



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ORAL KANSERDE miR-146 VE miR-149 GEN VARYANTININ
İNCELENMESİ**

Hazırlayan

Kübra YILMAZ

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. Serbülent YİĞİT

TOKAT – 2019

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORAL KANSERDE miR-146 VE miR-149 GEN VARYANTININ İNCELENMESİ

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: / /

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)	İmzası
Başkan :	
Üye :	
Üye :	
Üye :	
Üye :	

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../..... tarih vesayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Fikret GEVREK

Mühür

İmza

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: / /

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(02/05/2019)

Kübra YILMAZ

İmzası

TEŞEKKÜR

Tez konusunun seçiminden çalışmaların yürütülmesi ve sonuçlandırılmasına kadar, rahatça çalışabilmem için her aşamada yardım ve desteklerini esirgemeyen danışmanım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Sayın Doç. Dr. Serbülen YİĞİT'e** sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında araştırılacak hasta grubunun oluşturulmasını sağlayan, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Hocam Sayın **Doç.Dr.Özge GÜMÜŞAY'e**, çalışma boyunca fikir, bilgi ve önerilerinden yararlandığım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Hocam Sayın **Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ'e** ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Hocam Sayın **Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU'na** ve, tezimin istatistik aşamasında büyük emekleri geçen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Hocam Sayın **Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ'a** teşekkür ederim. Ayrıca tezim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı Yüksek lisans Öğrencisi Sayın **Zuhal AYMANDIR'a, Tuba ÖZ'e** ve **dönem arkadaşlarıma** teşekkür ederim. Çalışmam boyunca her türlü yardım ve desteklerini benden esirgemeyen arkadaşlarım Sayın **Sevilay MAY** ve **Hacer YÜCEL'e** çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca vermiş olduğu maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme çok teşekkür ederim. Bu zamana kadar hiçbir fedakârlıktan kaçınmayarak bugünlere gelmemde büyük emeği olan değerli abim **Av. Yasin YILMAZ'a** ve ablam **Esra YILMAZ ÖNDER'e** teşekkür eder ve şükranlarımı sunarım.

Kübra YILMAZ

TOKAT, 2019

ÖZET

ORAL KANSERDE miR-146 VE miR-149 GEN VARYANTININ İNCELENMESİ

Kanser, tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de en önemli toplumsal sağlık problemlerinden biridir. Oral kanser , dünyada en sık izlenen altıncı kanser türüdür. 50 yaş üzeri erkeklerde oral kanser görülme riski diğerlerine göre daha fazladır. Dünya’da en yaygın görülen kanserler arasında bulunan oral kanser ve bilinen risk faktörleri arasında gösterilen sigara, aşırı alkol kullanımı tümör gelişimini arttırmakta olduğu biliniyor. Oral kanser tedavisinde ana seçenekler cerrahi, radyoterapi ve kemoterapidir.

MikroRNA'lar (miRNA'lar) genellikle 20-23 nükleotit uzunluğunda kodlayıcı olmayan endojen RNA moleküllerinin bir sınıfıdır. Hücre karakterizasyonu ve farklılaşma dahil birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol oynadıklarını göstermiştir. Ek olarak, bazı miRNA'lar onkogenler olarak tanımlanırken, bazıları kanserde tümör süpresörleridir. MiRNA fonksiyonları ve kanserdeki rolleriyle ilgili artan bilgi birikimi ile kanserin moleküler patolojisini anlamak ve moleküler hedefleme tedavi yöntemi geliştirmek için yeni bir umut haline geldiler.

Çalışmamız miR146 ve miR 149 gen polimorfizminin oral kanserdeki etkisini belirlemek için yaş ortalaması $63,05 \pm 13,250$ olan 42 ağız kanseri hastası ile yaş ortalaması $60,37 \pm 8,666$ olan 100 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplamda 142 birey üzerinden, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve kısıtlama fragman uzunluğu polimorfizmi (RFLP) kullanılarak genotiplendirildi. Kanser riski ve klinikopatolojik özelliklerle olan ilişki χ^2 testi ile analiz edildi. Bu çalışmada, sonuçlarımız, miR-146 polimorfizminin oral kanser ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu da göstermiştir ($p = 0.000$). Bu çalışmada, sonuçlarımız, miR-149 polimorfizminin oral kanser ile anlamlı bir ilişkisi olmadığını da göstermiştir ($p = 0,425$).

AnahtarKelimeler: Oral kanser, miR-146 polimorfizm, miR 149 gen polimorfizm, Kemoterapi, Radyoterapi

SUMMARY

INVESTIGATION OF miR-146 AND miR-149 GEN VARIANTIN IN ORAL CANCER

Cancer, in Turkey as well as all over the world is one of the most important public health problem. Oral cancer is the sixth most common cancer in the world. The risk of oral cancer in men who are over 50 years of age is higher than others. Oral cancer is one of the most common cancer types and its risk factors; smoking, excessive alcohol consumption are known reasons to increase tumor growth. The main options in the treatment of oral cancer are surgery, radiotherapy and chemotherapy.

MicroRNAs (miRNAs) are generally a class of endogenous RNA molecules that are non-coding 20-23 nucleotides in length. They have roles in many physiological and pathological processes including cell characterization and differentiation. In addition, some miRNAs are defined as oncogenes, while others are tumor suppressors in cancer. With the help of increasing knowledge of miRNA's functions and their roles in cancer, they have become a new hope to understand the molecular pathology of cancer and to develop a method of molecular targeting therapy.

In this study, to determine the effect of polymorphism of miR146 and miR 149 genes' on oral cancer, 42 oral cancer patients with a mean age of 63.05 ± 13.250 and 100 healthy people with a mean age of $60.37 \pm 8,666$, total of 142 individuals were obtained, including polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP). The relationship between cancer risk and clinicopathological features were analyzed by χ^2 test. In this study, our results showed that miR-146 polymorphism was significantly associated with oral cancer ($p = 0.000$). In this study, our results also showed that miR-149 polymorphism was not significantly associated with oral cancer ($p = 0.425$).

Keywords: Oral Cancer, miR-146 polymorphism, miR-149 gene polymorphism, chemotherapy, radiotherapy

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
SUMMARY	v
KISALTMA VE SİMGELER.....	viii
ŞEKİLLER	xi
1.GİRİŞ	1
2.1 ORAL KANSER	2
2.1.1 Tanım ve Tarihçe	2
2.1.2 Epidemiyoloji.....	2
2.2 KARSİNOGENEZ.....	3
2.3 ORAL KANSERLERİN OLUŞMA MEKANİZMASI	5
2.4ORAL KANSERDE EVRELEME.....	5
2.5 ORAL KANSERLERİN ETYOLOJİK FAKTÖRLERİ.....	6
2.6 İNSANLARDA KANSER YAPAN RİSK FAKTÖRLERİ	7
2.6.1 Sigara Tüketimi.....	8
2.6.2.Alkol Tüketimi.....	8
2.6.3.Dumansız Tütün	9
2.6.4.Viral Enfeksiyonlar	9
2.7. AĞIZ KANSERİ LEZYONLARININ LOKALİZASYONU	10
2.7.1 Dudak Kanseri.....	11
2.7.2. Ağız Tabanı Kanseri	11
2.7.3. Sert Damak Kanseri.....	12
2.7.4. Yumuşak Damak Kanseri	12
2.7.5Orofarinks Arka-Yan Duvar Kanserleri	13
2.8. AĞIZ KANSERİNDE UYGULANAN TEDAVİLER.....	13
2.8.1. Cerrahi Tedavi	13
2.8.2. Radyoterapi	13
2.8.3. Kemoterapi	13
2.8.4. Boynun tedavisi	14

2.9. MİKRO RNA	15
2.9.1 Mikro RNA'ların Yapısı ve Keşfi	15
2.9.2.miRNA 'ların Oluşumu.....	15
2.9.3 miRNA'ların Fonksiyonu	17
2.9.4 miRNA ve Kanser	18
2.10. miR-146 VE miR-149 GEN VARYANTININ İNCELENMESİ.....	20
2.10.1 miRNA-146	20
2.10.2 miRNA-149	21
3. MATERYAL VE METOT.....	21
3.1. ÇALIŞMA GRUBU	21
3.2. YÖNTEM	22
3.2.1. Genomik DNA İzolasyonu.....	22
3.2.2. DNA'nın Kalitatif Tayini.....	24
3.3. miR-146 G>C Gen Polimorfiziminin PCR-RFLP yöntemleri ile Genotiplendirilmesi.....	25
3.4 miR 149 C>T Gen Polimorfiziminin PCR-RFLP yöntemleri ile Genotiplendirilmesi	27
3.5. PCR Ürünlerinin Elektrophorezde Değerlendirilmesi	29
3.5.1. Elektrophorezde Kullanılan Solüsyonlar	29
3.5.2. %2'lik Agaroze Jel Hazırlanması (100ml)	30
3.6. PCR Ürünlerinin Agaroze Jele Yüklenmesi	30
3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER.....	31
4. BULGULAR.....	31
4.1.miR 146 GEN POLİMORFİZMİ	32
4.2. miR 149 GEN POLİMORFİZMİ	34
4.3 miR 146 ve miR149 GEN POLİMORFİZMLERİ KOMPOZİT GENOTİP ANALİZLERİ	37
5.TARTIŞMA	37
6. SONUÇ	44
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	56

KISALTMA VE SİMGELER

ADH : Aldehid Dehidrogenaz

°C : Santigrat Derece

DNA : Deoksiribonükleik asit

dNTP: Deoksinükleotit

EBV : Epstein–Barr Virus

EDTA : Etilendiamintetra Asetik Asit

EP: Endojenöz pirojen

EtBr : Etidyum Bromür

gr : Gram

HCl: Hidroklorik Asit

HHV-4 : Human Herpesvirus 4/ Epstein–Barr Virus

HPV : Human Papillomavirus

HSV : Herpes Simplex Virus

HHV-8 : Human Herpesvirus 8

HHV-6 : Human Herpesvirus 6

HiLA: İnsan lökosit antijeni

IŞP : Isı şok proteini

kb: Kilo baz

KIS : Karsinoma İnsitu

OSCC: Oral skuamöz hücreli karsinom

SHK : Skuamöz Hücreli Karsinoma

µl : Mikrolitre

MgCl₂ : Magnezyum Klörür

mg: Miligram

ml : Mililitre

µl: Mikrolitre

mM : Milimolar

mRNA: Mesajcı ribonükleik asit

NNN : N-Nitrosornicotine

pH: hidrojen potansiyeli

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

rpm: Dakikadaki devir

SHS : Second Hand Smoke

q: Kromozomun uzun kolu

TBE : Tris-Borat-Edta

TNF: Tümör Nekrozis Faktör

TNF- α : Tümör Nekrozis Faktör-alfa

UV: Ultraviyole

v : Volt

VNTR : Değişken Sayıda Ardışık Tekrarlar

TABLÖLAR

Tablo 1 : Oral kanserde

evreleme.....17Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 2: Hastaların ve kontrol grubundaki kişilerin araştırmaya dahil edilme ve edilmeme kriterlerinin gösterimi.....33Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 3:*miR-146G* / C (rs2910164) geni polimorfizminin analizinde kullanılan primerler36Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 4 :*miR146* gen bölgesi için kullanılan PCR karışımının gösterimi.....37Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 5: *miR146* gen bölgesi için kullanılan PCR programının gösterimi.....37

Tablo 6 : *miR-146* G/C (rs2910164) bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan kesim enzim koşulları.....38Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 7 :*miR-149* geni polimorfizminin analizinde kullanılan primerler39Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 8: *miR149* gen bölgesi için kullanılan PCR karışımının gösterimi39Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 9 :*miR149* gen bölgesi için kullanılan PCR programının gösterimi40Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 10 :*miR-149* T>C bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan kesim enzim koşulları40Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 11: Oral kanser hasta grubu ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalamalarına ait istatistiksel bulguların gösterimi .43Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo12:*miR146*genpolimorfizmigengenotipvealeldagılımları44Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 13: *miR146* gen polimorfizimlerinin hastaların klinik ve demografik özelliklerine göre gösterimi45

Tablo 14:*miR149*genpolimorfizmigengenotipvealeldagılımları46Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 15: *miR149* gen polimorfizimlerinin hastaların klinik ve demografik özelliklerine göre gösterimiHata! Yer işareti tanımlanmamış.

Tablo 16: Oral kanser hasta ve kontrollerin kompozit genotiplerinin karşılaştırmalı analizi.....48

ŞEKİLLER

Şekil 1 : Karsinogenez	16
Şekil 2 : Kromozomların p veya q kollarında meydana gelen, displaziden skuamöz hücreli karsinomaya kadar değişimlerin malign lezyon oluşumuna yol açışını gösteren “kanserojeniz” mekanizması.....	17
Şekil3: Bukkal mukozada yerleşik fibrosarkom.....	22
Şekil 4: Bukkal mukozada yerleşik verrüköz karsinom.....	22
Şekil 5: miRNA Oluşum Mekanizması.....	28
Şekil6: PISC Kompleksi oluşumu.....	29
Şekil 7: <i>miR 146</i> polimorfizmini içeren 372 bp’lik PCR ürünlerinin %2’lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	44
Şekil 8: <i>miR146</i> G>C polimorfizminin PCR ürünlerinin <i>Hpy 188 I</i> enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan kesim ürünlerinin jeldeki görüntüsü.....	45
Şekil 9: <i>miR 149</i> polimorfizmini içeren 254 bp’lik PCR ürünlerinin %2’lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	46
Şekil 10: <i>miR149</i> C>T polimorfizmini içeren PCR ürünlerinin <i>Pvu II</i> enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan kesim ürünlerinin jel görüntüsü.....	47
Şekil 11: Bazı Hastalıklara Özgü miRNA Tipleri.....	50

1.GİRİŞ

Kanser, Dünya'da ölüm oranı oldukça yüksek ve çok sık görülen bir hastalıktır. Kanser artık sık karşılaşılan bir hastalık olarak karşımıza çıkmakta ve dünya genelindeki ölümlerin sekizde birine neden olmaktadır.(Garcia ve ark.,2007). Dünya'da en yaygın görülen kanserler arasında bulunan oral kanser ve bilinen risk faktörleri arasında gösterilen sigara, aşırı alkol kullanımı tümör gelişimini arttırmakta olduğu biliniyor. Bu risk faktörlerine ek olarak bazı virüslerle (Human Papilloma Virüs, Epstein-Barr Virüs gibi) genetik faktörlerin ve infeksiyonların da hastalığın etiolojisinde büyük önemi bulunmaktadır (Kim ve ark.,2007).

Oral kanser günümüzde önemli bir sağlık sorunu olmuştur.Dünya sağlık örgütü (WHO) oral kanserli hastaların dünya çapında artış gösterdiğini ve hastalığın özellikle ileri dekatlarda daha fazla görüldüğünü belirtmiştir. Amerikada her yıl oral kanser teşhisi konan 31.000 yeni vaka olduğu bildirilmiştir. (Sciubba.,2001)

Hayatta kalma oranı erken teşhis edilen ve vücudun herhangi bir bölgesine metastaz yapmamış olan oral kanserlerde %76, servikal lenf nodu metastazı yapan olgularda %41 ve boyun altındaki bir bölgeye metastaz yapmış lezyonlarda %9 'dur (Bouquot ve ark.,1989).

Eğer erken teşhis edilmezse displastik oral mukozal lezyonlardan skuamoz hücreli kanserler gelişebilmektedir.Evre I ve II aşamasında erken teşhis edilen vakalarda yaşama oranı evre III ve IV ile karşılaştırıldığında 5 yıla kadar yükselmektedir.

Skuamoz hücreli kanserli hastalarda cerrahi yaklaşım, tedavinin önemli bir kısmını oluşturur. Diğer tedaviler yardımcı ve palyatif olarak radyoterapi ve kemoterapiyi kapsamaktadır. (Sciubba.,2001; Beahrs.,1992)

2.GENEL BİLGİLER

2.1 ORAL KANSER

2.1.1 Tanım ve Tarihçe

Oral kanser, oral kavite, farenks, larenks, paranazal sinüsler ve nazal kavitenin epiteliyal malignitelerini tanımlamaktadır. Ağız boşluğunun sküamoz hücreli kanseri (oral kanser) insanda 6. sıklıkta görülen bir kanser türüdür ve tüm malignansiler arasında ölüm oranı açısından 8. sırada yer almaktadır (Petersen ve Poul Erik2009;Mackenzie 2000). Basit intraoral muayene ile erken tanı alabilecek olmasına karşın oral kanser vakalarının yaklaşık %50'si tanı aldığı anda ileri evrededir (evre III, IV) (Petersen ve ark.,2009; Mackenzie.,2000). Oral kanserinin erken tanısı ve erken evredeki tedavisi hastaların yaşam sürelerini arttırmada önemli bir faktördür. Ancak asıl oral kanser gelişiminin önlenmesi ölüm oranlarının azalmasına büyük katkı sağlayacaktır (Reichart ve ark.,2001). Türkiye’de oral kanserler konusunda toplumun farkındalık düzeyini sorgulayan bir araştırmadan şaşırtıcı sonuçlar alınmıştır. 1216 kişi üzerinde yürütülen çalışmaya göre, oral kanseri bilen birey oranı %5, oral kanseridiş hekiminden duyduğunu belirtenlerin oranı ise sadece %1’dir (Ariyawordana.,2009).

2.1.2 Epidemiyoloji

Dünya çapında en sık görülen kanserler içerisinde yer alan oral kanser, oldukça yüksek morbidite ve mortalite oranına sahiptir. Diğer kanserler arasında görülme sıklığı olarak altıncı sırada yer alırken, dünyanın çeşitli coğrafik bölgelerinde bu insidans %1-40 arasında değişmektedir (Brockstein ve Masters 2003). Oral kanser Avrupa ve Kuzey Amerika’da tüm kanser olgularının %2-6’sını oluştururken, Güney Doğu Asya ülkelerinde ve Hindistan’da farklı tütün kullanımı alışkanlıkları sonucu tüm kanser olgularının %45’ini oluşturmaktadır(Mignogna.,2001,GroomePatti.,2011). Son yıllarda tıp dünyasında kaydedilen gelişmelere rağmen, oral kanser hastalarının sağkalım oranlarında belirgin bir artış kaydedilememiştir. 1 yıllık sağkalım oranları %81 civarlarında iken 5 yıllık sağkalım oranları hastalığın tüm evreleri için %48 ile %56 civarlarındadır (Tekbas.,2002). Dünya Sağlık Örgütü tarafından oral kanserlerin %90’ından fazlasının potansiyel olarak önlenabilir nitelikte olduğu kabul edilmesine

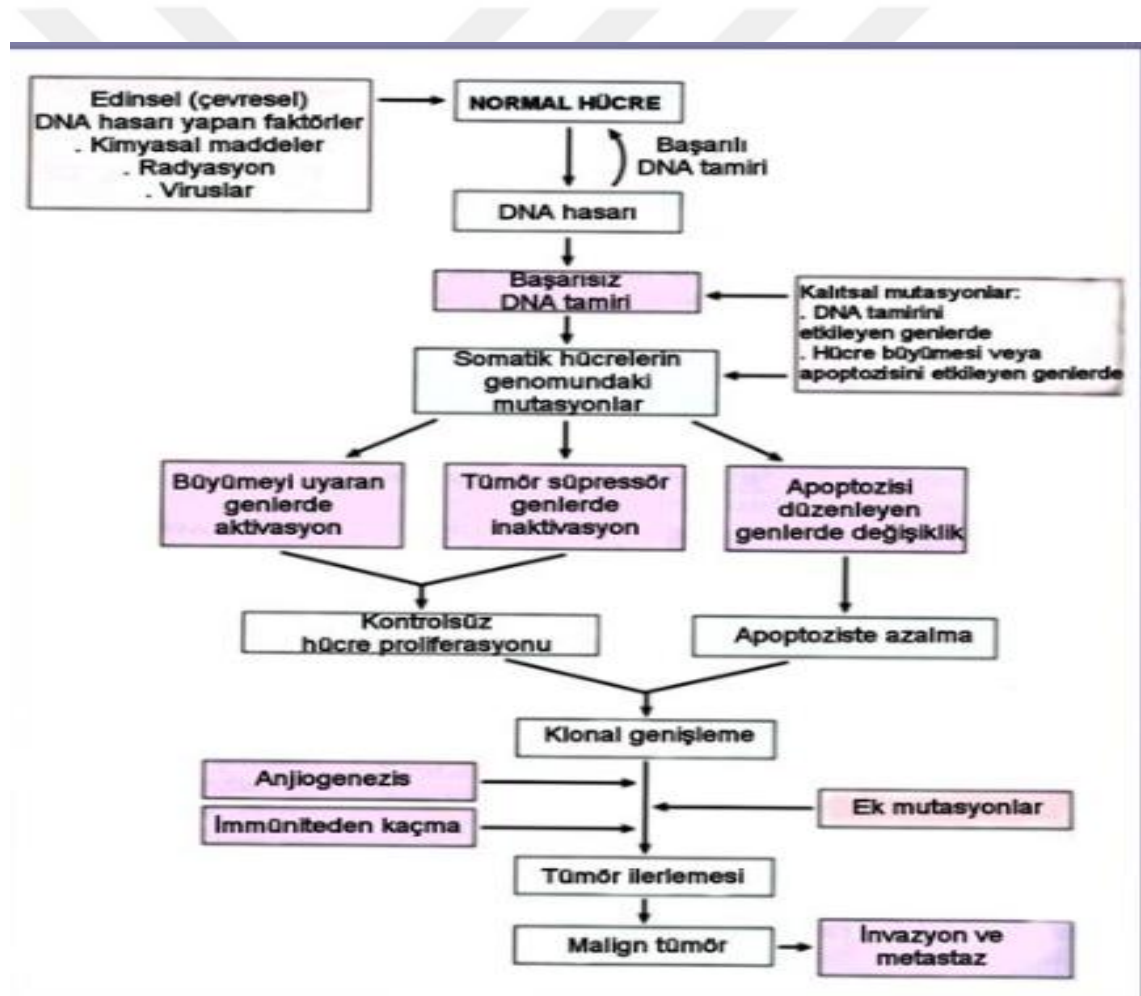
rağmen, gün geçtikçe artan insidansı ve mortalite oranı ile dünya çapında bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Tüm gelişmelere rağmen oral kanserlerin çok büyük bir kısmının halen daha ileri evrelerde teşhis edilmesi, insanların oral kanser hakkında yeterli bilgiye sahip olmaması, oral kanser taramalarının yetersiz olduğunu göstermektedir (Tanyeri.,2008; Sasahira.,2010). Oral kanserler mukoza, tükürük bezi veya ağzın diğer yumuşak ve sert dokularından köken alan çok çeşitli türde kanserleri kapsamaktadır. Ancak bunların %90'ından fazlasını, mukozanın yüzey epitelinden gelişen yassı epitel hücreli karsinom oluşturmaktadır (Hayes ve ark.,1999). Yassı epitel hücreli karsinom sıklıkla dilde (%27,6) görülmekte ve bunu orofarinks (%22,8), dudaklar (%16,5), ağız tabanı (%14), diş eti (%9,1), sert damak (%4,1) ve bukkal mukoza (%3,5) takip etmektedir (Sasahira ve ark., 2010).

2.2 KARSİNOGENEZ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalması ve normal doku sınırlarını aşarak uzak organlara metastaz özelliği ile karakterize bir hastalıktır. Kanser hücrelerinin çoğu, tek bir kök hücrenin anormal büyümesinden, birkaç tümör başlatıcı hücrenin kendini yenileme kapasitesi kazanmasından ya da klonal yayılımdan köken alır (Lobove ark.,2007). Normal hücreler ise, sadece ihtiyaç duydukları zaman çoğalırlar. Normal hücrelerin bu ihtiyaçları büyümeyi tetikleyici ve inhibe edici faktörlerin hassas dengesinin sonucunda gerçekleşir. Kanser hücreleri, kontrol mekanizmalarını geçersiz kılarlar ve hücrede çoğalma zamanlamaları için kendi belirledikleri programlarını izlerler. Bu hücreler, genellikle zaman içerisinde hücre ölümünden kaçarak sınırsız bir şekilde büyümeye devam ederler. Ölüm programları böylece ölümsüz hale gelir. Ayrıca yeni kan damarı oluşumunu güçlendirerek oksijen ve besin stoklarını artırır.

Bulundukları bölgeden göç yeteneği sayesinde komşu dokulara invazyon ve uzak bölgelere metastaz yaparlar. Hücresel davranışta kuralsız çoğalımdan tam kanserleşmeye doğru ilerleyen bu karsinogenez sürecindeki değişiklikler, genlerin genetik ve epigenetik değişikliklerinin birikiminin bir sonucu olarak ortaya çıkar (Şekil 1). Genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimi sürecinde kanser hücrelerinde meydana gelen genetik bozukluklar arasında nokta mutasyonları, gen delesyonları, amplifikasyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar ve tüm kromozom kayıpları vardır.

Ayrıca, hipermetilasyon, asetilasyon ve genomik baskılanma (imprinting) gibi epigenetik mekanizmalarda kanserin gelişmesi ve ilerleyişinde rol oynar. Genellikle bu genetik değişikliklerin tümü onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve DNA tamir genleri tarafından düzenlenir. Aktifleşen proto-onkogenler onkogenlere dönüşerek, çoğalmayı ve invazyonu ilerletirken; tümör baskılayıcı genler bu işlemleri çoğalmayı ve invazyonu baskılayarak negatif olarak düzenler. DNA tamir ya da stabilite genleri ise kanser hücresindeki genetik değişiklikleri minimuma indirerek hücrenin korunmasını ve genom bütünlüğünü sağlarlar (Fidler .,2003). Karsinogenez sürecinde bu genlerin mutasyonlarla ve epigenetik değişikliklerle aktivitelerini kaybetmeleri sonucu genellikle hücre döngüsünün kontrolü ve hücre sinyal iletimi bozulur (Esteller., 2008).



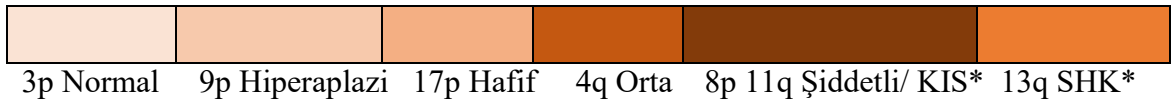
ŞEKİL 1: KARSİNOGENEZ

(https://www.google.com.tr/search?q=karsinogenez&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiYsprdu bLiAhWC2aYKHT8_A5cQ_AUIECgD&biw=1051&bih=501&dpr=1.3#imgre=IGG4VJsdTsH46M)

2.3 ORAL KANSERLERİN OLUŞMA MEKANİZMASI

Kanser oluşumu tıp dünyasında yoğun araştırılan konuların başında gelmektedir. Mekanizması henüz tamamen bilinmemekle birlikte kanser, dokuları oluşturan hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalması sonucu ortaya çıkan genetik bir hastalıktır. Burada "genetik" tanımlaması kansere ailevi yatkınlıktan öte, genlerdeki mutasyon denilen değişikliklere bağlı kazanılmış işlev bozukluklarını tanımlamaktadır. Kısa tanımıyla kanser, hücre çoğalmasını düzenleyen mekanizmaların çeşitli etkenlerce bozulması sonucunda atipik hücrelerin anormal miktarlarda çoğalarak sağlıklı dokuların yerini alması ve organizmanın fonksiyon göremez hale gelmesidir (Agrawal ve ark., 2012 ;Ghani ve ark., 2013).

Normalde hücreler yalnızca gerektiğinde çoğalmak üzere, büyümeyi başlatıcı ve büyümeyi durdurucu mekanizmalarla denetlenir. İnsanlarda, normal doku homeostazının sağlanması için en gerekli olay; programlanmış hücre ölümü (apoptozis) dır (Agrawal ve ark.2012,Ghani ve ark., 2013). Bundan sonraki aşama ise, tümör hücrelerinin hareket yeteneklerinin artması ve buna bağlı olarak, kanserin dokulara invazyonu ve metastazıdır (Agrawal .,2013; Motellebnejad.,2009) . (Şekil 2).



ŞEKİL 2: KROMOZOMLARIN P VEYA Q KOLLARINDA MEYDANA GELEN, DİSPLAZİDEN SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMAYA KADAR DEĞİŞİMLERİN MALİGN LEZYON OLUŞUMUNA YOL AÇIŞINI GÖSTEREN “KANSEROGENEZ” MEKANİZMASI.

*KIS: Karsinoma in situ, SHK: Skuamöz Hücreli Karsinoma

2.4ORAL KANSERDE EVRELEME

Vücudun diğer bölgelerinde malignitelerin evrelendirilmesinde olduğu gibi ağız kanserlerinde de TNM sistemi kullanılır. Burada T-tümörün lokal yayılımını, N-tümörün bölgesel (servikal) lenf nodu yayılımını, M-tümörün uzak organ metastazını göstermektedir (Tanyer.,2008) .(Tablo1)

Tablo 1: Oral kanserde evreleme

TNM KODU	AÇIKLAMA
Tis	Karsinom in situ
T1	Tümör 2 cm ya da daha küçük boyutta
T2	Tümör 2-4 cm büyüklüğünde
T3	Tümör 4 cm'den büyük
T4	Tümör komşu dokuları tutumu (derin dil kasları deri gibi)
NX	Lenf nodu değerlendirilmedi
N0	Lenf nodu metastazı yok
N1	İpsilateral tek 3 cm ya da daha küçük boyutta lenf nodu
N2a	İpsilateral tek 3-6 cm 'lik lenf nodu
N2b	İpsilateral birden fazla 3-6 cm 'lik lenf nodu
N2c	Bilateral veya kontrateral 6 cm'den küçük lenf nodu veya nodları
MX	Uzak metastas değerlendirilmedi
M0	Uzak metastas yok
M1	Uzak metastas var
EVRE0	Tis N0 M0
EVRE1	T1 N0 M0
EVRE2	T2 N0 M0
EVRE3	T3 N0 M0,T1-2 N1 M0
EVRE4	T4 N0-1 T N2-3 M0, T... N... M1

2.5 ORAL KANSERLERİN ETYOLOJİK FAKTÖRLERİ

Oral kanser ile ilgili yapılmış olan tüm çalışmalar insan epiteliyal kanserinin tek bir olaya bağlı olmadığını, zamanla artış gösterdiğini, vücudun immün kontrolüne bakılarak apoptozise direnen anormal hücrelerin çoğalmasının birden fazla sebebe bağlı olduğunu ortaya koymuştur (Cruz.,2007).

Oral kanserinde diğer kanser türleri gibi artış gösterdiği kanıtlanmıştır. Gerekli sağlık tedbirleri alınmaması sonucu ağızda oluşan bakterilerin zamanla ağız içinde çeşitli kanser dokuları oluşturmaya başladığı gözlemlenmektedir ve bu kanserlerin büyük bir kısmı ileri yaştaki ve belirli faktörlerin etkisi altındaki bireylerde daha sık

görülmektedir. Buna etken sayılanlar arasında en çok alkol ve sigara tüketimi, genetik faktörler, çevresel faktörler, dental travmalar, kötü ağız hijyeni ağız kanseri etyolojisinde önemli yer tutmaktadır.

Bunun yanı sıra human papilloma virüs (HPV), beslenme bozuklukları, Plummer-Vinson sendromu ve prekanseröz lezyonlar ağız kanserleri için risk faktörler olarak kabul edilmektedir (Cruz.,2007;Jazdavzeki.,2008).

Ağız kanserlerinde etyolojik faktörler aşağıdaki gibi sınıflandırılır:

- Tütün (sigara, pipo, puro)
- Alkol
- Virüsler
- Prekanseröz lezyonlar
- Radyasyon / ultraviyole (dudak)
- Kronik irritasyonlar (kırık diş ve kronik enfeksiyonlar)
- Baskılanmış immün sistem
- Genetik faktörler
- Kötü ağız hijyeni
- Yetersiz beslenme (Vitamin A, C, E ve demir eksikliği)

2.6 İNSANLARDA KANSER YAPAN RİSK FAKTÖRLERİ

Bugüne kadar çeşitli nedenler sunulmuş olmasına rağmen bilinen şu ki kanseri önlemenin ilk adımı insanlar'da kanserin nedenleri, nasıl ve niçin oluştuğu konusunda bilinçlendirmektir. Bu aşamalardan sonra kanserojenlerin tespiti kanserojenlerin risk değerlendirmesinin ilk adımıdır. Bu ilk adımda araştırmalar yapıp kanserojen dozu ile tümör insidansı arasındaki ilişkiyi ortaya koyarak doz – yanıt değerlendirmesi, insanların kanserojen maruziyetinin boyutunun değerlendirilmesine ve insanlarda kanser riskinin doğasını ve ölçüsünü açıklamaya yardımcı olma yönünde ilerlenmektedir.

Araştırma sonuçları her ne kadar bilinçlendirmeye yönelik tatmin edici sonuçlar olsa da toplumun kansere neden olan maddelere maruziyetleri hakkında daha bilinçli bilgilerin verilmesi sağlanmalıdır (Silverman.,2000). Yapılmış çalışmalar aşağıdaki faktörlerin etkisi altındaki bireylerde kanser oluşumunu daha sık göstermiştir.

2.6.1 Sigara Tüketimi

Sigarayı içen normal bir birey ne kadar etkileniyorsa içmeyen pasif içicilerin de bir o kadar etkilendiği gözlemlenmektedir. Bununla birlikte tütün içimi insanlarda akciğer, ağız boşluğu ve sinüsler, yutak, gırtlak, yemek borusu, mide, pankreas, karaciğer, idrar torbası, böbrek ve serviks üteri ile miyeloid lösemi kanserlerini tetikleyen önemli bir etkidir (Hassona.,2015). Tabiki bu sıralamanın başındaki sigara ve alkol tüketimi, oral kavite neoplazmlarında en sık görülen engellenebilir etyolojik faktörlerdir. Araştırılan ve gözleme sonuçlarına göre sigara içenlerde içmeyenlere oranla oral skuamöz hücreli kanser (OSHK) gelişme riski 5-9 kez artmıştır (Hayes ve ark.,1999,Işık ve ark.,1998). Yapılan araştırma sonucunda elde edilen bir başka bilgi de kanser riski tüketilen sigara ve alkol miktarı ile doğru orantılıdır.

Pipo içiminin, dudak kanserine sebep olduğu belirtilirken, diğer oral kavite bölgelerinde tütün ve tütüngillere benzer bitkilerin ağızda çiğnenmesi (Hindistanda bettel-nut, Türkiye’de Maraş otu), reverse smoking olarak tanımlanan sigaranın yanan ucunun ağız içerisine alınması gibi alışkanlıkların olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Tütünde elliden fazla karsinogen bulunmaktadır,bu karsinogenleri aktive eden enzimleri kodlayan genlerde polimorfizmler oral kanser gelişme riskini etkiler (Regize,Jordon 2001). Sigara içiminin kanser üzerine etkisi alışkanlık bırakıldıktan sonra 5-10 yıl içinde azalmakta (Lawoyin JO.,2003;Patil A.2012) . yoğun içicilerde ise bu süre 15 yıla kadar uzamaktadır (Saini R ve ark., 2006).Kronik sigara ve alkol tüketicilerinde oral kanser gelişme riski yüksek olduğundan erken tanı için periyodik oral kavite muayenesi önerilmektedir. Tütün alışkanlığının bırakılması oral kanser riskini ancak 19 yıl sonra azaltmaktadır (Callin G.A.,Rassenti.,2002). Tütün kullanma alışkanlığı olmayan kişilerde oral kanser görülme oranı ise %3,4 ile %4,5 arasında değişmektedir.

2.6.2.Alkol Tüketimi

Alkol tüketimi insanlarda bilinen en önemli ağız kanseri sebeplerinden biridir ve alkol tüketimi sonucu oluşan risk faktörlerinin de başında gelmektedir. Alkol tüketimi ile ağız, yutak, gırtlak, yemek borusu, karaciğer, kolon, rektum ve kadınlarda meme kanseri arasında nedensel bağlantı olduğu belirlenmiştir.(Saini ve ark., 2006). Alkol kullanımı oral kanser riskini 3-9 kat artırır. Alkol tüketimi sigara kadar oral kanserle neden olduğu belirtilmiştir ve sigara ile sinerjistik etki gösterir.

Bir kişinin fazla miktarda alkol ve sigarayı beraber tüketmesi aynı miktar alkol ve sigaranın tek başına kullanımına kıyasla ağız kanser riskini 13 kat artırdığı bilinmektedir. Tüketilen sigara ve alkol miktarı ile kanser riski doğru orantılıdır.

Alkol tüketimi enzim aktivitesini etkileyen ADH polimorfizmi asetaldehitin lokal konsantrasyonunu etkiler. Alkol tüketimi sigara tüketimi kadar oral kanser üzerinde en etkili rol oynar ve bu düzeyi kanseri tetikler. ADH polimorfizminin oral kanser gelişme etkisi bir çok bilimsel araştırmanın konusu olmuştur (Regezi ve ark.,1993). İçilen sigarada benzopirenler ve diğer polisiklik aromatik karsinojenler en önemli karsinojenlerdir.

2.6.3.Dumansız Tütün

Dumansız tütün ürünü yakmadan ağız içine alınarak dil altı yada damak kısımlarına koyularak tüketilmektedir ve oral ya da nazal yoldan alınabilmektedir. Belli bir süre sonra bağımlılık riskini arttırmasından dolayı dil altında veya yanaklarda tahribata yol açmaktadır. Dünya genelinde çok çeşitli dumansız tütün ürünleri kullanılmaktadır.Bunlar tek başlarına ya da başka ürünlerle karıştırılarak kullanılabilir (Mackenzie.,2000). Bilinen veya bilinmeyen sebeplerden dolayı dumansız tütünlerin ağız içinde kullanımı oral ya da nazal yoldan kullanımıyla kanser riskini tetiklemekte olduğu gözlemlenmektedir. Hindistan'da çok çeşitli ticari veya ev yapımı dumansız tütün ürünleri mevcuttur ve bu ürünler sigara veya alkole nazaran daha ucuz olduğundan tüketimin yaygınlaşmasıyla daha çok artış ve istek sonucu kullanımı artmıştır.

2.6.4.Viral Enfeksiyonlar

Bir takım enfeksiyon yapıcı faktörler dünya genelini kapsayan kanserin ana nedenleri arasında yer almaktadır ve en az altı farklı virüs insanlarda belirli çeşitlikte kanser türleriyle ilişkilendirilmiştir (Kutluay.,2009).

Herpes virüs grubu içerisinde yer alan Epstein Barr (EBV/ Human herpes virus 4/ HHV-4), Human papilloma virüs (HPV) ve Human herpes virusleri [(Herpes Simpleks virüsü (HSV), Human herpesvirus-8 (HHV-8), Human herpes virus-6 (HHV-6)]ağız kanserlerinin oluşumunda katkıları olduğu düşünülen başlıca virüslerdir(Silverman ve ark.,1985; Lawoyin.,2003).

2.7. AĞIZ KANSERİ LEZYONLARININ LOKALİZASYONU

Kanser oluşumunda ağız içersindeki kanser olgularının çoğunluğu kırmızı veya beyaz renkli bir yama,kalıp şekline benzeyen topak beze endofitik ülseratif bir lezyon veya kenarları dışarıya doğru kıvrık, kabarık ve şişik pulcuk şeklinde merkezinde ülser bulunan ekzofitik bir kütle olarak görülür.(Resim 1,2). Fakat bulezyonlar genellikle çok büyüdüklerinde bile ağrı oluşturmazlar (Pakfetrat., 2010;Amarasingine ve ark., 2010). Belli araştırmalar sonucu öngörülen tartışma ve sonuçlara göre oral kanserlerin yaklaşık üçte birini ağız tabanı kanserleri oluşturmaktadır. Genellikle bu bölgedeki premalign lezyonlardan sonra gelişen ağız tabanı kanserleri, özellikle lingual frenilum ve sublingual tükürük bezinin kanal ağızları etrafında yerleşir ve kenarları sert ve düzgün olmayan, ülser benzeri bir lezyon olarak gözlenirler .



ŞEKİL 3: BUKKAL MUKOZADA YERLEŞİK FİBROSARKOM (CASTELLARİN, POZZATO;2010)



ŞEKİL 4: MAKSİLLER ALVEOLER KRETİ DE İÇEREN, BUKKAL MUKOZADA YERLEŞİK VERRÜKÖZ KARSİNOM (HOLMES, DIERKS;2011)

2.7.1 Dudak Kanseri

Oral kanserlerinin en sık görüleni dudak kanseri'dir ve %95 alt dudakta, %4 üst dudakta ve %1 oranında dudak komissüründe yerleşir ve gözlemlenir (Edwards ve ark., 2002). Alt dudakta genellikle orta hat ile kommissürler arasında, üst dudakta ise orta hatta yakın görülür. Spesifik etiyolojik faktör gösterilememesine rağmen güneş ışığına maruz kalma, tütün kullanımı, kronik alkolizm, kötü ağız hijyeni, immunsupresif tedavi ve travma risk faktörleridir (Weidauer.,1992)

Dudak kanserlerinde tümörün boyutu ve ilk muayenede lenf nodu varlığı metastaz ve mortalite üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (Edwards ve ark.,2002). Tümör evresi arttıkça bölgesel metastaz oranı artmaktadır (Di Nicola M ve ark., 2006). Tümörün alt dudakta ve çapının 2 cm'den küçük olması prognozu olumlu yönde etkilerken; perinöral invazyon, nodal pozitiflik, maksilla yada mandibula tutulumu, üst dudak ve komissürde hastalık varlığı prognozu kötüleştirir (Rocha-Buelvas.,2005).

2.7.2. Ağız Tabanı Kanseri

Ağız tabanı kanserleri 5. ve 6. dekada daha sık olup erkeklerde (3-4 kat) daha sık görülmektedir (Figuro ve ark.,2004). Bu kanser riski ön görülen hastaların 2/3'ü aşırı sigara içen ve %50'si alkolik kişilerdir. Ağız tabanı karsinomları dil tarafında hissedilen çıkıntı şeklinde başlarlar, daha sonra ülserleşir ve laterale doğru genişlerler. En sık ön ağız tabanı bölgesinden gelişirler ve sıklıkla görülen morfolojik tip süperfisyal eksofitik

tiptir(Horowitz ve ark.,1998).Tüm oral karsinomlar içinde en çok prekanseröz lezyondan gelişen karsinom bu alanda mevcuttur. Submental ve submandibuler bölgenin zayıf konnektif dokusu tümör yayılımını kolaylaştırır. Dile doğru uzanarak dilin hareketlerini azaltır ve konuşma bozukluğuna yol açabilir.Anterior ağız tabanındaki lezyonlar sublingual tükrük bezini ve submandibular kanalı direkt invaze edebilir ve ağrılı tükrük bezi şişmeleri olabilir.

2.7.3. Sert Damak Kanseri

Sert damak kanseri nadirdir. Tüm oral karsinomların %0.5'ini oluştururlar(Figuero Ruiz ve ark.,2004). Hindistan'da ise bütün oral kavite kanserlerinin %40' ını oluştururlar. Bunun nedeni ters sigara içiminin bu bölgelerde yaygın olmasıdır. Skuamöz hücreli kanser ve tükrük bezi tümörlerinin görülme sıklığı eşittir (Shingaki, Nomura., 1999) .

Minör tükrük bezi tümörleri tipik olarak submukozal nodül şeklinde görülürler. Bu tümörler sert ve yumuşak damak birleşim yerinden çıkma eğilimindedir. Malign melanom ve kaposi sarkomunun intraoral en sık yerleşim yeridir. Damak periostu tümör yayılımı için iyi bir bariyer oluşturur (Jones ve ark.,1997). Bu nedenle tümör kemik destrüksiyonu yapmadan semptom verecek boyuta ulaşır.

2.7.4. Yumuşak Damak Kanseri

Yumuşak damak karsinomlarının çoğunluğu damağın ön yüzünde olur ve tanısı daha erken konulduğu için prognozu daha iyi tümörlerdir (Jones ve ark.,1997). Genellikle iyi diferansiye tümörlerdir. Hastaların çoğunda başlangıç semptomu olarak boğaz ağrısı ve disfaji bulunur. Yutkunmada, seste ve konuşmadaki değişiklikler başlangıç semptomları olabilir (Jindal ve ark.,1990). Yumuşak damak sert damağın aksine lenfatiklerden zengindir. Tanı esnasında %20-45 oranında klinik olarak pozitif lenf nodu saptanır. Lenfatik drenaj genellikle üst jugulodigastrik lenf nodlarına olur (Tanyeri.,2008).

2.7.5Orofarinks Arka-Yan Duvar Kanserleri

Bu tümörler sık görülmezler. Tanı konduğunda genellikle ileri evrededir. Disfaji, odinofaji, boğaz ağrısı ve kilo kaybı gibi semptomlar izlenir. Metastaz potansiyeli yumuşak damaktaki gibidir (Jovanovic ve ark.,1993).

2.8. AĞIZ KANSERİNDE UYGULANAN TEDAVİLER

2.8.1. Cerrahi Tedavi

Cerrahi tedavi; kanserlerin tedavisinde en eski yöntemdir. Aynı zamanda, kanserde teşhis ve hastalığın evrenmesinde (lezyonun ulaştığı sınırların anlaşılmasında) önemli rol oynamaktadır. Cerrahi tekniklerdeki ilerlemeler, cerrahların artan sayıda hastada başarılı operasyonlar yapmalarını sağlamaktadır. Günümüzde, tümörleri çıkarırken mümkün olduğunca ağız boşluğunun normal yapısını ve normal fonksiyonunu korumaya çalışarak daha az invaziv işlemler yapılmaktadır. Cerrahi tedavi, birçok kanser türünde özellikle uzak metastazları olmayan kanserlerde en iyi tedavi şansını sunmaktadır(Tanyeri., 2008).

2.8.2. Radyoterapi

Radyasyon terapisi olarak da bilinen radyoterapi; kanser ve diğer bazı hastalıkları iyonize radyasyon ile tedavi eden bir yöntemdir. Radyasyon hem kanser hücrelerine hem de normal hücrelere zarar verse de, sağlıklı hücreler kendilerini onarabilmekte ve düzgün işleyişlerine geri dönebilmektedir. Radyoterapi; ağız çevresiyle ilişkili solid tümörlerin tedavisinde kullanılabilen bir tedavi yöntemidir (Tanyeri.,2008).

2.8.3. Kemoterapi

Kansere karşı mücadelede kullanılan en önemli teknolojilerden olan kemoterapi; kanser hücrelerini yok etmek için kimyasalların kullanılması yöntemi olup, kanser tedavilerinde kullanılan 3 temel tedaviden biridir. Radyoterapi ve cerrahi tedavi lokalize kanser tedavi yöntemleriyken kemoterapiyi etkili kılan özellik, metastatik kanserleri tedavi edebilmesidir (Tanyeri.,2008).

2.8.4. Boynun tedavisi

Oral kavite ve orofarenks tümörlerinde primer tümörün yerine bakılarak metastazların yeri ve insidansı farklılık gösterir. Önceden de cerrahi ve radyoterapi ile tedavi olmamış hastalarda genel olarak oral kavite 2/3 anterior kısmının ilk basamak drenaj nodları submandibular submental (level 1) bölgesidir. Onu takiben üst ve orta derin juguler (level II-III) lenf nodlarına drenaj olmaktadır. Özellikle zon V lenf nodlarına metastaz enderdir (Lee.,2003). Oral kavite tümörlerinde mobil dil ve ağız tabanı en fazla servikal metastaz potansiyeline sahip bölgelerdir. Yanak mukozası ve retromolar üçgen tümörleri ise mobil dil ve ağız tabanı tümörlerinden sonra metastazların sık rastlandığı bölgelerdir. Orta hat lezyonlarında bilateral servikal lenfatiklere yayılım insidansı yüksektir. Bu vakalarda bilateral boyun diseksiyonu endikedir. Orofarenks kanserlerinin okült ve pozitif metastaz oranı yüksektir. Hastaların %50'sinin boynu klinik olarak pozitifdir . Bu nedenle genellikle boynun tedavisi gerekir.

Yumuşak damak ve ön tonsiller plikanın görünebilir olmasından dolayı lezyonlar erken evrede saptanır ve N0 boyun oranı yüksektir. Ancak dil kökü ve tonsiller fossa lezyonlarının N0 boyun oranı düşüktür. Primer orofaringeal lezyonun tedavisi ve negatif boynun takibi uygun değildir. Bütün orofaringeal lezyonlarda metastaz oranı yüksek olduğundan ilk tedavi primer alanla birlikte ilgili servikal lenfatikleride içermelidir (Jindal ve ark.,1990). Klinik ve radyolojik olarak N0 oral kavite malignensili bir hastada gizli metastaz riski %20'yi aşıyorsa çoğunluk, bölgesel lenfatiklerin elektif tedavi edilmesini gerekli görmektedir. Oral kavitede N0 sert damak, erken evre (T1T2) dudak, yanak mukozası ve alveolar ark T1 yüzeysel kanserlerinin dışında tüm oral kavite tümörlerinde elektif profilaktik boyun diseksiyonu uygulanmalıdır (Figuro Ruiz ve ark.,2004). Oral dil lezyonlarında skip metastazların olabileceği akılda tutulmalıdır. Byers ve arkadaşları lateral oral dil yassı epitel hücreli kanserlerinde %15.8 oranında 'skip' metastazlara rastlamışlar vebunun içinde oral dil kanserlerinde supraomohyoid boyun diseksiyonu yerine genişletilmiş supraomohyoid boyun diseksiyonunu (level I-IV'ü içeren) önermişlerdir.İleri evre N2 ve N3 boyunlarda tedavi radikal boyun diseksiyonudur. N1 boyunlarda radikal boyun diseksiyonu uygulanabildiği gibi fonksiyonel boyun diseksiyonuda yapılabilir.

2.9. MİKRO RNA

2.9.1 Mikro RNA'ların Yapısı ve Keşfi

Yapılan araştırmalar sonunda iki tane küçük RNA tanımlanmıştır; MikroRNA (miRNA)'lar ve short interfering RNA (siRNA)'lar. miRNA ve siRNA'lar biyokimyasal ve fonksiyonel olarak birbirinden ayırt edilemedikleri için orijinlerine göre ayrılırlar. miRNA'lar dsRNA'ların hairpin (saç tokası) şekilli prekürsörlerinden elde edilirken, siRNA'lar uzun dsRNA'lardan oluşur. İlk keşfedilen küçük RNA miRNA'dır (Narry.,2005).

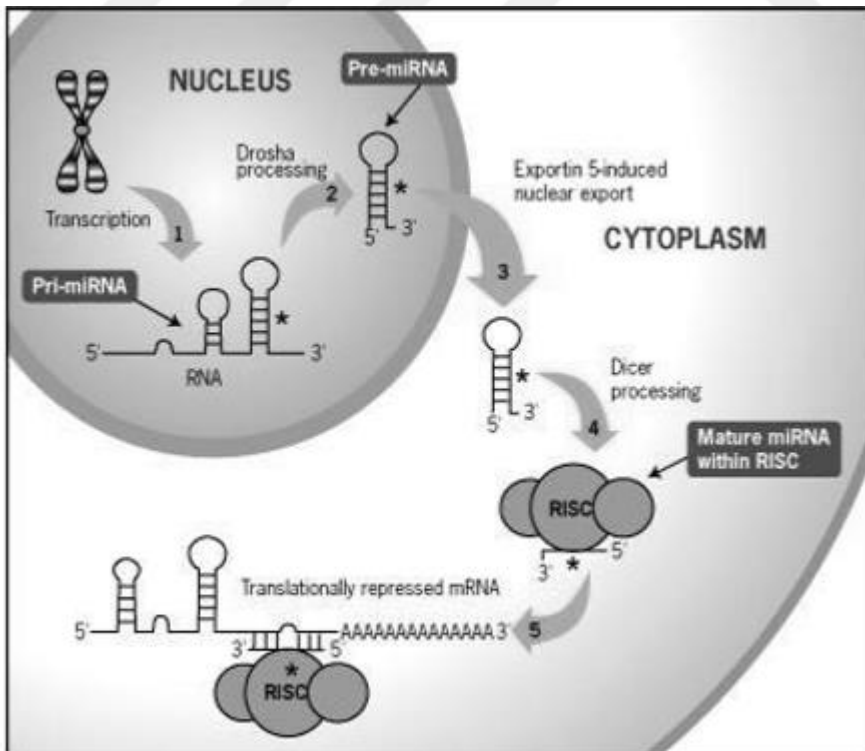
miRNA'lar genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir. İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. İnsan genomunda 1000'in üzerinde miRNA tanımlanmıştır (Narry,2005; Shenouda.,2009). İlk miRNA, Lee ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında Victor Ambros laboratuvarında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditis elegans*'ta lin-4 olarak adlandırdıkları genin hiçbir protein kodlamamasına karşın 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe etmesiyle rapor edildi (Saydam.,2011; Lee ve ark.,1993). Ancak bulunan bu genetik materyal için mikroRNA terimi ilk defa 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır (Lee ve ark.,1993; Ruvkun .,2001). 2000 yılında Reinhart ve arkadaşları tarafından yine *C.elegans*'da 22 nükleotid uzunluğunda, let-7 olarak adlandırılan, canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir mikroRNA keşfedildi (Reinhart ve ark. 2000; Pasquinelli.,2000). Daha sonraki yıllarda let-4 ve let-7'ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü, hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilip miRNA olarak isimlendirilmiştir (Saydam.,2011; Lagos-Quintana.,2001).

2.9.2.miRNA 'ların Oluşumu

miRNA 'lar birbirini izleyen üç basamaklı işlem sonucunda meydana gelir. İlk basamakta miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu

gerçekleşir. İkinci basamakta pri-miRNA'lar prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Üçüncü ve son basamakta olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir (Saydam.,2011;Kwak.,2010).

miRNA 'lar, primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından genomik DNA'dan sentezlenir. Pri-miRNA (500-3000 baz), "cap" ve "poli A" kuyruguna sahip sap-ilmik yapısındadır. Çekirdekte pri-miRNA, RNAaz III enzim ailesinin bir endonükleazi olan Drosha ve kofaktörü Pasha (veya DGCR8), tarafından yaklaşık olarak 70 nükleotid uzunluğunda olan premiRNA'ya dönüştürülür (Lee.,2003). Bir nükleaz olan Drosha ile çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan Pasha'nin oluşturduğu bu komplekse mikro işlemci kompleks (Mikroprocessor complex) adı verilir (Saydam.2011,Esquela-Kerscher.,2006). Pre-miRNA molekülü bir nükleer taşıma reseptörü olan Exportin 5 ve nükleer bir protein olan RAN-GTP'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır. Sonrasında, premiRNA'lar sitoplazmada RNAaz III enzim ailesinden Dicer adlı endonükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA (miRNA dubleksine) çevrilir (Saydam.,2011;Lund ve ark.,2004 ;Zhang ve ark.,2002).(Şekil 5).

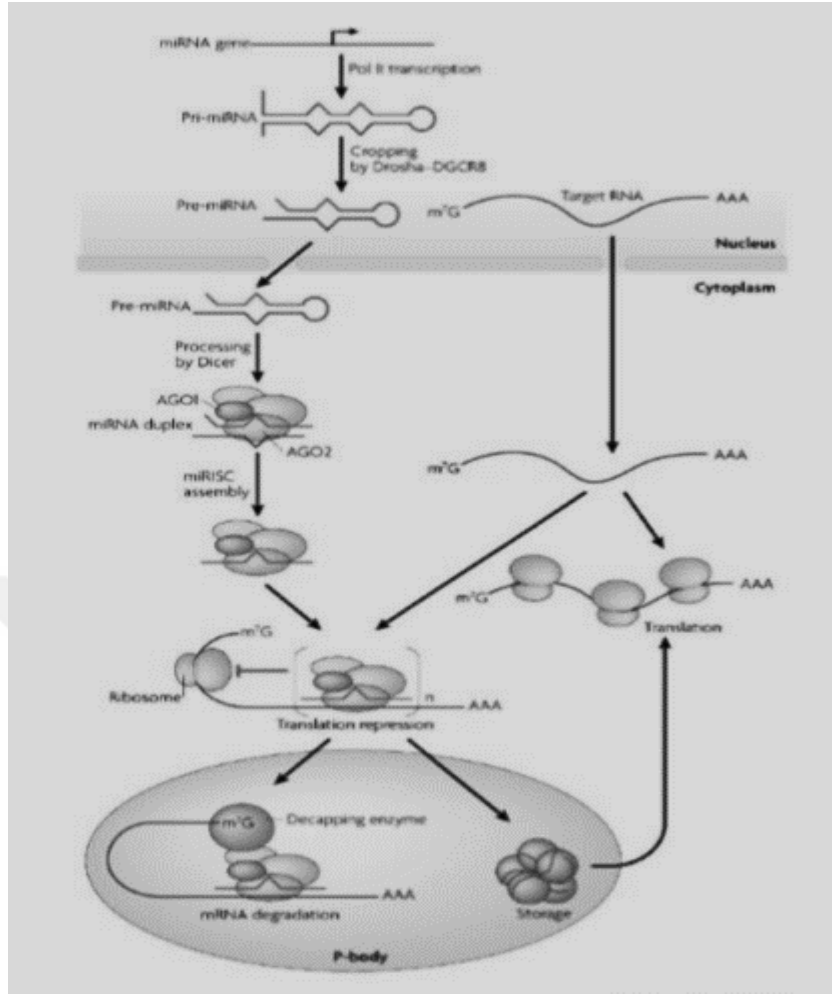


ŞEKİL 5:MİRNA OLUŞUM BASAMAKLARI (ESQUELA-KERSCHER,2006)

Dicer, aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex; RISC) oluşumunu başlatır (Şekil 6). Dicer, pre-miRNA'nın sap- ilmiğini kestikten sonra miRNA dubleksinden, RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAz olan argonaute'un etkisiyle 5'ucu daha kararlı olanı seçilip sadece biri miRNA RISC kompleksine katılır. Bu iplik, kılavuz iplik (guide strand) olarak adlandırılırken diğer iplik anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılır. Yolcu iplik RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. miRNA 'lar, RISC kompleksine entegre olduktan sonra, ya argonaute proteinleri yardımıyla mRNA'nin yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olarak fonksiyon görürler (Saydam ve ark 2011; Lund ve ark., 2004; Gregory ve ark.,2005).

2.9.3 miRNA'ların Fonksiyonu

miRNA 'lar fonksiyonlarını kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sayesinde gerçekleştirirler. miRNA'nın yapıya eklenmesi ile oluşan RISC kompleksi baz eşleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanarak ilgili genin protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkılmasına sebep olur (Saydam .,2011; Shenouda .,2009). miRNA, hedef mRNA'nin 3'ucundaki translasyona uğramayan bölgesi (untranslated region-UTR) ya da hedef mRNA'nin ORF (open reading frame) bölgesine bağlanır. Bu bağlanma pozisyonu miRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl komplementer olduğuna bağlıdır. 3'UTR bölgesine bağlanma kusurlu,tam olmayan, eksik komplementerliği ihtiva eder ve translasyonun baskılanması ile sonuçlanır. ORF bölgesi içine bağlanma ise kusursuz, tam komplementerliği gösterir ve Argonaute2 (Ago2) tarafından mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanır. Ayrıca, miRNA'ların her birinin birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla miRNA tarafından hedeflenebildiği bilinmektedir (Saydam.,2011;Sun ve ark., 2010;Pillai ., 2005).



ŞEKİL 6: RiSC KOMPLEKSİ OLUŞUMU (GREGORY VE ARK., 2005).

2.9.4 miRNA ve Kanser

Hücreler anormal olarak çoğaldıklarında ve apoptoz fonksiyonlarını kaybettiklerinde genellikle kanserleşme özelliği gösterirler. miRNA'ların hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi birçok biyolojik süreçte etkili anahtar moleküller oldukları bugün artık açık bir şekilde bilinmektedir. Kanser gelişim sürecine miRNA'ların katkıda bulunduğu ilk kanıtı, Calin ve arkadaşlarının 2001 yılında Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda yaptıkları moleküler çalışmayla ortaya konulmuştur. Gelişmiş ülkelerde en sık görülen yetişkin lösemi formu olan KLL hastalarının yaklaşık % 50'sinde 13q14 bölgesi delesyona uğradığı bilinmektedir. Yapılan detaylı delesyon analizleri sonucunda bu bölgede yalnızca mir-15-a ve mir-16-1 genlerinin bulunduğu saptanmış ve Calin ve arkadaşları tarafından da 245 insan ve fare miRNA probu içeren miRNA mikroarray çalışmasıyla mir-15a ve mir-16-1'in

ekspresyon düzeylerinin B hücreli KLL hastalarının % 68'inde bu miRNAların ekspresyonlarının azaldığı ya da hiç yapılmadığı bulunmuştur. Ayrıca miRNA ekspresyon profilinin, KLL hastalarının klinik ve biyolojik davranışıyla yakın ilişkili olduğu raporlanmıştır. Kanseri ve normal dokular arasındaki bu ekspresyon farklılıklarının belirlenmesi, miRNA'ların kanser patogeneziindeki rollerini daha da güçlendirmiştir (Saydam.,2011;Calin ve ark.,2002).

Calin ve arkadaşlarının, 2004 yılında yaptıkları diğer bir çalışmada, insan miRNA genlerinin kanser ile ilişkisini araştırmak için, 186 adet miRNA geninin DNA üzerindeki pozisyonunu haritalandırarak ilgili genlerin daha önceden bilinen belirli kanser türlerinin ilişkili olduğu genetik değişiklikler ile karşılaştırılmıştır. Bu miRNA genlerinin çoğunlukla, heterozigotitenin kaybolduğu bölgeler olan kırılma kısımlara yerleşik olduğu saptanmıştır. Bu kırılma kısımlar amplifikasyonun minimal olduğu bölgeler veya genel kromozomal kırılmanın olduğu bölgeleridir. Bu bölgelerde moleküler lezyon sonucu oluşan genetik hasar spesifik kanserlere neden olmaktadır (Saydam 2011.,Wijnhoven ve ark., 2007; Calin ve ark.,2004). 2003 yılında Michael ve arkadaşları, insanlardaki solid organ tümörlerini (kolonik ve rektal adeno karsinomlar) normal dokular ile karşılaştırdıklarında ekspresyon seviyeleri değişmiş olan miRNA'ları rapor ettiler (Micheal ve ark.,2003). Daha sonraki yıllarda solid organ tümörlerine bağlı değişikliğe uğramış miRNA seviyeleri farklı kanser türlerinde (meme, lenfoma, beyin, tiroid, akciğer, prostat ve hepatosellüler karsinoma) bulunmuştur (Le Quesne ve ark.,2010, Muraksami ve ark., 2006). miRNA 'lar, hedefledikleri mRNA'nın moleküler düzeydeki özelliklerine göre onkogenik veya tümör süpresör özellik kazanabilirler. Normal dokularda miRNA'lardan bazılarının protoonkogenlerin translasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Fonksiyonları bir onkogenin ekspresyonunu kontrol etmek olan bu miRNA'lar "tümör süpresör miRNA'lar" (TSmir) olarak bilinmektedir. Dolayısıyla tümör baskılayıcı miRNA'ların ekspresyonunun azalması onkogenin ekspresyonunun artmasına ve tümör oluşumuna sebep olacaktır. Bunun tersi olarak, "onko-mir" olarak ifade edilen bazı miRNA'ların kanser gelişimini arttırdığı görülmektedir. Sonuç olarak miRNA 'lar, onkogen ve tümör süpresör mRNA'ların her ikisini de potansiyel hedef olarak görüp, fonksiyonlarını bu mRNA'lar üzerinden gösterirler (Saydam.,2011; Muraksami ve ark.,2006; Cowland ve ark., 2007).

2.10. miR-146 VE miR-149 GEN VARYANTININ İNCELENMESİ

2.10.1 miRNA-146

miRNA 146 akut inflammatuar cevabı regüle ederek doğal immünyetede rol alan bir miRNA'dır. Kromozomlar değişkenlik göstermez ve insanda 5. kromozomda LOC285628 geninde lokalizedir(Taylor., 2006). Asıl olarak CD68+ makrofajlarda, bunun yanında CD3+ T lenfosit ve CD79a+ B lenfositlerde de eksprese edildiği bilinmektedir (Mease.,2005).İnterlökin-1 reseptör ilişkili kinaz-1 (IRAK-1) ve TRAF-6 genleri üzerine etki ederek proinflammatuar sitokinlerin salınımını azaltır. NF-kB sinyal yolağına etki eder, T hücre regülasyonu yapar. miR146a'nın T hücreleri aktivasyonu üzerine etkisi, T hücre ölümünü inhibe etmektir (Raychaudhuri ve ark.,2010; Ulukaya, Eve ark.,2007). miR146, IRAK-1 ve TRAF6 genlerinin ekspresyonuna etki eder; bu şekilde toll-like reseptör (TLR) ve IL-1 sinyal yolağına negatif regülatör etki yapar. IRAK-1, NF-kB aktivasyonunda TLR/IL-1 reseptör (TIR) aracılı etki eder. miR146a'nın IRAK-1 ve TRAF6 üzerine etki ederek bu sitokinlerin salınımını baskılayarak kondrosit hasarında rol aldığı tespit edilmiştir. Kondrositlerde miR146a'nın apoptozu indüklediği, özellikle mekanik hasara cevap olarak VEGF ekspresyonunu arttırdığı, Smad4 gen ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Smad4'ün mRNA'sının 3'UTR bölgesinde miR146a'nın da sekansı olduğu keşfedilmiştir. Bu sayede Smad4'ün miR146a'nın direk hedefi olduğu anlaşılmıştır. miR146a ekspresyonu lipopolisakkarit ve proinflammatuar mediatörlere cevap olarak indüklenir. Bu indüklenme NF-kB yolağı tarafından regüle edilir. Yapılan bir miRNA mikroarray teknolojisi çalışmasında, hasarlı ve normal kondrositler karşılaştırıldığında mekanik hasarlı olan kondrositlerde miR146a'nın upregüle edildiği tespit edilmiştir. Bu mekanizmaya benzer olarak PsA'da da kondrosit hasarından miR146a'nın sorumlu olduğunu düşünülmektedir. mikroRNA-146'nın insanda iki farklı varyasyonu bilinmektedir. miRNA146a geni kromozom 5q33'de ve miRNA-146b ise kromozom 10q24'de kodlanmaktadır (Akkız ve ark.,2011). miR-146a doğal bağışıklık, inflammatuar yanıt ve negatif olarak antiviral yolağı düzenlemektedir. Doğal immün aktivasyonunda akut yanıtın negatif düzenleyicisi olarak önemi artmıştır. Kanseri ve inflammatuar hastalıklarda miR146a'nın ekspresyonunda değişiklikler tespit edilmiştir(Le ve ark., 2010).

2.10.2 miRNA-149

miR-149 geninin tek nükleotid polimorfizmi ilk olarak Hu ve diğ. (2008) tarafından çalışılmıştır. İnsan miR-149 (hsa-mir-149; MIR149), 2q37.3'te bulunur, sadece 1 ekzon tarafından kodlanır. miR-149-5p ve 149-3p olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. miR-149-5p, miR-149-3p'den çok daha yaygındır. Ve miR-149-5p ve miR-149-3p'nin dizileri tamamen farklıdır buda insan biyolojik davranışlarında yer alan tutarsız rollere işaret eder.

miR-149'un iki izoformunun hem onkojeni hem de tümör baskılayıcıyı hedef aldığı ve kanserler arasında çift etkiye yol açtığı tahmin edilmektedir. miR-149-5p, çoğunlukla tümör büyümesi için gerekli olan ERBB-yolu, insülin sinyal yolu, MAPK sinyal yolu ve kemokin sinyal yolu, katR-149-3p geçiş yolu benzeri reseptör sinyal yolu, T ve B'de rol oynar. Hücre reseptörü sinyal yolağı, fokal adezyon yolağı, vasküler düz kas kasılma yolağı ve lizozom yolağı da tümörjenez ve tümör ilerlemesi ile yakından ilgilidir.

MiR-149 geninde bir C>T genetik polimorfizmi bulundu. miR-149 C>T Akt1 ve E2F1'in ekspresyonunu baskılamak için bir proapoptotik miRNA'dır. Akt1 ve E2F1'in susturulması, insan tümör hücre dizilerinde apoptozu indükleyebilir (Lin ve ark., 2011). Çalışmalar, miR-149 C>T'deki polimorfizmin, olgun miRNA'ların ekspresyonunu veya mRNA'yı hedefleyen bağlanma aktivitelerini değiştirebildiğini ve böylece çeşitli mekanizmalar yoluyla kanser riskini etkileyebildiğini göstermiştir (Liu ve ark, 2010). Baş ve boyun kanserlerinde Liu ve ark. miR-149C>T'nin CC genotipinin, OSCC riski olabileceğini göstermiştir. (2010).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. ÇALIŞMA GRUBU

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Onkoloji Bilim Dalına başvuran ve Oral Kanser tanısı olan hastalarla oluşturulan 42 kişilik hasta grubu ve yine İç Hastalıkları Anabilim Dalına başvuran ancak Oral Kanser tanısı alınmamış 100 kişilik gönüllü kontrol grupları oluşturulmuştur. Hastaların ayrıntılı muayeneleri yapılarak, katılımcıların izni ve bilgisi dahilinde, çalışmada rutin tetkikler için alınan kanlardan arta kalan kısım kullanılmıştır. Oral kanser hastaları ve

kontrol grubundaki bireylerin çalışmaya dahil edilip edilmeme kriterleri Tablo 2’de verilmiştir. Bu çalışma için, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'ndan 06.06.2017 tarihinde 17-KAEK-061 kayıt numarası ile onay alınmıştır. Çalışmanın tamamı Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Tablo2:Hastaların ve kontrol grubundaki kişilerin araştırmaya dahil edilme ve edilmeme kriterlerinin gösterimi

Gönüllülerin niteliği	X Sağlam X Hasta (Tanı: Oral kanser hastası) Çocuk (10-18 yaş)
Çalışma grubu (gönüllülerin sayısı)	42
Kontrol grubu sayısı	100
Araştırmaya dâhil edilme kriterleri	Hasta grubu: Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp fakültesi kemoterapi ünitesinde tedavi gören Oral kanser tanısı almış hastalar Kontrol grubu: Sağlıklı gönüllüler (Oral yada herhangi bir kanser tanısı olmayan)
Araştırmaya dâhil edilmeme kriterleri	18 yaş sınırı altında olan gönüllüler

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Genomik DNA İzolasyonu

Çalışma grubundaki bireylerden EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit) içeren tüplere alınan kan örnekleri, çalışma yapılncaya kadar buzdolabında +4°C'de saklandı. Bu kandan 200 µl alınarak GeneAll DNA izolasyon kiti (Lot: 10817L05079) ile hasta ve kontrol gruplarının DNA'ları elde edildi.

DNA İzolasyonu Öncesi ve Sonrası Kullanılan Cihazlar:

1. PCR Cihazı (Termal Cycler) (Techne, TC 4000, TC 412)
2. Buzdolabı (Vestel, BZP-L3302W)
3. Vorteks (Velp Scientifica, F20220176)
4. Mikrosantrifüj (Zentrifugen, D-78 532)

5. Su banyosu (Nüve BM 302)
6. Etüv (Memmert, Beschickung-Loading 100- 800)
7. Otoklav (HMC Hirayama, HV-25L)
8. Elektroforez (Cleaver Scientific, MSCHOİCE)
9. Hassas Terazî(Kern, ABJ 220-4M)
10. pH metre (İHANNA, 507702)

DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler:

1. Genomic DNA Purification Kit (lot: 00208193)
2. Proteinaz K (Thermo Scientific, lot: 00200657)
3. RNaz (Thermo Scientific, lot: 1383185)
4. BL Buffer (lot:BL017K16010)
5. Ethanol (96–100%) (Emsure, K45813683 431)
6. BW Buffer (lot: BW 017K14012)
7. TW Buffur (lot: TW017J25013)
8. AE Buffer (lot: AE017K16010)

DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Sarf Malzemeler:

1. Filtreli tüpler
2. Receiver tüpleri
3. Eppendorf tüpleri
4. Otomatik pipetler (10–100 µl ve 100–1000 µl)
5. Steril pipet uçları
6. 1.5 ml'lik Eppendorf tüpleri
7. Steril eldiven
8. Rak
9. Etiket

DNA İzolasyonunda Uygulanan Protokol:

1. EDTA'lı tüpler homojen hale gelmesi için vortekslendi.
2. EDTA'lı tüplerden 200 µl kan eppendorf tüplere aktarıldı.

3. Üzerine 20 µl proteinaz K ile 20 µl RNaz her bir tüpe eklendi. Eppendorf tüpler kısa bir şekilde vortekslendi.
4. 200 µl BL Buffer Lysis solüsyonu eklenerek vortekslendi. 55°C'de su banyosunda 10 dakika inkübe edildi.
5. Üzerine 200 µl Ethanol (% 96-% 100) eklendi, Spin filtreler, Recevier tüplerine yerleştirildi, karışım aktarıldı.
6. 11.000 rpm'de 1 dakika boyunca filtreli tüpler santrifüje edildi. Filtreler, Recevier tüplerinden çıkarıldı. Filtreler tekrar Recevier tüplerine yerleştirildi.
7. Filtrelerin üzerine 600 µl BW Buffer Wash Buffer I eklenir ve 11.000 rpm'de 1 dakika santrifüje edilir. Tekrar filtreler, Recevier tüplerinden çıkarılır. Filtreler tekrar Recevier tüplerine yerleştirildi.
8. Filtrelerin üzerine 700 µl TW Buffer Wash Buffer II eklendi ve 13.000 rpm'de 3 dakika boyunca filtreli tüpler santrifüje edildi ve Recevier tüpleri boşaltılarak filtreler Eppendorf tüplerine alındı.
9. AE Buffer Elution Buffer her örnek için 200 µl olmak üzere filtrelerin üzerine bırakıldı. 13.000 rpm'de 1 dakika santrifüje edildi.
10. Eppendorf tüplerine hasta ve kontrol grubu numaraları yazılarak DNA izolasyon aşaması bitirildi.
11. PCR işlemi yapılana kadar buzdolabında -20°'de saklandı.

3.2.2. DNA'nın Kalitatif Tayini

1,4 g agaroz, 70 ml 1×TBE içerisinde mikrodalgada kaynatılarak çözündürüldü, 70°C'ye kadar soğutulduktan sonra 3,5 µl etidyum bromür (10mg/ml) eklendi. Sıvı haldeki jel, tarakları yerleştirilmiş olan agaroz jel elektroforez kabına dökülerek donmaya bırakıldı. 1-2 µl DNA, toplam hacim 4 µl olacak şekilde 10×yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Örnekler 1×TBE tamponu içerisinde, 125 voltta (v) 20 dakika yürütüldükten sonra jel, UV altında incelendi ve genomik DNA'nın kalitesi analiz edildi.

3.3. miR-146 G>C Gen Polimorfiziminin PCR-RFLP yöntemleri ile Genotiplendirilmesi

miR 146 G>C polimorfizmi PCR-RFLP yöntemleri ile çalışıldı. Çalışmamızda *miR146* gen polimorfizmini araştırmak için Tablo 3'te gösterilen Zeng Y ve arkadaşlarının kullandığı (2013) primer çiftleri tercih edilmiştir.

Tablo 3: miR-146 G>C geni genotiplendirilmesinde kullanılan primerler

Gen	Spesifik Primerler
<i>miR146</i> (Forward)	5'-CATGGGTTGTGTCAGTGTTAGA-3'
<i>miR146</i> (Reverse)	5'-CCAAGAGTCTCGTATAACAGCA-3'

Tablo 4 : *miR146* gen bölgesi PCR'ı için oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR Bileşenleri	µl/Tüp (Tek örneklik)
Steril distile Su	18 µl
10×Tampon(Buffer)	2,5 µl
MgCl ₂ (Thermo Scientific; Lot: 00134257)	0,4 µl
dNTP	0,8 µl
Forward primer	0,8 µl
Revers primer	0,8 µl
Taq DNA polimeraz	0,2 µl
Hedef DNA	2 µl
Toplam	25 µl

Reaksiyon karışımı ve elde edilen DNA'lar PCR tüplerine konulduktan sonra Thermal Cycler (Techne, TC 4000, TC 412) cihazına yerleştirildi. En uygun PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 94°C' de 5 dk ilk denatürasyon, 37 döngülük: 95°C'de 30 sn denatürasyon, 53°C 30 sn hibridizasyon, 72°C'de 30 sn uzama ve son olarak 72°C'de 10 dk son

uzama şeklinde gerçekleştirildi.(Tablo 5). miR-146 G>CPCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış % 2'lik agaroz jelde yürütülerek 100 bp'lik marker kullanılarak görüntüleme cihazında değerlendirildi. Amplifikasyonda sonra miR146'ya ait PCR ürünlerinin her biri Tablo 6' da belirtilen reaksiyon karışımı oluşturulup Hpy188 I kesin enzimi ile 37 C'de 48 saat kesime bırakıldı.

Tablo 5:miR146 gen bölgesi için kullanılan PCR programının gösterimi

	Sıcaklık (°C)	Zaman (sn)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	94°C	5dk	
Denatürasyon	95°C	30	37
Bağlanma	53°C	30	
Uzama	72 °C	30	
Final Uzama	72 °C	10dk	

Sonuçlarımızın doğruluğunda emin olmak için aynı bölge PCR-RFLP yöntemi ile çalıştırıldı. Tablo 3'de belirtilen primerler kullanılarak PCR yapıldı. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda 25 µl'lik reaksiyon karışımı içindeli girdilerin miktarı Tablo 4'te gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 6 : miR-146 G>C (rs2910164) geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

RFLP bileşeni	15 µl karışımdaki miktar
Buffer	2,2 µl
Hpy188 I enzimi	0,3 µl
Green Buffer	0,5 µl
dH2O	2 µl
PCR ürünü	10 µl

RFLP kesim ürünleri, etidium bromid ile boyanmış %2'lik agaroz jelde yürütülerek görüntülendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı.

Gözlenen fragment boyları

GG genotip 211-161 bp

CC genotip 211-134-27 bp

GC genotip 211-161-134-27 bp

27 bp'lik ürün çok küçük olduğu için jelde kayboldu. PCR yöntemi ile 42 oral kanserli hasta çalışıldı.

3.4 miR 149 C>T Gen Polimorfiziminin PCR-RFLP yöntemleri ile Genotiplendirilmesi

miR 149 T>C polimorfizmi PCR-RFLP yöntemleri ile çalışıldı. Çalışmamızda *miR149* gen polimorfizmini araştırmak için Tablo 7'te gösterilen Vera Chayeba ve arkadaşlarının (2018) kullandığı primer çiftleri tercih edilmiştir.

Tablo 7 : miR-149 C>T geni genotiplendirilmesinde kullanılan primerler

Gen	Spesifik Primerler
<i>miR149</i> (Forward)	5'-TGT CTT CAC TCC CGT GCT TGT CC-3'
<i>miR149</i> (Reverse)	5'-TGA GGC CCG AAA CAC CCG TA-3'

Tablo8 : *miR149C>T* gen bölgesi PCR'ı için oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR Bileşenleri	µl/Tüp (Tek örneklik)
Steril bidistile Su	18 µl
10×Tampon(Buffer)	2,5 µl
MgCl ₂ (Thermo Scientific; Lot: 00134257)	0,4 µl
dNTP	0,8 µl
Forward primer	1 µl
Revers primer	1 µl
Taq DNA polimeraz	0,2 µl
Hedef DNA	2 µl
Toplam	25 µl

Reaksiyon karışımı ve elde edilen DNA'lar PCR tüplerine konulduktan sonra Thermal Cycler (Techne, TC 4000, TC 412) cihazına yerleştirildi. En uygun PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 94°C' de 5 dk ilk denatürasyon, 35 döngülük: 94°C'de 30 sn denatürasyon, 61°C 30 sn hibridizasyon, 72°C'de 45 sn uzama ve son olarak 72°C'de 7 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi.(Tablo 9). miR-149T>CPCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış % 2'lik agaroz jelde yürütülerek 100 bp'lik marker kullanılarak görüntüleme cihazında değerlendirildi. Amplifikasyonda sonra miR149'ya ait PCR ürünlerinin her biri Tablo 10' da belirtilen reaksiyon karışımı oluşturulup *Pvu II* kesin enzimi ile 37 C'de 48 saat kesime bırakıldı.

Tablo9 : miR149 C>T gen bölgesi için kullanılan PCR programının gösterimi

	Sıcaklık (°C)	Zaman (sn)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	94°C	5dk	
Denatürasyon	94°C	30	35
Bağlanma	61°C	30	
Uzama	72 °C	45	
Final Uzama	72 °C	7dk	

Sonuçlarımızın doğruluğunda emin olmak için aynı bölge PCR-RFLP yöntemi ile çalıştırıldı. Tablo 7'de belirtilen primerler kullanılarak PCR yapıldı. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda 25 µl'lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarı Tablo 8'de gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 10 : miR-149 C>T geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan rekasiyon karışımı koşulları

RFLP bileşeni (stok)	
Buffer	1,5 µl
Pvu II enzimi	0,3 µl
Green Buffer	2 µl
dH ₂ O	2 µl
PCR ürünü	10 µl

RFLP kesim ürünleri, etidium bromid ile boyanmış %2'lik agaroz jelde yürütülerek görüntülendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı.

Gözlenen fragment boyları

CC genotip	254 bp
TT genotip	194-60 bp
CTgenotip	254-194-60 bp

3.5. PCR Ürünlerinin Elektroforezde Değerlendirilmesi

3.5.1. Elektroforezde Kullanılan Solüsyonlar

- **EDTA Solüsyonu (0,5 M) Hazırlanışı:** 18,16 gr Na₂EDTA×2H₂O 80 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözülmenin oluşabilmesi için 2,0 gr NaOH (Riedel-de Haen, Lot:70440) karışma eklendi (pH: 8,0 olacak). pH ayarlaması HCl ile yapıldı ve 100ml'ye tamamlandı (distile su ile). pH metre ile pH 8'e ayarlandıktan sonra hazırlanan EDTA solüsyonu, otoklavlanıp (121°C 20 dk) oda sıcaklığında saklandı.
- **5×TBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu:** 54 gr Trisma Base (Sigma; Lot:SLBF2582V), 27,5 gr Borik Asit (Carlo Erba; Lot: 0L057180L) ve 20 ml EDTA 500 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Homojen olunca 1 litreye distile su ile tamamlanarak çözüldü. Çözelti oda ısısında saklandı.
- **Etidyum Bromid (EtBr) Solüsyonu (Serva, 090107) (10mg/ml):** 0,1 gr EtBr 10 ml distile su içerisinde bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

Kullanılacak tüpler alüminyum folyo ile kaplandı. Hazırlanan solüsyon +4°C'de saklandı.

- **Elektroforez Yürütme Tamponu:** 5×100 ml TBE tamponu 400 ml distile su ile seyreltilerek 1×TBE hazırlandı.

3.5.2. %2'lik Agaroze Jel Hazırlanması (100ml)

Agaroz Jel ve Nüslivli Jel Hazırlanması ve Görüntülenmesinde Kullanılan Cihazlar

1. Mikrodalga Fırın (Arçelik İntellowave, MD 554)
2. Manyetik Karıştırıcı (Velp Scientifica,F20520162)
3. Hassas Terazı (Kern, ABJ 220-4M)
4. Mikropipet Seti (Thermo Scientific)
5. Jel Tarakları
6. Elektroforez Tankı (Cleaver Scientific, MSCHOİCE)
7. Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo Scientific, EC 300 x L)
8. Jel Görüntüleme Sistemi (Quantum-ST4, 1000/20M- 09200806)
9. Bilgisayar (Exper, İntelcore2)

PCR ürünlerinin yükleneceğı kuyucukların oluşması için elektroforez tankına konan jel kasetinin tarakları takıldı. 2 gr agaroz hassas terazide tartılıp, 100 ml 1×TBE erlenmayer içerisine eklendi ve karıştırıldı. Mikrodalga fırında 2 dakika ısıtılarak çözünmesi sağlandı. Çözelti sıcaklığı yaklaşık 60-70°C'de olacak şekilde soğumaya bırakıldı. 3,5 µl Et-Br (10mg/ml) soğuyan çözeltiye eklendi, hızlı bir şekilde iyice karıştırıldı. Et-Br; jel görüntüleme cihazında, UV ışını altında agaroz jeldeki çift zincirli DNA'nın bazları arasına girerek PCR ürünlerinin görünmesini sağlandı. Hazır halde bekletilen jel kasetinin içerisine jel çözeltisi dökülerek donması için yaklaşık 25 dakika bekletildi. Jel donduktan sonra taraklar çıkartıldı. Hazırlanan %2'lik agaroz jel, kaset içerisinde elektroforez tankına yerleştirildi.

3.6. PCR Ürünlerinin Agaroze Jele Yüklmesi

Elektroforez tankının içerisine, elektroforez güç kaynağı özelliğinden yararlanmak için jel içerisinde DNA'nın (-) kutuptan (+) kutba doğru göç etmesini sağlayan ve elektrikselsel ortam için gerekli olan 1×TBE çözeltisinden konuldu.

miR 146 ve *miR149* ürünlerinden ayrı ayrı 5 µl alındı. PCR ürünlerini jelde takip etmek için yaklaşık 1 µl (6×) jel yükleme tamponu (Loading Dye) ile pipetaj yapıldı. PCR ürünleri elektroforez tank içerisindeki jel kuyucuklarına yüklendi. Jeldeki orta kuyucuğa ürünün bant boyutunu belirleyebilmek için, uzunluğu bilinen kontrol (marker) yüklendi. PCR ürünleri 125 volt'ta 20 dakika yürütüldü. Yürütme işleminden sonra jel, jel görüntüleme cihazında UV ışığı altında görünür hale getirildi.

3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Veriler IBM SPSS İstatistik Paket Program Versiyon 20.0 ve Openepi 3.01 (www.openepi.com) yazılım programlarına aktarılarak değerlendirildi. Ortalama değerler "aritmetik ortalama±standart sapma" olarak verildi. *miR 146* ve *miR 149* gen varyantı ile klinik ve demografik özellikler arasındaki anlamlılık ve farklar Ki-kare, Fisher exact veya varyans analizi (ANOVA testleri) yapılarak belirlendi. Risk faktörlerinin belirlenmesi için Olasılıklar Oranı (OR) ve %95 Güven Aralığı (CI) kullanıldı. p değerleri p<0.05 olması durumu istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Belirlenen genotip sıklıklarında, Hardy-Weinberg dengesinden yararlanarak hastalarda sapma olup olmadığı; kontrollerde ise uyumlu olup olmadığı Ki-kare (χ^2) testi ile belirlendi.

4. BULGULAR

Çalışma grupları, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Onkoloji Bilim Dalına başvuran ve Oral Kanser tanısı olan hastalarından ve hasta olmayan kontrol grubundan oluşturuldu.

Çalışmamız *miR146* ve *miR 149* gen polimorfizminin oral kanserdeki etkisini belirlemek için hastaların yaş ortalaması 63,05±13,250 , kontrollerin yaş ortalaması 60,37±8,666 idi. Hastaların ve kontrollerin yaş ortalamaları ve cinsiyet oranları birbirleri ile uyumluydu(Tablo 11).

Tablo 11:Oral kanser, hasta grubu ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalamalarına ait istatistiksel bulguların gösterimi

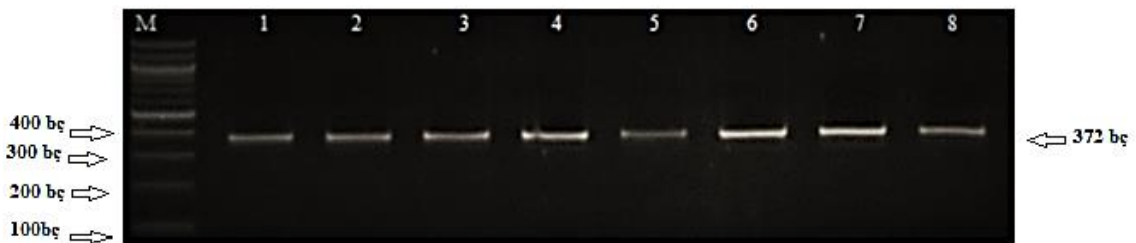
	Oral kanser Hasta Grubu	Oral kanser Kontrol Grubu	
Cinsiyet			
Kadın	15(%35,7)	34(%34)	0,849
Erkek	27(%64,3)	66 (%66)	
Yaş Ortalaması	63,05±13,250	60,37±8,666	0,157

Bu çalışmada oral kanserde *miR146* *G>C* polimorfizimi ile *miR 149* *C>T* gen polimorfizminin oral kanser ile arasındaki ilişki araştırıldı. Araştırmaya 15'i kadın 27'si erkek 42 oral kanserli hasta, kendisinde ve ailesinde kanser olmayan sağlıklı34'u kadın 66'sı erkek 100 kontrol hastası katıldı.

Yaptığımız bu çalışmada; oralkanserde *miR146* ve *miR 149* gen polimorfizmlerinin analizi PCR ve RFPL yöntemiyle gerçekleştirildi.

4.1.miR 146 GEN POLİMORFİZMİ

miR 146 gen bölgesi için kullanılan PCR karışımı Tablo 4'de gösterilen PCR karışımı ve tablo 5'te belirtilen PCR programına göre çoğaltılarak%2'lik agaroz jel içerisinde 125V'da 20 dk yürütüldü UV ışık ile incelendi. İnceleme sonunda elde edilen görüntü UV' de belirlenen bant boylarına göre PCR değerlendirildi. (Şekil7)



Şekil. 7: *miR 146* polimorfizmini içeren 372 bp'lık PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.

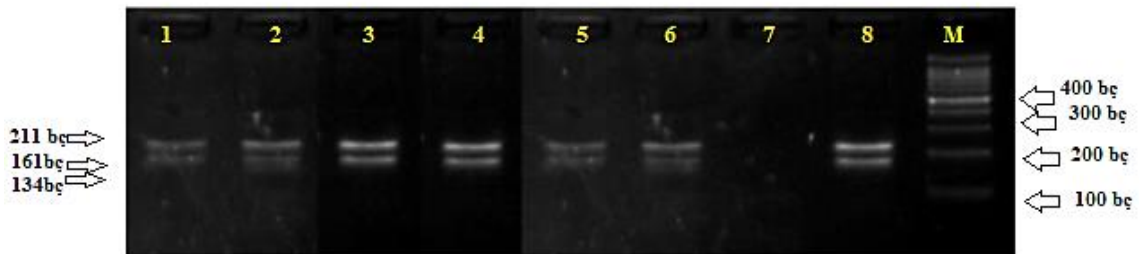
Tablo 12: miR 146 gen polimorfiziminin genotip ve alel dağılımları

	OSCC hasta n:42	Kontrol n:100	p	OR,% 95 CI
miR146 G>C Genotip				
GG	13(%31,0)	59(%59,0)	0,000	
GC	19(%45,2)	40(%40)		
CC	10(%23,8)	1(%1)		
GG+GC:CC	32 (76,19):10 (23,81)	99 (%99):1 (%1)	0,0002	30,9 (3,81-251,1)
GG:GC+CC	13 (%30,95):29 (%69,05)	59 (%59):41 (%41)	0,002	3,21 (1,49-6,90)
Allel				
G	45 (%53,57)	158 (%79)	0,0001	3,26 (1,88-5,64)
C	39 (%46,43)	42 (%21)		

Çalışma sonuçlarımız, miR146 G>C polimorfizmi ve oral kanser arasında allel ve genotip sıklık dağılımı bakımından anlamlı bir bağlantı olduğunu göstermiştir. *miR146* G>C polimorfizmi ile ilgili GG, GC ve CC genotipi sıklıkları sırasıyla, hasta grubunda; % 31,0, % 45,2, %23,8 olarak, kontrol grubunda ise; % 59,0, %40, %1 olarak bulunmuştur. Allel sıklıkları ise hasta grubunda; G alleli için %53,57 C alleli için % 46,43 olarak , kontrol grubunda ise G alleli için %79, C alleli için %21 olarak bulunmuştur. (Tablo: 12)

miR 146 gen polimorfizmi için kontrol grubunun, Hardy-Weinberg Dengesi(HWE) ile uyumlu değildi. (p=0.039). Hasta grubunda uyumlu idi (p=0,557).

miR 146 G>C (rs 2910164) bölgesinin belirlenmesinde kullanılan kesim enzimi koşulları Tablo 6’da verilmiştir. Elde edilen sonuçları görüntülemek için jele yükleme yapıp, 100 bp biodyne marka DNA Marker kullanılarak UV ışığı altında incelendi, gözlenen sonuçlar şekil 7’de verilmiştir.



Şekil8: *miR146* G>C polimorfizminin PCR ürünlerinin *Hpy 188 I* enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan kesim ürünlerinin jeldeki görüntüsü. miR 146 için; 9. Sırada 100 bp

biodyne marka DNA Marker, 211-161 GG, 211-134-27 CC, 211-161-134-27GC bant boylarını belirtir.

Tablo 13: miR146 gen polimorfizimlerinin hastaların klinik ve demografik özelliklerine göre gösterimi

Klinik karakterler	miR 146			P
Genotipe göre	GG	GC	CC	
Alkol				
İçiyor	2 (%25.0)	5 (%62.5)	1 (%12.5)	0,523
İçmiyor	11(%32.4)	14(%41.2)	9(%26.5)	
Sigara				
İçiyor	1(%20)	3(%60.0)	1(%20.0)	0,861
İçmiyor	10(%33.3)	12(%40.0)	8(%26.7)	
Aile öyküsü				
Var	2(%28.6)	4(%57.1)	1(%14.3)	0,741
Yok	11(%31.4)	15(%42.9)	9(%25.7)	
Tedaviye yanıt				
Yanıtli	9(%31.0)	14(%48.3)	6(%20.7)	0,606
Yanıtssız	4(%33.3)	4(%33.3)	4(%33.3)	
Son Durum				
Yaşıyor	11(%31.4)	14(%40.0)	10(%28.6)	0,193
Ölü	2(%28.6)	5(%71.4)	0(%0.0)	
MESLEK				
Çiftçi	4(%36.4)	6(%54.5)	1(%9.1)	0,316
Ev hanımı	2(%16.7)	4(%33.3)	6(%50.0)	
İşçi	5(%33.3)	7(%46.7)	3(%20.0)	
Memur	2(%66.7)	1(%33.3)	0(%0.0)	
İşsiz	0(%0.0)	1(%100)	0(%0.0)	

Ayrıca klinik bulgulara oral kansere sebep olan alkol(p=0,523), sigara(p=0,861), genetik faktörler, meslek gruplarının etkisi (p=0,316) de araştırılmıştır. Oral kanserle bir bağlantısı bulunamamıştır.(Tablo:13)

4.2. miR 149 GEN POLİMORFİZMİ

miR149 gen bölgesi için kullanılan PCR karışımı Tablo 8’de gösterilen PCR karışımı ve Tablo 9’da belirtilen PCR programına göre çoğaltılarak çoğaltılarak %2’lik agaroz jel içerisinde 125V’da 20 dk yürütülerek UV ışık ile incelendi. İnceleme sonunda elde edilen görüntü Şekil 9’da verilmiştir.



ŞEKİL 9: *miR149* POLİMORFİZMİNİ İÇEREN 254 BÇ'LİK PCR ÜRÜNLERİNİN %2'LİK AGARÖZ JELDEKİ GÖRÜNTÜSÜ.

Tablo 14: *miR 149* gen polimorfiziminin genotip ve alel dağılımları

	OSCC hasta n:42	Kontrol n:100	p	OR,% 95 CI
miR 149 C>T Genotip				
CC	12(%28,6)	40(%40)	0,425	
CT	25(%59,5)	51(%51)		
TT	5(%11,9)	9(%9)		
CC+CT:TT	37 (%88,09) :5 (%11,91)	91(%91):9(%9)	0,596	1,36 (0,42-4,35)
CC:CT+TT	12 (%28,57):30 (% 71,43)	40 (%40) :60 (%60)	0,197	1,66 (0,76-3,63)
Allel				
C	49 (%58,33)	131 (%65,5)	0,253	1,35(0,80-2,28)
T	35 (% 41,66)	69(%34,5)		

Çalışma sonuçlarımız, *miR149 C>T* polimorfizmi ve oral kanser arasında allel ve genotip sıklık dağılımı bakımından anlamlı bir bağlantı bulunamamıştır. *miR 149 C>T* polimorfizmi ile ilgili CC, CT ve TT genotipi sıklıkları sırasıyla, hasta grubunda; % 28,6, % 59,5, %11,9 olarak, kontrol grubunda ise; % 40, %51, % 9 olarak bulunmuştur. Allel sıklıkları ise hasta grubunda; C alleli için %58,33, T aleli için % 41,66 olarak kontrol grubunda ise C alleli için %65,5, T alleli için %34,5 olarak bulunmuştur. *miR149 C>T* polimorfizmi için OR değeri 1,35,% 95 CI 'tir (Güven aralığı 0,80-2,28).(Tablo14)

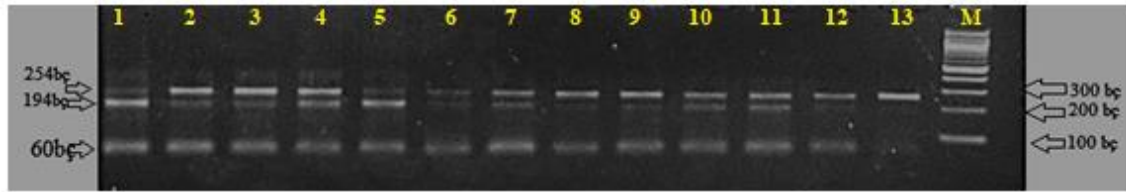
Bu çalışmada, sonuçlarımız, *miR-149C>T* polimorfizminin genotipinin oral kanser ile anlamlı bir ilişkili olmadığını da göstermiştir (p = 0.425).

miR146 ve *miR149* gen polimorfizmleri arasında cinsiyet ($p= 0,849$) ve yaş ile anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür ($p= 0,157$). Bağlantı bulamamamızın sebebi hasta sayımızın az olmasından kaynaklı olduğunu düşündürdü.

miR149 gen polimorfizmi için hasta ($p=0,145$) ve kontrol grupları ($p=0,198$) Hardy-Weinberg Dengesi (HWE) ile uyumlu idi.

miR 149 C>T polimorfizmbölgesinin belirlemesinde kullanılan kesim enzimi koşulları Tablo 10'da verilmiştir. Elde edilen sonuçları görüntülemek için jele yükleme yapıp, 100 bp biodyne marka DNA Marker kullanılarak UV ışığı altında incelendi. Elde edilen sonuçlar Şekil 10'da verilmiştir.

Şekil10: *miR149 C>T* polimorfizmini içeren PCR ürünlerinin *Pvu II* enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan kesim ürünlerinin jel görüntüsü



miR149 C>T polimorfizmini içeren PCR ürünlerinin *Pvu II* enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan kesim ürünlerinin jel görüntüsü. *miR 149* için 14. Sırada 100 bp biodyne marka DNA Marker, 254 CC, 194-60 TT, 254-194-60 CT bantlarını belirtir.

Tablo 15: *miR149* gen polimorfizimlerinin hastaların klinik ve demografik özelliklerine göre gösterimi

Klinik karakter	miR 149			P
Genotipe göre	CC	CT	TT	
Alkol				
İçiyor	4 (%50.0)	4 (%50.0)	0 (%0.0)	0,233
İçmiyor	8 (%23.5)	21 (%61.8)	5 (%14.7)	
Sigara				
İçiyor	3 (%60.0)	2 (%40.0)	0 (%0.0)	0,342

İçmiyor	7(%23.3)	18(%60.0)	5(%16.7)	
Aile öyküsü				
Var	3(%42.9)	4(%57.1)	0(%0.0)	0,448
Yok	9(%25.7)	21(%60.0)	5(%14.3)	
Tedaviye yanıt				
Yanıtlı	8(%27.6)	18(%62.1)	3(%10.3)	0,746
Yanıtsız	4(%33.3)	6(%50.0)	2(%16.7)	
Son Durum				
Yaşıyor	10(%28.6)	22(%62.9)	3(%8.6)	0,309
Ölü	2(%28.6)	3(%42.9)	2(%28.6)	
MESLEK				
Çiftçi	2(%18.2)	7(%63.6)	2(%18.2)	0,641
Ev hanımı	2(%16.7)	9(%75.0)	1(%8.3)	
İşçi	6(%40.0)	7(%46.7)	2(%13.3)	
Memur	1(%33.3)	2(%66.7)	0(%0.0)	
İşsiz	1(%100)	0(%0.0)	0(%0.0)	

Ayrıca klinik bulgulara oral kansere sebep olan alkol $p=0,233$, sigara $p=0,342$, genetik faktörler, meslek gruplarının etkisi $p=0,641$ de araştırılmıştır. Oral kanserle bir bağlantısı bulunamamıştır.(Tablo:15)

4.3 miR 146 ve miR149 GEN POLİMORFİZMLERİ KOMPOZİT GENOTİP ANALİZLERİ

Tablo16: Oral kanser hastaların ve kontrollerin kompozit genotiplerinin karşılaştırmalı analizi

	Hasta		Kontrol		
miR146-miR149	n	%	n	%	p
GG-CC	5	11.9	19	19.0	0.305
GC-CC	5	11.9	21	21.0	0.201
CC-CC	2	4.8	0	0	0.172
GG-CT	7	16.7	35	35	0.028
GC-CT	11	26.2	16	16	0.158
CC-CT	7	16.7	0	0	0.002
GG-TT	1	2.4	5	5	0.851
GC-TT	3	7.1	3	3	0.488
CC-TT	1	2.4	1	1	0.999

Veriler χ^2 veya Fisher' exact testi ile analiz edildi. İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar koyu olarak gösterilmiştir.

5.TARTIŞMA

2002 yılında yapılan araştırmaya göre dünyada 10,9 milyon yeni kanser olgusunun bulunduğu ve bunların 2/3'ü erkek olmak üzere 274,000'inin oral kanser olgusu olduğu öne sürülmektedir (Parkin ve ark.,2005)). Oral kanserlerle ilgili etyolojik

faktörlerle yapılan tüm çalışmalara ve çeşitli ülkelerde uygulanan oral kanser tarama çalışmalarına karşın sağkalım sürelerinde son 20 yılda bir gelişme görülmemiştir. Bu nedenle son yıllarda oral kanserler ile ilgili moleküler düzeyde yapılan çalışmalarda büyük artış görülmektedir.

Türkiye'deki oral kanser hastalarının yaş ortalamaları ve erkek:kadın oranı ile ilgili net bilgiler olmamakla beraber, gelişmekte olan ülkelerde yapılan çalışmalarda Dünya Sağlık Örgütünün tahminlerine göre oral kanserlerde 2000 yılında, erkeklerde 109,553 , kadınlarda ise 72,687 yeni olgu görülmektedir (Globocan.,2000).

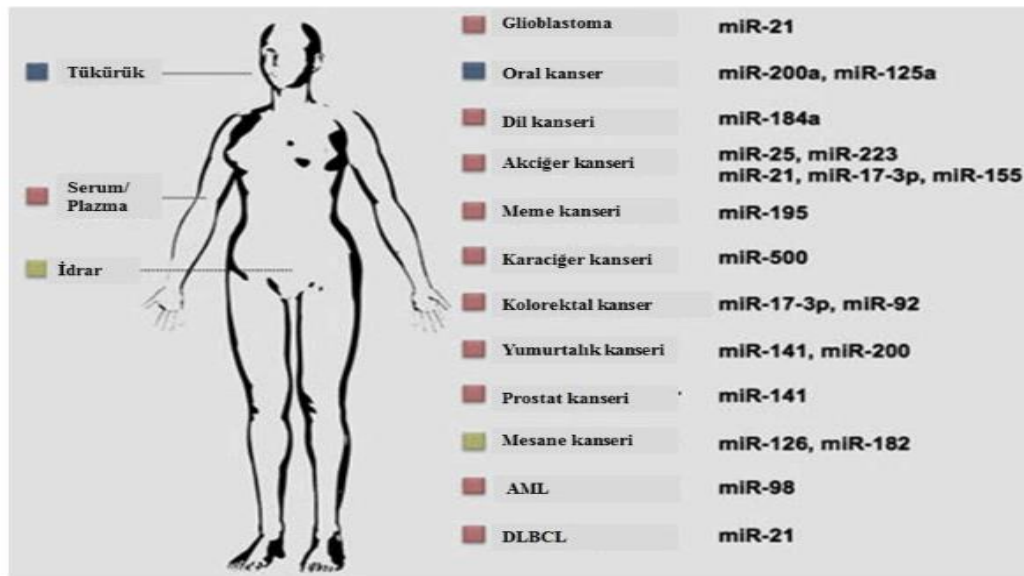
İngiltere'de 1990-1997 yılları arası bildirilen tüm oral kanserlerin %6'sının (Llewellyn ve ark.,2003), Kuzey Tayland'da 1991-2000 yılları arası bildirilen tüm oral kanser olgularının %12,8'inin 45 yaş ve altı olduğu (Iamaroon ve ark.,2004), Kanada'da 1983-1997 yıllarını kapsayan çalışmada 40 yaş altı oral kanser oranının %5 (Howell ve ark.,2003), Amerika Birleşik Devletlerinde 1975-1998 yılları arası 40 yaş altı oral kanser oranının %5 (Canto,Devesa.,2002), Kuveyt'te 1979-1988 yıllarını kapsayan çalışmada 40 yaş altı oral ve farinks kanser oranının ise %34,3 olduğu bildirilmiştir (Morris ve ark.,2000).

miRNA'lar, çeşitli biyolojik işlemlere katılan ve tümör baskılayıcı genleri veya onkojenleri düzenleyen küçük kodlayıcı olmayan RNA molekülleridir. Onkojenik veya tümör baskılayıcı aktiviteyi hedefleyen miRNA'ların disfonksiyonu, kanser gelişimini etkileyebilir (Gregory ve ark.,2005; Sassen ve ark., 2008; Kwak ve ark., 2010; Yoon ve ark., 2012).

Memelilerin transkriptinin %60'ından fazlası miRNA'ların kontrolü altındadır(Bissels ve ark.,2012). Canlıların farklı hücre tiplerinde farklı miRNA tipleri eksprese olmaktadır. Günümüzde birçok hastalığın tanısında, prognozunda ve tedavisinde miRNA'ların kullanımıyla ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Fiorucci.,2012). miRNA'larla hastalıkların tanısı için; serum, beyin-omurilik sıvısı, göz sıvısı, süt, safra, karın zarı sıvısı, ovaryen folikül sıvısı, idrar, tam kan, nazal sekresyon, tükürük, plevral efüzyon ve feçes gibi biyolojik sıvı ve dokular kullanılmaktadır(Bissels ve ark.,2012;Xiao ve ark 2013;Park ve ark., 2009). Biyobelirteç olarak kullanılması planlanan miRNA'ların ilk kez serumdaki varlığı Lawrie ve arkadaşları tarafından 2008 yılında gösterilmiştir(Lawrie ve ark.,2008). Dolaşımdaki miRNA'lar lipid veya

lipoprotein kompleksini içeren mikrovezikül (1µm ve üstü) veya ekzosom (10-100nm) adı verilen endositik kaynaklı küçük veziküllerin içinde yer aldığından çok kararlı olup, kimyasal modifikasyonlardan ve RNAaz aktivitesinden etkilenmediği bildirilmiştir (Yousef .,2014; Kosaka., 2010).

Günümüzde çeşitli hastalık tiplerinde ve aşamalarında hastalıklı dokularla sağlıklı dokular arasında miRNA'ların ekspresyonlarının farklı olduğu belirlenmiştir. Bu da hastalıkların tanısında ve prognozunda miRNA'ların kullanılabileceğini göstermektedir(Kosaka., 2010)(Şekil 11).



ŞEKİL11:BAZI HASTALIKLARA ÖZGÜ MİRNA TİPLERİ(KOSAKA., 2010).

Bir çok çalışmada miRNA'ların spesifik olarak çeşitli hastalıklarda azalan ya da artan ekspresyon düzeyleri onların sadece tanı ya da prognoz alanında değil aynı zamanda tedavide de kullanılabileceğini göstermektedir.İlk kez 2002 yılında Calin ve arkadaşları tarafından miR-15 ve miR-16 tiplerinin B-hücreli kronik lenfositik lösemi ile ilişkisinin olduğu bildirilmiştir (Calin GAVE ark.,2002). Araştırmalar sonucunda miRNA genlerinin %50'den fazlasının kanserle ilişkili genomik alanlarda veya fragil bölgelerde lokalize olduğu ve tümör baskılayıcısı gibi davranarak onkogenleri inhibe ettikleri veya onkogen gibi davranarak tümör baskılayıcıları inhibe ettikleri gösterilmiştir (Yousef.,2014; Weiler ve ark.,2006).

Kanserle ilgili çalışmaların yanı sıra miRNA'ların birçok hastalıklarla ilişkisinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Zhao ve arkadaşlarının 2005 yılında

yaptıkları çalışmada kardiyak ve iskelet kasının prekürsör hücrelerinde miR-1-1 ve miR-1-2'nin eksprese olduğu ve miR-1'in ventiküler kardiyomiyositleri düzenlediği bildirilmiştir (Zhao.,2005). Wienholds ve arkadaşları 2005 yılında Zebra balığı üzerinde yaptıkları çalışmada bazı miRNA'ların santral sinir sistemine spesifik olduğunu rapor etmişlerdir (Wienholds.,2013).

Diğer bir çalışmada Leidenger ve arkadaşları 2013 yılında 48 Alzheimer hastası ve 22 kontrol grubunda yaptıkları çalışmada 12 miRNA tipinin ekspresyon seviyelerini RT-qPCR yöntemi ile belirlemişlerdir. Alzheimer hastalarında Let-7d-3p, miR-26a-5p, miR-112, miR-151a-3p, miR-161, miR-1285-5p ve miR-5010-3p tiplerinin ekspresyon düzeyleri yüksek iken, Let-7f-3p, miR-26b-5p, miR-103a-3p, miR-107, ve miR-532-5p tiplerinin ekspresyon düzeylerinin düşük olduğu rapor edilmiştir. Aynı zamanda Alzheimer'lı olguların miRNA ekspresyon düzeylerinin multipl skleroz, parkinson, majör depresif bozukluk, bipolar bozukluk ve şizofrenisi olan olgulardan farklı olduğu gösterilmiştir. Romatoid artrit (RA) miRNA ile ilişkisi 2008 yılında 3 farklı çalışma ile gösterilmiştir. Stanczyk ve arkadaşları miR-155 ve miR-146'nın RA sinoviyal fibroblastlarında ve RA sinoviyal dokusunda ekspresyonlarının arttığını, Nakasa ve arkadaşları miR-146'nın TNF ve IL-1'in uyarılmasıyla RA sinoviyal dokusunda ekspresyonlarının arttığını ve Pauley ile arkadaşları miR-146'nın RA periferik kanının mononükleer hücrelerinde ekspresyonlarının arttığını bildirmişlerdir (Stanczyk J ve ark.2008; Pauley KM ve ark.,2008). miRNA'ların tüm hücrelerde bulunduğu göz önüne alındığında çok sayıda hastalıkla olan ilişkisi şaşırtıcı değildir. Günümüzde birçok bilim insanının miRNA'ların antagonistlerini ya da mimiklerini sentezleyerek yeni tedavi yöntemleri geliştirmeyi hedefledikleri bilinmektedir. Sentetik yapıdaki miRNA antagonistlerin ve mimik miRNA'nın asıl miRNA gibi hedef mRNA'ya bağlanarak translasyonu susturduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (van Rooij.,2012 ; Broderick., 2011).

miRNA'daki tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), miRNA ekspresyonunu değiştirerek kanser gelişimi dahil çeşitli fonksiyonel bozukluklara neden olabilir (Xu ve ark., 2011). Bu tip genetik varyant olgun miRNA'nın işlenmesini etkileyebilir (Hu ve ark., 2008). Çok sayıda çalışma miRNA SNP'leri ile kanser riski arasındaki ilişkiyi göstermiştir. miR-146a, farklı yollardaki birkaç anahtar geni hedefleyerek kansere bağlı bir mikroRNA olarak işlev görür. Pre-miR-146a'nın kök halkasında bulunan G>C

varyasyonunun olgun miR-146a'nın fonksiyonlarını bozduğu bildirilmiştir (Jazdzewski ve ark., 2008). Bununla birlikte, pre-miR-146a rs2910164 polimorfizminin moleküler seviyedeki hastalıklarda nasıl etki gösterdiğinin kesin mekanizmaları belirsizliğini korumaktadır. miR-146a ve hedeflerinin farklı kanserlerde kritik bir rol oynadığı ve pre-miR-146a genindeki rs2910164 polimorfizminin olgun miR-146a ekspresyonu veya kanser riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir, rs2910164 kanserleri tespit etmek için potansiyel bir biyolojik belirteç olarak kabul edilebilir.

MiR - 149 polimorfizmi ile kanser riski arasındaki ilişki birkaç kanser türü için rapor edilmiştir. Kolorektal ve mide kanserlerinde önemli ilişkiler gözlenmiştir (Zhang ve ark.;2012)

Sushma ve arkadaşları (2016) OSCC riski ve miRNA genleri arasındaki ilişkiyi araştırmak için yaptıkları çalışmada miR-149C> T (rs2292832) ve miR-196a2 C> T'de (rs11614913) polimorfizmlerini araştırmıştır. Hsa-miR-196a2 olgun sekansında bulunan rs11614913 polimorfizmi miRNA olgunlaşmasını ve hedef mRNA'yı etkiler (Ryan ve diğerleri, 2010 ve Chu ve diğerleri, 2011), hsa-miR-196a2'nin genetik varyantları kansere duyarlılığı modüle edebilir. Çeşitli araştırmalar, 196a2 (rs11614913 C> T) polimorfizminin, akciğer kanseri (Tian ve ark.,2009), meme kanseri (Lin ve ark., 2011), gastrik kanser (Okubo ve ark.,) gibi birçok kanser türüyle ilişkili olduğunu bildirmiştir (Peng ve ark., 2010; Daehoahn ve ark., 2013). Karaciğer kanseri (Peng ve ark., 2010; Akkız ve ark., 2011), glioma (Tonghai ve ark., 2010), prostat kanseri (Ginu ve ark., 2011) ve özofagus kanseri (Kaiwang ve ark., 2010, NaWang ve ark., 2014)de incelemiştir. Bu çalışmaların çoğu, 196a2 polimorfizminin CC genotipinin ve kanser riskinin önemli ilişkilerini tanımlamıştır. Sushma ve ark (2016) yaptıkları çalışmada, miR-196a2 polimorfizminin CC genotipinin OSCC ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu da göstermiştir ($p = 0.001$). Baş ve boynun skuamöz hücreli karsinomu dahil olmak üzere birçok kanserde de benzer sonuçlar bildirilmiştir (Sheng ve ark.,2010). Bu polimorfizmin oral skuamöz hücreli karsinomun gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayabileceğini düşünülmektedir. Kanser riskine ek olarak, bu polimorfizm kötü prognozla da ilişkili olabilir (Shen ve ark., 2008).

Sushma ve arkadaşlarının (2016)yaptıkları çalışmada,genotipler ile OSCC'nin klinikopatolojik parametreleri arasında da ilişki bulmuştur. miR196a2 ile miR149 polimorfizmleri ile hastaların cinsiyet ve yaşları arasında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür. miR196a TT genotipinin sıklığı, OSCC'nin ileri evrelerinde, erken evreye kıyasla daha yüksek bir frekans göstermiştir. TT genotipine sahip OSCC hastalarının daha ileri tümör progresyonu gösterdiğini düşünülmüştür(Hsi-FengTu.,2012).Ayrıca miR196a TT genotipinin HNSCC hastalarında kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Daha önceki çalışmalar, miR-149 TT genotipi ile bukkal mukozada meydana gelen HNSCC hastalarının sağkalımı arasındaki ilişkiyi de tanımlanmıştır. HsiFengTu ve arkadaşları, TT genotipli HNSCC hastalarının tütün çiğneme alışkanlığının hastalık riski ile ilişkili olduğunu da bildirmişlerdir.

Kanser insidansının on yıl içinde artacağı tahmin edildiğinden, kanser önleme stratejileri üzerinde etkili bir araştırmaya ihtiyaç vardır. Bazı kanıtlar kişisel ve diyet alışkanlıklarının değiştirilmesinin kanser riskini azaltma yaklaşımlarından biri olabileceğini göstermektedir. Sushma ve ark (2016)yaptıkları çalışmada miR-196a2C>T ve miR-149C>T polimorfizmlerinin Güney Hindistan popülasyonunda OSCC gelişiminde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Ağız kanserine duyarlılıkla ilişkili olan bu miR SNP'leri, hastalığın erken tahmini ve önleme stratejileri için biyobelirteçler olarak yararlı olabilir.

Yapılan çalışmalarda bireysel duyarlılığın kanserin oluşumunu ve gelişimini etkilediğini ve bireysel duyarlılığın SNP'ler veya miRNA'larda meydana gelen gen mutasyonlarından etkilendiğini bildirmiştir (Zhang H ark.,2015). Bu nedenle, miRNA'ların SNP'leri ile kanser duyarlılığı arasındaki ilişki son çalışmalarda büyük ilgi görmüştür. Bu arada, çok sayıda çalışma miR-146a rs2910164 polimorfizmi ve birkaç kansere yatkınlık arasındaki ilişkiyi tartışmıştır. Halen incelenen ana kanser türleri arasında akciğer kanseri, hepatosellüler karsinom, mide kanseri, nazofarengeal karsinom ve diğerleri sayılabilir. Örneğin, son 3 yılda, meme kanseri(Zhang H; Zhang Y ve ark.2017), baş boyun kanserleri(Xiang Z Song J ve ark 2017), mide kanseri(Xie WQ ve ark., 2017; Sun Y ve ark., 2017; Ni Q ve ark.,2015; Zhang L ve ark., 2015; Gu YP ve ark.,2015; Xu L, Tang W.,2016)için meta analizleryapılmıştır. Kolorektal kanser, akciğer kanseri(Ren YG ve ark. 2016; Xu L, Tang W .,2015), hepatosellüler karsinom ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Ancak, yapılan meta-analizlerinin sonuçları çelişkili ya

da eksik çıkmıştır. Şimdiye kadar hiç kimse miR-146a rs2910164 polimorfizmi ile kanser yatkınlığı arasındaki ilişkiyi daha büyük örneklem büyüklüğüyle incelemiş ve analiz etmemiştir. Bu nedenle, geniş bir meta-analiz yapmak için 14.670 vaka ve 20.235 kontrol içeren 2008'den 2017'ye kadar 38 bağımsız vaka kontrol çalışması toplanmıştır.(A.-X. Wang ve ark.,2012)

Meta-analizin sonuçlarına göre, havuzlanmış OR'lar, % 95 CI'leri ile miR-146a rs2910164 polimorfizmi ve genel kanser yatkınlığının tüm genetik modellerde anlamlı şekilde korele olmadığını göstermiştir. Ancak, alt grup analizini yapıldığında, miR-146a rs2910164 polimorfizminin akciğer kanseri ve nazofarengeal karsinomda etkili bir faktör olabileceğini görülmüştür. Ayrıca, akciğer kanseri ile ilgili yapılan çalışmalarda, CC genotipli bireylerin GG'li hastalardan daha fazla akciğer kanseri gelişme ihtimalinin bulunduğunu göstermiştir. rs2910164'ün C aleli, akciğer kanseri için risk aleli olarak kabul edilmiştir.Bu sonuçlar bizim bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, sonuçlarımız, *miR-149* polimorfizmi ile değil ama *miR146* polimorfizmi oral kanser arasında anlamlı bir ilişki olduğunu da göstermiştir.

Baş ve boynun skuamöz hücreli karsinomu dahil olmak üzere birçok kanserde de *miR 146* polimorfmi ile ilgili benzer sonuçlar bildirilmiştir (Sheng ve ark. 2010). Bu polimorfizmin oral skuamöz hücreli karsinomun gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayabileceğini düşünüyoruz. Kanser riskine ek olarak, bu polimorfizm kötü prognozla da ilişkili olabilir.

Klinik bulgulara oral kansere sebep olan alkol, sigara, aile öyküsü, meslek gruplarının etkisi de araştırılmıştır. Çalışmamızda bu polimorfizmler ile klinik bulgular arasında bağlantı bulamamamızın nedeninin hasta sayısının az olmasından kaynaklı olduğunu düşünüyoruz. *miRNA*'larla ilgili birçok hastalık çalışılmıştır. Çalışmamızın son yıllarda artan kanser çalışmalarına yardımcı olacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

- Agrawal M, Pandey S, Jain S et al (2012). Oral cancer awareness of the general public in Gorakhpur city, India. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012 13: 5195– 5199.
- Ahluwalia, Kavita P., et al. (1998). "An assessment of oral cancer prevention curricula in US medical schools." *Journal of Cancer Education* 13.2: 90-95.
- Ariyawardana, A., And N. Vithanaarachchi. (2005) "Awareness Of Oral Cancer And Precancer Among Patients Attending A Hospital In Sri Lanka." *Asian Pac J Cancer Prev* 6.1: 58-61.
- Al Dubai SA, Ganasegeran K, Alabsi AM et al.(2012). Awareness and knowledge of oral cancer among university students in Malay-sia. *Asian Pac J Cancer Prev* 13: 165 –168.
- Al-Maweri, S., et al. (2014) "Public awareness and knowledge of oral cancer in yemen." *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* 15.24: 10861.
- Amarasinghe HK, Usgodaarachchi US, Johnson NW et al.(2010) Public awareness of oral cancer, of oral potentially malignant disorders and of their risk factors in some rural populations in Sri Lanka. *Community Dent Oral Epidemiol* 38: 540–548.
- A.-X. Wang, B. Xu et .al (2012) .Meta-analysis confirms that a common G/C variant in the pre-miR-146a gene contributes to cancer susceptibility and that ethnicity, gender and smoking status are risk factors; 11 (3): 3051-3062
- Awojobi O, Scott SE, Newton T. (2012) Patients' perceptions of oral cancer screening in dental practice: a cross-sectional study. *BMC Oral Health* 12: 55.
- Beahrs OH, JB Lippincott, et al(2012) manuel for staging of cancer , 4th ed. Philadelphia, 1992
- Bissels U, Bosio A, Wagner W. MicroRNAs are shaping the hematopoietic landscape. *Haematologica*. 2012;97:160-7.
- Bouquot JE, Weiland LH, Kurland LT: Metastases to and from the upper aerodigestive tract in the population of Rochester, Minnesota, 1935-1984 *Head Neck* 11: 212, 1989
- Brockstein B, Masters G, 2003. Head and neck cancer. Switzerland: Springer, p.1–3.
- Boyle, Peter, and Bernard Levin, eds. Dünya kanser raporu 2008. Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu, 2008. Cilt 1, S:12-114.
- Boring, Catherine C., et al. "Cancer statistics, 1994." *CA: a cancer journal for clinicians* 44.1 (1994): 7-26.
- Boyle, Peter, and Bernard Levin, eds. Dünya kanser raporu . Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu, 2008. Cilt 2, S:108-180.
- Broderick JA, Zamore PD. MicroRNA therapeutics. *Gene Therapy*. 2011; 18:1104-10.
- Brockstein B, Masters G, 2003. Head and neck cancer. Switzerland: Springer, p.1–3.
- Stewart, Bernard W., and Paul Kleihues, eds. World cancer report. Vol. 57. Lyon: IARC press, 2003.

- Castellarin P, Pozzato G, Tirelli G, Di Lenarda R, Biasotto M. Oral lesions and lymphoproliferative disorders. *J Oncol* 2010;1-10.
- Castellarin P, Pozzato G, Tirelli G, Di Lenarda R, Biasotto M. Oral lesions and lymphoproliferative disorders. *J Oncol* 2010;1-10.
- Calin, G.A., Dumitru, C.D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E., and Rassenti, L. (2002). Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes mir15 and mir16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(24), 15524-15529.
- Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(9): 2999-3004
- Calin, G.A., Dumitru, C.D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E., and Rassenti, L. (2002). Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes mir15 and mir16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(24), 15524-15529.
- Canto MT, Kawaguchi Y, Horowitz AM. Coverage and quality of oral cancer information in the popular press: 1987-98. *J Public Health Dent*. 1998; 58(3):241-7.
- Canto MT, Devesa SS. Oral cavity and pharynx cancer incidence in the United States, 1975-1998. *Oral Oncol* 2002;38:610-617.
- CorrentiM, Rivera H, Cavazza ME. Detection of human papillomaviruses of high oncogenic potential in oral squamous cell carcinoma in a Venezuelan population. *Oral Dis*, (2004). 10: 163-166.
- Cooper GM. *The cell: A molecular approach*. ASM Press Washington DC, Sinauer Associates, 2th ed, Inc. 1996; Sunderland, Massachusetts.
- Colella, Giuseppe, et al. "Oral cancer and dentists: knowledge, attitudes, and practices in Italy." *Oral oncology* 44.4 (2008): 393-399.
- Cowland JB, Hother C, GronbaekK. MicroRNAs and cancer. *APMIS* 2007; 115(10):1090 -106.
- Cruz GD, Le Geros RZ, Ostroff JS, Hay JL, Kenigsberg H, Franklin DM. Oral cancer knowledge, risk factors and characteristics of subjects in a large oral cancer screening program. *J Am Dent Assoc*. 2002; 133(8):1064-71; quiz 1094.
- Cruz, D., etal. "The cultural and social context of oral and pharyngeal cancer risk and control among Hispanics in New York." *Journal of health care for the poor and underserved* 18.4 (2007): 833.
- Curdo, Maria-Paula, et al. *Cancer incidence in five continents, Volume IX*. IARC Press, International Agency for Research on Cancer, 2007.
- Cunradi CB, Moore RS, Ames G. Contribution of occupational factors to current smoking among active-duty U.S. Navy careerists. *Nicotine Tob Res* 2008;10:429-37
- DeGrootLJ, Kaplan EL, McCormick M, StrausFH. Natural history, treatment, and course of papillary thyroidcarcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 414-24.
- Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl Cancer Inst*. (1981): 66: 1191-1308
- Di Nicola M, Occhiolini L, Di Mascio R, Vellante P, Colagrande V, Ballone E. Smoking habits in a sample of young Italian soldiers. *Mil Med* 2006;171:69-73.
- Edwards, Paul C., and Robert Kelsch. "Oral lichen planus: clinical presentation and management." *Journal-Canadian Dental Association* 68.8 (2002): 494-499.

- Elango, J. Kalavathy, Et Al. "Factors Affecting Oral Cancer Awareness In A High-Risk Population In India." *Asian Pac J Cancer Prev* 10.4 (2009): 627-630.
- Erdem E, Gulcelik MA, Kuru B, Alagol H. Comparison of completion thyroidectomy and primary surgery for differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29: 747-9.
- Esnaola NF, Cantor SB, Sherman SI, Lee JE, Evans DB. Optimal treatment strategy in patients with papillary thyroid cancer: a decision analysis. *Surgery* 2001; 130: 921-30.
- Esteller M, 2008. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*, 358, 1148-59.
- Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(4): 259-69.
- Franceschi S, Levi F, Conti E, Talamini R, Negri E, et al. Energy intake and dietary pattern in cancer of the oral cavity and pharynx. *Cancer Causes Control*, (1999): 10: 439-444.
- Fearon, E.R., and Vogelstein, B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61(5), 759-767.
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM, 2010. Estimates of worldwide burden of cancer in. *Int J Cancer*, 127, 2893-2917.
- Fidler IJ, 2003. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer*, 3, 453-458. Enstitüsü Yayınları; 2000. pp.161-200.
- Fiorucci G, Chiantore MV, Mangino G, Percario ZA, Affabris E, Romeo G. Cancer regulator microRNA: potential relevance in diagnosis, prognosis and treatment of cancer. *Curr Med Chem*. 2012; 19: 461-74.
- Flaitz CM, Hicks MJ. Molecular piracy: The Viral link to Carcinogenesis. *Oral Oncol*, (1998).
- Figueró Ruiz E, Carretero Peláez MA, Cerero Lapiedra R, et al. Effects of the consumption of Alcohol in the oral cavity: Relationship with oral cancer. *Med Oral* 2004; 9: 14-23
- Garcia M, Jemal A, Ward EM, Center MM, Hao Y, Siegel RL, Thun MJ, 2007. Global Cancer Facts & Figures. American Cancer Society. 2nd ed. Atlanta, p.1-35.
- Grebe SK, Hay ID. Thyroid cancer nodal metastases: biologic significance and therapeutic considerations. *Surg Oncol Clin N Am* 1996; 5: 43-63.
- Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123(4): 631-40
- Ghani WM, Doss JG, Jamaluddin M et al. Oral cancer awareness and its determinants among a selected Malaysian population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013 14: 1957-1963.
- Groome, Patti A., et al. "A population-based study of factors associated with early versus late stage oral cavity cancer diagnoses." *Oral oncology* 47.7 (2011): 642-647.
- Goodson, M. L., and P. J. Thomson. "Management of oral carcinoma: benefits of early precancerous intervention." *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 49.2 (2011): 88-91.
- Hashibe, M., et al., Evidence for an important role of alcohol- and aldehyde-metabolizing genes in cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006. 15(4): p. 696-703.

- Hauptman, N., and Glavac, D. (2013). MicroRNAs and long non-coding RNAs: prospects in diagnostics and therapy of cancer. *Radiology and oncology*, 47(4), 311-318
- Hassona, Y. et al. "Mouth cancer awareness and beliefs among dental patients." *International dental journal* 65.1 (2015): 15-21.
- Hayes RB, Bravo-Otero E, Kleinman DV, Brown LM. Tobacco And Alcohol Use And Oral Cancer In Puerto Rico. *Cancer Causes and Control*, (1999). 10: 27-33
- Hirshberg A, Buchner A. Metastatic tumours to the oral region. An overview. *European J Cancer Part B: Oral Oncol* 1995;3:355-60.
- Hirshberg A, Shnaiderman-Shapiro A, Kaplan I, Berger R. Metastatic tumours to the oral cavity—pathogenesis and analysis of 673 cases. *Oral Oncol* 2008;44:743-52
- Holmes JD, Dierks EJ. Oral Cancer Treatment. In: Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery, Milaro M, Ghali GE, Peter EL, Waite PD (eds). 3rd ed. Connecticut: People's Medical Publishing House; 2011: 693-726.
- Howell RE, Wright BA, Dewar R. Trends in the incidence of oral cancer in nova Scotia from 1983 to 1997. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95:205-212.
- Hu Z, Chen J, Tian T, et al: Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. *J Clin Invest* 118: 2600-2608, 2008.
- Hu, Z., Liang, J., Wang, Z., Tian, T., Zhou, X., Chen, J., and Shen, H. (2009). Common genetic variants in pre microRNAs were associated with increased risk of breast cancer in Chinese women. *Human mutation*, 30(1), 79-84.
- Hodge KM, Flynn MB, Drury T. Squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract in nonusers of tobacco. *Cancer* (1985), 55: 1232-1235.
- Horowitz AM, Moon HS, Goodman HS et al. Maryland adults' knowledge of oral cancer and having oral cancer examinations. *J Public Health Dent* 1998 58: 281–287.
- Howell RE, Wright BA, Dewar R. Trends in the incidence of oral cancer in nova Scotia from 1983 to 1997. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95:205-212
- Iamaroon A, Pattanaporn K, Pongsiriwet S, Wanachantararak S, Prapayatatok S, Jittidecharacks S, Chitapanarux I, Lorvidhaya V. Analysis of 587 cases of oral squamous cell carcinoma in northern Thailand with a focus on young people. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004;33:84-88.
- Isık AU, Imamoğlu M, Caylan R, Bahadır O, Muhtar H. Oral kavite ve orofarenksin yassı hücreli kanserleri. *Türk Arch Otolaryngol* 1998; 36:28-31
- IARC. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 85, Betel quid and areca nut chewing and some areca-nut-derived nitrosamines. Lyon, France: International (2004). Agency for Research on Cancer.
- Ito, K., et al., Expression and sequence analyses of p33(ING1) gene in myeloid leukemia. *Am J Hematol*, 2002. 69(2): p. 141-3. 56
- Jazdzewski, K., Murray, E.L., Franssila, K., Jarzab, B., Schoenberg, D.R., and de la Chapelle, A. (2008). Common SNP in pre-miR146a decreases mature mir expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(20), 7269-7274.
- Jane-Salas E, Chimenos-Kustner E, Lopez-Lopez J, Rosello-Llabres X. Importance of diet in the prevention of oral cancer. *Med Oral*, (2003): 8: 260-268.

- Jovanovic A, Schulten EA, Kostense PJ, et al. Tobacco and alcohol related to the anatomical site of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1993;22: 459-462
- Jones AS, England J, Hamilton J, et al. Mandibular invasion in patients with oral and oropharyngeal squamous carcinoma. *Clin Otolaryngol* 1997; 22: 239-245
- Jindal JR and others: Kaposi sarcoma of the oral cavity in a non-AIDS patient: case report and review of the literature, *Head Neck* 1990; 17:233-22
- Karadeniz AN, Topuz E, Aydinler A; Klinik Onkoloji. İstanbul Üniversitesi Onkoloji E Lobo NA, Shimono Y, Qian D, Clarke MF, 2007. The biology of cancer stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 23, 675–699.
- Kramer, I. R. H., et al. "WHO Collaborating Centre for Oral Precancerous Lesions." Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 46 (1978): 518-539.
- Kutluay AH, Çankal DU. Oral Mukozanın Premalign Beyaz Lezyonları. *EÜ Dişhek Fak Derg* 2009; 30: 75-86
- Kamangar F, Dores GM, Anderson WF, 2006. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol*, 24, 2137–2150
- Kumar N, Ray C, Jain S. Aspiration cytology of Hashimoto's thyroiditis in an endemic area. *Cytopathology* 2002;13: 31-9. 131
- Kim ES, Kim TY, Koh JM, Kim YI, Hong SJ, Kim WB et al. Completion thyroidectomy in patients with thyroid cancer who initially underwent unilateral operation. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 61: 145–8.
- Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci*.2010;101:2087-92.
- Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci* 2010; 101(11): 2309-15.
- C., and Testa, U. (2012). The emerging role of mir146a in the control of hematopoiesis, immune function and cancer. *Journal of hematology and oncology*, 5(1), 13.
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001;294(5543):853-8.
- Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*.2008;141:672-75.
- Lawoyin JO, Aderinokun GA, Kolude B et al. Oral cancer awareness and prevalence of risk behaviours among dental patients in South-western Nigeria. *Afr J Med Med Sci* 2003 32: 203– 207.
- Lee CH, Ko YC, Huang HL, et al. The precancer risk of betel quid chewing, tobacco use and alcohol consumption in oral leukoplakia and oral submucous fibrosis in southern Taiwan. *Br J Cancer* 2003; 89: 366-372
- Le Quesne J, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. *Molecular Oncology* 2010; 4(3): 230-41.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75(5): 843-54.

- Lee, Y., Jeon, K., Lee, J. T., Kim, S., and Kim, V.N. (2002). MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *The EMBO journal*, 21(17), 4663-4670.
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates mikroRNA processing. *Nature* 2003; 425 (6956):415-9.
- Leboulleux S, Rubino C, Baudin E, Caillou B, Hartl DM, Bidart JM. et al. Prognostic factors for persistent or recurrent disease of papillary thyroid carcinoma with neck lymph node metastases and/or tumor extension beyond the thyroid capsule at initial diagnosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5723–29.
- Lestón JS, Dios PD. Diagnostic clinical aids in oral cancer. *Oral Oncol* 2010;46:418-22.
- Lawoyin JO, Aderinokun GA, Kolude B et al. Oral cancer awareness and prevalence of risk behaviours among dental patients in South-western Nigeria. *Afr J Med Med Sci* 2003 32: 203– 207.
- Licitra, L., et al., High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 2006. 24(36): p. 5630-6.
- Llewellyn CD, Linklater K, Bell J, Johnson NW, Warnakulasuriya KAAS. Squamous cell carcinoma of the oral cavity in patients aged 45 years and under: a descriptive analysis of 116 cases diagnosed in the South East of England from 1990 to 1997. *Oral Oncol* 2003;39:106-114.
- Lobo NA, Shimono Y, Qian D, Clarke MF, 2007. The biology of cancer stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007; 23, 675–699
- Logan, Henrietta. "Public Awareness of Oral and Pharyngeal Cancer: What Can a Dentist Do?." *Today's FDA: official monthly journal of the Florida Dental Association* 26.6 (2014): 38.
- Lubbe J, Kormann A, Adams V, Hassam S, Gratz KW, et al. HPV-11- and HPV-16-associated oral verrucous carcinoma. *Dermatology*, (1996): 192: 217-221.
- Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303(5654): 95-8.
- Martinez, N.J., Ow, M.C., Barrasa, M.I., Hammell, M., Sequerra, R., Doucette-Stamm, L., and Walhout, A.J. (2008). A.C. elegans genome-scale microRNA network contains composite feedback motifs with high flux capacity. *Genes and development*, 22(18), 2535-2549.
- Manikandan M, Munirajan AK (2014) Single nucleotide polymorphisms in microRNA binding sites of oncogenes: implications in cancer and pharmacogenomics. *OMICS* 18(2):142–154. doi: 10.1089/omi.2013.0098
- Murakami K, Yamamoto K, Aoki K, Fukumoto I, Sugiura T, Kirita T. Metastatic sarcomatoid renal cell carcinoma to the mandible treated with Sorafenib. *Open J Stomatol* 2012;2:222-227.
- Mackenzie, J., et al. "Increasing incidence of oral cancer amongst young persons: what is the aetiology?." *Oral oncology* 36.4 (2000): 387-389.
- Maier H, Dietz A, Gewelke U, Heller WD, Weidauer H. (1992). Tobacco and alcohol and the risk of head and neck cancer. *Clin Invest*, 70: 320-327.
- Marshall JR, Graham S, Haughey BP, Shedd D, O'Shea R, et al.. Smoking, alcohol, dentition and diet in the epidemiology of oral cancer. *Eur J Cancer B Oral Oncol*. (1992). 28B: 9-15
- Martin, Hayes. "Tumors of the palate (benign and malignant)." *Archives of Surgery* 44.4 (1942): 599-635.

- Maziak W, Mzayek F, Devereaux AV. The dynamics of cigarette smoking during military service in Syria. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:292-6.
- Mao, L., et al., Frequent microsatellite alterations at chromosomes 9p21 and 3p14 in oral premalignant lesions and their value in cancer risk assessment. *Nat Med*, 1996. 2(6): p. 682-5.
- McCaul, J.A., et al., Telomerase inhibition and the future management of head-and-neck cancer. *Lancet Oncol*, 2002. 3(5): p. 280-8.
- McLaughlin, Joseph K., et al. "Dietary factors in oral and pharyngeal cancer." *Journal of the National Cancer Institute* 80.15 (1988): 1237-1243.
- Mease, P.J., et al., Adalimumab for the treatment of patients with moderately to severely active psoriatic arthritis: results of a double-blind, randomized, placebocontrolled trial. *Arthritis Rheum*, 2005. 52(10): p. 3279-89.
- Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1(12): 882-91.
- Mignogna, M. D., S. Fedele, and L. Lo Russo. "The World Cancer Report and the burden of oral cancer." *European Journal of Cancer Prevention* 13.2 (2004): 139-142.
- Mignogna, M. D., et al. "Oral and pharyngeal cancer: lack of prevention and early detection by health care providers." *European Journal of Cancer Prevention* 10.4 (2001): 381-383.
- Monteiro LS, Salazar F, Pacheco J et al. Oral cancer awareness and knowledge in the city of Valongo, Portugal. *Int J Dent* 2012: 376838.
- Motallebnejad MM, Khanian M, Alizadeh R et al. Community survey of knowledge about oral cancer in Babol: effect of an education intervention. *East Mediterr Health J* 2009 15: 1489–1495.
- Morris RE, Al Mahmeed BE, Gjorgov AN, Al Jazzaf HG, Al Rashid B. The epidemiology of lip, oral cavity and pharyngeal cancers in Kuwait 1979-1988. *Bri J Oral Maxillofac Surg* 2000;38:316-319.
- Narry KV. Small RNAs: Classification, Biogenesis, and Function. *Mol Cells* 2005; 19(1):1-15.
- Neville, Brad W., and Terry A. Day. "Oral cancer and precancerous lesions." *CA: a cancer journal for clinicians* 52.4 (2002): 195-215.
- Neville, Brad W. "Update on current trends in oral and maxillofacial pathology." *Head and neck pathology* 1.1 (2007): 75-80.
- Neville BW, Allen C, Bouquot J: *Oral and maxillofacial pathology* (3rd ed.). St. Louis, Mo.: Saunders/Elsevier. (2009). pp. 397, 398. ISBN 9781437721973.
- Okura, Masaya, et al. "Metastasis to the submandibular gland in oral cavity carcinoma." *Oral Oncology Extra* 42.10 (2006): 308-310.
- Oygür T. et al; The Level Of Public Awareness On Oral Cancers; *ADO Klinik Bilimler Dergisi* Cilt 3. S 3. 2009.
- Öztürk B, Coşkun U, Yaman E, Kaya AO, Yıldız R, Benekli M ve ark. Oral Kavite Kanserlerinde Risk Faktörleri, Premalign Lezyonlar Ve Kemoprevensiyon. *UHOD* 2009; 2: 117-126.
- Pacini F, Elisei R, Capezzone M, Miccoli P, Molinaro E, Basolo F et al. Contralateral papillary thyroid cancer is frequent at completion thyroidectomy with no difference in low- and high risk patients. *Thyroid* 2001; 11: 877–81.

- Pasieka JL, Thompson NW, McLeod MK, Burney RE, Macha M. The incidence of bilateral well-differentiated thyroid cancer found at completion thyroidectomy. *World J Surg* 1992; 16: 711–6.
- Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; 408(6808): 86-9.
- Patton, Lauren L. "The effectiveness of community-based visual screening and utility of adjunctive diagnostic aids in the early detection of oral cancer." *Oral oncology* 39.7 (2003): 708-723.
- Patil, A. et al. "Oral bullous lichen planus: Case report and review of management." *Contemporary clinical dentistry* 3.3 (2012): 344
- Pakfetrat, Atessa, et al. "Oral cancer knowledge among patients referred to Mashhad Dental School, Iran." *Archives of Iranian medicine* 13.6 (2010): 543-548.
- Patton LL, Agans R, Elter JR, Southerland JH, Strauss RP, Kalsbeek WD. Oral cancer knowledge and examination experiences among North Carolina adults. *J Public Health Dent*. 2004; 64(3):173-180.
- Park JH, Slack-Smith L, Smith A et al. Knowledge and perceptions regarding oral and pharyngeal carcinoma among adult dental patients. *Aust Dent J* 2011 56: 284 – 289.
- Park NJ, Zhou H, Elashoff D, Henson BS, Kastratovic DA, Abemayor E et al. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clin Cancer Res*. 2009;15:5473-77.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55:74-108.
- Pauley KM, Satoh M, Chan AL, Bubb MR, Reeves WH, Chan EK. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cell from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther*. 2008;10:101.
- Petersen, Poul Erik. "Oral cancer prevention and control—the approach of the World Health Organization." *Oral Oncology* 45.4 (2009): 454-460..
- Peker, I., And M. T. Alkurt. "Public Awareness Level Of Oral Cancer In A Group Of Dental Patients." *J Contemp Dent Pract* 11.2 (2010): 049-56.
- Pia Lopez, F Camacho, Alonso, FM Minano. Knowledge and attitudes about oral cancer among dentists in Spain: *Journal of Evaluation in Clinical Practice* 16 (2010) 129
- Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA. *RNA* 2005;11(12):1753-61.
- Podnos YD, Smith D, Wagman LD, Ellenhorn JD. The implication of lymph node metastasis on survival in patients with well-differentiated thyroid cancer. *Am Surg* 2005; 71: 731–4.
- Psoter, Walter J., et al. "Increasing Opportunistic Oral Cancer Screening Examinations: Findings from Focus Groups with General Dentists in Puerto Rico." *Journal of Cancer Education* (2014): 1-7.
- Rani M, Bonu S, Jha P, et al. Tobacco use in India: prevalence and predictors of smoking and chewing in a national cross sectional household survey 2003
- Raychaudhuri, S.K. and S.P. Raychaudhuri, Scid mouse model of psoriasis: a unique tool for drug development of autoreactive T-cell and th-17 cell-mediated autoimmune diseases. *Indian J Dermatol*, 2010. 55(2): p. 157-60. 89.

- Reichart PA. Identification Of Risk Groups For Oral Precancer And Cancer And Preventive Measures. *Clin Oral Invest*, (2001). 5: 207-213.
- Regezi, J. A., and R. C. Jordan. "Oral cancer in the molecular age." *Journal of the California Dental Association* 29.8 (2001): 578-584.
- Regezi JA, Sciubba J. Oral pathology. Clinical –Pathological Correlations. 2. baskı. W.B. Saunders Company, Pennsylvania, (1993). ABD.
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403(6772): 901-6.
- Rogers, Simon N., Rosemary Hunter, And Derek Lowe. "Awareness Of Oral Cancer In The Mersey Region." *British Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery* 49.3 (2011): 176-181.
- Rocha-Buelvas, Anderson, et al. "Oral cancer and dentists: knowledge, attitudes and practices in a South Colombian context." *CA Cancer J Clin* 55 (2005): 74-108.
- PS Sushma Kaiser Jamil, et al. Genetic Variation in MicroRNAs and Risk of Oral Squamous Cell Carcinoma in South Indian Population. 2016 (17): 7589-7594
- Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; 294(5543): 797-9.
- Samaan NA, Schultz PN, Hickey RC, Goepfert H, Haynie TP, Johnston DA. et al. The results of various modalities of treatment of well differentiated thyroidcarcinomas: a retrospective review of 1599 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 714–20.
- Sadık, Elif, and Meryem Toraman Alkurt. "Oral mukozanın şüpheli lezyonlarının teşhisinde kullanılan yardımcı yöntemler." *Acta Odontologica Turcica* 29.3 (2012): 201.
- Sadık E, Alkurt MT. Oral mukozanın şüpheli lezyonlarının teşhisinde kullanılan yardımcı yöntemler. *Acta Odontologica Turcica* 2012;29:201-208.
- Saini R, Ghani ZI, Rahman NA. The awareness of oral cancer in adult patients attending School of Dental Sciences, Universiti Sains Malaysia: a preliminary study. *Singapore Dent J* 2006 28:34–39.
- Sasahira, Tomonori, et al. "MIA-dependent angiogenesis and lymphangiogenesis are closely associated with progression, nodal metastasis and poor prognosis in tongue squamous cell carcinoma." *European Journal of Cancer* 46.12 (2010): 2285-2294
- Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. Mikro RNA'lar ve kanser. *Dicle Medical Journal* 2011; 38(1):113-20.
- Shen, J., Ambrosone, C.B., Dicioccio, R.A., Odunsi, K., Lele, S.B., and Zhao, H. (2008). A functional polymorphism in the mir146a gene and age of familial breast/ovarian cancer diagnosis. *Carcinogenesis*, 29(10), 1963-1966.
- Scully, C. "Oncogenes, onco-suppressors, carcinogenesis and oral cancer." *British dental journal* 173.2 (1992): 53-59
- Sciubba JJ. Oral cancer. The importance of early diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol*, (2001). 2: 239-251. 1368. Schottenfeld D. Alcohol as a co-factor in the etiology of cancer. *Cancer*, (1979) 43: 1962-1966.
- Sciubba JJ. Oral cancer. The importance of early diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol*, (2001). 2: 239-251.
- Shenouda SK, Alahari SK. MikroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor. *Cancer Metastasis Rev*. 2009; 28(3-4):369-78.
- Silverman Jr, Sol. "Oral lichen planus: a potentially premalignant lesion." *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 58.11 (2000): 1286-1288.

- Silverman, Sm, M. Gorsky, and F. Lozada-Nur. "A prospective follow-up study of 570 patients with oral lichen planus: persistence, remission, and malignant association." *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 60.1 (1985): 30-34.
- Shingaki S, Nomura T, Takada M, et al. The impact of extranodal spread of lymph node metastases in patients with oral cancer. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1999;28:279–84
- Silverman Jr, Sol. "Oral lichen planus: a potentially premalignant lesion." *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 58.11 (2000): 1286-1288.
- Srikanth Reddy B, Doshi D, Padma Reddy M et al. Oral cancer awareness and knowledge among dental patients in South India. *J Craniomaxillofac Surg* 2012 40: 521–524.
- Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE et al. Altered expression of microRNA in synovial fibroblast and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008; 58:1001-09.
- Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. MicroRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12: 1-27
- Taylor, W., et al., Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum*, 2006. 54(8): p. 266573.
- Tuncer, M. "Kanserin ülkemiz ve dünyadaki önemi, hastalık yükü 2. ve kanser kontrol politikaları." *Türkiye’de Kanser Kontrolü, Sağlık Bakanlığı Yayınları* 707 (2009): 5-9.
- Tanyeri, H. et al. "Oral Kanserlerin Erken Teşhisinde Diş Hekimlerinin Rolü: İki Olgu Nedeniyle." *İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 2008, 42 (3-4): 11 16 (2008).
- Tekbas, Faruk, et al. "Smoking prevalence in military men, and factors affecting this." *Military medicine* 167.9 (2002): 742-746.
- Tomar SL, Logan HL. Florida adults’ oral cancer knowledge and examination experiences. *J Public Health Dent.* 2005; 65(4):221-230.
- Ulukaya, E., et al., The levels of caspase-cleaved cytokeratin 18 are elevated in serum from patients with lung cancer and helpful to predict the survival. *Lung Cancer*, 2007. 56(3): p. 399-404.
- van Rooij E, Purcell AL, Levin AA. Developing microRNA therapeutics. *Circ Res.* 2012;110:496-507.
- Vera Chayeba, Sana Mahjoub, Hedia Zitounia, Hanene Jrah-Harzallah, Khadija Zouaric, Rached Letaiefe, Touhami Mahjoub. Contribution of microRNA-149, microRNA-146a, and microRNA-196a2 SNPs in colorectal cancer risk and clinicopathological features in Tunisia. *Gene*, 2018; 100–107.
- Yellowitz, Janet A., et al. "Survey Of Us Dentists'knowledge And Opinions About Oral Pharyngeal Cancer." *The Journal of the American Dental Association* 131.5 (2000): 653-66.
- Yousef M, Allmer J. *miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis*. New York, Humana Press, 2014
- Zaydfudim V, Feurer ID, Griffin MR, Phay JE. The impact of lymph node involvement on survival in patients with papillary and follicular thyroid carcinoma. *Surgery* 2008; 144:1070–77.

- Zeng Y, Sun Q, Liu N, Dong G, Chen J, Yang L, Wang B (2010) Correlation between pre-miR- 146a C/G polymorphism and gastric cancer risk in Chinese population. *World J Gastroenterol* 16(28):3578–3583
- Zhang H, Kolb FA, Brondani V, Billy E, Filipowicz W. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *Embo J*. 2002(21); 21: 5875-85.
- Zhang MW, Jin MJ, Yu YX, et al: Associations of lifestyle-related factors, hsa-miR-149 and hsa-miR-605 gene polymorphisms with gastrointestinal cancer risk. *Mol Carcinog* 51 (Suppl 1): E21-E31, 2012
- Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand 2 during cardiogenesis. *Nature*. 2005;436:214-20.
- Ziegler RG. Alcohol-nutrient interactions in cancer etiology. *Cancer*, (1986). 58: 1942-1948.
- Warburton, Gary, et al. "Histopathological and lymphangiogenic parameters in relation to lymph node metastasis in early stage oral squamous cell carcinoma." *Journal of oral and maxillofacial surgery* 65.3 (2007): 475-484.
- Warnakulasuriya KA, Harris CK, Scarrott DM, Watt R, Gelbier S, Peters TJ, Johnson NW. An alarming lack of public awareness towards oral cancer. *Br Dent J*. 1999; 187(6):319-322.
- Werning JW, editor. *Oral Cancer; Diagnosis, management and rehabilitation*. New York : Thieme; 2007.
- Weiler, J.,Hunziker J,Hall J. Anti-miRNA oligonucleotides (AMOs): ammunition to target miRNAs implicated in human disease *Gene Ther*.2006;13:496-502.
- Wienholds E,Kloosterman WP,Miska E. Alvarez-Saavedra E, Berezikov E, de Bruijn E et al.MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science*. 2005;309:310-1.
- Wijnhoven BP, MichaelMZ,Watson DI. MicroRNAs and cancer. *Br J Surg* 2007; 94: 23–30.
- Xiao YF,Yong X,Fan YH, Lü MH, Yang SM, Hu CJ. MicroRNA detection in feces, sputum, pleural effusion and urine: novel tools for cancer screening.*Oncol Rep*.2013;30:535-44
- Xu, T., Zhu, Y., Wei, Q.K., Yuan, Y., Zhou, F., Ge, Y.Y., and Zhuang, S.M. (2008). A functional polymorphism in the mir146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*, 29(11), 2126-2131.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Kübra YILMAZ

Doğum Tarihi: 05.07.1989

Öğrenim Durumu: Yüksek Lisans Devam Ediyor

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	BİYOLOJİ	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2009-1013
Y. Lisans	TIBBİ BİYOLOJİ A.B.D.	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2016-Devam Ediyor

YÜKSEK ÖĞRETİM KURUMU

Ek-2

(Yayın ve dokümantasyon Dokümantasyon Başkanlığına)

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi

Biyoloji Tezli Yüksek Lisans programından 23.05.2019 tarihinde mezun oldum. Ulusal Tez merkezinde arama yaptığımda tezim görünmemektedir.

Tezimin referans numarası 10250756 dır.

Tezimin Ulusal Tez merkezine yüklenmesi hususunda gereğini

yapılmasını arz ederim. 28.08.2024

Külbra Yılmaz

Külbra YILMAZ

45415301182

Adres:

Karşıyaka mah. Orhan Gazi Cad.

146/6 Tokat /merkez

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

[Ljava.lang.String;@159648c1

Referans No	10250756
Yazar Adı / Soyadı	KÜBRA YILMAZ
Orcid	
T.C.Kimlik No	45415301182
Telefon	5437437771
E-Posta	biyolog_kubra_60@hotmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	Oral kanserde mir-146 ve mir-149 gen varyantının incelenmesi
Tezin Tercümesi	Investigation of mir-146 and mir-149 gen variantin in oral cancer
Konu	Tıbbi Biyoloji = Medical Biology
Üniversite	Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı
Bilim Dalı	Tıbbi Biyoloji Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	68
Tez Danışmanları	DOÇ. DR. SERBÜLENT YİĞİT
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	Oral kanser, miR-146 polimorfizm, miR 149 gen polimorfizm, Kemoterapi, Radyoterapi

27.08.2024

İmza:.....