

T. C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ

DENTAL İŞLEMLERDE KULLANILAN DÜŞÜK DOZ LAZER
UYGULAMASININ KANSER DOKULARI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
LABORATUVAR DEĞERLENDİRİLMESİ

Hilal SELAMET

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet Cankat KARA

ORDU - 2017

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
TEZ BİLDİRİMİ	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kanser (Neoplazm)	4
2.1.1. Kanserin Epidemiyolojisi	5
2.1.2. Kanserin Etiyolojisi	6
2.1.3. Karsinojenik Faktörler	9
2.1.3.1. Kimyasal Karsinojenler	9
2.1.3.2. Radyasyon Karsinogenezis	11
2.1.3.3. Viral Onkogenezis	11
2.1.4. Bir Hücrenin Kanserli Hale Gelmesi	12
2.1.5. Kanserin Belirti ve Bulguları	14
2.1.6. Kanserde Tanı	14
2.1.6.1. TNM Sisteminde Evrelendirme	14
2.1.7. Kanser Tedavisi	16
2.1.8. Oral Kanserler	16
2.2. Lazer	19
2.2.1. Lazer Işığı	19
2.2.2. Lazer-Doku Etkileşimi	20
2.2.3. Lazerlerin Sınıflandırılması	25

2.2.4. Diş Hekimliğinde Lazer Kullanımı	26
2.2.5. Periodontolojide Lazer Kullanımı	27
2.2.6. Lazerin Avantajları	27
2.2.7. Lazerin Dezavantajları	28
2.2.8. Lazer Güvenlik Sınıflandırması	28
2.2.9. Lazer Kullanırken Dikkat Edilecek Hususlar	28
2.2.10. Düşük Doz Lazer Terapisi (DDLT)	29
2.2.10.1. DDLT'de Hücresel Mekanizma	29
2.2.10.2. DDLT'de Doz Ayarı	31
2.2.10.3. DDLT Kullanılması Esnasında	
Dikkat Edilecek Hususlar	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Hücre Kültürü	35
3.1.1. Hemasitometre ile Toplam Hücre Sayılarının	
Saptanması	37
3.2. Deney Aşaması	38
3.3. DDLT Uygulama Yöntemi	39
3.4. Hücre Canlılığı ve Proliferasyonu (MTT Testi)	40
3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler	42
4. BULGULAR	43
4.1. Metabolik Aktivite Temelli Proliferasyon Testi ile	
Proliferasyon Yüzdelerinin Saptanması	43
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
7. KAYNAKLAR	62
8. ETİK KURUL ONAYI	76
9. ÖZGEÇMİŞ	77

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu uzmanlık tezinin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir çalışma olarak sunulmadığını beyan ederim.

Hilal SELAMET

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince yanımda olan, tüm akademik bilgi ve deneyimlerini benimle içtenlikle paylaşan, örnek bir akademisyen ve hekim olmasının yanısıra mütevazı ve hoşgörülü kimliği ile bana değer kattığına inandığım danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Cankat KARA'ya,

Fakültemizin kuruluş aşamasından bu yana şartlarımızın her zaman daha iyiye gitmesi için çok büyük özveride bulunan, uzmanlık eğitimim boyunca sıcak bir çalışma ortamı sağlayan hocam Prof. Dr. Varol ÇANAKÇI'ya,

Tez izleme jürimde yer alan, değerli katkılarını benden esirgemeyen hocam Prof. Dr. Turgut DEMİR'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca hem klinik, hem akademik çalışmalarına büyük bir sabırla destek olan, hiçbir koşulda naif kişiliğinden ödün vermemesine hayran olduğum sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Ceren GÖKMENOĞLU'na,

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum hocalarım Yrd. Doç. Dr. Mustafa Cihan YAVUZ ve Yrd. Doç. Dr. Fiğen ÖNGÖZ DEDE'ye,

Tezimin laboratuvar aşamasında desteğini aldığım Prof. Dr. Murat ERTÜRK'e, istatistik aşamasındaki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Soner ÇANKAYA'ya,

Periodontoloji kliniğinde birlikte çalışmaktan ve aynı eğitim ortamını paylaşmaktan mutluluk duyduğum başta Arş. Gör. Meltem ALTUN olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma,

Klinik çalışmalarımızın gizli kahramanları hemşire ablamız Halise KÜÇÜK ve kürsü personelimiz Ferdi İNANKAR'a,

Benim için hiçbir fedakarlığı yapmaktan çekinmeyen sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TU-1608

ÖZET

Dental İşlemlerde Kullanılan Düşük Doz Lazer Uygulamasının Kanser Dokuları Üzerine Olan Etkilerinin Laboratuvar Değerlendirilmesi

Amaç: Mortalite ve morbidite nedeni olmasıyla ciddi bir sağlık sorunu olan kanser için birçok etiyolojik faktör bulunmaktadır. Uygulandığı bölgede doğal biyolojik süreçleri stimüle eden düşük doz lazer terapisi (DDLTL) diş hekimliği tedavilerinde sıklıkla uygulanmaktadır. Çalışmamızda etiyolojik faktörü olabileceği düşünülen özellikle hücre proliferasyonuna neden olan DDLTL'nin kanser hücreleri üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda Saos-2 (ATCC 85-HTB) osteoblast benzeri osteosarkom devamlı hücreleri ve A549 akciğer kanser hücreleri kullanıldı. Hücre kültürü plakaları hazırlandıktan 24 saat sonra 0.5, 1, 2 ve 3 W olmak üzere 4 farklı güçte Nd:YAG lazer ile çalışma grubuna göre 1, 2 ve 3 kez DDLTL uygulandı. En son lazer uygulamasını izleyen 24. saatte lazerin biyostimulatif etkilerini değerlendirmek üzere MTT testi ile hücre proliferasyon analizi yapıldı.

Bulgular: DDLTL uygulanan gruplardaki hücre proliferasyon oranlarının, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. Bununla birlikte, 3 Watt güçle ışınlama yapılan hücrelerde ise daha düşük hücre proliferasyonu olduğu tespit edildi. Uygulama sayısı arttıkça proliferasyon oranlarında artma olduğu görüldü. A549 akciğer kanser hücreleri için en fazla proliferasyon 1 Watt güçle 2 kez uygulama yapılan hücrelerde gözlemlenirken (0.815 ± 0.030) en az proliferasyon 3 Watt güçle 3 kez uygulama yapılan hücrelerde gözlemlendi (0.685 ± 0.039). Saos-2 hücreleri için en fazla proliferasyon 1 Watt güçle 3 kez uygulama yapılan hücrelerde

gözlemlenirken (0.466 ± 0.049) en az proliferasyon 3 Watt güçle 3 kez uygulama yapılan hücrelerde gözlemlendi (0.291 ± 0.039).

Sonuçlar: Bu çalışmadan elde edilen bulgular doğrultusunda DDLT'nin kullanılan lazer güç seviyesi ve uygulama sayısına bağlı olarak kanser hücre proliferasyonunu arttırdığı sonucuna varılmıştır. Kanser doku hücrelerinin proliferasyon ve mitotik aktivite gücünün yanında DDLT'nin de hücre proliferasyonunu artırması nedeni ile günümüzde sıklıkla kullanılan DDLT'nin prekanserojen hücreleri aktive edebileceği veya var olan kanserli dokuyu artırabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Düşük doz lazer terapisi, hücre kültürü, kanser, Saos-2, A549 akciğer kanser hücreleri

ABSTRACT

Laboratory Evaluation of the Effects of Low Level Laser Therapy Used in Dental Procedures on Cancer Tissues

Aim: There are many etiological factors for cancer, which is a serious health problem due to reason of mortality and morbidity. Low level laser therapy (LLLTL), which stimulates natural biological processes in the application region, is frequently used in dentistry treatments. The aim of the our study was to evaluate the effects of LLLTL which is thought to be etiological factor for cancer and especially causing the cell proliferation on cancer cells.

Materials and Methods: Saos-2 (ATCC 85-HTB) osteoblast-like osteosarcoma cells and A549 human lung carcinoma cells were used in our study. 24 hours after preperation of cell culture plates, laser irradiation was performed 1, 2 and 3 times according to the study group with 0.5, 1, 2 and 3 W Nd:YAG laser. Cell proliferation analysis was performed by MTT assay to evaluate the biostimulatory effects of the laser at the 24th hour following the last laser application.

Results: It was observed that the cell proliferation rates in the DDLTL-treated groups were higher than in the control group. However, lower cell proliferation was detected in cells irradiated with 3 Watt power output. It was revealed that as the number of applications increased, the proliferation rates increased. The highest proliferation for A549 human lung carcinoma cells was observed in cells treated with 1 Watt power output twice application (0.815 ± 0.030). The least proliferation was observed in cells that had been applied 3 times with 3 Watt power output (0.685 ± 0.039). The

highest proliferation for Saos-2 osteoblast-like osteosarcoma cells was observed in cells irradiated to 3 times of 1 Watt power output (0.466 ± 0.049). The least proliferation was observed in cells that had been applied 3 times with 3 Watt power output (0.291 ± 0.039).

Conclusion: The findings of this study have led to the conclusion that DDLT increases cancer cell proliferation, depending on the power output level of laser and the number of applications. Besides the proliferation and mitotic activity of cancer tissue cells we concluded that DDLT, which is frequently used in dental practice, can activate precancerous cells or increase existing cancerous tissue.

Keywords: Low level laser therapy, cell culture, cancer, Saos-2, A549 lung carcinoma cells

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Elektromanyetik dalgaların özellikleri	20
Şekil 2.2.	Lazer ışığının doku ile etkileşimi	22
Şekil 3.1.	A549 akciğer kanser hücreleri ve Saos-2 osteoblast benzeri osteosarkom devamlı hücrelerinin inkübasyonu	36
Şekil 3.2.	Konfluent olan hücrelerin Tripsin-EDTA solusyonu ile kültür kabı tabanından kaldırılması	36
Şekil 3.3.	a)Thoma lamı üzerinde mikroskop ile hücre sayımı b)Hücre sayımında kullanılan hemositometrik kamera diyagramı	37
Şekil 3.4.	Hücre proliferasyonu için hazırlanan plakaların şematik şekli	38
Şekil 3.5.	Plakalara hücrelerin ekilmesi	39
Şekil 3.6.	a)Nd:YAG lazer (DEKA-SmartFile,Calenzano, İtalya) b)Hücre kültürlerine DDLT uygulanması	40
Şekil 3.7.	a)a-MEM solusyonu b)Hücrelerin a-MEM ile vasat edilmesi. c)MTT uygulanması d)DMSO uygulaması	41
Şekil 3.8.	Renk yoğunluğunun (OD) mikropleyt okuyucusu ile 570 nm'de belirlenmesi	42
Şekil 4.1.	4.günde OD 570 nm'de A549 akciğer kanser hücrelerinin test ve kontrol gruplarının hücre proliferasyon oranları sonuçları	45
Şekil 4.2.	4.günde OD 570 nm'de A549 akciğer kanser hücrelerinin test ve kontrol gruplarının hücre proliferasyon oranları sonuçları	47

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Oral kanserler	18
Tablo 4.1.	4. günde OD 570 nm'de A549 akciğer kanser hücrelerinin test ve kontrol gruplarının hücre proliferasyon oranları	44
Tablo 4.2.	4. günde OD 570 nm'de Saos-2 osteoblast benzeri osteosarkom hücrelerinin test ve kontrol gruplarının hücre proliferasyon oranları	46



SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

DDLТ	Düşük Doz Lazer Terapisi
Saos-2	Osteoblast Benzeri Osteosarkom Kanser Hücreleri
A549	İnsan Akciğer Kanser Hücresi
Nd:YAG	Neodymium-Doped Yttrium Aluminium Garnet
MTT	(4,5-dimethyl-thiazoyl)-2,5-diphenyl-SH-tetrazolium bromide
W	Watt
J	Joule
J/cm ²	Joule/satimetrekare
Hz	Hertz
nm	Nanometre
DMBA	Dimetilbenzantrasen
HPV	İnsan Papilloma Virus
EBV	Epstein- Barr Virusu
HBV	Hepatit B Virusu
HSV-tip II	Herpes Simpleks Virus Tip II
HHV- 8	Human Herpesvirus-8
HTLV-1	İnsan T- Hücreli Lösemi Virusu- Tip I
RB1	Retinoblastoma Geni
TP53	Tumor Protein 53
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
BT	Bilgisayarlı Tomografi

PET	Pozitron Emisyon Tomografi
TNM	Tumor Nodul Metastaz Sistemi
FDA	Food and Drug Administration
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
ATP	Adenozin Tri Fosfat
Cox	Sitokrom oksidaz c
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
FBS	Fetal Sığır Serumu
MEM- α	Minimum Essential Medium Alpha
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
DMSO	Dimethyl Sulphoxide
GD	Güç Düzeyleri
U	Uygulama
OD	Renk yoğunluğu / Optik Dansitometre
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörleri
FGF	Fibroblastik Büyüme Faktörleri
IL	İnterlökin
PDGF	Trombosit Türevi Büyüme Faktörü
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktörü
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
ALP	Alkalin Fosfataz
B16F10	Melanoma Hücreleri
SCC-25	İnsan Oral Karsinoma Hücresi

1. GİRİŞ

Günümüzde kanser, mortalite ve morbidite nedeni olmasıyla ciddi bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Kansere vücudun herhangi bir yerindeki bir hücre grubunun kontrolsüz olarak çevre normal hücrelerden daha hızlı çoğalması, bu hücrelerin farklılaşmasının bozulması, çevre dokulara infiltrasyonu ve kanser hücrelerinin dolaşıma geçerek vücudun farklı bölgelerine metastazı ile karakterize bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü istatistiklerine göre 2008 yılında görülen kanser vakası 12.7 milyon iken, bu sayının 2030 yılına kadar 21 milyona ulaşacağı belirtilmektedir. Kanserin etiyolojisinde birden fazla etken rol oynamaktadır. Kansere %85 çevresel, %15 oranında ise genetik faktörlere bağlı oluşmaktadır. Kansere neden olan başlıca çevresel faktörler iyonize radyasyon, ultraviyole ışınları, sigara, hava kirliliği, alkol, beslenme ve diyet, kimyasal maddeler ve mikroorganizmalardır.

Lazer, radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi anlamına gelmektedir. Lazer ışığı, çeşitli kristallerin ve aktive olmuş doğal elementlerin, moleküllerin, gazların etkileşimi ile yüksek yoğunlukta, paralel hareket eden, aynı dalga boyundaki elektromanyetik radyasyondan oluşan ışıktır. Diş hekimliğinde lazer yumuşak doku ve kemik şekillendirilmesinde, peri-implantitis tedavisinde, ağız ve çene cerrahisinde, biyopsi alımında, kanama kontrolünde, ortodontik tedavide, endodontik tedavide, beyazlatma işlemlerinde, cerrahi olmayan periodontal tedavi, periodontal cep dezenfeksiyonu, frenektomi, gingivektomi, de-epitelizasyon, granülomatoz dokuların uzaklaştırılması, benign ve malign lezyonların insizyonel ve eksizyonel biyopsileri, aftöz ülserlerin tedavisi, serbest dişeti grefti verici bölgesinin pıhtılaştırılması, dişeti depigmentasyonu işlemleri ve dental implant üstlerinin açılması gibi periodontal işlemlerde kullanılabilir.

Tedavi edici lazerleri cerrahi lazerlerden ayırmak için kullanılan isimler; soft, soğuk ve düşük doz lazer tedavi (DDLTL) olmuştur. Tedavi edici lazerlerin fotobiyostimülatif veya biyostimülatif etkileri olup ağrının azaltılması, yara yeri iyileşmesinin uyarılması veya diğer biyolojik olayların değiştirilmesini sağlamaktadır.

DDLTL'nin mekanizması vücut hücrelerine direkt olarak biyostimülatif ışık enerjisinin uygulamasına dayanmaktadır. Hücresel fotoreseptörler DDL ışığını absorbe eder ve onu mitokondrilere transfer edip ATP üretebilirler. Doku arası sıvı alışverişinin uyarılmasıyla, arterio kapiller vazodilatasyon sonucu kan akımının düzenlenerek iltihaplı alandaki ödemi bu yolla giderir. ATP sentezi ile oksijenin, vazodilatasyon sonucu kullanımı artar, nükleik asitlerle sitoplazmik enzimlerin aktivitesi sonucu hücre mitozu uyarılır.

Lazer güçlü bakterisidal ve dezenfeksiyon etkisinin yanı sıra biyostimülatör etkileri ile periodontal tedavi modalitelerinin en umut verici olanlarından birisidir. Postoperatif DDLTL'nin kullanım amacı en az ağrı ile iyileşme sürecini kısaltmaktır. Bu olumlu sonuçların yanısıra hücre mitozunu uyardığını bildiğimiz DDLTL'nin var olabilecek kanser hücrelerinde proliferasyona neden olarak olumsuz sonuçlar doğurabileceğini düşünmekteyiz. Lazer ışının osteoblast ve osteosarkom hücre proliferasyonu ve diferensiyasyonuna etkisinin araştırıldığı çalışmada; lazer ışınları ile osteoblast ve osteosarkom hücrelerine biyostimulasyon uygulanmıştır ve lazer ışınının osteosarkom hücre proliferasyonunu istatistiksel olarak önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür (Renno ve ark., 2007). Düşük doz lazer ışınının insan larinks kanseri hücrelerinin proliferasyonuna etkisinin bakıldığı bir başka çalışmada

epitelyal tümör hücrelerine uygulanan biyositimlasyon sonrası çok daha fazla hücre proliferasyonu meydana geldiği görülmüştür (Kreisler ve ark., 2003).

Bu bilgiler ışığında bu tez çalışmasının amacı; osteoblast benzeri osteosarkom devamlı hücreleri ve A549 akciğer kanser hücreleri kültürlerine farklı enerji yoğunluklarında 1064 nm dalga boyundaki Nd: YAG lazer ile DDLT uygulama sonrasında hücrelerde meydana gelen proliferasyonu in vitro ortamda incelemektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser (Neoplazm)

Kanser, mortalite - morbidite ve dünyanın pek çok bölgesinde giderek artan görülme sıklığı nedeni ile önemli bir sağlık sorunu olarak günümüzde karşımıza çıkmaktadır. Kanseri, kendini göstermesi, gelişimi ve sonuçları açısından bir hastadan diğerine çok değişken olan, karmaşık bir hastalıktır. Tedavi yöntemlerindeki hızlı gelişmelere karşın, hastaların prognozu halen iyi değildir (Devita ve ark., 1997).

Kanser kelimesi ilk olarak Yunanlı hekim Hippocrates (MÖ:460 370) tarafından kullanılmıştır. Mide ülseri oluşturan tümörlere "carcinoma" adı vermiştir (Devita ve ark., 1997; İçli, 1997). Zamanımızda en yaygın ölüm nedenlerinden biri olan kanserin diğer adı ile neoplazmin gerçek anlamı "yeni büyüme"dir. Neo= yeni; plasm= oluşum, gelişme, büyüme anlamındadır. Kanseri anlamını, şu şekilde açıklayabiliriz. Herhangi bir sınırlama veya sonlanma göstermeyen, konak canlıının kontrol mekanizmaları dışında hareket eden, kontrolsüz hücre çoğalmasıyla ortaya çıkan anormal bir doku kitlesidir veya vücudun herhangi bir yerindeki bir hücre grubunun kontrolsüz olarak çevre normal hücrelerden daha hızlı çoğalması, bu hücrelerin farklılaşmasının bozulması, çevre dokulara infiltrasyonu ve kanser hücrelerinin dolaşıma geçerek vücudun farklı bölgelerine metastazı ile karakterize bir hastalıktır (Engin ve Erişen, 2003).

Kanser hastalığının, lezyonun ve uygulanan tedavilerin fonksiyonel ve kozmetik deformitelere neden olması düşük sağ kalım oranlarıyla birleştiğinde, önemi artmaktadır. Etkili bir tedavi için en önemli faktör, estetik ve fonksiyonel

olarak başarılı sonuçlara imkan sağlayan erken tanı ve prekanserojen etkenlerden uzak kalmaktır (Pericot ve ark., 2000).

2.1.1. Kanserın Epidemiyolojisi

Epidemiyolojik çalışmaların sonucunda, dünya üzerinde kanser görülme ve ölüm oranlarındaki değişim özelliklerini, bazı kanserler için özgün risk faktörlerinin, potansiyel korunma stratejilerinin ve kanser etiolojisindeki genetik farklılıkların rolü ortaya çıkar. Dünya Sağlık Örgütü'nün yapmış olduğu istatistiksel analizler sonucunda 2008 yılına ait görülen kanser vakası 12.7 milyon iken, bu sayının 2030 yılına kadar 21 milyona ulaşacağı belirtilmektedir (Boyle ve Levin, 2008). Uluslararası Kanser Ajansının elde etmiş olduğu verilere göre ise dünyada toplam 14.1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve 8.2 milyon kansere bağlı ölüm olmuştur. Dünyada en çok tanı konulan kanserler akciğer (%13.0), meme (%11.9) ve kolon (%9.7) iken, kanserden ölümlerin ise en çok akciğer (%19.4), karaciğer (%9.1) ve mide (%8.8) nedeniyle gerçekleştiği belirtilmiştir. Bu şekilde kanser artış hızının devam etmesi durumunda, dünya nüfusunun artışına ve nüfustaki yaşlanmaya bağlı olarak 2025 yılında toplam 19.3 milyon yeni kanser vakası olacağı belirtilmektedir. Ülkemizde ise 2002 yılında kanserden ölümler tüm ölümlerin %12'sini oluşturmakta iken, bu oran 2008 yılında %21'e çıkmıştır (Stewart and Wild, 2014).

Kanser epidemiyolojisi, kanserin kökeni hakkındaki bilgilere katkılarda bulunabilir. Örneğin, bugün için çok iyi bilinen, sigara ile akciğer kanseri arasındaki ilişki, epidemiyolojik çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (Mashberg ve ark., 1993). Yapılan çalışmalar ışığında, akciğer kanserlerinin ABD'de 1910'lu yıllarda başlayarak 1970'li yıllara kadar bir artış gösterdiği, bilinçli uyarılar sonucunda ise sigara içiminin azalmasına paralel olarak akciğer kanserlerinde bir azalma olduğu

tespit edilmiştir. Batı dünyası ve Afrikadaki halkın beslenme şekillerinin farklı olması ile kolon kanserlerinin sıklığı arasındaki karşılaştırmada önemli farklar olduğu görülmüştür. Diyetle alınan yağ ve lif içeriğinin kanserin oluşmasında önemli faktörlerdir. Aşırı hayvansal yağ alımıyla birlikte düşük lifli beslenme, kolon kanseri riskini arttırabilir. Sonuç olarak epidemiyolojik araştırmalar yapılarak, kanserin sebepleri arasındaki ana kavramlar ortaya çıkartılabilmekte ve buna bağlı olarak özel çevre şartları, ırk (kalıtım) ve kültürel yapı farkları ile kanserlerin oluşmaları arasındaki bağlantı kurulabilmektedir (Parkin ve ark., 2002; Bilgel, 2003).

Kanser görülme sıklığı; hastanın yaşına, cinsine, tümörün köken aldığı organa, diğer çevre faktörlere bağlı olarak farklılıklar gösterir. Özellikle erkekler arasında, kanser nedeniyle olan ölüm oranında bariz artmalar dikkati çekmektedir. Bu da sigara içimiyle bağlantılı olan akciğer kanserine bağlanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde tüm kanserler için ölüm oranı, erkeklerde kadınlara göre daha yüksektir. Erkeklerdeki bu yükseklik, iki cinsteki anatomik farklılıktan kaynaklanmaktadır. Erkeklerde tedavisi daha zor olan akciğer, özofagus, mide ve prostat gibi kanserler görülürken; kadınlarda prognozu daha iyi olan ve daha iyi takip ve kontrol edilebilen meme, uterus gibi kanserler görülmektedir (Gillison, 2007).

2.1.2. Kanser Etiyolojisi

Kanser meydana getiren maddelere “karsinojen (kanserojen)”, kanser oluşması olayına da “karsinogenezis” adı verilir (İçli, 1997; Engin ve Erişen, 2003). Kanseri önlemenin ilk adımı insanlarda kanserin nedenlerini belirlemektir. Çeşitli ulusal sağlık kuruluşunda kanserojen tespit programları kanserle bilinen ve şüphelenilen kanserojenlere maruz kalmayı engellemek suretiyle mücadele etmeye yönelik kamunun ve özel kişi ve kurumların çabalarına bilimsel bir temel sağlar.

Bireyler de bu bilgileri kansere neden olan maddelere maruz kalma hakkında daha bilinçli tercihler yapmakta kullanabilirler. Kanserojenlerin tespiti kanserojenlerin risk değerlendirmesinin ilk adımıdır. Bu ilk adıma tehlike tespiti adı verilmekte ve bunu kanserojen dozu ile tümör insidansı arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya yönelik doz-yanıt değerlendirmesi, insanların kanserojene maruz kalmanın boyutunun değerlendirmesine yönelik maruz kalma değerlendirmesi ve insanlarda kanser riskinin doğasını ve ölçüsünü açıklamak için risk analizi takip edebilmektedir. Risk değerlendirmesinin ardından risk yönetimi gelmekte ve bu süreçte politika alternatifleri tartılarak en uygun eylem yolu seçilmektedir (Uğurluer, 2003).

Kanser multifaktöryel bir hastalıktır. Genel olarak kabul edilen belli başlı kansere neden olan faktörler bulunmaktadır. Kanser %85 çevresel, %15 oranında ise genetik faktörlere bağlı oluşmaktadır (Engin ve Erişen, 2003; Boring ve ark., 1994). Kansere neden olan başlıca çevresel faktörler iyonize radyasyon, ultraviyole ışınları, sigara, hava kirliliği, alkol, beslenme ve diyet, kimyasal maddeler ve mikroorganizmalardır (Merlo ve ark., 2006).

Kanser gelişimi, büyük bir çoğunlukla çevresel faktörlere daha az olmak üzere de kalıtsal eğilime bağlıdır. Bunların hangisi olursa olsun, bir kanserin ortaya çıkmasında temel olay hücrenin genetik unsurlarında oluşur. Bu nedenle kanser, genetik bir olaydır. Bu tür genetik hasar için; kimyasal maddeler, radyasyon, virüsler gibi, çevresel faktörler etken olabilir. Kanserde genetik hipotez, genetik hasara uğrayan tek bir öncü hücrenin klonal büyümesi ile ortaya çıkan bir tümör kitlesi olarak oluştuğunu destekler (Herceg ve Hainaut, 2007).

Bu hasar, dört gen üzerine odaklanabilir (Herceg ve Hainaut, 2007, Nagpal ve Das, 2003):

(1) Hücrelerde çoğalmayı hızlandıran (promote eden) genlerin aktivasyonu, artımı vardır.

(2) Büyüme baskılayan (kanser supresor) genlerde inaktivasyon görülür. Genlerde sayıca azalma mevcuttur.

(3) Programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) düzenleyen genlerde hasarlar mevcuttur ve

(4) DNA hasarlarının onarımını regüle eden genlerde bozukluklar söz konusudur.

Hemen tüm örneklerde hücre çoğalması; hücre mitozunu kontrol eden genlerin mutasyonu veya anormal aktivasyonu sonucu oluşur ve bu çoğalma, kanser oluşmasının nedenidir. Kanser hücrelerinde otonom hücre büyümesini hızlandıran genlere, onkogenler (kanser genleri) adı verilir. Bunlar, normal hücrelerde bulunan protoonkogenlerin mutasyonu ile ortaya çıkar ve hücre çoğalmasını hızlandırmasıyla karakterlidir (Springer ve Hossfeld, 1992).

Karsinogenezis; hem fenotip ve hem de genetik düzeyde çok basamaklı bir olaydır. Bir malign neoplazmada (1) hızlı büyüme, (2) lokal invazivlik ve (3) uzak metastaz yapma yeteneği gibi, pekçok fenotipik özellik vardır. Bu özellikler aşamalı bir şekilde kazanılır ve bu karakteristik işlemler tümör ilerleyişi olarak tanımlanır. Moleküler düzeydeki ilerleme ise, DNA onarımındaki bir defekt ile meydana gelen genetik lezyonların ardı ardına birikimiyle ortaya çıkar (Springer ve Hossfeld, 1992; Halperin ve ark., 2013).

2.1.3. Karsinojenik Faktörler

2.1.3.1. Kimyasal Karsinojenler

Sir Percivall Pott'un (1775), baca temizleyicilerinde kurumla temas etmeleri nedeniyle deri kanseri oluştuğunu bildirmesi insanda kimyasal karsinojenlerin etkilerini gösteren ilk tarihi bulgu olup zamanımıza kadar yüzlerce kimyasal maddenin, hayvan deneyleri yapılarak karsinojenik olduğu ortaya çıkarılmıştır. Kimyasal karsinojenler farklı yapıdadır ve hem doğal hem de sentetik ürünler şeklinde bulunur (İçli, 1997; Engin ve Erişen, 2003).

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, kömür ve petrol katranından elde edilir. Polisiklik hidrokarbonlardan karsinojenik olarak önemli olan benzantrasen deriye sürüldüğünde deri kanseri yapmakta, subkutanös enjekte edilirse, fibrosarkomalar oluşmaktadır. Benzpiren, dibenzantrasen, dimetilbenzantrasen (DMBA) ve metilkolantren diğer önemli bazı polisiklik hidrokarbon karsinojenlerdir (Halperin ve ark., 2013).

Polisiklik ajanlar, organik maddelerin yakılmaları esnasında da ortaya çıkar. Örneğin benzpiren ve nitros bileşikleri, sigara içilirken tütünün yanmasıyla ortaya çıkar. Bu ürünler, sigara içicilerde görülen akciğer kanserlerinin asıl nedeni olarak bilinir. Sigara içiciliğinde karsinojenik etki; akciğer kanserine ek olarak ağız, dudak, farenks, larenks, özofagus, pankreas ve mesane gibi, pekçok organda karşımıza çıkar. Bunun yanında anfizem ve kronik bronşit gibi, akciğer hastalıkları yanısıra koroner arter hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar da sıklıkla görülür (Mashberg ve ark., 1993). Polisiklik hidrokarbonlar, etlerin ızgara ateşinde pişirilmesinde de karşımıza çıkar. Tütsülenmiş gıdalar, nitrosaminler yönünden zengindir. Bu nedenle mide kanseri riski bunlarda fazladır (Yıldız ve Demir, 2004).

Aromatik aminlerden beta naftilamin, lastik endüstrisinde ve boya sanayisinde kullanılan kimyasal maddedir. Bu kimyasala maruz kalan işçilerde mesane kanserleri görülmüştür. Diğer önemli aromatik amin asetilamino florenedir. İnsektisit olarak pazarlanmaktadır. Naftilaminden farklı olarak tek organda değil, farklı organlarda karaciğer, akciğer, meme, mesane ve barsak kanserlerine neden olur. Aromatik Azo Bileşikleri önemli boyalar olarak aromatik aminlerle çok yakinen ilişkilidir. Azo boyalarının bazıları gıda renklendiricileri olarak geliştirilmiştir. Örneğin tereyağı sarısı (dimetil aminoazobenzen), margarini daha canlı ve iştah açıcı göstermek için kullanılmıştır. Bunlar karaciğerde karsinogene çevrilerek, hepatosellüler karsinomalara neden olur (Engin ve Erişen, 2003; Epstein, 2003).

Doğal kökenli karsinojenlerden Aflatoksin B, doğal olarak oluşan çok önemli hepatik karsinojendir. Aflatoksin, prosedürüne uygun olarak depo edilmeyen tahıl ve kabuklu yiyeceklerde gelişen bazı aspergillus türleri tarafından üretilir (Yıldız ve Demir, 2004).

Bakteriler birçok kaynaktan karsinojenler üretebilir. Buna bir örnek, nitratlar ve nitritlerin varlığında, barsak mikroorganizmalarınca nitrosaminler üretilmesidir. Nitrosaminler lokal olarak midede veya emilimden sonra başka bölgelerde etki gösterebilir. Barsak mukozasında oluşturduğu hücre proliferasyonlarıyla, kolorektal kanserlerine neden olabilir. Buna karşın insanlarda henüz, nitrosaminlerle kesin olarak ilişkilendirilmiş bir hastalık belirlenmemiştir. Ancak nitrosaminler, çok ender karşılaşılabilecek olan bazı mantarlarla etkileşirse, ancak o zaman varlığı risk taşıyabilir. Özellikle özofagus kanserlerine neden olabilir. Nitrat içeren sebzelerin buzdolabında saklanması, nitratı, nitrite dönüşümünü sağlayan enzimi inhibe etmektedir. Bu nedenle, Batı ülkelerinde mide karsinomu insidansında azalma

görülmektedir. Nitroze bileşikleri sigara dumanında da bulunmaktaydı (Devita ve ark., 1997).

2.1.3.2. Radyasyon Karsinogenesis

Hem endüstriyel ve hem de tıpta radyoaktif maddelerin kullanımının artmasıyla beraber radyasyonun verdiği zararlar büyük önem kazanmaya başlamıştır. İnsan vücudundaki etkileri lokal doku nekrozundan başlayıp, genetik hasarlara, kanser ve hücre ölümüne kadar uzanır. İyonizan radyasyon, klinik tanıda çok önemli bulgular sağlar ve bazı tümörlerin tedavisinde yer alır. Aynı zamanda hücreler için, potent bir mutajendir, hasar vericidir. Canlı hücrede en önemli hedef, DNA'dır. İyonizan radyasyon, özellikle kromozom üzerindeki DNA moleküllerinde hasarlar oluşturarak kromozomlarda kopma- kırılma gibi, çeşitli hasarlar ve gen mutasyonları ortaya çıkarır. DNA'ya direkt hasar verebilir. Hatta terapötik bile, karsinojenik olduğu belgelenmiştir. Ağız kanserleri için uygulanan ışın, çene kemiği osteosarkomlarının oluşmasına neden olmuştur. Baş boyun bölgesine radyasyon uygulanan çocuklarda, tiroid kanserleri gelişmiştir (Devita ve ark., 1997; Halperin ve ark., 2013; Gunderson ve Tepper, 2000).

2.1.3.3. Viral Onkogenezis

Kansere neden olma yeteneğine sahip virüslere “onkojenik virüsler” adı verilir. Tümör oluşturan virüsler, insanları da kapsayan çoğu hayvan örneklerinde gösterilmiştir. İnsanlarda birkaç tane DNA virüsü onkojeniktir; fakat insanlar için, yalnızca bir tane RNA virüs, bu potansiyele sahiptir. Bu virüslerin hepsi, olağan olarak hücre DNA'larına integre olma yeteneğindedir. Bu etkisiyle hücreyi, tümör hücresi şekline transforme edebilir. Virüsün DNA zinciri, hücre kromozomuna

girerek mutasyona ve bu işlem de kansere neden olur. Neoplastik değişme; konakçının hücrel gen sistemi içine giren virüsten ortaya çıkan yeni genetik şifrenin bütünleşmesiyle ilgilidir. Bu olay kontrol edilemeyen proliferasyonu anlatır veya hücre siklusunu regüle eden bazı genlerin baskılayıcıları veya diğer bazılarının da aktivatörleri olabilir (Pintos ve ark., 2008; Halperin ve ark., 2013; Gunderson ve Tepper, 2000).

Onkojenik DNA Virusları:

- İnsan Papilloma Virüs (HPV): Benign skuamoz hücreli papillomaların nedeni (verruka vulgaris- siğil)
- Epstein- Barr Virüsü (EBV): Burkitt lenfoma, B hücreli lenfoma, Hodgkin hastalığı ve nazofarenks karsinomu
- Hepatit B Virüsü (HBV): Hepatosellüler karsinoma
- Herpes Simpleks Virus Tip II (HSV -tip II): Serviks- uterus karsinomu
- Human Herpesvirus-8 (HHV-8): Kaposi sarkoma nedeni olarak bilinmektedir.

Onkojenik RNA Virüsleri:

- İnsan T- Hücreli Lösemi Virusu- Tip I: HTLV-1, T hücreli lösemi veya lenfoma ile birlikte görülen bir virüs tipidir.

2.1.4. Bir Hücrenin Kanserli Hale Gelmesi

Bir kanser hücresi hücrenin normal hayatını yöneten bağımsız bir sağkalım savaşı veren serseri bir hücredir. Kanser hücreleri bunu yaparken organizmanın savunma sistemlerine uyum sağlayarak ve bunlarla savaşıarak, saldırgan işgalci bir davranış benimserler. Ayrıca kanser hücreleri vücutta dolaşabilme yeteneğini

kazandıklarında diğer organ veya dokularda yerleşerek metastaz olurlar. Metastatik kanser hücreleri o kadar dayanıklı hale gelmişlerdir ki, sitotoksik ilaçlar ya da radyasyon tedavileri gibi kendilerini öldürme çabalarına karşı koyarlar (Hanahan ve Weinberg, 2000). Bir kanserli hücrenin gelişmesi için üç temel kuralın ihlal edilmesi gerekir. Birincisi, hücrelerin ancak doğru sinyali aldıklarında bölünmeleridir. Bu kuralı ihlal etmek için, hücre, bir hormon ya da büyüme faktörü ile uyarıldığında normal olarak aktif hale geçen devreleri aşarak hücre bölünmesini kalıcı hale getirmelidir. İkinci kural, hücrelerin DNA replikasyonu için gergin ya da yanlış koşullarla karşılaştığında, genlerin hasar görebileceği durumlarda DNA replikasyonunu başlatmak yerine, kendi kendini imha etme programlarını aktif hale getirmeleridir. Bu kendini imha programlarından kaçınmak için, hücrelerin normalde anormal ya da aşırı hücre bölünmesini engelleyen güvenlik frenlerinden kurtulması gerekir. Bu frenler iki ana gen tarafından kontrol edilmektedir: RB1 (aynı zamanda Retinoblastoma geni olarak da bilinir) ve TP53 (normalde ortamda rahatsızlık olduğunda hücrelerin bölünmesini önleyen bir stres sensörü olan p53 proteinini üreten gen). Bu iki fren mutasyon sonucu ortadan kalktıklarında, hücreler sadece bölünmekle kalmaz, aynı zamanda programlanmış hücre ölümünden de kaçınmış olurlar ve böylelikle de bir tümör kitlesinin oluşumuna izin verilmiş olur. Üçüncü kural, normal hücrelerin sadece sınırlı, belli sayıda bölünmeleri kuralıdır. Bu üç işlevsel değişikliğin gerçekleştirilmesi hücrenin kanserli hale gelmesi için yeterlidir. Ancak, moleküler düzeyde, bu basit bir işlem değildir. Bu değişikliklerin her biri ayrı ayrı ele alındıklarında, normal hücre işlevini altüst edebilir ve hücrenin anormal hücreleri yok eden bir çeşit “hücre intiharı” olan, apoptosıs adı verilen bir süreçle imha edilmesine yol açabilirler. Dolayısıyla, kanserleşecek bir hücrenin asıl sorunu,

bu değişikliklerin hepsini eşgüdümlü bir şekilde çalıştırabilmektedir. Hem genetik zayıflığın hem de çevresel değişikliklerin büyük bir rol oynadıkları nokta burasıdır (Hanahan ve Weinberg, 2000; Lingen ve ark., 2000; Nagpal ve Das, 2003; Oliver ve ark., 2009).

2.1.5. Kanserın Belirti ve Bulguları

Kanser vücuttaki herhangi bir organı veya dokuyu etkileyebileceği için belirti ve bulguları da çeşitlilik gösterir. Hastalık belirtileri tutulan organa ve yayılımına göre değişiklik gösterir. Bazen de hastada hiçbir semptom yok iken yapılan taramalarda tesadüfen saptanabilir. Açıklanamayan kilo kaybı, ateş, halsizlik, ağrı, vücudun herhangi bir yerinde şişlik, kanama, dışkılama ve idrar yapma alışkanlığında değişiklik, yutma güçlüğü, ses kısıklığı, siğil ve benlerde değişiklik kanserin belirti ve bulgularına örnek olarak verilebilir (Silveman, 2001).

2.1.6. Kanserde Tanı

Her hastada olduğu gibi kanser tanısı için de öncelikle anamnez alınır ve fizik muayene yapılır. Hormonların, enzimlerin ve antijenlerin değerlendirildiği labarotuar incelemeleri, sitolojik incelemeler, endoskopik incelemeler ve direk röntgen, manyetik rezonans görüntüleme (MRG), bilgisayarlı tomografi (BT), floroskopi, ultrasonografi, radyoizotoplarla inceleme, pozitron emisyon tomografi (PET) gibi röntgen incelemeleri kanser tanısında kullanılan yöntemlerdir (Ord, 2000; van Der Waal, 1995).

2.1.6.1. TNM Sisteminde Evrelendirme

Kanserlerde, Amerikan Kanser Ortak Komitesinin Tanımladığı (American Joint Committee on Cancer staging) ve 2002'de yeniden gözden geçirdiği evreleme

sistemi kullanılmaktadır. Tümör Nodül Metastaz (TNM) sistemi; tümör yayılımının boyutu, rejyoner lenf nodüllerinin tutulumu ve uzak metastazların varlığı temel alınarak yapılmıştır (Demireller ve ark., 2003; Jemal ve ark., 2004; Engin ve Erişen, 2003).

T - Primer tümörü tanımlar. Tümörün büyüklüğü ve lokal yayılımını tanımlar:

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor.

T0: Tümör yoktur.

Tis: in situ karsinom.

T1 : Tümör 2 cm'den küçüktür.

T2 : Tümör 2- 4 cm'dir.

T3 : Tümör 4 cm'den büyüktür.

T4 : Tümörün deri, kemik gibi, bitişik yapılara yayılması söz konusudur.

N - Lenf nodlarının tutulumunu tanımlar:

Nx: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor.

N0 : Bölgesel lenf metastazı yoktur.

N1 : Aynı tarafta 3 cm çaptan küçük tek lenf nodu metastazı mevcuttur.

N2 : Aynı tarafta (ipsilateral) veya karşı tarafta (kontralateral) çok sayıda ve 6 cm çaptan küçük lenf nodu metastazı mevcuttur.

N3 : 6 cm çaptan büyük lenf nodu metastazı mevcuttur.

M – Uzak metastazlar ile yayılımı tanımlar:

M0 : Metastaz yoktur.

M1 : Metastaz mevcuttur.

Mx : Metastaz saptanamamıştır, metastaz şüphesi vardır.

Bu sistemin kullanımı, multidisipliner verilerin birbirleriyle daha anlamlı bir biçimde karşılaştırılmasına yardım eder ve terapötik kararlar aşamasında rehberlik eder. Klinik evrelendirme olarak evreler; küçükten büyüğe (I den IV) doğru ilerleyen basamaklarda, giderek prognozun kötüleşmesini gösterir. TNM sistemi temel alınarak yapılan kanserlerin 4 evresi aşağıdaki şekildedir (Uğurluer, 2003).

Evre 1: T1, N0, M0

Evre 2: T2, N0, M0

Evre 3: T3, N0, M0

Evre 4: T4, N2 veya N3, M1

2.1.7. Kanser Tedavisi

Kanserde yaygın olarak kullanılan tedavi yöntemleri cerrahi, radyoterapi ve kemoterapidir. Daha az sıklıkla hormon tedavileri, biyolojik tedavi yöntemleri, kemik iliği transplantasyonu ve hedefe yönelik tedaviler kullanılır. Bu tedavi yöntemleri tek başına veya birlikte uygulanmaktadır (Cortez ve Jones, 2008).

2.1.8. Oral Kanserler

Ağız boşluğu içinde görülen kanserler (oral kanserler) dişhekimlerinin teşhis ve hatta tedavisinin de bir parçası olduğu bir hastalık grubudur. Oral kavite kanserleri genellikle orta yaş ve üzerindeki insanlarda görülen ve kötü ağız hijyeni, sigara ve alkol tüketimi ile ilişkili bir hastalıktır. ABD’de yapılan bir çalışmada yıllık olgu sayısı 21.900 ve bunun insidansı 100.000’de 9.5 olarak bulunmuştur. Tüm

malignitelerin %2-5'ini oluşturur (McLaughlin ve ark., 2000; Ord, 2000). Oral kavite kanserleri larenks kanserinden sonra baş-boyun bölgesinde en sık rastlanan kanserlerdir. Dil, ağız tabanı, yanak, sert damak, retromolar üçgen ve gingiva tümörleri anatomik yerleşimleri ve değişik histolojik ve davranış özellikleri nedeniyle alt bölgelere ayrılarak ayrı ayrı değerlendirilir (Başerer, 2003). Oral kavite kanseri aslında oral skuamöz hücreli karsinom ile eş anlamlı kullanılabilir. Skuamöz hücreli karsinom tüm oral kavite karsinomlarının %90'dan fazlasını oluşturur (Cawson ve ark., 2002). Bunun dışında kalan %10'luk bölümde ise minör tükük bezi kaynaklı tümörler, melanom lenfoma ve sarkomlar gözlenir (Cawson ve ark., 2001).

Oral kanserler neoplazmlar arasında yer alan önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Tüm dünyada en sık izlenen altıncı kanser olduğu bildirilen oral kanserlerin, tüm vücut kanserlerinin yaklaşık %2-4'ünü oluşturduğu bildirilmiştir. Tütün, alkol, radyasyon, bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlar, genetik yatkınlık ve travmatik irritasyon oral kanserlerin etiyolojik faktörleri arasında yer almaktadır (McLaughlin ve ark., 2000; Ord, 2000).

En sık görülen oral kanserler epidermoid karsinomlardır. Skuamöz hücreli karsinom tipik bir epidermoid karsinom olmakla birlikte bu gruba oral kavitede görülen verrüköz karsinom, asinik hücreli karsinom, bazaloid karsinom, adenoskuamöz hücreli karsinom ve bazoskuamöz hücreli karsinom da dahildir (Ord, 2000; Neville ve Day, 2002). Epidermoid karsinomlar veya varyasyonları tüm oral kanserlerin yaklaşık %90'ını oluşturur. %5-10'unu minör tükük bezi karsinomları (adenokarsinoma, adenokistik karsinoma, mukoepidermoid karsinoma) ve geri kalan kısmını ise yumuşak doku sarkomları, malign melanoma, Hodgkin dışı lenfomalar ve

diğer habis tümörler oluşturur (McLaughlin ve ark., 2000; Ord, 2000). Oral kanserlerin kaynaklandıkları dokuya göre yapılan sınıflandırılması şematik olarak Tablo 1’de belirtilmiştir.

Tablo 1. Oral Kanserler

ORAL KANSERLER	ALT GRUPLAR
Epidermoid Karsinom	Skvamöz Hücreli Karsinom Verrüköz Karsinom Spindle Hücreli Karsinom Bazaloid Karsinom Adenoskuamöz Hücreli Karsinom Bazoskuamöz Karsinom
Tükürük Bezi Karsinomları	Polimorfoz düşük gradlı Adenokarsinom Mukoepidermoid karsinom Adenokistik karsinom
Lenfomalar	Hodgkin Dışı Lenfomalar Hodgkin Lenfomalar Burkitt Lenfoma
ORAL KAVİTENİN NADİR GÖRÜLEN KANSERLERİ	
Sarkomlar	Rhabdomiyosarkom Osteosarkom Fibrosarkom Kondrosarkom Liposarkom Fibröz histiyositom Nörofibrosarkom Anjiyosarkom Kaposi sarkomu
Melanomlar	Malign melanom
Multiple Miyelom	

2.2. Lazer

'Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation' kelimelerinin ilk harflerinden oluşturulan LASER terimi, dilimize LAZER olarak girmiş, 'radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi' anlamına gelmektedir (Tuner ve Hode, 2007d). İlk lazer cihazı, 1960 yılında Amerikalı Fizikçi Maiman tarafından üretilmiştir. İlk yıllarda lazerlerin kullanımı pek yaygın olmasa da günümüzde iletişim, endüstri ve tıp alanı gibi pek çok farklı alanda pek çok farklı lazer tipinden yararlanılmaktadır (Verdaasdonkz ve ark., 1997).

2.2.1. Lazer Işığı

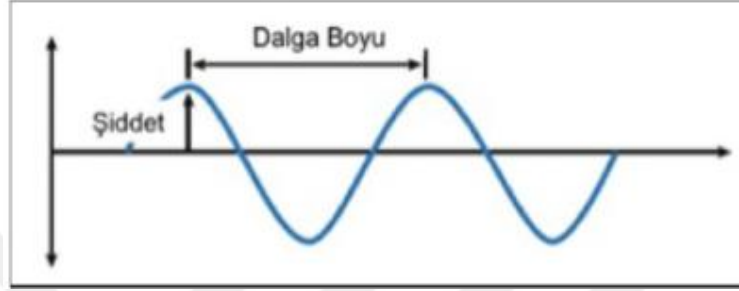
Işık, foton adı verilen kitesiz atom parçacıklarından oluşan, elektrik ve manyetik alan birleşenlerine sahip bir elektromanyetik enerjidir. Dalga boyu, frekans ve şiddet ışığın en önemli özelliklerini oluşturmaktadır. Başlangıç eksenine göre dikey yönde olan sinusoidal hareketler şiddeti belirlerken, yatay yönde olan tepe noktaları arasındaki mesafeler ise dalga boyunu belirlemektedir (Şekil 2.1). Titreşim olarak adlandırılabilir frekans ise bir saniye içerisindeki tekrarlama sayısının matematiksel ölçümüdür. Frekans ile dalga boyu arasında ters orantı söz konusudur. Sıradan bir ışık kaynağı tarafından üretilen sıcak beyaz ışık, odaklanmamış yaygın bir ışımaya yapar. İnsan gözü ile görülebilir ve renk tayfı içerisindeki pek çok rengin toplamından oluşmaktadır (Tuner ve Hode, 2007d; Coluzzi, 2004). Öte yandan lazerler farklı özelliklere sahiptir.

Bu özellikler (Miserendino ve Pick, 1995);

- 1) Monokromatiktir (Tek renklidir). Belirli bir dalga boyuna sahiptir,
- 2) Işık kohorenttir, ortamda az miktarda dağılırlar,

3) Işık tek yönlüdür,

4) Işınlar düşük çaplı olmasına rağmen, yüksek enerjiye sahiptirler, şeklinde sıralanabilir.



Şekil 2.1. Elektromanyetik dalgaların özellikleri

2.2.2. Lazer-Doku Etkileşimi

Lazerlerin doku üzerindeki etkisini anlayabilmek için;

a) Lazerin gücü,

b) Uygulama süresi ve tipi,

c) Odak uzaklığı,

d) Uygulanacak dokunun özelliklerinin ve aralarındaki bağlantının bilinmesi gerekmektedir.

Temelde lazerin gücü (Watt), lazerin belirli bir süre içerisinde (1 saniye) üretmiş olduğu enerji miktarıdır (Joule). Sonuç olarak 1 watt gücündeki bir lazer, 1 saniyede 1 joule değerinde enerji üretmektedir. Ancak süre yani etki zamanı, lazerin gücüne oranlandığında lazerin üretmiş olduğu asıl enerji miktarı bulunabilir. 0.1

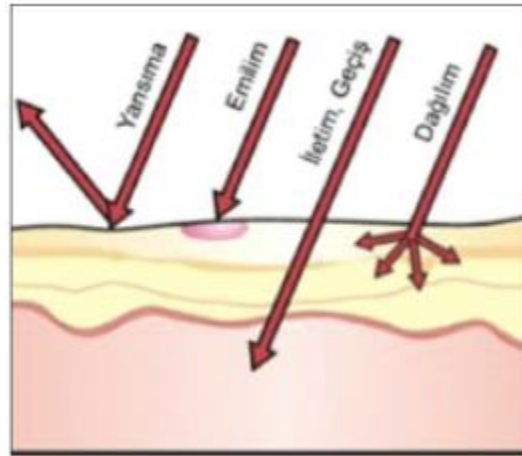
saniye boyunca 100 W gücünde çalışan bir lazer 10 J değerinde bir enerji üretir (Niemz, 2004).

Lazerin etki edeceği alandaki (cm^2) enerji miktarı, enerji yoğunluğu olarak adlandırılır. Yüksek enerji yoğunluğu ile dokuda kesi oluşturulabilirken, düşük enerji yoğunluğu ile dokuda koagülasyon sağlanabilmektedir. Birim alana düşen enerji miktarı, lazer ışık demetinin enine kesiti olan ışık çapı (spot büyüklüğü) ile yakından ilişkilidir ve enerji yoğunluğu ile spot büyüklüğü arasında ters orantı söz konusudur. Spot büyüklüğü yarılandığında enerji yoğunluğu dört kat artmaktadır (Tuner ve Hode, 2007c).

Lazerler, ışık enerjisini devamlı atım (continuous-wave) ya da aralıklı atım (pulse-wave) olarak verirler. Devamlı atımlar sabit ışık demetleri yayarak selektif olmayan doku yıkımını gerçekleştirirken, aralıklı atımlar ile selektif doku yıkımı gerçekleştirilebilir. Devamlı atım için ortalama güç miktarı, saniyede uygulanan enerji miktarı ile hesaplanabilirken, aralıklı atım için ortalama güç, saniyedeki atım miktarı boyunca uygulanan enerji esas alınarak hesaplanmalıdır. Bir saniye boyunca gerçekleştirilen atım sayısı Hertz (Hz) ile ifade edilir. Her iki saniyede 1 J enerjilik bir atım gerçekleştiren bir lazer cihazı, 0.5 Hz frekansı ile çalışmakta olup 0.5 W'lık bir güç üretmektedir (Niemz, 2004; Tuner ve Hode, 2007c).

Lazer ışınının monokromatik olması nedeniyle dokuya renk veren ve farklı dalga boyları tarafından emilen kromoforları etkilemektedir. Bu sayede değişik dalga boyları dokuyu etkileyebilmektedir. Dokuda yer alan kromoforların başında ise hemoglobin, melanin, su ve karoten gelmektedir (Wigdor ve ark. 1995).

Lazer ışığının odak doku üzerine yansıtma, absorbsiyon, geçirgenlik, sıçrama olmak üzere dört değişik etkisi vardır ve bu etkileşimler dokunun optik özelliklerine bağlı olduğu gibi kullanılan dalga boyuna da bağlıdır (Wigdor ve ark. 1995; Moritz, 2006). *Yansıtma (Reflection)*; odak dokuda etkisi olmayan ve kendisini doku yüzeyinin dışına yeniden yönlendirilmesidir. Dokuların homojen olmayan yapısı yansımada en önemli faktördür. Bu yansıyan ışığın gözlere direkt zararlı etkisi vardır. *Absorbsiyon (Absorbtion)*; etkisi genellikle istenen etkidir ve doku tarafından absorbe edilen enerji miktarı pigmentasyon, su içeriği gibi doku özelliklerine ve lazerin dalga boyuna ve emisyon moduna bağlıdır. Genellikle 500 ile 1000 nm arasındaki dalga boyları pigmente doku tarafından daha kolay absorbe edilir. *Geçirgenlik (Transmission)*; lazer enerjisinin odak dokuda etki yaratmadan direkt olarak dokudan geçmesidir. Bu etkileşim lazerin dalga boyuna bağlıdır. *Sıçrama (Scattering)*; enerjinin zayıflatılması ve buna bağlı olarak biyolojik dokuda yararlı bir etkinin oluşmamasıdır (Wigdor ve ark. 1995; Moritz, 2006; Convissar, 2004) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Lazer ışığının doku ile etkileşimi

Lazer ışınının dalga boyu, enerji miktarı ve atım süresi değiştirilerek melanin, su veya kollajen gibi hedef moleküller üzerinde etki göstermesi sağlanabilir. İstenilen etkinin yaratılması ise lazer ışınının doku tarafından emilmesi ile mümkün olmaktadır. Öte yandan lazer ışınının yayılması ya da farklı yönlere dağılması cerrahi amaçlı kullanım için uygun olmasa da kompozit rezin materyallerin ışık ile sertleşmesinde kullanılabilirler (Niemz, 2004; Convissar, 2004; Strauss ve Fallon, 2004).

Lazerin doku ile etkileşimi, lazer ışınının sahip olduğu enerjinin dokuda ısı enerjisine, kimyasal enerjiye ya da mekanik (akustik-titreşim) enerjiye dönüşmesi ile değerlendirilmektedir (Niemz, 2004).

Lazer ışınının enerjisi absorbe edildiği dokuda ısı enerjisine dönüşüyor ise buna fototermal etki adı verilmektedir. Fototermal etkide doku içerisinde yer alan su miktarı önemli rol oynamaktadır. Doku içerisinde yer alan su lazer ışınının direkt enerjisini alırken, suya komşu olan moleküller burada meydana gelen ısı artışının iletiminden etkilenmektedirler. Görünebilir dalga boyu içerisinde yer alan lazerlerde suya olan etki çok az olup genellikle hemoglobin gibi pigmentler tarafından emilirlerken infrared dalga boyunda yer alan lazerler su molekülleri üzerinde daha çok etkiye sahiptirler. Lazer ışını, fototermal etkisi ile doku üzerinde eksizyon-insizyon, ablasyon (vaporizasyon) ve koagülasyon (hemostaz) olmak üzere üç temel etki meydana getirirler. Lazer ışınının yarı çapı, uygulama süresi gibi parametrelerde gerçekleştirilecek olan değişiklikler ile söz konusu fototermal etkilerden istenilen elde edilebilir. Örneğin daha dar çaplı bir lazer ışın demeti ile kesi işlemi gerçekleştirebilecek iken daha geniş çaplı lazer ışın demeti ile daha geniş bir doku

yüzeyine etki edilerek ablasyon işlemi gerçekleştirilebilir (Niemz, 2004; Knappe ve ark. 2004; Schindl ve ark., 2000).

Atımlı olan bir lazer enerjisi, doku ile temasında şok dalgası ya da yüksek güçte mekanik titreşim meydana getiriyor ise lazer ışınının fotoakustik etkisinden söz edilir. Burada ısı oluşumundan farklı olarak hedef dokuda fiziksel bir ayrışma ya da kopma meydana gelmektedir. Sert dokular, özellikle dentin tübülleri bu etkiye maruz kalarak tıkanabilmekte ve diş hassasiyetlerinin giderilmesinde kullanılmaktadır (Niemz, 2004; Tuner, 2004).

Lazer ışınının hedef dokuda kimyasal enerjiye dönüşmesiyle fotokimyasal etki meydana gelmektedir. Fotokimyasal etkide, doku içerisindeki moleküllerin mevcut bağlarının koparılması, söz konusu moleküllerin biyokimyasal olarak reaktif hale getirilmesidir. Burada en önemli nokta lazerin dalga boyudur. Kısa dalga boylu ultraviyole ışınlar sayesinde kimyasal bağlar yıkılırken meydana gelebilecek olan ısı artışı önlenemediğinden fototermal etkinin oluşmasının da önüne geçilmiş olunur (Coluzzi, 2004; Convissar, 2004).

Fotodinamik etkide ise, doku tarafından emilen lazer ışınının dokuda biyokimyasal reaktif bir oksijen molekülü yaratmasıdır. Bu oksijen molekülüne single oksijen ya da tekil oksijen adı verilmektedir. Esasen fotokimyasal etkinin özel bir türü olarak adlandırılabilen fotodinamik etkinin yaratılabilmesi için görülebilir düzey ya da yakın infrared dalga boyuna sahip lazer kaynakları kullanılmalıdır (Hawkins ve Abrahamse, 2008; Niemz, 2004).

Düşük güçteki lazer uygulamaları ile hastaların ağrı, şişlik gibi sıkıntılarını gidermek ve yara iyileşmesini hızlandırmak, lazerin biyostimulasyon etkisi ile

mümkün olmaktadır. Tam olarak günümüzde etki mekanizması anlaşılmamış olsa da; fototermal, fotoakustik ve/veya fotokimyasal etkilerin sinerjist etkisi ile oluştuğu düşünülmektedir (Amorim ve ark., 2006; Aoki ve ark., 2004; Bjordal ve ark., 2003, Brosseau ve ark., 2000).

2.2.3. Lazerlerin Sınıflandırılması

Kullanım alanlarına göre yapılan bir sınıflamaya göre (Miserendino ve Pick, 1995; Tuner ve Hode, 2007b; Walsh, 1994);

Cerrahi Lazerler

1. CO₂ lazer
2. Nd:YAG lazer
3. Ho:YAG lazer
4. Er:YAG lazer
5. Argon lazer
6. Copper vapor lazer
7. KTP lazer frequency-doubled Nd:YAG
8. Ruby lazer
9. Alexandrite lazer
10. Stronger types of GaAlAs lazer
11. Dye lazer
12. Ti:safir lazer
13. Excimer lazer

Terapötik Lazerler

1. HeNe lazer
2. InGaAIP lazer
3. GaAIAs lazer
4. GaAs lazer
5. Defocused CO2- lazer
6. Defocused Ruby lazer
7. Defocused Nd: YAG lazer

2.2.4. Diş Hekimliğinde Lazer Kullanımı

Lazer tıpta ilk kez 1962 yılında dermatolog Goldman tarafından kullanılmıştır. Lazer diş hekimliğinde Stern ve Sognnaes tarafından mine ve dentin üzerinde kırmızı ışık lazerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Parker, 2007a). Diş hekimliğinde lazer protetik amaçla yumuşak doku ve kemik şekillendirilmesinde, torusların uzaklaştırılmasında, implantolojide; peri-implantitis tedavisinde, ağız ve çene cerrahisinde; biyopsi alımında, yumuşak doku işlemlerinde, diş çekiminde, kanama kontrolünde, ortodontik tedavide, endodontik tedavide, beyazlatma işlemlerinde kullanılmaktadır (Moritz, 2006; Coluzzi 2000; Coluzzi 2004). Myers ve ark. 1989'da ilk olarak yumuşak doku cerrahisinde Nd:YAG lazerin kullanılabilceğini belirtmesiyle lazer periodontolojide de kullanım alanı bulmuştur (Myers ve ark., 1989).

2.2.5. Periodontolojide Lazer Kullanımı

Lazerler, ablasyon veya vaporizasyon gibi çeşitli özellikleri ile hemostaz, sterilizasyon ve biyostimülasyon etkilerine dayanılarak geleneksel periodontal tedaviye yardımcı ya da alternatif olarak kullanılmaktadır (Aoki ve ark., 2004; Moritz 2006; Mavrogiannis ve ark, 2004).

Periodontolojide yumuşak dokuda frenektomi, gingivektomi ve gingivoplasti, periodontal cep deepitelizasyonu, granülasyon dokusunun uzaklaştırılması, dental implant üstlerinin açılması, selim ve habis lezyonların insizyonel ve eksizyonel biyopsileri, aftöz ülserlerin tedavisi, serbest dişeti grefti verici bölgesinin pıhtılaştırılması ve dişeti pigmentasyonu işlemlerinde ve cep dezenfeksiyonunda, kök yüzeyi temizliğinde, kemik cerrahisinde, peri-implantitiste dekontaminasyonda lazerler kullanılmaktadır (Aoki ve ark., 2004; Mavrogiannis ve ark, 2004; Borrajo ve ark., 2004).

2.2.6. Lazerin Avantajları (Walsh, 1994; Moritz, 2006; Miserendino ve Pick, 1995)

- Operasyonda hemostazı sağlayarak ya çok az bir kanamaya sebep olur ya da hiç kanamaya sebep olmaz.
- Operasyon esnasında ya hiç ağrıya sebep olmaz ya da çok az bir ağrı oluşturur.
- Doku iyileşmesi lazer uygulamalarında daha iyidir.
- Operasyon sonrasında, operasyon bölgesinde bistüriye göre daha az bir skar dokusu oluşmasını sağlar.
- Operasyon sonrası daha az bir ağrı ve şişlik meydana gelmesine sebep olur

2.2.7. Lazerin Dezavantajları (Walsh, 1994; Moritz, 2006; Miserendino ve Pick, 1995)

- Konvansiyonel tekniğe göre lazerin tedavi hızı tatmin edici değildir.
- Lazer cerrahisinde yara iyileşmesi iyi olmasına rağmen iyileşme süresi uzamıştır. Normalde 7-10 günde iyileşen bir doku lazer uygulama sonrası ancak 2-3 hafta sonra tamamen iyileşir.
- Pahalı bir tedavi yöntemidir

2.2.8. Lazer Güvenlik Sınıflandırması (Piccione, 2004)

- Sınıf I; Hiçbir sağlık sorununa yol açmayan lazer enerjisi. (CD Player) 0,1 mW
- Sınıf II; Maksimum 1mW'lık enerji oluşturabilen lazer sistemleri (Lazer pointerler). Bu lazerler 1000 sn.'den fazla göze tutulursa zarara sebep olabilir.
- Sınıf IIIa; 0,5W'dan daha az enerji üreten lazer sistemleridir. Göz kırpma refleksinden daha kısa bir sürede ortaya çıkıp kaybolduğu için korumasız gözlere zarar vermez.
- Sınıf IIIb; 0,5W'dan daha az enerji üreten lazer sistemleridir. Bu lazer sistemleri ise korumasız gözlere zarar verir (Dental lazer tedavi sistemleri).
- Sınıf IV; 0,5W'dan daha fazla enerji üreten lazer sistemleridir Direkt olarak uygulandığında dokuya zarar (yanık veya doku tahribi) verebilen lazer sistemleri (Dental lazer tedavi sistemleri).

2.2.9. Lazer Kullanırken Dikkat Edilecek Hususlar (Piccione, 2004)

- Lazer kullanımı esnasında operasyon odasındaki herkes koruyucu gözlük takmalıdır (Sınıf III-IV).
- Lazer kullanımı esnasında bölge ıslak olmalı veya soğutulmalıdır.

- Bölgeye tutuşabilecek maddeler (alkol vs) tatbik edilmemelidir.
- Lazer cerrahisi esnasında nitroz oksit kullanılmamalıdır.
- Operasyon bölgesine komşu dokular korunmalıdır.
- Operasyon odasında yanıcı materyaller depolanmamalıdır.

2.2.10. Düşük Doz Lazer Terapisi (DDLTL)

DDLTL, lazer ışınının miliwatt seviyesinde canlı dokuya uygulanması prensibine dayanan, uygulandığı bölgede yıkıma sebep olmayan, atermik ve foto biyolojik bir tedavi yöntemidir (Tuner ve Hode 2007a). DDLTL için; fotobiyostimulasyon, fotobiyomodulasyon veya lazer biyoaktivasyon terimleri de kullanılmaktadır. İlk olarak Mester ve ark. tarafından yara iyileşmesini hızlandırmak için 1970'lerin başında kullanılmaya başlanmasına ve bugüne kadar yüzlerce makale yayınlanmasına rağmen, halen daha tam olarak oturmuş bir tedavi yöntemi değildir (Parker, 2007a; Daniell ve Hill, 1991). Günümüzde, düşük seviyeli lazerin çeşitli tedavilerde kullanımı FDA (Food and Drug Administration=Besin ve İlaç Kurulu) tarafından onaylanmıştır. DDLTL, en fazla akut-kronik ağrı kontrolünde, herpes simpleksin tedavisinde, dentinal diş hassasiyetinin azaltılmasında, nevraljilerin ve inferior alveolar sinir yaralanmalarının düzeltilmesinde, doku iyileşmesini hızlandırmak için, ödemi ve enflamasyonu azaltmak için kullanılmaktadır (Parker, 2007b).

2.2.10.1. DDLTL'de Hücresel Mekanizma

Terapötik ışınların en önemli avantajlarından biri doğal biyolojik süreçleri stimüle etmesidir. Asıl hedef ve amaç düşük enerji üretimine sahip hücrenin aktivitesini arttırmaktır. Bir hücre düşük redoks fazında iken asidik iç yapıya sahiptir,

ancak lazer ışınlanmasından sonra alkali bir hal alarak hücre içi aktivitelerini arttırabilir (Posten ve ark., 2005).

DDLTL'nin terapötik etkilerinin altında yatan biyokimyasal mekanizmalar henüz tam anlamı ile belirlenememiştir. Yapılan araştırmalarla birlikte DDLTL'nin molekül, hücre ve doku düzeyinde geniş bir etki aralığına sahip olduğu görölmektedir. Günümüzde DDLTL'nin etki mekanizması ile ilgili yapılan araştırmalar tartışmasız bir şekilde mitokondrinin etkinliğini göstermektedir. Mitokondri, enerji üretiminde ve metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Oksidatif fosforilasyon yolu ile adenozin tri fosfat (ATP) üretimini sağlar (Passarella, 1984).

DDLTL'nin hücresel düzeydeki mekanizması monokromatik, görünür ve yakın kızıl ötesi ışınların hücresel solunum zinciri komponentleri tarafından absorpsiyonuna dayandırılmaktadır. Kırmızı görünür ve yakın kızıl ötesi ışığa karşı meydana gelen hücresel cevaptan, mitokondrinin sorumlu olduğuna ve içerisindeki kromoforun uygulamadan etkilenen ilk madde olduğuna dair birçok kanıt bulunmaktadır (Mognato ve ark., 2004). Memeli hücrelerinde, kırmızı ve yakın kızılötesi ışık aralığına duyarlı ana kromofor Sitokrom c oksidaz (Cox) dır (Sun, 2004; Aukhil, 2000). Cox, transmembran protein kompleksi olup solunumla ilgili ATP üretiminden sorumlu elektron taşıyıcı zincirin bir elemanıdır. Bu sırada lazer uygulaması, zincirdeki transmembran komplekslerinden birini etkilemek suretiyle direkt olarak ATP üretiminde etkili olmaktadır (Aukhil, 2000). DDLTL, özellikle artan ATP üretimi ve elektron transportu ile sonuçlanmaktadır. O₂, elektron taşıyıcı zincirin son elektron alıcısıdır ve işlem sırasında H₂O'ya dönüşmektedir. Metabolize olan O₂'nin bir kısmı reaktif oksijen türleri (ROS)'ni oluşturmaktadır. DDLTL, O₂

metabolizmasını destekleyerek ROS üretimini arttırmakta ve böylece dolaylı yoldan söz konusu genleri de aktive etmektedir. Bu genler, düşük seviyeli ışık tarafından uyarılabilen hücresel proliferasyon, migrasyon ve sitokin, büyüme faktörü üretimi gibi olaylar ile ilişkilidir (Sun, 2004; Hawkins ve Abrahamse, 2004; Almeida ve ark., 2001). DDLT'nin önemli etkilerinden biri de endotel ile ilişkili düz kasların gevşemesini sağlayarak vazodilatasyona neden olmasıdır. Bu durum, DDLT tedavisi gören hücrelerde O₂ miktarının artmasını ve dokuya daha fazla sayıda immün hücre girmesini sağlamaktadır. Bu iki etki ise iyileşmesinin hızlanmasına katkıda bulunmaktadır (Arany ve ark, 2007; Bymes ve ark., 2004). Hücresel düzeyde yapılan incelemeler, ışınlamayı takip eden 1-3 saat içerisinde primer ve direkt etkilerin hücre canlılığı, mitokondriyal ATP aktivitesi ve membran geçirgenliği üzerinde ortaya çıktığını göstermiştir (Coombe ve ark., 2001; Martinasso ve ark., 2007). Yirmi dört saatlik süreçte ise sekonder etkiler, hücre proliferasyonu ve ekspresyonu üzerinde ölçülebilir hale gelmektedir (Medrado ve ark., 2003). Bu nedenle, DDLT etkinliğinin değerlendirileceği araştırmalarda zaman dilimi, incelenmek istenen hücresel aktivite ve ışınlama etkilerinin ortaya çıkabileceği süre dikkate alınmalıdır.

2.2.10.2. DDLT'de Doz Ayarı

DDLT'de en kritik unsur optimal dozu ayarlayabilmektir. Dokunun abzorbe ettiği doz, enerji yoğunluğu olarak isimlendirilir ve santimetre karedeki jul (J) miktarı (J/cm²) ile ölçülür. Cihazdan çıkan enerji ışın kaynağının çıkış gücü ve uygulama süresinin çarpımı ile hesaplanır. Bir diğer önemli faktör ise uygulama yapılan bölgenin büyüklüğüdür. Enerji yoğunluğu hesaplanırken ışık kaynağından çıkan enerji miktarı uygulama alanına bölünerek enerji yoğunluğu hesaplanır. Uygulama alanı ve enerji yoğunluğu ters orantılıdır. Bunun yanında, spot alanı da

doz ile ilgili önemli unsurlardan biridir. Uygulama ucu incelidikçe doz artar. Ancak bu durum cihazın çıkış gücünü etkileyen bir unsurdur. Asıl önemli olan hedef dokuya ulaşabilen ışın dozudur. Bu noktada net bir hesaplama yapmak güçleşir. Işının dokuya uygulandığı mesafe ışın içine girdiğinde yansıma, saçılma ve enerji absorpsiyonu gibi unsurlar hedefe ulaşacak dozu değiştirir (Sun ve Tuner, 2004; Tuner, 2004; Tuner ve Hode, 2007a). Bu sebeplerden ötürü bir uygulama yapılmadan önce, hedef dokunun derinliği ve hedef doku ile kaynak arasındaki dokuların türü de doz ve dalga boyu belirlemede yapılırken dikkate alınmalıdır. Terapötik dozlardaki dalga boylarında, ışınların absorbe edici unsurlarındaki hemoglobin pigmentli kromoforlardır. Bu nedenle damarlanmanın fazla olduğu dokular ışını daha iyi absorbe ederken, damarlanmanın az olduğu dokuların absorpsiyon yeteneği daha düşüktür (Niemz, 2004). Bu yüzden üretici firmaların önerdikleri dozla (J/cm^2) sadece doku yüzeyindeki enerji yoğunluklarını ifade eder, ancak alttaki hedef dokuya nüfuz eden doz farklıdır. Dolayısıyla, üretici firmaların önerdikleri dozlar yanıltıcı olabilir.

DDLТ tedavisinin doza bağlı etkileri Arndt-Schulz Kanunu ile açıklanmaktadır (Leeser, 1953). Bu kanuna göre, DDLТ esnasında şayet ışık yeterli güç yoğunluğunda uygulanmaz veya ışınlama zamanı çok kısa olur ise herhangi bir doku cevabı görülmesi neredeyse imkansız olmaktadır. Yine, eğer ışın çok yüksek güç yoğunluğunda uygulanır veya ışınlama zamanı çok uzun olur ise doku cevabı baskılanabilmektedir. Bu baskılanma hali, stimülatif olarak belli bir pik noktaya ulaşıldıktan sonra devam eden ışınlama sonucunda meydana gelmektedir. Andt-Schulz Kanununda yara iyileşmesi açısından tedavi edici doz (enerji yoğunluğu) aralığının $0,01-10 j/cm^2$ olacağı ve bu aralığın üzerindeki dozlarda ($>10 j/cm^2$) yara

iyileşmesinin baskılanacağı öngörülmektedir. Bazı durumlarda stimülasyon yerine inhibisyon da yapmak istenebilir. Örneğin ağrı tedavisi ile ilgili uygulamalarda yüksek dozlarda uygulanan ışınlar ağrıya neden olan sinyalleri inhibe edebilmektedir (Bjordal ve ark., 2003).

Doz ayarlaması ile ilgili genel görüş, enflamasyon ve ödem gibi akut durumlarda yüksek enerjini kullanılması; yara iyileşmesi, ağrı ve parestezi durumlarında ise daha düşük dozların tercih edilmesi yönündedir. Akut durumun çözüldüğü ve ağrının ortadan kalktığı durumlarda haftalık 2-3 uygulama yeterli olabilmektedir. Uzun süreli kronik ağrı çeken hastalarda DDLT sonrası ağrıda ani bir artış görülebilir ve bu durum 'tedavi reaksiyonu' olarak adlandırılır. Bu durum geçicidir ve hastanın tedaviye iyi yanıt verdiğini, kronik durumun ortadan kalktığını ve iyileşme belirtilerinin ortaya çıktığı akut faza geçildiğini gösterir. Ağrı seviyesi 24 saat içinde azalır (Tuner, 2004; Tuner ve Hode, 2007a).

DDLT'nin etki prensibi, uygulanan dozların kümülatif etki göstermesi üzerine kuruludur. Dokuya ilk gün uygulanan doz, ikinci gün de dokuda kalır. Uzun dönem ve yakın aralıklar ile yapılan uygulamalarda, dokuda baskılayıcı etkiler oluşturabilecek seviyeye gelene kadar doku içerisindeki absorbe olan ışın dozları birbiri üzerine eklenir. Doz uygulamalarının aralıklı yapılması, verilen total dozun baskılayıcı boyuta ulaşmasını engellenmektedir. Doz uygulamalarının çok yakın aralıklarla yapılması, verilen total dozun baskılayıcı boyuta ulaşmasına neden olmaktadır (Walsh, 1997; Schindl ve ark., 2000; Pereira ve ark., 2002).

2.2.10.3. DDLT Kullanılması Esnasında Dikkat Edilecek Hususlar

DDLDT'nin kullanımında şimdiye kadar bir yan etki ya da komplikasyon bildirilmemiştir. Ama bazı uyarılar yapılmıştır (Niemz, 2004; Parker, 2007b).

Bunlar;

- Özellikle malign olan veya malignite şüphesi taşıyan dokulara, bölgedeki kanlanmayı arttıracığı ve muhtemel metastazı ve hücre proliferasyonunu tetikleyebileceği için biyostimülatif olarak lazer tatbik edilmemelidir.
- Epilepsili hastalarda kullanılmamalı veya dikkatli kullanılmalıdır.
- Hamile hastalarda karın bölgesine direkt tutulmamalıdır.
- Tiroid bezinin üzerine tatbik edilmemelidir.
- Işığa karşı hassasiyeti olan kişilerde kullanılmamalı veya dikkatli kullanılmalıdır.
- Pelvik ven veya diğer derin bacak venlerine tatbik edilmemelidir.
- Direkt olarak göze tatbik edilmemelidir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

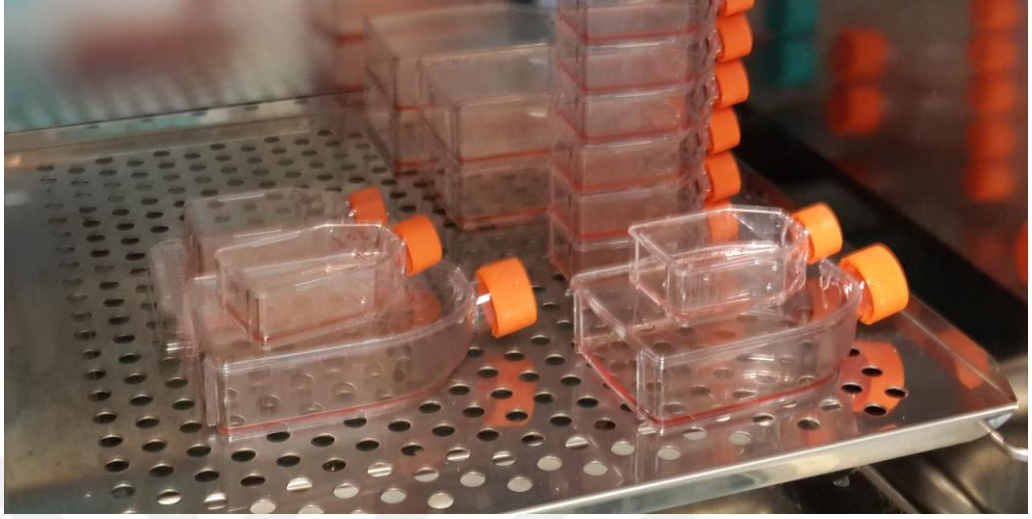
Çalışmamız Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenerek yürütüldü (TU-1608). Etik kurul onayı Ordu Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alındı (Toplantı sayısı:09, Karar: 2016/85). Çalışmanın deneysel kısmı, Atigencell-Trabzon Hücre Kültürü Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmamızda, lazer biyostimulasyonun insan kanser hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkileri Saos-2 (ATCC 85-HTB) osteoblast benzeri osteosarkom devamlı hücreleri ve A549 akciğer kanser hücreleri kullanılarak çalışıldı.

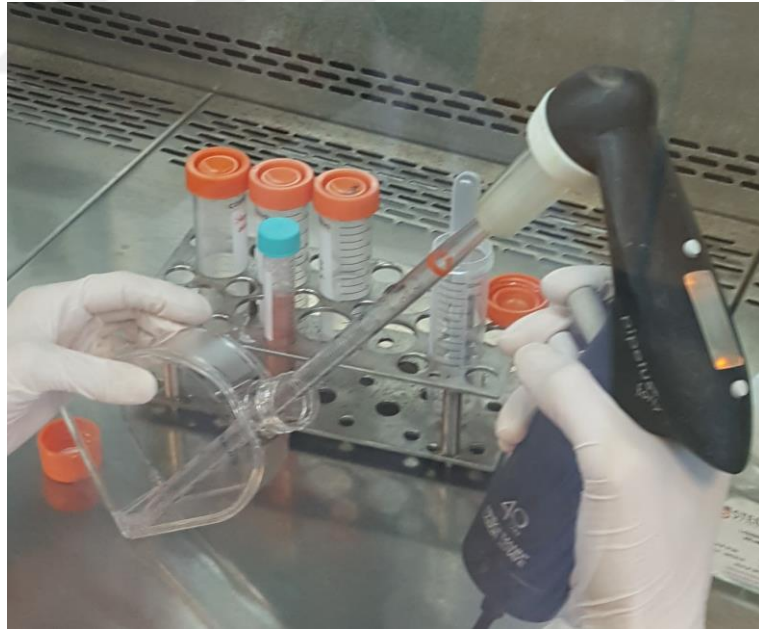
3.1. Hücre Kültürü

Çalışmada Saos-2 (ATCC 85-HTB) osteoblast benzeri osteosarkom ve A549 akciğer kanser hücreleri devamlı hücre hattı kullanıldı. Saos-2 ve A549 akciğer kanser hücreleri, T75 doku kültür flasklarında (Nest Biotech, Çin), %10 Fetal Sığır Serum (FBS, Lonza-ABD) ile desteklenmiş MEM-Minimum Essential Medium Alpha besi yerinde (MEM- α , Lonza-ABD) çoğaltıldı ve ortama penisilin/streptomisin ve antimikotik (fungizon) çözeltileri eklendi. İnkübasyon, %5 CO₂ atmosfere sahip, 37°C'de % 95 nemlendirilmiş hava karışımını sağlayacak sabit sıcaklığa ayarlanmış etüvde (MCO-17 AI, Sanyo, Japan) gerçekleşti (Şekil 3.1). Hücre kültür ortamları günlük bakteriyel ve mantar kontaminasyonu ile pH incelemesine tabi tutuldu ve besi yerleri iki günde bir yenilendi. Hücreler kültür kaplarını tam olarak doldurdıkları zaman (konfluent olduğunda) tripsin-EDTA

solüsyonu (Lonza, ABD) ile kültür kabı tabanından kaldırıldı, besi ortamı ile seyreltilen hücreler 1'e 4 oranında pasajlanarak çoğaltıldı (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. A549 akciğer kanser hücreleri ve Saos-2 osteoblast benzeri osteosarkom devamlı hücrelerinin inkübasyonu



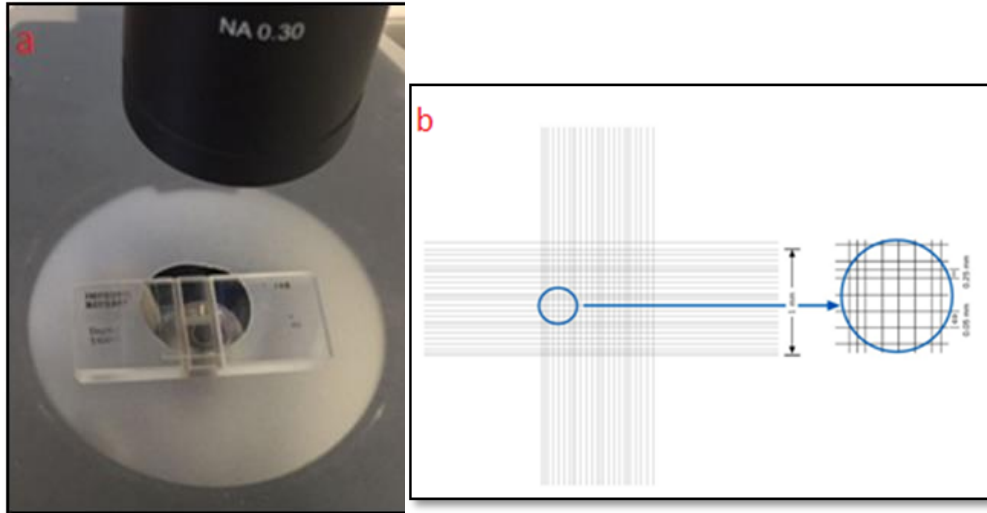
Şekil 3.2. Konfluent olan hücrelerin Tripsin-EDTA solusyonu ile kültür kabı tabanından kaldırılması

3.1.1. Hemositometre ile Toplam Hücre Sayılarının Saptanması

Hemositometre ile hücre sayımı öncesinde steril kültür kaplarında inkübe edilen Saos-2 ve akciğer kanser hücreleri inkübatörden çıkartıldı, %0,25'lik tripsin-EDTA (Lonza, ABD) kullanılarak hücreler arası bağları koparıldı ve hücreler steril kültür kaplarının zemininden kaldırıldı. Daha sonra 5 dk süreyle 1500 devirde santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüplerin üst kısmında kalan sıvı, pastör pipeti ile çekilip atıldı. Tüpün dibinde toplanan hücreler ise 1 ml taze medyum ile tekrar süspansiyon haline getirildi. Süspansiyondan 10 µl alınarak 10 µl tripan mavisi ile karıştırıldı (Celis, 1998). Bu karışım, Thoma lamı üzerinde yaymak suretiyle hücre sayımı yapıldı (Şekil 3.3).

Süspansiyonun mililitresindeki toplam hücre sayısı ise aşağıdaki formülle bulundu (Louis ve Siegel, 2011):

$$\text{Toplam hücre sayısı/ml} = \text{Hemositometre sayım sonucu} \times 10^4 \times \text{Medyum miktarı (ml)}$$



Şekil 3. 3. a) Thoma lamı üzerinde mikroskop ile hücre sayımı,
b) hücre sayımında kullanılan hemositometrik kamera diyagramı

2 Watt			3 Watt			KONTROL					
x	x	x		x	x	x		x	x	x	
x	x	x		x	x	x		x	x	x	
x	x	x		x	x	x		x	x	x	
x	x	x		x	x	x		x	x	x	
x	x	x		x	x	x		x	x	x	
x	x	x		x	x	x		x	x	x	
x	x	x		x	x	x		x	x	x	
x	x	x		x	x	x		x	x	x	

Şekil 3.4. Hücre proliferasyonu için hazırlanan 96 kuyucuklu plakaların şematik şekli

Tüm plakaların tüm kuyucuklarına 5×10^4 hücre/ml şeklinde süspansiyon edilen hücreler, 0.1 ml olacak şekilde ekildi. Böylece her kuyucuğa 5.000 hücre ekilmesi sağlandı (Şekil 3.5). Sonrasında hücrelere lazer uygulamasına geçildi.

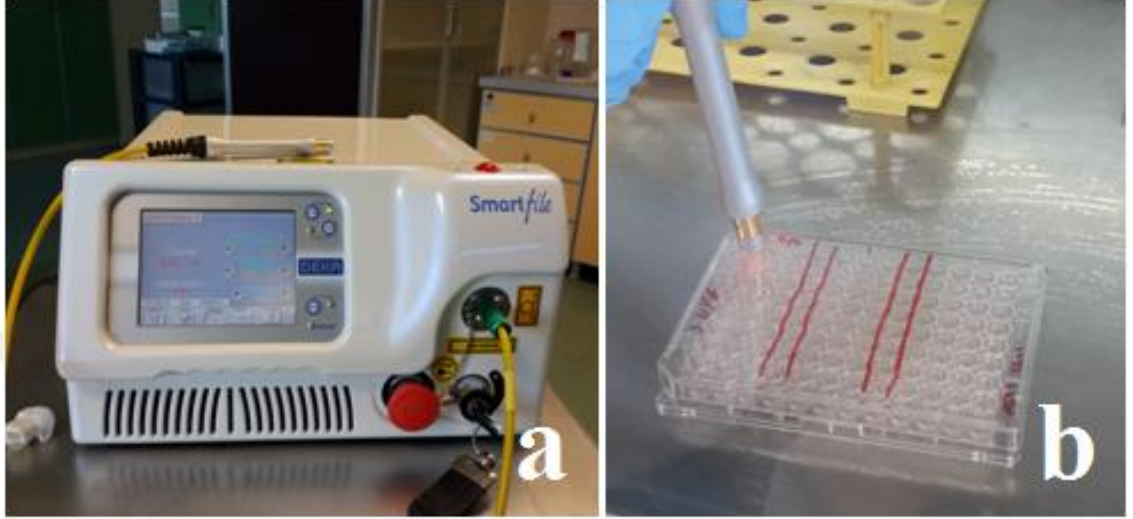


Şekil 3.5. Plakalara hücrelerin ekilmesi

3.3. DDLT Uygulama Yöntemi

Nd:YAG lazer (DEKA-SmartFile, Calenzano, İtalya) DDL olarak kullanıldı. Buna göre lazer; 1064 nm dalga boyu, devamlı dalga modunda, her uygulamada 30 saniye süresince, ışınlanan bölgeye temas etmeden, 0.5-1 cm mesafeden 600 μ m terapötik uçla uygulandı. Lazer gücü; 1064 nm dalga boyu, 100 mJ enerji sabit olmak

üzere, frekans 5, 10, 20 ve 30 Hz olacak şekilde değiştirilerek 0.5, 1, 2 ve 3 W gücünde ayarlanarak uygulama yapıldı (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. a) Nd:YAG lazer (DEKA-SmartFile, Calenzano, İtalya),
b) Hücre kültürlerine DDLT uygulanması

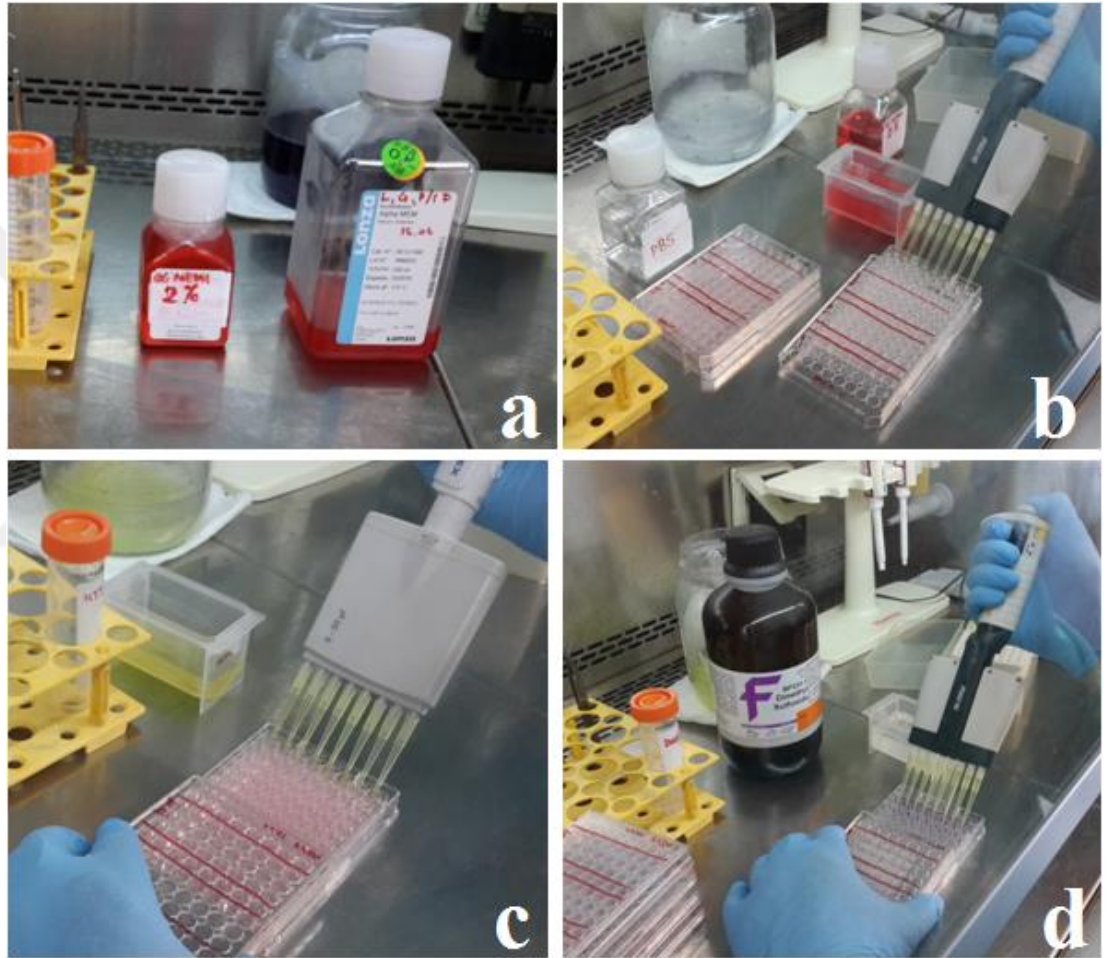
3.4. Hücre Canlılığı ve Proliferasyonu (MTT Testi)

Hücre proliferasyonlarının değerlendirilmesi amacıyla metabolik aktivitenin tespitine dayalı olan metiltiazol difenil tetrazolyum (MTT) testi kullanıldı.

Hücrelerinin proliferasyonunun tanımlanması için uygulanan prosedürün prensibi temel olarak, proliferasyona uğrayan hücrelerin artan dehidrojenaz enzim aktivitesi ile tetrazolyumu (MTT: sarı) kullanarak, formazan (mor) boya üretmesi sonucu görülen renk değişiminin, absorbans olarak ELISA okuyucu ya da spektrofotometre ile ölçülmesine dayalıdır (Biocompare.com, 2012).

Hücre proliferasyonu her grup için lazer uygulamasını takip eden 4. gün MTT testi ile değerlendirildi. Bu maksatla, kültür kapları içeriği boşaltılıp kuyucuklara % 2 FBS, penisilin, streptomisin ve antifungal içeren a-MEM vasat ilave edildi; 30 dakika

% 5 CO₂ 37°C inkübatörde bekletildikten sonra kuyucuklara MTT (4,5-dimethyl-thiazoyl)-2,5-diphenyl-SH-tetrazolium bromide) ilave edildi. Kültür kapları 3 saat süre ile % 5 CO₂ 37°C inkübatörde bekletildikten sonra kültür vasatı boşaltılıp kuyucuklara dimethyl sulphoxide (DMSO) koyuldu (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. a) a-MEM solusyonu, b) Hücrelerin a-MEM ile vasat edilmesi, c) MTT uygulanması, d) DMSO uygulaması

Hücre içi formazan kristallerinin tamamen çözünmesi için 15 dakika inkübatörde bekletilip oluşan menekşe renk absorbansı mikroplyet okuyucusu ile 570 nm dalga boyunda okutuldu (Şekil 3.8). Oluşan renk yoğunluğu kuyucuktaki

metabolik olarak aktif canlı hücre sayısı ile doğru orantılı olduğundan, lazer uygulama yapılmayan kontrol hücrelerle karşılaştırılarak lazer uygulaması yapılan hücre gruplarındaki canlı hücre yüzdesi (%)= $(AT)/(AC) \times 100$ formülü ile hesaplandı.



Şekil 3.8. Renk yoğunluğunun (OD) mikroyeokuyucusu ile 570 nm'de belirlenmesi

3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler

Bu çalışmada elde edilen veriler SPSS for Windows 21.0 paket programı aracılığı ile analiz edildi. Verilerin normallik testleri sonucunda normal dağılım göstermeleri nedeniyle gruplar arasındaki karşılaştırmaları bağımsız gruplarda t testi aracılığı ile yapıldı. İki'den fazla grup arasındaki farkın karşılaştırılmasında çift yönlü varyans analizi (two way-ANOVA) kullanıldı. $p < 0.05$ seviyesindeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, osteoblast benzeri osteosarkom devamlı hücreleri ve A549 akciğer kanser hücreleri üzerine farklı güçlerde lazerle uygulanan biyostimülasyon sonucunda MTT testi yardımıyla hücre proliferasyon yüzdeleri değerlendirildi. Tüm kuyucuklardaki hücreler inkübasyon periyodunun sonunda ve değerlendirmenin yapılacağı 4. günde hücre kültür plakalarının tabanına tutunmuş olarak gözlenmesine rağmen 3 watt güçle ışınlama yapılan hücre kültürlerine ait kuyucuklarda özellikle 2 ve 3 uygulama yapılanlarda tabanda boşluklar oluştuğu gözlemlendi.

4.1. Metabolik Aktivite Temelli Proliferasyon Testi İle Proliferasyon Yüzdelerinin Saptanması (MTT Testi)

Saos-2 (ATCC 85-HTB) osteoblast benzeri osteosarkom ve A549 akciğer kanser hücreleri devamlı hücreleri, test sürenin sonunda MTT testi ile analiz edildi ve hücre oranları incelenerek proliferasyon yüzdeleri tespit edildi. Hücre ekimi yapılan tüm plakalarda hiçbir şekilde lazerle ışınlama yapılmayan kontrol grubu örneklerindeki proliferasyon düzeyleri istatistiksel olarak benzer olduğu gözlemlendi. Genel olarak veriler incelendiğinde, hücre proliferasyon oranlarının, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. Bununla birlikte, 3 watt güçle ışınlama yapılan hücrelerde ise daha düşük hücre proliferasyonu olduğu tespit edildi.

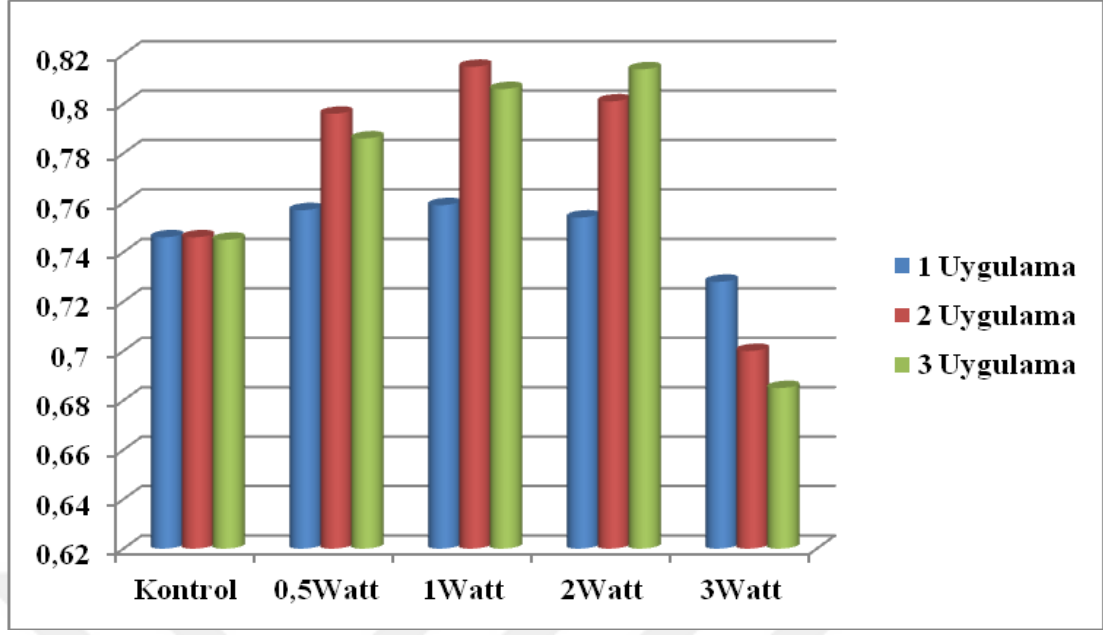
Uygulama sayısı bakımından hücre proliferasyonu düzeylerine baktığımızda, uygulama sayısı arttıkça proliferasyon oranlarında kontrollere göre artma olduğu, özellikle 2 ve 3 kez ışınlama yapılan örneklerde bu oranın belirgin düzeyde daha fazla arttığı görüldü. Yine 3 watt güçle 3 kez ışınlama yapılan örneklerde daha az proliferasyon olduğu gözlemlendi.

A549 akciğer kanser hücreleri proliferasyon testleri sonucunda elde edilen istatistik sonuçları Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’de sunulmaktadır.

Tablo 4.1: 4.günde OD 570 nm’de A549 akciğer kanser hücrelerinin test ve kontrol gruplarının hücre proliferasyon oranları

UYGULAMALAR					
	1 uygulama	2 uygulama	3 uygulama	Genel	
GÜÇ DÜZEYLERİ	Kontrol	0.746±0.024 ab	0.736±0.027 ab	0.741±0.027 ab	0.741±0.026 A
	0.5 Watt	0.757±0.026 a	0.796±0.025 cd	0.796±0.025 cd	0.780±0.032 B
	1 Watt	0.759±0,027 ae	0.815±0.030 c	0.806±0.038 cd	0.793±0.040 C
	2. Watt	0.754±0.029 ab	0.801±0.026 cd	0.814±0.051 cd	0.790±0.044 BC
	3 Watt	0.708±0.026 b	0.692±0.022 f	0.685±0.039 f	0.695±0.034 D
	Genel	0.745±0.028 A	0.767±0.048 B	0.764±0.057 B	
Varyasyon Kaynakları					
	Güç Düzeyleri (GD)	Uygulamalar(U)	GD*U		
P-değerleri	<0.001	<0.001	<0.001		

A549 akciğer kanser hücreleri için test ve kontrol grubundaki proliferasyon oranları lazer ışınlanma güç düzeyi bakımından karşılaştırıldığında; en fazla proliferasyon 1 ve 2 watt uygulanan hücrelerde gözlemlendi (1 watt: 0.793±0.040, 2 watt: 0.790±0.044). Özellikle 0.5 watt güçte (0.780±0.032) kontrol grubuna (0.741±0.026) göre proliferasyon düzeylerinde istatistiksel olarak bir artış olsa da, 1 ve 2 watt güç düzeylerindeki artış 0.5 watt güç düzeyine göre daha fazla tespit edilmiştir. Genel olarak lazer güç düzeyi bakımından en yüksek proliferasyon ortalama değeri 1 watt, en düşük ise 3 watt (0.695±0.034) ışınlanma yapılan hücre örneklerinden elde edildi.



Şekil 4.1. 4.günde OD 570 nm’de A549 akciğer kanser hücrelerinin test ve kontrol gruplarının hücre proliferasyon oranları sonuçlarına ait grafik.

A549 akciğer kanser hücreleri için test ve kontrol grubundaki proliferasyon oranları lazer ışınlanma uygulama sayısı bakımından karşılaştırıldığında; en fazla proliferasyon 2 ve 3 kez uygulama yapılan hücrelerde gözlemlendi. Özellikle 1 kez uygulanlarda kontrol grubuna göre proliferasyon düzeylerinde istatistiksel olarak bir artış olsa da, 2 ve 3 kez uygulama yapılanlardaki artışın 1 kez yapılanlara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak en yüksek ortalama proliferasyon değeri 2 kez ve 1 watt güçle uygulama yapılan (0.815 ± 0.030), en düşük ise 3 kez 3 watt güçle ışınlanma yapılan (0.685 ± 0.039) hücre örneklerinden elde edildi.

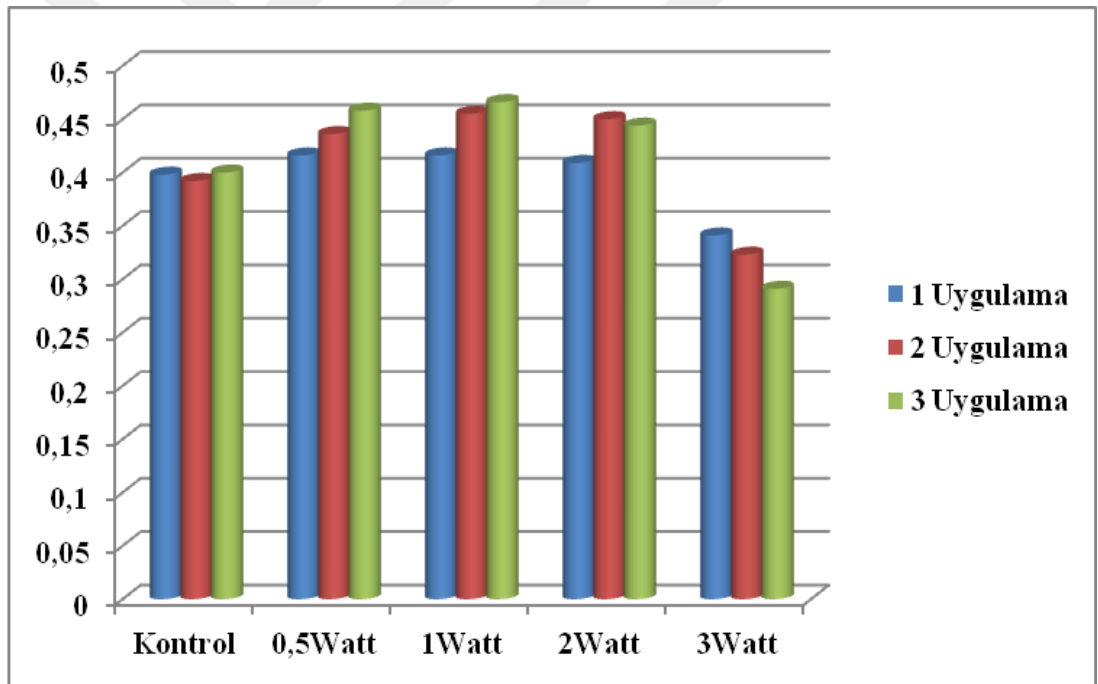
Saos-2 osteoblast benzeri osteosarkom hücreleri proliferasyon testleri sonucunda elde edilen istatistik sonuçları Tablo 4.2 ve Şekil 4.2’de sunulmaktadır.

Tablo 4.2. 4.günde OD 570 nm'de Saos-2 osteoblast benzeri osteosarkom hücrelerinin test ve kontrol gruplarının hücre proliferasyon oranları

UYGULAMALAR					
	1 uygulama	2 uygulama	3 uygulama	Genel	
GÜÇ DÜZEYLERİ	Kontrol	0.398±0.037 a	0.392±0.043 a	0.400±0.055 ab	0.397±0.045 A
	0.5 Watt	0.416±0.017 a-d	0.436±0.026 b-e	0.458±0.034 e	0.436±0.031 B
	1 Watt	0.416±0.025 a-d	0.455±0.036 e	0.466±0.049 e	0.446±0.044 B
	2. Watt	0.409±0.030 abd	0.450±0.042 ce	0.444±0.046 cde	0.434±0.043 B
	3 Watt	0.341±0.038 f	0.323±0.045fg	0.291±0.039 g	0.318±0.045 C
	Genel	0.396±0.040 A	0.408±0.060 B	0.410±0.075 B	
Varyasyon Kaynakları					
	Güç Düzeyleri (GD)	Uygulamalar(U)	GD*U		
P-değerleri	<0.001	<0.001	<0.001		

Saos-2 hücreleri için test ve kontrol grubundaki proliferasyon oranları lazer ışınlanma güç düzeyi bakımından karşılaştırıldığında; en fazla proliferasyon 1 watt uygulanan hücrelerde gözlemlendi (1 watt: 0.446±0.044) . Özellikle 0.5 watt ve 2 watt güçte (0.5 watt: 0.436±0.031, 2 watt: 0.434±0.043) kontrol grubuna (0.397±0.045) göre proliferasyon düzeylerinde istatistiksel olarak bir artış olsa da, 1 watt güç düzeylerindeki artış 0.5 ve 2 watt güç düzeyine göre daha fazla tespit edilmiştir. Genel olarak lazer güç düzeyi bakımından en yüksek proliferasyon ortalama değeri 1 watt, en düşük ise 3 watt (0.318±0.045) ışınlanma yapılan hücre örneklerinden elde edildi.

Saos-2 hücreleri için test ve kontrol grubundaki proliferasyon oranları lazer ışınlanma uygulama sayısı bakımından karşılaştırıldığında; en fazla proliferasyon 3 kez uygulama yapılan hücrelerde gözlemlendi. Özellikle 1 kez uygulanlarda kontrol grubuna göre proliferasyon düzeylerinde istatistiksel olarak bir artış olsa da, 2 ve 3 kez uygulama yapılanlardaki artış 1 kez yapılanlara göre daha fazla tespit edilmiştir. Genel olarak en yüksek proliferasyon ortalama değeri 3 kez ve 1 watt güçle uygulama yapılan (0.466 ± 0.049), en düşük ise 3 kez 3 watt güçle ışınlanma yapılan (0.291 ± 0.039) hücre örneklerinden elde edildi.



Şekil 4.2. 4.günde OD 570 nm'de Saos-2 osteoblast benzeri osteosarkom hücrelerinin test ve kontrol gruplarının hücre proliferasyon oranları sonuçlarına ait grafik.

5. TARTIŞMA

Zamanımızda en yaygın ölüm nedenlerinden biri olan kanserler herhangi bir sınırlama veya sonlanma göstermeyen, konak canlının kontrol mekanizmaları dışında hareket eden, kontrolsüz hücre çoğalmasıyla ortaya çıkan anormal bir doku kitlesidir. Kanserlerin yapısındaki bazı özellikler iyi huyluluğu, diğer bazıları kötü huyluluğu, maligniteyi işaret eder. Benign ve malign kanserleri birbirinden ayırt ettirebilen güvenilir kriterler mevcuttur (Devita ve ark., 1997).

Kanserin nedeni, multifaktöryeldir. Genel olarak kabul edilen belli başlı kansere neden olan faktörler şunlardır. Bazı kimyasal maddeler, iyonizan radyasyon (ışın enerjisi) ve onkojenik virüsler. Bu üç temel etkenin dışında; güneşin ultraviyole (morötesi) ışınları, hava kirliliği, meslek faktörleri, hormonlar, sigara, alkol, yaş ve immun yetmezlik de sayılabilir (İçli, 1997; Engin ve Erişen, 2003).

Kanserin moleküler temeline baktığımızda, kanser gelişimi, büyük bir çoğunlukla çevresel faktörlere daha az olmak üzere de kalıtsal eğilime bağlıdır. Bunların hangisi olursa olsun, bir kanserin ortaya çıkmasında temel olay hücrenin genetik unsurlarında oluşur. Bu tür genetik hasar veya mutasyon için; kimyasal maddeler, radyasyon, virüsler gibi, çevresel faktörler etken olabilir. Hatta bu hasar kalıtsal da olabilir. Kanserde genetik hipotez, genetik hasara uğrayan tek bir öncü hücrenin klonal büyümesi ile ortaya çıkan bir tümör kitlesi olarak oluştuğunu destekler (İçli, 1997; Engin ve Erişen, 2003).

Hemen tüm örneklerde hücre çoğalması; hücre mitozunu kontrol eden genlerin mutasyonu veya anormal aktivasyonu sonucu oluşur ve bu çoğalma, kanser oluşmasının nedenidir. Kavramsal olarak, kanserler iki önemli biyolojik aşamada

ilerler. İlk aşama, artmış proliferasyon ve azalmış apoptozisin olduğu hücre siklus kontrol kaybıdır. Klinik olarak bu olay en çok karsinoma in-situlu hastalarda, epitelin tüm katlarında artmış sayıda bölünen hücreler çok açık bir şekilde izlenebilir. İkinci aşama, invazyon ve metastaza yol açan tümör hücre hareketliliğidir. Burada neoplastik epitelyal hücreler bazal membranı penetre eder ve alt dokuya invaze olur ve sonuç olarak bölgesel lenf nodüllerine ulaşır (Hanahan ve Weinberg, 2000).

Hücre büyümesini düzenlemede ve hücre membranından nükleusa sinyallerin iletilmesi gibi, fonksiyonu olan pekçok diğer onkogenler, kanserlerde değişime uğramaktadır. Bunlar fibroblast büyüme faktörleri, epitelyal büyüme faktör reseptörleri, nükleer regülatör proteinler için kodlayan genleri ve bunun gibi, bazı genleri içerir. Büyüme reseptörlerinin baskınlığı ile kanserli hasta artımı arasındaki ilişki, artık net olarak saptanmıştır (Hanahan ve Weinberg, 2000; Lingen ve ark., 2000; Nagpal ve Das, 2003; Oliver ve ark., 2009).

Tümörlerin boyut olarak 1 mm'den daha fazla büyümeleri için, yeni bir damarlanmaya (angiogenesis) gereksinim vardır. Bu yeni oluşum, tümör hücre aracılı indüksiyon veya angiogenik proteinlerin (örn. vasküler endotelyal büyüme faktörleri "VEGF" ve fibroblastik büyüme faktörleri "FGF") baskınlığı ile meydana gelir. Baş ve boyun kanserlerinde, bu tür angiogenik proteinler saptanmıştır ve bu tümörlerin gelişmesiyle ilgili angiogenesis için, sorumlu oldukları düşünülmektedir. Kanserden korunma, oluşumunu engelleyecek veya azaltacak tedbirlerin alınması (birincil korunma) ve erken tanı ve tedavi ile etkilerinin en aza indirilmesi (ikincil korunma) şeklinde iki ana başlık altında değerlendirilebilir. Kontrol edilebilecek bazı çevresel ve yaşam tarzı ile ilgili faktörlerin düzenlenmesi bazı kanserlerin oluşumunu

azaltabilir (Hanahan ve Weinberg, 2000; Lingen ve ark., 2000; Nagpal ve Das, 2003; Oliver ve ark., 2009).

Tıp ve diş hekimliği alanında hastalıkların tedavisinde standart tedavilerin yanında teknolojideki gelişmelere ve yapılan araştırmalarla uyumlu olarak farklı cihazların kullanımı ve dolayısıyla tedavi protokollerinin modifikasyonları gündeme gelmiştir. Bu amaçla araştırılan cihazlardan biri de lazerlerdir. DDLT'nin hücrenin normal fonksiyonlarını stimüle edici potansiyel bir etkisi olduğu düşünülmektedir. Hücre proliferasyonunu ve kollagen sentezini stimüle ettiği çalışmalarda gösterilmesine rağmen bu etkilerin, klinik sonuçları ne kadar değiştirebildiği tam olarak bilinmemektedir. Tıpta ve diş hekimliğinde yara iyileşmesi üzerine farklı lazerlerin kullanıldığı, ancak enerji yoğunluğunun terapötik pencere içerisinde uygulandığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. DDLT, diş hekimliğinde en fazla akut-kronik ağrı kontrolünde, herpes simpleksin tedavisinde, dentinal diş hassasiyetinin azaltılmasında, nevraljilerin ve inferior alveolar sinir yaralanmalarının düzeltilmesinde, doku iyileşmesini hızlandırmak için, ödemi ve enflamasyonu azaltmak için sıklıkla kullanılmaktadır (Parker, 2007b).

Yukarıdaki bilgiler ışığında, kanser doku hücrelerinin proliferasyon ve mitotik aktivite gücünün yanında hücre proliferasyonunu artırması nedeni ile günümüzde sıklıkla kullanılan DDLT'nin prekanserojen hücreleri aktive edebileceği veya var olan kanserli dokuyu artırabileceği hipotezi ile bu çalışmayı amaçladık. Yapılan çoğu çalışmalarda avantajları ve faydaları vurgulanan DDLT'nin daha kontrollü ve bilinçli kullanılması gerektiğini de göstermeyi istedik. Tıbbi deneylerin canlılar üzerinde yapılması etik açıdan birçok sorunu da beraberinde

getirebildiğinden (Kiremitçi, 1993), deneylerin yapılabilmesi için bu çalışmada hücre kültürü tekniklerinden faydalanıldı.

Günümüze kadar yapılan birçok hücre kültürü çalışmasında, deney ortamının hazırlanmasında kullanılan hücre yoğunlukları farklılıklar göstermektedir. Ancak çalışmalarda sıklıkla 6×10^3 ile 1.5×10^5 arasında değişen hücre yoğunluklarında kültür ortamları oluşturulmuştur. Çalışmamızı sonlandıracağımız zamana kadar DDLT'nin etkisi ile proliferasyonunu öngördüğümüz hücrelerin konfluent olup besiyerinin yetersiz kalmaması amacıyla 5×10^4 yoğunluğundaki hücre konsantrasyonu tercih edildi (Györgyey ve ark., 2013; Sun ve ark., 2013).

Tıp ve diş hekimliğinde teknolojidaki gelişmelere ve yapılan araştırmalarla uyumlu olarak farklı cihazların kullanımı ve dolayısıyla tedavi protokollerinin modifikasyonları gündeme gelmiştir. Bu amaçla araştırılan cihazlardan biri de lazerlerdir. Biyolojik yapılar üzerine lazerin etkilerinin, yayılan enerjinin dalga boyuna, ışığın enerji yoğunluğuna ve dokunun özelliklerine bağlı olduğu bilinmektedir. Kapsamlı bir literatür taraması yapıldığında diş hekimliğinde lazer ile tedavi uygulamalarının öncelikle oral ve maksillofasiyal cerrahi alanında başladığı ve son 20 yıl içerisinde büyük ilerleme kaydeden lazer teknolojisi ile ivme kazandığı görülmektedir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide endikasyon çerçevesinde en sık kullanılan lazer türleri CO₂, Nd:YAG, Er:YAG ve Diyet lazerlerdir. Maksillofasiyal cerrahi alanında bu lazer türleri ile günümüze deneysel ve klinik çok sayıda araştırma ve çalışma yapılmıştır (Apfelberg, 1987). DDLT pek çok klinik uygulamada sıklıkla kullanılmaya ve popülerite kazanmaya başlamıştır. DDLT'nin yara iyileşmesini hızlandırdığı ve enflamasyonu azaltıcı etkisi olduğu bildirilmektedir. Ancak hala DDLT sonucunda ortaya çıkan biyokimyasal reaksiyonlar ve herhangi bir yan

etkisinin olup olmadığı tam olarak açıklanmamıştır. DDLT'nin DNA sentezini arttırdığı, kollejen ve prokollejen miktarını arttırdığı, proliferasyon oranında artışa neden olduğu bildirilmiştir. Bunun yanı sıra hücrelerin lazer ışığının moleküler emilimi ile oluştuğu düşünülmektedir. Bu etkilerin lazerin cinsi, dalga boyu ve doza bağlı olduğu yapılan çalışmalarda farklı şekillerde kullanım sonucu elde edilen farklı sonuçlardan anlaşılmaktadır.

DDL T terapisi birkaç parametreyle açıklanabilir. Birinci parametre 1 ile 100 W arasında çalışan cerrahi lazerlerden farklı olarak 1 mW ile 400 mW arasında güçte sahip olmasıdır. Diğer önemli parametreler ise 300 ile 1064 nm arasında dalga boyuna sahip olmasının yanında aralıklı atımlı veya sürekli moda çalışabilmesi ve total dozlaşma süresinin 10 ila 3000 saniye arasında olabilmesidir. Bu parametrelerin değiştirilmesi ile 0.01 J/cm² ile 100 J/cm² arasında bir güç hedef dokuya aktarılabilir. Çeşitli çalışmalarda lazer uygulamalarında parametrelerin değişkenlik göstermesi DDLT'nin kesin bir protokole oturtulamadığını göstermektedir (Michael ve ark., 1996; William ve ark., 2005).

DDL terapileri için aralıklı veya sürekli atımlı ve görülür ve görülmez dalga boylu birçok farklı tip lazer önerilmektedir. İlk başlarda gaz lazerler kullanılmaya başlanmıştır. Birçok DDLT araştırmasında maliyetinin daha uygun olmasından dolayı He-Ne lazer kullanılmaktadır. Ancak son dönem çalışmalarında Nd:YAG lazerin daha derin dokulara penetre olabilmesinden dolayı daha fazla kullanıldığı görülmektedir. Biz de çalışmamızda bu bilgiler ışığında Nd:YAG lazeri kullanmayı uygun bulduk.

Günümüzde DDLT hücre bölünmesi ve kollajen liflerin, vaskülarizasyonun, esneme direncinin artması ve enzimatik değişikliklere neden olması sonucu deneysel

ve klinik uygulamalarda stimüle edici etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. DDLT terapisinin hücresel boyutta etkinliğini düşündüğümüzde bu terapinin, etkilerini anlayabilmek için birçok çalışma yapıldığını görmekteyiz. Bu çalışmalar genellikle hücre çoğalması ve kollajen sentezi miktarındaki değişimleri ele alan çalışmalar olmaktadır (Pereira ve ark., 2002). Bugüne dek yapılan çalışmalarda, düşük enerjili lazerin kullanılması ile ilgili çalışmaların birbirinden farklı sonuçlar verdiği gözlenmektedir. Araştırmacılar sonuçlardaki farklılığın nedeninin; araştırmalarda kullanılan lazerlerin tipi, dalga boyu, frekansı, süresi, sıklığı ve lazer uygulama teknikleri gibi parametrelerin farklı olmasından kaynaklandığını düşünmektedirler. Çalışmamızda da bu yüzden, 1064 nm dalga boyunda çalışan Nd: YAG lazeri biyostimülasyon probunu kullanarak farklı güç modlarında uygulama yaparak etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

DDLT uygulamasının ATP miktarını artırdığı, mitozu hızlandığı, doku tamirini düzelttiği, kemik tamirini stimüle ettiği, doku tamirinde kollajen ve elastik fibril birikimini normale döndürerek fibroblast üretimini dengelediği, periferik kan akımını artırdığı, antiinflamatuvar aktiviteyi düzelttiği bildirilmiştir (Kawasaki ve Shimizu, 2000). Çoğu klinik çalışmada DDLT'nin etkisi araştırılmıştır.

Lui ve ark. (2010) yaptığı çalışmada; kronik periodontitisin tedavisinde cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak uygulanan DDLT tedavi kombinasyonunun etkinliği değerlendirilmiştir. Düşük doz lazer terapisi için, 940 nm dalga boyunda, 1.5 W güçte, 4 J/cm² enerji yoğunluğunda diyet lazer her bir diş için 5-10 saniye süresince kullanılmıştır. Tedavi sonrası 1.ayda sondlamada kanama ve ortalama cep derinliği parametrelerinde, dişeti oluşu sıvısındaki IL-1 β seviyesinde DDLT uygulanan hastalarda kontrol grubuna kıyasla daha fazla azalma görülmüştür.

Farklı bir klinik çalışmada, yine kronik periodontitis hastalarının tedavisinde diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işlemlerine ek olarak DDLT'nin etkinliği değerlendirilmiştir. Diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirmesinin ardından 10 seans DDLT uygulanmıştır. DDLT için, 830 nm dalga boyunda, 100 mW güçte, 3 J/cm² enerji yoğunluğunda lazer kullanılmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında DDLT uygulanan grupta, cep derinliğinde büyük ölçüde azalma ve kemik yoğunluğunun daha fazla olduğu görülmüştür (Makhlouf ve ark., 2012).

Gingivektomi operasyonu sonrası DDLT uygulanması ardından dişeti iyileşmesinin değerlendirildiği bir çalışmada çift taraflı gingivektomi yapılan hastalarının bir tarafına 685 nm dalga boyu, 50 mW güçte ve 4 J/cm² enerji yoğunluğundaki lazer ile biyostimulasyon yapılırken diğer taraf kendiliğinden iyileşmeye bırakılmıştır. Klinik ve biyometrik değerlendirmede, lazer grubunda daha iyi iyileşme olduğu görülmüştür (Amorim ve ark., 2006).

Doğan ve ark. (2014) yaptığı çalışmada; çift taraflı kemikiçi periodontal defekti olan periodontitisli hastaların periodontal defektlerinin yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu tedavisinde greft ve membranın tek başına ya da 1064 nm dalga boyunda, 100 mW enerjide ve 4 J/cm² enerji yoğunluğunda Nd:YAG lazer kullanılarak yapılan DDLT ile birlikte kullanılmasının klinik sonuçları değerlendirildiği çalışmada, DDLT uygulanan grupta daha az dişeti çekilmesi, daha düşük sulkus kanama indeksi ve kemikiçi defekt derinliğinde daha fazla azalma ve klinik ataşman seviyesinde daha fazla kazanç görülmüştür.

Yara iyileşmesinde ve ağrıyı azaltmadaki olumlu etkileri nedeni ile diş hekimliğinin bir çok alanında DDLT sıklıkla kullanılmış ve bir çok araştırmaya konu olmuştur (Ustaoğlu ve ark., 2017; Cauwels ve ark., 2011; Özçelik ve ark.,2007)

Yukarıdaki klinik çalışmalar ışığında mitotik aktivasyon ve proliferasyonda artıştaki etkileri nedeni ile biz de bu çalışmamızda hem yumuşak hem de sert doku kanserlerinde Nd:YAG lazer kullanılarak yapılan DDLT'nin etkisini araştırmayı amaçladık.

Klinik araştırmaların yanında DDLT'nin etkisi deney hayvanları üzerinde ve in vitro olarak da araştırılmıştır.

Üşümez ve ark. (2013) yaptığı çalışmada; Wistar albino sıçanlarındaki mukozitis tedavisinde 4 farklı dalga boyundaki (660, 810, 980 ve 1064 nm) lazerler ile DDLT uygulanarak trombosit türevi büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü (TGF- β) ve fibroblast büyüme faktörü (bFGF) üzerindeki etkileri karşılaştırmışlardır. En yüksek PDGF ve bFGF ekspresyonu, Nd:YAG lazer grubunda bulunmuş ve bu bulgu ışığında DDLT'nin hücre proliferasyonunun ve fibroblast büyümesinin uyarılmasından sorumlu PDGF ve bFGF genlerinin ekspresyonu yaparak yara iyileştirme sürecini hızlandırdığını ortaya koymuşlardır.

Demir ve ark. (2010) yaptığı çalışmada; vestibuloplasti operasyonu yapılan tavşanlara düşük doz lazer terapisi yapılmasının ardından oral mukozanın iyileşmesi klinik ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Lazer terapisi için 1064 nm dalga boylu, 1 W çıkış gücü, 100 mJ enerji ve 50 Hz frekanstaki Nd:YAG lazer ile 3 dakika boyunca, haftada 4 kez olmak üzere DDLT uygulanmıştır. Sonuçların klinik değerlendirilmesinde, DDLT uygulanan yara yüzeylerinin postoperatif 4., 7. ve 10. günlerde diğer gruplara göre daha iyi iyileştiği görülmüştür. Histopatolojik değerlendirmede ise; lazer cerrahisi uygulanan gruplarda epitelde hiperkeratozis ve parakeratinizasyon bölgeleri görülmüştür. Aynı zamanda bu gruplarda epitelin alt yüzeyine doğru uzanan uzun ve düzensiz bağ dokusu çıkıntıları görülmüştür.

Yumuşak doku operasyonları için kullanılan DDLT'nin, daha iyi ve daha hızlı yara iyileşmesi sağladığı ve aynı zamanda DDLT'nin epitelizasyonu arttırdığı gösterilmiştir.

Yine aynı çalışma ekibinin yaptığı başka bir çalışmada; serbest dişeti grefti operasyonları yapılan tavşanlara DDLT yapılmasının ardından oral mukozanın iyileşmesi histopatolojik olarak değerlendirmiştir. Yaranın tam olarak iyileşmesi DDLT uygulanan tavşanlarda daha hızlı gerçekleştiği ve epitelde stratum korneum tabakasında kalınlaşma (hiperkeratoz) olduğu görülmüştür. Buna ek olarak DDLT uygulanmış tavşan epitellerinde epitel hücre hiperplazisini belirten birçok mitotik şekil görülmüştür. Epitelin alt yüzeyinde ise uzun ve düzensiz bağ dokusu çıkıntıları ve mononükleer hücre infiltrasyonları görülmüştür (Kara ve ark., 2013).

Farklı hayvan çalışmalarında da, DDLT'nin, yeni kemik oluşumu sırasında kalsiyum göçünü etkileyerek kemik iyileşme sürecinde etkili olduğu ve kemik maturasyonunun daha hızlı olduğu gösterilmiştir (Nissan ve ark., 2006; Khadra ve ark., 2004).

Hücre kültürleri, araştırılacak hücre sistemlerin izole edilebilirliği ve hücresel olayların belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilebilirliği, daha ekonomik olmaları, çoklu kültürlerin yeniden üretilebilmeleri, hayvanların hastalanmasına veya ölümüne sebebiyet verilmemesi ve ayrıntılı biyokimyasal ve moleküler analizlere uygun olmaları gibi avantajları nedeniyle kullanılmaktadır. Bu nedenlerden dolayı, çalışmamızın in vivo yerine, hücre kültürü yönteminden faydalanılarak yapılması, standart deney işlemlerinin gerçekleştirilebilmesi, kısa sürede sonuç alınabilmesi ve sayısal değerler elde edilebilmesi gibi avantajlar sağlamıştır.

Basso ve ark. (2012) yaptığı in vitro çalışmada; DDLT'nin insan keratinosit hücrelerine etkilerini değerlendirmişlerdir. DDLT için, 780 nm dalga boyunda, 40 mW güçte, 40, 120, 240 ve 400 sn. (sırasıyla 0.5, 1.5, 3, ve 7 J/cm² enerji yoğunluğunda) süreyle diyot lazer kullanılarak 24 saat arayla ardışık 3 gün boyunca uygulama yapılmıştır. 0.5 ile 3 J/cm² arasında değişen enerji dozlarında DDLT keratinositlerde en önemli biyostimülatör etkiye neden olduğu bulunmuştur.

Kreisler ve ark. (2002) yaptığı in vitro çalışmada; DDLT'nin insan gingival fibroblast hücreleri üzerindeki proliferasyon etkisinin belirgin olduğu ancak bu etkinin süresinin sınırlı olduğunu bulmuşlardır. Bu bulgular klinik uygulamalarda pozitif bir lazer etkisi elde edebilmek için tekrarlanan uygulamaların gerekli olduğunu göstermektedir.

Genel olarak çalışmamızdaki hücre kültürlerinden elde ettiğimiz veriler incelendiğinde, hücre proliferasyon oranlarının, lazer uygulanan kültürlerde kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. Bununla birlikte, 3 watt güçle ışınlama yapılan hücrelerde ise daha düşük hücre proliferasyonu olduğu tespit edildi. Uygulama periyotları bakımından hücre proliferasyonu düzeylerine baktığımızda, uygulama sıklığı arttıkça proliferasyon oranlarında kontrol grubundaki hücrelere göre artma olduğu, özellikle 2 ve 3 kez ışınlama yapılan örneklerde bu oranın belirgin düzeyde daha fazla arttığı görüldü. Yine 3 watt güçle 3 kez ışınlama yapılan örneklerde daha az proliferasyon olduğu gözlemlendi.

DDLT'nin kemik hücreleri üzerine etkileri de birçok çalışma ile araştırılmıştır. DDLT'nin insan osteoblast hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması üzerine etkisini araştırıldığı bir in vitro çalışmada hiç ışınlanmamış hücrelere kıyasla bir kez ışınlanmış hücrelerin % 31-58 oranında sağ kalımında artış olduğu ve ışınlanmış

hücrelerde alkalın fosfataz aktivitesi, osteopontin ve kemik sialoproteinin ekspresyonu ışınlanmamış hücrelere oranla 2 kat daha fazla olduğu görülmüştür (Stein ve ark., 2005).

Saygun ve ark. (2012) yaptığı in vitro çalışmada; osteoblastlara DDLT uygulanarak basic fibroblast büyüme faktör (bFGF), insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) ve IGF-1 reseptörü (IGFBP3)'nün osteoblastlardan salınımını artırıp arttırmadığını değerlendirmişlerdir. Işınlanmış gruplarda, kontrol grubuna göre daha fazla hücre proliferasyonu, hücre canlılığı, bFGF, IGF-1 ve IGFBP3 ekspresyonu görülmüştür. Tek doz grubuna kıyasla, çift doz grubunda bFGF, IGF-1 parametrelerinde artış, IGFBP3 parametresinde azalma görülmüştür. Çalışmanın sonuçları, DDLT'nin osteoblast hücrelerinin çoğalmasını arttırdığını ve bu hücrelerden bFGF, IGF-I ve IGFBP3 salınımını uyardığını göstermektedir.

Renno ve ark. (2007) yaptığı in vitro çalışmada; düşük doz lazer terapisinin normal osteoblast hücrelerinin ve malign osteosarkom hücrelerinin proliferasyonuna etkisi araştırmışlardır. DDLT için 830 nm, 780 nm ve 670 nm olmak üzere 3 farklı dalga boyunda ve sırasıyla 30 mW, 50 mW ve 10 mW güçte, 0.5, 1, 5 ve 10 J/cm² enerji yoğunluğunda ışınlar hücrelerin ekiminden 24 saat sonra tek doz olarak uygulanmıştır. Osteoblast proliferasyonunun 830 nm (10 J/cm² enerjideki) lazer ışınlanması sonrasında önemli derecede arttığı ancak 780 nm (1, 5, ve 10 J/cm² enerji yoğunluğunda) ışınlama sonrasında azaldığı görülmüştür. Osteosarkom hücre proliferasyonu 670 nm (5 J/cm² enerji yoğunluğunda) ve 780 nm lazer ışınlanması (1, 5 ve 10 J/cm²) sonrası önemli ölçüde arttığı görülmüştür ancak bu etki 830 nm lazer ışınlanması sonrasında görülmemiştir. Osteoblastlardaki alkalın fosfataz (ALP) aktivitesi 10 J/cm² enerjideki 830 nm dalga boyundaki lazer ışınlanması sonrası arttığı

görülmüştür ancak osteosarkom hücrelerinde ALP aktivitesi lazer dalga boyu ve yoğunluğundan bağımsız olarak değişmemiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak, her hücrenin farklı dalga boyu ve doz kombinasyonlarına farklı tepkiler göstermekte olduğu sonucuna varılmaktadır.

Çalışmamızda da, Saos-2 hücreleri için en fazla proliferasyon 1 watt uygulanan hücrelerde gözlemlendi. Özellikle tüm farklı güç değerlerindeki ışınlama uygulanan hücre kültürlerinde kontrol grubuna göre proliferasyon düzeylerinde istatistiksel olarak bir artış olsa da, 1 watt güç düzeylerindeki artış 0.5 ve 2 watt güç düzeyine göre daha fazla ve en düşük ise 3 watt ışınlanma yapılan hücre örneklerinde tespit edilmiştir. Saos-2 hücreleri için test ve kontrol grubundaki proliferasyon oranları lazer ışınlanma uygulama sayısı bakımından karşılaştırıldığında; 2 ve 3 kez uygulama yapılanlardaki artışın 1 kez yapılanlara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak en yüksek ortalama proliferasyon değeri 3 kez ve 1 watt güçle uygulama yapılan, en düşük ise 3 kez 3 watt güçle ışınlanma yapılan hücre örneklerinden elde edildi.

Kanser dokuları üzerine de DDLT'nin etkileri araştırılmıştır. DDLT uygulanan H.Ep.2 hücrelerinin proliferasyonu üzerinde zamanın, tedavinin ve dalga boyunun etkisi değerlendirildiği invitro bir çalışmada DDLT için, 685 nm (31 mW) ve 830 nm (34.5 mW) olmak üzere 2 farklı dalga boyunda aynı enerji yoğunluğunda (4 J/cm²) diyot lazer ile ışınlama yapılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre; zaman, dalga boyu ve tedavi H.Ep.2 hücrelerinin proliferasyon sürecini etkilediği gösterilmiştir (Werneck ve ark., 2005).

Kreisler ve ark. (2002) yaptığı in vitro çalışmada DDLT uygulanan insan larinks karsinom hücrelerinin proliferasyon hızını değerlendirdiği araştırmalarında, DDLT

için 809 nm dalga boyunda, 10 mW güçte, 75-300 sn. (1.96-7.84 J/cm² enerji yoğunluğunda) süre ile GaAlAs lazer kullanılmış ve DDLT uygulanmış hücrelerde proliferasyon hızının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

DDLT'nin oral KB karsinoma hücrelerine (De Castro ve ark., 2005), insan göğüs kanseri, melanoma ve meme epitel hücrelerine (Powell ve ark., 2010) ve akciğer kanseri kök hücrelerine (Crous ve ark., 2015) proliferasyon etkisinin değerlendirildiği çalışmalarda, lazer tedavisinin proliferasyonda pozitif biyomodülatör bir etkiye sahip olduğu ve bunun dalga boyundan etkilendiği sonucuna varılmıştır. DDLT'nin melanoma hücreleri (B16F10) üzerindeki etkisinin değerlendirildiği başka bir çalışmada DDLT'nin melanom tümörünün büyümesini önemli ölçüde arttırdığından melanom hücrelerine DDLT uygulamasından kaçınılması sonucuna varılmıştır (Frigo ve ark. 2009).

İnsan oral karsinoma hücre hattında (SCC-25) DDLT'nin hücre proliferasyonu, hücre döngüsü dağılımı ve apoptoz üzerindeki etkileri değerlendirdikleri bir çalışmada ise DDLT'nin tümör hücrelerinin proliferasyonunu teşvik edici etki göstermediği bulunmuştur (Schartinger ve ark. 2011).

Çalışmamızda da A549 akciğer kanser hücreleri için DDLT hücre proliferasyonunu anlamlı düzeyde artımına sebep olmuştur. En fazla proliferasyon 1 ve 2 watt uygulanan hücrelerde gözlemlendi. Bununla birlikte 3 watt güçte ışınlanma yapılan hücre örneklerinde ise hücre sağkalımında negatif yönde bir etki olduğu gözlemlendi. Lazer ışınlanma uygulama sayısı bakımından da en fazla proliferasyon 2 ve 3 kez uygulama yapılan hücrelerde gözlemlendi. Bu sonuçlarda yukarıdaki çalışmalarla her ne kadar farklı lazer türleri ve farklı enerji düzeyleri kullanılmış olsa da benzerlik göstermektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışmada aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

Hem yumuşak doku hem de sert doku kanser hücrelerine Nd: YAG lazer (1064 nm) kullanılarak uygulanan düşük doz lazer terapisi hücre proliferasyon oranlarını arttırmaktadır. En fazla proliferasyon oranı 1 ve 2 watt güç düzeylerinde uygulama yapılan hücrelerde meydana gelirken, 3 watt güç düzeyinde uygulama yapılan hücrelerin proliferasyon oranlarında azalma olmaktadır. Günlük periyotlar ile uygulama sayısı arttıkça da, hücre proliferasyon oranlarında artma olmaktadır.

Günümüz dişhekimliğinde sıklıkla kullanılan DDLT'nin prekanserojen hücreleri aktive edebileceği veya var olan kanserli dokuyu stimüle ederek proliferasyon şiddetini arttırabileceğinden klinik DDLT'den önce hastalardan mutlaka detaylı anamnez alınmalı ve iyi bir klinik muayene yapılmalıdır.

DDLT uygulanırken, lazer parametrelerinde değişiklik yapılması, dokuya ulaşan doz miktarında ve buna bağlı olarak dokuda meydana getirdiği etkilerde farklılıklara yol açmaktadır. Günümüze kadar yapılan DDLT çalışmalarında lazer parametreleri değişkenlik göstermektedir ve bu parametreler kesin bir protokole oturtulamamıştır. Lazerin hücre ve doku üzerindeki etkileri anlayabilmek için daha ileriki çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- Almeida-Lopes, L., Rigau, J., Zângaro, R.A., Guidugli-Neto, J., Jaeger, M.M. (2001). Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surgery and Medicine*, 292, 179-184.
- Amorim, J.C., de Sousa, G.R., de Barros, S.L., Prates, R.A., Pinotti, M., Ribeiro, M.S. (2006). Clinical study of the gingiva healing after gingivectomy and low-level laser therapy. *Photomedicine and Laser Surgery*, 245, 588-594.
- Aoki, A., Sasaki, K.M., Watanabe, H., Ishikawa, I. (2004). Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology 2000*, 36, 59-97.
- Apfelberg, D. (1987). *Evaluation and Installation of Surgical Laser Systems*. Springer-Verla, New York.
- Arany, P.R., Nayak, R.S., Hallikerimath, S., Limaye, A.M., Kale, A.D., Kondaiah, P. (2007). Activation of latent TGF-beta1 by low-power laser in vitro correlates with increased TGF-beta1 levels in laser-enhanced oral wound healing. *Wound Repair Regeneration*, 156, 866-874.
- Aukhil, I. (2000). Biology of wound healing. *Periodontology 2000*, 22, 44-50.
- Basso, F.G., Oliveira, C.F., Kurachi, C., Hebling, J., Costa, C.A. (2013). Biostimulatory effect of low-level laser therapy on keratinocytes in vitro. *Lasers in Medical Science* 28(2), 367-374.
- Başerer, N. (2003). Oral Kavite Kanserleri In: Engin, K., Erişen, L. *Baş-Boyun Kanserleri 1*. Baskı Nobel Matbaacılık, İstanbul, 237-270.

Bilgel, N. (2003). Baş-boyun kanserlerinin epidemiyolojisi. İç: Engin, K., Erişen, L. Baş-Boyun Kanserleri 1.baskı Nobel Matbaacılık, İstanbul, 33-36.

Biocompare.com. <http://www.biocompare.com/Editorial-Articles/117892-Cell-Proliferation-Assays/> [Access date: November 05, 2012]

Bjordal, J.M., Couppé, C., Chow, R.T., Tunér, J., Ljunggren, E.A. (2003). A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. Australian Journal of Physiotherapy, 49, 107-116.

Boring, C.C., Squires, T.S., Tong, T., Montgomery, S. (1994). Cancer statistics, 1994. CA Cancer Journal for Clinicians, 44 (1), 7-26.

Borrajó, J.L., Varela, L.G., Castro, G.L., Rodríguez-Nuñez, I., Torreira, M.G. (2004). Diode laser (980 nm) as adjunct to scaling and root planing. Photomedicine and Laser Surgery, 22(6), 509-512.

Boyle, P., Levin, B. (2008). World Cancer Report, IARC Press., Lyon.

Brosseau, L., Welch, V., Wells, G., Tugwell, P., de Bie, R., Gam, A., Harman, K., Shea, B., Morin, M. (2000). Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a metaanalysis. The Journal of Rheumatology, 27, 1961-1969.

Byrnes, K.R., Barna, L., Chenault, V.M., Waynant, R.W., Ilev, I.K., Longo, L., Miracco, C., Johnson, B., Anders, J.J. (2004). Photobiomodulation improves cutaneous wound healing in an animal model of type II diabetes. Photomedicine and Laser Surgery, 22(4), 281-290.

- Cauwels, R.G., Martens, L.C. (2011). Low level laser therapy in oral mucositis: a pilot study. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 12(2), 118-123.
- Cawson, R.A., Binnie, W.H., Barrett, A.W., Wright, J.M. (2001). *Oral Disease Clinical and Pathological Correlations*. 3. ed. Mosby, Edinburgh.
- Cawson, R.A., Odell, E.W., Porter, S. (2002). *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine*. 7. ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, 230-254.
- Celis, J. E. (1998). *Cell biology: A laboratory handbook*, Vol. 2. Academic Press, San Diego, CA.
- Coluzzi, D.J. (2000). An overview of laser wavelengths used in dentistry. *Dental Clinics of North America*, 44, 753-765.
- Coluzzi, D.J. (2004) *Fundamentals of Dental Lasers: Science and Instruments*. *Dental Clinics of North America*, 48, 751-770.
- Convissar, R.A. (2004) *The Biologic Rationale For The Use of Lasers in Dentistry*. *Dental Clinics of North America*, 48, 771-794.
- Coombe, A.R., Ho, C.T., Darendeliler, M.A., Hunter, N., Philips, J.R., Chapple, C.C. (2001). The effects of low level laser irradiation on osteoblastic cells. *Clinical Orthodontics and Research*, 4 (1), 3-14.
- Cortez, C.C., Jones, P.A. (2008). Chromatin, cancer and drug therapies. *Mutation Research*, 647(1-2), 44-51.
- Crous, A., Abrahamse, H. (2016). Low -intensity laser irradiation at 636 nm induces increased viability and proliferation in isolated lung cancer stem cells. *Photomedicine and Laser Surgery*, 34(11), 525-532.

- Daniell, M.D., Hill, J.S. (1991). A history of photodynamic therapy. *The Australian and New Zealand Journal of Surgery*, 61 (5), 340-348.
- De Castro, J.L.F., Pinheiro, A.L.B., Werneck, C.E., Soares, C.P. (2005). The Effect of Laser Therapy on the Proliferation of Oral KB Carcinoma Cells: An in Vitro Study. *Photomedicine and Laser Surgery*, 23(6), 586-589.
- Demir, T., Kara, C., Özbek, E., Kalkan, Y. (2010). Evaluation of Neodymium-Doped Yttrium Aluminium Garnet Laser, Scalpel Incision Wounds, and Low-Level Laser Therapy for Wound Healing in Rabbit Oral Mucosa: A Pilot Study. *Photomedicine and Laser Surgery*, 28(1), 31-37.
- Demireller, A., Serin, M., Erkel, H.Ş., Manavoğlu, O., Kurt, E. (2003). Tedavi Prensipleri. İç: Engin, K., Erişen, L. *Baş-Boyun Kanserleri 1. Baskı Nobel Matbaacılık, İstanbul*, 121-142.
- Devita, V.T., Hellman, S., Rosenberg, S.A. (1997). *Cancer: principles and practice of oncology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.
- Doğan, G.E., Demir, T., Orbak, R. (2014). Effect of Low-Level Laser on Guided Tissue Regeneration Performed with Equine Bone and Membrane in the Treatment of Intrabody Defects: A Clinical Study. *Photomedicine and Laser Surgery*, 32(4), 226-231.
- Engin, K., Erişen, L. (2003). *Baş-boyun kanserleri. 1nci Baskı, Ankara: Nobel Tıp Kitabevi.*
- Frigo, L., Luppi, J.S., Lopes-Martins, R.A. (2009). The Effect of Low-Level Laser Irradiation (In-Ga-Al-AsP - 660 nm) on Melanoma In Vitro and In Vivo. *BMC Cancer*, 20(9), 404.

- Gillison, M.L. (2007). Current topics in the epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. *Head and Neck*, 29, 779-792.
- Gunderson, L., Tepper, J. (2000). *Clinical Radiation Oncology*. 1st ed. Philadelphia: Churchill- Livingstone.
- Györgyey, Á., Ungvári, K., Kecskeméti, G., Kopniczky, J., Hopp, B., Oszkó, A., Turzó, K. (2013). Attachment and proliferation of human osteoblast-like cells (MG-63) on laser-ablated titanium implant material. *Materials Science and Engineering: C*, 33(7), 4251-4259.
- Halperin, E.C., Brady, L.W., Perez, C.A., Wazer, D.E. (2013). *Principles and practice of radiation oncology*. 6rd ed., Wolters Kluwer.
- Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2000). The hallmarksof cancer. *Cell* 100, 57-70.
- Hawkins, D., Abrahamse, H. (2004). The release of interleukin-6 after Low Level Laser Therapy LLLT and the effect on migration and proliferation of human skin fibroblasts-An in vitro study. *Medical Technology South Africa*, 18, 11-15.
- Hawkins, D.H., Abrahamse, H. (2008). Efficacy of three different laser wavelengths for *in vitro* wound healing. *Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine*, 24, 199-210.
- Herceg, Z., Hainaut, P. (2007). Genetic and epigenetic alterations as biomarkers for cancer detection, diagnosis and prognosis. *Molecular Oncology*, 1, 26-41.
- İçli, F. (1997). *Kanser Tedavisinin Genel Prensipleri: Tıbbi Onkoloji Ed.*, 97-103.

- Jemal, A., Clegg, L.X., Ward, E., Ries, L.A., Wu, X., Jamison, P.M., Wingo, P.A., Howe, H.L., Anderson, R.N., Edwards, B.K. (2004). Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2001, with a special feature regarding survival. *Cancer*, 101(1), 3-27.
- Kara C, Demir T, Özbek E. (2013). Evaluation of Low-Level Laser Therapy in Rabbit Oral Mucosa After Soft Tissue Graft Application: A pilot study. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 15(6), 326-329.
- Kawasaki, K., Shimizu, N. (2000). Effects of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. *Lasers in Surgery and Medicine*, 26, 282-291.
- Khadra, M., Renold, H.J., Lyngstadaas, S.P., Ellingsen, J.E., Haanæs, H.R. (2004). Low-level laser therapy stimulates bone implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clinical Oral Implants Research*, 15, 325–332.
- Kiremitçi M. Doku Mühendisliği. (1993). *Bilim ve Teknik Dergisi*.;26(307);465-466.
- Knappe, V., Frank, F., Rohde, E. (2004). Principles of lasers and biophotonic effects. *Photomedicine and Laser Surgery*, 225, 411-417.
- Kreisler, M., Christoffers, A.B., Al-Haj, H., Willershausen, B., d'Hoedt, B. (2002). Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. *Lasers Surgery and Medicine* 30(5), 365-369.
- Leeser, O. (1953). Support of homeopathy by the Arndt-Schulz law. *Hippokrates*, 31, 417-421.

- Lingen, M.W., Chang, K.W., McMurray, S.J., Solt, D.B., Kies, M.S., Mittal, B.B., Haines, G.K., Pelzer, H.J. (2000). Overexpression of p53 in squamous cell carcinoma of the tongue in young patients with no known risk factors is not associated with mutations in exons 5-9. *Head and Neck*, 22, 328-335.
- Louis, K. S., Siegel, A. C. (2011). Cell viability analysis using trypan blue: manual and automated methods. *Mammalian cell viability: methods and protocols*, 7-12.
- Lui, J., Corbet, E.F., Jin, L. (2011). Combined photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 46, 89–96.
- Makhlouf, M., Dahaba, M.M., Tunér, J., Eissa, S.A., Harhash, T.A. (2012). Effect of adjunctive low level laser therapy (LLLT) on nonsurgical treatment of chronic periodontitis. *Photomedicine and Laser Surgery*, 30(3), 160-166.
- Martinasso, G., Mozzati, M., Pol, R., Canuto, R.A., Muzio, G. (2007). Effect of superpulsed laser irradiation on bone formation in a human osteoblast-like cell line. *Minerva Stomatologica*, 56 (1-2), 27-30.
- Mashberg, A., Bofetta, P., Winkelman, R., Garfinkel, L. (1993). Tobacco, smoking, alcohol drinking and cancer of oral cavity and oropharynx among US veterans. *Cancer*, 72, 1369-1375.
- Mavrogiannis, M., Thomason, J.M., Seymour, R.A. (2004). Lasers in periodontology. *Dental Update*, 31(9), 535-547.

- McLaughlin, M.P., Mendenhall, W.M., Million, R.R. (2000). Oral cavity cancers. In: Gunderson, L., Tepper, J. *Clinical Radiation Oncology*. 1st ed. Philadelphia: Churchill- Livingstone, 428-454.
- Medrado, A.R., Pugliese, L.S., Reis, S.R., Andrade, Z.A. (2003). Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. *Lasers Surgery and Medicine*, 323, 239-244.
- Merlo, L.M., Pepper, J.W., Reid, B.J., Maley, C.C. (2006). Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nature Reviews Cancer*, 6(12), 924-935.
- Michael, J., Conlan, John. W., Rapley C.M. (1996). Biostimulation of wound healing by low energy laser irradiation *Journal of Clinical Periodontology*, 23, 492-496.
- Miserendino, L.J., Pick, R.M. (1995). *Lasers in Dentistry*. Chicago, Quintessence.
- Mognato, M., Squizzato, F., Facchin, F., Zaghetto, L., Corti, L. (2004). Cell growth modulation of human cells irradiated in vitro with low-level laser therapy. *Photomedicine and Laser Surgery*, 226, 523-526.
- Moritz, A. (2006). *Oral Laser Application*. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin, chapter 11, 449-501.
- Myers, T.D., Myers, W.D., Stone, R.M. (1989). First soft tissue study utilizing a pulsed Nd: YAG dental laser. *Northwest Dentistry*, 68(2), 14-17.
- Nagpal, J.K., Das, B.R. (2003). Oral Cancer: Reviewing the present understanding of its molecular mechanism and exploring the future directions for its effective management. *Oral Oncology*, 39, 213-221.

- Neville, B.W., Day, T.A. (2002). Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 52, 195-215.
- Niemz, M.H. (2004). *Laser- Tissue Interactions (3th Edition)*. Leipzig, Germany, Springer.
- Nissan, J., Assif, D., Gross, M.D., Yaffe, A., Binderman, I. (2006). Effect of low intensity laser irradiation on surgically created bony defects in rats. *Journal of Oral Rehabilitation*, 33(8), 619-624.
- Olivier, M., Petitjean, A., Marcel, V., Petre, A., Mounawar, M., Plymoth, A., de Fromental, C.C., Hainaut, P. (2009). Recent advances in p53 research: an interdisciplinary perspective. *Cancer Gene Therapy*, 16, 1-12.
- Ord, R.A. (2000). Diagnostic Procedures. In: Ord, R.A., Blanchaert, R.H. *Oral Cancer The Dentist's Role in Diagnosis, Management, Rehabilitation, and Prevention*. 1th ed. Quintessence Publishing Co Inc, Chicago, 39-48.
- Ord, R.A. (2000). Types of Oral Cancer. In: Ord, R.A., Blanchaert, R.H. *Oral Cancer The Dentist's Role in Diagnosis, Management, Rehabilitation, and Prevention*. 1th ed. Quintessence Publishing Co Inc, Chicago, 65-77.
- Ozcelik, O., Haytac, M.C., Seydaoglu, G. (2008). Enamel matrix derivative and low-level laser therapy in the treatment of intra-bony defects: a randomized placebo-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 147–156.
- Parker, S. (2007a). Introduction, History of Lasers and Laser Light Production. *British Dental Journal*, 202, 21-31.

- Parker, S. (2007b). Low-level laser use in dentistry. *British Dental Journal*, 202, 131-138.
- Parkin, D.M., Bray, F., Ferlay, J., Pisani, P. (2005). Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 55, 74-108.
- Passarella, S. (1984). Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *FEBS Letter*, 175, 95-99.
- Pereira, A.N., Eduardo, Cde, P., Matson, E., Marques, M.M. (2002). Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers Surgery and Medicine*. 314, 263-267.
- Pericot, J., Escriba, J.M., Valdes, A., Biosca, M.J., Monner, A., Castellsague, X., Galiana, R., Piulachs, P., Escutia, E., Mari, A. (2000). Survival evaluation of treatment modality in squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Journal of Craniomaxillofacial Surgery*, 28, 49-55.
- Piccione, P.J. (2004). Dental laser safety. *Dental Clinics of North America* 48, 795-807.
- Pintos, J., Black, M.J., Sadeghi, N., Ghadrian, P., Zeitouni, A.G., Viscidi, R.P., Herrero, R., Coutlee, F., Franco, E.L. (2008). Human papillomavirus infection and oral cancer: A case control study in Montreal, Canada. *Oral Oncology*, 44, 242-250.
- Posten, W., Wrone, D.A., Dover, J.S., Arndt, K.A., Silapunt, S., Alam, M. (2005). Low-Level Laser Therapy for Wound Healing: Mechanism and Efficacy. *Dermatologic Surgery*, 31, 334-340.

- Powell, K., Low, P., McDonnell, P.A., Laakso, E.L., Ralph, S.J. (2010). The effect of laser irradiation on proliferation of human breast carcinoma, melanoma, and immortalized mammary epithelial cells. *Photomedicine and Laser Surgery*, 28(1), 115-123.
- Renno, A.C., McDonnell, P.A., Parizotto, N.A., Laakso, E.L. (2007). The effects of laser irradiation on osteoblast and osteosarcoma cell proliferation and differentiation in vitro. *Photomedicine and Laser Surgery*, 25(4), 275-280.
- Saygun, I., Nizam, N., Ural, A.U., Serdar, M.A., Avcu, F., Tözüm, T.F. (2012). Low-level laser irradiation affects the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin likegrowth factor-I (IGF-I), and receptor of IGF-I (IGFBP3) from osteoblasts. *Photomedicine and Laser Surgery*, 30(3), 149-154.
- Schartinger, V.H., Galvan, O., Riechelmann, H., Dudás, J. (2012). Differential responses of fibroblasts, non-neoplastic epithelial cells, and oralcarcinoma cells to low-level laser therapy. *Supportive Care in Cancer*, 20(3), 523-529.
- Schindl, A., Schindl, M., Pernerstorfer-Schön, H., Schindl, L. (2000). Low-intensity laser therapy: a review. *Journal of Investigative Medicine*, 48, 312-326.
- Silverman, S. (2001). Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers. The outcomes, the trends, the challenge. *The Journal of The American Dental Association*, 132, 7-11.
- Springer, V., Hossfeld, D.K. (1992). *Manual of clinical oncology*. 5th ed. New York, UICC.

- Stein, A., Benayahu, D., Maltz, L., Oron, U. (2005). Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro. *Photomedicine and Laser Surgery*, 23(2), 161-166.
- Stewart, B.W., Wild, C.P. (2014). *World Cancer Report*. IARC Press., Lyon.
- Strauss, R.A., Fallon, S.D. (2004). *Lasers in Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*. *Dental Clinics of North America*, 48, 861-888.
- Sun, G., Tunér, J. (2004). Low-level laser therapy in dentistry. *Dental Clinics of North America*, 48, 1061-1076.
- Sun, S., Yu, W., Zhang, Y., Zhang, F. (2013). Increased preosteoblast adhesion and osteogenic gene expression on TiO₂ nanotubes modified with KRSR. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24(4), 1079-1091.
- Tuner, J. (2004). Low-Level Laser Therapy in dentistry. *Dental Clinics of North America*, 48, 1061-1076.
- Tuner, J., Hode, L. (2007a). Biostimulation. In *The laser therapy handbook*. Prima Books AB, Sweden, 3, 61-116.
- Tuner, J., Hode, L. (2007b). Medical indications. In *The laser therapy handbook*. Prima Books AB, Sweden, 4, 117-206.
- Tuner, J., Hode, L. (2007c). Some basic laser physics. In *The laser therapy handbook*. Prima Books AB, Sweden, 1: 8-44.
- Tuner, J., Hode, L. (2007d). The mechanisms. In *The laser therapy handbook*. Prima Books AB, Sweden, 11, 339-375.

Uğurluer, G. (2003). Oral kavite tümörlerinde prognostik faktörlerin ve sağkalımın retrospektif incelenmesi. Uzmanlık Tezi. Ankara: Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı.

Ustaoglu, G., Ercan E., Tunalı, M. (2017). Low Level Laser Therapy in Enhancing Wound Healing and Preserving Tissue Thickness at Free Gingival Graft Donor Sites: A Randomized, Controlled Clinical Study. *Photomedicine and Laser Surgery*, 35(4), 223-230.

Usumez, A., Cengiz, B., Oztuzcu, S., Demir, T., Aras, M.H., Gutknecht, N. (2014). Effects of laser irradiation at different wavelengths (660, 810, 980, and 1,064 nm) on mucositis in an animal model of wound healing. *Lasers in Medical Science*, 29(6), 1807-1813.

van der Waal, I. (1995). The diagnosis and treatment of precancerous lesions. *FDI World*, 4, 6-9.

Verdaasdonkz, R.M., Van Swol, C.F.P. (1997). Laser Light Delivery Systems for Medical Applications. *Physics in Medicine and Biology*, 42, 869-894.

Walsh, L.J. (1994). Dental lasers: some basic principles. *Postgraduate Dental*, 4, 26-29.

Walsh, L.J. (1997). The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Australian Dental Journal*, 42 (4), 247-254.

Werneck, C.E., Pinheiro, A.L., Pacheco, M.T., Soares, C.P., de Castro, J.L. (2003). Laser light is capable of inducing proliferation of carcinoma cells in culture: a spectroscopic in vitro study. *Photomedicine and Laser Surgery*, 23(3), 300-303.

Wigdor, H.A., Walsh, J.T., Featherstone, J.D., Visuri, S.R., Fried, D., Waldvogel, J.L. (1995). Lasers in dentistry. *Lasers Surgery and Medicine*, 16 (2), 103-133.

William, P.M., David, A., Wrone, M., Jeffrey, S., Dover, M., Kenneth, A., Arndt, M., Sirunya, S.M., Muarad, A. (2005). Low-Level Laser Therapy for Wound Healing: Mechanism and Efficacy. *Dermatology Surgery*, 31, 334–340.

Woodruff, L.D., Bounkeo, J.M., Brannon, W.M., Dawes, K.S., Barham, C.D., Waddell, D.L., Enwemeka, C.S. (2004). The efficacy of laser therapy in wound repair: A meta analysis of the literature. *Photomedicine and Laser Surgery*, 22, 241-247.

Yıldız, Ö., Demir, G. (2004). Sağlıkta ve Hastalıkta Beslenme Sempozyum Dizisi, *Kanser ve Beslenme*, 45-57.

8. ETİK KURUL ONAYI



ORDU
ÜNİVERSİTESİ

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Toplantı Saati	Karar Sayısı
27/10/2016	09	15.30	85

Ordu Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Yrd.Doç.Dr.Ahmet KARATAŞ başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

Ordu Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Yrd.Doç.Dr. Ahmet KARATAŞ başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

KARAR NO: 2016/85

Sorumlu yürütüldü .Doç.Dr. Cankat KARA'nın KAEK 134 Nolu başvurusunun değerlendirilmesi sonucu "*Düşük Doz Lazer Uygulamasının İnsan Akciğer Kanseri Hücre Proliferasyonuna Etkisi*" başlıklı araştırmasının etik ilke ve kurallara uygunluk açısından yapılabilirliğine ve konunun ilgili öğretim üyesine tebliğine aşağıda imzası bulunanların oybirliği ile karar verildi.

Yrd. Doç. Dr. Ahmet KARATAŞ
Ordu Üniversitesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hilal SELAMET
Doğum Yeri : RİZE
Doğum Tarihi : 01.08.1990
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : hilal_selamet@hotmail.com
İletişim Bilgileri : 0536 879 30 49
Öğrenim Durumu : Lisans

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Diş Hekimliği Fakültesi	Ege Üniversitesi	2013

Derece	Görev Yeri	Yıl
Arş. Gör.	Ordu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2014-