

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI
VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OLARAK RATLARDA OLUŞTURULAN AĞIZ MUKOZASI
DİSPLAZİSİNDE FOTODİNAMİK TEDAVİNİN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Cihan BERKET

Samsun
Haziran - 2006

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI
VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OLARAK RATLARDA OLUŞTURULAN AĞIZ MUKOZASI
DİSPLAZİSİNDE FOTODİNAMİK TEDAVİNİN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Cihan BEREKET

Samsun
Haziran - 2006

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI
VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OLARAK RATLARDA OLUŞTURULAN AĞIZ MUKOZASI
DİSPLAZİSİNDE FOTODİNAMİK TEDAVİNİN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Cihan BEREKET

Danışman: Prof. Dr. Melahat Ögütçen TOLLER

Samsun
Haziran - 2006

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından DİŞ HEKİMLİĞİ-AĞIZ, DİŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ Programında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye : Prof.Dr.Melahat TOLLER
Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi

Üye : Prof.Dr.Süleyman ÇELİK
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Üye : Prof.Dr.Reha KİŞNİŞÇİ
Ankara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi

Üye : Doç.Dr. Nergiz YILMAZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi

Üye : Doç.Dr.Murat YARIM
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof.Dr. Süleyman ÇELİK
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Devlet Planlama Teşkilatı tarafından desteklenen DPT/TAB-010 no.lu, "İleri Araştırma projesi"nin yürütücü olan, bu bilimsel projeyi oluşturarak ülkemizdeki ağız kanseri araştırmalarına önemli bir katkıda bulunan, ve bu bilimsel projede bana doktora tez projemle yer vererek beni böyle değerli bir çalışmaya dahil eden, tez çalışmam boyunca sürekli manevi destek gördüğüm, çalışmanın her aşamasında bilgi ve zamanını benimle paylaşan, Fotodinamik tedavi gibi insan sağlığı için gelecek vaadeden bir konuya bu tez çalışmasıyla beni yönlendiren ve ilham kaynağım olan değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Melahat ÖĞÜTCEN TOLLER'e,

Karşılıksız sevgi ve fedakarlıklarıyla her zaman yanımda yer alan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canımdan çok sevdiğim AİLEM'e,

Tezimin deneysel aşamasında sağladığı imkan ve aydınlatıcı fikirlerinden dolayı sayın Doç.Dr.Murat HÖKELEK'e,

Tezimin histopatolojik kesitlerin hazırlanmasında ve boyanmasında bana yardımlarını esirgemeyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Filiz KARAGÖZ'e ve araştırma görevlisi sayın Dr.Canan YÜKSEL'e,

Tezimin doku kesitlerinin histopatolojisinin büyük bir titizlikle incelenmesinde, vaktini ve bilgisini çömertçe bizimle paylaşan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Doç.Dr. Murat YARIM'a,

İstatistik inceleme aşamasında yardımcı olan sayın Prof.Dr.Yüksel BEK'e, Yrd.Doç.Dr. Rezzan USLU' ya,

Doktora eğitiminde ders aldığım Anabilim dalımızın değerli öğretim üyeleri'ne,

Dostluklarını esirgemeyen doktora öğrencisi arkadaşlarım'a,

Sevgisiyle ve desteğiyle motivasyon kaynağım, eşim Nilay BEREKET'e,

O.M.Ü. Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nin personeli sayın Mustafa İNCE'ye,

Ve tezimde emeği geçen herkese,

EN İÇTEN TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM...

ÖZET**DENEYSEL OLARAK RATLARDA OLUŞTURULAN AĞIZ MUKOZASI DİSPLAZİSİNDE
FOTODİNAMİK TEDAVİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ****Cihan BEREKET, Doktora Tezi****Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Haziran 2006**

Ağız mukozasının displazisi kronik, progresif ve premalign bir durumdur. Fotodinamik tedavi (FDT) ağız mukozası displazisinin yok edilmesi için önerilen çağdaş tedavi yöntemlerinden biridir. Bu tedavi yöntemi displazili dokuda tercihli olarak tutulan ve bu dokuyu belirli bir dalga boyundaki ışığa karşı hasaslaştıran ışığa duyarlaştırıcı (ID) olarak isimlendirilen kimyasal bir ajandan ve aktive edici bir ışık uygulamasından oluşmaktadır. Günümüzde bu amaç için kullanılan kimyasal ajanlar, ışık kaynakları, uygulama şekilleri ve endikasyon alanları çeşitlidir. İdeal bir fotodinamik etkinin elde edilmesi için, uygun ID ajan, ID dozu, uygulama şekli, ışık kaynağı, ışığın dalga boyu, ışınlama dozu henüz ortaya konulamamıştır.

Çalışmamızın amacı 7-12,Dimetilbenz[a]antrasen(DMBA) ile deneysel olarak ratlarda oluşturulan ağız mukozası displazisi üzerine 200mg/kg dozunda 5-aminolevulinik asit isimli ID'nin intraperitoneal uygulanmasını takiben,635 nm dalga boyunda ışın üreten diyot lazerin 50 mW/cm² ışık akış hızında ve 125 J/cm² enerjilik uygulamalarının etkisinin histopatolojik olarak incelenmesidir.

36 adet Sprague Dawley rat I.Grup (kontrol), II. Grup (DMBA), III. Grup(DMBA+FDT), IV. Grup (FDT) olarak 4 gruba ayrıldı. Grup I ratlara herhangi bir uygulama yapılmazken, Grup II ve Grup III ratların ağız mukozasına 4 nolu fırçayla haftada 3 defa olmak üzere 20 hafta boyunca DMBA sürüldükten sonra sekiz hafta beklendi. Grup III ve Grup IV ratlara FDT uygulandı. FDT sonrası tüm gruptaki ratlar 3. saat, 24. saat, 3. gün, 1. hafta ve 3. hafta gibi zaman periyotlarında sakrifiye

edildi. Ratların ağız mukozaları sağ yanak, sol yanak, dil, sert damak ve yumuşak damak olmak üzere beş farklı bölge olarak çıkarıldı ve hematoksilen eosinle boyanarak histopatolojik inceleme ışık mikroskobuyla yapıldı.

ALA-FDT uygulanan III. grup ve IV. gruptaki ratların doku örneklerinin histopatolojik incelemesinde epitel dejenerasyonu, epitel nekrozu, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödem, kas hasarı, demarkasyon hattı, vasküler konjesyon, granülasyon dokusu, skarlaşma, Damar içi fibrin birikimive doku içi kanama gibi yanıtların geliştiği görüldü. Bu yanıtlar III. grupta 7. günde sona ermesine rağmen VI. grupta inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödem ve granülasyon doku oluşumunun devam ettiği görüldü. 7. günde demarkasyon hattı ve skarlaşma gibi doku yanıtları sadece III. grup rat örneklerinde gözlendi.

200 mg/kg ALA'nın i.p. olarak uygulamasını takiben, diyot lazerle 50 mW/cm^2 ışık akış hızında ve toplam 125 J/cm^2 ışınlama enerjisiyle gerçekleştirilen FDT'nin ağız mukozasının displastik lezyonlarının yok edilmesinde elverişli bir tedavi yöntemi olduğu sonucuna varılmıştır.

ABSTRACT**EVULATION EFFECTS OF PHOTODYNAMIC THERAPY ON EXPERIMENTALLY INDUCEED
ORAL MUCOSAL DYSPLASIA IN RATS****Cihan BEREKET, Ph.D. Thesis****Ondokuz Mayıs University, Samsun, June 2006**

Oral mucosal dysplasia is chronic, progressive and premalignant condition. Photodynamic therapy (PDT) is one of the modern therapy modalities which is used to eradicate oral mucosal dysplasia. This kind of treatment consist of a chemical called “ photosensitiser” which is selectively absorbed by dysplastic cells and a light source with a certain wave length to activate the photodynamic reaction in order to lead dysplastic cell death. Various kinds of chemicals, light sources with different wave lengths and light dosages for various applications with a wide range of indications. Ideal dozage for ideal photosensitiser with no side effects, ideal light wave length and light dosage yet to be established for ideal photodynamic effects.

The purpose of this study is to examine histopathologic tissue changes after 7-12,Dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) aplication followed by PDT with 5-aminolevulinic acid (ALA) as photosensitiser and diode laser with 635 nm wave lenght and fluent rate of 50 mW/cm² and 125 J/cm² energy.

Thirty-six Sprague Dawley rats were divided into four groups as Group I (as control), Group II (DMBA), Group III (DMBA+PDT) and Group IV (PDT). No applications was made on Group I rats. DMBA was applied with a number 4 brush on oral mucosa for trice a week for 20 weeks followed by eight weeks of waiting period in Groups II and III. All groups were sacrificed at 3 hours, 24 hours, 3 days, 7 days and 3 weeks. Histopathologic examinations were made after Hematoxyline & Eosine stain at five regions including right and left cheek, tongue, and hard and soft palate.

On histopathologic examination, epithelial degeneration, epithelial necrosis, inflammatory infiltrate, edema, muscle damage, demarcation line, vascular congestion, granulation tissue, scarring, intravascular fibrin bodies, and hemorage were found in Groups III and IV. The tissue reaction subsided after seven days in Group III, whereas inflammatory reactions, including inflammatory cells, edema, and granulation tissue continued in Group IV until 3 weeks. Demarcations line and scarring were only seen in Group III.

In conclusion, PDT application with 200 mg/kg 5-aminolevulinic acid (ALA) as photosensitiser and diode laser with 635 nm wave length and fluent rate of 50 mW/cm² and 125 J/cm² irradiation energy was found to be useful as a treatment modality for eradication of oral mucosal dysplasia.

SİMGELER VE KISALTMALAR

FDT	: Fotodinamik tedavi
ID	:Işığa duyarlaştırıcı
ALA	:5-Aminolevulinik asit
DMBA	:7,12-Dimetilbenzantrasen
YHK	:Yassı hücreli karsinom
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
OSF	:Oral submukoz fibrozis
AMED	: Ağız mukozasının epitelyal displazisi
PMNL	:Polimorf nüklear lökositler
ESM	:Ekstraselüler matriks
DY	:Doku yanıtı
O ₂	:Tek Oksijen
EKÜ	:Epitel tabakalarında kayıplar veya ülser
ED	: Epitel dejenerasyonu
EN	:Epitel nekrozu
İHİ	: İnflamatuvar hücre infiltrasyonu
Ö	: Ödem
DH	: Demarkasyon hattı
VK	:Vasküler konjesyon
GD	:Granülasyon dokusu
S	:Skarlaşma
KH	: Kas hasarı
DF	:Damar içi fibrin birikimi
DİK	: Doku içi kanama
MA	: Mitotik aktivitede artış
HPL	: Hücresel pleomorfizm
HPK	: Hücresel polarite kaybı
Ç/S	: Artmış çekirdek sitoplazma oranı

DRP	: Damla şeklinde rete peg
AK	: Azalmış kohezyon
GÇ	: Genişlemiş çekirdekçik
ÇH	: Çekirdek hiperkromatizmi
KİS	: Karsinoma insitu
H	: Hiperkeratoz
A	: Akantoz
P	: Papillamatoz
SK	: Spinoz tabakada kalınlaşma

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
TÜRKÇE ÖZET.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
1.GİRİŞ	11
2.GENEL BİLGİLER	13
2.1.Normal Ağız Mukozası.....	13
2.2.Ağız Mukozasının Epitelyal Displazisi (AMED).....	19
2.3.Yara İyileşmesi	25
2.4. Fotodinamik Tedavi (FDT).....	29
3. MATERYAL VE METOD	55
3.1. Kimyasallar.....	55
3.2. Işık kaynağı.....	55
3.3. Işık taşıma sistemi.....	56
3.4. Hayvan modeli.....	57
3.5. Deney protokolü.....	57
3.6. Histopatolojik inceleme ve skora.....	59
3.7. İstatistiksel değerlendirme.....	61
4. BULGULAR	62
5. TARTIŞMA	93
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	110
7. KAYNAKLAR	112
8. ÖZGEÇMİŞ	130
9. EKLER	131

1.GİRİŞ

Günümüzde ağız kanserlerinin tedavi yöntemleri cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi yöntemlerinin ayrı ayrı veya bir arada uygulanmasından oluşur. Ancak özellikle tümör cerrahisi ve rekonstrüktif cerrahideki modern gelişmelere rağmen, son yirmi yıllık dönemde ağız kanserlerinin prognozunda ve hayatta kalma süresinde önemli bir gelişme kaydedilememiştir (Gregg ve ark., 1992). Ayrıca bu agresif tedaviler ağız bölgesinde mukositis, kserostomia, trismus, osteoradyonekroz gibi komplikasyonlara neden olarak hastaların çiğneme, yutkunma, konuşma ve estetik görünümünü bozmaktadır (Biel, 1994; Hopper, 2000).

Ağız ve orofarengeal kanserlerin kontrol edilebilirliği iki köşe taşına bağlıdır: Bunlar erken teşhis ve önleyici girişimlerdir (Neville ve Day, 2002). Erken teşhis klinisyen veya hasta tarafından erken safhada tanımlanan şüpheli lezyon veya semptomla bağlıdır. Beş yıllık hayatta kalma süresi direkt olarak lezyonların erken safhadaki teşhisine, tarama ve önleme çabalarıyla ilişkilidir, bu sadece insidansı azaltmaz aynı zamanda bu hastalığın geliştiği kişilerde hayatta kalma süresinde de iyileşmeye imkan verir (Silverman, 2001).

Fotodinamik tedavi (FDT), klinik olarak lökoplaki, eritroplaki ve submukoz fibrozis gibi maligniteye dönüşüm potansiyeline sahip epitelde displazi gelişebilen şüpheli lezyonların teşhis ve tedavisinde kullanılan yeni ve alternatif bir yöntemdir (Webber ve ark.,1997). FDT, sistemik veya lokal olarak uygulanan ışığa duyarlaştırıcı (ID) bir ilacın displazili ve malignite sergileyen dokularda seçici olarak tutulması ve bunu takiben ilacın tutulduğu dokularda fotokimyasal bir reaksiyonla hedef hücre ölümünü başlatan belirli bir dalga boyuna sahip non termal ışık uygulaması işlemlerinden oluşur (Tsai ve ark., 2004). FDT ile sistemik olarak verilen ışığa duyarlaştırıcı ajanlar patolojik stroması ve güçlü mitotik aktivitesi olan hücreler tarafından tercihli olarak tutulurlar (Lai ve ark., 1997; Webber ve ark., 1997; Dougherty ve ark., 1998).

FDT, geleneksel tedavilerden (cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi) farklı olarak; ID ve ışınlama ile uygulamayı hedef dokuyla sınırlandırılabilme ve defalarca uygulanabilme özelliğine sahiptir. Minimal skarla iyileşmeye imkan tanıyarak fonksiyonel ve estetik kayıpları azaltılması ve diğer tedavilerin neden olduğu komplikasyonlara yol açmaması bu tedavinin diğer avantajlarıdır (Schweitzer ve ark., 1990; Biel, 1994; Nauta ve ark., 1996).

Potansiyel malignite olarak kabul edilen ağız mukozasının epitelyal displazik lezyonları ve gelecekte onkolojide alternatif bir tedavi yöntemi olarak öngörülen FDT gittikçe artan bir ilgi görmektedir. ID ajan olarak 5-aminolevulinik asit (ALA) ve ışık kaynağı olarak diyot lazer kullanımı, fotodinamik tedavide oldukça yeni ve araştırılmaya açık bir alan oluşturmaktadır (Tsai ve ark., 2004).

Bu tez çalışmasında ratlarda deneysel olarak kanserojen bir ajan olan 7,12 dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) ile oluşturulan ağız mukozası displazisinde 635 nm dalga boyunda diyot lazer ile duyarlaştırılan ALA'nın ağız dokularında meydana getirdiği FDT etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Normal Ağız Mukozası

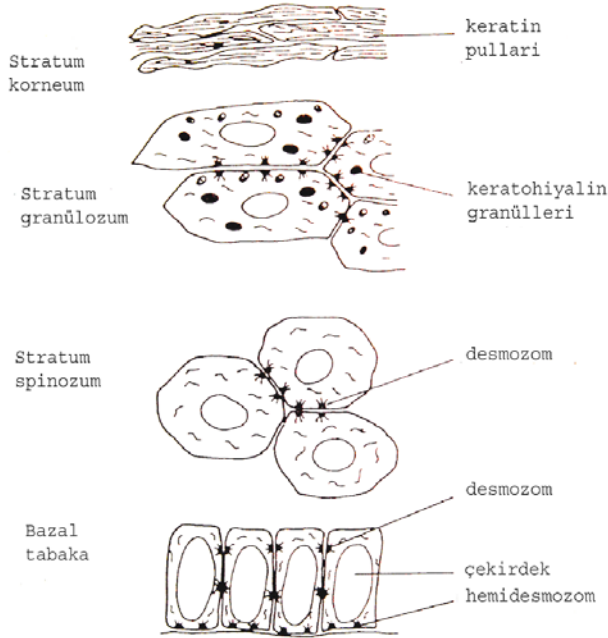
İnsanda ağız boşluğu nemli bir müköz membran ile kaplanmıştır. Ağız mukozası yassı epitelden ve lamina propriadan oluşur (Leeson ve ark.,1988). Bu iki tabaka birbirinden bir bazal membranla ayrılmıştır. Mukoza ağzın farklı bölgelerinde, fonksiyonel gereksinimlere göre yer yer bölgesel değişiklikler gösterir. Çeşitli sayıda minör tükürük bezleri ve gevşek yağ dokusu içeren derin bağ dokusu, submukoza olarak isimlendirilir. Yanak ve yumuşak damak gibi ağız bölgelerinde bulunmasına rağmen , bir çok bölgede submukoza yoktur ve bulunmadığı bölgelerde müköz membran direkt olarak alttaki kemik veya kasa yapışıktır (Weiss ve Grepp, 1977; Cawson ve ark., 1998) .

2.1.1. Ağız epiteli

Ağız mukozası yer yer keratinleşme sergileyen çok katlı yassı epitelden oluşur (Bloom ve Fawcett, 1968; Johnson, 1982; Krstić, 1991). Epitelin kalınlığı ağızda bölgeden bölgeye değişir; dişeti ve damakta kalın, ağız tabanında ise incedir.Ağız boşluğunu döşeyen epitel stratum bazale (bazal tabaka), stratum spinozum (dikensi tabaka), stratum granülozum (granüler tabaka) ve stratum korneum (boynuzsu, keratin tabakası) olmak üzere 4 tabakadan oluşur (Şekil 1) (Weiss ve Grepp, 1977; Johnson, 1982; Tyldesley, 1989; Krstić, 1991).

Epitelin bazal tabakası direkt olarak bazal membran üzerine yerleşir ve bir sıra prizmatik hücreden oluşur. Bu tabaka hücre çoğalmasının gerçekleştiği yerdir. Stratum bazaledeki bir hücre bölünerek yeni bir kök (stem) hücre ve ikinci bir hücre oluşturur. Bu ikinci hücre yüzeye göç etmeden ve terminal farklılaşmaya uğramadan önce birkaç kez bölünebilme yeteneğine sahiptir. Epitelin bu tabakasında mitoz bölünmenin farklı evrelerine sıklıkla rastlanır. Deride bazal tabaka genellikle tek bir hücre tabakasından oluşurken, ağızdaki epitelde bazal tabaka iki veya üç hücre kalınlığında olabilir. Bu tabaka bazal membrana yarım desmozomlarla (hemi-desmosom) tutunmuştur (Gartner

ve Hiatt, 2001). Glikojenin stratum spinozumun üzerinde veya stratum granulozumdaki hücrelerde depolanması mukozayı deriden ayıran önemli bir farktır (Weiss ve Grepp, 1977).



Şekil 1. Normal ağız mukozasının tabakaları (Tyldesley, 1989).

Stratum bazale üzerinde yer alan poligonal veya kübik hücreler stratum spinozumu oluştururlar. Epitelin en geniş tabakası olan stratum spinozum, ışık mikroskopunda iyi gelişmiş desmozomları nedeniyle geniş dikensi görünümde hücreler olarak görünür. Bu tabakadaki hücreler mitoz özelliklerini koruyabilirler ancak bazal tabakadaki hücrelere göre daha az aktiftirler (Ataoğlu ve Gürsel, 1999).

Stratum granulozum, stratum spinozumun üzerinde iki-üç hücre kalınlığında olup, sadece ortokeratinize epitelde görülür. Bu tabakayı oluşturan hücreler yassılaştırmıştır, organellerinde dejenerasyon başlamıştır, sitoplazmalarında koyu boyanan keratohiyalin granülleri görülür. Hücre aktivitesi son derece düşmüştür (Bloom ve Fawcett, 1968; Tyldesley, 1989; Ataoğlu ve Gürsel, 1999).

Stratum korneum (keratin tabakası), epitelin en üst tabakasıdır, organellerden yoksun, fakat keratin tonofilamentleriyle depolanmış, çekirdeksiz, keratinize, yassı

hücrelerden oluşur (Bloom ve Fawcett, 1968). Hücrelerin membranları kalınlaşmış, hücre içi tonofilamentler ve izole yağ damlacıklarıyla dolmuştur. Bu hücreler yüzeyden atılırlar, ancak bazal tabakalardan göç eden hücreler bu tabakayı devamlı yeniler (Krstić, 1991; Ataoğlu ve Gürsel, 1999).

Dişleri çevreleyen dişeti, sert damak ve dilin dorsal yüzeyi keratinize epitel ile kaplıdır. Dişeti ve sert damaktaki keratinize epitel kemik veya dişlerin sementine sıkıca tutunmuş yoğun bir fibröz lamina propria üzerine oturmuştur(Krstić, 1991). Keratin tabakası parakeratinize, ortokeratinize veya her ikisinin bir kombinasyonundan oluşur. Parakeratinize epitelde granüler hücre tabakası yoktur ve keratin tabakasında çekirdekli hücreler vardır. Ortokeratinize epitelde granüler hücre tabakası mevcuttur ve keratin tabakasındaki hücreler çekirdeklerini kaybetmiştir (Neville ve ark., 2002; Ross ve ark., 2003). Nonkeratinize epitel vestibül, ağız tabanı, yanak, yumuşak damak ve dilin ventral yüzeyi gibi mekanik streslerin az olduğu ağız bölgelerini kaplamıştır (Weiss ve Grepp, 1977; Johnson, 1982).

Ağız mukozasının epitel tabakasının büyük bir bölümünü epitel hücreleri oluştururken bunların dışında melanin üreten melanositler, makrofaj yapısında olan ve intraepitelyal antijen sunan dentritik langerhans hücreleri, sinir iletiminde görev alan Merkel hücreleri bulunur. Bunların tanımlanması için özel boyamalar gereklidir (Tyldesley, 1989; Cawson ve ark.,1998).

2.1.2. Lamina propria

Lamina propria mukozaya yapısal destek sağlar ve fibröz bağ dokusu karakterindedir. Kan ve lenf damarları ve sinir liflerinden zengindir. Yumuşak damak ve ağız tabanında çok sayıda yağ hücresi içerir. Lamina propria da dişeti dışında yer yer küçük tükrük bezlerine rastlanılmıştır (Bloom ve Fawcett, 1968; Gartner ve Hiatt, 2001). Lamina propria, processus alveolarisler ve damağın ön bölümünde fibröz bir bağ ile doğrudan periosta tutunmuştur (Bloom ve Fawcett, 1968; Krstić, 1991). Ağız tabanında submukoza üzerine oturur ve gevşektir. Epitele doğru derin uzantılar (papillalar) yapar. Epitele doğru uzanan bu papillalar dişeti ve damakta daha

belirgindir(Johnson, 1982). Aynı şekilde epitel de lamina propria içerisine doğru karşıt yönde uzantılar yapar. Bunlara rete peg veya rete ridge denir (Krstić, 1991; Cawson ve ark., 1998).

Lamina proprianın esas hücreleri fibroblastlardır ve fibroblastlar ekstraselüler hücreler arası matriksin zemin maddesi olan kollejeni sentezler ve salarlar. Mekanik yüke bağlı olarak kollejen bantların yoğunluğu değişiklik gösterir. Ayrıca burada mast hücreleri, makrofajlar ve lenfositler de bulunur (Krstić, 1991; Cawson ve ark., 1998).

2.1.3. Ağız mukozasındaki bölgesel çeşitlilik

Ağız mukozanın kalınlığı değişik bölgelerde, değişik fonksiyonel streslere göre özelleşmiş ve buna uyum sağlamıştır (Gartner ve Hiatt, 2001). Bu bir patolojinin tanımlanması için önemlidir. Bir yerde normal olan epitel, çevresindeki başka bir yerde patolojik değişiklikler sonucunda da kalınlaşmış olarak bulunabilir. Epitelin kalınlığı keratin tabakasının özelliklerine ve kalınlığına, fibröz bağ dokusunun yoğunluğuna, submukozanın varlığına veya yokluğuna göre değişiklik gösterir (Tyldesley, 1989; Cawson ve ark., 1998).

2.1.4. Ağız mukozasının özellikleri

Sekresyon: Sindirim enzimleri, musin, antikorlar ve tükrük bezi kanallarından gelen sekresyonlar mukoza yüzeyine salgılanır.

Bariyer: Zararlı maddeler, antijenler ve patojen mikroorganizmalara karşı fiziksel ve kimyasal bir bariyer fonksiyonu görür.

İmmunolojik koruma: Mukoza içindeki lenfatik doku antikorlarla vücudun ilk savunma hattını oluşturur.

Absorbsiyon: Bazı metabolitlerin geçişine olanak sağlar (Bloom ve Fawcett, 1968; Johnson, 1982; Ross ve ark., 2003).

2.1.5. Ağız mukozası görevleri

- Örtücü Mukoza

- Çiğneme Mukozası
- Özelleşmiş Mukoza

2.1.5.1. Örtücü mukoza

Ağız mukozası büyük oranda örtücü mukozadan oluşur. Yanağın içini, dudakları, ağız tabanını, dil altını, vestibül bölgeyi ve yumuşak damağı döşer. Örtücü mukozanın epiteli genellikle nonkeratinizedir ve bazı bölgeleri parakeratinize olabilir (Ross ve ark., 2003). Örtücü mukoza gevşek fibröz lamina propriaya sahiptir. Örtücü mukozanın kalınlığı kendi içinde de farklılık gösterebilir (Gartner ve Hiatt, 2001). Örneğin lateral çiğneme kuvvetlerinin etkilediği yanağın dişlere temas eden bölgede epitel kalınlaşarak uzun, dallanmış bağ dokusu papillaları içerir. Dişlerin epitele sürtünmesine bağlı hasarında ve belli bir süre sonra bu bölgede parakeratinleşme olabilir. Dilin rahat hareket etmesi için ağız tabanındaki epitel ince olup gevşek ve kalın submukozadan oluşur (Cawson ve ark., 1998).

2.1.5.2. Çiğneme mukozası

Çiğneme mukozasının kapladığı sert damak ve dişeti bölgeleri yoğun bir fibröz laminayı örten ve arada submukoza olmaksızın periosta direkt bağlı olan kalın keratinize epitelden oluşur. Epitel altı bağ dokusunun çiğneme etkilerine dayanıklılığı uzun ve gelişmiş rete peglerle desteklenir (Cawson ve ark., 1998; Gartner ve Hiatt, 2001; Ross ve ark., 2003) .

2.1.5.3. Özelleşmiş mukoza

Özelleşmiş mukoza dilin dorsal yüzeyi ile sınırlanmıştır. Ağırlıklı olarak keratinize olan bu bölge aynı zamanda tad tomurcukları ve papillaları içermektedir. Dört tip papilla tanımlanmıştır bunlar; filiform, fungiform, sirkumvallat ve foliat papillalardır. Filiform papilla sayıca en çok olanıdır. Dilin yüzeyine kadifemsi ve pürüklü bir görünüm kazandırır. Bunlar dilin “V” sine paralel sıralanmıştır ve tad tomurcukları içermez, sadece mekanik rol oynarlar. Fungiform papillalar, nonkeratinize

yüzeyle, mantar benzeri düzensiz yapılarıdır. Dilin ön açısında rastgele yerleşmişlerdir. Yüzeyinde arasıra tat tomurcukları da içerebilirler. Sirkumvallat papillalar daha geniştir. Dilin ön 2/3'ü şeklinde dizilmiştir. Bunlar etrafı çukurla çevrili düz tepeli papillalardır. Von Ebner bezlerinin boşaltım kanalları bu çukurların içine açılırlar. Papillaların lateral duvarlarına yerleşmiş tat tomurcukları vardır. Dilin dorsalateral yüzeyinde yerleşmiş iyi gelişmiş mukoza dürümleri foliat papilla adını alır. Bunlar tad tomurcukları veya lenfoid doku içerebilir (Bloom ve Fawcett, 1968; Weiss ve Grepp, 1977; Johnson, 1982; Leeson ve ark., 1988; Krstić, 1991; Cawson ve ark., 1998; Gartner ve Hiatt, 2001; Ross ve ark., 2003).

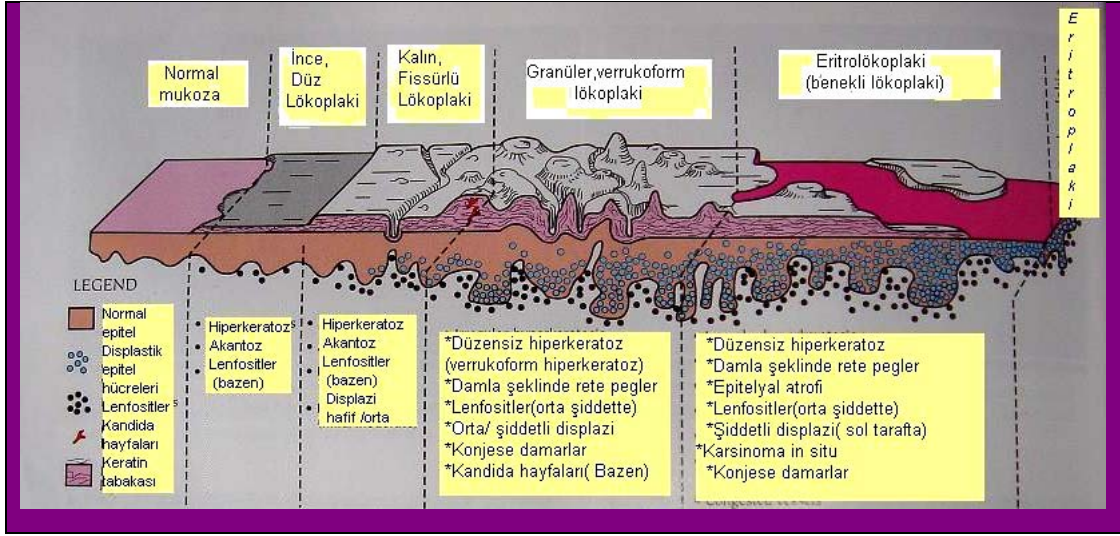
2.2. Ağız Mukozasının Epitelyal Displazisi (AMED)

Ağız mukozasının kronik, progresif ve premalign rahatsızlıklarında görülen histopatolojik değişiklikleri tanımlamak için kullanılan tanısal bir terimdir (Lumerman ve ark., 1995). Geçmişte epitelyal displazi, epitelyal atipi ve diskeratosis terimleri ile eş anlamlı olarak kullanılmıştır. Ancak atipi bir hücredeki rahatsızlığı, displazi ise epiteldeki genel bozukluğu tanımlar (Pindborg, 1980). AMED klinikte lökoplaki, eritroplaki veya lökoeritroplaki gibi lezyonlarda görülür. AMED verrüköz veya papiller lökoplakilerde veya kronik mukozal bir ülserin kenarında da mevcut olabildiği gibi invaziv yassı hücreli kanser (YHK)'i olan hastalarda tümöre komşu mukozada sıklıkla görülür (Wright ve Shear, 1985) (Şekil 2). AMED premalignensinin histolojik belirleyicisidir ve YHK gelişme riskine işaret eder (Silverman ve ark., 1984).

2.2.1. Histolojik özellikler

Displazinin tanımlanması için Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenen mikroskopik kriterler aşağıdaki gibi sıralanmıştır;

1. Bazal hücrelerde polarizasyon kaybı
2. Birden fazla hücre tabakasında bazaloid bir görünüşün varlığı
3. Artmış çekirdek / sitoplazma oranı
4. Damla şeklinde rete pegler
5. Düzensiz epitelyal tabakalanma
6. Artan anormal mitotik şekiller (tripolar veya yıldız şekilli mitozlar veya bazal tabakanın üstünde mitotik şekiller)
7. Epitelin yüzeysel yarısında mitotik şekillerin varlığı
8. Pleomorfik çekirdek ve hücreler
9. Hiperkromatik(koyu boyanan) çekirdek
10. Geniş ve belirgin çekirdekçik
11. Hücresel kohezyonda azalma
12. Stratum spinosomda bazı hücre veya hücre gruplarında keratinizasyon (diskeratozis; prematür keratinizasyon) (WHO Collaborating Reference Centre for Oral Precancerous Lesions.,1978)



Şekil 2. Normal mukozadan epitelyal displazi sergileyen lezyonlara geçişte aşama aşama klinik ve histopatolojik meydana gelen değişiklikler (Bouquot ve Gnepp, 1991).

Displazik değişiklikler epitel kalınlığının tutulum oranına göre hafif, orta, şiddetli ve karsinoma in situ olarak derecelendirilmiştir (Pindborg , 1980).

Hafif epitelyal displazi: Epitelin 1/3 alt kısmı tutulmuştur, minimal displazik değişiklikler görülür.

Orta epitelyal displazi: Bazal tabakadan spinal tabakanın yarısına kadar olan tutulumu ifade eder. Yani epitelin alttan yukarıya 2/3'ü tutulmuştur.

Şiddetli epitelyal displazi: Bazal tabakadan epitelin yüzeyden yarısına olan bölgenin tutulumunu ifade eder. Epitelin alttan yukarıya 2/3'den fazlası tutulmuştur. Ancak epitelin bütün kalınlığının tutulmadığı durumları tanımlamak için kullanılır.

Karsinoma in situ: Karsinoma in situyla aynı anlamda kullanılan diğer terimler intraepitelyal karsinoma ve noninvaziv karsinomadır (Pindborg , 1980). İnvazyonsuz malign değişimin en ciddi şeklidir, bütün epitel kalınlığı boyunca genişlemiş, hiperkromatik çeşitli tipik ve atipik mitotik figürler gösteren az differensiyel bazal ve yassı hücrelerden oluşur. Submukozaya invazyon yoktur. Keratin yumakları (glob corne) karsinoma in situda nadir görülür. Epitel hiperplastik veya atrofik olabilir. Metastaz meydana gelmez (Lumerman ve ark., 1995; Neville ve ark., 2002).

Wright ve Shear (1985), ağız mukozasının epitelyal displazik lezyonları için “minimal” kriter olarak bazal hücre hiperplazisi, damla şekilli rete pegler, çekirdek

genişlemesi ve hiperkromatisinin varlığını kabul etmişlerdir. Lumerman ve ark. (1995), AMED'in teşhisinde yukarıda belirlenen kriterleri esas alarak kendi çalışmalarında aşağıdaki kriterleri kullanmışlar;

- 1-Bazal hücre hiperplazisi
- 2-Çekirdekte genişleme ve hiperkromati
- 3-Hücre adezyonu ve normal polarizasyon kaybı
- 4-Bazal hücre tabakası üzerinde mitozlar
- 5-Bireysel hücre keratinizasyonu
- 6-Hücre anaplazisi
- 7-Damla şeklinde rete pegler
- 8-Keratinizasyon ve yüzey özellikleri (parakeratozis, hiperkeratozis, verrüköz, papiller)
- 9-Displazinin yayılması
- 10-Displastik ve displastik olmayan epitel arasında demarkasyon hattının birden bire belirmesi
- 11-Displazinin kalınlığı (alt 1/3'ü, yukarıya doğru 2/3'ü yada tam epitel kalınlığı)

2.2.2.Yaş ve cinsiyet dağılımı

AMED hastalarının çoğu 6. veya 7. dekattadır. Her iki cinste görülme sıklığı birbirine çok yakın olmasına rağmen erkeklerde tutulum biraz daha fazladır (Neville ve ark., 2002).

Lumerman ve ark. (1995), inceledikleri 308 AMED'li hastaların % 52.8' ini erkekler % 47.2'sini ise bayanların oluşturduğunu, erkeklerde ortalama yaşın 60.1 bayanlarda 58.6 ve her iki cins için ise ortalama görülme yaşının 59.3 olduğunu bildirmişlerdir.

2.2.3. Klinik özellikler

Daha önce belirtildiği gibi AMED lökoplaki, eritrolökoplaki, eritroplakide veya kronik bir ülserin sınırında bulunabilir. Bu lezyonların klinik görüntüsü kırmızı, beyaz, ülser, papiller, verrüköz veya bunların bir karışımı şeklinde olabilir. AMED ağız bölgesinin herhangi bir yerinde gelişebilir. Ancak bazı bölgeler diğer bölgelere göre daha sık tutulur ve malign dönüşüm açısından risk oluştururlar. Yazarlar tarafından ağız tabanı ve dil en çok tutulum gösteren bölgeler olarak bildirilmiş olmasına rağmen farklı raporlar da mevcuttur (Wright ve Shear, 1985).

Klinik olarak AMED en çok beyaz lezyonlar şeklinde ve ağız tabanında görülür (Neville ve ark., 2002). Kaugars ve ark. (1988), bu tutulum sıklığını ve sıralanmasını şöyle bulmuşlardır; bukkal mukoza (% 26.4), dişeti (% 19.4), dil (% 14.7), damak (% 13.7), ağız tabanı (% 12.3), alt dudak (% 10) ve üst dudak (% 1.1). Lumerman ve ark. (1995), ise AMED'in tutulum sıklığını sırasıyla; ağız tabanı (% 26.5), dil (% 25.2), bukkal mukoza (% 17.1), dişeti (% 15.2), alt dudak (% 5.5), üst dudak (% 0.3) şeklinde bulmuşlardır. AMED'in histolojik derecelerine göre görülme sıklıkları; hafif (% 72.4), orta (% 19.5) ve şiddetli (% 8.1) olarak sıralanmıştır (Kaugars ve ark., 1988).

2.2.4. Prognoz ve maligniteye dönüşüm

Displazik lezyonlar malign dönüşüm için yüksek bir eğilim taşırlar. Displazi ne kadar şiddetliyse risk o kadar yüksektir. Ancak displazinin şiddeti prognoz açısından belirleyici değildir. Lezyonların hepsinde malignensi gelişmez, bazısında gerileme de görülebilir (Marley ve ark., 1996). Ağız epitelindeki malign değişiklikler YHK ile sonuçlanır (Neville ve ark., 2002).

Dil ve ağız tabanına yerleşmiş displazili granüler lökoplakilerin malign dönüşüm açısından risk oluşturduğu genel kabul görmüştür (Pandey ve ark., 2001).

Klinik bulgular ne kadar şiddetli ise displazi ve malign dönüşüm şansı o kadar büyüktür. Orta ve şiddetli displazilerin maligniteye dönüşüm potansiyeli % 4-11 ve % 20-35 olarak rapor edilmiştir. Displazik lezyonlardan kanser gelişimi genellikle 3 yılda olur. 3 displaziden 1'i tedaviden sonra yeniden tekrarlamaktadır (Neville ve ark., 2002).

Mincer ve ark. (1972), Tennessee'de orta veya şiddetli displazi veya karsinoma in situ nedeniyle 56 hastayı takip etmişlerdir. Yedi yıllık takip periyodundan sonra 45 hastanın beşinde YHK geliştiğini bildirmişlerdir.

Banoczy ve Csiba (1976), Macaristan'da oral lökoplakili 500 hastanın 100 (% 24) ünde displazi bulunduğunu, bunların 68'inde yaptıkları takipte % 13.2'sinde malign dönüşüm, % 14.7'sinde gerileme olduğunu, % 14.7' sinde bir değişiklik görülmediğini ve % 3.4'ünde lezyonların boyutunda artış saptamışlardır.

Pindborg ve ark. (1977), AMED'li 61 hastanın 7 yıllık takibinde % 6.6 malign dönüşüm rapor etmişlerdir.

Silverman ve ark. (1984), 8.1 yıllık bir takip sonucunda, displazi sergileyen oral lökoplakili 22 hastanın % 36'sında malign dönüşüm olduğunu bulmuşlardır.

Vedofte ve ark. (1987), Danimarka'da ağızda premalign lezyon nedeniyle takibini yaptıkları 61 hastanın 47'sinde epitelyal displazi bulunduğunu ve ortalama 3.9 yıllık takip sonrası üç hastada invaziv YHK geliştiğini rapor etmişler.

Gregg ve ark. (1992), 15 yıllık takip periyodu sonunda AMED'li hastaların % 4.5'inde malign dönüşüm olduğunu ifade etmişlerdir.

Lumerman ve ark. (1995), 44 AMED'li hastanın ortalama 33.6 aylık takip periyodunda % 16'sında YHK geliştiğini bildirmişlerdir.

2.2.5. Tedavi

Marley ve ark. (1996), İngiltere'de 144 oral ve maksillofasiyal cerrahın premalign lezyonlara yaklaşımını değerlendirdikleri çalışmalarında displazi derecesinin tedavi yaklaşımlarını etkilediğini bildirmişlerdir.

Orta veya şiddetli epitelyal displaziler tamamen yok edilmeli veya uzaklaştırılmalıdır. Daha küçük boyutlu ve daha az şiddetli değişiklikler sergileyen lezyonlar, konservatif yaklaşımlara (örneğin sigaranın bırakılması) verdikleri cevaba göre takip edilir (Neville ve ark., 2002).

AMED'in uzaklaştırılmasında cerrahi eksizyon, elektrokoter, kriyocerrahi, lazer ablasyon kullanılır. Ancak bunların hepsi de hemen hemen eşit etkinliğe sahiptir (Gooris ve ark., 1999). AMED lezyonlarının uzaklaştırılmasından sonra uzun dönem takipler, nüks ve yeni displazilerin gelişiminin sık olması nedeniyle gereklidir (Lumerman ve ark., 1995; Neville ve ark., 2002).

13-cis retinoik asidin AMED olgularında, displazinin gerilemesini sağladığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak tedavi sonrası yüksek nüks nedeniyle bu tedavi yöntemi deneysel aşamada kalmıştır (Hong ve ark., 1986; Lippman ve ark., 1993).

Diğer tedavi yaklaşımları travma eliminasyonu, antifungal tedavi, radyoterapi veya sistemik sitotoksik uygulamalarını içerir (Marley ve ark., 1996).

Lumerman ve ark. (1997), cerrahi tedavi uyguladıkları 65 hastanın % 12.3'ünde nüks olduğunu bildirmişlerdir.

2.3. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi çok basamaklı, hücre yapıları ve doku tabakalarının restore edildiği dinamik ve karmaşık bir süreçtir. Birçok hücrel ve hümoral elementin biraraya gelmesine ve koordinasyonuna bağlıdır. Ağız mukozası ve deri yaralanmalarında benzer bir iyileşme dizisi meydana gelir. Bunlar hemostasis, inflamasyon, granülasyon dokusunun şekillenmesi ve bağ doku matriksinin yeniden şekillenmesinden oluşur (Sukotjo ve ark., 2003; Szpaderska ve ark., 2003).

Yaralanmadan sonra ilk olarak trombosit ve fibrinden oluşan hemostatik tampon şekillenir. Kapiller endotelyumun yaralanmasıyla bazal membran adheziv proteinleri, kollajen, fibronektin ve von Willebrand faktörü kan akımına geçer. Bu yapılar trombositleri agregasyon için stimüle eder. Aktive olmuş trombositler, doku faktörleri (fibroblast veya makrofajların yüzeyinde bulunan bir protein) ve perivasküler proteinler pıhtılaşmayı başlatır. Normalde serumda sessiz olan aktive edilmiş plazma koagülasyon faktörleri, fibrin üretimiyle sonuçlanan bir seri reaksiyonu katalizlerler. Bu fibrin molekülleri hemostatik tamponu stabilize etmek ve çapraz bağlantıları sağlamak için kümeleşmiş trombositlerin yüzeyindeki trombinle polimerize edilir (Brown, 1996). Bu pıhtı aynı zamanda yara iyileşmesi için bir model (kafes) görevi görür. Fibroblastların, makrofajların, endotelial hücrelerinin ve epitelyal hücrelerinin erken migrasyonu fibrin polimerlerinin varlığına bağlıdır (Kirsner ve Eaglstein, 1993; Brown, 1996).

Hemostatik tampondaki aktive olmuş trombositler, yara içindeki inflamatuvar infiltratları harekete geçiren kemotaktik faktörleri ve araşidonik asit metabolitlerini (lökotrienler, tromboksanlar ve prostaglandinler) serbestlerler (Kanzler ve ark., 1986).

Araşidonik asit metabolitleri hemostazise vazokonstriktör olarak yardımcı olurlar. Trombositler aynı zamanda büyüme faktörlerini de üretirler; α granüllerini ortama verdiklerinde bu faktörler kemotaktik özelliklere sahiptirler ve yara iyileşmesinin ilk fazı için kritik olan inflamatuvar infiltratları düzenlerler. Hemostazisin sağlanmasından sonra yara iyileşmesi fazları başlar;

2.3.1. İnflamatuvar faz

Akut inflamasyonda polimorf nüklear lökositler (PMNL) başlangıçta yara içindeki baskın inflamatuvar hücrelerdir (Szpaderska ve ark., 2003). PMNL'ler cansız doku ve bakterileri fagosite ederler (Kirsner ve Eaglstein, 1993; Peterson ve ark., 2003). 48 saat sonra monositlerin akışıyla yara içindeki PMNL'lerin etkinliği azalır. Dolaşımdaki monositler; PMNL'ler, trombositler ve pıhtıdan açığa çıkan kemotaktik faktörlerle yaraya taşınırlar. Bu aşamada makrofaj olarak isimlendirilen monositler yaralı dokuya girerek yaranın artıklarının temizlenmesini sürdürürler (Kanzler ve ark., 1986). Kronik inflamasyonda görülen lenfositler de inflamatuvar infiltratların içinde mevcuttur. Lenfositlerin makrofaj göçünü baskılayan faktörü ve makrofaj aktive edici faktörü serbestlediği bilinmektedir. Bu akıcı mediatörler makrofajları stimüle eder ve yaradaki varlığını sürdürmesini sağlar. Makrofajlar inflamasyonun hem akut hem de kronik fazlarında görev alırlar. Akut İnflamatuvar faz 72 ile 96 saat sürer. Sonunda bütün cansız dokular yaranın kalıcı onarımının hazırlanması sırasında uzaklaştırılır; bu görev makrofajlar tarafından üstlenilir (Peterson ve ark., 2003).

2.3.2. Proliferatif (fibroblastik) faz

İlk yaradan kısa bir süre sonra yara kenarındaki epitel hücreleri, fibroblastlar ve kapillar endotelial hücreler metabolik olarak yarayı doldurmak ve örtmek için aktive olurlar (Kanzler ve ark., 1986; Kirsner ve Eaglstein, 1993). Bu göç, hücrelerin hareket edebildiği yapı iskelesinin varlığına bağlıdır. Fibrin polimerlerinden oluşan bu iskele inflamatuvar faz ve proliferatif faz boyunca, kollajen, hiyalüronik asit, fibronektin ve kondroitin sülfat ile yer değiştirir. Fibroblastlar tarafından sentezlenen bu yapı ekstrasellüler matriks (ESM) olarak isimlendirilir (Kirsner ve Eaglstein, 1993; Desmouliere, 1996). ESM'nin fonksiyonu hücrelerin migrasyonu için rehber bir yol sağlamaktır. ESM lökositlerin kemotaksisi, yeni damarlanma ve kollajen yapımını teşvik eder. Yaralanmamış mukoza tamir olan doku geometrisinin organizasyonuna yardımcı olur (Desmouliere, 1996).

Makrofajlar iyileşme zincirinin merkezdeki yönlendiricileridir. Ölü doku boşluklarında düşük oksijen gerilimini tolere edebilme yeteneğine sahip olduklarından

yeni damarlanma ve fibroblast gelişimi için ilerleyici bir yol olabilmektedirler. Fibroblastlar göç ve kollajen üretiminden sorumludurlar (Peterson ve ark., 2003; Sukotjo ve ark., 2003). Büyüme faktörlerini ve diğer hücrelerin migrasyonunu kontrol ederler. Makrofajların varlığı ile yeni damarlanma arasında doğrudan bir ilişki mevcuttur. Epitelyal hücreler yarayı kapatmak için stimüle edilirler (Kanzler ve ark., 1986). Granülasyon dokusu, fibroblastlar, kapiller endotelyal hücreler ve makrofajlarla şekillendirilir (Choick ve Clemmons, 1993; Kirsner ve Eaglstein, 1993). Bu granülasyon fibroblastları sahip oldukları kontraktıl özelliklerinden dolayı miyofibroblast olarak isimlendirilir. İn vitro olarak histamin, serotonin, bradikinin, epinefrin, norepinefrin ve prostaglandinlere düz kasların fonksiyonel yeteneklerine benzer şekilde reaksiyon verdikleri görülmüştür (Sukotjo ve ark., 2003). Yara granülasyon dokusu ile dolarken fibroblastlar yara kenarlarını birlikte iterler ve bu fenomen klinik olarak büzülme olarak görülür (Brown, 1996). Yaradaki oksijen gerilimi yeni kan damarlarını artırarak dolaşımın iyileşmesini sağlar. Bu fibroblastların proliferasyonunu baskılar ancak ekstraselüler kollajen üretimini stimüle eder (Kanzler ve ark., 1986; Kirsner ve Eaglstein, 1993). Gelecek 7-10 gün boyunca kollajenle dolan yara epitelyal hücrelerle örtülür. Daha sonra skar oluşumu için uzun bir süreç başlar (Brown, 1996).

2.3.3. Olgunlaşma (maturasyon, yeniden şekillenme) fazı

Yara olgunlaşması 2 yıldan daha fazla sürebilen dinamik bir süreçtir. Zaman geçtikçe yaranın vaskülaritesi azaldığı gibi makrofajların etkiside azalır. Sonunda fibroblastlar nispeten damarsız bir ekstraselüler kollajen içinde serpilmiş olarak kalırlar. Salgılanan kollajen α zincirinin üçlü heliksiyle tek amino asit kalıntısından oluşan bir makromoleküldür. Glisin her üç amino asit molekülünde de bulunur. Ancak salgılanan kollajenin ekstraselüler modifikasyonları mevcuttur. Prolin ve lizin glikolizasyon reaksiyonları, çapraz bağlantıların stabilitesi ve üçlü heliks yapının varlığı için önemli olan hidroksitlenmeyi enzimatik olarak gerçekleştirirler (Brown, 1996). Başlangıçta olgunlaşmamış ekstraselüler kollajen (tip III) ve temel maddeler (proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar) yaraya hakimdir. Olgunlaşma ilerledikçe makrofajlar proteaz ve kollajenaz serbestlerler (Kanzler ve ark., 1986). Temel madde azalır ve yara tip I

kollajenle dolar ve olgun skar dokusu meydana gelir. Bu yeni kollajen, direncin maksimum olması için uzar ve çapraz bağlantılar oluşturur (Brown, 1996).

Kollajenin aşırı etimi keloid ve hipertrofik skar ile karakterizedir. İnatçı hipervaskülarite inflemasyon tip III (olgunlaşmamış) kollajenin anormal dizilimi ve yığılmasıyla ilişkilendirilmiştir (Brown, 1996). Deneysel hayvan çalışmalarında ağız mukozasıyla deride oluşturulan eşit yaralarda, yara iyileşmesi fazlarında herhangi bir fark olmadığı, ancak ağızdaki yaralarda daha az granülasyon dokusu ve skar oluştuğu görülmüştür (Sukotjo ve ark., 2003; Szpaderska ve ark., 2003).

2.4. Fotodinamik Tedavi (FDT)

FDT, AMED sergileyen lokalize premalign ve malign lezyonlar için alternatif bir tedavi yöntemidir (Grant ve ark., 1993; Webber ve ark., 1996). FDT, sistemik veya lokal olarak uygulanan ID bir ilacın displazi sergileyen dokularda tutulması, bunu takiben ilacın tutulduğu dokularda fotokimyasal bir reaksiyonla, hücre ölümünü başlatan belirli bir dalga boyuna sahip non termal ışık uygulaması işlemlerinden oluşur (Uehara ve ark., 1996; Kingsbury ve ark., 1997; Webber ve ark., 1997; Maier ve ark., 2001; Tsai ve ark., 2004) (Şekil 2). Optimal ID dozu ve ışık dağılımı sağlandığı durumlarda etraftaki sağlıklı dokuda geriye dönüşümü mümkün olan minimum bir hasarla beraber, sadece tümörlü dokuyu sınırlayacak şekilde yok etmek mümkün olacaktır (Lai ve ark.,1997). ID'lerin ikinci bir kullanım alanı floresans yeteneklerinden yararlanarak teşhis amacıyla displazili dokuların taranmasıdır (Wang ve ark., 2003).

2.4.1. FDT'nin tarihçesi

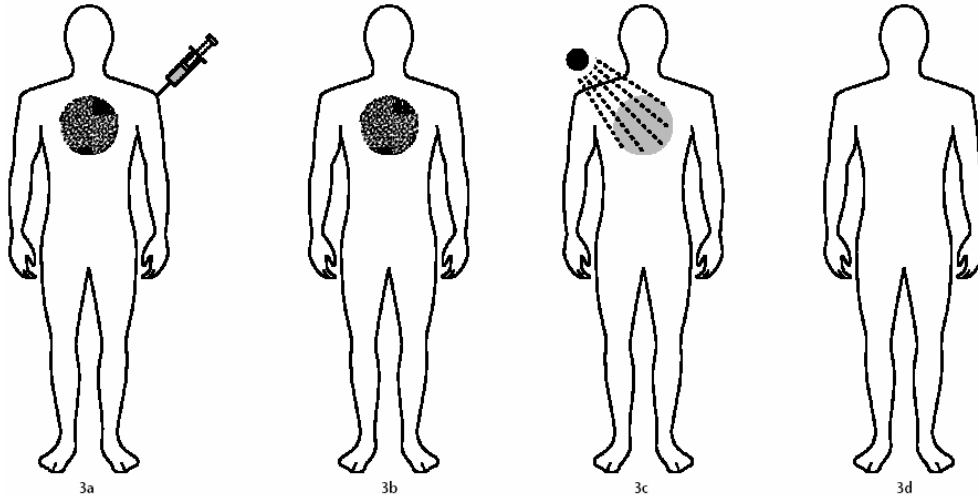
Işığın tedavi amacıyla kullanımı antik çağlara dayanmaktadır (Taylor ve Brown, 2002). Fotodinamik tedavi ise Raab'ın (1900), ekşi portakal ve ışık kombinasyonuyla yaşayan organizmaların (paramezyum) yok edildiğini gösteren raporuyla başlamıştır. Von Tappenier ve Jesionek (1903), deri kanserlerinin tedavisi için topikal eosin ve yüksek doz ışık irradyasyonunu uygulamışlardır. Bu araştırmacılar muhtemelen FDT'yi onkolojide ilk kullanan kişilerdi. Meyer-Betz (1913), kendi derisine hematoporfirini enjekte ederek meydana gelen şiddetli ödem ve eritem gibi deri fotosensitivitesi bulgularını ilk tanımlayan kişi olmuştur. FDT'nin erken dönemlerinde birçok ID ajan araştırılmıştır. Ancak Hausman'ın (1911), hematoporfirinle yaptığı deneyinden sonra porfirin bazlı ID'lere karşı ilgi artmıştır. Schwartz ve ark. (1955), ışığa duyarlaştırıcı özelliğe sahip hematoporfirin türevlerini tanımlamışlardır. Lipson ve ark. (1961), deneysel rat tümörlerini göstermek için sistemik verilen HpD uygulaması ve takip eden ultra viyole (UV) ışınlanması sonrası meydana gelen floresansı tanımlamışlardır. FDT'nin tedavi amacıyla kullanımı Dougherty ve ark. (1975)'nin, yaptıkları deneylerden sonra yaygın bir şekilde ilgi görmüştür. Bu zamandan beri FDT onkolojide

yeni bir tedavi yöntemi olarak pek çok klinik ve prelinik çalışmanın konusu olmuştur (Macdonald ve Dougherty, 2001).

2.4.2. FDT'nin premalign ve malign lezyonlarda kullanılması

Günümüzde bir çok malign ve premalign lezyon uygun ışık sistemlerinin kullanıldığı FDT yöntemleriyle tedavi edilebilmektedir. FDT ilk olarak başka tedavi seçeneği kalmamış nüksetmiş ve metastaz gösteren deri kanserlerinde uygulanmıştır (Nauta ve ark., 1996). Daha sonraları endoskopik cihazların geliştirilmesiyle akciğer, mesane ve özefagus gibi ulaşılması güç bölgelerdeki küçük tümörlerin FDT ile tedavisi gerçekleştirilmiştir (Dougherty ve ark., 1998; Schakley ve ark., 2002). FDT nin yaygın bir şekilde kullanıldığı klinik alanlar yüzeysel mesane kanserleri, beyin tümörleri, akciğer kanserleri, jinekolojik malignensiler, ağız, baş ve boyun kanserleri, malign deri tümörleri, göğüs kanserleri, kolorektal ve üst yemek-soluk borusu tümörleri olmuştur (Schweitzer, 1990; Biel, 1996; Dougherty ve ark., 1998; Gossner ve ark., 1999; Ma ve ark., 1999; Clark ve ark., 2004).

FDT tek başına kullanıldığı gibi bu lezyonların cerrahi tedavisiyle beraber intraoperatif şekilde de kullanılabilir (Biel,1996).



Şekil 3. Fotodinamik tedavinin tipik uygulaması **3a:** malign hastalığı olan hastaya ışığa duyarlaştırıcının dışardan verilmesi **3b:** ışığa duyarlaştırıcının neoplastik hücreler tarafından seçici olarak alınması **3c:** neoplastik hücre sergileyen alana belirli dalga boyunda ışın uygulanması **3d:** ışınlama sonrası hastanın hastalığından kurtulması ve lezyonun yok edilmesi (Taylor ve Brown, 2002).

2.4.3. FDT'nin gereçleri

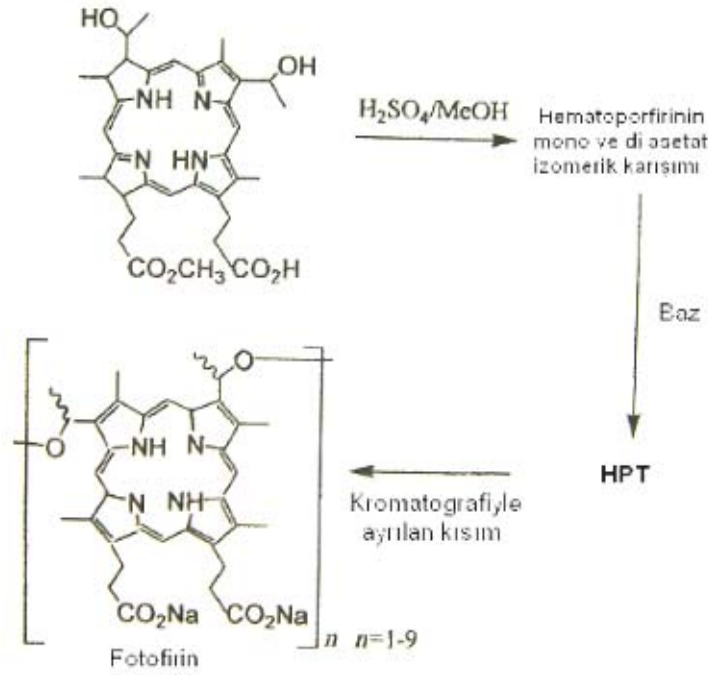
FDT hedef doku içindeki biyolojik olayları hassaslaştırıcı ilacın foto-oksidasyonu üzerine temellendirilmiştir. FDT'nin olabilmesi için **ışığa duyarlaştırıcı ajan, ışık ve oksijenin** üçlü olarak bir arada olması gereklidir (Hopper, 2000; Taylor ve Brown, 2002).

2.4.3.1. Işığa duyarlaştırıcı ajanlar

Günümüzde üzerinde çalışılan ajanlar; Hematoporfirin türevleri (HPT, Fotofirin), Kalay Etiyopurpurin (SnEt₂, Purlitin), Tetra(m-Hidrofenil)Klorin (m-THPC, Foscan), Klorin e6 Aspartik asit (Npe6), Lutetiyum teksafirin (Lu-teks), Benzoporfirin monoasit türevi (BPDMA, Verteporfirin), Heksil eter türevli Pirofeoforbit-a (HPPH, Fotoklor), Benzoklorinler, Purpurin-18-N-Alkilimitler, Porfisen analogları, Gilkosilat porfirinler ve klorinler, fitalosiyeninler, 5-Aminolevulinik asit (ALA) (Schweitzer, 1990; Dougherty ve ark., 1998; Lukyanets, 1999; Ma ve ark., 1999; Pandey, 2000; Macdonald ve Douherty, 2001; Schakley ve ark., 2002).

2.4.3.1.1. Fotofirin

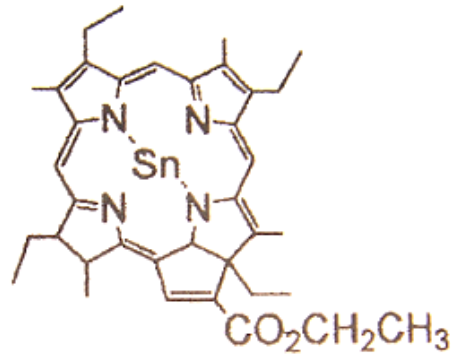
HPT'nin saflaştırılmış bir versiyonu ve aynı zamanda ticari ismidir (Woodburn ve ark., 1991; Nauta ve ark.,1996) (Şekil 4). Günümüzde çeşitli kanser tiplerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Fotofirin çeşitli monomerik ve oligomerik porfirinlerin karışımından oluşan bir komplekstir. Doku penetrasyonu için gerekli ışık dalga boyu 630 nm'dir (Kingsbury ve ark., 1997; Macdonald ve Douherty, 2001). Deride ışığa duyarlılık fotosensitivitesi uzun sürdüğü için hastaların en az 4-6 hafta direkt güneş ışığına maruz kalmamaları gerekir (Macdonald ve Douherty, 2001; Schakley ve ark., 2002).



Şekil 4. Fotofirinin kimyasal formülü ve sentezlenme yolu (Macdonald ve Douherty, 2001).

2.4.3.1.2. Kalay etiyopurpurin (SnEt₂, Purlitin)

Ticari ismi Purlitin olan bir ID'dir ve FDT'de kullanımı araştırılmaktadır (Şekil 5). Işık absorpsiyon spektrumu 650 nm'dir. Metastatik göğüs kanserleri ve korneada yeniden damarlanma ile ilgi çalışmalarda araştırılmaktadır. Fotosensitivite reaksiyonları tedaviden sonra 7-14 gün sürdüğü bildirilmiştir (Mang ve ark., 1998; Primbs ve ark., 1998).



Şekil 5. Kalay etiyopurpurin (Purylitin)'in kimyasal formülü (Macdonald ve Douherty, 2001).

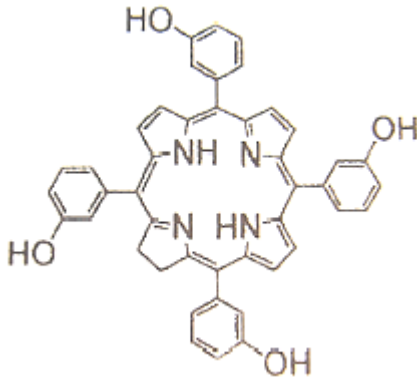
Kalay etiyopurpurin fotofirinle karşılaştırıldığında ışığın dokuya penetrasyonu daha fazla olmaktadır ve 660-665 nm'lik diode lazerler için elverişlidir. Dezavantajları :

Suda çözünmemesi ve ancak yağda formüle edilmesidir. Bundan dolayı hücre içi fototoksite oluşturma süresi uzamaktadır (Pandey, 2000).

2.4.3.1.3. Tetra (m-Hidrofenil)klorin , (m-THPC, Foscan)

Yeni ID'ler arasında en aktif olanlardan biridir (Şekil 6). Düşük dozda ilaç ve ışık dozu gerektirir (Ma ve ark., 1994; Boyle ve Dolphin, 1996; Bourr'e ve ark., 2002). Özefagus, akciğer, gırtlak ve deri kanserleri üzerine etkileri incelenmiştir (Kübler ve ark., 1999; Murrer ve ark., 1999).

Kolay sentezlenir. 652 nm uzun dalga boyunda absorpsiyon gösterir (Bourr'e ve ark., 2002). Etkili bir ID'dir (Wenig ve ark., 2000). Bu ID'nin birkaç defa kullanımıyla büyük hacimli tümörlerin yok edilebileceğini göstermişlerdir. Dezavantajları: Deri fototoksitesi haftalarca (iki hafta civarında) sürmektedir. Işığın aktivasyonu için optimal süre injeksiyonda sonra 7. -9. gündür (Hopper, 2000). Işığa duyarlılık ilaç uygulanmasından 20 gün sonrasına kadar sürebilir (Kübler ve ark., 1999).

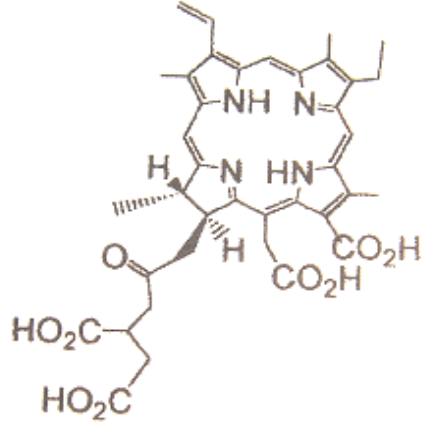


Şekil 6. M-tetrahidroksifenil klorin (Foscan)'in kimyasal formülü (Macdonald ve Douherty, 2001).

2.4.3.1.4. Klorin e6 aspartik asit (Npe6)

Npe6 aspartik asit ile esterifiye edilmiş üç karboksilik asitten oluşan bir klorindir (Şekil 7). Bu bileşim oldukça hidrofildir. Kolayca formüle edilebilir. Bu ajan Japonya'da endobronşiyal kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (Pandey, 2000). Diğer uygulama alanları meme adenokarsinoması, bazal hücreli karsinom ve YHK

olmuştur (Taber ve ark., 1998). İnjesiyondan 4 saat sonra tedavi için ışınlama yapılabilir. Dokulardan uzaklaştırılması hızlıdır (Boyle ve Dolphin, 1996).



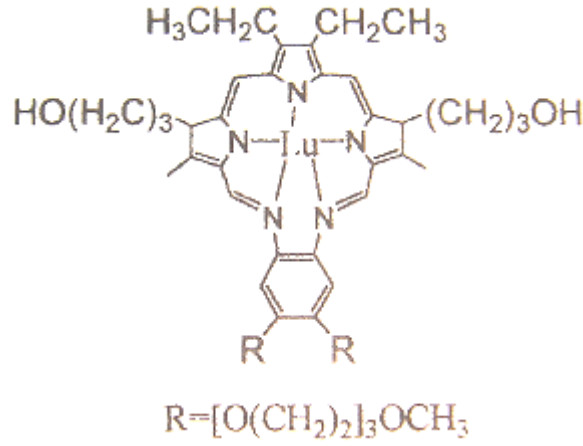
Şekil 7. Mono aspartil klorin e₆ (NPe₆)'ın kimyasal formülü (Macdonald ve Douherty, 2001).

Avantajları; Kolay sentezlenir ve formüle edilir. Deri fototoksitesi oluşturmaz (Taber ve ark.,1998). Dezavantajları: Dolaşımdan hızlı olarak uzaklaştırılır. Tedavinin başarısı ilacın plazmadaki seviyesine bağlıdır (Pandey, 2000).

2.4.3.1.5. Lutesiyum teksafirin (Lu-teks)

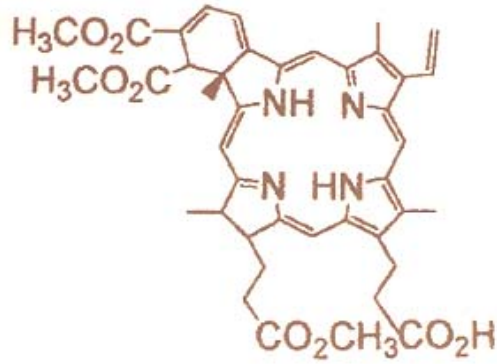
Ticari ismi Luteks'tir (Şekil 8). Tümörler için hayli seçici olduğu ve deri fototoksitesininin sınırlı olduğu öncü çalışmalarda rapor edilmiştir (Hopper, 2000). Dalga boyunun uzun olması nedeniyle ışık daha derin dokulara penetre olabilir. Bu nedenle malign melanomanın tedavisinde tercih edilebilir (Woodburn ve ark., 1998). Çalışma yapılan bir diğer alan ise kardiyak anjiyoplasti sonrası damarların restenozisin önlenmesidir (Woodburn ve ark., 1997).

Luteks 732 nm de güçlü absorpsiyon göstermesi, deri fototoksitesininin sınırlı (72 saat) olması ile etkili bir ID'dir (Macdonald ve Douherty, 2001). Işık tedavisi sırasında şiddetli ağrı olması ve bu maddenin sentezinin çok sayıda aşamadan geçirilerek yapılması dezavantajlarıdır (Pandey, 2000).



Şekil 8. Lutesyum teksafirin (Luteks)'in kimyasal formülü (Macdonald ve Douherty, 2001).

2.4.3.1.6. Benzoporfin monoasit türevi (BPDMA, Verteporfin)



Şekil 9. Benzoporfin türevleri (Verteporfin)'nin kimyasal formülü (Macdonald ve Douherty, 2001).

Bu klorin tipinin bileşimi fotosensitize edici özellikleri eşit iki izomerin karışımından oluşur (Pandey, 2000) (Şekil 9). Işık absorpsiyonu 690 nm'dir (Waterfield ve ark., 1994). Ancak Panjehpour ve ark. (2002), 630 nm'de de istenilen penetrasyon derinliğinin elde edilebileceğini ileri sürmüşlerdir. Lipozomlarla formüle edilir. Bu ajan yaşla ortaya çıkan maküler dejenerasyonun tedavisinde başarılı sonuçlar vermiştir ve bu hastalığın tedavisinde kullanılabilir olacağına dair FDA onayı vardır (Lin ve ark., 1994; Hopper, 2000). Ancak serum ve kanserli dokulardan çok hızlı şekilde atıldığı için FDT için elverişli bir ID değildir. İnjesiyondan 3 saat sonra maksimum seviyeye yükselir ve sonrasında konsantrasyonu hızla azalır (Richter ve ark., 1990).

Avantajları, uzun dalga boyundaki ışık absorpsiyonuna sahip olması ve deri fototoksitesi göstermemesidir. Dezavantajları ise dolaşımdan çabuk uzaklaştırılması ve bütün dokuların dolaşımında yüksek konsantrasyonda bulunduğu için tümör seçiciliğinin olmamasıdır (Lin ve ark., 1994; Pandey, 2000).

2.4.3.1.7. Heksil eter türevli pirofeoforbit-a (HPPH, Fotoklor)

Klorofil a türevleri metil pirofeoforbit- a' nın alkil eter analoglarından hazırlanır. Bu serinin bileşikleri alkil eter karbon zincirinin uzunluğunun artmasıyla biyolojik aktivitelerinin arttığı, n-heksil ve n- heptil zincirleriyle etki maksimum olmaktadır. Faz I/II uygulamalar için FDA tarafından kabul görmüştür. Avantajları: Materyalin başlangıç maddesi doğada bol bulunur ve sentezlenmesi kolaydır. ~ 665nm gibi uzun dalga boyundaki ışık absorpsiyonuna sahip olması, düşük dozlarda mükemmel etkinlik göstermesi ve deri fototoksitesi göstermemesidir (Pandey, 2000).

2.4.3.1.8. Benzoklorinler

Bu bileşiklerin ışık absorpsiyonu 700 nm dalga boyunda olmaktadır. Fare modellerinde etkili bir fotosensitizer olduğu bulunmuştur. Serbest bazlı analogları karşılaştırıldığında çinko bakır iminyum tuzlarının oldukça iyi olduğu bildirilmiştir. Benzoklorinlerin florlu ve florsuz serileri üzerine çalışmalar sürmektedir (Pandey, 2000)

2.4.3.1.9. Purpurin-18-N-Alkilimitler

700 nm de güçlü ışık absorpsiyonu gösterirler. İnjesiyondan sonraki 5 günlük periyot boyunca deri fototoksitesi görülmemiştir (Pandey, 2000).

2.4.3.1.10. Porfisen analogları

Tetra-n-propil porfisen FDT'de kullanılmıştır. Işık absorpsiyonları 630-640 nm'dir. Bu nedenle ideal penetrasyon için uygun değildirler (Pandey, 2000).

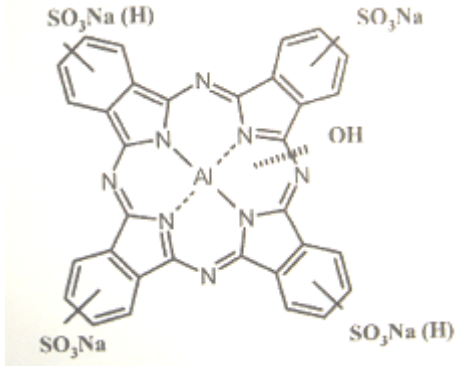
2.4.3.1.11. Gilkosilat porfirinler ve klorinler

Bu maddelerle ilgili çalışmalar deney aşamasındadır (Pandey, 2000).

2.4.3.1.12. Fitalosiyenin türevleri ve naftalosiyeninler

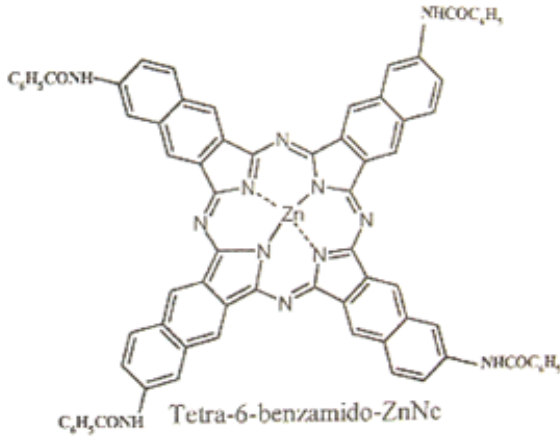
Fitalosiyeninler çok geniş bir IDler grubundan oluşmaktadır. Tıpta kanserin fotodinamik tedavisinde kullanımı yenidir. İntravenöz olarak uygulandıktan sonra ışınlama için tercih edilen zaman 1-48 saat arasında değişir (Lukyanets, 1999). Işınlama için elverişli dalga boyu 640-710 nm arası bölgedir. 640 nm altındaki ışık spektrumunda etkisi sınırlıdır. 640 nm’de etkisi maksimuma ulaşır ve etkisini önemli bir şekilde 710 nm’ ye kadar sürdürür (Cubeddu ve ark.,1992). Üzerinde çalışma yapılanlar; sülfonlu kloroalüminyum fitalosiyeninler (AlPcS), mono veya tetra sülfonlu Çinko fitalosiyenin (ZnPc), di ve tri sülfonlu galyum fitalosiyenin (GaPcS₂ ve GaPcS₃), sülfonlu fitalosiyeninler (PcS)’dir (Henderson ve Dougherty, 1992). Etkinlikleri ve aktivasyon mekanizmaları sulfonasyon derecesine bağlıdır (Edrei ve ark., 1998). 2a- sülfonlu fitalosiyeninlerin 1-, 3-, 2o- ve 4- türevlerine göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (Berg ve ark., 1989). Bir başka araştırmacı grubu sülfonlu fitalosiyeninlerin etkinliğini şöyle sıralamıştır; AlPcS₂=ZnPcS₁> AlPcS₁ >AlPcS₄> ZnPcS₂> ZnPcS₄ (Van Leengoed ve ark., 1993). Deneysel çalışmalarda tümör hücrelerinin öldürülmesinde oldukça etkili ve tedavi edici dozlarda toksik özelliklerinin düşük olduğu bildirilmiştir (Lukyanets, 1999).

Sülfonlu alüminyum fitalosiyeninler Fotosens ismiyle Moskova’da çeşitli medikal enstitülerde kanserle ilgili klinik uygulamalarda kullanılmaktadır (Şekil 10). Fitalosiyeninli-FDT ile tedavi edilen kanser tipleri şöyledir; Kaposi sarkoma, göğüs kanserlerinin deri metastazları, farenks, dil, dudak, ağız mukozasının kanser ve lökoplakileri, özefagus ve mide adenokarsinomudur. 500’e yakın hasta ve 1000 civarında lezyon tedavi edilmiş, bunların büyük çoğunluğunda tam veya kısmi iyileşme elde edilmiştir (Lukyanets, 1999).



Şekil 10. Fotosens ticari isimli Sülfonlu Alüminyum Fitalosiyanın kimyasal formülü (Lukyanets, 1999).

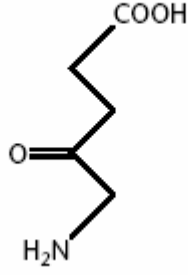
Naftalosiyaninler fitalosiyaninlerin çizgisel olarak kondanse simetrik en basit analoglarıdır (Şekil 11). Güçlü kırmızı bant absorpsiyonları ve uzun dalga boyundaki elektronik spektrumları nedeniyle ilgi çekmişlerdir (Wohrle ve ark., 1994). Bu geniş ID grubunun infrared spektruma yakın dalga boyuna sahip yeni kuşak diyot lazerle yapılacak araştırmalarla FDT prensiplerinin aydınlanacağı bildirilmiştir (Lukyanets, 1999).



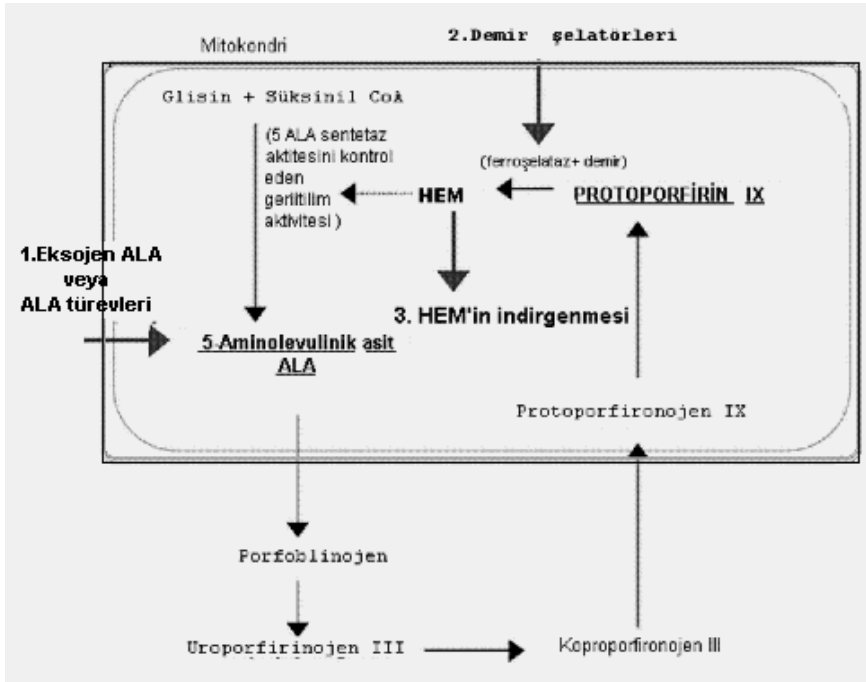
Şekil 11. Naftalosiyaninler grubundan Tetra-6-Benzamido-ÇinkoNaftalosiyanın kimyasal formülü (Lukyanets, 1999)

2.4.3.1.13. 5-Aminolevulinik asit, (ALA)

Yüzeysel kanserlerin klinik olarak tedavisi için ALA kullanılmaktadır (Kennedy ve ark., 1996) (Şekil 12). ALA hem'in biyosentezinde öncül bir moleküldür ve vücutta protoporfirin IX'e (PpIX) dönüştürülür (Henderson ve Dougherty, 1992; Peng ve ark., 1997; Stables ve ark., 1999; Schakley ve ark., 2002) (Şekil 13).



Şekil 12. 5- ALA'nın kimyasal formülü (Levulan) (Taylor ve Brown, 2002).



Şekil 13. Hücreye dışardan alınan 5-Aminolevulinik asitin mitokondri ve sitoplazmada Protoporfirin IX'e dönüştürülmesi (Jichlinski ve Leisinger, 2001).

Prekanseroz ve kanseroz lezyonların tedavisinde ve ID'nin floresans özelliğinden faydalanarak ışıkla taranmasında kullanılmıştır. PPIX sentezi için 3-8 saat gerekmektedir. Fotofirin ve foscan bazlı FDT'de hastaları deri eritemi ve ödeminden korumak için birkaç hafta parlak güneş ışığına maruz kalmaktan korumak gerekir (Nauta ve ark., 1996). Ancak ALA'dan oluşan PpIX ALA'nın sistemik uygulamasından sonraki 24-48 saat içinde vücuttan uzaklaştırılır (Fukuda ve ark., 1992; Grant ve ark., 1993; Leveckisve ark., 1994; Peng ve ark., 1995; Peng ve Moan, 1995; Webber ve ark., 1997). Bu hızlı uzaklaştırma nedeniyle ALA-bazlı fotodinamik tedavi uzamış deri fototoksitesi riskini azalttığı için haftalarca güneş ışığından korumaya gerek

yoktur (Dijkstra ve ark., 2001; Maier ve ark., 2001; Charoenbanpachon ve ark., 2003). Ayrıca ALA- bazlı FDT’de doku hasarının epitel ve epitel altı dokularla sınırlı olduğu ve yüzeysel displazik lezyonların yok edilmesi için uygun bir yöntem olabileceği yazarlar tarafından ortaya konmuştur (Grant ve ark., 1993; Gossner ve ark., 1995; Regula ve ark., 1995). Tedavi amaçlı olarak 630-635 nm’lik dalga boyları kullanılmıştır (Ma ve ark., 1999; Bourr’e ve ark., 2002). Endojen olarak protoporfirin IX’e dönüştürülen bu ID kırmızı, yeşil ve hatta mavi ışıkta bile aktive edilebilir. Deri lezyonlarında derinlik etkisinin 0.2 cm civarındadır (Hopper, 2000).

Avantajları: kolay elde edilebilir olması, deri fototoksitesi oluşturmaması ve kolayca formüle edilmesidir (Hopper, 2000).

2.4.3.1.14. Işığa duyarlaştırıcı ajanların tümör dokusunda seçici olarak tutulum mekanizması

ID’lerin tümör dokusunda birikme ve tutulma mekanizmaları halen bilinmemektedir ve bu konuda çeşitli spekülasyonlar mevcuttur (Pass, 1993; Hopper, 2000). Tümör ve normal dokudaki ID alımının farklılığının açıklanması için çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bu mekanizmalar aşağıdaki gibi sıralanmıştır;

1. Tümör dokusundaki damarların permabilitesinin (geçirgenliğinin) daha büyük olması,
2. ID taşıyan makromoleküllerin dolaşımdan tümör hücrelerine diffüzyonuna olanak sağlaması,
3. ID’lerin lipoprotein ve albuminlere bağlanması (çoğalan tümör hücreleri yüksek miktarda düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) reseptörü bulundurlar),
4. Tümörlerin lenfatik drenajının normal dokulara göre azalmış olmasına bağlı olarak ID’lerin tümör dokularından normal dokulara göre daha geç uzaklaştırılması,
5. Tümör dokularında pH’nın düşmesine (pH’nın düştüğü dokularda suda çözünen sensitizerlerin oranı artar) bağlı olarak ID tutulumunun seçici olabileceği,
6. Tümörle ilişkili makrofajların agrege olan duyarlaştırıcılara tümöre- seçici olarak alınmasında rol oynayabilir (Freitas, 1990; Korbelik ve ark., 1991;

Henderson ve Dougherty, 1992; Gerweck ve Seetharaman, 1996; Dougherty ve ark., 1998).

Bazı araştırmacılar elektroforez, ultrasantrifujleme ve spektroskopik analizlerle LDL'lerin dolaşımdaki ID'ler için bir hazne görevi görebileceğini göstermişlerdir (Moan ve ark., 1985; Beltramini ve ark., 1987).

ID'lerin tutulum ve birikmesi tümör dokusuyla sınırlı değildir. [³³C] ve [³H] işaretlenmiş porfirinle yapılan otoradyografik çalışmalarla kanıtlanmıştır (Gomer ve Dougherty, 1979; Pass, 1993). [¹⁴C] porfirinle farelerde yapılan bir çalışmada sırasıyla en çok tutulum karaciğer, büyüme hormonu, mesane > pankreas, böbrek, dalak > mide, kemik, akciğer, kalp > deri > kas ≥ beyinde gözlenmiştir (Henderson ve Dougherty, 1992). ID'lerin akciğer, böbrek ve dalak gibi retiküloendotelyal komponentin zengin olduğu dokularda deneysel malign tümörlerden daha fazla biriktiği görülmüştür. ID'ler fibröz doku matriksinin kollajen, elastik ve retiküler liflerine bağlanır. Tümör ve normal dokular arasındaki konsantrasyon 2/1 ve 5/1 oranlarında değişmektedir (Nauta ve ark., 1996). Hopper, (2000) beyin tümörlerinde ID birikiminin normal dokudan 12 kat daha fazla olduğunu bildirmiştir.

2.4.3.2. FDT'de aktive edici işık

2.4.3.2.1. Işık kaynakları

ID'nin hedef dokuda birikmesinden sonra düşük enerjili uygun dalga boylu işık tümör üstüne uygulanır (Hopper, 2000). FDT de önceleri işık kaynağı olarak geleneksel lambalar kullanılmıştır. Ancak dalga boyu spektrumunun geniş olması, işığın bazı lezyonlara ulaştırılmasındaki güçlük dokunun aşırı ısınması gibi nedenlerle günümüzde yerlerini lazerlere bırakmıştır (Nauta ve ark., 1996). FDT için işık kaynağı olarak bu lazerlerin avantajı dalga boylarının ID'lerin absorpsiyon spektrasını harekete geçiren işık için eşleştirme ve lazer işığının optik fiberler içinde etkili olarak geçirebilme imkanındır (Macdonald ve Douherty, 2001).

FDT'de Argon lazer, Altın-Bakır buhar lazerler, Helyum-Neon lazerler, KTP(Potasyum Titanyum Fosfat) lazer, Nd-YAG (Neodmiyum:Yttriumalimunyum-Garnet) ve Diyot lazer gibi çeşitli lazer sistemleri kullanılmaktadır (Schweitzer, 1990; Biel, 1994; Schakley ve ark., 2002; Tsai ve ark., 2004). Yakın zamanda kition kırmızısı veya rhodamine B'li Argon pompalı boya lazerler (630nm) porfirin bazlı ID'lerle yapılan FDT de kullanılmıştır (Schweitzer, 1990). Argon boya lazerlerin pahalı, maksimum gücünün 3-4 Wat olması ve klinik olarak manüplasyonun zorluğu dezavantaj oluşturmaktadır. 532 nm dalga boyu emisyonuna sahip KTP lazerin bir boya lazerle kombinasyonu operasyon kolaylığı ve kompakt boyutlu olmasından dolayı klinik uygulamalar için daha uygun olduğu görülmüştür. Bunların kompleks ve geniş olması dezavantajdır. FDT için diğer ışık kaynağı lazerler metal (bakır ve altın) buhar lazerleridir. Bunlar tek başlarına veya bir boya lazer kombinasyonu ile beraber kullanılırlar. Bu lazerler büyük ve komplekstirler. Dalga boyları sabit olan altın buhar lazerler (628 nm) porfirin bazlı sensitizerler dışındakiler için elverişli değildir. 632.8 nm dalga boylu Helium Neon (He-Ne) lazerler FDT için kullanılmışlardır (Nauta ve ark., 1996). Fakat düşük güçleri uygulamalarını kısıtlamıştır. Lazer teknolojisindeki en son gelişme diyot lazerlerdir. Bu katı faz lazer sistemi küçük ebatlı ve ucuz olması, dışardan soğutma sistemine ihtiyaç göstermemesi, uygulama ve taşıma kolaylığı, gibi üstünlükleri nedeniyle geleceğin lazeri olarak gösterilmiştir (Dougherty ve ark., 1998; Tsai ve ark., 2004).

2.4.3.2.2. Işık taşıma sistemleri

Işık taşıma sistemleri tedavi edilecek bölgeye göre çeşitli formlarda yapılmıştır. Deri ve ağız kavitesinin yüzeysel tümörleri için üniform bir yüzey ışınlanması sağlayan basit bir mikrolens sistemi, geniş tümör kitleleri için intersitisyel ışınlama sağlayan silindirik veya küresel difüzerler, lümen ve kavitelelerin (örn:bronşlar,özefagus,mesane) ışınlanması için silindirik veya isotropik küresel difuserler tasarlanmıştır (Biel, 1996; McCaughan, 1997; Overholt ve Panjepour, 1997; Schakley ve ark., 2002). Işık çok sayıda fiberle bölünerek taşınabilir ve bu sayede büyük hacimli tümörlerin intersitisyel tedavisi gerçekleştirilebilir (Biel, 1994).

2.4.3.2.3. Işık penetrasyonu

Bolin ve ark. (1984), Svasand (1984) ve Wilson ve ark. (1984), dalga boyu 800 nm civarında olan ışığın dokularda en rahat geçen ışık olduğunu göstermişlerdir. Dokuya ışık tutulduğunda ışığın dokudan kırmızı renkte geçtiğini görürüz (ağız içinden yanağa ışık tutulduğunda kırmızı görünmesi). Bunun nedeni kırmızı ışığın dokulara en derin penetrasyonu göstermesindedir (dokudaki kanın renginin yansması değildir).

Işığın dokuya penetrasyon derinliği dokunun ve ışığın dalga boyunun optik özelliklerine bağlıdır (Svaasand, 1984). Fotonlar dokuya girdiği zaman bir kısmı yüzeyden yansırken kalanı doku içinde saçılır veya kromoforlar tarafından absorbe edilir. Teorik olarak az sayıda foton doku hacmini kat edebilir. Fakat bu sayı çok küçüktür. 800 nm'den daha küçük dalga boyları makromoleküller tarafından daha etkin bir şekilde saçılırlar, çünkü bunlar partiküllerin boyutlarına eşit yada daha küçüktürler (Macdonald ve Dougherty, 2001). 800 nm'den uzun dalga boylarında su molekülleri ışığı absorbe etmeye başlar ve ısı açığa çıkar. Yoğun pigmente dokular ışığın dokuya penetrasyon derinliğini önemli miktarda azalır. Bu siyah ve beyaz kobay gruplarında gösterilmiştir. Bunun nedeni melaninin yüksek absorpsiyon özelliğinden kaynaklanır (Bernstein ve ark., 1990).

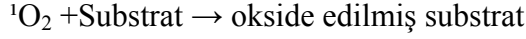
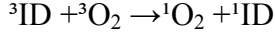
2.4.3.3. Oksijen (O₂)

FDT'nin tümörü öldürücü etkisi fotokimyasal reaksiyonlar sonucu açığa çıkan oksijen radikallerinden kaynaklanır (Biel, 1994). Bu nedenle oksijen varlığı FDT için çok önemlidir. Bu çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Henderson ve Fingar, 1987; Pass, 1993). Çünkü dokudaki hipoksi güçlü bir şekilde FDT'nin etkilerini azaltır. Ancak fitalosiyanın gibi katyonik sensitizerlerin oksijenden bağımsız olarak etki gösterdikleri ileri sürülmüştür. Fotofirinin % 5'lik O₂ seviyesinde gösterdiği etkinliğin % 1'lik O₂ durumunda yarıya indiği, O₂'siz ortamda fotosensitizasyonun meydana gelmediği gösterilmiştir (Pandey, 2000). Hipoksik hücreler daha iyi oksijenlenen hücrelere nispeten daha fazla FDT'ye dirençlidirler. Bu nedenle doku oksijenasyonu fotodinamik tedavinin etkinliğinde önemli rol oynayabilir (Henderson ve Dougherty,

1992). Dokudaki oksijen tüketimi ışığın akış hızına bağlıdır. Dolayısıyla düşük akış hızı kullanılarak doku harabiyetinin artabileceği bildirilmiştir. Düşük akış hızları dokunun oksijenini hemen tüketmediği için tedavi sırasında tek (singlet) oksijene daha fazla maruz kalır (See ve ark.,1984; Pass, 1993). Klinik olarak yüksek ışık akış hızı tedavi süresini azaltmak için tercih edilir. Ancak yüksek akış hızlarının ideal etki elde etmek için uygun olmayacağı bildirilmiştir (Macdonald ve Douherty, 2001). Foster ve ark., (1991) tümörlü ratlarda 5 mg/kg fotofirinin etkinliğini 50 mW/cm² ile 200 mW/cm² akış hızlarına göre değerlendirdikleri çalışmalarında tedavi cevabının düşük akış hızında daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmayı Sitnik ve Henderson (1998)'un, çalışması desteklemiştir.

ID'ler, ışık ile aktive edilerek moleküler oksijen ile etkileşmenin gerçekleştiği reaktif tek oksijenin açığa çıktığı uyarılmış fazın oluşumunu sağlar. Bu fazın ömrü çok kısa olmasına rağmen hayli sitotoksiktir (<0.04µs) (Hopper, 2000). Foton absorpsiyonundan sonra ID kararlı fazı (tek atom) kısa süreli bir oksijen atomunun uyarılma fazıyla elektronik olarak uyarılmış 3 atomlu oksijen fazına dönüştürülür. 3 atomlu oksijenin oksidasyonunun oluşmasında iki ana yol vardır. I. Tip fotooksidasyon (direkt bir reaksiyon) elektron veya hidrojen transferiyle bir substrat ile uyarılmış 3 faz ID arasında meydana gelir. Bu etkileşim biyolojik maddelerdeki radikallerin veya ID'lerden radikaller açığa çıkmasına neden olur. Bu radikaller oksitlenmiş ürünler için moleküler oksijenle reaksiyona girer. Tip I fotooksidasyonun FDT'teki minör rolü 3'lü ID'le substrat arasındaki yarışmalı reaksiyona girmektir. Tek oksijen tip II oksidasyon yoluyla oluşur. Bir fotonun emiliminden sonra duyarlaştırıcı maddenin kararlı durumu uyarılma yoluyla tekli oksijen fazına dönüşür. Bu uyarılmış tekli faz eski kararlı haline dönüş yaptığında floresans şeklinde ışık salar. Duyarlaştırıcının uyarılmış tek oksijen fazı, uyarılmış üçlü faza sistemler arasında geçiş yaparak dönüş yaptığı zaman doku oksijeniyle reaksiyona girerek tek oksijeni oluşturur. Daha sonra tekli oksijen molekülü biyolojik substratlarla tepkimeye girerek daha sonra hücre hasarı ve doku harabiyetine neden olur (Foote, 1991).

Aşağıdaki şemada tekli oksijenin nasıl oluştuğu ve biyolojik substratlarla nasıl reaksiyona girdiği görülmektedir;



Bu şemada ^1ID ışığa duyarlaştırıcı ajanın tekli kararlı faz halini, Ie ışık enerjisini, $^1\text{ID}^*$ uyarılmış ışığa duyarlaştırıcı ajanın tekli fazını, $^3\text{ID}^*$ uyarılmış ışığa duyarlaştırıcı ajanın üçlü fazını ifade eder. $^1\text{ID}^*$ 'nın, $^3\text{ID}^*$ ya dönüşümü sistemler arası geçiştir. $^3\text{O}_2$ doku oksijenini ifade eder (üçlü fazda). $^1\text{O}_2$ tekli oksijeni gösteriyor. Üçlü uyarılmış fazına dönüşmek yerine $^3\text{ID}^*$ kendi $^1\text{ID}^*$ da kendi kararlı tekli haline dönüşebilir. Bu geriye dönüş halinde floresans ışık yayar (Nauta ve ark., 1996).

2.4.4. Dozimetri

2.4.4.1. Işığa duyarlaştırıcı ajan dozu

İn vivo olarak ışığa maruz kalma sırasında ID'ler yavaş bir yıkıma (fotoağartma) uğrarlar. Bunun sebebi duyarlaştırıcıların tekli oksijen veya serbest radikallerle reaksiyona girmesidir. Fotoağartma sebebiyle bu etkileşim ürünleri FDT'de daha fazla rol oynamazlar (Nauta ve ark., 1996). Tümör öldürücü olabilmesi için FDT'de duyarlaştırıcı dozu ve ışık dozu arasında bir eşik kombinasyonu olması gerektiği görülmektedir (Macdonald ve Douherty, 2001). Bu eşik doz normal doku harabiyetini önlemek veya azaltmakta ve böylece tedavi edici oranın artmasında tümörün çevre normal dokudan daha fazla duyarlaştırıcı ajan biriktirmesi şartıyla büyük öneme sahiptir. Uygulanan duyarlaştırıcı dozu fotoağartma etkisiyle normal dokuda eşik doza ulaşmayacak seviyede fakat tümör dokusunda eşik dozu aşacak şekilde seçilmelidir (Patterson ve ark., 1990). Bu prensip deri kanserlerinin tedavisinde uygulanmıştır (Nauta ve ark., 1996).

2.4.4.2. Işık dozimetrisi:

FDT'nin etkisini karşılaştırmak, yeniden oluşturmak ve önceden tahmin edebilmek için ışık dozimetri bilgisi gerekmektedir. Bu FDT'nin başarısı veya başarısızlığını belirleyen önemli bir faktördür. Ancak klinik uygulamalarda ışık dozuna pek önem verilmemiştir (Hopper ve ark., 2004). Tümör dokusunda biriken ID miktarı, çevre sağlıklı dokularda birikenden daha fazla olursa seçici tümör harabiyeti elde edilebilir. Seçicilik aynı zamanda ışığın tümör dokusuna seçici olarak verilmesi ve çevre sağlıklı dokulardan da mümkün olduğunca uzak tutulması ile elde edilebilir (Macdonald ve Douherty, 2001).

Işık kaynağının gücü watt (W) olarak ve verilen enerjide joule (J) olarak ifade edilir ($W \times S$). FDT'de genellikle bir yüzey alanı radyasyona tabi tutulur ve birim alana düşen güç (irradiyans) W/m^2 veya mW/cm^2 olarak ifade edilir (Nauta ve ark., 1996).

FDT'nin etkisi ID'nin dokudaki absorpsiyon katsayısı (m^{-1}) ile enerji akışının (J/m^2)'nin çarpılmasıyla elde edilir. Enerji akışı enerji akış hızı oranı (W/m^2) ile irradiyasyon süresi (s)'nin çarpımı ile elde edilir. Enerji akış hızının absorpsiyon katsayısı ile çarpımı ID'nin saniyedeki ve birim ünitadaki absorbe ettiği enerjidir ve enerji akış hızı arttıkça bu absorbe edilen enerjide artar. ID'nin dokudaki konsantrasyonun dağılımı genellikle bilinmediğinde ID tarafından absorbe edilen ışık miktarı da bilinmez. Yüzeysel FDT'de birim alana düşen gücün irradiyasyon süresi ile çarpımı FDT için ışık dozu olarak kullanılır. Fakat dokudaki enerji akış hızı farklı olabilir. Bu farklılıklar ışık saçılma ve doku sınırlarında iç yansıma fenomenleri sebebiyledir. Işık dozimetriyle ilgili daha fazla bilgi sahibi olmak için, ışık akış hızı ölçümü, saçılma özelliklerinin tahmini ve tedavi edilen dokunun optik absorpsiyonun in vivo ölçümleri gibi dokudaki ışığın yayılmasının matematiksel tanımlamasında kullanılan hesaplamaları oluşturmak gerekir (Marunissen ve ark., 1987; Patterson ve ark., 1991)

2.4.5. FDT nin dokular üzerine etki mekanizması

FDT'de tümör hücrelerine verilen zararlar, hücresel ve damarsal etkiler gözönüne alınmalıdır (Peng ve ark., 1995; Peng ve Moan, 1995). Bu etkiler içerisinde

damarsal etki (bu kan akımının stazına yol açıyor) FDT'de tümör harabiyetinde en esaslı ve en önemli rolü oynar (Pandey, 2000).

2.4.5.1. Hücresel etkiler

Başlangıçta yeterli miktarda ID toplamış ve öldürücü miktarda tek oksijeni üretecek kadar yeterli ışık almış hücrelerin FDT tarafından harap edildiği düşünülmüştür. Bu etki çeşitli yazarlar tarafından etkin bir biçimde ortaya konmuştur (Christensen ve ark., 1981; Berns ve ark., 1982). Henderson ve ark., (1984) in vivo FDT uygulamasından sonra tümör hücrelerinin büyük bir kısmının öldüğünü, bunun nedeni olarak vasküler tıkanmaya bağlı hücrelerin yeterli oksijen ve besin alamaması sonucu olduğunu göstermişlerdir (Henderson ve Fingar, 1987). Ancak direkt hücre sitotoksitesinin tamamen önemsiz olmadığını kabul etmişlerdir. Fingar ve ark., (1987) fotofirinle yaptıkları deneyde FDT ile elde edilen direkt hücre ölümünün önemli olduğunu göstermişlerdir. Sharkey ve ark.(1993), Wilson ve ark.(1997), deneysel çalışmalarında hücrelerin in vitro olarak hassas, in vivo ise dirençli; damar hasarlarını ise eşit bulmuşlardır.

FDT'nin sitotoksik etkisi açığa çıkan reaktif oksijen türleriyle ilişkilidir (Sieron ve ark., 2003). Uygulama esnasında dokuda açığa çıkan reaktif bir oksijen olan tekli oksijen yaklaşık olarak 0.1 µm kadar difüzyona uğrar ve ömrü 1 µs (mikrosaniye)'den kısadır. Dolayısıyla tekli oksijenin sebep olduğu hücre hasarının hücre içinde tekli oksijene yakın bölgede olması gerekir (Moan ve Sommer, 1985; Moan, 1990).

2.4.5.1.1. DNA hasarı

Başlangıçta DNA'nın FDT modifikasyonuna duyarlı olduğu düşünülmüştür. Gutter ve ark., (1985) in vitro HPT-FDT uygulanmasında DNA'da hasar oluşabildiğini göstermişlerdir. Guanin karşısına gelen sitozinde modifikasyon oluşması en sık görülendir. İn vitro olarak DNA hasar tamir mekanizmalarında gecikme olan hücrelerde sağ kalımın azaldığı dolaylı yoldan kanıtlanmıştır. Ancak FDT etkileri X ışını ile karşılaştırdığında, X ışınlarının FDT'den çok daha fazla zincir kopmalarına

(%80), eş kromozom değiş-tokuşuna ve kromatid sapmalarına (%5) neden olduğu görülmüştür. Ayrıca FDT kaynaklı zincir kopmaları hücreler tarafından, X ışınlarına bağlı kopmalara göre daha etkin bir şekilde onarılmıştır (Gomer ve ark., 1987). McNair ve ark., (1997). HPT, m-THPC ve metilen mavisinin in vitro olarak DNA üzerine hasarlı etkisi olup olmadığını araştırmışlar; sonuçta m-THPC’de DNA hasarı görülmezken HPT ve metilen mavisinde düşük düzeyde DNA hasarı olduğunu gözlemlemişlerdir. McDonald ve ark., (1998) DNA hasarının FDT yanıtını başlatan önemli bir tetikleyici olmadığı görüşünü ileri atmışlardır.

2.4.5.1.2. Lizozomal hasar

ID’lerin çoğu golgi aygıtı, endoplazmik retikulum, mitokondri, lizozomlar ve membranlar gibi sitozolik hedeflerde toplanırlar. ID’lerin en çok toplandığı hedefler lizozomlardır (McDonald ve ark.,1998). Berg ve Moan (1994), lizozomların yüksek derecede hassas FDT hedefleri olduklarını ileri sürmüşlerdir. Okada ve Rechsteiner (1982), lizozomal yıkımın direkt olarak sitotoksik olmadığını savunmuşlardır. Fakat Geze ve ark. (1993), harap olan lizozomlardan sızan hidrolazlar ve asitlerin hücre yapılarını parçalayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Berg ve Moan (1994), ise (TPPS-aracılıklı) FDT’de lizozomların parçalandığını ancak hücrelerin canlılığını yitirmediğini ve saptanan enzimlerin FDT sırasında değil hücrelerin ekstraksiyon işlemi sırasında açığa çıktığını savunmuşlardır. Moan ve ark. (1994), lizozomların primer lokalizasyon yeri olabileceğini, fakat fotodinamik hedef olmadığını ileri sürmüşlerdir. Yazarlar teorilerini ışık uygulamasıyla lizozomların yırtılabileceğini ve serbest hale gelen ID’nin mitokondri ve çekirdek membranları gibi duyarlı organellere yerleşebileceği şeklinde açıklamışlardır.

Yeni hücresele hedeflere yerleşen bileşikler, fotodinamik olarak daha aktiftirler çünkü disagrege olduklarından dolayı yüksek tek oksijen quantum enerjisine sahiptirler. Ancak lizozomların fotodinamik hasardan sonra yırtılıp bileşikleri açığa çıkardığı yada hücre hasarıyla hücre içinde başka bir yerde ID’nin gözlenemeyen fraksiyonlarının lizozomların zarlarının yırtılmasına ve bunun sonucunda ID’nin açığa çıkmasına sebep olup olmadığı kesinlik kazanmamıştır (McDonald ve ark., 1998).

2.4.5.1.3. Mitokondriyal hasar

Hücreler için gerekli enerji olan adenozin trifosfat (ATP)'ı üreten mitokondrilerin fotodinamik hasarda rol alabileceği düşünülmüştür. Gibson ve Hilf (1983), HPT ve protrombin IX 'in mitokondri fonksiyonları ve sitokrom c aktivitesi üzerine etkilerini araştırmışlar ve HPT-FDT'nin mitokondri fonksiyonları ve sitokrom c aktivitesini azalttığını, ancak bu azalmanın protrombin IX-FDT'de görülmediğini kaydetmişlerdir. Ayrıca Hilf ve ark. (1984), HPT-FDT'nin in vivo çeşitli mitokondriyal proteinleri inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ancak araştırmacılar sulu ortamda tek oksijenin ömrünün büyük ölçüde azalmasından dolayı sitosolik proteinlerin membran proteinleri kadar fotokimyasal oksidasyon için duyarlı olamayacağını da bildirmişlerdir. Perlin ve ark. (1995), HPT-FDT'nin, ATP oluşturmak için mitokondri membranından proton alarak enerji sağlayan adenozin trifosfatın aktivitesini azalttığını ve FDT kaynaklı hücre ölümünün gerçekleştiğini in vivo olarak göstermişlerdir.

2.4.5.1.4. Membran hasarı

Tümör hücrelerini öldürmenin diğer etkin bir yolu hücre membranlarını foto-oksidize etmek olduğu düşünülmüştür. Çünkü fotofirin erlen inhibisyon döneminde hücre membranlarına lokalize olduğu bilinmektedir (Kessel, 1984). Dubbelman ve ark. (1992), FDT'nin lizozomlarda yırtılmaya, potasyum iyonlarının ve küçük moleküllerin hücrelerden sızmasına, membran lipit geçirgenliğini artırdığı fakat bu olayların mitokondrilerdeki protein hasarından sonra meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Membran lipitlerinin direkt oksidasyonu hücre için öldürücü olmamasına rağmen FDT'de membranlar önemli rol oynayabilir. Mitokondriyal membranlar içindeki lipitlerin oksidasyonu doğrudan sitotoksik olmayabilir fakat hücrenin ölüm haberini veren güçlü sinyaller olarak iş görebilirler. Membranlar özellikle mitokondriyal membranlar ID'lerin lokalizasyon bölgeleri olarak iş görürler. Fotodinamik olarak aktif ID'ler belirli protein hedefleri için afinite taşıyabilirler ancak lipit tabakaları

çevresinde gruplaşabilirler. Dolayısıyla ID'in birtakım membranlara afinitesi protein hedefini yani membran içindeki hedef proteinlerini belirler (Wilson ve ark., 1997).

2.4.5.1.5. Duyarlaştırıcı ajan özelliklerinin hücre hasarındaki rolü

Hücre hasarının yeri duyarlaştırıcının tipine göre değişir (Nauta ve ark., 1996). Lipofilik anyonik duyarlaştırıcının membranlarda (plazma membranı, mitokondri, lizozom ve endoplazmik retikulumun membranları) hasar meydana getirir (Moan, 1986; Henderson ve Dougherty, 1992). Bu membran hasarı kolesterol ve membran fosfolipitlerinin oksidasyonu sonucudur. Buna bağlı olarak membran geçirgenliği değişir ve akıcılık kaybedilir. Amino lipitler çapraz bağ oluşturur ve bu membranla ilişkili enzim ve reseptörler değişir. Mitokondriyal enzim inhibisyonun FDT kaynaklı hücre hasarında büyük bir etken olduğu düşünülür (Berg ve Moan, 1997). Hidrofilik duyarlaştırıcılar pinositozis ve endositozis ile lizozom ve endozomlarda lokalize olurlar. Işınlama yapıldığında geçirgenliği artan lizozomlardan ID ve hidrolitik enzimler sitozalde serbest hale gelirler (Pandey, 2000). Özellikle fotofirin gibi hidrofilik ID'ler lizozomların membranında harabiyete yol açarak etki ederler. NPe6'nın lizozomlarda tercihli olarak tutunduğu bilinmektedir. İn vivo çalışmalarda yüksek anyonik bileşikler hızlı şekilde dolaşımdan uzaklaştırılmaları nedeniyle fotodinamik açıdan daha az aktif bulunmuşlardır (Woodburn ve ark., 1999). Katyonik duyarlaştırıcıların tercihli olarak mitokondrielerde biriktiği ve etkinliklerini mitokondriyal hasarla gösterdikleri ileri sürülmüştür (Henderson ve Dougherty, 1992). Hücre membran harabiyetinden dolayı inflamatuvar ve immun mediatörler meydana salınırlar. Vazoaktif olan (ya damar genişletici yada büzücü) bu mediatörler hızlı etki ederler. Makrofajlardan serbestlenen tümör nekroz faktörü (TNF) ışık uygulamasından 3-6 saat sonra maksimum seviyeye çıkar (Evans ve ark., 1990; Hopper, 2000).

2.4.5.2. Damarsal etkiler

Araştırmacılar FDT'de tümörün yıkılmasına yol açan önemli olayların vasküler etkilerden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (Fingar ve ark., 1992; Biel, 1996). Duyarlaştırıcıların perivasküler stromada baskın şekilde depolandığı

gösterilmiştir (Nauta ve ark., 1996). Damar duvarının endotelyal hücreleri FDT'de en çok zarar gören kısımlardır (Berenbaum ve ark., 1990). Işık uygulamasından sonra saniyeler içinde vasküler staz, tromboz ve hemoraji meydana gelir. Tümör dokusunu besleyen kan damarlarındaki kan akışı azalır ve hipoksi veya anoksi nedeniyle tümör hücrelerinin ölümü gerçekleşir (Biel, 1996; Belmont ve ark., 2000).

Fingar ve ark. (1992), tarafından tümör taşıyan hayvanlarda fotofirin injeksiyonunu takip eden birkaç dakika içerisinde fotodinamik hasarın damarlanma ile sınırlı olduğu ve hasar gören damarın beslediği uzak kısımlarda nekrotik tümör ceplerinin oluştuğunun gösterilmesiyle doğrulanmıştır. Henderson ve Fingar (1987), tümör dokusundan doğrudan doğruya oksijen miktarını ölçerek, FDT sonrası oksijen yoksunluğunun tümör hücrelerini öldürdüğünü göstermişlerdir.

Endotel hücreleri normalde sağlıklı bir damar tonusunu korumak için, vazoaaktif ve vazokonstriktif maddeleri dengede tutar. FDT sırasında damar endotelyumundaki hasar, damarla ilişkili nitrik oksidin salınmasına ve bunu takiben arteriollerde vazokonstriksiyonla sonuçlanır (Merhi ve ark., 1995). Endotelyum hasarı bazal membranın açığa çıkmasına ve lökosit ve trombositlerin adhezyonuna yol açar (Chaudhuri ve ark., 1999). Prostaglandin ve tromboksanlar serbestlenerek, trombosit kümelenmesi, arteriol konstriksiyonu ve makromoleküllerin çıkışına neden olur. Direkt ışık irradiasyonu ile duyarlaşmış mast hücreleri ve makrofajlar vazoaaktif inflamatuvar ajanları ve sitokinleri serbestlerler. Trombositler ve PMNL'ler damar duvarına yapışır, konstriksiyon bölgesine hareket eder ve kümeleşirler. Bu noktadan kemokinleri takip ederek damar dışındaki çevre dokuya göç ederler (Steele ve ark., 1985). Bu FDT'ye ilk yanıtın lokal inflamasyon olmasını açıklar. Vasküler tıkanmayı lokal doku nekrozu takip eder (Belmont ve ark., 2000).

FDT'nin herhangi bir endotelyal hücre veya tümör hasarından önceki erken belirtileri ödem ve eritemdir (Henderson ve Dougherty, 1992). Pıhtılaşma faktörlerinin, vazoaaktif mediatörlerin serbestlenmesi ve mast hücrelerinin degranülasyonu koagülasyonun artmasına ve damar tonusunun değişmesine neden olurlar. Histamin, kapiller permabilitenin artmasına dolayısıyla sıvı ve proteinlerin damar dışına çıkarak

perivasküler ödeme neden olur. Von Willebrand faktörü histaminle artar, trombosit kümelenmesine aracılık eder ve damar duvarının adezyonuna neden olur (Foster ve ark., 1991). Trombosit ve PMNL'ler araşidonik asit metabolitlerinin (PGE2, PG1, Tromboksan, serotonin) artışına bunlarda damar permabilitesine neden olur (Fingar ve ark., 1992). McMahon ve ark. (1994), tromboksan ve vazoaktif lökotrienlerin fotofirinli FDT'den sonra in vivo olarak büyük miktarda oluştuğunu bildirmişler. Fotofirin- FDT oluşan inflamatuvar yanıtın genel olmadığını, çünkü diğer ID'lerin aynı dercede ve aynı tipte damar yanıtı oluşturmadığını göstermişlerdir. Npe6-FDT'de oluşan damar stazının arterlerdeki trombosit kümelenmesinden kaynaklandığı, tromboksan üretimi ve arteriyel konstriksiyonun ise oluşmadığı yazarlar tarafından not edilmiştir. SnEt₂ inflamatuvar cevap oluşturur, ancak trombosit kümelenmesi ve damar konstriksiyonuna neden olmaz (McMahon ve ark., 1994).

Araşidonik asit türevleri hücre içinde bulunan fosfolipitleri hidrolize eden fosfolipazlar tarafından oluşturulurlar (Steele ve ark., 1985). Araşidonik asite iki oksijen molekülünün ilavesini katalizleyen prostaglandin endoperoksit sentaz tarafından araşidonik asit prostaglandine dönüştürülür. Bu fosfolipazların inhibisyonu apoptozise gitme eğilimini azaltır. Fingar ve ark. (1992), prostaglandin endoperoksit sentazın siklooksijenaz aktivitesini azaltan endometazinin FDT'den kaynaklanan vazokonstriksiyonu ve tromboksan miktarını azatlığını dolayısıyla FDT cevabını azalttığını göstermişlerdir.

Bu bir birini takip eden olaylardan dolayı arteriol ve venüllerde erken kan akışı stazı meydana gelir (Benhur ve Orenstein, 1991). Bunu takiben tümörün etrafında mikro düzeyde staz meydana gelir. Işık uygulamasını takiben dakikalar içinde, kan akışında bir azalma ve hipoksida bir artış olduğu not edilmiştir (Star ve ark., 1986). Tavşanlara transplante edilen tümörlerin oksijenasyonundaki değişiklikler, bölgesel kan damarlarındaki hipoksi ve iskemi gibi patofizyolojik değişiklikler gösterilmiştir (Tromberg ve ark., 1990). Doku hipoksisi kısmen geriye dönebilir. FDT, oksijene bağlı bir işlem olduğundan , FDT'nin sitotoksik etkisini sağlayan tek oksijenin üretilmesi için oksijen desteği kullanılmalıdır (Henderson ve Dougherty, 1992). FDT'nin damar hasarı yapması sadece tümöre zarar vermez aynı zamanda normal dokunun etrafındaki küçük

bir sınır etrafında geriye kalan tümör hücrelerinin yaşayabilmesi için gerekli besin kaynağını önler (Fingar, 1987).

Genellikle FDT'nin önemli katkı etkilerinden biri damar harabiyeti olduğu düşünülmese de, sitotoksik etkilerinin doğrudan doğruya tamamen önemsiz olduğunu söylemek doğru değildir (Henderson ve ark., 1999).

2.4.6. FDT'de immün etkiler

Tam anlaşılacakla beraber araştırmacılar FDT'nin immün sistemi birtakım etkenlere bağılı olarak aktive ettiğini veya baskıladığını bildirmişlerdir. FDT ile tümör antijenleri oluşturarak tümör dokusuna spesifik bir immün cevap oluşturmak, primer tümör ve metastazlarını tedavi etmek için faydalı olabileceği düşünülmektedir. Ancak FDT'nin immün sistem fonksiyonunu baskılayarak spesifik immün yanıtı baskıladığı bilinmektedir. FDT immün sistemi düzenleyen ajanların dengesini değiştirerek spesifik sitokinlerin salınımı ile ibreyi aktivasyon veya supresyon yönüne döndürme yeteneğine sahip görülmektedir. Bu muhtemelen bir takım ID özellikleri, ışık dozu ve doz oranı gibi pek çok karışık faktör ile kontrol edilmektedir (McDonald ve ark., 1998).

FDT'nin spesifik yanıtlar oluşturduğu ileri sürülmüştür. FDT ile tedavi edilen doku büyük miktarlarda hücre debris, inflamatuvar işaretler, sitokinler ve kemotaktik ajanlar salgılar. Işık tedavisi ile dakikalar içerisinde çok sayıda PMNL tedavi edilen bölgeyi istila eder. Bunlar lizozomal enzimler ve serbest oksijen radikallerini salgılayarak endotel hücrelerini harap ederler. Sonrasında inflamatuvar yanıtı yükseltirler. PMNL'ler öldüğü zaman bunlar kendi hücresel içeriklerini salarak daha sonra gelecek olan inflamatuvar hücre dalgaları için kemotaktik sinyaller verirler. PMNL invazyonu kaybolurken harap olan dokulara mast hücreleri akın etmeye başlar ve vazoaaktif ajanlar ve sitokin içeren granüllerini salarlar. Ortamı monosit ve makrofajlar istila ederler, çoğalırlar, debris toparlar ve hayatta kalan tümör hücre adalarını yok ederler. İnflamatuvar yanıtın sonunda makrofajlar ve monositler immüsupresif faktörler salgılayarak inflamatuvar yanıtı azaltırlar ve ilerde spesifik immün yanıtın oluşumunu engellerler (Korbelik, 1992).

Musser ve Fiel (1991), FDT kaynaklı immunsupresyonun kullanılan ID'nin bir fonksiyonu olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar farklı ID'lerin farklı davrandığını çünkü bunların farklı hidrofobik özelliklere sahip olduğunu ve farklı subselüler hedeflerde toplandığını dolayısıyla immun cevabın etkilenebileceğini bildirmişlerdir. Buna karşılık Lynch ve ark. (1989), FDTde makrofajların immunsupresyonu kendilerine göre düzenlediğini çünkü büyük miktarlarda ve yüksek derecede kümelenmiş bileşikleri (fotofirinleri) tutarak immun sistemi baskılayıcı ajanları salgıladığını ileri sürmüştür. Nseyo ve ark. (1991), mesaneye uygulanan FDT sonrası idrardaki interlökinleri incelemişler ve hastaların dokularında immun sistemin aktif olduğunu göstermişlerdir. Korbelik ve ark. (1997), FDT'nin uzun vadeli immunitiyi sağlayabildiğini ve immunitiyi oluşturabildiğini göstermişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1.Kimyasallar

Ağız mukozasında displazi oluşturmak için kanserojen bir madde olan 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) (Acros Organics, Janssens Pharmaceuticaan, Geel, Belçika), mineral yağda (Acros Organics, Janssens Pharmaceuticaan, Geel, Belçika) çözelti olarak % 0,5'lik (ağırlık/ hacim) olarak hazırlandı.



Şekil 14. Uygulamada kullanılan 5-Aminolevulinik asit.

ID ajan olarak 5-aminolevulinik asit (ALA) (Wirkstoff, Hamburg, Almanya) 100 mg/ml konsantrasyon oranında serum ile hazırlandı ve işlem öncesi hazırlanarak taze uygulandı (Şekil 14).

3.2.Işık Kaynağı

Fotodinamik tedavi için 635 nm dalga boyunda kırmızı ışık veren 50 mWat/cm² enerjiye sahip diyot lazer (Ceralas 635, Biolitec, Jena, Almanya) kullanıldı (Şekil 15,17).



Şekil 15. Çalışmada kullanılan Ceralas 635 Biolitec marka diyot lazer cihazı.

3.3. Işık Taşıma Sistemi



Şekil 16. Lazer ışığını hedef dokulara ulaştırmak için kullanılan silindirik uçlu fiber optik ışık taşıma sistemi.

Lazer ışığının hedef dokulara ulaştırılmasında 1 cm uzunluğunda 1 mm çapında silindirik uçlu fiber optik kablo taşıyıcı sistem kullanıldı (Şekil 16). Kablo ışığı iletirken açığa çıkacak ısıdan sakınmak için 50 mW/cm^2 hızında ışık akış enerjisi kullanıldı.



Şekil 17. Cihazın çalışır durumdaki görüntüsü ve uygulayıcının işlem esnasında aldığı koruyucu önlemler.

3.4. Hayvan Modeli

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nde (Samsun, Türkiye) 6 haftalık, ağırlıkları 250-274 gr arasında değişen erkek Sprague Dawley cinsi ratlarda gerçekleştirildi. Toplam 36 adet rat oda sıcaklığında kafeslerde barındırıldı ve katı yem (Samsun Yem Sanayi, Samsun, Türkiye) ile beslendi. Deney için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Etiği Kurulu'nun onayı alındı ve "Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Amacıyla Deney Hayvanı Kullanma Protokolü"ne uyularak çalışma gerçekleştirildi.

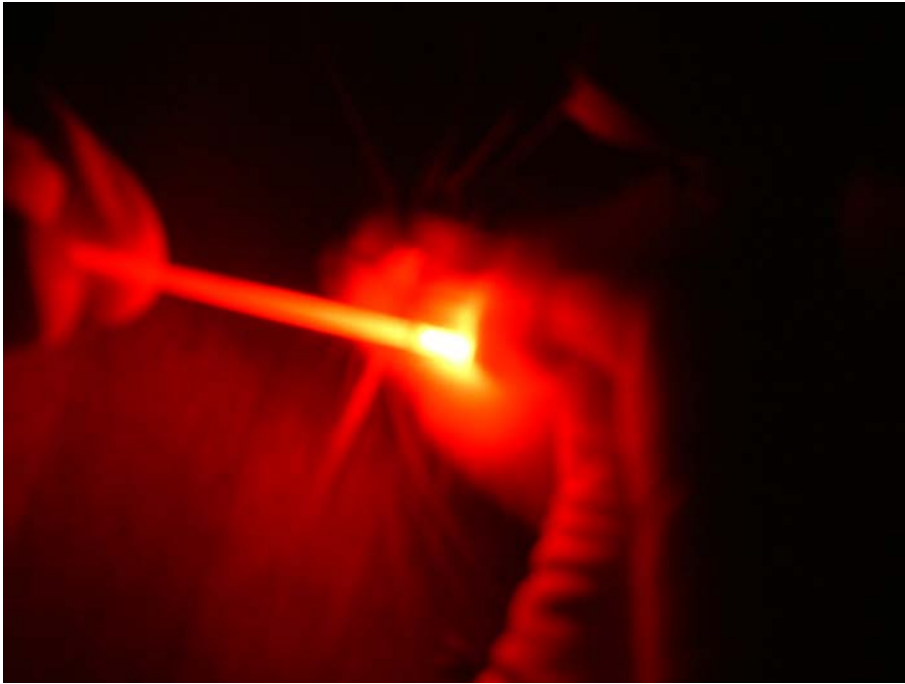
3.5. Deney Protokolü

Biri kontrol, üçü deneme olmak üzere dört grupta toplam 36 adet rat kullanıldı.

I.Grup (Kontrol grubu): Toplam 5 adet rattan oluşturuldu. Bu ratlara deney boyunca herhangi bir kanserojen ajan ve FDT işlemi uygulanmadı.

II.Grup (Sadece kanserojen uygulanan pozitif kontrol grubu): Toplam 11 rattan oluşturuldu. Bu gruptaki ratların ağız mukozasına 20 hafta boyunca haftada 3 kez 4' nolu fırçayla DMBA sürüldü. Sekiz hafta herhangi bir şey yapılmadan süre 28 haftaya tamamlandı. Bu gruptaki ratlara FDT uygulanmadı.

III.Grup (Kanserojen ve FDT uygulanan deney grubu): Toplam 12 adet rattan oluşturuldu. Bu ratların ağız mukozasına % 0,5'lik DMBA 20 hafta boyunca, haftada 3 kez 4' nolu fırça ile sürüldü. 8 hafta hiçbir şey yapılmadan beklenildikten sonra 28. haftanın sonunda her bir rata 200 mg/kg intraperitoneal ALA enjekte edildi. Enjeksiyonu takiben 3. saatte bu gruptaki her bir rata intraperitoneal ketamin (75 mg/kg) ve ksylazin (5 mg/kg) verilerek genel anestezi sağlandı. Anestezi altında ratların ağız mukozasına 635 nm dalga boyunda 125 J/cm^2 ($250 \text{ sn} \times 0.5 \text{ W/cm}^2$) enerjilik ışınlama, kırmızı ışık saçan, 1 cm uzunluğunda ve 1 mm çapında silindirik uçlu fiber optik kablo ile FDT uygulandı (Şekil 18).



Şekil 18. Lazerin ratta ağız içi uygulaması.

IV.Grup (*Sadece FDT uygulanan negatif kontrol grubu*): Toplam 8 rattan oluşturuldu. Bu gruptaki ratlara DMBA uygulanmadı. Her bir rata 200 mg/kg intraperitoneal ALA enjekte edildi. Enjeksiyonu takiben 3. saatte bu gruptaki her bir rata aynı genel anestezi protokolü uygulandı. Aynı FDT protokolü gerçekleştirildi (Şekil 18).

FDT uygulamasını takiben 3. saat, 24. saat, 3. gün, 1. hafta ve 3. hafta zaman dilimlerinde aşırı anestezi madde verilerek gruptaki ratların nekropsileri sırasıyla gerçekleştirildi.

Her bir ratın sağ yanak, sol yanak, dil, sert ve yumuşak damak mukozaları eksize edilerek % 10'luk formalinde tespit edildi. Daha sonrasında bunlar parafine gömüldü. Mikrotom ile 6µm kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-Eozin ile boyandıktan sonra tüm preparatlar ışık mikroskopunda incelendi.

3.6. Histopatolojik İnceleme ve Skorlama

3.6.1. FDT'ye bağlı olarak meydana gelen doku yanıtı ve değişiklikler aşağıdaki gibi değerlendirilerek skorlandırıldı;

1. Epitelde tabakalarında kayıplar veya ülser (EKÜ): Epitel dokusundaki erozyon ve ülserler olarak değerlendirildi. Yokluğu "0" ve varlığı "1" olarak skorlandı.

2. Epitel nekrozu (EN): Epitel hücrelerinin piknotikleşmesi, çekirdeklerin hayalileşmesi, balonumsu dejenerasyonun şekillenmesi, intraepitelyal ve subepitelyal vezikül oluşumları, bazale ulaşan yıkımlanmalar olarak değerlendirildi. Epitel nekrozunun yokluğu "0" ve varlığı "1" olarak skorlandı.

3. İnflamatuar hücre infiltrasyonu (İHİ): Mukozada inflamatuar hücre infiltrasyonu olarak değerlendirildi. İnflamasyon hücrelerin yokluğunda "0", varlığında ise yoğunluğuna göre hafif "1", orta "2" ve şiddetli "3" olarak skorlandı.

4. Ödem (Ö): Mukozadaki ödem yokluğunda “0”, varlığında ise yoğunluğuna göre hafif “1”, orta “2” ve şiddetli “3” olarak skorlandı.

5. Demarkasyon hattı (DH): Normal doku ile nekrotik dokunun birbirinden kesin sınırlarla ayrılması olarak tanımlandı. Yokluğu “0” ve varlığı ise “1” olarak skorlandı

6. Vasküler konjesyon (VK): Damarlarda meydana gelen genişlemeler ve eritrosit yığılmaları vasküler konjesyon olarak değerlendirildi. Yokluğu “0” ve varlığı ise 1 olarak skorlandı.

7. Granülasyon dokusu (GD): Yeni damarlanmalar, fibroblast göçü ve kollajen yapımı olarak değerlendirildi. Yokluğu “0”, varlığı “1” olarak skorlandı.

8. Skarlaşma (S): Skar dokusunun gelişip gelişmediğine bakılarak değerlendirildi. Yokluğu “0” ve varlığı “1” olarak skorlandı.

9. Kas hasarı (KH): Kas liflerinin çizgili yapısını kaybederek homojen koyu pembe renk alması veya yok olması olarak değerlendirildi. Hasarın yokluğu “0”, varlığı “1” olarak skorlandı.

10. Damar içi fibrin birikimi (DF): Damarsal yapılar içindeki fibrin birikimi olarak değerlendirildi. Damar içinde fibrin yumaklarının yokluğu “0”, varlığı “1” olarak skorlandı.

11. Doku içi kanama (DİK): Doku içindeki kanamanın yokluğu “0” varlığı “1” olarak skorlandı.

3.6.2. DMBA’ya bağlı ratların ağız mukozasında meydana gelen displastik değişikliklerin tanımlanmasında kullanılan kriterler (WHO Collaborating Reference Centre for Oral Precancerous Lesions., 1978; Lumerman ve ark., 1995; Charoenbanpachon ve ark., 2003)

1. Mitotik aktivitede artış (MA)

2. Hücresel pleomorfizm (HPL)
3. Hücresel polarite kaybı (HPK)
4. Artmış çekirdek sitoplazma oranı (Ç/S)
5. Damla şeklinde rete peg (DRP)
6. Azalmış kohezyon (AK)
7. Genişlemiş çekirdekçik (GÇ)
8. Çekirdek hiperkromatizmi (ÇH)

Displaziyle ilgili yukarıdaki değişiklikler varlığına göre “1”, yokluğuna göre ise “0” olarak skorlandı. Hiperkeratoz (H), akantoz (A), papillamatoz (P), stratum spinosum tabakasında kalınlaşma (SK) gibi displaziyle doğrudan ilişkisi olmayan değişiklikler de değerlendirilerek varlığında “1”, yokluğunda ise “0” olarak skorlandı.

3.7. İstatistiksel İnceleme

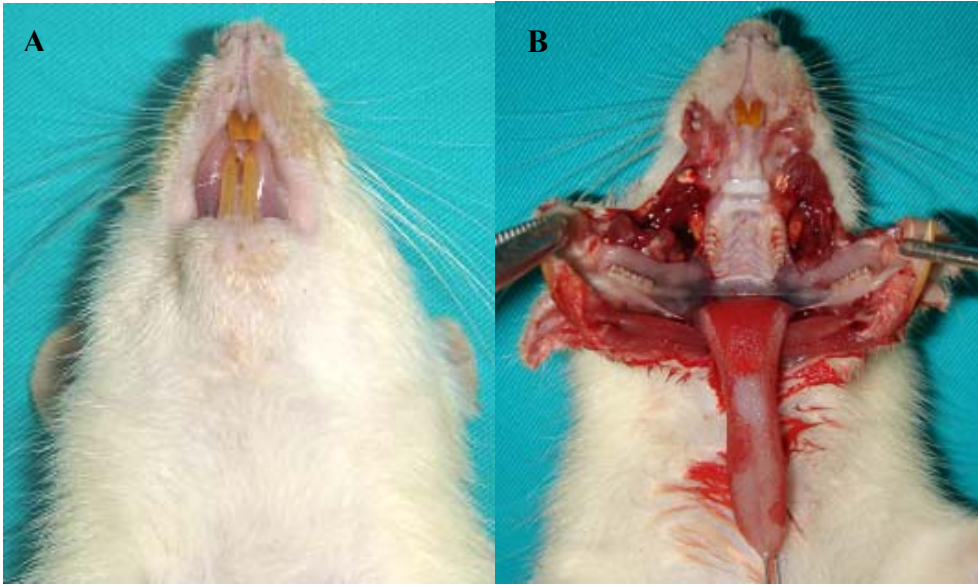
FDT sonrasında meydana gelen doku yanıtları histopatolojik olarak incelendi ve daha sonra yukarıdaki gibi skorlandı. EKÜ, EN, İHİ, Ö, DH, GD, VK, S, KH, DF ve DİK gibi her bir doku yanıtı gruplara ve zaman dilimlerine göre çift yönlü varyans analizi chi-square testi kullanılarak gerçekleştirildi.

DMBA sürülen gruplarda yukarıdaki MA, HPL, HPK, Ç/S, DRP, AK, GÇ ve ÇH gibi displazi kriterlerinin puanları toplanarak toplam puanlar elde edildi. Bu toplam puanların istatistiksel analizi, gruplara ve zaman dilimlerine göre Man-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirildi.

4.BULGULAR

4.1. Makroskopik ve Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubu ratların ağız mukozalarında bütün zaman dilimlerinde makroskopik veya mikroskopik olarak herhangi bir değişiklik meydana gelmedi (Şekil 19, 20). İncelenen bütün doku kesitlerinde herhangi bir inflamatuvar yanıt veya displazik değişiklik görülmedi. Bütün zaman dilimlerinde örneklerin hepsi normal histolojik görünümündeydi.

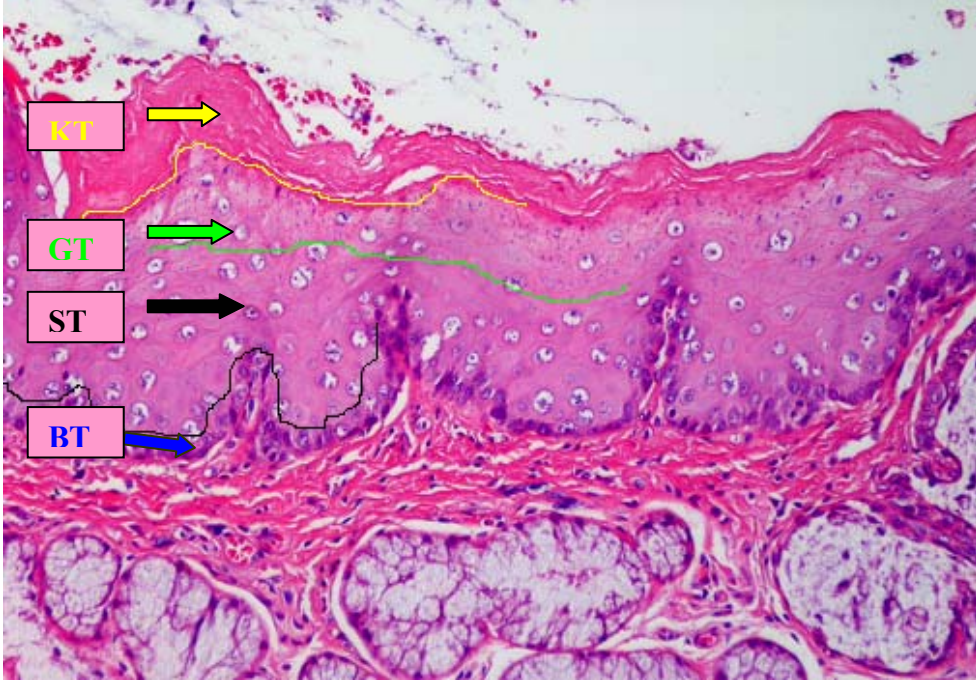


Şekil 19. **A:** kontrol grubundaki bir ratın ağız dışı görüntüsü. **B:** Kontrol grubundaki bir ratın ağız içi görüntüsü.

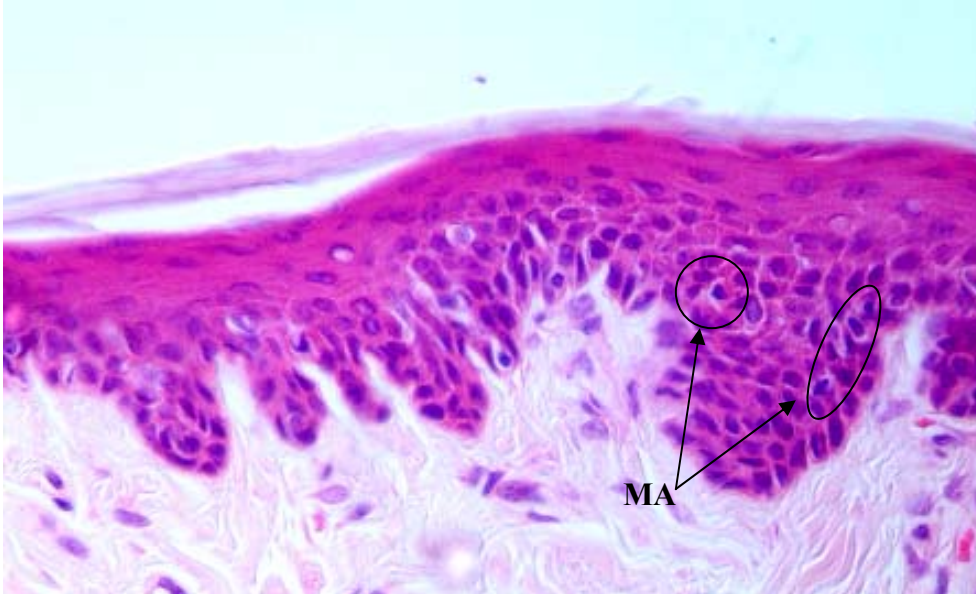
II. grup ratlarda FDT uygulanmadığı için 3. saatte, 24. saatte, 3. günde, 7. günde ve 3. haftada FDT'ye bağlı herhangi bir doku değişikliği meydana gelmedi. Ancak 3.saat ve 24. saatte nekropsisi yapılan ratların bazı örneklerinde epitelde dökülmeler ve hafif düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi. DMBA uygulanan bu gruptaki ratların dokularında 24. saat dilimi hariç hepsinde hafif displastik değişiklikler görüldü (Şekil 21) (Tablo 18, 19, 20, 21, 22). Makroskopik olarak bu grup ratların damak mukozası nispeten daha beyaz görünümündeydi (Şekil 22).

III. Grup ratlarda 3. saat değişiklikleri; incelenen doku örneklerinde epitel yüzeyinde dejenerasyon, hücrelerde piknotikleşme, çekirdeklerin hayalileşmesi, bazale kadar uzanan nekrotik değişiklikler, submukozada çok az sayıda inflamatuvar hücre

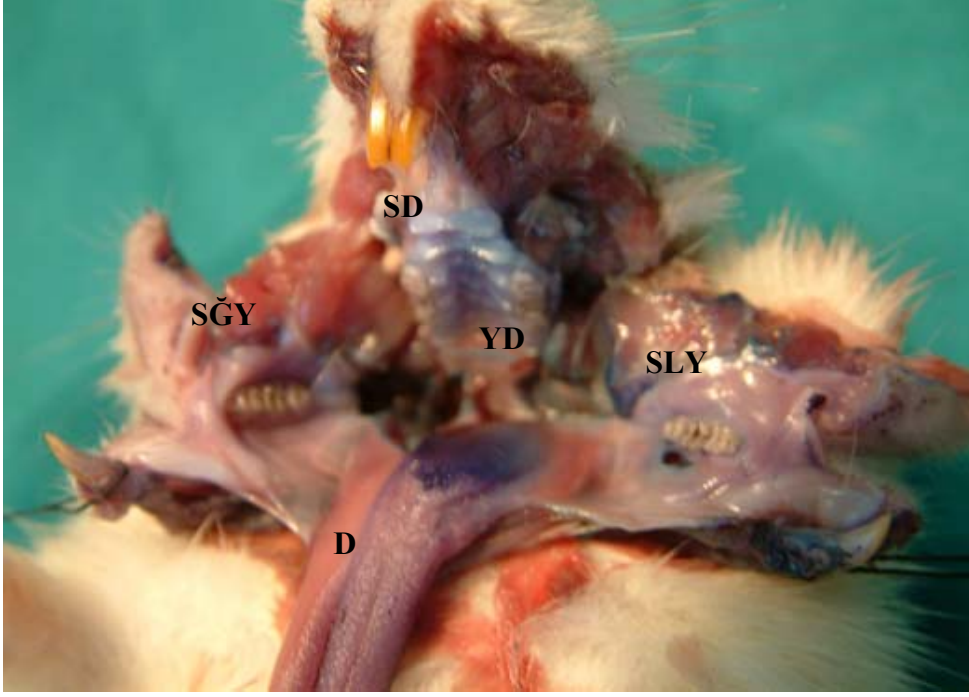
infiltrasyonu, doku içi kanama, damarlarda fibrin tıkaçları ve hiperemi görüldü (Şekil 23, 25).



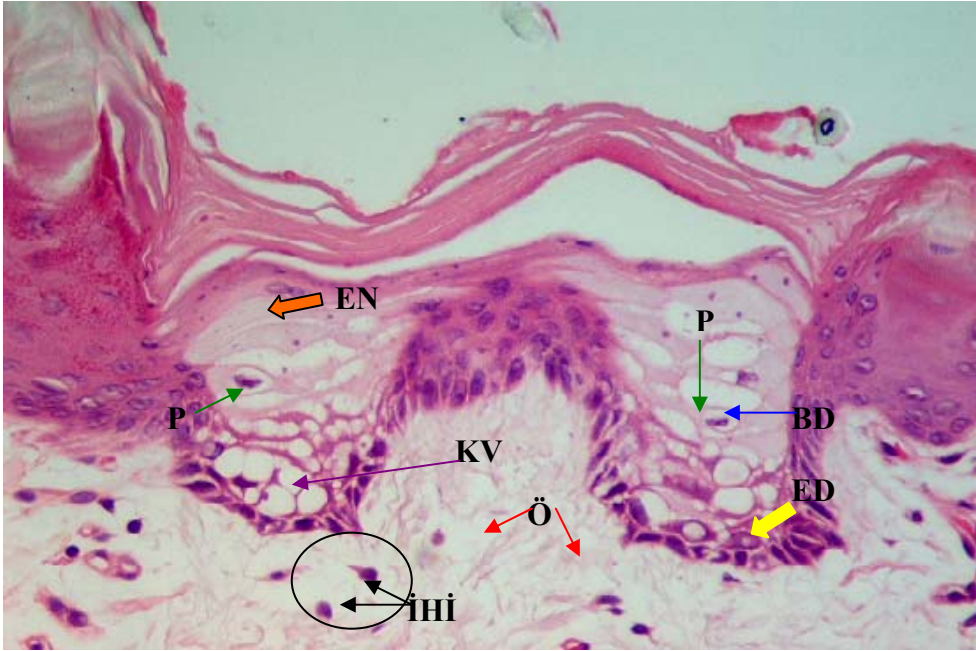
Şekil 20. Kontrol grubundaki (I. grup) bir ratın yumuşak damak mukozasının epitel katları; Keratinize tabaka (KT-sarı ok), Granüler tabaka (GT-yeşil ok), Spinal tabaka (ST-siyah ok), Bazal tabaka (BT-mavi ok) göstermektedir. HE, x20



Şekil 21: DMBA sürülen II.gruptaki bir ratın sol yanak mukozasında meydana gelen hafif displastik değişiklik görülmektedir. Bazal tabaka ve spinal tabakada mitotik aktivite (MA-siyah oklar ve daireler). HE, x40.



Şekil 22: II.grup bir ratın incelenmek için hazırlanan ağız mukozasının beş farklı bölgesi görülmektedir. Sert damak bölgesinde görülen beyazlık dikkat çekmektedir. SD: sert damak, YD:yumuşak damak, SĞY: sağ yanak, SLY: sol yanak, D: dil.



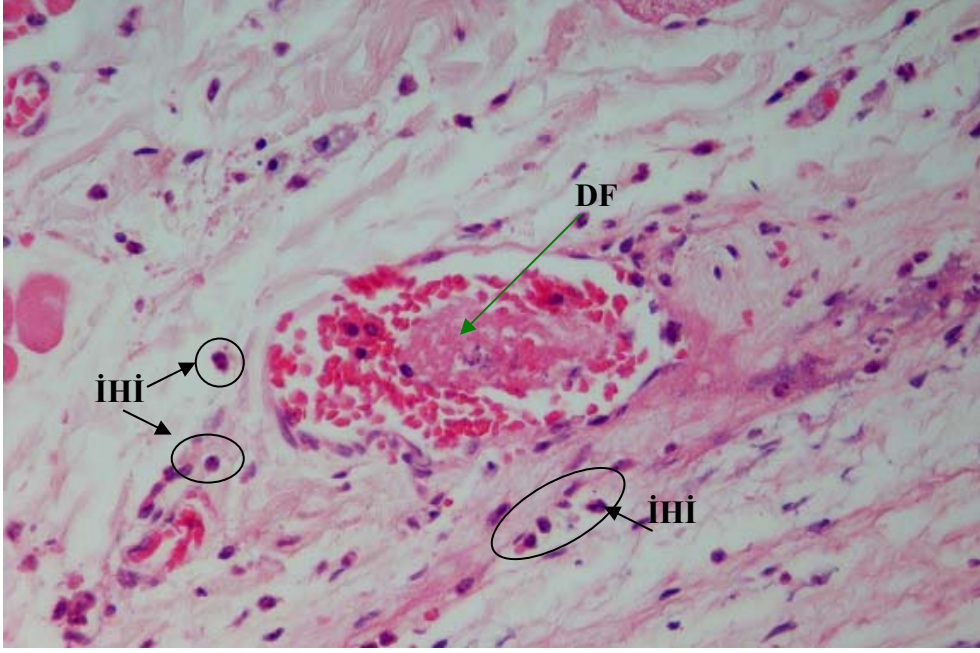
Şekil 23. FDT sonrası 3. saatte sakrifiye edilen III.gruptaki bir rat. Dil epitelinde epitel nekrozu (EN-turuncu ok), kistik vakuoller (KV-mor ok), balonumsu dejenerasyon (BD-mavi ok), piknoz (P-yeşil oklar), ödem (Ö-kırmızı oklar), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (İHi-siyah oklar ve siyah daire) ve yer yer bazale ulaşan epitel dejenerasyonu (ED-sarı ok) görülmektedir. HE, x40

Bu değişiklikler 15 örneğin 9'unda görüldü. Makroskopik olarak dildeki ödem ve şişlik dikkat çekici düzeydeydi (Şekil 24). Doku örneklerinde yıkıma rağmen displastik alanlar görülebilmektedir (Şekil 23). Bu displastik alanlar 15 örneğin 3'ünde görüldü (Tablo 13).

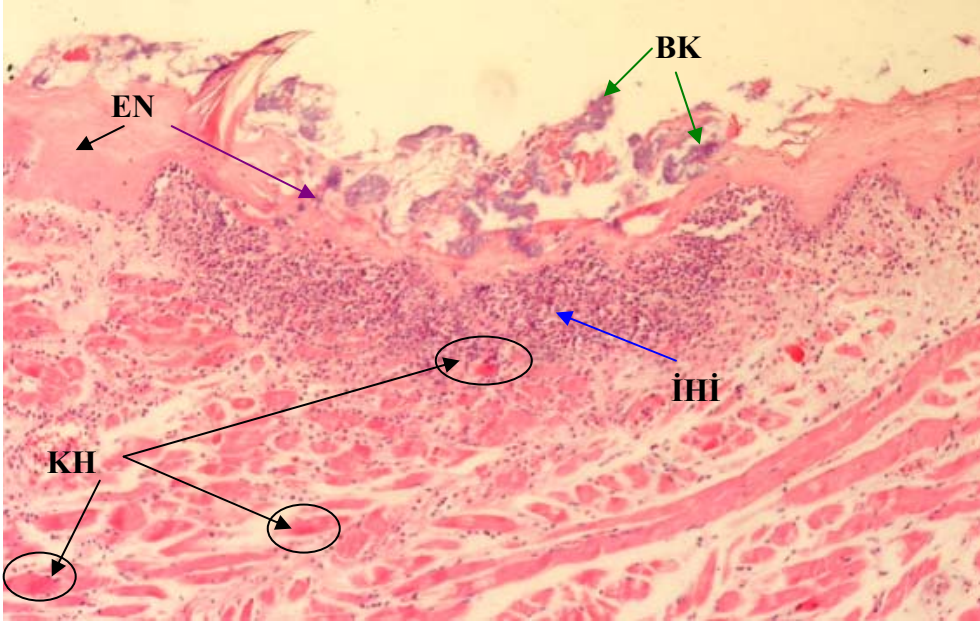
III. Grup ratlarda 24. saat değişiklikleri; epitelde yer yer bazale kadar ulaşan ülserleşmiş alanlar, intraepitelyal ve kas lifleri arasına şiddeti 2-3 arasında değişen inflamatuvar hücre infiltrasyonu, yer yer spinal tabaka hücrelerinde çekirdeklerin hayalileşmesi, bazal hücrelerde piknoz, kistik vakuolizasyon, kaslarda özellikle dil kaslarında yıkımlanmalar, 2-3 arasında değişen şiddetli ödem, vasküler konjesyon, damarlarda fibrin tıkaçları, doku içi kanama ve koagülasyon nekrozu görüldü (Şekil 26). Dilde ödem ve ülserler görüldü (Şekil 27). Bu değişiklikler 15 örneğin 11'inde görüldü (Tablo 14). Doku örneklerinde yıkıma rağmen displastik alanlar 15 örneğin 4'ünde görülebilmektedir (Tablo 19).



Şekil 24. FDT sonrası 3. saatte sakrifiye edilen III. gruptaki bir ratın dilinde meydana gelen ödem.



Şekil 25. FDT sonrası 3. saatte sakrifiye edilen III.gruptaki bir rat. Sağ yanak mukozasında yer alan bir damar içi fibrin birikimi (DF-yeşil ok) ve çevresinde az sayıda inflamatuvar hücre infiltrasyonu (İHİ-siyah oklar ve daireler). HE, x40.



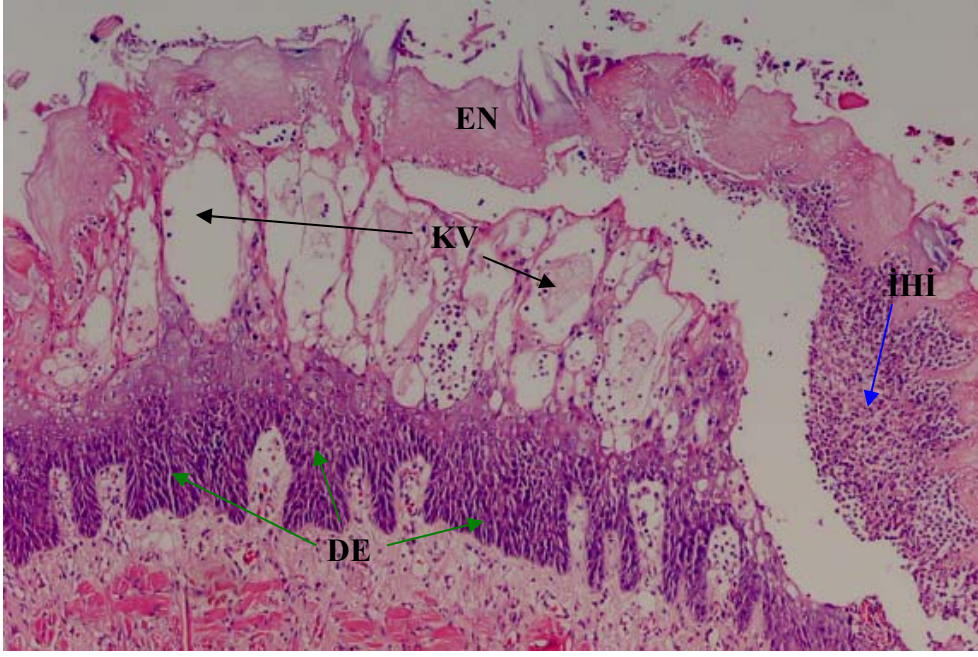
Şekil 26. FDT sonrası 24. saatte sakrifiye edilen III. gruptaki bir rat. Dil mukozasının epitelinde nekrotik (EN-mor ok) değişiklikler, nekrotik epitel altındaki lamina propriada yoğun, kas lifleri arasında ise daha az yoğunlukta inflamatuvar hücre infiltrasyonları (İHİ-mavi ok) ve ödem, bazı kas lifleri hasarlanarak (KH-siyah oklar ve daireler) çizgi yapısını kaybetmiş ve koyu pembe homojen renkte görülmektedir. Nekrotik epitel üzerinde bakteri kolonizasyonları (BK-yeşil oklar) dikkat çekmektedir.HE, x10.



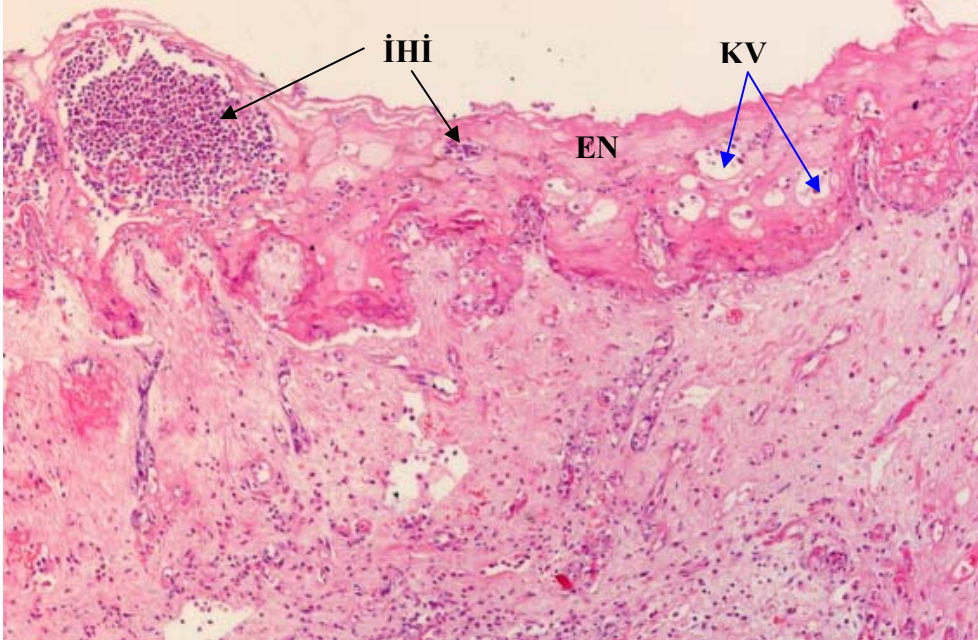
Şekil 27. 24. saatte sakrifiye edilen III. gruptaki bir ratın FDT sonrası dilinde meydana gelen ödem ve mukozadaki ülser ve erozyonlar görülmekte.



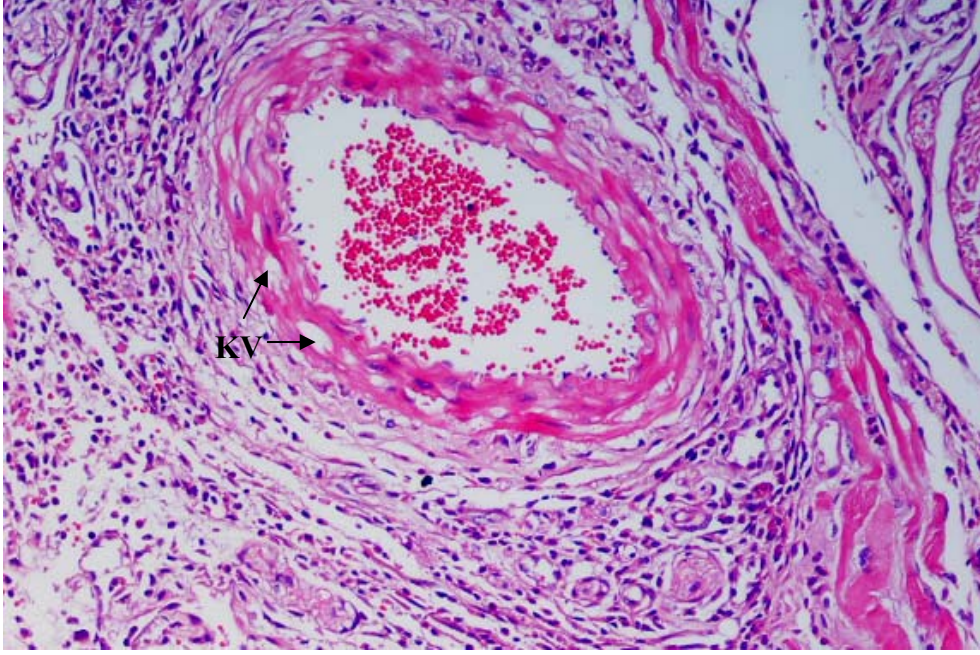
Şekil 28: FDT sonrası 3. günde sakrifiye edilen III. gruptaki bir ratın dilinde meydana gelen şiddetli ödem ve mukozadaki ülserasyonlar.



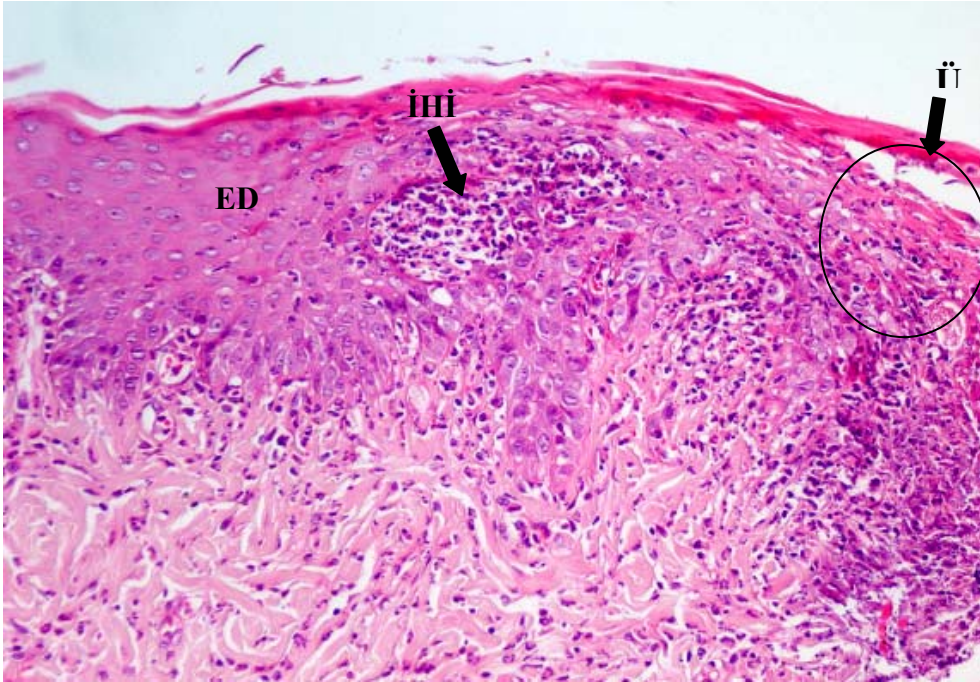
Şekil 29. FDT sonrası 3. günde sakrifiye edilen III. gruptaki bir rat. Dilde epitelin nekrotik (EN) üst kısımları ile alttaki nispeten sağlam displastik epitel (DE-yeşil oklar) kısımları arasında intraepitelyal boşluklar (KV-siyah oklar) ve yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu (İHI-mavi ok). İntraepitelyal boşlukların altında yer alan epitelin üst kısımlarındaki epitelde balonumsu dejenerasyon ve bazı epitel hücre çekirdeklerinde piknoz yada hayali görünüm. HE, x10.



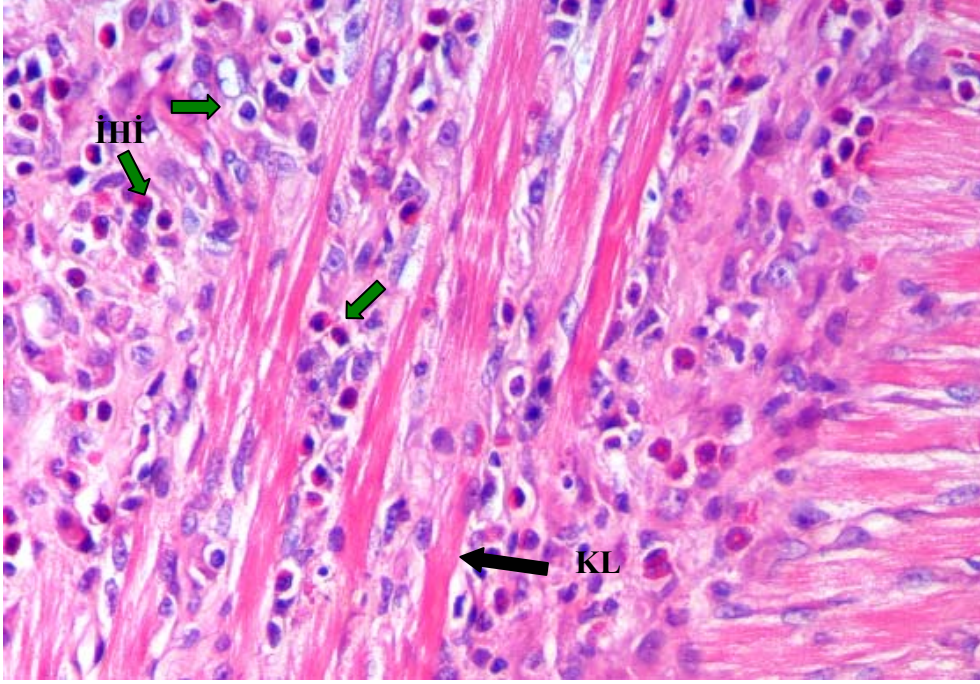
Şekil 30. FDT sonrası 3. günde sakrifiye edilen III. gruptaki bir rat. Sağ yanak mukozasında epitelde püstül şeklinde ya da küçük gruplar halinde ve submukozada yaygın şekilde çoğunluğunu heterofillerin oluşturduğu inflamatuvar hücre infiltrasyonu (İHI-siyah oklar), epitel dokusunun tamamen yakınında nekroz (EN), epitelde kistik veziküller (KV-mavi oklar) ve submukozada hafif oranda inflamatuvar hücre infiltrasyonları. HE, x10.



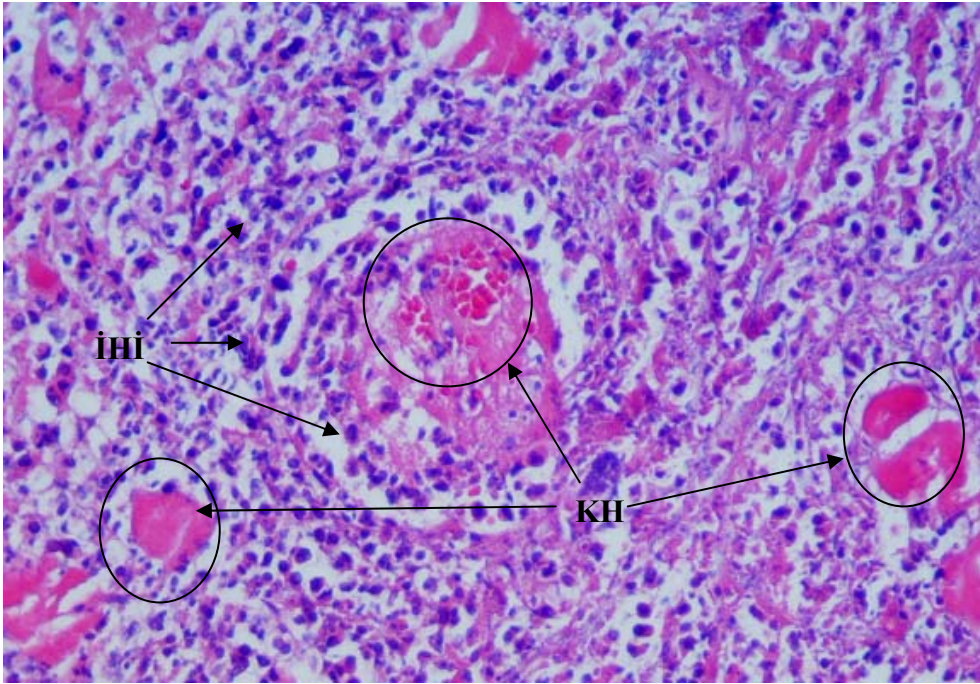
Şekil 31. FDT sonrası 3. günde sakrifiye edilen III. gruptaki bir rat. Dilin submukozasında yer alan bir damarın çeperindeki düz kaslarda vakuoler (KV-siyah oklar) değişiklikler. HE, x 20.



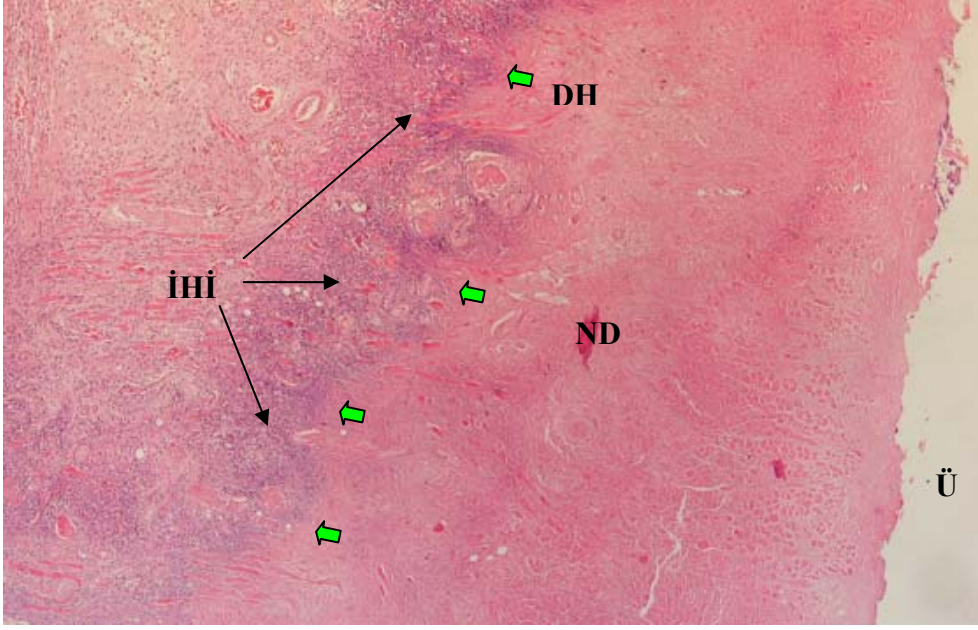
Şekil 32. FDT sonrası 7. günde sakrifiye edilen III. Gruptaki bir rat. Sol yanak mukozasında intraepitelyal heterofilik infiltrasyon (İİİ-siyah ok) ve ülser (Ü-siyah daire ve ok) alanları. HE, x20.



Şekil 33. FDT sonrası 7. günde sakrifiye edilen III. Gruptaki bir rat. Dilde kesintiye uğramış çizgili kas lifleri (KL-siyah ok) arasında bol miktarda heterofilin bulunduğu inflamatuvar hücre infiltrasyonları (İHI- yeşil oklar) görülmektedir. HE, x40.



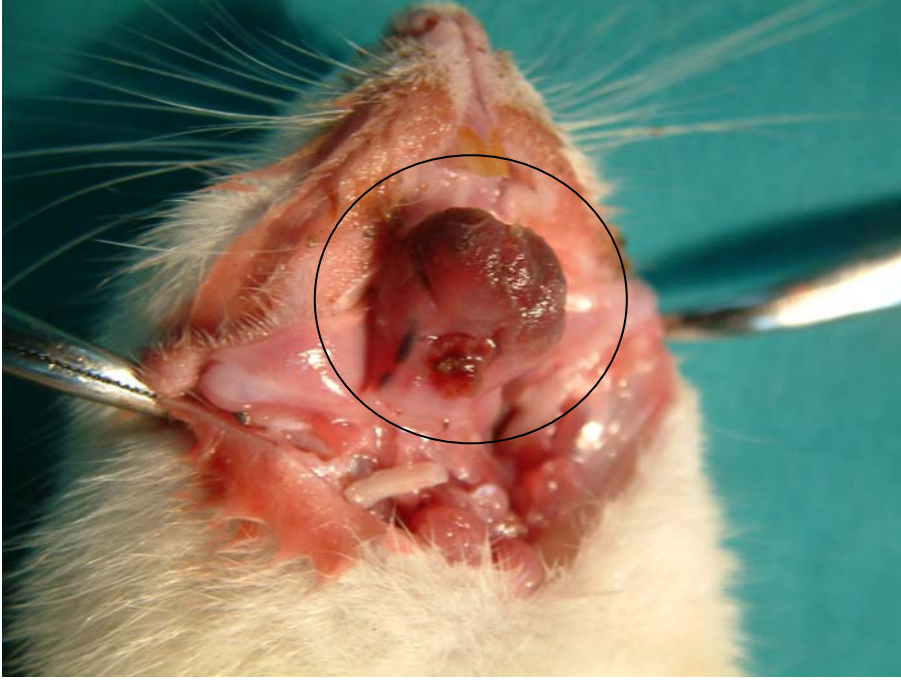
Şekil 34. FDT sonrası 7.günde sakrifiye edilen III. grup bir rat. Sağ yanak submukozasında yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu (İHI-siyah oklar) ve kaslarda hasara (KH-siyah daireler ve oklar) bağlı gözden kaybolma ve kalanlarda da dejenerasyona bağlı çizgili yapının kaybolarak pembe homojen renkte olması. HE, x40.



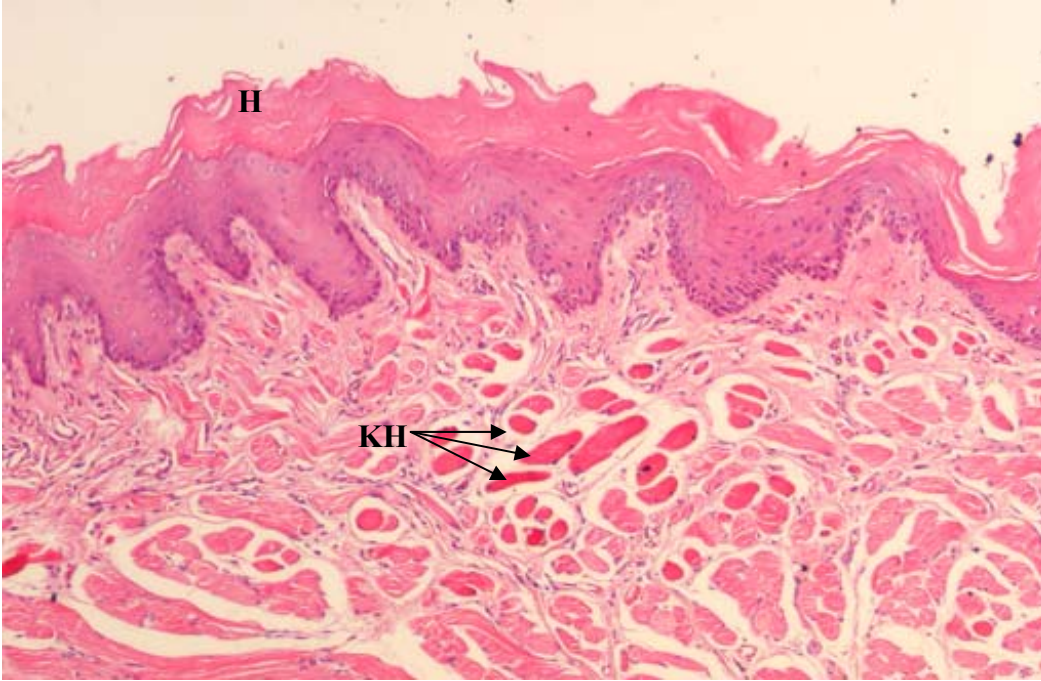
Şekil 35. FDT sonrası 7. günde sakrifiye edilen III. gruptaki bir rat. Dilde ülser (Ü), submukoza ve yakın liflerinde nekroz mukozasında meydana gelen nekrotik doku (ND), nekrotik dokuyla canlı dokuyu birbirinden ayıran demarkasyon hattı (DH-yeşil oklar) ve sağlam doku bölgesinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu (İHİ-siyah oklar). HE, x4.

III. grup ratlarda 3. gün değişiklikleri; Epitelde kayıplar ve ülser alanları, epitel içine ve bağ dokusunda şiddeti 2-3 arasında değişen inflamatuvar hücre infiltrasyonu, epitelin bazal katına kadar ulaşan dejeneratif ve nekrotik değişiklikler, lamiana propriada ve submukozada şiddeti 2-3 arasında değişen ödem, vasküler konjesyon, koagülasyon nekrozu ve kas yıkımlanmaları görüldü (Şekil 29, 30, 31). Makroskopik olarak dil bölgesinde ödem ve ülser alanlara rastlandı (Şekil 28). Değişiklikler 15 örneğin 11'inde görüldü (Tablo 15). Epitelin bazaline kadar ulaşan yıkıma rağmen bazı bölgelerde damla formasyonu ve displazik değişiklikler görüldü. Bu 15 örneğin 3'ünde görüldü (Tablo 20).

III. grup ratlarda 7. gün değişiklikleri; epitelde yer yer dejenerasyon ve ülsere alanlar, submukozada şiddeti 2-3 arasında değişen ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu, granülasyon dokusu, yeni damarlanmalar, damar tıkaçı, damar duvarlarında vakuollü yapı, vasküler konjesyon, kaslarda yıkım, koagülasyon nekrozu, normal ve nekrotik doku arasında demarkasyon hattı görüldü (Şekil 32, 33, 34, 35). Bu değişiklikler 10 örneğin 8'inde görüldü (Tablo 16). Yedinci günde dildeki inflamasyonun kronikleştiği ve ödemin azaldığı görüldü (Şekil 36). Displazik değişiklikler dil epitelinin bütününün kaybından dolayı değerlendirilemedi (Tablo 21).



Şekil 36. FDT sonrası 7. günde sakrifiye edilen III. gruptaki bir rat. Dilde yaygın ülserler ve nekrotik alanlar.

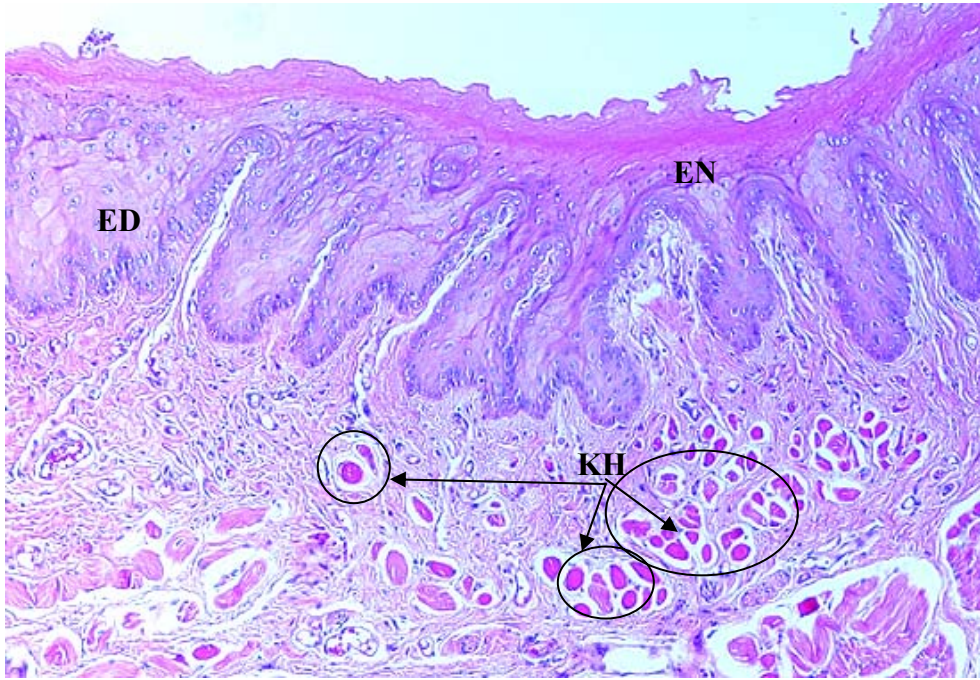


Şekil 37. FDT sonrası 3. haftada sakrifiye III. gruptaki bir rat. Rejenerasyon şekillenmiş sol yanak mukozası epitelinde hiperkeratoz (H) ve submukozaya yakın bazı dejenere kas lifleri (KH-siyah oklar). HE x10.

III. grup ratlarda 3. hafta değişiklikleri; epitelde rejenerasyon ve yeni damarlanmalar görüldü. Örneklerin hiçbirinde inflamasyon ve displazi yoktu (Şekil 37). Epitel tabakalarında tam iyileşme olduğu görüldü (Tablo 17, 22).

IV. grup 3. saat değişiklikleri; epitelde hafif düzeyde dejenerasyon, kas liflerinde hafif düzeyde dejeneratif değişiklikler görüldü (Şekil 38). Bu gruptaki 10 örneğin 2'sinde görüldü (Tablo 13). Displazi yönünde hiçbir bulgu görülmedi (Tablo 18).

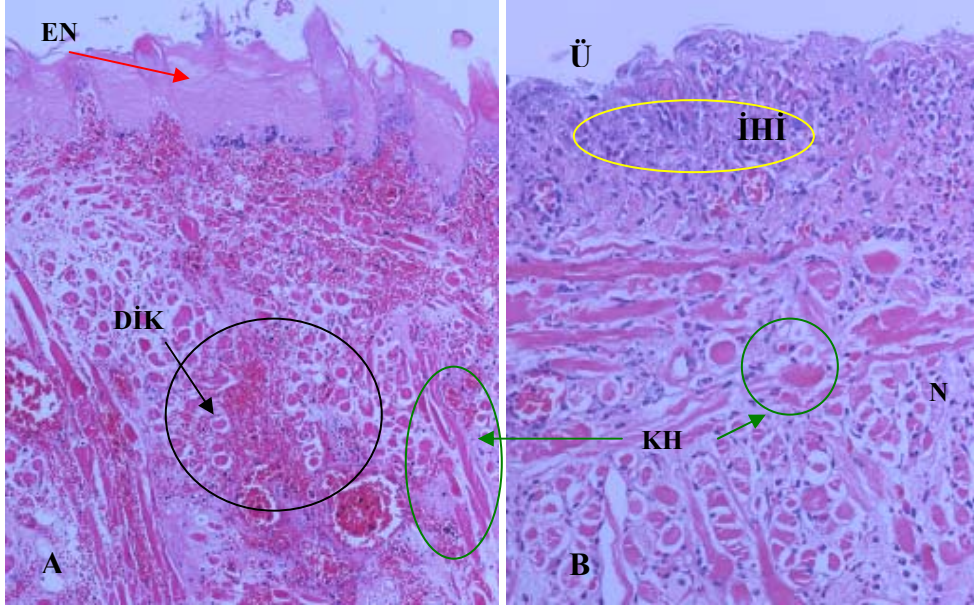
IV. grup 24. saat değişiklikleri; Epitelde kayıplar ve ülser, şiddeti 1-3 arasında değişen inflamatuvar hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon, doku içi kanama, 3 düzeyinde submukozada ödem, damarda fibrin tıkaçları ve hafif düzeyde kas dejenerasyonları görüldü (Şekil 39, 40, 41). Değişiklikler bu gruptaki 10 örneğin 4'ünde görüldü (Tablo 14). Displazi yönünde hiçbir bulgu görülmedi (Tablo 19).



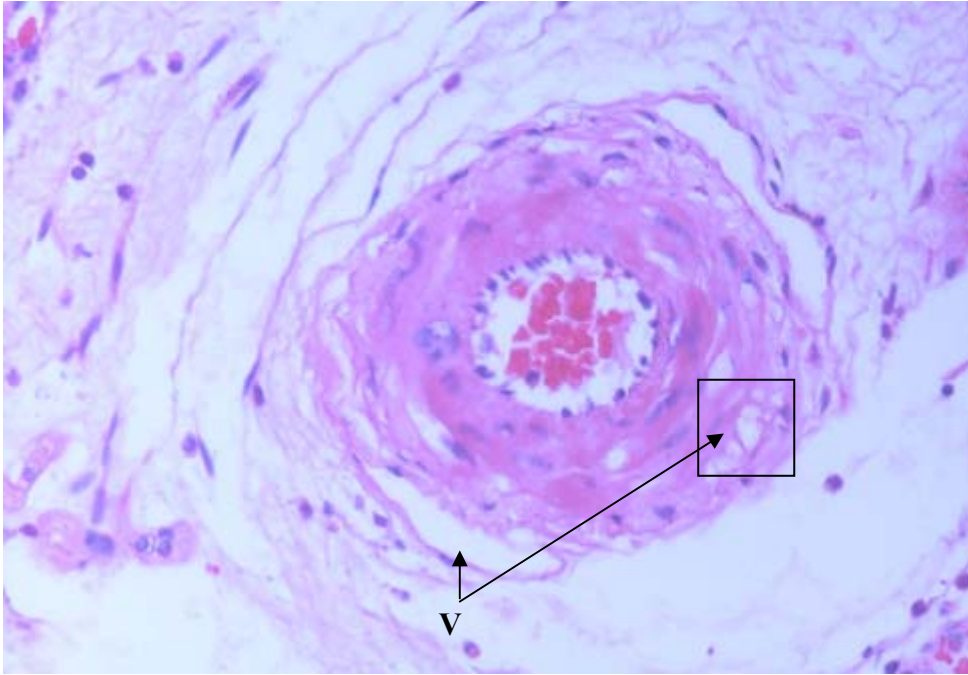
Şekil 38. FDT sonrası 3. saatte sakrifiye edilen IV. gruptaki bir rat. Sağ yanak mukozası epitelinin üst kısımlarında dejeneratif (ED) ve nekrotik değişiklikler (EN) ve submukozaya komşu kas liflerinde dejenerasyon (KH-siyah oklar ve daireler). HE, x10.

IV. grup 3. gün değişiklikleri; epitelde yer yer dejenerasyon ve ülserler, hafif düzeyde vasküler konjesyon, koagülasyon nekrozu, şiddeti 1-3 arasında değişen inflamatuvar hücre infiltrasyonu, kas liflerinde dejenartif değişiklikler görüldü (Şekil 42).

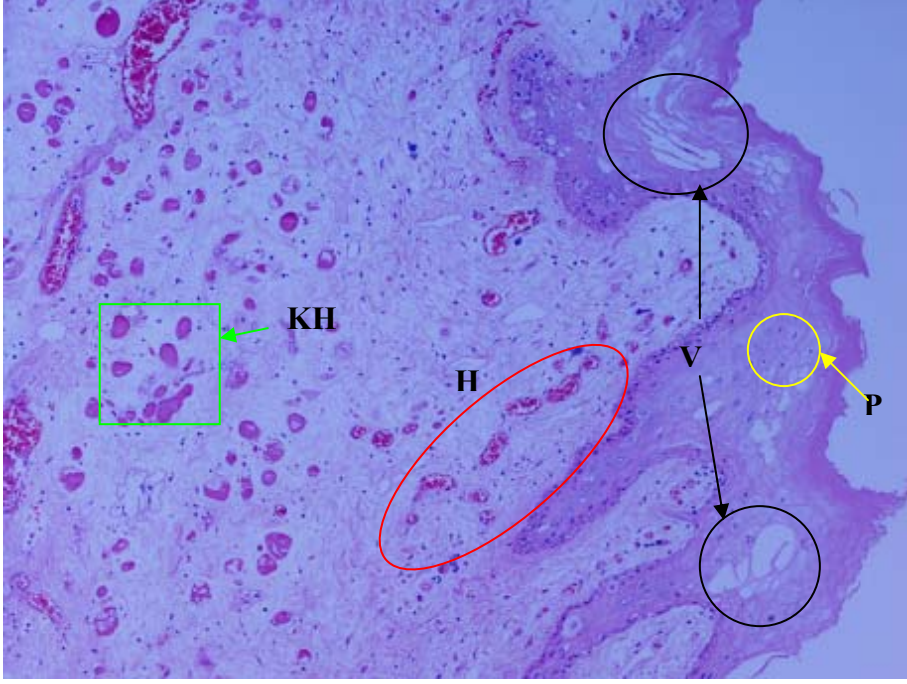
Bu değişiklikler 10 örneğin 7'sinde görölmektedir (Tablo 15). Displazi yönünde hiçbir bulgu görölmedi (Tablo 20).



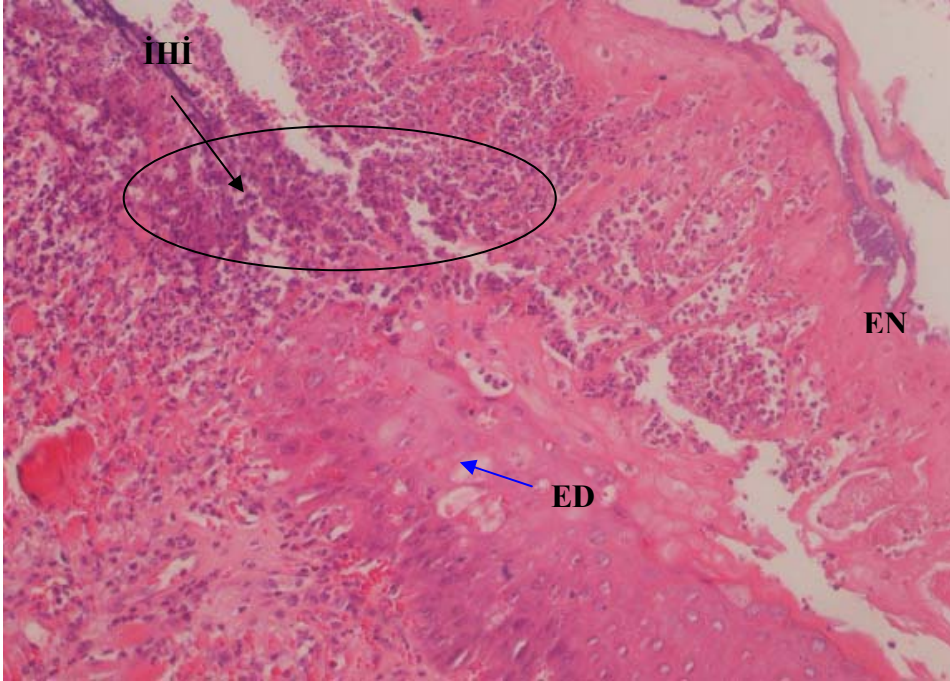
Şekil 39. FDT sonrası 24. saatte sakrifiye edilen IV.grup bir rat. Dil mukozalarında meydana gelen doku yanıtları görölmektedir. **A.** Dilde bazal tabakaya ulaşan epitel nekrozu (EN-kırmızı ok), submukoza ve kaslar arasında şiddetli doku içi kanama (DİK-siyah ok ve daire). HE, x10. **B.** Dilde ülser (Ü), lamina propriada ve submukozada inflamatuvar hücre infiltrasyonu kaslarda dejeneratif değişiklikler (KH). HE, x20.



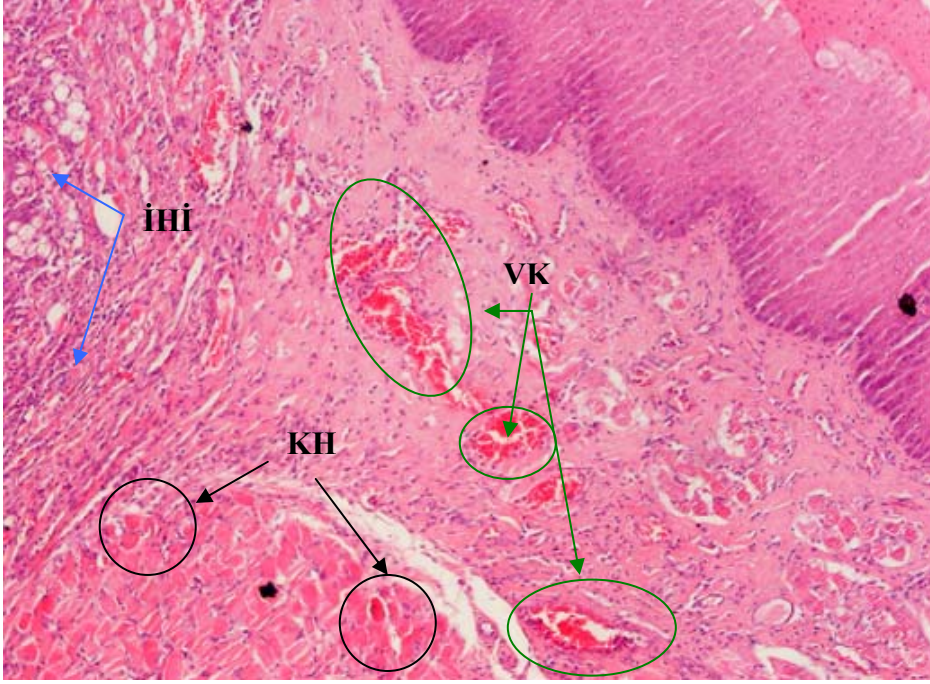
Şekil 40. FDT sonrası 24. saatte sakrifiye edilen IV.grup bir rat. Dilin submukozasında yer alan bir damarın media tabakasında yer alan kaslarda vakuoller değişiklikler (V-siyah oklar ve kare). HE, x40.



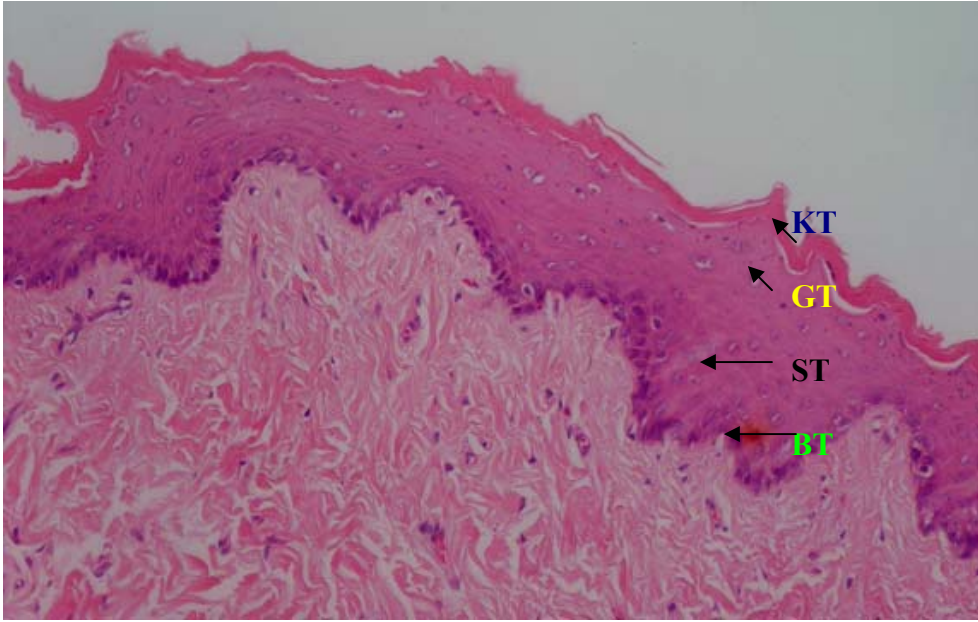
Şekil 41. FDT sonrası 24.saatte sakrifiye edilen IV.grup bir rat. Yanak mukozası epitelinde veziküller (V-siyah oklar ve daireler), Piknoz (P-sarı oklar ve daireler) ve balonumsu dejenerasyon. Submukozada hiperemik damarlar (H-kırmızı elips) ve yakın kas liflerinin sayıca azalmasıyla birlikte dejenerasyona (KH-yeşil ok ve kare) bağlı pembe homojen görünüme. HE, x10.



Şekil 42. FDT sonrası 3.günde sakrifiye edilen IV. gruptan bir rat. Dil mukozası epitelinde dejeneratif (ED-mavi ok) ve nekrotik (EN) değişiklikler, epitel altında yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu (İHİ-siyah ok ve elips). HE, x 10.



Şekil 43. FDT sonrası 7.günde sakrifiye edilen IV.gruptaki bir rattın yanak mukozasında konjesyon (VK-yeşil oklar ve elipsler ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (İİİ-mavi oklar) ve komşu kas liflerinde dejenerasyona (KH-siyah oklar ve daireler) bağlı pembe homojen görünüm. HE, x10.



Şekil 44. FDT sonrası 3. haftada sakrifiye edilen IV.gruptaki bir rat. Tam rejenerasyon gerçekleşmiş yanak mukozası epiteli. KT: Keratinize tabaka, GT:Granüler tabaka, ST:Spinal tabaka, BT: Bazal tabakayı göstermektedir. HE, x20.

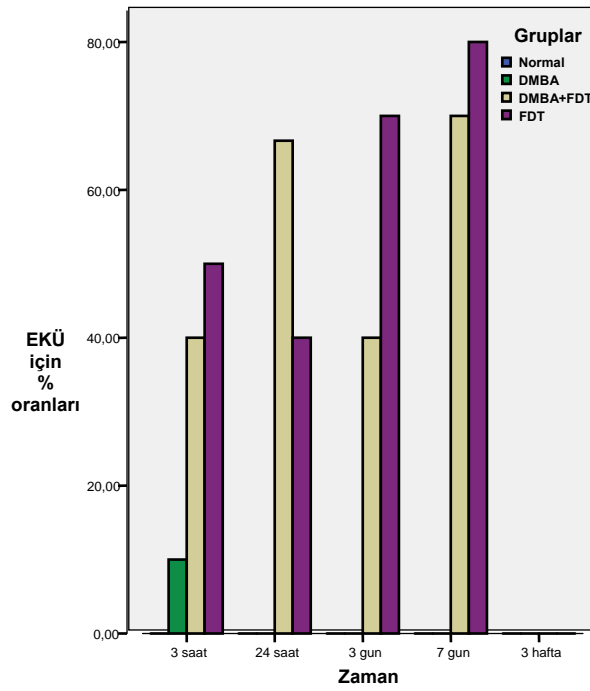
IV. grup 7. gün değişiklikleri; Epitelde kayıplar ve ülserasyon, şiddeti 2 düzeyinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hafif konjesyon, koagülasyon nekrozu,

granülasyon dokusu ve kas liflerinde yıkım görüldü (Şekil 43). Gruptaki beş örneğin üçünde değişiklikler not edildi (Tablo 16). Displazi yönünde hiçbir bulgu görülmedi (Tablo 21).

IV.grup 3. hafta değişiklikleri; epitelde rejenerasyon, hafif düzeyde ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu görüldü (Şekil 44). Diğer bölgelerde tam bir iyileşme meydana geldi. Bu yanıtlar beş örneğin ikisinde gözlemlendi (Tablo 17). Beklendiği gibi displastik değişim mevcut değildi (Tablo 22).

4.2. FDT ile ilişkilendirilen doku yanıtı ile ilgili bulguların değerlendirilmesi

4.2.1. Epitel tabakalarında kayıplar veya ülser



Şekil 45. Epitel tabakalarında kayıplar veya ülser (EKÜ) ile ilgili gözlenen oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

Epitelde meydana gelen ülser ve erezyonlar I. grupta bütün zamanlarda meydana gelmezken II. grupta 3. saatte görüldü diğer zaman dilimlerinde görülmedi. III. grupta ilk dört zaman diliminde görülürken 3. haftada görülmedi. EKÜ görülme oranı en çok 1. haftada en az ise 3. saattedir. IV. gruptaki EKÜ sonuçları III. gruptaki sonuçlara benzer

olarak en çok 1. haftada farklı olarak en az 24. saatte görüldü. EKÜ görülme oranı gruplar açısından karşılaştırıldığında 3. saat, 3. gün ve 1. haftada üstünlüğün IV. grupta 24. saatteyse III. grupta olduğu görüldü (Şekil 45). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3. saatte fark bulunmazken ($p>0.05$) 24. saat, 3. gün ve 1. haftada fark bulundu ($p<0.01$). 3. haftada EKÜ'ye dair veri elde edilemediğinden değerlendirme yapılamadı (Tablo 1).

Zaman	Gruplar	EKÜ		P
		n/N	%	
3. saat	I. grup	0/5	0.0	0.083
	II. grup	1/10	10.0	
	III. grup	6/15	40.0	
	IV. grup	5/10	50	
24. saat	I. grup	0/5	0.0	0.002
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	10/15	66.7	
	IV. grup	4/10	40.0	
3. gün	I. grup	0/5	0.0	0.003
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	6/15	40.0	
	IV. grup	7/10	70.0	
7. gün	I. grup	0/5	0.0	0.001
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	7/10	70.0	
	IV. grup	4/5	80.0	
3. hafta	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/15	0.0	
	III. grup	0/5	0.0	
	IV. grup	0/5	0.0	

Tablo 1. Her zaman periyodunda, gruplardaki epitel tabakalarında kayıplar veya ülserin (EKÜ) varlığı ve oranları.

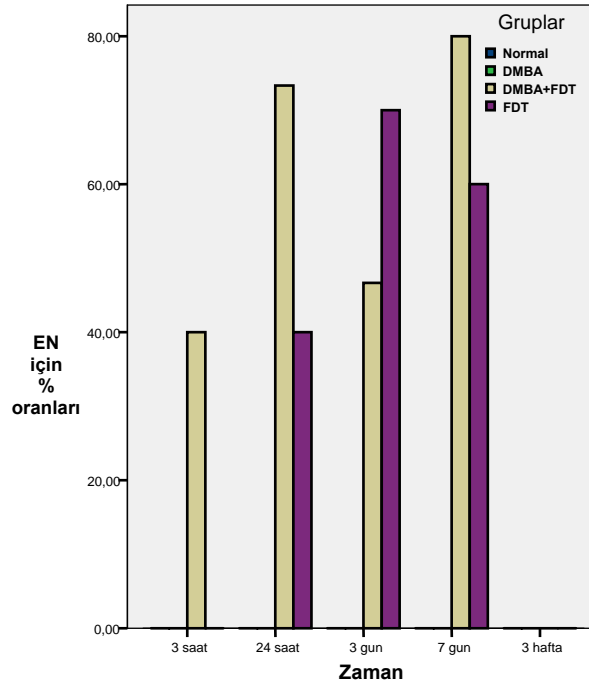
4.2.2. Epitel nekrozu

Epitel hücrelerinin çekirdeklerinde piknoz ve hayalileşme, epitelde kistik vakuolü yapılar, intraepitelyal ve subepitelyal veziküler oluşum, bazal tabakaya ulaşan yıkımlar I. grupta bütün zamanlarda meydana gelmezken II. grupta 3. saatte çok düşük oranda görüldü diğer zaman dilimlerinde görülmedi. III. grup rat örneklerinde EN 3. hafta hariç bütün zaman dilimlerinde, IV. gruptaki ratların doku örneklerindeyse 3. saat ve 3. hafta hariç diğer zaman dilimlerinde görüldü. III. grupta en yüksek EN oranı 1.

haftada en düşük 3. saatte görüldü. IV. grupta en yüksek EN oranı 3. günde en düşük 24. saatte görüldü. EN görülme oranı gruplar açısından karşılaştırıldığında 3. saat, 24.

Zaman	Gruplar	EN		P
		n/N	%	
3. saat	I. grup	0/5	0.0	0.008
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	6/15	40.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
24. saat	I. grup	0/5	0.0	0.001
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	11/15	73.3	
	IV. grup	4/10	40.0	
3. gün	I. grup	0/5	0.0	0.002
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	7/15	46.7	
	IV. grup	7/10	70.0	
7. gün	I. grup	0/5	0.0	0.000
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	8/10	80.0	
	IV. grup	3/5	60.0	
3. hafta	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/15	0.0	
	III. grup	0/5	0.0	
	IV. grup	0/5	0.0	

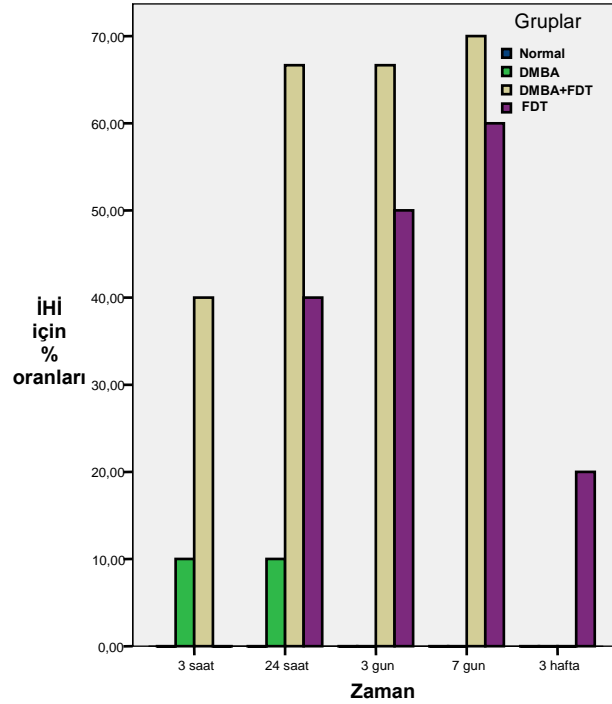
Tablo 2. Her zaman periyodunda, gruplardaki epitel nekrozunun (EN) varlığı ve oranları.



Şekil 46. Epitel hücrelerinde çekirdeklerin piknozu yada hayalileşmesi, epitelde kistik yapılar ve yaygın epitel nekrozu (EN) ile ilgili gözlenen oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

saat ve 1. haftada üstünlüğün III. grupta 3. günde ise IV. grupta olduğu görüldü(Şekil 46). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3. saatte, 24. saatte ($p<0.05$), 3. gün ve 1. haftada anlamlı fark bulundu ($p<0.01$). 3. haftada EN dair veri elde edilemediğinden istatistiksel değerlendirme yapılamadı (Tablo 2).

4.2.3. İnflamatuar hücre infiltrasyonu



Şekil 47. Ağız mukozasının farklı bölgelerinde görülen inflammatuar hücre infiltrasyonu (İHİ) ilgili gözlenen oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

İnflamatuar hücre infiltrasyonu I. grupta bütün zamanlarda görülmezken II. grupta 3. ve 24. saatlerde çok düşük oranda görüldü diğer zaman dilimlerinde görülmedi. İHİ III. grupta 3. hafta hariç diğer dört zaman grubunda görüldü. III. grupta İHİ görülme oranı en yüksek 1. haftada en düşük 3. saatte görüldü. IV. grupta ise 3. saat hariç diğer dört zaman diliminde görüldü. Bu grupta en yüksek İHİ oranı 1. haftada en düşük oran 3. haftada görüldü. Gruplar karşılaştırıldığında İHİ görülme oranı 3. saat , 24. saat, 3. gün, 1 .haftada üstünlük III. grupta, 3. haftadaysa üstünlük IV. grupta bulundu (Şekil 47). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan

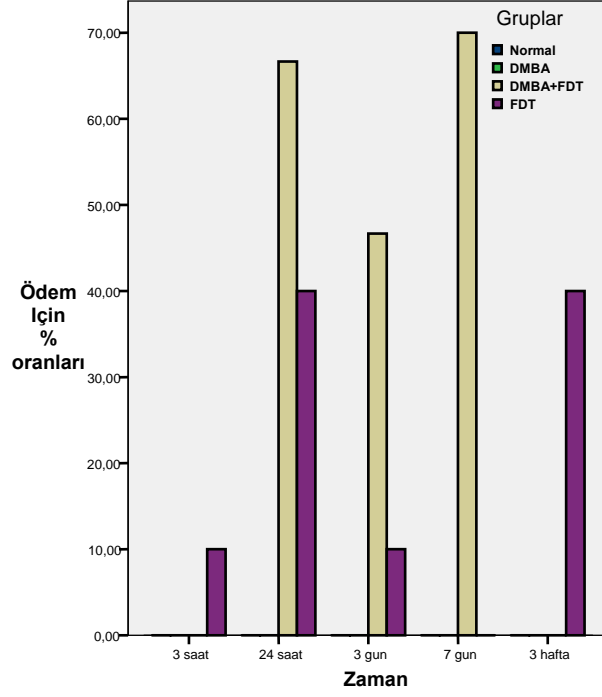
karşılaştırıldığında; 3. saat, 24. saat, 3. gün ve 3. haftada gruplar arasında fark bulunmazken ($p>0.05$), 1. haftada anlamlı fark bulundu ($p<0.01$) (Tablo 3).

Zaman	Gruplar	İHi			n/N	%	P
		1	2	3			
3. saat	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.162
	II. grup	1	1	0	1/10	10.0	
	III. grup	4	1	0	6/15	40.0	
	IV. grup	0	0	0	0/10	0.0	
24. saat	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.100
	II. grup	1	0	0	1/10	10	
	III. grup	2	2	6	10/15	66.6	
	IV. grup	2	1	1	4/10	40.0	
3. gün	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.067
	II. grup	0	0	0	0/10	0.0	
	III. grup	6	1	3	10/15	6.6	
	IV. grup	2	1	2	5/10	50.0	
7. gün	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.001
	II. grup	0	0	0	0/10	0.0	
	III. grup	0	2	5	7/10	70.0	
	IV. grup	0	3	0	3/5	60.0	
3. hafta	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.160
	II. grup	0	0	0	0/15	0.0	
	III. grup	0	0	0	0/5	0.0	
	IV. grup	1	0	0	1/5	20.0	

Tablo 3. Her zaman periyodunda, gruplardaki inflamatuvar hücre infiltrasyonunun (İHi) varlığı ve oranları.

4.2.4.Ödem

Mukozadaki ödem I. grupta ve II. grupta tüm zaman dilimlerinde görülmedi. III. grupta ödem 24. saat, 3. gün, ve 1. haftada görüldü. Bu grupta ödem oranları en yüksek 1. haftada en düşük 3. günde görüldü. IV. Grupta 1. hafta hariç diğer dört zaman diliminde ödem görülmesine rağmen 1. haftadaki ratların doku örneklerinde görülmedi. Bu grupta en yüksek ödem oranları 24. saat ve 3. haftada, en düşük ise 3. saat ve 3. günde görüldü. Gruplar karşılaştırıldığında 24. saat, 3. gün ve 1. haftada üstünlük III. grupta, 3. saat ve 3. haftada üstünlük IV. gruptaydı (Şekil 48). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3. saat, 3. gün ve 1. haftada gruplar arasında ödem açısından fark bulunmazken ($p>0.05$), 24. saat ve 3. haftada anlamlı fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 4).

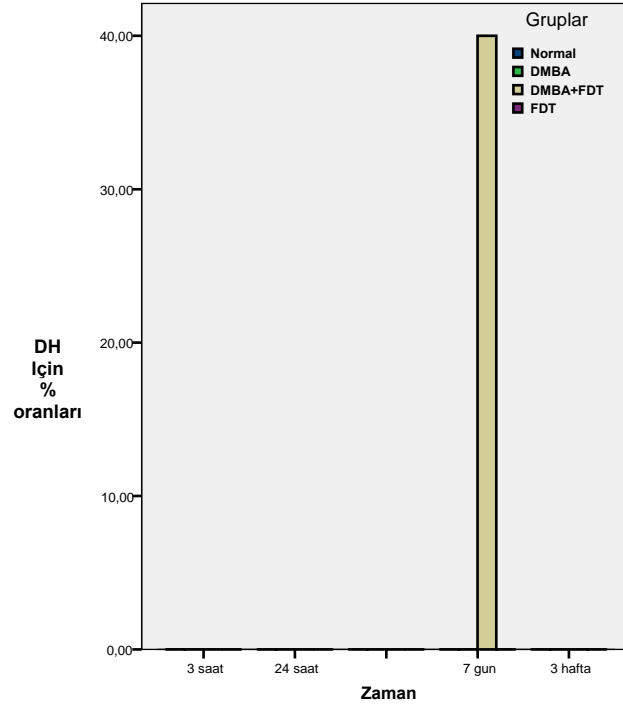


Şekil 48. Dokularda görülen ödemle ilgili gözlenen oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

Zaman	Gruplar	Ödem			n/N	%	P
		1	2	3			
3. saat	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.380
	II. grup	0	0	0	0/10	0.0	
	III. grup	0	0	0	0/15	0.0	
	IV. grup	1	0	0	1/10	10.0	
24. saat	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.015
	II. grup	0	0	0	0/10	0.0	
	III. grup	2	4	4	10/15	66.6	
	IV. grup	0	0	4	4/10	40.0	
3. gün	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.220
	II. grup	0	0	0	0/10	0.0	
	III. grup	3	1	3	7/15	46.6	
	IV. grup	1	0	0	1/10	10.0	
7. gün	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.032
	II. grup	0	0	0	0/10	0.0	
	III. grup	3	2	2	9/10	90.0	
	IV. grup	0	0	0	0/5	0.0	
3. hafta	I. grup	0	0	0	0/5	0.0	0.013
	II. grup	0	0	0	0/15	0.0	
	III. grup	0	0	0	0/5	0.0	
	IV. grup	2	0	0	2/5	40.0	

Tablo 4. Her zaman periyodunda, gruplardaki ödemin (Ö) varlığı ve oranları.

4.2.5. Demarkasyon hattı



Şekil 49. Normal doku ile nekrotik dokunun birbirinden kesin sınırlarla ayrıldığı demarkasyon hattı (DH) ile ilgili oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

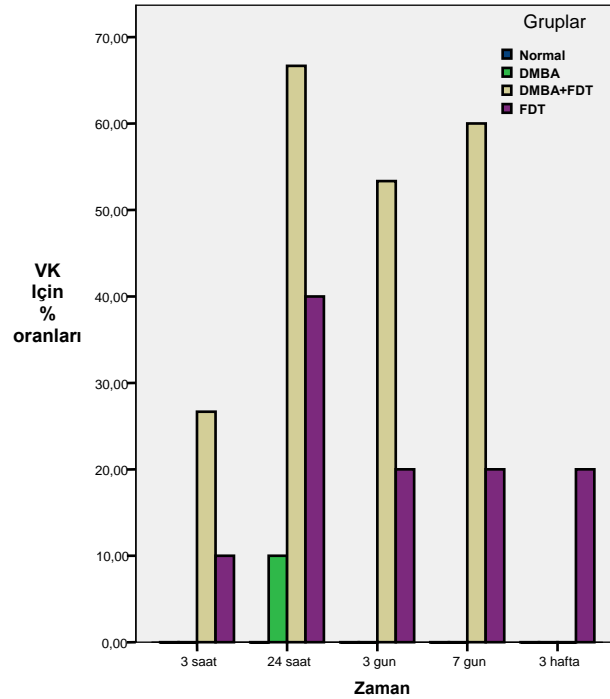
Zaman	Gruplar	DH		P
		n/N	%	
3. saat	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/15	0.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
24. saat	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/15	0.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
3. gün	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/15	0.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
7. gün	I. grup	0/5	0.0	0.026
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	4/10	40.0	
	IV. grup	0/5	0.0	
3. hafta	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/15	0.0	
	III. grup	0/5	0.0	
	IV. grup	0/5	0.0	

Tablo 5. Her zaman periyodunda, gruplardaki demarkasyon hattının (DH) varlığı ve oranları.

İnflamatuvar hücrelerin canlı dokuyu nekrotik dokudan ayırdığı bu savunma hattı 1. haftada sadece III. grupta görüldü. Diğer grup ve zaman dilimlerinde demarkasyon hattına rastlanmadı (Şekil 49). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3. saat, 24. saat, 3. gün ve 3.haftada DH'ye dair veri elde edilemediğinden istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Birinci haftada gruplar arasında DH açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 5).

4.2.6. Vasküler konjesyon

Damarlarda meydana gelen genişlemeler ve eritrosit kümeleşmeleri I. grupta beş zaman diliminde görülmemesine karşın II. grupta 24. saatte gözlemlendi. VK III. grupta 3. hafta hariç IV. grupta ise tüm zaman dilimlerinde gözlemlendi. III. grupta en yüksek oran 24. saatte, en düşük 3. saatte, IV. grupta en yüksek oran 24. saatte en düşük 3. saatte görüldü. Gruplar karşılaştırıldığında 3. hafta hariç tüm zaman dilimlerinde III. grupta rastlandı (Şekil 50). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3.saat ve 3. haftada gruplar arasında VK açısından fark bulunmazken ($p>0.05$), 24. saat, 3. gün ve 1. haftada anlamlı fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 6).

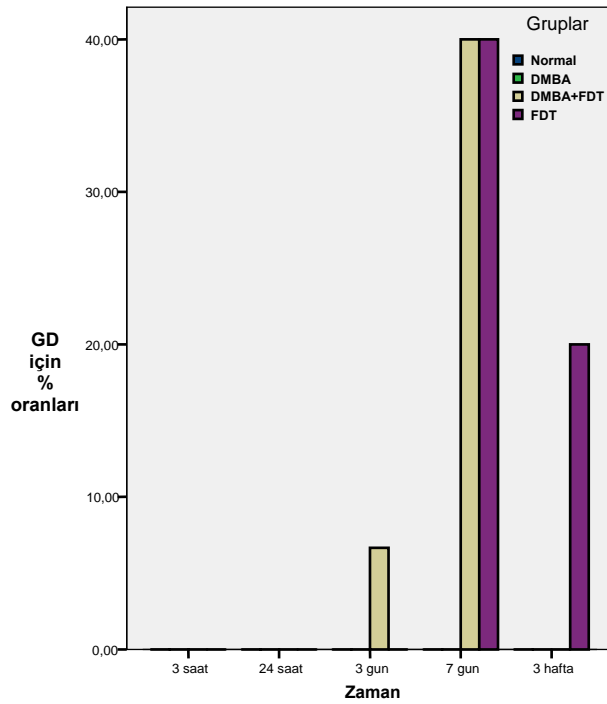


Şekil 50. Vasküler konjesyon (VK) ile ilgili oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

Zaman	Gruplar	VK		P
		n/N	%	
3. saat	I. grup	0/5	0.0	0.175
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	4/15	26.6	
	IV. grup	1/10	10.0	
24. saat	I. grup	0/5	0.0	0.008
	II. grup	1/10	10.0	
	III. grup	10/15	66.6	
	IV. grup	4/10	40.0	
3. gün	I. grup	0/5	0.0	0.009
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	8/15	53.3	
	IV. grup	2/10	20.0	
7. gün	I. grup	0/5	0.0	0.007
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	6/10	60.0	
	IV. grup	1/5	20.0	
3. hafta	I. grup	0/5	0.0	0.160
	II. grup	0/15	0.0	
	III. grup	0/5	0.0	
	IV. grup	1/5	20.0	

Tablo 6. Her zaman periyodunda, gruplardaki vasküler konjesyonun (VK) varlığı ve oranları.

4.2.7. Granülasyon dokusu



Şekil 51. Yeni damarlanmalar, fibroblast göçü ve kollajen yapımı gibi granülasyon dokusu (GD) oluşumu ile ilgili oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

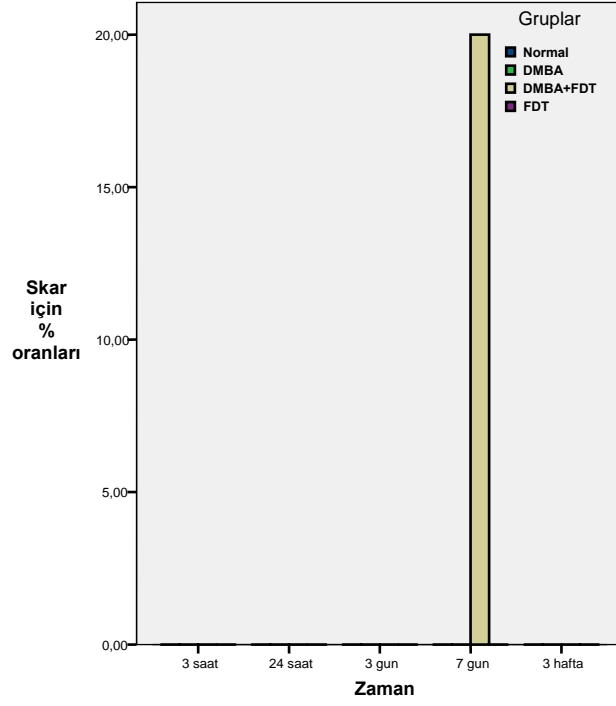
Yeni damarlanmalar, fibroblast proliferasyonu ve kollajen yapımının görüldüğü granülasyon dokusu (GD) I. ve II. gruplarda tüm zaman dilimlerinde görülmezken, III. grupta 3. gün ve 1. haftada IV. grupta ise 1. ve 3. haftalarda görüldü. GD oluşumu her iki grupta da en çok 1. haftada görüldü (Şekil 51). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3. saat ve 24. saatte GD'ye rastlanmadığından istatistiksel değerlendirme yapılamadı. 3. gün, 1. hafta ve 3. haftada gruplar arasında GD açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 7).

Zaman	Gruplar	GD		P
		n/N	%	
3. saat	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/15	0.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
24. saat	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/15	0.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
3. gün	I. grup	0/5	0.0	0.635
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	1/15	6.7	
	IV. grup	0/10	0.0	
7. gün	I. grup	0/5	0.0	0.058
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	4/10	40.0	
	IV. grup	2/5	40.0	
3. hafta	I. grup	0/5	0.0	0.160
	II. grup	0/15	0.0	
	III. grup	0/5	0.0	
	IV. grup	1/5	20.0	

Tablo 7. Her zaman periyodunda, gruplardaki granülasyon dokusunun (GD) varlığı ve oranları.

4.2.8. Skar dokusu

Skar dokusu 1. haftada sadece III. gruptaki örneklerde görüldü. Diğer zaman dilimi ve gruplarda skar dokusuna dair kanıt bulunamadı (Şekil 52). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3. saat, 24. saat ve 3. gün ve 3. haftada skar dokusuna rastlanmadığından istatistiksel değerlendirme yapılamadı. 1. haftada gruplar arasında skar açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 8).

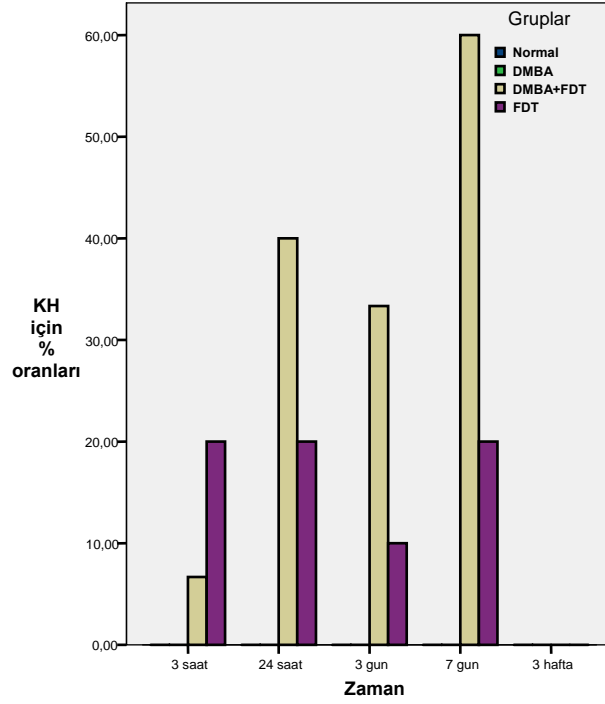


Şekil 52. Skar dokusu gelişimiyle ilgili gözlenen oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

Zaman	Gruplar	S		P
		n/N	%	
3. saat	I. grup	0/5	0.0	Veri Yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/15	0.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
24. saat	I. grup	0/5	0.0	Veri Yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/15	0.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
3. gün	I. grup	0/5	0.0	Veri Yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/15	0.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
7. gün	I. grup	0/5	0.0	0.232
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	2/10	20.0	
	IV. grup	0/5	0.0	
3. hafta	I. grup	0/5	0.0	Veri Yok
	II. grup	0/15	0.0	
	III. grup	0/5	0.0	
	IV. grup	0/5	0.0	

Tablo 8. Her zaman periyodunda, gruplardaki skar (S) varlığı ve oranları.

4.2.9. Kas hasarı



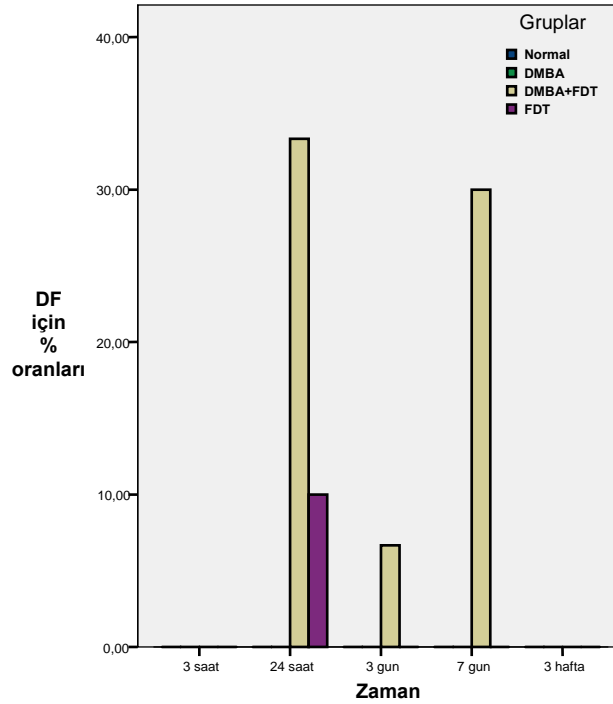
Şekil 53. Kas liflerinin çizgili yapısını kaybetmesi veya yok olması (KH) ile ilgili oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

Zaman	Gruplar	KH		P
		n/N	%	
3. saat	I. grup	0/5	0.0	0.323
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	1/15	6.6	
	IV. grup	2/10	20.0	
24. saat	I. grup	0/5	0.0	0.058
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	6/15	40.0	
	IV. grup	2/10	20.0	
3. gün	I. grup	0/5	0.0	0.079
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	5/15	33.3	
	IV. grup	1/10	10.0	
7. gün	I. grup	0/5	0.0	0.007
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	6/10	60.0	
	IV. grup	1/5	20.0	
3. hafta	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/15	0.0	
	III. grup	0/5	0.0	
	IV. grup	0/5	0.0	

Tablo 9. Her zaman periyodunda, gruplardaki kas hasarının (KH) varlığı ve oranları.

Kas liflerinin çizgili yapısını kaybetmesi veya yok olması I. ve II. gruplarda tüm zaman dilimlerinde görülmedi. III. ve IV. gruplarda 3. hafta hariç diğer zaman dilimlerinde görüldü. III. grupta en yüksek oran 1. haftada en düşük oranda ise 3. saatte görülmesine rağmen IV. grupta bu oranlar 3. saat, 24. saat ve 1. haftada eşit ve yüksek 3. günde ise en düşük oranda görüldü. Gruplar karşılaştırıldığında 24. saat, 3. gün, 1. haftada III. grup üstün iken 3. saatteyse üstünlük IV. gruptaydı (Şekil 53). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3. saat, 24. saat ve 3. günde gruplar arasında KH açısından anlamlı fark bulunmazken ($p>0.05$), 1. haftada gruplar arasında KH açısından anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). 3. haftada KH'ye rastlanmadığından istatistiksel değerlendirme yapılamadı (Tablo 9).

4.2.10. Damar içi fibrin birikimi



Şekil 54. Damarlar içinde fibrin birikimi olarak değerlendirilen (DF) ile ilgili oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

Damarlar içinde fibrin birikimi ve damarların tıkanması (DF) I. ve II. gruplarda tüm zaman dilimlerinde görülmedi. DF III. grupta 24. saat, 3. gün ve 1. hafta IV. gruptaysa sadece 24. saatte görüldü. (Şekil 54). Zaman dilimlerine göre gruplar

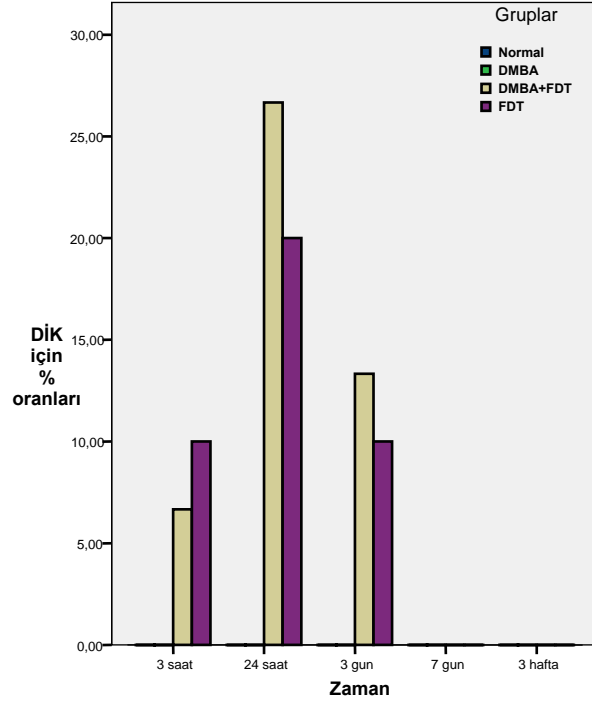
istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3. saat ve 3. haftada damar tıkaçı oluşumuna rastlanmadığından istatistiksel değerlendirme yapılamadı. 24.saat, 3. gün ve 1. haftada gruplar arasında DF açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 10).

Zaman	Gruplar	DF		
		n/N	%	P
3. saat	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/15	0.0	
	IV. grup	0/10	0.0	
24. saat	I. grup	0/5	0.0	0.079
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	5/15	33.3	
	IV. grup	1/10	10.0	
3. gün	I. grup	0/5	0.0	0.635
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	1/15	6.7	
	IV. grup	0/10	0.0	
7. gün	I. grup	0/5	0.0	0.083
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	3/10	30.0	
	IV. grup	0/5	0.0	
3. hafta	I. grup	0/5	0.0	Veri Yok
	II. grup	0/15	0.0	
	III. grup	0/5	0.0	
	IV. grup	0/5	0.0	

Tablo 10. Her zaman periyodunda, gruplardaki damar içi fibrin (DF) birikimi varlığı ve oranları.

4.2.11. Doku içi kanama

Damar dışına eritrosit çıkışı I.ve II. grupta değerlendirme yapılan bütün zaman dilimlerinde görülmedi. III. grupta 3. saat, 24. saat ve 3. günde görülürken 1. hafta ve 3. haftada görülmedi. IV. grupta 3. saat, 24. saat ve 3. günde kanama görüldü. DİK görülme oranı en çok III. grup 24. saat örneklerinde rastlandı (Şekil 55). Zaman dilimlerine göre gruplar istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 3. saat, 24. saat ve 3. günde gruplar arasında doku içi kanama açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). 1. hafta ve 3. haftada kanamaya rastlanmadığından istatistiksel değerlendirme yapılamadı (Tablo 11).



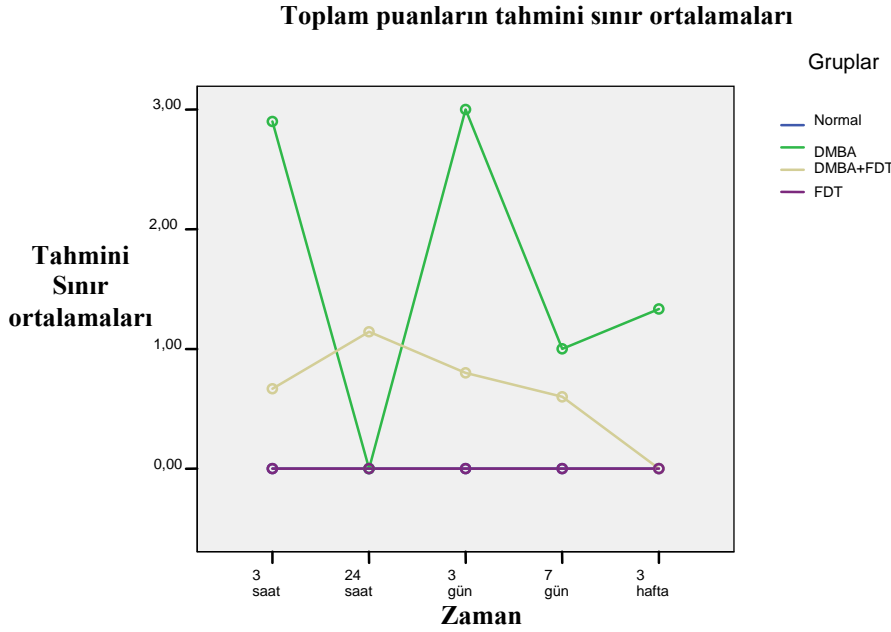
Şekil 54: Doku içindeki kanama (DİK) ile ilgili oranların gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

Zaman	Gruplar	DİK		P
		n/N	%	
3. saat	I. grup	0/5	0.0	0.705
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	1/15	6.7	
	IV. grup	1/10	10.0	
24. saat	I. grup	0/5	0.0	0.217
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	4/15	26.7	
	IV. grup	2/10	20.0	
3. gün	I. grup	0/5	0.0	0.564
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	2/15	13.3	
	IV. grup	1/10	10.0	
7. gün	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/10	0.0	
	III. grup	0/10	0.0	
	IV. grup	0/5	0.0	
3. hafta	I. grup	0/5	0.0	Veri yok
	II. grup	0/15	0.0	
	III. grup	0/5	0.0	
	IV. grup	0/5	0.0	

Tablo 11. Her zaman periyodunda, gruplardaki doku içi kanamanın (DİK) varlığı ve oranları.

4.3. DMBA'ya bağlı değişikliklerin değerlendirilmesi

DMBA uygulanan II. ve III. gruplarda MA, HPL, HPK, Ç/S, DRP, AK, GÇ ve ÇH gibi displazi kriterlerinin puanları toplanarak gruplara ve zaman dilimlerine göre tek yönlü varyans analizi Man-Whitney U testiyle değerlendirilmesi sonucu 3. saat, 24. saat, 7. gün ve 3. haftada gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Ancak 3. günde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$) (Şekil 56) (Tablo12).



Şekil 56. Mitotik aktivitede artış (MA), Hücresel pleomorfizm (HPL), Hücresel polarite kaybı (HPK), Artmış çekirdek sitoplazma oranı (Ç/S), Damla şeklinde rete peg (DRP), Azalmış kohezyon (AK), Genişlemiş çekirdekçik (GÇ) ve Çekirdek hiperkromatizmi (ÇH) gibi displaziyle ilgili puanların toplamının tahmini sınır ortalamalarını gruplara ve zaman dilimlerine göre dağılımı.

Gruplar	II. grup (DMBA)				III. grup (DMBA+FDT)				P	
	Zaman	Ortalama	Standart Sapma	Medyan	Min-Max	Ortalama	Standart Sapma	Medyan		Min-Max
	3. saat	2,9000	2,80674	3,0	0-7	0,6667	1,29099	0	0-4	0,062
	24. saat	0,0000	0,00000	0	0-0	1,1429	2,07020	0	0-6	0,244
	3. gün	3,0000	2,86744	2,5	0-8	0,8000	1,42428	0	0-4	0,041
	7. gün	1,0000	1,88562	0	0-5	0,6000	1,34990	0	0-4	0,684
	3. hafta	1,3333	2,02367	0	0-5	0,0000	,00000	0	0-0	0,197

Tablo 12. Her zaman periyodunda, II. ve III.grubun ortalama toplam puanları ve istatistiksel değerlendirilmesi

5.TARTIŞMA

Premalign displastik lezyonlar ve non invaziv kanserler üst solunum ve yemek borusu, üriner kanal ve ağız mukozası gibi bölgelerde oldukça yaygındır (Hopper, 2000). Histopatolojik olarak epitelyal displazi, hücresel atipi ve bozuk maturasyon sergileyen premalign lezyonlarda kanser gelişme riskinin önemli olduğu bilinmektedir (Thomson ve Wylie, 2002). Silverman (2001), ağız kanserlerinin, displazi sergileyen öncü lezyonlarının erken teşhis ve tedavisinin, ağız kanserlerinin kontrol altına alınmasını sağlayarak 5 yıllık hayatta kalma oranlarını yükselteceğini bildirmiştir. Bu nedenle Tradati ve ark. (1997), tarafından ağız kanserlerinin kontrol altına alınması için klinik olarak malignite potansiyeli olan lezyonların uzaklaştırılması önerilmiştir. Premalign lezyonların invaziv kansere dönüşmeden önce yok edilmesi, solid tümörlerin tedavisine göre tercih edilen bir durumdur. Çünkü bu metastaz gelişme riskini azaltacaktır (Hopper, 2000). Ayrıca AMED sergileyen lezyonların erken dönem tedavisi, ilerlemiş lezyonlara yapılacak cerrahi müdahalenin neden olacağı; organ kaybı, sikatrizasyon, fonksiyon ve estetik kayıpların, radyoterapi ve kemoterapinin neden olacağı; kserostomi, şellit, trismus, osteoradyonekroz ve sekonder lezyon gelişimi gibi komplikasyonların önüne geçilmiş olacaktır (Biel, 1994). Bu tez çalışmasında DMBA ile deneysel olarak ratların ağız mukozasında epitelyal displazi oluşturularak ALA kullanılarak FDT uygulamasının AMED üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Deneysel olarak kanserojen ajanların uygulanması ile ağız mukozasında epitelyal displazi sergileyen premalign ve malign lezyonları oluşturmak mümkündür (Kingsbury ve ark., 1997; Nauta ve ark., 1997; Balasenthil ve ark., 2000; Balasenthil ve Nagini, 2000; Balasenthil ve ark., 2001). Bu nedenle en çok tercih edilen kimyasal bileşikler % 0.5'lik 7,12-dimetil benz[a]antrasen (DMBA) ve 4-nitroquinolin 1-oksit (4NQ1O)'tir (Kingsbury ve ark., 1997; Andrejevic-Blant ve ark., 1998; Ma ve ark., 1999; Balasenthil ve Nagini, 2000; Balasenthil ve ark., 2001; Charoenbanpachon ve ark., 2003; Tsai ve ark., 2004). Bu ajanlar ağız, mesane, göğüs, kolon kanseri gibi insanlarda görülen hastalıkları hayvanlarda taklit etme imkanı verdiği için oluşturulan bu lezyonlara uygulanacak tedavi yöntemlerinin lezyon ve çevresi üzerine etkilerini karşılaştırılma imkanı vermektedir (Nauta ve ark., 1997).

Ağız mukozası displazisi oluşturmak için hayvan modeli olarak en çok yanak keselerinden dolayı hamsterler seçilmiştir. Bu modelde DMBA ile lezyonlar oluşturulmuştur (Kingsbury ve ark., 1997; Balasenthil ve Nagini, 2000; Balasenthil ve Nagini, 2000). Ancak hamsterlerin yanak kesesi histolojik olarak ince ve immunolojik olarak ayrıcalıklı bir bölgedir (bu bölge normal ve tümöral dokuların allojenik greftlerini immunolojik yanıt oluşturmada kabul etmektedir) (Rich, 1988). Hamsterlerden sonra epitelyal displazi ve FDT amaçlı üzerinde en çok çalışma yapılan hayvan modeli Sprague-Dawley ve Wistar ratlardır. Rich (1988), Nauta ve ark. (1995), Nauta ve ark. (1997) ve Niwa ve ark.'nın (2001), görüşlerini göz önüne alarak Sprague-Dawley ratlardan hayvan modelimizi oluşturduk.

Kanserojen ajanların uygulama şekli, uygulama sıklığı ve uygulanma süresi epitelyal displazi veya kanserojen oluşturmak için dikkat edilmesi gereken bir konudur. Ağız mukozasına kanserojen ajanlar mineral yağda çözdürülerek haftada 3 kez fırça ile yada içme suyuna katılarak uygulanmıştır. DMBA için en çok tercih edilen yöntem fırça ile sürülmesidir (Kingsbury ve ark., 1997; Balasenthil ve Nagini, 2000; Kohno ve ark., 2002). Displazi oluşturmak için kanserojen ajan uygulama süresi hakkında yazarların görüş birliği yoktur. Kingsbury ve ark. (1997), 6 hafta (hamster-DMBA), Balasenthil ve ark. (2000), 14 hafta (hamster-DMBA), Balasenthil ve ark. (2001), 8 hafta (Wistar rat-4NQ1O), Niwa ve ark. (2001), 20 hafta (Sprague Dawley rat-4NQ1O) Charoenbanpachon ve ark. (2003), 3-5 hafta (hamster-DMBA) ve Tsai ve ark. (2004), 8 hafta (hamster-DMBA) sürelerini çalışmalarında kullanmışlardır. Niwa ve ark. (2001), çalışmalarında kanserojen ajan olarak 4NQ1O'yu içme suyuna katarak vermişlerdir. Literatür bilgisi ışığı altında çalışma modelimizde DMBA'yı 20 hafta süreyle uyguladık. Çalışmamızda % 0.5'lik DMBA'yı mineral yağda çözdürerek haftada 3 kez 4 nolu fırça ile Kingsbury ve ark. (1997), Balasenthil ve ark. (2000) ve Tsai ve ark. (2004) uyguladığı gibi ratların ağız mukozasına uygulandı.

Displazi sergileyen bu premalign lezyonların tedavisi için geleneksel olarak cerrahi, kriyoterapi, elektrokoagülasyon, lazerle yok etme ve kemopreventasyon gibi yöntemler uygulanmıştır (Tradati ve ark., 1997; Ishii ve ark., 2003; Sieron ve ark., 2003).

Bistüriyle yapılan cerrahi eksizyon klasik bir yöntemdir. Eksizyonun en önemli avantajı elde edilen doku parçasının histolojik olarak incelenmesine imkan vermesidir. Ancak 1 cm'den büyük lezyonlarda yapılan cerrahi eksizyonlardan sonra, rekonstrüksiyon ihtiyacı, skarizasyon, fonksiyon kaybı, kötü estetik sonuçlar gibi komplikasyonlar ve % 10-35 oranında nüksle karşılaşılması nedeniyle başka tedavi yöntemleri araştırılmıştır (Gooris ve ark., 1999).

Kriyoterapi (kriyocerrahi) için daha az doku hasarı olduğuna işaret edilmesine karşın probun ısısına ve uygulama zamanına bağlı olarak dokuda meydana gelen nekrozun displastik dokuyu yeterince yok edip etmediğini kontrol etmek mümkün olmadığı gibi dokuda meydana gelen hasar nedeniyle histopatolojik incelemenin yapılamaması önemli bir dezavantaj teşkil eder. Ayrıca postoperatif morbitide, şiddetli ağrı ve yara iyileşmesi süresinin uzaması bu tedavinin diğer olumsuz yönleridir. Kriyoterapiyle tedavi edilen premalign lezyonların tedavisinde nüks oranları % 13-25 arasında olduğu belirtilmiştir (Gooris ve ark., 1999).

Elektrokoagülasyon, alttaki dokularda termal hasarlar, postoperatif ağrı, ödem ve skar oluşumu nedeniyle ideal bir tedavi şekli olarak görülmemektedir (Ishii ve ark., 2003).

CO₂ lazer cerrahisi, sağladığı hemostatik etki, iyi görüş alanı, çok düşük düzeyde skar oluşumu ve operasyon sonrası hafif ağrı gibi avantajlarla, bistüriyle yapılan cerrahi ve kriyocerrahiye üstünlükleri olmasına rağmen, bu başarıyı nüks oranlarına yansıtamamıştır (Gooris ve ark., 1999). Thomson ve Wylie (2002), çalışmalarında % 25 oranında nüks şekillendiğini bildirmişlerdir. Ishii ve ark. (2003), yaptıkları literatür taramasında premalign lezyonların tedavisinde lazer uygulamaları sonrası gelişen nüks oranını % 7.7-38.1 arasında tesbit etmişlerdir.

Ağız mukozasının epitelyal displazik lezyonlarının tedavisinde kemopreventasyon amacıyla retinoidler (A vitamini analogları 13-cis-retinoik asit, beta-karotenoidler) kullanılmıştır. Bu tedaviyle displastik hücrelerin normale dönüşümünde

% 54 oranında başarı bildirilmiştir. Ancak bu ilaç kombinasyonlarının şelitis, fasiyal eritem, konjunktivitis, deride kuruluk, dökülme ve hipertrigliseridemiye neden olması, ilaç kullanımı bırakıldığında çok yüksek oranlarda nüks görülmesi nedeniyle, retinoidlerin kullanımı deneysel aşamada kalmış ve rutin tedavi yöntemleri arasına girememiştir (Hong ve ark., 1986; Lippman ve ark., 1993).

Klasik tedavi yöntemlerine alternatif bir seçenek olarak ileri sürülen FDT, 1978 yılından beri deri, mesane, göğüs ve midenin neoplastik lezyonlarının tedavisinde umut verici bir yöntem olarak rapor edilmiştir (Dougherty ve ark., 1978; Ma ve ark., 1999). Bu tedavi yönteminin, çeşitli kanserlerin palyasyon ve yok edilmesi için minimal invaziv olduğu, kanserli hücrelerde birikerek tümöral lezyonları seçici olarak yok ettiği, sağlıklı hücrelerde diğer tedavi yöntemleriyle karşılaştırıldığında daha az hasar oluşturduğu, kollajen ve elastin gibi bağ dokusu elemanlarını koruyarak minimal skar etkisiyle mükemmel estetik sonuç sağladığı kaydedilmiştir (Maier ve ark., 2001). FDT amacıyla ksenon ark, tungsten ve metal halojen lambaların dokuda meydana getirdikleri termal etki, ışığın taşınabilmesinin olanaksızlığı, geniş dalga boyu spektrumu ve belirli bir dalga boyu spektrumu sağlayamaması gibi dezavantajları nedeniyle kullanımları sınırlı olup geçmişte kalmıştır (Nauta ve ark., 1996; Dougherty ve ark., 1998; Tsai ve ark., 2004). Günümüzde, lazerler ışınlarının belirli dalga boyunda, eş fazlı (koherent), paralel, tek yönlü ve tek renkli (monokromatik) olmaları nedeniyle ideal bir ışık kaynağı olarak FDT’de tercih edilmektedir (Pe ve ark., 1993; Stringer, 1995; Uehara ve ark., 1996). Lazerlerin bir diğer üstünlüğü bu ışınların fiber optik kablolarla taşınabilmesidir (Stringer, 1995; Nauta ve ark., 1996; Hopper, 2000). FDT’de kullanılan lazerler; Helyum Neon (He-Ne) lazer, argon dye lazer, altın-bakır vapor lazer, Potasyum Titanyum Fosfat (KTP) lazer, Neodmiyum:yttriumalüminyum-garnet (Nd:YAG) ve diyot lazerdir (Schweitzer, 1990; Pe ve ark., 1993; Biel, 1994; Gossner ve ark., 1999; Maier ve ark., 2001; Schakley ve ark., 2002; Sieron ve ark., 2003; Tsai ve ark., 2004).

Argon dye lazerlerin pahalı ve klinik manüplasyonun zorluğu, KTP lazerlerin ise nispeten kompleks ve hacim olarak çok yer kaplamaları ve He-Ne lazerlerin dalga

boyu spektrumunun uygun olmayışı ve düşük enerjiye sahip olmaları gibi dezavantajları bulunmaktadır (Nauta ve ark., 1996).

Bu tez çalışmasında bir çok araştırmacı tarafından FDT'de geleceğin lazeri olarak tanımlanan diyot lazer kullanıldı (Nauta ve ark., 1996; Hopper, 2000; Macdonald ve Dougherty, 2001). Kullanımı çok yeni olan ve gelecek vaat eden diyot lazerler FDT için elverişli görünmektedirler. Çünkü bu lazerler dışardan soğutma sistemine ihtiyaç göstermemektedirler ve boyutlarının küçük olması sayesinde taşınabilme kolaylığına sahiptirler (Dougherty ve ark., 1998; Veen ve ark., 1999; Macdonald ve Dougherty, 2001, Tsai ve ark., 2004). Bu çalışma, diyot lazerin FDT için uygun ve pratik bir ışık kaynağı olduğu görüşünü desteklemiştir.

Fotodinamik tedavinin bir diğer önemli unsuru ID'lerdir. Bu maddeler çok çeşitli ve farklı ışık spektrumunda aktif hale gelerek tutulduğu dokularda etki göstermektedir. Deneysel ve klinik uygulamalara göre bu maddeler; Hematoporfirin türevleri (Fotofirin), Kalay Etiyopurpurin (SnEt₂, Purlitin), Tetra (m-Hidrofenil)Klorin (m-THPC, Foscan), Klorin e6 Aspartik asit (Npe6), Lutetiyum teksafirin (Lu-teks), Benzoporfirin monoasit türevi (BPDMA, Verteporfirin), Heksil eter türevli Pirofeoforbit-a (HPPH, Fotoklor), Benzoklorinler, Purpurin-18-N-Alkilimitler, Porfisen analogları, Gilkosilat porfirinler ve klorinler, fitalosiyanınler ve 5-Aminolevulinik asit (ALA)'tir (Schweitzer, 1990; Dougherty ve ark., 1998; Ma ve ark., 1999; Pandey, 2000; Macdonald ve Dougherty, 2001; Schakley ve ark., 2002).

Fotofirin üzerinde en çok deneysel ve klinik çalışma yapılan ID'dir. Japonya, Kanada, Hollanda, Fransa ve Amerika'da çeşitli klinik endikasyonlarda kullanımı onaylanmış olan tek ID'dir. Ancak deri fototoksitesi ve fotosensitizasyonun haftalarca sürmesi önemli bir dezavantajdır (Kreigmaier ve ark., 1994; Maier ve ark., 2001). Ayrıca bu ajanın tümör seçiciliği çok zayıftır (Doughert ve ark., 1998; Ma ve ark., 1999; Maier ve ark., 2001). Üç aya kadar uzayabilen derinin ışığa karşı inatçı duyarlılığı insanların yaşam kalitesini önemli derecede etkilemektedir (Maier ve ark., 2001). Bu nedenle fotofirin ideal bir ID olmaktan uzaktır. Ağız bölgesi premalign ve malign lezyonlarının tedavisi için halen klinik kullanımda olan diğer ID ajanlar m-THPC ve

ALA'dır. m-THPC, derin yerleşimli yassı hücreli kanserlerin tedavisinde kullanılmıştır. Bu ajan derin dokularda meydana getirdiği kas hasarı ve fibrosis gibi geri dönüşümsüz FDT hasarlarından dolayı yüzeysel epitelyal displastik lezyonlar için aşırı invaziv bir yöntemdir (Andrejevic-Blant ve ark., 1998). m-THPC'in fotofirin'e benzer olarak tedavi edilen bölgede derin hasar nedeniyle büzülme meydana getirdiği Panjehpour ve ark. (2000), tarafından bildirilmiştir. Kübler ve ark. (1999), m-THPC'in uygulamadan yaklaşık 20 gün sonrasına kadar deri fototoksitesine neden olduğunu bildirmiştir. Milkyv ve ark. (1998), Cerrahi tedaviyi red eden özefagus, duodenum ve rektum bölgelerinde benign ve malign gastrointestinal tümörü olan 22 hastaya uyguladıkları üç farklı ID' nin (Fotofirin, m-THPC ve ALA'dan gelişen PpIX) FDT etkilerini karşılaştırmışlar. ID uygulamasından 4 saat sonra ışınlama gerçekleştirmişlerdir (50-150 J/cm², 628 nm dalga boyu, metal vapour lazer). Araştırmacılar Fotofirin ve m-THPC (Foscan) nekroz derinliği açısından iyi sonuçlar vermesine rağmen 5-12 haftayı bulan fotosensitivitenin büyük bir dezavantaj oluşturduğunu ancak derinlik etkisi az olan ALA'nın ise bu açıdan avantajlı olduğunu bildirmişlerdir. ALA düşük orandaki deri toksitesisi ve displazik hücrelere yüksek spesifitesi nedeniyle cazip bir ID'dir (Loh ve ark., 1993; Regula ve ark., 1995). Maier ve ark. (2001), ALA'nin fotofirine göre tümör seçiciliğinin daha fazla olduğunu ileri sürmüşlerdir.

ALA, hem için biyosentetik bir yol olan protoporfirin IX (PpIX)'in öncül bir moleküldür.(Webber ve ark., 1997; Charoenbanpachon ve ark., 2003; Sieron ve ark., 2003). PpIX etkili bir fotosensitizerdir (Peng ve ark., 1997). Birçok tümörün displazik hücreleri ALA'dan önemli miktarda PpIX üretir (Charoenbanpachon ve ark., 2003). Aynı koşullar altında diğer hücrelerin PpIX üretmediği ileri sürülmüştür (Maier ve ark., 2001). Dougherty ve ark. (1998), ALA'dan oluşan PpIX'in, plazma membranında lokalize olarak, ışınlama sırasında apoptosisi teşvik ederek nekroz oluşturduğunu bildirmişlerdir. Sistemik veya topikal olarak verilerek gerçekleştirilen ALA-bazlı fotodinamik tedaviler mesane, deri, akciğer ve gastrointestinal sistem lezyonlarında yakın zamanda kullanılmıştır (Dougherty ve ark., 1998; Gossner ve ark., 1999; Dijkstra ve ark., 2001; Maier ve ark., 2001; Shackley ve ark., 2002). Bu nedenle, literatürle uyumlu olarak FDT için ALA'yı uyguladık.

Etkin bir ALA-FDT için “FDT doz oranı” duyarlaştırıcının verilmiş şekline, doku içinde üretilen duyarlaştırıcı konsantrasyonuna, duyarlaştırıcının verilmesi ve ışınlanma arasında geçen süreye (inkübasyon periyodu), duyarlaştırıcının etkinliğine, tedavide kullanılan ışık dalga boyuna, ışınlama süresine, lazerin gücüne ve ışık akış oranına (hızına) bağlıdır (Peng ve ark., 1997; Bourr'e ve ark., 2002).

ALA'nın displazik lezyonlara uygulanması çeşitli şekillerde yapılmıştır. Baumgartner ve ark. (1996), akciğer lezyonları için inhalasyon, Chang ve ark. (1996), mesane lezyonları için intravezikal, Taylor ve Brown (2002), ve Scheiler ve ark. (2004), deri lezyonları için topikal, Grant ve ark. (1993), Regula ve ark. (1995) ve Webber ve ark. (1997), gastrointestinal sistem lezyonları(ağız, özefagus) için oral, Ma ve ark. (1999) ve Maier ve ark. (2001), deneysel tümörler için intralezyonal, intraperitoneal (i.p) veya Szeimies ve ark. (1995), intra vasküler (i.v.) gibi çeşitli uygulama şekilleri kullanmışlardır. Ağız lezyonlarında yapılan deneysel bir çalışmada ağız lezyonları için ALA'nın i.p. uygulanması topikal uygulamaya göre daha başarılı bulunmuştur. Topikal ALA uygulamasının ise etkisiz olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar bunun ağız bölgesindeki tükürüğün yıkayıcı etkisi olabileceğini bildirmişlerdir (Ma ve ark., 1999). Bu çalışmanın ağız bölgesinde yapılmasından dolayı epitelyal displazilerde ALA'nın tutulumunu artırmak ve tükürüğün yıkayıcı etkisinden sakınmak için i.p. uygulama tercih edildi. Leveckise ve ark. (1994), sistemik uygulamanın PpIX seviyesini hızlı şekilde yükselterek daha etkin bir fotodinamik etki elde edilebileceği görüşümüzü desteklemişlerdir. Grant ve ark. (1993), Fan ve ark. (1996), Webber ve Kessel (1997) ve Ma ve ark. (1999), gibi yazarlar ağız bölgesi için sistemik uygulamanın yan etkisiz uygunluğunu çalışmalarlarıyla ortaya koymuşlardır. Son olarak Chen ve ark. (2005), oral lökoplakiler için topikal uygulamanın elverişsiz olduğunu not etmişlerdir.

ID uygulaması ve ışığın uygulanması arasında geçen süre ID'nin dokuda pik yaptığı seviye olarak düşünülür. Bu pik seviyesinin verilen ALA dozu ve uygulama şekliyle (oral, i.p., i.v. topikal v.b.) doğrudan bir ilgisi vardır (Peng ve ark., 1997). Bir diğer neden çalışmanın klinik insan veya deneysel hayvan çalışması olmasıdır. İnsan çalışmaları için genellikle yan etkilerden kaçınmak için ALA'nın düşük dozları tercih edilir. Düşük dozlar için geçen süre daha uzun süre yüksek dozlarda ise bu süre daha

düşük tutulabilir. Bir çok araştırmacı tarafından lezyonun tipine ve yerleşim bölgesine göre farklı ALA uygulama şekilleri ve lazer uygulaması için geçecek farklı süreler tercih edilmiştir. Veen ve ark. (1999), ALA'nın sistemik uygulanmasından sonra PpIX'in 1. -6. saatler arasında pik seviyeye ulaştığını bildirmişlerdir. Bu 1. -6. saat aralıkları uygulayıcılar için en çok tercih edilmiş zaman aralıklarını oluşturmuştur. Baumgartner ve ark. (1996), inhalasyon yoluyla akciğerdeki displazik lezyonlara uyguladıkları 250 mg/kg ve 500 mg/kg ALA dozları için 3. saatte ışınlama gerçekleştirmişlerdir. Grant ve ark. (1993), insan ağız kanserleri için oral yoldan 30-60 mg/kg dozunda ALA sonrası 4-6 saatlerde lazer ışığı uygulamışlardır. Loh ve ark. (1993), ALA'nın i.v. ve oral yoldan alınması ile ilgili çalışmalarında PpIX'in 4-6 saatlerde dokularda pik yaptığını, yüzeysel lezyonların yok edilmesinde ALA'nın sistemik olarak verilmesinin FDT etkilerini artıracaklarını ve i.v olarak 200 mg/kg ALA verildiğinde doku içindeki PpIX 4 saatte pik seviyeye ulaştığını bildirmişlerdir. Szeimies ve ark. (1995), i.v. transplante tümörlerde 100 mg/kg doz kullanmışlardır. Işınlama için geçen süre belirtilmemiştir. Van den Boogert ark. (1999), oral olarak 200 mg/kg ALA uygulamasından sonra 3. saatte lazer ışığı ve Ma ve ark. (1999), deneysel fare ağız mukozası premalign ve malign lezyonlarında 250 mg/kg, 500 mg/kg ve 1000 mg/kg ALA dozlarını i.p. uygulamaları sonrasında lazer ışını 1., 3. ve 5. saatlerde uygulamışlardır. Araştırmacılar fotodinamik etki açısından 250 mg/kg ve 1000 mg/kg dozları arasında anlamlı fark bulmadıklarını ancak 3. saatteki ışınlama sonrasında elde ettikleri etkinin 1. ve 5. saatte göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yazarlar PpIX'in 500 mg/kg ve 1000 mg/kg dozlarının 2. saatte, 250 mg/kg da ise 3. saatte pik yaptığının altını çizmişlerdir. Tsai ve ark. (2004), AMED lezyonlarına topikal ALA uygulaması sonrası 3. saatte ışınlama gerçekleştirmişlerdir. Ancak Ma ve ark. (1999), çalışması dikkate alındığında 250 mg/kg dan daha yüksek dozların kullanmanın uygun olmayacağı fikri ortaya atılabilir.

Maier ve ark. (2001), ALA'nın intravenöz (i.v.) verilerek etkinliğinin daha da artabileceği ve daha düşük dozlara ihtiyaç duyulabileceği varsayımlarını ileri atmışlardır. Bourr'e ve ark.(2002), etkin PpIX-FDT elde etmek için ALA dozunun yüksek olması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Webber ve ark. (1997), düşük dozların hızlı bir şekilde fotoağartmaya uğrayarak vücuttan uzaklaştırılacağını bildirmiştir. İn

vivo olarak ışığa maruz kalma sırasında ID'ler yavaş bir yıkıma (fotoağartma) uğrarlar. Bunun sebebi duyarlaştırıcının tek oksjen veya serbest oksijen radikalleriyle reaksiyona girmesidir. Fotoağartma sebebiyle bu etkileşim ürünleri (tek oksjen veya serbest oksijen radikalleri) FDT'de daha fazla rol oynamadıkları için FDT'nin etkisi zayıflar veya kaybolur (Nauta ve ark., 1996). Leveckis ve ark. (1994), ALA'nın sistemik olarak verilmesi PpIX seviyesini hızlı şekilde yükselteceğini bildirmişlerdir. Bu nedenle çalışmamızda ALA verildikten sonra ışınlama için geçecek süre çok uzun tutulmamıştır. Bu çalışmada fotoağartmaya uğramayacak kadar yüksek ve FDT'de etkin olabilecek bir ALA dozu (i.p. olarak 200mg/kg) ve ortalama bir inkübasyon periyoduyla (3. saatte) lazer ışınlaması gerçekleştirildi.

ALA-FDT için değişik dalga boylarında ışık dalga boyları kullanılmıştır. Grant ve ark. (1993), ağız kanserlerinin tedavisi için 630 nm dalga boyunda lazer ışığı, Regula ve ark. (1995), gastrointestinal sistemin lezyonları için 628 nm dalga boyunda lazer ışığı, Fan ve ark. (1996), ağız bölgesinin premalign lezyonlarının tedavisinde ALA-FDT için 628 nm dalga boyu lazer ışığı, Chang ve ark. (1996), Wistar ratların mesanelerinde yaptıkları çalışmada 630 nm (bakır dye lazer) lazer ışığı, Ma ve ark. (1999), deneysel olarak farelerde oluşturulan premalign lezyonların tedavisinde 630 nm dalga boyunda (Nd:Yag) lazer ışığı, Maier ve ark. (2001), özefagus kanserleri için 630 nm dalga boyunda (KTP-Nd:Yag) lazer ışığı, Sieron ve ark. (2003), insan ağız lökoplakilerinin tedavisi için 635nm dalga boyunda (Argon boya) lazer ışığı, Scheiler ve ark. (2004), insan yüz tümörleri için 635 nm (Biolitec-Diyot) lazer ışığı, Tsai ve ark. (2004), AMED sergileyen lezyonların tedavisinde 635 nm dalga boyunda lazer ışığı (Diyot) Chen ve ark. (2005), verruköz kanser tedavisinde topikal ALA uygulamasını takiben 635 nm dalga boyunda (diyet) lazer ışığı kullanmışlardır. Szeimies ve ark. (1995), hamsterlere subkutan olarak transplante ettikleri amelanotik melonama üzerinde 630 nm ve 635 nm dalga boyunda koherent ışık uygulamışlar ve sonuç olarak 635 nm'lik koherent ışık uygulamasının daha etkin olduğunu ifade etmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar insan keratinositleri üzerine 622 ile 649 nm aralığında koherent ışık uygulamışlar ve etkin sonucu 635 nm dalga boyunda alındığını ve ALA-FDT için bu dalga boyunun ideal olduğunu bildirmişlerdir. Van den Boogert ark. (1999), 633 nm ve 532 (KTP/532 lazer) nm dalga boyundaki lazer ışıklarını farklı ışık akış oranlarında (33, 100 ve 300

mW/cm²) uyguladıkları Wistar rat özefagus mukozalarında 633 nm dalga boyunun 532 nm'den daha çok epitel ve kas hasarı meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Ma ve ark. (2001), hücre kültüründe 635 nm ve 670 nm dalga boyundaki lazer (Argon boya lazer) ışığının etkilerini incelemişler; 670 nm'nin etkisiz 635 nm'nin ise fotooksidatif reaksiyonu başlatmak için ideal olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışma Szeimies ve ark. (1995)'nin çalışmalarını desteklemiştir. Charoenbanpachon ve ark. (2003), ALA-FDT için PpIX'in kırmızı ışık spektrumunda 635 nm dalga boyunda güçlü floresans yaydığını bildirmişlerdir. Yukarıdaki veriler ışığında ALA-FDT için en uygun ışık kaynağı 635 nm lazer ışığıdır. Bu nedenle çalışmamızda 635 nm dalga boyundaki "diyo" lazer ışığı kullanıldı.

Bir diğerkonu ışık dozimetrisidir. Bu konu için ID'nin fotoağartma özelliği göz önünde bulundurularak ayarlanması gereken bir konu olmasına rağmen yine de göreceli ve araştırılmaya açık bir konudur. Uygulayıcıların tercihleri arasında farklılıklar mevcuttur (Baumgartner ve ark., 1996; Peng ve ark., 1997; Milkyv ve ark., 1998). Schweitzer (1990), ağız ,baş ve boyun bölgesi lezyonların tedavisi için 36 ve 150 J/cm² enerjilik ışınlamalar, Ma ve ark. (1999), deneysel premalign lezyonlar için 125 mW/cm² ışık akış hızında 200 J/cm² ışınlama, Panjehpour ve ark. (2000), deneysel yüzeysel displastik lezyonlar için 125 ile 150 J/cm² enerjilik ışınlama, Scheiler ve ark. (2004), yüz kanserleri için 100 mW/cm² ışık akış hızında 120 J/cm² ışınlama, Sieron ve ark. (2003), insan ağız lökoplaklerine topikal olarak uygulanan ALA sonrası 150 mW/cm² ışık akış hızında 100 J/cm² ışınlama, Tsai ve ark. (2004), deneysel olarak DMBA ile hamsterlerde oluşturdukları AMED lezyonlarına topikal ALA uygulaması sonrası 3. saatte 100 mW/cm² ışık akış hızında 100 J/cm² ışınlama gerçekleştirmişlerdir. Veen ve ark. (1999), 100 J/cm² ve 200 J/cm² ışınlamaların meydana getirdiği doku hasar arasında fark olmadığını çalışmalarında göstermişlerdir. Işık akış hızı tek oksijen miktarını azami miktarda açığa çıkarmak açısından oldukça önemli bir konudur. Bu nedenle en uygun şekilde ayarlanmalıdır. Sitnik ve ark.(1998), uygun ışık akış hızıyla neoplastik dokuyu besleyen mikrodamar sisteminin çökmesini sağlayarak tümörlü dokunun oksijen ve besinden yoksun bırakılarak yok edilebileceği ileri sürmüştür. Oksijen tüketimini hızlı bir şekilde gerçekleştirerek FDT etkilerini azaltacak yüksek ışık akış hızlarından sakınmak gerektiği belirtilmiştir (Pandey, 2000). Dokudaki oksijen

tüketimi ışığın akış hızına bağlıdır. Dolayısıyla düşük akış hızı kullanılarak doku harabiyetinin artabileceği bildirilmiştir. Düşük akış hızları dokunun oksijenini hemen tüketmediği için tedavi sırasında tek (singlet) oksijene daha fazla maruz kalır (See ve ark., 1984; Pass, 1993; Hopper, 2000). Klinik olarak yüksek ışık akış hızı tedavi süresini azaltmak için tercih edilir. Ancak yüksek akış hızlarının optimal etki elde etmek için uygun olmayacağı bildirilmiştir (Macdonald ve Douherty, 2001). Foster ve ark. (1991), Tümörlü ratlarda 5 mg/kg fotofirinin etkinliğini 50 mW/cm² ile 200 mW/cm² akış hızlarına göre değerlendirdikleri çalışmalarında tedavi cevabının düşük akış hızında daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmayı Sitnik ve Henderson (1998)'un, çalışması desteklemiştir. Veen ve ark. (1999), tüsüz farelerde topikal ALA uygulaması sonrası 1 ve 2 ışınlama arasındaki farkı araştırdığı çalışma sonrasında (1. grup 50 mW/cm² - 2. grup 100 mW/cm² ışık akış hızı, 1. grup 100 J/cm² -2. grup 200 J/cm² toplam ışınlama miktarı,) 50 mW/cm² ışık akış hızı ve 100 J/cm² ışınlamanın meydana getirdiği etki daha fazla bulunmuştur. Bir diğer husus yüksek akış hızlarındaki hipertermidir. Ancak Waldow ve Dogherty (1984) ve Kimel ve ark. (1992), gibi bazı araştırmacılar hiperterminin FDT' de sinerjik etki sağladığını bildirmiş olmalarına rağmen meydana gelecek hasarın etkilerinin incelenmesi ayrı bir çalışmanın konusudur. Peng ve ark. (1997) ve Stables ve ark. (1999), göre bu etkiden sakınmak için ışık akış oranı 150 mW/cm² den daha düşük tutulmalıdır. Veen ve ark. (1999), yüksek akış hızını sonucu oluşan hiperterminin ağrıya neden olabileceğini bu nedenle 50 mW/cm² akış hızının kullanılmasının bunu ortadan kaldırdığını göstermişlerdir. Peng ve ark. (1997). 50 mW/cm² akış hızının oksijenin kontrollü bir şekilde kullanılması için tavsiye etmiştir. Çünkü FDT reaksiyonları için oksijene ihtiyaç vardır. Moan ve Sommer (1985), oksijen konsantrasyonundaki % 1'lik azalmanın bile FDT etkinliğini yarıya düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Görüldüğü gibi yazarların görüşü dikkate alındığında displazik dokularda azami yıkım oluşturacak tek oksijen üretimini artırmak ve hipertermik etkilerden sakınmak için ışık akış hızının düşük tutulması gerekmektedir. Bu nedenle çalışmamızda kullandığımız 50 mW/cm² ışık akış hızı literatüre büyük katkı sağlayacaktır. Ancak düşük ışık akış hızları dokuya uygulanacak ışınma süresini uzatacağı için konfor açısından uygulanamayabilir. Veen ve ark. (1999), 100 J/cm² ve 200 J/cm² ışınlama

enerjileri arasında fark olmadığı görüşlerinden yola çıkarak bu sürenin çok uzatılmaması görüşünü destekliyoruz. Bu nedenle çalışmamızda da aynı lazeri kullanan Scheiler ve ark., (2004)'nın uyguladıkları toplam enerjiye (120 J/cm²) yakın bir ışınlama enerjisi uygulandı. Çalışmada 5 dakikalık ışınlama süresi ve toplam 125 J /cm² ışınlama enerjisi ile FDT gerçekleştirdik.

Yapılan çalışmada FDT uygulanan III. ve IV. gruplardaki ratların ağız mukozası örneklerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödem, demarkasyon hattı, granülasyon ve skar dokusu oluşumu gibi inflamatuvar yanıtta gözlenen doku reaksiyonları görüldü. Korbelik ve ark.(1996), FDT sonrası meydana gelen hasarın, doku yaralanması veya enfeksiyon sonrası oluşan inflamatuvar yanıtta benzediğini bildirmiştir. Jefferis ve ark. (1991), Grant ve ark. (1993), Pe ve ark. (1993), Fan ve ark. (1996), Andrejevic-Blant ve ark. (1998), Ma ve ark. (1999) ve Tsai ve ark. (2004) gibi araştırmacılar mevcut çalışmaya benzer FDT sonrası meydana gelen doku reaksiyonları bildirmişlerdir.

Histopatolojik incelemede FDT sonrası III. grup ve IV. grup ratların ağız mukozası epitelinde, hücre çekirdeklerinde piknotikleşme ve hayalileşme, balonumsu dejenerasyonlar, kistik vakuolleşmeler ve bazal tabakaya kadar ulaşan dejeneratif ve nekrotik değişiklikler gözlemlendi. Andrejevic-Blant ve ark. (1998), bizim çalışmamızda bildirdiğimiz hücre vakuolizasyonu, piknotikleşme ve veziküller oluşum gibi epitel dejenerasyonu ve epitel nekrozuyla ilişkili benzer bulguları bildirmiştir. Bunun dışında Grant ve ark. (1993), Pe ve ark. (1993), Chang ve ark. (1996), Uehara ve ark. (1996), Mlkyv ve ark. (1998), Ma ve ark. (1999) gibi araştırmacılar epitel nekrozu ve ülserinden bahsetmişlerdir. Araştırmacılar arasında nekrozun başlangıcı ve sona erdiği süre hakkındaki gözlemlerde anlaşmazlık vardır. Ma ve ark.(1999) bulguları çalışmamızla uyumludur. Çalışmamızda epiteldeki dejeneratif ve nekrotik değişiklikler displazili III. grup örneklerinde displazisiz IV. gruba göre daha şiddetli bulunmuştur. Literatürde bu tür karşılaştırma yapan bir çalışmaya rastlanmaması bu bulgumuzu değerli kılmıştır. Çalışmamızda iki gruptaki ratlarda aynı FDT dozu uygulandı, aradaki fark; gruplardan birinin displazili diğerinin displazisiz olmasıdır. Burada ALA'nın doku seçiciliğinde göz ardı edilmemesi gereklidir. Loh ve ark. (1993), Regula ve ark. (1995) ve Maier ve ark. (2001), gibi araştırmacılar ALA'nın tümör seçici özelliğinin yüksek olduğunu

bildirmişlerdir. Dolayısıyla displazili dokularda doku hasarının daha fazla olması beklenir. III. grupta daha şiddetli epitel nekrozu, inflamuar hücre infiltrasyonu, ödem, vasküler konjesyon görülmesi, skar ve demarkasyon hattının da sadece bu grubun örneklerinde şekillenmesi bu düşünceyi desteklemiştir. Ayrıca doz ayarlamasıyla bu doku yanıtının şiddeti azaltılabilir veya artırılabilir. Kanserli veya displazili dokularda istenilen doku reaksiyonuna göre istenilen şiddette yüksek doz verilebilir. Peng ve ark. (1997) bu görüşümüzü desteklemişlerdir.

Skarlaşma ve demarkasyon hattı III. gruptaki ratların 7. gün örneklerinde görülmesi ALA ve ışık dozuyla da ilişkilendirilebilir. ALA-FDT sonrası nekrotik safha literatürde skarsız iyileştiği bildirilmiştir (Fan ve ark., 1996; Ma ve ark., 1999; Hopper, 2000; Tsai ve ark., 2004). Farklı olarak Chang ve ark. (1996) mesane içi ALA uygulaması sonrası kollajen artışı gözlemlemiştir. Bu gözlem skar bulgumuzla uyumludur. Diğer bulgumuz demarkasyon hattı, Patterson ve ark. (1990), bildirdiği FDT sonrası, canlı ve ölü dokuları birbirinden ayıran inflamatuvar hücrelerin şekillendirdiği demarkasyon hattı tanımlamasıyla uyumludur. Araştırmacılar bunun ışığın penetrasyonuna bağlı olarak tümörle ilişkili damarların tıkanmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Mevcut çalışmada; III. grupta 24. saat, 3. gün ve 7. gün örneklerinde damar içi fibrin birikimi oluşumu bu görüşü desteklemektedir. IV. grupta DF sadece 24. gün örneklerinde görüldü. Damar içi fibrin birikimi oluşumu meydana gelecek doku nekrozunun habercisi olarak kabul edilebilir. Selman ve ark. (1985), radyo-işaretli mikroküreciklerle FDT sonrası normal ve tümör dokularındaki damarlarda kan akımının azaldığını göstermişlerdir. Star ve ark. (1986), FDT sonrası (630 nm-HPT) normal ve tümör damarlarında meydana gelen değişikliklerin belirlenmesinde doku sandiviç metodunu kullanmışlardır. ID injeksiyonundan 24 saat sonra yapılan ışınlama sonrasında yaygın bir iskemi geliştiği ve kapillerlerin tamamen kaybolduğunu gözlemlemiştir (damar lümenlerinde eritrosit yokluğu). Farklı damar tipleri ve çapları arasında bir fark bulunmamıştır. Burada tanımlanan fenomen; tümörlü dokunun kan dolaşımında hemoraji ve kapiller stasis, ışınlama bölgesindeki tümöral olmayan bölgedeki damarlarda trombosit kümeleşmesi ve vazokonstriksiyondur. Reed ve ark. (1987), Sprague Dawley ratlarda yaptıkları çalışmada ışınlamadan 3-4 dakika sonra arteriollerde staz ile sonuçlanan trombozosis şekillenmesi ve embolizasyonun meydana

geldiği, 2 saat sonrasında ise bütün damarlarda staz meydana geldiğini göstermişlerdir. Damar duvarının endotelial hücreleri FDT'de en çok zarar gören kısımlardır (Berenbaum ve ark., 1990). Pe ve ark. (1993), farelerin dil mukozası üzerine fotofirin-FDT (630nm dalga boyu, Nd/YAG lazer) sonrasında 3. saatte damarlarda trombüs ve doku içi kanama bildirmişlerdir. Biel (1996) ve Belmont ve ark. (2000), Işık uygulamasından sonra saniyeler içinde vasküler stazın, tromboz ve hemoraji meydana geldiğini ve tümör dokusunu besleyen kan damarlarındaki kan akışının azaldığını, hipoksi veya anoksi nedeniyle tümör hücrelerinin ölümü gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Damar içi fibrin oluşumu ve doku içi kanama bulgularımız görülme zamanına göre literatürle uyumludur. Demarkasyon hattının sadece III. grupta şekillenmesi, doku içi kanama, damar içi fibrin ve trombüs oluşumunun bu grupta daha sık ve şiddetli görülmesiyle açıklanabilir. Bu konuda yapılacak ileri bir araştırma bu konuyu aydınlatacaktır.

Bu çalışmanın IV. grubundaki ratların 3. hafta örneklerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödem, granülasyon dokusu ve vasküler konjesyon görülmesi kronik inflamasyon ve uzamış doku tamiri olarak değerlendirilebilir. Webber ve ark. (1997), sistemik ALA uygulamasının normal dokular üzerine önemli bir hasar oluşturmadığını bildirmişlerdir. III. ve IV. gruplardaki doku hasarı sonrası iyileşme meydana gelmesine rağmen, normal dokularda FDT'nin doku hasarı oluşturması istenen bir durum değildir. Bu sorunun ALA'nın dozu ve doku seçiciliğiyle çözümleneceğine inanmaktayız. Peng ve ark. (1997) ve Dougherty ve ark. (1998)'nında, belirttiği gibi FDT'nin seçici etkisi displazilili doku ve çevresindeki normal dokudaki ID konsantrasyonun istenilen oranda olmasına bağlıdır. Literatürde de ALA için optimum bir doz saptanamamıştır (Biel, 1994; Baumgartner ve ark., 1996). Bu nedenle ilerde ALA dozu ve ışık dozimetrisiyle ilgili yapılacak çalışmalar normal dokuda hasar oluşturmayacak ancak displazili dokuları yok edecek optimum FDT dozunu ortaya çıkaracak çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Yukarıda bahsedilen doku hasarının direkt nekrotik yolla veya apoptotik süreçle meydana geldiği belirsizdir. Bourr'e ve ark. (2002), bu durumun FDT dozuyla açıklanabileceğini ileri sürmüştür. Araştırmacılara göre FDT dozu arttığında apoptozis

yoğunluğunun azaldığını, hücrelerde direkt nekrotik yolla hücre ölümü gerçekleştiğini, zayıf FDT'de ise apoptotik sürecin geliştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca bunun normal dokuya komşu tümör hücrelerinde gerçekleştirilen FDT'nin başarı veya nüksündeki apoptosisi önemli kıldığını ve yüksek ışık dozunun apoptotik hücre fraksiyonunu azalttığını, nekrotik fraksiyonu artırdığını, bazı yaralarda dozun hücrelerin eşliğini aşarak kontrolsüz hücre ölümüne yol açabildiğini çalışmalarıyla ortaya koymuşlardır. Mevcut çalışmada doku yanıtının apoptotik veya nekrotik süreçle geliştiğini daha açık bir şekilde ortaya koymak için TUNEL yöntemi gibi immunohistokimyasal boyamalarla inceleme yapılması faydalı olacaktır.

Makroskopik olarak FDT uygulanmayan I. ve II. gruptaki ratların mukoza örneklerinde herhangi bir değişiklik meydana gelmezken 3. saatte III. grup ratların dilinde meydana gelen ödem dikkat çekiciydi. Bu durum ratların beslenmesine ve solunumunun üzerine olumsuz etkisi açıktır. İlerde insanlarda ağız, üst solunum ve yemek borusu lezyonlarına uygulanacak FDT için bu durumun göz önünde bulundurulması önemlidir. Bu gruptaki ratlarda makroskopik olarak ödem 3. güne kadar varlığını sürdürdü. Jefferis ve ark. (1991) bu konuya dikkat çekerek ağızdaki inflamatuvar yanıtın beslenme için risk oluşturabileceğini bildirmiştir. Mikroskopik olarak; III. grupta 7. güne kadar submukozada ödeme rastlanırken IV. grupta ise 3. haftaya kadar ödem görüldü. Bu durum displazi sergilemeyen IV. grup örneklerinde fotodinamik etkinin uzadığı şeklinde yorumlanabilir. Literatürde FDT sonrası ödem geliştiği çok sayıda araştırmacı tarafından ifade edilmiştir (Pe ve ark., 1993; Stables ve ark., 1999; Sieron ve ark., 2003). Ancak displazili ve displazisiz örneklerde FDT etkisini bu açıdan karşılaştıran ve bu farkı belirten bir başka çalışmaya rastlanmamıştır. Displazi sergileyen III. gruptaki örneklerin ödem sonuçları Tsai ve ark. (2004) ve Chen ve ark. (2005) çalışmalarıyla uyumludur. Araştırmacılar epitel displazisi sergileyen ağız mukozasının premalign lezyonlarında uygulanan FDT sonrası ödemin 7. gün sürdüğünü bildirmişlerdir. Pe ve ark. (1993), Stables ve ark. (1999) ve Sieron ve ark. (2003), çalışmamızdan farklı olarak 5 ve 2 gün gibi zamanlar bildirmişlerdir.

Kas liflerindeki çekirdek ve homojenite kaybı III. ve IV. gruptaki ratlarda değişik seviyelerde meydana gelmiştir. III. grupta meydana gelen değişiklikler IV. gruba

göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. III. gruptaki kas hasarı diğer gruba göre daha şiddetliydi. Çalışmamıza benzer olarak Pe ve ark. (1993), Ma ve ark. (1999) ve Van den Boogert ve ark. (1999), submukozadaki kas dokusunda FTD sonrası hasar oluştuğunu bildirmiş olmalarına rağmen, Fukuda ve ark. (1992), Gossner ve ark. (1999) ve Veen ve ark.(1999), kas dokularında hasar meydana gelmediğini bildirmişlerdir. Kas dokusundaki bu şiddetli hasarın ALA ve ışık dozuyla ilişkili olduğunu düşünmekteyiz

Mevcut çalışmadaki AMED belirleme kriterleri WHO Collaborating Reference Centre for Oral Precancerous Lesions. (1978), Lumerman ve ark. (1995) ve Charoenbanpachon ve ark. (2003), çalışmalarında temel aldıkları kriterler rehber alınmıştır. Tez çalışmasının II. grubundaki ratlarda DMBA'nın ağız mukozasında meydana getirdiği histopatolojik değişiklikler, şiddetli hiperkeratoz, spinal tabakada kalınlaşma, artmış mitotik aktivite, bazal tabakada kalınlaşma, damla şeklinde retepegler gibi değişiklikler ve displazinin hafif bir derecesi görülmüştür. Kanserojen sürülen ratlarda (II. grup ve III. grup) makroskopik olarak beyaz renk değişikliği görülmüştür. Bu keratin tabakasının artışı olarak değerlendirilebilir. Ekzofitik büyüme görülmemiştir. İnflamasyona dair kanıt bulunamamıştır. Kanserojen sürülmeyen ratlarda beklendiği gibi epitelyal displazi gelişmemiştir. Yukarıdaki bu bulgular Kingsbury ve ark. (1997) ve Nauta ve ark., (1997) çalışmalarıyla uyumludur. Bu değişikliklerin derecesi kullanılan hayvan modeli, kanserojenin uygulama şekli (içme suyunda, mineral yağda v.s), uygulama sıklığı ve uygulama süresine göre değişiklik gösterebileceği açıktır. Deneysel olarak premalign veya malign lezyon oluşturmak için araştırmacılar arasında tercih edilen hayvan modelleri, kanserojenin uygulama şekli, uygulama sıklığı gibi faktörler farklı olmasına rağmen mevcut çalışmaların hepsinde displazik değişiklikler mevcuttur (Niwa ve ark., 2001; Kohno ve ark., 2002). Bu yönüyle çalışmamızın II. grup örneklerindeki değişiklikler literatürle uyumludur.

III. grup örneklerinde ilk dört zaman diliminde doku hasarıyla beraber yer yer displazik alanlar görülmüş olmasına 3. haftada DMBA sürülen III. grup ratların doku örneklerinde AMED'e rastlanmamıştır. Bu önemli bulgu ALA-FDT'nin ağız mukozasının epitel displazili lezyonlarının yok edilmesinde başarılı bir yöntem olduğunu göstermiştir. Grant ve ark. (1993), Gossner ve ark. (1999), Ma ve ark. (1999),

Sieron ve ark. (2003), Tsai ve ark. (2004) ve Chen ve ark. (2005) gibi araştırcıların çalışmaları bu tezi desteklemektedir.

Grant ve ark. (1993), bildirdiği gibi ağız mukozasındaki displastik alanların kontrol edilebilirliği, displazinin birden fazla bölgede meydana gelebilmesi, kesin sınırlarının ve maligniteye dönüşüm potansiyellerinin önceden tahmin edilememesi gibi problemler nedeniyle güçtür. Bu nedenle FDT sonrası tedavi başarısının değerlendirilmesi için uzun takip gerektiren çalışmalara ihtiyaç vardır. ALA-FDT diğer geleneksel tedavilere (cerrahi, radyoterapi, kemoterapi gibi) göre nonivaziv bir yöntemdir (Nauta ve ark., 1996; Leuning ve ark., 2000). FDT'nin düşük tedavi maliyeti ve komplikasyonsuz tekrarlanabilirliği nedeniyle bu tür lezyonların tedavisinde avantaj sağlayacaktır. ALA-FDT'nin, "kanserezasyon alanı" olarak isimlendirilen displazili yüksek riskli bölgelerin erken tedavisinde kullanımı ve yaygınlaşması, hastaların yaşam kalitesi ve hayatta kalma süresini uzatacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Sistemik veya lokal olarak uygulanan ALA- FDT ile ağız premalign ve malign lezyonlarının tedavisi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Ancak literatürde ALA-FDT'nin normal ve displazi dokularda beş farklı zaman diliminde meydana getirdiği etkiler mukayeseli olarak belirten başka bir çalışma yoktur. Mevcut çalışmada i.p. olarak Sprague Dawley ratlara 200 mg/kg ALA sonrası 3. saatte 50 mW/cm² akış hızında 125 J/cm² ışınlama gerçekleştirilerek bu benzersiz FDT dozunun normal ve displazili rat mukozalarında meydana getirdiği etkiler histopatolojik olarak 3. saat, 24. saat, 3. gün 1. hafta ve 3. hafta gibi beş zaman diliminde incelenerek literatüre katkıda bulunuldu.

2. Çalışmamızın IV. grubundaki ratların doku örneklerinde 3. haftada inflamatuvar hücre infiltrasyonun, ödem, vasküler konjesyon ve granülasyon dokusu görülmesine karşın III. grupta görülmemesi normal dokuların displazili dokulara göre uzamış FDT yanıtı oluşturduğu, IV. grupta doku reaksiyonunun ve tamir olaylarının uzadığı şeklinde yorumlanabilir. Bu fenomen başka çalışmalarla desteklenmelidir.

3. Canlı ve ölü dokuları birbirinden ayıran demarkasyon hattının ve skarlaşmanın sadece III. grupta (DMBA+FDT) görülmesi ve buna karşın IV. grupta (FDT) görülmemesi dikkat çekici bir bulgudur. Bu durum ALA ve ışık dozuyla ilişkilendirilmiştir.

4. Deneysel olarak ağız mukozası displazisi oluşturmak için Sprague Dawley ratların hayvan modeli olarak oluşturulması elverişli görülmektedir. Ancak daha ileri displazik değişiklikler ve malignite elde etmek için kanserojen uygulama süresinin 20 haftadan daha uzun tutulması uygun olacaktır. Çünkü elde ettiğimiz sonuçlar meydana gelen displazik değişikliklerin hafif şiddetli olduğunu göstermiştir. Kanserojen ajan olarak DMBA elverişli görülmektedir.

5. Çalışmamızda III. grupta gözlenen epitel nekrozu, ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve vasküler konjesyon oranları IV. gruba göre daha yüksek bulunmuştur.

Normal dokuları koruyarak sadece displazi sergileyen dokuları yok etmek için ALA dozu ve ışık dozlarının ayarlanması gereklidir. Literatürde bildirdiği gibi dokudaki derinlik etkisi ID miktarına bağlı olmasından dolayı özellikle ALA dozu sistemik uygulama için yüksek olabilir. ALA dozu artırılarak veya azaltılarak kanserli veya displazili dokularda arzulanan derinlikte etki oluşturmak mümkün olacaktır.

6. Bu tez çalışmasıyla deneysel olarak oluşturulan ağız mukozası displazisinde yukarıda belirtilen FDT dozunun etkili olduğu ve bu lezyonların yok edilmesinde bu dozun başarılı olacağı ortaya konmuştur. Ancak bu lezyonlarda nüks meydana gelip gelmediğinin araştırılması için uzun dönem takip gerektiren çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. Mevcut çalışmada ağızda özellikle dil bölgesinde şiddetli ödem ve ülserasyonlar meydana geldi. Literatürde de benzer çalışmalarda vurgulandığı gibi bu durumun küçük deney hayvanlarının beslenmesini bozacağı görüşüne katılıyoruz. Bu konuda yapılacak bir çalışmayla ALA-FDT'nin beslenme üzerine etkileri ortaya konmalıdır.

8. Bu çalışmada kullanılan diyet lazer diğer lazer türlerine göre daha küçük boyutlu olması nedeniyle taşıma kolaylığı sağlamıştır. Bir diğer avantajı dışardan soğutma sistemine ihtiyaç göstermemesiydi. Sahip olduğu güç ve dalga boyu ile ALA-FDT için elverişli bulunmuştur. Teknolojideki ilerlemelerin daha küçük boyutlu, daha düşük maliyetli ışık kaynaklarını bilimin hizmetine sunacağını ummaktayız. Böylece, FDT'nin kanser tedavisinde kullanımının yaygınlaşması ve geleneksel kanser tedavisi (cerrahi, radyoterapi, kemoterapi) için gerekli yüksek maliyetlerin azaltılmasının önü açılabilir.

9. Çalışmamızda FDT sonrası doku örnekleri incelendiğinde epitel dokuda meydana gelen hücre ölümüne ilişkin değişikliklerin nekrotik mi yoksa apoptotik mekanizmalarla mı meydana geldiğinin belirlenmesi için TUNEL yönteminin faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbey L.M., Kaugars G.E., Gunsolley J.C. (1995). Interexaminer and intraxaminer reability in the diagnosis of oral epithelial dysplasia. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*, **80**, 188-191
- Andrejevic-Blant S., Woodtli A., Wagnieres G., Fontolliet C., Bergh H., Monnier P. (1998). Interstitial photodynamic therapy with tetra (m-hydroxyphenyl)chlorin : Tumor versus striated muscle damage. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, **42(2)**, 403-412
- Ataoğlu T., Gürsel M.(1999). *Periodontoloji*, **3. Baskı**. Damla Ofset .A.Ş., Konya
- Balaseshthil S., Nagini S. (2000). Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis by s-allylcysteine. *Oral Oncology*, **36(4)**, 382-386
- Balaseshthil S., Ramachandran C.R., Nagini S. (2001). Prevention of 4-Nitroquinoline 1- oxide induced rat tongue carcinogenesis by garlic. *Fitoterapia*, **72(5)**, 524-531
- Banoczy J., Csiba A. (1976). Occurrence of epithelial dysplasia in oral leukoplakia: analysis and follow up study of 120 cases. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*, **42**, 776-774
- Baumgartner R., Huber R.M., Schulz H., Stepp H., Rick K., Gamarra F., Leberig A., Roth C. (1996). Inhalation of 5-aminolevulinic acid: a new technique for fluorescence detection of early stage lung cancer. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, **36(2)**, 169-74.
- Belmont M.J., Marabelle N., Thomas S.M., Richard H., Wax M.K. (2000). Effect of photodynamic therapy on revascularization of fasciocutaneous flaps. *Laryngoscope*, **110**, 942-945
- Beltramini M., Fiery P.A., Ricchelli F., Rodgers M.A., Jori G. (1987). Steady-state and time-resolved spectroscopic studies on the hematoporphyrin-lipoprotein complex. *Biochemistry*, **26**, 6852-6858
- Benhur E., Orenstein A. (1991). The endothelium and red blood cells as potential target in PDT-induced vascular stasis. *International Journal of Radiation Biology*, **60**, 293-301
- Berenbaum M.C., Akande S.L., Armstrong F.H., Bentley P.K., Bonnet R., White R.D., Lowe K.C. (1990). Perfluorochemicals and photodynamic therapy in mice. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **277**, 419-423

- Berg K., Bommer J.C., Moan J. (1989). Evaluation of sulfonated aluminum phthalocyanines for use in photochemotherapy. A study on the relative efficiencies of photoinactivation. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **49**, 587-594
- Berg K., Moan J. (1994). Lysosomes as photochemical targets. *International Journal of Cancer*, **59**, 814-822
- Berg K., Moan J. (1997). Lysosomes and microtubules as targets for photochemotherapy of cancer. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **65**, 403-409
- Berns M.W., Dahlman A., Johnson F.M., Burns R., Sperling D., Guiltinan M., Siemens A., Walter R., Wright W., Hammer-Wilson M., Wile A. (1982). In vitro cellular effects of hematoporphyrin derivative. *Cancer Research*, **42**, 2325-2329
- Bernstein E.F., Thoams G.F., Smith P.D., Mitchell J.B., Glatstein E., Kantor G.R., Spielvogel R.L., Maiese S.C., Russo A. (1990). Response of black and white guinea pig skin to photodynamic treatment using 514-nm light and dihematoporphyrin ether. *Archives of Dermatology*, **126**, 1303-1307
- Biel M.A. (1994). Photodynamic therapy and the treatment of neoplastic diseases of the larynx. *Laryngoscope*, **104**, 399-403
- Biel M.A. (1996). Photodynamic therapy as an adjuvant intraoperative treatment of recurrent head and neck carcinomas. *Arch Otolaryngol Head And Neck Surg*, **122**, 1261-1265
- Bloom W., Fawcett D.W. (1968). *A Textbook of Histology*, **Ninth Ed.**, W.B Saunders Company. Philadelphia
- Bolin F.B., Preuss L.E., Cain B.W. (1984). A comparison of spectral transmittance for several mammalian tissues: effects at PRT frequencies. *Progress in Clinical and Biological Research*, **170**, 211-225
- Bourr'e L., Rousset N., Thibaut S., El'Eouet S, Lajat Y., Patrice T. (2002). PDT effects of m-THPC and ALA, phototoxicity and apoptosis. *Apoptosis*, **7**, 221-230
- Boyle R.W., Dolphin D. (1996). Structure and biodistribution relationships of photodynamic sensitizers. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **63**, 469-485
- Brown, T.M. (1996). Wound healing. In: *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. **Third edition**. Ed(s), Cumming C.W. Fredrikson, J.M., Harker, L.A., Krause, C.J., Richardson, M.A., Schuller, D.E. Mosby, St. Louis. 187-196

- Buoquot J.E., Gnepp D.R. (1991). Laryngeal precancer- a review of the literature, commentary and comparison with oral leukoplakia. *Head and Neck*, **13**, 488-497
- Cawson R.A., Binnie W.H., Speight P., Barrett Wright J.M., Thorogood P. (1998). *Lucas's Pathology of Tumors of The Oral*, **Fifth Ed.** Churchill Livingstone, Hong Kong
- Charoenbanpachon S., Krasieva T., Ebihara A. (2003). Acceleration of ALA-PpIX fluorescence development in oral mucosa. *Lasers in Surgery and Medicine*, **32**, 185-188
- Chang S.C., MacRobert A.J., Bown S.G. (1996). Photodynamic therapy on rat urinary bladder with intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid: light diffusion and histological changes. *The Journal of Urology*, **155(5)**, 1749-1753
- Chauduri K., Keck R.W., Selman S.H. (1999). Morphological Changes Of Tumor Microvasculature Following Hematoporphyrin Derivative Sensitized photodynamic therapy. *Photochemistry and Photobiology*, **46**, 823-827
- Chen H-M., Chen C-T., Yang H., Lee M-I., Kuo M. Y-P., Kuo Y-S., Wang Y-P., Tsai T., Chiang C-P. (2005). Successful treatment of extensive verrucous carcinoma with topical 5-aminolevulinic acid –mediated photodynamic therapy. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, **34**, 253-256
- Chen H-M., Yu C-H., Tu P-Ç., Yeh C-Y., Tsai T., Chiang C-P. (2005). Successful treatment of oral verrucous hyperplasia and oral leukoplakia with topical 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy. *Lasers in Surgery and Medicine*, **37**, 114–122
- Choick W.S., Clemmons D.R. (1993). The insulin-like growth factors. *Annual Review of Physiology*, **55**, 131- 139
- Christensen T., Feren K., Moan J., Pettersen E. (1981). Photodynamic effect of hematoporphyrin derivative on synchronized and asynchronous cells of different origin. *British Journal of Cancer*, **44**, 717-724
- Clark C., Dawe R.S., Moseley H., Ferguson J., Ibbotson S.H. (2004). The characteristic of erythema induced by topical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy. *Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine*, **20**, 105-107
- Cubeddu R., Canti G., Musolino M., Pifferi A., Taroni P., Valentini G. (1996). In vivo absorption spectrum of disulphonated aluminium phthalocyanine in a murine tumour model. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, **34(2)**, 229-235

- Desmouliere A. (1996). Factors influencing myofibroblast differentiation during wound healing and fibrosis. *Cell Biology International*, **19**, 471-476
- Dijkstra A.T., Majoie J.W.F., Weelden H., Vloten W.A. (2001). Photodynamic therapy with violet light and topical δ -aminolevulinic acid in the treatment of actinic keratosis, Bowen's disease and basal cell carcinoma. *Journal of European Academy of Dermatology and Venereology*, **15**, 550-554
- Dougherty T.J.(1975). Activated dyes as antitumor agents. *Journal of National Cancer Institute*, **52**, 1333-1339
- Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., Jori G., Kessel D., Korbek M., Moan J., Penq Q. (1998). Photodynamic Therapy. Review. *Journal of National Cancer Institute*, **90**, 889-905
- Dougherty T.J. Kaufman J.E., Goldfarb A., Weishaupt K.R., Boyle D., Mittleman A. (1978). Photoradiation therapy for treatment of malignant tumors *Cancer Research*, **38**, 2628-2635
- Dubbelman T.M.A.R., Prinsze C., Penning L.C., Van Steveninck J. (1992). In: Photodynamic therapy: Basic principles and clinical applications. Henderson B.W., Dougherty T.J. Ed(s). Marcel Decker, New York, 37 -46
- Edrei R., Gottfried V., Van Lier J.E., Kimel S. (1998). Sulfonated phthalocyanines: photophysical properties, in vitro cell uptake and structure-activity relationships. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **2**, 191-199
- Evans S., Matthews W., Perry R.R., Fraker D., Norton J., Pass H.I.(1990). Effect of photodynamic therapy on tumor necrosis factor production by murine macrophages. *Journal of The National Cancer Institute*, **82**, 34-39
- Fan K.F., Hopper C., Speight P.M., Buonaccorsi G., MacRobert A.J., Bown S.G. (1996) Photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid for premalignant and malignant lesions of the oral cavity. *Cancer*, **78(7)**, 1374-1383
- Fingar V.H. (1987). Drug and light dose dependence of photodynamic therapy: a study of tumor and normal tissue response. *Photochemistry and Photobiology*, **46**, 837-841
- Fingar V.H., Wieman T.J., Wiehle S.A., Cerrito P.B. (1992). The role of microvascular damage in photodynamic therapy : the effects of treatment on vessel constriction , permeability, leukocyte adhesion. *Cancer Research*, **52**, 4914-4921
- Foote C.S.(1991). Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochemistry and Photobiology*, **54**, 659-664

- Foster T.H., Murrant R.S., Bryant R.G. Knox R.S., Gibson S.L., Hilf R. (1991). Oxygen consumption and diffusion effect in photodynamic therapy. *Radiation Research*, **126**, 296-303
- Foster T.H., Primavera M.C., Marder V.J., Hilf R., Sporn L.A. (1991). Photosensitized release von Willebrand factor from cultured human endothelial cells. *Cancer Research*, **51**, 3261-3266
- Freitas I.(1990). Lipit accumulation: the common feature to photosensitizer-retaning normal and malignant tissues. *Journal of Photochemistry And Photobiology. B, Biology*, **7**, 359-361
- Fukuda H., Paredes S., Batlle A.M. (1992). Tumor localizing properties of porphyrins: in vivo studies using free and liposome encapsulated aminolevulinic acid . *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry*, **102B**, 433-436
- Gartner L.P., Hiatt J.L. (2001). *Color Textbook of Histology, Second Ed.*, W.B Saunders Company. Philadelphia
- Gerweck L.E., Seetharaman K. (1996). Cellular pH gradient in tumor versus normal tissue: potential exploitation for treatment cancer. *Cancer Research*, **56**, 1194-1198
- Geze M., Morliere P., Maziere J.C., Smith K.M., Santus R. (1993). Lysosomes, a key target of hydrophobic photosensitizers proposed for chemotherapeutic applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, **20**, 23-25
- Gibson S.L., Hilf R. (1983). Photosensitization of mitochondrial cytochrome c oxidase by hematoporphyrin derivative and related porphyrins. *Cancer Research*, **43**, 4191-4197
- Gomer C.J. Douherty T.J. (1979). Determination of [³H]-and [¹⁴C] hematoporphyrin derivative distribution on malignant and normal tissue. *Cancer Research*, **39**, 146-151
- Gomer C.J., Rucker N., Ferrario A., Murphree A.L. (1986). Expression of potentially lethal damage in chinese hamster cells exposed to hematoporphyrin derivative photodynamic therapy. *Cancer Research*, **46**, 3348-3352
- Gooris P.J.J., Roodenburg J.L.N., Vermey A., Nauta J.M. (1999). Carbon dioxide laser evaporation of leukoplakia of the lower lip: a retrospective evaluation. *Oral Oncology*, **35**, 490-495
- Gossner L., May A., Sroka R., Stolte M., Hahn E.G., Ell C. (1999). Photodynamic destruction of high grade dysplasia and early carcinoma of the esophagus after the oral administration of 5- aminolevulinic acid. *Cancer*, **86**, 1921-1928

- Gossner L., Sroka R., Hahn E.G., Ell C. (1995). Photodynamic therapy: successful destruction of gastrointestinal cancer after oral administration of aminolevulinic acid. *Gastrointestinal Endoscopy*, **41(1)**, 55-58
- Grant W.E., Hopper C., MacRobert A.J., Speight P.M., Bown S.G. (1993). Photodynamic therapy of oral cancer: photosensitisation with systemic aminolaevulinic acid. *Lancet*, **342**, 147-148
- Grant W.E., Hopper C., Speight P.M., Path M.R.C., MacRobert A.J., Bown S.G. (1993). Photodynamic therapy of malignant and premalignant lesions in patients with 'field cancerization' of the oral cavity. *The Journal of Laryngology and Otology*, **107**, 1140-1145
- Gregg T.A., Cowan C.G., Kee F. (1992). Trends in the relative frequency of histologically diagnosed epithelial dysplasia and intra-oral carcinoma in Northern Ireland, 1975-1989. *British Dental Journal*, **173**, 234-236
- Gutter B., Speck W.T., Rosenkranz H.S. (1977). The photodynamic modification of DNA by hematoporphyrin derivative. *Biochimica et Biophysica Acta*, **475**, 307-314
- Hausman W. (1955). Die sensibilisierende Wirkung des Hematoporphyrins. *Biochemische Zeitschrift*, **30**, 276-283
- Henderson, B.W., Dougherty, T.J. (1992). How does photodynamic therapy work? *Photochemistry and Photobiology*, **55(1)**, 145-157
- Henderson B.W., Fingar V.H. (1987). Relationship between tumor hypoxia and response to photodynamic therapy treatment in an experimental mouse model. *Cancer Research*, **47**, 3110-3114
- Henderson B.W., Sitnik-Busch T.M., Vaughan L.A. (1999). Potentiation of photodynamic therapy antitumor activity in mice by nitric oxide synthase inhibition is flow rate dependent. *Photochemistry and Photobiology*, **70(1)**, 64-71
- Henderson B.W., Waldow S.M., Mang T.S., Potter W.R., Malone P.B., Dougherty T.J. (1985) Tumor destruction and kinetics of tumor cell death in two experimental mouse tumors following photodynamic therapy. *Cancer Research*, **45**, 572-576
- Hilf R., Warne N.W., Smail D.B., Gibson S.L. (1984) photodynamic activation of selected intracellular enzymes by hematoporphyrin derivative and their relationship to tumor cell viability in vitro. *Cancer Letters*, **24**, 165-172
- Hong W.K., Endicott J., Itri L.M., Doos W., Batsakis J.G., Bell R., Fofonoff S., Byers R., Atkinson E.N., Vaughan C., Toth B.B., Kramer A., Dimery I.W.,

- Skipperp., Strong S. (1986). 13-cis- Retinoic acid in the treatment of oral leukoplakia. *The New England Journal Of Medicine*, **315**, 1501-1505
- Hopper C. (2000). Photodynamic therapy: a clinical reality in the treatment of cancer. *The Lancet Oncology*, **1**, 212-219
- Hopper C., Niziol C., Sidhu M. (2004). The cost-effectiveness of Foscan mediated photodynamic therapy (Foscan-PDT) compared with extensive palliative surgery and palliative chemotherapy for patients with advanced head and neck cancer in the UK. *Oral Oncology*, **40**, 372-382
- Ishii J., Fujita K., Komori T. (2003). Laser surgery as a treatment for oral leukoplakia. *Oral Oncology*, **39**, 759-769
- Jefferis A.F., Chevretton E.B., Berenbaum M.C., (1991). Muscle damage and recovery in the rabbit tongue following photodynamic therapy haemtoporphyrin derivative. *Acta Otolaryngol (Stockh)*, **111**, 153-160
- Jichlinski P., Leisinger HJ. (2001). Photodynamic therapy in superficial bladder cancer: past, present and future. *Urological Research*, **29(6)**, 396-405
- Johnson K.E. (1982). *Histology: Microscopic Anatomy and Embryology*, **First Ed.**, John Wiley & Sons. New York
- Kanzler M.H., Gorsulowsky D.C., Swanson N.A. (1986). Basic mechanisms in the healing cutaneous wound. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, **12**, 1156-1164
- Kaugars G.E, Burns J.C., Gunsolley J.C. (1988). Epithelial dysplasia of oral cavity and lips. *Cancer*, **62**, 2166-2170
- Kennedy J.C., Marcus S.L., Pottier R.H. (1996). Photodynamic therapy (PDT) and photodiagnosis (PD) using endogenous photosensitization induced by 5-aminolevulinic acid (ALA): mechanisms and clinical results. *Journal of Clinical Laser Medicine Surgery*, **14**, 289-304
- Kennedy J.C., Pottier R.H., Pross D.C. (1990). Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX for photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **6**, 143-148
- Kessel D. (1984). Chemical and biochemical determinants of porphyrin localization. *Progress in Clinical and Biological Research*, **170**, 405-418.
- Kimel S., Svaasand L.O., Hammer-Wilson M., Gottfried V., Cheng S., Svaasand E., Berns M.W. (1992). Demonstration of synergistic effect of hyperthermia and photodynamic therapy using the chick chorioallantoic membrane model. *Lasers in Surgery and Medicine*, **12**, 432-440

- Kingsbury J.S., Cecere W., Mang T.S., Liebow C. (1997). Photodynamic therapy for premalignant lesions in DMBA-treated hamsters: a preliminary study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **55**, 376-381
- Kirsner R.S., Eaglstein W.H. (1993). The wound healing process. *Dermatologic Clinics*, **11**, 629- 640
- Kohno Y., Patel V., Kim Y., Tsuji T., Chin B-R., Sun M., Donoff R.B., Kent R., Wong D., Todd R. (2002). Apoptosis, proliferation and p12^{doc-1} profiles in normal, dysplastic and malignant squamous epithelium of the Syrian hamster cheek pouch model. *Oral Oncology*, **38**, 274-280
- Korbelik M. (1996). Induction of tumor immunity by photodynamic therapy. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, **14(5)**, 329-324
- Korbelik M., Krosi G., Olive P.L., Chaplin D.J. (1991). Disruption of photofrin between tumor cells and tumor associated macrophages. *British Journal of Cancer*, **64**, 508-512
- Korbelik M., Naraparaju V.R., Yamamoto N. (1997). Macrophage-directed immunotherapy as adjuvant to photodynamic therapy of cancer. *British Journal of Cancer*, **75**, 202-207
- Kriegmair M., Baumgartner R., Knuechel R., Steinbach P., Ehsan A., Lumper W., Hofstadter F., Hofstetter A. (1994). Fluorescence photodetection of neoplastic urothelial lesions following intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid. *Urology*, **44(6)**, 836-841
- Kriegmair M., Baumgartner R., Riesenberger R., Jocham D., Sassy T., Stocker S., Lumper W., Unsold E., Hofstetter A. (1994). Photodynamic diagnosis following topical application of delta-aminolevulinic acid in a rat bladder tumor model. *Investigative Urology*, **5**, 85-87
- Krstić R.V. (1991). *Human Microscopic Anatomy, First Ed.*, Springer-Verlag. Berlin Heidelberg
- Kübler A.C., Haase T., Staff C., Kahle B., Rheinwald M., Muhling J. (1999). Photodynamic therapy of primary nonmelanomatous skin tumors of head and neck. *Lasers in Surgery and Medicine*, **25**, 60-68
- Lai J.P., Tao Z.D., Xiao J.Y., Zhao S.P., Tian Y.Q. (1997). Effect of photodynamic therapy on selected laboratory values of patients with nasopharyngeal carcinoma. *The Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology*, **106**, 680-682
- Lange M., Jichlinski P., Zellweger M., Forrer M., Marti A., Guillou L., Kucera P., Wagnieres G., van den Bergh H. (1999). Photodetection of early human bladder cancer based on the fluorescence of 5-aminolevulinic acid hexylester-

induced protoporphyrin IX: a pilot study. *British Journal of Cancer*, **80**, 185-193

- Leeson T.S., Leeson C.R., Paparo A.A. (1988). *Text/Atlas of Histology*, **First Ed.**, W.B Saunders Company. Philadelphia
- Leuning A., Betz C.S., Mehlmann M., Step H., Arbogast S., Grevers G., Baumgartner R. (2000). Detection of squamous cell carcinoma of the oral cavity by imaging 5-aminolevulinic- induced protoporphyrin IX fluorescence. *Laryngoscope*, **110**, 73-83
- Leveckis J., Burn J.L., Brown N.J, Reed M.W. (1994) Kinetics of endogenous protoporphyrin IX induction by aminolevulinic acid: preliminary studies in the bladder. *The Journal of Urology*, **152**, 550-553
- Lin S.C., Lin C.P., Feld J.R., Duker J.S., Puliafito C.A. (1994). The photodynamic occlusion of choroidal vessels using benzoporphyrin derivative. *Current Eye Research*, **13**, 513-522
- Lippman S.M., Batsakis J.G.Toth et al. (1993). Comparison of low dose with β -carotene to prevent oral carcinogenesis . *New England Journal Medicine*, **328**, 15-20
- Lipson R.,Aldes E., Olsen A. (1961). The use of a derivate of hematoporphyrin in tumor detection .*Journal of National Cancer Instute*, **1**, 1-11
- Loh C.S., MacRobert A.J., Bedwell J., Regula J., Krasner N., Bown S.G. (1993). Oral versus intravenous administration of 5-aminolaevulinic acid for photodynamic therapy. *British Journal of Cancer*, **68(1)**, 41-51
- Lukyanets E.A. (1999). Phthalocyanines as photosensitizers in photodynamic therapy in cancer. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **3**, 424-432
- Lumerman H., Freedman P., Kerpel S. (1995). Oral epithelial dysplasa and the development of invasive squamous cell carcinoma. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*, **79**, 321-329
- Lynch D.H., Haddad S., King V.J., Ott M.J., Straight R.C., Jolles C.J. (1989). Systemic immunosuppression induced by photodynamic therapy (PDT) is adoptively transferred by macrophages. *Photochemistry and Photobiology*, **49**, 453-458
- Ma G., Ikeda H., Inokuchi T., Sano K. (1999). Effect of photodynamic therapy using 5- aminolevulinic acid on 4-nitroquinoline-1-oxide- induced premalignant and malignant lesions of mouse tongue. *Oral Oncology*, **35**, 120-124
- Ma L., Moan J., Berg K.(1994). Evaluation of new photosensitizer, meso-tetrahydrophenyl-chlorin, for use in photodynamic therapy : a comparison of its

photobiological properties with those of two other photosensitizers. *International Journal of Cancer*, **87**, 883-888

- Ma L.W., Bagdonas S., Moan J. (2001). The photosensitizing effect of the photoproduct of protoporphyrin IX. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **60**, 108-113
- Macdonald I.J., Dougherty T.J.(2001). Basic principles of photodynamic therapy. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **5**, 105-129
- Maier A., Tomselli F., Matzi V., Rehak P., Pinter H., Smolle-Jüntnerf M. (2001). Photosensitization with hematoporphyrin derivative compared to 5-aminolevulinic acid for photodynamic therapy of esophagel carcinoma. *The Annals of Thoracic Surgery*, **72**, 1136-1140
- Maier A.,Tomselli F., Matzi V., Rehak P., Pinter H., Smolle-Jüntnerf M.(2001). Does new photosensitizer improve photodynamic therapy in advanced esophageal carcinoma? *Lasers in Surgery and Medicine*, **29**, 323-327
- Mang T.S., Allison R., Hewston G., , Snider W., Moskowitz R. (1998). A phase II/III clinical study of tin ethyl etiopurpurin (purlytin)-induced photodynamic therapy of reccurent cutaneous metastatic breast cancer. *The Cancer Journal from Scientific American*, **4**, 378-384
- Marley J.J. Cowan C.G., Lamey P-J., Johson N.W., Warnakulasuriya K.A.A.S. (1996). Management of potentially malignant oral mucosal lesions by consultant UK oral and maxillofacial surgeons. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **34**, 28-36
- Marynissen J.P.A., Star W.M. (1987). Quantitative light dosimetry in vitro and in vivo. *Lasers in Medical Science*, **2**, 235-241
- McCaughan J.S.Jr. (1997). Photodynamic therapy of endobronchial and esophageal tumors: an overview. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, **14**, 223-233
- Mcmahon K.S., Wieman T.J., Moore P.H., Fingar V.H. (1984). Effects of photodynamic therapy using mono-L-aspartyl chlorin e6 on vessel constriction, vessel leakage, and tumor response. *Cancer Research*, **54**, 5374-5379
- McNair F.I., Marples B., West C.M.L., Moore J.V. (1997). A comet assay of DNA damage and repair in K562 cells after photodynamic therapy using hematoporphyrin derivative, methylene blue and meso-tetrahydroxylphenylchlorin. *British Journal of Cancer*, **75**, 1721-1729

- Merhi Y., Guidoin R., Provost P., Leung T.K., Lam J.Y. (1995). Increase in neutrophil adhesion and vasoconstriction with platelet deposition after deep arterial injury by angioplasty. *American Heart Journal*, **129**, 445-451
- Meyertz-Betz F. (1913). Untersuchungen über die biologische Wirkung des Hematoporphyrins und anderer Derivate des Blutes und Gallenfarbstoffs. *Deutsches Archiv für Klinische Medizin*, **47**, 476-503
- Mincer H.H., Coleman S.A., Hopkins K.P. (1972). Observation on the clinical characteristics of oral lesions showing histologic epithelial dysplasia. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, **33**, 389-399
- Mlkvy P., Messmann H., Regula J., Conio M., Pauer M., Millson C.E., MacRobert A.J., Bown S.G. (1998). Photodynamic therapy for gastrointestinal tumors using three photosensitizers-ALA induced PPIX, Photofrin and MTHPC. A pilot study. *Neoplasma*, **45(3)**, 157-161
- Moan J. (1986). Porphyrin sensitized photodynamic inactivation of cells. A review. *Lasers in Medical Science*, **1**, 5-11
- Moan J. (1990). On the diffusion length of singlet oxygen in cells and tissues. *Photochemistry and Photobiology*, **6**, 343-344
- Moan J., Berg K., Anholt A., Madslie K. (1994). Sulfonated aluminum phthalocyanines as sensitizers for photochemotherapy. Effects of small doses on localization, dye fluorescence and photosensitivity in V79 cells. *International Journal of Cancer*, **58**, 865-870
- Moan J., Rimington C., Evensen J.F., Western A. (1985). Binding of porphyrins to serum proteins. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **193**, 193-220
- Moan J., Sommer S. (1985). Oxygen dependence of photosensitizing effect of hematoporphyrin derivative in NHK 3025 cells. *Cancer Research*, **45**, 1608-1610
- Murrer L.H.P., Marijnissen J.P.A., Star W.M. (1999). Short- and long-term normal tissue damage with photodynamic therapy in pig trachea: a fluence-response pilot study comparing photofrin and MTHPC. *British Journal of Cancer*, **80**, 744-755
- Musser D.A., Fiel R.J. (1991). Cutaneous photosensitizing and immunosuppressive effects of a series of tumor localizing porphyrins. *Photochemistry and Photobiology*, **53**, 119-123
- Nauta J.M., Roodenburg J.L.N., Nikkels P.G.J., Witjes M.J.H., Vermey A. (1995). Comparison of epithelial dysplasia. The 4NQO rat palatal model versus human oral mucosa. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, **24**, 53-58

- Nauta J.M., Speelman O.C., Van Leengoed H.L.L.M., Nikkels P.G.J., Roodenburg J.L.N., Star W.M., Witjes M.J.H., Vermey A. (1997). In vivo detection of chemically induced premalignant lesions and squamous cell carcinoma of the rat palatal mucosa. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **39**, 156-166
- Nauta J.M., van Leengoed H.L.L.L.M. , Roodenburg J.L.N. ,Witjes M.J.H., Vermey A. (1996). Photodynamic therapy of oral cancer . A review of basic mechanisms and clinical applications. *European Journal of Oral Sciences*, **104**, 69-81
- Neville B.W., Damm D.D., Allen C.M., Bouquot J.E. (2002). *Oral and Maxillofacial Pathology*, **Second Ed.**, W.B Saunders Company. Philadelphia
- Neville B.W., Day T.A. (2002). Oral Cancer And Precancerous Lesions. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **52**, 195-215
- Niwa S., Ueno S., Shirasu R. (2001). Alteration of pRb expression in development of rat tongue carcinoma of rat tongue carcinoma induced by 4-nitroquinoline 1-oxide. *Oral Oncology*, **37**, 579-585
- Nseyo U.O., Whalen R.K., Duncan M.R., Berman B., Lundahl S.L. (1989). Urinary cytokines following photodynamic therapy for bladder cancer. *Urology*, **36(2)**, 167-171
- Pandey R.K. (2000). Recent advances in photodynamic therapy. Overview. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **4**, 368-373
- Okada C.Y., Rechsteiner M. (1982). Introduction of macromolecules into cultured mammalian cells by osmotic lysis of pycnotic vesicles. *Cell*, **29**, 33-41
- Overholt B.F., Panjehpour M. (1997). Photodynamic therapy in Barret's esophagus. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, **14**, 245-249
- Panjehpour M., DeNovo R.C., Petersen M.G., Overholt B.F., Bower R., Rubinchik V., Barbara Kelly B. (2002). Photodynamic therapy using Verteporfin (Benzoporphyrin Derivative Monoacid Ring A, BPD-MA) and 630 nm laserlight in canine esophagus. *Lasers in Surgery and Medicine*, **30**, 26-30
- Panjehpour M., Overholt B.F., Haydek J.M., Lee S.G. (2000). Results of photodynamic therapy for ablation of dysplasia and early cancer in Barret's esophagus and effect of oral steroids on stricture formation. *The American Journal of Gastroenterology*, **95**, 2177-2184
- Pass H.I.(1993). Photodynamic therapy in oncology. *Journal of The National Cancer Institute*, **86**, 443-456

- Patterson M.S., Madsen S.J., Wilson B.C. (1992). Experimental tests of feasibility of singlet oxygen luminescence monitoring in vivo during photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, **5**, 69-84
- Patterson M.S., Wilson B.C., Graft R. (1990). In vivo tests of the concept of photodynamic threshold dose in normal rat liver photosensitized by aluminum chlorosulphonated phthalocyanine. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **51**, 343-349
- Patterson M.S., Wilson B.C., Wyman D.R. (1991). The propagation of optical radiation in tissue II. Optical properties of tissues and resulting fluence distribution. *Lasers in Medical Science*, **6**, 379-390
- Pe M.B., Sano K., Inokuchi T. (1993). Effect of photodynamic therapy in the normal mouse tongue. *Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, **51**, 1129-1134
- Peng Q, Moan J. (1995). Correlation of distribution of sulphonated aluminium phthalocyanines with their photodynamic effect in tumour and skin of mice bearing CaD2 mammary carcinoma. *British Journal of Cancer*, **72(3)**, 565-74
- Peng Q., Moan J., Ma L.W., Nesland J.M. (1995). Uptake, localization and photodynamic effect meso-tetra(hydroxyphenyl)porphine and its corresponding chlorin in normal and tumor tissues of mice bearing mammary carcinoma. *Cancer Research*, **55**, 2620-2626
- Peng Q., Warloe T., Berg K., Moan J., Kongshaug M., Giersky K-E., Nesland J.M. (1997). 5-Aminolevulinic acid- based photodynamic therapy: clinical research and future challenges. *Cancer*, **79**, 2282-2308
- Perlin D.S., Murant R.S., Gibson S.L., Hilf R. (1995). Effects of photosensitization by hematoporphyrin derivative mitochondrial adenosine triphosphatase-mediated proton transport and membrane integrity of R3230AC mammary adenocarcinoma. *Cancer Research*, **45**, 653-658
- Peterson L.J., Ellis E., Hupp J.R., Tucker M.R. (2003). Wound repair. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*. **4**. Ed. Mosby Company. Philadelphia.
- Pindborg J.J. (1980). *Oral Cancer And Precancer*, John Wrigt & Sons Ltd Bristol.
- Pindborg J.J., Daftary D.K., Mehta F.S. (1977). A follow up study of sixty one oral dysplastic precancerous lesion in Indian –villagers. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*, **43**, 383-390
- Primbs G.B., Casey R., Wamster K., Snyder W.J., Crean D.H. (1998). Photodynamic therapy for corneal neovascularization. *Ophthalmic Surgery and Lasers*, **29**, 832- 838

- Raab O. (1900). Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien. *Zeitschrift für Biologie*, **39**, 524-546
- Reed M.W., Miller F.N., Wieman T.J., Tseng M.T., Pietsch C.G. (1987). The effect of photodynamic therapy on the microcirculation. *Journal of Surgical Research*, **45**, 452-459
- Regula J., MacRobert A.J., Gorchein A., Buonaccorsi G.A., Thorpe S.M., Spencer G.M., Hatfield A.R., Bown S.G. (1995). Photosensitization and photodynamic therapy of oesophageal, duodenal colorectal tumors using 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX: a pilot study. *Gut*, **36**, 67-75
- Rich A.M. (1988). Histomorphometric analysis of epithelial changes in chemically induced oral mucosal carcinogenesis in rats. *Journal of Oral Pathology*, **17**, 528-533
- Richter A.M., Cerruti-Sola S., Sternberg E.D., Dolphin D., Levy J.G. (1990). Biodistribution of tritiated benzoporphyrin derivative (³H-BPD-MA), a potent photosensitizer, in normal and tumor-bearing mice. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, **5**, 231-244
- Ross M.H., Kaye G.I., Pawlina W. (2003). *Histology A Text and Atlas, Fourth Ed.* Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
- Schakley D.C., Briggs C., Gilhooley A., Whitehurst C., O'Flynn K.J., Betts C.D., Moore J.V., Clarke N.W. (2002). Photodynamic therapy for superficial bladder cancer under local anaesthetic. *BJU International*, **89**, 665-670
- Scheiler P., Hyckel P., Berndt A., Bode H-P., Albrecht V., Hindermann W., Kosmehl H., Zenk W., Schumann D. (2004). Photodynamic therapy of virus-associated epithelial tumors of the face in organ transplant recipients. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **130(5)**, 279-284
- Schwartz S., Absolon K., Vermund H. (1955). Some relationships of porphyrins, x-rays and tumors. *University of Minnesota Medical Bulletin*, **7**, 7-13
- Schweitzer V.G. (1990). Photodynamic therapy for treatment of head and neck cancer. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, **102(3)**, 225-232
- See K.L., Forbes I.J., Betts W.H. (1984). Oxygen dependence of phototoxicity with hematoporphyrin derivative. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **39**, 631-634
- Selman S.H., Kreimer-Birnbaum M., Goldblatt B.J., Keck R.W., Britton S.L. (1985). Jejunal blood flow after exposure to light in rats injected with hematoporphyrin derivative. *Cancer Research*, **45**, 6425-6427

- Sharkey S.H., Wilson B.C., Moorehead R., Singh G.(1993). Mitochondrial alterations in photodynamic therapy-resistant cells. *Cancer Research* ,**53**, 4994-4999
- Sieron A., Adamek M., Kawczyk-Krupka A., Mazur S., ĩlewicz L.(2003). Photodynamic therapy (PDT) using topically applied δ -aminolevulinic acid (ALA) for treatment of oral leukoplakia. *Journal of Oral Pathology Medicine*, **32**,330-336
- Silverman S.,Gorsky M., Lozada F. (1984). Oral leukoplakia and malignant transformation . A follow-up study of 257 patients. *Cancer*, **53**, 563-568
- Silverman S. Jr. (2001) Demographic and occurrence of oral and pharyngeal cancers. The outcomes, the trends and the challenge. *Journal of the American Dental Association*, **132**, 7-11
- Sitnik T.M., Hampton J.A., Henderson B.W. (1998). Reduction of tumor oxygenation during and after photodynamic therapy in vivo. *British Journal of Cancer*, **77**, 1386-1394
- Sitnik T.M., Henderson B.W. (1998). The effect of fluence rate on tumor and normal tissue responses to photodynamic therapy . *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **67**, 462-466
- Stables G.I., Stringer M.R., Robinson D.J., Vash D. (1999). Erythroplasia of Queyrat treated by topical aminolevulinic acid photodynamic therapy. *British Journal of Dermatology*, **140**, 514-517
- Star W.M., Marijnissen van den Berg-Blok A.E., Versteeg J.A.C., Franken K.A.P., Reinhold H.S. (1986). Destruction of rat mammary tumor and normal tissue microcirculation by hematoporphyrin derivative photoradiation observed in vivo sandwich observation chambers. *Cancer Research*, **46**, 2532-2540
- Steele P.M., Cheseboro J.H., Stanson A.W. (1985). Balloon angioplasty : natural history of the pathophysiological response to injury in a pig model. *Circulation Research*, **57**, 105-112
- Stringer M.R. (1995). Problems associated with use of broadband illumination sources for photodynamic therapy. *Physics in Medicine and Biology*, **40**, 1733-1735
- Sukotjo, C., Lin, A., Song, K., Ogawa, T., Wu B. (2003). Oral fibroblast expression of wound-inducible transcript 3.0(wit3.0) accelerates the collagen gel contraction in vitro.*The Journal of Biological Chemistry*, **278(51)**, 51527-51534
- Svaasand L.O. (1984). Optical dosimetry for direct and interstitial photoradiation therapy of malignant tumors. *Progress in Clinical and Biological Research*, **170**, 91-114
- Szeimies R.M., Abels C., Fritsch C., Karrer S., Steinbach P., Baumler W., Goerz G, Goetz A.E., Landthaler M. (1995). Wavelength dependency of photodynamic

effects after sensitization with 5-aminolevulinic acid in vitro and in vivo. *The Journal of Investigative Dermatology*, **105(5)**, 672-677

- Szpaderska A.M., Zuckerman J.D., DiPietro L.A. (2003). Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds. *Journal of Dental Research*, **82(8)**, 621-626
- Taber S.W., Fingar V.H., Coots C.T., Wieman T.J. (1998). Photodynamic therapy using mono-L-aspartyl chlorin e6 (Npe6) for treatment of cutaneous disease: a phase I clinical study. *Clinical Cancer Research*, **4**, 2741-2746
- Tappeiner-von H., Jesionek A. (1903). Therapeutische versuche mit fluoreszierende stoffen. *Münchener Medizinische Wochenschrift*, **47**, 2042-2051
- Taylor E.L., Brown S.B. (2002). The advantages of aminolevulinic acid photodynamic therapy in dermatology. *Journal of Dermatological Treatment*, **13(Suppl 1)**, S3-S11
- Thomson P.J., Wylie J. (2002). Interventional laser surgery: an effective surgical and diagnostic tool in oral precancer management. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, **31**, 145-153
- Tradati N., Grigolat R., Calabrese L., Costa L., Giugliano G., Morelli F., Scully C., Boyle P., Chiesa F. (1997). Oral leukoplakias: to treat or not? *Oral Oncology*, **33(5)**, 317-321
- Tromberg B.J., Orenstein A., Kimel S., Barker S.J., Hyatt J., Nelson J.S., Berns M.W. (1990). In vivo tumor oxygen tension measurements for the evaluation of the efficiency of photodynamic therapy. *Photochemistry and Photobiology*, **52**, 2375-385
- Tsai J.C., Chiang C.P., Chen H.M., Huang S.B., Wang C.W., Lee M.I., Hsu Y.C., Chen C.T., Tsai T. (2004). Photodynamic therapy of oral dysplasia with topical 5-aminolevulinic acid and light-emitting diode array. *Lasers in Surgery and Medicine*, **34**, 18-24
- Tyldesley W.R. (1989). *Oral Medicine*. **Third Ed.** Oxford University Press, New York.
- Uehara M., Inokuchi T., Kazuo S. (1996). Experimental study of combined hyperthermic and photodynamic therapy on carcinoma in the Mouse. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **54**, 729-736
- Van den Boogert J., Van Staveren H.J., Bruin R.W.F., Eikelaar J.H.R., Siersema P.D., Van Hillegersberg R. (1999). Photodynamic therapy for esophageal lesions: selectivity depends on wavelength, power and light dose. *The Annals of Thoracic Surgery*, **68**, 1763-1769

- Van Der Wall I. (1986). Diagnostic and therapeutic problems of oral precancerous lesions. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **15**, 790-798
- Van Leengoed H.L., Van Der Veen N., Versteeg A.A., Ouellet R., Van Lier J.E., Star W.M. (1993). In vivo photodynamic effects of phthalocyanines in a skin-fold observation chamber model: role of central metal ion and degree of sulfonation. *Photochemistry and Photobiology*, **58(4)**, 575-580
- Vedtofte P., Holmstrup P., Hjorting-Hansen E., Pindborg J.J. (1987). Surgical treatment of premalignant lesions of the oral mucosa. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **16**, 656-664
- Veen N., Hebeda K.M., Bruijn H.D., Star W.M. (1999). Photodynamic effectiveness and vasoconstriction in hairless Mouse skin after topical 5-aminolevulinic acid and single –or two fold illumination. *Photochemistry and Photobiology*, **70(6)**, 921-929
- Waldow S.M., Dougherty T.J. (1984). Interaction of hyperthermia and photoradiation therapy. *Radiation Research*, **97**, 380-385
- Wang C.Y., Tsai T., Chen H.C., Chang S.C., Chen C.T., Chiang C.P. (2003). Autofluorescence spectroscopy for in vivo diagnosis of DBMA-hamster buccal pouch precancer and cancers. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, **32**, 18-24
- Waterfield E.M., Renke M.E., Smits C.B., Gervaij M.D., Bower R.D., Stonefield M., Levy J.G. (1994). Wavelength-dependent effects of benzoporphyrin derivative monoacid ring A in vivo and in vitro. *Photochemistry and Photobiology*, **60**, 383-387.
- Webber J., Kessel D., Fromm D. (1996). Side effect and photosensitiation of human tissues after aminolevulinic acid. *Journal of Surgical Research*, **68**, 31-37
- Weiss L., Grepp R.O. (1977). *Histology*. **Fourth Ed.** McGraw-Hill Book Company, New York
- Wenig B.L., Kurtzman D.M., Grossweiner L.I., Mafee M.F., Haris D.M., Lobraico R.V., Pyrcz R.A., Appelbaum E.L. (1990). Photodynamic therapy in the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Archives of Otolaryngology Head & Neck Surgery*, **116**, 1267-1270
- WHO Collaborating Reference Centre for Oral Precancerous Lesions. (1978). Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surgery*, **46**, 517-539

- Wilson B.C., Jeeves W.B., Lowe D.M., Adam G. (1984). Light propagation in animal tissues in the wavelength range 375-825 nanometers. *Progress in Clinical and Biological Research*, **170**, 115-132
- Wilson B.C., Olivo M., Singh G. (1997). Subcellular localization of Photofrin and aminolevulinic acid and photodynamic cross-resistance in vitro in radiation-induced fibrosarcoma cells sensitive or resistant to photofrin-mediated photodynamic therapy. *Photochemistry and Photobiology*, **65**, 166-176
- Wolf P., Rieger E., Kerl H. (1993). Topical photodynamic therapy with endogenous porphyrins after application of 5-aminolevulinic acid. An alternative treatment modality for solar keratoses, superficial squamous cell carcinomas, and basal cell carcinomas? *Journal of the American Academy of Dermatology*, **28**, 17-21
- Woodburn K.W., Fan Q., Kessel D., Luo Y., Young S.W. (1998). Photodynamic therapy of B17F10 murine melanoma with lutetium texaphyrin. *The Journal of Investigative Dermatology*, **110**, 746-751
- Woodburn K.W., Qing F., Kessel D., Young S.W. (1997). Photo-irradiation and imaging of atheromatous plaque with texaphyrin. *Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering*, **44**, 50
- Woodburn K., Stylli S., Hill J.S., Kaye A.H., Reiss J.A., Phillips D.R. (1999). Evaluation of tumor and tissue distribution of porphyrins for use photodynamic therapy. *British Journal of Cancer*, **65**, 321-328
- Woodburn K., Vardaxis N.J., Hill J.S., Kaye A.H., Phillips D.R. (1991). Subcellular localization of porphyrins using confocal laser scanning microscopy. *Photochemistry and Photobiology*, **54**, 725-732
- Wöhrle D., Wendt A., Weitemeyer A., Stark J., Spiller W., Schneider G., Müller S., Michelsen U., Kliesch H., Ardeschirpur A. (1994). Metal chelates of porphyrin derivatives as sensitizers in photooxidation processes of sulfur compounds and in the photodynamic therapy of cancer. *Russian. Chemistry. Bulletin.*, 2071-2082
- Wright A., Shear M. (1985). Epithelial dysplasia immediately adjacent to oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral Pathology*, **14**, 559-564

ÖZGEÇMİŞ

1975 Bismil-Diyarbakır doğumluyum. İlköğrenimimi Ambar Köyü İlkokulu'nda (Bismil-Diyarbakır), ortaöğrenimimi Çırpı Mustafa Adanır Ortaokulu'nda (Bayındır-İzmir) tamamladım.1993 yılında Gaziemir Lisesi'nden (İzmir) mezun oldum ve aynı yıl İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde yüksek öğrenimime başladım. Fakülteyi normal süresi olan beş yılda bitirerek 1998 yılında mezun oldum. Eylül 2000 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda doktora programına başladım. Şubat 2002'de ders programını tamamlayarak yeterlilik sınavını kazandım. Aynı yıl araştırma görevlisi kadrosuna atandım. 2003-2004 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi, Acil Tıp ve Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dallarında rotasyon eğitimlerimi tamamladım. Evliyim.

Yabancı dilim İngilizce'dir.