mL olacak şekilde kriyotüplere bölüştürüldü.

3.2.4. Doku Eldesi

OSCC tanısı konmuş 30 ve OPML tanısı konmuş 30 hastaya ait yaklaşık 0,5 cm çapındaki tümör ve eşlenik normal doku örneği ile 30 sağlıklı bireyden yaklaşık 0,5 cm çapındaki sağlıklı mukoza dokusu alındıktan sonra ileriki dönemlerde izolasyon işlemlerinde kullanılmak üzere -80°C’de saklandı.

3.3. DNA İzolasyonu

OSCC tanılı ve OPML tanılı bireyler ile sağlıklı bireylerden toplanan doku örnekleri, DNA izolasyonu için, parçalama tamponunun içine alındı. El homojenizatörü kullanılarak ufak parçalara ayrılan dokular 25-30 dk tampon içinde bekletildi ve iyice homojenize olmaları sağlandı. Bu işlemin ardından 3000 G’de 10 dk santrifüj işlemi uygulanarak hücre içeriği çöktürüldü. Üst fazlar döküldükten sonra pellet üzerine 10 mL parçalama tamponu eklenerek 10 dk inkübasyona geçildi. Inkübasyon sonrası 3000 G’de 10 dk’lık santrifüj işlemi tekrarlandı. İşlem sonrası oluşan üst fazlar uzaklaştırılarak pelet üzerine 5 mL SE tamponu, 100 µg/ml Proteinaz K,% 1 SDS, 20 µg/ml Ribonükleaz A karışımı eklendi ve karışım 4-18 saat 37°C 'de su banyosunda inkübasyon için bekletildi. Bu süre sonunda tüp içine 5 ml SE Tamponu ve 10 ml Fenol / Kloroform karışımı 1:1 oranında ilave edilerek inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrası 3000 G’de 5 dk santrifüz uygulandı. Oluşan üst faz alınarak 10 mL isopropanol eklendi ve DNA ipliklerinin çökmesi sağlandı. İzolasyon işlemi sonrası nanadrop yardımıyla 260 ve 280 nm dalga boyları ölçülerek yoğunluk ve saflık değerleri hesaplandı. DNA -80°C’de sonraki işlemlerde kullanılmak üzere saklandı.

Elde edilen serum ve tükürük örneklerinden DNA izolasyonu QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. Kit protokolüne göre, 200 µL örnekler 1,5 mL’lik santrifüj tüplerine konularak, üstüne 4 µL Proteinaz (100 µg/mL), 2 µL Ribonükleaz A (20µg/mL) ve 200 µL parçalama tamponu (Buffer AL) eklendi. 15 saniye vorteksleme işlemi sonrası 56°C’de 15 dakika inkübasyona bırakılarak, inkübasyon sonrası 200 µL ethanol eklenip 15 saniye vorteksledi. Tüpteki karışım 2,0 mL’lik kolona aktarıldı. 6000 G’de 1dk santrifüj uygulanarak 500 µL yıkama tampon-1 (AW1) eklendi. Sonrasında 6000 G’de 1 dk santrifüj uygulandı ve alt sıvı döküldü. 500 µL yıkama tampon-2 (AW2) eklenip 20000 G’de 3 dk santrifüj işlemi

ugulandı. Kolon yeni bir tüpe aktarılarak tekrar 20000 G’de 1dk santrifüj edilerek yeni tüpe aktarıldı ve 100 µL elüsyon buffer (AE) eklenip 5dk oda sıcaklığında bekletilerek 6000 G’de 1dk santrifüj işlemi uygulandı. Elde edilen DNA’lar -80°C’de saklandı.

3.4. Bisülfıt Modifikasyon İşlemleri

Bisülfıt modifikasyon işlemi sonrası metillenmemiş olan sitozin urasile dönüşürken, metillenmiş sitozin değişime uğramaz ve aynı kalır. OSCC tanılı. OPML tanılı ve sağlıklı gönüllülere ait tümör ve normal eşknik doku ile vücut sıvılarından elde edilen DNA'nın bisülfıt modifikasyon işlemi dönüşümü EZ Gold DNA Methylation kiti (ZYMO, Almanya) kullanılarak protokole uygun olarak gerçekleştirildi. 20 µl DNA, ayrı bir tüpte 130 µl bisülfıt dönüşüm reajanı eklenerek, PCR cihazında 95°C’de 30 saniye ve 50°C’de 1 saat, 16 siklus inkübasyon yapıldı. Sonrasında 600 µl bağlanma tamponu eklendi. Filtreli kolon tüplere işlenmiş örnekler transfer edildi ve santrifüj ile DNA’lar kolonlara bağlandı. 100 µl yıkama tamponu kullanılarak yıkama ve santrifüyü takiben 200 µl desülfonasyon tamponu eklenerek santrifüj sonrası tekrardan 200 µl yıkama tamponu yıkama işlemi gerçekleştirildi. Son işlem olarak 10 µl elüsyon tamponu kullanılarak bisülfıt dönüşümü tamamlanmış oldu. bisülfıt dönüşümü gerçekleşen DNA örnekleri metilasyon array çalışmasına kadar -20°C’ de saklandı.

3.5. RNA İzolasyon İşlemi

OPML ve OSCC grubu ile sağlıklı bireylerden elde edilen doku örneklerinden RNA izolasyonu SV Total RNA İzolasyon Kiti(Promega, ABD) kullanılarak yapıldı. 1,5 mL’lik tüplere alınan doku örnekleri üstüne 500 µL TriPure Isolation Reagent (Roche, Almanya) eklendi ve el homojenizatörü (QIAGEN, Almanya) yardımıyla homojenize dokular homojenize edildi. İşlem sonrasında üzerine 100 µL kloroform eklendi. Karışım vortekslendi ve sonrasında, 12000 G’de 10dk santrifüj edildi. Üstte toplanan şeffaf faz toplanıp ayrı bir tüpe koyularak 200 µl %95 etanol eklenip pipetaj işlemi gerçekleştirildikten sonra kit protokolündeki adımlar doğrultusunda RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Nanodrop cihazının yardımıyla elde edilen RNA’ların miktar ve saflığı ölçüldü ve kalite kontrolü tamamlandı.

3.6. cDNA Sentezi

OPML, OSCC ve sağlıklı bireylerden toplanan örneklerden elde edilmiş RNA örneklerinin cDNA dönüşümünü gerçekleştirmek için RevertAid First Strand cDNA

Sentez Kiti (Thermo Scientific, Almanya) kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı ve reaksiyon koşulları tablolardaki gibi hazırlanarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 6 : Reaksiyon karışımı

Bileşen	Miktarı
Total RNA (100 ng)	Değişken
dH ₂ O	11 µL – totalRNA hacmi
Random primer	1 µL
5X RT Reaksiyon tampon	4 µL
RNaz İnhibitörü	1 µL
10 mM dNTP mix	2 µL
Reverse Transkriptaz	1 µL
Toplam hacim	20 µL

Tablo 7 : Reaksiyon koşulları

Sıcaklık	Süre
25°C	5 dk
42°C	60 dk
70°C	5 dk

3.7. Primer Prob Tasarımı

Bu tez çalışmasında *PAX1* genine ait metilasyon ile ekspresyon primer ve prob tasarımı internet üzerinden kullanıma açık olan Methprimer ve Primer3Plus programları kullanılarak yapılmıştır. Refereans olarak kullanılan ACTB geninin primer dizileri Demokan ve ark. Tarafından gerçekleştirilen çalışmadan alınmıştır.

3.8. QMSP Tekniği ile Metilasyon Seviyesinin Belirlenmesi

OSCC ile OPML dokularından ve sağlıklı bireylerden elde edilen normal mukozalara ait DNA örneklerinde, hedef gen olan *PAX1* geninin promoter bölgesindeki metilasyon varlığı incelenmiştir. DNA izolasyonu sonrası bisülfid dönüşüm ile modifikasyonları gerçekleştirilen BS-DNA lar ile kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (QRT-PCR) yöntemi aracılığı ile 5'ucunda 6-florosein amitid (FAM) ile 3'ucunda FAM baskılayıcı (quencher) görevi olan karboksitetrametilrodamin (TAMRA) ile işaretlenmiş TaqMan hidroliz probu (TaqMan) ile değerlendirildi. Amplifikasyonlar 96 kuyulu platelerde Lightcycler 480 cihazında gerçekleştirilmiştir.

Her bir örnek duplike olarak çalışılmıştır. DNA içermeyen örnekler negatif kontrol, sağlıklı kişilerin lenfositlerinden elde edilen DNA örnekleri de SssI metiltransferaz muamelesi sonrası bisülfite değişimi gerçekleştirilerek yapılan %100 metile edilen DNA lar pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Kantitatif metilasyon değerleri ile ilişkili genin referans gen ile oranlanması ile hesaplanmıştır (ilişkili gen/referans gen x 100).

3.8.1. Metilasyon Deneylerinde Kullanılan Reaksiyon Koşulları

Tablo 8 : Metilasyon deneyleri reaksiyon koşulları

	Siklus sayısı	Derece	Zaman
Denatürasyon	1	95°C	5 dk
Bağlanma	50	95°C	15 s
		60°C	1 dk
		72°C	15 s
Soğuma	1	40°C	1 dk

3.9. QRT-PCR Yöntemi ile Ekspresyon Seviyelerinin Belirlenmesi

Serum ve dokulardan elde edilen RNA örnekleri cDNA ya çevrildikten sonra SYBR Green temelli kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (QRT-PCR) ile ekspresyon seviyeleri belirlendi. Deneylerde, PCR koşullarının sonuna erime eğrisi (melting curve) programı da eklendi. Erime eğrisi grafiklerine bakılarak, çoğaltılan ürünlerin istenilen ürün olup olmadığını da kontrol edildi. Reaksiyon karışımı ve koşulları tablolarda verilmiştir.

3.9.1. Ekspresyon deneylerinde kullanılan reaksiyon koşulları

Tablo 9 : Ekspresyon deneyleri reaksiyon koşulları

	Siklus sayısı	Derece	Zaman
Denatürasyon	1	95°C	5 dk
Bağlanma	45	95°C	15 s
		60°C	1 dk
Erime eğrisi (Melting curve)	1	95°C	10 s
		55°C	20 s
		95°C	cont.
Soğuma	1	40°C	30 s

3.9.2. Ekspresyon deneylerinde kullanılan reaksiyon karışımı

QRT-PCR yöntemi ile Ct (floresan düzeyinin cihaz tarafından ölçülebilen eşik değeri aştığı döngü, olan cycle threshold) değerleri bulundu. Sonrasında Ct değerleri kullanılarak hedef gen ile referans gen arasındaki farkı olan ΔCt değerleri hesaplandı. Bu değer kullanılarak $\Delta\Delta Ct = Ct(\text{Hedef gen-Referans gen})_{\text{tümör}} - Ct(\text{Hedef gen-Referans gen})_{\text{normal}}$ formülü kullanılarak relatif ekspresyon değeri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) hesaplandı.

Reaksiyon Karışımı	1 örnek için hacim
10X LightCycler 480 DNA Master SYBR Green Master Mix	10 μL
10 μM Primer (Forward)	2 μL
10 μM Primer (Reverse)	2 μL
dH₂O (PCR grade)	3 μL
cDNA	3 μL

3.10. Veri Analizi

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 17.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogram grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, sayı ve yüzde değerler kullanılmıştır. 2x2 gözlerde Pearson Ki Kare ve Fisher's Exact Testleri ile karşılaştırıldı. Yaşın, cinsiyetin, sigara ve alkol kullanımının; tümörde ve normal dokuda metilasyon varlığı ile ekspresyon seviyesindeki artışa ve azalmaya etkisi regresyon analizi ile incelenmiştir. P-değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik ve Klinik Özellikler

Çalışmaya 30 malign 30 premalign ve 29 sağlıklı grupta olmak üzere toplam 89 kişi alınmıştır. Sağlıklı grup içerisindeki bir örnekte gözlemlenen anormal metilasyon değerleri sebebiyle ilgili örnekten elde edilen sonuçlar istatistiksel analize dahil edilmemiştir.

Malign hasta grubunun yaş ortalaması $59,93 \pm 12,48$ iken erkek oranı (%70) kadın oranından (%30) fazladır. Hastaların %63,33'ü (19/30) sigara kullanmakta ve %3,33'ü (1/30) alkol kullanmaktadır. Malign hastalarında tümör anatomik olarak %30 (9/30) dil, %26.6 (8/30) bukkal mukoza, %13.3 (4/30) inferior alveolar ark, %10 (3/10) ağız tabanı, %10 (3/10) retromolar trigon ve %10 (3/10) sert damak tutulumu göstermiştir. Malign grubunda bulunan hastaların TNM sınıflamasına göre %50,00'si (15/30) evre IV, %20'si (6/30) evre II, %20,00'si (6/30) evre III ve %10'u (3/30) evre I'dir.

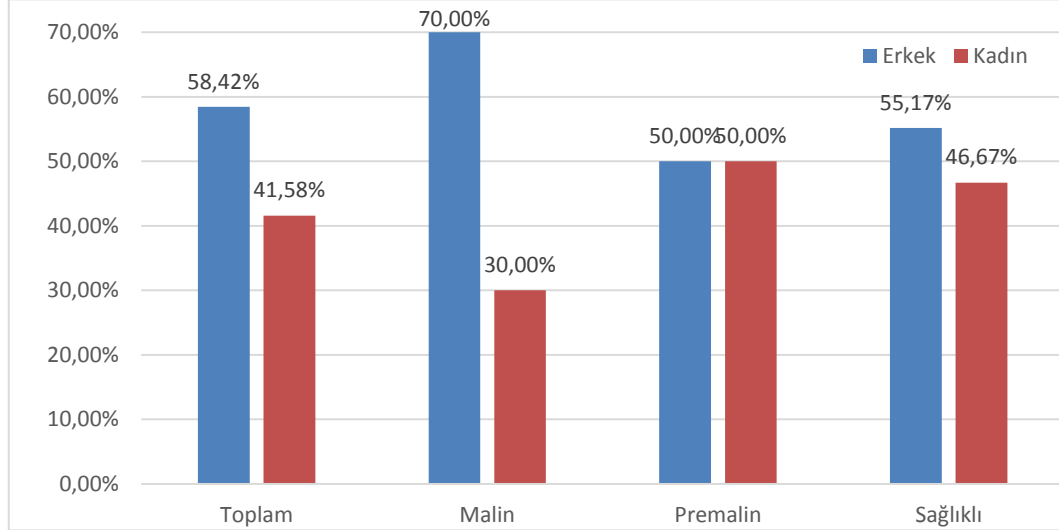
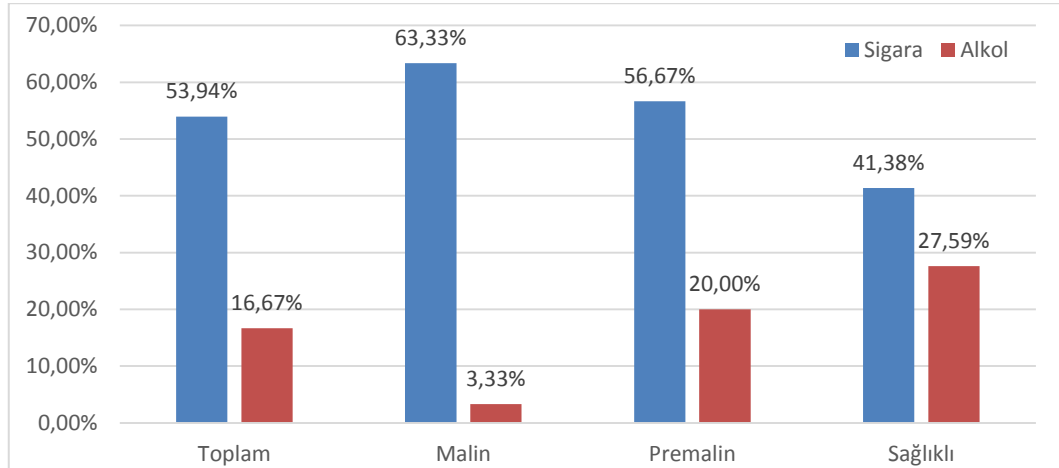
Çalışmaya katılan premalign hasta grubunun yaş ortalaması $50,40 \pm 13,63$ 'tür. Premalign hasta grubunda kadın oranı (%50) ile erkek oranı (%50) eşittir. Hastaların %56,67'ü (17/30) sigara kullanmakta ve %20'si (6/30) alkol kullanmaktadır. Premalign grubundaki hastalar histopatolojik tanılarına göre sınıflandırılmıştır. Buna göre hastaların %46.6'sı (14/30) retiküler liken planus, %33.3'ü (10/30) eroziv liken planus ve %20'si (6/30) displazi tanısı almıştır. Histopatolojik olarak displazi tanısı alan 6 hastanın klinik görüntüsü lökoplaki şeklindedir.

Çalışmaya katılan sağlıklı bireylerin yaş ortalaması $49,57 \pm 9,47$ 'dir. Bu grupta erkek oranı (%55,17) kadın oranından (%44,83) fazladır ve katılımcıların %41,37'si (12/29) sigara, %27,58'i (8/29) alkol kullanmaktadır.

Yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Buna göre sağlıklı grubun yaş ortalaması malign ve premalign gruba göre daha düşüktür. Alkol kullanma oranı sağlıklı grupta, malign ve premalign gruba göre daha yüksektir. Hasta gruplar ile sağlıklı grup arasındaki sigara ve alkol kullanım oranları üzerinde gruplar arasındaki sosyoekonomik düzey farklılıklarının etkisinin olduğu söylenebilir.

Tablo 10 : Çalışmaya katılanların demografik özellikleri

		Toplam		Malign		Premalign		Sağlıklı		p	%95 G.A.	
		n	%	n	%	n	%	n	%		Alt	Üst
Yaş		55,30±12,76		59,93±12,48		50,40±13,63		49,57±9,47		<0,001	<0,001	0,033
Cinsiyet	Erkek	52	(58,42)	21	(70,00)	15	(50,00)	16	(55,17)	0,122	0,055	0,190
	Kadın	37	(41,58)	9	(30,00)	15	(50,00)	13	(44,83)			
Sigara	Yok	41	(46,06)	11	(36,67)	13	(43,33)	17	(58,62)	0,522	0,419	0,625
	Var	48	(53,94)	19	(63,33)	17	(56,67)	12	(41,38)			
Alkol	Yok	74	(83,14)	29	(96,67)	24	(80,00)	21	(72,41)	<0,001	<0,001	0,033
	Var	15	(16,86)	1	(3,33)	6	(20,00)	8	(27,59)			

**Şekil 1 : Cinsiyet oranlarının genel ve gruplara göre dağılımı****Şekil 2 : Sigara ve alkol kullanımı oranlarının gruplara göre ve genel dağılımı**

Tablo 11 : Premalign hastaların histopatolojik tanı oranları

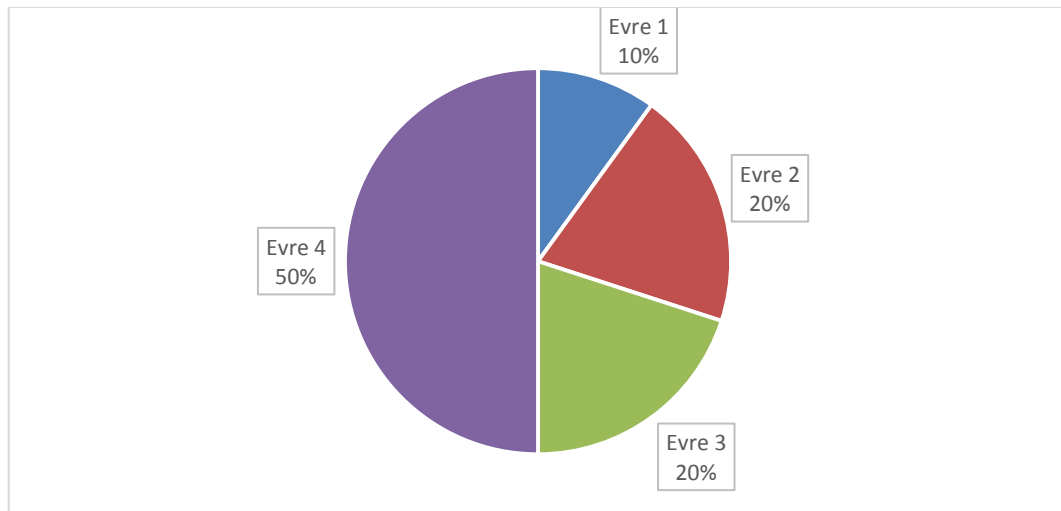
	Premalign	
	n	%
Liken Planus	14	(46,67)
Eroziv Liken Planus	10	(33,33)
Displazi	6	(20,00)

Tablo 12 : Malign grupta tümör tutulunu tipleri

		n	%
Ağız Tabanı	1	3	(10,00)
Bukkal Mukoza	2	8	(26,67)
Dil	3	9	(30,00)
İnferior Alveolar Ark	4	4	(13,33)
Sert Damak Tutulumu	5	3	(10,00)
Retromolar	6	3	(10,00)

Tablo 13 : Malign hastaların TNM sınıflaması

	n	%
Evre 1	3	(10,00)
Evre 2	6	(20,00)
Evre 3	6	(20,00)
Evre 4	15	(50,00)

**Şekil 3: Malign hastaların TNM sınıflaması evre oranları**

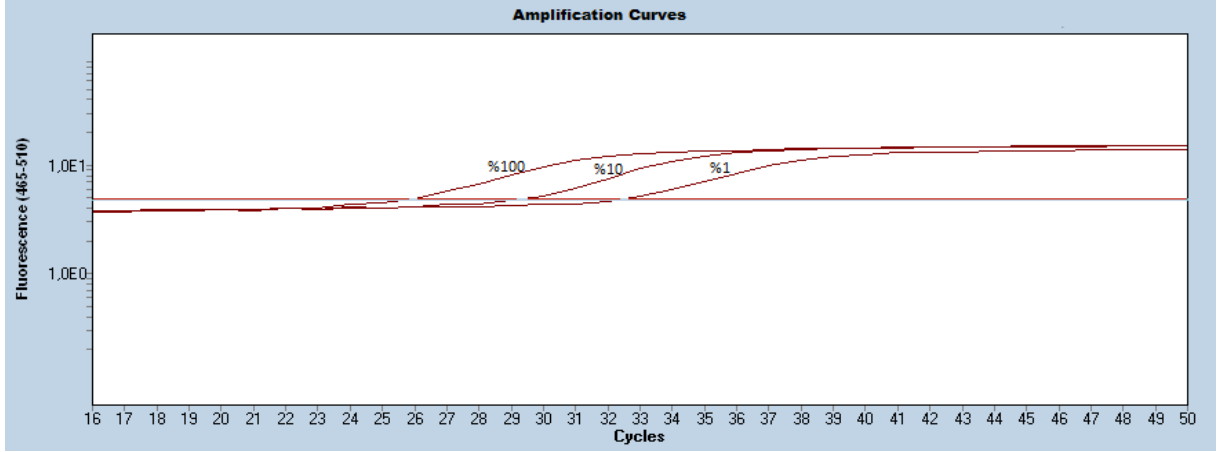
16 hastada (%53,33) LNT, 10 hastada (%33,33) metastaz vardır. 25 hastanın (%83,33) diferansiyasyon derecesi ortadır. 5 hastada ise (%16,67) nüks görülmüştür (Tablo 14).

Tablo 14 : Malign gruptaki hastaların evre, LNT, metasataz ve nüks oranlar

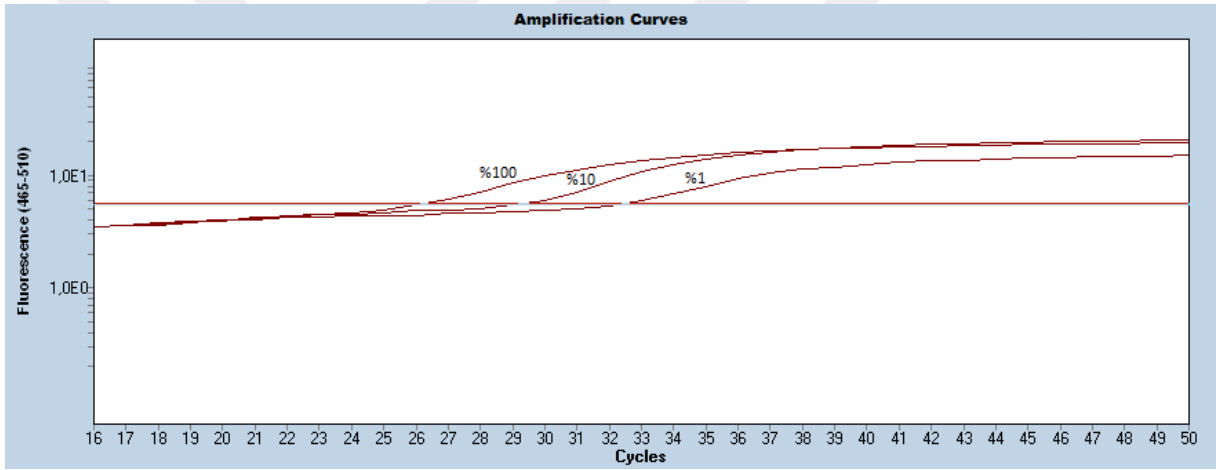
		n	%
LNT	Yok	14	(46,67)
	Var	16	(53,33)
Metastaz	Yok	20	(66,67)
	Var	10	(33,33)
Differansiyasyon derecesi	Az	1	(3,33)
	Orta	25	(83,33)
	İyi	4	(13,33)
Nüks	Yok	25	(83,33)
	Var	5	(16,67)

4.2. PAX1 Geninin Metilasyon Analiz Sonuçları

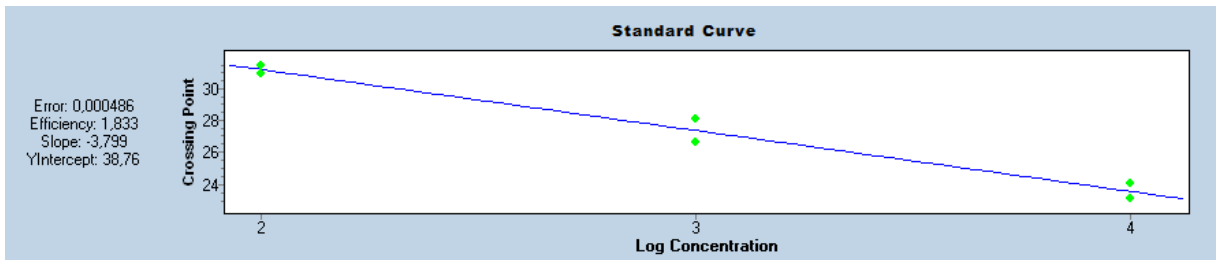
Çalışmamızda OSCC ve OPML tanısı almış 30'ar hastaya ait tümör/eşlenik normal doku, serum ve tükürük örnekleri ile kendisinde ve ailesinde malign/benign tümör öyküsü bulunmayan 29 sağlıklı bireye ait normal mukoza, serum ve tükürük örneklerinin metilasyon durumu Kantitatif Metilasyon Spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemi (QMSP) ile araştırıldı. Kantitatif ölçüm yapılması amacıyla, %100 metillenmiş standart ve seri dilüsyonlar (1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000) kullanılmıştır. Çalışmada negatif kontrol olarak ise distile su ve bisülfite modifiye edilmiş LN-DNA'sı kullanılmıştır. Sonuçların analizi, LightCycler 480 yazılımında Absolut Hesaplama/Fit Points programı ile gerçekleştirildi. Sağlıklı grup içerisinde bulunan bir bireyin örneklerinde çıkan anormal metilasyon değerleri sebebiyle örneklerden elde edilen veriler istatistiksel analizlere dahil edilmedi. Hedef ve referans gene ait amplifikasyon eğrileri Şekil 4 ve Şekil 5'de , standart curve eğrisi ise Şekil 6'da gösterilmektedir.



Şekil 4: %100 metile standart ve dilüsyonlarının ACTB genine ait amplifikasyon eğrileri

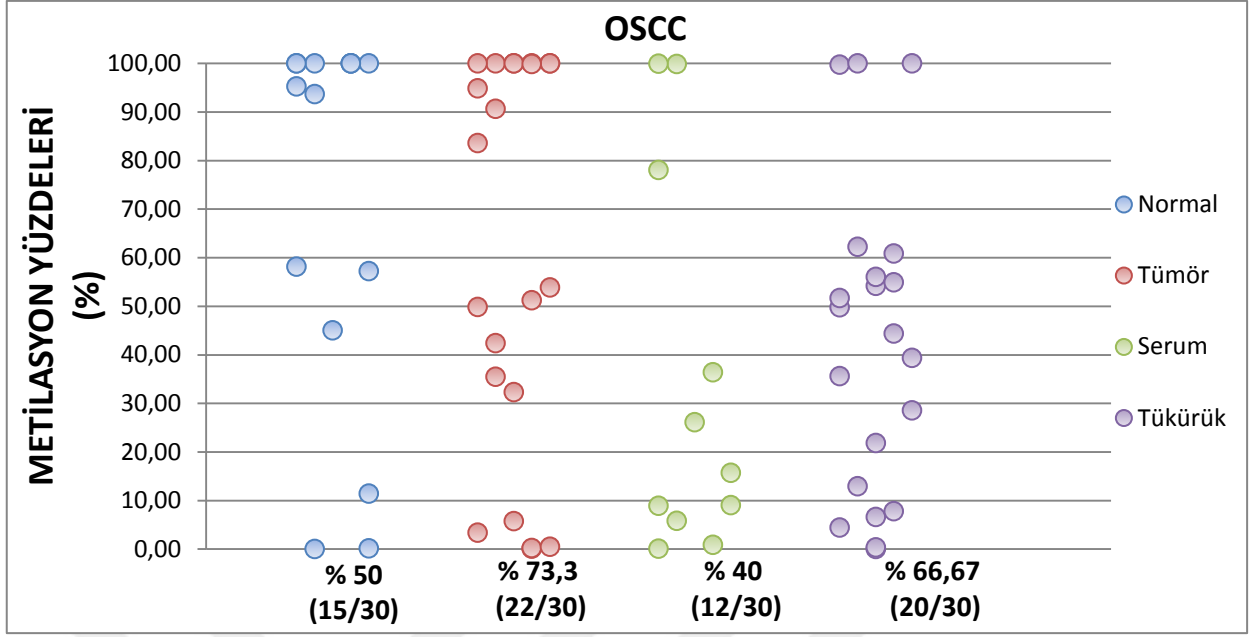


Şekil 5 : %100 metile standart ve dilüsyonlarının hedef *PAX1* genine ait eğrileri



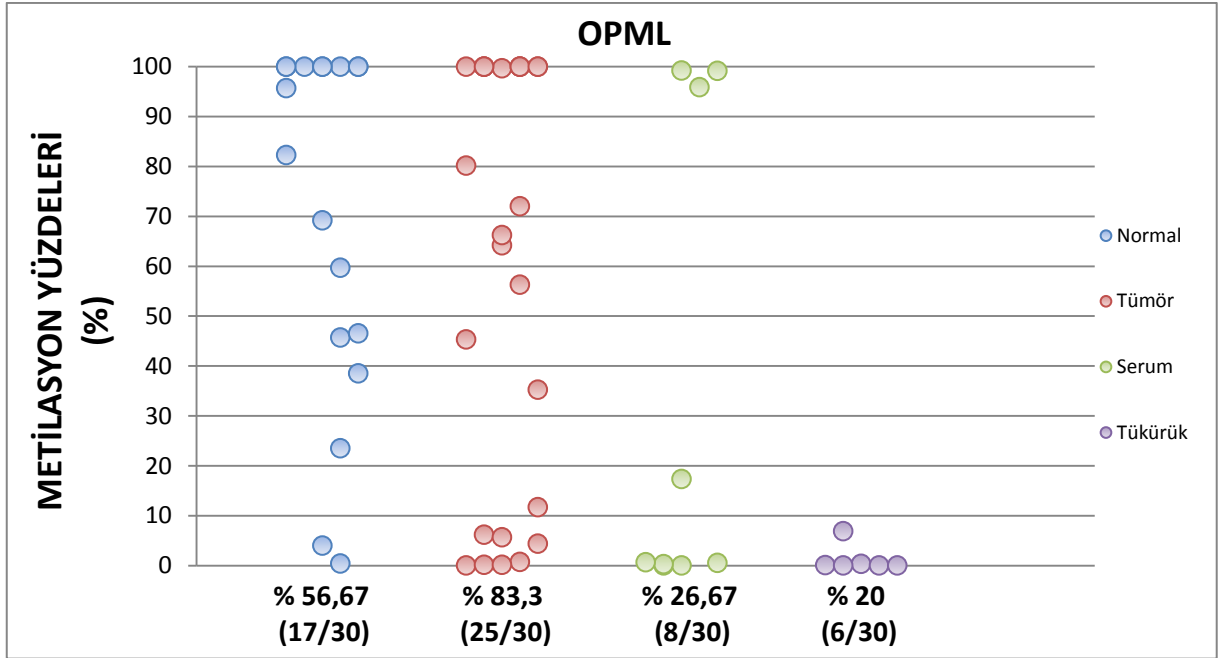
Şekil 6 : %100 metile standart ve dilüsyonlarında ACTB ve *PAX1* genlerine ait standart eğri

OSCC hastalarına ait eşlenik normal, tümör doku ile serum ve tükürük örneklerindeki *PAX1* genindeki metilasyon oranları sırasıyla %50 (15/30), %73,3 (22/30), %40 (12/30) ve %66,67 (20/30) olarak bulundu (Şekil 7).



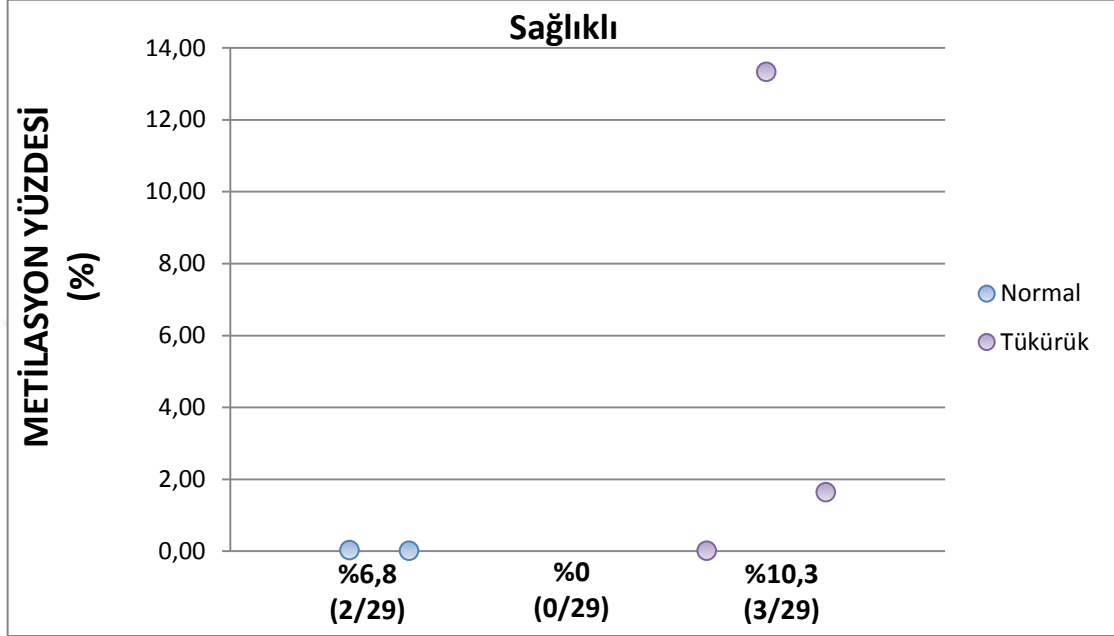
Şekil 7 : OSCC hastalarına ait tümör, eşlenik normal doku ile serum ve tükürük örneklerindeki metilasyon oranları (β -value)

OPML hastalarına ait eşlenik normal, tümör doku ile serum ve tükürük örneklerindeki *PAX1* genindeki metilasyon oranları sırasıyla %56,67 (17/30), %83,3 (25/30), %26,67 (8/30) ve %20 (6/30) olarak bulundu (Şekil 8).



Şekil 8 : OPML hastalarına ait tümör, eşlenik normal doku ile serum ve tükürük örneklerindeki metilasyon oranları (β -value)

Sağlıklı bireylere ait normal mukoza ile serum ve tükürük örneklerindeki *PAX1* genindeki metilasyon oranları sırasıyla %6,6 (2/29), %0 (0/29) ve %10,3 (3/29) olarak bulundu (Şekil 9).

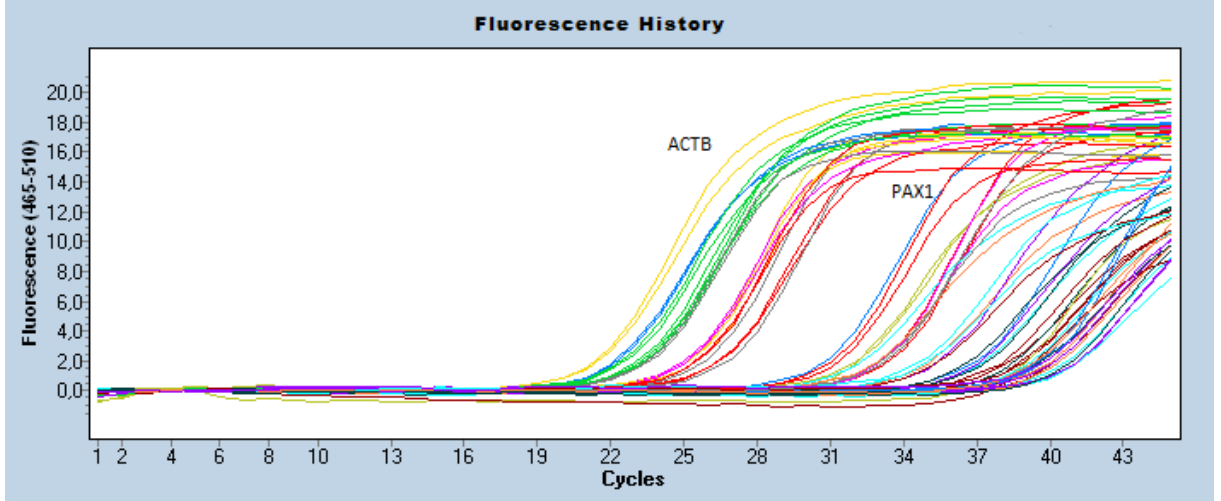


Şekil 9 : Sağlıklı bireylere ait normal mukoza ile serum ve tükürük örneklerindeki metilasyon oranları (β-value)

4.3. *PAX1* Geninin Ekspresyon Analiz Sonuçları

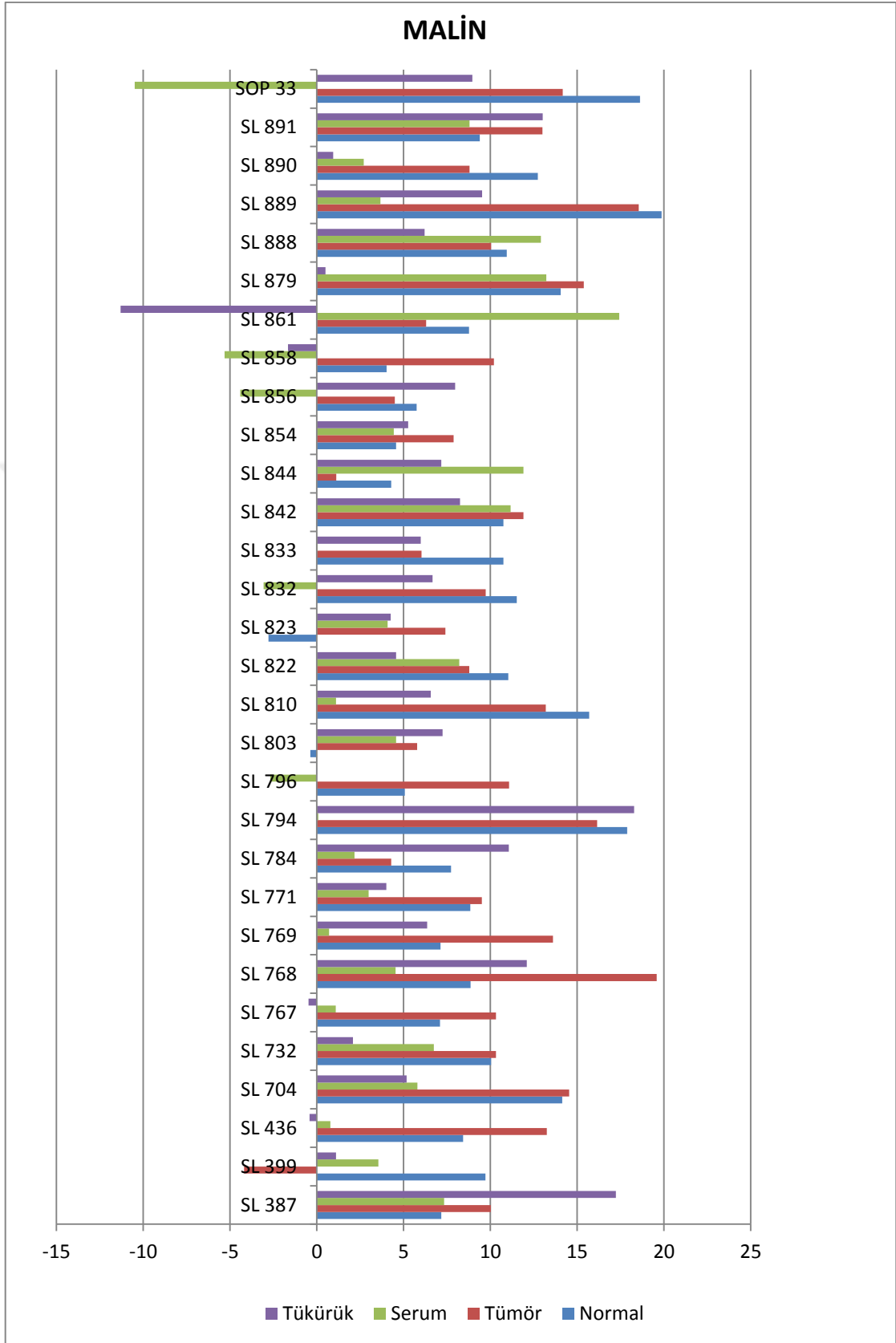
Çalışmamızda OSCC ve OPML tanısı almış 30'ar hastaya ait tümör/eşlenik normal doku, serum ve tükürük örnekleri ile kendisinde ve ailesinde malign/benin tümör öyküsü bulunmayan 29 sağlıklı bireyin normal doku, serum ve tükürük örnekleri kullanılmıştır. Hasta ve sağlıklı bireylerin örneklerinde ekspresyon seviyeleri, SYBR Green içeren reaksiyon karışımı ve Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (QRT-PCR) tekniği kullanılarak incelendi. Sonrasında hedef gen ve referans (*ACTB*) genlerinin ekspresyon sonuçlarından elde edilen Ct değerleri kullanılarak $2^{\Delta Ct}$ değerleri tüm örnekler için normalize edildi. Sonuçların analizi LightCycler 480 yazılımındaki Temel Relatif Ölçüm (Basic Relative Quantification) programı ile yapılmış ve tümör dokusunun $2^{\Delta Ct}$ değerlerinin normal dokunun $2^{\Delta Ct}$ değerlerine göre kat değişimleri(fold change) $2^{-\Delta \Delta Ct}$ formülü ile hesaplanmıştır. Buna göre 2'nin üzerinde olan değerler tümör dokusunda eşlenik normal ya da sağlıklı

mukozaya oranla ekspresyon artışı, 2'nin altındaki değerler ise ekspresyon azalışı olarak değerlendirildi.

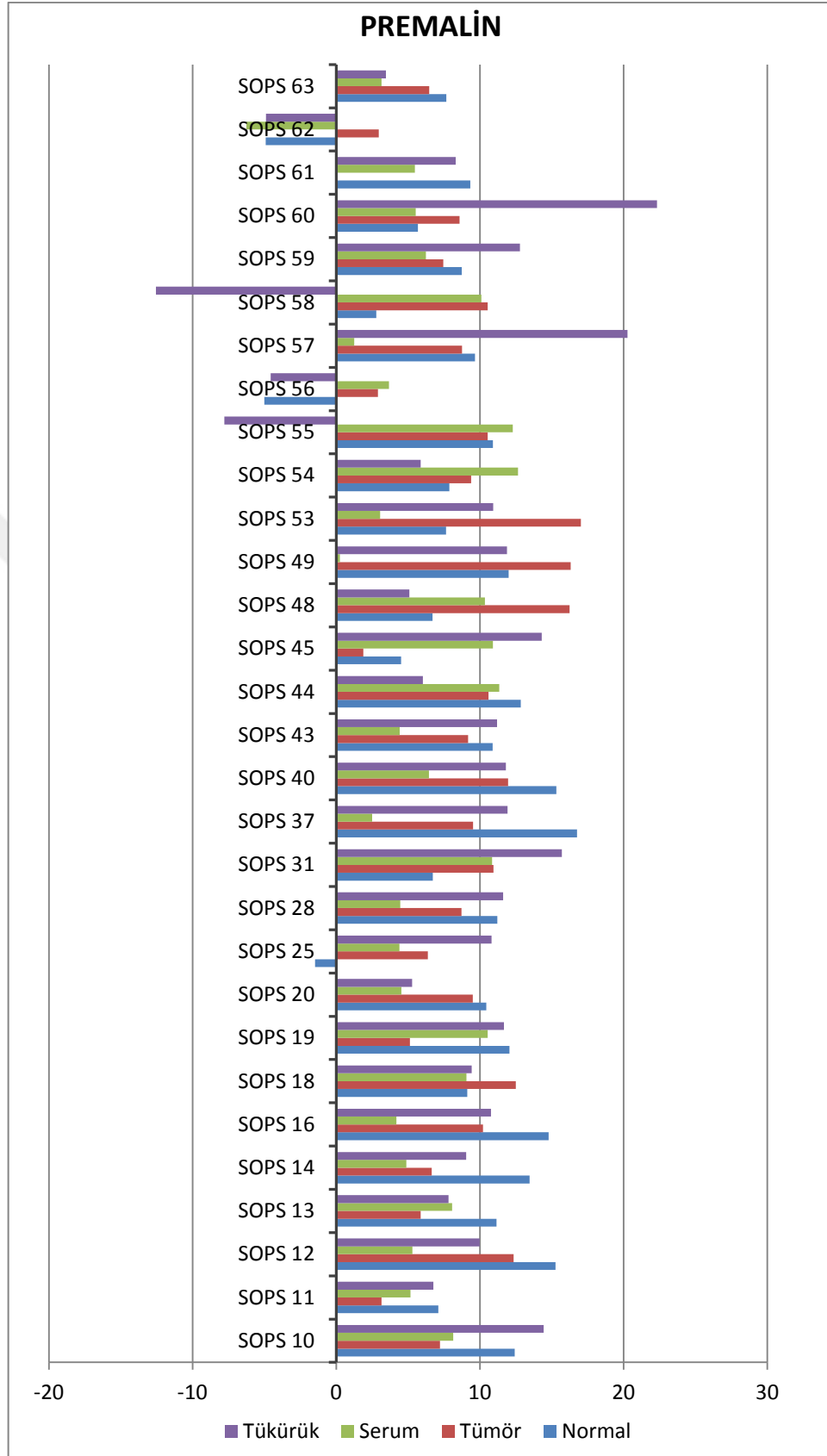


Şekil 10 : Hastalara ait örneklerin hedef gen (*PAX1*) ve referans gendeki amplifikasyon eğrileri

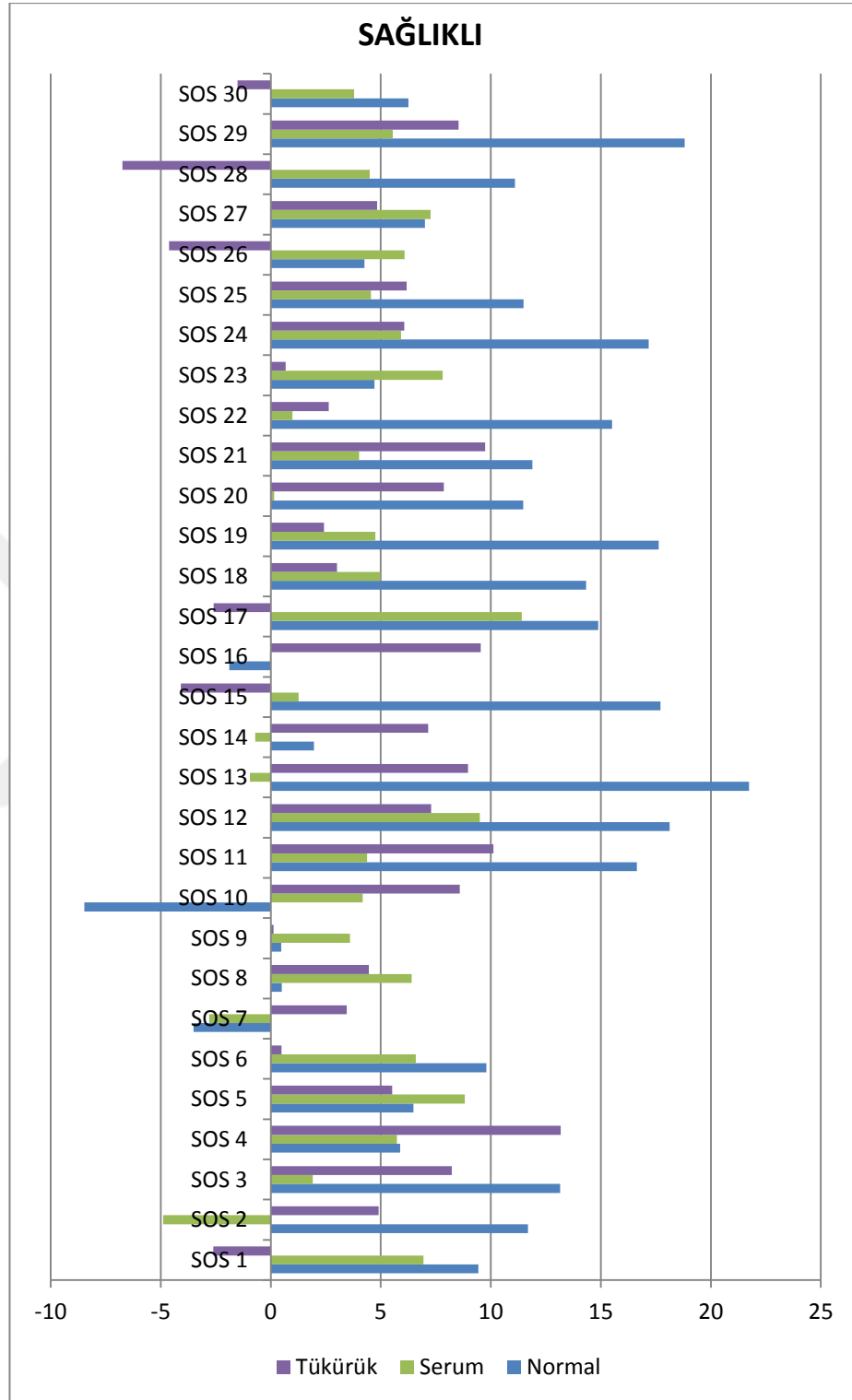
PAX1 geninin ekspresyon düzeyleri referans genin OSCC ve OPML hastalarının tümör/eşlenik normal doku, serum ve tükürük örneklerindeki ekspresyon düzeyleri ile sağlıklı bireylere ait normal mukoza, serum ve tükürük örneklerindeki ekspresyon düzeyleri $2^{-\Delta C_t}$ metodu ile relatif olarak hesaplandı (Şekil 10,11,12,13).



Şekil 11 : OSCC hastalarının tümör/eşlenik normal doku, serum ve tükürük örneklerinin ekspresyon düzeyleri normalize edilerek $2\Delta C_t$ metodu ile relatif olarak değerlendirilmesi

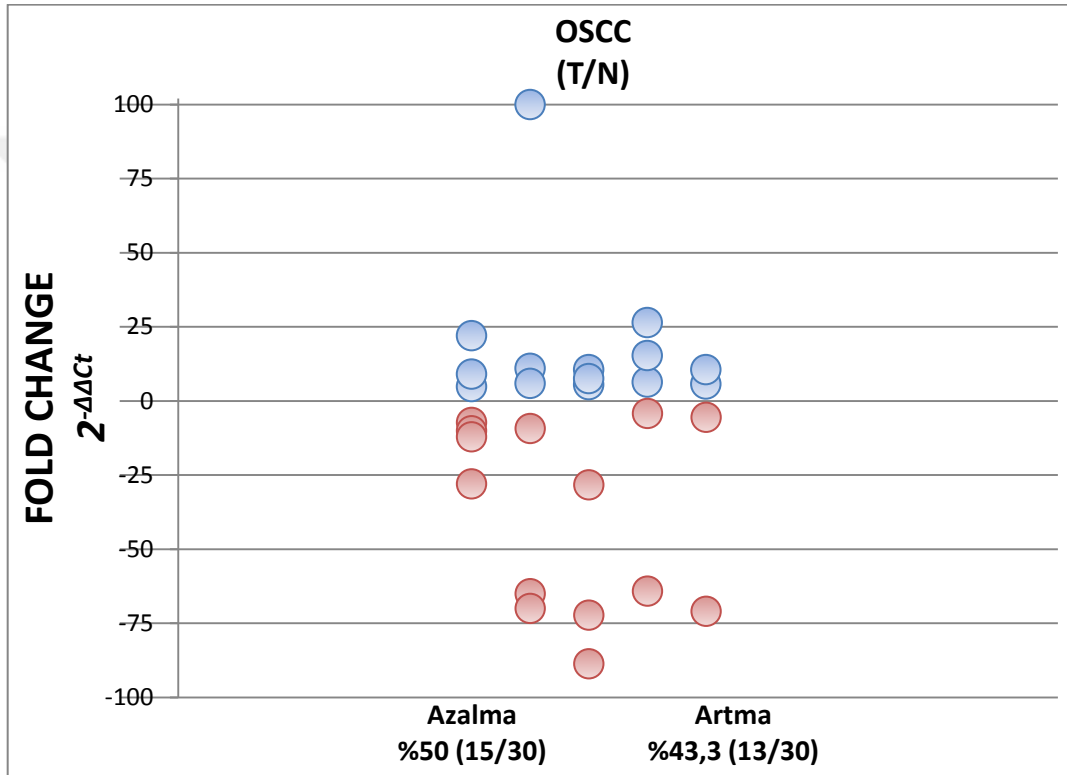


Şekil 12 : OPML hastalarının tümör/eşlenik normal doku, serum ve tükürük örneklerinin ekspresyon düzeyleri normalize edilerek $2\Delta C_t$ metodu ile relatif olarak değerlendirilmesi

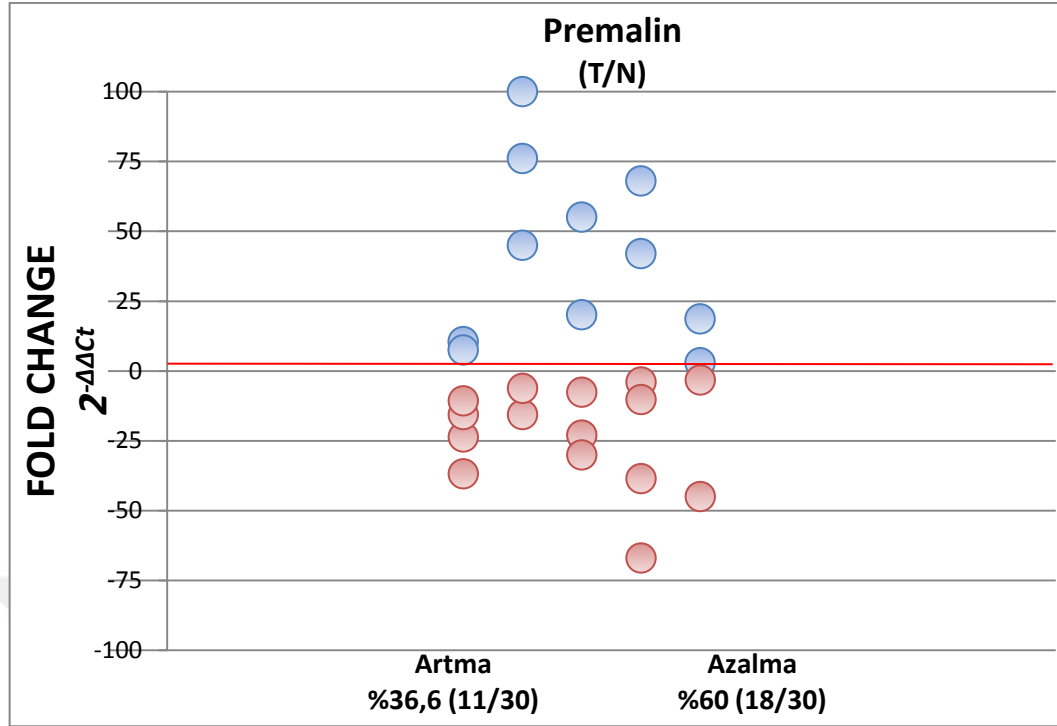


Şekil 13 : Sağlıklı bireylerin mukoza, serum ve tükürük örneklerindeki ekspresyon düzeyleri normalize edilerek 2 Δ Ct metodu ile relatif olarak değerlendirildi

PAX1 geninin OSCC ve OPML hastalarına ait tümör ve eşlenik normal dokularındaki ekspresyon düzeyleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu ile relatif olarak hesaplandı (Şekil 11,12). OSCC hastaların %50'sinde (15/30) tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla ekspresyon seviyesinde azalma ve %43,3'ünde (13/30) ekspresyon seviyesinde artma gözlenirken 2 hastanın ekspresyon seviyesinde değişiklik gözlenmedi. OPML hastaların %36,6'sında (11/30) tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla ekspresyon seviyesinde artma ve %60'ında (18/30) ekspresyon seviyesinde azalma gözlenirken 1 hastanın ekspresyon seviyesinde değişiklik gözlenmedi (Şekil 14,15).



Şekil 14 : *PAX1* geninin ekspresyon düzeyleri ile referans genin (ACTB) OSCC hastalarına ait tümör (T) ve eşlenik normal (N) doku örneklerindeki ekspresyon düzeyleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu ile relatif olarak hesaplandı



Şekil 15 : *PAX1* geninin ekspresyon düzeyleri ile referans genin (ACTB) OPML hastalarına ait tümör (T) ve eşlenik normal (N) doku örneklerindeki ekspresyon düzeyleri $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metodu ile relatif olarak hesaplandı.

OPML ve OSCC hastalarına ait tümör dokusunda eşlenik normal ya da sağlıklı mukozaya oranla ekspresyon azalışı veya artışı ile hastalara ait klinikopatolojik bilgilerin istatistiksel olarak karşılaştırılması IBM SPSS Statistics 20 programı yardımıyla gerçekleştirildi.

4.4. *PAX1* Geninin Metilasyona Bağlı Ekspresyon Seviyesindeki Azalma

Premalign grupta tümör dokusunda *PAX1* geninin promoter bölgesinde metilasyon gözlenen 25 hastanın %56'sında (14/25) tümör dokusunda eşlenik normal dokusuna göre ekspresyon seviyesinde azalma olduğu tespit edildi. Tümör dokusunda metilasyon gözlenen hastaların %28'inde (7/25) serumunda metilasyon gözlemlendi. Tümör dokusunda metilasyon gözlenen 25 hastanın %20'sinde (5/25) tükürük örneklerinde metilasyon gözlemlendi. Premalign grupta yer alan 2 hastanın hem tümör hem serum hem de tükürük örneklerinde metilasyona rastlanırken; bu iki hastanın birinde tümör dokusunda eşlenik normal dokuya göre ekspresyon seviyesinde azalma olduğu gözlemlendi.

Malign grupta tümör dokusunda *PAX1* geninin promoter bölgesinde metilasyon gözlenen 22 hastanın %59,09'unda (13/22) tümör dokusunda eşlenik normal dokuya göre ekspresyon seviyesinde azalma olduğu tespit edildi. Tümör dokusunda metilasyon gözlenen hastaların tükürük örneklerinin %68,18'inde (15/22), serum örneklerinin %45,5'inde (10/22) ise metilasyon gözlemlendi. Malign grupta yer alan 4 hastanın ise hem tümör hem de serum ve tükürük örneklerinde metilasyon gözlenirken; tümör dokusunda eşlenik normal dokuya göre ekspresyon seviyelerinde azalma olduğu tespit edildi.

4.5. Metilasyon ve Ekspresyon Sonuçlarını Birlikte Değerlendirilmesi

Differansiyasyon derecesine göre tümör, serum ve tükürükte metilasyon varlığı oranları incelendiğinde anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 15).

Tablo 15 : Differansiyasyon derecesine göre tümör, serum ve tükürükte metilasyon

		Differansiyasyon derecesi						p
		Az		Orta		İyi		
		n	%	n	%	n	%	
Met-tümör	Yok	0	(,00)	8	(32,00)	0	(0,00)	0,336
	Var	1	(100,00)	17	(68,00)	4	(100,00)	
Met-serum	Yok	1	(100,00)	16	(64,00)	1	(25,00)	0,238
	Var	0	(,00)	9	(36,00)	3	(75,00)	
Met-tükürük	Yok	1	(100,00)	8	(32,00)	1	(25,00)	0,342
	Var	0	(,00)	17	(68,00)	3	(75,00)	

Differansiyasyon derecesine göre metilasyon ve metilasyona bağlı ekspresyon değerleri karşılaştırıldığında anlamlı ilişki olmadığı saptanmıştır (Tablo 16).

Tablo 16 : Differansiyasyon derecesine göre metilasyon ve metilasyona bağlı ekspresyon değerleri

	Differansiyasyon derecesi									p
	Az			Orta			İyi			
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
Artış	,40	±.	,40	616,33	±3061,15	,63	4,47	±3,42	4,03	0,419
Azalış	-2,53	±.	-2,53	-129,92	±402,34	-1,59	-,46	±,51	-,26	0,419
Normal dokuda metilasyon	,00	±.	,00	33,36	±46,57	,00	56,71	±36,18	57,70	0,189
Tümör dokusunda metilasyon	,44	±.	,44	40,23	±43,76	32,28	84,36	±21,76	91,79	0,186

Malign hastalarına ait eşlenik normal, tümör doku ile serum ve tükürük örneklerindeki *PAX1* genindeki metilasyon oranları sırasıyla %50,00 (15/30), %73,33 (22/30), %40 (12/30) ve %66,67 (20/30) olarak bulunmuştur. Premalign hastalarına ait eşlenik normal, tümör doku ile serum ve tükürük örneklerindeki *PAX1* genindeki metilasyon oranları sırasıyla %56,67 (17/30), %83,33 (25/30), %26,67 (8/30) ve %20 (6/30) olarak bulunmuştur.

Malign hastaların %43,33'ünde (13/30) tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla ekspresyon seviyesinde artma ve %50'sinde (15/30) ekspresyon seviyesinde azalma gözlenirken 2 hastanın ekspresyon seviyesinde değişiklik gözlenmedi. Premalign hastaların %36,67'sinde (11/30) tümör dokusunda eşlenik normal dokuya oranla ekspresyon seviyesinde artma ve %60,00'ında (18/30) ekspresyon seviyesinde azalma gözlenirken 1 hastanın ekspresyon seviyesinde değişiklik gözlenmedi.

Malign ve premalign grupları arasında ekspresyon değişimi ve metilasyon oranları karşılaştırıldığında; malign grubun tükürükteki metilasyon oranı (%66,67) premalign gruba göre (%20,00) daha yüksektir ($p<0,001$). Gruplar arasında ekspresyon değişimi, normal ve tümör dokuda metilasyon varlığı bakımından anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 17).

Malign grup ve sağlıklı grup metilasyon oranları karşılaştırıldığında, malign grup eşlenik normal doku, serum ve tükürük örneklerindeki *PAX1* metilasyonu anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 18).

Premalign grup ve sağlıklı grup metilasyon oranları karşılaştırıldığında, premalign grup eşlenik normal doku ve serum örneklerindeki *PAX1* metilasyonu anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 19).

Tablo 17 : Malign ve premalign grup ekspresyon değişimi ve metilasyon oranları

		Malign		Premalign		p ¹
		n	%	n	%	
Exp-artış	Yok	17	(56,67)	19	(63,33)	0,598
	Var	13	(43,33)	11	(36,67)	
Exp-azalış	Yok	15	(50,00)	12	(40,00)	0,436
	Var	15	(50,00)	18	(60,00)	
Met-tümör	Yok	8	(26,67)	5	(16,67)	0,347
	Var	22	(73,33)	25	(83,33)	
Met-serum	Yok	18	(60,00)	22	(73,33)	0,273
	Var	12	(40,00)	8	(26,67)	

Met-tükürük	Yok	10	(33,33)	24	(80,00)	<0,001
	Var	20	(66,67)	6	(20,00)	
Normal dokuda metilasyon	Yok	15	(50,00)	13	(43,33)	0,605
	Var	15	(50,00)	17	(56,67)	

¹Ki-Kare Testi

Tablo 18 : Malign ve sağlıklı grup metilasyon oranları

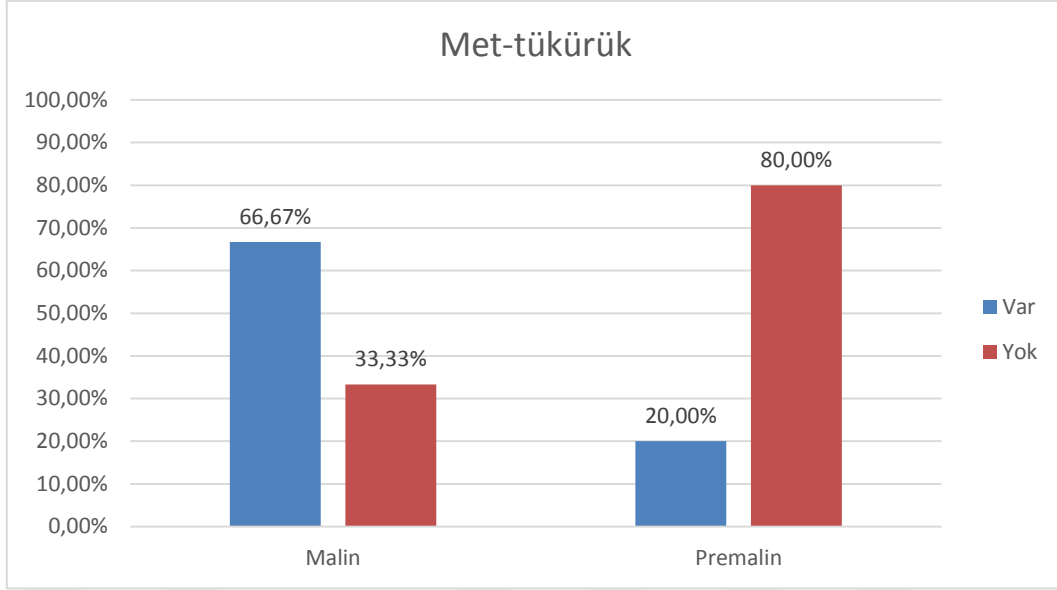
		Malign		Sağlıklı		p
		n	%	n	%	
Met-serum	Yok	18	(60,00)	29	(73,33)	0.0001
	Var	12	(40,00)	0	(26,67)	
Met-tükürük	Yok	10	(33,33)	26	(80,00)	< 0.00001
	Var	20	(66,67)	3	(20,00)	
Normal dokuda metilasyon	Yok	15	(50,00)	27	(43,33)	0.0004
	Var	15	(50,00)	2	(56,67)	

¹Fisher's Exact

Tablo 19 : Premalign ve sağlıklı grup metilasyon oranları

		Premalign		Sağlıklı		p ¹
		n	%	n	%	
Met-serum	Yok	22	(73,33)	29	(100,00)	0.0046
	Var	8	(26,67)	0	(,00)	
Met-tükürük	Yok	24	(80,00)	26	(89,66)	0.4716
	Var	6	(20,00)	3	(10,34)	
Normal dokuda metilasyon	Yok	13	(43,33)	27	(43,33)	0.0001
	Var	17	(56,67)	2	(56,67)	

¹Fisher's Exact



Şekil 16 : Gruplara göre met-tükürük oranları

Yaşın, cinsiyetin, sigara ve alkol kullanımının; tümörde ve normal dokuda metilasyon varlığı ile ekspresyon seviyesindeki artışa ve azalmaya etkisi binary lojistik regresyon analiziyle incelendiğinde, herhangi bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (Tablo 20,21,22,23).

Tablo 20 : Tümörde metilasyon varlığını etkileyen faktörlerin incelenmesi

	B	S.E.	Exp(B)	%95 Güven Aralığı		p
				Alt sınır	Üst sınır	
Yaş	0,016	0,023	1,016	0,971	1,063	0,487
Cinsiyet	-0,315	0,698	0,730	0,186	2,864	0,651
Sigara	-0,702	0,710	0,495	0,123	1,991	0,322
Alkol	0,938	1,171	2,554	0,257	25,347	0,423
Sabit	0,627	1,545	1,872			0,685

B: modelleme katsayısı S.E. Standart hata Exp (B): Etki katsayısı

Tablo 21 : Normal dokuda metilasyon varlığını etkileyen faktörlerin incelenmesi

	B	S.E.	Exp(B)	%95 Güven Aralığı		p
				Alt sınır	Üst sınır	
Yaş	0,008	0,020	1,008	0,970	1,048	0,683
Cinsiyet	0,094	0,621	1,099	0,325	3,715	0,879
Sigara	-0,392	0,613	0,676	0,203	2,249	0,523
Alkol	1,039	0,924	2,828	0,463	17,283	0,260
Sabit	-0,229	1,347	0,795			0,865

B: modelleme katsayısı S.E. Standart hata Exp (B): Etki katsayısı

Tablo 22 : Ekspresyon artışı etkileyen faktörlerin incelenmesi

	B	S.E.	Exp(B)	%95 Güven Aralığı		p
				Alt sınır	Üst sınır	
Yaş	-0,119	0,558	0,887	0,297	2,648	0,830
Cinsiyet	-0,768	0,665	0,464	0,126	1,709	0,248
Sigara	-0,967	0,632	0,380	0,110	1,312	0,126
Alkol	-0,641	0,932	0,527	0,085	3,272	0,492
Sabit	0,602	0,715	1,826			0,400

B: modelleme katsayısı S.E. Standart hata Exp (B): Etki katsayısı

Tablo 23 : Ekspresyon azalmasını etkileyen faktörlerin incelenmesi

	B	S.E.	Exp(B)	%95 Güven Aralığı		p
				Alt sınır	Üst sınır	
Yaş	0,046	0,553	1,047	0,354	3,097	0,934
Cinsiyet	0,825	0,660	2,282	0,626	8,321	0,211
Sigara	0,898	0,628	2,455	0,717	8,400	0,153
Alkol	0,927	0,929	2,526	0,409	15,594	0,318
Sabit	-0,789	0,725	0,454			0,277

B: modelleme katsayısı S.E. Standart hata Exp (B): Etki katsayısı

Malign grupta TNM evrelerine göre ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığı oranları incelendiğinde; evre 3 ve 4'teki ekspresyon azalışı olanların oranının evre 1 ve 2'ye göre daha yüksek olduğu (p:0,034) görülmüştür (Tablo 24).

Tablo 24 : Malign grupta ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığının TNM evrelerine göre oranları

		Evre								p ¹
		1		2		3		4		
		n	%	n	%	n	%	n	%	
Exp-artış	Yok	1	(33,33)	1	(16,67)	4	(66,67)	11	(73,33)	0,089
	Var	2	(66,67)	5	(83,33)	2	(33,33)	4	(26,67)	
Exp-azalış	Yok	2	(66,67)	6	(100,00)	2	(33,33)	5	(33,33)	0,034
	Var	1	(33,33)	0	(,00)	4	(66,67)	10	(66,67)	
Met-tümör	Yok	2	(66,67)	2	(33,33)	2	(33,33)	2	(13,33)	0,252
	Var	1	(33,33)	4	(66,67)	4	(66,67)	13	(86,67)	
Met-serum	Yok	3	(100,00)	3	(50,00)	2	(33,33)	10	(66,67)	0,230
	Var	0	(,00)	3	(50,00)	4	(66,67)	5	(33,33)	
Met-tükürük	Yok	1	(33,33)	2	(33,33)	1	(16,67)	6	(40,00)	0,789
	Var	2	(66,67)	4	(66,67)	5	(83,33)	9	(60,00)	
Normal dokuda metilasyon	Yok	2	(66,67)	2	(33,33)	5	(83,33)	6	(40,00)	0,234
	Var	1	(33,33)	4	(66,67)	1	(16,67)	9	(60,00)	

¹Ki-Kare Testi

TNM evreleri, erken evre (evre 1 ve 2) ve geç evre (evre 3 ve 4) olarak ayrılmış ve metilasyon ile metilasyona bağlı ekspresyon oranları karşılaştırılmıştır. Buna göre erken evre hastalarında ekspresyon artışı olanların oranı (%77,78) geç evre hastalarına göre (%28,57) daha yüksektir (p:0,020). Geç evre hastalarında ekspresyon azalışı olanların oranı (%66,67) erken evre hastalara göre (%11,11) daha yüksektir (p:0,014) (Tablo 25,26).

Tablo 25 : Evreye göre metilasyon ve metilasyona bağlı ekspresyon oranları

		Erken evre		Geç evre		p ¹
		n	%	n	%	
Exp-artış	Yok	2	(22,22)	15	(71,43)	0,020
	Var	7	(77,78)	6	(28,57)	
Exp-azalış	Yok	8	(88,89)	7	(33,33)	0,014
	Var	1	(11,11)	14	(66,67)	
Met-tümör	Yok	4	(44,44)	4	(19,05)	0,195
	Var	5	(55,56)	17	(80,95)	
Met-serum	Yok	6	(66,67)	12	(57,14)	0,704
	Var	3	(33,33)	9	(42,86)	
Met-tükürük	Yok	3	(33,33)	7	(33,33)	1,000
	Var	6	(66,67)	14	(66,67)	
Normal dokuda metilasyon	Yok	4	(44,44)	11	(52,38)	1,000
	Var	5	(55,56)	10	(47,62)	

¹Fisher's Exact

Tablo 26 : Evreye göre metilasyon ve metilasyona bağlı ekspresyon değerleri

	Erken evre			Geç evre			p ¹
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
Artış	7,96	±8,59	3,48	731,18	±3340,38	,40	0,032
Azalış	-8,18	±23,56	-,29	-151,36	±437,09	-2,53	0,032
Normal dokuda metilasyon	34,36	±43,03	,15	35,79	±47,08	,00	0,981
Tümör dokusunda metilasyon	31,11	±45,45	,04	50,65	±43,12	49,82	0,163

¹Mann Whitney U Testi

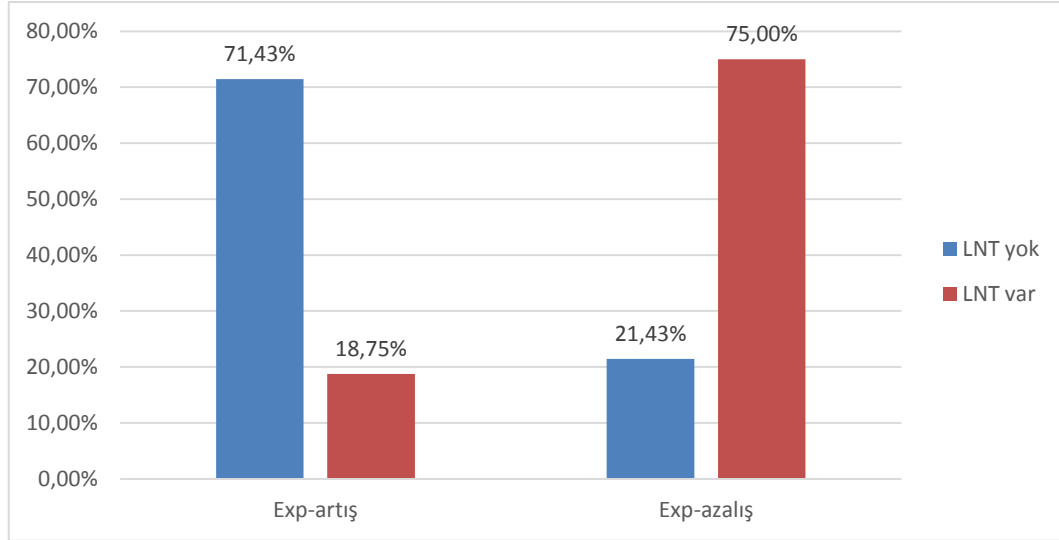
Malign grupta ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığının LNT varlığına göre oranları incelenmiştir. LNT olan malign hastalarda ekspresyon artışı olmayanların oranı (%81,75) LNT olmayan malign hastalara göre (%28,57) daha yüksektir (p:0,0086).

LNT olan malign hastalarda ekspresyon azalışı olanların oranı (%75) LNT olmayan malign hastalara göre (%21,43) daha yüksektir (p:0,0092)(Tablo 27).

Tablo 27 : Malign grupta ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığının LNT varlığına göre oranları

		LNT				p
		Yok		Var		
		n	%	n	%	
Exp-artış	Yok	4	(28,57)	13	(81,25)	0,0086²
	Var	10	(71,43)	3	(18,75)	
Exp-azalış	Yok	11	(78,57)	4	(25,00)	0,0092²
	Var	3	(21,43)	12	(75,00)	
Met-tümör	Yok	6	(42,86)	2	(12,50)	0,101 ²
	Var	8	(57,14)	14	(87,50)	
Met-serum	Yok	9	(64,29)	9	(56,25)	0,654 ¹
	Var	5	(35,71)	7	(43,75)	
Met-tükürük	Yok	4	(28,57)	6	(37,50)	0,605 ¹
	Var	10	(71,43)	10	(62,50)	
Normal dokuda metilasyon	Yok	7	(50,00)	8	(50,00)	1,000 ¹
	Var	7	(50,00)	8	(50,00)	

¹Ki-Kare Testi, ²Fisher's Exact



Şekil 17 : LNT varlığına göre ekspresyon artışı, azalışı, metilasyona bağlı ekspresyon azalışı ve tümörde metilasyon oranları

Malign grupta ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığının metastaz varlığına göre oranlarına bakıldığında; aralarında anlamlı bir ilişki olmadığı gözlenmiştir (Tablo 28).

Tablo 28 : Malign grupta ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığının metastaz varlığına göre oranları

		Metastaz				p
		Yok		Var		
		n	%	n	%	
Exp-artış	Yok	10	(50,00)	7	(70,00)	0,440 ²
	Var	10	(50,00)	3	(30,00)	
Exp-azalış	Yok	11	(55,00)	4	(40,00)	0,700 ²
	Var	9	(45,00)	6	(60,00)	
Met-tümör	Yok	6	(30,00)	2	(20,00)	0,682 ²
	Var	14	(70,00)	8	(80,00)	
Met-serum	Yok	13	(65,00)	5	(50,00)	0,429 ¹
	Var	7	(35,00)	5	(50,00)	
Met-tükürük	Yok	7	(35,00)	3	(30,00)	1,000 ²
	Var	13	(65,00)	7	(70,00)	
Normal dokuda metilasyon	Yok	10	(50,00)	5	(50,00)	1,000 ¹
	Var	10	(50,00)	5	(50,00)	

¹Ki-Kare Testi, ²Fisher's Exact

Premalign grupta patolojik tanılara göre ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığı oranları karşılaştırıldığında anlamlı sonuç bulunamamıştır (Tablo 29).

Tablo 29 : Premalign grupta patolojik tanılara göre ekspresyon değişimi ve metilasyon varlığı oranları

		Patolojik tanı						p ¹
		Displazi		Eroziv liken planus		Liken planus		
		n	%	n	%	n	%	
Exp-artış	Yok	4	(66,67)	8	(80,00)	7	(50,00)	0,317
	Var	2	(33,33)	2	(20,00)	7	(50,00)	
Exp-azalış	Yok	2	(33,33)	3	(30,00)	7	(50,00)	0,574
	Var	4	(66,67)	7	(70,00)	7	(50,00)	
Met-tümör	Yok	0	(,00)	2	(20,00)	3	(21,43)	0,470
	Var	6	(100,00)	8	(80,00)	11	(78,57)	
Met-serum	Yok	6	(100,00)	8	(80,00)	8	(57,14)	0,117
	Var	0	(,00)	2	(20,00)	6	(42,86)	
Met-tükürük	Yok	4	(66,67)	9	(90,00)	11	(78,57)	0,520
	Var	2	(33,33)	1	(10,00)	3	(21,43)	
Normal dokuda metilasyon	Yok	2	(33,33)	4	(40,00)	7	(50,00)	0,762
	Var	4	(66,67)	6	(60,00)	7	(50,00)	

¹Ki-Kare Testi

Premalign grubun tanılarına göre normal dokuda metilasyon, tümör dokusunda metilasyon, ekspresyon artışı ve ekspresyon azalışı değerleri karşılaştırılmıştır. Değerler normal dağılmadığı için ve premalign tanı grubunda ikiden fazla değişken olduğu için karşılaştırma Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır. Karşılaştırma sonucunda anlamlı ilişki bulunamamıştır (Tablo 30).

Tablo 30 : Premalign grubun tanılarına göre normal ve tümör dokuda metilasyon ve ekspresyon değişimi değerleri

	Premalign tanı									p¹
	Liken Planus			Eroziv Liken Planus			Displazi			
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
Normal dokuda metilasyon	37,40	±48,16	2,19	50,77	±47,72	53,85	39,04	±33,00	46,13	0,835
Tümör dokusunda metilasyon	55,19	±49,44	83,10	36,05	±44,34	8,04	52,43	±31,99	50,80	0,516
Artış	151,39	±254,21	4,01	2,49	±6,26	,24	41,35	±92,05	,37	0,397
Azalış	-54,56	±179,04	-1,00	-32,10	±54,40	-4,41	-23,32	±49,00	-3,31	0,397

¹Kruskal Wallis Testi

Malign grupta differansiyasyon derecesine göre normal dokuda metilasyon, tümör dokusunda metilasyon değerleri karşılaştırılmıştır. Değerler normal dağılmadığı için ve differansiyasyon derecesi ikiden fazla olduğu için karşılaştırma Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır. Karşılaştırma sonucunda anlamlı ilişki bulunamamıştır (Tablo 31).

Tablo 31 : Differansiyasyon derecesine göre metilasyon değerleri

	Differansiyasyon derecesi									p ¹
	Az			Orta			İyi			
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
Normal dokuda metilasyon	,00	±	,00	33,36	±46,57	,00	56,71	±36,18	57,70	0,189
Tümör dokusunda metilasyon	,44	±	,44	40,23	±43,76	32,28	84,36	±21,76	91,79	0,186

¹Kruskal Wallis Testi

Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik özellikleri aşağıda verilmiştir (Tablo 32).

Tablo 32 : Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik özellikleri

		n	%
Evre	Evre 1	1	(4,55)
	Evre 2	4	(18,18)
	Evre 3	4	(18,18)
	Evre 4	13	(59,09)
LNT	Yok	8	(36,36)
	Var	14	(63,64)

Sigara	Yok	8	(36,36)
	Var	14	(63,64)
Alkol	Yok	21	(95,45)
	Var	1	(4,55)
Metastaz	Yok	14	(63,64)
	Var	8	(36,36)
Differansiyasyon derecesi	Az	1	(4,55)
	Orta	17	(77,27)
	İyi	4	(18,18)
Nüks	Yok	17	(77,27)
	Var	5	(22,73)

Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerin ekspresyon artışı ile karşılaştırılmıştır. Buna göre artış olmayan hastalarda LNT ve sigara oranı (%80,00) artış olan hastalara göre (%28,57) daha yüksektir, bu değer istatistiki olarak anlamlılığa yakın bulunmuştur (p:0,052)(Tablo 33).

Tablo 33 : Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon artışı ile karşılaştırılması

		Artış				p
		Yok		Var		
		n	%	n	%	
Evre	Evre 1	1	(6,67)	0	(,00)	0,217
	Evre 2	1	(6,67)	3	(42,86)	
	Evre 3	3	(20,00)	1	(14,29)	
	Evre 4	10	(66,67)	3	(42,86)	
LNT	Yok	3	(20,00)	5	(71,43)	0,052 ²
	Var	12	(80,00)	2	(28,57)	
Sigara	Yok	3	(20,00)	5	(71,43)	0,052 ²
	Var	12	(80,00)	2	(28,57)	
Alkol	Yok	14	(93,33)	7	(100,00)	1,000 ²
	Var	1	(6,67)	0	(,00)	
Metastaz	Yok	9	(60,00)	5	(71,43)	1,000 ²
	Var	6	(40,00)	2	(28,57)	
Differansiyasyon derecesi	Az	1	(6,67)	0	(,00)	0,108
	Orta	13	(86,67)	4	(57,14)	
	İyi	1	(6,67)	3	(42,86)	
Nüks	Yok	10	(66,67)	7	(100,00)	0,134 ²
	Var	5	(33,33)	0	(,00)	

¹Ki-Kare Testi, ²Fisher's Exact

Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon azalışı ile karşılaştırılmıştır. Ekspresyon azalışı olan hastalarda LNT varlığı oranı (%84,62) ekspresyon azalışı olmayan hastalara göre (%33,33) daha yüksektir (p:0,026). Ekspresyon azalışı olan hastalarda Differansiyasyon derecesi orta olanların oranı (%92,31) ekspresyon azalışı olmayan hastalara göre (%55,56) daha yüksektir (p:0,025)(Tablo 34).

Tablo 34 : Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon azalışı ile karşılaştırılması

		Azalış				p ¹
		Yok		Var		
		n	%	n	%	
Evre	Evre 1	0	(,00)	1	(7,69)	0,059
	Evre 2	4	(44,44)	0	(,00)	
	Evre 3	1	(11,11)	3	(23,08)	
	Evre 4	4	(44,44)	9	(69,23)	
LNT	Yok	6	(66,67)	2	(15,38)	0,026²
	Var	3	(33,33)	11	(84,62)	
Sigara	Yok	5	(55,56)	3	(23,08)	0,187 ²
	Var	4	(44,44)	10	(76,92)	
Alkol	Yok	9	(100,00)	12	(92,31)	1,000 ²
	Var	0	(,00)	1	(7,69)	
Metastaz	Yok	6	(66,67)	8	(61,54)	1,000 ²
	Var	3	(33,33)	5	(38,46)	
Differansiyasyon derecesi	Az	0	(,00)	1	(7,69)	0,025
	Orta	5	(55,56)	12	(92,31)	
	İyi	4	(44,44)	0	(,00)	
Nüks	Yok	7	(77,78)	10	(76,92)	1,000 ²
	Var	2	(22,22)	3	(23,08)	

¹Ki-Kare Testi, ²Fisher's Exact

Tümör dokusunda metilasyon olan premalign hastaların klinik özellikleri aşağıda verilmiştir (Tablo 35).

Tablo 35 : Tümör dokusunda metilasyon olan premalign hastaların klinik özellikleri

		n	%
Premalign tanı	Liken Planus	11	(44,00)
	Eroziv Liken Planus	8	(32,00)
	Displazi	6	(24,00)
Sigara	Yok	12	(48,00)
	Var	13	(52,00)
Alkol	Yok	19	(76,00)
	Var	6	(24,00)

Tümör dokusunda metilasyon olan premalign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon artışı ve azalışı ile karşılaştırılması sonucunda anlamlı bir ilişki olmadığı gözlenmiştir (Tablo 36,37).

Tablo 36 : Tümör dokusunda metilasyon olan premalign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon artışı ile karşılaştırılması

		Artış				p
		Yok		Var		
		n	%	n	%	
Premalign tanı	Liken Planus	5	(33,33)	6	(60,00)	0,400
	Eroziv Liken Planus	6	(40,00)	2	(20,00)	
	Displazi	4	(26,67)	2	(20,00)	
Sigara	Yok	7	(46,67)	5	(50,00)	0,870
	Var	8	(53,33)	5	(50,00)	
Alkol	Yok	11	(73,33)	8	(80,00)	0,702
	Var	4	(26,67)	2	(20,00)	

¹Ki-Kare Testi

Tablo 37 : Tümör dokusunda metilasyon olan premalign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon azalışı ile karşılaştırılması

		Azalış				p
		Yok		Var		
		n	%	n	%	
Premalign tanı	Liken Planus	6	(54,55)	5	(35,71)	0,634
	Eroziv Liken Planus	3	(27,27)	5	(35,71)	
	Displazi	2	(18,18)	4	(28,57)	
Sigara	Yok	6	(54,55)	6	(42,86)	0,561
	Var	5	(45,45)	8	(57,14)	
Alkol	Yok	9	(81,82)	10	(71,43)	0,546
	Var	2	(18,18)	4	(28,57)	

¹Ki-Kare Testi

Tümör ve tükürükte metilasyon olan malign hastaların klinik özellikleri aşağıda verilmiştir (Tablo 38).

Tablo 38 : Tümör ve tükürükte metilasyon olan malign hastaların klinik özellikleri

		n	%
Evre	Evre 1	0	(,00)
	Evre 2	3	(20,00)
	Evre 3	4	(26,67)
	Evre 4	8	(53,33)
LNT	Yok	6	(40,00)
	Var	9	(60,00)
Sigara	Yok	6	(40,00)
	Var	9	(60,00)
Alkol	Yok	14	(93,33)
	Var	1	(6,67)
Metastaz	Yok	9	(60,00)
	Var	6	(40,00)
Differansiyasyon derecesi	Az	0	(,00)
	Orta	12	(80,00)
	İyi	3	(20,00)
Nüks	Yok	10	(66,67)
	Var	5	(33,33)

Tümör ve tükürükte metilasyon olan malign hastaların klinik özellikleri ekspresyon artışı ile karşılaştırılmıştır. artış olmayan hastalarda LNT ve sigara oranı (%81,82) artış olan hastalara göre (%0,00) daha yüksektir (p:0,011)(Tablo 39).

Tablo 39 : Tümör ve tükürükte metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon artışı ile karşılaştırılması

		Artış				p
		Yok		Var		
		n	%	n	%	
Evre	Evre 1	0	(,00)	0	(,00)	0,194 ¹
	Evre 2	1	(9,09)	2	(50,00)	
	Evre 3	3	(27,27)	1	(25,00)	
	Evre 4	7	(63,64)	1	(25,00)	
LNT	Yok	2	(18,18)	4	(100,00)	0,011²
	Var	9	(81,82)	0	(,00)	
Sigara	Yok	2	(18,18)	4	(100,00)	0,011²
	Var	9	(81,82)	0	(,00)	

Alkol	Yok	10	(90,91)	4	(100,00)	1,000 ²
	Var	1	(9,09)	0	(,00)	
Metastaz	Yok	6	(54,55)	3	(75,00)	0,605 ²
	Var	5	(45,45)	1	(25,00)	
Differansiyasyon derecesi	Az	0	(,00)	0	(,00)	0,080 ¹
	Orta	10	(90,91)	2	(50,00)	
	İyi	1	(9,09)	2	(50,00)	
Nüks	Yok	6	(54,55)	4	(100,00)	0,231 ²
	Var	5	(45,45)	0	(,00)	

¹Ki-Kare Testi, ²Fisher's Exact

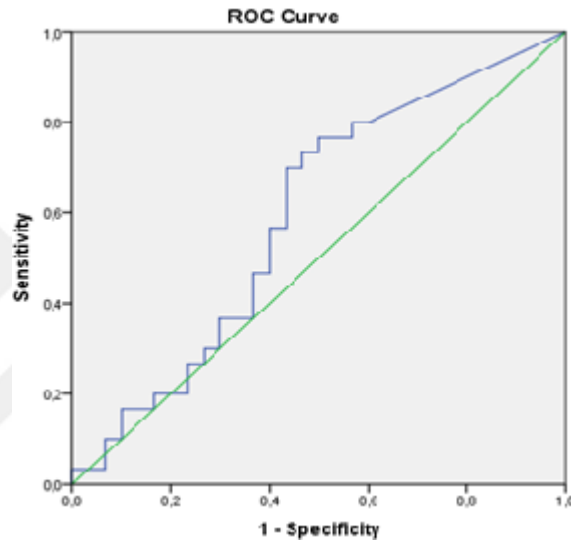
Tümör ve tükürükte metilasyon olan malign hastaların klinik özellikleri ekspresyon azalışı ile karşılaştırılmıştır. Azalış olan hastalarda LNT oranı (%88,89) azalış olmayan hastalara göre (%16,67) daha yüksektir (p:0,011). Azalış olan hastalarda differansiyasyon derecesinin orta olma oranı (%100) azalış olmayan hastalara göre (%50) daha yüksektir (p:0,018)(Tablo 40).

Tablo 40 : Tümör ve tükürükte metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon azalışı ile karşılaştırılması

		Azalış				p
		Yok		Var		
		n	%	n	%	
Evre	Evre 1	0	(,00)	0	(,00)	0,060 ¹
	Evre 2	3	(50,00)	0	(,00)	
	Evre 3	1	(16,67)	3	(33,33)	
	Evre 4	2	(33,33)	6	(66,67)	
LNT	Yok	5	(83,33)	1	(11,11)	0,011 ²
	Var	1	(16,67)	8	(88,89)	
Sigara	Yok	4	(66,67)	2	(22,22)	0,136 ²
	Var	2	(33,33)	7	(77,78)	
Alkol	Yok	6	(100,00)	8	(88,89)	1,000 ²
	Var	0	(,00)	1	(11,11)	
Metastaz	Yok	4	(66,67)	5	(55,56)	1,000 ²
	Var	2	(33,33)	4	(44,44)	
Differansiyasyon derecesi	Az	0	(,00)	0	(,00)	0,018 ¹
	Orta	3	(50,00)	9	(100,00)	
	İyi	3	(50,00)	0	(,00)	
Nüks	Yok	4	(66,67)	6	(66,67)	1,000 ²
	Var	2	(33,33)	3	(33,33)	

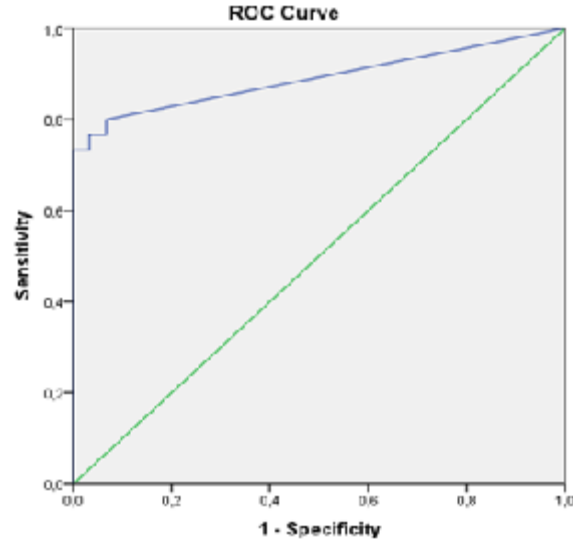
¹Ki-Kare Testi, ²Fisher's Exact

Malign grubun tümör dokuları ile eşlenik normal dokularının karşılaştırılması sonucunda *PAX1* geninin promoter bölgesinde metilasyon görülmesi %73,33 duyarlılık %36,67 özgüllük ile özgüllüğü ve duyarlılığı düşük bir test olduğu görülmektedir. Standart curve area değerinin 0,593 yani 1'den uzak olduğu görülmektedir. Standart curve eğrisi koordinatlarının yer aldığı duyarlılık ve özgüllük tablodaki değerler ile metilasyon değerleri karşılaştırıldığında eşik değeri (cut-off point) 11,42 olarak belirlenebilir (Şekil 18).



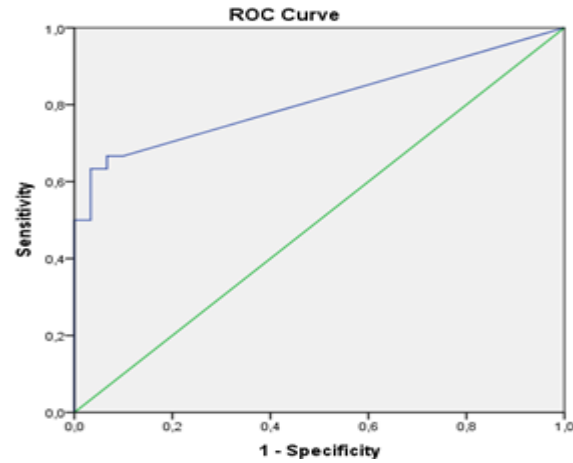
Şekil 18 : Malign grup tümör dokusu ile eşlenik normal dokusu arasındaki *PAX1* metilasyonunu ROC analizi

Malign grup tümör dokusu ile sağlıklı grup normal mukozasındaki *PAX1* geninin metilasyon seviyeleri ROC analizi ile incelendiğinde, *PAX1* geninin promoter bölgesinde meydana gelen metilasyonun OSCC hastalarının dokularında tanı konulmasında %73,33 duyarlılık ve %93,33 özgüllük ile özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek bir test olduğu görülmektedir. Tablodan anlaşılabacağı üzere eğri altında kalan alan (AUC) 0,890'dur. AUC değerinin 0,890 yani 1'e yakın olduğu görülmektedir. Duyarlılık ve özgüllük değerlerinin en yüksek olduğu değer olan 3,38 eşik değeri (cut-off point) belirlenebilir (Şekil 19).



Şekil 19 : Malign grup tümör dokusu ile sağlıklı grup normal dokusu *PAX1* metilasyonunun ROC analizi

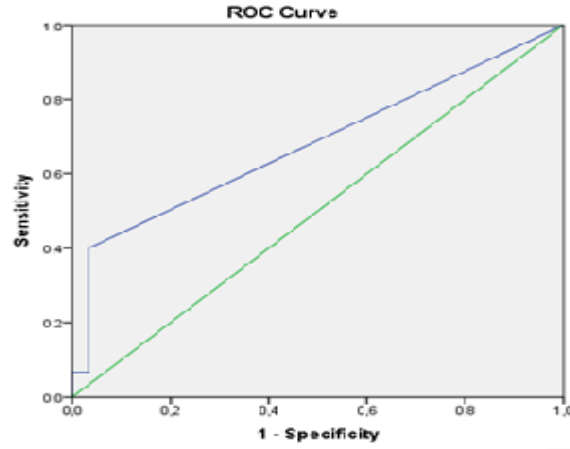
Malign grup ile sağlıklı grup tükürük örneklerindeki *PAX1* metilasyon seviyeleri incelendiğinde, *PAX1* geninin promoter bölgesinde gözlenen metilasyonun OSCC hastalarının tükürük örneklerinde tespiti için %66,67 duyarlılık ve %90,00 özgüllük ile özgüllüğü yüksek bir test olduğu görülmektedir. Standart curve Area tablosundan anlaşılaçağı üzere AUC 0,810'dur.. Tabloya göre eşik değeri tükürük için 4,42 olarak belirlenebilir (Şekil 20).



Şekil 20 : Malign grup ile sağlıklı grup tükürük örneklerindeki *PAX1* metilasyonunun ROC analizi

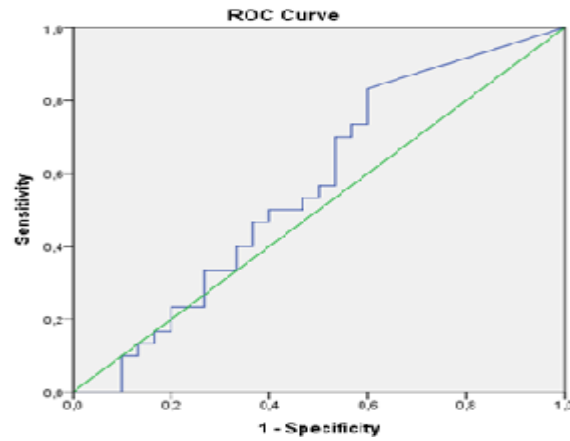
Malign grup ile sağlıklı grup serum örneklerindeki *PAX1* metilasyonu incelendiğinde, *PAX1* geninin promoter bölgesinde gözlenen metilasyonun OSCC hastaların serum örneklerinde tespiti için %33,3 duyarlılık ve %96,67 özgüllük ile

duyarlılığı yüksek bir test olmadığı görülmüştür. Tablodan anlaşılaacağı üzere AUC 0,679'dur. Tabloya göre eşik değeri tükürük için 5,81 olarak belirlenebilir (Şekil 21).



Şekil 21 : Malign grup ile sağlıklı grup serum örneklerindeki *PAX1* metilasyonunun ROC analizi

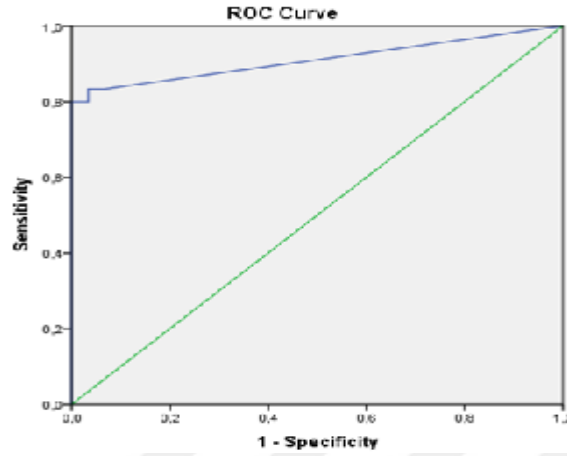
Premalign grup tümör dokuları ile eşlenik normal dokularının karşılaştırılması sonucunda *PAX1* geninin promoter bölgesinde metilasyon görülmesi %83,3 duyarlılık %40,00 özgüllük ile özgüllüğü düşük bir test olduğu görülmektedir. Standart curve area değerinin 0,593 yani 1'den uzak olduğu görülmektedir. Standart curve eğrisi koordinatlarının yer aldığı duyarlılık ve özgüllük tablodaki değerler ile metilasyon değerleri karşılaştırıldığında eşik değeri 11,71 olarak belirlenebilir (Şekil 22).



Şekil 22 : Premalign grup tümör dokusu ile eşlenik normal dokusundaki *PAX1* metilasyon seviyelerinin ROC analizi

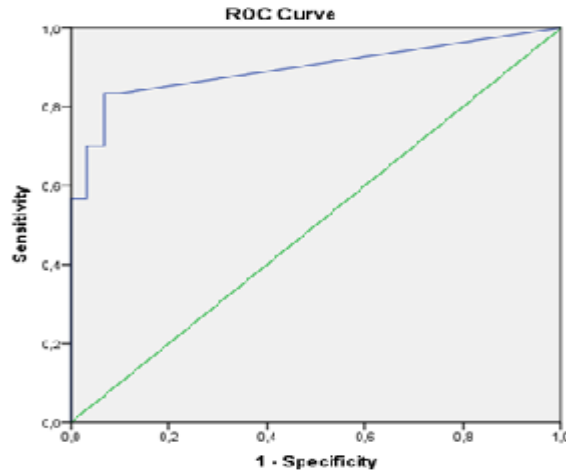
Premalign grup tümör dokusu ile sağlıklı grup normal dokusundaki *PAX1* metilasyonu incelendiğinde, *PAX1* geninin promoter bölgesinde gözlenen metilasyonun OPML hastaların doku örneklerinde tespiti için %83,33 duyarlılık ve %93,33 özgüllük ile yüksek duyarlılığı ve özgüllüğe sahip bir test olduğu görülmektedir. Tablodan

anlaşılacağı üzere AUC 0,910'dur. Duyarlılık ve özgüllük değerlerinin en yüksek olduğu değer olan 4,86 eşik değeri olarak belirlenebilir (Şekil 23)



Şekil 23 : Premalign grup tümör dokusu ile sağlıklı grup normal dokusundaki *PAX1* metilasyonunun ROC analizi

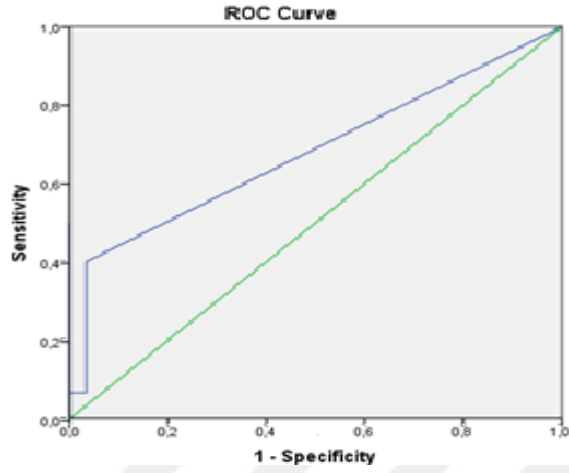
Premalign grup ile sağlıklı grup tükürük örneklerindeki *PAX1* metilasyonu incelendiğinde, *PAX1* geninin promoter bölgesinde gözlenen metilasyonun OPML hastalarının tükürük örneklerinde tespiti için %20,00 duyarlılık ve %90,00 özgüllük ile duyarlılığı yüksek bir test olmadığı görülmektedir. Tablodan anlaşılacağı üzere AUC 0,895'dir. Tabloya göre eşik değeri tükürük için 6,87 olarak belirlenebilir (Şekil 24).



Şekil 24 : Premalign grup ile sağlıklı grup tükürük örneklerinin *PAX1* metilasyonunun ROC analizi

Premalign grup ile sağlıklı grup serum örneklerindeki *PAX1* metilasyonu incelendiğinde, *PAX1* geninin promoter bölgesinde gözlenen metilasyonun OSCC hastaların serum örneklerinde tespiti için %30,00 duyarlılık ve %96,67 özgüllük ile

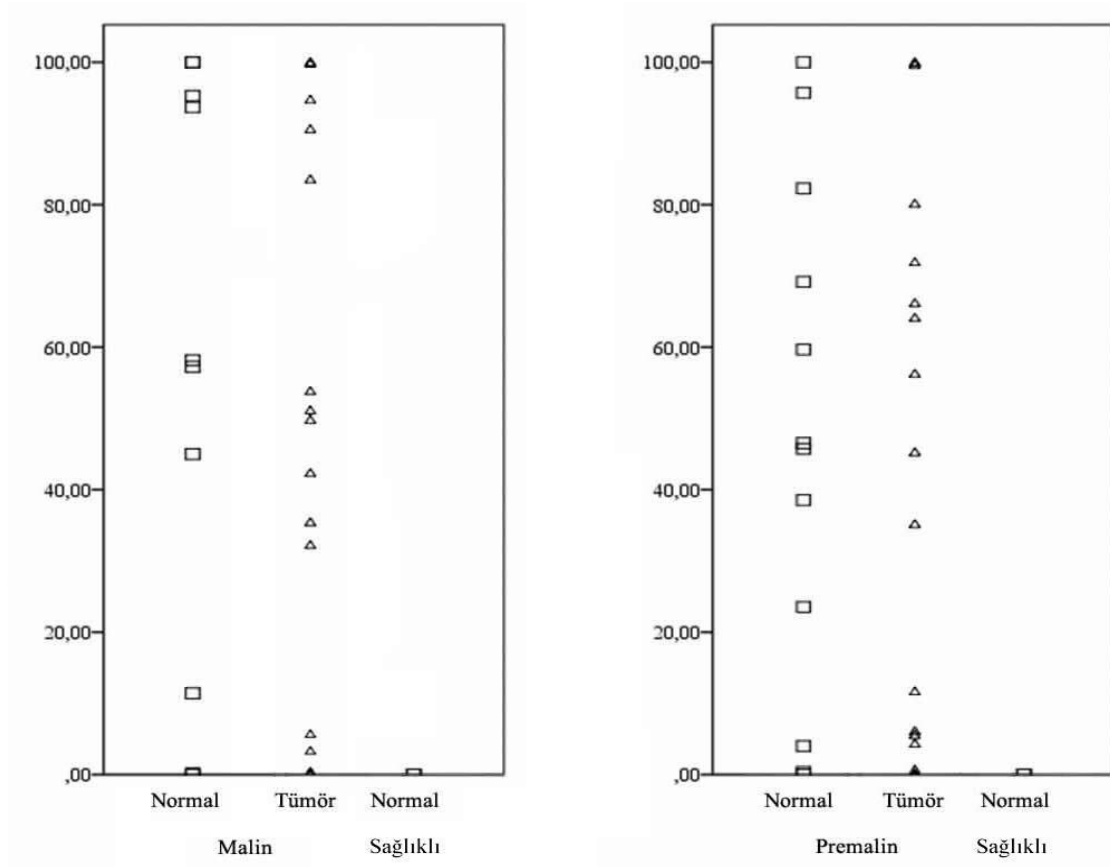
duyarlılığı yüksek bir test olmadığı görülmektedir. Tablodan anlaşılacağı üzere AUC 0,679'dur. Tabloya göre eşik değeri tükürük için 17,36 olarak belirlenebilir (Şekil 25).



Şekil 25 :Premalign grup ile Sağlık grup serum örneklerindeki *PAX1* metilasyonunun ROC analizi

Tablo 41: OSCC ve OPML gruplarındaki *PAX1* promoter metilasyonunun özgüllük ve duyarlılık değerleri

X	Tümör vs Eşlenik Normal Doku			Tümör vs Sağlıklı Doku			Tükürük			Serum		
	Eşik değeri	% Duyarlılık	% Özgüllük	Eşik değeri	% Duyarlılık	% Özgüllük	Eşik Değeri	% Duyarlılık	% Özgüllük	Eşik değeri	% Duyarlılık	% Özgüllük
OSCC	11,42	73,33	36,67	3,38	73,33	93,33	4,42	66,67	90,00	5,81	33,3	96,67
OPML	11,71	83,33	40,00	4,86	83,33	93,33	6,87	20,00	90,00	17,86	30,00	96,67



Şekil 26 : Malign ve premalign grupta normal dokuda ve tümör dokuda metilasyon seviyeleri

5. TARTIŞMA

Oral kanser, faringeal bölge de dahil edildiğinde dünyadaki en yaygın altıncı kanserdir. Yıllık tahmini insidans yaklaşık 600.000 olmakta birlikte, vakaların üçte ikisi gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir. Özellikle Güney ve Güneydoğu Asya'da oral kanser prevalansı yüksektir. Tütün, alkol kullanımı ve tütün benzeri farklı kültürel uygulamalar oral kanser yatkınlığına neden olan önemli risk faktörleridir. Bu tümörlerin mortalite oranları tanıdan sonraki 5 yıl içinde %50'dir ve sigara ve alkol alımı ile ilişkilidir. Oral kanser hastalarının üçte ikisi daha kötü bir prognoz ve daha yüksek radyoterapi ve kemoterapi morbiditesi ile ilişkili olan ileri evrede (evre III-IV) teşhis edilir. Cerrahi tedavinin sıklıkla yutma, konuşma ve fiziksel görünüm üzerinde önemli etkisi vardır. Bu oral kanser hastasının yaşam kalitesini olumsuz bir şekilde etkiler (81). OSCC baş ve boyun bölgesinde en sık görülen neoplastik hastalıktır ve genellikle oral eritroplaki, oral lökoplaki, oral liken planus gibi oral premalign lezyonlardan (OPML) oluşur. OL'nin malign dönüşümü için en sık bildirilen aralık %2-6 arasındadır, OLP için %3,7 ile %1'in altında değişen değerler bildirilmiştir (31,83).

Açıkça görülüyor ki, sigara ve alkol kullanımına maruz kalanlar ile sosyoekonomik düzeyi düşük ve yüksek riskli lezyonları olan hastalar için yüksek riski belirlemek adına gelişmiş ağız kanseri önleme, erken teşhis ve daha iyi tanı ve klinik yönetim araçlarına ihtiyaç vardır (81).

Kanser gelişiminde genetik değişiklikler kadar epigenetik değişiklikler de rol oynamaktadır. Tümör supressör genlerin promoter bölgelerinde bulunan CpG adacıklarında görülen metilasyonun sonucu olarak gen ifadesinin baskılanması karsinogenezde en sık rastlanan epigenetik değişikliktir (9). Birçok kanserde, promoter metilasyonu ile gen susturulması karsinogenezde erken bir olay gibi görünmektedir ve mutasyonlar ve delesyonlarla genlerin yapısal inaktivasyonundan daha sık ortaya çıkabilir. Histolojik olarak, tümörlere ve OPML'ye komşu normal dokular, aday genlerde anormal metilasyon paternine sahip olabilir. Tümör ve eşlenik dokularda meydana gelen bu epigenetik modifikasyonların oral karsinogenezde erken olaylar olduğu ve erken teşhis için kullanılabileceği düşünülmektedir. OPML'nin klinik ve histolojik özellikleri, takip sırasında OSCC geliştirecek olan hastaları ya da malign dönüşüm riski yüksek hastaları tanımlamak için net bilgiler sağlamamaktadır ve OSCC

veya yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal bu lezyonların tanısı takip sırasında genellikle insizyonel biyopsi ile konur. Bununla birlikte, biyopsi, rahatsızlık yaratabilecek ve hasta tarafından reddedilebilecek bir işlem olması sebebiyle minimal invaziv bir cerrahi yaklaşım gerektirir. Bu sebeple farklı araştırmacılar, son zamanlarda tükürük ve / veya sürüntü örneklerinden başlayan bir gen panelinin metilasyon durumunu analiz ederek OSCC yükünü azaltmak için çeşitli stratejiler önermişlerdir (31, 83).

DNA metilasyonu memelilerin gelişiminde önemli bir rol oynar, ancak anormal metilasyon paternleri, farklı insan kanserleri de dahil çeşitli farklılaşma ile ilişkili hastalıklarla koreledir. OSCC'de bu epigenetik değişimin nispeten yüksek sıklığı göz önüne alındığında, tümör baskılayıcı genlerin oral epitelyal displazinin ortamındaki promoter metilasyonunun araştırılması uygun görünmektedir. Bu nedenle, gen metilasyonunun uygun bir marker olarak tanımlanması, OSCC tespiti için hassas bir yöntem sağlayabilir (15).

Literatüre bakıldığında, Huang ve ark. 2014 yılında 31 oral kavite kanseri ,40 sağlıklı bireyden toplanan materyallerden elde edilen DNA örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada *PAX1* geninin metilasyon seviyelerini incelemişlerdir. Çalışmada kullanılacak örnekler oral kavitenin tüm bölgelerinden oral svab yardımıyla toplanmıştır. Çalışma sonucunda *PAX1* geninin metilasyonunun %87 duyarlılık ve %80 özgüllük ile OSCC tespiti için umut verici bir yöntem olabileceğini göstermişlerdir (141). 2014 yılında Guerrero-Preston ve ark. Baş ve boyun kanserinde inaktive olan tümör baskılayıcı genler üzerine yaptıkları çalışmada 108 HNSCC hastasını incelemişlerdir. Çalışmaya sağlıklı grup olarak 35 uvulopalatofarengoplasti operasyonu yapılmış hastalardan operasyon sırasında toplanan doku dahil edilmiştir. DNA örnekleri operasyon sırasında eksize edilen tümör dokusundan elde edilmiştir. Bu çalışmada oral kavite ve orofarenks tümörlerinin en yüksek sıklıkta metilasyon görülen tümörler olduğu ve *PAX1* geninin en sık metilasyon gösteren ve aşağı yönlü regüle olan gen olduğu bildirilmiştir. Prevalans kohort grubunda 76 HNSCC vakasının %68'inde *PAX1* metilasyonu gösterilmiştir. Bunun yanında araştırma kohort grubunda tütün ürünleri kullanan hastaların %71'inde *PAX1* metilasyonuna rastlanmışken, tütün ürünleri kullanmayan hastaların %33'ünde *PAX1* metilasyonuna rastlanmıştır. Ayrıca HPV pozitif tümörlerin hiçbirinde *PAX1* metilasyonu görülmezken HPV negatif tümörlerin

tamamında *PAX1* metilasyonuna rastlanmıştır. Huang ve ark. yaptıkları çalışmaya benzer şekilde ROC eğrisi analiz sonucu *PAX1*'e %68 duyarlılık ve %90 özgüllük değerleri ortaya konmuştur (39).

Morandi ve ark. 2017 yılında *PAX1*'in de aralarında bulunduğu 13 gen metilasyonunu incelemişlerdir. Çalışmaya toplam 28 OSCC, 1 sarkomatoid özellik gösteren OSCC, 6 yüksek seviye intraepitelyal sküamöz lezyon ve bu lezyonların karşı tarafından alonan 35 sağlıklı doku ile 65 sağlıklı birey katılmıştır. Ayrıca 20 normal donör, bir oral fibroma, 14 oral liken planus (OLP), üç proliferatif verrüköz lökoplaki ve iki OSCC'den oluşan bağımsız bir kohort (doğrulama veri seti) değerlendirilmiştir. DNA örnekleri oral fırça yardımıyla oral kaviteden toplanan dokulardan elde edilmiştir. Bu çalışmada *PAX1* geninin OSCC'de yüksek oranda hipermetilasyon gösterdiği belirtilmiştir (81).

Jim Huang ve ark. 2017 yılında yaptıkları çalışmada özofageal skuamöz hücreli karsinom (ÖSHK) hastalarında *PAX1* metilasyonunu incelemişlerdir. 14 ÖSHK hastasından operasyon sırasında toplanan 3-5 arası doku örneği ve tümörün 2cm yanından alınan malign dönüşüm gerçekleşmemiş doku örnekleri kullanılmıştır. Deney sonucunda *PAX1* geninin malign dokuda %100 metilasyon gösterirken, tümör çevresi dokuda %21.4 metilasyon gözlenmiştir. *PAX1* metilasyonunu tanı için %100 duyarlılık ve %78,6 özgüllük değeri bildirilmiştir. Ek olarak Kanseri Genom Atlası verileri kullanılarak yapılan doğrulamada hastalardan toplanan 187 malign doku örneğinde *PAX1* metilasyonu (%80.7), tümör çevresi alandan alınan 16 doku örneğindeki metilasyona (%25) oranla oldukça yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte klinik parametrelerin *PAX1* metilasyon seviyesine etkisi incelendiğinde TNM evresi ve LNT varlığının sırasıyla 0.068 ve 0.073 p değeri ile metilasyon seviyesine etkisinin olabileceği bildirilmiştir (43).

Cheng ve ark. 2016 yılında yaptıkları 95 OSCC, 111 OPML (19 homojen ince lökoplaki, 4 homojen kalın lökoplaki, 64 non-homojen lökoplaki, 11 eritrolökoplaki, 13 verrüköz lökoplaki) ve 60 sağlıklı bireyden oluşan grubu incelemişlerdir. Hastaların histopatolojik incelemesi sonucu 94 OSCC, 26 hiperkeratoz, 50 hafif displazi, 26 orta şiddetli displazi ve 6 ağır displazi tanısı konmuştur. OPML grubundaki 5 hasta histopatolojik olarak minimal değişiklikler gösterdiği için veri analizi yapılırken sağlıklı gruba dahil edilmiştir. OLP lezyonu olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Analizler sonucunda *PAX1* metilasyon oranlarının lezyonun ciddiyetine paralel oranda artış gösterdiği gözlenmiştir. Orta dereceli ve ağır displazi görülen lezyonlardaki *PAX1* metilasyonunun (%65), hafif dereceli displazi görülen lezyonlardaki *PAX1* metilasyonuna (%32) oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. *PAX1* geninin metilasyon oranı sırasıyla sağlıklı dokuda %14 , hafif dereceli displazi gösteren lezyonlarda %32, orta dereceli/ağır displazi gösteren lezyonlarda %65 ve OSCC lezyonlarında %100 olarak bildirilmiştir. Orta dereceli displazi ve daha ciddi olan lezyonlar (ODD+) ile malign dönüşüm oranı daha düşük diğer lezyonların (ODD-) ayrımı için *PAX1* metilasyonunun duyarlılığı %72, özgüllüğü %86 olarak bildirilmiştir. Klinik parametrelerin metilasyona etkisi incelendiğinde, areca-nut kullanıcılarında görülen metilasyon oranının (%63) kullanmayanlardaki metilasyon oranından (%26) yüksek olduğu görülmüştür. *PAX1* metilasyon oranı sigara kullanan ve kullanmayan bireyler için sırasıyla %49 ve %31, alkol kullanan ve kullanmayan bireyler için ise sırasıyla %51 ve %36 olarak bulunmuştur. Cerrahi olarak tedavi edilen 45 OSCC hastasının tedavi öncesi, tedavi sonrası 1. ay, 6. Ay ve 12.ayda yapılan incelemede *PAX1* metilasyon oranları sırasıyla %80, %35.7, %27.3 ve %28.6 olarak bulunmuştur. OSCC rekürrensi ile metilasyon seviyeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ancak rekürrens öncesi 3.-4. ayda metilasyon seviyelerinde artış görüldüğü bildirilmiştir (16) .

Cheng ve ark.'ın 2016 yılındaki çalışmaya dahil edilen hasta grubunu kullanarak yaptığı bir diğer çalışmada ilk 100 hasta test grubu olarak belirlenmiş ve bu grup üzerinden bir model oluşturarak ODD+ ile ODD- ayırıcı tanısında kullanmayı amaçlamışlardır. Bu çalışmada diğer çalışmadan farklı olarak DNA örnekleri oral sürüntü ile değil ağız çalkalama ile toplanmıştır. Toplamda 267 hasta üzerinde elde edilen pozitif metilasyon verileri ve metilasyon seviyeleri lezyonların şiddetini analiz etmek için kullanılmıştır. *PAX1* için M-indeks değeri hafif dereceli displazi gösteren lezyonlarda 0.03 iken büyük bir artış ile orta dereceli displazi gösteren lezyonlarda 3.4 olarak bulunmuştur. Buna ek olarak pozitif *PAX1* metilasyon oranı hafif derece displazi gösteren lezyonlarda %24 iken orta dereceli displazi gösteren lezyonlarda %54 olarak bulunmuştur. Bu verilerin malign dönüşüm oranı daha yüksek gösteren ODD+ ile ODD- lezyonları arasında ayırıcı tanı için *PAX1* metilasyon verilerinin kullanılabileceğini bildirilmiştir. Aynı M-indeks değerleri kullanıldığında *PAX1* metilasyon oranları sağlıklı dokuda %28.6, hafif derece displazi gösteren lezyonlarda

%24, orda dereceli displazi gösteren lezyonlarda %55.2 ve OSCC'de %100 olarak bulunmuştur. Klinik parametrelerin metilasyona etkisine bakıldığında pozitif *PAX1* metilasyon oranlarının areca-nut kullanan hastalarda (%54), kullanmayanlara (%28) oranla ve sigara kullanan hastalarda (%45), sigara kullanmayan hastalara (%28) oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda areca-nut kullanımı ile sigara kullanımının, areca-nut kullanımı ile alkol kullanımının ve tüm 3 klinik parametrenin birlikte olduğu vakaların metilasyon seviyeleri ile anlamlı olarak ilişkili olduğu bildirilmiştir. ROC analizi sonucu *PAX1* geninin ODD+ ile ODD- arasında ayırıcı tanıda kullanımının %64 duyarlılık ve %82 özgüllük değerlerine sahip olduğu belirtilmiştir. 2016 yılındaki çalışma ile karşılaştırıldığında ağız çalkalama yöntemiyle toplanan oral epitel hücre örnekleri kullanılarak *PAX1* metilasyon testlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü, oral sürüntü yöntemi ile toplanan oral lezyonlu epitel hücre örnekleri kullanılarak yapılan *PAX1* metilasyon testlerinden biraz daha düşük olsa da (ODD+/ODD- %64 duyarlılık %82 özgüllük), ağız çalkalama yönteminin kabul edilebilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir (17).

Cheng ve ark. 2017 yılında 80 OSCC hastasında yaptıkları bir diğer çalışmada tümör dokusundan ve tümöre en az 2cm mesafedeki komşu dokudan topladıkları dokudan elde ettikleri DNA örneklerinde *PAX1* metilasyonunu incelemişlerdir. OSCC prognozu ve klinik parametrelerin metilasyon üzerine etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada *PAX1* m-indeksi (187,3) ve metilasyon (%76) oranları tümöral alana komşu dokulardaki m-indeksi (11,7) ve oranından (%51) yüksek bulunmuştur. OSCC dokusundan elde edilen DNA örneklerinde yapılan metilasyon analizinde erkek hastalar, sigara alışkanlığı olan hastalar, rekürrens olmayan hastalar ve areca-nut kullanımı olan hastalarda metile *PAX1*'in daha yüksek M-indeksi oranlarına rastlandığı bildirilmiştir. Yaş, tümör lokasyonu, T değeri, N değeri, tümörün klinik evresi, tümörün histopatolojisi ve alkol alışkanlığı ile m-indeksleri arasında herhangi anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Tümöral alana komşu dokulardan elde edilen DNA örneklerinde yapılan metilasyon analizleri sonucunda ise erkek hastalar, negatif LNT, geniş tümör alanı ve areca-nut alışkanlığının metile *PAX1* in yüksek M-indeksi oranları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak yüksek oranda *PAX1* metilasyonu oranının erkek hastalar, dil dışındaki tümör lokasyonu, areca-nut alışkanlığı ve sigara alışkanlığı gibi klinik parametreler ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Elde edilen veriler Kaplan-Meier sağkalım analizi ile değerlendirildiğinde areca-nut kullanımı veya alkol içme alışkanlığı olan

PAX1 metilasyonu pozitif OSCC hastalarında, areca-nut kullanımı veya alkol alışkanlığı olmayan *PAX1* metilasyonu negatif OSCC hastalarından daha düşük 3 yıllık sağkalım verileri gözlenmiştir (18).

Çalışmamızda OSCC ve OPML tanısı konulmuş 30'ar hasta ile ailesinde ve kendisinde malign ve benign tümör öyküsü bulunmayan 29 sağlıklı bireyin doku, serum ve tükürük örneklerinde *PAX1* geninin metilasyon ve ekspresyonu incelendi. Malign hastaların *PAX1* metilasyon oranları incelendiğinde tümör dokuda %73,33 (22/30), normal dokuda %50 (15/30), tükürükte %66,67 (20/30) ve serumda %40 (12/30) şeklinde bulunmuştur. Premalign hastalarda tümör dokuda %83,33 (25/30), normal dokuda %56,67 (17/30), tükürükte %26,67 (8/30) ve serumda %20 (6/30) şeklindedir. Sağlıklı bireylerde normal dokuda %6,8 (2/29), tükürükte %10,3 (3/29) ve serumda %0 (0/29)'dır. Bu değerlere bakıldığında malign ve premalign grupta tümör dokudaki metilasyon oranının normal dokudaki serum ve tükürüğe oranla yüksek olduğu görülmektedir. Bunun yanında metilasyon oranları sağlıklı gruptaki metilasyon oranlarına göre anlamlı derecede yüksektir. Malign grubun tükürükteki metilasyon oranı (%66,67) premalign gruba göre (%20,00) daha yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Bu durum malign dönüşüm gösteren epitel yüzeyinden tükürük içerisine daha fazla sayıda epitel hücresi karışabileceğini göstermektedir. Gruplar arasında ekspresyon değişimi, normal ve tümör dokuda metilasyon varlığı bakımından anlamlı farklar bulunamamıştır. Bu veriler literatürdeki diğer çalışmalarda olduğu gibi tümöral dokuda sağlıklı dokuya oranla ve malign ve premalign gruplarda sağlıklı bireylere oranla daha yüksek seviyelerde *PAX1* metilasyonu görülmesi açısından benzer sonuçlar vermiştir. Çalışmamızda premalign grup tümör dokusunda Cheng ve ark. 2016 ve 2017 yılında yaptıkları çalışmalara oranla premalign grupta daha yüksek *PAX1* metilasyon seviyeleri tespit edilmesine DNA toplama yöntemlerindeki farklılığın sebep olduğu düşünülebilir. Cheng ve ark. 2016 ve 2017 yılında yaptıkları çalışmalarda malign grupta görülen daha yüksek *PAX1* metilasyon oranları ilgili çalışmalarda klinik parametrelerin metilasyon seviyelerine etkisinde de anlamlı olarak ilişkilendirilen ve OSCC etyolojisinde - özellikle Güneydoğu Asya'da çok önemli bir faktör olan areca-nut vb. ürünlerin kullanımının etki ettiği düşünülebilir. Çalışmamıza katılan bireyler arasında areca-nut vb. ürünlerin kullanımı olmaması *PAX1* metilasyon oranları arasındaki farklılıklara etki eden önemli bir farklılık olarak görülmektedir.

Çalışmamızda malign grupta TNM evrelerine göre metilasyon varlığı oranları incelendiğinde geç evre hastalarda (Evre 3 ve 4) tümör dokuda görülen %80,95 oranındaki *PAX1* metilasyonu erken evre hastalarda (Evre 1 ve 2) görülen %55,56'lık metilasyon seviyesine göre daha yüksek olduğu görülmektedir ancak istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,149$). Metilasyon varlığı bulunan malign hastala grubuna bakıldığında tümör dokusunda metilasyon bulunan hastaların %77,72'si (17/22), eşlenik normal dokusunda metilasyon bulunan hastaların %66,67'si (10/15), tükürüğünde metilasyon olan hastaların %70'i (14/20) ve serumda metilasyon olan hastaların %75'i (9/12) geç evre hastasıdır. Bu sonuç Jim Huang ve ark. yaptığı çalışmadaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Buna ek olarak ; evre 3 ve 4'teki ekspresyon azalışı olanların oranının evre 1 ve 2'dekilere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 24). Hastalar erken evre ve geç evre olarak ayrıldığında, erken evre hastalarında ekspresyon artışı olanların oranının (%77,78) geç evre hastalarına göre (%28,57) anlamlı derecede yüksek, geç evre hastalarında ise ekspresyon azalışı olanların oranının (%66,67) erken evre hastalara göre (%11,11) anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlardan yola çıkarak TNM evresi ilerledikçe buna paralel olarak *PAX1* metilasyonu görülme oranının arttığı ve yine ekspresyon azalışında artış görüldüğü söylenebilir.

LNT varlığının metilasyon ve metilasyona bağlı ekspresyon değişimi oranlarına bakıldığında, LNT olan malign hasta grubunun tümör dokusunda görülen %87,50'lik *PAX1* metilasyonu LNT olmayan hastalarda görülen %57'14'lük *PAX1* metilasyonuna göre yüksektir ancak istatistik olarak anlamlı bir fark yoktur ($p=0,101$). Literatüre bakıldığında bu sonuçlar Jim Huang. Ve ark yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızdaki ekspresyon seviyeleri incelendiğinde malign grupta LNT olan malign hastalarda gözlenen ekspresyon azalışı oranı (%75) LNT olmayan hastalara oranla (%21,43) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,0092$). LNT olan hastalardaki ekspresyon artışı oranı (%18,75) ise LNT olmayan hastalardaki ekspresyon artışına (%71,43) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,0086$). Tümör dokusunda metilasyon olan malign hastaların klinik özelliklerinin ekspresyon değişimine etkisine bakıldığında ekspresyon azalışı görülen hastalardaki LNT varlığı oranının (%84,62) ekspresyon azalışı olmayan hastalara göre (%33,33) anlamlı olarak yüksek olduğu ($p:0,025$) görülmüştür. Ekspresyon artışı olmayan malign hastalardaki LNT varlığı (%80,00) artışı olan hastalardaki LNT varlığı oranına (%28,57) göre yüksek

bulunmuştur. Bu değer anlamlılığa yakındır (p:0,052). Tümör ve tükürükte metilasyon görülen malign hasta grubu incelendiğinde ise, ekspresyon azalışı olan hastalarda gözlemlenen LNT varlığı oranının (%88,89) azalış olmayan hastalara göre (%16,67) anlamlı derecede yüksek olduğu (p:0,011) bulunmuştur. Ek olarak ekspresyon artışı olmayan hastalardaki LNT varlığı oranı (%81,82) artış olan hastalardaki LNT varlığı oranından (%0,00) anlamlı derecede yüksektir (p:0,011). Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda LNT varlığının ekspresyon azalışına neden olduğu görülmektedir.

Tümör dokusunda metilasyon gözlenen hastalardaki ekspresyon değişimlerini klinik parametreler ile olan ilişkisi incelendiğinde, ekspresyon artışı olmayan hastalarda sigara kullanımının (%80,00), ekspresyon artışı olan hasta grubuna göre (%28,57) daha yüksek olduğu (p:0,052) görülmüştür. ANOVA sonucuna göre de ekspresyon seviyesindeki azalma ile differansiyasyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlılık görülmüştür (p:0,002). Tümör ve tükürüğünde metilasyon görülen hastalarda ise ekspresyon artışı olmayan hastalarda sigara kullanımı (%81,82) artış olan hastalara göre (%0,00) daha yüksek bulunmuştur (p:0,011). Bu grupta ANOVA ile yapılan analiz sonucu ekspresyon seviyesinde azalma ile differansiyasyon derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (p:0,011).

Premalign grupta histopatolojik tanılara göre tümör dokuda metilasyon seviyelerine bakıldığında displazi hastaların %100'ünde (6/6), eroziv liken planus hastalarının %80'inde (8/10), retiküler liken planus hastalarının %78,57'sinde (11/14) *PAX1* metilasyonuna rastlanmıştır. Bu oran eşlenik normal dokuda sırasıyla %66,67 (4/6), %60 (6/10) ve %50 (7/14) olarak bulunmuştur. Sağlıklı grupta dokuda görülen %6,8'lik *PAX1* metilasyon seviyelerine bakılarak Cheng ve ark. 2016 yılındaki çalışmalarında belirttiği gibi lezyon ciddiyeti arttıkça *PAX1* metilasyon seviyelerini arttığı yorumu yapılabilir. Ancak ilgili veriler ile ilgili istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu durumun toplam ve alt gruplardaki hasta sayılarıyla ilgili olabileceği düşünülebilir.

Literatüre bakıldığında *PAX1* metilasyonunun OSCC tespiti için Huang ve ark. %80 özgüllük, %87 duyarlılık sonuçları elde etmişlerdir. Guerrero ve ark. HNSCC tespiti için *PAX1* metilasyonunun %90 özgüllük, %68 duyarlılık ile Jim Huang ve ark. ise %78,6 özgüllük, %100 duyarlılık ile kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Cheng ve ark. 2016 ve 2017 yılında yaptıkları çalışmalarda ODD+ ve ODD- lezyonların ayrımı

için *PAX1* metilasyonunun sırasıyla %86 özgüllük, %72 duyarlılık ve %82 özgüllük, %64 duyarlılık ile kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda *PAX1* metilasyonu için malign grup tümör dokusu ile sağlıklı grup normal dokusu arasındaki ROC analizi sonucu literatürdeki verilere benzer olarak %73,33 duyarlılık, %93,33 özgüllük değerleri bulunmuştur. Malign grup ve sağlıklı grup tükürük örneklerinde bu değerler %66,67 duyarlılık, %90,00 özgüllük olarak bulunmuştur. Premalign grup tümör dokusu ile sağlıklı grup normal dokusu arasındaki ROC analizi sonucu %83,33 duyarlılık, %93,33 özgüllük değerleri gözlenmiştir. Malign ve premalign grup tümör dokusu ile sağlıklı grup normal dokusu arasındaki analizler sonucu *PAX1* metilasyonun özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek bir test olduğu görülmektedir. Aynı zamanda malign grup ve sağlıklı grup tükürük örneklerinde *PAX1* metilasyonunun OSCC tespiti için özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek bir test olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda elde edilen veriler ışığında literatürdeki diğer çalışmalara paralel olarak sağlıklı bireylerden toplanan doku, serum ve tükürük materyallerinden elde edilen DNA örneklerinde çok düşük oranlarda tespit edilen *PAX1* metilasyonu, oral kavitein malign ve premalign lezyonlarında daha yüksek oranlarda tespit edilmiştir. ROC analizi sonucu özellikle tümör dokusu ve tükürük örneklerinde elde edilen yüksek özgüllük ve duyarlılık değerleri de mukozanın normal işleyişinin dışında meydana gelen değişimler ve olası malignite ihtimaline karşı takip edilmesi gerekebilecek lezyonlar ile ilgili geliştirilecek yeni tanı yöntemlerinde *PAX1* geninin önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Bunun yanı sıra çalışmamızda OSCC prognozunda en önemli etkenlerden olan TNM evresi ilerledikçe buna paralel olarak metilasyon görülme oranının arttığı ve ekspresyon seviyelerinin azaldığı görülmüştür. OSCC prognozunda önemli bir diğer LNT varlığının da ekspresyon azalışını arttırdığı görülmüştür. Bu verilerden yola çıkarak *PAX1* metilasyonu ve ekspresyonun prognostik belirteçler olarak kullanılabileceği söylenebilir. Premalign grupta da istatistiki olarak anlamlılık bulunamamış olmasına karşın OPML lezyonlarının ciddiyeti *PAX1* metilasyonunun aynı oranda artması *PAX1* metilasyonunun prognostik bir belirteç olarak da kullanılabileceği görüşünü desteklemektedir. Bu veriler daha geniş bir popülasyonda çalışılarak istatistiksel olarak anlamlandırılabilir.

KAYNAKLAR

1. **A Muratovska et al**, Paired-Box genes are frequently expressed in cancer and often required for cancer cell survival, *Oncogene* (2003) 22, 7989–7997
2. **A Jewett, C. Head, N.A.Cacalano**; Emerging Mechanisms of Immunosuppression in Oral Cancers *Journal of Dental Research* Vol 85, Issue 12, pp. 1061 - 1073
3. **Alsanafi S, Werth VP**. Squamous cell carcinomas arising in discoid lupus erythematosus scars: unusual occurrence in an African-American and in a sun-protected area. *J Clin Rheumatol*. 2011;17:35-6.
4. **Ashraf, W. et al.**, The epigenetic integrator UHRF1: on the road to become a universal biomarker for cancer. *Oncotarget*, 2017. 8(31): p. 51946-51962.
5. **Auluck A**. Dyskeratosis congenita. Report of a case with literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007;12:E369-73.
6. **Axell T** Occurrence of leukoplakia and some other oral white lesions among 20,333 adult Swedish people. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987;15:46-51.
7. **Axell T, Rundquist L**. Oral lichen planus - a demographic study. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987; 15 (1): 52–56.
8. **Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D**. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. Lyon: IARC Press; 2005.
9. **Becker, K.G., et al.**, C2H2-171: a novel human cDNA representing a developmentally regulated POZ domain/zinc finger protein preferentially expressed in brain. *Int J Dev Neurosci*, 1997. 15(7): p. 891-9.
10. **Bettendorf O, Piffko J, Bankfalvi A**. Prognostic and predictive factors in oral squamous cell cancer: important tools for planning individual therapy? *Oral Oncol* 2004; 40: 110-9.
11. **Bruch JM, Treister NS**. Clinical oral medicine and pathology. 1th ed. New York: Humana Pres; 2010.
12. **Buckingham M, Relaix F**. The role of Pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2007;23:645-73

13. **Castilho RM, Squarize CH, Almeida LO.** Epigenetic Modifications and Head and Neck Cancer: Implications for Tumor Progression and Resistance to Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(7):1506
14. **Cebeci ARI, Gülşahi A, Kamburoglu K, Orhan BK, Oztaş B.** Prevalence and distribution of oral mucosal lesions in an adult Turkish population. *Med Oral*
15. **Chandrika J. Piyathilake, Walter C. Bell, Jennifer Jones, Olga L. Henao, PhD, Douglas C. Heimbürger, Alain Niveleau, and William E. Grizzle;** PATTERN OF NONSPECIFIC (OR GLOBAL) DNA METHYLATION IN ORAL CARCINOGENESIS; *Head Neck*. 2005 December ; 27(12): 1061–1067.
16. **Cheng et al.** Hypermethylated ZNF582 and *PAX1* are effective biomarkers for detection of oral dysplasia and oral cancer, *Oral Oncology* 62 (2016) 34–43
17. **Cheng et al.** Hypermethylated ZNF582 and *PAX1* genes in mouth rinse samples as biomarkers for oral dysplasia and oral cancer detection, *Head & Neck*. 2018;40:355–368.
18. **Cheng et al.** Hypermethylated ZNF582 and *PAX1* genes in oral scrapings collected from cancer-adjacent normal oral mucosal sites are associated with aggressive progression and poor prognosis of oral cancer, *Oral Oncology* 75 (2017) 169–177
19. **Chi N and Epstein JA.** (2002). *Trends Genet.*, 18, 41–47.
20. **Çöloğlu S.** Oral Patoloji ‘Ağız Patolojisi’, İstanbul Yeditepe Üniversitesi Yayını; 2007
21. **Copper MP, Jovanovic A, Nauta JJ, Braakhuis BJ, de Vries N, van der Waal I, et al.** Role of genetic factors in the etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;121:157–60.
22. **Cuffari, L. et al,** Pain complaint as the first symptom of oral cancer: a descriptive study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 2006. 102(1): p. 56-61.
23. **Dean A, Alamillos FJ, Sanchez J, Penalba M, R, Salvatierra J.** Erythroplakia of the oral cavity. An aggressive premalignant lesion: presentation of six case reports, *Med Oral*. 2000 Nov-Dec;5(5):324-330
24. **Demireller A, Serin M, Erkel HŞ, Manavoğlu O, Kurt E.** Tedavi Prensipleri In: Engin K, Erişen L (eds). *Baş-Boyun Kanseri* 1. Baskı Nobel Matbaacılık, İstanbul, 2003; 121-142.

25. **Denis H, Ndlovu MN, Fuks F.** Regulation of mammalian DNA methyltransferases: a route to new mechanisms. *EMBO reports* 2011; 12: 647-56.
26. **Dietrich T, Reichart PA, Scheifele C.** Clinical risk factors of oral leukoplakia in a representative sample of the US population. *Oral Oncol* 2004; 40:158-163.
27. **Edwards PC, Kelsch R.** Oral lichen planus: clinical presentation and management. *J Can Dent Assoc* 2002; 68 (8): 494–499.
28. **Eisen D, Carrozzo M, Bagan Sebastian J-V, Thongprasom K.** Oral lichen planus: clinic features and management. *Oral diseases* 2005; 11: 338-349.
29. **Eisen D.** The clinical features, malignant potential, and systemic associations of oral lichen planus: A study of 723 patients. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 207-14.
30. **El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ;** WHO Classification of Head and Neck Tumours, 4th Edition, Volume 9; IARC Lyon, 2017
31. **Epstein JB. Oral cancer In: Greenberg MS, Glick M.** *Burket's Oral Medicine Diagnosis and Treatment* 10th ed. BC Decker Inc, Ontario, 2003: 194- 234.
32. **Feinberg, A.,** 2004, The Epigenetics of cancer etiology. *Cancer Biology*, 14; 427- 432
33. **Fleskens S. Slootweg P.** Grading systems in head and neck dysplasia: their prognostic value, weaknesses and utility. *Head Neck Oncol.* 2009 May 11;1:11
34. **Gasche JA, Goel A.** Epigenetic mechanisms in oral carcinogenesis. *Future oncology* (London, England). 2012;8(11):1407-1425
35. **Gavarasana S, Susarla MD.** Palatal mucosal changes among reverse smokers in an Indian Village. *Jpn J Cancer Res.* 1989;80:209–11.
36. **Ghom A, Mhaske S** *Textbook of Oral Pathology*, New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd; 2008
37. **Greenberg, M, Glick, M, Ship, J.** *Burket's Oral Medicine.* Hamilton: BC Decker Inc.; 2008.
38. **Guerra MFM, Gias LN, Campo FR, Perez JS.** Marginal and segmental mandibulectomy in patients with oral cancer: a statistical analysis of 106 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61: 1289-96.
39. **Guerrero-Preston et al.** Key tumor suppressor genes inactivated by “greater promoter” methylation and somatic mutations in head and neck cancer, *Epigenetics* 9:7, 1031–1046; July 2014

40. **Gupta PC, Murti PR, Bhonsle RB, Mehta FS, Pindborg JJ.** Effect of cessation of tobacco use on the incidence of oral mucosal lesions in a 10-yr follow-up study of 12,212 users. *Oral Dis* 1995;1:54-8.
41. **Hamed Mortazavi, Maryam Baharvand, Masoumeh Mehdipour;** Oral Potentially Malignant Disorders: An Overview of More than 20 Entities; *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2014 Winter; 8(1): 6–14
42. **Harper JG, Pilcher MF, Szlam S, Lind DS.** Squamous cell carcinoma in an African American with discoid lupus ery-thematosus: a case report and review of the literature. *South Med J* 2010;103:256-9.
43. **Huang et al.** DNA Methylation Status of *PAX1* and *ZNF582* in Esophageal Squamous Cell Carcinoma, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2017, 14, 216
44. **IARC** Global cancer rates could increase by 50% to 15 million by 2020. IARC Press; 2003. Release No. 145.
45. **IARC** IARC Monographs Programme Declares Second-Hand Smoke Carcinogenic To Humans. 2002; IARC Press Release No. 141.
46. **IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans**, Volume 44. Alcohol drinking. International Agency for Research on Cancer. Lyons, France, 1988.
47. **International Agency for Research on Cancer.** IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Tobacco habits other than smoking; betel- quid and areca-nut chewing; and some areca-nut-derived nitrosamines. Vol. 37. Lyon: IARC; 1985. p. 188.
48. **Ismail, SB, Kumar SKS, Zain RB.** Oral lichen planus and lichenoid reactions: etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation. *J Oral Sci* 2007; 49 (2): 89–106.
49. **Jafarey NA, Mahmood Z, Zaidi SH.** Habits and dietary pattern of cases of carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *J Pak Med Assoc* 1977;27:340-3.
50. **Jainkittivong A, Kuvatanasuchati J, Pipattanagovit P, Sinheng W.** Candida in oral lichen planus patients undergoing topical steroid treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104: 61-6.
51. **James PD, Ellis IO.** Malignant epithelial tumors associated with autoimmune sialadenitis. *J Clin Pathol* 1986;39:497-502.

52. **Jeng JH, Chang MC, Hahn LJ.** Role of areca nut in betel quid-associated chemical carcinogenesis: Current awareness and future perspectives. *Oral Oncol* 2001;37:477-92.
53. **Junqueira LC, Carneiro J.** Basic Histology, text and atlas. 11th ed. São Paulo: Graw Hill Medical; 2005
54. **Kayhan KB, Ünür M;** AĞIZ BOŞLUĞUNDA GÖRÜLEN KANSERLER VE SINIFLANDIRILMASI; İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi; 45:1 S 55-63, 2011
55. **Kumar M, Nanavati R, Modi TG, Dobariya C.** Oral cancer: Etiology and risk factors: A review. *J Can Res Ther* 2016;12:458-63
56. **Kwon NH, Kim SY, Kim GM.** A case of metastatic squamous cell carcinoma arising from actinic cheilitis. *Ann Dermatol* 2011;23:101-3.
57. **Kyrgidis, A.; Tzellos, T.G.; Triaridis, S.** Melanoma: Stem cells, sun exposure and hallmarks for carcinogenesis, molecular concepts and future clinical implications. *J. Carcinog.* 2010, 9, doi: 10.4103/1477-3163.62141
58. **Lai, H.C.; Ou, Y.C.; Chen, T.C.; Huang, H.J.; Cheng, Y.M.; Chen, C.H.; Chu, T.Y.; Hsu, S.T.; Liu, C.B.; Hung, Y.C.; et al.** PAX1/SOX1 DNA methylation and cervical neoplasia detection: A Taiwanese Gynecologic Oncology Group (TGOG) study. *Cancer Med.* 2014, 3, 1062–1074.
59. **Laskaris G.** Treatment of Oral Diseases. Thieme Stuttgart-Newyork 2005
60. **Leite ICG, Koifman S.** Survival analysis in a sample of oral cancer patients at a reference hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Oral Oncol* 1998; 34: 347-52.
61. **Lin, H.; Chen, T.C.; Chang, T.C.; Cheng, Y.M.; Chen, C.H.; Chu, T.Y.; Hsu, S.T.; Liu, C.B.; Yeh, L.S.; Wen, K.C.; et al.** Methylated ZNF582 gene as a marker for triage of women with Pap smear reporting low-grade squamous intraepithelial lesions—A Taiwanese Gynecologic Oncology Group (TGOG) study. *Gynecol. Oncol.* 2014, 135, 64–68.
62. **Lingen MW, Kalmar JR, Karrison T, Speight PM** (2008) Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. *Oral Oncol* 44:10–22
63. **Liu W, Shen ZY, Wang LJ, Hu YH, Shen XM, Zhou ZT, Li J.** Malignant potential of oral and labial chronic discoid lu-pus erythematosus: a clinicopathological study of 87 cases. *Histopathology* 2011;59:292-8.

64. **Liu W, Wang YF, Zhou HW, Shi P, Zhou ZT, Tang GY.** Malignant transformation of oral leukoplakia: a retrospective cohort study of 218 Chinese patients. 10: 685, s.l. : BMC Cancer, 2010.
65. **Lo W-L, Kao S-Y, Chi L-Y, Wong Y-K, Chang RC-S.** Outcomes of oral squamous cell carcinoma in Taiwan after surgical therapy: factors affecting survival. J Oral Maxillofac Surg 2003; 61: 751-8.
66. **Longshore SJ, Camisa C.** Detection and management of premalignant oral leukoplakia. Dermatologic Theraphy 2002; 15: 229-235.
67. **Ma D, Dai G, Guo C.** Carcinoma of the lips developing in discoid lupus erythematosus. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi 1999;34:13-5.
68. **Madani M, Berardi T, Stoopler ET;** Anatomic and Examination Considerations of the Oral Cavity; Med Clin North Am. 2014 Nov;98(6):1225-38
69. **Marx RE, Stern D.** Oral and Maxillofacial Pathology: A Rationale for Diagnosis and Treatment. Chicago: Quintessence Pub. Co.; 2003.
70. **Mascolo M, Siano M, Ilardi G, et al.** Epigenetic Disregulation in Oral Cancer. International Journal of Molecular Sciences. 2012;13(2):2331-2353
71. **Massano, J., et al.,** Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. 102(1): p. 67-76.
72. **Maulbecker CC, Gruss P.** The oncogenic potential of Pax genes. The EMBO journal 1993; 12(6): 2361-7.
73. **McCartan BE, Healy CM.** The reported prevalence of oral lichen planus: a review and critique. J Oral Pathol Med 2008; 37 (8): 447–453.
74. **Mehanna HM, Rattay T, Smith J, McConkey CC.** Treatment and follow-up of oral dysplasia—a systematic review and metaanalysis. Head Neck. 2009;31:1600-1609 140
75. **Mehta FS, Jalnawalla PN, Daftary DK, Gupta PC, Pindborg JJ.** Reverse smoking in Andhra Pradesh, India: Variability of clinical and histologic appearances of palatal changes. Int J Oral Surg. 1977;6:75–83.
76. **Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L, Lo Muzio L, Bucci E.** Immune activation and chronic inflammation as the cause of malignancy in oral lichen planus: is there any evidence? Oral Oncol 2004; 40 (2): 120–130.

77. **Mignogna MD, Lo Muzio L, Lo Russo L, Fedele S, Ruoppo E, Bucci E.** Clinical guidelines in early detection of oral squamous cell carcinoma arising in oral lichen planus: a 5-year experience. *Oral Oncol* 2001; 37 (3): 262–267.
78. **Miller CS, Johnstone BM.** Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: A meta-analysis, 1982-1997. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91:622-635.
79. **Molinolo AA, Marsh C, El DM, Gangane N, Jennison K, Hewitt S, Patel V, Seiwert TY, Gutkind JS** (2012) mTOR as a molecular target in HPV-associated oral and cervical squamous carcinomas. *Clin Cancer Res* 18:2558–2568
80. **Moore LD, Le T, Fan G;** DNA methylation and its basic function, *Neuropsychopharmacology*. 2013 Jan;38(1):23-38
81. **Morandi et al.** CpG location and methylation level are crucial factors for the early detection of oral squamous cell carcinoma in brushing samples using bisulfite sequencing of a 13-gene panel, *Clinical Epigenetics* (2017) 9:85
82. **Mumcu G, Cimilli H, Sur H, Hayran O, Atalay T.** Prevalence and distribution of oral lesions: a cross-sectional study in Turkey. *Oral Dis* 2005; 11 (2): 81–87.
83. **Murat GÜLTEKİN Güledal BOZTAŞ;** T.C Sağlık Bakanlığı Kanser İstatistikleri, 2014
84. **Napier, SS, Speight, PM.** Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. *J Oral Pathol Med* 2008; 37 (1): 1–10.
85. **Negri E, Franceschi S, Bosetti C, Levi F, Conti E, Parpinel M, et al.** Selected micronutrients and oral and pharyngeal cancer. *Int J Cancer* 2000;86:122–7.
86. **Neville BW, Damn DD, Allen CM, Bouquot JE.** *Oral & Maxillofacial Pathology*. Saunders, Philadelphia, 2002.
87. **Neville BW.** Update on current trends in oral and maxillofacial pathology. *Head Neck Pathol*. 2007;1(1):75-80.
88. **Neville, B.W. and T.A. Day,** Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J Clin*, 2002. 52(4): p. 195-215.
89. **Nguyen TV, Yueh B.** Weight loss predicts mortality after recurrent oral cavity and oropharyngeal carcinomas. *Cancer* 2002; 95: 553-62.
90. **Organization, World Health.** *Global Health Estimates 2015: Deaths by cause, age, sex, by country and by region, 2000–2015*. Geneva : s.n., 2016.

91. **Ortiz GM, Pierce AM, Wilson DF.** Palatal changes associated with reverse smoking in Filipino women. *Oral Dis.* 1996;2:232–7.
92. **Oygür T.** Ağız Patolojisi Ders Kitabı Ağız Lezyonları ve Temel Patogenetik Mekanizmalar, Ankara Efil Yayınevi; 2010
93. **Öztürk B, Coskun U, Yaman E, Kaya AO, Yıldız R, Benekli M ve ark.** Oral Kavite Kanserlerinde Risk Faktörleri, Premalign Lezyonlar Ve Kemoprevensiyon. *UHOD* 2009; 2: 117-126
94. **P. Krogh, B. Hald, P. Holmstrup;** Possible mycological etiology of oral mucosal cancer: catalytic potential of infecting *Candida albicans* and other yeasts in production of N -nitrosobenzylmethylanine , *Carcinogenesis*, Volume 8, Issue 10, 1 October 1987, Pages 1543–1548
95. **Papadimitrakopoulou VA, Hong WK, Lee JS, Martin JW, Lee JJ, Batsakis JG, Lippman SM** Low-dose isotretinoin versus beta-carotene to prevent oral carcinogenesis: long-term follow-up. 89(3): 257–58, *J Natl Cancer Inst* : s.n., 1997.
96. **Petti S.** Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review.
97. **Piccirillo JF, Lacy PD, Basu A, Spitznagel EL.** Development of a new head and neck cancer-specific comorbidity index. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 1172-9.
98. **Pohl, E., Aykut, A., Beleggia, F., Karaca, E., Durmaz, B., Keupp, K., Arslan, E., Palamar, M., Yigit, G., Ozkinay, F., Wollnik, B.** A hypofunctional *PAX1* mutation causes autosomal recessively inherited otofaciocervical syndrome. *Hum. Genet.* 132: 1311-1320, 2013.
99. **Prado RF, Marrocchio LS, Felipini RC.** Oral lichen planus versus oral lichenoid reactions: Difficulties in the diagnosis. *Indian J Dent Res* 2009; 20; 361-364
100. **Rahima B, Shingaki S, Nagata M, Saito C.** Prognostic significance of perineural invasion in oral and oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97: 423-31
101. **Ray JG, Ranganathan K and Chattopadhyay A:** Malignant transformation of oral submucous fibrosis: overview of histopathological aspects. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 122: 200-209, 2016 143
102. **Ray JG, Swain N, Ghosh R, Richa, Pattanayak Mohanty S.** Dyskeratosis congenita with malignant transformation. *BMJ Case Rep* 2011;2011. DOI: 10.1136/bcr.03.2010.2848.

103. **R Acay, Rezende N, Fontes A, Aburad A, Nunes F, Sousa S.** Human papillomavirus as a risk factor in oral carcinogenesis: a study using in situ hybridization with signal amplification. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 271–274.
104. **Regezi JA, Sciubba J, Jordan RK.** *Oral Pathology. Clinical–Pathologic Correlations.* 4th Ed., Saunders Elsevier Science. St.Louis, Missouri, 2003.
105. **Reibel J.** Prognosis of oral pre-malignant lesions: Significance of clinical, histopathological and molecular biological characteristics. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2003; 14: 47-62.
106. **Reichart PA.** Identification of risk groups for oral precancer and cancer and preventive measures. *Clin Oral Invest* 2001; 5:207–213.
107. **Rodrigo I. et al.** *PAX1* and *Pax9* activate *Bapx1* to induce chondrogenic differentiation in the sclerotome, *Development* 130, 473-482; 2003
108. **Rountree, M.R.; Bachman, K.E.; Herman, J.G.; Baylin, S.B.** DNA methylation, chromatin inheritance, and cancer. *Oncogene* 2001, 20, 3156–3165.
109. **S, Warnakulasuriya** Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *s.l. : Oral Oncol* , (2009), Cilt 45:309–316.
110. **Saintigny, P.; Zhang, L.; Fan, Y.-H.; El-Naggar, A.K.; Papadimitrakopoulou, V.A.; Feng, L.; Lee, J.J.; Kim, E.S.; Hong, W.K.; Mao, L.** Gene expression profiling predicts the development of oral cancer. *Cancer Prev. Res.* 2011, 4, 218–229
111. **Sankaranarayanan R, Mathew B, Varghese C, Sudhakaran PR, Menon V, Jayadeep A, et al.** Chemoprevention of oral leukoplakia with vitamin A and beta carotene: An assessment. *Oral Oncol* 1997;33:231–6.
112. **Sarp JP, Eversole LR, Wysocki GP.** Contemporary oral and maxillofacial pathology. St. Louis: Mosby, 1997, p.156-95.
113. **Sauk JJ, Reynolds MA, Coletta RD.** Pathogenesis and Progression of Oral Cancer. In: Ord RA, Blanchaert RH: (eds). *Oral Cancer The Dentist’s Role in Diagnosis, Management, Rehabilitation, and Prevention.* 1th ed. Quintessence Publishing Co Inc, Chicago, 2000; 9-19.
114. **Sawan D., Mashlah A.;** Evaluation of premalignant and malignant lesions by fluorescent light (VELscope); *J Int Soc Prev Community Dent.* 2015 May-Jun; 5(3): 248–254.

115. **Saxena V, Bhai PP.** Lichen planus in four clinical forms. *IJSS* 2014; 1 (4) :5.
116. **Scully C, Almeida OP, Bagan J, Dios PD, Taylor AM.** Oral Medicine and Pathology at a Glance. Singapore: Wiley-Blackwell; 2010.
117. **Scully C, Field JK, Tanzawa H** Genetic aberrations in oral or head and neck squamous cell carcinoma (SCCHN): 1. Carcinogen metabolism, DNA repair and cell cycle control. *Oral Oncol* 2000;36:256-63.
118. **Scully C, Langdon J, Evans J.** Marathon of eponyms: 26 Zinsser-Engman-Cole syndrome (Dyskeratosis congenita). *Oral Dis* 2012;18:522-3.
119. **Scully, C. and J. Bagan,** Oral squamous cell carcinoma: overview of current understanding of aetiopathogenesis and clinical implications. *Oral diseases*, 2009. 15(6): p. 388-399.
120. **Sinha DN, Gupta PC, Ray C, Singh PK.** Prevalence of smokeless tobacco use among adults in WHO South-East Asia. *Indian J Cancer*. 2012;49(4):342–346. doi: 10.4103/0019-509X.107726.
121. **Sitheeque MA, Samaranayake LP;** Chronic hyperplastic candidosis/candidiasis (candidal leukoplakia); *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14(4):253-67.
122. **Speight PM, Khurram SA, Kujan O;** Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy; *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* , Volume 125 , Issue 6 , 612 – 627 139
123. **Sperandio M, Brown AL, Lock C, et al.** Predictive value of dysplasia grading and DNA ploidy in malignant transformation of oral potentially malignant disorders. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2013;6:822-831 141
124. **Sreenivasan P, Ganesh D, Öhman J, Wallström M, Braz-Silva PH, Giglio D, Kjeller G, Hasséus B,** Potentially Malignant Oral Disorders and Cancer Transformation, *Anticancer Res*. 2018 Jun;38(6):3223-3229 144
125. **Sugerman PB, Savage NW, Zhou X, Walsh LJ, Bigby M.** Oral lichen planus. *Clin Dermatol* 2000; 18 (5): 533–539.
126. **T Sreenivasa Bharath, N Govind Raj Kumar, A Nagaraja, TR Saraswathi, G Suresh Babu, and P Ramanjaneya Raju;** Palatal changes of reverse smokers in a rural coastal Andhra population with review of literature; *J Oral Maxillofac Pathol*. 2015 May-Aug; 19(2): 182–187.

127. **Talamini R, Franceschi S, Bara S, La Vecchia C.** The role of alcohol in oral and pharyngeal cancer in non-smokers and tobacco in non-drinkers. *Int J Cancer* 1990;46(abs):391-393
128. **Ünür M, Onur Ö.D.** Ağız Hastalıklarının Tanı ve Tedavisi, Quintessence Yayıncılık, 2008
129. **van der Waal I, Axéll T.** Oral leukoplakia: a proposal for uniform reporting. *Oral Oncol* 2002; 38: 521–526.
130. **van der Waal I,** Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management, *Oral Oncol.* 2009 Apr-May;45(4-5):317-23
131. **Van der Waal I, Schepman KP, van der Meij, Smeele LE.** Oral leukoplakia:a Clinicopathological Review. *Oral Oncol* 1997; 33:291-301.
132. **Warnakulasuriya S, Johnson NW, Van Der Waal, I.** Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa: Potentially malignant disorders. *J Oral Pathol Med* 2007; 36 (10): 575–580.
133. **Warnakulasuriya S, Kovacevic T, Madden PP, et al.** Factors predicting malignant transformation in oral potentially malignant disorders among patients accrued over a 10-year period in South East England. *J Oral Pathol Med.* 2011;40:677-683 142
134. **Warnakulasuriya S, Reibel J, Bouquot J, Dabelsteen E ;** Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement; *J Oral Pathol Med.* 2008 Mar;37(3):127-33
135. **WHO.** World health organization collaborating centre for oral precancerous lesions, Definition of leukoplakia and related lesions; an aid to study precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978 46 (4): 518–539.
136. **Wood NH, Khammissa R, Meyerov R, Lemmer J, Feller L;** Actinic Cheilitis: A Case Report and a Review of the Literature; *Eur J Dent.* 2011 Jan; 5(1): 101–106.
137. **World Health Organization;** World Health Organization International classification of diseases for oncology (ICD-0), Geneva,1990
138. **Wright A, Shear M:** Epithelial dysplasia immediately adjacent to oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol* 1985; 14: 559-64.

139. **Xie P, Zang LQ, Li XK, Shu Q.** An epigenetic view of developmental diseases: new targets, new therapies. *World J Pediat.* 2016; 12(3): 291-297.
140. **Yalçın ED Aktan AM,** Ağız Tabanı ve Orofarenkste Ultrasonografik Anatomi; *Turkiye Klinikleri J Oral Maxillofac Radiol-Special Topics* 2016;2(3) 138
141. **Yung-Kai Huang & Bou-Yu Peng & Chia-Yo Wu & Chien-Tien Su & Hui-Chen Wang & Hung-Cheng Lai;** DNA methylation of *PAX1* as a biomarker for oral squamous cell carcinoma; *Clin Oral Invest* (2014) 18:801–808
142. **Zain RB, Fukano F, Razak IA, Shanmuhasuntharam P, Ikeda N, Rahman ZA.** Risk factors for oral leukoplakia: A comparison of two ethnic groups in Malaysia. Vol. 37. *Oral Oncol.* India: Macmillan; 1999. p. 207-10.
143. **Zohaib Khan, Sheraz Khan, Lara Christianson, Sara Rehman, Obinna Ekwunife, Florence Samkange-Zeeb;** Smokeless tobacco and oral potentially malignant disorders in South Asia: a protocol for a systematic review; *Syst Rev.* 2016; 5(1): 142
144. **Zushi Y, Narisawa-Saito M, Noguchi K, Yoshimatsu Y, Yugawa T, Egawa N, FujitaM, Urade M, Kiyono T** (2011) An in vitro multistep carcinogenesis model for both HPV-positive and -negative human oral squamous cell carcinomas. *Am J Cancer Res* 1:869–881

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı :138

14.12.2016

Konu :Prof.Dr.Gülsüm Ak

Sayın Prof.Dr.Gülsüm AK
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

İlgi: Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalının 29/11/2016 gün ve 430257 sayılı yazısı.

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz 2016/61 dosya nolu "Oral kavitenin malign ve premalign lezyonlarında PAX1 geninin metilasyon ve ekspresyonunun araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 14/12/2016 tarih ve 43 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. Faruk Haznedaroğlu
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik
Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Eki: İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

PATENT HAKKI İZİNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Oral kavitenin malign ve premalign lezyonlarında pax1 geninin metilasyon ve ekspresyonunun incelenmesi

ORJİNALLİK RAPORU

% 12	% 4	% 2	% 10
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 7
2	www.docstoc.com İnternet Kaynağı	% 1
3	dent.ege.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	www.saglikcalisanisagligi.org İnternet Kaynağı	<% 1
5	GÜLER, Cansın and PEYNİRCİOĞLU, Banu Balcı. "DNA Metilasyonu ve Hastalıklarla İlişkisi", Bayt Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın ve Tanıtım, 2016. Yayın	<% 1
6	www.drsertac.com İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Uludag University Öğrenci Ödevi	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Arda	Soyadı	Öztan
Doğ.Yeri	Sakarya	Doğ.Tar.	25.08.1989
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti	TC Kim No	39304737398
Email	ardaoztan@hotmail.com	Tel	05539794748

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez.Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	Halen
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2012
Lisans		
Lise	Sakarya Fen Lisesi	2007

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Diş Hekimi	Özel Flora Ağız Diş Sağlığı Polikliniği	2015-2019
2.	Doktora öğrencisi	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2012-Halen
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	Orta		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
Microsoft Excel	Orta
Microsoft Word	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):