



**FGFR İNHİBİTÖRÜ AZD4547'NİN BAŞ VE BOYUN KANSERİ
HÜCRELERİNDE GELİŞEN TAKSOL DİRENCİNE KARŞI
POTANSİYEL KULLANIMININ İN VİTRO TESTLERLE
ARAŞTIRILMASI**

Abdurmelik AYTATLI

**Yüksek Lisans Tezi
Moleküler Biyoloji ve Genetik
Danışman: Doç. Dr. Ömer Faruk KARATAŞ**

**2021
Her hakkı saklıdır.**



**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FGFR İNHİBİTÖRÜ AZD4547'NİN BAŞ VE BOYUN KANSERİ
HÜCRELERİNDE GELİŞEN TAKSOL DİRENCİNE KARŞI ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN İN VİTRO TESTLERLE ARAŞTIRILMASI**

Abdumelik AYTATLI

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ömer Faruk KARATAŞ

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Erzurum

2021

Her hakkı saklıdır

T.C.
ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ ONAY FORMU

FGFR İNHİBİTÖRÜ AZD4547'NİN BAŞ VE BOYUN KANSERİ
HÜCRELERİNDE GELİŞEN TAKSOL DİRENCİNE KARŞI POTANSİYEL
KULLANIMININ İN VİTRO TESTLERLE ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Ömer Faruk KARATAŞ danışmanlığında, Abdulmelik AYTATLI tarafından hazırlanan bu çalışma 14 / 01 / 2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **Oy birliği ile (3/3)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Ömer Faruk KARATAŞ *İmza* :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Onur ÇİZMECİOĞLU *İmza* :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Fatma Necmiye KACI *İmza* :

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Arzu GÖRMEZ
Enstitü Müdürü

*Bu tez çalışması, Erzurum Teknik Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından 2019/12 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

14 / 01 / 2021

Abdülmelik AYTATLI

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FGFR İNHİBİTÖRÜ AZD4547’NİN BAŞ VE BOYUN KANSERİ HÜCRELERİNDE GELİŞEN TAKSOL DİRENCİNE KARŞI POTANSİYEL KULLANIMININ İN VİTRO TESTLERLE ARAŞTIRILMASI

Abdumelik AYTATLI

Erzurum Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ömer Faruk KARATAŞ

Baş ve boyun kanserleri dünya çapında en yaygın görülen kanserler arasındadır. Taksol baş ve boyun dahil birçok kanser türünde tedavide yaygın olarak kullanılır. Ancak taksole karşı gelişen direnç tedavi sürecini olumsuz etkilemektedir. Baş ve boyun kanserinde taksole karşı gelişen direnç mekanizmasının FGFR2’nin aktive ettiği PI3K/AKT yolu aracılığıyla gerçekleştiğine dair bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışması kapsamında AZD4547’in tek başına ve taksol ile birlikte kullanımının kanserle ilişkili hücre fenotipleri üzerindeki etkilerinin araştırılması ve hücrelerde gelişen taksol direncine karşı AZD4547 kullanımının bu direnci aşmakta kullanılabilecek potansiyelinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda öncelikle AZD4547’nin FGFR2’yi inhibe etme potansiyeli ve tümör/normal doku çiftlerinde FGFR2 ve aşağı akış sinyal yolu hedeflerinin ifadeleri western blot ile analiz edildi. AZD4547 ve taksolün baş boyun kanseri hücrelerinde ve AZD4547’nin taksol dirençli Hep-2 hücrelerinde hücre canlılığı, hücre göçü ve koloni oluşturma potansiyelleri üzerindeki etkileri incelendi. Sonuçlar FGFR2 ve aşağı akış sinyal yolu hedeflerinin tümör dokularında normal dokulara göre daha fazla ifade edildiğini ve AZD4547’in FGFR2 ve hedeflerini etkili bir şekilde inhibe ettiğini gösterdi. Ayrıca AZD4547’nin hücre canlılığı, hücre göçü ve koloni oluşturma potansiyelini azalttığını ve taksol ile birlikte uygulanmasının taksolün etkinliğini artırdığı ortaya konuldu. AZD4547’nin taksole karşı direnç geliştirilen Hep-2 hücrelerinde aşırı ifade olunan FGFR2/AKT/SOX2 aksisini inhibe ettiği ve kanser ile ilişkili hücre fenotipleri etkili bir şekilde baskıladığı gösterildi. Sonuçlar, AZD4547’in baş boyun kanserinde taksolün tedavi sürecindeki etkilerini artırabileceğine dair ön veriler ortaya koymuş ve taksole karşı gelişen direncin üstesinden gelmek için AZD4547’nin terapötik bir yaklaşım olabileceğine işaret edilmiştir.

2021, 79 sayfa

Anahtar Kelimeler: Baş ve boyun kanseri, AZD4547, Taksol, *FGFR2*, *PI3K/AKT*, *SOX2*, Kemoterapi

ABSTRACT

MS. Thesis

INVESTIGATION OF POTENTIAL USE OF FGFR INHIBITOR AZD4547 AGAINST TAXOL RESISTANCE IN HEAD AND NECK CANCER CELLS USING IN VITRO TESTS

Abdumelik AYTATLI

Erzurum Technical University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assoc. Prof. Ömer Faruk KARATAŞ

Head and neck cancers are among the most frequent cancers worldwide. Although taxol is widely used for the treatment of many cancer types, including head and neck cancers, resistance to taxol negatively affects the treatment processes. To the best of our knowledge, there is no study reporting any resistance mechanism developed against taxol in head and neck cancers occurring through the activation of FGFR2/AKT/SOX2 axis. In this thesis study, we aimed at investigating the effects of AZD4547 alone or in combination with taxol on cancer associated phenotypes and to examine the potential of AZD4547 to overcome resistance developed against taxol in head and neck cancer cells. Initially, the potential of AZD4547 to inhibit FGFR2 and its downstream targets in head and neck cancer cells and the status of FGFR2/AKT/SOX2 axis in tumor/normal tissue pairs were analyzed by western blot. Then, the effects of AZD4547 and taxol in head and neck cancer cells and AZD4547 in taxol resistant Hep-2 cells on the cell viability, cell migration and colony forming potential were investigated. We showed that FGFR2 and its downstream targets were highly expressed in tumor tissues than corresponding normal tissues, and AZD4547 effectively inhibited FGFR2 and its downstream targets. In addition, we demonstrated that AZD4547 reduces cell viability, cell migration and colony formation potential, and its co-treatment with taxol increases the impact of taxol on cancer cells. We also found that AZD4547 inhibits the overexpressed FGFR2/ AKT/SOX2 axis and effectively suppresses cancer-related cellular phenotypes in Hep-2 cells that are resistant to taxol. Our results revealed preliminary data that AZD4547 could increase the effects of taxol in the treatment process in head and neck cancer, and we suggest AZD4547 as a therapeutic alternative to overcome the resistance to taxol.

2021, 79 pages

Keywords: Head and neck cancers, Taxol, AZD4547, *FGFR2*, *PI3K/AKT*, *SOX2*, Chemotherapy

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimim ile başlayan ve bu tez çalışmasına kadar geçen süre içerisinde, çalışmalarımda gerekli bilgi ve tecrübelerini paylaşan, üzerimde çok büyük emekleri olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Ömer Faruk KARATAŞ'a

Tez çalışmam boyunca bana destek olan hoşgörü ve sabırla beni dinleyen değerli arkadaşlarım Ahmet YILMAZ, Ahsen KILIÇ, Özel ÇAPIK, Rasim GÜMÜŞ ve Gülnur KUŞDEMİR'e

Bu çalışmada büyük katkıları olan gerek maddi gerek manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim değerli arkadaşlarım Neslişah BARLAK ve Fatma Eren ŞANLI'ya

Eğitim hayatım boyunca bana yol göstermiş ve bilgileriyle bana katkıda bulunmuş Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Öğretim Üyelerine

Hayatım boyunca bana her zaman destek olan ve her daim arkamda duran beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürler...

Abdumelik AYTATLI
Ocak 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser ve Kısa Tarihi	1
1.2. Baş ve Boyun Kanserleri.....	3
1.2.1. Larenks Kanseri	3
1.2.2. Larenks Kanseri Tedavi Yaklaşımları.....	5
1.2.3. Farenks Kanserleri	7
1.2.4. Farenks Kanserleri Tedavi Yöntemleri	9
1.2.5. Dil Kanserleri	11
1.2.6. Dil Kanseri Tedavi Yaklaşımları	13
1.3. Taksol (Paklitaksel).....	14
1.3.1. Taksol Direnç Mekanizmaları.....	15
1.4. FGFR.....	16
1.5. AZD4547	17
2. KAYNAK ÖZETLERİ	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM	21
3.1. Materyal	21
3.2. Yöntem.....	27
3.2.1. Hücre Kültürü ve Taksol Dirençli Hücrelerin Geliştirilmesi.....	27
3.2.2. Hücre Sayımı.....	28
3.2.3. Hücrelerin 6-Kuyucuklu ve 96-Kuyucuklu Plate'lere Ekilmesi	28
3.2.4. AZD4547 ve Taksol İlaçlarının Stok Çözeltilerinin Hazırlanması.....	28
3.2.5. AZD4547 ve Taksolün Hücrelere Uygulanması.....	29

3.2.6. AZD4547 ve Taksolün Baş Boyun Kanseri Hücre Hatlarında Hücrelerin Proliferasyonu Üzerine Etkileri.....	29
3.2.7. AZD4547 ve Taksolün Baş Boyun Kanseri Hücre Hatlarında Hücre Göçü Üzerindeki Etkilerinin Yara Kapatma Testi ile Araştırılması.....	30
3.2.8. AZD4547 ve Taksolün Baş Boyun Kanseri Hücre Hatlarında Koloni Oluşturma Potansiyellerinin Araştırılması.....	30
3.2.9. FGFR ve SOX2 ifadelerinin in siliko araçlarla araştırılması.....	31
3.2.10. Doku Örneklerinin Temin Edilmesi.....	31
3.2.11. Western Blot.....	32
3.2.12. İstatiksel Analiz.....	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	35
4.1. Taksol Dirençli Hücrelerde Artmış FGFR2 ve SOX2 İfadeleri Paralellik Gösterir	35
4.2. Baş ve Boyun Kanserli Normal ve Tümör Doku Örneklerinde pFGFR2, p-AKT, p-Gsk3 β ve SOX2 İfadeleri Artmıştır	36
4.3. Baş ve Boyun Kanserli Hücre Hatlarında rFGF2 Muamelesi Sonrası FGFR ve Hedeflediği Sinyal Yolunun Fosforilasyonu Artar	38
4.4. FGFR2 İnhibitörü AZD4547 Baş ve Boyun Kanserli Hücre Hatlarında Canlılığı Doza ve Zamana Bağlı Olarak Azaltır	39
4.5. Baş ve Boyun Kanserli Hücre Hatlarında Aktifleşen FGFR2/AKT/SOX2 yolağı AZD4547 muamelesi sonrasında inhibe olur.....	42
4.6. FGFR İnhibitörü AZD4547 Baş ve Boyun Kanserli Hücre Hatlarında Yara Kapama ve Koloni Oluşturma Potansiyellerini Azaltır.....	43
4.7. Taksol Muamelesi Sonrasında Aktifleşen FGFR2/AKT/SOX2 yolağı FGFR2 inhibitörü AZD4547 muamelesi sonrasında inhibe olur.....	46
4.8. FGFR2 İnhibitörü AZD4547 Baş ve Boyun Kanserli Hücre Hatlarında Taksol uygulamasının etkinliğini artırır.....	48
4.9. Taksol dirençli hücrelerde AZD4547 kanser ilişkili fenotipleri etkin bir şekilde inhibe eder.....	52
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ.....	78

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Açıklama

°	Derece
%	Yüzde
µM	Mikromolar
mg	Miligram
nM	Nanomolar
V	Volt
µl	Mikrolitre
<	Küçük
β	Beta

Kısaltmalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BBSHK	Baş ve Boyun Skuamöz Hücreli Karsinoma
DSHK	Dil Skuamöz Hücreli Karsinoma
FK	Farenks Kanseri
FGF	Fibroblast Growth Factor
FGFR	Fibroblast Growth Factor Receptor
KT	Kemoterapi
LKa	Larenks Kanseri
NFK	Nazofarenks Kanseri

OFK	Orofarenks Kanseri
RT	Radyoterapi
CYP	Sitokrom P450 Proteini
SEER	Ulusal Kanser Enstitüsü Sağkalım Epidemiyolojisi ve Sonuçları



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 2017 yılında küresel ölüm sayıları ve sebepleri (ilk 10 hastalık.)	2
Şekil 1.2 Türkiye’de tüm yaş gruplarındaki erkeklerin GLOBOCAN 2018 verilerine göre görülen kanserlerin insidans ve prevelanslarına göre dağılımları	4
Şekil 1.3 Yaş gruplarına göre LKa ölüm oranları 2013-2017.....	5
Şekil 1.4 1975’ten günümüze Farenks kanserleri yeni vaka ve ölüm oranları	8
Şekil 1.5 Yaş gruplarına göre FK ölüm oranları.	8
Şekil 1.6 Dil kanseri yeni vaka ve ölüm oranları.	12
Şekil 1.7 1975’ten günümüze DSHK 5 yıllık sağkalım oranları.	13
Şekil 4.1 Taksol dirençli ve parental hücre hatlarında GEO veritabanından elde edilen mikroarray verilerinin karşılaştırılması.....	36
Şekil 4.2 TCGA veritabanından elde edilen baş ve boyun kanserli hasta örneklerinde <i>FGFR2</i> ve <i>SOX2</i> genindeki ifade değişimleri ve iki gen ifadesi arasındaki korelasyon.	36
Şekil 4.3 Baş ve boyun kanserli hastalardan elde edilen normal ve tümörlü larenks dokularında <i>FGFR2</i> ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktiviteleri ve ifade seviyeleri.	37
Şekil 4.4 Larenks doku örneklerinde <i>FGFR2</i> ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin rölatif ifade seviyeleri.....	37
Şekil 4.5 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında rFGF muamelesi sonrası <i>FGFR2</i> ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktiviteleri ve ifade seviyeleri.	39
Şekil 4.6 AZD4547’nin baş ve boyun kanserli hücre hatlarındaki canlılık oranları üzerindeki doza ve zamana bağlı etkileri.	41
Şekil 4.7 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında AZD4547 ile muamele sonrası <i>FGFR</i> ve doğrudan ilişkili olduğu alt hedef sinyal yolu proteinlerinin ifade düzeyleri.	43
Şekil 4.8 AZD4547’nin baş ve boyun kanserli hücre hatlarında hücre göçü üzerindeki etkileri.	44
Şekil 4.9 Baş ve boyun kanserli hücre hatlarında AZD4547’nin koloni oluşturma potansiyeli üzerine etkileri.	45
Şekil 4.10 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında AZD4547’nin koloni çeşitlerinin dağılımına olan etkisi.	46

Şekil 4.11 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında Taksol ve Taksol+AZD4547'nin sinerjistik etkilerinin p-FGFR2 ve doğrudan ilişkili olduğu alt sinyal yolu hedef proteinlerinin ifade seviyeleri üzerindeki etkileri.	47
Şekil 4.12 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında 24 ve 48 saatlik Taksol ve Taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı muamelesinin hücre canlılığı üzerine etkileri.....	49
Şekil 4.13 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksol ve taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı muamelesinin hücre göçü üzerine etkileri.	50
Şekil 4.14 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında Taksol ve Taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı muamelesinin koloni sayıları üzerine etkileri.....	51
Şekil 4.15 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksol ve taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı muamelesinin koloni sayıları üzerine etkileri.....	52
Şekil 4.16 Taksole dirençli Hep-2 hücre hattı ve parental Hep-2 hücre hattının doza bağlı hücre canlılığı üzerine etkileri.....	54
Şekil 4.17 Taksole dirençli hücre hattında AZD4547'nin 24 ve 48 saatlik muamelesi sonrası hücre canlılığı üzerine etkileri.	55
Şekil 4.18 Parental, Taksol dirençli ve Taksol dirençli hücre hattına AZD4547 muamelesi sonrası p-FGFR2 ve alt sinyal yolu hedeflerinin ifade düzeyleri.	56
Şekil 4.19 Taksole dirençli hücre hattında AZD4547'nin hücre göçü üzerindeki etkileri.	57
Şekil 4.20 Taksol dirençli hücrelerde AZD4547'nin koloni sayıları üzerindeki etkisi. .	57
Şekil 4.21 Taksol dirençli hücre hattında AZD4547'nin oluşan kolonilerin klon çeşitleri üzerine etkileri.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazların listesi.	21
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kitler, sarf malzemeler ve kimyasalların listesi.....	23
Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan hücre hatlarında AZD4547 için IC50 hesaplamak için uygulanan AZD4547 dozları ile bu hücreler için literatürde taksol için bildirilmiş IC50 değerleri.....	29
Çizelge 3.4 %4'lük yürütme jelinin içeriği.	33
Çizelge 3.5 %10'luk ayırma jelinin içeriği.	33
Çizelge 4.1 Yapılan Analiz Sonucunda Baş ve Boyun Kanseri Hücre Hatları İçin Belirlenen AZD4547 IC ₅₀ Dozları	42

1. GİRİŞ

1.1. Kanser ve Kısa Tarihi

Kanser, genetik ve çevresel koşulların etkisiyle beraber hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünüp çoğalması sonucu ortaya çıkan ve meydana geldiği dokuların fonksiyonlarını bozan karmaşık bir hastalıktır.(Baykara 2016; Barlak 2018) Dünya Sağlık Örgütü ise kanseri anormal hücrelerin kontrolsüz olarak büyümesi sonucu vücudun neredeyse her organ veya dokusunda başlayabilen ve diğer organlara yayılıp oraları istila eden bir hastalık olarak tanımlamaktadır.(Anonim 2021a).

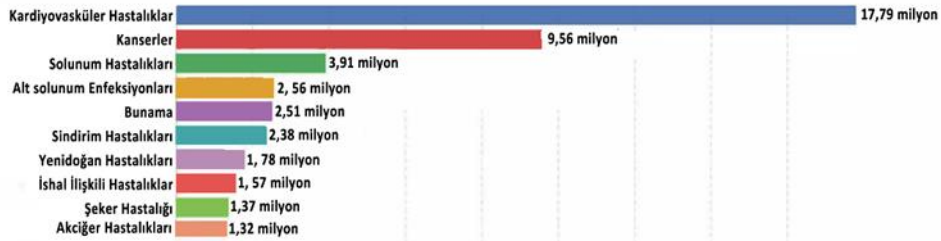
Kanser genetik ve epigenetik değişimler, hücresel değişimler ve çevresel etmenlerin de rol aldığı çok aşamalı bir süreç sonucu ortaya çıkar (Tiffon 2018; Shimada and Tanaka 2019). Genomun kararlılığını etkileyen, onkogenleri aktive eden ve tümör baskılayıcı genleri susturan genetik ve epigenetik düzeydeki bozulmaların kanser oluşumu ve ilerlemesinde merkezi rol oynadığı gösterilmiştir(Feinberg 2004). Beslenme, alkol tüketimi ve sigara gibi alışkanlıkların genetik ve epigenetik düzeyde bozulmalara sebep olduğu ve çoğu kanser türlerinin gelişiminde rol aldığı söylenebilir(Larsson et al. 2006; Yokoyama et al. 2006; Tiffon 2018).

Kanserin tarihçesi incelendiğinde, paleopatolojik bulguların kanserin dünyada insanlardan önce hayvanlarda var olduğunu gösterdiği bilinmektedir. Yazılı kayıtlara bakıldığında ise M.Ö yaklaşık 3000’li yıllarda Edwin Smith papirüsündeki bilgilerde meme kanserinin anlatıldığı ve bu kanserin tedavisi olmayan ciddi bir hastalık olduğunun ifade edildiği görülmektedir(JH 1930). M.Ö 1500’lü yıllara gelindiğinde ise Ebers papirüsünde yumuşak doku tümörleri olarak nitelenen ve kanser olma ihtimali üzerinde durulan olası mide, cilt, rahim ve bağırsak kanserlerine ait ilk kayıtlara rastlanmaktadır(Hajdu 2011). Kanser terimi ise ilk kez Hipokrat (M.Ö 460-377) tarafından organizmada tedavisi olmayan yapılanmalar için kullanılmıştır. Hipokrat vücut yüzeyinde bulunan ve diğerlerinden farklı karakterde olan kırmızı ağırlı şişlikler için “karkinos” ya da “karkinoma” terimlerini kullanmıştır(Sigerist 1932). Türk Tıp tarihinde kanser, Tarsuslu Osman Hayri Efendi’nin “Kenzüsıhhatül Ebdaniye” adlı eserinde fındık

1. GİRİŞ

ya da küçük yumru büyüklüğünde olan ağrılı, etrafı damarlı bir oluşum olarak belirtilmiş ve bu oluşum “seretan” olarak isimlendirilmiştir (Atıcı 2007).

Kanser gelir seviyesine bakılmaksızın dünyadaki her ülke için en büyük halk sağlığı problemlerinden biridir(Torre et al., 2015; Torre et al., 2016; Zugazagoitia et al., 2016). Küresel nüfus özellikleri de göz önüne alındığında önümüzdeki yıllarda kanser vakalarında bir artış beklenmekte ve 2025 yılında tahmini kanserli hasta sayısının 20 milyonun üzerine çıkması öngörülmektedir(Ferlay et al., 2015). Bağımsız bir kuruluş olan Sağlık Ölçümleri Değerlendirme Enstitüsü (IHME) tarafından 2017 yılında hazırlanan küresel hastalıklar raporuna göre kanser kalp hastalıklardan sonra en fazla ölüm oranına sahip hastalıktır (Şekil 1.1)(Ritchie, 2018). Kanser vakalarında ve tekrarlanma sayılarındaki artış beraberinde büyük zorluklar getirmesine rağmen, kanserin tanı, tedavi ve sağ kalım sürecinde büyük başarılar kaydedilmiş ancak kanser hastalığı hastaları fiziksel, ruhsal ve finansal olarak çok fazla etkilemeye devam etmektedir (Casarett et al., 2008).



Şekil 1.1 2017 yılında küresel ölüm sayıları ve sebepleri (ilk 10 hastalık.)(Ritchie, 2018)’den değiştirilerek alınmıştır.

Kanser tedavi yaklaşımları incelendiğinde, eski Mısırlıların kanserleri tedavi etmek için dağlama yöntemini, bıçakları, tuzları ve ek olarak 19. yüzyıla kadar adına “Mısır Merhemi” dedikleri arseniği kullandıkları görülmektedir (Hajdu 2004). Sümerler, Çinliler, Hintliler ve Persler geleneksel olarak tedavide bazı bitkisel yaklaşımları denemişler, ancak ilerleyen aşamadaki vakalarda tedavi olarak demir, bakır, kükürt ve cıva gibi ağır metalik tuzların çözeltilisini kullanmışlardır (Hajdu 2011). Günümüzde ise, kanserin türüne ve geldiği aşamaya göre değişkenlik gösteren birçok kanser tedavisi yöntemi vardır. Tedavi seçenekleri arasında ise kemoterapi (KT), radyoterapi (RT), cerrahi yöntemler, hormon tedavileri ve kat edilen yeniliklerle beraber kişiye özgü tedavi

1. GİRİŞ

stratejileri, bağışıklık tedavisi ve gen tedavileri olmakla birlikte, en iyi etki gösteren tedavi seçeneğinin kombine tedaviler olduğu belirtilmektedir (Wang et al. 2018a).

1.2. Baş ve Boyun Kanseri

Baş ve Boyun Skuamöz Hücreli Karsinoma (BBSHK), temel olarak ağız içi kanserleri, larenks ve hipofarenks bölgelerinde gelişen ve ilerleyen, tüm baş boyun kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturan küresel çapta en yaygın 6. kanserdir (Kawakita and Matsuo 2017; Elbehi et al. 2020). Dünya çapında her yıl yaklaşık tahmini 600.000 yeni BBSHK vakası görülür ve hastalığın sürekli nüksetmesi, kullanılan kemoterapi ilaçlarına direnç gelişimi hastalığın tedavisini büyük ölçüde zora sokmaktadır (Santuray et al. 2018; Nazari et al. 2020). Ek olarak tedaviden sonra hayatta kalan hastalar akut toksisite, disfaji ve şiddetli mukozit gibi komplikasyonlar geliştirebilmekte ve bu durum hastalarda çiğneme, yutma ve konuşma gibi hayati öneme sahip fonksiyonların bozulmasına sebep olmaktadır (Jethwa and Khariwala 2017; Han et al. 2020).

BBSHK'lı hastaların tedavisinde sıklıkla cerrahi yöntemler, RT ve KT yaklaşımları uygulanmaktadır (Schneider et al. 2016). Bu tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen, son 25 yılda hastalarda prognozun kötü seyrettiği, sağkalımın nispeten azaldığı ve hastalığın nüksetme oranının arttığı görülmüştür (Pulte and Brenner, 2010; Sim et al. 2019). Tedavide kullanılan cerrahi yöntemlerin hastalarda estetik görünümü bozduğu ve bazı organlarda işlevsel kayıplara sebep olduğu ve bu nedenle cerrahi yöntemler yerine tedavide KT ve RT ya da kombine tedavi yaklaşımlarının büyük ilgi gördüğü ve daha iyi sonuçlar verdiği bilinmektedir (Pulte and Brenner 2010).

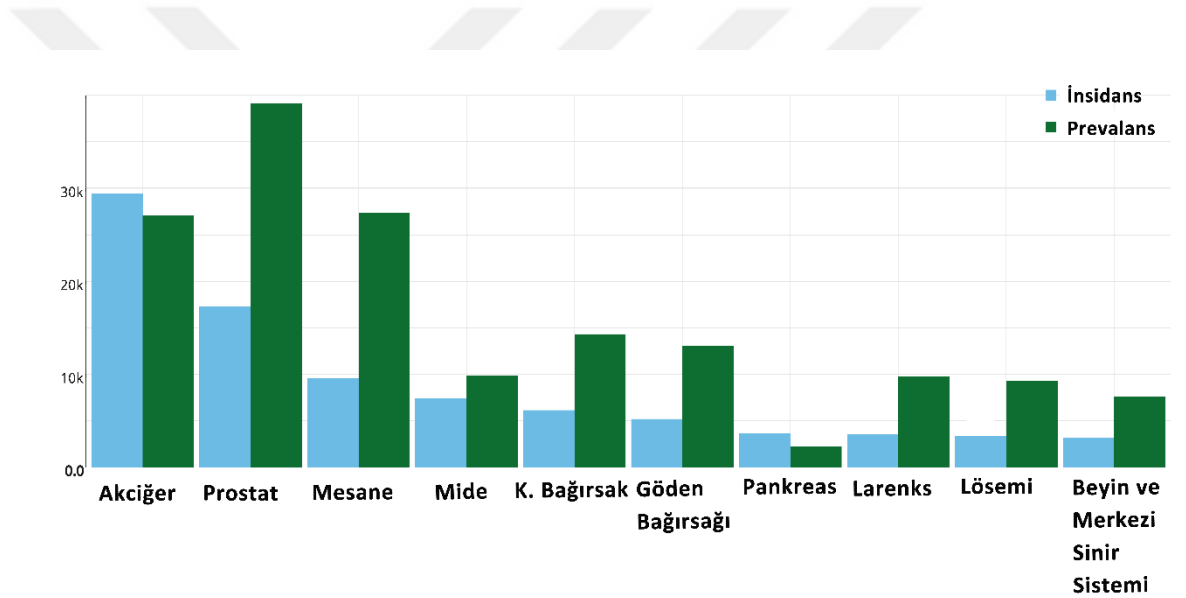
1.2.1. Larenks Kanseri

Larenks kanserleri (LKa) en yaygın görülen baş boyun kanserlerinden biridir ve genel olarak supraglotik, subglotik bölge ve nefes borusu girişi olarak isimlendirilen 3 anatomik kısımdan türeyen malinitelerden meydana gelirler ve larenks kanserlerinin yaklaşık 3'te 1'ini supraglotik kanserler (Sykes et al. 2000; NC 2016), 3'te 2'sini nefes borusu girişi olarak isimlendirilen bölgedeki kanserler (Stoeckli et al. 2003) ve çok az bir

1. GİRİŞ

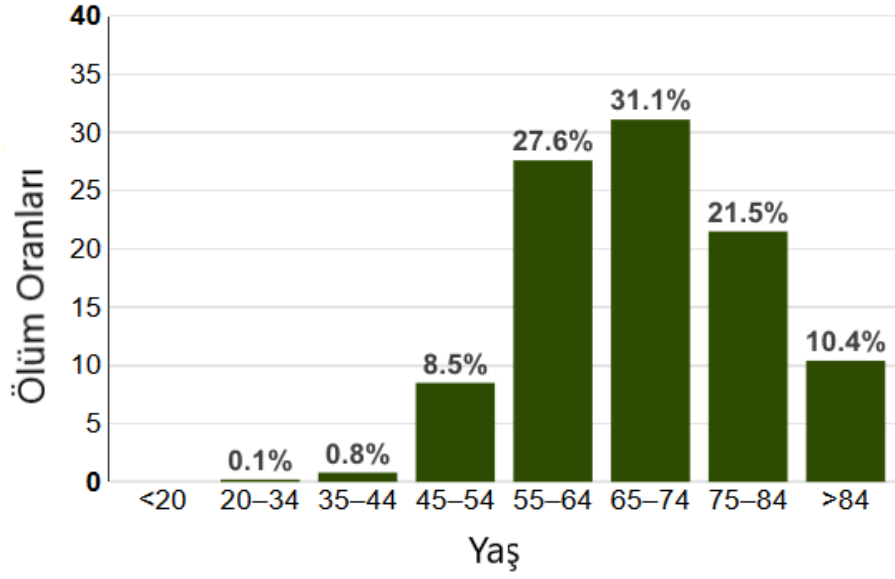
kısmını ise subglotik kanserler oluşturmaktadır(Salvador-Coloma and Cohen 2016; Nocini et al. 2020). LKa dünya çapında en yaygın görülen kanserlerden biri olup, dünyada meydana gelen yeni kanser vakaları ve ölümlerinin yaklaşık %1'ini oluşturmaktadır(Bray et al. 2018; Adeel et al. 2019).

LKa'nın insidansı ve ölüm oranlarının erkeklerde kadınlara göre daha fazla olduğu gösterilmiştir ve ülkemizdeki veriler de bu veriyi destekler nitelikte olup GLOBOCAN 2018 verilerine bakıldığı zaman tüm yaş gruplarında erkeklerde en fazla insidans ve prevelans oranlarına sahip ilk 10 kanser türü içerisinde gösterilmektedir (Anonim 2018; Deng et al. 2020).



Şekil 1.2 Türkiye’de tüm yaş gruplarındaki erkeklerin GLOBOCAN 2018 verilerine göre görülen kanserlerin insidans ve prevelans’larına göre dağılımları(Anonim 2018)’ den değiştirilerek alınmıştır.

Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Ulusal Kanser Enstitüsü Sağlık Epidemiyolojisi ve Sonuçları (SEER) veritabanından elde edilen sonuçlara bakılacak olursa 2013-2017 yılları arasında LKa ölümlerinin çoğunluğunun 55-84 yaşları arasında olduğu görülmekte ve en sık ölümlerin görüldüğü yaş aralığının ise %31,1 ile 65-74 yaş aralığı olduğu görülmektedir(Howlader N and Tatalovich Z 2017) Yeni tanı konulan vakaların da bu yaş aralığında pik yaptığı baz alınacak olursa, LKa’da erken tanı ve başarılı tedavi alternatiflerinin var olmasının hayat kurtarmada çok önemli olduğu söylenebilir.



Şekil 1.3 Yaş gruplarına göre LKa ölüm oranları 2013-2017(Howlader N and Tatalovich Z 2017)'den değiştirilerek alınmıştır.

1.2.2. Larenks Kanseri Tedavi Yaklaşımları

LKa tedavisinde hastanın kötü beslenme, sigara ve alkol tüketimi gibi alışkanlıklarının tedaviye yanıt verme oranını büyük oranda düşürdüğü gösterilmiştir, dolayısıyla bu alışkanlıkların belirlenmesi tedavinin seyri ve sonuçları açısından oldukça önemlidir(Goodwin and Byers 1993; Capuano et al. 2010). Ek olarak yaş, cinsiyet, tümörün büyüklüğü, tedavinin seyri ve hemogloblin seviyesi gibi birçok faktörün hastalığın prognozunu ciddi oranda etkilediği gösterilmiştir (Adeel et al. 2019). Tedavide genel bakış açısı, erken evredeki tümörün radyoterapi ya da organın yapısı bozulmadan cerrahi rezeksiyon ile belirli bir kısmının çıkarılmasıdır ancak, ileri evredeki tümörlerde ise genellikle ameliyat sonrası RT/KT uygulaması veya kombine tedaviler gibi çok yönlü seçenekler tercih edilmektedir(McMullen and Smith 2015). Tedavide birincil amaç, organın yutma, çiğneme ve konuşma gibi hayati işlevlere sahip olan fonksiyonlarını ve organın kendisini korumaya yöneliktir (Adeel et al. 2019). LKa tedavisinde standart olarak kabul edilen yöntemler arasında radyoterapi, cerrahi yöntemler ve kemoterapi yer alır, ve tedavide kullanılacak yöntemin seçilmesi ise tümörün evresi, tümörün lokasyonu, tümörün hangi evrede olduğuna bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (Gamez et al. 2020).

1. GİRİŞ

RT ve cerrahi yöntemler erken evre LKa'da kullanılan ve ilk olarak başvurulacak yöntemler olarak göze çarpan temel yöntemlerdir ve hastalarda iyileşme oranları yüksektir(McMullen and Smith 2015; Adeel et al. 2019) aynı zamanda, lokal olarak ilerleyen LKa'nın tedavisi için yapılan bir çalışmada, ameliyat sonrası hastanın kemoterapi ile duyarlı hale getirildikten sonra belirli bir dozda radyasyon tedavisinin uygulanması, lokal olarak ilerleyen kanserlerin kontrolü, genel sağkalım ve hastaliksız sağkalım oranlarında iyileşme sağladığı gösterilmiştir(Bernier et al. 2005). LKa'lı hastaların tedavisinde cerrahi rezeksiyon sonrası radyasyon terapisinin kombinasyonunun, yalnızca cerrahi yöntemlerle tedavi edilen hastalara göre sağ kalımda daha iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir(Fletcher and Jessee 1977). Diğer taraftan, RT yöntemlerinde önemli ölçüde gelişmeler yaşanmasına rağmen, RT uygulandıktan sonra hastalarda doku nekrozu, kserostomi, gırtlak ödemi gibi komplikasyonlara sebep olduğundan, tedaviden sonra düşük yaşam kalitesine sebep olmaktadır (Karatzanis et al. 2014).

Total larenjektomi hastalığın birçok evresinde yaygın olarak kullanılır, lokal olarak ilerlemiş LKa'da organın karmaşık yapısından ve total larenjektomi'nin ameliyat sonrası hastalarda, ses kaybına, yutma problemlerine yol açmasından dolayı, hastalığın tedavisinde çoklu tedavi yaklaşımlarının gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır (McNeil et al. 1981; Harwood and Rawlinson 1983).

İleri evre LKa hastaları için kemoterapi seçeneği başlangıçta yatıştırıcı olarak düşünülse de daha sonra tedavide önemli bir seçenek haline gelmiştir. KT LKa hastaları için potansiyel olarak kanser hücrelerinin radyasyona duyarlı hale getirilmesini sağlamaktadır (Haigentz et al. 2010). Ayrıca, ileri evre LKa'da hayati fonksiyonlara sahip organın muhafazası oldukça önemli olduğu için cerrahi yöntemler yerine genellikle KT ya da kombine tedaviler tavsiye edilmektedir (Pfister et al. 2006; Gourin et al. 2009; Neslisah 2018). LKa'lı hastalarda yapılan çalışmalarda ameliyat sonrası RT grubu ile KT/RT kombine tedavi grubu olarak ayrılan hastalar tedavi sonrasında organ korunması durumuna göre karşılaştırıldığında KT grubundaki hastaların %64'ünde organın korunmuş olduğu gösterilmiş ancak, ameliyat sonrası RT grubu ile karşılaştırıldığı zaman sağ kalımda iki grup arasında ciddi bir fark olmadığı gözlemlenmiştir (Wolf et al. 1991). Dahası, organ korumaya yönelik kemoradyoterapi yaklaşımları yüksek morbiditeyle

1. GİRİŞ

sonuçlanmaktadır ve radyoterapiye ek olarak yoğun kemoterapi tedavisi hastaların yüksek mukozit geliştirmelerine sebep olmaktadır (Divi et al. 2010).

Bu yaklaşımlar LKa tedavisi için yaygın olarak kullanılmasına rağmen, cerrahi yöntemlerin organın işlevselliğini bozması, radyoterapi yaklaşımlarının oluşturduğu yan etkiler, kemoterapi yaklaşımlarında kanserli hücrelerin dirençli hale gelmesi ve toksisite problemleri tedavide büyük engel oluşturmaktadır (Guadagnolo et al. 2005; Yuan et al. 2018).

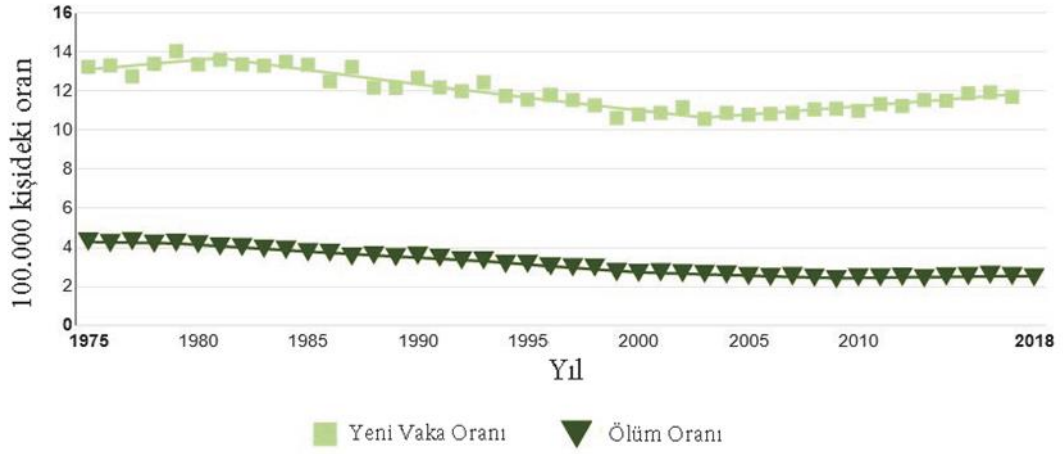
1.2.3. Farenks Kanseri

Farenks Kanseri (FK), orofarenks, nazofarenks ve hipofarenks kanserlerini içeren farenks dokularında oluşan kanserlerdir. Farenks kanserlerinin çoğu skuamöz hücreli karsinomlardan oluşmaktadır (Anonim 2021b).

FK'da erkeklerin kadınlara göre daha fazla risk taşıdığı gösterilmiştir, aynı zamanda yeni tanısı konan hastalar ile ölen hastaların yaş aralığının paralellik gösterdiği veriler arasındadır. SEER verilerine göre, FK ve ağız içi boşluğu kanserleri yeni kanser vakalarının %2.9'unu oluşturmaktadır (Howlader N and Tatalovich Z 2017)

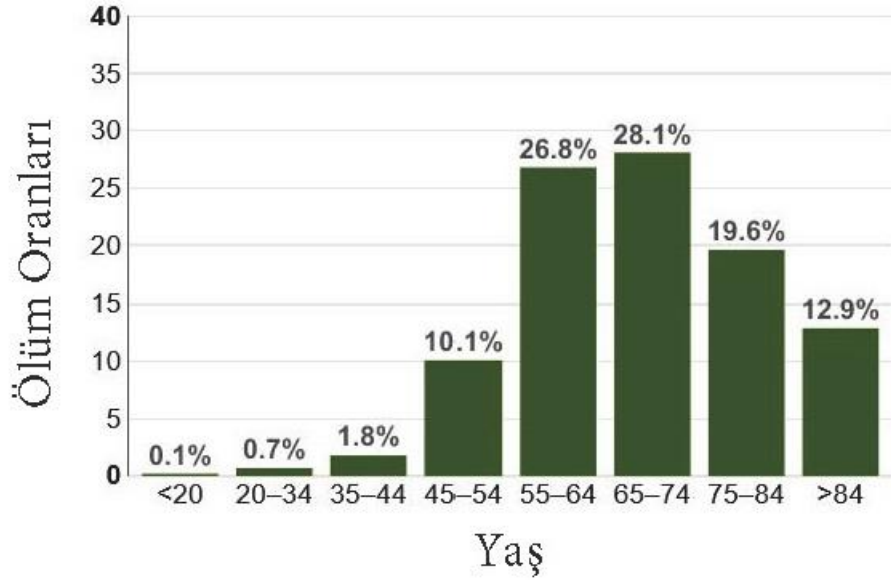
SEER verilerine göre 2008-2017 yılları arasında yeni FK tanısı konan hastaların sayısı her yıl %0,8 oranında artmış ölüm oranları ise her yıl %0,5 oranında artmıştır. (şekil 1.4) (Howlader N and Tatalovich Z 2017)

1. GİRİŞ



Şekil 1.4 1975'ten günümüze Farenks kanserleri yeni vaka ve ölüm oranları (Howlader N and Tatalovich Z 2017)'dan değiştirilerek alınmıştır.

FK nedeniyle ölüm oranlarının en fazla olduğu yaş aralığı 55-85 yaş aralığıdır ve en fazla ölüm 65-74 yaş aralığında gerçekleşmiştir ve medyan ölüm yaşı ise 68'dir (Şekil 1.5) (Howlader N and Tatalovich Z 2017)



Şekil 1.5 Yaş gruplarına göre FK ölüm oranları.(Howlader N and Tatalovich Z 2017)'dan değiştirilerek alınmıştır.

Yaygın olarak gırtlak ya da bademcik kanseri olarak bilinen orofarenks kanserleri (OFK) farenksin orta kısmındaki kanserleri ifade etmektedir ve dilin bir kısmı,

1. GİRİŞ

bademcikler ve faringeal duvarları içerirler. OFK'nın %90'i skuamöz hücreli karsinomlar olup tütün ve alkol tüketimi başlıca etken olarak gösterilmektedir (Jamal and Anjum 2020).

Nazofarenks kanserleri (NFK) de genellikle skuamöz kanserleridir ve burnu orofarenkse bağlayan yumuşak damar üzerinde bulunup küçük tübüler yapıdadır, ayrıca diğer baş ve boyun kanserlerine göre farklı davranış gösterirler. NFK agresif davranış sergilediği bilinen kanserler olmasına rağmen, son 10 yılda tedavideki gelişmeler ve erken tanı sayesinde ölüm oranlarında iyileşmeler görülmüştür (Sinha and Gajra 2020).

Hipofarenks kanserleri (HFK), içinden hava, su ve yiyeceklerin geçtiği özofagusa bağlanan boşluğu sağlayan ve konuşma fonksiyonlarında çok önemli rolleri olan farenks dokusunun en önemi kısmıdır. HFK kanserlerinin yaklaşık %95'i skuamöz hücreli karsinomlar oluşturur (Bruss and Sajjad 2020). Tüm BBSHK kanserlerinin %3-5'ini oluşturan HFK oldukça agresif bir kanserdir ve kötü prognoz göstermektedir (Hall et al. 2008). Ayrıca tüm baş boyun kanserleri arasında en kötü 5 yıllık sağ kalım oranına sahiptir ve HFK'nın vücuttaki konumundan dolayı teşhisi zordur ve hastaların %70'inden fazlasında 3. veya 4. evrede lenf bezlerine metastaz yapmasıyla teşhis edilebildiğinden erken tanı koymak zordur (Takes et al. 2012; Braakhuis et al. 2014; Marur and Forastiere 2016).

1.2.4. Farenks Kanserleri Tedavi Yöntemleri

Tüm FK'larda genel olarak, İnsan Papilloma Virüs enfeksiyonu, tümörün yeri ve nodal çevre, yaş, ırk ve cinsiyet, genel olarak prognostik faktörlerdir ve genel sağkalım için belirleyici olarak gösterilebilirler (Shin et al. 2017). NFK'lar KT ve RT'ye duyarlı olmalarına rağmen, tükürük bezleri, işitsel yapılar, optik yollar, beyin ve beyin sapı gibi birçok işlevsel organla bitişik yapıda buldukları için cerrahi rezeksiyon teknik olarak zor görülmüştür ve morbidite riskini barındırmaktadır. Bu nedenle erken evre NFK için radyoterapi yöntemleri önerilmiş ve yalnızca radyoterapi ile tedavi edilen hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranlarında iyileşme görülmüştür. İleri evredeki kanserler için ise radyoterapiye ek olarak kemoterapi yaklaşımları önerilmiştir (Zackrisson et al. 2003; Lee et al. 2005; Holliday and Frank 2016).

1. GİRİŞ

KT, NFK'lar için hem tedavi edici olarak hem de hafifletici bir seçenek olarak vazgeçilmez yöntemlerden birisidir. Ancak NFK'da sıklıkla meydana gelen bölgesel ya da uzak metastazlar tedavide kullanılan kemoradyoterapi yöntemlerinin en optimum düzeye getirilmesindeki gerekliliği ortaya çıkarmıştır. NFK'da yeni terapötiklerin kullanımını ve immünoterapi gibi yaklaşımlar ileri evredeki kanserlerde hafifletici etki göstermelerine rağmen, yapılan randomize çalışmaların sadece sağ kalım oranlarındaki iyileştirmeyi değil aynı zamanda hastalarda kemoterapötiklere karşı gelişen toksisiteyi azaltmaya yönelik yeni stratejilerin belirlenmesi de oldukça elzem gözükmektedir (Chitapanarux et al. 2007; Su et al. 2012; Tan et al. 2016).

OFK'da temel olarak cerrahi, RT, KT ya da bu yaklaşımların kombinasyonu uygulanmaktadır. Tedavi için hangi yöntemin uygulanacağı tümörün boyutu, konumu ve hangi evrede olduğunun bilinmesinin yanı sıra, hastanın beslenme durumuna, uygulanacak tedaviyi kaldırabilme yeteneğine ve isteğine bağlı değişkenlik gösterebilmektedir (Takes et al. 2010). OFK tedavisinde, iyi bilinen ve erişilebilir bölgede olan solid tümörler için cerrahi yöntemler tercih edilir, ancak erişilmesi zor bir bölgede olan ve lenf tutulumu veya metastaz yapan tümörler için cerrahi yöntemlerin uygulanması oldukça sınırlıdır. Erişilmesi zor bölgedeki kötü huylu tümörler için cerrahi yöntemler yerine RT veya KT yaklaşımları cerrahi yöntemlere göre iyi birer alternatif olarak kullanılır (Licitra et al. 2003; Hanna et al. 2013).

OFK hastaları cerrahi rezeksiyon sonrası şekil bozukluğu, disfaji ve konuşma bozukluğu gibi komplikasyonlar geliştirebilirler. RT yaklaşımları bazen hastalarda ışın alınan bölgelere özgü kalıcı hasara neden olabilmektedir. LKa hastalarında organ muhafazasına yönelik tedavi yaklaşımlarının başarısından dolayı OFK hastalarında cerrahi yöntemlere başvurmadan LKa verileri kullanılarak bazı randomize çalışmalar yapılmış ve sonuç olarak konuşma ve yutma fonksiyonlarında kayıplar azalmıştır (Sonis and Fey 2002; Chen et al. 2007; Motz et al. 2017). Ancak yine de, OFK tedavisindeki gelişmelere ve yeni tedavi yaklaşımlarına rağmen, hastalığa ileri evrelerde tanı konması sağkalım oranlarını azaltmakta, dolayısıyla, hastalığın erken evrelerde tanısının konmasına yönelik yaklaşımların sağkalım ve insidansı düşürmede etkili olduğu düşünülmektedir (Huber and Tantiwongkosi 2014).

1. GİRİŞ

HFK tedavisi, özellikle klinisyenlerin tedavi kararlarında yönlendirecek çok az kanıt bulunması nedeniyle yapılan randomize çalışmaların yetersizliği ve hastanın nefes alma, ses ve yutma gibi işlevleri üzerinde potansiyel etkilere sahip olması nedeniyle oldukça zordur. Mevcut veriler daha yaygın baş ve boyun kanserlerinden olan larenks ve orofarenks kanserli hastalardan elde edilen verilerdir ve tedavide kullanımları sonucunda benzer sonuçlar göstereceği düşünülmüştür. Ancak tedavi kararının, hastaların fiziksel durumları, ameliyat edilebilme durumları, hastalığın morbiditesi ve hastaların tercihlerine göre kişiselleştirilmesi gerekir. Bu veriler tedavi seçimi için kolaylık sağlayabilmektedir.(de Bree 2019)

Erken evredeki HFK için RT ve açık cerrahi işlemler ile tedavi sağlanmasına rağmen, ileri evredeki HFK eğer işlev kaybına dair bir kanıt göstermiyorsa cerrahi olmayan yöntemler ile RT/KT kombinasyonlarıyla tedavi edilebilmektedir. Ancak genel olarak organ muhafazası için cerrahi yöntemler yerine KT ve RT tedavi yaklaşımları kullanılmaktadır (Forastiere et al. 2003; Gourin et al. 2009).

Cerrahi ve kemo-radyoterapideki son gelişmelere rağmen hem larenks hem de hipofarenks kanserli hastaların ortalama sağ kalım oranlarında bir değişme olmamıştır(Baek et al. 2010; Shah et al. 2012; Cho et al. 2017). Çünkü, bu iki kanser türü de uzak bölgelere metastaz yapabilen ve hastalığın ilk evrelerinde kuvvetli belirteçleri olmayan daha çok ileri evrelerde tanısı konulabilen baş ve boyun kanseri türleridir. Dolayısıyla, metastazı önlemek ve hastaların yaşam sürelerini iyileştirmek için yeni stratejiler ve etkili metotlar geliştirmek gerekmektedir. Yeni tedavi yöntemlerinin gelişimini ilerletmek için de önemli biyobelirteçleri keşfetmek bir zorunluluk haline gelmiştir.

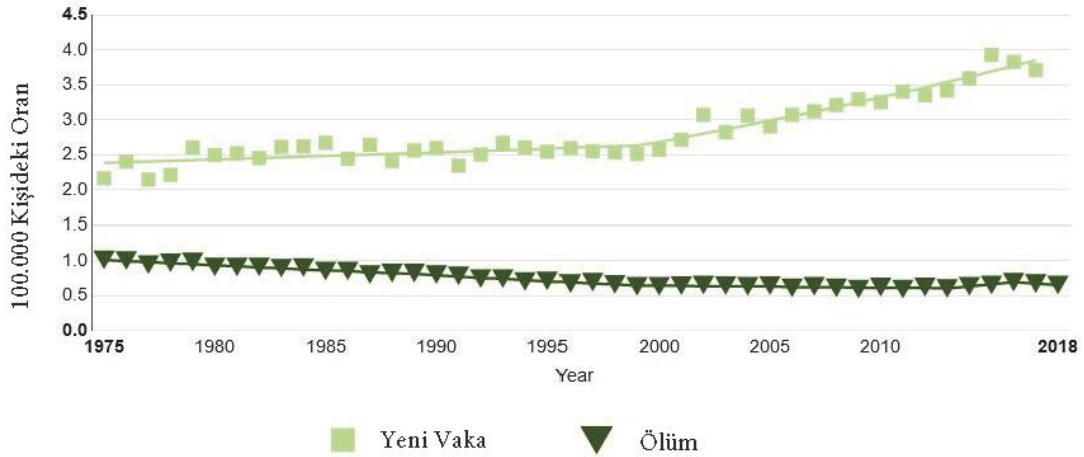
1.2.5. Dil Kanserleri

Ağız içi kanserleri, melanomlar dışındaki deri kanserleri dışında baş boyun bölgesinde en yaygın görülen ağız neoplazmalar arasındadır. Dil, dudak ve ağız bölgesinin tabanıyla beraber ağız boşluğu içinde en sık tutulan bölgeleri temsil etmektedir. Dil'in yaklaşık 2\3'ü ağız boşluğunun içinde kabul edilirken 1\3'lik kısmı ise orofarenksin bir alt bölgesi olarak kabul edilmektedir(Gonzalez and Riera 2020). Dil

1. GİRİŞ

Skumöz Hücreli Karsinom (DSHK)'lar yüksek metastaz ve proliferasyon kabiliyetine sahip en yaygın görülen oral malinitelerden birisidir(Lao et al. 2016; Qiu et al. 2016; Tsushima et al. 2016; Zhang et al. 2016) ve genellikle konuşma, çiğneme ve yutma fonksiyonlarında bozukluklara yol açar(Gao et al. 2016; Han et al. 2016; Shegefti et al. 2016). DSHK genellikle ilerleyen yaşlardaki erkeklerde tütün ve alkol kullanımının kümülatif etkisiyle ortaya çıkan bir hastalık olarak kabul görmesine rağmen, son zamanlardaki veriler ilginç bir şekilde herhangi bir etkene maruz kalmayan genç yaştaki erkeklerde de hastalığın insidansının arttığını göstermiştir(Nasser and St John 2020).

DSHK'lı hastalarda kanserin erken teşhisi 5 yıllık sağ kalımda artış sağlamasına rağmen DSHK her geçen yıl artan insidansa sahiptir ve kötü prognoz göstermektedir (Bello et al. 2010; Patel et al. 2011; Sahingur and Yeudall 2015). SEER veritabanından alınan bilgilere göre 2013-2017 yılları arasında her yıl ortalama %2,1 oranında yeni vaka sayısında artış meydana gelmiş ve 2014-2018 yılları arasındaki ölüm oranları arasında anlamlı derecede bir fark görülmemiştir (Şekil 1.6)(Howlader N and Tatalovich Z 2017)

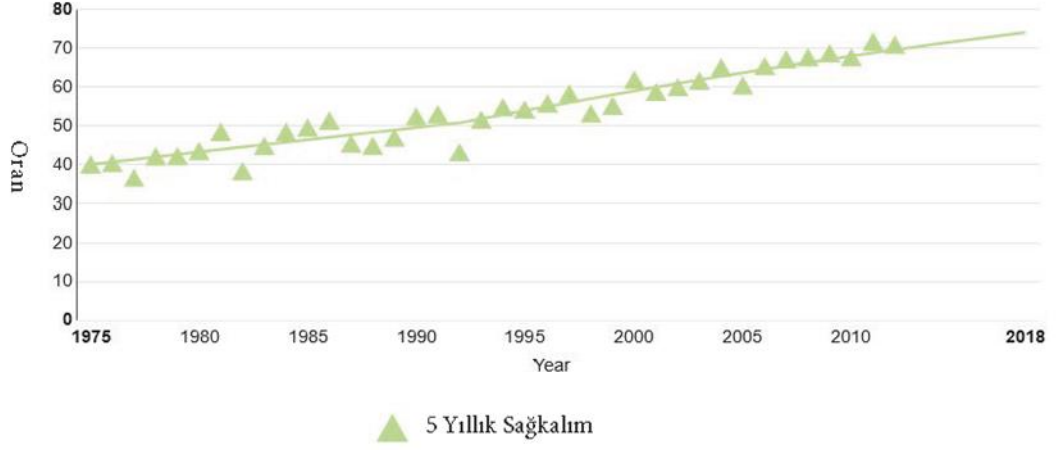


Şekil 1.6 Dil kanseri yeni vaka ve ölüm oranları.(Howlader N and Tatalovich Z, 2017)'dan değiştirilerek alınmıştır.

SEER verilerine göre son 30 yılda DSHK insidansı artış göstermiş, ölüm oranlarındaki azalma ise anlamlı derecede azalma göstermemiştir. Son 30 yıllık verilerde 5 yıllık sağkalım artış trendi göstermesine rağmen son yıllarda ortalama %67,1

1. GİRİŞ

seviyelerindedir ve anlamlı bir gelişim göstermemiştir (Şekil 1.7) (Howlader N and Tatalovich Z 2017)



Şekil 1.7 1975'ten günümüze DSHK 5 yıllık sağkalım oranları.(Howlader N and Tatalovich Z, 2017)'dan değiştirilerek alınmıştır.

1.2.6. Dil Kanseri Tedavi Yaklaşımları

DSHK'lar oldukça agresif tümörlerdir ve tümörün hangi evrede olduğu, lezyonun boyutu, teşhis sırasında metastazların varlığı ve anatomik olarak tümörün bulunduğu yer gibi birçok faktörle tümörün agresifliği ilişkilendirilmiştir. Cerrahi müdahale, RT ve KT'yi içeren DSHK tedavisi büyük ölçüde tümörün konumuna, hastanın fizyolojik durumuna, klinik olarak hangi aşamada olduğuna bağlıdır(Brandizzi et al. 2008; Honorato J 2009). Tedavide hastaların iyileşmesini sağlamak için erken teşhis ve erken tedavi DSHK tedavisinde başarının sağlanmasında anahtar rol üstlenen iki önemli etmendir(Zhu et al. 2019).

Klinik özellikleri bakımından değerlendirildiğinde DSHK diğer BBSHK'lara benzer özellikler göstermektedir ve dil kanserleri için birincil tedavi yaklaşımı genellikle cerrahi yöntemlerdir. Bununla birlikte bölgesel olarak ilerlemiş evredeki kanserlerde geç tanı konmasından dolayı hastanın yaşam kalitesini arttırmak için cerrahi yöntemler tedavi seçeneği olarak tercih edilmemektedir. RT ve KT genellikle adjuvan olarak uygulanmaktadır ve bu yöntemler tek seçenekli olarak tedavide nadiren kullanılırlar. RT

1. GİRİŞ

ve KT tedavisinde ciddi toksik etkilerin olduğu kanıtlanmıştır (Al-Sarraf et al. 1987; Adelstein et al. 2003; Abu-Ghanem et al. 2016; Tsushima et al. 2016).

Cerrahi, RT, KT ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinde gelişmelere rağmen hastalığın ileri evrede tanısının konması DSHK'larda 5 yıllık sağkalımda iyileşme sağlayamamıştır. DSHK'larda hem sağkalım hem de tedavi sürecinin hastalar için rahat geçirilmesi açısından erken tanı önem arz etmektedir, dolayısıyla, DSHK'da yeni tanı ve tedavi stratejilerini keşfetmek kanserin oluşum sürecinin moleküler mekanizmalarını tanımlamak birincil derecede önemlidir(Zhang et al. 2017; Nóbrega et al. 2018).

1.3. Taksol (Paklitaksel)

1960 ve 1981 yılları arasında Ulusal Kanser Enstitüsü ve A.B.D Tarım bakanlığı tarafından antikanser aktiviteye sahip doğal bileşikleri test etmek ve tanımlamak için bitki tarama üzerine bir iş birliği yapılmıştır. Bu taramalar sonucunda, *Taxus Brevifolia*'dan elde edilen örneklerin kabuk özütlerinin sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Daha sonra izole edilen bu özütlerin aktif bileşenleri tanımlanmış ve içerisinde hidroksil gruplar barındırdığı ortaya çıkarıldığından taksol ismini almıştır (Weaver 2014). İlk yapılan çalışmalarda taksolün G2/M fazında hücre döngüsü durdurulmuş olan hücrelerle çalışıldığında replikasyonu ve hücre göçünü durdurduğu gösterilmiştir. Taksol hücre bölünmesi için elzem olan iğ ipliklerinin oluşumunu sağlayan mikrotübül ile tübülün proteinleri arasındaki dengeyi bozduğu ve mikrotübülün oluşturulması için gerekli olan kritik seviyedeki tübülün konsantrasyonunu azaltarak hücre döngüsünü durdurmayı sağladığı ortaya çıkarılmıştır(Schiff and Horwitz 1980; Schiff and Horwitz 1981). Taksol mitotik durdurma işlevini mitozdaki kontrol noktasından sağlar, mitoz bölünmede, metafaz evresinde ekvatorial düzlemde dizilen kromozomlar anafaz evresinin başlamasıyla birbirinden ayrılır ve iğ iplikleri aracılığıyla zıt kutuplara doğru çekilirler, bu aşamada kromatitlerin iki hücreye eşit olarak dağılabilmesi için her kromatit, kinetokor bölgesinden mikrotübüllere (iğ ipliklerine) bağlanmış olması gerekir. Kontrol noktası kinetokor bölgelerine iğ ipliklerinin bağlanıp bağlanmadığını kontrol eder ve sıkı şekilde bağlanmamış olan iğ ipliklerini tanır anafaz uyarıcı kompleks olarak bilinen siklozom kompleksini inhibe ederek mitoz bölünmeyi geciktiren bir sinyal yolağını aktive eder ve böylece hücre siklusu mitozda durdurulur. Taksol ile yapılan tedavide

1. GİRİŞ

kinetokorlara sıkıca bağlanmamış iğ iplikleri sayesinde mitozdaki hücrelerin bölünmeleri durdurulur (Waters et al. 1998; Kops et al. 2005; Lara-Gonzalez et al. 2012).

Taksol, birçok farklı mekanizma ile hücreleri apoptoza götüren bir kemoterapötik anti-mitotik ajandır ve yumurtalık, meme, akciğer kanserleri ve baş boyun kanserleri başta olmak üzere birçok farklı kanserin tedavisinde kullanılmaktadır (Rowinsky et al. 1992; Sarosy et al. 1992; Rowinsky and Donehower 1995; Xu et al. 2013; Xie et al. 2015). Taksan grubu kemoterapötiklerin neoadjuvan terapi olarak baş boyun kanserli hastaların tedavisinde kullanılması ile ilişkili yapılan bir çalışmada, larenksin yapısının korunması ve tedaviye yanıt verme oranlarında iyileşme sağlamasından dolayı taksan grubunun neoadjuvan terapi yaklaşımı ile tedavilere dahil edilmesi ve baş boyun kanserlerinin tedavisi için standart tedavi yaklaşımı olarak kullanma potansiyelini ortaya çıkarmıştır (Salvador-Coloma and Cohen 2016). Ancak, Taksanlar BBSHK tedavisi için yaygın şekilde kullanılmasına rağmen, bu kanser türlerinde kullanımı için kesin bir prosedür bulunmamaktadır. Bununla beraber tedavide en büyük engellerden biri yaygın olarak görülen OFK ve NFK kanser hücrelerinin ilaca direnç kazanmasıdır ve bunun sonucunda ise tümörün ilerlemesi ve uzak bölgelere metastaz yapması gibi istenmeyen sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (Mody et al. 2016; Woo et al. 2017; Gao et al. 2018; Zhang et al. 2019).

1.3.1. Taksol Direnç Mekanizmaları

Kemoterapiye direnç, kanser kök hücrelerin varlığı, ilacın hücredeki metabolizmasındaki değişiklikler, alternatif sinyal yolları ve tümör heterojenliği gibi birçok farklı unsur aracılığıyla gerçekleşir ve tedavi sürecinde büyük sorunlar oluşturur (Ramos and Bentires-Alj 2015; Pan et al. 2016).

Taksol direnç mekanizmalarından en bilineni ABC taşıyıcı protein ailesine ait olan P-gp aracılığıyla olmaktadır. Bazı kanser hücreleri bu proteini yüksek seviyede ifade eder ve bunun sonucunda bir atım pompası aracılığıyla Taksol hücreden dışarı atılarak hücre içi konsantrasyonu azaltılır (Gottesman and Pastan 1993; Bradley and Ling 1994). Taksol metabolizması dahil birçok kemoterapi ilacının metabolize ya da aktive edilmesinde görevli olan Sitokrom P450 (CYP) proteinleri vardır, bu proteinler hücre

1. GİRİŞ

içine giren ilaçların metabolize edilmesinden sorumludur. CYP proteinleri hem normal dokuda hem de kanserli dokuda bulunabilir. CYP proteinlerinin kanserli dokuda ifade edilmesi metabolizma etkinliğini sınırlandırıp hücre içinde taksol konsantrasyonlarını düşürebilir, bu durumda hücrede taksol miktarı azaldığından tedavide etkinliğinin düşmesi kanserli hücrelerin taksol'e direnç geliştirmesi ile ilişkilendirilmiştir (Jibodh et al. 2013; van Eijk et al. 2019).

Taksol iğ ipliklerinin oluşmasında görevli olan tübülün proteinleri ve mikrotübüller arasındaki dengeyi bozarak hücreyi mitoz bölünme aşamasında durdurur ve anti-mitotik olarak davranır. Hücrede tübülün proteinlerinin birçok izotipi mevcuttur ve her farklı tübülün formunun taksol'e bağlanma afinitelerinin de farklı olduğu gösterilmiştir. Hücredeki tübülün proteini izotiplerinden herhangi birinde mutasyon meydana gelmesi sonucu aşırı ifade edilmesi taksol'e bağlanma afinitesini artırıp kanserli hücrede Taksol'ün anti-mitotik yanıtını azaltabilir. Özellikle Tübülün β III izoformunun aşırı ifadesi birçok kanser türünde Taksol'e direnç ile ilişkilendirilmiştir (Schiff and Horwitz 1980; Kampan et al. 2015; Parker et al. 2017). Hipoksi durumunda hücrede birçok değişiklik meydana gelmektedir. Olumsuz oksijen koşullarında hayatta kalmak için, tümör hücreleri Bcl-2 ailesinin üyeleriyle HIF1- α etkileşimi sonucu pro-apoptotik mekanizmaların azalmasına sebep olur ve dolayısıyla bu durum taksol aracılığıyla gerçekleşen apoptozun azalmasını da sağlayacaktır. Ayrıca HIF1- α 'nın aşırı ifade edilmesi epitel-mezenkimal geçiş(EMT) ve kök hücre ile ilişkili proteinlerin ifadesini uyarmaktadır, bu durum Taksol etkinliğini azaltır ve Taksol ile uyarılan apoptoza karşı direnci artırmaktadır (Sermeus et al. 2012; Karakashev and Reginato 2015).

1.4. FGFR

Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR)'ler ligandları fibroblast büyüme faktörleriyle etkileşime geçerek birçok hücre içi sinyal yolağını aktif hale getiren reseptör tirozin kinaz ailesinin üyeleri olup, hücre büyümesi, doku tamiri, anjiyogenez ve embriyonik gelişim de dahil olmak üzere hücredeki birçok süreçte görevleri olan hücre zarına bağlı proteinlerdir (Haugsten et al. 2010; Turner and Grose 2010; Huang et al. 2014).

1. GİRİŞ

Fibroblast Growth Factor (FGF) ligandlarının 4 adet reseptörü vardır (FGFR1-4) ve ligandın reseptöre bağlanması sonucu hücre zarına bağlı olan FGFR'ler monomer halde iken dimer hale gelip aktifleşirler ve kinaz aktivitelerinden dolayı otofosforilasyon meydana gelir. PI3K/AKT, MAPK ve dolaylı olarak Wnt sinyal yollarını aktifleştirerek büyüme, çoğalma farklılaşma ve göç gibi birçok süreçte görev alırlar(Jang et al. 2001; Itoh and Ornitz 2011; Katoh and Nakagama 2014; Qian et al. 2014). Reseptörün aşırı seviyede ifade edilmesi, transkripsiyonel düzenlemelerin bozulması ve gen amplifikasyonları, FGFR sinyalinde düzensizliklere neden olur ve gastrik kanser başta olmak üzere birçok kanser türünde gösterilmiştir (Turner and Grose 2010; Jemal et al. 2011). Ayrıca bu sinyal yolundaki düzensizlikler, mesane kanseri ve sarkomalar dahil olmak üzere birçok kanser türünde ilişkilendirilmiş olup, reseptörün aşırı ifade edilmesi sonucu epitelyal mezankimal geçişe, metastaza, hastalığın ilerlemesine ve yayılmasına da katkı sağlayıp onkogenik koşullar oluşturabilir (van Rhijn et al. 2002; Taylor et al. 2009; Haugsten et al. 2010). Benzer şekilde, FGFR1 geninin aşırı ifade edilmesi erkeklerde prostat kanseri ve kadınlarda meme kanseri ile ilişkilendirilmiştir (Giri et al. 1999; Chin et al. 2006; Haugsten et al. 2010).

FGF/FGFR reseptörü sinyal yolunun meme, multipl myeloma, mesane ve prostat kanserleri de dahil olmak üzere diğer birçok kanser türünde aktifleştiği görülmüştür(Gavine et al. 2012), Ancak literatürü taradığımızda Larenks ve Hipofarenks dahil Baş ve Boyun kanserlerinde FGFR2 ile ilişkili AKT yolağının aktifleşmesi ile alakalı yeterince bilgi olmadığı açıktır.

1.5. AZD4547

AZD4547 FGFR'lerde yüksek oranda korunmuş olan kinaz domainindeki ATP bağlayıcı yarığı geri dönüşümlü bir şekilde işgal ederek kinaz aktivitelerini engelleyen bir inhibitördür. Bu FGFR inhibitörleri FGFR'leri ve FGFR'lerin doğrudan etkilediği hedeflerin fosforilasyonunu azaltır (Norman et al. 2012; Klein et al. 2014; Katoh 2016).

AZD4547, meme kanseri fare modellerinde yapılan in vivo çalışmalarda memeli epitelyal hücre çoğalmasını baskıladığı ve özellikle de kendiliğinden gelişen tümör hücrelerinde meydana gelen kanser kök hücresi benzeri özellikleri bozduğu ortaya

1. GİRİŞ

çıkartılmıştır, Üstelik meme dokularında RTK, mTOR ve Wnt/ β -katenin sinyal yollarını baskıladığı gösterilmiştir, dolayısıyla AZD4547 meme kanserinde tedavi edici etkileri ortaya çıkarılmış olup bu veriler ön klinik kanıtlar sağlamaktadır (Zhao et al. 2017). Özofagus kanseri hücre hatları kullanılarak yapılan bir çalışmada AZD4547'nin epitelyal-mezenkimal geçişi uyararak kanser kök hücresi benzeri hücreleri çok etkili bir şekilde azalttığı gösterilmiştir(Maehara et al. 2017). AZD4547 ile muamele sonrasında FGFR2 ifadesinin artmış olduğu ilaca duyarlı olan birçok kanserli hücre hattında yapılan gen ifade profillemeye analizlerine göre FGFR sinyalinin inhibe edilmesinde etkili olan yollar belirlenmiş ve bu yolların RAS/MAPK ve PI3K/AKT sinyal yolları ile ilişkili olduğu ortaya çıkarılmıştır(Delpuech et al., 2016). AZD4547, reseptör tirozin kinaz ailesine ait olan FGFR'leri ve bunların hedeflerinin fosforilasyonunu azaltarak RAS-ERK, PI3K-AKT sinyal yollarındaki birçok hedefi inaktif hale getirir (Kato 2016).

AZD4547 yapılan birçok çalışmada etkinliği gösterilmiştir. AZD4547, lenfomalar, gliomalar, akciğer kanserleri ve meme kanserlerinin tedavisinde kullanılması için klinik çalışmalar devam etmekte olup faz çalışmalarında bu kanserlerde 2. ve 3. aşamalara gelinmiştir. Ancak baş ve boyun kanserleri için yapılan herhangi bir klinik çalışma mevcut değildir (Anonim 2013; Anonim 2016a; Anonim 2016b).

Bu doğrultuda tez çalışmamızda, BBSHK hücre hatlarında FGFR ve FGFR'nin aktive ettiği sinyal yollarından olan hedef PI3K/AKT yolağının protein düzeyinde araştırılması ve taksol direncindeki rolünü, gelişen direnç mekanizmasının nasıl olduğunu ve taksol ve AZD4547'den oluşan kombine tedavinin BBSHK hücre hatlarındaki bu direnç mekanizmasının üstesinden gelmeye olan etkilerini araştırdık.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Koole et al. 2016 AZD4547, FGFR1'in aşırı ifade edildiği baş ve boyun kanseri hücre hatlarında tümör hücre çoğalmasını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca AZD4547'ye dirençli olan baş ve boyun kanseri hücre hatlarında AZD4547 ve Gefitinib ilaçlarının kombine uygulamasının etkili olduğu ve hücre çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir.

Feng et al. 2017 AZD4547 prostat kanseri hücrelerinde yapılan bir çalışmada, AKT kinaz inhibitörü AZD5363 ile kombine edilerek kullanıldığında FGFR'nin aktifleştirdiği birçok sinyal yolağının başarılı bir şekilde inhibe ettiği gösterilerek, malin fenotipe sahip ilerlemiş prostat kanser tedavisinde etkili olabildiği öne sürülmüştür.

Luo et al. 2018 Özofagus kanseri hücre hattı TE10 ve EC9706 hücrelerinde gefitinib ve AZD4547'nin etkilerini görebilmek için yapılan hücre canlılık, western Blotlama ve akış sitometrisi benzeri deneylerin sonucunda gefitinibin tek başına uygulamasına kıyasla AZD4547 kombine uygulamasının hücre canlılığını ve koloni oluşturma potansiyelini daha etkili bir şekilde inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği büyük oranda ortaya konulmuş, ayrıca AZD4547 ile yapılan kombine uygulamada p-AKT ve ERK1/2'nin fosforilasyonunun başarılı bir şekilde inhibe edildiği ortaya çıkarılmıştır.

Liu et al. 2019 Transgelin-2'nin meme kanserinde aşırı ifade edilmesi hücre göçünü ve metastazı arttırıp taksol duyarlılığı azaltmıştır ve bu durum taksol direnci ile ilişkilendirilmiştir. Transgelin-2'nin doğrudan PTEN ile etkileşerek PI3K/AKT yolağını aktifleştirmesi sonucunda Taksol direncinin gelişmesine katkı sağladığı ve hücreleri metastaza teşvik ettiği gösterilmiştir.

Kim et al. 2018 Ürotelyal kanserlerde FGFR1'in epitelyal mezenkimal geçişi uyardığı ve bu durumun, Taksol direnciyle ilişkili olduğu düşünülmüştür. Yapılan deneylerde taksol ve FGFR1 inhibitörü BGJ398'in eş zamanlı uygulanmasının epitel mezenkimal geçiş ile ilgili faktörlerin düzenlenmesi vasıtasıyla UC hücre göçünü ve koloni oluşumunu sinerjistik olarak baskıladığı görülmüştür. Ek olarak, FGFR1 geninin susturulması, taksolün etkinliğinin artmasını sağlamıştır. Bu bulgular, FGFR1 sinyal

2. KAYNAK ÖZETLERİ

yolunun inhibe edilmesi sonucu ürotelyal kanserlerde taksol direncinin üstesinden gelmek için temel bir strateji olabileceğini göstermiştir.

Quan et al. 2020 Pankreas kanserinde FGF/FGFR sinyal yolunun inhibe edilmesinin *in vitro* şartlarda hücrelerin küre oluşturma yeteneklerini azalttığı gösterilmiştir. Aynı zamanda FGFR1 ve FGFR2 genlerinin susturulması sonucu *in vivo* şartlarda tümör oluşturma yeteneklerinin azaldığı gösterilmiştir. FGFR sinyalindeki azalma AKT ve SOX2 genlerinin ifade düzeyinde azalmaya sebep olmuştur ve hücrelerin küre oluşturma yeteneklerinde azalma meydana geldiği görülmüştür. Bu sonuçlar değerlendirildiği zaman FGFR/AKT/SOX2 aksisinin pankreas kanserinde kemoterapiye direnç gelişiminde büyük rol oynayan kanser kök hücre oluşumlarını düzenlemede etkili olduğu görülmüştür ve agresif pankreas kanserinde önemli bir terapötik hedef olabileceği gösterilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu tez çalışmasının her basamağı, Erzurum Teknik Üniversitesi, Yüksek Teknoloji ve Araştırma Merkezi (YÜTAM) laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan cihazlar Çizelge 3.1’de, kullanılan kitler, kimyasal maddeler ve sarf malzemeler ise Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazların listesi.

Materyal	Marka	Kullanım amacı
Derin Dondurucu (-20°C)	Temprow	-20’de saklanması gereken kimyasalların depolanması için kullanıldı.
Buzdolabı (4°C)	Edesa	+4°C’de saklanması gereken kimyasallar, besiyerleri için kullanıldı.
Derin Dondurucu (-80°C)	ESCO Lexicon®	Dondurulan hücrelerin, kullanılan ilaçların stoklanması için kullanıldı.
Epoch Spektrofotometre	BioTek EPOCH	Hücre canlılık testlerinde formazan kristallerinin oluşturduğu boyanın absorbans ölçümünde kullanıldı.
Laminar air-flow (Class II Safety Cabinet)	ESCO NordicSafe™	Tüm hücre kültürü çalışmalarında steril bir ortam sağlanması için kullanıldı.
CO ₂ İnkübatör	ESCO Celculture CO ₂ Incubator	Kültüre alınan hücrelerin inkübasyon süreleri boyunca insan vücut ortamını taklit etmek amacıyla kullanıldı.
TC20™ Automated Cell Counter	BioRad	Hücrelerin sayılması için kullanıldı

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Mikropipet	Axypet	Tüm deneylerde kullanılacak sıvı malzemelerin miktarlarını hacimsel olarak doğru şekilde elde etmek amacıyla kullanıldı.
Mini Santrifüj	WiseSpin	Hücrelerin kaldırıldıktan sonra çöktürülmesinde kullanıldı.
Soğutmalı Santrifüj	Hettich Zentrifugen	Protein izolasyonunun son aşamasında proteinleri diğer hücre bileşenlerinden ayırmak için kullanıldı.
Vorteks	Wisd Wisemix VM-10	Katı-Sıvı karışımları homojenize etmek için kullanıldı. (Süt Tozu, BSA vb.)
Otoklav	Tomy SX-500E	Kullanılan tüm materyali sterilize etme işleminde kullanıldı.
İnvert Mikroskop	Leica	Hücrelerin görüntülenmesinde ve klon görüntülerinin çekilmesinde kullanıldı.
Su Banyosu	Wisd WiseBath	Hücre kültüründe kullanılacak materyallerin vücut ısısına getirilmesinde kullanıldı.
Saf Su Cihazı	Millipore Direct- Q-3 UV	Hazırlanan birçok kimyasalın çözücüsü olarak kullanıldı.
Isıtıcı-soğutucu Kuru Blok	Bioer, ch 202	Proteinlerin kaynatılmasında kullanıldı.
Jel Görüntüleme Cihazı	Bio-Rad ChemiDoc	Western Blot görüntülerinin alınmasında kullanıldı.
Blotlama Cihazı	Bio-Rad Trans-Blot® Turbo™	Western blot deneyinde proteinlerin jelden membrana transferi için kullanıldı.
Masaüstü pH Metre	Adwa, AD1000	Hazırlanan solüsyonların pH'sının ayarlanmasında kullanıldı.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Analitik Terazı (0,0001)	Shimadzu ATX 224	İlaçların ve diğer kimyasalların hassas bir şekilde tartımını sağlamak için kullanıldı.
--------------------------	------------------	---

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kitler, sarf malzemeler ve kimyasalların listesi.

Materyal	Alınan Firma	Kullanım Amacı
96 kuyucuklu plate	Corning® Costar®	Hücre canlılık testlerinde hücrelerin ekilmesi için kullanıldı.
6 kuyucuklu plate	Corning® Costar®	Protein izolasyonu, yara kapatma testi ve koloni oluşturma testinde hücrelerin ekilmesi için kullanıldı.
RPMI 1640 besi yeri	Gibco®	Hep-2, FaDu, Detroit-562 hücreleri için besiyeri olarak kullanıldı.
DMEM F12 besi yeri	Gibco®	SCC-9 hücreleri için besiyeri olarak kullanıldı.
Tripsin	Gibco®	Hücrelerin pasajlama aşamasında tutundukları yüzeyle bağlantısını kesmek için kullanıldı.
Fetal Bovine Serum (FBS)	Gibco®	Hücrelerin büyümesi ve çoğalması için gerekli faktörleri içeren serum olarak kullanıldı.
Penisilin-Streptomisin	Gibco®	Antibiyotik Bileşeni olarak besiyerini kontaminasyona karşı korumak için kullanıldı.
L-Glutamin	Sigma-Aldrich®	Kültürde hücrelerin büyümesini destekleyici olarak kullanıldı.
Phosphate Buffered Saline (PBS) 1x	EcoTech Biotechnology	İzotonik tampon çözelti olarak hücre kültüründe, protein izolasyonunda, Western Blot ve koloni oluşturma testinde yıkama ve FBS kalıntılarını

3. MATERYAL ve YÖNTEM

		uzaklaştırmak amacıyla kullanıldı.
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Sigma-Aldrich®	Kullanılan ilaçların çözücüsü olarak ve hücrelerin stoklanmasında kullanıldı.
İzopropanol	Sigma-Aldrich®	SDS jelinin hazırlanmasında kullanıldı.
Metanol	Sigma-Aldrich®	Hücreleri yüzeye sabitlemek(fiksasyon) için kullanıldı.
Nitroselüloz Membran	Sigma-Aldrich®	Proteinlerin jelden transferi için kullanıldı.
Whatman Kâğıdı	Sigma-Aldrich®	Western Blot transfer aşamasında sandviç modeli oluşturmak ve tamponun akışını sağlamak için kullanıldı.
RIPA Lizis Buffer	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)	Protein izolasyonunda hücreleri parçalamak için kullanıldı.
Laemmli Sample Buffer 10x	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)	Protein örneklerinin hazırlanması için kullanıldı.
Süt Tozu	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)	Membranı bloklamak için kullanıldı.
BSA	BioShop	Membranı bloklamak ve primer antikoru hazırlamak için kullanıldı.
PMSF	Roche	Protein izolasyonu aşamasında hücre içinde proteinlerin serin proteazlar tarafından parçalanmasını engellemek için kullanıldı.
Proteaz İnhibitör Kokteyl	Thermo Scientific®	Protein izolasyonunda Proteinleri parçalayan proteazları inhibe etmek için kullanıldı.
Crystal Violet	Sigma-Aldrich®	Koloni testinde hücreleri boyamak için kullanıldı.
Cell Viability Detection Kit-8	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)	Hücre canlılığını belirlemek için kullanıldı.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

ClearBand ECL Western
Blot Substrat

EcoTech Biotechnology ®
(Turkey)

Peroksidaz enziminin substratı olarak antijen-antikor ilişkisinin ve miktarının belirlenmesinde ve görüntülenmesinde yardımcı olması amacıyla kullanıldı.

β -aktin Antikor

Santa Cruz
Biotechnology®

Membrandaki büyük bir protein havuzundan araştırmaya konu olan proteini saptamak ve ölçmek amacıyla belirli bir proteine spesifik olarak bağlanmayı sağlaması amacıyla kullanıldı.

p-AKT Antikor

Santa Cruz
Biotechnology®

Membrandaki büyük bir protein havuzundan araştırmaya konu olan proteini saptamak ve ölçmek amacıyla belirli bir proteine spesifik olarak bağlanmayı sağlaması amacıyla kullanıldı.

p-Gsk3 β Antikor

Santa Cruz
Biotechnology®

Membrandaki büyük bir protein havuzundan araştırmaya konu olan proteini saptamak ve ölçmek amacıyla belirli bir proteine spesifik olarak bağlanmayı sağlaması amacıyla kullanıldı.

SOX2 Antikor

Santa Cruz
Biotechnology®

Membrandaki büyük bir protein havuzundan araştırmaya konu olan proteini saptamak ve ölçmek amacıyla belirli bir proteine spesifik olarak bağlanmayı sağlaması amacıyla kullanıldı.

P-FGFR Antikor

Cell Signaling Technology

Membrandaki büyük bir protein havuzundan araştırmaya konu olan proteini saptamak ve ölçmek amacıyla belirli bir proteine spesifik olarak

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Anti-Mouse Sekonder Antikor	Santa Cruz Biotechnology®	bağlanmayı sağlaması amacıyla kullanıldı. Membrandaki büyük bir protein havuzundan araştırmaya konu olan proteini saptamak ve ölçmek amacıyla belirli bir proteine spesifik olarak bağlanmayı sağlaması amacıyla kullanıldı.
Anti-Rabbit Sekonder Antikor	Santa Cruz Biotechnology®	Membrandaki büyük bir protein havuzundan araştırmaya konu olan proteini saptamak ve ölçmek amacıyla belirli bir proteine spesifik olarak bağlanmayı sağlaması amacıyla kullanıldı.
Ponceau S	EcoTech Biotechnology® (Turkey)	Transfer aşamasından sonra membrandaki proteinleri görünür hale getirmek için kullanıldı.
Trizma Base	Sigma-Aldrich® (Germany)	SDS-jelinin hazırlanmasında kullanıldı.
Akrilamit	BioShop	Jelin polimerleşmesi için kullanıldı.
Bis-akrilamit	Sigma-Aldrich® (Germany)	Jelin polimerleşmesi için kullanıldı.
N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (TEMED)	Sigma-Aldrich® (Germany)	Akrilamidin polimerizasyonunu katalizlemek amacıyla kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Hücre Kültürü ve Taksol Dirençli Hücrelerin Geliştirilmesi

Tez kapsamında kullanılan Hep-2 hücreleri Şap Enstitüsü kültür koleksiyonundan, FK hücre hattı Detroit-562 Adana Alparslan Türkeş Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü'nden Dr. Öğr. Üyesi Sibel Öztaş'tan ve HFK hücre hattı FaDu ile DSHK hücre hattı SCC-9 ATCC® hücre kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Hep-2, FaDu ve Detroit-562 hücre hatları %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin ve %1 L-Glutamin eklenerek hazırlanan RPMI-1640 besiyeri içerisinde ve 37°C'de %5'lik CO₂ ortamında kültür edilerek çoğaltıldı. SCC-9 Hücre hattı %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin, %1 L-Glutamin ve 400 ng/ml konsantrasyonda hidrokortizon eklenerek hazırlanan DMEM F12 besiyeri içerisinde ve 37°C %5'lik CO₂ ortamında kültür edilerek çoğaltıldı. Tüm hücreler her 2-3 günde bir, hücre yoğunluğuna ve yapılacak deneylerin amacına göre pasajlandı.

Hep-2 hücrelerine direnç kazandırmak için ilk olarak hücreler pasajlandıktan sonra yüzeye tutunan hücrelerin ortalama %30-40 oranında yoğunluğa sahip olması muamele edilecek ilacı metabolize etmeleri açısından oldukça önemlidir. 1 gün sonra tutunan hücrelere düşük konsantrasyondan başlanarak taksol verildi. Hep-2 hücreleri için direnç geliştirmeye 3nM taksol konsantrasyonu ile başlandı. Taksol ile 24 saat muamele edilen hücreler mikroskop altında, çoğalma hızları ve morfolojileri baz alınarak gözlemlendi. Verilen taksol konsantrasyonları hücreleri çok fazla etkileyip öldürdüğü zaman hücreler toparlanıncaya kadar normal besiyeri ile muamele edildiler. Taksol, hücrelerin morfolojik yapısını ve çoğalma hızını etkilemediği gözlemlendiği zaman 48 saat taksol içeren besiyeri ile muamele edildikten sonra tekrar hücreler toparlanıncaya kadar normal besiyeri ile muamele edildiler. Hücreler pasajlanarak dirençli hale gelen hücrelerin seçilimi sağlandı ve çoğalan yeni hücre neslinin verilen taksol konsantrasyonuna dirençli olduğunu teyit etmek için hiç taksol verilmemiş hücreyle aynı taksol konsantrasyonunda muamele edildi ve 1 gün sonra mikroskop altında gözlemlenen hücrelerde hiç Taksol verilmemiş hücrelerin yaklaşık %50'sinin öldüğü görülürken dirençli olarak düşündüğümüz hücrelerin Taksol içeren besiyerinde ölmedikleri ve çoğaldıkları gözlemlendi. Bu konsantrasyona direnç kazanıldığı teyit edildikten sonra bir

sonraki aşamada 2 katı konsantrasyona dirençli hücreler elde etmek için yapılan işlemler tekrarlandı. Hücrelere IC₅₀ dozlarına kadar direnç kazandırıldı. Hücrelere direnç kazandırmaya başlanıldığında verilen ilk doza direncin sonraki dozlardan daha uzun sürdüğü gözlemlenmiştir. Hücrelerin ortalama bir doza direnç kazanma sürelerinin yaklaşık olarak 1 ay sürdüğü gözlemlendi.

3.2.2. Hücre Sayımı

T25 Flasklarda kültüre edilen hücrelerin %75-85 oranında konfluensiye ulaşması sonrasında hücreler tripsin ile kaldırıldı ve daha sonra santrifüj ile çöktürüldü. 3 ml taze besiyerinde hücreler çözüldü ve pipetaj yapılarak iyice homojen hale gelmesi sağlandı. Hücre sayımı için BioRad TC20™ Automated Cell Counter cihazı kullanıldı. Hücre sayım cihazının slaytlarına 10 µl hücre ile 10 µl tripan mavisi karışımından 10 µl yüklendi ve cihazda sayım gerçekleştirildi.

3.2.3. Hücrelerin 6-Kuyucuklu ve 96-Kuyucuklu Plate'lere Ekilmesi

Hücre sayımından sonra 6 kuyucuklu platelerin her bir kuyucuğuna 2 ml besiyeri içerisinde 1,2x10⁵- 1,5x10⁵ sayıda hücre ekimi yapılmıştır. 96 kuyucuklu platenin her bir kuyucuğuna 100 µl besiyeri içerisinde 3.000 hücre olacak şekilde hücre ekimi yapılmıştır. Ekim yapıldıktan sonra hücreler deneylerde kullanılincaya kadar 37°C'de %5'lik CO₂ içeren inkübatör içerisinde büyütülmüştür.

3.2.4. AZD4547 ve Taksol İlaçlarının Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Ticari olarak satın alınan AZD4547 üreticinin talimatlarına uyularak hazırlandı. 5 mg AZD4547 tartıldıktan sonra 1,0786 ml DMSO içerisinde çözülerek 10 mM ana stok oluşturuldu. Kullanılırken daha düşük konsantrasyonlarda ara stoklar hazırlanarak kullanıma hazır hale getirildi ve tüm stoklar -80°C'de saklandı.

Ticari olarak satın alınan taksol üreticinin talimatına uyularak hazırlandı. 10 mM ana stok hazırlamak için 5 mg tartılıp 585 µl DMSO içerisinde çözüldü. 10 mM ana stok

çözeltisinden başlangıçta 100 µM hazırlamak için 100 kat seyreltildi. Daha sonra deneylerde kullanmak için 100 µM ara stok ilahtan 10 µM stoklar hazırlanarak deneyler için kullanıldı. Tüm stoklar -80°C’de saklandı.

3.2.5. AZD4547 ve Taksolün Hücelere Uygulanması

Tüm hücre hatlarına uygulanan AZD4547 ve taksol konsantrasyonları Çizelge 3.3’te gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan taksol ilaç konsantrasyonları literatür araştırması yapılarak belirlenen IC₅₀ dozlarıdır. AZD4547 ilacının IC₅₀ dozunu belirlemek için tüm hücre hatlarına farklı dozlarda ilaç verildi ve IC₅₀ dozunun belirlenmesi için Probit Analizi dosyası kullanıldı. Daha sonra yapılan tüm deneylerde belirlenen bu IC₅₀ dozları kullanıldı. Tüm hücre hatlarında AZD4547 IC₅₀ dozunu belirlemek için 0,25 µM, 0,50 µM, 1 µM, 2 µM, 4 µM ve 8 µM konsantrasyonları seçildi.

Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan hücre hatlarında AZD4547 için IC₅₀ hesaplamak için uygulanan AZD4547 dozları ile bu hücreler için literatürde taksol için bildirilmiş IC₅₀ değerleri.

	AZD4547 (µM)	Taksol (nM)
Hep-2	0.25, 0,50, 1, 2, 4, 8	12 (Mikel'saar et al., 1990)
FaDu	0.25, 0,50, 1, 2, 4, 8	32 (Xu et al., 2013)
Detroit-562	0.25, 0,50, 1, 2, 4, 8	18 (Roulstone et al., 2013)
SCC-9	0.25, 0,50, 1, 2, 4, 8	2 (Raitanen et al., 2004)

3.2.6. AZD4547 ve Taksolün Baş Boyun Kanseri Hücre Hatlarında Hücrelerin Proliferasyonu Üzerine Etkileri

Hep-2 ve FaDu hücreleri kuyucuk başına 3000 hücre, SCC-9 hücreleri 2500 hücre ve Detroit-562 hücreleri 8000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu platenin her bir kuyusuna 3'er tekrarlı olarak ekildi. Hücreler yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda AZD4547 ve taksol ile muamele edildi. AZD4547 ve taksolün hücrelerin canlılığı üzerine etkileri 24 ve 48 saat sonra ilaç verilmemiş kontrol grubu ile kıyaslanarak değerlendirildi. Hücre canlılığı Cell Viability Detection Kit-8 (CVDK-8, EcoTech Biotechnology)

kullanılarak üreticinin yönergelerine uyularak yapıldı. Özetle, kuyucuklardaki besiyerleri uzaklaştırıldıktan sonra %10 oranında CVDK-8 solüsyonu içeren taze besiyerinden her bir kuyuya 100'er µl eklendi ve hücreler 37⁰C'de inkübatörde karanlıkta 3 saat inkübe edildi. Hücre canlılığı Epoch 2 Microplate Spectrophotometer cihazı kullanarak 490 nm'de abzorban ölçümü alınarak analiz edildi.

Yapılan deneyde AZD4547, Taksol ve AZD4547 ile beraber taksolün sinerjistik etkilerini incelemek için hücreler yukarıda hesaplanan IC₅₀ dozlarda AZD4547 ve yukarıdaki tabloda verilen IC₅₀ değerlerinde taksol ile muamele edildi. Hücre canlılığı 24 ve 48 saat sonuçlarına göre kontrol grubu ile kıyaslanarak yapıldı.

3.2.7. AZD4547 ve Taksolün Baş Boyun Kanseri Hücre Hatlarında Hücre Göçü Üzerindeki Etkilerinin Yara Kapatma Testi ile Araştırılması

AZD4547 ve taksolün ayrı ayrı olarak ve birlikte hücrelerin göçü üzerine etkileri yara testi ile karşılaştırıldı. İlk olarak Hep-2, FaDu ve SCC-9 hücreleri 6 kuyucuklu platelerin her bir kuyucuğuna 500.000 hücre gelecek şekilde 3'er tekrarlı olarak ekildi. Daha sonra kuyucuklara ekilen hücrelerin %100 yoğunluğa ulaşması beklendi. %100 yoğunluğa ulaşan tek tabaka halindeki hücrelerde 200 µL'lik pipet ucu ile tek bir çizik ile yaralar açıldı ve daha sonra AZD4547, Taksol ve ikisi birlikte belirlenen IC₅₀ dozlarında muamele edildikten 24 saat sonra hücrelerin göç etme potansiyelleri ve yara kapama oranları karşılaştırılarak analiz edildi. Hücrelerde açılan yaraların fotoğrafları ilk yaralar açıldıktan sonra ve ilaçlar ile muamele edildikten 24 saat sonra invert mikroskop ile çekildi ve karşılaştırılarak analiz edildi.

3.2.8. AZD4547 ve Taksolün Baş Boyun Kanseri Hücre Hatlarında Koloni Oluşturma Potansiyellerinin Araştırılması

AZD4547 ve taksolün hücreler üzerinde koloni oluşturma potansiyellerini belirlemek için, 6 kuyucuklu platelerin her bir kuyusuna Hep-2, FaDu ve SCC-9 hücrelerinden 3'er tekrarlı olacak şekilde 3.000 hücre ekildi. Daha sonra hücreler AZD4547, Taksol ve Taksol+AZD4547 ile belirlenen IC₅₀ konsantrasyonlarıyla

muamele edildi. Kontrol ve AZD4547 grubunun 5 günde bir besiyeri değiştirildi. Taksol grubu ile muamele edilen hücreler 1 gün Taksol içeren besiyeri içerisinde 4 gün ise normal besiyeri içerisinde inkübasyona 37⁰C’de bırakıldı. Taksol+AZD4547 grubunda hücreler 1 gün Taksol+AZD4547 içeren besiyeri içerisinde 4 gün sadece AZD4547 içeren besiyeri içerisinde 37⁰C’de inkübasyona bırakıldılar. Hücrelerin koloni oluşturması gün gün mikroskop ile takip edildi.

Ortalama 8-12 gün içerisinde yeterince büyüklüğe ulaşan koloniler 12 gün sonunda kuyulardaki besiyeri uzaklaştırıldı ve PBS ile yıkandı. Daha sonra metanol ile fikse edildi. Fikse edilen koloniler %0,1 Crystal Violet ile 20 dakika boyunca boyanması için bekletildi ve daha sonra koloniler invert mikroskop kullanılarak görüntülendi, koloniler sayıldı ve klon çeşitlerine göre sınıflandırıldı.

3.2.9. FGFR ve SOX2 ifadelerinin in siliko araçlarla araştırılması

Gene Expression Omnibus (GEO) veritabanına yüklenmiş GSE28784 ve GSE86099 veri setleri GEO2R programı kullanılarak analiz edildi ve FGFR2 ve SOX2 ifadelerinin ısı haritası gösterimi Matrix2png arayüzü kullanılarak oluşturuldu (Pavlidis and Noble, 2003). Baş ve boyun kanseri doku örneklerinde FGFR2 ve SOX2 ifadeleri ve bu genlerin bulunduğu genomik bölgelerdeki genetik değişiklikler cBioPortal veritabanı aracılığıyla the Cancer Genome Atlas Program (TCGA) veritabanına yüklenmiş veriler analiz edilerek değerlendirildi (Cerami et al., 2012). FGFR2 ve SOX2 ifadelerinin korelasyonu Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) veritabanı kullanılarak analiz edildi (Tang et al., 2017).

3.2.10. Doku Örneklerinin Temin Edilmesi

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı’nda rutin patolojik inceleme için alınan örneklerden biyopsi sonucu skuamöz hücreli karsinom oldukları doğrulanan hastalar çalışmaya dahil edildi ve bu hastalar arasından parsiyel ya da total larenjektomi yapılan her bir hastadan ameliyat sonrasında normal ve tümörlü

larenks dokusu alınarak, sıvı nitrojen içerisinde hızlıca dondurularak protein izolasyonu yapılarına kadar -80°C 'de saklandı.

3.2.11. Western Blot

Hep-2, FaDu ve SCC-9 hücreleri 6 kuyucuklu platelerin her bir kuyusuna $1,5 \times 10^5$ hücre, Detroit-562 hücreleri 6 kuyucuklu platelerin her bir kuyusuna $2,5 \times 10^5$ hücre olacak şekilde edildi. Daha sonra hücreler belirlenen IC_{50} konsantrasyonlarında AZD4547 ve taksol ile muamele edildi. Tüm hücre hatlarında AZD4547 ve kontrol grubunda 48 saat muamele sonrası besiyeri uzaklaştırılarak protein izolasyonu yapılırken, taksol ve taksol+AZD4547 gruplarında 12-18 saat muamele sonrası besiyerleri uzaklaştırılıp protein izolasyonu yapıldı. Daha sonra kuyular soğuk PBS ile yıkandı. RIPA Lysis Buffer içerisine PMSF ve fosfataz inhibitör eklendi ve her kuyuya protein izolasyonu için 150-200 μl RIPA Lysis Buffer eklendi. Kazıyıcı yardımıyla kuyuların yüzeyi kazınarak kokteyl-hücre karışımı elde edildi. Hücrelerin iyice parçalanmasını sağlamak için 3 kez sıvı azot içerisinde dondur-çöz işlemi uygulandı. 3. dondurma işleminden sonra karışım 5 dakika buz üzerinde bekletildi ve daha sonra 13.000 rpm'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant yeni bir eppendorf tüpüne alınarak üzerine 10x Laemmli Sample Buffer'dan 1/10 oranında eklendi ve hazırlanan proteinler 100°C 'de 5 dakika boyunca kaynatıldı ve deneylerde kullanılmaya kadar -80°C 'de saklandı.

Hücrelerden izole edilen proteinleri moleküler ağırlıklarına göre ayırmak için elektroforez işlemi kullanıldı. SDS-PAGE için iki farklı konsantrasyonda jeller hazırlandı. Jelin hazırlanması için gerekli olan malzemeler Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5'te gösterildi.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Çizelge 3.4 %4'lük yürütme jelinin içeriği.

Yürütme jeli malzemeleri (%4)	Hacim
Akrilamid+bis-akrilamid (%29+%1)	397,5 µl
Saf su	2,175 ml
Tris-HCl (pH:6.8)	375 µl
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	30 µl
Amonyum persülfat (%10)	30 µl
TEMED	7,5 µl

Çizelge 3.5 %10'lük ayırma jelinin içeriği.

Ayırma jeli malzemeleri (%10)	Hacim
Akrilamid+bis-akrilamid (%29+%1)	1,65 ml
Saf su	1,4 ml
Tris-HCl (pH:8.8)	1,875 ml
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	50 µl
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	2 µl

Tablolarda gösterildiği gibi hazırlanan ayırma jeli iki cam plaka arasına döküldü ve üzerine saf izopropanol eklendi ve daha sonra 30-40 dakika boyunca jelin polimerize olması beklendi. Polimerize olan jel üzerindeki izopropanol uzaklaştırıldı. Ayırma jelinin hazırlandığı aynı cam plaka üzerine tabloda gösterildiği gibi yürütme jeli hazırlandı ve cam plakalar arasına döküldü. Polimerize olmadan önce örneklerin yükleneceği kuyular içine tarak yerleştirildi ve jelin polimerize olması için +4°C'de 30-45 dakika boyunca bekletildi. Polimerize olan jelden tarak çıkarıldı ve daha sonra 1x yürütme tamponu içeren tankın içerisine yerleştirildi. Jelin kuyucuklarına protein örnekleri yüklendi. Yükleme

jelinin geçme seviyesine gelinceye kadar 80V'luk elektriksel alanda yürütüldükten sonra voltaj 110V'a çıkarılarak yürütülmeye devam edildi. Bu şekilde proteinlerin moleküler ağırlıklarına göre ayrımı sağlandı.

Moleküler ağırlıklarına göre ayrılan proteinler daha sonra transfer işlemi için hazırlandı. Transfer tamponuyla ıslatılmış iki Whatman kağıdı transfer cihazının alt kısmına yerleştirildi. Üzerine transfer tamponuyla ıslatılmış nitroselüloz membran jelin üzerine yerleştirildi ve jel cam plakadan ayrılarak transfer cihazının zeminine daha önce konulmuş olan Whatman kağıdının üzerine baloncuk oluşturmayacak şekilde yerleştirildi. Üzerine iki adet tamponla ıslatılan Whatman kağıdı konuldu ve sandviç modeli oluşturuldu. Transfer cihazının tepsisinde hazırlanan bu işlem sonrası tepsinin kapağı sıkıca kapatıldıktan sonra cihazın içerisine yerleştirildi ve 7'şer dakikadan 25V 1.3A'ya ayarlanan cihazda 2 kez transfer işlemi gerçekleştirildi. Transfer işlemi sonrası membrana aktarılan proteinlerin görünürlüğünü sağlamak için Ponceau S (EcoTech Biotechnology Turkey) ile 5 dk çalkalayıcıda çalkalanarak boyandı. Daha sonra membranlar 3 kez PBST ile yıkandı ve kullanılan antikorun bloklama ajanı olarak ne kullanılıyorsa süt tozu ya da BSA ile 1 saat yatay çalkalayıcıda çalkalanarak bloklama işlemi yapıldı. Bloklama sonrası membranlar 3 kez PBST ile yıkandı. Araştırılacak proteinin uygun antikoru ile +4⁰C'de bir gece yatay çalkalayıcı üzerinde çalkalanmaya bırakıldı. İnkübasyon sonrasında bağlanmayan antikorumları uzaklaştırmak için 3 kez PBST ile yıkama yapıldı. HRP bağlı sekonder antikor ile 1 saat oda sıcaklığında muamele edilen membranlar tekrar 3 kez PBST ile yıkandı. Bantları görüntülemek için ClearBand ECL Western Blot Substrat kullanıldı ve sinyal tespiti ve ışımaya miktarını görüntüleme işlemi ChemiDoc MP cihazıyla gerçekleştirildi.

3.2.12. İstatiksel Analiz

Deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmış ve değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Veriler istatiksel olarak Student's t test aracılığıyla analiz edilmiş ve $p < 0,05$ değerler anlamlı olarak kabul edilmiştir.

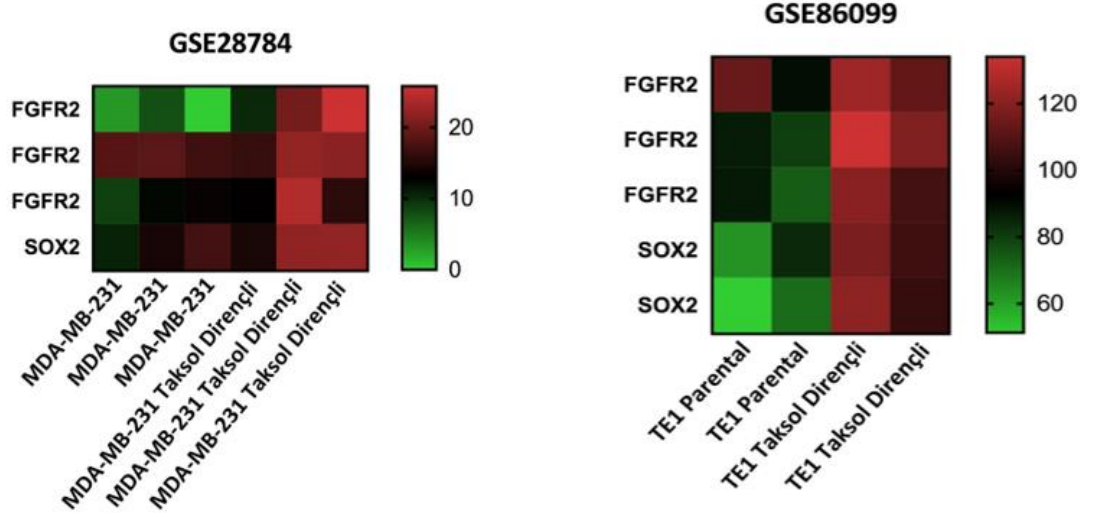
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Taksol Dirençli Hücrelerde Artmış FGFR2 ve SOX2 İfadeleri Paralellik Gösterir

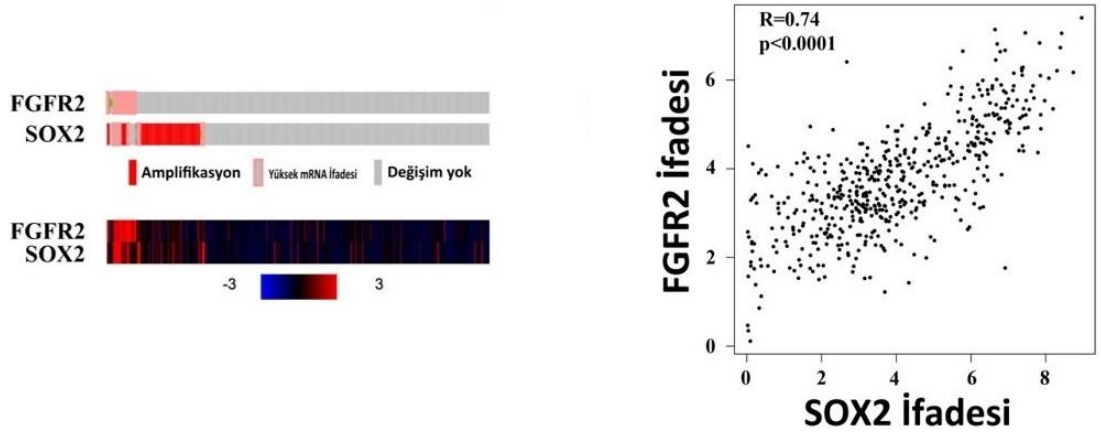
Embriyonik kök hücrelerin kendini yenilemesinde, indüklenmiş pluripotent kök hücrelerin oluşumunda ve apoptozda kritik rolleri olan SOX2'nin aşırı ifade edilmesi birçok kanser türüyle ilişkilendirilmiştir. Ek olarak, gastrik ve kolorektal kanserlerde bulunan kanser kök hücre benzeri hücrelerde SOX2 ifadesindeki artış, kemoterapiye direnç ile ilişkilendirilmiştir (Bass et al. 2009; Gangemi et al. 2009; Tian et al. 2012; Rao et al. 2013; Li et al. 2014). İleri evredeki ürotelyal kanserlerde FGFR1 geninin epitel-mezenkimal geçişi uyardığı ve taksole direnç mekanizmasının gelişmesinde katkı sağladığı ileri sürülmektedir (Kim et al. 2018).

Baş ve boyun kanserinde taksole karşı gelişen direnç mekanizmalarının araştırılması amacıyla öncelikle literatürde mevcut olan mikroarray verileri incelendi. Baş ve boyun kanseri hücrelerinde mikroarray ve RNASeq verisi olmadığından taksol direnç mekanizmalarının aydınlatılmasına katkı yapmak adına ön veri elde etmek için özofagus kanseri hücre hatları ve meme kanseri hücre hatlarına ait verilerin bulunduğu GSE28784 ve GSE86099 mikroarray verisetleri GEO2R programı kullanılarak analiz edildi. Bu hücre hatlarında parental ve taksol dirençli grupların karşılaştırılması sonucu FGFR2 ve SOX2 genlerinin ifade düzeyleri incelendi ve her iki hücre hattında yapılan analize göre parental ile kıyaslandığı zaman dirençli hücre hatlarında FGFR2 ve SOX2 gen ifade düzeyinin arttığı görüldü (Şekil 4.1).

GEO veritabanından elde edilen ön verilere ek olarak, genomik ve transkriptomik değişimler ve mutasyonların TCGA veritabanından elde edilen örneklerin cBioportal veritabanı aracılığıyla analiz edilmesi sonucunda baş ve boyun kanserli doku örneklerinde FGFR2 ve SOX2 genlerinde mutasyon frekansının yüksek olduğu, bu iki genin de kanser örneklerinde artmış ifadeye sahip olduğu ve bu iki genin ifadesinin anlamlı bir şekilde pozitif korelasyon gösterdiği ortaya konulmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.1 Taksol dirençli ve parental hücre hatlarında GEO veritabanından elde edilen mikroarray verilerinin karşılaştırılması



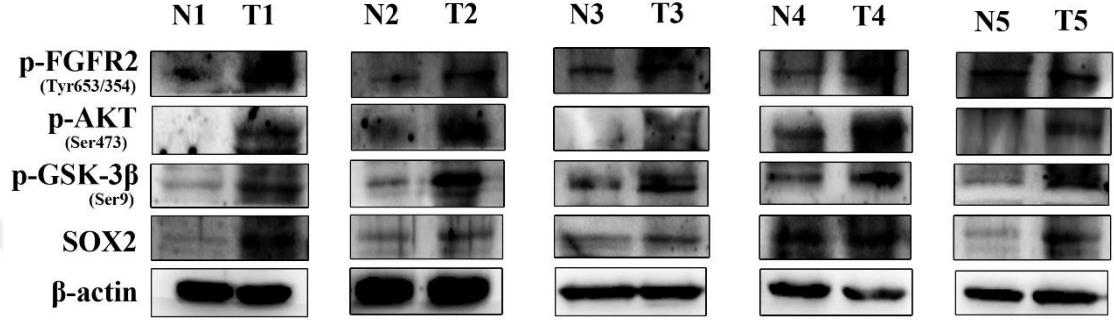
Şekil 4.2 TCGA veritabanından elde edilen baş ve boyun kanserli hasta örneklerinde FGFR2 ve SOX2 genindeki ifade değişimleri ve iki gen ifadesi arasındaki korelasyon.

4.2. Baş ve Boyun Kanserli Normal ve Tümör Doku Örneklerinde pFGFR2, p-AKT, p-Gsk3 β ve SOX2 İfadeleri Artmıştır

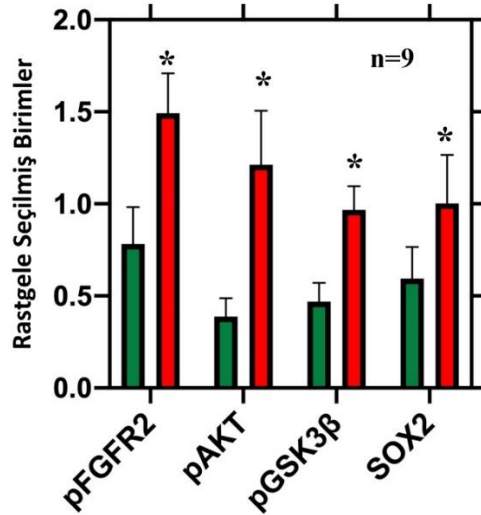
In silico analiz ile elde edilen bulguları doğrulamak için baş ve boyun kanserli hastalardan ameliyat sonrasında elde edilen 9 çift normal ve tümürlü doku örneklerinde pFGFR2, p-AKT, p-Gsk3 β ve SOX2 ifadeleri incelendi. Elde edilen bulgular normal örneklere göre kıyaslandığında tümör örneklerinde p-FGFR2, p-AKT, p-Gsk3 β ve SOX2 ifade seviyelerinin arttığı ortaya koydu (Şekil 4.3). Yapılan kantitatif analiz p-FGFR2, p-

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

AKT, p-Gsk3 β ve SOX2 ifade seviyelerinin normal örneklerle göre kıyaslandığı zaman tümörlü doku örneklerinde anlamlı olarak arttığını gösterdi (Şekil 4.4 p<0,05). Bu bulgular, baş ve boyun kanserinde aktifleşen FGFR ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin karsinogenez sürecinde ve kanser ilişkili fenotiplerin oluşmasında katkısı olabileceğine dair önemli kanıtlar sunmaktadır.



Şekil 4.3 Baş ve boyun kanserli hastalardan elde edilen normal ve tümörlü larenks dokularında FGFR2 ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktiviteleri ve ifade seviyeleri.



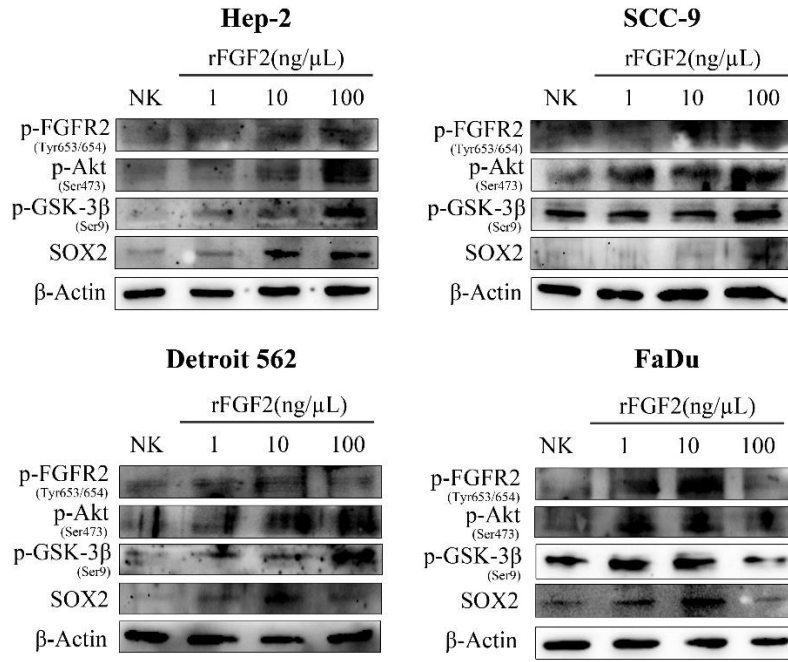
Şekil 4.4 Larenks doku örneklerinde FGFR2 ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin rölatif ifade seviyeleri.

4.3. Baş ve Boyun Kanserli Hücre Hatlarında rFGF2 Muamelesi Sonrası FGFR ve Hedeflediği Sinyal Yolunun Fosforilasyonu Artar

Fibroblast Growth Faktör (FGF) ailesi, 18 farklı polipeptid ligandı içeren ve 4 farklı FGFR reseptörüne bağlanması sonucu hücre zarına bağlı monomer haldeki reseptörlerin dimer hale gelip aktifleşmesini sağlayan ligand ailesidir. Aktifleşen FGFR reseptörleri, PI3K/AKT, MAPK ve dolaylı olarak Wnt sinyal yolağını aktifleştirerek hücrede büyüme, çoğalma, farklılaşma gibi birçok süreçte görev alırlar(Jang et al. 2001; Itoh and Ornitz 2011; Feng et al. 2017).

Baş ve boyun kanseri hücrelerinde FGFR2 reseptörünün aktifleşmesinin PI3K/Akt sinyal yolu aracılığıyla SOX2 ifadesini kontrol ettiğini göstermek için FGFR2 reseptörü rFGF2 kullanılarak aktifleştirildi ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktiviteleri western blot ile incelendi. Bu doğrultuda, hücrelere 1, 10, 100 ng/ μ L dozlarında rFGF2 1 saat muamele edilmiş ve bu hücrelerden protein izole edilerek western blot analizi yapıldı.

Hep-2, SCC-9, Detroit 562 ve FaDu hücrelerinde rFGF2 muamelesi sonrasında FGFR2 reseptörünün doza bağlı olarak aktifleştiği ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktivitelerinin de yine doza bağlı olarak arttığı protein düzeyinde gösterildi (Şekil 4.5). rFGF2 muamelesi sonrasında elde edilen bulgular aktifleşen FGFR2'nin baş ve boyun kanseri hücre hatlarında alt sinyal yollarını hedeflerinden biri olan PI3K/AKT yolağı aracılığıyla SOX2 ifadesini kontrol ettiğine dair işaretler sunmuştur (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında rFGF muamelesi sonrası FGFR2 ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktiviteleri ve ifade seviyeleri.

4.4. FGFR2 İnhibitörü AZD4547 Baş ve Boyun Kanserli Hücre Hatlarında Canlılığı Doza ve Zamana Bağlı Olarak Azaltır

FGFR reseptörün aşırı düzeyde ifadesi, sinyal yolunda düzensizliklere sebep olur ve gastrik kanser başta olmak üzere birçok kanser türüyle ilişkilendirilmiştir (Turner and Grose 2010; Jemal et al. 2011). AZD4547 FGFR'lerin kinaz domainine bağlanarak kinaz aktivitesini engelleyen bir inhibitördür ve FGFR'ler dahil FGFR'lerin etkilediği alt hedef sinyal yollarının da fosforilasyonunu azaltmaktadır (Norman et al. 2012; Klein et al. 2014; Katoh 2016). Yapılan bir çalışmada AZD4547'nin meme kanseri hücre hatlarında hücre canlılığını düşürüp apoptozu teşvik ettiği gösterilmiştir (Liu et al. 2014), Ayrıca, baş ve boyun kanserlerinde FGFR ailesinden olan FGFR1 geninin aşırı ifadesi gösterilmiş ve FGFR1'in artmış olduğu hücrelerde AZD4547 ile muamele sonrasında hücre proliferasyonu ve FGFR1 ifadesinin baskılandığı görülmüştür (Koole et al. 2016).

AZD4547'nin baş ve boyun kanseri hücre hatlarında hücre canlılığı üzerindeki etkileri CVDK-8 testi kullanılarak analiz edildi. 0,25 μ M, 0,5 μ M, 1 μ M, 2 μ M, 4 μ M ve

8 μM konsantrasyonlarda AZD4547 içeren besiyeri ile muamele edilen hücrelerde canlılığın zamana ve doza bağlı olarak azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.6).

24 saatlik AZD4547 ile muamele sonrasında Hep-2 hücrelerinde özellikle 2 μM ve üzerindeki konsantrasyonlarda hücre canlılığının anlamlı derecede azaldığı gösterildi. Kontrol ile karşılaştırıldığı zaman canlılığın 24 saat ve 48 saatlik muamele sonrasında 2 μM , 4 μM ve 8 μM dozlarda doza bağlı bir şekilde azaldığı, 24 saatlik muamele sonrası 8 μM dozda canlılığın %51'e kadar düştüğü gözlemlendi. 48 saatlik muamele sonrasında ise 8 μM dozda canlılığın %43'e kadar düştüğü belirlendi (Şekil 4.6, $p<0,01$).

24 saatlik AZD4547 ile muamele sonrasında SCC-9 hücrelerinde 2 μM dozdan itibaren hücre canlılığında kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede azalma görüldü. 8 μM dozda hücre canlılığının %54'e kadar düştüğü belirlendi. 48 saatlik AZD4547 ile muamele sonrasında canlılığın 0,5 μM dozdan itibaren anlamlı derecede azaldığı belirlendi. En yüksek doz olan 8 μM konsantrasyonda canlılığın %31'e kadar ortaya konuldu (Şekil 4.6, $p<0,001$).

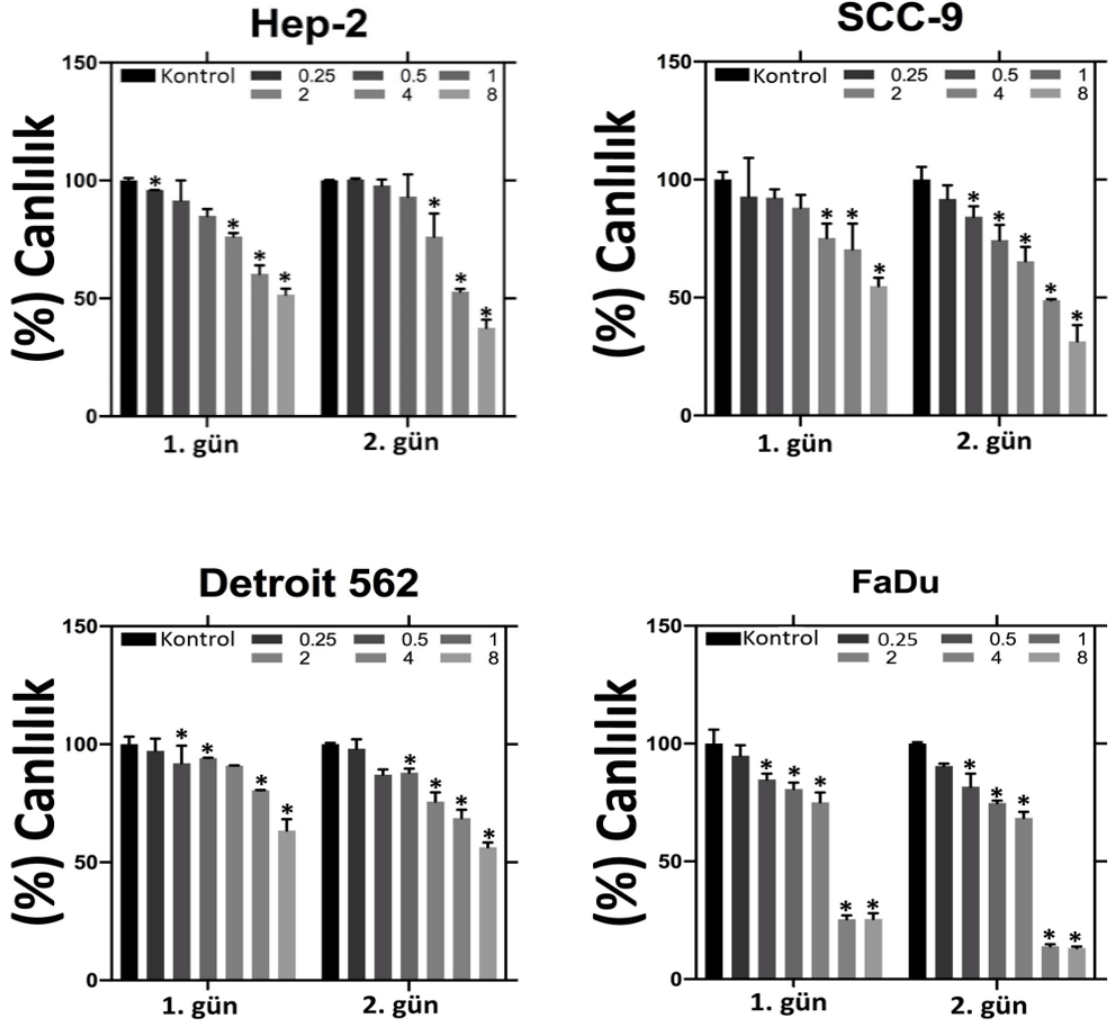
Detroit-562 hücrelerinde 24 saat AZD4547 muamele sonrasında kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman 0,5 μM , 1 μM , 4 μM ve 8 μM dozlarda hücre canlılığında anlamlı bir azalma olduğu görüldü. 48 saatlik muamele sonrasında 1 μM konsantrasyondan itibaren doza bağlı olarak hücre canlılığında anlamlı bir azalma görüldü. 8 μM konsantrasyonda hücre canlılığının %56'ya kadar azaldığı tespit edildi (Şekil 4.6, $p<0,001$).

FaDu hücrelerinde canlılığın 24 ve 48 saatlik uygulamalar sonrasında 0,5 μM AZD4547 konsantrasyonundan itibaren doza bağlı olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü. Özellikle 4 μM ve 8 μM dozlarda verilen AZD4547'nin hücre canlılığını 24. saatte %25'e, 48. saat ölçümlerinde ise %13'e kadar düşürdüğü görüldü (Şekil 4.6, $p<0,001$).

Yapılan hücre canlılık testleri sonucunda AZD547 için tüm hücre hatlarında IC50 dozları probit analizi ile belirlendi. IC50 dozları Hep-2, FaDu, SCC-9 ve Detroit-562 hücre hatları için sırasıyla 4,7 μM , 1,8 μM , 3,6 μM ve 10 μM olarak belirlendi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çalışmanın sonraki adımlarında gerçekleştirilen in vitro deneylerde hesaplanan bu IC50 dozları kullanıldı.



Şekil 4.6 AZD4547'nin baş ve boyun kanserli hücre hatlarındaki canlılık oranları üzerindeki doza ve zamana bağlı etkileri.

Çizelge 4.1 Yapılan Analiz Sonucunda Baş ve Boyun Kanseri Hücre Hatları İçin Belirlenen AZD4547 IC₅₀ Dozları

Hücre Hattı	IC ₅₀
Hep-2	4.7 µM
FaDu	1.8 µM
SCC-9	3.6 µM
Detroit-562	10 µM

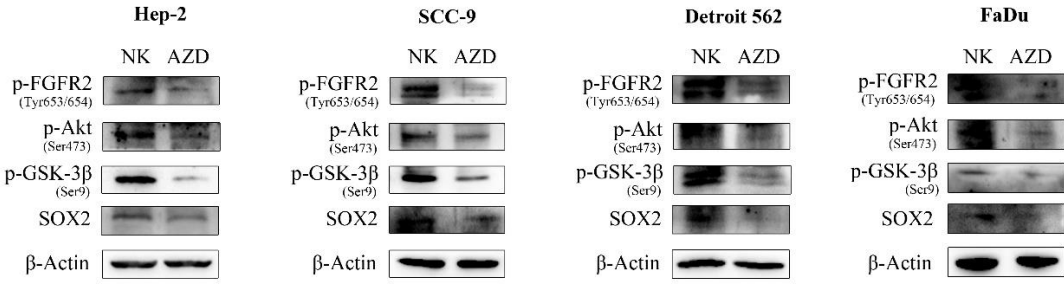
4.5. Baş ve Boyun Kanseri Hücre Hatlarında Aktifleşen FGFR2/AKT/SOX2 yolağı AZD4547 muamelesi sonrasında inhibe olur

PI3K/AKT yolağının baş boyun kanserleri de dahil olmak üzere birçok farklı kanser türünde aktifleştiği, bu sinyal yolağındaki proteinlerin ifadelerinin arttığı gösterilmiş ve tümör hücre çoğalmasına, göçüne ve kötü sağ kalıma katkı yaptığı gösterilmiştir.(Molinolo et al. 2007; Yu and Cui 2016; Wee and Wang 2017) Yaptığımız deneylerde baş ve boyun kanseri hücre hatları ve doku örneklerinde PI3K/AKT yolağı ve SOX2'nin FGFR2 aracılığıyla aktifleştiği protein düzeyinde gösterildi. Benzer şekilde FGFR2 inhibitörü AZD4547'nin FGFR2 ve FGFR2'nin doğrudan etkilediği alt sinyal yolundaki hedeflerinin fosforilasyonunu azalttığı literatürde gösterilmiştir.(Norman et al. 2012; Klein et al. 2014; Katoh, 2016)

SOX2'nin hücrede büyüme, çoğalma ve sağkalımda anahtar rolleri olan PI3K/AKT sinyal yolu vasıtasıyla özofagus kanserinde büyümeyi düzenlediği gösterilmiştir (Gen et al. 2013). Ek olarak FGFR1 geninin aşırı ifade edildiği akciğer kanseri hücre hatlarında ERK1/2 aracılığıyla SOX2'nin aktifleştiği gösterilmiş ve bulgular sonucunda akciğer kanserli hücre hatlarında FGFR1/ERK/SOX2 aksisi aracılığıyla hücre büyümesi ve metastazın yanı sıra, kanser kök hücrelerin varlığı ve ilaç direncinin gelişimi gibi süreçlerde önemli işlevleri olan epitel mezankimal geçişi teşvik ettiği gösterilmiştir (Wang et al. 2018b).. İnsan kanser hücreleri ve fare modelleri ile

yapılan çalışmalarda SOX2 protein lokalizasyonu ve stabilitesinin AKT kinaz aktivitesine bağlı olduğu gösterilmiş bunun sonucunda SOX2'nin PI3K/AKT yolağı ile bir korelasyonu olduğu ortaya konulmuştur (Schaefer and Lengerke 2020).

Baş ve boyun kanserli hücrelerde aktifleşen FGFR ve doğrudan etkilediği sinyal yollarının AZD4547 muamelesi sonrasında inhibe olduğunun protein düzeyinde gösterilmesi için western blot analizi yapıldı. AZD4547 ile muamele sonrasında baş ve boyun kanserli hücre hatlarında FGFR2 ve SOX2 dahil aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktivitelerinin kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman azaldığı gösterildi (Şekil 4.7). Bu sonuçlar AZD4547'nin baş ve boyun kanseri hücrelerinde aktifleşen FGFR2/AKT/SOX2 aksisinin inhibe edilmesi aracılığıyla hücreleri ölüme götürdüğünü ortaya koymaktadır.



Şekil 4.7 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında AZD4547 ile muamele sonrası FGFR ve doğrudan ilişkili olduğu alt hedef sinyal yolu proteinlerinin ifade düzeyleri.

4.6. FGFR İnhibitörü AZD4547 Baş ve Boyun Kanserli Hücre Hatlarında Yara Kapama ve Koloni Oluşturma Potansiyellerini Azaltır

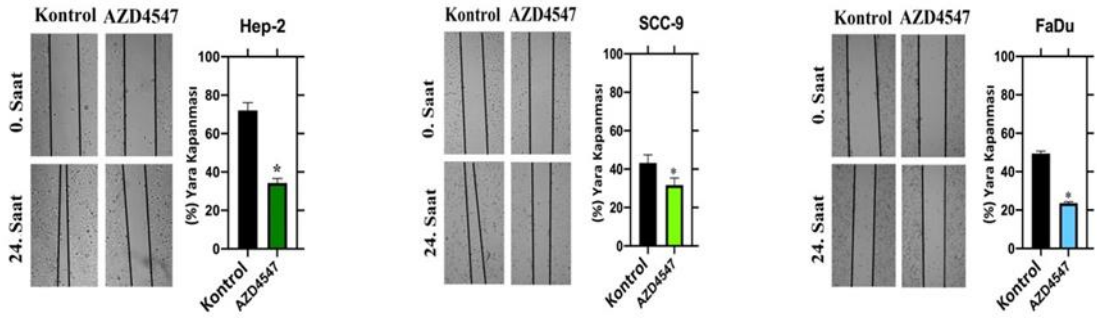
AZD4547'nin göç etme ve koloni oluşturma gibi kanser ile ilişkili hücre fenotipleri üzerindeki etkilerini test etmek için yara testi ve koloni oluşturma testi yapıldı.

Hücre göçünün kantitatif olarak değerlendirilmesi için hücrelerde oluşturulan yaraların kapanma yüzdeleri hesaplandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Yara kapama testi AZD4547 ile muamele edilen baş ve boyun kanserli hücre hatlarında hücre

göçü potansiyelinin kontrol hücreleri ile kıyaslandığında anlamlı derecede azaldığını gösterdi.

Hep-2 hücrelerinde AZD4547 ile muamele sonrası oluşturulan yaranın yaklaşık %35 oranında kapatıldığı, kontrol grubunda ise bu oranın %70 seviyelerinde olduğu gösterildi (Şekil 4.8, $p<0,001$). SCC-9 hücrelerinde ise AZD4547 ile muamele edilen hücrelerde yaranın yaklaşık %30 oranında kapandığı gösterilirken kontrol grubunda bu oran %40 civarında kaldı (Şekil 4.8, $p<0,05$). FaDu hücrelerinde kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman AZD4547 ile muamele edilen grupta yara kapanma oranı yaklaşık %25 oranında olurken kontrol grubunda bu oranın %50 civarında olduğu gösterildi (Şekil 4.8, $p<0,001$).

Yapılan analizler sonucu AZD4547'nin hücre göçü potansiyelini anlamlı derecede düşürdüğü konuldu. Bu sonuçlar tümörün metastaz yapabilmesi için başlangıç aşamasında invazyon ve migrasyon yeteneklerini sergilemeleri gerekli olduğu düşünüldüğünde AZD4547'nin etkili şekilde hücre göçü yeteneklerini azalttığı ve dolayısıyla baş ve boyun kanseri hücre hatlarında dolaylı olarak metastaz için gerekli olan migrasyon kabiliyetini azalttığı gösterildi.

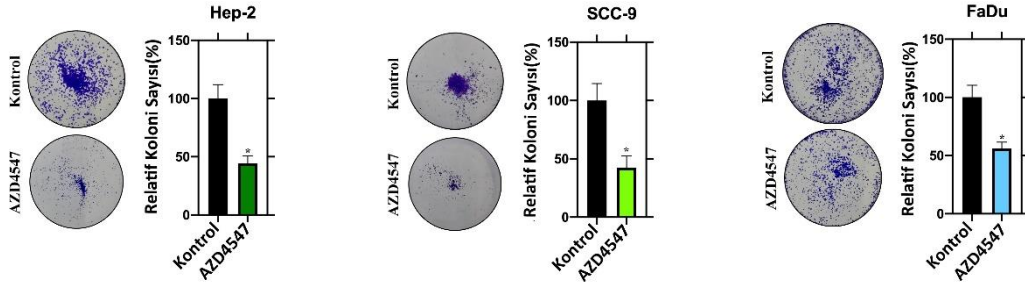


Şekil 4.8 AZD4547'nin baş ve boyun kanserli hücre hatlarında hücre göçü üzerindeki etkileri.

Daha sonra AZD4547'nin baş ve boyun kanserli hücrelerinin koloni oluşturma potansiyeli üzerindeki etkileri değerlendirildi. Yapılan deney sonucunda Hep-2, SCC-9 ve FaDu hücrelerinde kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman AZD4547 ile muamele sonrasında sırasıyla rölatif koloni sayılarının Hep-2 hücrelerinde %44,25'e, SCC-9

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

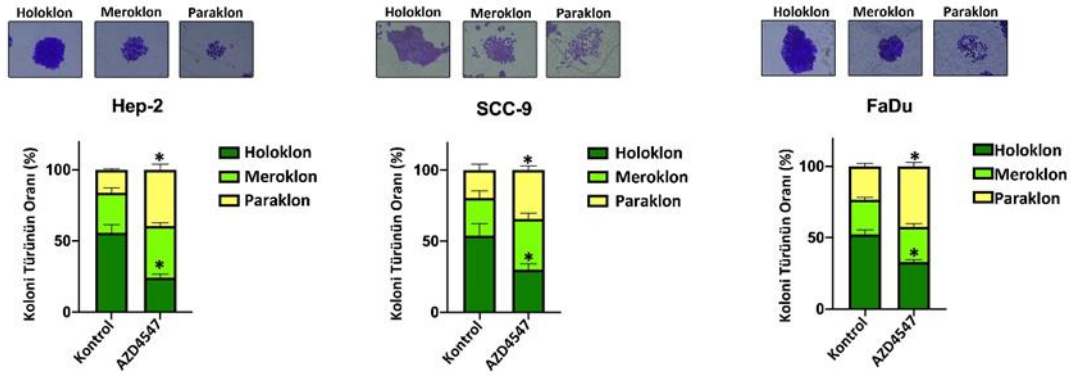
hücrelerinde %42,54'e ve FaDu hücrelerinde %56,17'ye düştüğü gösterildi (Şekil 4.9, $p<0,01$).



Şekil 4.9 Baş ve boyun kanserli hücre hatlarında AZD4547'nin koloni oluşturma potansiyeli üzerine etkileri.

Daha sonra oluşan koloniler morfolojik olarak 3 kategoriye sınıflandırılarak gruplar arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığı değerlendirildi. Tüm hücre hatları için holoklonlar sıkıca paketlenmiş nispeten küçük veya büyük boyuttaki hücre gruplarından, paraklonlar şekilleri düzensiz ve sıkıca paketlenmemiş hücre gruplarından, meroklonlar ise holoklon ile paraklon arasında orta düzeyde paketlenmiş hücre grupları olarak tanımlandı. Holoklonlar, aşırı çoğalma ve kendilerini yenileme kapasitesine sahip ve kök hücre benzeri hücreleri barındıran klonlar olarak bilinmektedir. Meroklonlar ise sınırlı bir çoğalma kapasitesine sahip olan kendilerini yenileme özellikleri barındırmayan geçiş hücreleri olarak isimlendirilen öncü hücreleri barındıran klonlar olarak bilinmektedir. Paraklonlar ise çoğalma kapasiteleri oldukça sınırlı farklılaşmış hücrelerden oluşan klonlardır (Barrandon and Green 1987; Beaver et al. 2014).

Holoklon sayılarında kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman AZD4547 grubunda tüm hücre hatlarında anlamlı olarak azalma olduğu gösterildi. Meroklon sayılarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen paraklon sayılarındaki artış kontrol grubu ile kıyaslandığında AZD4547 grubu için istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterildi (Şekil 4.10, $p<0,05$).



Şekil 4.10 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında AZD4547'nin koloni çeşitlerinin dağılımına olan etkisi.

AZD4547'nin meme kanseri fare modelleri üzerinde yapılan bir çalışmada memeli epitelyal hücre çoğalmasına baskıladığı ve tümör hücrelerinde meydana gelen kanser kök hücre benzeri yapıları bozduğu ortaya çıkarılmıştır (Zhao et al. 2017). Ayrıca, özofagus kanseri hücre hatlarında epitel-mezenkimal geçişi baskılayarak kanser kök hücresi benzeri hücreleri çok etkili bir şekilde azalttığı gösterilmiştir (Maehara et al. 2017). Tüm bu veriler değerlendirildiği zaman AZD4547'nin baş boyun kanserli hücre hatlarında koloni oluşumunu baskıladığı ve kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman holoklon sayılarında azalma ve paraklon sayılarında artışa sebep olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla AZD4547'nin baş ve boyun kanseri hücre hatlarında birçok çalışmada kemoterapiye direnç ile ilişkilendirilen kanser kök hücre benzeri hücrelerin azaltılması ile gelişen kemoterapi direncinin üstesinden gelmek için adjuvan bir terapi yaklaşımı olabileceği düşünülmektedir.

4.7. Taksol Muamelesi Sonrasında Aktifleşen FGFR2/AKT/SOX2 yolağı FGFR2 inhibitörü AZD4547 muamelesi sonrasında inhibe olur

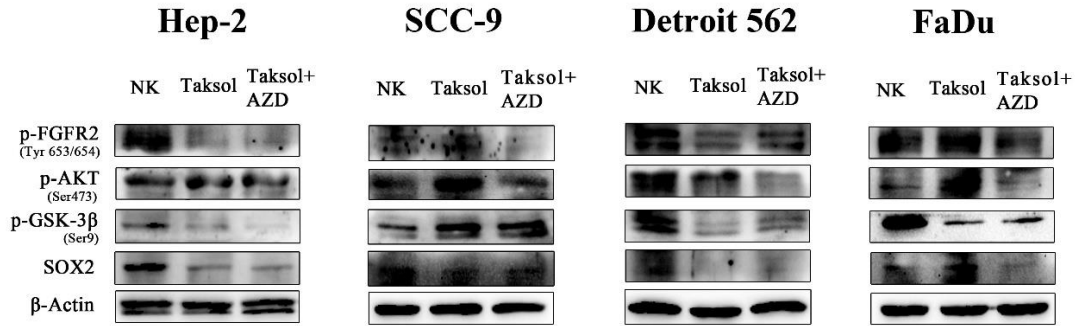
Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında Taksol ve Taksol+AZD4547'nin FGFR2/AKT/SOX2 yolağı üzerine etkilerini araştırmak için western blot analizi yapıldı. Yalnızca Taksol ile muamele edilen Hep-2 hücrelerinde kontrol grubu ile kıyaslandığında FGFR2 ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktivite ve ifade seviyelerinde azalma görülmekle birlikte Taksol ile beraber verilen AZD4547'nin FGFR2/AKT/SOX2

yolağını sadece taksol ile muamele edilen Hep-2 hücrelerine göre nispeten daha fazla inhibe ettiği gözlemlendi (Şekil 4.11).

SCC-9 hücre hattında kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman taksol muamelesi sonrası FGFR2 ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktivite ve ifade seviyelerinde artış görüldü. Taksol+AZD4547 grubunda ise taksol muamelesi sonrasında aktifleşen bu yolağın inhibe olduğu gösterildi (Şekil 4.11).

Detroit-562 hücrelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman Taksol muamelesinin FGFR2 ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktivite ve ifadelerini azalttığı gösterildi. Taksol+AZD4547 muamelesi sonrasında FGFR2 ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin ifadelerinde bazı varyasyonlar olmakla birlikte Taksol grubuna benzer şekilde kontrol grubuna göre azalma tespit edildi (Şekil 4.11).

FaDu hücre hattında taksol muamelesi sonrasında FGFR2/AKT/SOX2 yolağının aktifleştiği ve taksole ek olarak AZD4547 muamelesinin bu yolağın inhibisyonuna sebep olduğu ortaya konuldu (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında Taksol ve Taksol+AZD4547'nin sinerjistik etkilerinin p-FGFR2 ve doğrudan ilişkili olduğu alt sinyal yolu hedef proteinlerinin ifade seviyeleri üzerindeki etkileri.

Bu bulgular değerlendirildiği zaman taksole ek olarak AZD4547 uygulamasının hücreler arasında bir kısım varyasyonlar görülmesine rağmen, taksol muamelesi

sonrasında aktifleşen FGFR2/AKT/SOX2 yolağının inhibe edilmesine yol açığını ortaya koymaktadır.

4.8. FGFR2 İnhibitörü AZD4547 Baş ve Boyun Kanserli Hücre Hatlarında Taksol uygulamasının etkinliğini artırır

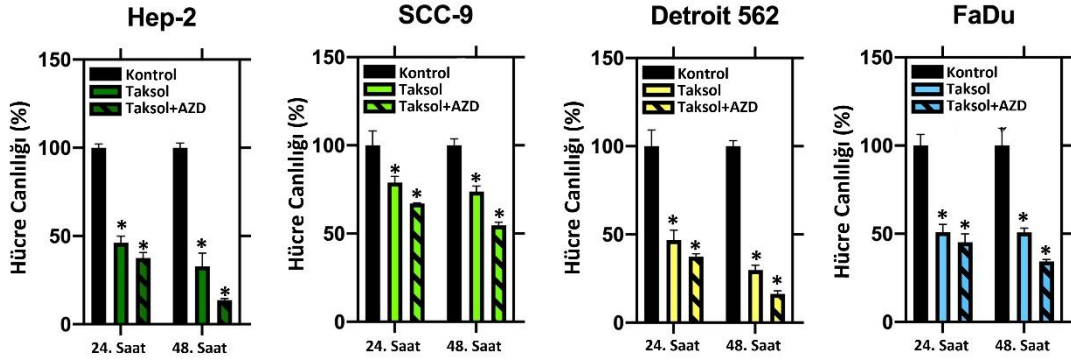
AZD4547'nin taksol tarafından aktifleştirilen FGFR2/AKT/SOX2 yolağını inhibe ettiğinin gösterilmesinden sonra AZD4547'nin hücre canlılığı, göçü ve koloni oluşturma gibi kanser ilişkili fenotipler üzerindeki etkileri taksol ile beraber uygulanarak araştırıldı.

Baş ve boyun kanseri hücre hatları taksol ve taksol+AZD4547'nin IC50 dozları ile 24 ve 48 saat muamele edildi. Sonrasında hücre canlılığı CVDK-8 kiti kullanılarak incelendi. Hep-2 hücrelerinde 24 saat sonuçlarında taksol uygulamasının kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman canlılığı %50'ye kadar düşürdüğü ve Taksol+AZD4547 grubunda ise canlılığın %40 seviyesine kadar düştüğü görüldü (Şekil 4.12, $p<0,01$). 48 saatlik sonuçlarda ise taksol muamelesinin canlılığı %32'ye kadar düşürdüğü, taksol ile beraber AZD4547 uygulandığında ise canlılığın %13'e kadar azaldığı gösterildi (Şekil 4.12, $p<0,001$).

SCC-9 hücre hatlarında 24 ve 48 saat taksol ve taksol+AZD4547 muamelesi sonrası hücre canlılığı CVDK-8 testi yapılarak istatistiksel olarak analiz edildi. SCC-9 hücre hattında 24 saatlik taksol uygulaması sonrası hücre canlılığının %78'e kadar düştüğü ve taksol+AZD4547 ile muamele sonrasında hücre canlılığının %67'ye düştüğü görüldü (Şekil 4.12 $p<0,05$). 48 saatlik taksol ile muamele sonrasında hücre canlılığının %73'e, taksol ile AZD4547 muamelesi sonrasında ise %54'e kadar düştüğü belirlendi (Şekil 4.12, $p<0,001$).

Detroit-562 hücre hattında 24 saatlik taksol uygulamasının hücre canlılığını %46'ya kadar düşürdüğü Taksol+AZD4547 muamelesinin canlılığı %37'ye düşürdüğü görüldü (Şekil 4.12 $p<0,001$). 48 saatlik taksol ile muamele sonrasında canlılığın %30'a kadar düştüğü ve Taksol+AZD4547 ile muamele sonrasında canlılığın %16 seviyelerine kadar düştüğü belirlendi (Şekil 4.12 $p<0,001$).

FaDu hücrelerinde 24 saatlik taksol uygulaması sonrası hücre canlılığının %50 seviyelerine kadar gerilediği görüldü. Taksol+AZD4547 ile muamele sonrasında ise hücre canlılığının %40'a kadar düştüğü belirlendi. 48 saatlik Taksol uygulaması sonrası hücre canlılığında %50 civarında bir azalma meydana geldi. Taksol+AZD4547 grubunda ise bu azalmanın %70 civarında olduğu görüldü (Şekil 4.12 p<0,05).



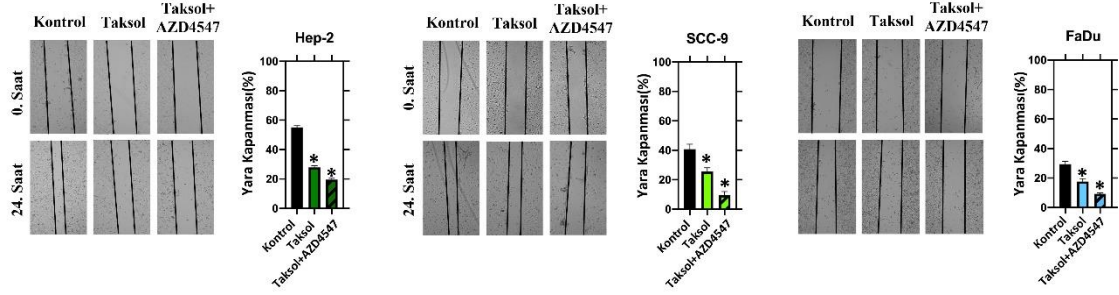
Şekil 4.12 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında 24 ve 48 saatlik Taksol ve Taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı muamelesinin hücre canlılığı üzerine etkileri.

Elde edilen bulgular neticesinde baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksol ve AZD4547'nin eş zamanlı uygulanması sonrası canlılığı taksol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı gösterildi. Bu sonuçlar ile baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksol ek olarak AZD4547'nin kombine uygulamasının taksolün etkinliğini artırdığı gösterildi.

Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksol ve taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı olarak uygulanması sonrasında hücre göçü potansiyelleri yara testi ile araştırıldı. Hep-2 hücrelerine taksol ve taksol+AZD4547 uygulanması sonrasında Hep-2 hücrelerinin hücre göçü potansiyellerinin kontrol gruplarına göre azaldığı gösterildi. Hücre göçü azalmasının kantitatif olarak değerlendirilmesi için hücrelerde açılan yaraların kapatılma yüzdeleri hesaplandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Yapılan analiz sonucu kontrol grubu, Taksol grubu ve Taksol+AZD4547 grubunun yara kapatma oranları sırasıyla kontrol grubunda %55, Taksol grubunda %27 ve Taksol+AZD4547 grubunda ise %19,5 olarak ölçüldü. Aynı şekilde SCC-9 ve FaDu hücreleri taksol ve taksol+AZD4547 uygulaması sonrasında yapılan analiz sonucu SCC-9 hücreleri için yara kapatma oranlarının kontrol grubu, Taksol ve Taksol+AZD4547 grubunda sırasıyla %40,

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

%25 ve %10 olduğu görüldü. FaDu hücrelerinde ise sırasıyla kontrol grubunda %29, Taksol grubunda %17 ve Taksol+AZD4547 grubunda ise %9 olarak ölçüldü (Şekil 4.13, $p<0,001$).



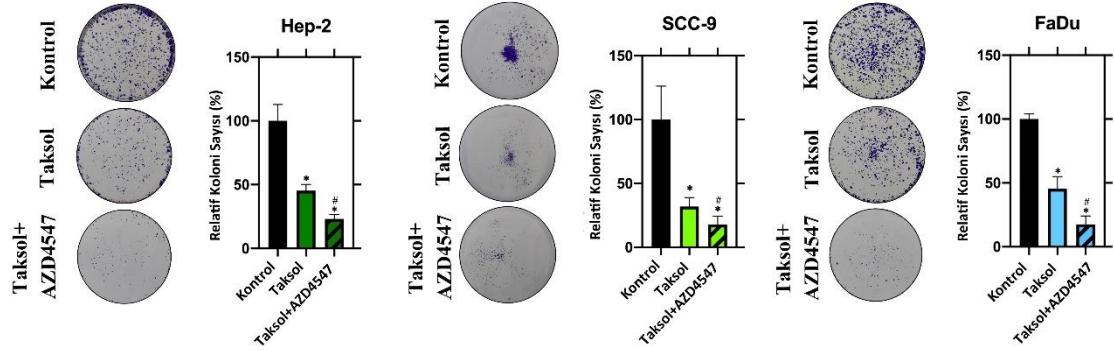
Şekil 4.13 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksol ve taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı muamelesinin hücre göçü üzerine etkileri.

Elde edilen bulgular neticesinde baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksolün hücre göçünü inhibe ettiği gösterildi. Ek olarak Taksol ve AZD4547'nin eş zamanlı uygulanması sonrasında hücre göçünü Taksol grubuna göre kıyaslandığı zaman anlamlı derecede inhibe ettiği gösterildi. Bu sonuçlar Taksol uygulanan baş ve boyun kanserli hücre hatlarında AZD4547'nin eş zamanlı olarak uygulanmasının etkinliği anlamlı derecede arttırıp metastaz yapabilme potansiyeli için gerekli olan migrasyon kabiliyetini baskıladığını gösterdi.

Daha sonra deneylere koloni oluşturma testi ile devam edildi. Öncelikle baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksol ve taksol ile beraber AZD4547'nin eş zamanlı uygulanması sonucu oluşan koloni sayılarındaki değişim değerlendirildi. Daha sonra koloniler 3 farklı morfolojiye sahip koloni türlerine göre sınıflandırıldı ve istatistiksel olarak analiz edildi.

Hep-2 hücrelerinde Taksol grubunda kontrol grubuna göre rölatif koloni sayısının %45'e, Taksol+AZD4547 grubunda ise %23'e düştüğü gösterildi ($p<0,01$). SCC-9 hücre hattında ise Taksol grubunda rölatif koloni sayısının %32'ye, Taksol+AZD4547 grubunda ise bu oranın %18'e kadar düştüğü gösterildi ($p<0,01$). FaDu hücrelerinde

rölatif koloni sayısının kontrol grubu ile kıyaslandığında Taksol grubunda %45'e, Taksol+AZD4547 grubunda ise %17'ye kadar düştüğü gözlemlendi (Şekil 4.14, $p<0,01$).



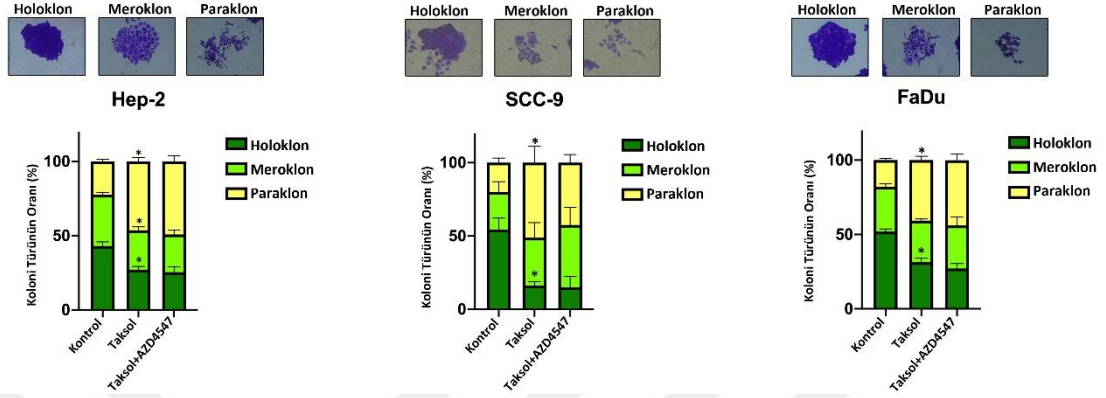
Şekil 4.14 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında Taksol ve Taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı muamelesinin koloni sayıları üzerine etkileri.

Daha sonra taksol ve taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı olarak verildiği baş ve boyun kanseri hücre hatlarında koloni çeşitlerindeki değişim istatistiksel olarak değerlendirildi. Hep-2 hücrelerinde kontrol ile kıyaslandığı zaman Taksol grubunda holoklon ve meroklon sayılarında azalma ve paraklon sayılarındaki artış anlamlı olarak gösterildi ($p<0,01$). Taksol+AZD4547 grubunda ise kontrol grubuna göre holoklon sayısında azalma ve paraklon sayısında artış olmasına rağmen Taksol grubuna göre kıyaslandığı zaman değişim anlamlı değildi (Şekil 4.15).

SCC-9 hücrelerinde kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman Taksol grubunda holoklon sayısındaki azalma ve paraklon sayısındaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterildi ($p<0,05$). Taksol+AZD4547 grubu, taksol grubu ile kıyaslandığı zaman holoklon sayılarında azalma ve paraklon sayılarında artış gösterse de sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi. (Şekil 4.15)

FaDu hücre hattında kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman Taksol grubunda holoklon sayısında azalma ve paraklon sayısında ise artışın anlamlı olduğu gösterildi ($p<0,05$).

FaDu ve SCC-9 hücre hatlarında meroklon sayıları kontrol, Taksol ve Taksol+AZD4547 gruplarında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15 Baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksol ve taksol ile AZD4547'nin eş zamanlı muamelesinin koloni sayıları üzerine etkileri.

Tüm bulgular göz önüne alındığı zaman AZD4547'nin taksolün etkinliğini artırarak oluşan koloni sayısını taksolün tek başına uygulamasına göre anlamlı olarak azalttığı gösterildi. Ayrıca Koloni çeşitlerine göre yapılan sınıflandırmada taksolün baş ve boyun kanseri hücre hatlarında kök hücre karakteristiği özelliklerini barındıran holoklon sayısında azalmaya ve farklılaşmış hücrelerden oluşan hücre toplulukları olarak nitelendirilen paraklon sayısında artışa yol açtığı gösterildi. Bu sonuçlar taksol ile birlikte AZ4547 uygulanmasının baş ve boyun kanserlerinde, kanserin agresifliğine yol açan ve terapi direnci ile ilişkilendirilen kanser kök hücre benzeri hücreleri azalttığı gösterilmiştir.

4.9. Taksol dirençli hücrelerde AZD4547 kanser ilişkili fenotipleri etkin bir şekilde inhibe eder

Taksol, birçok farklı mekanizma ile hücreleri apoptoza götüren anti-mitotik bir ajandır ve yumurtalık, meme, akciğer kanserleri ve baş boyun kanserleri başta olmak üzere birçok farklı kanserin tedavisinde kullanılmaktadır (Rowinsky et al. 1992; Sarosy et al. 1992; Rowinsky and Donehower 1995; Xu et al. 2013; Xie et al. 2015). Ancak baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomların tedavisi için yaygın şekilde kullanılmalarına rağmen, bu kanser türlerinde taksol için net bir tedavi prosedürünün olmaması ve tedavide gelişen kemoterapi direnci hastalığın tedavisinin önündeki en büyük engellerden biridir.

Ayrıca, özellikle NFK ve OFK gibi baş ve boyun kanserlerinde kemoterapiye direnç gelişimine sık rastlanmakta ve bu durum tümörün ilerlemesine ve metastaz yapmasına sebep olmaktadır (Mody et al. 2016; Woo et al. 2017; Gao et al. 2018; Zhang et al. 2019).

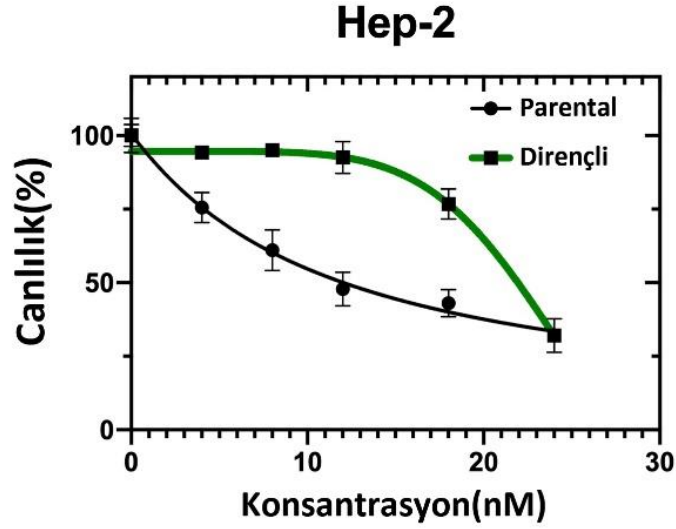
Kemoterapi direncinin temel mekanizmaları genel olarak kanser hücresinin metabolizmasındaki değişimler, tümörün heterojenliği, kanser kök hücrelerin varlığı ve alternatif sinyal yollarının aktive edilmesini içerir (Ramos and Bentires-Alj 2015; Pan et al. 2016). Kanser hücreleri tarafından alternatif sinyal yollarının tercih edilmesinin kemoterapiye direnç gelişmesinde büyük rol oynadığı bilinmektedir. PI3K/AKT yolağı baş ve boyun kanserlerinin yaklaşık %90'unda aşırı ifade edildiği gösterilmiştir. PI3K/AKT yolağının aşırı ifadesi birçok kanserde RT ve KT direnci, hücre proliferasyonu ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir (Molinolo et al. 2007; Freudlsperger et al. 2015; Yu and Cui 2016)

Prostat kanseri hücre hattı PC-3 hücrelerinde SOX2 geninin aşırı ifadesi taksole direnç ile ilişkilendirilmiştir. Taksolün apoptoz mekanizmalarını devreye sokan uyarıcı etkisi SOX2'yi aşırı düzeyde ifade eden PC-3 hücrelerinde SOX2 tarafından PI3K/AKT yolağı aracılığıyla baskılanmış ve SOX2'yi aşırı düzeyde ifade eden PC-3 hücrelerin anti-apoptotik bir fenotip sergilediği gösterilmiştir (Li et al. 2014). Ayrıca, meme kanserinde Trasnşgelin-2'nin PTEN ile doğrudan etkileşime girerek PI3K/AKT/Gsk3 β yolağını aktifleştirerek taksol direncine ve metastaza sebep olduğu gösterilmiştir (Liu et al. 2019).

Literatürden elde edilen ve tez kapsamında elde ettiğimiz bulgular neticesinde PI3K/AKT yolağının baş ve boyun kanserlerinde aktifleştığının gösterilmesi ve direnç mekanizmalarının birçok kanser türünde bu yolak aracılığıyla gerçekleşmesi baz alınarak baş ve boyun kanseri hücre hattı olan Hep-2 hücrelerine belirlemiş olduğumuz IC50 dozuna dirençli hücre hattı geliştirildi ve taksole dirençli hücre hattında AZD4547'nin hücre canlılığı, hücre göçü, koloni oluşturma potansiyeli gibi kanser ilişkili fenotipler üzerindeki etkisi araştırıldı.

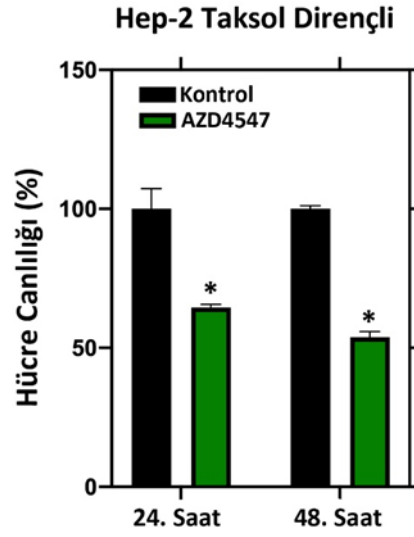
Öncelikle taksole dirençli Hep-2 hücre hattı oluşturuldu. Taksol direncini doğrulamak için parental ve Taksol dirençli Hep-2 hücre hatları 4 nM, 8 nM, 12 nM, 18

nM ve 24 nM taksol ile muamele edilerek hücre canlılığı değerlendirildi. Parental hücrelerde doz artışına bağlı canlılık azalırken taksol dirençli hücrelerde 12 nM'ın üzerindeki dozlarda canlılığın azaldığı gösterildi (Şekil 4.16). Sonuçlar Hep-2 hücre hattının IC50 dozunda (12 nM) taksole dirençli hale geldiğini gösterdi.



Şekil 4.16 Taksole dirençli Hep-2 hücre hattı ve parental Hep-2 hücre hattının doza bağlı hücre canlılığı üzerine etkileri.

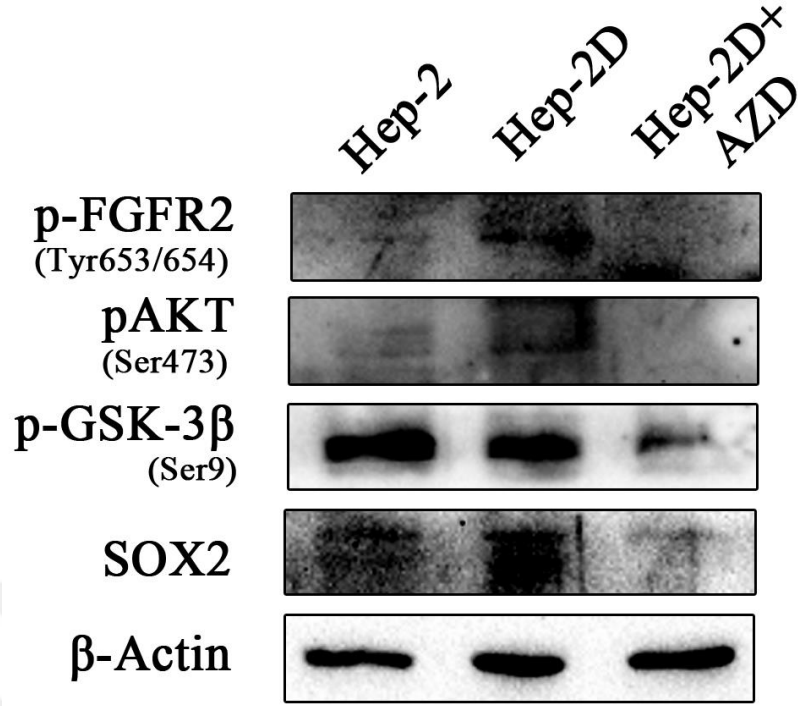
Daha sonra taksole dirençli hücreler 24 ve 48 saat AZD4547 muamele edilerek AZD4547'nin taksole dirençli hücrelerin canlılığı üzerindeki etkileri araştırıldı. 24 saat AZD4547 muamelesi sonrasında hücre canlılığının kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman %60'a kadar düştüğü, 48 saatlik AZD4547 muamelesi sonrasında ise hücre canlılığının %50 seviyelerine kadar gerilediği gösterildi (Şekil 4.17, $p < 0,01$). Sonuçlar taksole dirençli hücre hattında AZD4547'nin hücre canlılığını etkili bir şekilde azalttığını gösterdi.



Şekil 4.17 Taksol dirençli hücre hattında AZD4547'nin 24 ve 48 saatlik muamelesi sonrası hücre canlılığı sırasıyla %60 ve %50 seviyelerine düşmüştür.

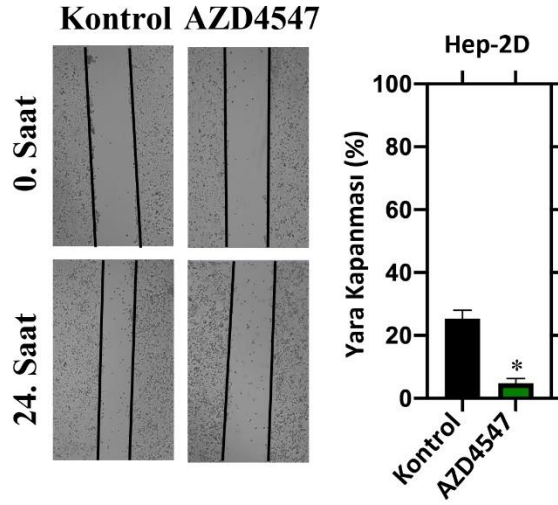
Taksol dirençli Hep-2 hücrelerinde direnç mekanizmasının açığa çıkarılması için parental hücrelerde, taksol dirençli hücrelerde ve dirençli hücelere AZD4547 muamele sonrasında western blot analizi yapıldı. Parental hücelere göre kıyaslandığı zaman taksol dirençli hücrelerde p-FGFR2 ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktiviteleri ve ifade seviyelerinin artmış olduğu tespit edildi. Dirençli hücelere AZD4547 muamelesi sonrasında ise p-FGFR2 ve aşağı akış yönündeki sinyal yolu bileşenlerinin aktiviteleri ve ifade seviyelerinin azaldığı gösterildi (Şekil 4.18).

Sonuçlar değerlendirildiği zaman taksol dirençli hücrelerin PI3K/AKT yolağını aktifleştirerek direnç mekanizmasını geliştirdiği söylenebilir. Taksol dirençli hücelere AZD4547 muamelesinin PI3K/AKT yolağını inhibe ederek direnç mekanizmasının üstesinden gelmek için alternatif bir terapötik bir yaklaşım olabileceği değerlendirilmektedir.



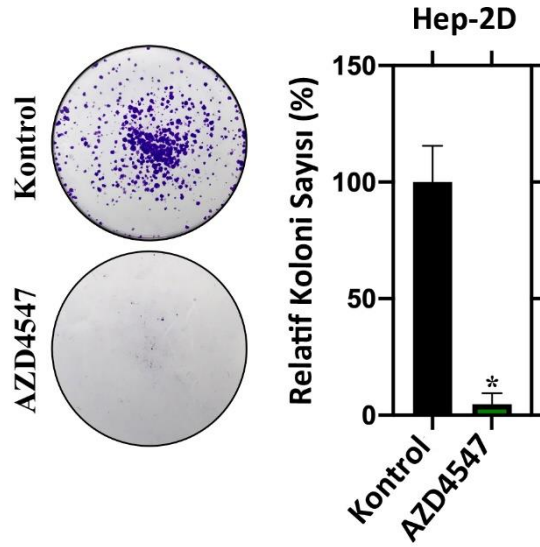
Şekil 4.18 Parental, Taksol dirençli ve Taksol dirençli hücre hattına AZD4547 muamelesi sonrası p-FGFR2 ve alt sinyal yolu hedeflerinin ifade düzeyleri.

Taksol dirençli hücrelerde AZD4547'nin hücre göçü üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için yara testi yapıldı. Hücre göçü azalmasının kantitatif olarak değerlendirilmesi için hücrelerde açılan yaraların kapatılma yüzdeleri hesaplandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Dirençli hücrelere yara kapanması oranının yaklaşık %25 civarında olduğu gösterildi. AZD4547 ile muamele sonrası yara kapanma oranının %5 olduğu gösterildi (Şekil 4.19, $p < 0,01$). Sonuçlar taksol dirençli hücrelerde AZD4547'nin hücre göçünü inhibe ettiği ve hücre hareketini kısıtladığını göstermiştir.



Şekil 4.19 Taksole dirençli hücre hattında AZD4547'nin hücre göçü üzerindeki etkileri.

Taksole dirençli hücrelerde AZD4547 muamelesi sonrası hücrelerin koloni oluşturma potansiyelleri değerlendirildi. Daha sonra oluşan koloniler 3 koloni türüne göre sınıflandırıldı. Taksol dirençli hücrelerde AZD4547'nin rölatif koloni sayısını %5'e kadar düşürdüğü gösterildi (Şekil 4.20, $p < 0,001$).

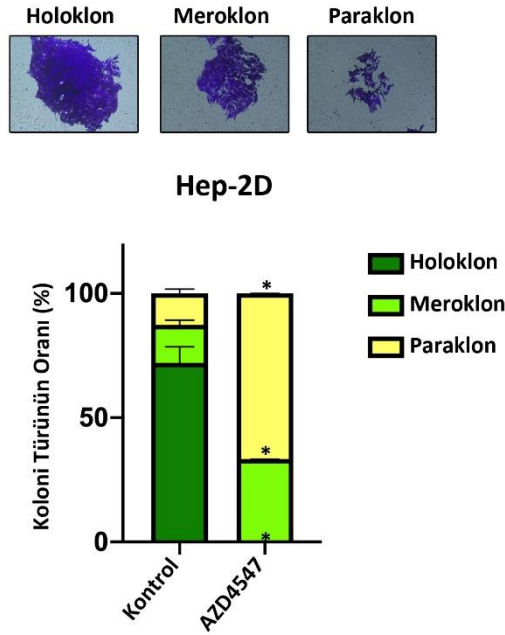


Şekil 4.20 Taksol dirençli hücrelerde AZD4547'nin koloni sayıları üzerindeki etkisi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Daha sonra koloniler 3 koloni tipine göre sınıflandırıldı. Taksol dirençli hücelere AZD4547 muamelesi sonrası holoklon gözlemlenmedi. Meroklon sayılarında azalma ve paraklon sayılarında anlamlı bir artış olduğu gösterildi (Şekil 4.21, $p < 0,001$). Ayrıca ilginç bir şekilde taksole dirençli hücelerde kolonilerin yaklaşık %72'sinin kanser kök hücre özelliği barındıran holoklonlardan oluştuğu gösterilmiştir. Dirençli hücelere AZD4547'nin muamelesi sonrasında koloni sayılarında ciddi bir düşüş olduğu gösterilmiş ve kanser kök hücre özelliği barındıran holoklonların oluşumunun tamamen engellendiği ortaya konulmuştur.

Sonuçlar direnç gelişimine katkı sağladığı bilinen kanser kök hücrelerin AZD4547 tarafından baskılandığını ve gelişen direnç mekanizmasının üstesinden gelmek için alternatif tedavi edici bir yaklaşım olabileceğini göstermiştir.



Şekil 4.21 Taksol dirençli hücre hattında AZD4547'nin oluşan kolonilerin klon çeşitleri üzerine etkileri.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan tez çalışmasında 4 farklı baş ve boyun kanseri hücre hattında AZD4547 ve taksolün kanserle ilişkili hücre fenotipler üzerindeki etkilerinin araştırılması, taksole karşı gelişen direncin hangi mekanizma üzerinden meydana geldiğinin incelenmesi ve bu direncin üstesinden gelmek için dirençli hücrelerde AZD4547'nin anti-kanser etkilerinin *in vitro* testlerle araştırılmasını amaçlanmıştır. Çeşitli online veritabanlarında yapılan incelemeler sonucunda taksol dirençli hücrelerde FGFR2 ve SOX2 genlerinin ifadelerinin arttığının tespit edilmesi ve baş ve boyun kanseri örneklerinde bu iki genin ifadelerinin yüksek korelasyon gösterdiklerinin ortaya konulması yaptığımız çalışmada ön bulgular olarak tez çalışmasının temel çıkış noktaları olmuştur.

Tümör ve normal doku örnekleri ile yaptığımız deneylerde p-FGFR2, p-AKT, p-Gsk3 β ve SOX2 ifade seviyelerinin normal örneklere göre kıyaslandığı zaman tümörlü doku örneklerinde anlamlı olarak arttığı gösterildi. rFGF muamelesi sonrasında, doku örneklerine benzer şekilde FGFR2 ve aşağı akış sinyal yolu hedeflerinin aktivite ve ifade düzeylerinin artması da bu verileri destekleyerek FGFR2/AKT/SOX2 aksisinin baş ve boyun karsinogenez sürecinde ve kanser ilişkili fenotiplerin oluşmasında katkısı olabileceğine dair önemli kanıtlar sunmaktadır. Aynı zamanda bulgularımız aktifleşen FGFR2'nin baş ve boyun kanseri hücre hatlarında aşağı akış sinyal yolu hedeflerinden biri olan PI3K/AKT yolağı aracılığıyla SOX2 ifadesini kontrol ettiğine dair işaretler sunmuştur.

Bulgularımız ayrıca AZD4547'nin baş ve boyun kanseri hücrelerinde aktifleşen FGFR2/AKT/SOX2 aksisinin inhibe ederek kanserle ilişkili fenotipler olan canlılık, hücre göçü ve koloni oluşturma gibi özellikleri etkili şekilde baskıladığını göstermektedir. Hücre göçünü araştırmak için yapılan deneylerde AZD4547'nin tümörün metastaz yapabilmesi için gerekli olan migrasyon kabiliyetini etkili şekilde azalttığı gösterilmiştir. AZD4547'nin, baş ve boyun kanseri hücre hatlarında, koloni oluşturma testlerinin sonucunda birçok çalışmada kemoterapiye direnç ile ilişkilendirilen kanser kök hücre benzeri hücreleri azalttığı gösterilmiştir. Dolayısıyla baş ve boyun kanserinde

gelişen kemoterapi direncinin üstesinden gelmek için adjuvan bir terapi yaklaşımı olabileceği düşünülmektedir.

Elde edilen bulgular neticesinde baş ve boyun kanseri hücre hatlarında taksol ve AZD4547'nin eş zamanlı uygulanmasının, hücre canlılığı, hücre göçü ve koloni oluşturma potansiyelini taksol grubuna göre anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca koloni çeşitlerine göre yapılan sınıflandırmada taksolün baş ve boyun kanseri hücre hatlarında kök hücre karakteristiği özelliklerini barındıran holoklon sayısında azalmaya ve farklılaşmış hücrelerden oluşan hücre toplulukları olarak nitelendirilen paraklon sayısında artışa yol açtığı gösterildi. Taksol ile birlikte AZ4547 uygulanmasının baş ve boyun kanserlerinde, kanserin agresifliğine yol açan ve terapi direnci ile ilişkilendirilen kanser kök hücre benzeri hücreleri azalttığı gösterilmiştir.

Baş ve boyun kanseri hücrelerinde taksole direnç mekanizmalarını ortaya koymak ve AZD4547'nin dirençli hücrelerin kanserle ilişkili hücresel fenotipleri üzerindeki etkilerini görmek için yapılan *in vitro* testler sonucunda, taksole dirençli hücrelerde, AZD4547'nin hücre canlılığını etkili bir şekilde azalttığı gösterildi. FGFR2/AKT/SOX2 aksisinin aktifleştiği taksol dirençli hücrelerinde AZD4547 muamelesinin bu yolağı inhibe ederek taksole karşı gelişen direnç mekanizmasının üstesinden gelinebileceği ortaya konulmuştur. İlginç bir şekilde taksole dirençli hücrelerde kolonilerin yaklaşık %72'sinin kanser kök hücre özelliği barındıran holoklonlardan oluştuğu gösterilmiş, dirençli hücrelere AZD4547'nin muamelesi sonrasında koloni sayılarında ciddi bir düşüş olmakla birlikte kanser kök hücre özelliği barındıran holoklonların oluşumunun tamamen engellendiği ortaya konulmuştur. Sonuçlar direnç gelişimine katkı sağladığı bilinen kanser kök hücrelerin AZD4547 tarafından baskılandığını ve gelişen direnç mekanizmasının üstesinden gelmek için alternatif tedavi edici bir yaklaşım olabileceğini göstermiştir. Ne var ki, verilerimizin *in vitro* testler sonucunda elde edilen veriler olduğu göz ardı edilmemelidir. Bu veriler daha net bir kanıt oluşturması açısından *in vivo* deneyler ile desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

- Abu-Ghanem, S., Yehuda, M., Carmel, N.N., Leshno, M., Abergel, A., Gutfeld, O. and Fliss, D.M. 2016. Elective Neck Dissection vs Observation in Early-Stage Squamous Cell Carcinoma of the Oral Tongue With No Clinically Apparent Lymph Node Metastasis in the Neck: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 142, 857-65.
- Adeel, M., Faisal, M., Rashid, A., Rasheed, S., Hussain, R., Malik, K.I., Hameed, M.Y. and Jamshed, A. 2019. Outcomes of definitive radiotherapy for early laryngeal cancer in terms of survival and patterns of failure. *J Laryngol Otol* 133, 1087-1091.
- Adelstein, D.J., Li, Y., Adams, G.L., Wagner, H., Kish, J.A., Ensley, J.F., Schuller, D.E. and Forastiere, A.A. 2003. An intergroup phase III comparison of standard radiation therapy and two schedules of concurrent chemoradiotherapy in patients with unresectable squamous cell head and neck cancer. *J Clin Oncol* 21, 92-8.
- Al-Sarraf, M., Pajak, T.F., Marcial, V.A., Mowry, P., Cooper, J.S., Stetz, J., Ensley, J.F. and Velez-Garcia, E. 1987. Concurrent radiotherapy and chemotherapy with cisplatin in inoperable squamous cell carcinoma of the head and neck. An RTOG Study. *Cancer* 59, 259-65.
- Anonim, 2013. Web Sitesi: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT01791985>, Erişim Tarihi: 14.01.2021.
- Anonim, 2016a. Web Sitesi: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02824133>, Erişim Tarihi: 14.01.2021.
- Anonim, 2016b. Web Sitesi: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02965378>, Erişim Tarihi: 14.01.2021.
- Anonim, 2018. Web Sitesi: <https://gco.iarc.fr/>, Erişim Tarihi: 28.12.2020.
- Anonim, 2021a. Web Sitesi: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1, Erişim Tarihi: 15.01.2021.
- Anonim, 2021b. Web Sitesi: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/pharyngeal-cancer>, Erişim Tarihi: 15.01.2021.
- Atıcı, E. 2007. Tıp Tarihinde Kanser ve Lösemi. *Türk Onkoloji Dergisi*, pp. 197-204.

- Baek, S.K., Jung, K.Y., Kang, S.M., Kwon, S.Y., Woo, J.S., Cho, S.H. and Chung, E.J. 2010. Clinical risk factors associated with cervical lymph node recurrence in papillary thyroid carcinoma. *Thyroid* 20, 147-52.
- Barлак, N. 2018. Metforminin Larenks Kanseri Hücre Hattı Hep-2 Hücreleri Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi ve 5-Florourasil İle Sinerjistik Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, 69, Erzurum.
- Barrandon, Y. and Green, H. 1987. Three clonal types of keratinocyte with different capacities for multiplication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84, 2302-6.
- Bass, A.J., Watanabe, H., Mermel, C.H., Yu, S., Perner, S., Verhaak, R.G., Kim, S.Y., Wardwell, L., Tamayo, P., Gat-Viks, I., Ramos, A.H., Woo, M.S., Weir, B.A., Getz, G., Beroukhi, R., O'Kelly, M., Dutt, A., Rozenblatt-Rosen, O., Dziunycz, P., Komisarof, J., Chirieac, L.R., Lafargue, C.J., Scheble, V., Wilbertz, T., Ma, C., Rao, S., Nakagawa, H., Stairs, D.B., Lin, L., Giordano, T.J., Wagner, P., Minna, J.D., Gazdar, A.F., Zhu, C.Q., Brose, M.S., Ceconello, I., Ribeiro, U., Marie, S.K., Dahl, O., Shivdasani, R.A., Tsao, M.S., Rubin, M.A., Wong, K.K., Regev, A., Hahn, W.C., Beer, D.G., Rustgi, A.K. and Meyerson, M. 2009. SOX2 is an amplified lineage-survival oncogene in lung and esophageal squamous cell carcinomas. *Nat Genet* 41, 1238-42.
- Baykara, O. 2016. Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balıkesir Health Sciences Journal*.
- Beaver, C.M., Ahmed, A. and Masters, J.R. 2014. Clonogenicity: holoclones and meroclones contain stem cells. *PLoS One* 9, e89834.
- Bello, I.O., Soini, Y. and Salo, T. 2010. Prognostic evaluation of oral tongue cancer: means, markers and perspectives (I). *Oral Oncol* 46, 630-5.
- Bernier, J., Cooper, J.S., Pajak, T.F., van Glabbeke, M., Bourhis, J., Forastiere, A., Ozsahin, E.M., Jacobs, J.R., Jassem, J., Ang, K.K. and Lefèbvre, J.L. 2005. Defining risk levels in locally advanced head and neck cancers: a comparative analysis of concurrent postoperative radiation plus chemotherapy trials of the EORTC (#22931) and RTOG (# 9501). *Head Neck* 27, 843-50.
- Braakhuis, B.J., Leemans, C.R. and Visser, O. 2014. Incidence and survival trends of head and neck squamous cell carcinoma in the Netherlands between 1989 and 2011. *Oral Oncol* 50, 670-5.

- Bradley, G. and Ling, V. 1994. P-glycoprotein, multidrug resistance and tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 13, 223-33.
- Brandizzi, D., Gandolfo, M., Velazco, M.L., Cabrini, R.L. and Lanfranchi, H.E. 2008. Clinical features and evolution of oral cancer: A study of 274 cases in Buenos Aires, Argentina. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 13, E544-8.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. and Jemal, A. 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 68, 394-424.
- Bruss, D.M. and Sajjad, H. 2020. *Anatomy, Head and Neck, Laryngopharynx*, StatPearls. StatPearls Publishing
- Capuano, G., Gentile, P.C., Bianciardi, F., Tosti, M., Palladino, A. and Di Palma, M. 2010. Prevalence and influence of malnutrition on quality of life and performance status in patients with locally advanced head and neck cancer before treatment. *Support Care Cancer* 18, 433-7.
- Casarett, D., Fishman, J., O'Dwyer, P.J., Barg, F.K., Naylor, M. and Asch, D.A. 2008. How should we design supportive cancer care? The patient's perspective. *J Clin Oncol* 26, 1296-301.
- Cerami, E., Gao, J., Dogrusoz, U., Gross, B.E., Sumer, S.O., Aksoy, B.A., Jacobsen, A., Byrne, C.J., Heuer, M.L., Larsson, E., Antipin, Y., Reva, B., Goldberg, A.P., Sander, C. and Schultz, N. 2012. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov* 2, 401-4.
- Chen, A.Y., Schrag, N., Hao, Y., Stewart, A. and Ward, E. 2007. Changes in treatment of advanced oropharyngeal cancer, 1985-2001. *Laryngoscope* 117, 16-21.
- Chin, K., DeVries, S., Fridlyand, J., Spellman, P.T., Roydasgupta, R., Kuo, W.L., Lapuk, A., Neve, R.M., Qian, Z., Ryder, T., Chen, F., Feiler, H., Tokuyasu, T., Kingsley, C., Dairkee, S., Meng, Z., Chew, K., Pinkel, D., Jain, A., Ljung, B.M., Esserman, L., Albertson, D.G., Waldman, F.M. and Gray, J.W. 2006. Genomic and transcriptional aberrations linked to breast cancer pathophysiologies. *Cancer Cell* 10, 529-41.
- Chitapanarux, I., Lorvidhaya, V., Kamnerdsupaphon, P., Sumitsawan, Y., Tharavichitkul, E., Sukthomya, V. and Ford, J. 2007. Chemoradiation comparing cisplatin versus carboplatin in locally advanced nasopharyngeal cancer: randomised, non-inferiority, open trial. *Eur J Cancer* 43, 1399-406.

- Cho, J.H., Joo, Y.H., Shin, E.Y., Park, E.J. and Kim, M.S. 2017. Anticancer Effects of Colchicine on Hypopharyngeal Cancer. *Anticancer Res* 37, 6269-6280.
- de Bree, R. 2019. The Current Indications for Non-Surgical Treatment of Hypopharyngeal Cancer. *Adv Otorhinolaryngol* 83, 76-89.
- Delpuech, O., Rooney, C., Mooney, L., Baker, D., Shaw, R., Dymond, M., Wang, D., Zhang, P., Cross, S., Veldman-Jones, M., Wilson, J., Davies, B.R., Dry, J.R., Kilgour, E. and Smith, P.D. 2016. Identification of Pharmacodynamic Transcript Biomarkers in Response to FGFR Inhibition by AZD4547. *Mol Cancer Ther* 15, 2802-2813.
- Deng, Y., Wang, M., Zhou, L., Zheng, Y., Li, N., Tian, T., Zhai, Z., Yang, S., Hao, Q., Wu, Y., Song, D., Zhang, D., Lyu, J. and Dai, Z. 2020. Global burden of larynx cancer, 1990-2017: estimates from the global burden of disease 2017 study. *Aging (Albany NY)* 12, 2545-2583.
- Divi, V., Worden, F.P., Prince, M.E., Eisbruch, A., Lee, J.S., Bradford, C.R., Chepeha, D.B., Teknos, T.N., Hogikyan, N.D., Moyer, J.S., Tsien, C.I., Urba, S.G. and Wolf, G.T. 2010. Chemotherapy alone for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *Head Neck* 32, 1040-7.
- Elbehi, A.M., Anu, R.I., Ekine-Afolabi, B. and Cash, E. 2020. Emerging role of immune checkpoint inhibitors and predictive biomarkers in head and neck cancers. *Oral Oncol* 109, 104977.
- Feinberg, A.P. 2004. The epigenetics of cancer etiology. *Semin Cancer Biol* 14, 427-32.
- Feng, S., Shao, L., Castro, P., Coleman, I., Nelson, P.S., Smith, P.D., Davies, B.R. and Ittmann, M. 2017. Combination treatment of prostate cancer with FGF receptor and AKT kinase inhibitors. *Oncotarget* 8, 6179-6192.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D.M., Forman, D. and Bray, F. 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 136, E359-86.
- Fletcher, G.H. and Jessee, R.H. 1977. The place of irradiation in the management of the primary lesion in head and neck cancers. *Cancer* 39, 862-7.
- Forastiere, A.A., Goepfert, H., Maor, M., Pajak, T.F., Weber, R., Morrison, W., Glisson, B., Trotti, A., Ridge, J.A., Chao, C., Peters, G., Lee, D.J., Leaf, A., Ensley, J. and

- Cooper, J. 2003. Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med* 349, 2091-8.
- Freudlsperger, C., Horn, D., Weißfuß, S., Weichert, W., Weber, K.J., Saure, D., Sharma, S., Dyckhoff, G., Grabe, N., Plinkert, P., Hoffmann, J., Freier, K. and Hess, J. 2015. Phosphorylation of AKT(Ser473) serves as an independent prognostic marker for radiosensitivity in advanced head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 136, 2775-85.
- Gamez, M.E., Blakaj, A., Zoller, W., Bonomi, M. and Blakaj, D.M. 2020. Emerging Concepts and Novel Strategies in Radiation Therapy for Laryngeal Cancer Management. *Cancers (Basel)* 12.
- Gangemi, R.M., Griffero, F., Marubbi, D., Perera, M., Capra, M.C., Malatesta, P., Ravetti, G.L., Zona, G.L., Daga, A. and Corte, G. 2009. SOX2 silencing in glioblastoma tumor-initiating cells causes stop of proliferation and loss of tumorigenicity. *Stem Cells* 27, 40-8.
- Gao, J., Shao, Z., Yan, M., Fu, T., Zhang, L. and Yan, Y. 2018. Targeted regulation of STAT3 by miR-29a in mediating Taxol resistance of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-1. *Cancer Biomark* 22, 641-648.
- Gao, L., Yu, L., Li, C.M., Li, Y., Jia, B.L. and Zhang, B. 2016. Karyopherin $\alpha 2$ induces apoptosis in tongue squamous cell carcinoma CAL-27 cells through the p53 pathway. *Oncol Rep* 35, 3357-62.
- Gavine, P.R., Mooney, L., Kilgour, E., Thomas, A.P., Al-Kadhimi, K., Beck, S., Rooney, C., Coleman, T., Baker, D., Mellor, M.J., Brooks, A.N. and Klinowska, T. 2012. AZD4547: an orally bioavailable, potent, and selective inhibitor of the fibroblast growth factor receptor tyrosine kinase family. *Cancer Res* 72, 2045-56.
- Gen, Y., Yasui, K., Nishikawa, T. and Yoshikawa, T. 2013. SOX2 promotes tumor growth of esophageal squamous cell carcinoma through the AKT/mammalian target of rapamycin complex 1 signaling pathway. *Cancer Sci* 104, 810-6.
- Giri, D., Ropiquet, F. and Ittmann, M. 1999. Alterations in expression of basic fibroblast growth factor (FGF) 2 and its receptor FGFR-1 in human prostate cancer. *Clin Cancer Res* 5, 1063-71.
- Gonzalez, M. and Riera, A. 2020. Tongue Cancer, StatPearls. StatPearls Publishing
- Goodwin, W.J. and Byers, P.M. 1993. Nutritional management of the head and neck cancer patient. *Med Clin North Am* 77, 597-610.

- Gottesman, M.M. and Pastan, I. 1993. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Annu Rev Biochem* 62, 385-427.
- Gourin, C.G., Conger, B.T., Sheils, W.C., Bilodeau, P.A., Coleman, T.A. and Porubsky, E.S. 2009. The effect of treatment on survival in patients with advanced laryngeal carcinoma. *Laryngoscope* 119, 1312-7.
- Guadagnolo, B.A., Haddad, R.I., Posner, M.R., Weeks, L., Wirth, L.J., Norris, C.M., Sullivan, C.A., Goguen, L., Busse, P.M. and Tishler, R. 2005. Organ preservation and treatment toxicity with induction chemotherapy followed by radiation therapy or chemoradiation for advanced laryngeal cancer. *Am J Clin Oncol* 28, 371-8.
- Hagentz, M., Silver, C.E., Hartl, D.M., Takes, R.P., Rodrigo, J.P., Robbins, K.T., Rinaldo, A. and Ferlito, A. 2010. Chemotherapy regimens and treatment protocols for laryngeal cancer. *Expert Opin Pharmacother* 11, 1305-16.
- Hajdu, S.I. 2004. Greco-Roman thought about cancer. *Cancer* 100, 2048-51.
- Hajdu, S.I. 2011. A note from history: landmarks in history of cancer, part 1. *Cancer* 117, 1097-102.
- Hall, S.F., Groome, P.A., Irish, J. and O'Sullivan, B. 2008. The natural history of patients with squamous cell carcinoma of the hypopharynx. *Laryngoscope* 118, 1362-71.
- Han, H.R., Hermann, G.M., Ma, S.J., Iovoli, A.J., Wooten, K.E., Arshad, H., Gupta, V., McSpadden, R.P., Kuriakose, M.A., Markiewicz, M.R., Chan, J.M., Platek, M.E., Ray, A.D., Gu, F., Hicks, W.L., Repasky, E.A. and Singh, A.K. 2020. Matched pair analysis to evaluate the impact of hospitalization during radiation therapy as an early marker of survival in head and neck cancer patients. *Oral Oncol* 109, 104854.
- Han, J., Wang, L., Wang, X. and Li, K. 2016. Downregulation of MicroRNA-126 Contributes to Tumorigenesis of Squamous Tongue Cell Carcinoma via Targeting KRAS. *Med Sci Monit* 22, 522-9.
- Hanna, G.J., Haddad, R.I. and Lorch, J.H. 2013. Induction chemotherapy for locoregionally advanced head and neck cancer: past, present, future? *Oncologist* 18, 288-93.
- Harwood, A.R. and Rawlinson, E. 1983. The quality of life of patients following treatment for laryngeal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 9, 335-8.

- Haugsten, E.M., Wiedlocha, A., Olsnes, S. and Wesche, J. 2010. Roles of fibroblast growth factor receptors in carcinogenesis. *Mol Cancer Res* 8, 1439-52.
- Holliday, E.B. and Frank, S.J. 2016. Proton therapy for nasopharyngeal carcinoma. *Chin Clin Oncol* 5, 25.
- Honorato J, C.D., da Silva LE, Dias FL, de Faria PA, Lourenço S. 2009. Overall survival analysis in oral squamous cell carcinoma patients diagnosed at the National Cancer Institute in 1999. *Revista Brasileira de Epidemiologia*.
- Howlander N, N.A., Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, and Tatalovich Z, M.A., Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). 2017. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2017. National Cancer Institute. Bethesda, MD.
- Huang, M., Shen, A., Ding, J. and Geng, M. 2014. Molecularly targeted cancer therapy: some lessons from the past decade. *Trends Pharmacol Sci* 35, 41-50.
- Huber, M.A. and Tantiwongkosi, B. 2014. Oral and oropharyngeal cancer. *Med Clin North Am* 98, 1299-321.
- Itoh, N. and Ornitz, D.M. 2011. Fibroblast growth factors: from molecular evolution to roles in development, metabolism and disease. *J Biochem* 149, 121-30.
- Jamal, Z. and Anjum, F. 2020. Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma, StatPearls. StatPearls Publishing
- Jang, J.H., Shin, K.H. and Park, J.G. 2001. Mutations in fibroblast growth factor receptor 2 and fibroblast growth factor receptor 3 genes associated with human gastric and colorectal cancers. *Cancer Res* 61, 3541-3.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M.M., Ferlay, J., Ward, E. and Forman, D. 2011. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 61, 69-90.
- Jethwa, A.R. and Khariwala, S.S. 2017. Tobacco-related carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer Metastasis Rev* 36, 411-423.
- JH, B., 1930. *The Edwin Smith Surgical Papyrus*. University of Chicago Press, Chicago.
- Jibodh, R.A., Lagas, J.S., Nuijen, B., Beijnen, J.H. and Schellens, J.H. 2013. Taxanes: old drugs, new oral formulations. *Eur J Pharmacol* 717, 40-6.
- Kampan, N.C., Madondo, M.T., McNally, O.M., Quinn, M. and Plebanski, M. 2015. Paclitaxel and Its Evolving Role in the Management of Ovarian Cancer. *Biomed Res Int* 2015, 413076.

- Karakashev, S.V. and Reginato, M.J. 2015. Progress toward overcoming hypoxia-induced resistance to solid tumor therapy. *Cancer Manag Res* 7, 253-64.
- Karatzanis, A.D., Psychogios, G., Waldfahrer, F., Kapsreiter, M., Zenk, J., Velegrakis, G.A. and Iro, H. 2014. Management of locally advanced laryngeal cancer. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 43, 4.
- Katoh, M. 2016. FGFR inhibitors: Effects on cancer cells, tumor microenvironment and whole-body homeostasis (Review). *Int J Mol Med* 38, 3-15.
- Katoh, M. and Nakagama, H. 2014. FGF receptors: cancer biology and therapeutics. *Med Res Rev* 34, 280-300.
- Kawakita, D. and Matsuo, K. 2017. Alcohol and head and neck cancer. *Cancer Metastasis Rev* 36, 425-434.
- Kim, S.H., Ryu, H., Ock, C.Y., Suh, K.J., Lee, J.Y., Kim, J.W., Lee, J.O., Kim, Y.J., Lee, K.W., Bang, S.M., Kim, J.H., Lee, J.S., Ahn, J.B., Kim, K.J. and Rha, S.Y. 2018. BGJ398, A Pan-FGFR Inhibitor, Overcomes Paclitaxel Resistance in Urothelial Carcinoma with FGFR1 Overexpression. *Int J Mol Sci* 19.
- Klein, T., Tucker, J., Holdgate, G.A., Norman, R.A. and Breeze, A.L. 2014. FGFR1 Kinase Inhibitors: Close Regioisomers Adopt Divergent Binding Modes and Display Distinct Biophysical Signatures. *ACS Med Chem Lett* 5, 166-71.
- Koole, K., Brunen, D., van Kempen, P.M., Noorlag, R., de Bree, R., Lieftink, C., van Es, R.J., Bernardis, R. and Willems, S.M. 2016. FGFR1 Is a Potential Prognostic Biomarker and Therapeutic Target in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res* 22, 3884-93.
- Kops, G.J., Weaver, B.A. and Cleveland, D.W. 2005. On the road to cancer: aneuploidy and the mitotic checkpoint. *Nat Rev Cancer* 5, 773-85.
- Lao, X.M., Liang, Y.J., Su, Y.X., Zhang, S.E., Zhou, X.I. and Liao, G.Q. 2016. Distribution and significance of interstitial fibrosis and stroma-infiltrating B cells in tongue squamous cell carcinoma. *Oncol Lett* 11, 2027-2034.
- Lara-Gonzalez, P., Westhorpe, F.G. and Taylor, S.S. 2012. The spindle assembly checkpoint. *Curr Biol* 22, R966-80.

- Larsson, S.C., Giovannucci, E. and Wolk, A. 2006. Folate intake, MTHFR polymorphisms, and risk of esophageal, gastric, and pancreatic cancer: a meta-analysis. *Gastroenterology* 131, 1271-83.
- Lee, A.W., Sze, W.M., Au, J.S., Leung, S.F., Leung, T.W., Chua, D.T., Zee, B.C., Law, S.C., Teo, P.M., Tung, S.Y., Kwong, D.L. and Lau, W.H. 2005. Treatment results for nasopharyngeal carcinoma in the modern era: the Hong Kong experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 61, 1107-16.
- Li, D., Zhao, L.N., Zheng, X.L., Lin, P., Lin, F., Li, Y., Zou, H.F., Cui, R.J., Chen, H. and Yu, X.G. 2014. Sox2 is involved in paclitaxel resistance of the prostate cancer cell line PC-3 via the PI3K/Akt pathway. *Mol Med Rep* 10, 3169-76.
- Licitra, L., Grandi, C., Guzzo, M., Mariani, L., Lo Vullo, S., Valvo, F., Quattrone, P., Valagussa, P., Bonadonna, G., Molinari, R. and Cantù, G. 2003. Primary chemotherapy in resectable oral cavity squamous cell cancer: a randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 21, 327-33.
- Liu, L., Meng, T., Zheng, X., Liu, Y., Hao, R., Yan, Y., Chen, S., You, H., Xing, J. and Dong, Y. 2019. Transgelin 2 Promotes Paclitaxel Resistance, Migration, and Invasion of Breast Cancer by Directly Interacting with PTEN and Activating PI3K/Akt/GSK-3 β Pathway. *Mol Cancer Ther* 18, 2457-2468.
- Liu, L., Ye, T.H., Han, Y.P., Song, H., Zhang, Y.K., Xia, Y., Wang, N.Y., Xiong, Y., Song, X.J., Zhu, Y.X., Li, d.L., Zeng, J., Ran, K., Peng, C.T., Wei, Y.Q. and Yu, L.T. 2014. Reductions in myeloid-derived suppressor cells and lung metastases using AZD4547 treatment of a metastatic murine breast tumor model. *Cell Physiol Biochem* 33, 633-45.
- Luo, H., Quan, J., Xiao, H., Luo, J., Zhang, Q., Pi, G., Ye, Y., He, R., Liu, Y., Su, X., Zhao, L. and Wang, G. 2018. FGFR inhibitor AZD4547 can enhance sensitivity of esophageal squamous cell carcinoma cells with epithelial-mesenchymal transition to gefitinib. *Oncol Rep* 39, 2270-2278.
- Maehara, O., Suda, G., Natsuizaka, M., Ohnishi, S., Komatsu, Y., Sato, F., Nakai, M., Sho, T., Morikawa, K., Ogawa, K., Shimazaki, T., Kimura, M., Asano, A., Fujimoto, Y., Ohashi, S., Kagawa, S., Kinugasa, H., Naganuma, S., Whelan, K.A., Nakagawa, H., Nakagawa, K., Takeda, H. and Sakamoto, N. 2017. Fibroblast growth factor-2-mediated FGFR/Erk signaling supports maintenance of cancer stem-like cells in esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 38, 1073-1083.

- Marur, S. and Forastiere, A.A. 2016. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Update on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc* 91, 386-96.
- McMullen, C.P. and Smith, R.V. 2015. Treatment/Comparative therapeutics: cancer of the larynx and hypopharynx. *Surg Oncol Clin N Am* 24, 521-45.
- McNeil, B.J., Weichselbaum, R. and Pauker, S.G. 1981. Speech and survival: tradeoffs between quality and quantity of life in laryngeal cancer. *N Engl J Med* 305, 982-7.
- Mikel'saar, M.E., Siigur, U.K.h. and Lentsner, A.A. 1990. [Determination of the quantitative composition of fecal microflora]. *Lab Delo*, 62-6.
- Mody, M.D., Gill, H.S. and Saba, N.F. 2016. The Evolving and Future Role of Taxanes in Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck: A Review. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 142, 898-905.
- Molinolo, A.A., Hewitt, S.M., Amornphimoltham, P., Keelawat, S., Rangdaeng, S., Meneses García, A., Raimondi, A.R., Jufe, R., Itoiz, M., Gao, Y., Saranath, D., Kaleebi, G.S., Yoo, G.H., Leak, L., Myers, E.M., Shintani, S., Wong, D., Massey, H.D., Yeudall, W.A., Lonardo, F., Ensley, J. and Gutkind, J.S. 2007. Dissecting the Akt/mammalian target of rapamycin signaling network: emerging results from the head and neck cancer tissue array initiative. *Clin Cancer Res* 13, 4964-73.
- Motz, K., Chang, H.Y., Quon, H., Richmon, J., Eisele, D.W. and Gourin, C.G. 2017. Association of Transoral Robotic Surgery With Short-term and Long-term Outcomes and Costs of Care in Oropharyngeal Cancer Surgery. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 143, 580-588.
- Nasser, H. and St John, M.A. 2020. The promise of immunotherapy in the treatment of young adults with oral tongue cancer. *Laryngoscope Investig Otolaryngol* 5, 235-242.
- Nazari, F., Oklejas, A.E., Nör, J.E., Pearson, A.T. and Jackson, T.L. 2020. Models Accurately Predict. *Cancer Res* 80, 1451-1460.
- NC, I. 2016. Cancer Stat Facts: Larynx Cancer Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) database.
- Nocini, R., Molteni, G., Mattiuzzi, C. and Lippi, G. 2020. Updates on larynx cancer epidemiology. *Chin J Cancer Res* 32, 18-25.
- Norman, R.A., Schott, A.K., Andrews, D.M., Breed, J., Foote, K.M., Garner, A.P., Ogg, D., Orme, J.P., Pink, J.H., Roberts, K., Rudge, D.A., Thomas, A.P. and Leach,

- A.G. 2012. Protein-ligand crystal structures can guide the design of selective inhibitors of the FGFR tyrosine kinase. *J Med Chem* 55, 5003-12.
- Nóbrega, T.D., Queiroz, S.I., Santos, E.M., Costa, A.L., Pereira-Pinto, L. and de Souza, L.B. 2018. Clinicopathological evaluation and survival of patients with squamous cell carcinoma of the tongue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 23, e579-e587.
- Pan, S.T., Li, Z.L., He, Z.X., Qiu, J.X. and Zhou, S.F. 2016. Molecular mechanisms for tumour resistance to chemotherapy. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 43, 723-37.
- Parker, A.L., Teo, W.S., McCarroll, J.A. and Kavallaris, M. 2017. An Emerging Role for Tubulin Isotypes in Modulating Cancer Biology and Chemotherapy Resistance. *Int J Mol Sci* 18.
- Patel, S.C., Carpenter, W.R., Tyree, S., Couch, M.E., Weissler, M., Hackman, T., Hayes, D.N., Shores, C. and Chera, B.S. 2011. Increasing incidence of oral tongue squamous cell carcinoma in young white women, age 18 to 44 years. *J Clin Oncol* 29, 1488-94.
- Pavlidis, P. and Noble, W.S. 2003. Matrix2png: a utility for visualizing matrix data. *Bioinformatics* 19, 295-6.
- Pfister, D.G., Laurie, S.A., Weinstein, G.S., Mendenhall, W.M., Adelstein, D.J., Ang, K.K., Clayman, G.L., Fisher, S.G., Forastiere, A.A., Harrison, L.B., Lefebvre, J.L., Leupold, N., List, M.A., O'Malley, B.O., Patel, S., Posner, M.R., Schwartz, M.A., Wolf, G.T. and Oncology, A.S.o.C. 2006. American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline for the use of larynx-preservation strategies in the treatment of laryngeal cancer. *J Clin Oncol* 24, 3693-704.
- Pulte, D. and Brenner, H. 2010. Changes in survival in head and neck cancers in the late 20th and early 21st century: a period analysis. *Oncologist* 15, 994-1001.
- Qian, X., Anzovino, A., Kim, S., Suyama, K., Yao, J., Hult, J., Agiostratidou, G., Chandiramani, N., McDaid, H.M., Nagi, C., Cohen, H.W., Phillips, G.R., Norton, L. and Hazan, R.B. 2014. N-cadherin/FGFR promotes metastasis through epithelial-to-mesenchymal transition and stem/progenitor cell-like properties. *Oncogene* 33, 3411-21.
- Qiu, K., Huang, Z., He, Z. and You, S. 2016. miR-22 regulates cell invasion, migration and proliferation in vitro through inhibiting CD147 expression in tongue squamous cell carcinoma. *Arch Oral Biol* 66, 92-7.

- Quan, M.Y., Guo, Q., Liu, J., Yang, R., Bai, J., Wang, W., Cai, Y., Han, R., Lv, Y.Q., Ding, L., Billadeau, D.D., Lou, Z., Bellusci, S., Li, X. and Zhang, J.S. 2020. An FGFR/AKT/SOX2 Signaling Axis Controls Pancreatic Cancer Stemness. *Front Cell Dev Biol* 8, 287.
- Raitanen, M., Pulkkinen, J., Kulmala, J. and Grénman, R. 2004. Head and neck squamous cell carcinoma cell lines are highly sensitive to the new taxanes, BMS-184476, BMS-188797, in vitro. *Anticancer Res* 24, 3769-73.
- Ramos, P. and Bentires-Alj, M. 2015. Mechanism-based cancer therapy: resistance to therapy, therapy for resistance. *Oncogene* 34, 3617-26.
- Rao, G.H., Liu, H.M., Li, B.W., Hao, J.J., Yang, Y.L., Wang, M.R., Wang, X.H., Wang, J., Jin, H.J., Du, L. and Chen, Q. 2013. Establishment of a human colorectal cancer cell line P6C with stem cell properties and resistance to chemotherapeutic drugs. *Acta Pharmacol Sin* 34, 793-804.
- Ritchie, H. 2018. "Causes of Death", {Our World in Data}.
- Roulstone, V., Twigger, K., Zaidi, S., Pencavel, T., Kyula, J.N., White, C., McLaughlin, M., Seth, R., Karapanagiotou, E.M., Mansfield, D., Coffey, M., Nuovo, G., Vile, R.G., Pandha, H.S., Melcher, A.A. and Harrington, K.J. 2013. Synergistic cytotoxicity of oncolytic reovirus in combination with cisplatin-paclitaxel doublet chemotherapy. *Gene Ther* 20, 521-8.
- Rowinsky, E.K. and Donehower, R.C. 1995. Paclitaxel (taxol). *N Engl J Med* 332, 1004-14.
- Rowinsky, E.K., Onetto, N., Canetta, R.M. and Arbuck, S.G. 1992. Taxol: the first of the taxanes, an important new class of antitumor agents. *Semin Oncol* 19, 646-62.
- Sahingur, S.E. and Yeudall, W.A. 2015. Chemokine function in periodontal disease and oral cavity cancer. *Front Immunol* 6, 214.
- Salvador-Coloma, C. and Cohen, E. 2016. Multidisciplinary Care of Laryngeal Cancer. *J Oncol Pract* 12, 717-24.
- Santuray, R.T., Johnson, D.E. and Grandis, J.R. 2018. New Therapies in Head and Neck Cancer. *Trends Cancer* 4, 385-396.
- Sarosy, G., Kohn, E., Stone, D.A., Rothenberg, M., Jacob, J., Adamo, D.O., Ognibene, F.P., Cunnion, R.E. and Reed, E. 1992. Phase I study of taxol and granulocyte

- colony-stimulating factor in patients with refractory ovarian cancer. *J Clin Oncol* 10, 1165-70.
- Schaefer, T. and Lengerke, C. 2020. SOX2 protein biochemistry in stemness, reprogramming, and cancer: the PI3K/AKT/SOX2 axis and beyond. *Oncogene* 39, 278-292.
- Schiff, P.B. and Horwitz, S.B. 1980. Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77, 1561-5.
- Schiff, P.B. and Horwitz, S.B. 1981. Taxol assembles tubulin in the absence of exogenous guanosine 5'-triphosphate or microtubule-associated proteins. *Biochemistry* 20, 3247-52.
- Schneider, S., Thurnher, D., Kadletz, L., Seemann, R., Brunner, M., Kotowski, U., Schmid, R., Lill, C. and Heiduschka, G. 2016. Effects of neratinib and combination with irradiation and chemotherapy in head and neck cancer cells. *Oral Dis* 22, 797-804.
- Sermeus, A., Genin, M., Maincent, A., Fransolet, M., Notte, A., Leclere, L., Riquier, H., Arnould, T. and Michiels, C. 2012. Hypoxia-induced modulation of apoptosis and BCL-2 family proteins in different cancer cell types. *PLoS One* 7, e47519.
- Shah, P.K., Shah, K.K., Karakousis, G.C., Reinke, C.E., Kelz, R.R. and Fraker, D.L. 2012. Regional recurrence after lymphadenectomy for clinically evident lymph node metastases from papillary thyroid cancer: a cohort study. *Ann Surg Oncol* 19, 1453-9.
- Shegefti, M.S., Malekzadeh, M., Malek-Hosseini, Z., Khademi, B., Ghaderi, A. and Doroudchi, M. 2016. Reduced serum levels of syndecan-1 in patients with tongue squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 126, E191-5.
- Shimada, S. and Tanaka, S. 2019. A new era for understanding genetic evolution of multistep carcinogenesis. *J Gastroenterol* 54, 667-668.
- Shin, J.Y., Yoon, J.K., Shin, A.K., Blumenfeld, P., Mai, M. and Diaz, A.Z. 2017. Association of Insurance and Community-Level Socioeconomic Status With Treatment and Outcome of Squamous Cell Carcinoma of the Pharynx. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 143, 899-907.
- Sigerist, H.E. 1932. The Historical Development of the Pathology and Therapy of Cancer. *Bull N Y Acad Med* 8, 642-53.

- Sim, F., Leidner, R. and Bell, R.B. 2019. Immunotherapy for Head and Neck Cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 33, 301-321.
- Sinha, S. and Gajra, A. 2020. Nasopharyngeal Cancer, StatPearls. StatPearls Publishing
- Sonis, S.T. and Fey, E.G. 2002. Oral complications of cancer therapy. *Oncology (Williston Park)* 16, 680-6; discussion 686, 691-2, 695.
- Stoeckli, S.J., Schnieper, I., Huguenin, P. and Schmid, S. 2003. Early glottic carcinoma: treatment according patient's preference? *Head Neck* 25, 1051-6.
- Su, S.F., Han, F., Zhao, C., Chen, C.Y., Xiao, W.W., Li, J.X. and Lu, T.X. 2012. Long-term outcomes of early-stage nasopharyngeal carcinoma patients treated with intensity-modulated radiotherapy alone. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 82, 327-33.
- Sykes, A.J., Slevin, N.J., Gupta, N.K. and Brewster, A.E. 2000. 331 cases of clinically node-negative supraglottic carcinoma of the larynx: a study of a modest size fixed field radiotherapy approach. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 46, 1109-15.
- Takes, R.P., Rinaldo, A., Silver, C.E., Piccirillo, J.F., Haigentz, M., Suárez, C., Van der Poorten, V., Hermans, R., Rodrigo, J.P., Devaney, K.O. and Ferlito, A. 2010. Future of the TNM classification and staging system in head and neck cancer. *Head Neck* 32, 1693-711.
- Takes, R.P., Strojan, P., Silver, C.E., Bradley, P.J., Haigentz, M., Wolf, G.T., Shaha, A.R., Hartl, D.M., Olofsson, J., Langendijk, J.A., Rinaldo, A., Ferlito, A. and Group, I.H.a.N.S. 2012. Current trends in initial management of hypopharyngeal cancer: the declining use of open surgery. *Head Neck* 34, 270-81.
- Tan, W.L., Tan, E.H., Lim, D.W., Ng, Q.S., Tan, D.S., Jain, A. and Ang, M.K. 2016. Advances in systemic treatment for nasopharyngeal carcinoma. *Chin Clin Oncol* 5, 21.
- Tang, Z., Li, C., Kang, B., Gao, G. and Zhang, Z. 2017. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Res* 45, W98-W102.
- Taylor, J.G., Cheuk, A.T., Tsang, P.S., Chung, J.Y., Song, Y.K., Desai, K., Yu, Y., Chen, Q.R., Shah, K., Youngblood, V., Fang, J., Kim, S.Y., Yeung, C., Helman, L.J., Mendoza, A., Ngo, V., Staudt, L.M., Wei, J.S., Khanna, C., Catchpoole, D., Qualman, S.J., Hewitt, S.M., Merlino, G., Chanock, S.J. and Khan, J. 2009. Identification of FGFR4-activating mutations in human rhabdomyosarcomas that promote metastasis in xenotransplanted models. *J Clin Invest* 119, 3395-407.

- Tian, T., Zhang, Y., Wang, S., Zhou, J. and Xu, S. 2012. Sox2 enhances the tumorigenicity and chemoresistance of cancer stem-like cells derived from gastric cancer. *J Biomed Res* 26, 336-45.
- Tiffon, C. 2018. The Impact of Nutrition and Environmental Epigenetics on Human Health and Disease. *Int J Mol Sci* 19.
- Torre, L.A., Bray, F., Siegel, R.L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J. and Jemal, A. 2015. Global cancer statistics 2012. *CA Cancer J Clin* 65, 87-108.
- Torre, L.A., Siegel, R.L., Ward, E.M. and Jemal, A. 2016. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 25, 16-27.
- Tsushima, N., Sakashita, T., Homma, A., Hatakeyama, H., Kano, S., Mizumachi, T., Kakizaki, T., Suzuki, T. and Fukuda, S. 2016. The role of prophylactic neck dissection and tumor thickness evaluation for patients with cN0 tongue squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 273, 3987-3992.
- Turner, N. and Grose, R. 2010. Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nat Rev Cancer* 10, 116-29.
- van Eijk, M., Boosman, R.J., Schinkel, A.H., Huitema, A.D.R. and Beijnen, J.H. 2019. Cytochrome P450 3A4, 3A5, and 2C8 expression in breast, prostate, lung, endometrial, and ovarian tumors: relevance for resistance to taxanes. *Cancer Chemother Pharmacol* 84, 487-499.
- van Rhijn, B.W., Montironi, R., Zwarthoff, E.C., Jöbsis, A.C. and van der Kwast, T.H. 2002. Frequent FGFR3 mutations in urothelial papilloma. *J Pathol* 198, 245-51.
- Wang, J.J., Lei, K.F. and Han, F. 2018a. Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 22, 3855-3864.
- Wang, K., Ji, W., Yu, Y., Li, Z., Niu, X., Xia, W. and Lu, S. 2018b. FGFR1-ERK1/2-SOX2 axis promotes cell proliferation, epithelial-mesenchymal transition, and metastasis in FGFR1-amplified lung cancer. *Oncogene* 37, 5340-5354.
- Waters, J.C., Chen, R.H., Murray, A.W. and Salmon, E.D. 1998. Localization of Mad2 to kinetochores depends on microtubule attachment, not tension. *J Cell Biol* 141, 1181-91.
- Weaver, B.A. 2014. How Taxol/paclitaxel kills cancer cells. *Mol Biol Cell* 25, 2677-81.

- Wee, P. and Wang, Z. 2017. Epidermal Growth Factor Receptor Cell Proliferation Signaling Pathways. *Cancers (Basel)* 9.
- Wolf, G.T., Fisher, S.G., Hong, W.K., Hillman, R., Spaulding, M., Laramore, G.E., Endicott, J.W., McClatchey, K., Henderson, W.G. and Group, D.o.V.A.L.C.S., 1991. Induction chemotherapy plus radiation compared with surgery plus radiation in patients with advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med* 324, 1685-90.
- Woo, B.H., Kim, D.J., Choi, J.I., Kim, S.J., Park, B.S., Song, J.M., Lee, J.H. and Park, H.R. 2017. Oral cancer cells sustainedly infected with *Porphyromonas gingivalis* exhibit resistance to Taxol and have higher metastatic potential. *Oncotarget* 8, 46981-46992.
- Xie, Q., Zhang, H.F., Guo, Y.Z., Wang, P.Y., Liu, Z.S., Gao, H.D. and Xie, W.L. 2015. Combination of Taxol® and dichloroacetate results in synergistically inhibitory effects on Taxol-resistant oral cancer cells under hypoxia. *Mol Med Rep* 11, 2935-40.
- Xu, C.Z., Shi, R.J., Chen, D., Sun, Y.Y., Wu, Q.W., Wang, T. and Wang, P.H. 2013. Potential biomarkers for paclitaxel sensitivity in hypopharynx cancer cell. *Int J Clin Exp Pathol* 6, 2745-56.
- Yokoyama, A., Omori, T., Yokoyama, T., Sato, Y., Mizukami, T., Matsushita, S., Higuchi, S., Maruyama, K., Ishii, H. and Hibi, T. 2006. Risk of squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract in cancer-free alcoholic Japanese men: an endoscopic follow-up study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15, 2209-15.
- Yu, J.S. and Cui, W. 2016. Proliferation, survival and metabolism: the role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination. *Development* 143, 3050-60.
- Yuan, Z., Xiu, C., Song, K., Pei, R., Miao, S., Mao, X., Sun, J. and Jia, S. 2018. Long non-coding RNA AFAP1-AS1/miR-320a/RBPJ axis regulates laryngeal carcinoma cell stemness and chemoresistance. *J Cell Mol Med* 22, 4253-4262.
- Zackrisson, B., Mercke, C., Strander, H., Wennerberg, J. and Cavallin-Ståhl, E. 2003. A systematic overview of radiation therapy effects in head and neck cancer. *Acta Oncol* 42, 443-61.
- Zhang, H., Liu, J., Fu, X. and Yang, A. 2017. Identification of Key Genes and Pathways in Tongue Squamous Cell Carcinoma Using Bioinformatics Analysis. *Med Sci Monit* 23, 5924-5932.

- Zhang, T., Liang, L., Liu, X., Wu, J.N., Chen, J., Su, K., Zheng, Q., Huang, H. and Liao, G.Q. 2016. TGF β 1-Smad3-Jagged1-Notch1-Slug signaling pathway takes part in tumorigenesis and progress of tongue squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 45, 486-93.
- Zhang, Z., Zhou, Z., Zhang, M., Gross, N., Gong, L., Zhang, S., Lei, D., Zeng, Q., Luo, X., Li, G. and Li, X. 2019. High Notch1 expression affects chemosensitivity of head and neck squamous cell carcinoma to paclitaxel and cisplatin treatment. *Biomed Pharmacother* 118, 109306.
- Zhao, Q., Parris, A.B., Howard, E.W., Zhao, M., Ma, Z., Guo, Z., Xing, Y. and Yang, X. 2017. FGFR inhibitor, AZD4547, impedes the stemness of mammary epithelial cells in the premalignant tissues of MMTV-ErbB2 transgenic mice. *Sci Rep* 7, 11306.
- Zhu, L., Wang, Y., Li, R., Liu, A., Zhang, X., Zuo, C. and Xu, X. 2019. Surgical treatment of early tongue squamous cell carcinoma and patient survival. *Oncol Lett* 17, 5681-5685.
- Zugazagoitia, J., Guedes, C., Ponce, S., Ferrer, I., Molina-Pinelo, S. and Paz-Ares, L. 2016. Current Challenges in Cancer Treatment. *Clin Ther* 38, 1551-66.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Abdülmelik AYTATLI
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 02.01.1994 ERZURUM
Medeni Hali : Bekar
Telefon : 0542 569 3780
e-mail : abdulmelik.aytatli83@erzurum.edu.tr

Eğitim

Derece	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Erzurum Teknik Üniversitesi	-
Lisans	Erzurum Teknik Üniversitesi	2017
Lise	Erzurum Hasani Basri Anadolu İmam-Hatip Lisesi	2012

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Ecotech Biotechnology 2018-2019

Yayınlar (SCI, SCI-Expanded)

Karatas, O., Teber, S., Yılmaz, A., Baltacıoğlu, A., Kilic, S., Poyraz, E., Aytatli, A., Öztürk, S., Varol, A., 2018. Current Cancer Stem Cell Biomarkers In Tongue Squamous Cell Carcinoma, Trakya University Journal of Natural Sciences. 197-207.

Barlak, N., Capik, O., Sanli, F., Kilic, A., Aytatli, A., Yazici, A., Ortucu, S., Ittmann, M. and Karatas, O. F. (2019), ING5 inhibits cancer aggressiveness by inhibiting Akt and activating p53 in prostate cancer. Cell Biol Int.

Kilic, A., Barlak, N., Sanli, F., Aytatli, A., Capik, O. and Karatas, O.F. (2020), Mode of action of carboplatin via activating p53/miR-145 axis in head and neck cancers. The Laryngoscope, 130: 2818-2824.

Hakemli Dergiler

Şanlı F, Barlak N, Kılıç A, Çapık Ö, Aytatlı A, Karataş ÖF. The AKT antagonist AZD5363 suppresses features associated with cancer progression in human larynx cancer cells. Eur Res J 2020

Ulusal Kongre Sunum

Uluslararası Kongre Sunum