

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

.

**EGFR VE CTNNB1 GEN VARYANT ANALİZİ İLE SİGARA BAĞIMLILARI
VE FANKONİ ANEMİ HASTALARINDA ORAL SKUAMÖZ HÜCRELİ
KARSİNOMA GELİŞME RİSKİNİN ARAŞTIRILMASI**

DINARA NEMETOVA

DANIŞMAN
PROF. DR. NEVIN YALMAN

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



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 çalışmayla 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.

Dinara NEMETOVA



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca destekleriyle katkı sağlayan, araştırmanın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, yapabileceklerim konusunda bana cesaret veren, her durumda desteği sağlayan çok değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Nevin YALMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ'a, Prof. Dr. Sacide PEHLİVAN'a, Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK SEZGİN'e, Doç. Dr. Çiğdem ÇINAR KEKİK'e, Doç. Dr. Selçuk DAŞDEMİR'e

Arkadaşlığı, bilgisi, tecrübesi ile her zaman yanımda olan ve tez çalışmam süresince bana her türlü yardımını karşılıksız sunan çok sevgili Mol. Bio. Zişan Asal KILIÇ'a,

Çalışmamın hasta grubu için hastaların bulunmasında emeği geçen İstanbul Tıp Fakültesi ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları AD'nın değerli hocalarına ve asistanlarına, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Hematoloji Onkoloji AD Prof. Dr. Tülin Tiraje CELKAN'a ve İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti AD Doç. Dr. Arzu Pınar ERDEM'a

Tez çalışmamın deneysel aşamasında büyük destek sağlayan Bezmialem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi'nin başkanı Doç. Dr. Fahri AKBAŞ'a,

Verilerin istatistiksel hesapları konusunda emeği ve yardımını esirgemeyen Sayın Doç.Dr. Hayriye ŞENTÜRK ve Biyoistatistik Anabilim Dalı'nın öğretim üyesi Dr. Mehmet GÜVEN GÜNERE'e,

Her zaman desteğini hissettiğim, bana güvenerek her zaman yanımda olan sevgili eşim Khairulla MASSADİKOV'a, hayatım boyunca hep destek olan sevgili annem Zakhira NEMETOVA, babam Bakhtiyar NEMETOV, değerli kayınvalidem Zukhra UBAYDULLAEVA, kardeşim Guzal MASSADİKOVA, oğlum Nurseit GAİBULLA ve diğer aile üyelerime teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyonu tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35318

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	II
BEYAN.....	III
İTHAF.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
KISALTMALAR / SİMGELER LİSTESİ LİSTESİ.....	XII
ÖZET	XIV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	16
2. GENEL BİLGİLER	17
2.1. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma	17
2.1.1. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Epidemiyolojisi.....	17
2.1.2. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Risk Faktörleri	17
2.1.3. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Patolojisi ve Moleküler Temeli	19
2.1.4. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma'nın Klinik Özellikleri	20
2.1.4. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Tanısı, Evrelemesi ve Prognoz	21
2.1.5. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Tedavisi	24
2.2. Fankoni Anemisi	26
2.2.1. Fankoni Anemisinin Epidemiyolojisi	26
2.2.2. Fankoni Anemisinin Klinik Özellikleri.....	26
2.2.3. Fankoni Anemisinin Moleküler Patogenezi.....	27
2.2.4. Fankoni Anemisinin Tanı ve Tedavi.....	28
2.2.5. Fankoni Anemisi ve Kansere Gelişme Yatkınlığı	29
2.3. Sigara Bağımlılığı	30
2.3.1. Sigara Bağımlılığı Epidemiyolojisi.....	31
2.3.2. Sigara Bağımlılığı ve Kansere Gelişimi.....	32
2.4. Tek Nükleotid Gen Polimorfizmleri	33
2.4.1. Tek Nükleotid Gen Polimorfizmlerinin Kansere Gelişimindeki Rolü	33
2.5. Epidermal Büyüme Faktör Reseptör Geni (EGFR)	34

2.5.1. EGFR Geninin Kromozomal Yerleşimi.....	35
2.5.2. EGFR Yapısı ve Fonksiyonu	35
2.5.3. EGFR Geninin Kanser Gelişimindeki Rolü.....	37
2.5.4. EGFR Mutasyonları ve Gen Varyantları	37
2.5.5. EGFR rs845561 Gen Varyantı.....	39
2.6. Kaderin ilişkili Protein Beta-1 Geni (CTNNB1)	40
2.6.1. CTNNB1 Geninin Genel Özellikleri ve Kromozomal Yerleşimi.....	40
2.6.2. Kaderin ilişkili Protein Beta-1 (Beta-katenin) Yapısı ve Fonksiyonu	41
2.6.3. CTNNB1 Geninin Kanser Gelişimindeki Rolü	42
2.6.4. CTNNB1 Mutasyonları ve Gen Varyantları	43
2.6.5. CTNNB1 rs845561 Gen Varyantı.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1. Hasta ve Kontrol Grupları.....	46
3.2. Gereçler.....	46
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	46
3.2.2. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar.....	47
3.3. Yöntemler.....	47
3.3.1. Tam Kandan DNA İzolasyonu.....	47
3.3.2. DNA Saflık ve Konsantrasyonlarının Ölçülmesi.....	50
3.3.3. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu).....	50
3.3.4. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması	52
3.3.5. Sanger Sekans (Dizi Analizi) Yöntemi	52
3.3.5.1. Sanger Sekans PCR	53
3.3.5.2. Sekans Ürünlerinin Sefadeks ile Saflaştırılması.....	55
3.3.5.3. Saflaştırılan Sekans Ürünlerinin Kapiller Elektroforezi.....	55
3.3.5.6. Sekans Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve Genotiplerin Belirlenmesi.....	56
3.4. Verilerin İstatistiksel Analizi	57
4. BULGULAR.....	58
4.1. Demografik Veriler	58
4.2. EGFR rs845561 Gen Varyantına ait Veriler.....	58
4.2.1. EGFR rs845561 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının OSHK, Risk Grubu ve Kontrol Grubundaki Bireyler Arasındaki Karşılaştırılması.....	59

4.2.2. EGFR rs845561 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının OSHK Hastalarının Klinik ve Patolojik Verileri ile Karşılaştırılması	61
4.2.3. EGFR rs845561 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının FA Hastalarının Demografik ve Klinik Verileri ile Karşılaştırılması.....	64
4.2.4. EGFR rs845561 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının Sigara Bağımlılarının Demografik ve Klinik Verileri ile Karşılaştırılması.....	65
4.3. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantına ait Veriler.....	66
4.3.1. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının OSHK, Risk Grubu ve Kontrol Grubundaki Bireyler Arasındaki Karşılaştırılması.....	67
4.3.2. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının OSHK Hastalarının Klinik ve Patolojik Verileri ile Karşılaştırılması.....	69
4.3.3. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının FA Hastalarının Demografik ve Klinik Verileri ile Karşılaştırılması.....	73
4.3.4. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının Sigara Bağımlılarının Demografik ve Klinik Verileri ile Karşılaştırılması.....	73
4.4. EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 varyantlarının tüm gruplar arasında genotip ve allel frekans dağılım verileri	74
5. TARTIŞMA	75
KAYNAKÇA.....	81
FORMLAR	97
ETİK KURUL KARARI	110
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	111
ÖZGEÇMİŞ	112

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1:	OSHK'da TNM sınıflandırılması	23
Tablo 2.2:	Fankoni Anemisine yol açan genler	28
Tablo 2-3:	Fagerström nikotin bağımlılık testi	31
Tablo 3-1:	PCR primerleri.....	50
Tablo 3-2:	PCR Primer hazırlama	51
Tablo 3-3:	PCR Master Mix	51
Tablo 3-4:	PCR parametreleri	52
Tablo 3.5:	Sanger Sekans PCR primer hazırlama tablosu	54
Tablo 3.6:	ABI Prism Big Dye™ terminator kitindeki floresan işaretli ddNTP'ler... 54	
Tablo 3.7:	Sanger Sekans PCR Reaksiyonu bileşenleri.....	54
Tablo 3.8:	Sanger Sekans PCR parametreleri	55
Tablo 3.9:	ABI 310 Genetik Analizör cihaz özellikleri	56
Tablo 4-1:	Hasta, risk grubu ve kontrollere ait cinsiyet ve yaş ortalamaları.....	58
Tablo 4-2:	OSHK ve kontrol gruplarında EGFR rs845561 varyantı genotip ve allel frekansı	60
Tablo 4-3:	OSHK ve Fankoni anemi hastalarında EGFR rs845561 varyantı genotip ve allel dağılımı	60
Tablo 4-4:	OSHK ve Sigara bağımlılarda EGFR rs845561 varyantı genotip ve alel dağılımı	61
Tablo 4-5:	EGFR rs845561 gen varyantı genotip ve alel frekansları ve OSHK hastaların klinik verileri.....	61
Tablo 4-6:	EGFR rs845561 genotip ve alel frekansları ve OSHK hastalarının patolojik verileri	62
Tablo 4-7:	EGFR rs845561 T alel frekansının OSHK evre 2 verileri ile karşılaştırılması.....	63
Tablo 4-8:	EGFR rs845561 T alel frekansının OSHK perinöral invazyon verileri ile karşılaştırılması.....	63
Tablon 4-9:	EGFR rs845561 C alel frekansının OSHK lenf nodu metastazı ile karşılaştırılması.....	63

Tablo 4-10: OSHK hastalarında EGFR rs845561 varyantı genotip ve alel frekansları ve progresyon, nüks durumları ve tedavi yanıtları	64
Tablo 4-11: Fankoni Anemisi hastalarının EGFR rs845561 varyant genotipleri ve klinik verileri	65
Tablo 4-12: Sigara bağımlılarının EGFR rs845561 varyant genotipleri ve klinik verileri.....	65
Tablo 4-13: OSHK ve kontrol gruplarında CTNNB1 rs3864004 varyantı genotip ve allel dağılımı	67
Tablo 4-14: OSHK ve Sigara bağımlılarında CTNNB1 rs3864004 varyantı genotip ve allel dağılımı	68
Tablo 4-15: OSHK ve Fankoni anemi hastalarında CTNNB1 rs3864004 varyantı genotip ve allel dağılımı	68
Tablo 4-16: CTNNB1 rs3864004 gen varyantı genotip ve alel frekansları ve OSHK hastaların klinik verileri.....	69
Tablo 4-17: CTNNB1 rs3864004 genotip ve alel frekansları ve OSHK hastalarının patolojik verileri	70
Tablo 4-18: OSHK hastalarında CTNNB1 rs3864004 A alel frekansı ile tümör invazyonu ilişkisi.....	70
Tablo 4-19: OSHK hastalarında CTNNB1 rs3864004 varyantı genotip ve alel frekansları ile progresyon, nüks durumları ve tedavi yanıtları	71
Tablo 4-20: OSHK hastalarında RT yanıtına göre CTNNB1 rs3864004 varyantı A alel frekansı.....	72
Tablo 4-21: OSHK hastalarında KT yanıtına göre CTNNB1 rs3864004 varyantı A alel frekansı.....	72
Tablo 4-22: CTNNB1 rs3864004 G alel frekansının OSHK lenf nodu metastazı ile karşılaştırılması.....	72
Tablo 4-23: Fankoni Anemisi hastalarının CTNNB1 rs3864004 varyant genotipleri ve klinik verilerl	73
Tablo 4-24: Sigara bağımlılarının CTNNB1 rs3864004 varyant genotipleri ve klinik verileri.....	74
Tablo 4-25: CTNNB1 ve EGFR varyantı genotiplerinin hasta, kontrol ve risk grupları arasında Hardy-Weinberg Dengesi	74

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Oral Skuamöz Hücreli Karsinomların çeşitli anatomik lokalizasyonu.....	20
Şekil 2.2: EGFR ile aktive olan sinyal yolları	35
Şekil 2.3: EGFR geninin kromozomda yerleşimi	35
Şekil 2-4: EGFR Sinyal Kaskadı	36
Şekil 2-5: Ekson lokasyonu ve mutasyon tipine göre EGFR mutasyonları	38
Şekil 2-6: rs845561 gen varyantının 7. kromozomda EGFR geni intron 20'deki yerleşimi.....	40
Şekil 2-7: CTNNB1 geninin kromozomda yerleşimi	40
Şekil 2-8: β -katenin molekülünün birincil yapısı	41
Şekil 2-9: β -katenin'in hücre adhezyonu ve sinyal iletimindeki işlevi	42
Şekil 2-10: β -katenin'in fosforilasyonu ve yıkımı.....	43
Şekil 2.11: CTNNB1 mutasyonları	44
Şekil 2.12: rs3864004 varyantının 3. kromozomda CTNNB1 geni promotor bölgesindeki yerleşimi	45
Şekil 3-1: Nucleogene® DNA Ekstraksiyon Kiti.....	48
Şekil 3-2. Nucleogene DNA izolasyon kit içeriği	49
Şekil 3-3: Sanger sekans yönteminin aşamaları	53
Şekil 3-4: Sanger Sekans Kromatogram Görüntüsü.....	57
Şekil 4-1: OSHK vakasına ait heterozigot (CT) genotipli EGFR rs845561 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü.....	59
Şekil 4-2: OSHK vakasına ait homozigot (CC) genotipli EGFR rs845561 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü.....	59
Şekil 4-3: OSHK vakasına ait heterozigot (GA) genotipli CTNNB1 rs3864004 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü.....	66
Şekil 4-4: OSHK vakasına ait homozigot (AA) genotipli CTNNB1 rs3864004 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü.....	66
Şekil 4-5: OSHK vakasına ait homozigot (GG) genotipli CTNNB1 rs3864004 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü.....	67

KISALTMALAR / SİMGELER LİSTESİ LİSTESİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACS	Amerikan Kanser Derneği
AML	Akut Miyeloid Lösemi
APC	Adenomatosis Poliposis Koli
Ark	Arkadaşları
bç	Baz Çifti
β-katenin	Beta-katenin proteini
CCND1	Siklin D1 Geni
CTNNB1	Kaderin ilişkili Protein Beta-1 Geni
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EGFR	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
FA	Fankoni Anemisi
HER	İnsan Epidermal Reseptörü
HWE	Hardy-Weinberg Equilibrium
HPV	İnsan Papilloma Virüs
KT	Kemoterapi
μG	Mikrogram
μL	Mikrolitre
O₂	Süperoksit Anyonları
OH	Hidroksil Radikalleri
OSHK	Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma
FNBT	Fagerström Nikotin Bağımlılığı Testi
TGF-α	Transforme Edici Büyüme Faktörü-α

TNM	Tümör, Lenf nodu, Metastaz Evrelemesi
GLUT-1	Glukoz Taşıyıcı-1
GSK-3	Glikojen sentaz kinaz 3
GVHH	Greft Versus Host Hastalığı
HKHN	Hematopoetik Kök Hücre Nakli
MAPK	Mitojenle Aktifleştirilmiş Protein Kinaz
mTOR	Memeli Rapamisin Hedefi
MYC	Protoonkogen
NO	Nitrik Oksit
SHK	Skvamöz Hücreli Karsinoma
SNP	Tek nükleotit polimorfizmi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PI3K	Fosfotidilinositol-3 Kinaz
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
RT	Radyoterapi
U	Ünite

ÖZET

Nemetova, D (2020). EGFR VE CTNNB1 Gen Varyant Analizi İle Sigara Bağımlıları Ve Fankoni Anemi Hastalarında Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Gelişme Riskinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji AD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Oral skuamöz hücreli karsinom (OSHK) en yaygın görülen kanser tiplerinden biridir. Sigara kullanımı ve Fankoni anemisi (FA) OSHK gelişme riskini arttırmaktadır. Epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) ve Kaderin ilişkili Protein Beta-1 (CTNNB1) genleri çeşitli kanserlerin gelişiminde etkili sinyal yollarında fonksiyon göstermektedir. Çalışmamızda EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 gen varyantlarının OSHK gelişimindeki etkinliğini araştırmak ve OSHK riski taşıyan FA hastaları, sigara bağımlıları ile sağlıklı bireylerle karşılaştırmak amaçlanmıştır. Çalışmaya 29 OSHK hastası, 33 FA hastası, 20 sigara bağımlısı ve 20 sigara içmeyen sağlıklı bireyler dahil edilmiş, gen varyant analizleri Sanger Dizi Analiz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. EGFR rs845561 TT genotipi evre 2 OSHK hastalarında daha az bulunmuştur ($p=0,02$), T allel frekansı ile tümör perinöral invazyon arasında ilişki gözlenmiştir ($p=0,05$). Lenf nodu metastazı olan OSHK hastalarında C allel frekansı düşük idi ($p=0,001$). OSHK geliştiren FA hastalarında T allel frekansının daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir ($p=0,03$), yine sigara bağımlılarında TT genotipi ağız hijyeni kötü olanlarda ve ağızda yara çıkması ile ilişkili bulunmuştur ($p=0,01$ ve $p=0,01$). CTNNB1 rs3864004 A allel frekansı OSHK hastalarında artmış tümör invazyonu ($p=0,01$) ve kemoterapi/radyoterapiye yanıtı ile ($p=0,04$ ve $p=0,03$) ilişkili bulunmuştur. Lenf nodu metastazı olan OSHK hastalarında G allel frekansı daha düşük idi ($P=0,05$). Ağız hijyeni kötü olan OSHK hastalarında GG genotipi daha az idi ($p=0,012$). FA hastalarında kontrol grubuna göre G allel frekansı daha düşük bulundu ($p=0,02$). Sonuç olarak EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 gen varyantlarının OSHK gelişiminde, tümör invazyonu ve tedaviye yanıt verme ile anlamlı derecede ilişkili oldukları gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Oral skuamöz hücreli karsinom, Fankoni anemi, sigara bağımlılığı, EGFR, CTNNB1, tek nükleotid polimorfizmi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35318

ABSTRACT

Nemetova, D (2020). Oral Squamous Cell Carcinoma Risk Investigation in Tobacco Addicts and Fanconi Anemia Patients With EGFR and CTNNB1 Gene Variant Analysis. Istanbul University Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology. Master Thesis. Istanbul.

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is one of the most common types of cancer. The use of tobacco and Fanconi Anemia (FA) increases the risk of developing this disease. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and Cadherin Related Protein Beta-1 (CTNNB1) genes function in signaling pathways which are effective in the development of various cancer types. In our study, we aim to research the effect of EGFR rs845561 and CTNNB1 rs3864004 gene variants in OSCC and compare FA patients who carry OSCC risk with tobacco addicts and healthy individuals. 29 OSCC patients, 33 FA patients, 20 tobacco addicts and 20 non-smoking healthy individuals were included in this study, and gene variant analyses were conducted with Sanger Sequencing Method. EGFR rs845561 TT genotype was found to be less in Stage 2 OSCC patients ($p=0,02$). A correlation between T allele frequency and tumor perineural invasion was found ($p=0,05$). C allele frequency was lower in OSCC patients with lymph node metastase ($p=0,001$). It is remarkable that in FA patients who developed OSCC, T allele frequency is higher ($p<0,03$). In tobacco addicts, TT genotype was found to be related to poor oral hygiene and oral wounds ($p=0,01$ and $p=0,01$). CTNNB1 rs3864004 A allele frequency was found to be related to increased tumor invasion ($p=0,01$) and failure to respond to chemotherapy/ radiotherapy ($p=0,04$ and $p=0,03$). G allele frequency is lower in OSCC patients who have lymph node metastase ($p=0,05$). OSCC patients with poor oral hygiene have less GG genotype ($p=0,012$). In FA patients, G allele frequency was found to be lower than the control group ($p=0,02$). As a result, EGFR rs845561 and CTNNB1 rs3864004 gene variants were observed to be significantly related to OSCC development, tumor invasion and response to therapy.

Keywords: Oral squamous cell carcinoma, Fanconi Anemia, tobacco addiction, EGFR, CTNNB1, single nucleotide polymorphism

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 35318

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma (OSHK) oral kavitede deri ve mukozaların çok katlı skuamöz epitelinden kaynaklanan bir malignitedir. OSHK dünya genelinde en ölümcül sekiz kanser türü içinde yer almaktadır¹. OSHK gelişiminde birçok genetik ve çevresel risk faktörünün etkisi bulunmaktadır. OSHK gelişiminde bildirilen başlıca risk faktörleri arasında sigara kullanımı, alkol tüketimi, kötü ağız hijyeni ve FA sayılabilir¹.

Fankoni anemisi (FA) otozomal resesif şekilde kalıtılan nadir bir kemik iliği yetmezliğidir. Fankoni anemisi DNA onarımından sorumlu FA/BRCA yolak genlerinde oluşan mutasyonlar sonucunda gelişmektedir. FA'sinin etkin tedavi yöntemi hematopoetik kök hücre naklidir, ancak nakil olsalar dahi, hastalar somatik hücrelerindeki DNA tamir yetersizliğinden dolayı kanser gelişimine yatkınlık gösterir. OSHK FA hastalarında en sık görülen solid tümördür ve oldukça genç yaşlarda ortaya çıkmaktadır².

Sigara kullanımı tüm dünyada çok yaygın görülen bir bağımlıktır ve sigara kullanımına bağlı gelişen kanserler özellikle de OSHK artış göstermektedir³.

EGFR (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü) OSHK gelişiminde etkin rol oynayan çok sayıda sinyal yolağını aktive etmektedir⁴. EGFR genindeki varyasyonların birçok farklı kanser türünde tümör gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir⁴.

CTNNB1 geni, Wnt sinyal yolağı ana regülatörü β -katenin proteinini kodlamaktadır. Wnt/ β -katenin sinyal yolağının OSHK gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir bu nedenle CTNNB1 gen varyasyonlarının önemli olabileceği düşünülmektedir⁵. EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 gen varyantlarının OSHK geliştirme riski ile ilgili polimorfizmler olduğu düşünülerek OSHK hastalarında incelenerek, FA hastaları, sigara bağımlılarında ve sigara içmeyen sağlıklı bireylerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma

Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma (OSHK), oral kavite deri ve mukozalarının çok katlı skuamöz epitelinden kaynaklanan bir malign neoplazımdır. Baş ve boyun bölgesinde meydana gelen oral tümörlerin %95'inden fazlası OSHK olarak tanımlanmaktadır⁶.

2.1.1. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Epidemiyolojisi

OSHK genellikle orta yaş ve üzeri kişilerde görülmekte ve erkeklerin daha yüksek oranda etkilendiği bilinmektedir. OSHK epidemiyolojisinin sıklıkla düşük, orta gelirli ve gelişmekte olan ülkelerde, gelişmiş ülkelere göre daha yüksek eğiliminde olduğu bildirilmiştir⁷. Batı ülkelerinde OSHK vakalarının %20-%40'ında dilin, %15-%20'sinde ağız tabanının etkilendiği bilinmektedir. ABD'de ise dudak, ağız boşluğu ve boğaz kanserlerinin %9,84 erkeklerden, %1,4'ü kadınlardan oluşmaktadır ve ortalama tanı yaşı 62'dir⁸. 2017'nin verilerine göre dünyada her yıl 540.000 kişiye OSHK tanısı konulmaktadır⁹. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2018 yılında yayınlanan verilerine göre Türkiye'de ağız kanseri ölümleri 1,330 veya toplam ölümlerin %0,33'üne ulaşmıştır. Yaşa göre ayarlanmış ölüm hızı 100,000 kişi başına 1,68 olarak bildirilmiştir¹⁰.

Sağkalımındaki prediktif faktörler; etnik farklılıklar, tanı süresi, cinsiyet, tanı yaşı, anatomik bölge, tip ve tedavi süresidir. Hastaların büyük bir yüzdesinde tedaviye yanıt azdır. Manikandan ve ark. çalışmasında, OSHK'nın dünya genelinde 145.000 ölüme neden olduğunu ve 5 yıllık sağkalım oranlarının son 40 yılda (her onar yılda) % 50'den öteye geçmediğini belirtmişlerdir¹¹. Bunun nedeni, OSHK vakalarının yaklaşık %51,5'inin ileri III- IV evrelerde teşhis edilmesidir. 1960'lı yıllardan sonra tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile OSHK sağkalım oranları %15 artış göstermiştir. 2019 yılının verilerine göre OSHK'lu hastaların genel 5 yıllık sağkalım oranı %60'tır^{12,13}, nüksü olmayan OSHK hastalarında bu oran %79-92, nüksü olanlarda ise %30-31,8'dir⁷.

2.1.2. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Risk Faktörleri

OSHK oluşumuna kimyasal, fiziksel, biyolojik ve genetik faktörler etki etmektedir. Bunların içinde en yaygını sigara içme, alkol tüketimi ve insan papilloma virüs (HPV) enfeksiyonudur¹⁴. Diğer risk faktörleri: ağız boşluğunda kötü hijyen, boya dumanı, plastik yan ürünler, benzin dumanı gibi çevresel kirleticiler, dumansız tütün (naswar),

çiğneme, kanserojenlere mesleki maruziyet, immün sistem yetmezliği, gastro-özofageal reflü, marihuana kullanımı, belirli diyet ve genetik yatkınlıklar, demografik ve sosyo ekonomik değişkenler ile kusurlu diş protezleridir. Bu faktörler kanser patogeneğinde rol oynayan çeşitli genetik mutasyonlara ve/veya epigenetik modifikasyonlara neden olmaktadır^{15,16}.

Sigara yüksek oranda karsinojen maddeler içermektedir ve OSHK riskini 5-9 kat arttırmaktadır. Sigara aynı zamanda yüksek oranda serbest radikal birikimine neden olarak oral kavitede doku ve hücre zedelenmesinde rol oynamakta hücre stresini arttırmakta ve DNA hasarlarına neden olmaktadır. 20 yıldan fazla sigara içen kişilerde OSHK'ya yakalanma riski büyük oranda artış göstermektedir¹⁷. Sigara içindeki kimyasal maddeler ağızdaki hücrelere zarar vermekte ve kansere dönüşme eğilimi olan lökoplaki oluşumlarına neden olmaktadır¹⁸.

Alkol, oral epitelyumun geçirgenliğini artırır ve tütün yanma ürünleri ile sinerjik olarak da etki göstermektedir^{19,20}. Alkol, bazal hücre proliferasyonunu indükler ve DNA hasarına neden olabilecek serbest radikaller ve asetaldehitler (etanölün ilk metaboliti) üretir. Etanol oral mukozasının hücre membranını kanserojenlere karşı geçirgenliğini artırır. Alkol ile ağız mukozasının temas etmesi sonucunda ağız boşluğunda kronik enflamatuvar süreçler ve malign tümörler meydana gelir. Huang ve ark. ile Blot ve ark. ABD ve Danimarka'da alkolün ağız kanser riskleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir^{21,22}. Lopes ve ark. sigaranın alkol ile birada tüketiminin OSHK riskini 35 kat arttıracığını bildirmiştir²³.

Viral enfeksiyonlar, özellikle onkogenik HPV ve Epstein-Barr virüsü, oral epitel üzerinde tümörojenik etkiye sahiptir. HPV enfeksiyonuna bağlı OSHK ilk olarak 1983'te bildirilmiştir^{24,25}. HPV ile enfekte olan kişilerde enfeksiyona maruz kalmayanlara göre OSHK insidansı daha yüksektir. OSHK'da HPV prevalansı, popülasyondaki coğrafi farklılıklara, numune tipine, hazırlama yönteminin seçimine ve HPV saptama yönteminin kullanımına göre çeşitli parametrelere bağlı olarak değişmektedir^{26,8,27}. Oral epitel displazisinde HPV tip 2, 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35 saptanmıştır. OSHK hastalarından alınan kanser biyopsi örneklerinde bazı HPV alt tipi pozitifliği bulunmuştur^{28,29}. Zhang ve ark. OSHK'ların %74'ünde HPV alt tipi 16 ve 18'in pozitif olduğunu belirtmiştir^{28,30,31}. Gillison ve ark. ABD'de 14-69 yaş aralığında

olan erkek ve kadınlarda oral HPV enfeksiyon yaygınlığının %6,9 olduğunu erkeklerde görülme sıklığının kadınlara göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir³².

Bazı genetik hastalıklar OSHK riskini arttırmaktadır. Bu hastalıklar Li Fraumeni Sendromu, Plummer-Vinson Sendromu, Fankoni Anemisi, Diskeratozis Konjenita, Xeroderma Pigmentosum ve Diskoid Lupus eritematozus'u içermektedir^{33,34}. Bu tür genetik hastalığı olan bireylerde OSHK daha genç yaşlarda (kanserojen maruziyeti olmasa dahi) ortaya çıkma eğilimindedir³⁵.

2.1.3. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Patolojisi ve Moleküler Temeli

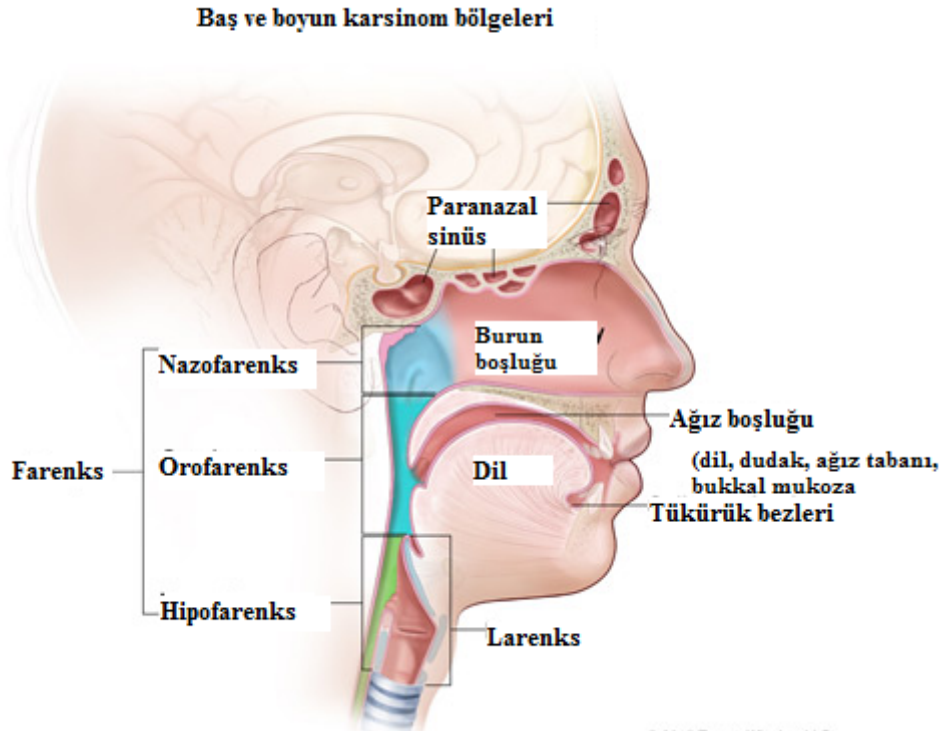
OSHK oluşumu çeşitli risk faktörlerinin yanında; kritik hücresel süreçleri etkileyen genetik ve/veya epigenetik değişikliklerin karmaşık birlikteliğini kapsayan, moleküler ve histolojik çok aşamalı bir süreçtir. OSHK gelişiminde etkili genetik değişiklikler onkogenlerin aktivasyonuna ve/veya tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna neden olmaktadır³⁶⁻³⁸. Genetik değişiklikler nedeniyle aktive olan onkogenler ve baskılanan tümör baskılayıcı genler hücrelerin çoğalmasında ve büyümeye engel olacak sinyallerden kaçmasında rol oynamaktadır. Kanseri gelişiminde etkisi olan onkogenler, büyüme faktörleri ve büyüme faktör reseptörleri, hücre içi sinyal dönüştürücüleri, transkripsiyon faktörleri, hücre döngüsünün düzenleyicileri ve apoptoz inhibisyonunda yer alan genler olarak bilinmektedir³⁶. Onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar veya gen amplifikasyonları hücre çoğalmasını arttıran sinyal yollarının aşırı aktivasyonunu tetikleyebilmektedir. Tümör baskılayıcı genler ise; normalde hücre bölünmesini baskılayan genler ve apoptoz başlatıcı genlerdir. Mutasyon, heterozigotluk kaybı veya delesyon gibi genetik değişikliklerle veya DNA metilasyonu gibi epigenetik modifikasyonlar yoluyla bu genler inaktive edilebilir. Onkogenlerde de tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen genetik ve epigenetik değişiklikler (nokta mutasyonları, amplifikasyonlar, delesyonlar, DNA metilasyonu gibi) ağız mukozasında normal keratinositlerin prekanseröz hücrelere dönüşmesine ve prekanseröz lezyonların gelişmesine yol açabilir³⁹.

OSHK'da en sık mutasyona uğradığı saptanan genler; Rb, p53, TC21, CCND1, CDKN2A, EGFR, SMAD-2, SMAD-4, CDK2AP1, FHIT PI3K-AKT, NF-kB, TP53 ve Wnt genleridir³⁸. Bu genlerin çoğu PI3K/AKT/mTOR, RAS/RAF/MAPK, JAK/STAT ve WNT/ β -katenin gibi kritik sinyal yollarında etkilidir. Bu sinyal yollarının anormal aktivasyonunun OSHK ilerlemesine ve metastazına katkıda bulunduğu bilinmektedir⁴⁰.

2.1.4. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma'nın Klinik Özellikleri

Ağız kanseri epitelyal displazi olarak ortaya çıkar, epitel tabakasının yüzeyinde displastik skuamöz hücrelerin proliferasyonu ile ilerler ve subepitelyal bazal membranı bozulması ile devam eder. OSHK'ların en sık görülen klinik belirtileri yüzeysel doku kaybı, erozyon, ülser ve ekzofitik şekilli lezyonlardır. Yüzeysel aşınmış bölgelerde gelişen lökoplaki, eritroplaki veya eritroleukoplaki gibi prekanseröz lezyonlar klinik özelliklerden en sık görülenleridir. Çoğu durumda lezyonlar asemptomatiktir; ağrı sadece kasların veya sinirlerin hastalığın ileri aşamalarında istila edilmesi durumunda ortaya çıkar¹⁶.

Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma, oral mukozanın herhangi bir bölümünü etkileyebilir (Şekil 2.1)⁴¹. Tümör lokasyonunu kapsayan anatomik bölgeler; dudak, dil, bukkal mukoza, labiyal mukoza, ağız tabanı, dişeti, sert damak ve gingiva'dır⁴².



Şekil 2-1: Oral Skuamöz Hücreli Karsinomların çeşitli anatomik lokalizasyonu⁴¹

Dil, ağız kanserlerinin en sık etkilenen bölgesidir ve tüm ağız kanserlerinin %50-60'ını oluşturmaktadır. Bu bölgede tümörlerin çoğu lateral sınırlarda ve ventral yüzeyde görülmektedir¹⁶.

Skumöz hücreli oral kanserlerin %25'i dudakta gelişmektedir. Dudak kanseri yavaş gelişir ve diş etine kadar yayılabilir. Genellikle çiftçilik, balıkçılık gibi mesleğe sahip kişilerde uzun süre güneşe maruz kalma sonucunda dudak kanserinin gelişim riski yüksektir. Dudak SHK insidansı en çok Kuzey Amerika, Avrupa ve Okyanusya'da görülmektedir^{43,44}.

Ağız kanserlerinin yaklaşık %10'u ağız tabanında gelişmektedir. Tümörler genellikle ağız tabanının ön kısmında yer alır. Oral karsinomlarının %3'ü retromolar trigon bölgesinde gelişmektedir. Daha az görüldüğü bölgeler arasında dişeti, bukkal mukoza, labial mukoza ve sert damak bulunmaktadır. Bukkal mukoza, güneydoğu Asya'da ağız kanserleri içerisinde en yaygın görülen bölgedir^{45,46}.

2.1.4. Oral Skumöz Hücreli Karsinoma Tanısı, Evrelemesi ve Prognoz

Hastanın yaşam kalitesi, sağkalım ve tedavisi açısından OSHK'nın erken teşhisi çok önemlidir. OSHK'nın teşhisi ilk ağız muayenesi ile başlanmaktadır. OSHK'nın %90'ı mukozal yüzeylerdeki lezyonlardan teşhis edilmektedir. İlk aşamada ağız boşluğundaki meydana gelen çok sayıda kırmızı, beyaz veya ülser lezyonları ayırabilmektedir. Oral lezyonların çoğu iyi huyludur, ama kötü huylu bir lezyonla karıştırılabilecek bir görünüme sahiptir. Önceden iyi huylu olarak kabul edilen lezyonların bazıları şimdi premalign olarak sınıflandırılmaktadır. İkinci aşamada, tümör dokusundan biyopsi örneği alınmasıdır. Primer kanserin kapsamını tanımlamak ve hastayı ikinci malignitelerin varlığı açısından değerlendirmek için şüpheli lezyonlardan birden fazla biyopsi örneği alınmaktadır. Diğer yöntemler arasında röntgen, manyetik rezonans görüntüleme (MR) veya pozitron emisyon bilgisayarlı tomografi (PET-BT) görüntülemesi yer almaktadır. PET-BT, tümörün boyutunu belirlemek, tumor yayılımının kapsamını, invazyon derinliğini değerlendirmek, diğer bölgeleri etkileyip etkilemediğini öğrenmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Yumuşak doku tutulumunun kapsamını değerlendirmek ve tümörün üç boyutlu bir görüntüsünü sağlamak için MR tercih edilmektedir⁴⁷.

Biyopsi ve histopatolojik analiz OSHK teşhisinde altın standarttır⁴⁸. Histopatolojik derecelendirme, OSHK'nın prognozunun belirlenmesinde önemli bir faktördür. OSHK'nın histopatolojik değerlendirilmesi epitelde bulunan lezyonların reaktif epitel değişikliklerine (hiperkeratoz, hiperplazi ve akan toz) veya preneoplastik değişikliklerine (hafif, orta ve şiddetli displazi dahil olmak üzere) göre sınıflandırılmaktadır⁴⁹. DSÖ, OSHK tümörlerinin histolojik olarak derecelendirme sistemini iyi, orta derecede ve kötü farklılaşmış tümörler olmak üzere üç kategoriye ayırmıştır⁵⁰. OSHK'nın morfolojik derecelendirilmesi ise; dört parametereye göre sınıflandırılır; bu parametreler keratinizasyon derecesi, nükleer pleomorfizm, enflamatuvar infiltrat ve invazyon paternidir⁵¹.

Oral Skuamöz Hücreli Karsinom'da TNM evrelemesinin (T-tümör boyutu, N-bölgesel lenf nodu boyutu ve sayısı ve M-uzak metastaz) en önemli klinik prognostik faktör ve tedavide belirleyici olduğu bildirilmiştir⁵² (Tablo 2.1). TNM evrelemesi için tümör boyutu, invazyon derinliği, lenf nodu metastazı, differansiyon derecesi, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon gibi histopatolojik parametrelerin değerlendirmesi çok önemlidir. OSHK klinik sınıflamasında TNM evrelemesinin yanında; tümörün yerleşim yeri, tümörlerin keratinizasyon derecesi, nükleer polimorfizm, lenfositik infiltrasyon ve invazyon derinliği gibi morfolojik özelliklerinin değerlendirilmesi de önemlidir³⁸.

Bu değerlendirmeler sonucunda hastaya uygulanacak teröpatik strateji belirlenir. Tümör invazyon derinliği, yüksek gizli veya geç lenf nodu metastazı ve tümör nüksü daha düşük sağ kalım şansının göstergesi olarak bilinmektedir.

OSHK'ya bağlı TNM kategorileri ve evre grupları aşağıda (Tablo 2.3) açıklanmaktadır. I. evre tümörü olan hastalar genellikle %90 sağkalım oranına sahipken, II. evre tümörleri olan hastalar yaklaşık %70 sağkalım oranına sahiptir. İleri evre tümörleri (örn. III/IV) daha kötü prognoza sahiptir^{52,49}.

Tablo 2.1: OSHK’da TNM sınıflandırılması ⁴²

Primer Tümör(T)	
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor
To	Primer tümör yok
T _{is}	in situ karsinom
T1	Tümör 2 cm yada daha küçük
T ₂	Tümör 2 cm'den büyük fakat 4 cm'den küçük
T ₃	Tümör 4 cm'den büyük
T4a	Tümör çevre dokuları invaze etmiş (ör., kortikal kemik, derin [ekstremiteler] dil adeleleri [genioglossus, hiyoglossus, palatoglossus ve stiloglossus], maksiler sinüs , yüz derisi)
T4b	Tümör mastikatör boşluğu, pterigoid kemiği, veya kafa tabanını invaze etmiş ve/veya internal karotid arter tutulumu var
Not: Gingiva primerinin oluşturduğu tek başına yüzeysel kemik/diş soketi erozyonu tümörü T4 olarak sınıflamak için yeterli değildir.	
Bölgesel Lenf Nodları (N)	
N _x	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
No	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Tek, ipsilateral, 3 cm yada küçük lenf nodu metastazı
N2a	Tek, ipsilateral, 3 cm 'den büyük 6 cm'den küçük lenf nodu metastazı
N2b	Birden çok, ipsilateral lenf nodu metastazı, hiçbir 6 cm 'den büyük değil
N2c	iki taraflı veya kontralateral lenf nodu metastazı, hiçbir 6 cm 'den büyük değil
N3	Çapı 6 cm'den büyük lenf nodu metastazı
Uzak Metastaz (M)	
Mx	Uzak metastaz değerlendirilemiyor
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz

Evreleme Grupları			
Evre 0	Tis	NO	MO
Evre I	T1	NO	MO
Evre II	T2	NO	MO
Evre III	T3	NO	MO
Evre IVA	T1	N1	MO
	T2	N1	MO
	T3	N1	MO
	T4a	NO	MO
	T4a	N1	MO
	T1	N2	MO
	T2	N2	MO
Evre IVB	T3	N2	MO
	T4a	N2	MO
	Her T	N3	MO
	T4b	Her N	MO
Evre IVC	Her T	Her N	M1

2.1.5. Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Tedavisi

OSHK hastalarında tedavi stratejisi primer tümör boyutu, bulunduğu yer, lenf nodu durumu, uzak metastaz varlığı veya yokluğu, histolojik evreleme analizi ve hastanın tedaviyi tolere edebilme yeteneği gibi çeşitli faktörler tarafından belirlenir. OSHK'nin klinik davranışı, tedavi yaklaşımları ve sonuçları hastadan hastaya, bölgeden bölgeye ve hatta bazen ayrı alt bölgeler içinde büyük ölçüde değişiklik göstermektedir⁵³.

OSHK tedavisinde ana yöntemler cerrahi, radyasyon ve kemoterapidir⁵⁴. OSHK hastalarının %50'sinden fazlasında lokal nüks veya uzak metastaz görülür. Onkolojik cerrahinin ilk amacı tümörün mümkün olan en fazla kısmını çıkarabilmektir. OSHK'nın I. ve II. evresindeki yüksek riskli hastalar için postoperatif radyoterapi ile cerrahi uygulanır. Ağız kanserleri evre I veya II'de cerrahi ile tedavi edildiğinde iyi sonuç verir. Tümör tamamen çıkarılmamış yada nüks riski yüksekse, kemoradyasyon uygulanabilir. OSHK'nın ilerlemiş evrelerinde cerrahi, kemoterapi ve radyoterapinin kombine olarak uygulanmasıyla tedavi edilir. Tekrarlayan OSHK vakalarında kemoradyoterapi ile birleştirilmiş EGFR inhibitörünün kullanılması bir avantajdır. İlerlemiş hastalığı olan OSHK hastalarında sağkalım ve yaşam kalitesini iyileştirmek için multidisipliner yaklaşımlar kullanılmaktadır^{7,53}.

Radyoterapi (RT) cerrahi rezeksiyondan önce tümörün boyutunu azaltmak için ve sıklıkla cerrahi rezeksiyondan sonra kalan kanser hücrelerini yok etmek için kullanılmaktadır. Radyoterapi tipik olarak dokuyu cerrahi olarak çıkarmanın zorluğu nedeniyle de uygulanır, çünkü dokular fibrozlanır ve böylece daha yavaş iyileşme eğilimi gösterir. Radyoterapi ve kemoterapi veya her ikisinin kullanımının, hastanın yaşam kalitesini düşüren ciddi yan etkilere sahiptir⁵⁵. Radyoterapinin ameliyattan sonraki 6 hafta içinde başlaması önerilmektedir⁵⁶.

Kemoterapi genellikle OSHK hastaları için palyatif bir tedavi olarak kullanılmaktadır. Kemoterapinin radyoterapi ile birlikte kullanılmasının OSHK'lı hastanın hayatta kalma ve yaşam kalitesini arttırdığı gösterilmiştir⁵⁷.

Ağız kanser hastalarına monoklonal antikorlar ve gen terapisi gibi hedefe yönelik moleküler terapiler uygulanmaya başlanmıştır. Hedefe yönelik kanser tedavilerinde dört molekül üzerinde odaklanmıştır. Bunlar; EGFR, siklooksijenaz-2 (COX-2), peroksizom proliferator (PPAR) ile aktive edilmiş reseptör ve progesteron reseptörüdür^{58,59}.

EGFR sinyalleşmesinin inhibisyonu, OSHK tedavisi için yeni bir terapötik strateji olarak ortaya çıkmıştır. EGFR hedefli 2 tür tedavi stratejisi bulunmaktadır: bunlar monoklonal antikorlar (setuksimab, panitumumab) ve tirozin kinaz inhibitörleri (gefitinib, erlotinib)'dir^{60,61}. Anti-EGFR monoklonal antikorları ileri kolorektal, baş ve boyun kanseri ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) tedavisinde kullanılmaktadır⁶². Setuksimab, OSHK tedavisinde tercih edilen tek EGFR antikorudur⁶³. Setuksimab, EGFR'ye yüksek afinitesi olan, hücre döngüsünün ilerleyişini engelleyen ve hücre dışı EGFR alanına spesifik olarak bağlanarak tümör hücresi apoptozunu indükleyen bir rekombinant kimerik (insan/murin) IgG1 monoklonal antikorudur⁶³. Setuksimab'ın, SHK'da radyasyonun sitotoksik etkilerini arttırdığı ve OSHK'larda sağkalım sonuçlarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. OSHK'da radyoterapi ile Setuksimabın kombinasyon halinde uygulanması hemde sağkalım oranları üzerindeki etkileri ilk olarak Bonner ve ark. çalışmasında bildirilmiştir. Setuksimab, EGFR üzerinde iki farklı etki mekanizması sergilemektedir. İlk olarak, tamamlayıcı bir ligandın EGFR'ye bağlanması reseptör homo/hetero dimerizasyonu, ikinci olarak, setuksimabın EGFR eksprese eden hücrelere bağlanması, konakçı bağışıklık hücrelerinin aracılık ettiği antikora bağımlı hücrel sitotoksiteyi indüklemesidir⁶⁴. Chen ve ark. EGFR'ye yönelik moleküler hedefleme terapisinin, sigara nedenli oral kavite kanseri için bir tedavi olabileceğini göstermektedir⁶⁵.

Erlotinib, EGFR tirozin kinazın güçlü, seçici bir inhibitörüdür. Erlotinib, tekrarlayan veya metastatik oral skuamöz hücreli karsinomlu hastalarının tedavisinde %4 oranında düşük bir yanıt göstermiştir. Erlotinib sisplatin ile kombine edildiğinde, benzer bir hasta popülasyonunda %21'lik bir yanıt oranı göstermektedir^{66,67}.

Li ve ark. OSHK hücrelerinde β -katenin ekspresyonunun sisplatine direnci ile ilişkili olduğunu ve β -katenin ekspresyonunun azalması sisplatin duyarlılığı kazandırması tedavi etkinliği arttırdığını bildirmişlerdir⁶⁸.

Standart tedavi seçenekleri olarak bilinen cerrahi ve radyoterapideki ilerlemelere rağmen, ölüm oranı son on yıllarda büyük ölçüde değişmemiştir⁶⁹. OSHK tedavisinde cerrahi, radyoterapi ve kemoterapinin kombinasyonu 5 yıllık sağkalım oranını %6,5 arttırmaktadır⁵⁸.

2.2. Fankoni Anemisi

Fankoni Anemisi (FA), kemik iliği yetmezliği, çeşitli konjenital fiziksel anormallikler ve kromozomal instabilite ile karakterize, otozomal resesif veya X'e bağlı kalıtılan kalıtsal, nadir bir genetik hastalıktır. FA, ilk olarak 1927 yılında İsviçreli çocuk doktoru Guido Fankoni tarafından tanımlanmıştır⁷⁰.

2.2.1. Fankoni Anemisinin Epidemiyolojisi

Dünya genelinde FA'nin görülme sıklığı 3/3.000.000 olarak bildirilmekte, yaygınlığı ise 1.000.000 kişide 10 vaka olarak tahmin edilmektedir⁷¹. Heterozigot sıklığı Avrupa ve ABD'de 1/300 olarak tahmin edilmektedir. FA taşıyıcılığı sıklığı Kuzey Amerikalılarda 1/181, İsrail'de 1/93, Aşkenazi yahudilerinde 1/89, Güney Afrikalılarda 1/83, Japonya ve kuzey Avrupa'da 1/300 gibi farklı etnik gruplarda bulunmaktadır^{72,73}. Türkiye'de akraba evlilikleri nedeniyle FA'nin prevalansı diğer ülkelere göre daha yüksektir. Türkiye popülasyonunda FA'nin heterozigot sıklığı 1/300 olarak bilinmektedir⁷⁴.

2.2.2. Fankoni Anemisinin Klinik Özellikleri

FA hastalarında belirlenen klinik özellikleri arasında çeşitli fiziksel anormallikler, kemik iliği yetmezliği ve artan malignite riski görülmektedir. FA hastalarının %50-75'inde tüm organ sistemlerini etkileyebilen fiziksel anomaliler, doğum öncesi veya doğum sonrası büyüme eksikliği ve zihinsel gerilik, kısa boy ve mikrosefali gibi anomaliler vardır. Hastaların %40'ında anormal cilt pigmentasyonu: sütlü kahverengi koyu boyanmış lekeler, hiperpigmentasyon görülebilir. Alt ve üst ekstremitelerde iskelet bozuklukları (baş parmak anomalileri: sindaktili, bifid, kalça çıkığı) görülür. Hastaların %5-%20'sinde genitoüriner sistem anomalileri (erkeklerde küçük üreme organları, yapısal böbrek bozuklukları), işitme kaybı, konjenital kalp defekti, gastrointestinal, merkezi sinir sistemi, küçük yüz görünümü, endokrin sistem bozuklukları (hipotiroidizm) ile gastrointestinal sistem ve sinir sisteminde organ anomalileri görülür^{72,73,75}.

FA'nin en önemli klinik özellikleri hematolojiktir. Hastalarda bu patolojinin nedeni kanın şekilli elemanlarında meydana gelen trombositopeni, nötropeni makrositozdan sonraki ilk kan sayımı bozukluklarıdır⁷⁶. Pansitopeni tipik olarak 5-10 yaş arasında görülmektedir. Hemogloblin sayısında azalma, eritrosit, fetal hemogloblin, alfa-fetoprotein düzeyinde artış ve kemik iliği hücre oranının %10 altında olması miyelodisplastik ve myeloid sendromlarının gelişmesiyle karakterizedir. FA'sinde

hematopoietik kök hücreler (HKH) normal kök hücrelerin aksine, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-alfa) gibi apoptoza neden olan sitokinlere karşı aşırı duyarlıdır. Bu sitokinlere maruz kalmak, bu hücrelerdeki apoptoz oranını arttırarak, FA HKH'lerin sayısını azaltır. Bu olaylar, tüm farklılaşmış kan hücre tiplerinin üretiminin azalmasına ve hızlı kemik iliği yetmezliğine yol açar⁷⁷.

2.2.3. Fankoni Anemisinin Moleküler Patogenezi

FA hastalarında mutasyona uğramış 22 FA geni tanımlanmıştır: FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1/BRCA2, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG/XRCC9, FANCI, FANCL / BRIP1, FANCL / PHF9, FANCM, FANCN / PALB2, FANCO/RAD51, FANCP/SLX4, FANCP/ERCC4, FANCR/RAD51, FANCS/ BRCA1, FANCT/UBE2T, FANCU/XRCC2, FANCV/REV7 ve FANCW/RFWD3. FA genleri DNA tamiri ile ilişkilidir ve tümör baskılayıcı özelliğe sahiptir. X'e bağlı FANC B hariç bu genlerde meydana gelen bialellik mutasyonlar FA'sine neden olmaktadır. FANC-A geni 1996 yılında klonlanmış ve fazla miktarda mutasyon bulunmuştur. Genlerin her biri bialellik mutasyona uğradığında X'e bağlı FANC B hariç, FA'ye neden olmaktadır. Sumpter ve ark. FA'sine yol açan genleri gruplandırmıştır. Bu gruplarla ilişkili genlerin detayları aşağıdaki (Tablo 2.2) sunulmuştur. Genlerin her biri, DNA onarımı sürecinde yer alan belirli bir proteinin sentezinden sorumludur⁷⁸.

FA proteinleri, DNA çapraz bağlama maddelerine hücrel direnci düzenleyen FA/BRCA yolunda görev alır. FA/BRCA yolağının temel işlevi, DNA tamirini ve homolog rekombinasyonu kontrol etmektedir. Hücre döngüsünün S fazında çapraz bağlanmaları içeren bir DNA hasarı tespit edildiğinde FA/BRCA yolağı aktive olmaktadır⁷⁹. Bu aktivasyon sonucunda FA/BRCA yolu, belirli proteinleri hasar alanına gönderir, böylece DNA tamir edilir. FA/BRCA yolağında meydana gelen bozukluklar delesyonlar, amplifikasyonlar, kromozomal instabilite, somatik ve nokta mutasyonlar kanser gelişimine neden olmaktadır⁸⁰.

Tablo 2.2: Fankoni Anemisine yol açan genler⁷⁹

Gen	Lokus	FA hastalarında yaklaşık insidansı (%)	Hastalık Transmisyonu düzeni
FANCA	16q24.3	70	AR
FANCB	Xp22.31	Nadir	XLR
FANCC	9q22.3	10	AR
FANCD1(BRCA2)	13q12.3	Nadir	AR
FANCD2	3p25.3	Nadir	AR
FANCF	11p15	Nadir	AR
FANCG (XRCC9)	9p13	10	AR
FANCI (KIAA1794)	15q25-26	Nadir	AR
FANCIJ (BACH1/BRIP1)	17q22.3	Nadir	AR
FANCL (PHF9/POG)	2p16.1	Nadir	AR
FANCM (Hef)	14q21.3	Nadir	AR
FANCN (PALB2)	16p12.1	Nadir	AR
FANCO (RAD51C)	17q22	Nadir	AR
FANCP (SLX4/BTBD12)	16p.13.3	Nadir	AR
FANCQ (ERCC4/XPF)	16p13.12	Nadir	AR
FANCLAR (BRCA1)	17q21.31	Nadir	AR

AR=otozomal resesif; XLR=X'e bağlı resesif

2.2.4. Fankoni Anemisinin Tanı ve Tedavi

FA tanısı; aile öyküsü, geçmiş hastalıkları, kan tahlilleri, kemik iliği testi ve genetik testlere dayanır. Genellikle 2-15 yaşları arasında teşhis konur. FA hastalarına diepoksibütan (DEB) testi yapılarak tanı konulmaktadır⁸¹.

FA'de kan sayımlarını arttırmak için androjen tedavisi ile hematopoetik büyüme faktörleri, kemik iliği yetmezliğinin tedavisi için etkilidir⁷⁷.

FA'nin hematolojik anomalileri için tek tedavi yöntemi hematopoetik kök hücre nakli (HKHN)'dir^{82,83}. FA hücreleri DNA çapraz bağlama maddelerine aşırı duyarlı olduklarından, FA hastalarına siklofosamid veya radyoterapi kullanımına karşı artan hassasiyet gösterir. Bu yüzden, FA hastalarında kemik iliği nakli tedavisindeki olumsuz etkiyi azaltmak amacıyla kemoterapi/radyasyon hazırlık rejimleri uygulanır. Kemik iliği yetmezliğinde kemik iliği naklinden sonra erken girişimlerde aşırı rejime bağlı toksisite, greft yetmezliği ve GVHD komplikasyonları gelişebilir. Drobyski ve ark. T hücresi depleasyonu, Bitan ve ark. fludarabin bazlı hazırlık rejimlerinin ve birlikte tedavisinin GVHD riskini azalttığı ve genel sağkalımı artırdığını açıklamışlardır^{84,85}. Son 10 yılda, FA'deki hematolojik problemlerin HKHN ile tedavi edilmesi, hastaların erişkinlikte yaşam sürelerini arttırmıştır. Bu hastalarda yüksek hastalık nüks oranı ve kanseri riski nedeniyle tedaviden sonra çok kapsamlı bir izleme zorunludur⁸⁶.

FA'li hastaları ağız boşluğunda bulunan yara ya da uçukların kanser gelişimini önlemek amacıyla baş ve boyun muayenesi ile diş muayenesi en az 6 ayda bir kez ve yıllık cilt muayenesi, kanser taraması yaptırmaları gerekmektedir⁸⁷.

2.2.5. Fankoni Anemisi ve Kanser Gelişme Yatkınlığı

1982'de Uluslararası Fankoni Anemisi Kayıt Sistemi (İFAR), FA hastalarından klinik ve genetik bilgiler toplamak amacıyla kurulmuştur. Bu sisteme göre FA hastalarında gelişen solid kanserler kayıt altına alınmıştır⁸⁸.

FA yolağındaki proteinlerde bir inaktivasyon olması solid kanserlerinin gelişmesine sebep olmaktadır. FA hastalarında en yüksek kanser gelişimi insidansı ilk Kutler ve ark. tarafından bildirilmiş. FA hastalarında aplastik anemi ve miyelodisplastik sendrom (MDS) nedeniyle en sık görülen kanser akut miyeloid lösemi (AML)'dir ve AML bu hastalarda en fazla morbidite ve mortalitenin nedenidir⁷². FA hastalarında en sık görülen solid tümörler ise; ağız ve özafagus skuamöz hücreli kanserleridir⁸⁹. Androjen tedavisi alan FA hastalarında ise; karaciğer tümörleri gelişim riski yüksektir². FA hastaları cilt ve genitoüriner sistemdeki ikinci primer kanserler için de yüksek risk altındadır. FA hastalarında tümörler agresif biyolojik davranışlar gösterir, ayrıca kötü sağkalım ve yüksek nüks oranları ile karakterizedir^{89,90}.

FA hastaları, genel popülasyondan 500-700 kat daha yüksek OSHK insidansına sahiptir^{91,92}. FA hastalarının ağız boşluğu bölgesinin mukoza zarlarının kansere belirgin bir afiniteye sahip olduğunu tanımlamıştır⁹³. FA hastalarda OSHK'un en çok görüldüğü

alan %69 insidans ile dildir. FA hastalarında genel popülasyonda göre OSHK'a yakalanma yaşı oldukça erkendir. Nakil olmuş FA hastalarında OSHK 15-49 yaş arasında görülmektedir. Kemik iliği nakli OSHK riskini 4.4 kat arttırmaktadır^{71,89,92}. Ağız boşluğu kanseri olan 35 yaşın altındaki FA hastalarının 5 yıllık sağkalım oranı %57'dir⁹³.

2.3. Sigara Bağımlılığı

Dünyada en sık tüketilen tütün ürünü sigaradır. Sigara ve diğer tütün ürünleri ağız boşluğu ile ilişkili kanserler için başlıca risk faktörleridir. Sigara dumanında 5,300'den fazla kimyasal madde bulunmaktadır, örneğin: nikotin, benzpiren, tütüne özgü nitrozaminler, nitrozo-nor-nikotin, nitrosopirrollidin, nitrosodimetilamin ve 4-(metilnitrosamino) -1- (3-piridil) -1-bütanon, nitrosodiftanolamin polonyum bu maddelerden bazılarıdır⁹⁴.

Bu maddeler arasında yüksek derecede bağımlılık etki gösteren madde nikotin'dir. DSÖ'nün tanımladığına göre nikotin bağımlılığı kanser olma riskini 2 kat artırır. Fagerström Nikotin Bağımlılığı Testi (FNBT), nikotin bağımlılığını değerlendirmek için hızlı ve kolay uygulanan yöntemdir. FNBT'ni dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır (Tablo 2.1). Kanser hastalarında nikotin bağımlılığının değerlendirilmesi, sigarayı bırakma açısından daha etkili bir yaklaşımın geliştirilmesine katkıda bulunabilmektedir. West ve ark. sigara içenlerin oral mukozasında nikotinik asetilkolin reseptörünün alfa 3 alt birimi olan CHRNA3 seviyelerinin artması ve nikotinin bu reseptöre bağlanarak PI3K/Akt sinyalinin aktivasyonuna neden olduğu bildirilmektedir⁹⁵.

Tablo 2-3: Fagerström nikotin bağımlilik testi ⁹⁶

1.Günün ilk sigarasını sabah uyandıktan ne kadar sonra içersiniz?	a. İlk 5 dakika içinde	3 puan
	b. 6-30 dakika içinde	2 puan
	c. 31-60 dakika içinde	1 puan
	d. 1 saatten sonra	0 puan
2.Sigara içmenin yasak olduğu yerlerde sigara içmemek sizi zorlar mı?	a. Evet	1 puan
	b. Hayır	0 puan
3.Günün hangi sigarasından vazgeçmek sizin için daha zordur?	a. Sabah ilk içilen sigara	1 puan
	b. Diğer zamanlarda içilen sigaralar	0 puan
4.Günde kaç adet sigara içiyorsunuz?	a. 31 ve daha fazla	3 puan
	b. 21-30 adet	2 puan
	c. 11-20 adet	1 puan
	d. 10 ve daha az	0 puan
5.Sabahları günün diğer zamanlarına göre daha fazla sigara içiyor musunuz?	a. Evet	1 puan
	b. Hayır	0 puan
6.Yatmanızı gerektirecek kadar hasta olduğunuz zamanlarda da sigara içer misiniz?	a. Evet	1 puan
	b. Hayır	0 puan
Puanlama		
0-2: Çok az bağımlılık		
3-4: Az bağımlılık		
5: Orta derecede bağımlı		
6-7: Yüksek bağımlılık		
8-10: Çok yüksek bağımlılık		

2.3.1. Sigara Bağımlılığı Epidemiyolojisi

Sigara içme prevalansı tüm dünyada büyük farklılık göstermektedir. Dünya çapında her beş kansere bağlı ölüm sebeplerinden birine tütün neden olmaktadır. DSÖ'nün 2008'deki açıklamalarına göre dünyada 1.1 milyar insan sigara içmektedir ve bu sayı gittikçe artmaktadır. 2025 yılına kadar dünyada sigara içen kişi sayısının 1.6 milyara çıkacağı tahmin edilmektedir. ABD'de 2010-2014 yılları arasında yaklaşık 3.3 milyon tütün ilişkili kanser vakası tanımlanmıştır. 2019'da Amerikan Kanseri Derneği'nin (ACS) açıklamasına göre, kansere bağlı 606.880 ölümün yaklaşık 182.100'ü sigara içilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir⁴¹. Sigara tüketimi, ağız kanserine yakalanma riskini yaklaşık 10 kata kadar arttırmaktadır. Güneydoğu Asya'da her yıl 18.000'den fazla ağız kanseri vakası görülmekte, yaklaşık %90'ı sigara alışkanlıklarından kaynaklanmaktadır¹³.

Türkiye'de her yıl yaklaşık 83.100 kişi tütün kaynaklı hastalıklardan ölüyor. 2016 yılında Türkiye'de sigara içme prevalansı 15 yaş ve üzerindeki erkek ve kadınlar arasında %27.2 olarak değerlendirilmiştir. 2019 yılının verilerine göre, Türk erkekleri arasındaki ölümlerin yaklaşık yüzde 31'i tütünle ilgili hastalıklardan kaynaklanıyor. Türk erkeklerinin sigaradan ölüm oranı, Kuzey Kore'den sonra dünyada en yüksek ikinci sıradadır. Türk kadınları arasında tütün kaynaklı hastalıklar tüm ölümlerin %12'sini oluşturmaktadır. 2019 yılında Türkiye'de günlük sigara içenlerin yaş ve cinsiyete göre oranları 35-44 yaş arası erkeklerin kadınlara göre ¼ oranda en yüksek olan demografik grup olduğu bilinmektedir⁹⁷.

2.3.2. Sigara Bağımlılığı ve Kansere Gelişimi

Tütün karsinojenleri, erken evrelerinde oral karsinom gelişiminde önemli bir rol oynamakta ve farklı epigenetik değişikliklere neden olmaktadır. Bu değişikliklerin tanınması potansiyel olarak daha erken tanıya ve hedefe yönelik tedaviye yol açmaktadır⁴². Sağlıklı oral mukozanın sigara dumanında bulunan kanserojen maddelere maruziyeti, histolojik olarak farklı derecelerde epitelyal displastik değişikliklere neden olmaktadır^{3,43}.

Çalışmalar, sigaranın OSHK oluşumu ile ilişkili olan p53, GLUT-1, p16, P13K oral epiteldeki genlerin anormal ekspresyonuna neden olacağını bildirmiştir. Aşırı derecede sigara içen bireylerde p53 geninin ekspresyonu premalign ve malign oral lezyonlarda yüksek olduğu bulunmuştur. Sigara, çeşitli hücre metabolik aktivitelerde endojen olarak üretilen ve düşük konsantrasyonlarda daha fazla serbest radikaller üretir. Serbest radikallerin konsantrasyonları arttıkça hücre metabolik bileşenlere zarar verir ve oksidatif strese neden olur. Ağız kanserinin oksidatif stres ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Serbest radikaller arasında reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri (RNS) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonları (O_2^-), hidroksil radikalleri (OH^-), nitrik oksit (NO) ve malondialdehit gibi reaktif oksijen metabolitleri bulunur. Bu metabolitler oral epiteldeki birkaç genleri aktive ederek sinyal yolları uyarmaktadır. Epitel hücrelerinin sık sık H_2O_2 'ye maruz kalması EGFR'nin anormal fosforilasyonunu indükler ve akış aşağı yollarını aktive eder⁴⁹.

Sigara etkisinin OSHK kanseri için baskın bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Sigara dumanında bulunan kanserojenler, OSHK gelişimindeki genetik değişikliklere neden olmaktadır. Sigara içen bireylerde sigara içmeyenlere göre OSHK gelişimi 7-10 kat

artması bilinmektedir. Kansere gelişiminde kişinin ne kadar sigara içtiği önemlidir. Günlük içme süresi 1 paketten fazla olan ve 30 yıldan fazla sigara içme öyküsü olan kişilerin OSHK gelişimi açısından dört kat fazla eğilimi vardır.

2.4. Tek Nükleotid Gen Polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphism (SNP))

Bir genin birden çok alleleline bağlı olarak toplumda görülen değişik fenotipler genetik polimorfizm olarak adlandırılmaktadır. Bir gen için %1 frekansına sahip aleller (heterozigot için %2) polimorfik olarak kabul edilir. İnsan genomunda en sık görülen polimorfizm tipi Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNPs)'dir . SNP'ler DNA dizisindeki tek bir nükleotidin başka bir nükleotid ile yer değiştirmesidir, bu değişim insersiyon ya da delesyon şeklinde meydana gelebilir. Popülasyonda görülme sıklıkları %1'den daha yüksektir⁹⁸. İnsan genomunda SNP'lerin büyük bir çoğunluğu proteine kodlanmayan bölgelerde meydana gelir, çok az bir kısmı ise eksonlarda görülmektedir. İnsan genomundaki SNP görülme sıklığı ise 1000-2000 nükleotidde bir olarak ifade edilmiştir⁹⁹.

Bazı SNP'ler proteinlerde yapı değişikliklerine ya da ekspresyon miktarlarında değişikliklere neden olabilmektedir. SNP'ler kanser gibi bazı hastalıklarda bireylere özgü risk, yatkınlık, tedavi duyarlılığı gibi bazı farklılıkların ortaya çıkmasında rol oynamaktadır.

2.4.1. Tek Nükleotid Gen Polimorfizmlerinin Kansere Gelişimindeki Rolü

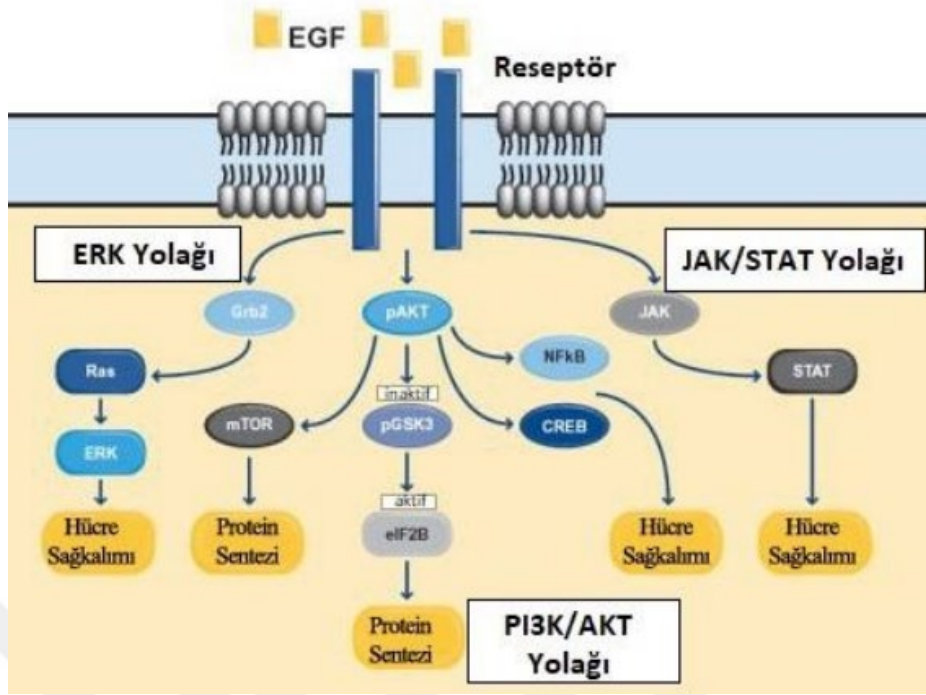
Genomun protein kodlayıcı bölgelerinde bulunan SNP'ler amino asit değişikliklerine neden olabilmekte ve doğrudan veya dolaylı olarak gen ekspresyonunu ve fenotipi etkilemektedir. Bireyler SNP taşıyıcılığı bakımından ilgili gen allellerinin birinde SNP mevcut olduğunda heterozigot, her ikisinde mevcut olduğunda homozigot genotip olarak tanımlanır. Özellikle hücre döngüsü, hücre farklılaşması, DNA tamiri, apoptoz ve hücre adhezyonu gibi hücresel süreçlerde önemli rol oynayan genlerdeki polimorfizmlerin kansere yatkınlığı ve gelişiminde etkisi olduğu bilinmektedir. Bu genlerdeki SNP'ler bireyin kansere yatkınlığı, hastalığın erken teşhisi, prognozu ve tedavi seçenekleri ile ilişkilendirilmiştir¹⁰⁰.

Hücre proliferasyonu, sinyal transdüksiyonu, hücre döngüsü ve kontrolü, DNA onarımı ve apoptoz ile ilişkili genlerdeki SNP'lerin ağız kanserine karşı artan duyarlılıkla ilişkili olduğu bilinmektedir. Örneğin; Chou ve ark., AURKA rs2064863 SNP'nin OSHK

duyarlılığı ve tümörün ileri evresi ile ilişkisini belitmiştir¹⁰¹. Yang ve ark. RETN rs3745367, rs7408174, rs1862513 ve rs3219175 gen varyantlarının OSHK riski ile ilişki olduğunu ve G allel frekansına sahip hastaların daha büyük boyutta tümör geliştirme yatkınlığına sahip olduklarını tespit etmiştir¹⁰². Liu ve ark. PTEN rs9651495 gen varyantının CC genotipi ile OSHK arasında pozitif bir korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir¹⁰³. Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmada ise, MTHFR A1298C varyantının OSHK prognozunda etkili olabileceği öne sürülmüştür¹⁰⁴.

2.5. Epidermal Büyüme Faktör Reseptör Geni (EGFR)

Epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR veya HER1) ErbB ailesine mensup bir tirozin kinaz reseptörüdür ve hücre proliferasyonunun önemli bir düzenleyicisidir¹⁰⁵. EGFR sinyali canlının gelişiminin merkezinde yer almaktadır. Epidermal büyüme faktörü olan EGF (Epidermal Growth Factor) hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını, büyümesini ve göçünü uyaran; birçok fizyolojik ve patolojik süreçte görev alan protein yapıda bir büyüme faktörüdür. EGF, biyolojik etkilerini bir transmembran tirozin kinaz olan EGF reseptörü (EGFR) aracılığı ile göstermektedir. EGFR, akciğerde, midede, pankreasta, böbrekte, hipofiz bezinde, tiroid bezinde, meme bezinde, yumurtalıkta, uterusu, plasentada, korneada ve gliya hücrelerinde bulunmaktadır. EGFR hücre çoğalması ve sağ kalımında rol oynayan mitojen-aktifli protein kinaz (MAPK), hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) 1/2 ve fosfotidil inozitol 3-kinaz (PI3K)-Akt sinyalizasyon yollarını aktive etmektedir (Şekil 2.2)¹⁰⁶.



Şekil 2.2: EGFR ile aktive olan sinyal yolakları ¹⁰⁶.

2.5.1. EGFR Geninin Kromozomal Yerleşimi

EGFR proteinini kodlayan EGFR geni genomda 7. kromozomun kısa kolunda (7p11.2) yer almaktadır (Şekil 2.3) ¹⁰⁷.

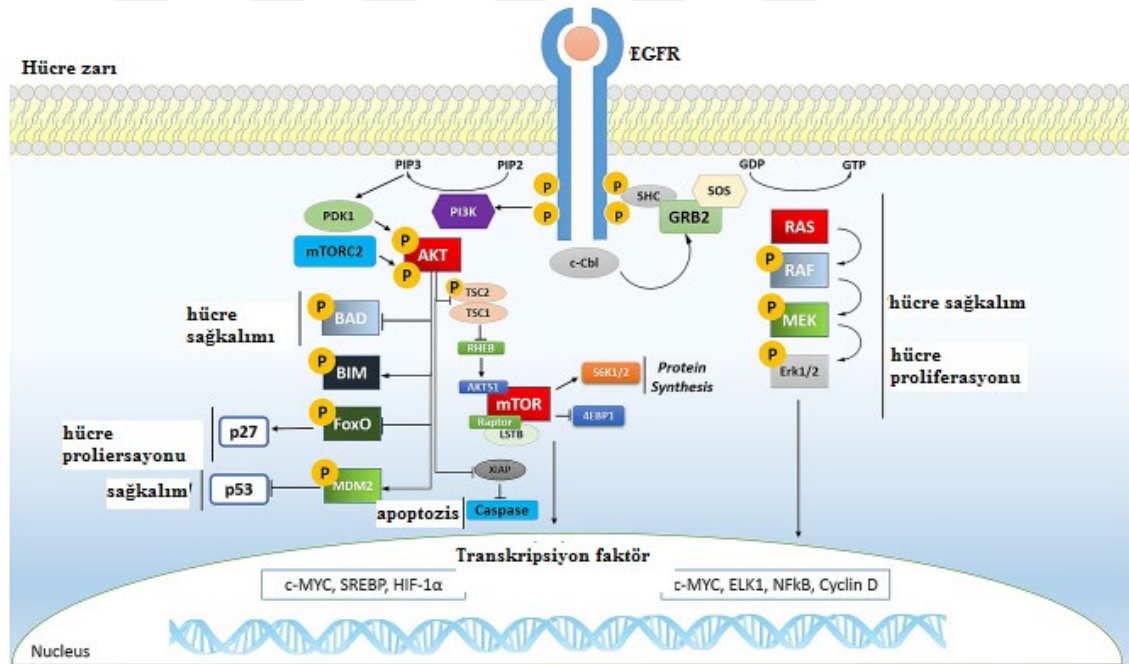


Şekil 2.3: EGFR geninin kromozomda yerleşimi ¹⁰⁷

2.5.2. EGFR Yapısı ve Fonksiyonu

EGFR hücre dışı ligand bağlanma bölgesi (N-terminal bölge), hidrofobik transmembran bölgesi ve tirozin kinaz aktivitesine sahip (C-terminal bölge) hücre içi bölgesi olmak üzere üç ana bölgeden oluşmaktadır ^{106,108}. EGFR ligand bağlanma bölgesine EGF (Epidermal Büyüme Faktörü) veya TGF- α (Transforme Edici Büyüme Faktörü- α) bağlandığı zaman inaktif monomerik formundan heterodimer formuna geçerek aktive olmaktadır. EGFR dimerizasyonu, intrinsik hücre içi protein-tirozin kinaz aktivitesini uyarır. Sonuç olarak, EGFR'nin C-terminal alanındaki birkaç tirozin (Y) kalıntısının

(Y992, Y1045, Y1068, Y1148 ve Y1173) otofosforilasyonu meydana gelir. Bu otofosforilasyon, kendi fosfotirozin bağlayıcı SH2 bölgeleri aracılığıyla fosforile tirozinlerle ilişkilendirilen birkaç başka protein tarafından aşağı akış aktivasyonu ve sinyal iletimini ortaya çıkarır¹⁰⁹. EGFR'ye ligand bağlanması hücre içi tirozin kinaz aktivitesini aktive eder. EGFR'nin otofosforilasyonu, PI3K / AKT ve RAS / mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) gibi çeşitli sinyal yollarının aktivasyonuna neden olur. Meydana gelen fosforilasyon kaskadı; hücrenin hayatta kalmasında (AKT aktivasyonu BAD ve MDM2), hücre proliferasyonunda (AKT, FoxO, RAS, RAF, MEK), hücre göçünde (RAS), apoptozda (AKT) rol oynamaktadır. Bununla birlikte, AKT'nin fosforilasyonu, protein sentezinde önemli olan mTOR aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu sayede hedef genlerin (c-MYC, ELK1, Cyclin D, NFκB gibi) ekspresyonu gerçekleşmektedir (Şekil 2.4)¹¹⁰.



Şekil 2-4: EGFR Sinyal Kaskadı¹¹⁰

EGFR aktivasyonu hücrenin proliferasyonu, büyümesi, farklılaşması, migrasyonu ve apoptozun inhibisyonunda işlev göstermektedir. EGFR ile uyarılan sinyal kaskadı; PI3K-Akt-mTOR, RAS-RAF-MAPK veya JAK-STAT hücre içi sinyal yollarını aktive edebilir (Şekil 2.4). Uyarılan kaskadlar sonucunda hücre çoğalması, sağ kalımı, anjiyogenez ve metastaz gibi süreçlerde etkili genleri aktive eden transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu gerçekleşmektedir. EGFR'nin kinaz alanı, aynı zamanda,

birlikte toplandığı diğer reseptörlerin tirozin kalıntılarını çapraz fosforile edebilir ve kendisi bu şekilde aktive edilebilir. EGFR'nin çekirdekte lokalize olan formu olan nükleer EGFR, transkripsiyonel bir koaktivatör olarak hareket ederek gen regülasyonunu destekler. Nükleer EGFR siklin D1 ve c-MYC gibi proto-onkogenler ile hücre döngüsü ilerleme araçlarının transkripsiyonuna yardım eder¹⁰⁸.

2.5.3. EGFR Geninin Kanser Gelişimindeki Rolü

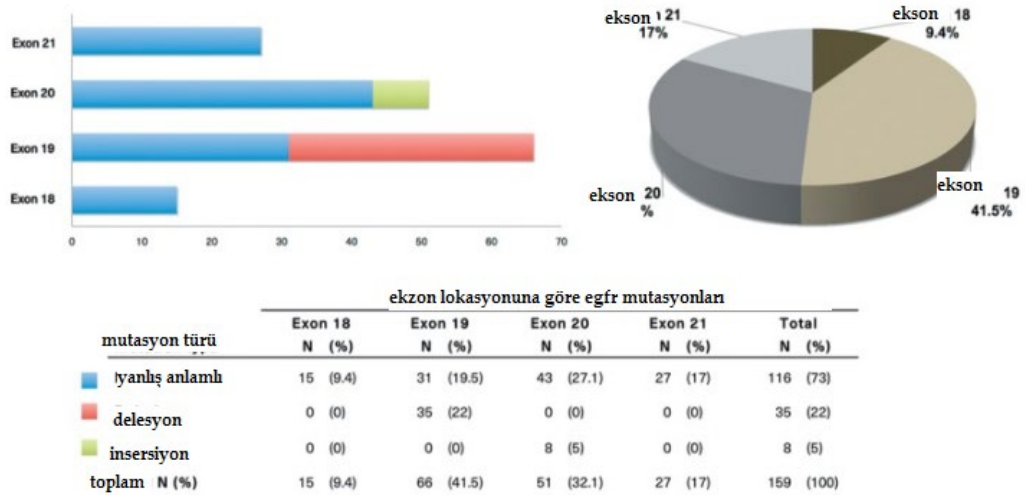
Akciğer, meme, over kanserlerinde, glioblastomada ve OSHK'da EGFR sinyal iletiminin aşırı aktivasyonu ya da regülasyon bozukluğu görülmektedir. EGFR sinyal yolunun düzensizliği, hücre döngüsünün kontrolsüz ilerlemesi, apoptozun inhibisyonu, anjiyogenezin indüklenmesi, tümör-hücre motilitesi ve metastaz üzerinde etkilidir. EGFR sinyal düzensizlikleri birçok kanser olduğu gibi OSHK gelişiminde de rol oynamaktadır. EGFR baş ve boyun SHK'ların %80'inden fazlasında yüksek oranda eksprese edilmektedir¹¹¹. OSHK'da ise EGFR'nin yüksek ekspresyonu olguların %70-90'ında bulunmaktadır¹¹². OSHK'da büyüme faktörlerinin deregülasyonu, artan ekspresyon ve otokrin uyarımı yoluyla gerçekleşir. EGFR'nin oral keratinosit hücre membranlarında aşırı eksprese edilmesinin, tümör boyutu ve nüks riskinin artması, radyasyon duyarlılığının azalması, hastalığın kötü prognoz oranı ile ilişki olduğu gösterilmiştir^{113,114}. OSHK'da EGFR'nin aşırı ifade edilme nedeni EGFR'deki epigenetik değişiklikler ve gen amplifikasyonudur. Yüksek EGFR ekspresyonunun, sisplatin, 5-florourasil, siklofosamid ve doksorubisin gibi OSHK'ların tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlara karşı direnç ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür¹¹⁵.

Amri ve ark. OSHK'da EGFR'nin mutasyon sıklığını etnik popülasyonlarda incelemiştir¹¹¹. Örneğin, Japon nüfusunda %7, Asya nüfusunda %7.3, Kore nüfusunda %15.7 ve Yunan nüfusunda %15.8. En yüksek mutasyon sıklığının Güney Hindistan nüfusunda %81.39 oranı ile bulunduğu gözlenmiştir. Belçika ve İspanya toplumlarında ise mutasyon bulunmamıştır¹¹¹.

2.5.4. EGFR Mutasyonları ve Gen Varyantları

Hücrelerde EGFR ekspresyonunun artışı çoğalma, farklılaşma, anjiyogenez gibi hücresel süreçleri etkileyen sinyal yollarının aşırı aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu ekspresyon artışında rol oynayan etkenler; gen kopya sayısı değişiklikleri, EGFR

gen mutasyonları ve EGFR aşağı akım sinyal düzensizliğidir⁴. EGFR aşırı ekspresyonu epigenetik değişiklikler, gen amplifikasyonu ve onkogenik virüsler gibi sayısız mekanizma tarafından tetiklenebilir ve sıklıkla ligand aktivasyonunun artmasıyla ilişkilidir¹¹¹. Normal hücrelerde, EGFR ekspresyonunun 40.000-100.000 reseptör olduğu tahmin edilmektedir¹⁰⁸. EGFR aşırı ekspresyonu epitelyal kaynaklı tümörlerde, baş ve boyun kanserlerinde, akciğer, böbrek, yumurtalık, meme, prostat, mesane ve kolorektal karsinomlarda gözlenmiştir¹¹⁶. EGFR, en çok mutasyona uğrayan genlerden biridir. EGFR mutasyonları özellikle “sıcak nokta” olarak bilinen tirozin kinaz bölgesinin 18-21 ekzonları arasında görülür (Şekil 2.5)¹¹⁷. Tirozin kinaz bölgesinde meydana gelen mutasyonlar tümör büyümesinde etkilidir. EGFR mutasyonlarının dağılımı en yaygın olarak ekson 19'da (delesyonlar) veya ekson 21'de (nokta mutasyonları) görülmektedir. Meydana gelen bu mutasyonlar tek baz çifti yer değiştirmeleri, insersiyonlar ve delesyonlar oluşturmaktadır. EGFR mutasyonları reseptör amplifikasyonuna veya sürekli liganddan bağımsız mitojenik sinyallerin üretilmesine neden olabilmektedir¹¹⁸. EGFR'deki en yaygın onkogenik mutasyonlardan ikisi L858R ve T790M'dir^{108,63,119,120,121,122}.



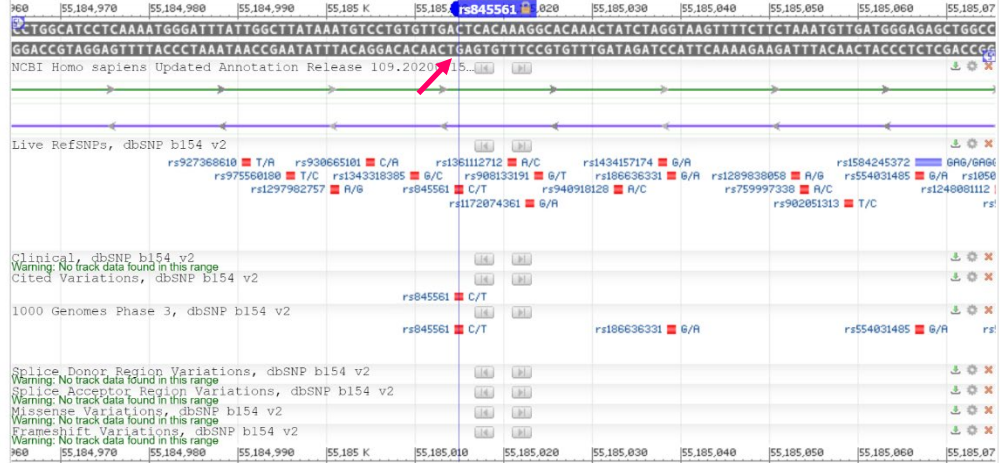
Şekil 2-5: Ekson lokasyonu ve mutasyon tipine göre EGFR mutasyonları¹¹⁷.

EGFR geninin sıcak nokta mutasyonları çoğunlukla küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde (KHDAK) incelenmiştir. EGFR'nin küçük hücreli dışındaki akciğer kanserlerinin %40-%80'inde aşırı ifade edildiği bildirilmiştir. L858R, akciğer

kanserinde en sık görülen mutasyonlar arasında yer almaktadır ve EGFR mutasyonlarının %40'ından fazlasını oluşturmaktadır¹⁰⁸. Kolorektal kanserlerin yaklaşık %50'sinin kopya sayısında üç ila beş kat artışla EGFR gen amplifikasyonu içerdiği bildirilmiştir. EGFR'nin yüksek ekspresyonunun insan tümörlerinde agresif bir klinik seyir ile ilişkili olduğu ve yararlı bir tanı ve prognoz belirteci olduğu bildirilmiştir. EGFR genindeki polimorfizmlerin de EGFR ekspresyonunu etkileyebileceği bilinmektedir. Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) veri tabanına göre insan genomunda yaklaşık 563 EGFR - SNP tanımlanmıştır¹²³. EGFR gen polimorfizmlerinin taranmasının kanser risk gruplarının erken teşhisi için yararlı olabileceği düşünülmektedir. EGFR polimorfizmlerinin özofagus, akciğer ve böbrek kanseri geliştirme riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir^{124,125}. Örneğin akciğer kanserlerinde EGFR gen varyantları (EGFR 181946C> T, 8227 G> A gibi) yüksek yakınlıkla ilişkilendirilmiştir¹²⁶. EGFR rs730437 ve rs1468727 SNP'leri ise glioma yakınlığı ile ilişkili bulunmuştur. EGFR intronik rs12535536, rs2075110, rs1253871, rs845561 ve rs6970262 SNP'leri baş ve boyun kanserleri ile ilişkili bulunmuştur¹²⁷.

2.5.5. EGFR rs845561 Gen Varyantı

EGFR rs845561 gen varyantı EGFR geni intron 20' bölgesinde (7.kromozomun 55185015. pozisyonunda) yer alır ve C/T allel frekansına sahiptir (Şekil 2.6)¹²⁸. rs845561 varyantının EGFR ekspresyonunda düzenleyici bir rol oynama olasılığı bulunmaktadır. rs845561 polimorfizminin farklı kanserlerde ilişkisi olan çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada tütün kullanıcıları arasında baş-boyun SHK riski ile rs845561 varyantı C alleli ilişkilendirilmiştir¹²⁷. OSHK ile EGFR rs845561 gen varyantı arasındaki ilişkiyi inceleyen kapsamlı bir çalışma literatürde bulunmamaktadır¹²³. Ensembl Genom Veri tabanına göre EGFR rs845561 varyantının farklı popülasyonlarının genotip ve allel frekansları şöyledir: Avrupa popülasyonu %75 T, %25 C, % 5 CC, %40 CT, %55 TT; Doğu Asya: %74 C, %26 T, %54 CC, %39 CT, %7 TT; Güney Asya: %52 C, %48 T, %27 CC, %47 CT, %25 TT; ABD: %30 C, %70 T, %10 CC, %41 CT, %49 TT; Afrika: %12 C, %88 T, %2 CC, %20 CT, %78 TT¹²⁹.



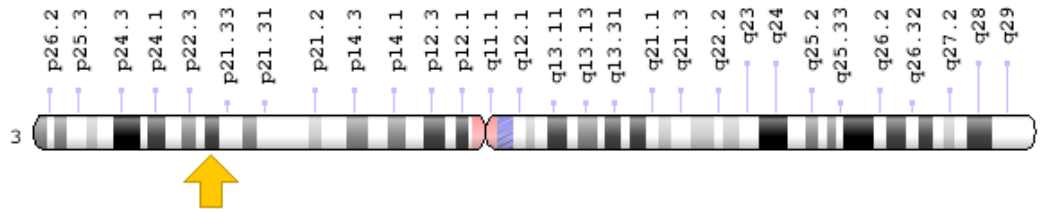
Şekil 2-6: rs845561 gen varyantının 7. kromozomda EGFR geni intron 20'deki yerleşimi¹²⁹

2.6. Kaderin ilişkili Protein Beta-1 Geni (CTNNB1)

Kaderin ilişkili Protein Beta-1 Geni (CTNNB1) hücre için ve hücreler arası önemli bir sinyal molekülü olan beta-katenin (β -katenin) proteinini kodlamaktadır. β -Katenin, *Drosophila* armadillo geninin memeli homologudur. Hem bir transkripsiyonel eş düzenleyicidir, hem de hücre adhezyonu (yapışmsıa) için bir adaptör protein olarak işlev görür⁵.

2.6.1. CTNNB1 Geninin Genel Özellikleri ve Kromozomal Yerleşimi

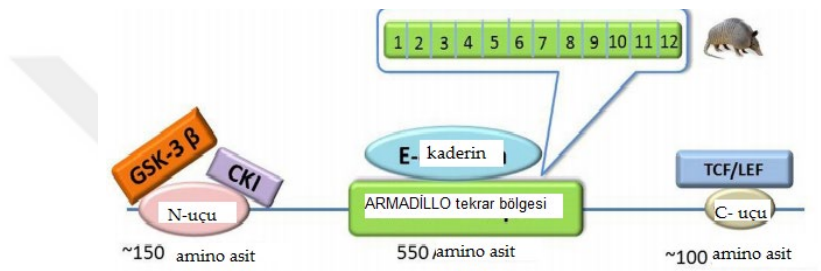
CTNNB1 insanlarda üçüncü kromozomun uzun kolunda (3p21) yer alır (Şekil 2.7). β -katenin, temel olarak hücre adhezyonu ile ilişkili bir proteindir ve hücre farklılaşması, hücre bütünlüğü, hücre proliferasyonu ve apoptoz regülasyonunda yer alan genlerin aktivasyonunda görev yapmaktadır¹³⁰.



Şekil 2-7: CTNNB1 geninin kromozomda yerleşimi¹³¹

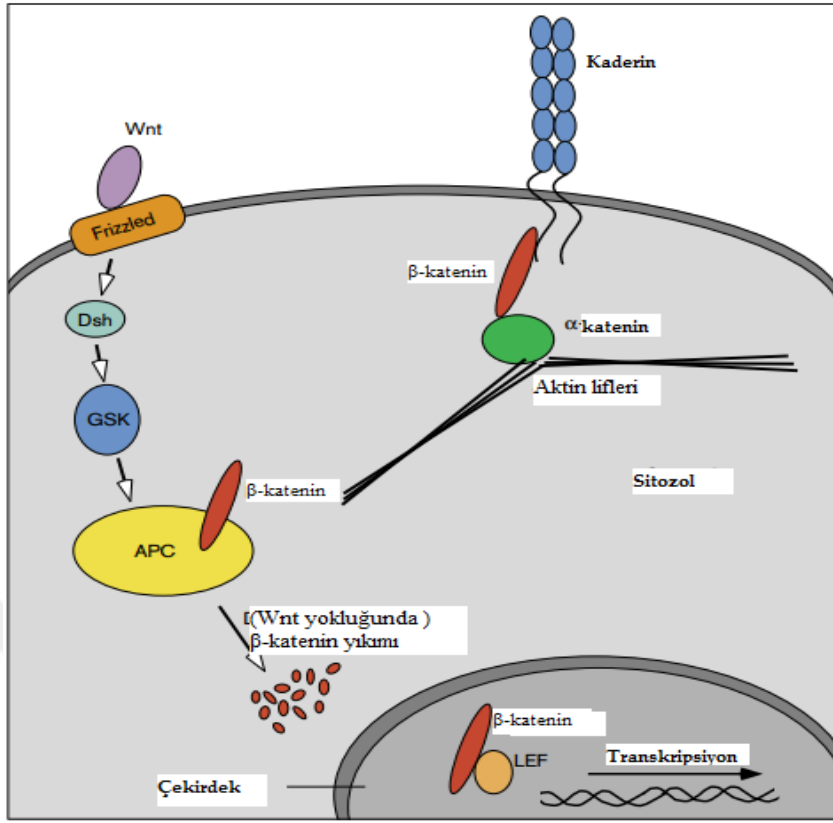
2.6.2. Kaderin ilişkili Protein Beta-1 (Beta-katenin) Yapısı ve Fonksiyonu

β -katenin, proteinlerin armadillo ailesine aittir. β -katenin 781 amino asitten oluşur ve 92 kDa molekül ağırlığına sahiptir. β -katenin proteinin yapısında fonksiyonel olarak önemli üç bölge mevcuttur (Şekil 2.8)⁵. Bu bölgeler N terminal, C terminal ve armadillo repeat (Arm tekrar) bölgeleridir. Arm tekrar bölgesi β -kateninin Wnt/ β -katenin sinyal yolunda görev yapan Axin, APC (Adenomatöz Polipozis Koli) ve Dvl gibi biyomoleküllere bağlanmasını sağlar. N-bölgesi β -kateninin stabilitesinin sağlanmasında, C-bölgesi ise transkripsiyon aktivitesinde önemli rol oynar⁵.



Şekil 2-8: β -katenin molekülünün birincil yapısı⁵

β -katenin E-kaderin-katenin adezyon kompleksinin merkezi bir bileşeni olarak tanımlanmıştır ve daha sonra Wnt uyarımı ile aktive olduğu belirlenmiştir¹³². β -katenin, E-kaderin'in sitoplazmik bölgesindeki kararlı (stabil) bağlantısı ile etkileşime girer (Şekil 2.9)¹³³. Bu kompleks, kök hücre pluripotensi ve kanser sinyalinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır⁵⁷. E-kaderin'in kaybı hücreler arası bağlantıların bozulmasına ve hücre hareketliliğinin artmasına neden olur. Kaderin-katenin kompleksinin bozulması, β -katenin'in sitoplazmik birikimine ve nükleer translokasyonuna yol açar. Normal olarak β -katenin'in immünohistokimyasal lokalizasyonu epitelin tüm katmanlarında görülmektedir. β -katenin hücredeki yerine göre membranöz, sitoplazmik ve nükleer lokalizasyonlu olarak ayrılmaktadır^{68,133}.

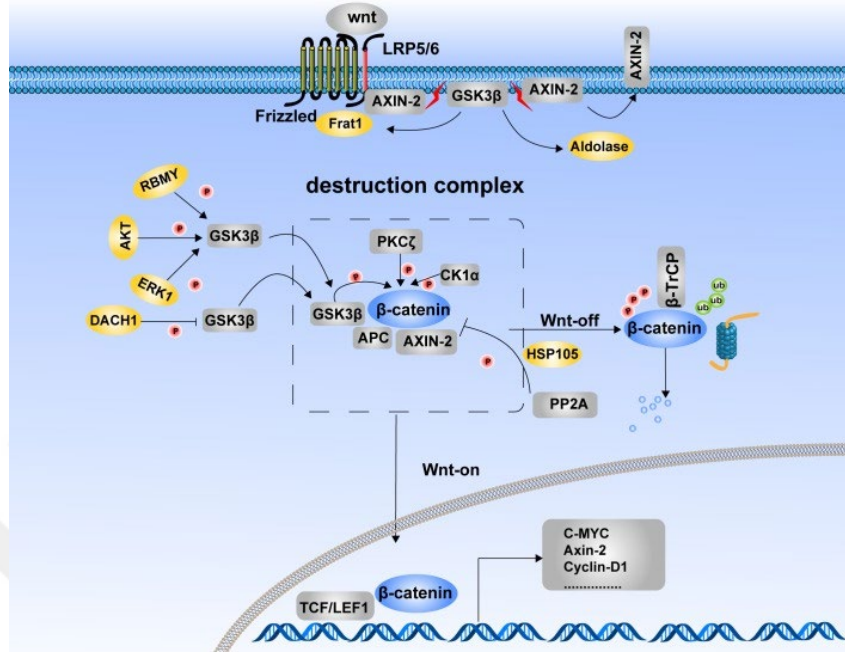


Şekil 2-9: β-katenin'in hücre adhezyonu ve sinyal iletimindeki işlevi¹³²

2.6.3. CTNNB1 Geninin Kansere Gelişimindeki Rolü

β-katenin bağımlı kanonik Wnt sinyal yolağı (Wnt/ β-katenin) hücrenin gelişimi ve kendini yenilemesini düzenleyen anahtar sinyal yollarındandır. Wnt sinyal aktivasyonuna yönelik transkripsiyonel cevap, çekirdekte kompleks bir β-katenin bağlanma faktörleri ağı tarafından düzenlenmektedir ve bu ağı birçok bileşeni kanser ile ilişkilendirilmiştir¹³⁴. Kanonik Wnt yolunda, Dsh, β-katenin, Glikojen Sentaz Kinaz 3 beta (GSK3β), adenomatöz polipoz koli (APC), AXIN ve T-hücre faktörü (TCF)/lenfoid güçlendirme faktörü (LEF) molekülleri yer alır ve β-katenin bu yolda ana (core) moleküldür. Wnt ligandlarının yokluğunda β-katenin, ubiquitin proteazom sistemi (UPS) aracılığıyla düşük bir seviyede tutulur. β-katenin, kazein kinaz 1 (CK1) ve ardından GSK3β tarafından β-katenin fosforilasyonunu kolaylaştıran APC ve AXIN içeren bir yıkım kompleksine dahil edilir. Wnt aktivasyonu veya Wnt bileşenlerinin genetik mutasyonları nedeniyle β-katenin sitoplazmada birikir ve ardından çekirdeğe girer. β-katenin çekirdekte Jun, c-Myc ve Cyclin D-1 gibi hedef genlerin

transkripsiyonunu başlatmak için LEF-1 / TCF4 gibi düzenleyici proteinlere bağlanır (Şekil 2.10)¹³⁴.

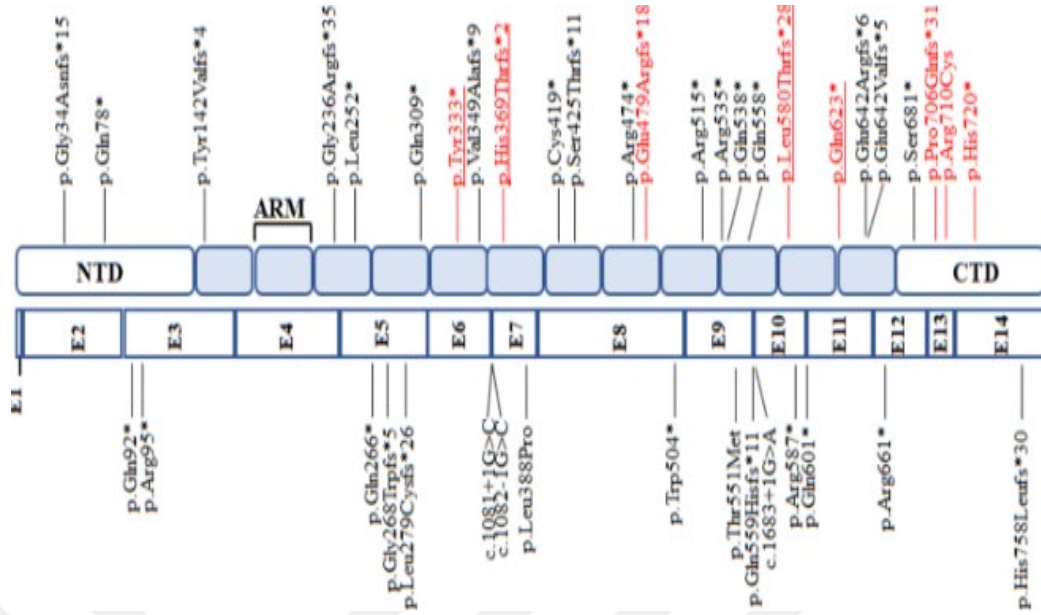


Şekil 2-10: β-katenin'in fosforilasyonu ve yıkımı

Wnt/ β-katenin yolağı kanser ile sıkı bir şekilde ilişkilendirilmiştir. β-katenin'in nükleer lokalizasyonu tümörjenik özellikleri indüklemekte ve kanser hücresi proliferasyonunu ve hayatta kalmasını desteklemektedir. Wnt/β-katenin sinyal yolağının karsinogenezdeki rolü en belirgin olarak kolorektal kanser için tanımlanmıştır, ancak lösemi, melanom, meme ve gastrointestinal kanserler gibi birçok kanser türünde de anormal Wnt sinyali gözlenmektedir¹³⁵.

2.6.4. CTNNB1 Mutasyonları ve Gen Varyantları

Bugüne kadar, CTNNB1 geninde 45 mutasyon tanımlanmıştır¹³⁶ (Şekil 2.11). CTNNB1 gen mutasyonları sıklıkla kritik Ser/Thr residülerini kodlayan ekzon 3 bölgesinde yer alır¹³⁶.



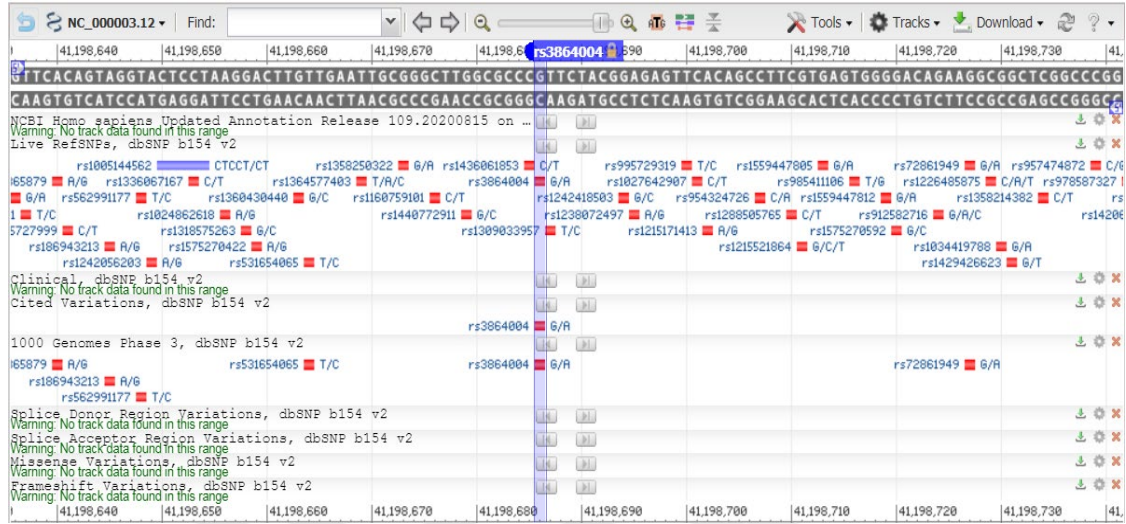
Şekil 2.11: CTNNB1 mutasyonları¹³⁶

CTNNB1 genindeki somatik mutasyonlar Wilms tümörü, sporadik medulloblastom, hepatoselüler karsinoma, hepatoblastoma, kolorektal, akciğer, meme, yumurtalık, endometriyal, tiroid ve prostat kanserleri ile ilişkilidir¹³⁷. CTNNB1'in medulloblastom hastalarının %6,45'inde mutasyon geçirdiği görülmüştür. AML, özofagus, mide, glioblastoma, akciğer ve prostat skuamöz hücreli karsinomlarında CTNNB1 mutasyonları görülür ve β -katenin seviyeleri yüksek bulunmuştur. Hepatoselüler karsinomda CTNNB1 geninin yüksek oranda somatik mutasyonlarla hiperaktivasyonu gösterilmiştir. Bu karsinomlar düşük oranda sağkalım göstermektedir^{138,139,140}.

CTNNB1 polimorfizmlerinin prostat kanseri, meme kanseri, kolorektal kanseri ve mide kanseri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda CTNNB1 genlerindeki genetik polimorfizmler Çin popülasyonunda hepatoselüler riski ve ilerleme ile ilişki bulunmuştur. CTNNB1 gen polimorfizmlerinin β -katenin ekspresyonunu yukarı aktivasyonla (upregülasyon) düzenleyebileceği ve β -katenin birikimine yol açabileceğini gözlemlenmiştir¹⁴¹. CTNNB1 gen polimorfizmlerin, HBV ile ilişkili HCC'li hastalarda HCC gelişimi ve genel sağkalım ile ilişkili olabileceğini gösterilmiştir. CTNNB1'in genetik polimorfizmleri ile midede tümör riski ve/veya prognozu arasında ilişki olduğu bildirmiştir¹⁴¹.

2.6.5. CTNNB1 rs845561 Gen Varyantı

CTNNB1 rs3864004 gen varyantı A/G alel frekansına sahiptir ve CTNNB1'in promotor bölgesinde bulunur (Şekil 2.12)¹²⁸.



Şekil 2.12: rs3864004 varyantının 3. kromozomda CTNNB1 geni promotor bölgesindeki yerleşimi

rs3864004 varyantının hepatosellüler karsinoma riski ile ilişkisine dair çalışmalar bulunmaktadır. Bu gen varyantının OSHK gelişiminde etkisinin olabileceği düşünülmektedir^{141,142}. Ensembl Genom Veri tabanına göre CTNNB1 rs3864004 varyantının farklı popülasyonlarının genotip ve alel frekansları şöyledir: Avrupa popülasyonu %57 G, %43 A, %33 GG, %48 GA, %19 AA; Doğu Asya: %74 G, %26 A, %53 GG, %42 GA, %5 AA; Güney Asya: %57 G, %43 A, %33 GG, %49 GA, %19 AA; ABD: %66 G, %34 A, %45 GG, %41 GA, %13 AA; Afrika: %70 G, %30 A, %48 GG, %43 GA, %9 AA¹²⁹.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Grupları

Bu çalışma 2019-2020 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD'da gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya OSHK hasta grubu olarak İstanbul Tıp Fakültesi ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları AD'da takipli ve Amerikan Kanser Ortak Komitesinin tanımladığı (American Joint Committee on Cancer staging, 2002) TNM evreleme sistemine göre OSHK tanısı almış 29 hasta dahil edilmiştir. Fankoni anemisi grubuna İstanbul Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Hematoloji Onkoloji AD, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti AD ve Altınbaş Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Onkoloji AD'nda takipli olan 12 yaşından büyük 33 FA'li hasta dahil edilmiştir.

Sigara bağımlısı risk grubuna Fagerstörn Nikotin Bağımlılık Testine göre bağımlı olduğu saptanan, 25-65 yaş arası sigara içen sağlıklı 20 birey dahil edilmiştir; kontrol grubuna ise herhangi bir hastalık tanısı olmayan, sigara içmeyen sağlıklı 25-65 yaş arası 20 gönüllü kişi dahil edilmiştir. Çalışma için İstanbul Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 09.08.2019 tarihli 2019/13 sayılı etik kurul onayı alındı. Çalışma için OSHK hastaları, sigara içen sağlıklı kişiler, kontrol grubundaki kişiler ve nakil olmamış FA hastalarından 6 ml kan örneği (EDTA'lı mor tüpe), nakil olmuş FA hastalardan ise 6 ml tükürük örneği (steril falkon tüpe) alındı.

Çalışmaya dahil edilen tüm hasta ve sağlıklı gönüllülere çalışma ile ilgili bilgi verildi ve imzalı onamları alındı. Alınan biyolojik materyaller İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında uygun koşullarda (-20° C'de) muhafaza edildi ve çalışıldı. Hasta ve gönüllülere ait demografik ve klinik veriler hasta takip ve gönüllü takip formlarına kaydedildi.

3.2. Gereçler

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Santrifüj Heraus (Nüve)

Spektrofotometre (Thermo scientific)

Mini Santrifüj (Heraeus)

Vortex (Nuve 110)

Derin dondurucu (-20° C), (Arçelik)

Buzdolabı (+4° C), (Arçelik)

Distile su cihazı (Millipore)

PCR cihazı (Sensoquest Labcycler)

Spektrofotometre (Thermo Scientific NanoDrop 2000)

Hassas Terazı (Sartorius)

Otomatik Pipet (10,100 ve 1000µl'lik) Ependorf

3.2.2. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar

Mikrosantrifüj tüpleri, 2 ve 1,5 ml (Axygen)

PCR tüpleri, 0,2 ml (Axygen)

50 ml steril falkon tüp (Axygen)

Pipet uçları (10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl) (Axygen)

10 ml'lik EDTA'lı tüp

Bidistile su

99% etil alkol (Sigma)

Nucleogene® DNA Ekstraksiyon Kiti

Abi Prism® Snapshot Multipleks Kit

GML ExoSAP

ABI Prism Big Dye™ terminator Sekans Kiti

3.3. Yöntemler

3.3.1. Tam Kandan DNA İzolasyonu

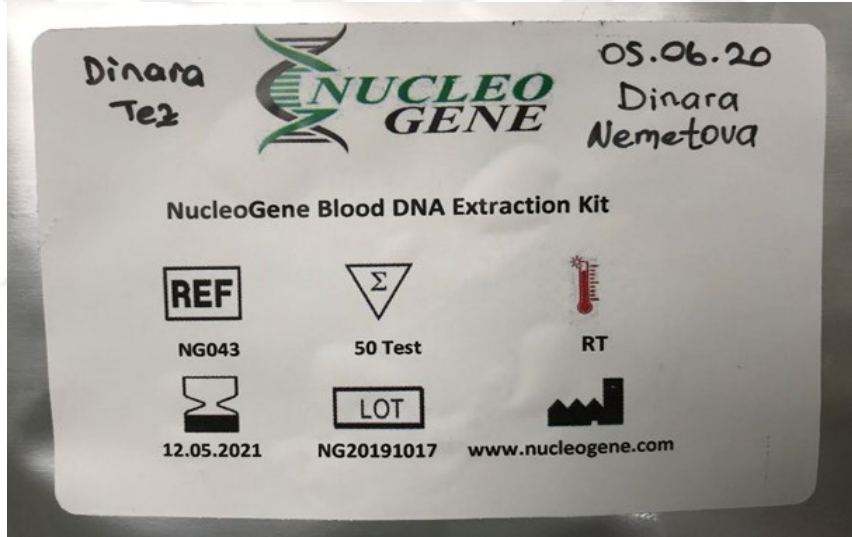
Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

- Nucleogene® DNA Ekstraksiyon Kiti (Lizis solüsyonu, Yıkama solüsyonu I, Yıkama solüsyonu II, Proteinase K, Enhanser, Etanol %96)
- Mikrosantrifüj tüpleri, 2 ve 1,5 ml
- Mikrosantrifuj – Mikro 120 Hettich

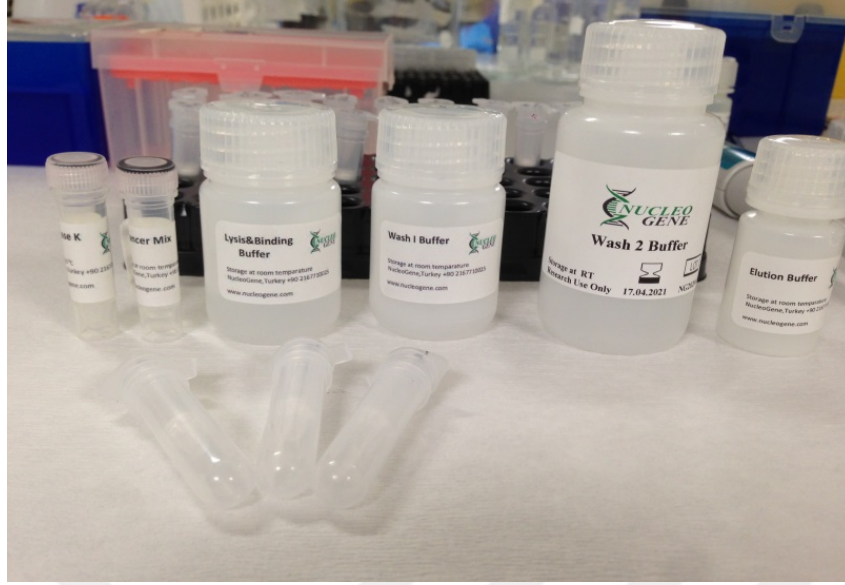
- Vorteks – CRV-45 X CAPP
- Denville ısı blok
- +4°C/ -20 °C buzdolabı
- Nanodrop Spektrofotometre

Solüsyonların Hazırlanışı

- Yıkama solüsyonu I'e 11 mL %96 etanol eklendi
- Yıkama solüsyonu II' 44 mL %96 etanol eklendi
- Proteinase K'ya 1250 µl ultra saf su eklendi
- Enhanser 200 µl ultra saf su eklendi



Şekil 3-1: Nucleogene® DNA Ekstraksiyon kiti



Şekil 3-2. Nucleogene DNA izolasyon kit içeriği

Protokol

- 1) 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 200 µl kan konuldu. Üzerine 200 µl lizis solüsyonu, 50 µl Proteinaz K ve 4 µl Enhancer eklenerek 10 saniye vortekslendi. 70°C ısı blokta 10 dakika inkübe edildi.
- 2) İnkübasyondan sonra, tüpe 100 µl Lizis solüsyonu eklendi ve 30 saniye vortekslendi, sonra oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- 3) 554 µl karışım kolona yüklendi. 8000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Alt sıvı atıldı ve kolonu yeni bir tüpe yerleştirildi.
- 4) 500 µl yıkama solüsyonu I kolona eklendi. 8000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Sıvıyı içeren alt tüp atıldı ve kolon yeni bir tüpe yerleştirildi.
- 5) 500 µl yıkama solüsyonu II kolona eklendi. 8000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Sıvıyı içeren alt tüp atıldı ve kolon yeni bir tüpe yerleştirildi. Bu işlem bir kez daha tekrarlandı.
- 6) Kolonu 13000 g'de 30 saniye santrifüj edildi.
- 7) Kolon steril 1,5 ml mikrosantrifüj tüpe aktarıldı. Kolonun tam ortasına 200 µl Elüsyon buffer eklendi ve oda sıcaklığında 1 dakika bekletildi.

8) Kolon 1 dakika boyunca 11.000 g'de santrifüjlendi. Sonuç olarak alt sıvıda DNA elde edildi.

3.3.2. DNA Saflık ve Konsantrasyonlarının Ölçülmesi

Tüm izole edilmiş DNA konsantrasyonları nanospektrofotometrede ölçüldü (260 ve 280 nm'lerde) ve A260/280 nm 1.8-2.0 arasında olan DNA'lar saf olarak kabul edildi. DNA konsantrasyonları hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanıldı.

$$\text{DNA Konsantrasyonu (ng/}\mu\text{l)}: \text{Sulandırma katsayısı (100)} \times A_{260} \times 50$$

3.3.3. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

- PCR MIX
- Primer Mix
- GC solüsyonu
- Su
- Taq DNA polimeraz
- PCR tüpleri
- Pipet ucu (10 μ l, 100 μ l ve 1000 μ l)
- Otomatik Pipet (10 μ l, 100 μ l ve 1000 μ l)
- PCR Thermal Cycler (Sensoquest Labcycler)

Primerlerin Hazırlanması

SNP aranan bölgenin dışını kapsayacak şekilde uygun uzunluklarda Forward (F) ve Reverse (R) primerler tasarlandı (Tablo 3.1). Bu primerler ile izole edilen DNA'lar PCR yöntemi ile çoğaltıldı.

Tablo 3-1: PCR primerleri

Lokus	PCR primer Dizini (5'-3')	SNP	Primer boyu	Amplikon boyutu (bp)
rs845561-F	CTCCTGGCATCCTCAAAATGGG	rs845561-SNP	31bp	186bp
rs845561-R	ACTGGTCTCATATGGATTCCTCCCA			
rs3864004-F	TGATACCTAGTGACAAGTGAACCAG	rs3864004-SNP	18bp	225bp
rs3864004-R	TGTCCCCACTCACGAAGGCT			

Liyofilize halde alınan PCR primerler üzerine saf su eklenerek (Tablo 3.2) 100 μ M'lik stok çözeltiler hazırlandı (Tablo 3.2).

Tablo 3-2: PCR Primer hazırlama

Ürün	miktar
rs845561 F+R	5,0 μ l+5 μ l
rs3864004 F+R	3,5 μ l+3,5 μ l
Su	383 μ l

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Çalışmada Abi Prism® Snapshot Multipleks Kit protokolüne göre PCR ampifikasyonu yapıldı. PCR master mix'in (karışım) hazırlanması için gerekli kimyasallar Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3-3: PCR Master Mix

PCR bileşenleri	Miktar
PCR Mix	5 μ l
Primer Mix	1 μ l
GC Buffer	1 μ l
Su	2 μ l
DNA (20ng)	1 μ l
Taq.polimeraz	0,1 μ l

PCR master mix hazırlandıktan sonra aşağıda verilen süre ve sıcaklıklarda PCR reaksiyonu PCR cihazında (Thermal Cycler) gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.4).

Tablo 3-4: PCR parametreleri

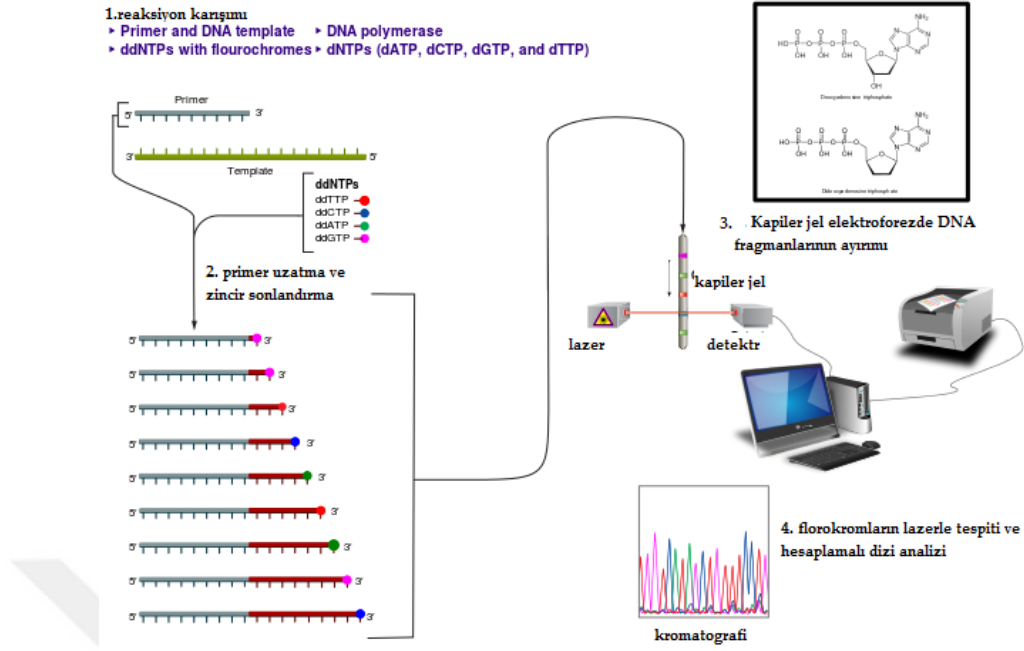
Sıcaklık	Zaman (35 döngü)
95 ° C	10dk.
95 ° C	30sn.
60 ° C	1dk.
72 ° C	30sn.
72 ° C	7dk.

3.3.4. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması

PCR amplifikasyonundan sonra floresan işaretli bağlanmamış ddNTP'leri etkisiz hale getirmek için PCR ürünü-ExoSAP karışımı hazırlandı. 5 µL PCR ürünü üzerine 2 µL GML ExoSAP eklendi. Karışım PCR cihazı (Thermal Cycler) içine konularak; 37°C'de 30 dakika, 80°C'de 15 dakika sıcaklıkta inkübe edildi.

3.3.5. Sanger Sekans (Dizi Analizi) Yöntemi

Sanger sekans yöntemi DNA fragmentinin baz dizisini belirleyen, zincir sonlandırma reaksiyonu olarak bilinen gold standart yöntemidir. Bu yöntemde, hedef DNA birçok kez kopyalanmakta ve nükleotidler floresan bir boya ile işaretlenmektedir. Analiz için DNA molekülleri 4 ayrı tüpe eklenir ve nükleotidler restriksiyon enzimleri ile parçalanır (kırılır). Kırılmış olan DNA parçasının pozisyonuna göre (5'-pozisyonu) floresan işaretli ve boyları birbirinden farklı DNA fragmanları elde edilir. Elde edilen DNA dizileri jel elektroforez yardımıyla büyüklüklerine göre ayrılırak floresan işaretli farklı renklerle işaretlenip okunmaktadır (Şekil 3.3)¹⁴³.



Şekil 3-3: Sanger sekans yönteminin aşamaları

3.3.5.1. Sanger Sekans PCR

Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

- Applied Biosystems™ BigDye® Terminator Sekans Kiti (BigDye Terminator Mix, 5X sekans Buffer)

- PCR tüpleri
- Pipet ucu (10 µl, 100 µl)
- Otomatik Pipet (10 µl, 100 µl)
- 96 kuyucuklu PCR Plate
- PCR Thermal Cycler

Primerlerin Hazırlanması

Sanger sekans PCR'ı için gerekli liyoflize haldeki rs845561 ve rs3864004 gen varyantlarına özgü Forward (F) ve Reverse (R) primerler Tablo 3.5'te gösterilen şekilde sulandırılarak hazırlandı.

Tablo 3.5: Sanger Sekans PCR primer hazırlama tablosu

Ürün	Miktar	Su
rs845561-F	2 µL	96,0 µL
rs845561-R	2 µL	96,0 µL
rs3864004-F	2 µL	96,0 µL
rs3864004-R	2 µL	96,0 µL

Sanger Sekans PCR Reaksiyonu

İçeriğinde her baz değişimi için farklı floresan boyalı ddNTP bulunan BigDye® Terminator Sekans Kiti kullanıldı (Tablo 3.6).

Tablo 3.6: ABI Prism Big Dye™ terminator kitindeki floresan işaretli ddNTP'ler

ddNTP	Boya	Sinyal rengi
A	dR6G	Yeşil
C	dTAMRA™	Siyah
G	dR110	Mavi
T(U)	dROX™	Kırmızı

Sekans probe karışımı ve reaksiyonu için gerekli malzemeler Tablo 3.6'da verilmiştir. Sekans reaksiyonu gereken malzemeler Tablo 3.7'de verilen miktarlarda 96 kuyucuklu PCR plate'ine konuldu.

Tablo 3.7: Sanger Sekans PCR Reaksiyonu bileşenleri

PCR bileşenleri	Miktar
BigDye Terminator Mix	1 µL
5X sekans Buffer	2 µL
Forward veya Reverse primer	2 µL
Su	3 µL
ExoSAP ürünü	2 µL
Toplam	10 µL

Hazırlanan sekans reaksiyon karışımı Tablo 3.8’de belirtilen program kullanılarak PCR cihazına konuldu.

Tablo 3.8: Sanger Sekans PCR parametreleri

Sıcaklık	Süre	
96° C	1 dk.	
96° C	10 sn	25 döngü
50° C	5 sn	
60° C	4 dk.	
4	sonsuz	

3.3.5.2. Sekans Ürünlerinin Sefadeks ile Saflaştırılması

Sekans PCR reaksiyonu sonrası elde edilen ürünler aşağıdaki protokole göre sefadeks karışımı ile saflaştırıldı.

- 1) 14 ml suya 1 gr. Sefadeks eklendi. Karışım vortekslendi ve homojen hale gelene kadar karıştırıldı
- 2) Karışım 30 dk. +4 derecede buzdolapta bekletildi
- 3) Çalışmadan 5dk. önce oda sıcaklığına çıkartıldı
- 4) 700 µL Sefadeks karışımı kolonaya konuldu, 1700 rpm’de 2 dk. santrifüj edildi
- 5) Alttaki sıvı atıldı ve örnekler yüklendi
- 6) 4700 rpm’de 2dk. daha santrifüj edildi ve tüplerin altındaki saklama kolanlarına saflaştırılmış örnek toplandı.

3.3.5.3. Saflaştırılan Sekans Ürünlerinin Kapiller Elektrofrez

Sefadeks ile saflaştırılan PCR ürünleri kapiller elektrofrez işlemi için ABI 310 Genetik Analizör cihazına yerleştirildi ve DNA dizi analizi yapıldı. Dizi analiz cihazının spesifik özellikleri Tablo 3.9’da gösterilmiştir.

Tablo 3.9: ABI 310 Genetik Analizör cihaz özellikleri

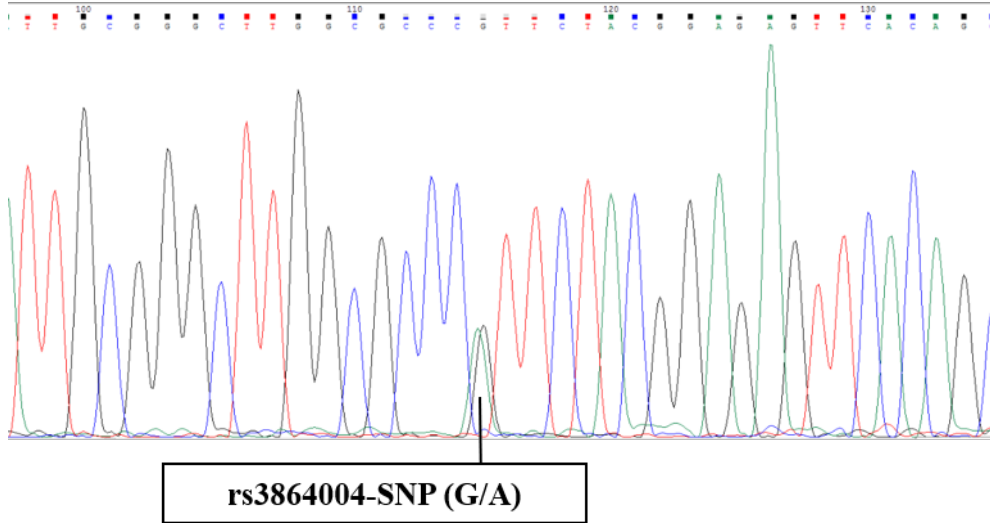
Parametre	POP-7 ile yapılan yürütme
Polimer	POP-7TM
Running Buffer	Applied Biosystems 3XXX/3XXXxl Running Buffer with EDTA
Capillary Array	36sm
Run File	RapidSeq36_POP7_1
Mobility	KB_3XXX_POP7_BDTv3.mob
Basecaller	KB.bcp

3.5.6. Sekans Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve Genotiplerin Belirlenmesi

Sekans cihazındaki kapiller elektroforez sonlandığında elde edilen DNA dizi analizi sonuçları GeneMapper Software (Thermo Fisher Sci.) programı kullanılarak kromotogram verisi haline getirildi. DNA kromotogram verileri sekanslanan DNA dizisini her bir nükleotide özgü floresan boya ların (Tablo 3.6) etkisi ile oluşan farklı renkteki pikler (A: Yeşil, C: Siyah, G: Mavi, T: Kırmızı) halinde göstermektedir. DNA ürünleri F ve R primerler kullanılarak her iki yönden (5' ve 3') dizilendi. Sonuçlar her iki yöndeki diziyi de değerlendirerek belirlendi. Örnekler istenilen gen varyantına ait SNP bölgesinde okunan nükleotide ait pikin rengine, sayısına ve uzunluğuna bakılarak homozigot ya da heterozigot olarak değerlendirildi (Şekil 3.4). Heterozigot olan örneklerde farklı renklerde iki pik oluştuğu görüldü.

rs845561-SNP (C/T): C alleli: Mavi pik, T alleli: Kırmızı pik

rs3864004-SNP (G/A): G Aleli Siyah pik, A alleli: Yeşil pik



Şekil 3-4: Sanger Sekans Kromotogram Görüntüsü

3.4. Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışmada verilerin istatistiksel analizleri Statistic Packet of Social Science (SPSS 21.0) programı ile yapıldı. Niceliksel ve sürekli değişkenlerini ölçmede T testi (Independent Samples T-TEST) kullanıldı. Verilerin yaş ve üç veya daha fazla bağımsız değişkenlerinin hesaplanmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi kullanıldı. Tüm gruplarda gen varyantlarının genotip ve allel frekans dağılımı, hem de klinik ve çeşitli değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare testi testi kullanıldı. Hesaplama programı olarak SPSS kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, yüzde değerler ve $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlı olarak değerlendirildi.

Tüm verilerin alel frekansı ve genotip dağılımı ise Hardy-Weinberg Dengesi ile hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Çalışmamızda OSHK hasta grubu %62,1 erkeklerden ve %37,9 kadınlardan oluşmakta, hastaların yaşları 30-71 arasında olup, ortalama yaş $52,6 \pm 11,72$ 'dir. Sigara bağımlısı grupta ise %30 erkek, %70 kadın bulunmakta, yaş aralığı 25-56 arasında olup, ortalama yaş $42,15 \pm 9,48$ 'dir. FA hastalarının %45,5'i erkek, %54,5'i kadındır, yaş aralığı 19-32, ortalama yaş $20,16 \pm 5,96$ olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubundaki bireylerin ise %40'ı erkek ve %60'ı kadındır, yaşları arası 25-64, ortalama yaş ise $42,17 \pm 13,57$ olarak hesaplandı.

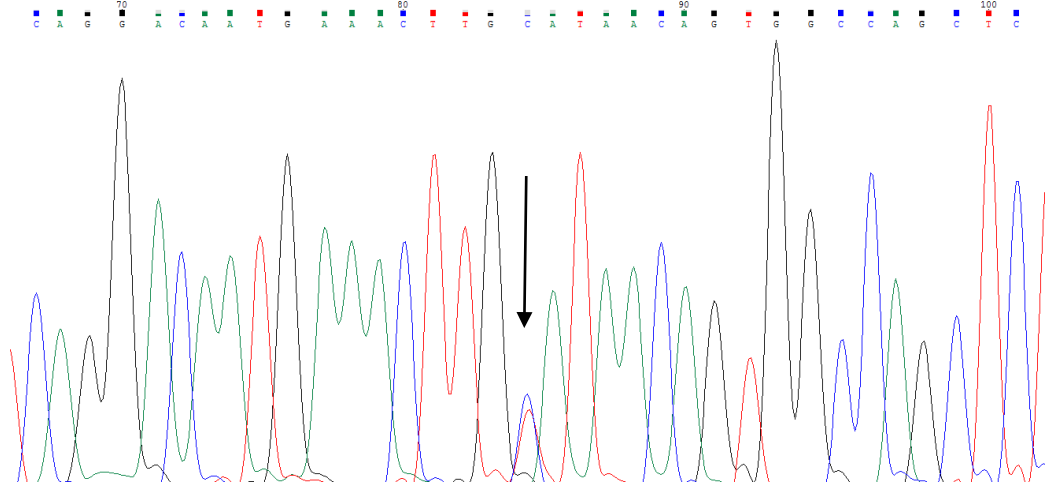
Çalışmaya dahil edilmiş tüm hasta, risk grubu ve kontrollerin cinsiyet ve yaşlarına göre yüzde ve ortalama±standart sapma değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4-1: Hasta, risk grubu ve kontrollere ait cinsiyet ve yaş ortalamaları

Grup	Cinsiyet		Yaş	
	Erkek n=(%)	Kadın n=(%)	ort. ±s.s	min-max
OSHK	18 (%62,1)	11 (%37,9)	$52,6 \pm 11,72$	30-71
Sigara içenler	6 (%30)	14 (%70)	$42,15 \pm 9,48$	25-56
Fankoni Anemi	15 (%45,5)	18 (%54,5)	$21,03 \pm 5,96$	14-32
Kontrol	8 (%40)	12 (%60)	$42,17 \pm 13,57$	25-64

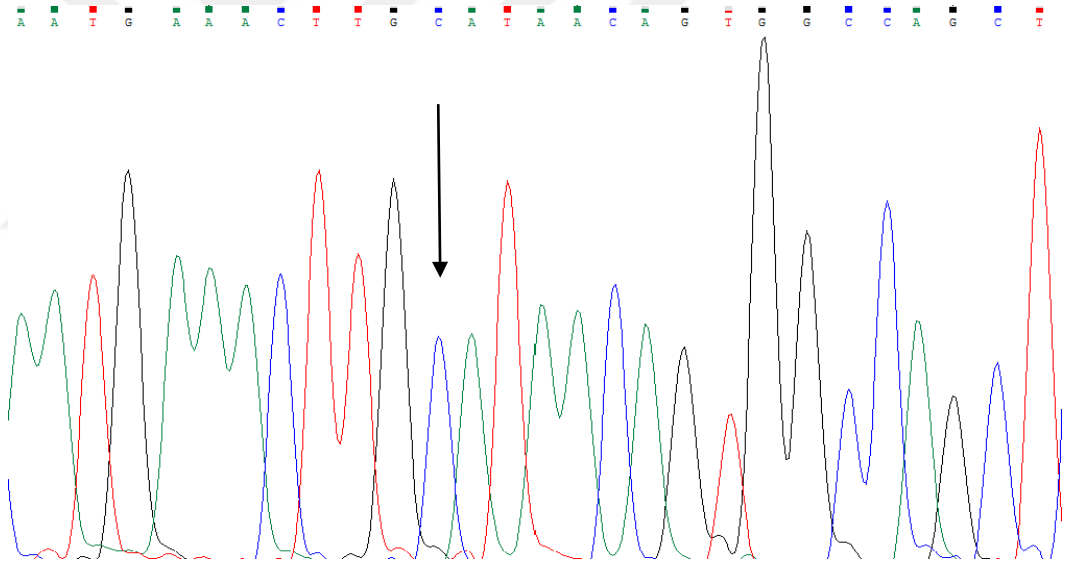
4.2. EGFR rs845561 Gen Varyantına ait Veriler

EGFR rs845561 gen varyantının bir OSHK vakasına ait heterozigot ve homozigot genotiplerinin Sanger kromatogram sonuçları aşağıda Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4-1: OSHK vakasına ait heterozigot (CT) genotipli EGFR rs845561 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü

C alleli: Mavi, T alleli: Kırmızı



Şekil 4-2: OSHK vakasına ait homozigot (CC) genotipli EGFR rs845561 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü

C alleli: Mavi.

4.2.1. EGFR rs845561 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının OSHK, Risk Grubu ve Kontrol Grubundaki Bireyler Arasındaki Karşılaştırılması

EGFR rs845561 gen varyantı genotip ve alel sonuçları OSHK hastaları ile kontroller arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç tespit edilmemiştir. Sonuçlar Tablo 4-2’de gösterilmiştir.

Tablo 4-2: OSHK ve kontrol gruplarında EGFR rs845561 varyantı genotip ve allel frekansı

rs845561	OSHK n=29	Kontrol grubu n=20	<i>p</i>
CC	3 (%10,7)	4(%20)	0,369
CT	14 (%50)	9(%45)	0,668
TT	11(%39,3)	7(%35)	0,836
Allel			
C	19(%65,5)	17(%42,5)	0,457
T	25(%86,6)	23(%57,5)	0,311

EGFR rs845561 gen varyantı genotip ve alel sonuçları OSHK hastaları ile FA hastaları arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç tespit edilmemiştir. Sonuçlar Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4-3: OSHK ve Fankoni anemi hastalarında EGFR rs845561 varyantı genotip ve allel dağılımı

rs845561	OSHK n=29	Fankoni anemi hastaları n=30	<i>p</i>
CC	3 (%10,3)	5(%16,6)	0,432
CT	14 (%48,2)	10(%33,3)	0,424
TT	11(%37,9)	15(%50)	1,904
Allel			
C	19(%65,5)	15(%50)	0,067
T	25(%86,2)	25(%83,3)	0,393

EGFR rs845561 gen varyantı genotip ve allel sonuçları OSHK hastaları ile sigara bağımları arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç tespit edilmemiştir. Sonuçlar Tablo 4.4.’de gösterilmiştir.

Tablo 4-4: OSHK ve Sigara bağımlılarda EGFR rs845561 varyantı genotip ve allel dağılımı

rs845561	OSHK n=29	Sigara bağımlıları n=20	<i>p</i>
CC	3 (%10,3)	1(%5)	0,432
CT	14 (%48,2)	6(%30)	0,270
TT	11(%37,9)	12(%60)	4,405
Allel			
C	19(%65,5)	7(%35)	0,025
T	25(%86,2)	18(%90)	0,464

4.2.2. EGFR rs845561 Gen Varyantının Genotip ve Allel Frekanslarının OSHK Hastalarının Klinik ve Patolojik Verileri ile Karşılaştırılması

OSHK hastalarının cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı, ağızda yara, ağız hijyeni, ailede kanser öyküsü klinik verileri EGFR rs845561 genotip ve allel frekansları ile karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlar Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4-5: EGFR rs845561 gen varyantı genotip ve allel frekansları ve OSHK hastaların klinik verileri

Veri	OSHK n=29	EGFR		
		CC	CT	TT
Cinsiyet	erkek	1(%3,5)	8(%27,6)	8(%27,6)
	kadın	2(%6,9)	6(%20,7)	3(%10,4)
Sigara	var	1(%3,5)	8(%27,6)	8(%27,6)
	yok	2(%6,9)	6(%20,7)	3(%10,4)
Alkol	var	1(%3,5)	-	-
	yok	2(%6,9)	14(%48,3)	11(%37,9)
Ağızda yara	var	2(%6,9)	11(%37,9)	9(%31)
	yok	1(%3,5)	3(%10,4)	2(%6,9)
Ağız hijyeni	iyi	2(%6,9)	5(%17,3)	5(%17,2)
	kötü	1(%3,5)	9(%31)	6(%20,7)
Ailede kanser öyküsü	var	2(%6,9)	6(%20,7)	2(%6,9)
	yok	0	7(%24,1)	8(%27,5)

EGFR rs845561 genotip ve allel frekansları OSHK hastlarının patolojik verileri ile karşılaştırılmış ve sonuçlar Tablo 4.6’da gösterilmiştir. OSHK hastalarında %44,8 oranında ağız tabanı ve %37,9 oranında dil karsinomları görüldü. EGFR rs845561 gen varyantının genotip ve allel frekansları tümörün bulunduğu bölge arasında istatistiksel olarak ilişki saptanmadı.

Tablo 4-6: EGFR rs845561 genotip ve allel frekansları ve OSHK hastlarının patolojik verileri

Veri	OSHK n=29	EGFR		
		CC	CT	TT
Tümör bölge	yanak	1(%3,5)	0	0
	ağız tabanı	1(%3,5)	5(%17,3)	6(%20,7)
	dil	1(%3,5)	7(%24)	3(%10,4)
	dudak	0	2(%6,9)	0
	hipofarenks	0	0	2(%6,9)
Tümör boyutu(cm)		3(%10,7)	14(%50)	11(%39,3)
TNM	T ₁	1(%3,5)	2(%6,9)	2(%6,9)
	T ₂	0	9(%31)	4(%13,8)
	T ₃	1(%3,5)	1(%3,5)	3(%10,4)
	T ₄	1(%3,5)	2(%6,9)	2(%6,9)
	N0	2(%6,9)	9(%31)	7(%24)
	N1	1(%3,5)	4(%13,8)	2(%6,9)
	N2	0	0	2(%6,9)
	N3	0	1(%3,5)	0
Tümör evre	I	1(%3,5)	2(%6,9)	1(%3,5)
	II	0	6(%20,7)	2(%6,9)
	III	1(%3,5)	4(%13,8)	3(%10,4)
	IV	1(%3,5)	2(%6,9)	5(%17,3)
Diferansiasyon Derecesi	iyi	1(%3,5)	3(%10,4)	1(%3,5)
	orta	1(%3,5)	10(%34,5)	8(%27,5)
	kötü	0	1(%3,5)	0
İnvazyon derinliği	>5	2(%6,9)	12(%41,3)	9(%31)
	<5	1(%3,5)	2(%6,9)	2(%6,9)
Perinöral invazyon	var	2(%6,9)	9(%31)	6(%20,7)
	yok	1(%3,5)	5(%17,3)	5(%17,3)
Lenf nodu metastazı	var	1(%3,5)	5(%17,3)	4(%13,8)
	yok	2(%6,9)	9(%31)	6(%20,7)
Lenfovasküler invazyon	var	1(%3,5)	5(%17,3)	5(%17,3)
	yok	2(%6,9)	8(%27,5)	6(%20,7)

EGFR rs845561 TT genotipi evre 2 OSHK hastalarında daha az sayıda bulundu ($p=0,02$), sonuçlar Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4-7: EGFR rs845561 T allel frekansının OSHK evre 2 verileri ile karşılaştırılması

Evre 2 verileri (n=13)	EGFR rs845561 T alleli	<i>p</i>
	Var 4 (%30,7)	0,021
	Yok 9 (%69,3)	

OSHK hastalarında EGFR rs845561 T allel frekansı ile tümör perinöral invazyon arasında anlamlı ilişki bulundu ($p=0,05$) Tablo 4.8.

Tablo 4-8: EGFR rs845561 T alel frekansının OSHK perinöral invazyon verileri ile karşılaştırılması

Perinöral invazyon verileri (n=25)	EGFR rs845561 T alleli	<i>p</i>
VAR	15 (%60)	0,05
YOK	10 (%40)	

Lenf nodu metastazı olan OSHK hastalarında EGFR rs845561 C allel frekansı düşük bulundu ($p=0,001$). Tablo 4.9.

Tablon 4--9: EGFR rs845561 C allel frekansının OSHK lenf nodu metastazı ile karşılaştırılması

Lenf nodu metastazı verileri (n=19)	EGFR rs845561 C aleli	<i>p</i>
VAR	7 (%36,8)	0,001
YOK	12 (%63,2)	

EGFR rs845561 genotip ve allel frekansları OSHK hastalarının ameliyat sonrası progresyon durumları, nüks olup olmaması, tedavi yanıtları ve sağ kalım açısından değerlendirildi. Toplam 27 hasta ameliyat oldu. 17 hastaya radyoterapi (RT), 13 hastaya

kemoterapi (KT) uygulandı ve 10 hasta ikinci operasyon geçirdi. Sonuçlar Tablo 4-10'da verilmiştir.

Tablo 4-10: OSHK hastalarında EGFR rs845561 varyantı genotip ve allel frekansları ve progresyon, nüks durumları ve tedavi yanıtları

Veri	OSHK n=29	EGFR		
		CC	CT	TT
Progresyon	var	1(%3,5)	3(%10,4)	5(%17,3)
	yok	2(%6,9)	8(%27,5)	4(%13,8)
Nüks	var	1(%3,5)	2(%6,9)	3(%10,4)
	yok	2(%6,9)	7(%24)	6(%20,7)
KT yanıt	var	0	3(%10,4)	2(%6,9)
	yok	1(%3,5)	3(%10,4)	3(%10,4)
RT yanıt	var	1(%3,5)	4(%13,8)	3(%10,4)
	yok	1(%3,5)	3(%10,4)	4(%13,8)
2.ameliyat	var	1(%3,5)	3(%10,4)	5(%17,3)
	yok	2(%6,9)	10(%34,5)	4(%13,8)
yaşayan	var	2(%6,9)	9(%31)	7(%24)
	yok	1(%3,5)	2(%6,9)	2(%6,9)

Kemoterapi -KT

Radyoterapi -RT

4.2.3. EGFR rs845561 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının FA Hastalarının Demografik ve Klinik Verileri ile Karşılaştırılması

FA ile kontrol grubu (sigara içen ve içmeyen) karşılaştırdığında kontrol grubunda TT genotipi anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,01$).

FA hastalarında EGFR rs845562 genotip ve allel frekansları sigara ve alkol kullanımı, ağız hijyeni, ağızda yara olup olmadığı, hematopoetik kemik iliği nakli olup olmamaları, kendisinde ve ailesinde kanser gelişme öyküsü açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.11'de gösterilmiştir.

Tablo 4-11: Fankoni Anemisi hastalarının EGFR rs845561 varyant genotipleri ve klinik verileri

Veri	Fankoni Anemisi n=30	EGFR		
		CC	CT	TT
Cinsiyet	erkek	1(%3,3)	7(%23,3)	5(%16,6)
	kadın	3(%10)	3(%10)	10(%33,3)
Sigara	var	1(%3,3)	0	0
	yok	4	10(%33,3)	15(%50)
Alkol	var	0	0	1(%3,3)
	yok	5(%16,6)	10(%33,3)	14(%46,6)
Ağız hijyeni	iyi	2(%6,6)	6(%20)	4(%13,3)
	kötü	3(%31)	4(%13,3)	11(%36,6)
Ağızda yara	var	1(%31)	6(%20)	5(%16,6)
	yok	4(%13,3)	4(%13,3)	10(%33,3)
HKHN	var	4(%13,3)	8(%26,6)	12(%40)
	yok	1(%3,3)	2(%6,6)	3(%10)
Hastada kanser gelişimi	var	1(%3,3)	2(%6,6)	4(%13,3)
	yok	4(%13,3)	8(%26,6)	11(%36,6)
Ailede kanser öyküsü	var	5(%16,6)	5(%16,6)	8(%6,9)
	yok	0	3(%10)	7(%3,5)

Hematopoietik Kök Hücre Naklı-HKHN

Kanser geliştiren 7 FA hastasında EGFR 845561 T allel frekansı istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0,03$).

FA hastalarında kontrol grubu (sigara bağımlıları ve gönüllüler) ile karşılaştırdığında kontrol grubunda TT genotipi anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,01$).

4.2.4. EGFR rs845561 Gen Varyantının Genotip ve Allel Frekanslarının Sigara Bağımlılarının Demografik ve Klinik Verileri ile Karşılaştırılması

Sigara Bağımlılarında EGFR rs845562 genotip ve allel frekansları alkol kullanımı, ağız hijyeni, ağızda yara olup olmadığı, ailesinde kanser gelişme öyküsü ve bağımlılık derecesi açısından değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 4.12’de gösterilmiştir.

Tablo 4-12: Sigara bağımlılarının EGFR rs845561 varyant genotipleri ve klinik verileri

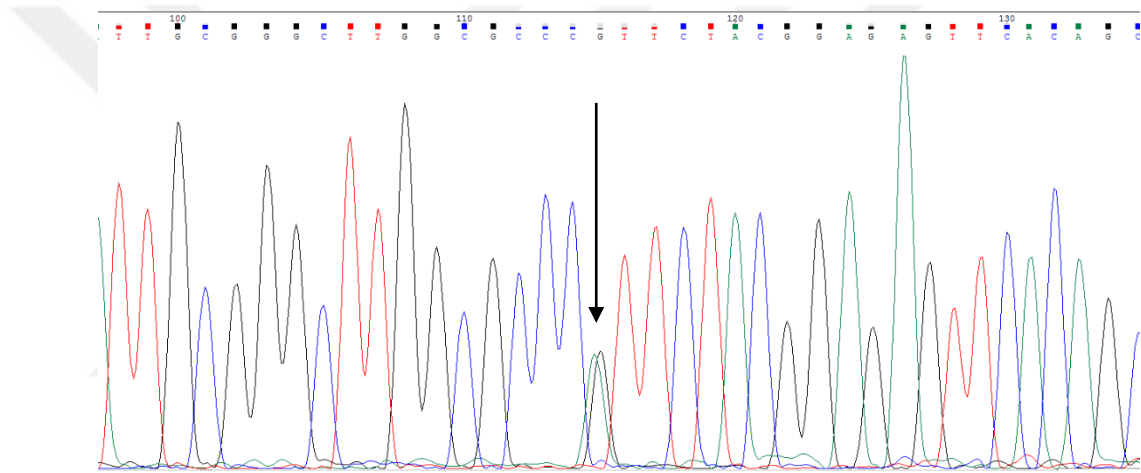
Veri	Sigara içenler n=20	EGFR		
		CC	CT	TT
Cinsiyet	Erkek	0	3(%15)	3(%15)
	Kadın	1(%5)	3(%15)	9(%45)
Alkol	var	0	0	3(%15)
	yok	1(%5)	6(%30)	9(%45)
Ağız hijyeni	iyi	0	1(%5)	2(%10)
	kötü	1(%5)	5(%25)	10(%50)
Ağızda yara	var	1(%5)	0	2(%10)
	yok	0	6(%30)	10(%50)
Ailede kanser öyküsü	var	0	3(%15)	7(%35)
	yok	1(%5)	3(%15)	5(%3,5)
Bağımlılık derecesi	az bağımlılık	0	1(%5)	0
	orta derece bağ.	0	1(%5)	4(%20)
	yüksek bağ.	1(%5)	1(%5)	6(%30)

çok yüksek bağ	0	3(%15)	2(%10)
----------------	---	--------	--------

Sigara bağımlılarında EGFR rs845561 TT genotipi kötü ağız hijyeni ve ağızda yara çıkması ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkili bulundu ($p=0,01$ ve $p=0,01$).

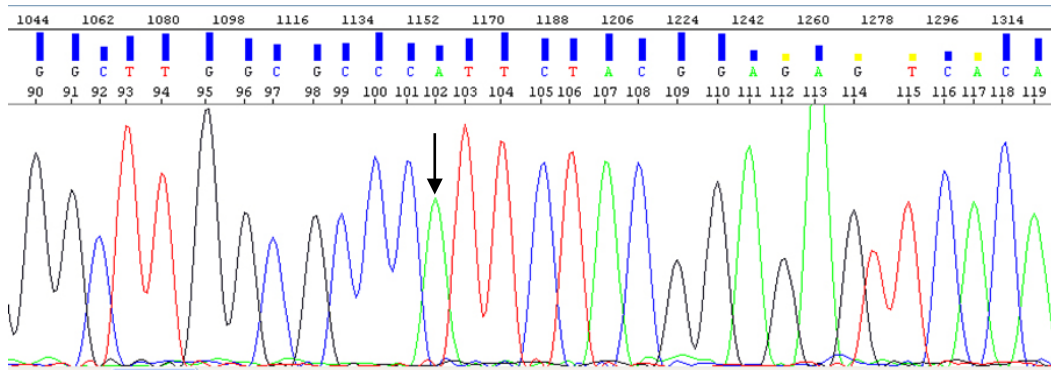
4.3. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantına ait Veriler

CTNNB1 rs3864004 gen varyantının bir OSHK vakasına ait heterozigot ve homozigot genotiplerinin Sanger kromatogram sonuçları aşağıda Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te verilmiştir.



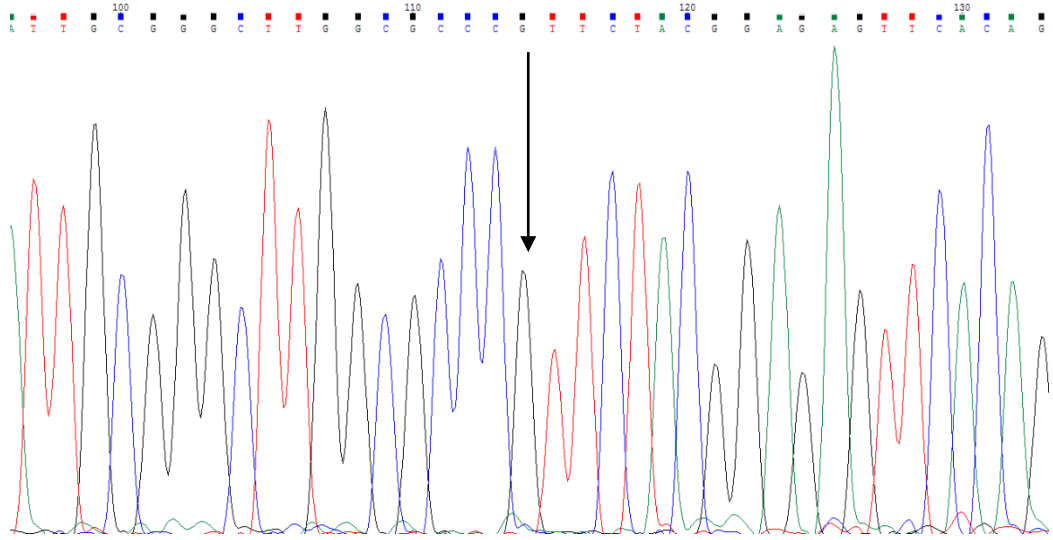
Şekil 4-3: OSHK vakasına ait heterozigot (GA) genotipli CTNNB1 rs3864004 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü

G Aleli Siyah, A alleli: Yeşil



Şekil 4-4: OSHK vakasına ait homozigot (AA) genotipli CTNNB1 rs3864004 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü.

A alleli: Yeşil



Şekil 4-5: OSHK vakasına ait homozigot (GG) genotipli CTNNB1 rs3864004 gen varyantı Sanger kromatogram görüntüsü

G alleli: Siyah

4.3.1. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantının Genotip ve Alel Frekanslarının OSHK, Risk Grubu ve Kontrol Grubundaki Bireyler Arasındaki Karşılaştırılması

CTNNB1 rs3864004 gen varyantı genotip ve allel sonuçları OSHK hastaları ile kontroller arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç tespit edilmemiştir. Sonuçlar Tablo 4.13'te gösterilmiştir.

Tablo 4-13: OSHK ve kontrol gruplarında CTNNB1 rs3864004 varyantı genotip ve allel dağılımı

rs3864004	OSHK n=29	Kontrol grubu n=20	p
GG	10 (%34,4)	9(%45)	0,552
GA	16 (%55,1)	10(%50)	0,666
AA	3(%10,3)	1(%5)	0,451
Allel			
G	18(%62)	28(%70)	0,420
A	26(%89,6)	12(%30)	0,457

OSHK hastalarında GG genotipi tüm sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında (sigara içen ve içmeyen sağlıklılar) anlamlı olarak daha az bulundu ($p=0,002$).

CTNNB1 rs3864004 gen varyantı genotip ve allel sonuçları OSHK hastaları ile sigara bağımlıları arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç tespit edilmemiştir. Sonuçlar Tablo 4-14'te gösterilmiştir.

Tablo 4-14: OSHK ve Sigara bağımlılarında CTNNB1 rs3864004 varyantı genotip ve allel dağılımı

rs3864004	OSHK n=29	Sigara bağımlıları n=20	p
GG	10 (%34,4)	5(%25)	0,501
GA	16 (%55,1)	13(%65)	0,763
AA	3(%10,3)	2(%10)	0,969
Allel			
G	26(%89,6)	18(%90)	0,675
A	18(%62)	15(%75)	0,263

CTNNB1 rs3864004 gen varyantı genotip ve allel sonuçları OSHK hastaları ile FA hastaları arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç tespit edilmemiştir. Sonuçlar Tablo 4.15'te gösterilmiştir.

Tablo 4-15: OSHK ve Fankoni anemi hastalarında CTNNB1 rs3864004 varyantı genotip ve allel dağılımı

rs3864004	OSHK n=29	Fankoni anemi hastaları n=32	p
GG	10 (%34,4)	17(%53,1)	2,143
GA	16 (%55,1)	14(%43,7)	0,246
AA	3(%10,3)	1(%3,1)	1,294
Allel			
G	26(%89,6)	31(%96,8)	0,438
A	18(%62)	15(%46,8)	0,176

4.3.2. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantının Genotip ve Allel Frekanslarının OSHK Hastalarının Klinik ve Patolojik Verileri ile Karşılaştırılması

OSHK hastalarının cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı, ağızda yara, ağız hijyeni, ailede kanser öyküsü klinik verileri CTNNB1 rs3864004 genotip ve allel frekansları ile karşılaştırılmıştır ancak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu sonuçlar Tablo 4-16'da verilmiştir.

Tablo 4-16: CTNNB1 rs3864004 gen varyantı genotip ve allel frekansları ve OSHK hastaların klinik verileri

Veri	OSHK n=29	CTNNB1		
		GG	GA	AA
Cinsiyet	erkek	8(%27,5)	9(%31)	1(%3,5)
	kadın	2(%6,9)	7(%24)	2(%6,9)
Sigara	var	5(17,3)	10 (%34,5)	2(%6,9)
	yok	5(%17,3)	6 (%20,7)	1(%3,5)
Alkol	var	1(%3,5)	-	-
	yok	9(%31)	16 (%55,2)	3(%10,3)
Ağızda yara	var	9(%31)	13(%44,8)	1(%3,5)
	yok	1(%3,5)	3(%10,3)	2(%6,9)
Ağız hijyeni	iyi	4(%13,8)	6(%20,7)	2(%6,9)
	kötü	6(%20,7)	10(%34,5)	1(%3,5)
Ailede kanser öyküsü	var	5(%17,3)	6(%20,7)	-
	yok	4(%13,8)	8(%27,6)	3(%10,4)

CTNNB1 rs3864004 genotip ve allel frekansları OSHK hastalarının patolojik verileri ile sonuçları Tablo 4.17'de gösterilmiştir.

Tablo 4-17: CTNNB1 rs3864004 genotip ve allel frekansları ve OSHK hastalarının patolojik verileri

Veri	OSHK n=29	CTNNB1		
		GG	GA	AA
Tümör bölge	yanak	0	1(%3,5)	0
	ağız tabanı	4(%13,7)	8(%27,5)	1(%3,5)
	dil	4(%13,7)	6(%20,6)	1(%3,5)
	dudak	1(%3,5)	1(%3,5)	0
	hipofarenks	1(%3,5)	0	1(%3,5)
TNM	T ₁	2(%6,9)	3(%10,4)	0
	T ₂	5(%17,3)	7(%24)	1(%3,5)
	T ₃	2(%6,9)	2(%6,9)	1(%3,5)
	T ₄	1(%3,5)	4(%13,7)	1(%3,5)
	N0	5(%17,2)	11(%37,9)	2(%6,9)
	N1	4(%13,8)	4(%13,8)	0
	N2	1(%3,5)	1(%3,5)	0
	N3	0	0	1(%3,5)
Tümör evre	I	1(%3,5)	3(%10,4)	0
	II	3(%10,4)	5(%17,2)	0
	III	4(%13,8)	3(%10,4)	1(%3,5)
	IV	2(%6,9)	5(%17,2)	2(%6,9)
Dif. Derecesi	iyi	2(%6,9)	2(%6,9)	1(%3,5)
	orta	7(%24)	11(%37,9)	1(%3,5)
	kötü	0	1(%3,5)	0
İnvazyon derinliği	>5	8(%27,5)	13	3(%10,4)
	<5	2(%6,9)	3(%10,4)	0
Perinöral invazyon		6(%20,7)		
	var		9	3(%10,4)
Lenf nodu metas.	yok	4(%13,8)	7(%24)	0
Lenf nodu metas.	var	5(%17,3)	5(%17,3)	1(%3,5)
	yok	4(%13,8)	11(%)	2(%6,9)
Lenfovas. invazyon	var	5(%17,3)	6(%20,7)	1(%3,5)
	yok	5(%17,3)	9(%31)	2(%6,9)

CTNNB1 rs3864004 A allel frekansı OSHK hastalarında artmış tümör invazyonu ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkili bulundu (p=0,01) Tablo 4-18.

Tablo 4-18: OSHK hastalarında CTNNB1 rs3864004 A allel frekansı ile tümör invazyonu ilişkisi

İnvazyon derinliği (n=29)	CTNNB1 rs3864004 A alleli	p
>5cm	24 (%82,7)	0,01
<5cm	5 (%17,2)	

CTNNB1 rs3864004 genotip ve allel frekansları OSHK hastalarının ameliyat sonrası progresyon durumları, nüks olup olmaması, tedavi yanıtları ve sağ kalım açısından değerlendirildi, Tablo 4-19.

Tablo 4-19: OSHK hastalarında CTNNB1 rs3864004 varyantı genotip ve allel frekansları ile progresyon, nüks durumları ve tedavi yanıtları

Veri	OSHK n=29	CTNNB1		
		GG	GA	AA
KT yanıt	var	1(%3,5)	4(%13,8)	0
	yok	1(%3,5)	6(%20,7)	1(%3,5)
RT yanıt	var	3(%10,4)	5(%17,3)	0
	yok	2(%6,9)	5(%17,3)	2(%6,9)
Progresyon	var	2(%6,9)	6(%20,7)	2(%6,9)
	yok	6(%20,7)	8(%27,5)	0
Nüks	var	2(%6,9)	4(%13,8)	0
	yok	6(%20,7)	8(%27,5)	2(%6,9)
2.ameliyat	var	2(%6,9)	7(%24)	1(%3,5)
	yok	6(%20,7)	9(%31)	1(%3,5)
Yaşayan	var	6(%20,7)	10(%34,5)	2(%6,9)
	yok	2(%6,9)	4(%13,8)	0

CTNNB1 rs3864004 A allel frekansı ile radyoterapiye yanıtsızlık arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkili bulundu ($p=0,03$), Tablo 4.20.

Tablo 4-20: OSHK hastalarında radyoterapi (RT) yanıtına göre CTNNB1 rs3864004 varyantı A allel frekansı

RT (n=17)	CTNNB1 rs3864004 A alleli	<i>p</i>
yanıt var	8 (%47)	0,03
yanıt yok	9 (%53)	

CTNNB1 rs3864004 A allel frekansı ile kemoterapiye yanıtsızlık arasında istatistiksel olarak ilişkili bulundu ($p=0,04$), Tablo 4.21.

Tablo 4-21: OSHK hastalarında kemoterapi (KT) yanıtına göre CTNNB1 rs3864004 varyantı A allel frekansı

KT (n=13)	CTNNB1 rs3864004 A alleli	<i>p</i>
yanıt var	5 (%38,4)	0,04
yanıt yok	8 (%61,5)	

Lenf nodu metastazı olan OSHK hastalarında G allel frekansı daha düşük idi ($P=0.05$). Tablo 4-22.

Tablo 4-22: CTNNB1 rs3864004 G allel frekansının OSHK lenf nodu metastazı ile karşılaştırılması

Lenf nodu metastazı verileri (n=25)	CTNNB1 rs3864004 G alleli	<i>p</i>
Var	10 (%40)	0,05
Yok	15 (%60)	

Ağız hijyeni kötü olan OSHK hastalarında GG genotipi daha az bulundu ($p=0,012$).

4.3.3. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantının Genotip ve Allel Frekanslarının FA Hastalarının Demografik ve Klinik Verileri ile Karşılaştırılması

FA hastalarında CTNNB1 rs3864004 genotip ve allel frekansları sigara ve alkol kullanımı, ağız hijyeni, ağızda yara olup olmadığı, kemik iliği nakli olup olmadığı, kendisinde ve ailesinde kanser gelişme öyküsü açısından değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 4.23'te gösterilmiştir.

Tablo 4-23: Fankoni Anemisi hastalarının CTNNB1 rs3864004 varyant genotipleri ve klinik veriler

Veri	Fankoni Anemisi n=32	CTNNB1		
		GG	GA	AA
Cinsiyet	erkek kadın	8(%25) 9(%28,1)	6(%18,75) 8(%25)	1(%3,1) 0
Sigara	var yok	0 17(%53,1)	1(%3,1) 13(%40,6)	0 1(%3,1)
Alkol	var yok	0 17(%53,1)	1(%3,1) 13(%40,6)	0 1(%3,1)
Ağızda yara	var yok	6(%18,7) 11(%34,3)	7(%21,8) 7(%21,8)	0 1(%6,9)
HKHN	var yok	13(%40,6) 4(%12,5)	13(%40,6) 1(%3,1)	0 1(%3,1)
Hastada kanser gelişimi	var yok	3(%9,3) 14(%43,7)	6(%18,7) 8(%25)	0 1(%3,1)
Ailede kanser öyküsü	var yok	9(%20,7) 7(%21,8)	9(%20,7) 3(%9,3)	1(%3,1) 0

FA hastalarında kontrol grubuna göre G alel frekansı daha düşük bulundu ($p=0.026$).

4.3.4. CTNNB1 rs3864004 Gen Varyantının Genotip ve Allel Frekanslarının Sigara Bağımlılarının Demografik ve Klinik Verileri ile Karşılaştırılması

Sigara Bağımlılarında CTNNB1 rs3864004 genotip ve allel frekansları alkol kullanımı, ağız hijyeni, ağızda yara olup olmadığı, ailesinde kanser gelişme öyküsü ve bağımlılık derecesi açısından değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 4.24.'de gösterilmiştir.

Tablo 4-24: Sigara bağımlılarının CTNNB1 rs3864004 varyant genotipleri ve klinik verileri

Veri	Sigara bağımlıları n=20	CTNNB1		
		GG	GA	AA
Cinsiyet	Erkek	2(%10)	3(%15)	1(%5)
	Kadın	3(%15)	10(%50)	1(%5)
Alkol	var	1(%5)	1(%5)	1(%5)
	yok	4(%20)	12(%60)	1(%5)
Ağız hijyeni	iyi	1(%5)	2(%10)	0
	kötü	4(%20)	11(%55)	2(%10)
Ağızda yara	var	1(%5)	2(%10)	0
	yok	4(%20)	11(%55)	2(%10)
Ailede kanser öyküsü	var	2(%10)	7(%35)	1(%5)
	yok	3(%15)	6(%30)	1(%5)
Bağımlılık derecesi	az bağı.	1(%5)	1(%5)	0
	orta derece bağı.	1(%5)	4(%20)	0
	yüksek bağı.	1(%5)	6(%30)	1(%5)
	çok yüksek bağı	2(%10)	2(%10)	1(%5)

4.4. EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 varyantlarının tüm gruplar arasında genotip ve allel frekans dağılım verileri

EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 varyantlarının genotip ve allel frekans dağılımları tüm gruplar arasında Hardy-Weinberg Dengesi (Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE)) ile değerlendirildi. Yapılan analizde hasta, kontrol ve risk grupları arasında HWE dengesi istatistiksel olarak uygun bulunmuştur. Elde edilen veriler Tablo 4.25'te verilmiştir.

Tablo 4-25: CTNNB1 ve EGFR varyantı genotiplerinin hasta, kontrol ve risk grupları arasında Hardy-Weinberg Dengesi (HWE)

SNP	Genotip	OSHK	HWE	FA	HWE	Sigara	HWE	Kontrol	HWE
		n=29(%)	p	n=32(%)	p	n=20(%)	p	n=20(%)	p
rs3864004	GG	10(%34,5)	0,35	17(%53,1)	0,345	5(%25)	0,263	9(%45)	0,394
	GA	16(%55,1)		14(%43,7)		13(%65)		10(%50)	
	AA	3(%10,3)		1(%3,1)		2(%10)		1(%5)	
rs845561	CC	3(%10,7)	0,29	5(%18,7)	0,17	1(%5)	0,82	4(%5)	0,72
	CT	16(%57,1)		10(%34,3)		6(%30)		9(%60)	
	TT	9(%32)		15(%46,8)		12(%60)		7(%35)	

5. TARTIŞMA

Oral skuamöz hücreli karsinoma ağız kanserlerinin en sık görülenidir ve ağız boşluğundaki çok katlı epitelin malign neoplazmidir. OSHK dünya genelindeki kanserlerin yaklaşık %3'ünü oluşturmaktadır ve kansere bağlı ölüm nedenleri arasında sekizinci sıradadır^{144,145}. OSHK'nın 5 yıllık sağkalım oranı %50'den azdır¹⁴⁶.

OSHK'da erken teşhis ve prognozun önceden belirlenmesi başarılı tedavi sonucu elde edilmesinde kritik öneme sahiptir. Özellikle OSHK gelişme riski yüksek bireylerde yapılacak düzenli taramalar hastalığın sağkalım oranlarının artırılması açısından değerlidir. Çalışmamızda OSHK hastaları ve bu hastalığın görülme riski yüksek sigara bağımlıları ve FA hastaları arasında EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 gen varyantlarının genotip ve alel dağılımları araştırılmıştır. Ayrıca genotip ve alel dağılımları OSHK hastalarının klinik bilgileri, patolojik verileri, prognoz durumları ve tedavi yanıtları ile karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmaya dahil edilen OSHK hastalarının yaş ortalaması 49,90±15,6 arasında değişmektedir. Bu hasta yaş ortalaması Smitha ve ark. çalışma verileri ile benzerlik göstermektedir⁴⁹. Çalışmanın OSHK hasta grubunun %62,1'ini erkek ve %37,9'unu kadın oluşturmuştur. Yapılan çalışmalarda Jerjes ve ark.⁵⁰, Wan ve ark.¹⁴⁷, OSHK'nın erkek/kadın oranı 2:1 olarak bildirilmiştir. Bizim hasta grubumuzun yaş ve cinsiyet oranları literatürlerde bildirilen oranlarla benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda yer alan OSHK vakalarının %58,6'sı sigara içmektedir. Sigara kullanımının OSHK için önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir ve genellikle çalışmalarda OSHK hastalarında sigara kullanım oranı %50'den fazla olarak bildirilmektedir¹⁴⁸. Ancak çalışmamızda yer alan OSHK hastalarının %41,4'ü hiç sigara içmemiştir. Bu oran literatürdeki çalışmalara göre yüksektir. Dünya Sağlık Örgütünün açıklamasına göre, sigara her yıl dünya genelinde yaklaşık 6,4 milyon kişinin kanserden ölümüne neden olmaktadır. OSHK vakalarının %74'ünde sigaranın başlıca risk faktörü olduğu gösterilmiştir¹⁴⁹. Güneydoğu Asya'da her yıl 180.000'den fazla ağız kanseri vakasının meydana geldiği, bunun yaklaşık %90'ı sigara alışkanlıklarından kaynaklandığı bildirilmiştir¹⁵⁰.

Hastalarımızın %51,7'sinde ailede kanser öyküsü yok iken, %37,9'unda ailede en az birinde kanser görüldüğü belirlenmiştir. Bir çalışmada sigara kullanmayan OSHK hastalarında ailede kanser öyküsünün varlığı dikkati çekmektedir¹⁵¹. OSHK vakalarının %58,6'sının ağız hijyenlerinin kötü olduğu, %79,3'ünün ise ağızda yara şikâyeti olduğu belirlenmiştir. Çalışmalarda, kötü ağız hijyeni ve ağız yaralarının OSHK'nin gelişme olasılığı ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu tespit edilmiştir¹⁵².

Çalışmamızda OSHK hastalarının primer tümör belgesi incelendiğinde; ağız boşluğu karsinomları arasında en çok görülen tümör bölgeleri %44,8 oranı ile ağız tabanı ve %37,9 oranında dildir. OSHK'da en yaygın tutulan bölgeler ağız tabanı ve dil sınırları olarak tespit edilmiştir¹⁵³.

OSHK hastalarımızın tümör evreleri %17,2 T1, %44,8 T2, %17,2 T3 ve %20,7 T4 evrelerinde idi. Vakalarımızın %37,9'unda lenf nodu metastazı pozitif, %82,8'inde ise tümör invazyonu 5mm'den fazla, %62,1'inde perinöral invazyon, %41,4'ünde ise lenfovasküler invazyon görüldü. Hastaların tümör diferansiyasyon dereceleri ise %17,2 iyi, %65,5 orta ve %3,4 kötü olarak belirlendi.

Çalışmamızda yer alan FA hastalarında ortalama yaş $21,03 \pm 5,96$ olarak, FA hastalarının %45,5'i erkek, %54,5'i kadın olarak belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen FA hastalarının 7'sinde kanser (Özefagus CA n=3, OSHK n=4, HCC n=1) geliştiği görülmüştür. Kemik iliği naklinden median 13 sene (6-28) sonra kanser gelişmiştir. Fankoni anemisi, kanser gelişimine yatkınlık ile karakterize olan, nadir görülen kalıtsal geçişli bir kemik iliği bozukluğudur². FA anemi hastaları kemik iliği naklinden ortalama 10 yıl sonra OSHK gelişime risk taşımaktadır¹⁵⁴. FA hastalarında skuamöz hücreli karsinoma gelişme oranı 4,4 kat daha yüksektir. OSHK FA hastalarında yüksek morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindendir¹⁵⁵.

Çalışmamızda yer alan sigara bağımlısı bireylerin ortalama yaşı ise $42,15 \pm 9,5$ olarak belirlenmiş, cinsiyet yüzdeleri ise %30 erkek, %70 kadın bulunmuştur. Kontrol grubunun ortalama yaşı ise $42,10 \pm 12,7$ arasında değişmektedir ve %40 erkek ve %60 kadın içermektedir.

EGFR geninde bulunan mutasyon ve polimorfizmler çeşitli kanserler ile ilişkilendirilmiştir. EGFR geninde bulunan SNP'lerin gen transkripyonunu etkileyerek protein seviyesini değiştirebileceği düşünülmektedir¹⁵⁶. EGFR rs845561 varyantı 7. kromozomun-55185015. pozisyonunda yer alır ve EGFR geni intron 20 bölgesinde

Sitozin (C) allelinin Timine (T) dönüşmesidir¹²⁸. EGFR rs845561 varyantının kanser gelişimi ile ilişkisine dair az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çin popülasyonunda yapılan bir vaka kontrol çalışmasında EFGR genine ait 50 SNP ve meme kanseri arasındaki ilişki incelenmiş ve gen varyantlarından bazıları meme kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur¹⁵⁷. Bir çalışmada sigara içmeyen OSHK hastalarında rs845561 CC genotipi baş ve boyun kanser riski ile ilişkili bulunmuştur, bu çalışmada EGFR rs845561 SNP'inin EGFR'nin transkripsiyonunu etkilediğinin henüz doğrulanmadığı ancak EGFR ekspresyonunda intron 20'nin düzenleyici rolü olabileceği belirtilmiştir¹⁵⁸.

Çalışmamızda EGFR rs845561 varyantının Türk toplumundaki C allel frekansı %42,5, T allel frekansı %57,5, CC genotipi %20, CT genotipi %45, TT genotipi ise %35 oranında tespit edilmiştir. Bu varyantın Avrupa popülasyonu oranları ise; %75 T, %25 C, % 5 CC, %40 CT, %55 TT olarak bildirilmiştir¹²⁹. Buna göre toplumumuzda CC genotipi Avrupa'ya göre daha yüksek oranda görülürken; TT genotipi daha düşük bulunmuştur. T allel dağılımı Avrupa'ya göre daha düşük. C allel dağılımı Avrupa'ya göre daha yüksek bulundu.

EGFR rs845561 gen varyantı genotip dağılımları OSHK hastalarımız ile FA hastaları, sigara bağımlıları ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Çalışmamızda EGFR rs845561 TT genotipi evre II OSHK hastalarında daha az bulunmuştur. Meme kanserinde yapılan bir çalışmada EGFR intron 20'de yer alan rs845560 gen varyantı Evre I meme kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur¹⁵⁷. Bir başka çalışmada ise hipofarenks SHK'da EGFR ekzon 20'deki polimorfizmlerinin evre I-II ile ilişkili olduğu bildirilmiştir¹⁵⁸. Bizim çalışmamız ve bu çalışmalar birlikte ele alındığında EGFR intron 20 bölgesindeki polimorfizmlerin düşük evre olarak nitelendirilebilecek evre II kanserleri ile ilişkili olduğu düşünülebilir. EGFR OSHK'da evre II ile pozitif ilişkili bulunmuştur¹¹⁸.

Çalışmamızda EGFR rs845561 varyantı T alel frekansı ve tümörün perinöral invazyonu arasında anlamlılık gözlenmiştir. Bu T alleli olan ve perinöral invazyonu olan OSHK hastalarında prognoz ve sağkalımın kötü olma ihtimalini gösterebilir. Perinöral invazyon ve EGFR gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiye dair literatürde çalışma bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalar, perinöral invazyonun kötü prognostik faktör olduğu ve lenf nodu metastaz riskini artırabileceğini ortaya çıkartmıştır. Rahima ve ark.

OSHK'da perinöral invazyonunu nüks ve uzak metastaz ile ilişkilendirmiştir¹⁵⁹. Scully ve ark. OSHK'da lenfvasküler ve perinöral invazyonlarının genel prognoz ve sağkalım ile ilişki gösterdiğini bildirmiştir¹⁶⁰. Perinöral invazyonu pozitiflik gösteren OSHK vakalarımızın prognozunun kötü seyredeceğini ve sağkalımlarının azalmış olabileceğini öngörebiliriz.

Çalışmamız sonucunda, EGFR rs845561 varyantı C allel frekansı lenf nodu metastazı olan OSHK hastalarında anlamlı olarak daha az bulunmuştur. Literatürde lenf nodu metastazının varlığı OSHK'de olumsuz prognostik faktör olarak kabul edilmektedir. Lenf nodu metastazında EGFR gen varyantlarının etkisini inceleyen sınırlı sayıda yayın bulunmaktadır. Rebecca ve ark. yaptıkları çalışmada, endometrial karsinomada EGFR rs7795743 varyantının G allelinin lenf nodu metastazı riskini azalttığını belirtmişlerdir¹⁶¹. Kallel ve ark. çalışmasında, EGFR R521K varyantının GG (Arg) genotipi lenf nodu metastazı ve yüksek evre tümörleri daha yaygın görüldüğünü incelemiştir. R521K varyantının hem tümör derecesi hem de lenf nodu durumu ile ilişkili olduğu için prognostik bir faktör olabileceği düşünülmektedir⁶⁹.

Çalışmamızda, ağız hijyeni kötü olan sigara içenlerde EGFR rs845561 varyantının TT genotipi yüksek bulunmuştur, bu hastalarda OSHK gelişme riski artmış olabilir. Cai ve ark. çalışmasında, sigara içenlerde kötü ağız hijyeninin ağız kanserine yakalanma riskini 2-3 kat artıracağını belirtmişlerdir. Bu çalışmada, sigara içeriğindeki nitrozamin oluşumunun, kötü ağız hijyenii olan sigara kullanıcılarında daha yaygın olduğunu ve bu nedenle sigaranın kanserojen potansiyelini arttıracakı bildirilmiştir²³.

Çalışmamızda OSHK geliştiren FA hastalarında EGFR rs845561 T allel frekansı yüksek saptanmıştır, bu durumda T alleli taşıyan FA'lı bireylerinin yaşamlarının ileri dönemlerinde OSHK gelişme risklerinin yüksek olabileceğini gösterebilir.

Sigara bağımlı olan vakalarımızda TT genotipi ağızda yara çıkması ile ilişkili bulunmuştur, bu kişilerdede ağız kanserine yakalanma riski artmış olabilir. Literatürde, sigara içenlerde oral lezyonların yüksek oranda bulunduğu ve maligniteye dönüşme riskini arttırdığı belirtilmiştir¹⁸. Sigara içenlerde oral lezyonların gelişmesinde EGFR geninin etkisine dair ileri çalışmalar gerekmektedir.

CTNNB1 geninin varyantlarının önemli bir kanser gelişim regülatörü olan β -kateninin ekspresyonunu etkileyebileceği gösterilmiş ve β -katenin birçok kanserler ile ilişkili bulunmuştur¹⁶². CTNNB1 rs3864004 promotor bölgesinde yer alan bir gen varyantıdır

ve Adenin (A) allelinin Guanine (G) dönüşümesidir¹²⁸. rs3864004 varyantı hepatosellüler karsinoma (HCC) ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur¹⁶². Kore popülasyonunda yapılan başka bir çalışmada ise, rs3864004 varyantının A aleli hepatosellüler karsinoma gelişiminin düşük riski ile ilişkilendirilmiştir¹⁶³.

CTNNB1 rs3864004 varyantının çalışmamız sonucu elde ettiğimiz verilere göre Türk toplumunda G allel frekansı %70, A allel frekansı %30, GG genotipi %45, GA genotipi %50, AA genotipi %5 oranında bulunmuştur. Bu varyantın Avrupa popülasyonu oranları ise; %57 G, %43 A, %33 GG, %48 GA, %19 AA olarak bildirilmiştir¹²⁹. Buna göre toplumumuzda G allel frekansı Avrupa'ya göre daha yüksek, A allel frekansı daha düşük. GG genotipi Avrupa'ya göre daha yüksek oranda görülmektedir; AA genotipi Avrupa'ya göre daha düşük bulundu.

CTNNB1 rs3864004 gen varyantı diğer genotipleri ile OSHK hastaları ile FA hastaları, sigara bağımlıları ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

2017 yılında Uluslararası Kanser Savaş Örgütü ve Amerikan Ortak Kanser Komitesi Evreleme kitabının 8. baskısındaki değişikliğe göre, OSHK tümör invazyon derinliği T evresine dahil edilmiştir. Tümör invazyon derinliği, yüksek gizli veya geç lenf nodu metastazı, tümör nüksü ve daha düşük sağ kalım şansının göstergesi olarak bilinmektedir¹⁶⁴.

Yapılan analizlerde CTNNB1 rs3864004 A allel frekansı OSHK hastalarında artmış tümör invazyonu ile anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Bu bulgu A allel frekansı olan kişilerdede prognoz daha kötü olabileceğini gösterebilir. rs3864004 A allelinin HCC riskini azalttığı belirtilmiş, AA genotipinin ise hepatosellüler karsinomda ilerlemiş tümör evresinde hasta sağ kalımının bağımsız belirteci olarak ilişkili olduğu belirtilmiştir¹⁶³.

CTNNB1 rs3864004 varyantının G alel frekansı lenf nodu metastazı olan OSHK hastalarımızda anlamlı şekilde daha düşük tespit edilmiştir. Bu bulgu G allel frekansı olanlarda prognoz daha iyi olabileceğini gösterebilir. OSHK hastalarında β -katenin ekspresyonu ile lenf nodu metastazı arasında ters korelasyon varlığını bildirmiştir. OSHK hastalarında β -katenin ekspresyonu ile lenf nodu metastazı arasında ters korelasyon varlığını bildirmiştir¹⁶⁵. CTNNB1 rs3864004 varyantının β -katenin ekspresyonu üzerine etkisi olup olmadığı ise henüz doğrulanmamıştır.

OSHK hastalarının tedaviye yanıt durumları ve CTNNB1 rs3864004 varyant genotip ve allelleri karşılaştırılmıştır. OSHK hastalarımızda CTNNB1 rs3864004 varyantının A allel frekansı kemoterapi ve radyoterapiye yanıtızsızlık açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu bulgu A allel frekansı olan kişilerin tedaviye yanıtızsız olabileceklerinin ve prognozun daha kötü seyredebileceğini gösterebilir. Bir çalışmada, rs3864004 varyantının A allelini taşıyan nazofarengal karsinoma hastalarında RT sonrası lenf düğümünde daha az etkinlik görülmesi açısından anlamlı bulunmuştur. Bu çalışma CTNNB1 rs3864004 varyantının β -katenin ekspresyonunu uyarabileceğini ve β -katenin birikimine yol açabileceğini, bunun sonucunda da nazofarengal karsinoma hücrelerinin proliferasyonunu artırabileceğini ve RT etkinliğini zayıflatabileceğini göstermiştir¹⁴². Sonucumuz bu çalışma ile paralellik göstermektedir.

Ağız hijyeni kötü olan OSHK hastalarımızda CTNNB1 rs3864004 GG genotipi anlamlı şekilde daha az bulunmuştur. Çalışmalarda, kötü ağız hijyeni OSHK'nin gelişme olasılığı ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu tespit edilmiştir¹⁵².

Çalışmamızda FA hastalarında CTNNB1 rs3864004 G alel frekansı kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu durumda FA hastalarında OSHK gelişme olasılığının kontrollere göre daha yüksek olabileceği söylenebilir.

Çalışmamızda OSHK geliştiren FA hastalarında ise; EGFR rs845561 varyantı T allel frekansı yüksek saptanmıştır, bu durumda T alleli taşıyan FA'li bireylerinin OSHK gelişme risklerinin yüksek olabileceğini söyleyebiliriz. FA hastalarında OSHK insidansı yüksektir ancak bu hastalarda kanser gelişimi ile ilişkili genlerin varyantlarına ait çalışmalar yok denecek kadar azdır. FA hastalarında EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 gen varyantlarının OSHK gelişimi üzerindeki etkisine dair ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak, EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 gen varyantlarının OSHK gelişiminde, tümör invazyonu ve tedaviye yanıt verme ile anlamlı derecede ilişkili oldukları gözlenmiştir. EGFR rs845561 ve CTNNB1 rs3864004 gen varyantlarının OSHK evresinin izlenmesi ve hastalık prognozu açısından prognostik bir belirteç olarak değerlendirilebileceği ancak daha fazla çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKÇA

1. April S. Oral Squamous Cell Carcinoma , a growing problem. The Journal of the Dental Association of South Africa. 2018;**73**(3):127–130.
2. Kook H. Fanconi anemia: Current management. Hematology. 2005;**10**:108–110.
3. Jiang X, Wu J, Wang J, Huang R. Tobacco and oral squamous cell carcinoma: A review of carcinogenic pathways. Tob Induc Dis. 2019;17.
4. Somarriva C, Fernández A, Candia J, Campos J, Albers D, Briceño J. Dysregulation and detection methods of EGFR in oral cancer. A narrative review. J Oral Res. 2016;**5**(7):285–292.
5. Gao C, Wang Y, Broaddus R, Sun L, Xue F, Zhang W. Exon 3 mutations of CTNNB1 drive tumorigenesis: A review. Oncotarget. 2018;**9**(4):5492–5508.
6. Mattavelli D, Lombardi D, Missale F, vd. Prognostic nomograms in oral squamous cell carcinoma: the negative impact of low neutrophil to lymphocyte ratio. Front Oncol. 2019;**9**:339.
7. Feller L, Lemmer J. Oral Squamous Cell Carcinoma : Epidemiology , Clinical Presentation and Treatment. 2015;
8. Polz-Gruszka D, Macielag P, Foltyn S, Polz-Dacewicz M. Oral squamous cell carcinoma (OSCC)-molecular, viral and bacterial concepts. J Pre-Clinical Clin Res. 2014;**8**(2).
9. Tandon P, Dadhich A, Saluja H, Bawane S, Sachdeva S. The prevalence of squamous cell carcinoma in different sites of oral cavity at our Rural Health Care Centre in Loni, Maharashtra—a retrospective 10-year study. Contemp Oncol. 2017;**21**(2):178.
10. World Health Organization; 2018.
11. Manikandan M, Kuha A, Magendhra D, vd. Oral squamous cell carcinoma : microRNA expression profiling and integrative analyses for elucidation of tumorigenesis mechanism. Mol Cancer. 2016.
12. Wu F, Shi X, Zhang R, vd. Regulation of proliferation and cell cycle by protein regulator of cytokinesis 1 in oral squamous cell carcinoma. Cell Death Dis.

- 2018;**9**(5):1–12.
13. Su W, Wang Y, Wang F, vd. Hsa_circ_0005379 regulates malignant behavior of oral squamous cell carcinoma through the EGFR pathway. *BMC Cancer*. 2019;**19**(1):1–13.
 14. Xu G, Wei J, Huangfua B, vd. Role of Chemokine and TNF signaling pathway in oral squamous cell carcinoma: A RNA deep sequencing analysis of oral buccal mucosa squamous carcinoma model of Chinese hamster. *bioRxiv*. 2019:778399.
 15. Vargas-Ferreira F, Nedel F, Etges A, Gomes APN, Furuse C, Tarquinio SBC. Etiologic factors associated with oral squamous cell carcinoma in non-smokers and non-alcoholic drinkers: a brief approach. *Braz Dent J*. 2012;**23**(5):586–590.
 16. Bolesina N, Femopase FL, de Blanc SAL, Morelatto RA, Olmos MA. Oral squamous cell carcinoma clinical aspects. İçinde: *Oral Cancer*. IntechOpen; 2012.
 17. Warnakulasuriya S, Sutherland G, Scully C. Tobacco, oral cancer, and treatment of dependence. *Oral Oncol*. 2005;**41**(3):244–260.
 18. Ahmadi-Motamayel F, Falsafi P, Hayati Z, Rezaei F, Poorolajal J. Prevalence of oral mucosal lesions in male smokers and nonsmokers. *Chonnam Med J*. 2013;**49**(2):65–68.
 19. Schwartz SM, Doody DR, Fitzgibbons ED, Ricks S, Porter PL, Chen C. Oral squamous cell cancer risk in relation to alcohol consumption and alcohol dehydrogenase-3 genotypes. *Cancer Epidemiol Prev Biomarkers*. 2001;**10**(11):1137–1144.
 20. Feller L, Chandran R, Khammissa RAG, Meyerov R, Lemmer J. Alcohol and oral squamous cell carcinoma: clinical review. *South African Dent J*. 2013;**68**(4):176–180.
 21. Huang W-Y, Winn DM, Brown LM, vd. Alcohol concentration and risk of oral cancer in Puerto Rico. *Am J Epidemiol*. 2003;**157**(10):881–887.
 22. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, vd. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res*. 1988;**48**(11):3282–3287.
 23. Lopes CFB, de Angelis BB, Prudente HM, de Souza BVG, Cardoso SV, de

- Azambuja Ribeiro RIM. Concomitant consumption of marijuana, alcohol and tobacco in oral squamous cell carcinoma development and progression: recent advances and challenges. *Arch Oral Biol.* 2012;**57**(8):1026–1033.
24. Metgud R, Astekar M, Verma M, Sharma A. Role of viruses in oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rev.* 2012;**6**(2).
 25. Jiang S, Dong Y. Human papillomavirus and oral squamous cell carcinoma: A review of HPV-positive oral squamous cell carcinoma and possible strategies for future. *Curr Probl Cancer.* 2017;**41**(5):323–327.
 26. Götz C, Drecoll E, Straub M, Bissinger O, Wolff K-D, Kolk A. Impact of HPV infection on oral squamous cell carcinoma. *Oncotarget.* 2016;**7**(47):76704.
 27. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Prev Biomarkers.* 2005;**14**(2):467–475.
 28. Zhang Z-Y, Sdek P, Cao J, Chen W-T. Human papillomavirus type 16 and 18 DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;**33**(1):71–74.
 29. Luo C-W, Roan C-H, Liu C-J. Human papillomaviruses in oral squamous cell carcinoma and pre-cancerous lesions detected by PCR-based gene-chip array. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007;**36**(2):153–158.
 30. Asio J, Kamulegeya A, Banura C. Survival and associated factors among patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC) in Mulago hospital, Kampala, Uganda. *Cancers Head Neck.* 2018;**3**(1):9.
 31. Woods RSR, O'Regan EM, Kennedy S, Martin C, O'Leary JJ, Timon C. Role of human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinoma: A review. *World J Clin Cases WJCC.* 2014;**2**(6):172.
 32. Gillison ML, Broutian T, Pickard RKL, vd. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *Jama.* 2012;**307**(7):693–703.
 33. Zierhut HA, Tryon R, Sanborn EM. Genetic counseling for Fanconi anemia: crosslinking disciplines. *J Genet Couns.* 2014;**23**(6):910–921.
 34. Trizna Z, Schantz SP. Hereditary and environmental factors associated with risk

- and progression of head and neck cancer. *Otolaryngol Clin North Am*. 1992;**25**(5):1089–1103.
35. Jefferies S, Eeles R, Goldgar D, vd. The role of genetic factors in predisposition to squamous cell cancer of the head and neck. *Br J Cancer*. 1999;**79**(5–6):865.
 36. Mehrotra R, Yadav S. Oral squamous cell carcinoma: etiology, pathogenesis and prognostic value of genomic alterations. *Indian J Cancer*. 2006;**43**(2):60.
 37. Chandra A, Sebastian BT, Agnihotri A. Oral Squamous Cell Carcinoma Pathogenesis and Role of p53 Protein. *cell Prolif*. 2013;**2**:4.
 38. Rivera C, Venegas B. Histological and molecular aspects of oral squamous cell carcinoma. *Oncol Lett*. 2014;**8**(1):7–11.
 39. Choi S, Myers JN. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy. *J Dent Res*. 2008;**87**(1):14–32.
 40. Makarev E, Schubert AD, Kanherkar RR, vd. In silico analysis of pathways activation landscape in oral squamous cell carcinoma and oral leukoplakia. *Cell death Discov*. 2017;**3**(1):1–7.
 41. National cancer institute.2015
 42. Haksever M. Oral kavite kanserlerinde evreleme, prognostik faktörler ve evreleme sistemi üzerine değerlendirmeler. *Kocatepe Tıp Derg*. 2013;**14**(2):109–117.
 43. Han AY, Kuan EC, Mallen-St Clair J, Alonso JE, Arshi A, St John MA. Epidemiology of squamous cell carcinoma of the lip in the United States: a population-based cohort analysis. *JAMA Otolaryngol Neck Surg*. 2016;**142**(12):1216–1223.
 44. Duzgun S, Ünlü E, Pekdemir I, Yilanci S. Management of squamous cell carcinoma of the lower lip: Analysis of five years' experience (78 patients) and review of the literature. *İçinde: KBB-Forum*. 2013:26–31.
 45. Tandon A, Bordoloi B, Jaiswal R, Srivastava A, Singh RB, Shafique U. Demographic and clinicopathological profile of oral squamous cell carcinoma patients of North India: A retrospective institutional study. *SRM J Res Dent Sci*. 2018;**9**(3):114.

46. Omura K. Current status of oral cancer treatment strategies: surgical treatments for oral squamous cell carcinoma. *Int J Clin Oncol*. 2014;**19**(3):423–430.
47. Carreras-Torras C, Gay-Escoda C. Techniques for early diagnosis of oral squamous cell carcinoma: Systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015;**20**(3):e305.
48. Singh J. Histopathology of oral squamous cell carcinoma-A review. *TMU J Dent*. 2014;**1**(4):141–144.
49. Smitha T, Mohan C V, Hemavathy S. Clinicopathological features of oral squamous cell carcinoma: A hospital-based retrospective study. *J Dr NTR Univ Heal Sci*. 2017;**6**(1):29.
50. Dissanayaka WL, Pitiyage G, Kumarasiri PVR, Liyanage RLPR, Dias KD, Tilakaratne WM. Clinical and histopathologic parameters in survival of oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;**113**(4):518–525.
51. Mesquita JA, Cavalvanti AL, Nonaka CFW, Godoy GP, Alves PM. Clinical and histopathological evidence of oral squamous cell carcinoma in young patients: systematized review. *J Bras Patol e Med Lab*. 2014;**50**(1):67–74.
52. Domenico C, Melissa L, Marco R, Adelchi C. TNM classification of the oral cavity carcinomas: some suggested modification. *Index copernicus Int*. 2015;**69**(4):18–27.
53. Gharat SA, Momin M, Bhavsar C. Oral squamous cell carcinoma: current treatment strategies and nanotechnology-based approaches for prevention and therapy. *Crit Rev Ther Drug Carr Syst*. 2016;**33**(4).
54. Janotha BL, Tamari K. Oral squamous cell carcinoma. *Nurse Pract*. 2017;**42**(4):26–30.
55. Patel SC, Carpenter WR, Tyree S, vd. Increasing incidence of oral tongue squamous cell carcinoma in young white women, age 18 to 44 years. *J Clin Oncol*. 2011;**29**(11):1488–1494.
56. Huang J, Barbera L, Brouwers M, Browman G, Mackillop WJ. Does delay in starting treatment affect the outcomes of radiotherapy? A systematic review. *J*

- Clin Oncol. 2003;**21**(3):555–563.
57. Li L, Liu H-C, Wang C, vd. Overexpression of β -catenin induces cisplatin resistance in oral squamous cell carcinoma. Biomed Res Int. 2016.
 58. Markopoulos AK. Current Aspects on Oral Squamous Cell Carcinoma. Open Dent J. 2012;**6**:126–130.
 59. Yazicioğlu MBI, Ceylaner B, Turna S, Kaşıkçı H. Kanserde Hedefe Yönelik Monoklonal Antikor Tedavisi Targeted Monoclonal Antibody Therapy in Cancer. Haliç Üniversitesi Fen Bilim Derg. 2018;**1**:131–142.
 60. Secretariat MA. Epidermal growth factor receptor mutation (EGFR) testing for prediction of response to EGFR-targeting tyrosine kinase inhibitor (TKI) drugs in patients with advanced non-small-cell lung cancer: an evidence-based analysis. Ont Health Technol Assess Ser. 2010;**10**(24):1.
 61. John T, Liu G, Tsao MS. Overview of molecular testing in non-small-cell lung cancer: mutational analysis, gene copy number, protein expression and other biomarkers of EGFR for the prediction of response to tyrosine kinase inhibitors. Oncogene. 2009;**28**(1):S14–S23.
 62. Mendelsohn J, Baselga J. Epidermal growth factor receptor targeting in cancer. İçinde: Seminars in oncology. 2006:369–385.
 63. Bissinger O, Kolk A, Drecol E, vd. EGFR and Cortactin: Markers for potential double target therapy in oral squamous cell carcinoma. Exp Ther Med. 2017;**14**(5):4620–4626.
 64. Johnson DE. Targeting proliferation and survival pthways in head and neck cancer for therapeutic benefit. Chinese J Canser. 2012;**31**(7):319–326.
 65. Chen IH, Chang JT, Liao CT, Wang HM, Hsieh LL, Cheng AJ. Prognostic significance of EGFR and Her-2 in oral cavity cancer in betel quid prevalent area. Br J Cancer. 2003;**89**(4):681–686.
 66. Soulieres D, Senzer NN, Vokes EE, Hidalgo M, Agarwala SS, Siu LL. Multicenter phase II study of erlotinib, an oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with recurrent or metastatic squamous cell cancer of the head and neck. J Clin Oncol. 2004;**22**(1):77–85.

67. Ribeiro FAP, Noguti J, Oshima CTF, Ribeiro DA. Effective targeting of the epidermal growth factor receptor (EGFR) for treating oral cancer: a promising approach. *Anticancer Res.* 2014;**34**(4):1547–1552.
68. Li L, Liu HC, Wang C, vd. Overexpression of β -Catenin Induces Cisplatin Resistance in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Biomed Res Int.* 2016:11.
69. Marsh D, Suchak K, Moutasim KA, vd. Stromal features are predictive of disease mortality in oral cancer patients. *J Pathol.* 2011;**223**(4):470–481.
70. Dumitriu B, Young NS. Damage control and its costs: BM failure in Fanconi anemia stems from overactive p53/p21. *Cell Stem Cell.* 2012;**11**(1):7–8.
71. S G, Montgomery-Cranny J, Hunter KD, Yousefpour A, Durham L HA. Oral squamous cell carcinoma in patients with Fanconi anemia: A case series. *J Case Reports Images Dent.* 2016;**2**:42–46.
72. M D Tischkowitz SVH. Fanconi anaemia. *www.jmedgenet.com.* 2003:1–10.
73. Mehta PA, Tolar J. Fanconi Anemia Summary Genetic counseling. *Gene Reviews.* 2018
74. TPHD Kemik İliği Yetersizliği Sempozyumu. http://www.tphd.org.tr/wp-content/uploads/2017/11/fatma_gumruk.pdf. 2008.
75. Taniguchi T, D’Andrea AD. Molecular pathogenesis of Fanconi anemia: Recent progress. *Blood.* 2006;**107**(11):4223–4233.
76. Balta G, Gümrük F, Altay Ç. Fankoni anemisinin genetik ve moleküler temelleri: Meme kanseri (BRCA1, BRCA2) ve ataksi telanjektazi yolaklariyla buluşan ilginç birçok genli hastalık modeli. *Cocuk Sagligi ve Hast Derg.* 2003;**46**(4):308–316.
77. Kee Y, D’Andrea AD. Molecular pathogenesis and clinical management of Fanconi anemia. *J Clin Invest.* 2012;**122**(11):3799–3806.
78. Niraj J, Farkkil A, D’Andrea AD. The Fanconi Anemia Pathway in Cancer. *Annu Rev Cancer Biol.* 2019;**3**(1):457–478.
79. Sumpter R, Levine B. Emerging functions of the Fanconi anemia pathway at a glance. *J Cell Sci.* 2017;**130**(16):2657–2662.

80. Kupfer GM. Fanconi anemia: A signal transduction and DNA repair pathway. *Yale J Biol Med*. 2013;**86**(4):491–497.
81. Esmer C, Sánchez S, Ramos S, Molina B, Frias S, Carnevale A. DEB Test for Fanconi Anemia Detection in Patients with Atypical Phenotypes. *Am J Med Genet*. 2004;**124** A(1):35–39.
82. Ebens CL, Macmillan ML, Wagner JE. Hematopoietic Cell Transplantation In Fanconi Anemia: Current Evidence, Challenges And Recommendations. 2018;**10**(1):81–97.
83. Anak S, Yalman N, Bilgen H, vd. Squamous cell carcinoma development in Fanconi anemia patients who underwent hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant*. 2020:1–5.
84. Drobyski WR. Evolving strategies to address adverse transplant outcomes associated with T cell depletion. *J Hematother Stem Cell Res*. 2000;**9**(3):327–337.
85. Bitan M, Or R, Shapira MY, vd. Fludarabine-based reduced intensity conditioning for stem cell transplantation of Fanconi anemia patients from fully matched related and unrelated donors. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006;**12**(7):712–718.
86. K. Schethenbach, M. Wagenmann, M. Freund, J. Schipper and HH. Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck in Fanconi Anemia: Risk, Prevention, Therapy, and the Need for Guidelines. *NIH Public Access*. 2012;**224**(3):132–138.
87. Frohnmayer D, Frohnmayer L, Guinan E, Kennedy T, Larsen K. Fanconi Anemia: Guidelines for Diagnosis and Management. 4th ed.; 2014.
88. Romick-Rosendale LE, Lui VWY, Grandis JR, Wells SI. The Fanconi anemia pathway: repairing the link between DNA damage and squamous cell carcinoma. *Mutat Res Mol Mech Mutagen*. 2013;**743**:78–88.
89. David I. Kutler, Arleen D. Auerbach, Jaya Satagopan, Philip F. Giampietro, Sat Dev Batish, Andrew G. Huvos, Andy Goberdhan, BS; Jatin P. Shah, Bhuvanesh Singh M, Background: High Incidence of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in Patients With Fanconi Anemia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*.

2003;**129**:106–112.

90. Navabazam A, Forat Yazdi M, Keyhan SO, Ghanean S, Amirzade-Iranag MH. Squamous Cell Carcinoma Companionship With Fanconi Anemia: Rare Situation or Increasing Hazard. *J Oral Maxillofac Surgery, Med Pathol.* 2017;**29**(5):443–447.
91. Furquim CP, Pivovar A, Amenábar JM, Bon C, Torres-pereira CC. Critical Reviews in Oncology / Hematology Oral cancer in Fanconi anemia : Review of 121 cases. *Oncology/Hematology.* 2018;**125**:35–40.
92. Velleuer E, Dietrich R. Fanconi anemia: young patients at high risk for squamous cell carcinoma. *Mol Cell Pediatr.* 2014;**1**(1):1–6.
93. Kennedy AW, Hart WR. Multiple squamous-cell carcinomas in Fanconi's anemia. *Cancer.* 1982;**50**(4):811–814.
94. Talhout R, Schulz T, Florek E, Van Benthem J, Wester P, Opperhuizen A. Hazardous compounds in tobacco smoke. *Int J Environ Res Public Health.* 2011;**8**(2):613–628.
95. West KA, Brognard J, Clark AS, vd. Rapid Akt activation by nicotine and a tobacco carcinogen modulates the phenotype of normal human airway epithelial cells. *J Clin Invest.* 2003;**111**(1):81–90.
96. Sağlam L. Nikotin Bağımlılığının Klinik Değerlendirilmesi. *Güncel Göğüs Hast Serisi.* 2017;**4**(1):78–89.
97. Mesude Erşan. Hurriyet Daily news. <https://www.hurriyetdailynews.com/14-5-million-adults-252-000-children-smoke-in-turkey-data-142681>.
98. Multania S, Saranath D. Single nucleotide polymorphisms and risk of oral cancer: Indian case-control study. *J Clin Cell Immunol.* 2016;**7**(448):2.
99. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson genetics in medicine e-book. Elsevier Health Sciences; 2015.
100. Multania S, Saranath D. Single Nucleotide Polymorphisms and Risk of Oral Cancer: Indian Case-Control Study. *J Clin Cell Immunol.* 2016;**7**(4):1–5.
101. Chou C-H, Chou Y-E, Chuang C-Y, Yang S-F, Lin C-W. Combined effect of

- genetic polymorphisms of AURKA and environmental factors on oral cancer development in Taiwan. *PLoS One*. 2017;**12**(2):e0171583.
102. Yang W-H, Wang S-J, Chang Y-S, Su C-M, Yang S-F, Tang C-H. Association of resistin gene polymorphisms with oral squamous cell carcinoma progression and development. *Biomed Res Int*. 2018.
 103. Liu M, Song H, Xing Z, Lu G, Li J, Chen D. Correlation between PTEN gene polymorphism and oral squamous cell carcinoma. *Oncol Lett*. 2019:1755–1760.
 104. Kucukhuseyin O, Kayhan KB, Unur M, Aydogan HY. Investigation Between MTHFR A1298C polymorphism and Oral Squamous Cell Carcinoma Risk in Turkish Population. *Experimed*. 9(2):44–52.
 105. Mahesh Sultania DMMK. Role of EGFR and Her-2 Expression in Oral Cancer. *ACTA Sci CANCER Biol*. 2019;**3**(1):29–31.
 106. Gül Fatma YARIM FK. Epidermal Büyüme Faktörü. *Kocatepe Vet J*. 2016;**9**(3):215–225.
 107. Anonim. <https://www.genecards.org>
 108. Wee P, Wang Z. Epidermal growth factor receptor cell proliferation signaling pathways. *Cancers (Basel)*. 2017;**9**(5):1–45.
 109. Pinilla-Macua I, Grassart A, Duvvuri U, Watkins SC, Sorkin A. EGF receptor signaling, phosphorylation, ubiquitylation and endocytosis in tumors in vivo. *Elife*. 2017;**6**:e31993.
 110. Ardito F, Giuliani M, Perrone D, Troiano G, Lo Muzio L. The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy. *Int J Mol Med*. 2017;**40**(2):271–280.
 111. Amri AM Al, Cyrus C, Ali Z Al, Al-ali AK. Tyrosine kinase domain mutations of EGFR gene in head and neck squamous cell carcinoma. *Onco Targets Ther*. 2017;**10**:1527–1533.
 112. Boeckx, C., Baay, M., Wouters, A., Specenier, P., Vermorken, J. B., Peeters, M., Lardon F. Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Therapy in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Focus on Potential Molecular Mechanisms of Drug Resistance. *Oncologist*. 2013;0031(0):1051–1062.

113. Kimura I, Kitahara H, Ooi K, vd. Loss of epidermal growth factor receptor expression in oral squamous cell carcinoma is associated with invasiveness and epithelial-mesenchymal transition. *Oncol Lett.* 2016;**11**(1):201–207.
114. Bernardes VF, Gleber-Netto FO, De Sousa SF, Rocha RM, De Aguiar MCF. EGFR status in oral squamous cell carcinoma: Comparing immunohistochemistry, FISH and CISH detection in a case series study. *BMJ Open Access.* 2013;**3**(1).
115. Costa V, Kowalski LP, Coutinho-Camillo CM, vd. EGFR amplification and expression in oral squamous cell carcinoma in young adults. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018;**47**(7):817–823.
116. Sasaki T, Hiroki K, Yamashita Y. The Role of Epidermal Growth Factor Receptor in Cancer Metastasis and Microenvironment. *Biomed Res Int.* 2013:8.
117. Perisanidis C. Prevalence of EGFR tyrosine kinase domain mutations in head and neck squamous cell carcinoma: cohort study and systematic review. *In Vivo (Brooklyn).* 2017;**31**(1):23–34.
118. Mirza Y, Ali SMA, Awan MS, vd. Overexpression of EGFR in oral premalignant lesions and OSCC and its impact on survival and recurrence. *Oncomedicine.* 2012.
119. Ettinger DS. Clinical Implications of EGFR Expression in the Development and Progression of Solid Tumors: Focus on Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncol lung cancer.* 2006:358–373.
120. Sarkis SA, Abdullah BH, Majeed BAA, Talabani NG. Immunohistochemical expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in oral squamous cell carcinoma in relation to proliferation, apoptosis, angiogenesis and lymphangiogenesis. *Head Neck Oncol.* 2010;**2**(13):1–8.
121. Ang KK, Berkey BA, Tu X, vd. Impact of Epidermal Growth Factor Receptor Expression on Survival and Pattern of Relapse in Patients with Advanced Head and Neck Carcinoma 1. *Cancer Res.* 2002;**62**(713):7350–7356.
122. Su N-W, Leu Y-S, Lee J-C, vd. EGF and EGFR genetic polymorphisms predict prognosis in locally advanced pharyngolaryngeal squamous cell carcinoma

- patients receiving postoperative concurrent chemoradiotherapy. *Onco Targets Ther.* 2014;**7**:2197.
123. Zhang W, Stabile LP, Keohavong P, vd. Mutation and polymorphism in the EGFR-TK domain associated with lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2006;**1**(7):635–647.
 124. Jou Y-S, Lo Y-L, Hsiao C-F, vd. Association of an EGFR intron 1 SNP with never-smoking female lung adenocarcinoma patients. *Lung Cancer.* 2009;**64**(3):251–256.
 125. Dong LM, Brennan P, Karami S, vd. An analysis of growth, differentiation and apoptosis genes with risk of renal cancer. *PLoS One.* 2009;**4**(3):e4895.
 126. Feng X, Qin J-J, Zheng B-S, Huang L-L, Xie X-Y, Zhou H-F. Association of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene polymorphism with lung cancer risk: A systematic review. *J Recept Signal Transduct.* 2014;**34**(5):333–334.
 127. Christopher Funga, Pei Zhoua, Sonali Joycea, Kerry Trentb, Jian-Min Yuanb, Jennifer R. Grandisa, Joel L. Weissfelddb, Marjorie Romkesd, Daniel E. Weekse AME. Identification of epidermal growth factor receptor (EGFR) genetic variants that modify risk for head and neck squamous cell carcinoma. NIH Public Access. 2016;**357**(2):549–556.
 128. Sherry ST, Ward M-H, Kholodov M, vd. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.* 2001;**29**(1):308–311.
 129. Yates AD, Achuthan P, Akanni W, vd. Ensembl 2020. *Nucleic Acids Res.* 2020;**48**(D1):D682–D688.
 130. Tanabe S, Kawabata T, Aoyagi K, Yokozaki H, Sasaki H. Gene expression and pathway analysis of CTNNB1 in cancer and stem cells. 2016;**8**(11):384–395.
 131. Anonim. <https://www.genecards.org>
 132. Hur J, Jeong S. Multitasking β -catenin: from adhesion and transcription to RNA regulation. *Animal Cells Syst (Seoul).* 2013;**17**(5):299–305.
 133. Bienz M. β -Catenin: a pivot between cell adhesion and Wnt signalling. *Curr Biol.* 2005;**15**(2).

134. Shang S, Hua F, Hu Z-W. The regulation of β -catenin activity and function in cancer: therapeutic opportunities. *Oncotarget*. 2017;**8**(20).
135. Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene*. 2017;**36**(11):1461–1473.
136. Sun W, Xiao X, Li S, Jia X, Wang P, Zhang Q. Germline mutations in CTNNB1 associated with syndromic FEVR or Norrie disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;**60**(1):93–97.
137. Liu F, Millar SE. Wnt/ β -catenin signaling in oral tissue development and disease. *J Dent Res*. 2010;**89**(4):318–330.
138. Rebouissou S, Franconi A, Calderaro J, vd. Genotype-phenotype correlation of CTNNB1 mutations reveals different β -catenin activity associated with liver tumor progression. *Hepatology*. 2016;**64**(6):2047–2061.
139. Anastas JN, Moon RT. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013;**13**(1):11–26.
140. Rosa M, Han HS, Ismail-Khan R, Allam-Nandyala P, Bui MM. Beta-catenin expression patterns in matched pre- and post-neoadjuvant chemotherapy-resistant breast cancer. *Ann Clin Lab Sci*. 2015;**45**(1):10–16.
141. Yu J, Huang Y, Liu L, vd. Genetic polymorphisms of Wnt/ β -catenin pathway genes are associated with the efficacy and toxicities of radiotherapy in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget*. 2016;**7**(50):82528.
142. Sun S, Jung H, Lee H, vd. Genetic polymorphisms in the Wnt / β -catenin pathway genes as predictors of tumor development and survival in patients with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Clin Biochem*. 2016;**49**(10–11):792–801.
143. Cakır S. <https://www.türkiyesigarainsidans.2017>
144. Hernandez-Guerrero JC, Jacinto-Aleman LF, Jiménez-Farfán MD, Macario-Hernández A, Hernández-Flores F, Alcántara-Vázquez A. Prevalence trends of oral squamous cell carcinoma. Mexico City's General Hospital experience. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;**18**(2):306.
145. Mandali G, Sener ID, Turker SB, Ülgen H. Factors affecting the distribution and

- prevalence of oral mucosal lesions in complete denture wearers. *Gerodontology*. 2011;28(2):97–103.
146. Wan X, Li X, Yang J, vd. Genetic association between PIK3CA gene and oral squamous cell carcinoma: a case control study conducted in Chongqing, China. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(10):13360.
 147. Jerjes W, Upile T, Petrie A, vd. Clinicopathological parameters, recurrence, locoregional and distant metastasis in 115 T1-T2 oral squamous cell carcinoma patients. *Head Neck Oncol*. 2010;2(1):9.
 148. Bhat MY, Advani J, Pavithra R, vd. Cigarette smoke and chewing tobacco alter expression of different sets of miRNAs in oral keratinocytes. 2017:1–13.
 149. Almirall J, Serra-Prat M, Bolívar I, vd. Passive smoking at home is a risk factor for community-acquired pneumonia in older adults: a population-based case–control study. *BMJ Open*. 2014;4(6).
 150. Zhang Y, Wang R, Miao L, Zhu L, Jiang H, Yuan H. Different levels in alcohol and tobacco consumption in head and neck cancer patients from 1957 to 2013. *PLoS One*. 2015;10(4):1–13.
 151. Schantz SP, Byers RM, Goepfert H, Shallenberger RC, Beddingfield N. The implication of tobacco use in the young adult with head and neck cancer. *Cancer*. 1988;62(7):1374–1380.
 152. Mathur R, Singhavi HR, Malik A, Nair S, Chaturvedi P. Role of poor oral hygiene in causation of oral cancer—a review of literature. *Indian J Surg Oncol*. 2019;10(1):184–195.
 153. dos Santos Costa SF, Brennan PA, Gomez RS, vd. Molecular basis of oral squamous cell carcinoma in young patients: Is it any different from older patients. *J Oral Pathol Med*. 2018;47(6):541–546.
 154. Abram TJ, Pickering CR, Lang AK, vd. Risk stratification of oral potentially malignant disorders in Fanconi anemia patients using autofluorescence imaging and cytology-on-a chip assay. *Transl Oncol*. 2018;11(2):477–486.
 155. Rosenberg PS, Socie G, Alter BP, Gluckman E. Risk of head and neck squamous cell cancer and death in patients with Fanconi anemia who did and did not

- receive transplants. *Blood*. 2005;**105**(1):67–73.
156. Leu Y, Lee J, Cheng C, Lin J, Chen Y, Chen C. EGF and EGFR genetic polymorphisms predict prognosis in locally advanced pharyngolaryngeal squamous cell carcinoma patients receiving postoperative concurrent chemoradiotherapy. 2014:2197–2204.
 157. Connor AE, Baumgartner RN, Baumgartner KB, vd. Epidermal growth factor receptor (EGFR) polymorphisms and breast cancer among Hispanic and non-Hispanic white women: the Breast Cancer Health Disparities Study. *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2013;**4**(4):235.
 158. Jin T, Yu C-X, Jin T, vd. Identification of epidermal growth factor receptor (EGFR) exon 20 single nucleotide polymorphism in Chinese squamous cell carcinoma of head and neck (SCCHN). *Acta Otolaryngol*. 2009;**129**(11):1306–1312.
 159. Rahima B, Shingaki S, Nagata M, Saito C. Prognostic significance of perineural invasion in oral and oropharyngeal carcinoma. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2004;**97**(4):423–431.
 160. Scully C, Bagan J. Oral squamous cell carcinoma overview. *Oral Oncol*. 2009;**45**(4/5):301–308.
 161. Brooks RA, Tritchler DS, Darcy KM, vd. GOG 8020/210: Risk stratification of lymph node metastasis, disease progression and survival using single nucleotide polymorphisms in endometrial cancer: An NRG oncology/gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol*. 2019;**153**(2):335–342.
 162. Paez D, Gerger A, Zhang W, vd. Association of common gene variants in the WNT/ β -catenin pathway with colon cancer recurrence. *Pharmacogenomics J*. 2014;**14**(2):142–150.
 163. Li Q, Zhang F, Li Y, Xian Q, Zhang Y, Li P. Influence of polymorphisms in the Wnt/ β -catenin pathway genes on hepatocellular carcinoma risk in a Chinese Han population. *Medicine (Baltimore)*. 2017;**6127**(12):1–5.
 164. Caldeira PC, Soto AML, de Aguiar MCF, Martins CC. Tumor depth of invasion and prognosis of early-stage oral squamous cell carcinoma: A meta-analysis. *Oral*

Dis. 2019.

165. CAI Zhi-gang, SHI Xiao-jian, GAO Yan, WEI Ming-jie WC and YG. β -catenin expression pattern in primary oral squamous cell carcinoma. Chin Med J. 2013;**121**(19):1866–1870.



FORMLAR

1. ORAL SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMA HASTA TAKİP FORMU

Adı: Cinsiyet: Kadın ☐ Erkek ☐

Soyadı:

Tedavi Gördüğü Merkez:

Doğum Tarihi:

Telefon:

Adres:

Memleket:

Medeni Durum: Evli ☐ Bekar ☐ Çocuk Sayısı:

Sigara Kullanımı: Evet ☐ Hayır ☐ Günde paket sigara içiyorum.

Alkol Kullanımı: Evet ☐ Hayır ☐ Haftalık Alkol Kullanım Sıklığı:

Herhangi başka bir hastalığınız var mı? Diabet ☐ Hipertansiyon ☐ Kalp Hastalığı ☐

Sarılık (Hepatit) ☐ KOAH ☐ Bunların dışındaysa lütfen belirtiniz:

Daha önce geçirdiğiniz bir hastalık var mı? (Varsa yazınız):

Devamlı kullandığınız bir ilaç var mı? (Varsa yazınız):

Ailede kanser var mı? Evet ☐ Hayır ☐

1.derece akrabalarda (Anne, baba, kardeş, çocuk) kanser varsa hastanın yakınlık derecesi:

2.derece akrabalarda (Dayı, teyze, amca, hala, kuzen) kanser varsa hastanın yakınlık derecesi:

Hasta akrabanız tedavi oldu mu? Evet ☐ Hayır ☐ Yaşıyor mu? Evet ☐ Hayır ☐

Dişlerinizi günde kaç kez fırçalıyorsunuz? 1 ☐ 2 ☐ 3 ve üzeri ☐ Fırçalamıyorum ☐

Yılda Kaç Defa Diş Muayenesine Gidersiniz? 1 ☐ 2 ☐ 3 ve üzeri ☐ Gitmiyorum ☐

Ağız içinde yara v.b. sağlık probleminiz var mı? Evet ☐ Hayır ☐

Uçuk geçirdiniz mi? Evet ☐ Hayır ☐

OSHK HASTA KLİNİK/PATOLOJİK BULGULAR

Adı-Soyadı:

Özgeçmiş:

Soygeçmiş:

Şikâyeti:

Hikayesi:

Fizik Muayene:

Primer Tümör Bölgesi: Oral Kavite-Orofarenks

Sağ



Sol

T Evrelemesi: T1 ☐ T2 ☐ T3 ☐ T4 ☐

N Evrelemesi: N0 ☐ N1 ☐ N2 ☐ N3 ☐

Lenf Nodu Metastazı: Pozitif ☐ Negatif ☐

Tümör Evresi: I ☐ II ☐ III ☐ IV ☐

Patoloji Tümör Diferensiyasyonu: İyi ☐ Orta ☐ Zayıf ☐

Cerrahi Tedavi:

Tarih:

Kemoterapi:

Başlangıç ve Bitiş Tarihi:

Adjuvan Tedavi:

Başlangıç ve Bitiş Tarihi:

2. FANKONİ ANEMİ HASTA TAKİP FORMU

Adı: Cinsiyet: Kadın ☐ Erkek ☐

Soyadı: Yaş:

Tedavi Gördüğünüz Merkez:

Doğum Tarihi:

Telefon:

Adres:

Memleket:

Medeni Durum: Evli ☐ Bekar ☐ Çocuk Sayısı:

Sigara Kullanımı: Evet ☐ Hayır ☐ Günde paket sigara içiyorum.

Alkol Kullanımı: Evet ☐ Hayır ☐ Haftalık Alkol Kullanım Sıklığı:

Herhangi başka bir hastalığınız var mı? Diabet ☐ Hipertansiyon ☐ Kalp Hastalığı ☐

Sarılık (Hepatit) ☐ KOAH ☐ Bunların dışındaysa lütfen belirtiniz:

Daha önce geçirdiğiniz bir hastalık var mı? (Varsa yazınız):

Devamlı kullandığınız bir ilaç var mı? (Varsa yazınız):

Ailede kanser var mı? Evet ☐ Hayır ☐

1.derece akrabalarda (Anne, baba, kardeş, çocuk) kanser varsa hastanın yakınlık derecesi:

2.derece akrabalarda (Dayı, teyze, amca, hala, kuzen) kanser varsa hastanın yakınlık derecesi:

Hasta akrabanız tedavi oldu mu? Evet ☐ Hayır ☐ Yaşıyor mu? Evet ☐ Hayır ☐

Dişlerinizi günde kaç kez fırçalıyorsunuz? 1 ☐ 2 ☐ 3 ve üzeri ☐ Fırçalamıyorum ☐

Yılda Kaç Defa Diş Muayenesine Gidersiniz? 1 ☐ 2 ☐ 3 ve üzeri ☐ Gitmiyorum ☐

Ağız içinde yara v.b. sağlık probleminiz var mı? Evet ☐ Hayır ☐

Uçuk geçirdiniz mi? Evet ☐ Hayır ☐

Tedavi Gördüğü Merkez:

Yaş: Boy: Persantil: Tartı: Persantil:

Akraba Evliliği Var mı? Evet ☐ Hayır ☐ Kaçınıcı Derece:

Kardeş Sayısı: Yaşayan: Ölen:

Kardeşler Arasında Fankoni Anemi Hastası Var mı? Var ☐ Yok ☐

Ailede Akrabalar Arasında Fankoni Anemi Hastası Var mı? Var ☐ Yok ☐

Hasta Fizik Muayene Bulguları

Hiperpigmentasyon: Var ☐ Yok ☐

Deride Kahverengi Lekeler: Var ☐ Yok ☐ **Sayı:**

Konjenital Anomaliler: Var ☐ Yok ☐

Ekstremitte Anomalisi: Var ☐ Yok ☐

Mikrosefali: Var ☐ Yok ☐

Kafa Çevresi: **Persantil:** **Zeka:**

Yüz Yapı Değişikliği: Var ☐ Yok ☐

Küçük Kafa-Küçük Gözler-Üçgen Yüz Tipi:

Mikroftalmi: **Ptoz:** **Strabismus:** **Nistagmus:**

Dudak Damak Yarığı: Var ☐ Yok ☐

Kulak Anomalisi: Var ☐ Yok ☐

Dış Kulak Yolu: **Kulak Memesi:** **Sağ** ☐ **Sol** ☐

Sağırılık: Var ☐ Yok ☐ Bilmiyor:

Ağız Diş Yapı Değişikliği: Var ☐ Yok ☐ **Sivri Dişler:** **Çürükler:** **Diğer:**

Böbrek Anomalisi: Var ☐ Yok ☐

Kalp Anomalisi: Var ☐ Yok ☐

Diğer Anomaliler:

Büyüme Gelişim Geriliği: Var ☐ Yok ☐

Fankoni Anemi Hastası Genetik Tetkikler:

Kromozom Kırığı:

DEP%: **Nitrojen Mustard %:**

Biyokimyasal Tetkikler

Alfa Fetoprotein: **FetalHb:**

3. SİĞARA BAĞIMLISI GÖNÜLLÜ TAKİP FORMU

Adı:

Cinsiyet: Kadın ☐ Erkek ☐

Soyadı:

Tedavi Gördüğü Merkez:

Doğum Tarihi:

Telefon:

Adres:

Memleket:

Medeni Durum: Evli ☐ Bekar ☐

Çocuk Sayısı:

Sigara Kullanımı: Evet ☐ Hayır ☐

Günde paket sigara içiyorum.

Alkol Kullanımı: Evet ☐ Hayır ☐

Haftalık Alkol Kullanım Sıklığı:

Herhangi başka bir hastalığınız var mı? Diabet ☐ Hipertansiyon ☐ Kalp Hastalığı ☐

Sarılık (Hepatit) ☐ KOAH ☐ Bunların dışındaysa lütfen belirtiniz:

Daha önce geçirdiğiniz bir hastalık var mı? (Varsa yazınız):

Devamlı kullandığınız bir ilaç var mı? (Varsa yazınız):

Ailede kanser var mı? Evet ☐ Hayır ☐

1.derece akrabalarda (Anne, baba, kardeş, çocuk) kanser varsa hastanın yakınlık derecesi:

2.derece akrabalarda (Dayı, teyze, amca, hala, kuzen) kanser varsa hastanın yakınlık derecesi:

Hasta akrabanız tedavi oldu mu? Evet ☐ Hayır ☐ Yaşıyor mu? Evet ☐ Hayır ☐

Dişlerinizi günde kaç kez fırçalıyorsunuz? 1 ☐ 2 ☐ 3 ve üzeri ☐ Fırçalamıyorum ☐

Yılda Kaç Defa Diş Muayenesine Gidersiniz? 1 ☐ 2 ☐ 3 ve üzeri ☐ Gitmiyorum ☐

Ağız içinde yara v.b. sağlık probleminiz var mı? Evet ☐ Hayır ☐

Uçuk geçirdiniz mi? Evet ☐ Hayır ☐

FAGERSTRÖM NİKOTİN BAĞIMLILIK TESTİ

1. Günün ilk sigarasını sabah uyandıktan ne kadar sonra içersiniz?

- a. İlk 5 dakika içinde (3 puan) b. 6-30 dakika içinde (2 puan) c. 31-60 dakika içinde (1 puan)
- d. 1 saatten sonra (0 puan)

2. Sigara içmenin yasak olduğu yerlerde sigara içmemek sizi zorlar mı?

- a. Evet (1 puan) b. Hayır (0 puan)

3. Günün hangi sigarasından vazgeçmek sizin için daha zordur?

- a. Sabah ilk içilen sigara (1 puan) b. Diğer zamanlarda içilen sigaralar (0 puan)

4. Günde kaç adet sigara içiyorsunuz?

- a. 31 ve daha fazla (3 puan) b. 21-30 adet (2 puan) c. 11-20 adet (1 puan) d. 10 ve daha az (0 puan)

5. Sabahları günün diğer zamanlarına göre daha fazla sigara içiyor musunuz?

- a. Evet (1 puan) b. Hayır (0 puan)

6. Yatmanızı gerektirecek kadar hasta olduğunuz zamanlarda da sigara içer misiniz?

- a. Evet (1 puan) b. Hayır (0 puan)

Değerlendirme Sonuçları

- 0-2:** Çok az bağımlılık **3-4:** Az bağımlılık **5:** Orta derecede bağımlı
- 6-7:** Yüksek bağımlılık **8-10:** Çok yüksek bağımlılık

4. GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın,

Katılacağınız bu çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “**EGFR ve CTNNB1 Gen Varyantlarının Sigara Bağımlıları ve Fankoni Anemi Hastalarında Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Gelişme Riski Açısından Araştırılması**”dır.

Ağız kanserleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’ nün tespit ettiği en tehlikeli altı kanser türü içinde yer almaktadır. Ağız kanserlerinin %90’ından fazlası Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma (OSHK) olarak tanımlanmaktadır. Sigara bağımlıları ve Fankoni Anemi hastalarında ileride ağız kanserine yakalanma olasılığı oldukça yüksektir ve bu bireylerde OSHK yatkınlığının bilinmesi hayati öneme sahiptir. Bireylerde kansere yatkınlık olup olmadığı gen varyant analizleri ile belirlenmektedir. Genler bir bireyin kişisel özelliklerini belirleyen ve vücudunun işleyişini kontrol eden yapılardır. Genlerdeki varyant adı verilen değişiklikler kanser gelişme riski ile ilişkilidir ve bu varyantların analiz edilmesi bireyde ileride kansere yakalanma olasılığının belirlenebilmesini sağlamaktadır. Bu çalışmada OSHK gelişiminde rol oynayan EGFR ve CTNNB1 genlerinin varyant analizleri yapılarak, sigara bağımlıları ve Fankoni anemi hastalarında OSHK yatkınlığının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Çalışmada OSHK hastaları, risk taşıyan sigara bağımlıları ve Fankoni anemi hastalarında bulunan EGFR ve CTNNB1 gen varyantlarının, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılması yapılacaktır. Araştırma sonucunda ağız kanseri gelişiminde rol oynayabilecek gen varyantlarının incelenmesi ile OSHK yatkınlığının belirlenmesinin yanı sıra; yeni tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişimine de katkı sağlanacaktır.

- Bu araştırmaya ağız kanseri (OSHK) tanısı konmuş hastalar, ağız kanseri gelişme riski taşıyan sağlıklı sigara bağımlıları, Fankoni anemi hastaları ve karşılaştırma için sağlıklı kontrol grubu gönüllü olarak dahil edilecektir. Gönüllü gruplarından koldan 1 tüp kan (6cc EDTA) ve 1 tüp tükürük örneği alınacaktır.
- Araştırma için öngörülen süre 9 ay olup, çalışmada yer alacak 18 yaş altı gönüllü sayısı 10, sağlıklı kontroller ile birlikte toplam gönüllülerin sayısı ise 120’dir. Araştırmalar İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilecektir.
- 1 tüp kan vermenin yan etki ihtimali yok denecek kadar azdır. Bu yan etkiler çok az kanama ve morarma, nadiren ise çok hafif bir baygınlık hissidir. Bu etkiler çok kısa süre içinde geçer.

Bu araştırma için size herhangi bir ücret ödenmeyecektir. Bu araştırmada sizin hiçbir hukuki ve mali sorumluluğunuz yoktur; araştırma kapsamındaki bütün muayene ve testler için sizden ya da bağlı olduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi) tarafından desteklenmektedir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğine bağlıdır. Çalışmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da istediğiniz herhangi bir aşamada ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel bir duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı gerekli gördüğü durumlarda sizi araştırma dışı bırakabilir.

Araştırma sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır ve biyolojik örnekleriniz sadece “**EGFR ve CTNNB1 Gen Varyantlarının Sigara Bağımlıları ve Fankoni Anemi Hastalarında Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Gelişme Riski Açısından Araştırılması**” başlıklı bu çalışma için kullanılacaktır. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Araştırma yayınlsa bile kimlik bilgileriniz açıklanmayacaktır. Sadece araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilecektir.

Yürütmekte olduğumuz bu çalışma ile ilgili herhangi bir sorunuz olduğunda Dr. Dinara NEMETOVA’dan (05537499064) bilgi alabilirsiniz.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Dr. Dinara NEMETOVA tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek, araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra araştırmaya “katılımcı” (gönüllü) olarak davet edildim. Açıklamayı dinledim, formu okudum. Eğer araştırmaya katılırsam hekim ile aramızda kalması gereken kişisel bilgilerin gizliliğine büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sonrasında kişisel bilgilerimin korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağının bilincindeyim.). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunu ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim). Araştırma ile ilgili herhangi bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda,

herhangi bir saatte Prof. Dr. Nevin YALMAN'ı (İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, 05422839664) arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (gönüllü) olarak yer alma kararı aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Araştırma konusu hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla ve hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Velayet veya Vesayet Altında Bulunanlar İçin Veli veya Vasinin,

Adı / Soyadı:

Adres:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

5. FANKONİ ANEMİ HASTALARI İÇİN EBEVEYN GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın Veli,

Çocuğunuzu dahil edeceğimiz çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “**EGFR ve CTNNB1 Gen Varyantlarının Sigara Bağımlıları ve Fankoni Anemi Hastalarında Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Gelişme Riski Açısından Araştırılması**”dır.

Ağız kanserleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’ nün tespit ettiği en tehlikeli altı kanser türü içinde yer almaktadır. Ağız kanserlerinin %90’ından fazlası Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma (OSHK) olarak tanımlanmaktadır. Sigara bağımlıları ve Fankoni Anemi hastalarında ileride ağız kanserine yakalanma olasılığı oldukça yüksektir ve bu bireylerde OSHK yatkınlığının bilinmesi hayati öneme sahiptir. Bireylerde kansere yatkınlık olup olmadığı gen varyant analizleri ile belirlenmektedir. Genler bir bireyin kişisel özelliklerini belirleyen ve vücudunun işleyişini kontrol eden yapılardır. Genlerdeki varyant adı verilen değişiklikler kanser gelişme riski ile ilişkilidir ve bu varyantların analiz edilmesi bireyde ileride kansere yakalanma olasılığının belirlenebilmesini sağlamaktadır. Bu çalışmada OSHK gelişiminde rol oynayan EGFR ve CTNNB1 genlerinin varyant analizleri yapılarak, sigara bağımlıları ve Fankoni anemi hastalarında OSHK yatkınlığının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Çalışmada OSHK hastaları, risk taşıyan sigara bağımlıları ve Fankoni anemi hastalarında bulunan EGFR ve CTNNB1 gen varyantlarının, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılması yapılacaktır. Araştırma sonucunda ağız kanseri gelişiminde rol oynayabilecek gen varyantlarının incelenmesi ile OSHK yatkınlığının belirlenmesinin yanı sıra; yeni tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişimine de katkı sağlanacaktır.

- Bu çalışmaya ağız kanseri (OSHK) tanısı konmuş hastalar, ağız kanseri gelişme riski taşıyan sağlıklı sigara bağımlıları, Fankoni anemi hastaları ve karşılaştırma için sağlıklı

kontrol grubu gönüllü olarak dahil edilecektir. Gönüllü gruplarından koldan 1 tüp kan (6cc EDTA) örneği alınacaktır.

- Araştırma için öngörülen süre 9 ay olup, araştırmada yer alacak 18 yaş altı gönüllü sayısı 10, sağlıklı kontroller ile birlikte toplam gönüllülerin sayısı ise 120'dir. Araştırmalar İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilecektir.
- 1 tüp kan vermenin yan etki ihtimali yok denecek kadar azdır. Bu yan etkiler çok az kanama ve morarma, nadiren ise çok hafif bir baygınlık hissidir. Bu etkiler çok kısa süre içinde geçer.

Bu araştırma için size herhangi bir ücret ödenmeyecektir. Bu araştırmada sizin hiçbir hukuki ve mali sorumluluğunuz yoktur; araştırma kapsamındaki bütün muayene ve testler için sizden ya da bağlı olduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi) tarafından desteklenmektedir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin ve çocuğunuzun isteğine bağlıdır. Çalışmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da istediğiniz herhangi bir aşamada ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel bir duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı gerekli gördüğü durumlarda sizi araştırma dışı bırakabilir.

Araştırma sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır ve biyolojik örnekleriniz sadece **“EGFR ve CTNNB1 Gen Varyantlarının Sigara Bağımlıları ve Fankoni Anemi Hastalarında Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Gelişme Riski Açısından Araştırılması”** başlıklı bu çalışma için kullanılacaktır. Size ve çocuğunuza ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz açıklanmayacaktır. Sadece araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilecektir.

Yürütmekte olduğumuz bu çalışma ile ilgili herhangi bir sorunuz olduğunda Dr. Dinara NEMETOVA'dan (05537299064) bilgi alabilirsiniz.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Dr. Dinara NEMETOVA tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek, araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra çocuğum araştırmaya “katılımcı” (gönüllü) olarak davet edildi. Açıklamayı dinledim, formu okudum. Eğer çocuğum araştırmaya katılırsa hekim ile aramızda kalması gereken kişisel bilgilerin gizliliğine büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sonrasında kişisel bilgilerimin korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağının bilincindeyim.). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla çocuğum araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilir.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunu ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).Araştırma ile ilgili herhangi bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda, herhangi bir saatte Prof. Dr. Nevin YALMAN'ı (İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, 05422839664) arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Çocuğumun araştırmaya katılması konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde çocuğumun “katılımcı” (gönüllü) olarak yer alması kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Araştırma konusu hakkında bana ve çocuğuma yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla ve hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın çocuğumun katılmasını kabul ediyorum.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Velayet veya Vesayet Altında Bulunanlar İçin Veli veya Vasinin,

Adı / Soyadı:

Adres:

Tel.:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 999
Konu: Prof. Dr. Nevin YALMAN hk.

Tarih : 15.08.2019

Sayın Prof. Dr. Nevin YALMAN
Tıbbi Biyoloji

İlgi: Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalının 30/07/2019 gün ve 153089 sayılı yazı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Dinara NEMETOVA' nın yürüteceği 2019/960 dosya numaralı "EGFR ve CTNNB1 Gen Varyant Analizi İle Sigara Bağımlıları ve Fankoni Anemi Hastalarında Oral Skuamöz Hücreli Karsinoma Gelişme Riskinin Araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 09/08/2019 tarih ve 13 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFAS

EGFR VE CTNNB1 GEN VARYANT ANALİZİ İLE SİGARA BAĞIMLILARI VE FANKONİ ANEMİ HASTALARINDA ORAL SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMA GELİŞME RİSKİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%8

BENZERLİK ENDEKSİ

%6

İNTERNET
KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%4

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Bilkent University Öğrenci Ödevi	%1
2	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
3	Submitted to Fatih University Öğrenci Ödevi	%1
4	YARIM, Gül Fatma, YARIM, Murat, TORUNOĞLU, Emine İncilay and KAZAK, Filiz. "Epidermal Büyüme Faktörünün Nöroprotektif Etkileri", Fırat Üniversitesi, 2017. Yayın	<%1
5	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
6	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri			
Doğum Tarihi: 01.09.1991 Uyruğu: Kazakistan Medeni Hal: Evli, 1 çocuk Cep telefonu: +77756009121 E-posta: dinemetova@gmail.com Ev adresi: İnkılap Mahallesi, Hatip cad. 1/3, Ümraniye, İstanbul			
Eğitim Durumu			
Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Y.Lisans	Tıbbi Biyoloji	İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2020
İntörn	İç Hastalıkları (Dahiliye)	Hoca Ahmet Yesevi Uluslararası Türk-Kazak Üniversitesi	2016
Lisans	Tıp Fakültesi	Hoca Ahmet Yesevi Uluslararası Türk-Kazak Üniversitesi	2014
Dil Bilgisi			
Rusça, Kazakça, Türkçe, İngilizce			
Kurs / Seminerler / Sınavlar / Etkinlikler			
Alan		Kurum	Yıl
Etik ve Araştırma Yöntemleri Çalıştayı		İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2020
ZEISS on Your Campus İleri Mikroskopi Teknikleri		İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	2020
IV. HLA Günleri		İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	2019
IV. R Program ile İstatistik ve Grafik Uygulamalı Kursu		İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	2019
Lisansüstü Eğitim İmkanları ve Burslar Çalıştayı		İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2018
Training of Diction, Effective Communication and Body Language		Rodos Grup Organization	2017
Türkçe Dil Kursu / Sınavı		İstanbul Üniversitesi (TÖMER)	2016-2017