

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra eğer basılacak ise 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



DOKTORA TEZİ

**BAŞ VE BOYUN KANSERİNDE DALLI ZİNCİRLİ AMİNO
ASİT METABOLİZMASININ İNCELENMESİ**

MERVE NUR ATAŞ

**DANIŞMAN
PROF. DR. H.ARZU ERGEN**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2025

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.

MERVE NUR ATAŞ



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam dahil olmak üzere Moleküler Tıp Anabilim Dalı çatısı altına girdiğim günden bu yana bu günlere gelmemi sağlayan ve hiçbir koşulda desteklerini esirgemeyen danışmanım, hocam sayın Prof. Dr. Arzu Ergen'e teşekkür ederim.

Moleküler Tıp Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. İlhan Yaylım başta olmak üzere tüm Moleküler Tıp öğretim üyelerine,

Bu süreçte desteklerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Bedia Çakmakoğlu'na ve her zaman yanımda olan ve beni her sürecimde destekleyen Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi hocam, sayın Prof. Dr. Elif Sinem Bireller'e,

Çalışma sürecinde örnek toplamadaki yardımları için İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Levent Aydemir'e, Dr. Öğr. Üyesi Emine Hande Karagedik'e ve Dr. Saim Pamuk'a,

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde ve şekillendirilmesinde bana verdiği destek ve rehberlik için İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Pediatrik Temel Bilimleri Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Asuman Gedikbaşı'na,

Bu süreçte bana verdikleri destek ve gösterdikleri anlayış için başta yöneticileri olmak üzere Trustlife İlaç Ar-Ge Merkezi Biyoloji ekibine teşekkür ederim.

Her zaman her koşulda yanımda olan ve beni destekleyen Furkan Soytürk'e,

Tüm eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve beni destekleyen ailem; ablam Zeynep Ataş'a, abim Sinan Ataş'a ve her zaman arkamda olduklarını bildiğim ve beni bu günlere getiren annem Şencan Ataş ve babam Yahya Kemal Ataş'a teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2021-38309

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İ.Ü Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Anabilim Dalı, Moleküler Tıp Programında Doktora öğrencisi Merve Nur ATAŞ tarafından Prof. Dr. H. Arzu ERGEN danışmanlığında hazırlanan “Baş Boyun Kanserinde Dallı Zincirli Amino Asit Metabolizmasının İncelenmesi” başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 07/04/2025 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. İlhan Yaylım
İ.Ü Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Bedia Çakmakoglu
İ.Ü Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Ebru Emekli
Marmara Ün. Diş Hek. Fak.
Temel Tıp Bilimleri Bölümü

Jüri

Prof. Dr. E. Sinem Bireller
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Ün.
Eczacılık Fak. Biyokimya AD

Jüri

Prof. Dr. Elif Özkök
İ.Ü Aziz Sancar DETAE
Sinirbilim AD

Jüri- (Danışman oy hakkı olmaksızın)

Prof. Dr. H. Arzu Ergen
İ.Ü Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

BEYAN	ii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Baş Boyun Kanseri	3
2.1.1. Baş Boyun Kanseri Türleri	3
2.1.1.1. Larinks	4
2.1.1.2. Ağız Boşluğu	5
2.1.1.3. Farinks.....	5
2.1.1.4. Tükürük Bezleri	5
2.1.1.5. Nazal Boşluk ve Paranasal Sinüsler	6
2.1.2. Epidemiyoloji.....	6
2.1.3. Risk Faktörleri	7
2.1.3.1. Sigara Kullanımı	7
2.1.3.2. Alkol Tüketimi.....	8
2.1.3.3. HPV Enfeksiyonu	8
2.1.3.4. Diğer Risk Faktörleri	9
2.1.4. Baş Boyun Kanserinde Evreleme	9
2.2. Kanser ve Metabolizma İlişkisi	14
2.2.1. Kanserde Amino Asit Metabolizması.....	17
2.2.2. Kanserde Dallı Zincirli Amino Asit Metabolizması ve Genetik Değişimler....	22
2.2.3. Baş Boyun Kanserinde Metabolik Değişimler	30
2.2.3.1. Baş Boyun Kanserinde Amino Asit Metabolizmasında Genetik Değişimler	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35

3.1. Çalışma Grubu	35
3.2. Kullanılan Malzemeler ve Kitler	35
3.3. Kullanılan Cihazlar	36
3.4. Dokudan Total RNA İzolasyonu	36
3.4.1. RNA'nın Konsantrasyonunun ve Saflığının Ölçülmesi.....	37
3.5. cDNA Sentezi	37
3.6. Real-Time PCR (qPCR) yöntemi ile Gen Ekspresyonu Seviyesinin Değerlendirilmesi	38
3.7. ELISA Yöntemi ile Serumdaki Protein Seviyesinin Değerlendirilmesi.....	40
3.8. İdrar Örneklerinde GC-MS Yöntemi ile Organik Asit Tayini.....	40
3.9. LC-MS/MS Yöntemi ile Serumdaki Amino Asit Düzeylerinin Değerlendirilmesi	41
3.10. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR	43
4.1. Çalışma Grubuna Ait Klinik ve Demografik Veriler	43
4.2. Real-Time PCR Gen Ekspresyonu Analizi Sonuçları	44
4.3. Serumda BCAT1 ve BCKDHA protein seviyesi analizi sonuçları	48
4.4. Serumda Amino Asit Seviyesi Analiz Sonuçları.....	48
5. TARTIŞMA.....	53
KAYNAKLAR.....	58
FORMLAR.....	74
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	77

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Ağız boşluğu kanserleri için primer tümör tanımı	10
Tablo 2.2 Nazofarinks kanserleri için primer tümör tanımı	10
Tablo 2.3: Orofarinks kanserleri için primer tümör tanımı	11
Tablo 2.4: Larinks kanserlerinin primer tümör tanımı	11
Tablo 2.5: Nazal boşluk ve paranazal sinüs kanserleri için primer tümör tanımı	12
Tablo 2.6: Baş boyun kanserlerinde bölgesel lenf nodlarının klinik değerlendirmesi	13
Tablo 2.7: Baş boyun kanserlerinde evreleme.....	13
Tablo 3.1: Kullanılan malzemeler ve kullanım amaçları	35
Tablo 3.2: Kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları	36
Tablo 3.3: cDNA reaksiyon karışımı içerikleri	38
Tablo 3.4: cDNA sentezi reaksiyon sıcaklık ve süreleri	38
Tablo 3.5: Real-Time PCR reaksiyonu karışımı içerikleri	39
Tablo 3.6: Real-Time PCR reaksiyon koşulları.....	39
Tablo 4.1: Çalışma grubuna ait demografik veriler.....	43
Tablo 4.2: Çalışma grubuna ait klinik parametreler	43
Tablo 4.3: Kansere ve sağlıklı dokularda BCAT1 ve BCKDHA gen ekspresyonları kat değişimi	44
Tablo 4.4: BCAT1 ve BCKDHA serum protein düzeyleri	48
Tablo 4.5: BCAT1 ve BCKDHA gen anlatımları artan ve azalan hastalarda BCAT1 ve BCKDHA serum protein düzeyleri	48
Tablo 4.6: Çalışma grubuna ait serum amino asit düzeyleri	49
Tablo 4.7: BCAT 1 ve BCKDHA genlerine ait gen anlatımları artan ve azalan hastalarda kandaki dallı zincirli aminoasit düzeyleri	51
Tablo 4.8: Hastaların idrarındaki organik asit varlığı.....	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Baş boyun kanserlerinin köken aldığı anatomik yapılar ve skuamoz hücreli karsinomun histolojik yapısı (12).....	4
Şekil 2.2: Dünya Sağlık Örgütü'nün baş ve boyun kanseri türlerini içeren her yaştan ve cinsiyetten genel dağılım haritası (23).....	6
Şekil 2.3 Normal hücrede ve HPV ile enfekte olmuş hücrede E6 ve E7 onkoproteinlerinin rolü (37).....	9
Şekil 2.4 Normal hücrelerde ve kanser hücrelerinde glikoz metabolizması (50).....	16
Şekil 2.5: Glutaminin anaplerotik reaksiyonları (62).....	19
Şekil 2.6: Dallı zincirli amino asitlerin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.7: BCAT enzimlerinin katalizlediği reaksiyon.....	23
Şekil 2.8: BCAT1 ve BCAT2 genlerinin kromozomal lokasyonları.....	24
Şekil 2.9: BCKDH enziminin katalizlediği reaksiyon.....	24
Şekil 2.10: BCKDH enzim kompleksini kodlayan genlerin kromozomal lokasyonları.....	25
Şekil 2.11: Dallı zincirli amino asit metabolizması.....	26
Şekil 2.12: Dallı zincirli amino asitlerin mTOR aktivasyonu ve insülin direnci	27
Şekil 4.1 Lenf nodu tutulumuna göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimi grafiği	45
Şekil 4.2: Kanser evresine göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimi grafiği.....	45
Şekil 4.3: Aile öyküsüne göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişim grafiği	46
Şekil 4.4: Sigara kullanımına göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimi grafiği....	47
Şekil 4.5: Tümör diferansiyasyonuna göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimi grafiği.....	47
Şekil 4.6: Bir hastaya ait (A)Lösin, (B) Valin ve (C) İzolösin amino asitlerinin kromatogram görüntüleri	50
Şekil 4.7: Bir hastaya ait amino asitlerin kromatogram görüntüsü	50
Şekil 4.8: İnternal standartlara ait amino asitlerin kromatogram görüntüsü	50
Şekil 4.9: Tümör diferansiyasyonuna göre dallı zincirli amino asit düzeyleri.....	51
Şekil 4.10: Tümör diferansiyasyonuna göre glutamin düzeyleri.....	52

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ALT	: Alanine Amino Transferaz
aPTT	: Activated Partial Thromboplastin Time
Asetil KoA	: Acetyl Koenzim A
AST	: Aspartate Amino Transferase
ATP	: Adenosine Triphosphate
BCAT1	: Branched Chain Transaminase 1
BCATc	: cytosolic Branched Chain Transaminase
BCATm	: mitochondrial Branched Chain Transaminase
BCKDHA	: Branched Chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex A
cDNA	: Complementary Deoxyribonucleic Acid
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
dNTP	: Deoxynucleoside triphosphate
EAAT	: Excitatory Amino Acid Transporter
EBV	: Epstein-Barr Virus
ECM	: Extracellular Matrix
ETZ	: Electron Transport Zinciri
FAD	: Flavinadenin Dinükleotid
GC-MS	: Gas Chromatography Mass Spectrometry
GLUT	: Glucose Transporter
HCl	: Hydrochloric Acid
HPV	: Human Papilloma Virus
HRP	: Horse Radish Peroxidase
IDH	: Isocitrate Dehydrogenase
IRS	: Insulin Receptor Substrate
LAT1	: L-Amino Acid Transporter 1
LC-MS/MS	: Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry
mRNA	: messenger Ribonucleic Acid
mTOR	: mammalian Target of Rapamycin

mTORC1	: mammalian Target of Rapamycin Complex 1
NAD	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
OD	: Optical Density
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PD-L1	: Programmed Death Ligand 1
PET	: Positron Emission Tomography
PTZ	: Parsiyel Tromboplastin Zamanı
qPCR	: Real-Time Polymerase Chain Reaction
RNA	: Ribonucleic Acid
ROS	: Reactive Oxygen Spices
SAM	: S-adenosine Methionine
SLC7A11	: Solute Carrier Family 7 Member 11
SSA	: Sulphosalicylic acid
TCA	: Tricarboxylic Acid Cycle
THF	: Tetrahydrofolate
TNM	: Tumor-Node-Metastasis
UICC	: Union for International Cancer Control

ÖZET

Ataş, M.N (2025). Baş boyun kanserinde dallı zincirli amino asit metabolizmasının incelenmesi İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı. Doktora Tezi. İstanbul.

Baş boyun kanseri, dünyada en sık görülen yedinci kanser türüdür. Skuamoz hücreli karsinoma en yaygın görülen histolojik türdür; sigara kullanımı ve HPV enfeksiyonu en büyük iki risk faktörüdür. Dallı zincirli amino asitler; valin, lösin ve izolösin, protein sentezinin yanında enerji üretiminde önemli katkıları bulunur. Katabolizmalarında BCAT1 ve BCKDHA enzimleri görevlidir. Bu enzimlerin farklı kanser türlerinde, hücre büyümesini ve proliferasyonu destekleyerek kanser gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada, 81 hastadan alınan doku, kan ve idrar örnekleri analiz edilmiştir. Tümör dokularından BCAT1 ve BCKDHA enzimlerinin ekspresyonlarındaki değişimler Real-Time PCR tekniğiyle, enzimlerin serum protein seviyeleri ise ELISA tekniği ile belirlenmiştir. Dallı zincirli amino asitler ve diğer amino asitlerin serumdaki varlığı ve miktarları LC-MS/MS tekniğiyle, hastaların idrarlarındaki organik asitlerin varlığı ise GC-MS tekniği kullanılarak saptanmıştır.

Bulgularımıza göre, hastaların tümör dokularında her iki enzimin de gen ekspresyonlarında artış görülmüş, ancak sadece BCKDHA ekspresyonundaki artış anlamlı düzeydedir ($p=0.001$). Lenf nodu metastazı olmayan hastalarda ve ileri evre tümörlere sahip hastalarda BCAT1 ekspresyon seviyesinin anlamlı düzeyde yükseldiği görülmüştür ($p=0.02$), ($p=0.017$). Aile öyküsü bulunan hastalarda BCKDHA ($p=0.005$) ekspresyon seviyesi anlamlı derecede yükselirken, sigara kullanan hastalarda ise her iki enzimin ekspresyonlarında anlamlı bir artış görülmüştür. ($p=0.020$; $p=0.026$). BCAT1 ekspresyonunda artış görülen hastaların valin düzeylerinde anlamlı şekilde artış olduğu görülmüştür ($p=0.012$). Diğer yandan, serum glutamik asit seviyesinde artış görülürken, sistin seviyesinde bir azalma tespit edilmiştir. İdrar örneklerinden organik asit varlığı analiz edilen 13 hastanın tamamında 3-metilkrotonik asit varlığı saptanmıştır.

Elde ettiğimiz bulgular, dallı zincirli amino asitlerin baş boyun kanserinde potansiyel terapötik hedefler ve klinik uygulamalarda kullanılabilirliğine yönelik yeni bir bakış açısı sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Baş boyun kanseri, Dallı zincirli amino asitler, metabolizma, BCAT1, BCKDHA

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2021-38309

ABSTRACT

Ataş, M.N. (2025). Investigation of Branched Chain Amino Acid Metabolism in Head and Neck Cancer. İstanbul University, Institute of Health Science, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine Department of Molecular Medicine. Doktora Tezi. İstanbul.

Head and neck cancer is the seventh most common cancer worldwide. Squamous cell carcinoma is the most common histological type; smoking and HPV infection are the two major risk factors. Branched-chain amino acids, valine, leucine, and isoleucine significantly contribute to energy production in addition to their role in protein synthesis. BCAT1 and BCKDHA enzymes are responsible for their catabolism. These enzymes are known to contribute to tumorigenesis in many cancer types by supporting cell growth and proliferation.

81 patients analyzed in this study with their tissue, blood and urine samples. Real-time PCR was performed to determine changes in gene expressions of BCAT1 and BCKDHA enzymes in tumor tissues, and ELISA was used to measure the serum protein levels of these enzymes. The presence and quantitation of branched-chain and other amino acids in serum samples were determined using LC-MS/MS, and the presence of organic acids in the patients' urine samples was analyzed using GC-MS.

According to our findings, both enzymes' expression levels were elevated in tumor tissues, but only the increase in BCKDHA was statistically significant. BCAT1 expression levels were found to be significantly increased in patients without lymph node metastasis and patients with advanced tumors. BCKDHA expression was significantly higher in patients who have family history of cancer, and smokers exhibited a significant increase in the expression of both enzymes. Moreover, it was observed that patients with increased BCAT1 expression had significantly increased valine levels. An increased glutamic acid level was observed in serum, while a decrease in cystine levels was detected. The 3-methylcrotonic acid was detected in all 13 patients whose urine samples were analysed for organic acids.

Our findings provide a new perspective on the potential of branched-chain amino acids as therapeutic targets and their possible clinical use in head and neck cancer.

Key Words: Head and neck cancer, Branched chain amino acids, metabolism, BCAT1, BCKDHA

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. TDK-2021-38309

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Baş boyun kanseri, larinks, ağız boşluğu, farinks, tükürük bezleri, nazal ve paranasal sinüsler gibi baş ve boyun bölgesinin farklı dokularından köken alan karmaşık yapıda bir kanser türüdür. Histolojik olarak en yaygın görülen türü tüm vakaların yaklaşık %90'ında görülen skuamoz hücreli karsinomadır (1). Sigara kullanımı ve HPV enfeksiyonu baş boyun kanserinin iki önemli risk faktörüdür. Doğrudan maruziyet sebebiyle her iki risk faktörü de bir takım genetik mutasyonlar sonucu baş boyun bölgesindeki mukozal dokuların kanserleşmesine yol açar (2). Hastalık çoğunlukla tümörün köken aldığı bölgeye göre değişmekle birlikte ileri evrede teşhis edilir. Bu durum erken evrede teşhiste daha yüksek olan sağkalım oranını %40'lara düşürmektedir. Tümörlerin heterojenliği sebebiyle de, standart tedaviler çoğunlukla yetersiz kalmaktadır (3).

Dallı zincirli amino asitler; valin, lösin ve izolosin vücutta sentezlenemeyen, diyetle alımın zorunlu olduğu esansiyel amino asitlerdir. Yaşamın devamlılığı için gerekli olan fizyolojik rollerinin yanı sıra, kanser hücreleri gibi yüksek replikatif aktivite gösteren hücrelerde dallı zincirli amino asitler, katabolizmaları sonucu kanser hücreleri için önemli bir yakıt olan glutamat üretimi, nükleotid sentezi için gerekli olan azotun elde edilmesi ve daha ileri yıkım ürünlerinin TCA döngüsüne katılması ile enerji üretimine katkıda bulunmak gibi önemli rolleri bulunur (4). Dallı zincirli amino asitlerin katabolizmasında görevli başlıca iki enzim bulunur: BCAT1 enzimi, dallı zincirli amino asitlerdeki azotu yapıdan ayırarak glutamat ve her bir amino asitten birer keto asit oluşturur, BCKDHA enzimi ise keto asitlerden geri dönüşümsüz bir reaksiyon ile enerji üretimine katılabilecek metabolik prekürsörler üretiminde görevlidir (5). Farklı kanser türlerinde yapılan güncel çalışmalar, her iki enzimin de kanserin farklı evrelerinde yüksek ekspresyon gösterdiği, dolaşımdaki artmış seviyelerinin biyobelirteç özelliği taşıdığını ortaya koymuştur (6).

Bu sebeple son yıllarda, dallı zincirli amino asitlerin kanserdeki rollerinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalar, bu amino asitlerin katabolizmalarının hücreSEL metabolizmayı ne ölçüde etkilediği ve tümör gelişimini ne şekilde desteklediği üzerine odaklanmıştır. Böylece, dallı zincirli amino asitlerin hücre büyümesi ve proliferasyona etkisi daha iyi anlaşılacak ve tedavi hedefi olabilme potansiyeli aydınlatılacaktır.

Çalışmamızda, baş boyun kanserinde dallı zincirli amino asitlerin katabolizmalarında görevli BCAT1 ve BCKDHA enzimlerinin aktiviteleri tümör dokularındaki gen ekspresyonu ve serum protein düzeyinde belirlenmiştir. Buna ek olarak, dallı zincirli amino asit seviyelerinin dolaşımdaki seviyelerinin değişimi ve bu değişimlerin hastaların klinik seyrine olan etkileri analiz edilmiştir. Bu doğrultuda çalışmamızın amacı, dallı zincirli amino asit metabolizmasının baş boyun kanseri tedavisinde potansiyel bir biyomarker olarak kullanımını değerlendirerek, klinik araştırmalara ve tedavi stratejilerine yeni perspektifler sunmayı hedeflemektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Baş Boyun Kanseri

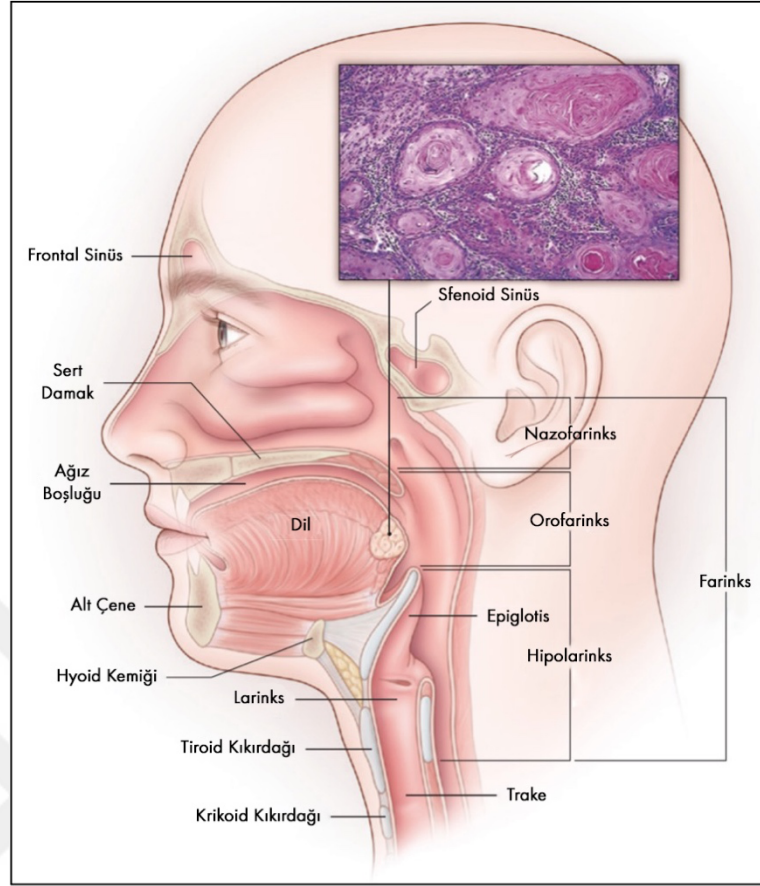
Baş boyun kanserleri, ağız boşluğu, dudak, tükürük bezleri, larinks, orofarinks, hipofarinks ve nazofarinks gibi baş ve boyun bölgelerindeki dokulardan köken alan bir grup maligniteyi içerir (7). Bu kanserler farklı yapılarda bulunsalar da mukozal epitelden köken alan skuamöz hücreli karsinoma en yaygın görülen histolojik yapıdır (8). Çoğunlukla üst solunum yollarındaki aynı tip hücrelerden köken almalarına rağmen baş boyun kanserleri farklı anatomik yapıları içeren ve tümörjenezini yönlendiren farklı moleküler mekanizmalara sahip oldukça heterojen bir kanser türüdür (9).

Baş boyun kanseri hastalarında görülen spesifik belirtiler ses kısıklığı, ağız boşluğunda ülser benzeri yaralar, ağız ve orofarinks bölgesinde ağrı ve boyun bölgesinde kitle şeklinde ortaya çıkmaktadır. Baş boyun kanserleri için etkili tarama stratejileri bulunmaması nedeniyle bu hastalara muayene sırasında tesadüfen çoğunlukla ileri evrede teşhis konulur. Erken evrede teşhiste 5-yıllık genel sağkalım oranı %70-90 iken, ileri evredeki hastalarda bu oran %40'lara gerilemektedir (1).

Tedavi seçeneklerini genel olarak, evre, tümörün yerleşim bölgesi, histolojik yapı, viral enfeksiyon varlığı ve tümörün sahip olduğu moleküler mekanizmalar belirlemektedir. Örneğin, ağız boşluğunda bulunan tümörlere genellikle cerrahi müdahale sonrası evreye bağlı olarak radyasyon veya kemoterapi ile birlikte radyasyon uygulanırken, farinks ve larinks tümörleri kemoterapi ve radyasyon ile tedavi edilir (10). Baş boyun kanserlerinin karmaşık yapısından ötürü sahip olduğu heterojenite sebebiyle, tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde multidisipliner yaklaşımlar gereklidir (11).

2.1.1. Baş Boyun Kanseri Türleri

Baş boyun kanserleri başlıca larinks, ağız boşluğu, orofarinks ve nazofarinks ve hipofarinks kısımlarından oluşan farinks bölgelerindeki mukozal yüzeylerin epitel hücrelerinden köken alan karsinomları içerir (Şekil 2.1). Daha nadir olarak bu kanserler tükürük bezleri, sinüsler ve nazal boşlukta da ortaya çıkabilir. Histolojik olarak yaklaşık %90 oranında epitel kökenli skuamöz hücreli karsinoma görülürken geriye kalan vakalarda adenokarsinomlar, sarkomalar ve lenfomalar şeklinde histolojik yapılar görülür (12).



Şekil 2.1: Baş boyun kanserlerinin köken aldığı anatomik yapılar ve skuamoz hücreli karsinomun histolojik yapısı (12)

2.1.1.1. Larinks

Larinks, konuşma, yutma ve bu işlevler sırasında hava yolunun korunması gibi temel fonksiyonları gerçekleştiren “ses kutusu” olarak adlandırılan yapıdır. Yapısal olarak tiroid, aritenoid ve krikoid olmak üzere üç kıkırdaktan oluşur. Tiroid, larinksin birincil kıkırdağıdır, önde krikoid kıkırdağın üstünde yer alır ve krikotiroid eklemi oluşturur. Aritenoid kıkırdak, tiroid kıkırdağın arkasında, krikoid kıkırdak ile birlikte krikoaritenoid kıkırdağı oluşturur (13). Larinks, epiglottisten ses tellerine kadar uzanan üst kısım supraglottis; ses tellerinin bulunduğu orta kısım olan glottis ve ses telleri ile nefes borusu arasındaki larinksin alt kısmı olan subglottis olmak üzere üç bölümden oluşur (14). Larinksin her bir bölümünden köken alan kanserler klinik tablo, yayılım, prognoz ve tedavi açısından farklılık gösterirler. Erken evre hastalık genellikle supraglottis ve glottiste meydana geldiğinde monoterapi ile tedavi edilme olasılığı çok yüksekken, subglottiste prognoz zayıftır. İleri evre hastalıkta ise tüm bölgeler kötü

prognoz gösterir ve çoklu tedavi gerektirirken, glottis tümörleri nispeten iyi bir prognoza sahiptir (15).

2.1.1.2. Ağız Boşluğu

Ağız boşluğu; dudaklar, dilin ön kısmı, ağız tabanı, sert damak ve yanak mukozasından oluşan, baş ve boyun kanserlerinin sıklıkla görüldüğü bir bölgedir (16). Hastaların ağız boşluğunda oluşan kitleleri kendilerinin farketmesi, konuşma ve yutma zorluğu gibi semptomlar gösterdiğinden ağız boşluğundaki kanserler genellikle erken evrede teşhis edilir (10). Cerrahi müdahale ağız boşluğu bölgesindeki tümörlerin tedavisi için birinci seçenektir. Cerrahi sonrası, tümör patolojisine göre radyoterapi ve kemoterapiler de tedavilere eklenebilmektedir (17).

2.1.1.3. Farinks

Farinks, boğazın arkasından yemek borusuna kadar uzanan yaklaşık 6 inçlik bir bölümdür. 3 kısımdan oluşur: nazofarinks, farinksin üst kısmıdır, burnun arkasında yumuşak damağın üst kısmında bulunur; orofarinks, farinksin orta kısmıdır, dil tabanı, yumuşak damak ve bademcikleri içerir ; hipofarinks ise farinksin alt kısmıdır, Larinksin arkasından yemek borusuna kadar uzanan bölümdür (14). Farinks tümörleri lokal invazyon ve lenfatik yayılma ile karakterizedir, hastaların çoğunda teşhiste lenf tutulumu görülür. Erken evrede hastalar genellikle radyoterapi veya konservatif cerrahi sonrası radyoterapi ile tedavi edilir. İleri evrede ise cerrahiye elverişli tümörlere postoperatif kemoradyasyon uygulanırken, ileri derecede morbiditeye yol açabileceğinden cerrahi müdahaleye uygun olmayan tümörler ise tek başına radyoterapi veya kemoterapi ile birlikte radyoterapi ile tedavi edilir (18).

2.1.1.4. Tükürük Bezleri

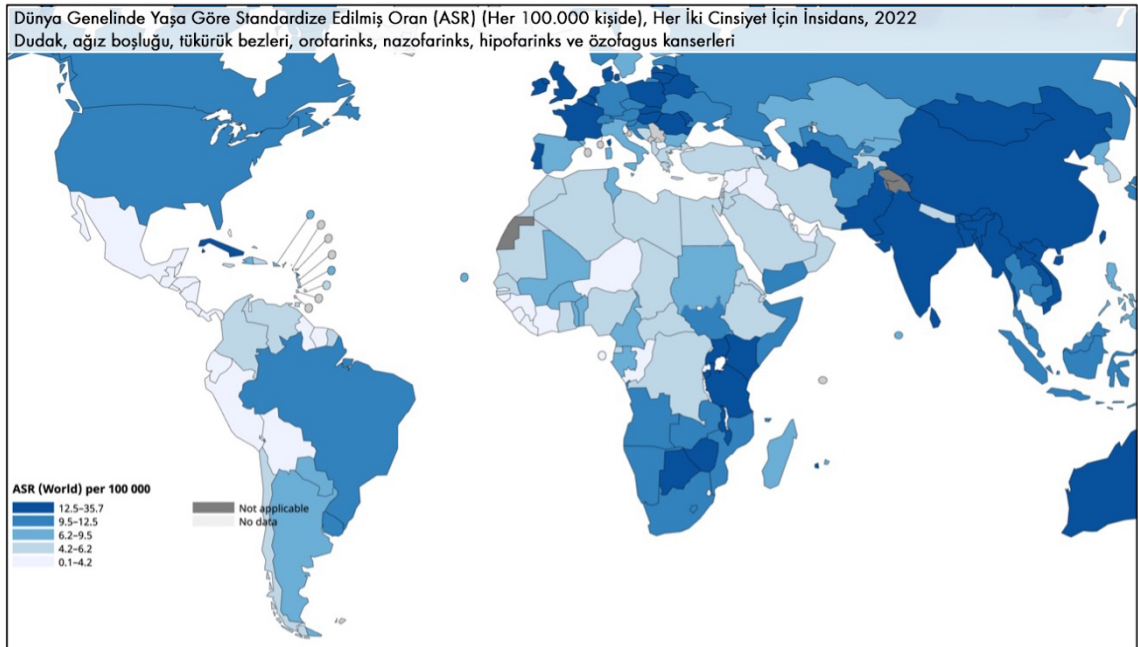
Tükürük bezleri içeriğinde sindirim enzimleri ve antikorlar bulunduran tükürük salgısının üretildiği bezlerdir. Üç ana tükürük bezi bulunur: Parotid bezler, en büyük tükürük bezleridir, kulağın önünde ve arkasında bulunur; sublingual bezler dilin altında bulunur ve submandibular bezler ise çene kemiğinin altında bulunur. Tükürük bezlerinden köken alan tümörlerinin çoğu iyi huyludur. Kötü huylu tükürük bezlerinin tedavisi genellikle cerrahiye takiben radyoterapi şeklindedir (19).

2.1.1.5. Nazal Boşluk ve Paranasal Sinüsler

Nazal boşluk, burun içerisinde bulunan oyuk şeklindeki yapıdır. Paranasal sinüsler ise burun çevresindeki baş kemiklerinin arasındaki küçük boşluklardır. Paranasal sinüsler onları çevreleyen kemiklerin isimleri ile anılır: maksiller sinüsler burnun her iki tarafındaki elmacık kemiklerinin arasındadır; frontal sinüsler, burnun üst kısmında alt alındadır; etmoid sinüsler üst burnun yanında, gözlerin arasındadır; sfenoid sinüsler ise burnun arkasında, kafatasının ortasında bulunur. Bu bölgelerden köken alan tümörler histolojik olarak çeşitlilik gösterebilirler ve kafatası boşluğuna yakın olmaları sebebiyle tedavi seçeneğini belirlemek zordur. En yaygın tedavi yaklaşımı cerrahi rezeksiyon sonrası radyoterapi uygulamasıdır (20).

2.1.2. Epidemiyoloji

Baş ve boyun kanserleri tüm dünya genelinde görülme sıklığı açısından yedinci sıradadır (21). 2022 yılı kanser istatistik verilerine göre baş ve boyun kanserlerinin görüldüğü anatomik bölgelerde (ağız boşluğu, tükürük bezleri, orofarinks, nazofarinks, hipofarinks ve larinks) toplamda 946.456 vaka görülmüş ve bunların 482.001'i ölümle sonuçlanmıştır (22). Baş ve boyun kanserlerinin görülme sıklığının her yaş ve cinsiyete göre dağılımı Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2: Dünya Sağlık Örgütü'nün baş ve boyun kanseri türlerini içeren her yaşta ve cinsiyetten genel dağılım haritası (23)

Baş boyun kanserinde görülme sıklığı ve ölüm oranları coğrafi bölgeye ve demografik özelliklere göre değişiklik gösterir. Erkeklerde kadınlara göre iki kat daha fazla görülür ve 50 yaş üzeri yetişkinlerde daha yaygındır. Güneydoğu Asya'da özellikle Hindistan'da, Orta ve Doğu Avrupa ve Güney Amerika'da HPV enfeksiyonunu yaygınlaşması ve tütün ürünleri kullanımı nedeniyle görülme sıklığı oldukça yüksektir (7).

2.1.3. Risk Faktörleri

Baş boyun kanserleri görülme sıklığının giderek artmasında bireylerin yaşam tarzı, beslenme alışkanlıkları, çevresel faktörler ve viral enfeksiyonlar gibi unsurlar etkili olmaktadır. Sigara kullanımı, alkol tüketimi, İnsan Papilloma Virüs (Human Papilloma Virus: HPV) enfeksiyonu, Areka cevizi kullanımı ve Epstein-Barr Virüs (EBV) enfeksiyonu baş boyun kanserlerinin oluşumuna katkıda bulunan risk faktörleri arasındadır (7).

2.1.3.1. Sigara Kullanımı

Sigara kullanımı baş boyun kanserlerinin oluşumu ile ilişkili en büyük risk faktörlerinden biridir. Sigara içen bireylerde baş boyun kanseri riski sigara içmeyen bireylere göre 10 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Doğrudan maruziyet sebebiyle özellikle ağız boşluğu, nazofarinks, orofarinks, hipofarinks ve larinks bölgelerinden köken alan tümörlerin oluşumunda etkilidir (24). Sigara ve benzeri diğer tütün ürünlerindeki yüksek sıcaklıkta yanma sırasında ortaya çıkan polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nitrozaminler, aromatik aminler ve aldehitler gibi kanserojen bileşenler, DNA ile kolayca reaksiyona girerek DNA replikasyonunda yanlış kodlamaya neden olabilir ve bu nedenle kalıcı mutasyonlara ve sonunda kansere yol açan adüktler (eklentiler) oluştururlar (25). Sigara kullanımı kanser oluşumuna yol açabildiği gibi aynı zamanda tedavi gidişatını da etkilemektedir. Son yıllarda yapılan bir çalışmada baş boyun kanseri tanısı almış 89 hastadan 40'ının tedaviden 24 ay sonra sigara içmeye devam ettiği (26) ve diğer bir çalışmada ise sigara içmeye devam eden hastaların sigarayı bırakan hastalara kıyasla radyasyon tedavisine daha düşük yanıt oranları, tedaviden sonra daha yüksek gastrostomi tüpü bağımlılığı oranları, daha yüksek nüksetme oranları ve düşük genel sağ kalım oranına sahip olduğu bildirilmiştir (27).

2.1.3.2. Alkol Tüketimi

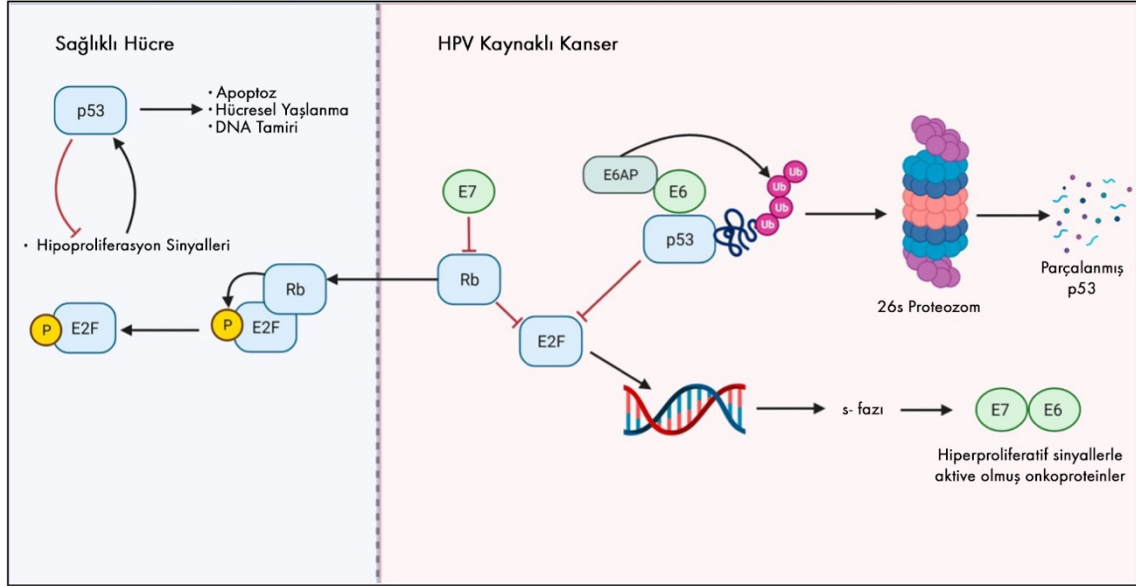
Alkol tüketimi baş boyun kanserleri için majör risk faktörlerinden biridir. Sigara kullanımı ile birlikte dünya çapındaki baş boyun kanseri vakaların yaklaşık üçte birinden sorumludur (28). Günlük kullanım miktarı, içme sıklığı ve alkol tüketimine başlama yaşına bağlı maruziyet süresinin doğrudan baş boyun kanseri riskini etkilediği ortaya koyulmuştur (29). Bazı çalışmalar, alkolün tümör promotörü olarak rol oynadığını ve sigara dumanı ve diğer kanserojenlere karşı mukozayı duyarlı hale getirerek karsinogenezi desteklediğini bildirmiştir (30). Bununla birlikte, sigara kullanımına benzer şekilde, alkol katabolizmasının bir ürünü olan asetaldehitin DNA replikasyonunu ve onarımını bozup proteinlere bağlanarak yapısal ve işlevsel değişikliklere sebep olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle sigara kullanımı ve alkol tüketimi sinerjistik olarak baş boyun kanseri riskini arttırabilmektedir (31).

2.1.3.3. HPV Enfeksiyonu

Sigara kullanımı ve alkol tüketimi baş boyun kanserleri için hala iki büyük risk faktörü olmasına rağmen HPV enfeksiyonunun görülme sıklığındaki artış ile birlikte özellikle ağız boşluğu, orofarinks ve larinks bölgelerinden köken alan maligniteler için önemli bir risk faktörü haline gelmiştir (32).

HPV virüsü yaklaşık 8000 baz çiftine sahip çift zincirli bir DNA virüsüdür. 200'den fazla türü tanımlanmıştır ve bazı türler (16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 ve 70) mukozal yüksek riskli HPV (High-risk HPV; HR-HPV) olarak değerlendirilir. İyi huylu genital siğillerde ve diğer kötü huylu tümörlerde bulunan mukozal HPV'ler genellikle düşük riskli HPV (6, 11, 42, 43 ve 44) türleridir. Mukozal HR-HPV türleri arasında HPV16, dünya çapındaki tüm serviks kanserlerinin yaklaşık %50'sinde bulunan en onkojenik türdür. Aynı zamanda viral enfeksiyon kaynaklı baş boyun kanseri vakalarının yaklaşık %90'ında görülmektedir (33,34). HPV, baş boyun bölgesindeki epitel dokunun bazal hücrelerin nükleuslarına tutunarak enfekte eder. Bazal hücreler bölündükçe HPV DNA'sı da çoğalarak yüksek kopya sayılarına ulaşır (35). Baş boyun kanserlerinde sıklıkla rastlanan tür olan HPV16 genomu yapısal olmayan erken genler (E1, E2, E4, E5, E6 ve E7) ve yapısal olan geç genlerin (L1 ve L2) proteinlerini kodlar. L1 ve L2 viral tutulum, E1, E2 ve E4 viral replikasyon için gerekli iken E5, E6 ve E7 onkojenik rol oynarlar (36). E6 onkoproteini, hücrede bir ubiquitin protein ligaz olan E6AP ile p53'e bağlanarak proteozom aracılı parçalanmasına neden olur. Diğer yandan

E7 onkoproteini ise Rb (retinoblastoma) proteinine bağlanarak transkripsiyon faktörü olan E2F'den ayrılmasını sağlar. Böylece hücrenin durgun G0 fazından replikatif S fazına geçişine neden olur (37) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Normal hücrede ve HPV ile enfekte olmuş hücrede E6 ve E7 onkoproteinlerinin rolü (37)

2.1.3.4. Diğer Risk Faktörleri

Baş boyun kanserlerine neden olan diğer risk faktörleri arasında Epstein Bar virüsü enfeksiyonu ve areka cevizi kullanımı gibi bölgesel olarak görülen faktörler de etkilidir. Doğu Asya popülasyonlarında daha sık görülen bir herpes virüsü olan Epstein Bar virüsü enfeksiyonu daha çok nazofarinksten köken alan kanserlerle ilişkilidir (38). Diğer yandan Asya, Pasifik ve Doğu Afrika bölgelerinde Areka palmyesinin meyvesi olan areka cevzinin çiğnemek amacıyla kullanımı özellikle ağız ve orofarinks bölgesinde kanser riskini arttırmaktadır (39).

2.1.4. Baş Boyun Kanserinde Evreleme

Baş boyun kanserlerinin evrelemesinde American Joint Committie on Cancer (AJCC) ve Union for International Cancer Control (UICC) tarafından tanımlanan TNM (Tumor Node Metastasis) sistemi kullanılmaktadır. Bu sistemin amacı baş boyun kanseri gibi karmaşık tümörler içeren kanser türlerini tanımlama ve tedavi planına yardımcı olacak şekilde kategorize etmektir. TNM sınıflandırma sisteminde T, birincil tümörün boyutunu ve genişliğini belirtir. N, kanserin yakınlarındaki lenf noduna yayılıp yayılmadığını ve lenf nodundaki tümörün büyüklüğünü ifade eder. M, kanserin uzak bölgelere metastazı olup olmadığını belirtir (40). Baş boyun kanserlerinde bu evreleme

sistemi, ağız boşluğu, farinks, larinks, nazal boşluk ve paranasal sinüsler olmak üzere anatomik bölgelere göre sınıflandırılmıştır. Sınıflandırma Tablo 2.1, Tablo 2.2, Tablo 2.3, Tablo 2.4 , Tablo 2.5 ve Tablo 2.6'da gösterilmiştir (41–43)

Tablo 2.1: Ağız boşluğu kanserleri için primer tümör tanımı

TX	Primer tümör değerlendirilemiyor.
Tis	Karsinoma in situ
T1	Maksimum boyutu 2cm veya daha az ve invazyon derinliği 5mm'den daha az olan tümörler
T2	Maksimum boyutu 2 cm veya daha az ve invazyon derinliği 5 mm'den fazla ancak 10 mm'den az olan tümör veya maksimum boyutu 2 cm'den fazla ancak 4 cm'den az ve invazyon derinliği 10 mm'den fazla olmayan tümör.
T3	Maksimum boyutu 4 cm'den büyük veya invazyon derinliği 10 mm'den fazla olan tümör
T4a	Tümör yalnızca bitişik yapıları istila eder (mandibula veya maksillanın kortikal kemiğinden geçer veya maksiller sinüsü veya yüz derisini içerir)
T4b	Tümör çiğneme boşluğunu, pterigoid plakalarını veya kafa tabanını istila eder ve/veya internal karotid arteri sarar

Tablo 2.2 Nazofarinks kanserleri için primer tümör tanımı

TX	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Tümör tanımlanmadı, ancak EBV+ servikal düğüm(ler) tutulum
Tis	Karsinoma in situ
T1	Nazofarenksle sınırlı tümör veya orofarenks ve/veya parafaringeal tutulum olmaksızın nazal boşluğa yayılım
T2	Parafaringeal boşluğa yayılım gösteren tümör ve/veya komşu yumuşak doku tutulumu (medial pterigoid, lateral pterigoid, prevertebral kaslar)
T3	Kafatası tabanındaki kemik yapıların, servikal omurların, pterigoid yapıların ve/veya paranasal sinüslerin infiltrasyonu olan tümör
T4	Kranial içi uzanım gösteren tümör, kranial sinirlerin,hipofarenksin, orbitanın, parotis bezinin ve/veya lateral pterigoid kasının lateral yüzeyinin ötesinde yaygın yumuşak doku infiltrasyonu

Tablo 2.3: Orofarinks kanserleri için primer tümör tanımı

TX	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümör kanıtı yok
Tis	Karsinoma in situ
T1	Maksimum boyutu 2cm veya daha az olan tümör
T2	Maksimum boyutu 4 cm'den büyük veya epiglotisin lingual yüzeyine uzanan tümör.
T3	Maksimum boyutu 4 cm'den büyük veya epiglotisin lingual yüzeyine uzanan tümör.
T4a	Tümör gırtlak, dilin derin/ekstrinsik kası, medial pterigoid, sert damak veya mandibulayı invaze eder
T4b	Tümör lateral pterigoid kası, pterigoid plakaları, lateral nazofarenks ve kafa tabanını invaze eder veya karotid arteri sarar.

Tablo 2.4: Larinks kanserlerinin primer tümör tanımı

TX	Primer tümör değerlendirilemiyor.
Tis	Karsinoma in situ
SUPRAGLOTTİS	
T1	Tümör subglottisle sınırlıdır
T2	Tümör normal veya bozulmuş hareketlilikle ses tellerine yayılmış
T3	Tümör ses teli fiksasyonu ve/veya paraglottik boşluğu ve/veya tiroid kıkırdağının iç korteksini istila ederek larinksle sınırlı
T4	T4a; Orta derecede ilerlemiş lokal hastalık. Tümör krikoid veya tiroid kıkırdağını istila etmiş ve/veya larinks ötesindeki dokuları istila etmiş T4b: Çok ileri lokal hastalık. Tümör prevertebral boşluğu istila etmiş, karotid arteri sarmış veya mediastinal yapıları istila etmiş
GLOTTİS	
T1	Tümör ses telleriyle sınırlıdır (ön veya arka komissürü içerebilir) ve normal hareketliliğe sahiptir
T2	Tümör supraglottise ve/veya subglottise uzanır ve/veya ses teli hareketliliği bozulmuştur

T3	Tümör larinksle sınırlıdır, ses teli fiksasyonu vardır ve/veya paraglottik boşluğa ve/veya tiroid kıkırdağının iç korteksine invazyon vardır
T4	T4a; Orta derecede ilerlemiş lokal hastalık. Tümör krikoid veya tiroid kıkırdağını istila etmiş ve/veya larinks ötesindeki dokuları istila etmiş T4b; Çok ileri lokal hastalık. Tümör prevertebral boşluğu istila etmiş, karotid arteri sarmış veya mediastinal yapıları istila etmiş
SUBGLOTTİS	
T1	Tümör subglottisle sınırlıdır
T2	Tümör normal veya bozulmuş hareketlilikle ses tellerine kadar uzanır
T3	Tümör ses teli fiksasyonu ve/veya paraglottik boşluğun ve/veya tiroid kıkırdağının iç korteksinin invazyonu ile larenksle sınırlıdır
T4	T4a; Orta derecede ilerlemiş lokal hastalık. Tümör krikoid veya tiroid kıkırdağını istila etmiş ve/veya larinks ötesindeki dokuları istila etmiş T4b; Çok ileri lokal hastalık. Tümör prevertebral boşluğu istila etmiş, karotid arteri sarmış veya mediastinal yapıları istila etmiş

Tablo 2.5: Nazal boşluk ve paranazal sinüs kanserleri için primer tümör tanımı

TX	Primer tümör değerlendirilemiyor
Tis	Karsinoma in situ
MAKSİLLAR SİNÜSLER	
T1	Kemik erozyonu veya yıkımı olmaksızın maksiller sinüs mukozasıyla sınırlı tümör.
T2	Sert damak ve/veya orta burun deliğine kadar uzanan kemik erozyonuna veya yıkımına neden olan tümör, maksiller sinüsün arka duvarına ve pterigoid plakalara uzanan tümör hariç.
T3	Tümör maksiller sinüsün arka duvarının kemiği, deri altı dokular, yörünge tabanı veya medial duvarı, pterigoid fossa, etmoid sinüsleri istila eder.
T4	T4a; Orta derecede ilerlemiş lokal hastalık. Tümör ön yörünge içeriğini, yanak derisini, pterigoid plakaları, infratemporal fossa, kribriform plakayı, sfenoid veya frontal sinüsleri istila eder. T4b; Çok ileri lokal hastalık. Tümör orbital apeks, dura, beyin, orta kranial fossa, trigeminal sinirin maksiller dalı dışındaki kranial sinirler, nazofarenks veya klivusu istila eder.
NAZAL BOŞLUK VE ETMOİD SİNÜSLER	

T1	Tümör kemik invazyonu olsun veya olmasın herhangi bir alt bölgeyle sınırlıdır.
T2	Kemik invazyonu olsun veya olmasın tümörün tek bir bölgede iki alt bölgeyi istila etmesi veya nazoetmoidal kompleks içinde bitişik bir bölgeyi de içerecek şekilde genişlemesi.
T3	Tümör orbita medial duvarını veya tabanını, maksiller sinüsü, damağı veya elek plakasına invaze olacak şekilde genişler.
T4	T4a; Orta derecede ilerlemiş lokal hastalık. Tümör ön orbital içerikler, burun veya yanak derisi, ön kranial fossaya minimal uzanım, pterigoid plakalar, sfenoid veya frontal sinüsleri istila eder. T4b; Çok ileri lokal hastalık. Tümör orbital apeks, dura, beyin, orta kranial fossa, V2 dışındaki kranial sinirler, nazofarenks veya klivusu istila eder.

Tablo 2.6: Baş boyun kanserlerinde bölgesel lenf nodlarının klinik değerlendirmesi

NX	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf düğümü metastazı yok
N1	Maksimum boyutu 3 cm veya daha az ve ektranodal uzantı olmadan tek bir ipsilateral lenf düğümünde metastaz.
N2	N2a; Maksimum boyutu 3 cm'den fazla ancak 6 cm'den az olan ve ektranodal uzantı olmadan tek bir ipsilateral lenf düğümünde metastaz. N2b; Maksimum boyutu 6 cm'den fazla olmayan ve ektranodal uzantı olmadan birden fazla ipsilateral lenf düğümünde metastaz. N2c; Maksimum boyutu 6 cm'den fazla ve ektranodal uzantı olmadan iki taraflı veya kontralateral lenf düğümlerinde metastaz.
N3	N3a; Lenf nodunda metastaz, maksimal boyutu 6 cm'den büyük ve ektranodal uzantısız. N3b; Klinik ektranodal uzantılı tek veya birden fazla lenf nodunda metastaz ektranodal uzantı

Tablo 2.7: Baş boyun kanserlerinde evreleme

Evre I	T1, N0, M0
Evre II	T2, N0, M0,

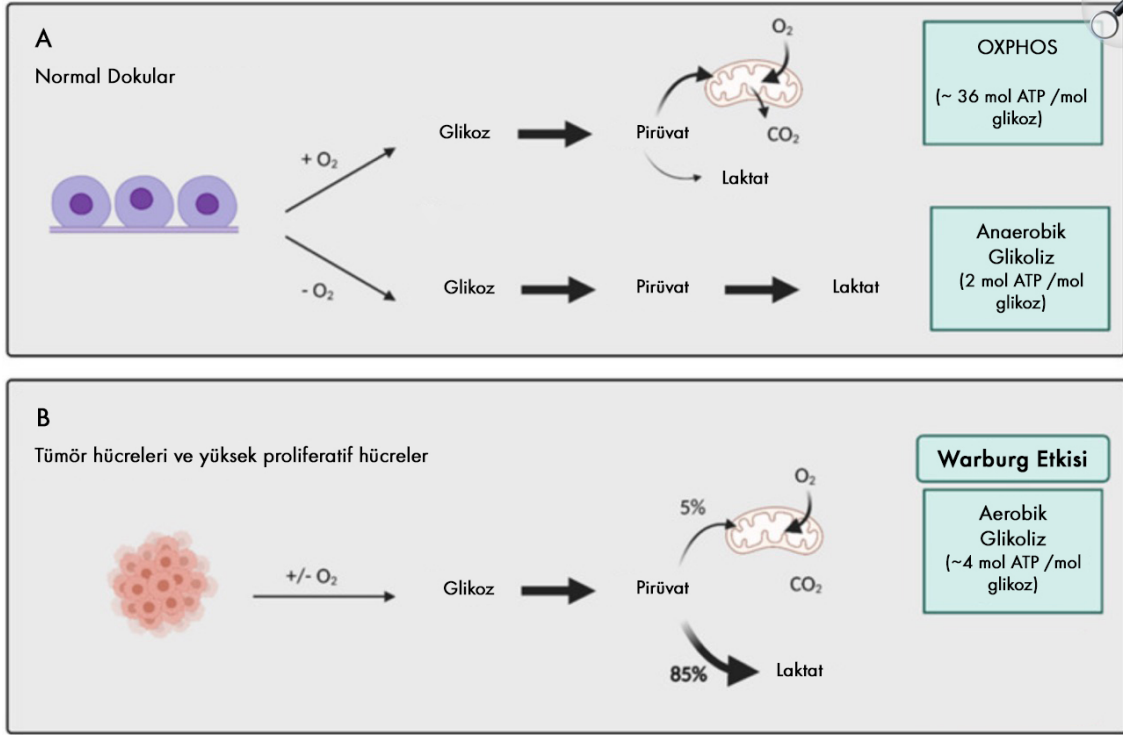
Evre III	T3, N0, M0	
Evre IVA	T4a, N0/N1, M0	T1/T2/T3/T4a N2 M0
Evre IVB	Herhangi T, N3, M0	T4b, Herhangi N, M0
Evre IVC	Herhangi T, Herhangi N, M1	

2.2. Kanser ve Metabolizma İlişkisi

Kanser, temel olarak bir takım somatik mutasyonlar sonucu onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile hücrelerin sonsuz proliferasyon yeteneği kazandığı oldukça karmaşık bir hastalıktır. Sınırsız replikasyon potansiyeli, hücre ölümünden kaçınma, büyüme baskılayıcı sinyallere duyarsızlık, anjiyogenez, invazyon ve metastazın aktivasyonu gibi özellikler bu karmaşık hastalığın karakteristik bileşenleridir (44). Kanser oluşumuna neden olan bileşenler çoğunlukla genetik açıdan değerlendirilse de, kanser hücreleri sürekli büyüme ve bölünmenin sürdürebilmek için hipoksik tümör mikroçevresi, yüksek oksidatif stres ve sınırlı besin kaynakları gibi zorlukların üstesinden gelmek için hücre metabolizmalarını yeniden şekillendirmeleri gerekir (45).

Farklılaşmamış normal bir hücrede, alınan makromoleküller öncelikli olarak enerji üretiminde kullanılır. Besinlerin yapısındaki karbon atomlarının oksidasyonu ile elde edilen elektronlar, NAD^+ ve FAD adı verilen iki elektron taşıyıcısına aktararak sırasıyla, NADH ve $FADH_2$ üretilir. Daha sonra bu taşıyıcılar ile elektronlar mitokondride elektron transport zinciri (ETZ) aracılığıyla moleküler oksijene aktarılır ve aktarım sırasında elektronların sürekli geçişi ile ATP üretilmesi sağlanır. Bu süreç oksidatif fosforilasyon ile ATP üretimi olarak adlandırılır. Kanser hücreleri ise, buldukları ortamdan besin maddelerinin alımını arttırmanın yanı sıra, büyüme ve çoğalma için biyokütle artışı, yapıtaşlarının biyosentezi ve enerji üretimi için gerekli olan anabolik yolları tercih ederler. Bu nedenle, glikoz, yağ asitleri ve amino asitler gibi makromoleküllerinin metabolizma süreçlerini normal hücrelerden farklı bir şekilde uygularlar (46,47).

Glikoz, hücreler tarafından enerji üretiminde kullanılan başlıca karbon kaynağıdır. Hücre içine alınan glikoz ilk olarak glikoliz ile pirüvata dönüştürülür daha sonra pirüvat, mitokondride trikarboksilik asit (TCA) döngüsüne girerek oksidatif fosforilasyon ile yüksek oranda ATP üretimi için oksitlenir. Ancak kanser hücreleri, ortamda yeterli miktarda oksijen bulunsa bile TCA döngüsünde oksitlemek yerine pirüvatın çoğunu laktata dönüştürmeyi tercih eder. Bu durum “Warburg Etkisi” olarak adlandırılır. 1927 yılında Otto Warburg ve arkadaşları, normal hücrelerden farklı olarak kanser hücrelerinde oksidatif fosforilasyon sisteminin mitokondrilerde hasar gördüğünü bildirmişlerdir (48). Ancak sonraki yıllarda yapılan çalışmalar, kanser hücrelerinde oksidatif fosforilasyonun tamamen hasar görmediğini ve bu hücrelerin oksidatif fosforilasyon yoluyla da ATP üretebildiğini, hücrelerin fazla miktarda aldığı glikozun ise aerobik glikoliz yoluyla fazla miktarda pirüvat dönüştürülüp, bu pirüvatın laktata dönüştüğünü göstermiştir (49). Mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ile bir molekül glikozun oksidasyonundan 36 mol ATP üretilirken aerobik glikoliz ile sadece 2 mol ATP üretilir. Glikoliz ve pirüvatın laktata dönüşüm sürecinin oksidatif fosforilasyondan daha hızlı olması nedeniyle, kanser hücreleri daha az verimsiz olan bu yolu tercih ederler. Bu durumda kanser hücreleri, normal hücrelere göre daha fazla glikoz alımına ihtiyaç duyarlar (50). (Şekil 2.4) Diğer yandan artmış glikoliz hızı, çeşitli yapıtaşlarının sentezi için gerekli olan substratların, fazla miktarda üretilen glikoliz ara ürünlerinden karşılanmasını sağlar. Bununla birlikte artan laktat üretimi, asidik bir tümör mikroçevresi oluşturarak ekstrasellüler matriksin (ECM) yeniden şekillenmesini, anjiyogenezi ve tümör invazyonunu artırır (51).



Şekil 2.4 Normal hücrelerde ve kanser hücrelerinde glikoz metabolizması (50)

Kanser hücrelerinin metabolizmalarını yeniden düzenlemeleri sadece Warburg etkisi ile sınırlı değildir. Glikoz metabolizmasındaki düzenlenmenin yanı sıra, kanser hücrelerindeki metabolik yeniden programlama anormal lipid ve amino asit metabolizması, mitokondriyal biyogenez ve pentoz fosfat yolu, tek karbon metabolizması ve TCA döngüsü gibi diğer biyoenerjetik yollardaki değişimlerle karakterize edilmiştir (52). Kanser hücreleri gibi yüksek proliferasyon yeteneğine sahip hücreler protein sentezi ve nükleotid sentezi için gerekli olan azot ihtiyacını karşılayabilmek için amino asit alımını artırırlar. Özellikle glutamin glikozdan sonra kanser hücrelerinin en çok ihtiyaç duyduğu besin maddesidir. Enerji üretimi ve protein sentezinin yanı sıra redoks dengesi ve hücre içi sinyal iletiminde görevlidir (53). Diğer yandan kanser hücrelerinde lipid metabolizması enerji ihtiyacını karşılamının yanı sıra, membran biyosentezi ve sinyal iletiminin düzenlenmesi açısından önemlidir (54). Yağ asidi biyosentezi, membranların ve sinyal moleküllerinin sentezi için lipid gereksinimini karşılamak üzere kanser hücrelerinde sıklıkla artar ve genellikle açlık durumunda kullanılabilmesi için normal hücrelerden daha fazla miktarda lipid damlacıkları şeklinde depolanır (44,55).

Kanser hücrelerinin sahip olduğu tüm bu metabolik adaptasyonlar kanserin türüne göre değişiklik göstermekle birlikte tümörlerin sağkalımını ve tedaviye direnç

kazanmasını kolaylaştırır, bu nedenle bu süreçler kanser tedavisi için potansiyel hedefler olarak araştırılmaktadır.

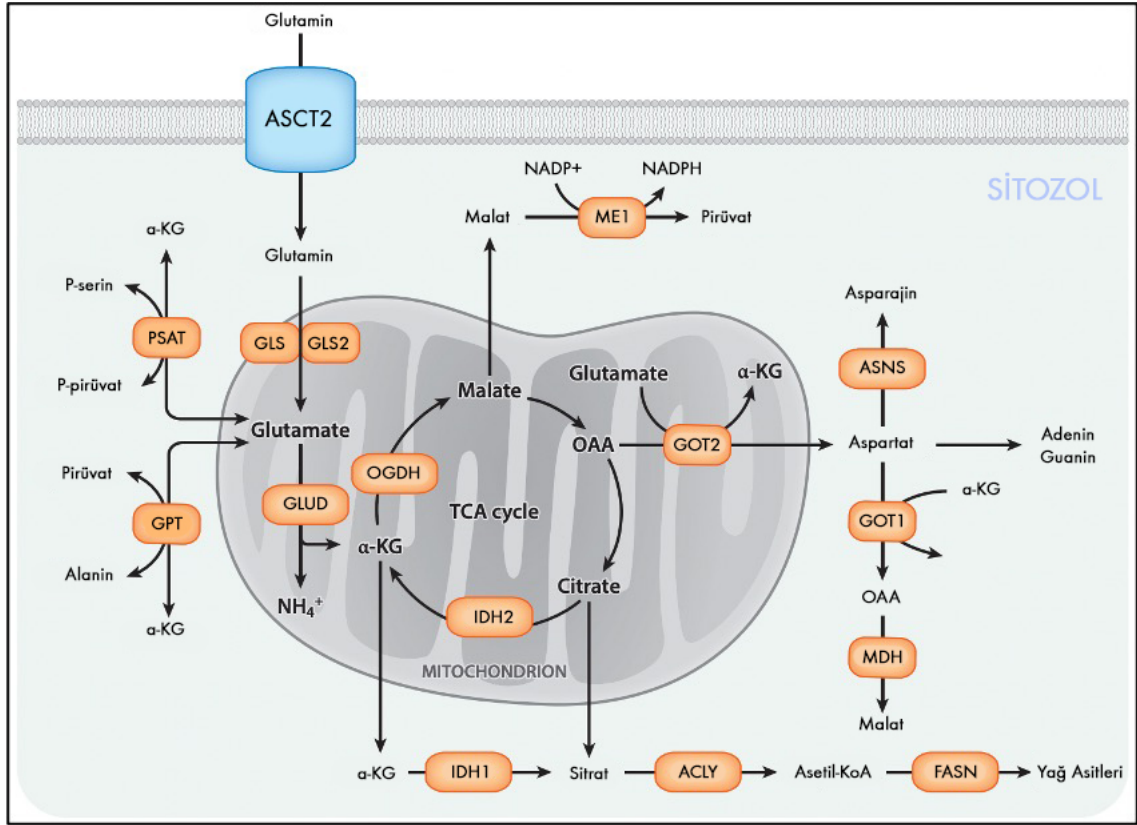
2.2.1. Kanserde Amino Asit Metabolizması

Amino asitler, yapısal olarak amino grubu, asidik bir karboksil grubu ve bir yan zincirden oluşan organik bileşiklerdir. Vücuttaki protein yapıdaki tüm moleküller peptid bağları ile bir araya gelmiş amino asit zincirlerinden oluşur. Amino asitlerin yapısındaki yan zincirliğin farklılığı ve bir araya gelme şekilleri, oluşturdukları proteinlere benzersiz özellikler katar. İnsan vücudunda proteinleri oluşturmak üzere bir araya gelen 20 farklı amino asit bulunur. Bu amino asitler vücutta sentezlenemeyen ve diyet ile alımın zorunlu olduğu esansiyel amino asitler, vücutta sentezlenebilen esansiyel olmayan amino asitler ve normalde esansiyel olmayan ancak çocukluk döneminde ve gebelikte esansiyel olan yarı esansiyel amino asitler şeklinde sınıflandırılır. Esansiyel amino asitler; valin, lösin, izolösin, lizin, histidin, metiyonin, fenilalanin, treonin ve triptofan, esansiyel olmayan amino asitler; alanin, asparajin, aspartat ve glutamat, yarı esansiyel amino asitler arjinin, sistein, glutamin, glisin, prolin, serin ve tirozindir (56,57). Amino asitler, proteinlerin yapıtaşları olmalarının yanı sıra enerji metabolizmasında, enzimlerin ve hormonların sentezinde ve redoks dengesinin korunmasında hayati görevleri bulunur. Amino asit metabolizması, bu görevleri yerine getirebilmeleri için amino asitlerin, biyomoleküllerin sentezine katılması ile anabolizma ve biyomoleküllerin yıkılmasından elde edilen serbest amino asitlerin karbon iskeletlerinin enerji üretiminde kullanılmasını içeren katabolizma süreçlerini ifade eder. Amino asit metabolizmasındaki değişimler çoğunlukla amino asit metabolizması bozuklukları ve kanser ile ilişkilendirilir (58).

Kanser hücreleri diğer metabolik yollarda olduğu gibi, hızlı büyüme ve proliferasyon için gerekli olan besin ve enerjiyi elde etmek amacıyla amino asit metabolizmasını kendilerine alternatif yakıt oluşturmak üzere yeniden düzenler. Bu düzenlemeler, tümör hücrelerinin amino asit alım hızında, amino asitlerin girdiği metabolik yollarda, metabolizmalarında görevli anahtar enzimlerde ve açığa çıkan metabolit düzeylerinde meydana gelen anormallikleri içerir (59). Öte yandan hücreler, proliferasyon öncesi büyüme için gerekli olan makromolekülleri sentezlemek durumundadır. Bu süreç, DNA replikasyonu için gerekli olan nükleik asitlerin sentezi, hücre için gerekli olan proteinlerin sentezi, membran biyosentezi için gerekli olan lipidlerin sentezini içerir. Kanser hücreleri gibi proliferasyon hızını arttırmış hücreler,

normal hücrelere kıyasla daha fazla makromolekül sentezine ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle, bu hücreler sentez için gerekli olan monomerlerin alımını, prekürsörlerin üretimini ve ilgili metabolik yolları daha verimli şekilde kullanarak artan ihtiyaçlarını karşılarlar (60). Bu nedenle her bir amino asit ve görev aldıkları yollar kanser hücrelerinde farklı yeniden düzenlenme mekanizmalarını içerir.

Glutamin, plazmada en çok bulunan esansiyel olmayan bir amino asittir. Ancak kanser hücrelerinin yüksek proliferatif aktiviteleri sonucu artan enerji talebini karşılamak için dışarıdan alınan glutamine bağımlı hale geldiğinden glutamin, kanser hücreleri için koşullu esansiyel amino asit haline gelmiştir. Glutamin hücrede, enerji üretimi için karbon kaynağı, biyosentetik reaksiyonlar için azot kaynağı, lipit üretiminin düzenleyicisi ve redoks dengesinin korunması için antioksidanların üretimine katılmak gibi önemli rolleri üstlenir (61). Glutamin esas olarak hücrelerde glutaminoliz adı verilen bir dizi reaksiyon ile TCA döngüsü girerek enerji üretimine katılır veya TCA siklusu ara metabolitlerini oluşturarak biyosentez reaksiyonları için gerekli olan prekürsörlerin devamlılığını sağlar (Şekil 2.5). Glutaminolizin ilk reaksiyonu glutaminaz enzimi ile glutaminin glutamata dönüşümüdür. Glutamat ise glutamat dehidrojenaz ile α -ketoglutarata dönüşerek TCA döngüsü ara metabolitlerinden ilkinin oluşturur. Proliferasyon aktivitesi yüksek hücrelerde artan lipit biyosentezi, sentezin prekürsörü olan Asetil Koenzim A'nın ve dolayısıyla TCA döngüsü ara metabolitlerinin tükenmesine yol açar. Bu tür hücrelerde glutamin, TCA döngüsü metabolitlerinin yenilenmesini sağlayan bir karbon kaynağı olarak işlev görür. Bu süreç organizmada anaplerozis olarak adlandırılır (60,62,63). Glutamattan üretilen α -ketoglutarat anaplerotik substrat olarak, mitokondri dışına çıkarak sırasıyla sitrat ve Asetil KoA oluşturarak yağ asidi sentezine katkı sağlayabilir. Kanser hücrelerinde özellikle hipoksi ve mitokondriyal işlev bozukluğu durumlarında lipit biyosentezi tamamen glutamininin anaplerotik reaksiyonlarına bağlıdır. Diğer yandan glutaminden türetilen malat, fumarat ve sitrat gibi TCA döngüsü metabolitleri sayesinde, glikoz yokluğunda besin açısından fakir bir tümör mikroçevresinde glikozdan bağımsız olarak TCA döngüsünün devamlılığını sağlanmaktadır (64).



Şekil 2.5: Glutaminin anaplerotik reaksiyonları (62)

Kanser hücrelerinin hızlı proliferasyonu aynı zamanda hücrelere zarar verebilen ve sonunda hücre ölümüne yol açabilen reaktif oksijen türlerinin (ROS: Reactive Oxygen Species) birikimine yol açar. Bu nedenle redoks dengesinin sağlanması için hücrelerde glutatyon üretiminin devamlılığı önemlidir. Glutatyon; glutamat, sistein ve glisinden oluşan güçlü bir antioksidandır. Glutamin, glutaminaz reaksiyonu ile glutamat sağlayarak ve sistein alımını arttırarak glutatyon üretimini destekler (65). Kanser hücrelerinin glutamin metabolizmasına olan yüksek bağımlılığı sebebiyle, son yıllarda pankreas, meme, akciğer ve baş boyun kanserinde yapılan çalışmalar, glutamin sentaz ve glutamat dehidrojenaz enzimlerine karşı çeşitli inhibitörler geliştirerek tümör büyümesini engellemeyi amaçlamaktadır (66–69).

Glutaminin yanı sıra kanser hücreleri, enerji üretimi için alternatif yakıt olarak ve biyosentez için prekürsör olarak diğer amino asitleri de kullanabilir.

Asparajin, vücutta glutaminden veya TCA döngüsü ara ürünü oksaloasetattan sentezlenen esansiyel olmayan bir amino asittir. Hücre büyümesi ve protein sentezine katılmanın yanı sıra kanser hücrelerinde glutamin yoksunluğunda TCA döngüsündeki

oksalasetatin aspartat ve asparajin oluşumu yönünde ilerlemesi ile hücreyi glutamin tükenmesi kaynaklı apoptozdan korur. Diğer yandan lösemi, meme ve akciğer kanseri gibi kanser türlerinde asparajin sentezinde görevli iki enzim asparajin sentaz ve asparajinazın aşırı eksprese edilerek tümör büyümesi ve metastazında rol oynadığı gösterilmiştir (70).

Arjinin, vücutta diğer amino asitlerden veya üre döngüsü ara ürünlerinden sentezlenebildiği gibi diyetle dışarıdan alımına ihtiyaç duyulan koşullu esansiyel bir amino asittir. Protein sentezine katılmanın yanı sıra arjinin, nitrik oksit, poliaminler, kreatin ve diğer amino asitlerin sentezinde öncül amino asit olarak görev alır. Arjininden nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla sentezlenen nitrik oksit, kanser hücrelerinde anjiyogenezi uyararak metastaz sürecine katkıda bulunur. Diğer yandan arjininden sentezlenen spermin, spermidin, pütresin gibi poliaminlerin kanser hücrelerinin çoğalmasını desteklemedeki temel rollerine ek olarak, hücrelerin immün sistemden kaçmasını sağlayan bir immünsüpresif rol oynadığından çeşitli kanser türlerinde seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir (71,72).

Triptofan, insan vücudunda sentezlenemeyen diyetle alımının zorunlu olduğu esansiyel amino asitlerden biridir. Vücutta triptofan metabolizması, kinürenin yolağı, serotonin yolağı ve indol yolağı olmak üzere toplam üç metabolik yolaktan oluşur. Bu yolların normal fizyolojik koşullarda inflamasyon, immün sistem ve nöronal fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rolleri bulunur. Ancak kanser gibi patolojik koşullarda ise triptofan metabolizmasındaki düzensizlik ve yollarda görevli enzimlerin ekspresyonlarındaki değişimler, tümör büyümesini ve immün kaçıışı destekleyen immünsüpresif bir tümör mikroçevresi oluşumuna neden olur (73). Kinürenin yolağında üretilen kinürenik asit, ksantürenik asit ve kinürenin gibi metabolitlerin sentezindeki artış tümör mikroçevresinde T hücrelerinin çoğalmasını engellediği bildirilmiştir (74). Triptofandan sentezlenen serotonin ise, merkezi sinir sistemini önemli ölçüde etkiler ve bağırsak hareketliliğini, vazokonstriksiyonu, trombosit agregasyonunu ve yara iyileşmesini düzenlemede kritik bir rol oynar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda serotoninin farklı kanser türlerinde büyüme faktörü olarak rol oynayabildiği ve in vitroda hücrelerde PD-L1 ekspresyonunu arttırarak tümör ilerlemesine katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (75,76).

Sistein, sülfür içeren yarı esansiyel bir amino asittir. Sisteinin insan vücudunda, redoks dengesinin korunması için glutatyonun yapısına katılmak, hidrojen sülfür, taurin gibi sistein içeren moleküllerin sentezine katılmak, biyokütle artışı ve enerji üretimi için karbon kaynağı olarak kullanılmak gibi görevleri bulunur. Sisteinin, tümör oluşumu ve gelişimi ile ilişkili olduğu ve seviyesinin tümör proliferasyonu, invazyonu ve metastazı ile yakından ilişkili olduğu yönünde çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca, hücre membranlarından bulunan sistein taşıyıcıları aynı zamanda sistin/glutamat antiportu olarak eş zamanlı işlev gördüğünden çeşitli araştırmalarda glutamatın dışarı akışı ile hücre dışındaki seviyelerinde artış ve sisteinin hücre içine taşınması ile seviyelerindeki azalışın kanser agresifliği ve kötü prognoz ile ilişkilendirilebileceği gösterilmiştir (77,78).

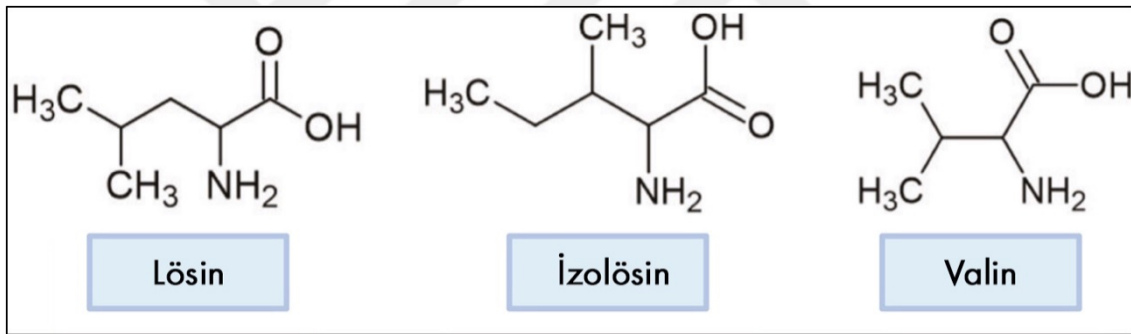
Valin, lösin ve izolösin vücutta sentezlenemeyen dallı zincirli amino asitlerdir. Kanser hücreleri ve normal hücreler dallı zincirli amino asitlerin alımında tamamen dışa bağımlıdır. Bu amino asitlerin yıkımından elde edilen ara metabolitler TCA döngüsüne girerek hücrede enerji üretimine katkıda bulunabilirler. Diğer yandan dallı zincirli amino asitlerden özellikle lösin, kanser hücrelerinde bazı onkogenik yolları aktive ederek hücre büyümesini teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle, dallı zincirli amino asitlerin dışarıdan alımlarının artışına bağlı olarak plazma seviyelerinde yükseliş, hücre içerisine girmelerini sağlayan taşıyıcıların ekspresyonlarındaki artış ve bu amino asitlerin metabolizmalarında görevli enzimlerin ekspresyonlarındaki artış, çeşitli kanser türlerinde dallı zincirli amino asit metabolizmasına yönelik adaptasyonlardır (79,80).

Amino asitler, DNA ve RNA nükleik asitlerinin yapıtaşları olan pürin ve pirimidin nükleotidlerinin sentezine hem karbon hem azot sağlayarak katkıda bulunurlar. Glutamin, glisin, aspartat, bikarbonat ve folat pürin biyosentezinde doğrudan molekül omurgasına dahil olurlar. Pirimidin halkasının sentezi için ise glutamin ve aspartat yapıya karbon ve azot sağlarlar. Ayrıca glisin, serin ve histidin vücutta tek karbon taşıyıcısı birim olan tetrahidrofolat (THF) oluşumuna katkıda bulunarak nükleotid sentezine dolaylı olarak katılırlar (81). Serin, metiltransferazlar aracılığı ile yapısındaki tek karbonu tetrahidrofolata aktararak glisine dönüşür. Yapılan son çalışmalar kanser hücrelerinin tek karbon akışını sürdürebilmek için serin metabolizmasını değiştirebildiğini göstermiştir (82). Diğer bir çalışmada kanser hücrelerinin hücre göçü ve metastazı desteklemek için de novo serin sentezini ve tek karbon metabolizmasını arttırabildiğini gösterilmiştir (83).

Amino asit metabolizmasının kanser ile olan ilişkisi, amino asitlerin yalnızca hücresel yapıtaşları olmasının yanında kanser gelişimini, ilerlemesini ve hayatta kalmasını desteklemek için farklı biyokimyasal yolları aktive ederler. Ancak amino asit metabolizmasının kanser üzerindeki etkileri oldukça karmaşıktır. Bu nedenle her bir amino asitin farklı kanser türlerindeki etkileri ve amino asit metabolizmasını hedef alan tedavi yaklaşımları, kanser tedavisinde önemli bir strateji olma potansiyeli taşımaktadır.

2.2.2. Kanserde Dalı Zincirli Amino Asit Metabolizması ve Genetik Değişimler

Dalı zincirli amino asitler; valin, lösin ve izölösün insan vücudunda sentezlenemeyen esansiyel amino asitlerlerdir. Proteinlerin yapısındaki amino asitlerin yaklaşık %25 ini oluşturduklarından dalı zincirli amino asitler, diyetle alımın zorunlu olduğu kritik öneme sahip esansiyel amino asitler olarak kabul edilir (84). Yapısal olarak asidik bir karboksil grubu ve merkezi bir karbon atomuna üç veya daha fazla karbonun bağlandığı dallanmış hidrofobik bir yan zincirden oluşurlar (Şekil 2.6) (85).



Şekil 2.6: Dalı zincirli amino asitlerin kimyasal yapısı

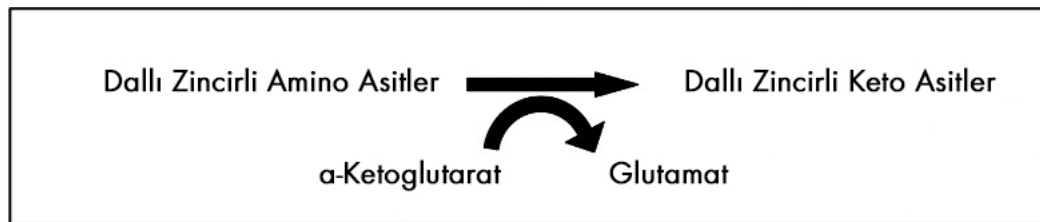
Dalı zincirli amino asitler, bitkilerde, bazı bakterilerde ve mantarlarda sentezlenebilir. Valin enzimatik reaksiyonlarla pirüvattan sentezlenir, lösin ise valin sentezi sırasında açığa çıkan ara ürün α -ketoizovalerattan sentezlenir. İzölösün ise valin sentezinde görevli enzimler ile treoninden sentezlenir. Toplam amino asit içeriğinin yaklaşık %35ini oluşturmalarına rağmen hayvanlarda dalı zincirli amino asit sentezi yoktur (86).

Proteince zengin bir öğünden sonra vücuda alınan dalı zincirli amino asitler, bağırsak lümenindeki epitel hücrelerin apikal membranlarında bulunan sodyum bağımlı taşıyıcılar tarafından absorbe edilir. Daha sonra kolaylaştırılmış difüzyon ile kan dolaşımına salınırlar ve L-tipi amino asit taşıyıcıları (LAT1) ile gerekli dokularda hücre

içine alınırlar (87). Diğer birçok esansiyel amino asitlerden farklı olarak dallı zincirli amino asitler, birincil olarak karaciğer dışı dokularda metabolize olurlar. Çoğunlukla kas dokusunda metabolize olan dallı zincirli amino asitler, insan kas dokusu proteinlerindeki toplam amino asit miktarının yaklaşık %15'ini oluştururlar ve kaslardaki glutamin ve alanin sentezi için ana azot kaynağıdır (88).

Dallı zincirli amino asit katabolizması esas olarak, dallı zincirli amino asit aminotransferazlar (BCATs: Branched Chain Amino Acid Aminotransferases) ve dallı zincirli amino asit dehidrojenaz (BCKDH: Branched Chain Amino Acid Dehidrogenase) olmak üzere iki enzim grubunun aktivitesiyle düzenlenir. Bu enzimler dallı zincirli amino asitlerin yıkımını kontrol ederek enerji ve amino asit dengesinin korunmasında rol oynarlar. Bu nedenle, bu amino asitlerin metabolizmalarındaki bozukluklarda veya kanser gibi amino asit metabolizmasının yeniden düzenlendiği durumlarda bu enzim gruplarının terapötik olarak hedeflenmesi sıklıkla gözlemlenmektedir (5).

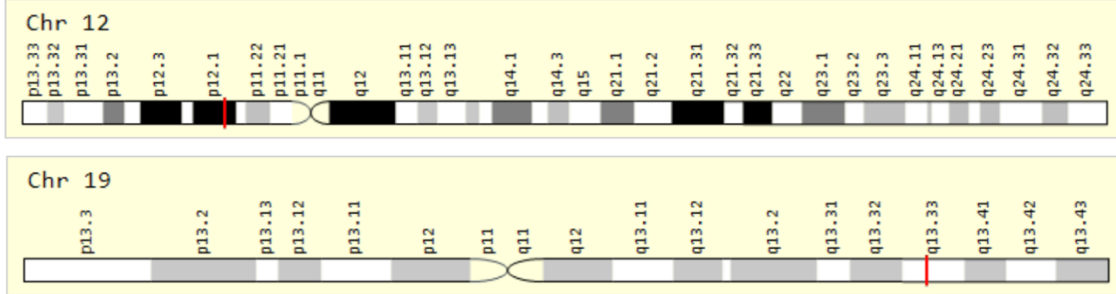
Dallı zincirli amino asit katabolizmasının ilk adımı, amino asitlerin yapısındaki amino grupları geri dönüşümlü bir reaksiyonla α -ketoglutarata aktarılarak glutamat ve geriye kalan karbon zincir α -ketoasitlerin oluşur. Bu reaksiyonlar kofaktör olarak piridoksal fosfat bağımlı dallı zincirli amino asit transaminazlar (BCAT) tarafından katalizlenir. Transaminasyon reaksiyonu sonucu valin, lösin ve izolösin amino asitlerinden sırasıyla, α -ketovalerik asit, α -ketoisokaproik asit ve α -ketometilvalerik asit olmak üzere α -keto asitler oluşur (Şekil 2.7) (89).



Şekil 2.7: BCAT enzimlerinin katalizlediği reaksiyon

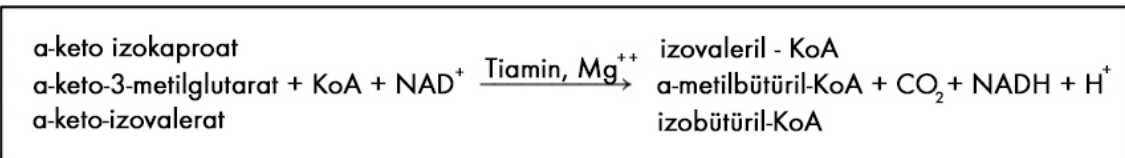
BCAT enzimlerinin ökaryotlarda iki izoformu bulunur: sitozolik izoformu BCAT1 (BCATc) ve mitokondriyal izoformu BCAT2 (BCATm). BCAT1 enzimi, 12p12.1'de lokalize BCAT1 geni tarafından kodlanan ve dokularda sınırlı bir ekspresyonu bulunan sitozolik bir aminotransferazdır. BCAT2 enzimi ise 19q13.33 lokasyonunda bulunan BCAT2 geni tarafından kodlanan ve iskelet kasları başta olmak

üzere pankreas, kolon ve mide gibi çeşitli dokularda eksprese edilen mitokondriyal bir aminotransferazdır (90). BCAT1 ve BCAT2 genlerinin kromozomal lokasyonları Şekil 2.8’de gösterilmiştir (91,92).



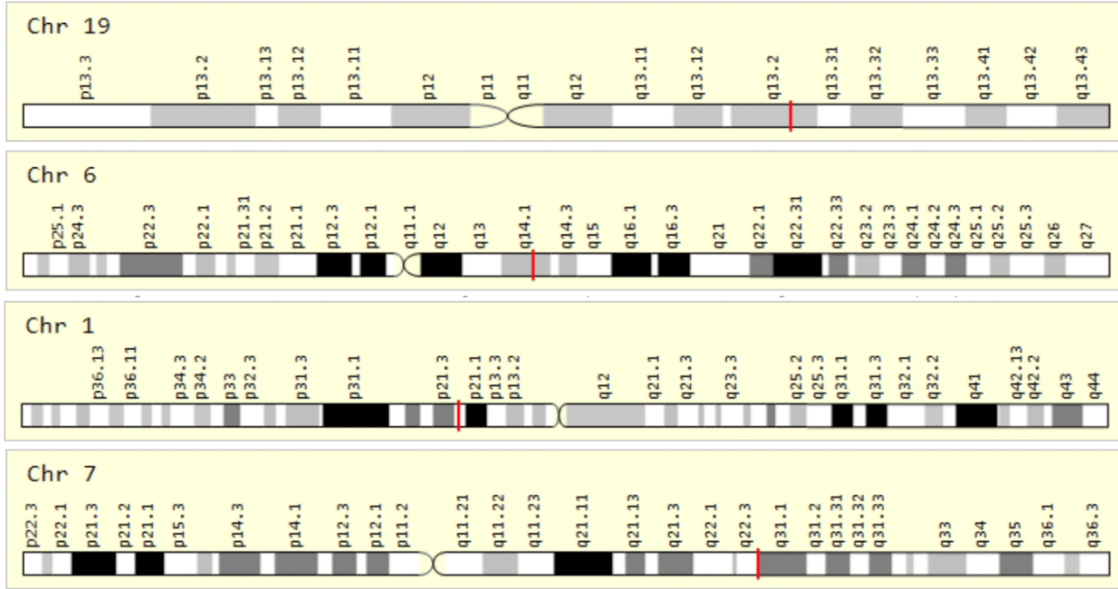
Şekil 2.8: BCAT1 ve BCAT2 genlerinin kromozomal lokasyonları

Dallı zincirli amino asit katabolizmasının ikinci adımı, ilk reaksiyonlar sonucu oluşan α -ketoasitler'in geri dönüşümsüz bir dekarboksilasyon reaksiyonu ile açıl-KoA esterlerine dönüşümüdür. Bu reaksiyonlar iç mitokondri membranında bulunan, kofaktör olarak tiamin bağımlı bir enzim olan dallı zincirli amino asit dehidrojenaz enzim kompleksi (BCKDH) tarafından katalizlenir. Reaksiyonlar sonucu α -ketovalerik asit, α -ketoisokaproik asit ve α -ketometilvalerik asit α -ketoasitlerinden sırasıyla, izovaleril KoA, 2-metilbütiril KoA ve izobütiril KoA oluşur (Şekil 2.9)(89).



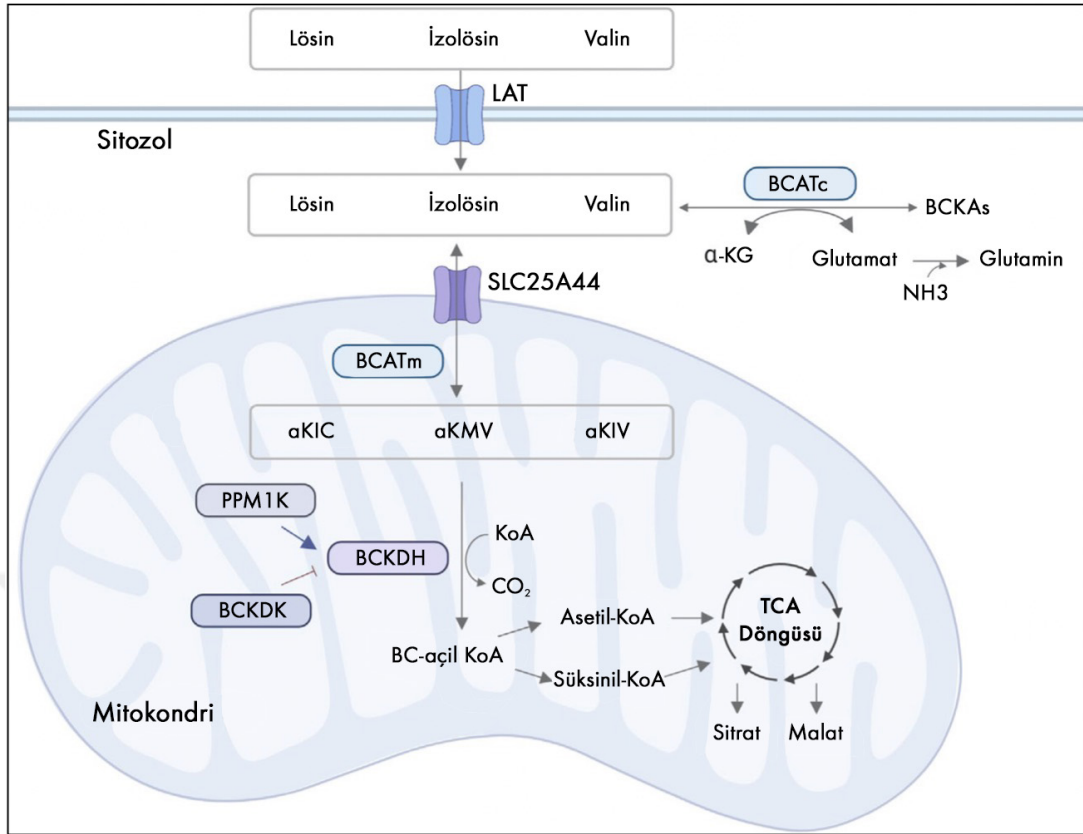
Şekil 2.9: BCKDH enziminin katalizlediği reaksiyon

Enzim kompleksi, α -ketoasitlerin dekarboksilasyonunu sağlayan heterotetramerik E1, açıl gruplarının CoA'ya aktarılmasını sağlayan E2 ve serbestleşen elektronların NAD'e aktarılmasını sağlama E3 olmak üzere üç katalitik bileşenden oluşur. Kompleksin bileşenleri farklı genler tarafından kodlanır: E1 alt biriminin α subuniti BCKDHA geni (19q13.2), β alt birimi BCKDHB geni (6q14.1), E2 alt birimi DBT geni (1p21.2) ve E3 alt birimi ise DLD geni (7q31.1) tarafından kodlanır (89). Bu genlerin kromozomal lokasyonları sırasıyla Şekil 2.10'da gösterilmiştir (93–96).



Şekil 2.10: BCKDH enzim kompleksini kodlayan genlerin kromozomal lokasyonları

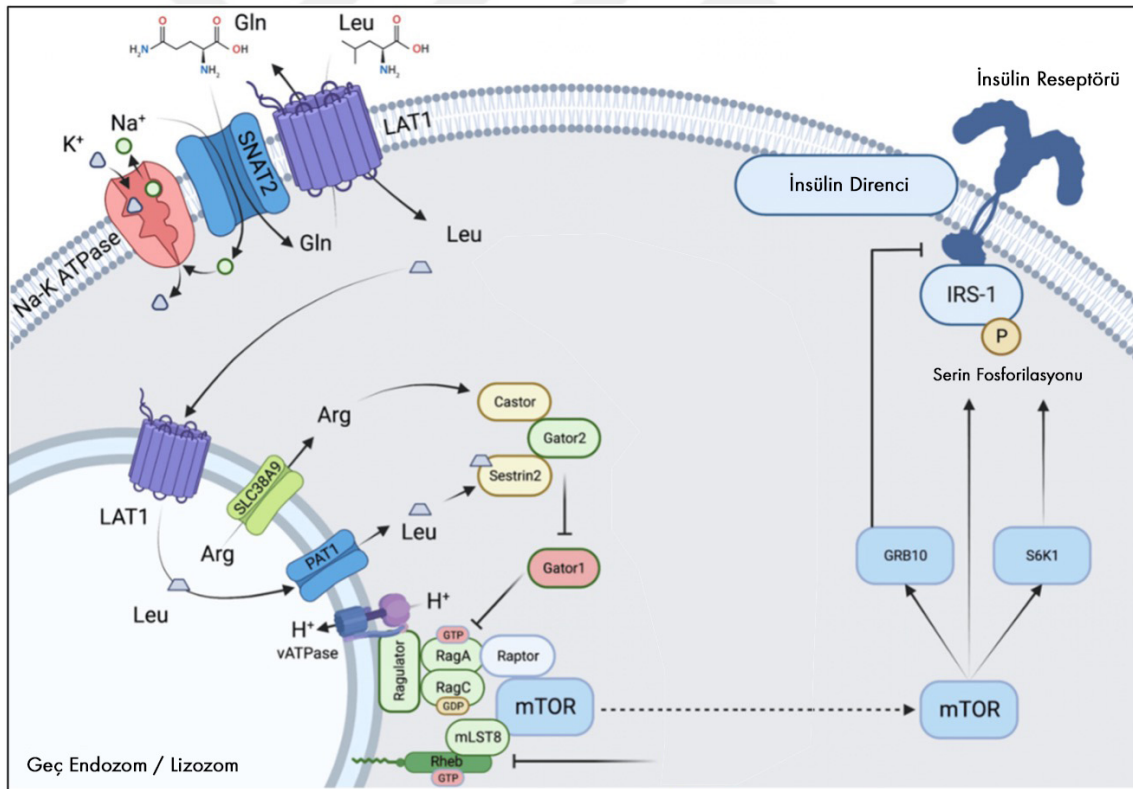
Dallı zincirli amino asit katabolizmasında üçüncü adım olarak BCKDH reaksiyonları sonucu oluşan açıl KoA esterlerin her biri metabolik ara ürünlere dönüşerek ATP üretimine katılırlar. Valin katabolizması sonucu sırasıyla α -ketovalerik asit ve izovaleril KoA ve sonunda süksinil KoA'ya dönüşerek TCA döngüsüne katılır. Bu nedenle valin glikojenik amino asit olarak değerlendirilir (97). Lösin katabolizması sonucu sırasıyla α -ketoisokaproik asit ve 2-metilbütil KoA oluşur, daha sonra asetoasetat ve asetil KoA'ya dönüşür, bu nedenle lösin ketojenik amino asit olarak kabul edilir. Son olarak izolösin katabolizması sonucu ise sırasıyla α -ketometilvalerik asit ve izobütil KoA oluşur, sonrasında süksinil KoA ve asetil KoA olduğundan izolösin hem glikojenik hem ketojenik amino asit olarak sınıflandırılır. Dallı zincirli amino asit katabolizması ve metabolik ara ürünlerin TCA döngüsüne katılımı Şekil 2.11'de gösterilmiştir (98).



Şekil 2.11: Dalı zincirli amino asit metabolizması

Dalı zincirli amino asitler, enerji üretimine katkıları ve doku proteinlerin yapısındaki amino asitlerin önemli bir kısmını oluşturmalarının yanısıra, sinyal iletiminin düzenlenmesi yoluyla protein sentezini uyarıcı etkileri bulunur (99). Dalı zincirli amino asitlerden özellikle lösin, hücre büyümesi, protein sentezi ve proliferasyon gibi süreçlerde merkezi rol oynayan mTORC1 (Mammalian Target of Rapamycin C1) kompleksinin güçlü bir aktivatörüdür. mTOR, hücrede amino asit dengesinin korunmasında iyi bilinen bir amino asit sensörüdür (100). Ortamda fizyolojik olarak yeterli miktarda lösin bulunduğu, mTORC1'in negatif regülatörü olan Sestrin2'ye doğrudan bağlanarak mTORC1'in aktivasyonunu sağlar ve protein sentezini artırır. Lösin yokluğunda ise Sestrin2, mTORC1 aktivitesinin pozitif düzenleyicisi olan Gator2'ye bağlanarak mTORC1'in aktivasyonunu engeller. Bu bağlamda lösin, mTORC1 tarafından hücre içi amino asit seviyesinin algılanmasında merkezi rol oynar (101).

Dallı zincirli amino asitler, enerji metabolizması üzerindeki etkilerini ayrıca glikoz metabolizmasını düzenleyerek de gösterebilirler. Özellikle iskelet kasında dallı zincirli amino asitler, protein sentezini ve glikoz taşıyıcılarının hücre membranlarına taşınması yoluyla glikozun hücreler tarafından alınımını arttırmırlar. Iwai ve ark. yaptıkları bir çalışmada, glikoliz ve TCA döngüsünün baskılandığı hücrelerde dallı zincirli amino asitlerin glikoz taşıyıcıları GLUT1 ve GLUT3'ün membrana translokasyonunu arttırarak hücreye glikoz girişini arttırdığını ve glikozun kullanımını arttırarak hücrede azalmış olan ATP miktarını arttırdığını göstermişlerdir (102). Diğer yandan, lösin varlığının neden olduğu mTOR aktivasyonu, insülin reseptör substratını (IRS-1) inhibe ederek insülin direncine sebep olabilmektedir. Bu nedenle, dolaşımdaki dallı zincirli amino asitler, glikoz alımının ve insülin duyarlılığının potansiyel moleküler belirteçleri olarak klinikte kullanılabilirler (103). Dallı zincirli amino asitlerin mTOR sinyal yolağı aktivasyonu ve insülin direncine etkileri Şekil 2.12'de gösterilmiştir (104).



Şekil 2.12: Dallı zincirli amino asitlerin mTOR aktivasyonu ve insülin direnci

Kanser hücreleri ve diğer sağlıklı hücreler gibi immün sistem hücreleri de hücre fonksiyonlarını yerine getirmek için dallı zincirli amino asitlere ihtiyaç duyarlar. Hücresel yakıt olarak kullanılmalarının yanısıra dallı zincirli amino asitler T hüresi

farklılaşmasında, nötrofil ve lenfositlerin immün fonksiyonlarında, ve proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesinde düzenleyici rolleri bulunur (99). Ancak tümör mikroçevresinde durum farklıdır. Kanser hücreleri artan enerji ihtiyaçlarını karşılamak için fazla miktarda dallı zincirli amino asitleri hücre içine alarak metabolize ederler. Böylece tümör mikroçevresinde bu amino asitler açısından fakir bir ortam oluşur. Mikroçevrede bulunan immün sistem hücreleri dallı zincirli amino asitleri olması gerekenden az miktarda kullanacağından hücrelerde fonksiyon bozukluklarına yol açar. Dallı zincirli amino asitlerin eksikliği CD4+ ve CD8+ T hücrelerindeki mTOR sinyalini azaltarak bu hücrelerin efektör fonksiyonlarının bozulmasına yol açar. Sonuç olarak, M2 makrofajları ve Treg hücreleri gibi bağışıklık hücreleri üretilir ve bunlar da immün sistem baskılayıcı sitokinler salgılayarak kanser büyümesi için bir ortam yaratır. Bu şekilde, kanser hücreleri mikroçevredeki immün sistem hücrelerini baskılayarak, tümörü tanıyıp yok etme kapasitesini azaltır ve tümör büyümesine ve metastazına olanak tanır. (105).

Dallı zincirli amino asitlerin kanser hücrelerinin enerji metabolizmaları üzerindeki etkileri bu amino asitleri kullanma şekillerinin farklılığına dayanır. Kanser hücrelerinin bu amino asitleri hücre içine alım hızları, metabolize etme şekilleri ve kullanım yolları kanser türüne göre değişmekle birlikte normal hücrelerden farklı bir işleyişe sahiptir. Bu farklılıklar, amino asitlerin alımını arttırmak için membranda bulunan amino asit taşıyıcılarının ekspresyonlarında artış, amino asitlerin katabolizmasında görevli ana enzimler BCAT ve BCKDH enzimlerinin ekspresyonlarındaki değişimler ve açığa çıkan metabolik prekürsörlerin hücrenel süreçlerde kullanım şekillerindeki farklılıklar olarak ortaya çıkar.

Dallı zincirli amino asitler enerji üretimine katkılarının yanında diğer bir çok fizyolojik görevleri nedeniyle kanser hücreleri tarafından da fazla miktarda kullanılır. Esansiyel amino asitler olduklarından hücrelere dolaşımdan veya çevre dokulardan amino asit taşıyıcıları yoluyla alınırlar. Bu nedenle kanser hastalarında dolaşımdaki dallı zincirli amino asit seviyelerindeki farklılık çeşitli çalışmalarla ortaya koyulmuştur (106). Mayers ve ark. yaptıkları bir çalışmada, pankreatik adenokarsinom kanserinin erken evrelerinde dolaşımdaki dallı zincirli amino asit seviyesinin yükseldiği ve bunun pankreatik adenokarsinoma riskini yaklaşık 2 kat arttırabildiğini göstermiştir (107). Diğer bir çalışmada ise menopoz öncesi kadınlarda dolaşımdaki dallı zincirli amino asit seviyelerinin meme kanseri ile ilişkisi bulunmazken menopoz sonrası kadınlarda ise

yüksek meme kanseri riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (108). Dolaşımdaki seviyeleri yükselen dallı zincirli amino asitler kanser hücreleri tarafından kullanılmak üzere fazla miktarda hücre içine alınır. Dallı zincirli amino asitlerin membrandaki spesifik taşıyıcılarının (SLC1A2, SLC1A5 ve SLC7A5) ekspresyon seviyesinin pankreas kanseri hastaların dokularında sağlıklı dokulara göre yüksek olduğu bulunmuştur (109).

Artan metabolik ihtiyaçlar doğrultusunda, fazla miktarda hücre içerisine alınan dallı zincirli amino asitlerin enerji üretimi ve azot donorü olarak kullanılmak üzere katabolizmalarında da bir artış görülmektedir. Sağlıklı bireylerde BCAT1 enzimin sinir sistemi, karaciğer, T lenfositleri ve makrofajlar gibi dokularda ve hücrelerde sınırlı ekspresyonu bulunurken çoğu kanser türünde BCAT1 enzimi yüksek ekspresyon göstermektedir. Lin ve ark. yaptıkları bir çalışmada, 107 küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarından 60'ında yüksek BCAT1 ekspresyonu tespit edilmiş ve nod metastazı, ileri evre ve düşük sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca akciğer kanseri hücrelerinde BCAT1 ekspresyonunun baskılanması hücrelerin proliferasyon hızı ve invazyon kapasitesini azalttığı görülmüştür (110). Hepatosellüler karsinoma üzerine yapılan diğer bir çalışmada, BCAT1 ekspresyonu karaciğer dokularında anlamlı düzeyde artış göstermiş ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (111).

Bazı kanser türlerinde BCAT1 ekspresyonu epigenetik olarak düzenlenebilir. Glioblastoma tümörlerinde TCA döngüsünde görevli vahşi tip (wild type) izositrat dehidrojenaz 1 ve 2 (IDH1 ve 2) taşıyanlarda BCAT1 ekspresyonunun yüksek olduğu bulunmuştur. IDH1 veya IDH2'deki mutasyonlar, BCAT1 geninin promotörünün metilasyonu ile BCAT1'in epigenetik susturulması yoluyla BCAT1 ekspresyonunun baskılanmasına katkıda bulunabilir. IDH enzimi TCA döngüsünde izositratı α -ketoglutarata dönüştüren enzimdir. Mutant IDH enzimi varlığında ise α -ketoglutarat yerine bir onkometabolit olan 2-hidroksiglutarata oluşur. Diğer yandan ortamda BCAT1 substratı olan α -ketoglutaratın tükenmesi de BCAT1 aktivitesi için baskılayıcı etki yaratmış olabileceğini düşündürmektedir (112).

Dallı zincirli amino asit metabolizmasında, α -keto asitlerin geri dönüşümsüz olarak dekarboksilasyonunu sağlayan BCKDH enzim kompleksinin E1 α alt biriminin (BCKDHA) farelerde ve hücre kültüründe susturulmasının pankreatik duktal adenokarsinomlarda hücre proliferasyonunu önemli ölçüde baskıladığı gösterilmiştir (109). Panreatik duktal adenokarsinomlarda yapılan diğer bir çalışmaya göre, BCAT1

enziminin tümör mikroçevresinde kanser ilişkili fibroblastlarda dallı zincirli α -keto asitlerin üretiminden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Üretilen α -keto asitler hücreler tarafından tümör mikroçevresinden alınabilir ve BCAT2 tarafından tekrar aminasyon ile protein sentezine katılmak üzere dallı zincirli amino asitlere dönüşebilir. Diğer bir olasılıkta ise α -keto asitler, BCKDH kompleksi tarafından enerji üretiminde kullanılmak veya makromolekül sentezine katılmak üzere dekarboksilasyon ile oksitlenebilir (113).

Dallı zincirli amino asit metabolizmasının kanserlerdeki yeniden düzenlenmesi kanser türüne, genetik mutasyonlarına ve tümör mikroçevresine bağlı olduğu görülmektedir. Bu nedenle, dallı zincirli amino asit metabolizmasının diğer metabolik yollarla ilişkisinin kanser progresyonundaki rolü göz önünde bulundurulduğunda, dallı zincirli amino asit metabolizmasında yer alan metabolik enzimlerin etkili olduğu kanserler için potansiyel terapötik hedefler olabilir.

2.2.3. Baş Boyun Kanserinde Metabolik Değişimler

Baş boyun kanserinde diğer kanser türlerinde olduğu gibi tümör büyümesi proliferasyon hızı ve metastaz kapasitesi gibi özelliklerin devamlılığı için hücre metabolizmasının yeniden programlanması önem teşkil eder. Ancak her kanser türünde bu programlanma süreci farklı işleyebilir. Bu nedenle, bu süreçlerin iyi anlaşılması baş boyun kanseri tedavilerinde yeni hedefler geliştirilmesine imkan sağlayacaktır.

Baş boyun kanserin en yaygın görülen türü olan oral skuamoz hücreli karsinomlarda glikozun hücre içine alınmasını sağlayan glikoz taşıyıcılarının (GLUT) yüksek ekspresyonu gözlemlenmiş ve yüksek tümör derecesi ile korelasyon göstermiştir (114). Yüksek ekspresyon gösteren taşıyıcılar ile hücre içine alınan glikoz metabolik yollara girebilmesi ve katabolize olabilmesi için gerekli olan heksokinaz, glikoz 6-fosfat dehidrojenaz, fosfofruktokinaz ve pirüvat kinaz enzimlerinde aşırı ekspresyon gözlemlenmiş ve oral skuamoz hücreli karsinom hastalarının prognozu ile ilişkilendirilmiştir (115–117). Glikoz miktarındaki artışa bağlı olarak artan glikoliz fazla miktarda laktat üretimine yol açar. Artan laktat üretimi, invazyon ve metastazı kolaylaştıran asidik bir tümör mikroçevresi oluşumuna neden olur (118).

Hücre içine alınan glikoz, glikolizin yanısıra metabolik ihtiyaçlar doğrultusunda hücre içi redoks dengesinin korunması ve yağ asidi sentezi için NADPH ve DNA ve RNA sentezi için riboz 5-fosfat üretmek üzere pentoz fosfat yoluna girebilir. Son yıllarda

yapılan birkaç çalışmada pentoz fosfat yolu enzimleri olan glikoz 6-fosfat dehidrojenaz ve transketolaz enzimlerinin baş boyun kanseri doku ve hücrelerinde yüksek ekspresyonuna sahip olduğu gösterilmiştir (119,120). Diğer bir çalışmada, glikoz 6-fosfat dehidrojenaz enziminin baş boyun kanseri hücrelerindeki ve fare modellerindeki inhibisyonunun, ROS seviyesini ve endoplazmik retikulum stresini arttırarak tümör büyümesini ve metastaz kapasitesini baskıladığı görülmüştür (121).

Baş boyun kanserinde lipid metabolizmasının yeniden düzenlenmesi karsinogenez için önemlidir. Yağ asitlerinin sentezi ve oksidasyonu, sinyal iletiminde görevli lipidlerin sentezi ve membran lipidlerinin sentezi gibi önemli süreçleri yöneten enzim ve proteinlerin baş boyun kanserlerindeki aktiviteleri çeşitli çalışmalarla tanımlanmıştır (122). Yağ asitlerinin dış ortamdan hücre içine alınmasını sağlayan bir translokaz olan CD36 ve uzun zincirli yağ asitlerinin hücre içine girişini sağlayan yağ asidi bağlayıcı proteinlerin yüksek ekspresyonu baş boyun kanserinde hücre proliferasyonu, migrasyonu ve lenf nodu metastazı ile ilişkilendirilmiştir (123). Endojen yağ asitlerinin sentezinde asetil KoA'yi malonil KoA'ya dönüştüren asetil KoA karboksilaz ve zincirin uzatılmasını sağlayan yağ asidi sentaz enzimleri görevlidir. Bu enzimlerin baş boyun kanserindeki aşırı ekspresyonları ileri evre kanser, kötü prognoz ve düşük sağkalım ile ilişkilendirilmektedir (124). Bununla birlikte son yıllarda yapılan bir çalışma, bu enzimlerin baş boyun kanserinde kemoterapi direncine neden olabileceğini göstermiştir (125).

Baş boyun kanserindeki metabolik değişimlerin bir çoğu tanımlanmış olsa da, bu değişikliklerin tamamen anlaşılması yalnızca baş boyun kanserlerinin patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlamakla kalmaz aynı zamanda hasta sağkalımlarını iyileştirebilmek için hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlar.

2.2.3.1. Baş Boyun Kanserinde Amino Asit Metabolizmasında Genetik Değişimler

Baş boyun kanserinde, amino asitler ile ilişkili enzimler, metabolitler ve ilgili taşıyıcıların her biri potansiyel bir tedavi hedefi olabileceği için bu amino asitlerin metabolizmalarındaki değişimlerin belirlenmesine yönelik çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. L-[3-18F]- α -metiltirozin kullanılan bir PET görüntülemesinde, baş boyun kanseri hastalarının primer tümör ve metastatik lenf nodu dokularının yüksek amino asit alımı sergilediği görülmüştür. Bu da, amino asit metabolizmasının baş boyun kanseri onkojenezinde kritik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (126).

Baş boyun kanserinde yeniden düzenlenen amino asit metabolizması ile ilişkili olarak, ilgili amino asitlerin metabolik ihtiyaca göre hücre içine alınması veya hücre dışına salınması spesifik amino asit taşıyıcıları aracılığıyla düzenlenir. Glutamin dolaşımında en bol bulunan yarı esansiyel bir amino asittir. Diğer bir çok kanser türünde olduğu gibi baş boyun kanserinde de glutamin, azot kaynağı, nükleotid sentezi ve enerji üretimi için metabolik prekürsörler oluşturması ile kanser patogenezinde önemli bir rol oynar (127). Glutamin hücrel ihtiyaçları karşılamak üzere plazmadan hücre içine SLC1A5 (ASCT2), SLC28A1 ve LAT1 adı verilen taşıyıcılar ile alınır. Bu taşıyıcılardan SLC1A5 glutamine en yüksek afiniteyi gösterir. 89 oral skuamoz hücreli karsinoma hastalarından alınan doku örneklerinde yapılan bir çalışmada, SLC1A5'in önemli ölçüde artmış ekspresyonu hastaların düşük sağkalımı ile ilişkilendirilmiştir. In vitro ve in vivo çalışmalarda ise hücrelerin glutamine olan bağımlılığı nedeniyle, SLC1A5'in susturulmasının tümör büyümesini baskıladığı ve hücrelerde glutatyon sentezinin baskılanması ile ROS birikimine ve apoptoza neden olduğu görülmüştür (128). Glutamin, glutaminaz enzimi katalizi ile yapısındaki amino grubunu kaybederek glutamata dönülebilir. Glutamat, α -ketoglutarata dönüşerek enerji üretimi için TCA döngüsüne girebilir veya esansiyel olmayan amino asitlerin sentezine katılabilir. Çalışmalar c-myc onkogeninin transkripsiyon seviyesinde glutaminazın yukarı regülasyonuna yol açabildiğini ve oral kanser hücrelerinde c-myc mRNA seviyesi ve glutaminaz mRNA seviyesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (129).

Hücrelerdeki amino asit giriş çıkışından sorumlu diğer bir taşıyıcı SLC7A11 (xCT), bir glutamat/sistein antiportudur. Glutamatın hücre dışına çıkması karşılığında sisteinin hücre içine girişini sağlar. İnsan kanserlerinde yüksek ekspresyonu tespit edilen bu antiport, hücre içine fazla miktarda sistein girişi ile glutatyon sentezini artırır, böylece hücrenin antioksidan kapasitesini artırarak tedavi direnci kazandırır. Baş boyun kanseri hücrelerinde xCT taşıyıcısının inhibisyonu hücredeki sistein düzeyini ve glutatyon sentezini azalmış, hücre dışına çıkamayan fazla miktarda glutamatın ise α -ketoglutarata dönüşerek TCA döngüsü aktivitesini arttırdığı görülmüştür. Aksine, xCT'nin hücrelerdeki aşırı aktivasyonun glutatyon sentezini arttırdığı ve glutamat yoksunluğu sebebiyle hücrede TCA döngüsü yerine glikoliz hızının arttığı gözlemlenmiştir (130).

Hücreler fizyolojik olarak nükleotid, protein ve lipid sentezini devam ettirebilmek için tek karbon taşıyıcısı birimlere ihtiyaç duyarlar. Kanser hücreleri gibi hızlı çoğalan

hücrelerde bu ihtiyaç normal hücrelere göre daha fazladır. Bu nedenle kanser hücreleri, tek karbon taşıyıcısı birimlerin sentezinde görevli olan serin ve glisin metabolizmasını değiştirerek tek karbon taşıyıcısı birimlerin sentezini arttırmırlar. Bir glikoliz ara metaboliti olan 3-fosfogliserat ve glutamat serin sentezinde görevli enzimler aracılığı ile serine dönüşür. Serin daha sonra yapısındaki karbonu tek karbon taşıyıcısı olan tetrahidrofolata aktararak glisine dönüşür (131). Baş boyun kanseri örneklerinde yapılan bir çalışmada, p53 tümör süpresör ailesinin onkogenik bir üyesi olan p63, serin sentezinde görevli enzimlerin promotor bölgelerinde bağlanarak aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir. baş boyun kanseri hücre hatlarında p63'ün susturulması bu enzimlerin mRNA ve protein seviyelerinde azalmaya neden olmuştur. Baş boyun kanserlerinde yüksek ekspresyon gösteren p63 ve serin biyosentezi enzimlerinin hastaların sağkalımı ile doğrudan ilişkili olabileceği belirlenmiştir (132).

Son yıllarda protein veya spesifik amino asit kısıtlamalarını içeren diyetler kanser tedavileri için destekleyici etki göstermektedir. Bu kısıtlama diyetleri, kanser hücrelerini düşük enerjili metabolizmaya yeniden programlamanın yanı sıra hücre çoğalmasını da önemli ölçüde engellemektedir (133). Arjinin vücutta nitrik oksit, poliaminler, üre ve nükleotidlerin sentezinde görevli esansiyel olmayan amino asittir. Ancak kanser hücrelerinin yüksek metabolik ihtiyacı karşısında, endojen arjinin sentezi yeterli olmadığından bir kısım arjininin diyetle vücuda alınması gerekir. Huang ve ark. baş boyun kanseri hücre hatlarında yaptıkları bir çalışmada, içerisinde arjinin bulunmayan besiyerinde kültürlenmiş hücrelerin büyümesinin neredeyse tamamen durduğu gözlemlendi. (134). Benzer şekilde esansiyel bir amino asit olan metiyoninin yoksunluğu baş boyun kanseri hücrelerinin büyümesinde azalmaya neden olmuştur (135). Metiyonin aynı zamanda vücutta metil grubu vericisi olarak görev yapan S-adenozil-metiyonin (SAM) sentezinde kullanılır. SAM epigenetik modifikasyon sırasında sitozin veya histonlara metil vericisi olarak hareket ederek gen ifadesinin aktivasyonunu veya baskılanmasını sağlar. Mosca ve ark. baş boyun kanseri hücrelerinde yaptıkları bir çalışmada, SAM uygulanmış hücrelerin hücre döngülerinde ve invazyon kapasitelerinde inhibisyona neden olduğunu belirlemişlerdir (136).

Hücrel amino asit içerikleri, kanser türlerinde bölgesel olarak gelişen metabolik ihtiyaca göre çeşitlilik göstermektedir. 59 baş boyun kanseri hastasının tümör ve tümör çevresi normal dokularında yapılan bir çalışmada, larinks bölgesinden alınan tümör

dokularında valin, serin, treonin, glutamat, aspartat ve glisin amino asitlerinin miktarının tümör çevresi normal dokulara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan ağız boşluğu, dudak ve dil gibi oral bölgeden alınan tümör dokuları ile normal dokular arasında amino asit içeriği bakımından önemli bir farklılık görülmemiştir (137).

Amino asit metabolizmasının kanser türüne göre değişmekle birlikte, tümör progresyonu, hasta sağkalımı ve tedaviye yanıt açısından kritik bir öneme sahiptir. Bu nedenle amino asit metabolizmasının kanserlerdeki rolünün belirlenmesine yönelik çalışmalar, tedavi stratejilerinin geliştirilmesi sürecinde izlenecek yolun belirlenmesi konusunda önem kazanmaktadır. Bu tez çalışmasında, oldukça heterojen bir kanser türü olan baş boyun kanserinde, diğer kanser türlerinde kritik roller üstlenen esansiyel amino asitler olan dallı zincirli amino asitlerin metabolizmalarındaki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından baş boyun kanseri teşhisi almış 81 hastanın tümör ve tümör çevresi sağlıklı doku örnekleri, hastalardan eş zamanlı olarak alınmış kan ve idrar örnekleri kullanılmıştır. Çalışma için İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onam alınmıştır (04.10.2021-518221, 2021/1503). Hastalar çalışmaya dahil edilmeden önce yapılacak olan çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş gönüllü onam formu ile bilgilendirilip imzalı onayları alınmıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik olarak değerlendirilmesi ve örneklerin alınması İstanbul Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapılmış ve alınan örnekler uygun koşullarda saklanmak üzere Anabilim Dalı'mıza getirilmiştir. Getirilen doku örnekleri içerisinde RNAlater solüsyonu bulunan kriotüplere konularak -80 °C'de muhafaza edildi. Kan örnekleri 5.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmış ve 1,5ml ependorf tüplere konularak -30 °C'de muhafaza edilmiştir. İdrar örnekleri ise 15ml'lik falkonlara alınarak -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2. Kullanılan Malzemeler ve Kitler

Tablo 3.1: Kullanılan malzemeler ve kullanım amaçları

Malzeme	Amaç
RNA Later (Invitrogen)	Doku örneklerinin muhafaza edilmesi
Trisolution (Gene Mark)	Doku örneklerinden RNA izolasyonu
Kloroform (Sigma Aldrich)	RNA izolasyonu sırasında RNA'nın ayrıştırılması
Izopropil alkol (Sigma Aldrich)	RNA izolasyonunda RNA'nın çöktürülmesi
Etanol (Sigma Aldrich)	RNA izolasyonunda RNA'nın saflaştırılması
cDNA sentez kiti (Applied Biosystems)	RNA'dan komplementer DNA sentezi

TaqMan Master Mix (Applied Biosystems)	Gen ekspresyon analizinde
TaqMan gene expression assay primers (Applied Biosystems)	Gen ekspresyon analizinde BCAT1,BCKDHA ve GAPDH primerleri
BCAT1 BCKDHA Elisa kitleri (BTLAB)	Serumda protein seviyesinin belirlenmesi

3.3. Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.2: Kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları

Cihaz	Amaç
Buzdolabı (+4, -20,-30 °C)	Örneklerin muhafaza edilmesi
Derin Dondurucu (-80 °C)	Örneklerin muhafaza edilmesi
Mikrosantrifüj (Beckman Coulter)	Deneyler sırasındaki santrifüj işlemleri
Hassas Terazi (Mettler)	Doku örneklerinin tartılması
NanoDrop (MaestroNano)	RNA örneklerinin konsantrasyon ve saflığının ölçülmesi
Mikroplate Okuyucu (ThermoFisher Scientific Multiscan Sprettrum)	ELISA plakalarının absorbansının ölçülmesi
PCR Cihazı (Applied Biosystems)	cDNA sentezi
RealTime PCR Cihazı (BioRad)	Real-Time PCR ile gen ekspresyon seviyesinin belirlenmesi
LC-MS/MS (ThermoFisher Scientific TSQ Quantum Access Max)	Amino Asit Düzeylerinin belirlenmesi
GC-MS (ThermoFisher Scientific TRACE 1300)	İdar Organik Asit düzeylerinin belirlenmesi

3.4. Dokudan Total RNA İzolasyonu

Doku örneklerinden total RNA izolasyonu için TriSolution RNA izolasyon kiti kullanılmıştır.

İzolasyon için ilk olarak 10-20 mg doku örneği hassas terazi yardımıyla tartıldı. Tartımı yapılan dokular bistüri yardımı ile mümkün olduğunca küçük parçalara ayrıldı ve ependorf tüplere konuldu. Daha sonra her bir tüpe 1ml Trizol solüsyonu eklendi. Daha ileri parçalanma için doku parçaları solüsyon ile birlikte 18-21'lik şırıngadan geçirildi. Üzerine 200 µl kloroform eklendi ve homojen hale gelmesi için vortekslenildi. Tüpler oda sıcaklığında 10dk inkübe edildi. Daha sonra tüpler 12.000g'de 4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüplerde üst kısımdaki içinde RNA'yı bulduran şeffaf süpernatant kısmı yeni tüplere alınırken altta kalan hücre ve protein artıklarını oluşturan koyu renkli kısım uzaklaştırıldı. Tüplere alınan süpernatantın üzerine 500 µl izopropil alkol eklendi. Vortekslenerek oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra tüpler 12.000g'de 4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüplerin dip kısmında RNA'yı bulduran beyaz bulutsu pellet gözlemlendi. Pelletin kalkmamasına dikkat edilerek süpernatant kısmı uzaklaştırıldı. Daha sonra yıkama aşamasında tüplere 1ml hacimde %75 etanol eklendi. Tüpler vortekslenerek pelletin homojenizasyonu sağlandı. Tüpler 12.000g'de 4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası etanol uzaklaştırıldı, tüplerde kalan etanolün uçurulması için tüpler kapakları açık olacak şekilde oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Etanol uzaklaştırıldıktan sonra tüplere 50 µl RNAaz'lardan arındırılmış distile su eklenerek RNA'nın çözdürülmesi sağlandı. RNA örnekleri çalışmaya dahil edilinceye kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

3.4.1. RNA'nın Konsantrasyonunun ve Saflığının Ölçülmesi

Dokulardan izole edilen RNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflığı NanoDrop cihazı ile ölçüldü. Cihaza yüklenen RNA örneklerinin konsantrasyonu 260nm dalga boyundaki optik yoğunluğundan (OD), saflığı ise 260/280nm OD oranından tespit edilmiştir.

3.5. cDNA Sentezi

cDNA sentezi için reaksiyona başlamadan önce -80 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilen RNA örneklerinin konsantrasyonları birbirine eşitlendi. High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kiti (içeriğinde bulunan reaktanlar Tablo 3-3'de gösterilen miktarlarda kullanılarak karışım hazırlanmıştır. Daha sonra her 10 µl RNA örneği için 10 µl reaksiyon karışımı PCR tüplerinde karıştırılmıştır. PCR tüpleri Thermal Cycler cihazına yerleştirildi. Tablo 3-4' de gösterilen sıcaklık ve zamanda cDNA sentezi gerçekleştirildi. Sentezi tamamlanan cDNA örnekleri -20 °C'de muhafaza edildi.

Tablo 3.3: cDNA reaksiyon karışımı içerikleri

Bileşenler	Hacim (μ l)
10X RT Buffer	2
2X dNTP Mix	0,8
10X Random Primer	2
Multiscribe Reverse Transcriptase	1
RNase İnhibitor	1
Nuclease-Free H ₂ O	3,2
RNA	10
Toplam	20

Tablo 3.4: cDNA sentezi reaksiyon sıcaklık ve süreleri

Sıcaklık ($^{\circ}$ C)	Zaman (dk)
25	10
37	120
85	5
4	∞

3.6. Real-Time PCR (qPCR) yöntemi ile Gen Ekspresyonu Seviyesinin Değerlendirilmesi

Sentezlenen cDNA örnekleri kullanılarak BCAT1 ve BCKDHA hedef genlerinin ekspresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Analizin normalizasyonu için housekeeping gen olarak GAPDH kullanılmıştır. Analizde her bir gen için kullanılacak olan primer proplar deney öncesinde 1:10 oranında sulandırılmıştır. Tablo 3-5’de gösterilen reaksiyon içerikleri uygun miktarlarda kullanılarak her bir prob için ayrı reaksiyon içerikleri

hazırlanmıştır. Her bir prob için ayrı 96 kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. Her bir kuyucuğa hazırlanan karışımdan 18 µl koyulmuştur. Daha sonra her bir kuyuda bir hastanın cDNA örneği olacak şekilde karışımların üzerine 2 µl cDNA örnekleri eklenmiştir. Böylece toplamda 3 adet 96 kuyucuklu plakada 81 hastanın cDNA örneklerinden gen ekspresyonu analizi çalışılmıştır. Daha sonra plakalar BioRaD CFX96 Real-Time PCR cihazına yerleştirilerek Tablo 3-6'da belirtilen sıcaklık ve inkübasyon süreleri ayarlanarak reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyon sonrasında C_T değerleri elde edilmiştir, gen ekspresyonu değişimlerini belirlemek için C_T değerlerinden kat değişimi hesaplaması yapılmıştır.

Tablo 3.5: Real-Time PCR reaksiyonu karışımı içerikleri

Bileşenler	Hacim (µl)
Gene Expression Master Mix	10
Nuclease Free H ₂ O	7,5
TaqMan Primer Prob	0,5
cDNA	2
Toplam	20

Tablo 3.6: Real-Time PCR reaksiyon koşulları

	Sıcaklık (°C)	Döngü	Süre (dk)
Denatürasyon ve Polimeraz Aktivasyonu	95	1x	1dk
Denatürasyon	95	40x	15sn
Bağlanma ve Uzama	60	40x	1dk

3.7. ELISA Yöntemi ile Serumdaki Protein Seviyesinin Değerlendirilmesi

Hastalardan alınan kan örneklerinden elde edilen serum örneklerinden BT LAB ELISA kitleri ile BCAT1 ve BCKDHA proteinlerinin serumdaki seviyeleri değerlendirilmiştir.

Deney öncesinde -30 °C’de muhafaza edilen serum örnekleri çözündürülmek üzere oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra serum örnekleri 3000 rpm’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı yeni tüplere alınmıştır. ELISA için kullanılacak 96 kuyucuklu plakada normalizasyon için kullanılacak standartların ve örneklerin koyulacağı kuyular belirlenmiştir. Daha sonra kit içeriğinde bulunan standart solüsyonu, standart dilüent ile seri dilüsyon şeklinde seyreltilerek BCAT1 ve BCKDHA için sırasıyla 2-64 ng/ml ve 0,75-24 ng/ml olacak şekilde toplamda altışar standart örneği hazırlanmıştır. Standart örnekleri ikişer tekrarlı olacak şekilde her bir kuyuya 50 µl yüklenmiştir. Santrifüjlenen serum örnekleri ise örnek kuyularına 40 µl yüklenmiştir. Daha sonra standart kuyuları hariç diğer kuyulara 10 µl BCAT1 ve BCKDHA antikorları, tüm kuyulara ise 50 µl Streptavidin-HRP yüklenmiştir. Plakaların üzeri kapatılıp 37 °C’de 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra her bir kuyucuk 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkanmış, bu adım 5 kez tekrar edilmiştir. Yıkama adımlarından sonra her bir kuyuya 50 µl kit içeriğinde bulunan A solüsyonu ve 50 µl B solüsyonu eklenmiştir. plakaların üzeri kapatılıp 37 °C’de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra tüm kuyulara 50 µl Stop solüsyonu eklenmiş ve kuyulardaki maviden sarıya renk değişimi gözlemlenmiştir. Plakalar 450 nm dalga boyunda mikropłaka okuyucuda okutulmuştur.

3.8. İdrar Örneklerinde GC-MS Yöntemi ile Organik Asit Tayini

Hastalardan alınan idrar örneklerinden GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi) yöntemi ile organik asitler tayin edilmiştir.

Deney öncesi internal standartların hazırlanması için 100mg 4-fenilbütirik asit 100 ml distile suda çözündürüldü. Hidroksilamin hidroklorid hazırlığı için 4 gram hidroksilamin HCl 100ml distile suda çözündürüldü.

Örneklerin hazırlanması aşamasında, 15ml’lik falkon tüplerine 2,5ml idrar örneği koyuldu. Her bir idrar örneğinin üzerine hazırlanan internal standartlar eklendi. Eklenecek olan internal standart miktarı her bir idrar örneğinin kreatinin değerine göre hesaplandı. Daha sonra her bir örneğin üzerine 500 µl Hidroksilamin HCl ilave edildi.

Örneklerin pH değerleri 0-2 arasında olacak şekilde HCl ilave edildi. Daha sonra örnekleri 60 °C'de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası örnekler 3000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi.

Her bir örnek için ayrı olacak şekilde ikinci tüpler hazırlandı ve içlerine Na₂SO₄ konuldu. Santrifüj sonrası örneklerin üst fazı ikinci tüplere transfer edildi. Kalan pellet kısmının üzerine 6 ml etil asetat eklenerek vorteks yapıldı ve tekrark santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst faz tekrar ikinci tüplere aktarıldı. 15 dk tüplerin ağızları açık olacak şekilde çeker ocak altında bekletildi. Bu işlemden sonra üstte kalan kısım dikkatli bir şekilde yeni tüplere aktarıldı. Yeni tüpler azot uçurma sistemi altında 60 °C'de 1 saat bekletildi. Daha sonra kurutucudan alınan tüplere 250 µl kloroform ve 250 µl MSTFA eklendi. Tüpler 60 °C'de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüplerdeki örnekler vial tüplerine alınarak GC-MS sisteminde 1µl injeksiyon yapıldı. Analiz sonrası pikler internal standarta göre değerlendirildi.

3.9. LC-MS/MS Yöntemi ile Serumdaki Amino Asit Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Hastalardan alınan serum örneklerinden LC-MS/MS (Likit Kromatografi-Kütle/Kütle Spektrometrisi) yöntemi ile dallı zincirli amino asitler; valin, lösin, izölösinin yanı sıra 20 farklı amino asitin seviyeleri değerlendirilmiştir.

Deney öncesi hazırlık aşamasında, internal standart hazırlamak için ölçülmek istenen toz haldeki her bir amino asitten 0,001g tartılıp üzerine 1mL 0,1N HCl eklendi ve bir kaç dakika vorteks yapılarak tamamen çözünmesi sağlandı. Hazırlanan her amino asit solüsyonundan 80 µl alınarak 1840 µl'lik amino asit karışımı hazırlandı. Bu karışım sülfosalisilik asit (SSA) ile 15ml'ye tamamlandı.

Hastaların serum örneklerinden ependorf tüplere 50 µl alınıp üzerine 50 µl internal standart eklendi. 40-50 saniye vorteks yapılarak tamamen homojen olduktan sonra +4 °C'de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 10000g'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatantlar filtreli tüplere alındı. Filtreli tüpler 10000g'de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası filtrenin altında kalan kısım vial tüplere alındı ve cihaza yerleştirilmiştir. Okuma sonrası pikler internal standart ve kalibrasyon eğrisine göre değerlendirildi.

3.10. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen sonuçların istatistiksel analizi SPSS 29.0 programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Çalışma grubunda demografik verilerin karşılaştırılmasında Students' *t*, One-way ANOVA, Mann Whitney U ve Kruskal-Wallis testleri kullanılmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubuna Ait Klinik ve Demografik Veriler

Çalışmamıza baş boyun kanseri tanısı almış 81 hasta dahil edilmiştir. Çalışma grubuna ait klinik parametreler ve demografik veriler Tablo 4-1 ve Tablo 4-2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Çalışma grubuna ait demografik veriler

Parametre	Hasta (n=81)		
Yaş (yıl)	57.38±13.42		
Cinsiyet (K/E)	23/58		
Aile Öyküsü (evet/hayır) (%)	33/67		
Sigara Kullanımı (evet/hayır) (%)	74/26		
Hipertansiyon varlığı (evet/hayır) (%)	24/76		
KOAH varlığı (evet/hayır) (%)	5/95		
Lenf Nodu Tutulumu (evet/hayır) (%)	47/53		
Tümör Lokalizasyonu (Larinks/Diğer)	37/63		
Diferansiyasyon (%)	Az	Orta	İyi
	23	59	18
Tümör Evresi (%)	Evre 1-2		Evre 3-4
	11		89

Tablo 4.2: Çalışma grubuna ait klinik parametreler

Parametre	Birim
Hemoglobin (g/dL)	13.56±1.56
Lökosit (%)	8.96±2.54
Na ⁺ (mEq/L)	140.11±3.08
K ⁺ (mEq/L)	4.42±0.40
Cl ⁻ (mg/dL)	99.63±3.25

Ca ⁺² (mg/dL)	9.55±0.59
Kan Üre Azotu (BUN) (mg/dL)	15.95±5.11
Kreatinin (mg/dL)	1.36±0.82
AST (U/L)	18.89±7.19
ALT (U/L)	19.64±13.84
Albumin (g/L)	3.86±0.52
Total Protein (g/dL)	6.38±0.76
aPTT (s)	25.79±3.02
PTZ (s)	11.70±1.05
INR	0.96±0.08

4.2. Real-Time PCR Gen Ekspresyonu Analizi Sonuçları

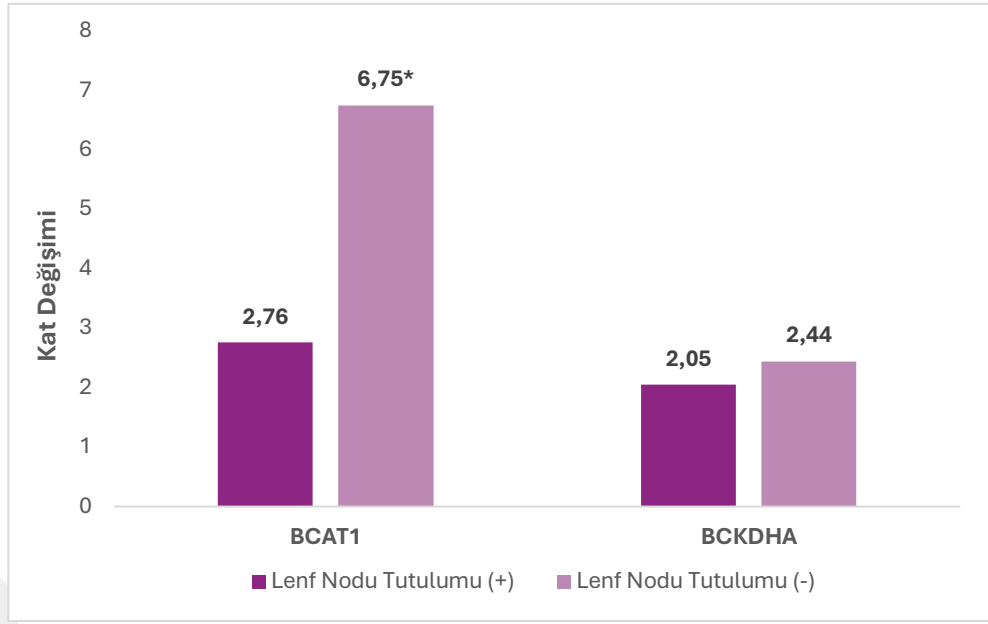
Çalışma grubundan alınan doku örneklerinden yapılan BCAT1 ve BCKDHA gen ekspresyonlarına dair kat değişimleri Tablo 4-3'te gösterilmiştir. Bulgularımıza göre, BCAT1 ve BCKDHA gen anlatımları kanser dokusunda sağlıklı dokuya göre arttığı gözlemlenmiştir. Ancak sadece BCKDHA gen anlatımı açısından anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p=0.001, %95 güven aralığı= 1.37 – 4.15).

Tablo 4.3: Kanser ve sağlıklı dokularda BCAT1 ve BCKDHA gen ekspresyonları kat değişimi

Genler	2 ^{-ΔΔCT} (min-max)	P değeri	%95 Güven Aralığı
BCAT1	4.95 (0.02-54.40)	0.325	0.60 – 1.81
BCKDHA	2.26 (0.02-33.99)	0.001*	1.37 – 4.15

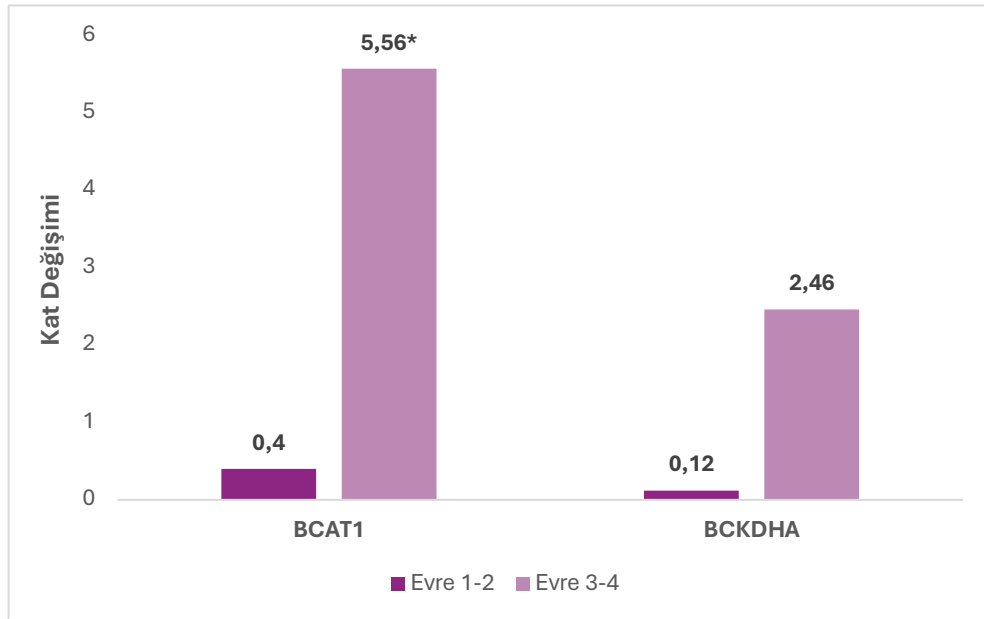
* p=0.001, %95 güven aralığı= 1.37 – 4.15

Lenf nodu tutulumuna göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimleri incelendiğinde nod metastazı olmayan hastalarda BCAT1 gen anlatımının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır (p=0.02, %95 güven aralığı= 0.86 – 8.84). BCKDHA gen anlatımı açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir (Şekil 4-1).



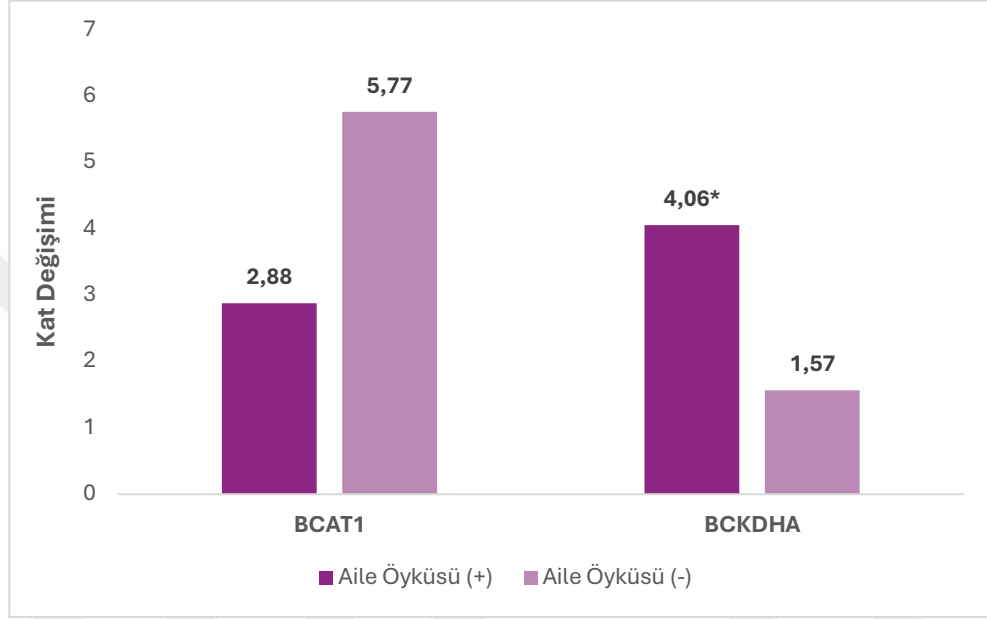
Şekil 4.1 Lenf nodu tutulumuna göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimi grafiği

Çalışma grubumuzdaki erken ve geç evre hastalarda BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimleri incelendiğinde BCAT1 gen ekspresyonunun geç evre kanserlerde anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır ($p=0.017$, %95 güven aralığı= 3.01 – 13.34). BCKDHA gen anlatımı da ileri evre kanserlerde artmış olmakla beraber istatistiksel bir anlamlılık gözlemlenmemiştir.



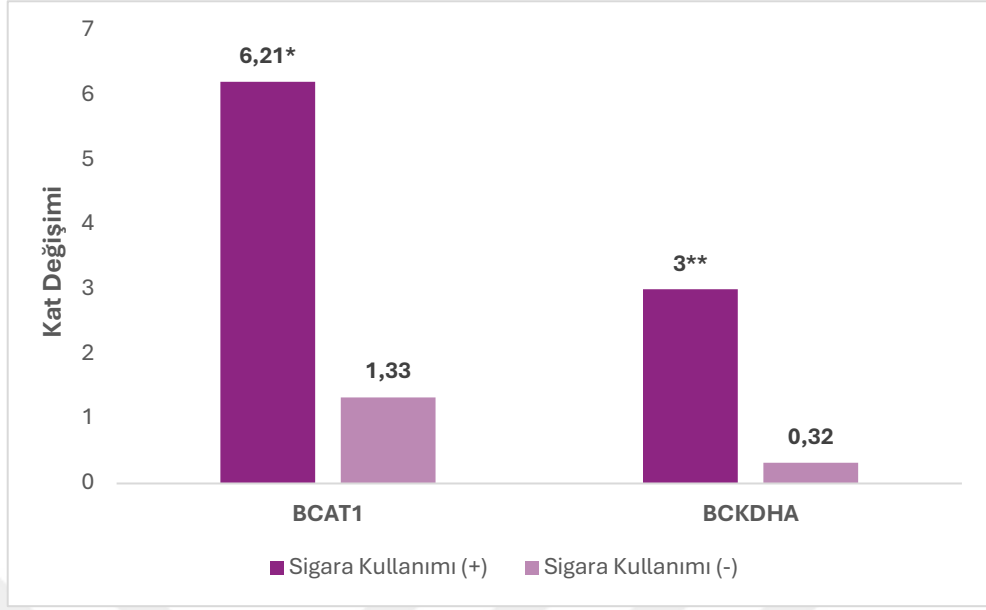
Şekil 4.2: Kanser evresine göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimi grafiği

Hastaların aile öyküsü varlığına göre BCAT 1 ve BCKDHA genlerinin kat değişimleri incelendiğinde, BCAT1 gen ekspresyonu açısından bir anlamlılık gözlemlenmezken, BCKDHA gen anlatımı ise aile öyküsü olan hastalarda anlamlı şekilde yükselmiştir ($p=0.005$, %95 güven aralığı= 0.78 – 5.76) (Şekil 4-3).



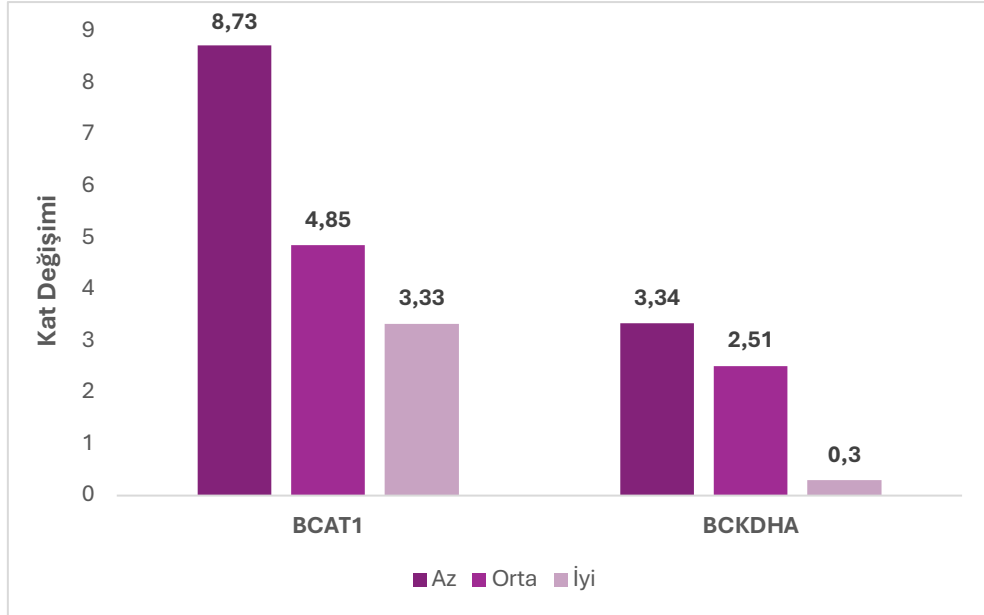
Şekil 4.3: Aile öyküsüne göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişim grafiği

Hastaların sigara kullanımı ile BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimleri arasındaki ilişki incelendiğinde, her iki gen anlatımının da sigara içen hastalarda anlamlı düzeyde artmış olduğu görülmüştür (Şekil 4-4) (BCAT1, $p=0.020$, %95 güven aralığı= 0.74 – 10.50; BCKDHA, $p=0.026$, %95 güven aralığı= 0.69 – 6.05).



Şekil 4.4: Sigara kullanımına göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimi grafiği

Tümör diferansiyasyonuna göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimleri incelendiğinde gen anlatım düzeyleri az diferansiyeden iyi diferansiye olana doğru azalma eğilimi gösterdiği görülmekle birlikte istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4-5).



Şekil 4.5: Tümör diferansiyasyonuna göre BCAT1 ve BCKDHA genlerine ait kat değişimi grafiği

4.3. Serumda BCAT1 ve BCKDHA protein seviyesi analizi sonuçları

ELISA yöntemi ile hastaların serum örneklerinden yapılan BCAT1 ve BCKDHA proteinlerinin düzeyleri Tablo 4-4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4: BCAT1 ve BCKDHA serum protein düzeyleri

Parametre	Birim (ng/ml)
BCAT1 protein düzeyi	9.02±5.50
BCKDHA protein düzeyi	3.48±1.98

Hastaları BCAT1 ve BCKDHA gen anlatımları artan ve azalan şeklinde sınıflandırarak, serum BCAT1 ve BCKDHA düzeyleri ile arasındaki ilişki incelendiğinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4-5).

Tablo 4.5: BCAT1 ve BCKDHA gen anlatımları artan ve azalan hastalarda BCAT1 ve BCKDHA serum protein düzeyleri

Paramaterler	BCAT1 Kat Değişimi		BCKDHA Kat Değişimi	
	Artan	Azalan	Artan	Azalan
BCAT1 Protein Düzeyi (ng/ml)	9.06±6.59	9.53±6.09	8.44±4.03	9.74±7.12
BCKDHA Protein Düzeyi (ng/ml)	3.40±1.80	3.81±2.69	2.95±1.17	3.93±2.56

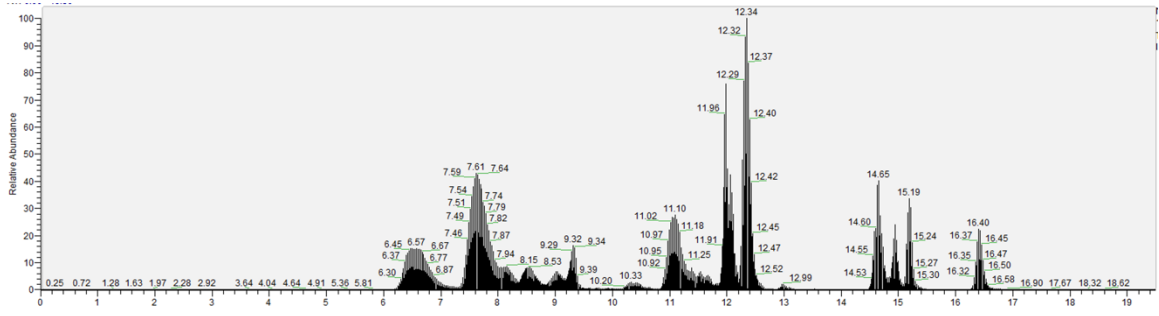
4.4. Serumda Amino Asit Seviyesi Analiz Sonuçları

LC-MS/MS yöntemi ile hastaların serum örneklerinden yapılan amino asit seviyesi analizi sonuçları Tablo 4-6'da gösterilmiştir. Şekil 4-6'da yöntemde kullanılan internal standartlara ait bir amino asitlerin kromatogram görüntüleri, Şekil 4-7'de ise bir hastaya ait amino asitlerin kromatogram görüntüleri gösterilmiştir. Şekil 4-8'de ise bir hastaya ait Lösin, Valin ve İzolösin amino asitlerinin kromatogram görüntüleri verilmiştir.

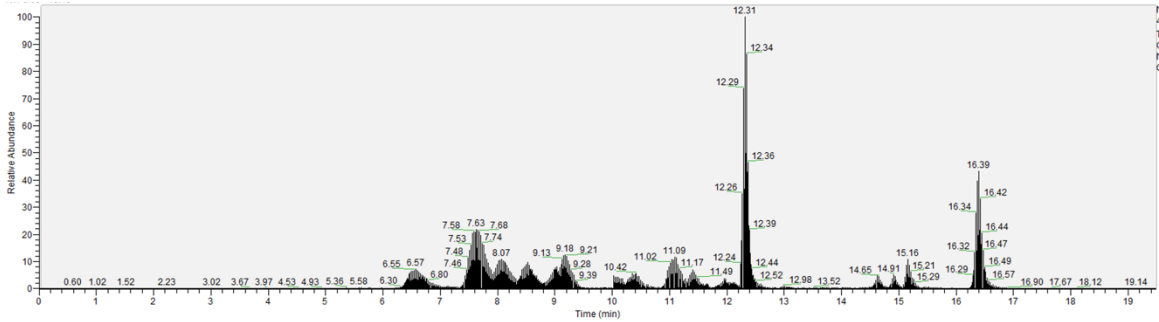
Bulgularımıza göre, ortalama glutamik asit düzeyinin normal düzeyin üzerinde olduğu, ortalama sistin düzeyinin ise normal düzeylerinin altında olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.6: Çalışma grubuna ait serum amino asit düzeyleri

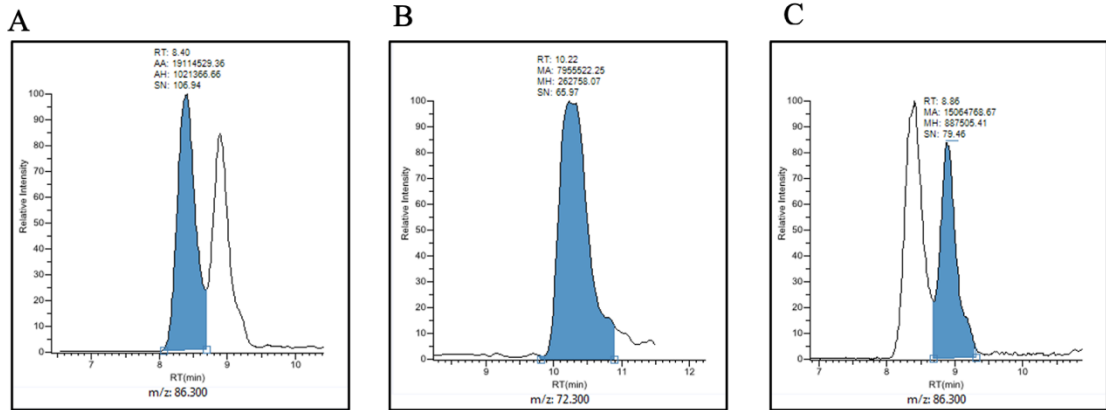
Parametre	Birim	Normal Aralık
Fenilalanin	99.69±26.54	39-240
Tirozin	70.92±18.30	35-100
Lösin	151.56±52.13	72-190
İzolösin	73.58±22.48	34-100
Metiyonin	23.40±9.88	12-40
Glutamik Asit	117.15±60.27	1-110
Valin	165.41±63.29	119-300
Treonin	136.27±39.93	102-230
Alanin	349.27±114.63	182-500
Serin	142.14±290.87	68-200
Glisin	337.10±4.30	123-450
Hidroksiprolin	8.94±4.30	0-33
Asparajin	91.13±24.56	35-100
Glutamin	453.36±105.66	435-721
Prolin	256.53±60.86	88-290
Sitrülin	30.32±11.77	16-60
Sistin	1.37±1.87	17-140
Arjinin	123.55±32.72	45-150
Histidin	60.58±14.43	67-109
Ornitin	77.59±29.73	27-120
Lizin	154.86±35.00	110-250
Metil-3-histidin	3.64±1.50	0-10
Triptofan	52.40±18.69	10-95



Şekil 4.8: İnternal standartlara ait amino asitlerin kromatogram görüntüsü



Şekil 4.7: Bir hastaya ait amino asitlerin kromatogram görüntüsü



Şekil 4.6: Bir hastaya ait (A) Lösin, (B) Valin ve (C) İzölösün amino asitlerinin kromatogram görüntüleri

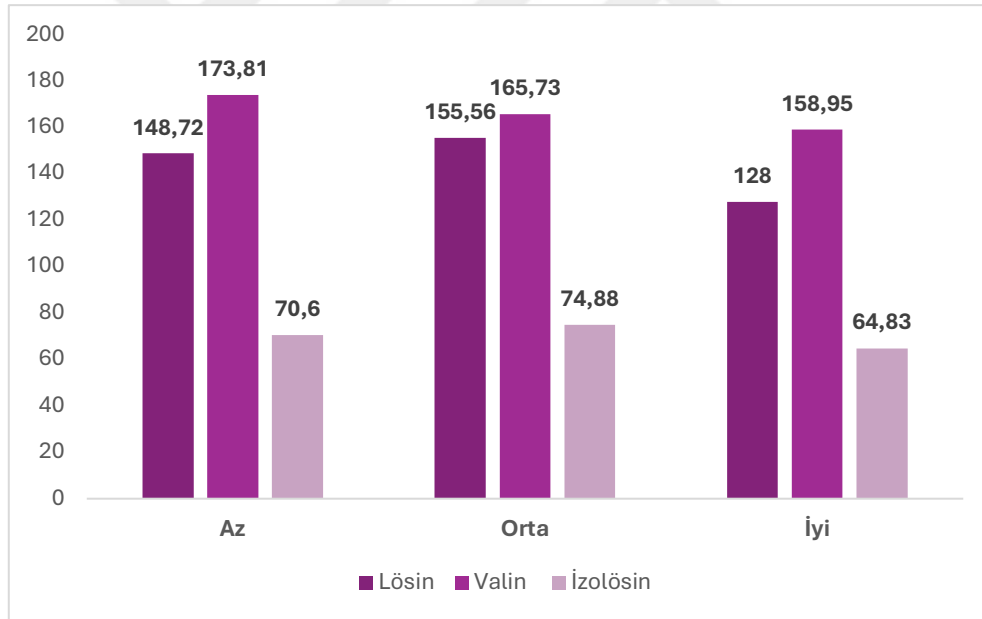
BCAT 1 ve BCKDHA genlerine ait gen anlatımları artan ve azalan hastalarda kandaki dallı zincirli aminoasit düzeyleri araştırıldığında izolösün ve lösün amino asitleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, valin amino asit düzeyinin BCAT 1 gen anlatımı artan hastalarda anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır ($p=0.012$, %95 güven aralığı= 10.90 – 83.17) (Tablo 4-7).

Tablo 4.7: BCAT 1 ve BCKDHA genlerine ait gen anlatımları artan ve azalan hastalarda kandaki dallı zincirli aminoasit düzeyleri

Aminoasitler	BCAT1 Kat Değişimi		BCKDHA Kat Değişimi	
	Artan	Azalan	Artan	Azalan
Lösün Düzeyi	167.30±65.20	140.38±45.61	154.19±38.38	151.02±63.41
Valin Düzeyi	190.87±63.50*	143.82±63.45	177.68±52.12	160.78±70.43
İzolösün Düzeyi	81.30±25.43	68.61±20.95	78.68±18.64	73.25±26.3

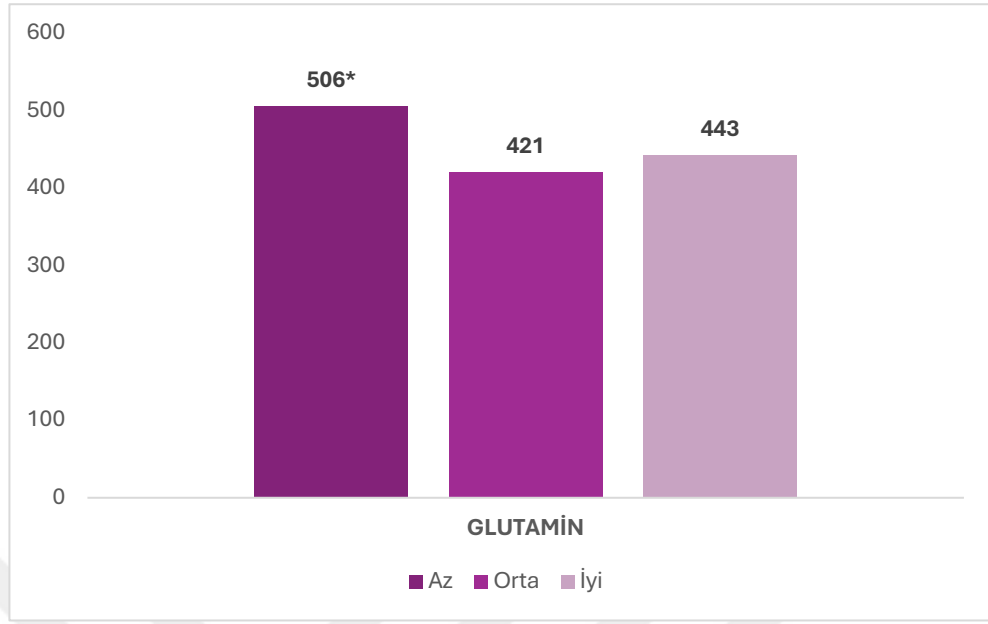
* p=0.012, %95 güven aralığı= 10.90 – 83.17

Tümör diferansiyasyonuna göre kandaki dallı zincirli aminoasit düzeyleri incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0.05). (Şekil 4-8).



Şekil 4.9: Tümör diferansiyasyonuna göre dallı zincirli amino asit düzeyleri

Kanser hücreleri tarafından enerji kaynağı olarak kullanılan glutaminin tümör diferansiyasyonuna göre kandaki düzeyleri incelendiğinde, az diferansiye olan hastalarda orta ve iyi diferansiyasyon gösteren hastalara göre glutamin düzeyinin artmış olduğu belirlenmiştir (p=0.010, %95 güven aralığı= 21.73 – 149.60) (Şekil 4-9).



Şekil 4.10: Tümör diferansiyasyonuna göre glutamin düzeyleri

Çalışma grubumuzda yer alan 13 hastadan alınan idrar örneklerindeki GC-MS yöntemi ile organik asit varlığı tayin edilmiştir. Bulgularımıza göre, hastaların tamamının idrarında 3-metilkrotonik asit varlığı saptanırken beş hastada ise hidrosibütirik asit tespit edilmiştir.

Tablo 4.8: Hastaların idrarındaki organik asit varlığı

Organik Asitler	Hasta Sayısı (n=13)
3-Metilkrotonik Asit	13
Laktik Asit	1
Pürivik asit	2
Hidrosibütirik Asit	5
Metilmalonik Asit	1
Levülinik Asit	1

5. TARTIŞMA

Karsinogenez, sağlıklı hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesini sağlayan çok aşamalı ve oldukça karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, sonuçta neoplastik fenotipi ortaya çıkaran genlerdeki mutasyonlarla doğrudan bağlantılıdır. Karsinogenez sürecinde ortaya çıkan bu mutasyonlar ile hücreler, proliferasyon sinyallerini sürdürme, büyüme baskılayıcıları ve hücre ölümünden kaçış, anjiyogenez ile birlikte invazyon ve metastatik yetenek kazanma ve immün sistemden kaçış gibi özellikler kazanarak ölümsüz kanser hücreleri haline dönüşürler. Bu özelliklere ek olarak kanser hücreleri, kazandıkları yeteneklerin devamlılığı ve hayatta kalmak için gerekli olan enerji üretimini teşvik etmek için metabolizmalarını yeniden programlama yeteneği de kazanırlar.

Metabolik yeniden programlama, baş boyun kanserleri de dahil olmak üzere katı tümörlerde görülen, kanser hücrelerinin hayatta kalmasını desteklemek için gerekli olan enerjinin elde edilmesini sağlayan hücresel bir adaptasyon çeşididir. Bu adaptasyonlar, tümör tipine, bölgesine, evresine ve metastatik kapasitesine bağlı olarak, makromoleküllerin sentezinde veya yıkımında görevli enzimlerin ekspresyonlarındaki ve buna bağlı olarak tümör dokusunda ve vücut sıvılarındaki metabolitlerin seviyelerindeki değişimler olarak ortaya çıkar (138). Kanserdeki çeşitli metabolik değişiklikler arasında amino asit metabolizmasının düzensizliği, tümör gelişimi ve ilerlemesi üzerindeki etkisi nedeniyle kanser gelişim sürecini anlamada ve buna uygun tedaviler geliştirilme araştırmalarında giderek daha fazla ilgi görmektedir.

Baş boyun kanserlerindeki metabolik değişimleri anlamaya yönelik çeşitli çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, heterojen bir kanser türü olması ve histolojik olarak farklı yapıları bir arada bulundurması sebebiyle baş boyun kanserlerinde dallı zincirli amino asit metabolizmasının rolü henüz anlaşılamamıştır.

Dallı zincirli amino asitlerin kanser gelişimine katkısını incelemek amacıyla yapılan çalışmalar, dallı zincirli amino asitlerin metabolizmalarında görevli BCAT1 ve BCKDHA iki ana enzimin farklı kanser türlerindeki rolüne odaklanmıştır. Çalışmamızda, gen ekspresyonu analizlerinde elde ettiğimiz bulgularımıza göre BCAT1 ve BCKDHA ($p=0.001$) genlerinin ekspresyonları tümör dokularında tümör çevresi sağlıklı dokulara göre artış göstermiştir. Ekspresyon düzeyleri demografik veriler ile kıyaslandığında III ve IV evre hastaların BCAT1 ($p=0.017$) ve BCKDHA ekspresyon seviyelerinde I ve II evre hastalara göre artış gösterdiği görülmüştür. Wang ve ark. yumurtalık kanserinde

yaptıkları bir çalışmada, 130 epitelyal yumurtalık kanseri hastasında yüksek dereceli ileri evre (Evre III ve IV) tümörlere sahip 104 hastada BCAT1 ekspresyon seviyesinin normal dokulara göre daha yüksek olduğunu göstermişleridir. (139). Xu ve ark yaptıkları diğer bir çalışmada, 74 hepatosellüler karsinoma hastasının doku örneklerinden yapılan ekspresyon analizlerine göre BCAT1 gen ekspresyonu III ve IV evre tümörlere sahip 26 hastanın 18'inde anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (140). Lee ve ark. pankreatik duktal adenokarsinoma hücrelerinde yaptıkları bir çalışmada BCKDHA gen ekspresyonunun baskılanmasının hücre proliferasyonunu ve lipit biyosentezini azalttığını ve dolayısıyla BCKDHA ekspresyonunun diğer metabolik yollar için karbon kaynağı olduğunu ve hayati önem taşıdığını belirlemişlerdir (109).

Sigara kullanımı, HPV ile birlikte baş boyun kanserleri için iki önemli risk faktörlerini oluşturur. Sigara kullanımı baş boyun kanseri bölgelerinde doğrudan maruziyet nedeniyle, DNA'da metilasyonlar ve mutasyonlara neden olabilmektedir (141). Literatürde baş boyun kanserinde sigara kullanımının dallı zincirli amino asit metabolizmasındaki etkilerine ilişkin yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda sigara kullanan hastalarda BCAT1 ($p=0.020$) ve BCKDHA ($p=0.026$) gen anlatımı anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Sigara kullanımının gen ekspresyonu üzerindeki etkilerine ilişkin olarak İrimie ve ark. sigara içen ve hiç sigara içmemiş baş boyun kanseri hastalarında yaptıkları bir çalışmada sigara içen hastalarda hiç sigara içmemiş hastalara kıyasla 110 gende ekspresyon artışı 9 gende ekspresyon azalışı görülmüştür (142). Bununla birlikte baş boyun kanserinde sigara kullanımı kanser ilişkili fibroblastlarda yaşlanmaya neden olduğu ve glikolizi hızlandırdığı gözlemlenmiştir (143).

Dallı zincirli amino asit metabolizmasının aktivasyonunun kanser gelişimine ve ilerlemesine olan katkısı bilinmesine rağmen, farklı kanser türlerinde dallı zincirli amino asit metabolizmasının rolünün spesifik olarak belirlenmesinde farklı hücre tiplerinin kanser metabolizmasına katkısı da göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışma grubumuzda yer alan hastaların BCAT1 ve BCKDHA serum protein seviyeleri belirlenmiştir ve ilgili proteinlerin enzimlerin mRNA seviyeleri ile herhangi bir korelasyon gözlenmemiştir. Zhu ve ark. pankreatik duktal adenokarsinoma hücrelerinde dallı zincirli amino asit metabolizmasının rolünü araştırmak üzere yaptıkları bir çalışmada, BCAT1 protein seviyesinin kanser ilişkili fibroblastlarda pankreas hücre hatlarına kıyasla daha yüksekken, BCAT2 ve BCKDHA enzimlerinin protein seviyelerinin ise pankreas hücre

hatlarında daha yüksek olduğu görülmüştür (113). Son yıllarda yapılan farklı bir çalışmada ise, kronik lenfositik lösemi hastalarında BCAT1 protein ekspresyonu ile BCAT1 mRNA ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır (144).

Glutamat, fizyolojik olarak uyarıcı bir nörotransmitter olmasının yanı sıra, normal hücrelerin ve neoplastik hücrelerin proliferasyonu için gerekli olan önemli bir biyoenerjetik substrattır (145). Kanda en çok bulunan amino asit olan glutaminden, glutaminaz reaksiyonu ile yapıdan bir amino grubunun çıkarılması ile oluşur. Diğer amino asitlerin transaminasyon reaksiyonları sırasında yapıdan ayrılan amino grubu α -ketoglutarata aktarılır ve glutamat bu yol ile de üretilir (62). Benzer şekilde dallı zincirli amino asitlerin katabolizmasında BCAT1 reaksiyonu sonucu glutamat ve α -keto asitler oluşur. Diğer yandan glutamat, merkezi sinir sisteminde farklı reseptör tiplerine bağlanabilen uyarıcı bir nörotransmitter olarak görev yapar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda glutamatın uyarıcı sinyalleşmesinin insan maligniteleri ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. EAAT (excitatory amino acid transporter) ve sistin/glutamat antiport sistemi gibi glutamat taşıyıcılarının düzensizliği ekstrasellüler glutamat miktarında artışa ve kanser hücrelerindeki glutamat reseptörlerini aktive ederek malign büyümeye sebep olmaktadır (146). Bununla ilişkili olarak yapılan çalışmalarda, farklı kanser türlerinde fazla miktarda glutamat üretimi ve ekstrasellüler glutamat konsantrasyonlarında artış görülmüştür ve buna bağlı olarak glutamat, tümör gelişimini destekleyen bir büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır.

Seidlitz ve ark. farklı kanser türlerindeki hücre hatlarında yaptıkları bir çalışmada, meme, melanoma ve prostat kanseri hücre hatlarında ekstrasellüler ortama zamana bağlı olarak giderek artacak şekilde glutamat salgıladıklarını göstermişlerdir (147). Prostat kanseri hastalarında yapılan diğer bir çalışmada, hastaların serum glutamat düzeyleri, yüksek farklılaşma derecesi ve primer prostat tümörlerinin agresifliği ile ilişkilendirilmiştir (148). Kamarajan ve ark. yaptıkları diğer bir çalışmada, baş boyun kanseri hastalarından alınan doku, tükürük ve plazma örneklerinde glutamat seviyelerinin artmış glutaminoliz hızı nedeniyle önemli ölçüde yükseldiğini göstermişlerdir (149).

Artmış ekstrasellüler glutamat seviyeleri hücrede glutamat alımını ve salımını düzenleyen sistemlerdeki anormal aktivasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Başta glutaminoliz olmak üzere diğer amino asitlerin metabolizmaları sonucu hücre içerisinde oluşan fazla miktarda glutamat, SLC7A11 (Solute Carrier Family 7 Member 11) adı

verilen bir taşıyıcı aracılığıyla sistenin oksitlenmiş dimer formu olan sistin ile bire bir oranında yer değiştirerek ekstrasellüler boşluğa salınır (150). Hücre içerisine alınan sistin ise sisteine dönüşür. Normal fizyolojik koşullarda hücre içi serbest sistin genellikle de novo sentez veya protein degradasyonu yolu ile üretilir. Çoğunlukla önemli bir antioksidan olan glutatyonun sentezinde kullanılır. Kanseri hücreleri oksidatif strese korunmak amacıyla glutatyon üretiminin sürekliliğini sağlamak durumundadır. Bu nedenle bir çok kanser türünde SLC7A11'in artmış ekspresyonu görülür. Artmış SLC7A11 ekspresyonu, hücrelerde sistin alımını arttırarak glutatyon sentezini artırır ve böylece antioksidan sistemi aktive ederek hücrenin apoptoz, oksidatif stres ve ferroptozisten korunmasına yardımcı olur (151). Dunn ve ark. renal hücreli karsinoma hastaları ile yaptıkları bir çalışmada 125 hastanın 78'inde SLC7A11'in yüksek ekspresyonu tespit edilmiş ve tümör büyüklüğü, uzak metastaz ve kötü pronoz ile ilişkilendirilmiştir (152). Benzer şekilde meme kanserinde yapılan bir kohort çalışmasında SLC7A11'in yüksek mRNA ve protein ekspresyonları yüksek tümör derecesi ile ilişkilendirilmiştir. Yüksek SLC7A11 ekspresyonu ile diğer genlerin ekspresyonu arasındaki ilişki incelendiğinde diğer bir yüksek afiniteli glutamat taşıyıcıları olan SLC1A5, SLC7A5 ve glutaminaz ekspresyonu arasında bir korelasyon gözlemlenmiştir (153). Diğer bir çok kanser türünde olduğu gibi baş boyun kanserinde de yüksek SLC7A11 ekspresyonu tespit edilmiştir. Ma ve ark. 327 larinks kanseri hastasında yaptıkları bir çalışmada erken evre hastaların yaklaşık %48'inde ve ileri evre hastaların %65'inde yüksek SLC7A11 ekspresyonu görülmüştür. Bununla birlikte, Cox regresyon analizlerinde genel sağ kalım oranının SLC7A11'in yüksek ekspresyonuna sahip olan hastalarda daha düşük olduğu belirlenmiştir (154). Baş boyun kanserinde yapılan diğer bir çalışmada HPV pozitif hastaların HPV negatif hastalara göre daha düşük SLC7A11 ekspresyonuna sahip olduğu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre SLC7A11'in baş boyun kanserinde HPV ilişkili biyobelirteç olabileceği işaret ediliyor (155). Çalışmamızda hastaların serum amino asit seviyeleri değerlendirildiğinde glutamat seviyesinde artış ve sistin seviyesinde azalış olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgulara dayanarak, yüksek ekspresyon seviyeleri baş boyun kanseri ile ilişkilendirilen SLC7A11 taşıyıcısının çalışmamıza dahil edilen hasta grubunda da yüksek seviyede olabileceğini düşünmekteyiz. Diğer yandan ekstrasellüler sıvıdaki glutamat artışına paralel olarak, kanda en çok bulunan amino asit olan ve kanser hücreleri tarafından büyük ölçüde enerji kaynağı olarak kullanılan glutamin çalışma grubumuzdaki hastalardan düşük tümör

difreansiyasyonu gösteren hastalarda anlamlı şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p=0,010$).

Çalışma grubumuzdaki 13 hastanın idrarında tespit edilen 3-Metilkrotonik asit, (2 E)-but-2-enoik asit), $CH_3CH=CHCO_2H$ formülüyle tanımlanan kısa zincirli doymamış bir karboksilik asittir. 3-Metilkrotonik asit, diğer adıyla Senecioic asit, ilaçlarda aroma maddesi olarak kullanılır ve idrarda yüksek miktarda 3-metilkrotonik asit atılımı ile karakterize bir bozukluk olan 3-Metilkrotonik asidüri hastalarının idrarında görülür (156). Bu genetik hastalık, 3-metilglutakonik asit oluşturan biyotine bağlı bir reaksiyondaki kusurlardan kaynaklanır. Biyotine bağımlı karboksilazlarında kalıtsal metabolik kusur olan hastaların idrarında metilsitrat, 3-hidroksi propiyonat, propiyonilglisin, tiglik asit, 3-metilkrotonik asit, 3-hidroksiizovalerik asit gibi organik asitler yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu bilinmektedir (157). Bu metabolitlerin idrardaki varlığı, dallı zincirli amino asitlerin katabolizmasında görevli kofaktörü biyotin olan propiyonil CoA karboksilaz ve 3-metilkrotonil CoA karboksilaz enzimlerinin biyotin eksikliğine bağlı aktivitesinin azalmasından kaynaklandığı görülmüştür (158).

Çalışma grubumuzdaki tüm hastaların idrar örneklerinde tespit edilen 3-Metilkrotonik Asit varlığının, hastaların tedavi sırasında ortak kullandıkları bir ilaç metaboliti olabileceği veya hastaların dallı zincirli amino asit metabolizmasındaki karboksilaz enzimlerinin biyotin eksikliğine bağlı olarak aktivitelerinin azalmasından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Günümüzde birçok çalışma dallı zincirli amino asit metabolizmasının kanserdeki rolüne dikkat çekmektedir. Sonuçlar, dallı zincirli amino asitlerin, kanser hücresi metabolizmasını şekillendirerek sağkalıma yön verebilen kritik öneme sahip mikro moleküller olduklarını ortaya koymaktadır. Bu tez çalışmasında, köken aldığı dokuların çeşitliliği bakımından oldukça heterojen bir kanser türü olan baş boyun kanserinde dallı zincirli amino asit metabolizmasındaki değişimler gen ekspresyonu, protein ve amino asit düzeyinde değerlendirildi. Elde ettiğimiz bulgular, baş boyun kanserinde dallı zincirli amino asit metabolizmasının tümör evresi, lenf nodu tutulumu ve risk faktörlerinin varlığı gibi etkenlere bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bilgiler ışığında, daha geniş hasta grubu ve farklı analiz yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilecek olan gelecekteki araştırmalar, bu amino asitlerin baş boyun kanserinde terapötik hedef olma potansiyelinin aydınlatılmasına olanak sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Mody MD, Rocco JW, Yom SS, Haddad RI, Saba NF. Head and neck cancer. *Lancet* (London, England) 2021;398:2289–99. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01550-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01550-6)
2. Cohen N, Fedewa S, Chen AY. Epidemiology and Demographics of the Head and Neck Cancer Population. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2018;30:381–95. <https://doi.org/10.1016/J.COMS.2018.06.001>
3. Leemans CR, Braakhuis BJM, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer* 2011;11:9–22. <https://doi.org/10.1038/NRC2982>
4. Wang J, Wang W, Zhu F, Duan Q. The role of branched chain amino acids metabolic disorders in tumorigenesis and progression. *Biomed Pharmacother* 2022;153. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2022.113390>
5. Dimou A, Tsimihodimos V, Bairaktari E. The Critical Role of the Branched Chain Amino Acids (BCAAs) Catabolism-Regulating Enzymes, Branched-Chain Aminotransferase (BCAT) and Branched-Chain α -Keto Acid Dehydrogenase (BCKD), in Human Pathophysiology. *Int J Mol Sci* 2022;23. <https://doi.org/10.3390/IJMS23074022>
6. Rossmeislová L, Gojda J, Smolková K. Pancreatic cancer: branched-chain amino acids as putative key metabolic regulators? *Cancer Metastasis Rev* 2021;40:1115–39. <https://doi.org/10.1007/S10555-021-10016-0>
7. Barsouk A, Aluru JS, Rawla P, Saginala K, Barsouk A. Epidemiology, Risk Factors, and Prevention of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Med Sci* 2023;11:42. <https://doi.org/10.3390/MEDSCI11020042>
8. Hashim D, Genden E, Posner M, Hashibe M, Boffetta P. Head and neck cancer prevention: from primary prevention to impact of clinicians on reducing burden. *Ann Oncol* 2019;30:744–56. <https://doi.org/10.1093/ANNONC/MDZ084>
9. Leemans CR, Snijders PJF, Brakenhoff RH. The molecular landscape of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer* 2018 185 2018;18:269–82. <https://doi.org/10.1038/nrc.2018.11>
10. Johnson DE, Burtness B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Rev Dis Prim* 2020;6:92. <https://doi.org/10.1038/S41572-020-00224-3>

11. Van den bossche V, Zaryouh H, Vara-Messler M, Vignau J, Machiels JP, Wouters A, et al. Microenvironment-driven intratumoral heterogeneity in head and neck cancers: clinical challenges and opportunities for precision medicine. *Drug Resist Updat* 2022;60:100806. <https://doi.org/10.1016/J.DRUP.2022.100806>
12. Chow LQM. Head and Neck Cancer. *N Engl J Med* 2020;382:60–72. <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1715715>
13. Steuer CE, El-Deiry M, Parks JR, Higgins KA, Saba NF. An update on larynx cancer. *CA Cancer J Clin* 2017;67:31–50. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21386>
14. Li R, Agrawal N, Fakhry C. Anatomical Sites and Subsites of Head and Neck Cancer 2015:1–11. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2413-6_1
15. Baird BJ, Sung CK, Beadle BM, Divi V. Treatment of early-stage laryngeal cancer: A comparison of treatment options. *Oral Oncol* 2018;87:8–16. <https://doi.org/10.1016/J.ORALONCOLOGY.2018.09.012>
16. Montero PH, Patel SG. CANCER OF THE ORAL CAVITY. *Surg Oncol Clin N Am* 2015;24:491. <https://doi.org/10.1016/J.SOC.2015.03.006>
17. Chamoli A, Gosavi AS, Shirwadkar UP, Wangdale K V., Behera SK, Kurrey NK, et al. Overview of oral cavity squamous cell carcinoma: Risk factors, mechanisms, and diagnostics. *Oral Oncol* 2021;121. <https://doi.org/10.1016/J.ORALONCOLOGY.2021.105451>
18. Kwon DI, Miles BA. Hypopharyngeal carcinoma: Do you know your guidelines? *Head Neck* 2019;41:569–76. <https://doi.org/10.1002/HED.24752>
19. Young A, Okuyemi OT. Malignant Salivary Gland Tumors. *StatPearls* 2023
20. Lund VJ, Clarke PM, Swift AC, McGarry GW, Kerawala C, Carnell D. Nose and paranasal sinus tumours: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. *J Laryngol Otol* 2016;130:S111. <https://doi.org/10.1017/S0022215116000530>
21. Gormley M, Creaney G, Schache A, Ingarfield K, Conway DI. Reviewing the epidemiology of head and neck cancer: definitions, trends and risk factors. *Br Dent J* 2022 2339 2022;233:780–6. <https://doi.org/10.1038/s41415-022-5166-x>
22. Bray Bsc F, Laversanne | Mathieu, Hyuna |, Phd S, Ferlay J, Siegel Mph RL, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2024;74:229–63. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21834>
23. Cancer Today n.d. <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/maps->

heatmap?mode=population&cancers=1_2_3_4_5_14&group_cancers=1&multiple_cancers=1%0AAccessed: 2024-09-08

24. Jethwa AR, Khariwala SS. Tobacco-related carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2017;36:411. <https://doi.org/10.1007/S10555-017-9689-6>
25. Hecht SS, Hatsukami DK. Smokeless Tobacco and Cigarette Smoking: Chemical Mechanisms and Cancer Prevention. *Nat Rev Cancer* 2022;22:143. <https://doi.org/10.1038/S41568-021-00423-4>
26. Van Heest T, Rubin N, Khariwala SS. Persistent Tobacco Use After Treatment for Head and Neck Cancer. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2022;148:597. <https://doi.org/10.1001/JAMAOTO.2022.0810>
27. Van Imhoff LCR, Kranenburg GGJ, Macco S, Nijman NL, Van Overbeeke EJ, Wegner I, et al. Prognostic value of continued smoking on survival and recurrence rates in patients with head and neck cancer: A systematic review. *Head Neck* 2016;38 Suppl 1:E2214–20. <https://doi.org/10.1002/HED.24082>
28. Di Credico G, Polesel J, Dal Maso L, Pauli F, Torelli N, Luce D, et al. Alcohol drinking and head and neck cancer risk: the joint effect of intensity and duration. *Br J Cancer* 2020 1239 2020;123:1456–63. <https://doi.org/10.1038/s41416-020-01031-z>
29. Koo HY, Han K, Shin DW, Yoo JE, Cho MH, Jeon KH, et al. Alcohol drinking pattern and risk of head and neck cancer: A nationwide cohort study. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18:11204. <https://doi.org/10.3390/IJERPH182111204/S1>
30. Marziliano A, Teckie S, Diefenbach MA. Alcohol-related head and neck cancer: Summary of the literature. *Head Neck* 2020;42:732–8. <https://doi.org/10.1002/HED.26023>
31. Verro B, Saraniti G, Fiumara S, Ottoveggio G, Saraniti C. Smoking and alcohol habits in head and neck cancers: How many patients stop after diagnosis? *J Cancer Policy* 2024;41:100498. <https://doi.org/10.1016/J.JCPO.2024.100498>
32. Tumban E. A Current Update on Human Papillomavirus-Associated Head and Neck Cancers. *Viruses* 2019;11. <https://doi.org/10.3390/V111100922>
33. Galati L, Chiocca S, Duca D, Tagliabue M, Simoens C, Gheit T, et al. HPV and head and neck cancers: Towards early diagnosis and prevention. *Tumour Virus Res* 2022;14. <https://doi.org/10.1016/J.TVR.2022.200245>

34. Rautava J, Syrjänen S. Biology of Human Papillomavirus Infections in Head and Neck Carcinogenesis. *Head Neck Pathol* 2012;6:3. <https://doi.org/10.1007/S12105-012-0367-2>
35. Hennessey PT, Westra WH, Califano JA. Human Papillomavirus and Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Recent Evidence and Clinical Implications. *J Dent Res* 2009;88:300. <https://doi.org/10.1177/0022034509333371>
36. Tumban E. A Current Update on Human Papillomavirus-Associated Head and Neck Cancers. *Viruses* 2019;11. <https://doi.org/10.3390/V111100922>
37. Idres YM, McMillan NAJ, Idris A. Hyperactivating p53 in Human Papillomavirus-Driven Cancers: A Potential Therapeutic Intervention. *Mol Diagnosis Ther* 2022;26:301–8. <https://doi.org/10.1007/S40291-022-00583-5/TABLES/2>
38. Auerbach A, Aguilera NS. Epstein-Barr virus (EBV)-associated lymphoid lesions of the head and neck. *Semin Diagn Pathol* 2015;32:12–22. <https://doi.org/10.1053/j.semmdp.2014.12.001>
39. Warnakulasuriya S, Chen THH. Areca Nut and Oral Cancer: Evidence from Studies Conducted in Humans. *J Dent Res* 2022;101:1139. <https://doi.org/10.1177/00220345221092751>
40. Shirima CA, Bleotu C, Spandidos DA, El-Naggar AK, Pircalabioru GG, Michalopoulos I. Epithelial-derived head and neck squamous tumourigenesis (Review). *Oncol Rep* 2024;52. <https://doi.org/10.3892/OR.2024.8800>
41. Monden N, Asakage T, Kiyota N, Homma A, Matsuura K, Hanai N, et al. A review of head and neck cancer staging system in the TNM classification of malignant tumors (eighth edition). *Jpn J Clin Oncol* 2019;49:589–95. <https://doi.org/10.1093/JJCO/HYZ052>
42. Zanoni DK, Patel SG, Shah JP. Changes in the 8th Edition of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) Staging of Head and Neck Cancer: Rationale and Implications. *Curr Oncol Rep* 2019;21:52. <https://doi.org/10.1007/S11912-019-0799-X>
43. Board PATE. Paranasal Sinus and Nasal Cavity Cancer Treatment (PDQ®). PDQ Cancer Inf Summ 2024
44. Chae HS, Hong ST. Overview of Cancer Metabolism and Signaling Transduction. *Int J Mol Sci* 2022;24. <https://doi.org/10.3390/IJMS24010012>
45. Ohshima K, Morii E. Metabolic Reprogramming of Cancer Cells during Tumor

- Progression and Metastasis. *Metabolites* 2021;11:28.
<https://doi.org/10.3390/METABO11010028>
46. Pavlova NN, Thompson CB. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metab* 2016;23:27. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2015.12.006>
47. Pavlova NN, Zhu J, Thompson CB. The hallmarks of cancer metabolism: Still emerging. *Cell Metab* 2022;34:355–77. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2022.01.007>
48. Warburg O, Wind F, Negelein E. THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. *J Gen Physiol* 1927;8:519–30. <https://doi.org/10.1085/JGP.8.6.519>
49. Hay N. Reprogramming glucose metabolism in cancer: can it be exploited for cancer therapy? *Nat Rev Cancer* 2016;16:635. <https://doi.org/10.1038/NRC.2016.77>
50. Schiliro C, Firestein BL. Mechanisms of Metabolic Reprogramming in Cancer Cells Supporting Enhanced Growth and Proliferation. *Cells* 2021;10:1056. <https://doi.org/10.3390/CELLS10051056>
51. Boedtkjer E, Pedersen SF. The Acidic Tumor Microenvironment as a Driver of Cancer. *Annu Rev Physiol* 2020;82:103–26. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYSIOL-021119-034627>
52. Li Z, Zhang H. Reprogramming of glucose, fatty acid and amino acid metabolism for cancer progression. *Cell Mol Life Sci* 2016;73:377–92. <https://doi.org/10.1007/S00018-015-2070-4>
53. Yang J, Shay C, Saba NF, Teng Y. Cancer metabolism and carcinogenesis. *Exp Hematol Oncol* 2024;13. <https://doi.org/10.1186/S40164-024-00482-X>
54. Röhrig F, Schulze A. The multifaceted roles of fatty acid synthesis in cancer. *Nat Rev Cancer* 2016;16:732–49. <https://doi.org/10.1038/NRC.2016.89>
55. Wu X, Geng F, Cheng X, Guo Q, Zhong Y, Cloughesy TF, et al. Lipid Droplets Maintain Energy Homeostasis and Glioblastoma Growth via Autophagic Release of Stored Fatty Acids. *IScience* 2020;23. <https://doi.org/10.1016/J.ISCI.2020.101569>
56. Lopez MJ, Mohiuddin SS. Biochemistry, Essential Amino Acids. *StatPearls* 2024
57. Chandel NS. Amino Acid Metabolism. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2021;13:a040584. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A040584>
58. Lieu EL, Nguyen T, Rhyne S, Kim J. Amino acids in cancer. *Exp Mol Med*

- 2020;52:15–30. <https://doi.org/10.1038/S12276-020-0375-3>
59. Qiu H, Shao N, Liu J, Zhao J, Chen C, Li Q, et al. Amino acid metabolism in tumor: New shine in the fog? *Clin Nutr* 2023;42:1521–30. <https://doi.org/10.1016/J.CLNU.2023.06.011>
 60. Wei Z, Liu X, Cheng C, Yu W, Yi P. Metabolism of Amino Acids in Cancer. *Front Cell Dev Biol* 2021;8:603837. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2020.603837>
 61. Keenan MM, Chi JT. Alternative Fuels for Cancer Cells. *Cancer J* 2015;21:49. <https://doi.org/10.1097/PPO.000000000000104>
 62. Yang L, Venneti S, Nagrath D. Glutaminolysis: A Hallmark of Cancer Metabolism. *Annu Rev Biomed Eng* 2017;19:163–94. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOENG-071516-044546>
 63. Mullen AR, Wheaton WW, Jin ES, Chen PH, Sullivan LB, Cheng T, et al. Reductive carboxylation supports growth in tumor cells with defective mitochondria. *Nature* 2011;481:385. <https://doi.org/10.1038/NATURE10642>
 64. Le A, Lane AN, Hamaker M, Bose S, Gouw A, Barbi J, et al. Glucose-independent glutamine metabolism via TCA cycling for proliferation and survival in B cells. *Cell Metab* 2012;15:110–21. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2011.12.009>
 65. Matés JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN, Asenjo M, Márquez J. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *Int J Biochem Cell Biol* 2002;34:439–58. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(01\)00143-1](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(01)00143-1)
 66. Wang Q, Wu M, Li H, Rao X, Ao L, Wang H, et al. Therapeutic targeting of glutamate dehydrogenase 1 that links metabolic reprogramming and Snail-mediated epithelial-mesenchymal transition in drug-resistant lung cancer. *Pharmacol Res* 2022;185. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2022.106490>
 67. Li S, Zeng H, Fan J, Wang F, Xu C, Li Y, et al. Glutamine metabolism in breast cancer and possible therapeutic targets. *Biochem Pharmacol* 2023;210. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2023.115464>
 68. Wicker CA, Hunt BG, Krishnan S, Aziz K, Parajuli S, Palackdharry S, et al. Glutaminase inhibition with telaglenastat (CB-839) improves treatment response in combination with ionizing radiation in head and neck squamous cell carcinoma models. *Cancer Lett* 2021;502:180–8. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2020.12.038>

69. Biancur DE, Paulo JA, Małachowska B, Del Rey MQ, Sousa CM, Wang X, et al. Compensatory metabolic networks in pancreatic cancers upon perturbation of glutamine metabolism. *Nat Commun* 2017;8. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS15965>
70. Yuan Q, Yin L, He J, Zeng Q, Liang Y, Shen Y, et al. Metabolism of asparagine in the physiological state and cancer. *Cell Commun Signal* 2024;22:163. <https://doi.org/10.1186/S12964-024-01540-X>
71. Qiu F, Huang J, Sui M. Targeting arginine metabolism pathway to treat arginine-dependent cancers. *Cancer Lett* 2015;364:1–7. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2015.04.020>
72. Novita Sari I, Setiawan T, Seock Kim K, Toni Wijaya Y, Won Cho K, Young Kwon H. Metabolism and function of polyamines in cancer progression. *Cancer Lett* 2021;519:91–104. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2021.06.020>
73. Yan J, Chen D, Ye Z, Zhu X, Li X, Jiao H, et al. Molecular mechanisms and therapeutic significance of Tryptophan Metabolism and signaling in cancer. *Mol Cancer* 2024;23:241. <https://doi.org/10.1186/S12943-024-02164-Y>
74. Abd El-Fattah EE. IDO/kynurenine pathway in cancer: possible therapeutic approaches. *J Transl Med* 2022;20:347. <https://doi.org/10.1186/S12967-022-03554-W>
75. Sarrouilhe D, Mesnil M. Serotonin and human cancer: A critical view. *Biochimie* 2019;161:46–50. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2018.06.016>
76. Schneider MA, Heeb L, Beffinger MM, Pantelyushin S, Linecker M, Roth L, et al. Attenuation of peripheral serotonin inhibits tumor growth and enhances immune checkpoint blockade therapy in murine tumor models. *Sci Transl Med* 2021;13. <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.ABC8188>
77. Lo M, Wang YZ, Gout PW. The x(c)- cystine/glutamate antiporter: a potential target for therapy of cancer and other diseases. *J Cell Physiol* 2008;215:593–602. <https://doi.org/10.1002/JCP.21366>
78. Bonifácio VDB, Pereira SA, Serpa J, Vicente JB. Cysteine metabolic circuitries: druggable targets in cancer. *Br J Cancer* 2020;124:862. <https://doi.org/10.1038/S41416-020-01156-1>
79. Ericksen RE, Lim SL, McDonnell E, Shuen WH, Vadiveloo M, White PJ, et al. Loss of BCAA catabolism during carcinogenesis enhances mTORC1 activity and

- promotes tumor development and progression. *Cell Metab* 2019;29:1151. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2018.12.020>
80. Sivanand S, Heiden MG Vander. Emerging roles for branched chain amino acid metabolism in cancer. *Cancer Cell* 2020;37:147. <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2019.12.011>
 81. Zhu J, Thompson CB. Metabolic regulation of cell growth and proliferation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019;20:436. <https://doi.org/10.1038/S41580-019-0123-5>
 82. Lee Y, Vousden KH, Hennequart M. Cycling back to folate metabolism in cancer. *Nat Cancer* 2024;5:701. <https://doi.org/10.1038/S43018-024-00739-8>
 83. Soflaee MH, Kesavan R, Sahu U, Tasdogan A, Villa E, Djabari Z, et al. Purine nucleotide depletion prompts cell migration by stimulating the serine synthesis pathway. *Nat Commun* 2022;13:2698. <https://doi.org/10.1038/S41467-022-30362-Z>
 84. Neinast M, Murashige D, Arany Z. Branched Chain Amino Acids. *Annu Rev Physiol* 2018;81:139. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYSIOL-020518-114455>
 85. Kim WK, Singh AK, Wang J, Applegate T. Functional role of branched chain amino acids in poultry: a review. *Poult Sci* 2022;101:101715. <https://doi.org/10.1016/J.PSJ.2022.101715>
 86. Amorim Franco TM, Blanchard JS. Bacterial Branched-Chain Amino Acid Biosynthesis: Structures, Mechanisms, and Drugability. *Biochemistry* 2017;56:5849. <https://doi.org/10.1021/ACS.BIOCHEM.7B00849>
 87. Choi BH, Hyun S, Koo S-H. The role of BCAA metabolism in metabolic health and disease n.d. <https://doi.org/10.1038/s12276-024-01263-6>
 88. Mann G, Mora S, Madu G, Adegoke OAJ. Branched-chain Amino Acids: Catabolism in Skeletal Muscle and Implications for Muscle and Whole-body Metabolism. *Front Physiol* 2021;12. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2021.702826/PDF>
 89. Adeva-Andany MM, López-Maside L, Donapetry-García C, Fernández-Fernández C, Sixto-Leal C. Enzymes involved in branched-chain amino acid metabolism in humans. *Amino Acids* 2017;49:1005–28. <https://doi.org/10.1007/S00726-017-2412-7>
 90. Chen C, Naveed H, Chen K. Research progress on branched-chain amino acid

- aminotransferases. *Front Genet* 2023;14:1233669.
<https://doi.org/10.3389/FGENE.2023.1233669/BIBTEX>
91. BCAT1 Gene - GeneCards | BCAT1 Protein | BCAT1 Antibody n.d.
<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BCAT1#proteins-structures>
(accessed December 27, 2024)
 92. BCAT2 Gene - GeneCards | BCAT2 Protein | BCAT2 Antibody n.d.
<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BCAT2&keywords=BCAT2> (accessed December 27, 2024)
 93. BCKDHA Gene - GeneCards | ODBA Protein | ODBA Antibody n.d.
<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BCKDHA&keywords=BCKDH> (accessed December 27, 2024)
 94. BCKDHB Gene - GeneCards | ODBB Protein | ODBB Antibody n.d.
<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BCKDHB&keywords=BCKDH> (accessed December 27, 2024)
 95. DBT Gene - GeneCards | ODB2 Protein | ODB2 Antibody n.d.
<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DBT&keywords=BCKDH>
(accessed December 27, 2024)
 96. DLD Gene - GeneCards | DLDH Protein | DLDH Antibody n.d.
<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DLD&keywords=BCKDH>
(accessed December 27, 2024)
 97. Biswas D, Duffley L, Pulinilkunnil T. Role of branched-chain amino acid-catabolizing enzymes in intertissue signaling, metabolic remodeling, and energy homeostasis. *FASEB J* 2019;33:8711–31.
<https://doi.org/10.1096/FJ.201802842RR>
 98. Zhang X, Xia M, Wu Y, Zhang F. Branched-Chain Amino Acids Metabolism and Their Roles in Retinopathy: From Relevance to Mechanism. *Nutr* 2023, Vol 15, Page 2161 2023;15:2161. <https://doi.org/10.3390/NU15092161>
 99. Zhang S, Zeng X, Ren M, Mao X, Qiao S. Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: a review. *J Anim Sci Biotechnol* 2017;8:10. <https://doi.org/10.1186/S40104-016-0139-Z>
 100. Wolfson RL, Sabatini DM. The dawn of the age of amino acid sensors for the

- mTORC1 pathway. *Cell Metab* 2017;26:301. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2017.07.001>
101. Wolfson RL, Chantranupong L, Saxton RA, Shen K, Scaria SM, Cantor JR, et al. Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science* 2015;351:43. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAB2674>
 102. Iwai S, Hasegawa T, Ikeda HO, Tsujikawa A. Branched Chain Amino Acids Promote ATP Production Via Translocation of Glucose Transporters. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2022;63:7. <https://doi.org/10.1167/IOVS.63.9.7>
 103. Yoon MS, Choi CS. The role of amino acid-induced mammalian target of rapamycin complex 1(mTORC1) signaling in insulin resistance. *Exp Mol Med* 2016 481 2016;48:e201–e201. <https://doi.org/10.1038/emm.2015.93>
 104. De Bandt JP, Coumoul X, Barouki R. Branched-Chain Amino Acids and Insulin Resistance, from Protein Supply to Diet-Induced Obesity. *Nutr* 2023, Vol 15, Page 68 2022;15:68. <https://doi.org/10.3390/NU15010068>
 105. Wetzel TJ, Erfan SC, Figueroa LD, Wheeler LM, Ananieva EA. Crosstalk between arginine, glutamine, and the branched chain amino acid metabolism in the tumor microenvironment. *Front Oncol* 2023;13:1186539. <https://doi.org/10.3389/FONC.2023.1186539>
 106. Jung MK, Okekunle AP, Lee JE, Sung MK, Lim YJ. Role of Branched-chain Amino Acid Metabolism in Tumor Development and Progression. *J Cancer Prev* 2021;26:237. <https://doi.org/10.15430/JCP.2021.26.4.237>
 107. Mayers JR, Wu C, Clish CB, Kraft P, Torrence ME, Fiske BP, et al. Elevated circulating branched chain amino acids are an early event in pancreatic adenocarcinoma development. *Nat Med* 2014;20:1193. <https://doi.org/10.1038/NM.3686>
 108. Zeleznik OA, Balasubramanian R, Ren Y, Tobias DK, Rosner BA, Peng C, et al. Branched-Chain Amino Acids and Risk of Breast Cancer. *JNCI Cancer Spectr* 2021;5:pkab059. <https://doi.org/10.1093/JNCICS/PKAB059>
 109. Lee JH, Cho Y ra, Kim JH, Kim J, Nam HY, Kim SW, et al. Branched-chain amino acids sustain pancreatic cancer growth by regulating lipid metabolism. *Exp Mol Med* 2019;51:146. <https://doi.org/10.1038/S12276-019-0350-Z>
 110. Lin X, Tan S, Fu L, Dong Q. BCAT1 Overexpression Promotes Proliferation, Invasion, and Wnt Signaling in Non-Small Cell Lung Cancers. *Onco Targets Ther*

- 2020;13:3583. <https://doi.org/10.2147/OTT.S237306>
111. Ding Y, Wang X, Lu S, Lai A, Xie B, He X, et al. BCAT1, as a prognostic factor for HCC, can promote the development of liver cancer through activation of the AKT signaling pathway and EMT. *J Mol Histol* 2023;54:25–39. <https://doi.org/10.1007/S10735-022-10108-3>
 112. Tönjes M, Barbus S, Park YJ, Wang W, Schlotter M, Lindroth AM, et al. BCAT1 promotes cell proliferation through amino acid catabolism in gliomas carrying wild-type IDH1. *Nat Med* 2013;19:901. <https://doi.org/10.1038/NM.3217>
 113. Zhu Z, Achreja A, Meurs N, Animasahun O, Owen S, Mittal A, et al. Tumor-Repogrammed Stromal BCAT1 Fuels Branched Chain Ketoacid Dependency in Stromal-Rich PDAC Tumors. *Nat Metab* 2020;2:775. <https://doi.org/10.1038/S42255-020-0226-5>
 114. Botha H, Farah CS, Koo K, Cirillo N, McCullough M, Paolini R, et al. The role of glucose transporters in oral squamous cell carcinoma. *Biomolecules* 2021;11:1070. <https://doi.org/10.3390/BIOM11081070/S1>
 115. Wang Y, Li Q, Niu L, Xu L, Guo Y, Wang L, et al. Suppression of G6PD induces the expression and bisecting GlcNAc-branched N-glycosylation of E-Cadherin to block epithelial-mesenchymal transition and lymphatic metastasis. *Br J Cancer* 2020;123:1315–25. <https://doi.org/10.1038/S41416-020-1007-3>
 116. Sun X, Zhang L. MicroRNA-143 suppresses oral squamous cell carcinoma cell growth, invasion and glucose metabolism through targeting hexokinase 2. *Biosci Rep* 2017;37:BSR20160404. <https://doi.org/10.1042/BSR20160404>
 117. Kurihara-Shimomura M, Sasahira T, Nakashima C, Kuniyasu H, Shimomura H, Kirita T. The Multifarious Functions of Pyruvate Kinase M2 in Oral Cancer Cells. *Int J Mol Sci* 2018;19:2907. <https://doi.org/10.3390/IJMS19102907>
 118. Zhang Z, Gao Z, Rajthala S, Sapkota D, Dongre H, Parajuli H, et al. Metabolic reprogramming of normal oral fibroblasts correlated with increased glycolytic metabolism of oral squamous cell carcinoma and precedes their activation into carcinoma associated fibroblasts. *Cell Mol Life Sci C* 2019;77:1115. <https://doi.org/10.1007/S00018-019-03209-Y>
 119. Sun W, Liu Y, Glazer CA, Shao C, Bhan S, Demokan S, et al. TKTL1 is activated by promoter hypomethylation and contributes to head and neck squamous cell carcinoma carcinogenesis via increased aerobic glycolysis and HIF1 α stabilization.

- Clin Cancer Res 2010;16:857. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-2604>
120. Völker HU, Scheich M, Schmausser B, Kämmerer U, Eck M. Overexpression of transketolase TKTL1 is associated with shorter survival in laryngeal squamous cell carcinomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007;264:1431–6. <https://doi.org/10.1007/S00405-007-0394-X>
 121. Mele L, Paino F, Papaccio F, Regad T, Boocock D, Stiuso P, et al. A new inhibitor of glucose-6-phosphate dehydrogenase blocks pentose phosphate pathway and suppresses malignant proliferation and metastasis in vivo. *Cell Death Dis* 2018;9:572. <https://doi.org/10.1038/S41419-018-0635-5>
 122. Liang J, Li L, Li L, Zhou X, Zhang Z, Huang Y, et al. Lipid metabolism reprogramming in head and neck cancer. *Front Oncol* 2023;13:1271505. <https://doi.org/10.3389/FONC.2023.1271505>
 123. Haidari S, Tröltzsch M, Knösel T, Liokatis P, Kasintsova A, Eberl M, et al. Fatty Acid Receptor CD36 Functions as a Surrogate Parameter for Lymph Node Metastasis in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cancers (Basel)* 2021;13:4125. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13164125>
 124. Silva SD, Perez DE, Nishimoto IN, Alves FA, Pinto CAL, Kowalski LP, et al. Fatty acid synthase expression in squamous cell carcinoma of the tongue: clinicopathological findings. *Oral Dis* 2008;14:376–82. <https://doi.org/10.1111/J.1601-0825.2007.01395.X>
 125. Almeida LY de, Moreira F dos S, Santos GAS dos, Cuadra Zelaya FJM, Ortiz CA, Agostini M, et al. FASN inhibition sensitizes metastatic OSCC cells to cisplatin and paclitaxel by downregulating cyclin B1. *Oral Dis* 2023;29:649–60. <https://doi.org/10.1111/ODI.14017>
 126. Hsieh YT, Chen YF, Lin SC, Chang KW, Li WC. Targeting Cellular Metabolism Modulates Head and Neck Oncogenesis. *Int J Mol Sci* 2019;20:3960. <https://doi.org/10.3390/IJMS20163960>
 127. Guo S, Wang X, Wang Y, Bai J, Liu Y, Shao Z. The potential therapeutic targets of glutamine metabolism in head and neck squamous cell carcinoma. *Biomed Pharmacother* 2024;176:116906. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2024.116906>
 128. Luo Y, Li W, Ling Z, Hu Q, Fan Z, Cheng B, et al. ASCT2 overexpression is associated with poor survival of OSCC patients and ASCT2 knockdown inhibited growth of glutamine-addicted OSCC cells. *Cancer Med* 2020;9:3489.

- <https://doi.org/10.1002/CAM4.2965>
129. Wang T, Cai B, Ding M, Su Z, Liu Y, Shen L. c-Myc Overexpression Promotes Oral Cancer Cell Proliferation and Migration by Enhancing Glutaminase and Glutamine Synthetase Activity. *Am J Med Sci* 2019;358:235–42. <https://doi.org/10.1016/J.AMJMS.2019.05.014>
 130. Okazaki S, Umene K, Yamasaki J, Suina K, Otsuki Y, Yoshikawa M, et al. Glutaminolysis-related genes determine sensitivity to xCT-targeted therapy in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 2019;110:3453. <https://doi.org/10.1111/CAS.14182>
 131. Pan S, Fan M, Liu Z, Li X, Wang H. Serine, glycine and one-carbon metabolism in cancer (Review). *Int J Oncol* 2020;58:158. <https://doi.org/10.3892/IJO.2020.5158>
 132. Cappello A, Tosetti G, Smirnov A, Ganini C, Yang X, Shi Y, et al. p63 orchestrates serine and one carbon metabolism enzymes expression in head and neck cancer. *Biol Direct* 2023;18:73. <https://doi.org/10.1186/S13062-023-00426-1>
 133. Levine ME, Suarez JA, Brandhorst S, Balasubramanian P, Cheng CW, Madia F, et al. Low Protein Intake is Associated with a Major Reduction in IGF-1, Cancer, and Overall Mortality in the 65 and Younger but Not Older Population. *Cell Metab* 2014;19:407. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2014.02.006>
 134. Huang CC, Tsai ST, Kuo CC, Chang JS, Jin YT, Chang JY, et al. Arginine deprivation as a new treatment strategy for head and neck cancer. *Oral Oncol* 2012;48:1227–35. <https://doi.org/10.1016/J.ORALONCOLOGY.2012.06.004>
 135. Wünsch AC, Ries E, Heinzelmann S, Frabschka A, Wagner PC, Rauch T, et al. Metabolic Silencing via Methionine-Based Amino Acid Restriction in Head and Neck Cancer. *Curr Issues Mol Biol* 2023;45:4557–73. <https://doi.org/10.3390/CIMB45060289/S1>
 136. Mosca L, Minopoli M, Pagano M, Vitiello F, Carriero MV, Cacciapuoti G, et al. Effects of S-adenosyl-L-methionine on the invasion and migration of head and neck squamous cancer cells and analysis of the underlying mechanisms. *Int J Oncol* 2020;56:1212. <https://doi.org/10.3892/IJO.2020.5011>
 137. de Arruda Leme I, Portari GV, Padovan GJ, Rosa FT, de Mello-Filho FV, Marchini JS. Amino acids in squamous cell carcinomas and adjacent normal tissues from patients with larynx and oral cavity lesions. *Clinics* 2012;67:1225.

- [https://doi.org/10.6061/CLINICS/2012\(10\)17](https://doi.org/10.6061/CLINICS/2012(10)17)
138. Perri F, Della Vittoria Scarpati G, Pontone M, Marciano ML, Ottaiano A, Cascella M, et al. Cancer Cell Metabolism Reprogramming and Its Potential Implications on Therapy in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: A Review. *Cancers (Basel)* 2022;14:3560. <https://doi.org/10.3390/CANCERS14153560>
 139. Wang ZQ, Faddaoui A, Bachvarova M, Plante M, Gregoire J, Renaud MC, et al. BCAT1 expression associates with ovarian cancer progression: possible implications in altered disease metabolism. *Oncotarget* 2015;6:31522. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.5159>
 140. Xu M, Liu Q, Jia Y, Tu K, Yao Y, Liu Q, et al. BCAT1 promotes tumor cell migration and invasion in hepatocellular carcinoma. *Oncol Lett* 2016;12:2648. <https://doi.org/10.3892/OL.2016.4969>
 141. Pfeifer GP, Denissenko MF, Olivier M, Tretyakova N, Hecht SS, Hainaut P. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene* 2002;21:7435–51. <https://doi.org/10.1038/SJ.ONC.1205803>
 142. Irimie AI, Braicu C, Cojocneanu R, Magdo L, Onaciu A, Ciocan C, et al. Differential Effect of Smoking on Gene Expression in Head and Neck Cancer Patients. *Int J Environ Res Public Health* 2018;15:1558. <https://doi.org/10.3390/IJERPH15071558>
 143. Domingo-Vidal M, Whitaker-Menezes D, Martos-Rus C, Tassone P, Snyder CM, Tuluc M, et al. Cigarette Smoke Induces Metabolic Reprogramming of the Tumor Stroma in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Mol Cancer Res* 2019;17:1893. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-18-1191>
 144. Shao Q, Wykretowicz J, Hu N, Bedi K, Rizk M, Malek IA, et al. Aberrant BCAT1 expression augments MTOR activity and accelerates disease progression in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2024;39:112. <https://doi.org/10.1038/S41375-024-02448-8>
 145. Stepulak A, Rola R, Polberg K, Ikonomidou C. Glutamate and its receptors in cancer. *J Neural Transm* 2014;121:933. <https://doi.org/10.1007/S00702-014-1182-6>
 146. Yi H, Talmon G, Wang J. Glutamate in cancers: from metabolism to signaling. *J Biomed Res* 2020;34:260. <https://doi.org/10.7555/JBR.34.20190037>

147. Seidlitz EP, Sharma MK, Saikali Z, Ghert M, Singh G. Cancer cell lines release glutamate into the extracellular environment. *Clin Exp Metastasis* 2009;26:781–7. <https://doi.org/10.1007/S10585-009-9277-4>
148. Koochekpour S. Glutamate, a metabolic biomarker of aggressiveness and a potential therapeutic target for prostate cancer. *Asian J Androl* 2013;15:212. <https://doi.org/10.1038/AJA.2012.145>
149. Kamarajan P, Rajendiran TM, Kinchen J, Bermúdez M, Danciu T, Kapila YL. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Metabolism Draws on Glutaminolysis, and Stemness Is Specifically Regulated by Glutaminolysis via Aldehyde Dehydrogenase. *J Proteome Res* 2017;16:1315. <https://doi.org/10.1021/ACS.JPROTEOME.6B00936>
150. Lin W, Wang C, Liu G, Bi C, Wang X, Zhou Q, et al. SLC7A11/xCT in cancer: biological functions and therapeutic implications. *Am J Cancer Res* 2020;10:3106
151. Yan Y, Teng H, Hang Q, Kondiparthi L, Lei G, Horbath A, et al. SLC7A11 expression level dictates differential responses to oxidative stress in cancer cells. *Nat Commun* 2023;14:3673. <https://doi.org/10.1038/S41467-023-39401-9>
152. Dunn BM, Ren Z, Zhang X, Han J. Expression and Prognostic Significance of Ferroptosis-related Proteins SLC7A11 and GPX4 in Renal Cell Carcinoma. *Protein Pept Lett* 2023;30:868. <https://doi.org/10.2174/0109298665255704230920063254>
153. Nath P, Alfarsi LH, El-Ansari R, Masisi BK, Erkan B, Fakroun A, et al. The amino acid transporter SLC7A11 expression in breast cancer. *Cancer Biol Ther* 2023;25:2291855. <https://doi.org/10.1080/15384047.2023.2291855>
154. Ma Z, Zhang H, Lian M, Yue C, Dong G, Jin Y, et al. SLC7A11, a component of cysteine/glutamate transporter, is a novel biomarker for the diagnosis and prognosis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2017;38:3019–29. <https://doi.org/10.3892/OR.2017.5976>
155. Hémon A, Louandre C, Lailier C, Godin C, Bottelin M, Morel V, et al. SLC7A11 as a biomarker and therapeutic target in HPV-positive head and neck Squamous Cell Carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2020;533:1083–7. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2020.09.134>
156. Roth K, Cohn R, Yandrasitz J, Preti G, Dodd P, Segal S. Beta-methylcrotonic aciduria associated with lactic acidosis. *J Pediatr* 1976;88:229–35.

[https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(76\)80987-0](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(76)80987-0)

157. Bernhard CK, Harris BR, Stone MR, Cremer CH, den Hartog GC, Szent-Györgyi WA, et al. Excretion of organic acids associated with biotin deficiency in chronic anticonvulsant therapy. *Int J Vitam Nutr Res* 1984;217–22
158. Shoji Y, Takahashi T, Sawaishi Y, Ishida A, Matsumori M, Shoji Y, et al. 3-Methylglutaconic aciduria type I: clinical heterogeneity as a neurometabolic disease. *J Inherit Metab Dis* 1999;22:1–8.
<https://doi.org/10.1023/A:1005421111554>



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

BAŞ VE BOYUN KANSERİNDE DALLI ZİNCİRLİ AMİNO ASİT METABOLİZMASININ İNCELENMESİ

ORIJİNALLIK RAPORU

% **12**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **10**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **7**
YAYINLAR

% **4**
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 4
2	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi	% 1
3	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
4	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
5	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
6	Submitted to Konya Necmettin Erbakan University Öğrenci Ödevi	<% 1
7	openaccess.izu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<% 1
9	Submitted to Trinity College Dublin Öğrenci Ödevi	<% 1
10	Aykus, Mehmet. "Osteopontin, Aktive Lokosit Hucre Adezyon Molekulu Ve Prominin Plazma Duzeylerinin Meme Kanserinin Tanisi, Kemoterapiye Yaniti Ve Prognozuyla Iliskisi", Bursa Uludag University (Turkey), 2021	<% 1