

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

BAŞ VE BOYUN BÖLGESİNE RADYOTERAPİ UYGULANAN
RATLARDA PROKSİMAL ÖZEFAJEAL VE HİPOFARENGEAL
FİBROZİSİ ÖNLEMEDE METİLPREDNİZOLON VE
HALOFİGUNONUN ETKİNLİĞİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Hakan DABAK

DANIŞMAN
Doç. Dr. Turgut KARLIDAĞ

ELAZIĞ-2008

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur

.....

.....

..... **Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Danışman

Uzmanlık Sınav Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Kulak Burun Boğaz alanındaki uzmanlık bilgi ve becerisini kazandıran, mesleki, akademik ve sosyal tecrübelerini devamlı bizimle paylaşan ve yardımlarını esirgemeyen tez konumun seçiminde, değerlendirilmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Turgut KARLIDAĞ başta olmak üzere Anabilim Dalı Başkanı'mız değerli hocam Prof. Dr. Şinasi YALÇIN, Prof. Dr. Üzeyir GÖK, Doç. Dr. İrfan KAYGUSUZ, Doç. Dr. Erol KELEŞ ve Yrd. Doç Dr. Hayrettin Cengiz ALPAY'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalıştığım dönem boyunca birlikte olduğum, kendilerinden mesleki bilgiler yanında sevgi, saygı ve dostluğa dair pek çok şey öğrendiğim, daima desteklerini gördüğüm ikinci aile ortamının değerli üyeleri olan kliniğimizin uzman doktorlarına, asistan doktorlarına, hemşirelerine, sekreterlerine ve personeline özellikle teşekkür etmek isterim.

Ayrıca tez çalışmamdaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Nevin İLHAN, Doç. Dr. Meltem SERİN, Doç. Dr. Nusret AKPOLAT ve Doç Dr. Mehmet ÖZDEN'e teşekkür ederim.

Ve gerek uzmanlık eğitimim ve gerekse tezimin hazırlanması sırasında göstermiş olduğu sonsuz anlayış ve fedakarlıklarından dolayı aileme ve sevgili nişanlıma minnettarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	4
3.1. ANATOMİ	5
3.1.1. HİPOFARİNGS ANATOMİSİ	5
3.1.2. ÖZEFAGUS ANATOMİSİ	6
3.1.3. RAT ÖZEFAGUS ANATOMİSİ	9
3.2. RADYOTERAPİ	10
3.2.1. RADYOTERAPİNİN DOKULAR ÜZERİNE ETKİLERİ	11
3.2.1.1. Normal Dokularda Radyoterapiye Bağlı Akut ve Geç Etkiler	12
3.2.2. RADYOTERAPİ SONRASI GEÇ LEZYONLARIN HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	13
3.2.2.1. Epitelyal ve Parankimal Lezyonlar	13
3.2.2.2. Stromal Lezyonlar	14
3.2.2.3. Damarsal Lezyonlar	16
3.2.3. RADYOTERAPİDE ORGAN TOLERANS DOZU VE HACMİ	16
3.2.4. RADYOTERAPİYE BAĞLI BAŞ VE BOYUN BÖLGESİNDEKİ NORMAL DOKU REAKSİYONLARININ KLİNİK İNCELEMESİ	19
3.2.4.1. Radyoterapinin Üst Sindirim ve Solunum Sistemi Üzerine Etkisi	19
3.2.4.2. Radyoterapinin Deri Üzerine Etkisi	20
3.2.4.3. Radyoterapinin Tükürük Bezleri Üzerine Etkisi	20
3.2.4.4. Radyoterapinin Özefagus Üzerine Etkisi	21
3.2.4.5. Radyoterapinin Kemik ve Kıkırdak Doku Üzerine Etkisi	22
3.2.4.6. Radyoterapinin Beyin Dokusu Üzerine Etkisi	22
3.2.4.7. Radyoterapinin Omurilik Üzerine Etkisi	22

3.2.4.8. Radyoterapinin Lens Üzerine Etkisi	22
3.2.5. RADYOTERAPİYE BAĞLI DOKU HASARI ÜZERİNE	
ETKİ EDEN EK FAKTÖRLER	23
3.3. HALOFUGİNON	23
3.4. METİLPREDNİZOLON	25
4. GEREÇ VE YÖNTEM	27
4.1. DENEKLER	27
4.2. SİMULASYON VE RADYOTERAPİ UYGULAMASI.....	28
4.3. HALOFUGİNON HAZIRLANIŞI VE UYGULAMASI.....	30
4.4. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	30
4.5. HİDROKSİPROLİN SEVİYESİNİN ÖLÇÜMÜ.....	32
4.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	32
5. BULGULAR	33
5.1. DENEKLERİN VÜCUT AĞIRLIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	33
5.2. IŞIK MİKROSKOBUyla HİSTOPATOLOJİK	
DEĞERLENDİRME	34
5.2.1. FİBROZİS.....	34
5.2.2. STENOZ İNDEKSİ.....	38
5.2.3. VASKÜLARİZASYON.....	40
5.2.4. EPİTELİYAL ATİPİ.....	42
5.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	42
6. TARTIŞMA	44
7. KAYNAKLAR	52
8. ÖZGEÇMİŞ	62

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Radyasyon birimleri	11
Tablo 2: Baş-boyun bölgesi organlarına ait radyoterapi tolerans dozları	17
Tablo 3: Tedavi amaçlı normal dokuların toleransı	18
Tablo 4: Radyasyonun baş - boyun bölgesindeki etkileri	19
Tablo 5: Gruplarda yer alan ratların düzenli olarak ölçülmüş olan ağırlık ortalamaları	33
Tablo 6: Işık mikroskopisi değerlendirme skorları	36
Tablo 7: Gruplardaki özefagus duvar kalınlığı, lümen çapı ve stenoz indeksi ortalamaları	39
Tablo 8 : Gruplar arası ortalama vaskülarizasyon değerleri	41
Tablo 9: Gruplardaki ortalama hidroksiprolin değerleri	43

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Hipofarenks anatomisi	6
Şekil 2: Özefagus anatomisi	7
Şekil 3: Rat özefagus girişi (Ö) ve hipofarenks (H) anatomisi	9
Şekil 4: Rat özefagus anatomisi	9
Şekil 5: Halofuginonun moleküler yapısı	25
Şekil 6: Radyasyon uygulanacak bölgenin belirlenmesi için alınan simülasyon görüntüsü	28
Şekil 7: Simülasyon sonrası işaretlenmiş olan radyasyon bölgesi	29
Şekil 8: Radyoterapi uygulaması için ratların Co60 teleterapi ünitesindeki tedavi masasına simülatördeki gibi yerleştirilmesi	30
Şekil 9: Özefagus lümen çapı ve duvar kalınlıklarının ölçümü (H.E. X100)	31
Şekil 10: Tüm gruplar arasında üç aylık dönemde ağırlık ortalamalarının birbirine göre değişimi	34
Şekil 11: Kontrol grubunda normal özefagus yapısının görünümü (H.E. X40)	37
Şekil 12: Radyasyon grubunda özefagus submukozal alanda fibrozis alanları (siyah ok) (H.E. X100)	37
Şekil 13: Radyasyon grubunda özefagus submukozal alanda fibrozis (siyah ok) (H.E. X200)	38
Şekil 14: Gruplardaki özefagus lümen ve duvar çapı (μm) değerleri	39
Şekil 15: Gruplardaki özefagus stenoz indeksi değerleri	40
Şekil 16: Doku vaskülarizasyon değerleri	41
Şekil 17: Submukozal fibrozis alanındaki vasküler yapılar (siyah ok) ve epitelyal atipi (beyaz ok) (H.E. X400)	42
Şekil 18: Doku hidroksiprolin değerleri ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	43

KISALTMALAR

TGF- β : Transforming Growth Faktör Beta

T β RI ve T β RII : TGF- β tip I ve II reseptörleri .

Gy : Gray

FSU : Fonksiyonel subünit

KPS : Karnofky performans

EMB : Ekstraselüler matriks birikimi

ACTH : Adrenokortikotropik hormon

gr : Gram

μ g : Mikrogram

1. ÖZET

Bu çalışmada baş ve boyun bölgesine radyasyon uygulanan ratlarda, halofuginon ve metilprednizolon uygulamasının geç dönemde gelişebilecek hipofarengal ve proksimal özefageal striktür üzerine etkileri araştırıldı.

Çalışma, ağırlıkları 150-250 gr arasında değişen winstar ratlarda gerçekleştirildi. Denekler rastgele 10'arlı dört gruba ayrıldı ve kontrol grubu dışında kalan tüm deneklerin baş boyun bölgesine 18 Gy radyasyon verildi. Grup 1 (Kontrol Grubu); radyasyon ve ilaç uygulanmayan grup. Grup 2 (Radyasyon Grubu); radyasyon sonrası ilaç uygulanmayan grup. Grup 3 (Halofuginon Grubu); radyasyon sonrası 30 gün boyunca 100 µg/kg/gün intraperitoneal halofuginon uygulanan grup. Grup 4 (Steroid Grubu); radyasyon sonrası 30 gün boyunca intramüsküler 1 mg/kg/gün metilprednizolon uygulanan grup. Uygulamadan sonra 90. günde tüm gruplardaki ratlar yüksek doz ketamin ile öldürülerek proksimal özefagus ve hipofarenks bölgesi anatomik bütünlüğü bozulmadan çıkartıldı. Alınan dokular, fibrozis, fibroblast proliferasyonu, vaskülarizasyon, epitelyal atipi, nekroz, polimorfonükleer lökosit, mononükleer hücre ve stenoz indeksi için ışık mikroskopisiyle incelendi. Ayrıca doku hidroksiprolin seviyeleri biyokimyasal değerlendirme ile belirlendi.

Radyasyon grubundaki fibrozis, epitelyal atipi ve hidroksiprolin değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı oranda yüksekti ($p<0.05$). Halofuginon ve kontrol grubunda fibrozise rastlanılmadı. Steroid grubundaki fibrozis oluşumu radyasyon grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Halofuginon ve steroid grubundaki epitelyal atipi derecesi ile hidroksiprolin seviyeleri radyasyon grubuna göre anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0.05$). Gruplar arasındaki stenoz indeks skoru farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Vaskülarizasyon açısından tüm gruplar benzerdi.

Sonuçlar, radyasyon sonrası uygulanan halofuginon ve steroidin, özefagus ve hipofarenkste fibrozis oluşumunu azalttığını fakat bu olayın halofuginonda daha belirgin olduğunu göstermektedir. Özellikle halofuginonun radyoterapiye bağlı fibrozisi önlemede güvenle kullanılabilecek bir tedavi alternatifi olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Radyasyon, Özefagus, Halofuginon, Fibrozis, Hidroksiprolin

2. ABSTRACT

THE EFFECTS OF METYLPREDNISOLONE AND HALOFUGINONE IN PREVENTING PROXIMAL ESOPHAGEAL AND HYPOPHARENGEAL FIBROSIS IN RATS DELIVERED RADIOTHERAPY TO THEIR HEAD AND NECK REGION

In this study we assessed the effects of halofuginone and methylprednisolone on hypopharyngeal and esophageal stricture which can be developed later following the radiation to the head and neck of the rats.

The study was carried out with the winstar rats weighted between 150-250 gr. Rats were divided randomly into four groups each consisted of 10 rats and 18 Gy radiation was given to the head and neck regions of all rats except control group. The subjects were classified as follows: Group 1 (Control Group); radiation and drug were not given. Group 2 (Radiation Group); only radiation was applied without any drug. Group 3 (Halofuginone Group); 100 µg/kg/day halofuginone was given intraperitoneally for 30 days following the radiation. Group 4 (Steroid Group); 1mg/kg/day methylprednisolone was given intramuscular for 30 days following radiation. Rats were killed by the high dose of ketamine in all groups 90 days after the radiation application and sections of proximal esophagus and hypopharynx were harvested avoiding to spoil anatomical integrity. These sections were examined for the fibrosis, fibroblast proliferation, vascularization, epithelial atypia, necrosis, polymorph nuclear leucocytes, mononuclear cells and stenosis index by light microscope and hydroxyproline levels by biochemically.

Fibrosis, epithelial atypia and hydroxyproline levels were significantly higher in radiation group compared with the control group ($p < 0,05$). We didn't observe fibrosis in both halofuginone and control groups. Fibrosis was also significantly decreased in steroid group than radiation group ($p < 0,05$). Epithelial atypia and hydroxyproline levels were decreased in both halofuginone and steroid groups compared with the radiation group ($p < 0,05$). The differences of stenosis index score between the groups were not significant statistically ($p < 0,05$). Vascularization was similar in all groups.

Results show that halofuginone and steroid application following radiation have decreased the fibrosis in esophagus and hypopharynx but this event has been more

manifest by halofuginone. We think that especially halofuginone seems as a drug which can be used safely to prevent from fibrosis.

Key Words: Radiation, Esophagues, Halofuginone, Fibrosis, Hydroxiproline

3. GİRİŞ

Baş ve boyun bölgesine radyoterapi uygulaması, bu bölgenin malignansileri için yaygın bir tedavi alternatiftir. Ne yazık ki radyasyona maruziyet sonrasında çeşitli komplikasyonlarla sık olarak karşılaşılmakta ve bu komplikasyonların çoğu radyasyon tedavisi sonrası kısa bir dönemde ortaya çıkmaktadır (1). Bununla beraber uzamış ve sistemik olan bazı etkiler, baş ve boyuna radyoterapi alan hastaların sağ kalımının artması nedeniyle daha büyük klinik öneme sahiptir (2). Sağlıklı dokunun radyasyona olan cevabı radyasyon uygulanan organa göre değişir, genellikle daha yüksek dozda radyasyon daha büyük irreversibl hasar ve fonksiyon kaybına neden olur (3).

Gastrointestinal sistemin en üst ucundaki özefagus, narin ve radyosensitif bir organdır (3). Radyoterapi süresince gözlenen akut özefajit ile geç yan etkilerden olan özefagus striktürü arasında açık bir ilişki olmadığı rapor edilmiştir. Bundan dolayı özefagusta oluşan erken ve geç komplikasyonların patofizyolojisi farklılık gösterebilir (4).

Radyasyona bağlı fibrozis, yüksek dozda iyonize radyasyona terapötik ve dikkatsiz maruziyetin istenmeyen bir etkisidir. Radyasyon hasarına karşı doku tamirinde birçok faktör rol oynamaktadır. Bu faktörlerden olan Transforming Growth Faktor beta'nın (TGF- β) doku tamir mekanizmalarında kritik bir öneme sahip olduğu kanıtlanmıştır. Yapılan son çalışmalarda küçük moleküler ağırlıklı bir molekül olan Halofuginon'un TGF- β uyarılma yolunu inhibe ederek invivo olarak antifibrogenesis etkiler gösterebileceği ortaya konulmuştur (5). Fibrozis, tip 1 kollajenin artması sonucu olduğundan tip 1 kollajen sentezinin selektif inhibisyonu doku yapısını etkilemeksizin striktür oluşumunu engelleyecektir (6). Tip 1 kollajen sentezinin spesifik bir inhibitörü olan Halofuginon *Dichroa febrifuga* bitkisinden izole edilmektedir (7).

Steroidler de yan etkilerine rağmen koroziv maddelerin kazara içilmesi sonrasında kaçınılmaz olarak gelişen şiddetli sekonder striktürlerin önlenmesinde yaygın olarak kullanılmıştır (8). Deksametazon ve prednizolon benzer etki yollarına sahiptir. Her ikisi de ödem, fibrin birikimi, kapiller damarların dilatasyonu, lökosit migrasyonu, fagositik aktivite gibi inflamatuvar cevabın başlangıç safhalarını; kapiller damarların ve fibroblastların proliferasyonu, kollajen birikimi, skar oluşumu gibi inflamatuvar cevabın geç safhalarını inhibe eder. Bautista ve ark. (8) yaptıkları çalışmada tavşanlarda koroziv madde ile oluşturulan özefagus yanıklarının hemen sonrasında uygulanan metilprednizolonun striktür sıklığı ve şiddetini önemli oranda azalttığını göstermiştir.

Bataini ve ark.(9) boyuna radyoterapi uygulanan 1646 hastanın %9'unda şiddetli veya orta derecede şiddetli komplikasyonlar gözlemlemiştir ve bu komplikasyonların %3'ünün primer tümörün radyasyonundan ziyade boyundaki hastalığın tedavisinden kaynaklandığını belirtmiştir. En yaygın komplikasyonun, hipoglossal sinirin etkilendiği kranial sinir paralizileri ile beraberlik gösteren servikal bölgede yer alan dokularda fibrozis olduğu rapor edilmiştir.

Bu çalışma ile baş ve boyun bölgesine radyasyon uygulanan ratlarda geç dönemde gelişebilecek hipofarengeal ve proksimal özefageal striktürlerin gösterilmesi ve bu striktürlerin önlenmesinde etkili olabilecek tip 1 kollajen inhibitörü halofuginonun ve metilprednizolonun etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

3.1 ANATOMİ

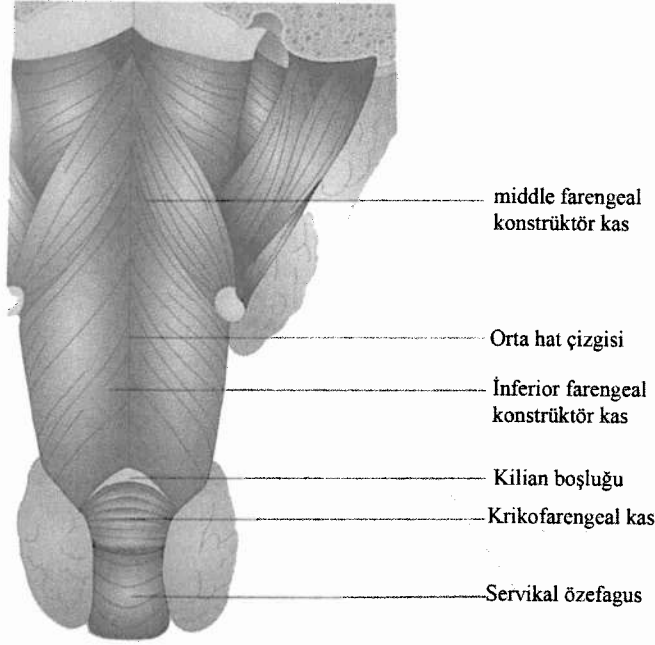
3.1.1 HIPOFARİNGS ANATOMİSİ

Hipofarenks, farenksin en alt kısmıdır, hyoid kemik ve valleküla seviyesinden üst özefageal sfinktere kadar uzanır. Büyük kısmı inferior farengeal konstrüktör kaslar tarafından oluşturulmuştur (Şekil 1). Hipofarenksin üç ayrı bölgesi vardır: Piriform sinüsler, postkrikoid veya retrokrikoaritenoid bölge ve posterior hipofarengeal duvar (10).

Piriform sinüs, süperiorda glossoepiglottik folddan başlayıp apeksi krikofarengeus seviyesinde olacak şekilde inferiora doğru uzanan bir huni şeklindedir. Lateralde tiroid lamina ve posteriorda hipofarenksin lateral duvarı ile sınırlıdır. Medial sınırı da aritenoidin lateral yüzüdür. İkinci bölge olan posterior farengeal duvar epiglotun uç kısmından çizilen bir düzlemden başlayarak (bazıları vallekula veya hiyoid seviyesi olarak tanımlar) aşağıda krikoid alt sınırına kadar uzanır. Üçüncü bölge postkrikoid bölgedir. Bu bölge ariepiglottik foldun posterior yüzünü ve krikoid kartilaj alt sınırına kadar aritenoidin posterior yüzünü içerir. Bu bölgenin hem ayna hem de direkt laringoskopi ile muayenesi çok zordur. Hipofarenksin epiteli stratifiye skuamoz epiteldir ve süperiorda tirohiyoid membrandan geçerek süperior ve orta juguler nodlara ulaşan zengin bir submukozal lenfatik ağı sahiptir. İnferiorda lenfatikler paratrakeal lenf nodlarına drene olurlar (11).

Hipofarenkste süperior ve orta konstrüktör kasların motor innervasyonu süperior farengeal sinir ve vagus ile glossofarengeal sinirlerin farengeal dallarıyla sağlanır. İnferior konstrüktör kasın innervasyonu vagusun rekürren ve eksternal dallarından sağlanır. Piriform sinüsün duyusal innervasyonu süperior larengeal sinirin

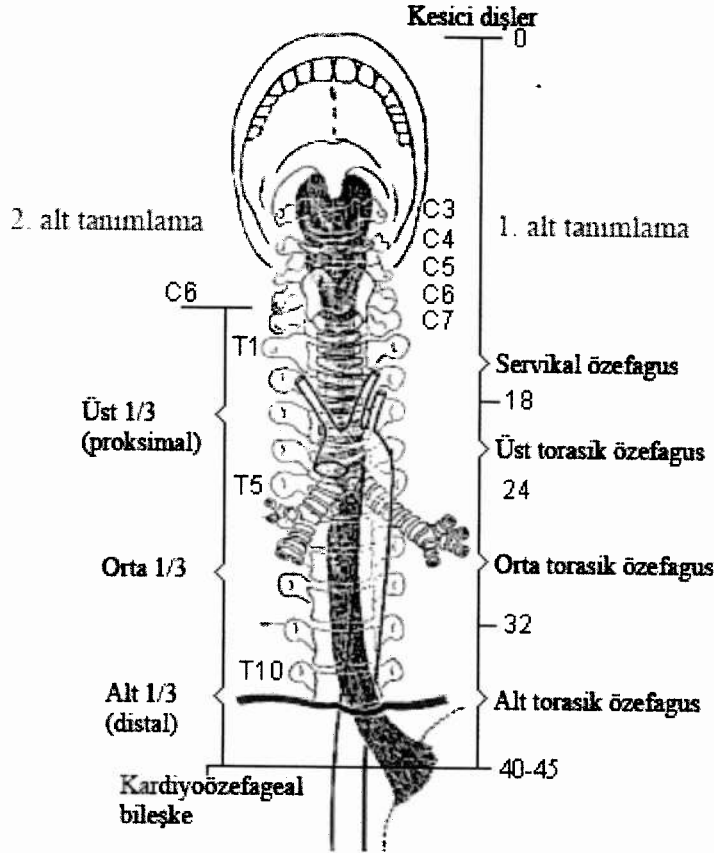
internal dalından sağlanır. Bu karmaşık müsküler koordinasyon bu bölgedeki büyük cerrahi rekonstrüksiyon sonucu bozulursa larengeal sfinkterin intakt olduğu durumlarda bile şiddetli aspirasyon meydana gelebilir (11).



şekil 1: Hipofarenks anatomisi

3.1.2 ÖZEFAGUS ANATOMİSİ

Özefagus, mide ile hipofarenks arasında uzanan gastrointestinal sistemin tp şeklindeki en dar organıdır. Servikal 6. vertebra seviyesinde krikoid kıkırdağın alt kenarı hizasından başlar, sternumun insisura jugularisi seviyesinde göğüs içine girer. Onuncu torasik vertebra hizasında diafragmadaki özefageal hiatustan geçer ve 12. torasik vertebra hizasında zefagogastrik birleşim yerinde sonlanır (12). Uzunluğu erişkinlerde 22-28 (24 ± 5) cm' dir. Bunun 4-6 cm'si servikal, 16-18 cm'si torasik, 1-1.5 cm'si diafragmatik ve 1-3 cm' si abdominal zefagustur (13). Özefagus başlangıçta tam orta hattadır. Aşağı inerken iki hafif kıvrım yapar. Boyun köküne doğru sola kıvrılırken 5. torakal vertebra seviyesinde tekrar orta hatta geçer. Hiatus özefagusa yaklaştığında ne ve sola döner. Sagital düzlemde de kolumna vertebralisin servikal ve torakal parçalarının kıvrımlarına uyarak ön-arka yönde hafif kıvrımlar gösterir (şekil 2).



Şekil 2: Özefagus anatomisi

Özefagusun iki sfinkteri vardır: Birincisi kesici dişlerden itibaren 14-16. cm'de, ikincisi (mide girişinin üzerinde) kesici dişlerden itibaren 40-45. cm arasındadır (12). Özefagusun çapı dört noktada daralma gösterir. İlk darlık musculus krikofaringeus hizasında, ikinci darlık arkus aortanın çaprazladığı hizada, üçüncü darlık sol ana bronşun özefagusu çaprazladığı bölgede ve son darlık ta diafragmayı geçtiği kısma denk gelmektedir (14, 15).

Özefagus, içten (lümenden) dışa doğru tunika mukoza, tela submukoza, tunika muskularis ve tunika adventisya olmak üzere dört tabakadan oluşmuştur (15). Özefagus lümeni çok katlı yassı epitelle kaplıdır. Tunika mukozanın lümene bakan çok katlı epitel tabakasının altında muskularis mukoza denen longitudinal düz kaslardan oluşmuş bir katı daha vardır. Tela submukoza tabakası mukoza ve musküler tabakalarını gevşek bir

şekilde bağlar. Kan damarları, sinirler ve müköz bezler içerir. Sinirler bu tabakada Meissner pleksusu'nu yaparlar (14).

Tunika muskularis dışta longitudinal ve içte sirküler kas liflerinden meydana gelmiştir. Longitudinal lifler başlangıçta üç demet halinde sıralanırlar. Birincisi tendo kriko özefagus aracılığı ile krikoid laminasının arka yüzüne tutunur. Yandakiler farinksin kas liflerine karışırlar ve özefagusun dış yüzünü sararlar. Longitudinal lifler üst uca yakın, özefagusun arkasında "V" şeklinde yanlara çekilirler. Bu "V" nin üst açıklığı musculus krikofaringeus tarafından kapatılır ve bir üçgen durumunu alır. Laimer üçgeni adı verilen bu üçgenin döşemesinde yalnızca sirküler lifler vardır ve burası özefagus duvarının en zayıf noktalarından biridir. Sirküler lifler yukarıda musculus krikofaringeus lifleri ile karışırlar. Özefagusun üst ve alt kısımlarında kas liflerinin yönleri tam transvers, orta kısmında ise obliktir. Özefagusun üst kısmındaki lifler çizgili kas lifleri, orta kısmındaki lifler düz-çizgili karışık kas lifleri, alt kısmındaki lifler ise düz kas lifleridir. Tunika adventisya ince ve gevşek bağ dokusundan yapılmıştır (16).

Özefagus 1/3 üst bölümü subklavian arterin dalı olan inferior tiroid arterden beslenir. 1/3 orta bölümü direkt olarak torasik aortadan çıkan, sayıları 2-3 tane olan dallarla; 1/3 alt bölümü ise trunkus çöliakustan çıkan sol gastrik arterin özefageal dalından beslenir (16).

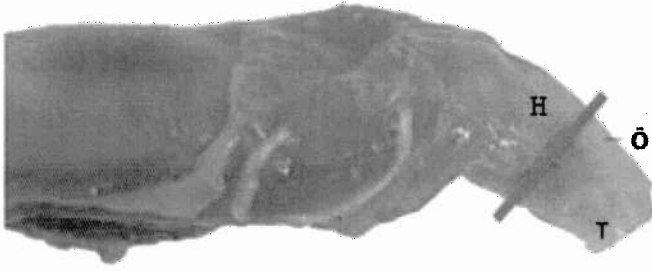
Tela submukozada ve özefagusun dışında olmak üzere iki ven ağı vardır. 1/3 üst kısmının venöz drenajı inferior tiroidal ven aracılığı ile subklavian vene, 1/3 orta kısmının drenajı sağda azigos veni ve solda ise hemiazigos veni aracılığı ile vena kava superiora olur. 1/3 alt kısmı ise vena gastrika sinistra aracılığı ile vena portaya dökülür (16).

Servikal özefagusun lenfatik drenajı paratrakeal, jugularis interna ve preklaviküler lenf nodlarına; torasik özefagusun ise paratrakeal, trakeobronşial bifurkasyon etrafındaki lenf nodlarına, jukstaözefageal ve inter aortiko-özefageal lenf nodlarına; abdominal özefagusun ise gastrik superior, perikardiak ve inferior diaframatik lenf nodlarına olur (17).

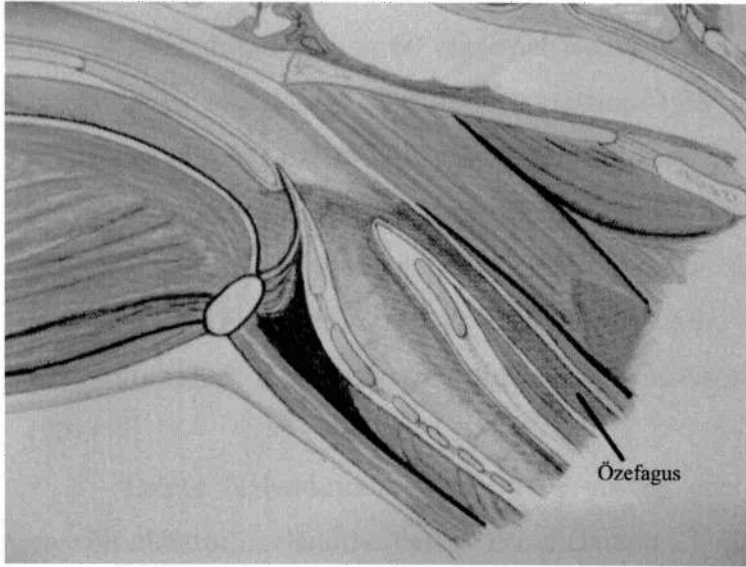
Parasempatik ve sempatik sinir lifleri n. vagustan gelir. Özefagusun ekstraözefageal innervasyonu sempatik sinirlerle olur. Bunlar servikal ve torasik sempatik zincirden gelir. İntraözefageal innervasyonu ise özefagusun longitudinal ve sirküler kas tabakaları arasındaki ganglionları (Auerbach pleksusu) ve submukozadaki (Meissner pleksusu) ganglionları aracılığı ile olur (12).

3.1.3 RAT ÖZEFAGUS ANATOMİSİ

Özefagus iç yüzü keratinize epitelle örtülüdür ve yaklaşık 75 mm uzunluğundadır. Özefagus trakea arkasından ilerleyip toraksı geçer ve diyafram altında yaklaşık 15 mm gidip mideye küçük kurvatürden girer. Dış çapı ortalama 2 mm'dir. Mideye girdiği noktadaki katlantı bir kapakçık gibi görev yapar ve kusmayı önler (Şekil 3,4).



Şekil 3: Rat özefagus girişi (Ö) ve hipofarenks (H) anatomisi



Şekil 4: Rat özefagus anatomisi

3.2 RADYOTERAPİ

Radyoterapi iyonizan radyasyonun kanserlere ve bazı kanser dışı hastalıklara yönelik olarak kullanıldığı bir tedavi yöntemidir. 19'uncu yüzyılın sonlarında 1898 yılında Curie'nin radyumu keşfetmesinin üzerinden 10 yıl bile geçmeden radyoterapi kanser tedavisinde etkin ve yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Radyoterapi en sık olarak x-ışınları ya da gamma ışınları gibi yüksek enerjili foton ışınları ve elektron ışınları kullanılarak uygulanmaktadır. X-ışınları ile gamma ışınları arasında sadece kökenleri yönünden farklılık vardır. Gamma ışınları uyarılmış ve durağan halde olmayan çekirdeklerin durağan hale geçmeye çalışması sırasında elde edilirken; X-ışınları yüksek hareket enerjilerine sahip olan elektronların yavaşlatılması yoluyla elde edilmektedir. Eksternal radyoterapi, ışın demetlerinin hastalara belli bir uzaklıktan yönlendirilmesi yoluyla yapılan radyoterapidir. Günümüzde eksternal radyoterapi uygulamalarında doğal bir radyoaktif kaynak içeren Kobalt-60 cihazlarından elde edilen gamma ışınları ya da herhangi bir radyoaktif kaynak içermeyen lineer hızlandırıcılardan elde edilen x-ışınları kullanılmaktadır (18,19).

Kobalt 60 (Co 60) kaynaklı teleterapi cihazları gelişmekte olan ülkeler için ideal kanser tedavi cihazları olduklarından ülkemizde de oldukça yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Kobalt 60 eksternal tedavi cihazları radyasyon kaynağı olarak Co 60 kullanan cihazlardır. Kobalt-60, ortalama 1.25 MeV gamma ışıması yapan ve yarılanma ömrü (aktivitesinin yarı değere düşmesi için geçen süre) 5.26 yıl olan bir radyoaktif maddedir. Sürekli ışıma yaptığı için kaynağın özel yöntemlerle zırhlanması gerekir. Kobalt-60 makineleri 10 cm'ye kadar derinlikte yerleşmiş tümörlerin tedavisinde kullanılabilirler. Cilt dozları yüksektir. Belirli bir radyasyon dozunun tümöre ulaşması için ışınlar cilt, cilt altı ve yolu üzerindeki normal dokulardan geçer (20).

Lineer hızlandırıcılar elektron ve yüksek enerjili x-ışınları üretebilen yüksek enerjili elektron hızlandırıcılarıdır. Bu cihazlarla Co 60 cihazlarına göre daha homojen ve keskin kenarlı ışın elde etmek mümkündür. Kullanım alanları kobalt cihazlarına göre daha geniştir. Ancak maliyeti yüksek olup bakımı güç ve masraflıdır (20).

Radyasyon aktivitesi, absorbe doz, doz eşdeğeri ve doz miktarı ile ilgili yeni radyasyon birimleri 1960 yılında uluslararası birim sistemi olarak benimsenmiştir (Tablo 1). Absorbe doz birimi Gray (Gy) bir kg doku tarafından elde edilen bir joule'llük enerjidir (1Gy = 100 Rad) (20).

Tablo 1: Radyasyon birimleri

	Yeni Birim	Eski Birim	İlişki
Absorbe doz	Gray (Gy)	Rad	1Gy = 100 Rad
	1 Gy= 1J/kg		1Rad = 0.01 Gy
			Gy = 1cGy

Çeşitli radyoterapi araştırmaları sonucunda geliştirilen "Konvansiyonel Fraksiyonasyon" yönteminde 1.8-2.0 Gy'lik günlük dozlarla günde 1 kez ve haftada 5 gün yapılan tedavi anlaşılr. Bu dozlar uzun araştırmalar sonucu bulunmuş, hastaya en az zarar veren etkili doz-zaman-fraksiyon şemalarıdır. Değişik doz ve fraksiyon şemaları ile farklı etkiler elde etmek mümkündür. Hangi fraksiyon kullanılırsa kullanılsın tümör hücrelerinin ölümü, hücrelerin radyoduyarlılığına ve yaşayan hücrelerin proliferasyonuna bağlıdır. En iyi tedavi stratejisi en kısa sürede, tolere edilebilir akut reaksiyonlarla, geç cevap veren normal dokuların maksimum tolerans dozunu elde etmektir (18,21).

3.2.1 RADYOTERAPİNİN DOKULAR ÜZERİNE ETKİLERİ

İnsan ve hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalar, normal dokuların iyonizan radyasyona karşı çok farklı hassasiyetlerde olduğunu göstermiştir. Radyasyonun etkileri günler, aylar hatta yıllar sonra ortaya çıkabilir. Bunlar sırasıyla akut, subakut ve geç etkiler olarak isimlendirilir (18,22-24). Radyoterapinin başlangıcından itibaren akut etkiler görülmektedir. Ancak subakut ve kronik etkileri zamana bağlı olarak ayırmak oldukça zordur. Medikal tedaviyle veya spontan olarak akut dönem etkileri iyileşebilirken subakut etkiler kısmen iyileşebilmektedir, kronik etkiler ise kalıcı olmaktadır (25).

Akut etkiler : Bu etkiler bazı dokularda radyasyondan sonra bir kaç saat içinde ya da bir veya birkaç gün gibi kısa sürede ortaya çıkar. Böyle radyasyona akut cevap veren dokular arasında kemik iliği, testis, lenf nodülleri, tükrük bezleri, ince bağırsak, ağız mukozası, larinks, özefagus, cilt ve kapillerler sayılabilir. Akut etkiler genellikle ödemle karakterize değişikliklerdir (26).

Subakut etkiler : Bazı dokularda radyasyon hasarı haftalar veya aylar içinde ortaya çıkar. Subakut cevap veren dokular arasında karaciğer, böbrek, kalp, medulla

spinalis ve beyin sayılabilir. Bu dönemde ödem gerilerken, fibrotik değişiklikler belirmeye başlar (20,26).

Geç etkiler : Yeterli radyoterapi dozu alan bütün dokularda geç etkiler ortaya çıkar. Bazı dokularda akut etkiler görülse bile çok belirgin olmadığı için bu dokularda geç cevaplar oluşur (20).

Radyoprotektör ajanlar adı verilen radyasyonun biyolojik yan etkilerini azaltan bazı kimyasal ilaçlar söz konusudur. Bu ilaçların yan etkileri nedeniyle kullanımları kısıtlıdır ve halen bu ilaçlarla ilgili araştırmalar sürmektedir. WR 2721 baş-boyun tümörlerinin radyoterapisinde tükrük bezlerini ve kemikliliğini çok iyi korur ancak kan-beyin bariyerini geçmemesi nedeniyle beyin üzerine etkisi yoktur (18).

Radyasyondan etkilenme, alınan doza maruz kalma süresi, radyasyon alan sahanın genişliği, radyasyonun cinsi, radyasyon alan kişinin yaşı, metabolizması gibi birçok faktöre bağlı olarak değişir (18,27).

3.2.1.1 Normal Dokularda Radyoterapiye Bağlı Akut ve Geç Etkiler

Bir organın klinik seyrini anlamak için doku ve organ hücrelerinin fizyolojik düzenlenmesinin, organların fonksiyonel elemanlarının ve bunların yenilenme kapasitesinin, damar ve parankim yapısının nasıl olduğuna ilişkin bağlantıların anlaşılmasına ihtiyaç vardır. Doku ve organların hücresel düzenlemesi veya bunların radyo-kemo duyarlılıklarının incelenmesinde, major parankimal hücrelerin hareketlerine, kök hücrelerin gücü ve mitotik davranışının kapsamlı şekilde incelenmesine ihtiyaç duyulur (28,29).

Fonksiyonel subünit (FSU); yaşayan bir klonojenik hücrenin yeterli yenilenmesini sağlayan, hücrenin en büyük elemanı olarak tanımlanır. FSU'nun sınıflandırılmasına göre organlar kritik elemanlara bölünmüştür. Bu organ modelinde FSU birbirine paralel ve birbirine benzer seri şekilde düzenlenmiştir. Spinal kord ve barsak gibi organların bir kısmının nekroze olması, tüm sistemde fonksiyon kaybına neden olur, herhangi bir hacim kaybı zararlıdır. Bununla beraber böbrek, akciğer, karaciğer gibi birbirine benzer yapıdaki organlarda hacimlerin inaktivasyonu sonucu oluşan zararlar bu dokuların hipertrofi ve proliferasyon kapasiteleri ile karşılanabilirler. Normal doku komplikasyonları muhtemelen hücrelerin her bir FSU'nun artışı ile azalır ve radyasyon uygulanan alanın büyüklüğü arttıkça normal doku komplikasyonları farklı organ serilerinde benzerlik gösterir (28,29). Kök hücreler zarar görmediği zaman dokuların tamiri ve parankimal hücrelerin yeniden oluşması mümkündür. Cilt, kan dokusu,

mukoza vb. hızlı yenilenen sistemlerde ilk önce kök hücreleri ölür. Radyasyon zararının oluşumundan önceki bu süreç latent periyodun süresini belirler. Yavaş çoğalan veya çoğalmayan hücre sistemlerinden oluşan doku ve organlar hakim olarak fonksiyonel matür hücrelerden oluşurlar, bunlar akut zarar görmeyizler. Buna karşılık majör etki mikrodolaşımda görülür, doz süresinin artışı doku nekrozuna yol açar. Fonksiyonel hücreler genellikle diferansiyedir ve mitotik aktivitesi yetersizdir. Akut etkiler, radyasyona maruz kalan hedef hücrelerin yok edilmesiyle ortaya çıkar (30).

Işınlama sonrası geç etkilerde; inflamasyon, immünite, metabolizma ve koagülasyonda rolü olan endotel hücreleri, özellikle mikrodolaşımdaki endotel hücreleri çok önemlidir. Endotel hücrelerin şişmesi daralarak tıkanmaya, kan akışının engellenmesine ve endotel hücrelerin rejenerasyonuna yol açar. Normal endotel hücrelerde 3H-Tymidine Labelin index %1'den azdır. Bu durum aylar sonra ortaya çıkan görünür endotel zararı ve bunu hiperplazi ile karşılayan kısmi dağılımı açıklar (30).

Geç etkilerin oluşumu ve ilerlemesinde kök hücrelerin kaybolması, yaşlanması, mikrodolaşımdaki zarar oluşumu ile birlikte moleküler mekanizmalar ve sitokin kaskadı da hayati rol oynar. Majör sitokin kategorisinde (interferon, sitotoksik faktörler, interlökin, inflamasyon sitokinleri ve transforming growth faktörler) vardır (30). Bunlar arasında Growth Faktörler- β 1 dönüşümünün bu fibrotik programın temel anahtarı olduğu kabul edilir. TGF- β 'nin fibroblastların fibrozisinde özellikle "smad transduction" yolunun aktivasyonunda rol aldığı belirlenmiştir. Fibrotik dokularda miyofibroblastların kronik aktivasyonlarının başlangıç yeri henüz çözömlenmemiş ana problemlerden biridir. Aktive eden faktörlerin sürekli üretimi kronik aktivasyon cevabı için gereklidir (31).

3.2.2 RADYOTERAPİ SONRASI GEÇ LEZYONLARIN HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Radyasyonun geç dönemde oluşturduğu etkiler; çeşitli organların parankim, epitel, stroma ve damar yapılarında oluşturduğu histopatolojik değerlendirmelerle açıklanabilir.

3.2.2.1 Epitelyal ve Parankimal Lezyonlar

Atrofi: Atrofi tüm epitel örtüde olduğu kadar, tüm glandlarda oluşabilir. Böbrek, akciğer, gonadlar gibi parankimatöz dokuları da etkiler. Etkilenme türüne göre bu

dokular üç gruba ayrılabilirler. Ciddi atrofi; testislerin germinal hücreleri ve tükrük bezleri, ürotelyum, sindirim sistemi epiteli'nde özellikle ince barsak, yağ bezleri, deride daha çok görülür. Orta derecede atrofi; üst sindirim ve solunum yolu epitelinde, akciğer, meme bezleri, prostat ve böbrekte oluşur. Hafif atrofi; ter bezleri, karaciğer ve endokrin glandlarda oluşur (32).

Nekrozis: Genellikle altta yatan neden iskemidir. Cilt, üst sindirim ve solunum yolları, genitoüriner sistem ve ince barsak epitelinde değişen derecede düzenin bozulmasına neden olur. SSS'nin özellikle serebral hemisferin veya spinal kordun beyaz cevheri gecikmiş lezyonların en karakteristik yerlerinden biridir. SSS'nin radyonekrozisi koagülatif tiptedir. Normal nötrofillerin yerini asidofil agranüler materyal alır bazı alanlarda lipofaj sıklıkla bulunur. Bu alanlarda aynı zamanda fokal demiyelinizasyon mevcuttur (32).

Atipi: Genellikle geç oluşan reaksiyonlarda epitel hücrelerindeki atipi dikkat çekici değildir. Aynı zamanda nedeninin karıştırılmasına ve yanlışlıklara neden olur. Çekirdek ve stoplazmanın her ikisi de etkilenebilir. Sıklıkla bireylerin hücrelerindeki çekirdek ve sitoplazma hacimce büyümüşlerdir. Çekirdek ve çekirdekçik hiperkromatiktir. Atipi epidermiste, skuamöz mukozalarda, bronş ve akciğer alveollerinde, mide, küçük tükrük bezleri, endometriyum, ürotelyum, meme bezleri ve prostatta gözlenir (32).

Displazi: Radyasyonun epitelde yol açtığı displazi, epidermiste, skuamöz mukozada ve nonskuamöz epitelde nadirdir. Genellikle birkaç ay veya yıl sonra meydana gelen geç lezyonlar çekirdek atipisi ile hiperkromatizm, kutuplaşmanın olmaması, büyümüş hücre klonlarının işin içine girmesi ve yapısal değişiklikleri ile karakterizedir. Displazi erken tanımlanan benign atipinden ayırt edilmeli ve premalignensi göz önünde bulundurulmalıdır. Cilt ve skuamöz mukozada neoplazi yıllar sonra displaziyi takiben ortaya çıkabilir (32).

Neoplazi: Işınlanan birçok alanda gözlenen tümör oluşumu çok önemlidir ancak büyük oranda morfolojik olarak farklı değildir. İlginç olarak belli başlı organlar içerisinde radyasyon herhangi bir tipin değil, sadece belirli tip tümörlerin oluşumuna yol açar (32).

3.2.2.2 Stromal Lezyonlar

Genital, ağız, farinks, larinksin derin yumuşak dokularında ve submukozasında çok tipik kombine özellikler tanımlanmıştır. Tipik stromal lezyonlar cilt ve aşağı üriner yolda görülür. Geç radyasyon zararının karakteristik özelliği olan fibrozis'le birlikte

atipik fibroblastların varlığı gibi stromal özelliklere parankimatöz organlarda (akciğer, böbrek vs.) nadiren rastlanır (32).

Fibrozis: Fibrozis, sıklıkla doku kontraksiyonu ve organ fonksiyon kaybıyla sonuçlanan normal doku komponentlerinin yerini matriks ve çeşitli kollajen fibrillerinin alması ve obliterasyonu olarak tanımlanır. Radyasyonun geç etkileri ile ilişkili olan yaygın özelliklerden biridir. Fibrozis hemen hemen tüm doku ve organlarda oluşur. Fibrozis şiddeti, doz ile zaman faktörüne bağlıdır. Ancak fibrozisin yaygınlığı ve ciddiyeti alandan alana değişir. Tipik olarak radyasyonun yolaçtığı fibrozis non homojendir. Bazı alanlar çok yoğun asellüler kollajen içerir (32). Herhangi bir dokunun yeterince yüksek bir dozda iyonize radyasyona maruziyeti genel olarak hücre kaybına ve fibroze neden olur. Hücresel seviyede radyasyona bağlı ölüme neden olan moleküler hedef DNA dır (33,34). Doku seviyesinde iyonize radyasyonun etkileri direkt hasar ve DNA hasarına bağlı hücre ölümüyle sınırlı değildir. Bir travmaya karşı ciltte oluşan yara şeklindeki cevaba benzer olarak iyonize radyasyona karşı da ciltte aynı şekilde kompleks bir cevap oluşturan çok farklı hücresel komponentler vardır. Travmaya bağlı bir yarada plateletler ve diğer hücreler dolaşımdan hasarlı dokuya göç ederek fibrozis olmaksızın bir tamir sürecini oluştururlar. Bunun tersine yüksek doz radyasyon, hücresel hasara neden olur. Eğer ülserasyon ve nekrozis olmazsa sonrasında kaçınılmaz olarak fonksiyonel olmayan tamir ve fibroze neden olacak şekilde sitokin ve growth faktöre bağlı sinyal yolu tetiklenir (35-37).

Radyasyona maruz kalmış dokularda tümör nekrotizan faktör- α , interlekin-1, platelet-kaynaklı growth faktör, fibroblast growth faktör ve transforming growth faktör- β (TGF- β) gibi çeşitli sitokinlerin arttığı gösterilmiştir (38). Radyasyon sonrası TGF- β salınımı devamlı olan bir durumdur. TGF- β seviyeleri radyasyon uygulaması sonrasında 6 saat gibi kısa bir sürede artar ve 20 yıl kadar fibrotik dokularda artmış olarak kalır (39,40). TGF- β , radyasyon sonrası birkez aktive olduktan sonra radyasyona bağlı fibroze yol açan birtakım hücresel olayları başlatan en önemli sitokindir (41). TGF- β 'nın nötrofilleri ve makrofajları aktive eden kemotaktik özellikleri vardır. Aktive olmuş makrofajlar TGF- β 'nın kendisini de içeren birtakım sitokinleri salgılayabilirler ve bu sitokinler matriks proteinleri salgılamaları için fibroblastları stimüle ederek fibrozis oluşumuna neden olurlar. TGF- β , serin/treonin kinaz transmembran reseptörünü, TGF- β tip I ve II reseptörlerini (sırasıyla T β RI ve T β RII) aktive eden sinyal-transdüser ligand ailesinin bir üyesidir. Bunlar da Smad2 ve Smad3'ü aktive eder (42-44).

3.2.2.3 Damarsal Lezyonlar

Kan kapillerleri ve sinüzoidler vücudun en küçük çaplı damarları olup damar duvarlarının önemli bir kısmını oluşturan endotel hücreleri nedeniyle RT'den çok etkilenirler (32).

Küçük arterler, dış çapının ölçümü 100 μm 'in altında olan arterlerdir. Bu arterlerin duvarları ince bir kas tabakasından oluşur ve burada nadiren geç dönem nekrozu gelişebilir (beyin arterlerinin fibrinoid nekrozu gibi). Subendotelyal veya adventisyal fibrozis, media hiyalinizasyonu, intimada lipid yüklü makrofajlar sık görülür (32).

Orta büyüklükteki arterlerin dış çapı 100 μm -500 μm arasındadır. Bu arterlerde geç dönemde intimal fibrozis, fibroblast ve kollajen birikmesiyle karakterizedir. Küçük ve orta büyüklükteki arterlerde lipid yüklü makrofajların görülmesi akla radyasyon hasarını getirir. Bunlar sıklıkla ince barsak ve overin duvarında oluşurlar. Geç lezyonlarda vaskülit nadiren oluşsa da hücrel eksuda bulunmaz veya çok azdır. Vaskülitte hakim hücre lenfositlerdir. Radyasyonun yol açtığı vaskülitin ilerlemeyip sınırlı kaldığına ve tedavisiz iyileştiğine inanılır (32).

Büyük çaplı arterlerin dış çapı ise 500 μm 'den büyüktür. Geniş lümenli, kalın duvarlı, radyasyona daha dirençli hücrelerden oluştuğu için küçük damarlara göre radyasyondan daha az etkilenir. Bununla birlikte miyointimal proliferasyon, tromboz, oluşumu ve rüptürleri görülebilir. Yüksek doz ışınlamaları tek başına arter yırtılmasına yol açabilir. Küçük venler; birkaç kas tabakası içermesine rağmen benzer çaplı arterlerden daha dirençlidirler. Büyük venler; radyasyondan en az etkilenen damarlar olup tümörler tarafından sıklıkla tutulurlar. Işınlama sonrası transmural skar oluşumu gözlenir (32).

3.2.3 RADYOTERAPİDE ORGAN TOLERANS DOZU VE HACMİ

Organ toleransı, ilgili kök hücre alt gruplarının radyoduyarlılığı, rejenerasyon kapasitesi ve ışınlanan volüm ile ilgilidir (Tablo 2). Tolerans volümü, tolerans dozu gibi tanımlanmalıdır. Tedavi volümünün artışı tolerans dozunu azaltır (28,29).

Baş boyun bölgesindeki yapıların her biri için, doza bağlı radyasyon dayanıklılık sınırları belirlenmiştir. Beş yıl için %5 toksisite doz sınırı TD5/5 ve %50 toksisite doz sınırı TD50/5 değerleri farklılık göstermektedir. Doku ve organ toksisitelerini değiştiren başlıca faktör olan, radyoterapinin tek doz veya fraksiyone verilmesi ile doku yada organın kısmen veya bütün olarak radyasyondan etkilenmesi önemle vurgulanmaktadır.

Baş boyun bölgesinde yer alan temel organ ve dokulara ait TD5/5 ve TD50/5 değerleri tablo 3'te gösterilmektedir (25).

Tablo 2: Baş-boyun bölgesi organlarına ait radyoterapi tolerans dozları (45).

Organ-Doku	Tek doz uygulama Doz (Gy)	Fraksiyone doz uygulama Doz (Gy)
Lenfoid dokular	2-5	40-50
Kemik iliği	15-20	40-50
Göz (lens)	2-10	06.Ara
Mukoza	5-20	65-77
Deri	15-20	30-40
Damar ve konnektif doku	10-20	50-60
Periferik sinirler	15-20	65-77
Spinal kord	15-20	50-60
Beyin	15-25	60-70
Kemik ve kıkırdak	>30	>70
Kas	>30	>70
		30-40

Tablo 3: Tedavi amaçlı normal dokuların toleransı (45)

Organlar	TD 5/5			TD 50/5			Sonuçlar
	1/3	2/3	3/3	1/3	2/3	3/3	
Böbrek	50Gy	30	23	--	40	28	Klinik nefrit
Beyin	60Gy	50	45	75	65	60	Nekroz, infarkt
Beyin Sapı	60	53	50	--	--	65	Nekroz, infarkt
Medulla Spinalis	5cm:50	10cm:50	20cm:47	5cm:70	10 cm:70	20 cm	Miyelit, nekroz
Akciğer	45	30	17,5	65	40	24,5	Pnömoni
Kalp	60	45	40	70	55	50	Perikardit
Özefagus	60	58	55	72	70	68	Klinik striktür perforasyon
Mide	50	55	50	70	67	65	Ülserasyon
İnce Barsak	50		40	60		55	Obstrüksiyon perforasyon, fistül
Kalın Barsak	55		45	65		55	Obstrüksiyon, perforasyon, ülserasyon, fistül
Rektum	Volüm 100 cm3		60	Volüm 100 cml		88	Ciddi proktit nekroz, fistül
Karaciğer	50	35	30	55	45	40	Karaciber yetmezliği

TD 5/5= Tedavi edilen hastaların % 5'inde tedaviden sonraki 5 yıl içinde ciddi komplikasyon gelişme riski.

TD 50/5= Tedavi edilen hastaların % 50'sinde tedaviden sonraki 5 yıl içinde ciddi komplikasyon gelişme riski

3.2.4 RADYOTERAPİYE BAĞLI BAŞ VE BOYUN BÖLGESİNDEKİ NORMAL DOKU REAKSİYONLARININ KLİNİK İNCELEMESİ

RT etkileri akut (erken) ve kronik (geç) olmak üzere iki grupta incelenebilir. Akut yan etkiler tedavinin 1. gününden 90. gününe kadar olan etkilerdir. RT etkileri ışınlanan primer kanser bölgesinin içinde bulunduğu organ sistemlerine göre veya primer kanser bölgesindeki normal doku ve organlara göre sınıflandırılarak incelenebilir (30).

Baş boyun bölgesi anatomik, fizyolojik ve histolojik olarak, organizmanın diğer bölgelerinden farklılık göstermektedir. Bölgede yer alan başlıca yapılar, deri, deri altı dokuları, kemik, eklem, kas ve yumuşak dokular, mukoza, tükürük bezleri, diş, dişeti, merkezi ve periferik nörolojik sisteme ait dokular, endokrin sistem ve bunlara ait bez dokuları, duyu organları, lenfatik ve vasküler dokular ile solunum ve sindirim sistemlerinin başlangıç organlarıdır. Bölgede gelişen kanser ve uygulanan tedaviler başlıca bu organ ve dokular üzerine etkili olmaktadır (46) (Tablo 4).

Tablo 4: Radyasyonun baş - boyun bölgesindeki etkileri

Yer	Akut veya Subakut	Geç Değişiklikler
Gözler	Korneal ülserasyon Konjunktival inflamasyon	Katarakt (tek doz 2 Gy veya fraksiyonel 11 Gy)
Kulaklar	Otitis media (30 Gy)	Sağırılık (>60 Gy)
Dil	Tat kaybı (30 Gy)	Menier sendromu (60 Gy)
Ağız	Ağrılı mukozit (40 Gy)	Mukozal ülser (60 Gy)
Tükürük Bezleri	Tükürükte azalma (20 Gy) Akut siyaladenit (10 Gy)	Kalıcı ağız kuruluğu (50-60 Gy)
Mandibula		Osteonekroz (60 Gy)

3.2.4.1 Radyoterapinin Üst Sindirim ve Solunum Sistemi Üzerine Etkisi

En sık görülen etki mukozit tablosudur. Akut mukozit, mukoza stem hücrelerinin yok olması ve geçiş hücrelerinin çoğalma inhibisyonuna bağlı gelişen skuamöz epitel

hipoplazi sonucunda meydana gelir (46). Oral mukozanın bazal tabakalarındaki hızlıca bölünen hücreler radyoterapiden etkilenir. Hücrelerin içi boşalır ve mukoza kızamık bir hal alır. Hücre rejenerasyonu, hücre ölümünden geri kalabilir. Düzensiz veya pseudomembranöz mukozitler varken kısmen veya tamamen mukozal açılmalar gelişir. Radyoterapinin ikinci haftasından itibaren görülen mukozit ilerleyince eritem ve ülseratif lezyonlar, yutma güçlüğü gelişir, ağrı ve huzursuzluğa neden olur. Bu değişiklikler sadece oral hijyenin bozulmasını ve beslenmeyi etkilemekle kalmaz, bazı şiddetli vakalarda bakteriyemi hatta sepsise bile neden olur. Baş, boyun radyoterapisi alan hastalarda tat duygusunun kaybı sıkıntılı bir sorundur (47). Tat duyusundaki değişiklikler genellikle toplam 10-20 Gy radyoterapi alan hastalarda olur. Bu durum, genellikle 12 haftadan sonra geriye döner. Mukozit ise tedavi bitiminden 2-3 hafta sonra, yaşamını sürdürebilen birkaç mukozal stem hücrenin çoğalmasıyla iyileşir (48,49). Ciddi akut reaksiyonlar, uygulanan dozun şiddeti ile orantılıdır. Bu durum akut radyasyon etkilerinin latent periyodunun kısalmasına yol açar. Epitel ve diğer (H tipi) hızlı yenilenen normal dokularda oluşan akut reaksiyonların derecesini, yaşamını sürdüren kök hücrelerin yeniden çoğalma hızı ve ölen hücreler arasındaki dengeye bağlıdır. Kök hücrelerdeki yetersizlik akut reaksiyonların iyileşmesini geciktirip geç zararlar oluşmasına yol açabilir (50).

3.2.4.2 Radyoterapinin Deri Üzerine Etkisi

Yüksek enerjili fotonlar kullanıldığında cilt kritik bir organ değildir. Co60 ile yapılan ışınlamalarda ve özellikle düşük enerjili X ışınları kullanıldığında cilt reaksiyonları çok artar. Akut radyodermis radyoterapinin üçüncü haftasında (yaklaşık 25Gy) tüy dökülmesi ile başlar. Dördüncü haftada eritem ve ödem, beşinci haftada (45 Gy) kuru deskuamasyon ve daha ciddi olan yaş deskuamasyon ile karakterizedir. Bu tahribatların derecesi büyük ölçüde doz hızı faktörüne bağlıdır. Kronik radyodermis ve fibrozis 60 Gy'den sonra görülür. Cilt hücrelerinin kinetik aktivitesi mukozal hücrelerden düşüktür (51,52).

3.2.4.3 Radyoterapinin Tükürük Bezleri Üzerine Etkisi

Tükürük ve tükürük proteinleri ağız içinde koruyucu etki (antibakteriyel) yaparlar. Ayrıca tükürük proteinleri ve bakteriler arasında hidrofobik, elektrostatik ve iyonik yönden ilişki vardır. Tükürük yumuşak dokuları korur, yüzeyin nemlenmesini ve akışkanlığını sağlar. Bu durum virüslere ve karsinojenlere karşı koruyucu etki sağlar.

Müsin dokuların virüsler ile enfeksiyonunu önler, yara iyileşmesine yardımcı olur ve dişler için koruyucu iyonik ortamı sağlar. pH kontrolü, tad ve aynı zamanda gastrik fizyolojide rol oynar (53). Baş boyun bölgesi tümörlerinde tedavi alanına büyük tükrük bezlerinin girmesi sonucu sorunlar ortaya çıkabilir. Parotis bezi sublingual bezden çok daha radyosensitiftir. Tükrük bezlerinde asiner duktusların harap olmasıyla proteinlerde koyulaşma meydana gelir. Salgı duktusları ödem ve inflamasyon nedeni ile büzülür. Koyu mukus kolayca lümenin akışkanlığını engeller, tükrüğün akış hızı azalır, hatta durur. Bu etkiler tedavi süresi ve doz artışı ile daha aşikar hale gelir. Özellikle ışınlama tedavisinin sonunda mukozal ülserasyon, hücre döküntüleri ve lökosit dejenerasyonunun ağız içinde birikimleri, tükrük fonksiyonlarının azalması görülür. Tükrüğün akışındaki azalma, protein ve elektrolit düzeyindeki değişiklikler ve mikrofloranın bozulması diş çürüklerine neden olur. Amilaz, radyoterapi esnasında tükrük bezi fonksiyonlarının en iyi göstergesidir. Tükrük, diş mineralizasyonuna yardımcı olan Ca ve P iyonlarının dengesine ek olarak sindirime yardımcı olur. Geç periyotta oluşan tükrük bezleri epitellerinin atrofiye olması, interlobuler fibrozis, interlobuler sklerozis ve asinilerde nekroz, tükrükteki protein düzeyinin düşmesinde çok önemlidir. Tükrüğün kalitesi ve kantitesi değişmektedir. Baş boyun bölgesinin radyoterapisine bağlı geç yan etkilerden en sık gözlenen bulgu, uyarıya yanıt vermeyen ağız kuruluğudur. Önemli bir noktada oral ışınlama sonrası en az altı ay, ağız içine müdahalede bulunulmaması gerekliliğidir (51,54).

3.2.4.4 Radyoterapinin Özefagus Üzerine Etkisi: Disfaji, baş boyun ve toraks ışınlamalarında görülen en yaygın semptomdur. Işınlamadan 3-6 ay sonra görülen disfaji, striktür ve fibrozisten dolayı kas zedelenmesinin neden olduğu peristaltik fonksiyon bozukluğunu yansıtır. Ülserasyon özellikle gastroözefajial bileşkede yüksek dozlarda oluşabilir, özellikle intraluminal brakiterapi teknikleri sonrasında psödodivertikül, sinüs yolları ve fistül oluşması mümkündür (30). Pelvik ve abdominal malign tümörlerde radyoterapi sonrası gastrointestinal sistemde hasar iyi bilinen bir komplikasyondur (55). Gastrointestinal sistemde radyasyona bağlı hasar insidansı değişik faktörlere bağlıdır. Normal doku toleransı hakkındaki bilgi çoğu bölge için sınırlıdır (56). Gastrointestinal sistemin üst ucundaki özefagusun, hassas ve radyosensitif olduğu rapor edilmiştir (57). Akut radyasyon özefajiti genellikle operabl meme kanseri, inoperabl akciğer kanseri ve özefageal kanser için uygulanan radyoterapi nedeniyle görülür (58-60). Hem yetişkin hem de çocuklarda total radyasyon dozu, doz

fraksiyon miktarı ve radyasyon verilen alan ile gastrointestinal sistemde oluşan radyasyon hasar riski arasında sıkı bir ilişki vardır (57). Bununla beraber radyoterapi boyunca görülen akut özefajit ve özefagus sitriktürü gibi geç yan etkiler arasında açık bir ilişki olmadığı da ileri sürülmüştür (4). Toplam 30 Gy veya fazlası irreversibl hasar ve sitriktür oluşumuyla beraber şiddetli özefajite neden olabilir (61). Mediastinel radyasyon uygulanan hastaların %17 ile %42'sinde sitriktür oluşumu gösterilmiştir (61,62).

3.2.4.5 Radyoterapinin Kemik ve Kıkırdaklı Doku Üzerine Etkisi: Kemige nüfus eden radyasyonun önemli bir kısmı, kemikteki kalsiyum tarafından absorbe edilir. Ancak bu sırada saçılan radyasyon havers kanalları içindeki kan damarlarına ve kemik iliği dokularına erişir. 10 Gy'lik bir doz gelişmeyi aksatırken, 20 Gy tamamen durdurabilir. Bu nedenle çocuk hastalarda epifiz koruması son derece önemlidir. 60 Gy üzerindeki toplam RT dozu sonrasında kemik nekrozu riski artar (51,63).

3.2.4.6 Radyoterapinin Beyin Dokusu Üzerine Etkisi: Radyasyonun bölünme özelliği olmayan nöronlar üzerinde direk etkisi az olmakla beraber beyin dokusunu besleyen damarlar yüksek dozdan etkilenirler. Yüksek doz radyasyonun beyinde ilk etkisi ödemdir. Bu da özellikle şiddetli baş ağrısı ile kendini gösterir. 50 Gy'in üzerinde ışınlanan kişilerin %5'inde geç dönemde unutkanlık ve dalgınlık görülebilir. Çocuklarda ise mental retardasyona neden olabilir.

3.2.4.7 Radyoterapinin Omurilik Üzerine Etkisi: 4 haftada 40-45 Gy ışınlamadan 2-4 ay sonra akut miyelopatiler görülebilir. Ellerde, ayaklarda his kaybı, başı öne eğince elektriklenme hissi (L-hermitte belirtisi) ile karakterizedir. Sınırlı alanlar ışınlanıyorsa 50 Gy tolere edilebilir.

3.2.4.8 Radyoterapinin Lens Üzerine Etkisi: Tek doz 2 Gy RT uygulaması sonrasında katarakt riski artar, 7,5 Gy'den sonra kesin katarakt oluşur. Işınlama ile kataraktın ortaya çıkışı arasında geçen süre 6 ay-35 yıl arasında değişir (51).

3.2.5 RADYOTERAPİYE BAĞLI DOKU HASARI ÜZERİNE ETKİ EDEN EK FAKTÖRLER

Toplam dozun ve fraksiyon dozunun büyüklüğü, fraksiyonlar arası sürenin kısılalığı, tedavi süresinin uzaması, normal doku reaksiyonlarının sıklığı ve ciddiyetini arttırabilir. Araya giren tedavi modelleri; uygulanan cerrahi operasyonlar, eş zamanlı uygulanan kemoterapilerin yanında eşlik eden sistemik hastalıklar, hastanın karakteristik özellikleri; yaşı, karnofky performans (KPS) durumu önemlidir. Ayrıca cerrahi uygulanan sahaya radyoterapi eklenmesi ile fistül, ödem oluşum oranı artmaktadır (64).

3.3 HALOFUGİNÖN

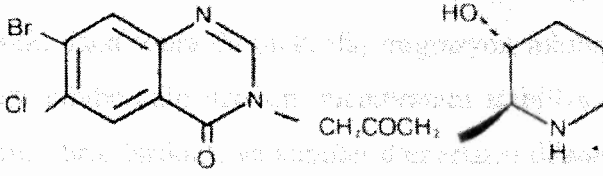
Halofuginon (*dl*-trans-7-bromo-6-kloro-3-[3-(3-hidroksi-2piperidil) asetonil]-4(3*H*)-quinazolinone hydrobromide), *Dichroa febrifuga* bitkisinden izole edilen düşük moleküler ağırlıklı bir quinazolinone alkaloid analogudur (Şekil 5). Tavuk ve hindilerde yaygın olarak bir koksidiostat olarak kullanılır. Kollajen tip $\alpha 1$ gen ifadesi ve ekstraselüler matriks birikiminin (EMB) güçlü bir inhibitörüdür (65). EMB üzerine olan bu etki halofuginonun karaciğer (66,67), cilt (68) veya akciğerler (69) gibi bazı organlarda güçlü antifibrotik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Halofuginonun, operasyonu takiben gelişen peritendinöz yapışıklıkları azalttığı ve yine sıçanlarda postoperatif batin içi yapışıklığı önlediği rapor edilmiştir (70,71). Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederek anastomoz bölgesinde intima hiperplazisini önlemiştir (72,73). Glomerülopatilerde ve ileri glomerüler lezyonlarda mezenkimal hücre proliferasyonunu ve ekstraselüler matriks birikimini önleyerek son dönem böbrek yetmezliğine gidişi engellediği deneysel çalışmalarda rapor edilmiştir (74).

Tüm bu modellerde halofuginonun, in vivo ve in vitro olarak kollajen alfa - 1 (I) gen ekspresyonunu ve kollajen tip I sentezini inhibe ettiği ortaya konulmuştur (6). Kültürde halofuginon'un kronik graft versus host hastalıklı ve sklerodermalı hastalardan türetilen insan fibroblastlarının kollajen üretimini ve kollajen alfa - 1 (I) gen ekspresyonunu zayıflatmış gösterilmiştir (75). Ayrıca halofuginon normal insan deri fibroblastlarında TGF- β 'nın uyardığı kollajen Tip alfa - 1(I) gen ekspresyonunu da zayıflatmıştır. Ama kollajen Tip alfa - 2(I), Tip (II), Tip (III) ve Tip X'a etkisi olmadığı bildirilmiştir (71). Son zamanlarda, kronik graft versus host hastalığı olan

bir hastada halofuginon topikal olarak kullanılmış ve kollajen alfa 1(I) gen ekspresyonu azalttığı klinik olarak da gösterilmiştir (76).

Radyasyona maruz kalmış dokularda TGF- β tip II reseptör (T β RII) up-regülasyonu daha önceden rapor edilmiştir (77). Xavier ve arkadaşları (5) çalışmalarında halofuginonun inhibitör Smad7'nin salınımını artırarak T β RII seviyelerini azalttığını ve böylece Smad2 ve Smad3'ün aktivitesinin azaltarak Smad yoluyla TGF- β sinyal oluşumunun inhibisyonunu sağladığını göstermiştir. Smad3 eksik hayvanların radyasyona daha dayanıklı olduğunu gösterilmesi ve halofuginonun Smad yolağıyla sinyal oluşumunu azalttığının ortaya koyulması bu küçük moleküler ağırlıklı bileşiğin iyonize radyasyona bağlı bacak kontraksiyonunda başarıyla kullanılabileceğini göstermiştir. Smad yolağıyla TGF- β sinyal oluşumu tek başına radyasyona bağlı fibrozisten sorumlu olmasa da son çalışmalar bu yolağın radyasyona bağlı fibroziste önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Daha da önemlisi halofuginon uzun bir süre güvenle uygulanabilir olduğu ve normal dokudaki radyasyona bağlı hasarı azalttığı ortaya konulmuştur (5). Bu arada McGaha ve arkadaşları (78) gergin ciltli bir fare modelinden (skleroderma modeli) alınan fibroblastlarda halofuginonun TGF- β tarafından indüklenen Smad3 aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Halofuginon ayrıca tümör progresyonunu da inhibe eder. Bu özelliği mesane kanseri modellerinde (79), feokromositoma (80), prostat kanseri (81), sarkom veya Wilms tümöründe (82) gösterilmiştir. Halofuginonun antitümör etkisi anjiogeneze, stromal destek ve hücre proliferasyonu gibi primer tümör progresyonunda önemli birkaç basamak üzerine olan etkisine dayanmaktadır (79). Bundan başka halofuginon ayrıca MMP-2 gen transkripsiyonunu baskılayarak mesane kanser hücreleriyle akciğer kolonizasyonunda ve invitro olarak ekstraselüler matriks invazyonunda belirgin azalma göstermiştir (83). Yine son zamanlarda halofuginonun bir ksenograft modelinde hepatoselüler karsinom büyümesini baskılayabileceği ortaya konulmuştur (84).



Şekil 5: Halofuginonun moleküler yapısı

3.4 METİLPREDNİZOLON

Kortikosteroidler, adrenal korteks tarafından salgılanan steroid yapılı kortizol, aldesteron gibi hormonlar ve bunlardan sentez sureti ile yapılan aynı yapıdaki analoglarından oluşur. Bunlar 21 karbonlu steroidlerdir. Kortizol ve diğer doğal glukokortikoidler adrenal korteksin zona fasikülata tabakasından, aldosteron, dezoksikortikosteron ve kortikosteron gibi mineralokortikoidler ise zona glomeruloza tabakasında kolesterolden sentez edilir. Sentez p450 sitokrom içeren çeşitli karma fonksiyonlu oksidazlar tarafından dört basamakta katalize edilir. Kortizolün salgılanması esas olarak, hipofiz ön lobundan salgılanan ACTH (adrenokortikotropik hormon) tarafından kontrol edilir. Plazma ACTH düzeyinin gün içindeki değişmesi ile adrenal korteks hormonlarının düzeyleri arasında paralellik vardır. Gün içindeki ritme uyan genel hız değişimi profilinde, normal uyku düzenini sürdüren kimselerde sabahın erken saatlerinde uyanmadan önce kortizol salgılanma hızı ve plazma düzeyi doruğa yükselir. Günlük salgılanmanın %70' i gece yarısı ile sabahın 9' u arasındadır (85).

Metilprednizolon, mineralokortikoid etkinliği çok düşük, uzun etkili bir sentetik glukokortikoiddir. Glukokortikoidler genel olarak karbonhidrat metabolizması üzerine insüline zıt etki gösterirler. Karaciğerde glukoneogenezi artırırlar. Karaciğer hariç diğer dokularda protein sentezini inhibe ederler. Antiinflamatuvar ve antiallerjik etkilerinden dolayı metilprednizolon ayrıca tüm otoimmün hastalıkların, aspirasyon ve kimyasal pnömoninin, malign tümörlerin ve birçok hematolojik hastalıkların tedavisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Lipit peroksidasyonu inhibisyonu ve antioksidan özelliğinden dolayı yüksek dozlarda doku hasarını da azaltmaktadır (86).

Suprafizyolojik konsantrasyonlarda hangi etkene (mikroorganizma, kimyasal etkenler, mekanik etkenler, irradyasyon gibi) bağlı olursa olsun enflamasyonun tüm bulgularını ortadan kaldırırlar. Bu etkisini başlangıç döneminde nötrofil lökositlerden ve

monositik makrofajlardan dokulara salınan kemotaktik faktörlerin sentez ve salınımını inhibe ederek, daha sonra da makrofaj migrasyon inhibitör faktörü ve trombosit aktive edici faktörü inhibe edip lizozom membranını stabilize ederek sağlarlar. Erken evrede ayrıca ödem, fibrin birikimi ve kapiller damarların dilatasyonunu önlerken daha sonraki evrelerde kapiller damarların ve fibroblastların proliferasyonunu, kollajen birikimini ve skar oluşumunu inhibe ederler (85,87). Mazigh ve ark.(88) İkinci ve üçüncü derecede özefageal yanıkları olan çocuklarda uygulanan sistemik prednizolonun özefageal striktür riskini büyük oranda azalttığını göstermişlerdir. Günel ve arkadaşları (89) yaptıkları çalışmada metilprednizolonun koroziv özefageal yanıklarda hidroksiprolin seviyelerini önemli oranda azalttığını rapor etmişlerdir.

Yüksek fizyolojik konsantrasyondaki kortikosteroidlerin fibroblastlar tarafından üretilen hem tip I hemde tip II kollajen üretimi üzerine inhibitör bir etkisi vardır. Ayrıca glikozaminoglikan üretimini de inhibe ederler. Bundan dolayı ekstrasellüler kollajen ve matriks oluşumu yüksek doz glukokortikoid tedavisi nedeniyle bozulur ve yara iyileşmesi yavaşlar. Glukokortikoidler, fibroblastların iyileşen yarada lokal olarak etkili çeşitli sitokinlere bağlı oluşan proliferatif ve kemotaktik cevaplarını inhibe eder (90). Kortikosteroidlerin dokuların skar kontraktüründe kollajenin çapraz bağlanmasını önleyerek etki ettiği düşünülmektedir (91,92).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. DENEKLER

Çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan izin alınarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezinden (FÜTDAM) temin edilen ağırlıkları 150-250 g arasında değişen 40 adet dişi Wistar rat üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) birimi tarafından temin edildi (FÜBAP Proje No: 1310). Dişi Wistar ratlar 12 saatlik aydınlık /karanlık döngüsü altında, 22 ± 0.5 °C'de polikarbonat kafesler içinde tutuldu. Tüm deney hayvanları yem fabrikasından alınan aynı tür ticari yem ve su ile beslendi. Radyoterapi uygulamasından sonra katı yemler toz haline getirilerek ratların beslenmeleri sağlandı.

Çalışmada yer alan toplam 40 dişi Wistar rat rastgele olarak 10'arlı dört gruba ayrıldı ;

Grup 1 (Kontrol grubu): Radyoterapi ve ilaç uygulaması yapılmayan grup.

Grup 2 (Radyasyon grubu): 18 Gy tek doz radyoterapi uygulanan ve ilaç uygulaması yapılmayan grup

Grup 3 (Halofuginon grubu): 18 Gy tek doz radyoterapi uygulaması ile birlikte halofuginon verilen grup. Bu gruba radyoterapiden hemen sonra başlanarak 1 ay süresince hergün tek doz halinde 100 µg/kg intraperitoneal enjeksiyon şeklinde halofuginon (Collgard Biopharmaceuticals Ltd. Petah Tikva, İsrail) uygulandı.

Grup 4 (Metilprednizolon grubu): 18 Gy tek doz radyoterapi uygulaması ile birlikte metilprednizolon verilen grup. Radyoterapiden hemen sonra başlanarak 24 saat aralıklarla 1 ay boyunca 1 mg/kg Metilprednizolon intramüsküler (İM) olarak (Prednol-L flakon, Mustafa Nevzat, Türkiye) uygulandı.

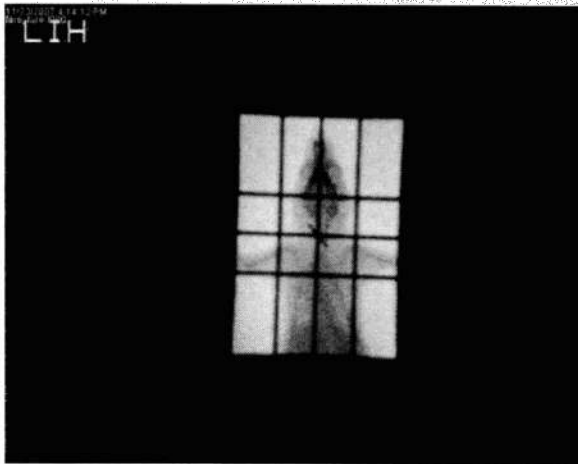
Radyoterapiden hemen sonra ratlar tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Tüm deney grubundaki deneklerin vücut ağırlıkları 1. ayın sonuna kadar haftalık daha sonra çalışma bitimi olan 3. ayın sonuna kadar ise 15 gün arayla ölçüldü ve kaydedildi.

Uygulamadan sonra 90. günde tüm gruptaki ratlar ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı ilaç, Türkiye) ile Ulusal Araştırma Konseyi Laboratuvar Hayvan Kaynakları Enstitüsü rehberine uygun olacak şekilde öldürüldü. Proksimal özefagus ve hipofarenks bölgesi anatomik bütünlüğü bozulmadan eksize edildi. Alınan doku örneği iki parçaya ayrılarak parçalardan hipofarenks ve özefagusu içeren proksimal kısım histolojik inceleme için formalin solüsyonunda fiske edildi. Distal parça hidroksiprolin seviyeleri için biyokimyasal analize tabi tutmak amacıyla %0,9 NaCl ile yıkayıp kurularak -80

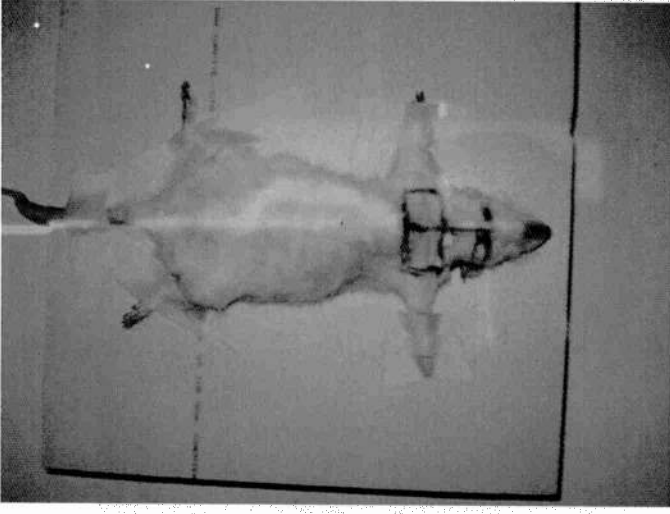
C° de saklandı. Bu dokularda; doku hidroksiprolin seviyeleri, proksimal özefagus stenoz indeksi (stenoz indeksi: duvar kalınlığı/lümen çapı), lümen çapı, duvar kalınlığı ve histopatolojik değerlendirme yapıldı.

4.2. SİMÜLASYON VE RADYOTERAPİ UYGULAMASI

Simulasyon ve radyoterapi uygulaması öncesinde ratlara 5 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer Bileşik Alman İlaç Fabrikaları İstanbul) ve 75 m/kg dozunda ketamin hidroklorür intraperitoneal yol ile uygulandı. Gereksinim duyulması durumunda başlangıçta uygulanan dozların %20'sini aşmayacak şekilde ilaç dozları tekrarlandı. Radyoterapi uygulaması öncesinde radyoterapi alanının belirlenmesi için simülasyon (Nucletron Simuliz HP, Veenendaal, Hollanda) yapıldı. Simülasyon işlemi, tedavi cihazlarındaki uygun şartlar sağlanarak radyasyon uygulanacak alanların belirlenmesidir (Şekil 6). Ratlar sert zemin üzerinde tek tek ekstremitelerinden bantlanarak, başları maksimum fleksiyon durumuna getirilerek immobilize edildiler. İşlem sonrası tedavi uygulanacak alanlara işaretler konuldu. Radyoterapi alanı her rat için simule edilerek üzerine çizildi. Böylelikle baş ve boyun bölgesi dışında alanların tedavi alanına dahil edilmesi engellenmiş oldu (Şekil 7).

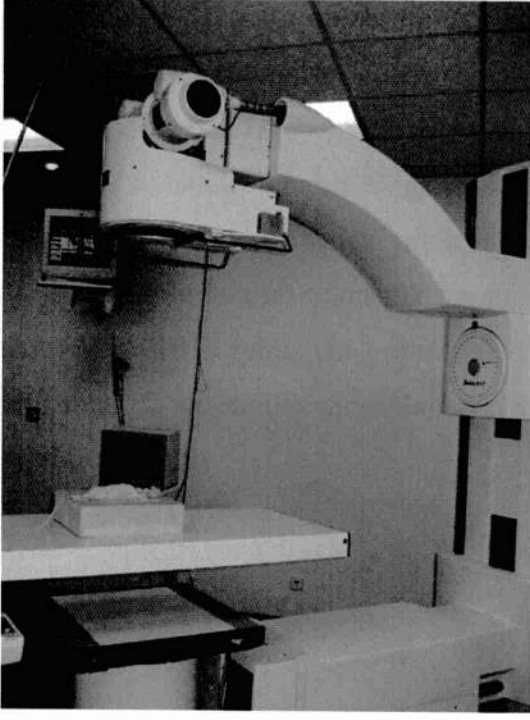


Şekil 6: Radyasyon uygulanacak bölgenin belirlenmesi için alınan simülasyon görüntüsü



Şekil 7: Simülasyon sonrası işaretlenmiş olan radyasyon bölgesi

Radyoterapi uygulaması için ratlar Co60 teleterapi ünitesinde (Theratron 1000E, Ontario, Kanada) tedavi masasına simülatördeki gibi yerleştirildikten sonra radyoterapi alanı ayarlandı (Şekil 8). Tedavi alanının üzerine bolus yerleştirilerek maksimum radyasyon dozunun cilt yüzeyinde olması sağlandı. Ratların baş ve boyun bölgeleri tek fraksiyonda 60 cGy/dakika doz hızında ve toplam 18 Gy uygulandı. Tedavi alanı 4x4 cm ve kaynak deri uzaklığı 100 cm olacak şekilde tek ön alandan belirlendi.



Şekil 8: Radyoterapi uygulaması için ratların Co60 teleterapi ünitesindeki tedavi masasına simülatördeki gibi yerleştirilmesi

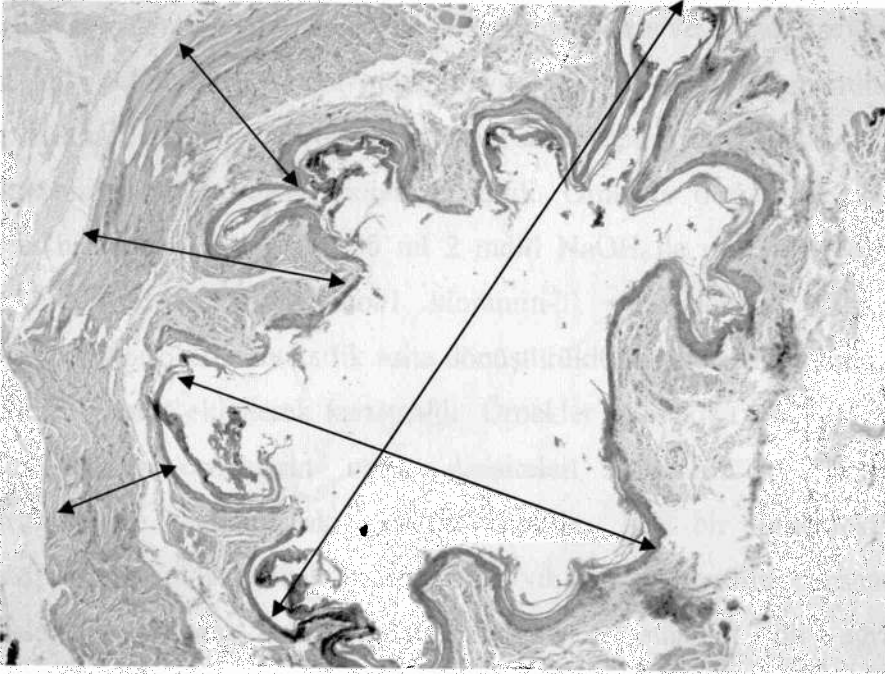
4.3. HALOFUGİNONUN HAZIRLANIŞI VE UYGULAMASI

Halofuginon kristalin şeklindedir. Kristalin şeklindeki halofuginon, 0.44 M, pH 4.3 bir laktik asit tamponunda çözülerek 1-2 mg/ml’lik stok solüsyonları hazırlandı ve en az 4 ay boyunca sabit kaldığı 4 °C’de saklandı. Enjeksiyon için halofuginonun stok solüsyonları %0.9 NaCl ile günlük dilüe edilerek (0,1 mg/1 ml) çalışma solüsyonları elde edildi. Çalışma solüsyonları hazırlandıktan sonra 1 saat içinde uygulandı.

4.4. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

Histopatolojik incelemenin yapılabilmesi amacıyla 3 ayın sonunda kurban edilen ratların hipofarenks ve servikal özefagus segmentleri çıkarıldı. Çıkarılan segmentin ışık mikroskopik incelenmesi için, özefagus segmenti % 10’luk formaldehitte fiks edildi. Hipofarenks ve proksimal özefagus segmentlerinden olmak üzere üç adet transvers kesit alındı. Doku takip cihazında (Pathcentre, Shandon, İngiltere) takip edilen dokular parafine gömüldü. Mikrotomla 5 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı. Kesitler deparafinize edilerek hematoksilin-eozin ve Massontrikrom boyama uygulandı.

Işık mikroskopuyla X10-40 objektifte (Olympus, BX51, Japonya) değerlendirildi. Spesmenlerde duvar kalınlığı ve lümen çapları ışık mikroskopun mikrometre aparatı kullanılarak ölçüldü. Her denek için mevcut kesitler arasında kasın en kalın olduğu kesit göz önüne alınarak 3 farklı bölgede duvar kalınlığı ölçülerek ortalaması alındı. Lümen çapı için ise en uzak ve en yakın iki noktada çap ölçülerek ortalaması alındı (Şekil 9). Bu ölçümlerden faydalanarak bir stenoz indeksi (duvar kalınlığı/lümen çapı) oluşturuldu. Vaskülarizasyon için proksimal özefagus kesitinde mukoza, submukoza, muskularis mukoza ve tunika muskularisteki damar oluşumları X40 büyütmede tüm alanda sayıldı.



Şekil 9: Özefagus lümen çapı ve duvar kalınlıklarının ölçümü (H.E. X100)

- Yok (-),
- Hafif (+),
- Orta (++) ve
- Şiddetli (+++) olarak derecelendirildi.

Üçüncü ayın sonunda sakrifiye edilen ratların proksimal özefagusundan elde edilen segmentteki hidroksiprolin üretimindeki artış veya azalış seviyeleri saptandı. Bunun için bütün ratlarda radyoterapi uygulanan özefagus segmentinin bir parçası kesilerek alındı. Alınan doku örnekleri, Eppendorf tüplerinde yaklaşık 4C° de 30 saniye bir ultrasonik sonikatörde homojenize edildi. Örnekler otoklavda 121 C° de (bir atmosfer basınçta) 15 dakika 100 ml 2 mol/l NaOH ile muamele edilerek hidrolize edildi. 900 ml'lik 0.056 mol/l kloramin-T solüsyonuyla örnek oksitlenerek hidroksiprolin pirol-2-karboksilik asite dönüştürüldü. Oksidasyon aşamasından sonra 1 ml Erlich's reagent eklenerek karıştırıldı. Örnekler 20 dakika 65C° de su banyosunda tutuldu. Renkli örneklerin optik dansiteleri 550 nm'de UV160 Shimadzu spektrofotometre kullanılarak okundu. Analiz, her bir örnekteki 0.025 mM hidroksiprolini saptayabilecek kadar duyarlıydı. Hidroksiprolin konsantrasyonları L-hidroksiprolin standart solüsyonları kullanan standart bir eğriyle ölçüldü. Hidroksiprolin içeriği µg/mg yaş doku olarak belirlendi.

İstatistiksel analizler, SPSS 15.0 bilgisayar istatistik programıyla (SPSS Inc., ABD) yapıldı. Gruplarda farklı zamanlarda ölçülen ağırlıkların değerlendirilmesinde, tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. $p < 0.05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edildi. Işık mikroskopundaki histopatolojik derecelendirmelerden vaskülarizasyon, stenoz indeksi skorları ve hidroksiprolin değerlerinin karşılaştırılmasında oneway ANOVA testi, posthoc test olarak ta Tukey testi kullanıldı. Gruplar arasındaki fibrozis ve epitelyal atipi bulgularının değerlendirilmesinde χ^2 ve Fischer'in kesin χ^2 testleri kullanıldı.

5. BULGULAR

Çalışmamızda deneklerin 1 ile 12. haftalar arasındaki ağırlık takibi ile 12. hafta sonunda deneklerden alınan hipofarenks ve servikal özefagusun histolojik ve biyokimyasal değerlendirmeleri yapıldı.

5.1. DENEKLERİN VÜCUT AĞIRLIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ

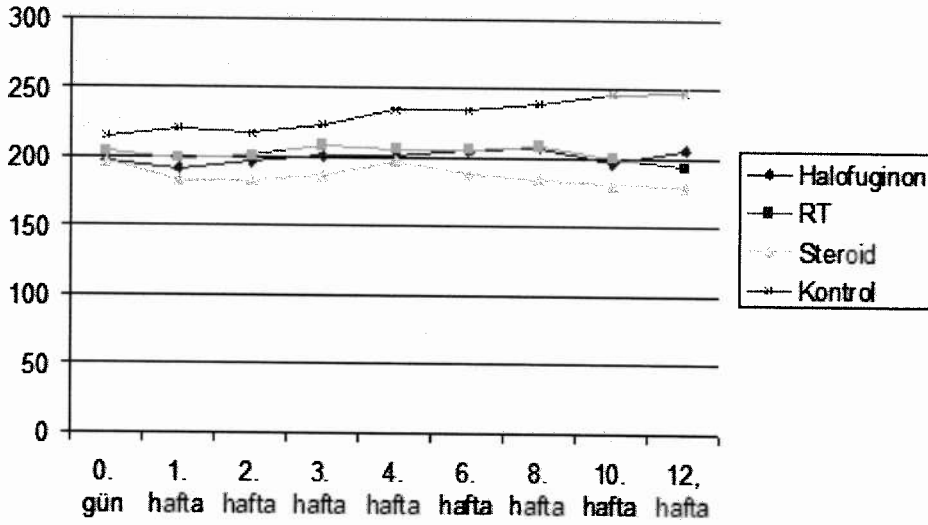
Radyasyon uygulamasından hemen önce başlanarak hayvanlar ilk bir ay haftalık olarak ve daha sonra üçüncü ayın sonuna kadar iki haftada bir düzenli olarak tartıldı (Tablo 5, Şekil 10).

Tablo 5: Gruplarda yer alan ratların düzenli olarak ölçülmüş olan ağırlık ortalamaları

Ağırlık ortalamaları (gr)				
	Kontrol Grubu (I)	Radyasyon Grubu (II)	Halofuginon Grubu (III)	Steroid Grubu (IV)
0. gün	214,75± 17,63	203,20± 16,30	197,90± 6,75	196,40± 19,89
1. hafta	221,25± 14,38	198,60± 15,67	191,40± 8,28	182,70± 13,28
2. hafta	217,25± 21,77	201,20± 15,24	196,40± 6,56	182,80± 12,38
3. hafta	223,75± 18,73	208,50± 15,56	200,80± 9,12	186,10± 14,03
4. hafta	234,00± 16,43	205,50± 15,57	201,50± 12,82	197,50± 13,33
6. hafta	234,25± 11,58	205,90± 18,03	204,60± 12,39	188,25± 13,60
8. hafta	239,00± 15,85	208,60± 24,08	206,00± 15,00	184,00± 15,83
10. hafta	246,75± 14,33	199,55± 16,54	196,80± 15,14	180,40± 8,73
12. hafta	248,00± 10,64	195,75± 12,18	205,70± 6,36	179,00± 11,72

Çalışma süresinde üç ay dolmadan steroid grubunda 5, halofuginon grubunda 2 ve radyasyon grubunda 2 tane olmak üzere toplam 9 denek kaybedildi. Denekler özellikle 10-12. haftalarda kaybedildi ve bunlardan radyasyon grubundaki bir tanesinde hemipleji gelişmişti. Sadece steroid grubunda 2 denek iki ile üçüncü haftalarda erken dönemde kaybedildi. Üçüncü ayın sonunda kontrol grubunda

yaklaşık %15,4'lük ve halofuginon grubunda yaklaşık % 4'lük bir ağırlık artışı olduğu görüldü. Bu süre sonunda Radyasyon grubunda %3,7'lik ve steroid grubunda ise % 8,9'luk bir ağırlık kaybı olduğu gözlemlendi. Steroid grubunda anlamlı düzeyde ağırlıklarda azalma vardı ($p<0.05$). Kontrol grubunda özellikle 4. haftadan sonra anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$). Halofuginon ve radyasyon grubu ağırlık değişimlerinde bir anlamlılık yoktu ($p>0.05$).



Şekil 10: Tüm gruplar arasında üç aylık dönemde ağırlık ortalamalarının birbirine göre değişimi.

5.2. IŞIK MİKROSKOBUYLA HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Proksimal özefagus ve hipofarenks bölgesinden alınan dokulardan elde edilen kesitlerin ışık mikroskopuyla değerlendirmesinde grupların hiçbirinde polimorfonükleer lökosit ve mononükleer hücre gözlenmedi. Bununla beraber hiçbir denekte nekroza rastlanmadı. Proksimal özefagus ve hipofarenksin histolojik incelemelerinden elde edilen veriler tablo 6 da özetlenmiştir.

5.2.1. FİBROZİS

Kontrol grubu ve halofuginon grubundaki deneklerin proksimal özefagus ve hipofarenks bölgesinden alınan kesitlerin incelemesi sonucunda; deneklerin hiçbirinde mukoza, submukoza, müsküler mukoza ve tunika müskülariste kollajen birikimi ve fibrozis görülmedi (Şekil 11). Radyasyon grubu ile steroid grubunda ise az olmakla beraber kollajen birikimi vardı. Radyasyon grubunda bir denekte orta

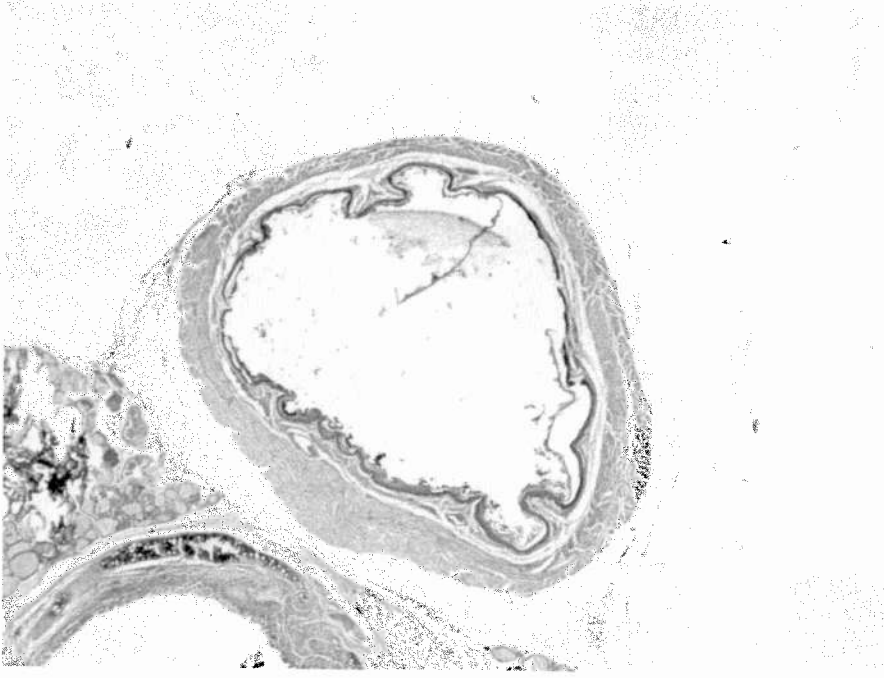
derecede fibrozis varken 5 denekte ise hafif derecede fibrozis olduğu görüldü (Şekil 12,13). Steroid grubunda beş denekten sadece ikisinde hafif derecede fibrozis mevcuttu. Kontrol ve halofuginon grubu ile radyasyon grubu fibrozis oluşumu açısından karşılaştırıldığında radyasyon grubu lehine fibroziste artış olduğu saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). Kontrol ve halofuginon grubu, steroid grubu ile karşılaştırıldığında steroid grubunda da fibrozis oluşumunun olduğu fakat bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$). Steroid grubuna göre radyasyon grubunda fibrozisin fazla olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6: Işık mikroskopisi değerlendirme skorları.

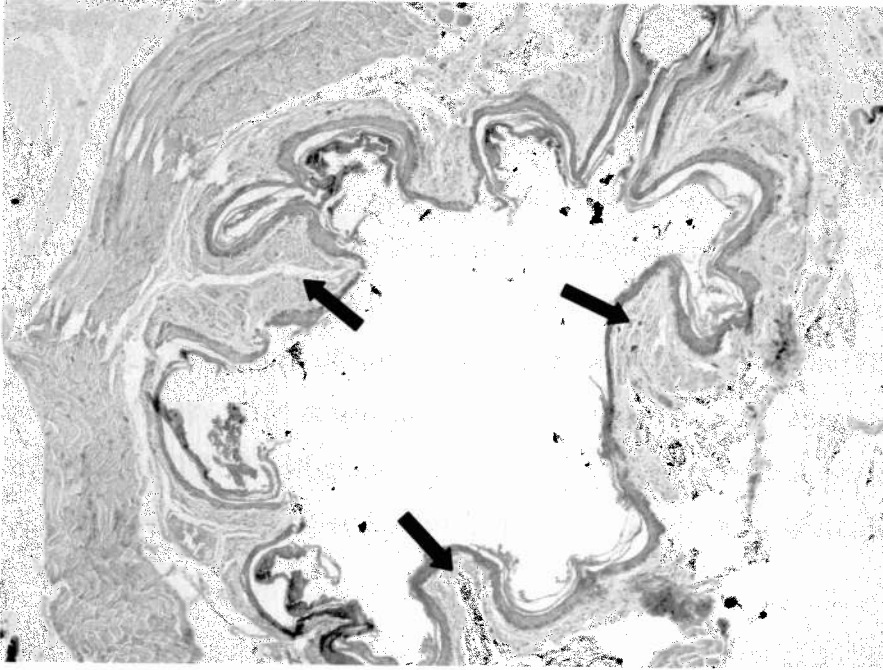
Gruplar	Denek numarası	* Fibrozis	* Epitelyal atipi
Kontrol Grubu (I)	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
	4	-	-
	5	-	-
	6	-	-
	7	-	-
	8	-	-
	9	-	-
	10	-	-
Radyasyon Grubu (II)	1	++	++
	2	-	+
	3	+	-
	4	-	+
	5	+	+
	6	+	++
	7	+	+
	8	+	+
Halofuginon Grubu (III)	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
	4	-	++
	5	-	-
	6	-	-
	7	-	-
	8	-	-
Steroid Grubu (IV)	1	-	-
	2	+	-
	3	+	-
	4	-	-
	5	-	+
p		p<0.05 (II ile I,III,IV)	p<0.05 (I-II) p<0.05 (II-III)

Ki-kare testi (p<0.05)

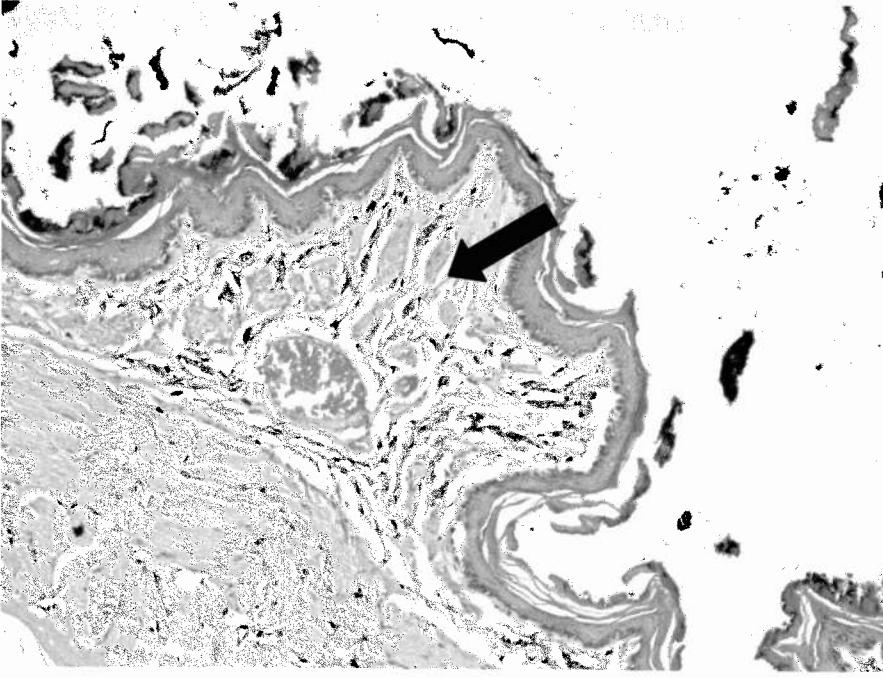
*Fibrozis ve epitelyal atipi için; (-) yok, (+) hafif, (++) orta ve (+++) şiddetli olarak Değerlendirildi.



Şekil 11: Kontrol grubunda normal özefagus yapısının görünümü (H.E. X40)



Şekil 12: Radyasyon grubunda özefagus submukozal alanda fibrozis alanları (siyah ok) (H.E. X100)



Şekil 13: Radyasyon grubunda özefagus submukozal alanda fibrozis (siyah ok) (H.E. X200)

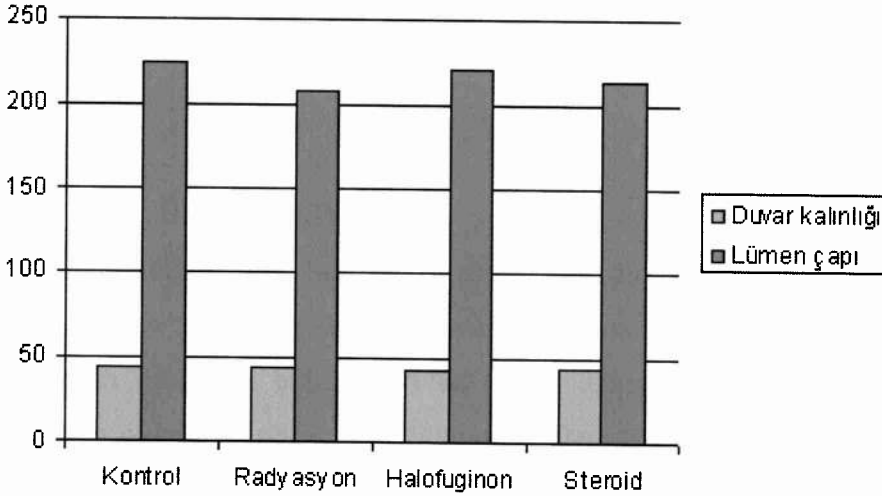
5.2.2. STENOZ İNDEKSİ

Duvar kalınlık ortalamaları göz önüne alındığında en düşük değer $42,5 \pm 6,38 \mu\text{m}$ ile halofuginon grubunda iken en yüksek değer $44,8 \pm 1,98 \mu\text{m}$ olarak steroid grubunda bulundu. Radyasyon grubundaki ortalama duvar kalınlığı ($43,3 \pm 4,00 \mu\text{m}$) halofuginon ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmıştı fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). En yüksek lümen çapı ortalaması kontrol grubunda ($223,5 \pm 13,75 \mu\text{m}$), en düşük ortalama ise radyasyon grubunda ($207,7 \pm 15,98 \mu\text{m}$) ölçüldü. Bu iki grup arasındaki lümen çapı ortalamaları arasındaki fark anlamlı değildi ($p>0.05$). Halofuginon grubu, $219,5 \pm 15,77 \mu\text{m}$ ile ikinci en yüksek lümen çapı ortalamasına sahipti ve kontrol grubuna yakın bir değer gösterdi ($p>0.05$) (Tablo 7, Şekil 14).

Tablo 7: Gruplardaki özefagus duvar kalınlığı, lümen çapı ve stenoz indeksi ortalamaları

	Duvar kalınlığı ortalamaları (µm)	Lümen çapı ortalamaları (µm)	Stenoz indeksi ortalamaları
Kontrol Grubu (I)	43,0 ± 3,87	223,5 ± 13,75	0,1912 ± 0,0164
Radyasyon Grubu (II)	43,3 ± 4,00	207,7 ± 15,98	0,2087 ± 0,0135
Halofuginon Grubu (III)	42,5 ± 6,38	219,5 ± 15,77	0,1937 ± 0,0256
Steroid Grubu (IV)	44,8 ± 1,98	213,2 ± 13,60	0,2020 ± 0,0130
p	p>0.05 (I-II)		

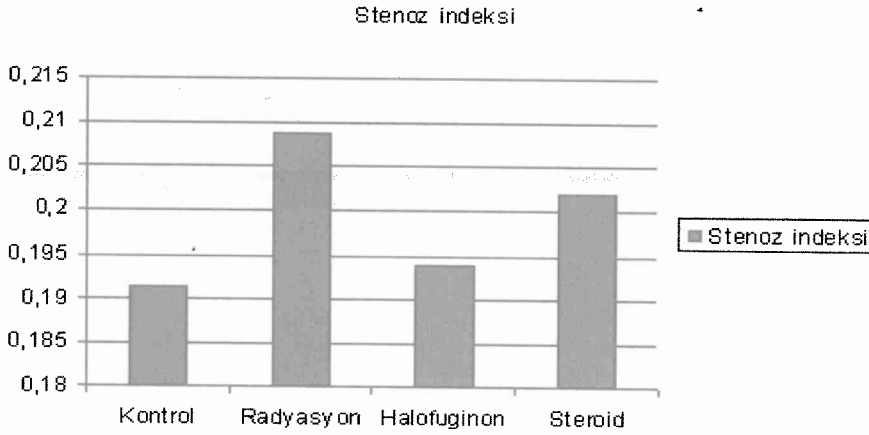
Oneway ANOVA testi (Tukey testi) (p<0.05)



Şekil 14: Gruplardaki özefagus lümen ve duvar çapı (µm) değerleri

Gruplar arasında en düşük stenoz indeksi $0,1912 \pm 0,0164$ ile kontrol grubunda bulundu. Gruplar içinde radyasyon grubu stenoz indeksi $0,2087 \pm 0,0135$ ile en yüksek değer olarak bulundu. Fakat radyasyon grubu ile kontrol grubu arasındaki stenoz indeksi farkı anlamlı değildi ($p>0.05$). Kontrol grubuna en yakın stenoz indeks skoru olan grup $0,1937 \pm 0,0256$ değeriyle halofuginon grubu idi. Halofuginon grubu ile kontrol grubu arasındaki stenoz indeksi farkı çok azdı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Steroid grubu stenoz indeksi $0,202$

$\pm 0,0130$ idi. Steroid ve kontrol grubu karşılaştırıldığında fark anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 7 , Şekil 15).



Şekil 15: Gruplardaki özefagus stenoz indeksi değerleri

5.2.3. VASKÜLARİZASYON

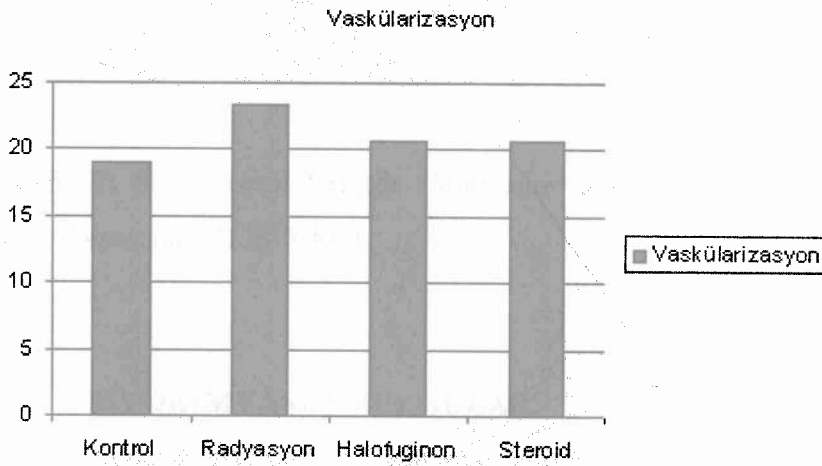
Vaskülarizasyon açısından gruplar birbiriyle karşılaştırıldığında sonuçlar benzerdi. En yüksek vaskülarizasyon oluşumu ortalama $23,37 \pm 5,71$ adet ile radyasyon grubunda bulunurken en düşük değer $19,00 \pm 6,55$ adet ile kontrol grubunda olduğu görüldü. Halofuginon grubunda bu değer $20,60 \pm 6,59$ adet iken steroid grubunda $20,62 \pm 3,79$ adet idi (Şekil 16,17).

Steroid ve halofuginon grubundaki vaskülarizasyon ortalaması benzerdi ve kontrol grubuyla yakınlık gösteriyordu. Kontrol grubu ile bu iki grup arasındaki fark anlamlı değildi ($p>0.05$). Radyasyon grubu ile diğer üç grup arasında yapılan karşılaştırmada da anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8 : Gruplar arası vaskülarizasyon ortalaması (ışık mikroskobisinde)

Vaskülarizasyon ortalaması (adet)	
Kontrol Grubu (I)	19,00 ± 6,55
Radyasyon Grubu (II)	23,37± 5,71
Halofuginon Grubu (III)	20,60± 6,59
Steroid Grubu (IV)	20,62 ± 3,79
p	p>0.05 (I-II,III,IV)

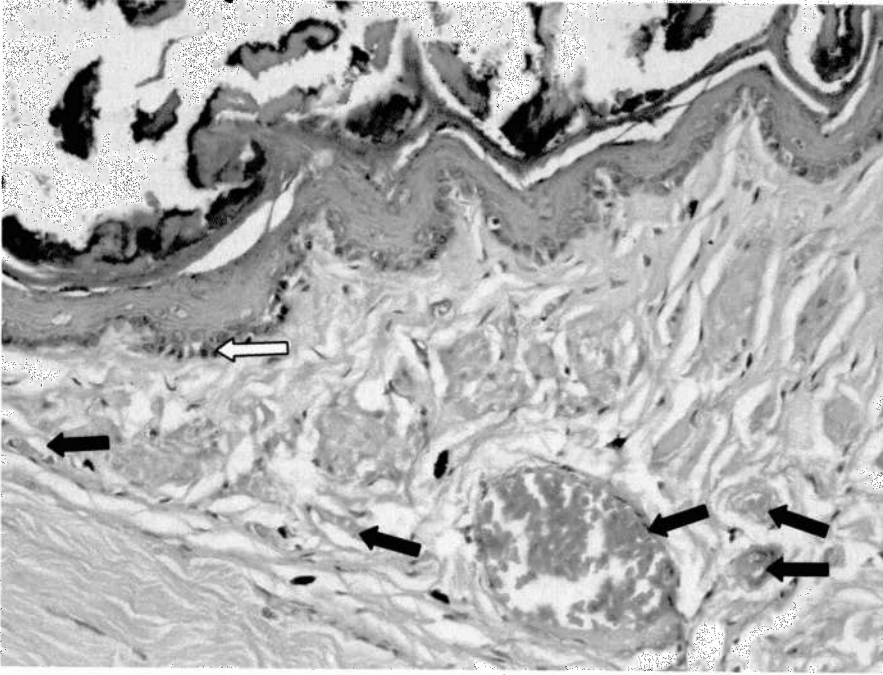
Oneway ANOVA testi (Tukey testi) (p<0.05)



Şekil 16: Doku vaskülarizasyon değerleri

5.2.4. EPİTELYAL ATİPİ

Radyasyon grubunda diğer gruplara göre epitelyal atipi belirgin olarak artmıştı. Radyasyon grubunda iki denekte orta, beş denekte ise hafif derecede epitelyal atipiye rastlandı (Şekil 17). Kontrol grubunda epitelyal atipi görülmezken halofuginon grubunda bir denekte orta derecede ve steroid grubunda bir denekte hafif derecede epitelyal atipi mevcuttu. Radyasyon grubundaki epitelyal atipi kontrol, halofuginon ve steroid grubuyla karşılaştırıldığında anlamlılık gösteriyordu (p<0.05). Steriod ve halofuginon grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0.05) (Tablo 7).



Şekil 17: Submukozal fibrozis alanındaki vasküler yapılar (siyah ok) ve epitelyal atipi (beyaz ok) (H.E. X400)

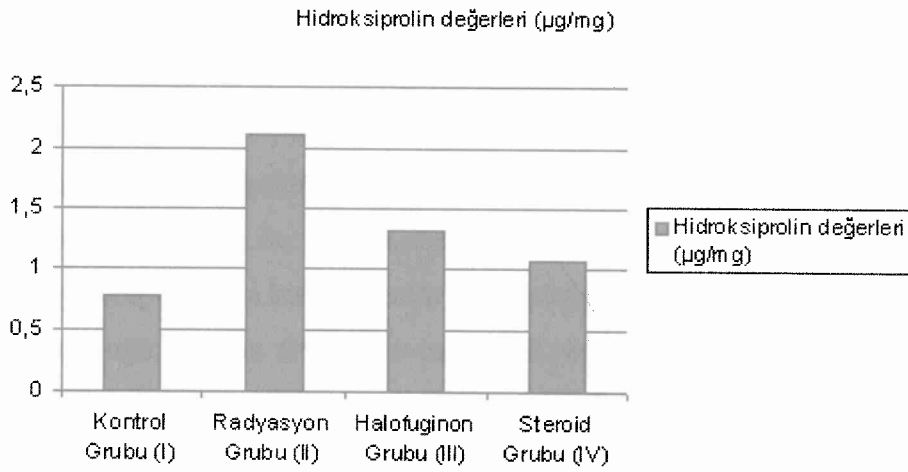
5.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Kontrol grubundaki ortalama hidroksiprolin değeri $0,781 \pm 0,126 \mu\text{g}/\text{mg}$ saptandı. Bu değer, tüm gruplar içerisinde en düşük değerd. Diğer gruplardaki hidroksiprolin değerleri sırayla steroid grubunda $1,080 \pm 0,202 \mu\text{g}/\text{mg}$, halofuginon grubunda $1,329 \pm 0,318 \mu\text{g}/\text{mg}$ ve radyasyon grubunda $2,108 \pm 0,950 \mu\text{g}/\text{mg}$ olarak bulundu. En yüksek hidroksiprolin değerinin radyasyon grubunda olduğu görüldü (Tablo 9, Şekil 18).

Tablo 9: Gruplardaki ortalama hidroksiprolin değerleri

Gruplar	Hidroksiprolin değerleri (µg/mg)
Kontrol Grubu (I)	0,781 ±0,126
Radyasyon Grubu (II)	2,108 ±0,950
Halofuginon Grubu (III)	1,329 ±0,318
Steroid Grubu (IV)	1,080 ±0,202
p	p<0.05 (I-III,IV) p<0.05 (II-I,III,IV)

Oneway ANOVA testi (Tukey testi) (p<0.05)



Şekil 18: Doku hidroksiprolin değerleri (µg/mg)

Radyasyon grubundaki ortalama hidroksiprolin değeri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı oranda yüksekti (p<0.05). Halofuginon ve steroid grubundaki hidroksiprolin değerleri radyasyon grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı oranda bir azalma vardı (p<0.05).

6. TARTIŞMA

Baş ve boyun kanserli hastalarda disfaji yaygın olarak görülür. Bu durum tümörün kendisine bağlı veya herhangi bir terapötik müdahale sonucu ortaya çıkmaktadır. Hastanın beslenmesi tüp yoluyla düzeltilebilse de yutma problemlerinin genellikle hayat kalitesi üzerine önemli bir etkisi vardır ve sosyal izolasyona yol açabilir. Baş-boyun bölgesine uygulanan radyoterapiler sonrası ortaya çıkan disfaji önemli problemlerden biridir ve sıklıkla proksimal özefagusun radyoterapiye maruz kalması sonucu oluşmaktadır (93).

Baş ve boyuna uygulanan radyoterapi, bölgesel malignensiler için kullanılan yaygın bir tedavi şeklidir. Genelde uygulanan total radyasyon dozu oldukça yüksektir (30-80 Gy) ve sıklıkla radyasyona maruz kalan bölgedeki organ ve dokularda bir takım yan etkilere neden olur. Literatürde kserostomi, osteoradyonekroz, yutma bozuklukları, karotid arter rüptürü ve orofarengeal mukozitler gibi radyoterapinin bölgesel komplikasyonları ile ilgili çalışmalar oldukça fazladır. Bu komplikasyonların çoğu radyoterapi sonrası kısa dönemde meydana gelir (1,94-96). Ne yazık ki görme ve duyma bozukluğu, karotis arter stenozu, glottik eritem ve tiroid hipofonksiyonu gibi baş ve boyuna uygulanan radyoterapi nedeniyle gelişen geç sistemik komplikasyonlar ile ilgili çalışmalar ise son derece nadirdir (1,97,98). Radyoterapi alan baş ve boyun kanserli hastalarda proksimal özefagus, dozu kısıtlayan bir organ olarak dikkate alınmalıdır. Baş ve boyun kanserli hastalarda özefageal radyasyon hasarına ilişkin literatürde birçok yayın vardır. Bu raporlarda özefageal sitriktür, radyoterapinin sonlandırılmasından sonra başlayan gecikmiş bir özel durum olarak tanımlanmıştır (4). Laurell ve arkadaşları (99) çalışmalarında radyoterapi sonrası geç dönemde sitriktür gelişen 22 hastanın 5'inde tam özefageal obliterasyon göstermişlerdir. Ayrıca bazı çalışmalarda da mediastinel radyasyon uygulanan hastaların %17 ile %42'sinde sitriktür oluşumu gösterilmiştir (61,62).

Baş ve boyuna radyoterapi almış hastaların sağkalım oranı giderek arttığından, özefageal sitriktür gibi geç yan etkilerin incelenip tedavi edilmesi büyük bir klinik önem taşımaktadır. Geleneksel radyoterapide proksimal özefagusun korunması mümkün olduğu durumlarda yapılmalıdır. Gelecekte düşünülen yoğunluk-ayarlı radyasyon tedavisi, hedeflenen bölgenin çevresindeki sensitif organların daha düşük dozlara maruz kalmasını sağlayacak bir yoldur. Bilgilerimize göre özefageal girişte radyoterapötik hasarın risk faktörleriyle ilgili belirgin fikir birliği göstermeyen birkaç rapor da vardır (99). Bazı yazarlar radyoterapi ile birlikte kemoterapi kullanımının özefagusta kronik

radasyon hasarı riskini artırdığını rapor etmişlerdir (62,100). Hastaları özefageal hasara eğilimli hale getiren başka bir faktörün de kserostomi olduğu rapor edilmiştir (101). Laurell ve arkadaşları (99) yaptıkları çalışmada radyoterapi bitimiyle sitriktür tanısı arasındaki zaman aralığını 1-60 ay (ortalama 6 ay) olarak bildirmişlerdir. Ayrıca üst özefagus normal dokusunda radyoterapinin uzun dönem sonuçları açısından kişiler arasında farklılık olduğunu göstermişlerdir. Diğer istenmeyen reaksiyonların çoğu da göz önüne alındığında bu farklılığın tam olarak doza mı bağlı olduğu veya hastanın radyasyona duyarlılığı sonucu mu geliştiği açık değildir.

Biz çalışmamızda ratlarda baş ve boyun bölgesine uygulanan 18 Gy radyoterapi sonrası hipofarenks ve üst özefagusta oluşabilecek fibrozisi göstermeyi ve oluşabilecek fibrozisi engelleyebilecek tedavi alternatiflerini incelemeyi amaçladık. Bizim çalışmamızda rat modelini seçmemizin nedeni ise ratların bu alanda yaygın olarak kullanılan bir deney hayvanı olmasıdır. İnsanlardaki klinik radyasyonun hayvanlardaki tek doz radyasyonla aynı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (102). Ratlarda radyasyon uygulanmasının geç etkileri ilk olarak 1957'de rapor edilmiş fakat bu durum detaylı olarak çalışılmamış ve belirsiz olarak kalmıştır (103). Elde edilen veriler rat modelinde baş ve boyuna radyoterapi uygulanması sonrasında önemli yan etkiler geliştiğini göstermektedir. Radyasyonun etkisi doza bağımlıdır ve genellikle hayvan ölümüyle sonuçlanan genel durumdaki uzun süreli ve kronik bir bozukluk ile kendini gösterir. Disfaji ve immün yetmezlik gibi iki major karakteristiği içeren gecikmeli bu durumun altında yatan esas mekanizma şu anda bilinmemektedir (102). Radyasyon sonrası kısa dönemde gelişen (ilk 2 hafta) disfajiye daha önceden de rapor edilmiş olan radyasyona bağlı orofarengeal mukozit ataklarının neden olduğu düşünülmüştür (75,104). Nagler ve arkadaşları (2) ratlarda doza bağlı gıda alımının azalmasına neden olan mekanizmayı ortaya çıkarmak için hayvanların lingual papillerinde ve tad almadaki anormalliklerini öngören bir hipotezi incelemişler fakat bunu göstermekte başarısız olmuşlardır. Ortaya çıkan başka bir hipotezde disfaji için bilinen bir etyoloji olan tükürük fonksiyonundaki belirgin azalmanın gıda alımında azalmaya yol açmasıdır. Bununla beraber radyasyon uygulaması sonrası geç dönemde ortaya çıkan disfajinin nedeni tam olarak ortaya konulamamıştır (1,105,106). Buradan yola çıkarak biz çalışmamızda geç dönemde ortaya çıkan bu disfajinin nedeni olarak hipofarenks ve proksimal özefagusta meydana gelen sitriktürün etkili olduğunu düşündük. Deneysel olarak baş ve boyun bölgesine radyasyon uygulanmış ratlarda bu sitriktörü önlemeye yönelik etkin olabileceğini düşündüğümüz halofuginon ve metilprednizolonu kullandık.

Daha önceden halofuginonun tip-1 kollajen ve metalloproteinaz sentezini inhıbe ettiği gösterilmiştir (107). Son zamanlarda halofuginonun sklerodermalı gergin cilde sahip fare modelinde (108) ve tioasetamide bağlı karaciğer fibrozis modelinde (66) fibrozisi azalttığı da gösterilmiştir. Xavier ve arkadaşları (5) TGF- β 1 sinyal oluşumunun halofuginon ile inhibisyonunun moleküler mekanizmaları hakkında yeni görüşler ortaya koymuş ve halofuginonun bir farede radyasyona bağlı fibrozis/kontraksiyonu azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışmadaki sonuçlar, 1 ile 5 μ g/gün arasındaki halofuginon dozlarının radyasyona bağlı hasarı azalttığını göstermiştir.

Halofuginonun invitro olarak 10^{-10} M konsantrasyonlarda dahi kollajen tip-1 üretimini inhıbe edebildiği gösterilmiştir (107). Halofuginon nedeniyle azalan kollajen sentezi birkaç faktöre bağlanabilir: Birincisi, fibroblast proliferasyonunun inhibisyonu; ikincisi, geniş çaplı protein sentezinin inhibisyonu ve          ise tip 1 kollajen sentezi üzerine selektif inhibitör bir etkidir (108). Elde edilen verilerle uyumlu olarak fibroblast kültürlerinde halofuginonun tip 1 kollajen sentezini inhıbe ettiği gösterilmiştir (107). Normal fibroblastlara göre gergin ciltlerde inhibitör etkinin daha güçlü olması önemli bir olaydır. Bu durum bilinmeyen bir mekanizmayla halofuginona karşı bazı farklı duyarlılıkların olmasıdır. Bunlar fibroblastların aktivite derecesi, genetik faktörler veya her ikisiyle ilgili olabilir (108). Halofuginon uygulamasından 2 saat sonra halofuginonun kollajen tip 1 mRNA'yı azalttığı rapor edilmiştir (75).

Kortikosteroidler antienflamatuar ve imm ns pressif etkileri nedeniyle birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kortikosteroidler enzim sentez ve aktivitesi, membran permeabilitesi, transport işlemi ve yapısını etkileyerek ve yara bölgesindeki makrofajlardan hasara bağlı büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımını engelleyerek birçok hücresel fonksiyonu etkiler (109). Steroidler yara kontraksiyonunu geciktirerek epitelizasyon oluşumunu zayıflatırlar (110). Bununla beraber kortikosteroidler fibroblast proliferasyonunu, matriks sentezini ve anjiogenezisi de inhıbe ederler. Gecikmiş iyileşmenin diğer bir önemli nedeni de azalmış biyosentez ve kollajenin  aprazlaşmasına neden olan kollajen tip-1 mRNA ifadesinin inhibisyonudur (111). Metilprednizolon öncelikle erken dönemde ödem, fibrin birikimi ve kapiller damarların dilatasyonunu önlerken daha sonraki evrelerde kapiller damarların ve fibroblastların proliferasyonunu, kollajen birikimini ve skar oluşumunu inhıbe ederler (85,87).

Nagler ve arkadaşları (102) ratlardan oluşturdukları beş ayrı grupta baş ve boyun bölgesine sırayla 2.5, 5, 7.5, 10 ve 15 Gy radyasyon uygulamışlardır. Üç aylık periyotta

kontrol grubu ve radyasyon uygulanmış tüm gruplarda devamlı bir kilo kazancı olduğunu göstermişlerdir. Sadece 15 Gy alan grupta radyasyon sonrası bir haftalık sürede kilo kaybı olmuştur ve daha sonra bu grup ta tekrar kilo artışı göstermiştir. Üç aydan sonra 15 Gy ve 6 aydan sonra 10 Gy radyasyon alan grup kilo kaybetmeye başlamıştır. Çalışma boyunca radyasyon dozuna bağlı ağırlıklarda azalma etkisi gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda, baş ve boyun bölgesine radyasyon verildikten sonra rat ağırlıklarında geç dönemde oluşan azalma göz önüne alındığında, sonuçlarımız 1967'de Moiser ve Jansons'ın (97) rapor ettiğiyle oldukça benzerdi. Bununla beraber bizim tanımladığımız olay daha az kronik karakteristiklere sahiptir ve daha kısa sürelidir. Moiser (97), radyasyon uygulanmış hayvanların sağ kalım oranının 13-14 Gy sonrası altıncı ayda eşlik eden hem anemi hemde sepsis nedeniyle %0'a kadar düştüğünü rapor etmiştir. Çalışmamızda üç aylık takip sonunda kontrol grubunda %15,4'lük bir ağırlık artışı olurken radyasyon grubunda %3,7'lik bir ağırlık kaybı olduğu görüldü. Halofuginon grubunda da %4'lük bir artış olmasına rağmen bu artış anlamlı değildi ($p>0.05$). Steroid grubunda ağırlık kaybı anlamlıydı ($p<0.05$) ve bu kayıpla beraber kaybedilen denek sayısı da diğer gruplara kıyasla fazlaydı. Bu kayıp özellikle steroid grubundaki hayvanlarda steroid kullanımı sonrasında enfeksiyon sıklığının artmasına bağlanabilir.

Eliashar ve arkadaşları (112) köpekler üzerinde yaptıkları çalışmada trakeada subglottik stenoz oluşturarak uygulamanın 3 gün öncesinden başlayarak 24 gün süreyle 40 µg/kg oral halofuginon tedavisi başlamışlardır. 3 ay sonundaki değerlendirmede kontrol grubuyla karşılaştırılan halofuginon grubunda neredeyse tamamen normal bir yapı görülürken plaseboyla tedavi edilen kontrol grubunda ortalama %72 oranında bir subglottik stenoz göstermişlerdir. Ayrıca invitro olarak inceledikleri insan fibroblast kültürlerinde mitomisin %60 oranında fibroblast büyümesini önlerken halofuginon için bu oranının %75 olduğunu rapor etmişlerdir.

Ertuğrul ve arkadaşları (113) ratlarda subglottik bölgeyi travmatize ederek bir gruba 30 gün boyunca intraperitoneal 0,1 mg/kg/gün halofuginon uygulamışlar ve diğer grubu kontrol grubu olarak takip etmişlerdir. Bu sürenin sonunda halofuginon ile tedavi edilen ratların subglottik bölgesinde yapılan histopatolojik incelemede kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde fibrozis gelişiminin az olduğunu bulmuşlardır.

Xavier ve arkadaşları (5) C3H/Hen farelerde iyonize radyasyon (tek doz 35 Gy) kullanarak arka bacak kontraksiyonu oluşturmuşlar ve daha sonra bu deneklerde

halofuginonun (intraperitoneal 1, 2.5, 5 µg/fare/gün) etkinliğini araştırmışlardır. Sonuçta halofuginon tedavisinin radyasyona bağlı fibrozisi önemli oranda azalttığını göstermişlerdir. Diğer taraftan Boukthir ve arkadaşları (88) kazara koroziv madde içimi sonrası oluşan özefageal yanıklarda yüksek doz (1g/1.73m²/gün) metilprednizolon tedavisinin etkinliğini araştırmıştır. Yirmiüç çocuk üzerinde yürütülen bu çalışmada yüksek doz steroidin ikinci. dereceden özefajitlerde prognozu iyileştirdiği ve özefageal sitriktörü önleyebildiği görülmüştür. Salmela (114), ratlarda yara modeli olarak visköz selüloz sponjeller kullanarak oluşturulan granülasyon dokusu gelişimi üzerine sistemik olarak uygulanan metilprednizolon ve hidrokortizonun etkilerini araştırmıştır. Sonuç olarak metiprednizolon tedavisinin üç haftalık takip döneminde kollajen içeriğinde anlamlı azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir (p<0.05). Holund ve arkadaşları (115) ise ratlarda yine visköz sellüloz sponjel ile granülasyon oluşturarak D-penisillamin ve metilprednizolonun granülasyon dokusu oluşumu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta 0,2 mg, 2,0 mg ve 5,0 mg/kg/gün'lük metilprednizolon tedavisinin granülasyon dokusu büyümesinde doza bağlı bir gerilemeye ve fibroblast ile kollajen fiberleri sayısında azalmaya sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Ward ve arkadaşları (116) bilateral radyasyona bağlı akciğer hastalığı oluşturdıkları rat modelinde kortikosteroidlerin etkilerini çalışmışlardır. Radyasyon verildikten sonra (protokol 1), 3 ve 4 hafta boyunca iki günde bir (protokol 2) ve 3 ile 8 hafta boyunca haftada üç kez (protokol 3) intraperitoneal kortikosteroid uygulamışlardır. Bu çalışmada radyasyona bağlı doku mast hücre cevabının azaldığını 20. haftada ise radyasyon fibrozisinin azalmadığını görmüşlerdir.

Çalışmamızda yapılan ışık mikroskopik incelemede kontrol ve halofuginon grubunda fibrozise rastlanmadı. Bununla beraber radyasyon grubunda anlamlı oranda fibrozis olduğu görüldü (p<0.05). Steroid grubunda ise sadece iki denekte hafif derecede fibrozis oluşmuştu fakat kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bu durum anlamlı değildi (p>0.05). Literatürle uyumlu olarak radyasyon grubuyla karşılaştırıldığında halofuginonun radyasyona bağlı fibrozis oluşumunu önlediği görüldü. Bununla beraber steroid grubunda da radyasyon grubuyla karşılaştırıldığında fibrozisin anlamlı derecede azalmıştı (p<0.05).

Kollajenler bir grup konnektif doku proteini olarak vücutta yaygın bir dağılıma sahiptirler. Hidroksiprolin dokularda bulunan bir aminoasittir ve neredeyse sadece kollajende yer alır. Bu proteinin biyosentezi üzerine yapılan çalışmalar, kollajendeki hidroksiprolinin kollajen ve prekollajenin büyük polipeptid prekürsörlerindeki prolinin

hidroksilasyonu sonucu oluştuğu gösterilmiştir (117). Hidroksiprolinin kollajende çok olarak bulunması, onu kollajen içeriğine bağlı yürütülen çalışmalarda doğal bir biyokimyasal gösterge haline getirmiştir (118).

Followill ve arkadaşları (119) fare kolonuna radyasyon uygulaması sonrasında oluşan fibrozisin patogenezi incelediler. 2,5 cm'lik distal kolon kısmına tek doz 27 Gy veya iki eşit doz şeklinde 14,75 Gy radyasyon uygulamışlardır. Daha sonra oluşan lezyonlarda yapılan hidroksiprolin ve gerginlik kuvveti ölçümleri anlamlı oranda artmış kollejen miktarları ortaya koymuştur. Dominguez ve arkadaşları (120) ratlarda radyasyon uygulamasından sonra intestinal anastomozlar oluşturmuşlar ve radyasyon sonrası değişik zamanlarda anastomoz iyileşmesini değerlendirmek amacıyla yara gerginlik kuvveti ve doku hidroksiprolin seviyelerini incelediler. Çalışma sonunda radyasyon sonrası hidroksiprolin içeriğinin iki haftaya kadar artış gösterdiği ama bu durumun gerginlik kuvvetiyle korelasyon göstermediği bulunmuştur.

zelik ve arkadaşları (121) rat zefagusunda %50 NaOH ile koroziv madde hasarı oluşturarak 21 gün boyunca günlük 5 g/kg intraperitoneal halofuginon uygulamışlardır. 21. günde sakrifiye edilen ratların zefaguslarının fibrozis ve stenoz indeksi açısından histopatolojik incelemesi ve özefagus doku hidroksiprolin seviyeleri ölçümü yapılmıştır. Halofuginon grubunda sitriktür oluşumu ve hidroksiprolin seviyeleri tedavi verilmeyen kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük bulunmuştur.

Günel ve arkadaşları (89) ratlarda %10 Sodyum hidroksit ile özefagusta koroziv madde hasarı oluşturmuştur ve bunlara vit-E (10 mg/kg İM), vit-C (10 mg/kg) ve metilprednizolon (30 mg/kg İM) ile 5 günlük tedavi uygulamışlardır. 28 günün sonunda yapılan incelemede vit-E ve metilprednizolon grubunda histopatolojik olarak submukoza ve tunika musklariste kollajen birikiminin daha az olduğu ($p < 0.05$ ve $p < 0,01$) ve yine bu iki grupta doku hidroksiprolin seviyelerinin ($\mu\text{g/g}$) daha düşük olduğunu göstermişlerdir.

Talas ve arkadaşları (122) ratlarda trakeal anastomoz oluşturarak kortikosteroidlerin anastomoz iyileşmesi üzerine etkilerini incelediler. Ayrıca vitamin-A kullanarak steroidlerin trakeal anastomozlarda oluşturduğu istenmeyen etkilerin önüne geçip geçmediğine baktışlardır. Sonuç olarak steroid kullanılan anastomoz grubunda ilaç kullanılmayan anastomoz grubuna göre hidroksiprolin seviyelerinin düşük fakat bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını, anastomoz yapılmayan grupla benzer olduğunu bulmuşlardır.

Çalışmamızda her grupta doku hidroksiprolin miktarları ölçüldü. En düşük hidroksiprolin değeri ortalama $0,781 \pm 0,126 \mu\text{g}/\text{mg}$ ile kontrol grubunda ölçülürken en yüksek değer $2,108 \pm 0,950 \mu\text{g}/\text{mg}$ ile radyasyon grubunda idi. Bu iki grup birbiriyle karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Sırasıyla halofuginon ve steroid grubundaki hidroksiprolin değerleri ($1,329 \pm 0,318 \mu\text{g}/\text{mg}$ ve $1,080 \pm 0,202 \mu\text{g}/\text{mg}$) radyasyon grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı oranda azalmıştı ($p<0.05$). Fakat steroid ve halofuginon grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Radyasyon grubundaki hidroksiprolin miktarı yine bu gruptaki fibrozis ölçümüyle paralel olarak bir artış göstermişti. Gruplar arası özefagus stenoz indeksi açısından en düşük stenoz indeks değeri kontrol grubunda, en yüksek değer ise radyasyon grubunda idi. İki grup arasındaki fark anlamlı değildi ($p>0,05$). Kontrol grubundan sonra en düşük stenoz indeksi halofuginon grubunda idi ve bunu steroid grubu takip ediyordu. Steroid ve halofuginon grupları arasında stenoz indeksi açısından istatistiksel fark saptanmadı ($p>0.05$). Steroid grubundaki ağırlık kaybı göz önüne alındığında bu kayıp stenoz indeksi ile korele değildi ve muhtemelen bu durum özefageal fibrozisten bağımsız gelişmişti.

Atrofi, nekroz, metaplazi, hücresel atipi, displazi ve neoplazi radyoterapi sonrası gelişen epitelyal ve parenkimal lezyonlardır. Endotelyal hücrelerde hasar oluşmasına bağlı sıklıkla vasküler lezyonlar meydana gelir . En sık küçük damarları (kapiller ve sünizoidal damarlar) etkileyerek bu damarlarda rüptür ve tromboz meydana getirirler. Orta büyüklükteki damarlarda neointimal proliferasyon, fibrinoid nekroz, tromboz geliştirirler. Büyük damarlardaki hasar daha nadirdir (32). Girinsky ve arkadaşları (123) deneysel ve klinik raporlar ile makalelerden elde ettikleri verileri incelediklerinde iyonize radyasyon tedavilerinin ciddi geç dönem vasküler yan etkilere yolaçabildiklerini ortaya koymuşlardır. Fajardo ve arkadaşları (32) diğer radyasyona bağlı lezyonlar gibi damarlardaki morfolojinin spesifik olmadığını fakat sıklıkla tanınabilecek kadar karakteristik olduğunu bildirmişlerdir. Ruifork ve arkadaşları (37) rat servikal spinal korduna uygulanan 21,5 Gy radyasyon sonrası histopatolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Radyasyondan 10 hafta sonra parezi gelişen hayvanlarda belirgin damarsal değişiklikler görmüşlerdir. Bazı ratlarda ise radyasyon uygulandıktan altı ay sonra vasküler nekroz meydana gelmiştir.

Schultze-Mosgau ve arkadaşları (77) ratlarda boyun bölgesine toplam 30 ve 50 Gy radyasyon uygulayarak dört hafta sonra bu alana serbest grasilis miyokütanöz flep getirmişlerdir. Daha sonra bu bölgedeki vaskülarizasyonu incelemişlerdir. Hem 30

hemde 50 Gy radyasyon sonrası radyasyon uygulanmış greft yatağında vaskülarizasyon ve ortalama kapiller lümende anlamlı bir düşme bulmuşlardır. Radyasyon almış hayvanlarda düzenli epitelyal yapıda bir kayıp ve atipik epitelyal hücrelerin olduğu görülmüştür. Bunun bir nedeni de patolojik olarak değişmiş, genişlemiş epitelyal hücrelere ve apoptozise neden olan son derece azalmış mitotik aktivite olabilir (124).

Çalışmamızda proksimal özefagustan alınan kesitlerde değerlendirilen vaskülarizasyon bütün gruplarda benzerlik gösterdi. Radyasyon sonrası fibrinoid nekroz ve oklüzyona bağlı vaskülarizasyonun azalması beklenirken gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Epitelyal atipiye kontrol grubunda rastlanmaz iken radyasyon grubunda anlamlı oranda epitelyal atipi mevcuttu ($p<0.05$). Halofuginon ve steroid grubunda sadece birer denekte hafif epitelyal atipi mevcuttu. Bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0.05$). Hiçbir denekte nekroza rastlanmadı. Halofuginon ve steroid deneklerde epitelyal atipiyi anlamlı oranda azaltmıştı ($p>0.05$). Halofuginonun normal dokularda hücre seviyesinde radyasyona bağlı hasarı azalttığı ve antitümör etkileri olduğu bilinmektedir fakat bu olay steroid için beklenmeyen bir durumdur.

Sonuç olarak ratlarda baş ve boyun bölgesine uygulanan 18 Gy radyasyon hipofarenks ve proksimal özefagusta fibrozis oluşturdu fakat bu durum sitriktür oluşturacak derecede yoğun değildi. Bunun sebebi ratlardaki hipofarenks ve özefagusun insanlardaki kadar radyasyona duyarlı olmaması olabilir. Ratlarda baş ve boyun bölgesine uygulanacak daha yüksek dozlardaki radyasyon ve daha uzun süreli takip bu karakteristiklerin daha belirgin meydana gelmesini sağlayabilir. Radyasyon sonrası uygulanan halofuginon ve steroid fibrozis oluşumunu azaltırken bu olay halofuginonda daha belirgindi. Ayrıca steroidin diğer sistemik yan etkileri de göz önüne alındığında halofuginonun radyoterapiye bağlı fibrozisi önlemede güvenle kullanılabilecek bir ilaç olduğu görülmektedir. Bu sayede özellikle baş ve boyun bölgesine radyoterapi uygulanan hastalarda hipofarenks ve proksimal özefagusta meydana gelecek sitriktüler önlenerek hastaların hayat kalitesi korunmuş olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Cooper JS, Fu K, Marks J, Silverman S. Late effects of radiation therapy in the head and neck region. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;31:1141-1164.
2. Nagler RM, Baum BJ, Miller G, Fox PC. Long-term salivary effects of single-dose head and neck irradiation in the rat. *Arch Oral Biol* 1998;43:297-303.
3. Roswit B. Complications of radiation therapy: the alimentary tract. *Semin Roentgenol* 1974;9:51-63.
4. Silvain C, Barrioz T, Besson I, Babin P, Fontanel JP, Daban A, et al. Treatment and long-term outcome of chronic radiation esophagitis after radiation therapy for head and neck tumors. A report of 13 cases. *Dig Dis Sci* 1993;38:927-931.
5. Xavier S, Piek E, Fujii M, Javelaud D, Mauviel A, Flanders KC, et al. Amelioration of radiation-induced fibrosis: inhibition of transforming growth factor-beta signaling by halofuginone. *J Biol Chem* 2004;279:15167-15176.
6. Pines M, Nagler A. Halofuginone: a novel antifibrotic therapy. *Gen Pharmacol* 1998;30:445-450.
7. Nagler A, Gofrit O, Ohana M, Pode D, Genina O, Pines M. The effect of halofuginone, an inhibitor of collagen type i synthesis, on urethral stricture formation: in vivo and in vitro study in a rat model. *J Urol* 2000;164:1776-1780.
8. Bautista A, Varela R, Villanueva A, Estevez E, Tojo R, Cadranet S. Effects of prednisolone and dexamethasone in children with alkali burns of the oesophagus. *Eur J Pediatr Surg* 1996;6:198-203.
9. Bataini JP, Bernier J, Jaulerry C, Brunin F, Pontvert D. Impact of cervical disease and its definitive radiotherapeutic management on survival: experience in 2013 patients with squamous cell carcinomas of the oropharynx and pharyngolarynx. *Laryngoscope* 1990;100:716-723.
10. Hermanek P, Hutter R, Sobin L, Wagner G, Ch W. *TNM Atlas: Illustrated Guide to the TNM/pTNM Classification of Malignant Tumors*. 4 th ed. Berlin: Springer, 1998:22-49.
11. Carl S, Francis B, Quinn J. Hypopharyngeal Cancer. In: Francis B, Quinn J, eds., Vol.: *UTMB Dept. of Otolaryngology Grand Rounds* 1997.
12. Meffent D, Duranceau A. *Shackerford's Surgery of The Alimentary Tract*. Fourth ed. Philadelphia:: W. B. Saunders Company, 1996:3-49.
13. Kuran O. *Sistematik Anatomi*. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983:386-387.

14. Dere F. Anatomi Atlası ve Ders Kitabı 2. Baskı ed: Okullar Pazarı Kitabevi 1990:584-591.
15. Sadler TW. Langman's Medical Embryology 10.Baskı ed: Lippincott Williams & Wilkins 2006.
16. Graney D, Marsh B. Trachea, Bronchus, Esophagus. Second ed. St. Louis Mosby-Year Book, 1993:2207-2228.
17. Snow J. Diseases of the Nose, Throat, Ear, Head and Neck. Fourteenth ed. London: Lea and Febiger 1991:1297-326.
18. Hall E. Radiobiology for the Radiologist. Philadelphia: Lippincott, 2000.
19. Mundt A, Roeske J, Weichselbaum R. Physical and Biologic Basis of Radiation Oncology: Hamilton: Decker, 2000:465-478.
20. Haydaroglu A. Baş-Boyun Kanseri Tam ve Tedavisi. : Ege Üniversitesi Kanseri Savaş Araştırma ve uygulama Merkezi Yayınları-3 1997.
21. Leslie MD, Dische S. Parotid gland function following accelerated and conventionally fractionated radiotherapy. Radiother Oncol 1991;22:133-139.
22. Schubert MM, Izutsu KT. Iatrogenic causes of salivary gland dysfunction. J Dent Res 1987;66 Spec No:680-688.
23. Squier C. Mucosal Alterations. NCL Monogr 1992;9:169-172.
24. White S, PW G. Oral Radiology Principles and Interpretation. 3 th edition ed, 1994:24-46.
25. Engin K, Erişen L. Baş Boyun Kanseri. Bursa: Nobel Tıp Kitabevi, 2003.
26. Cevanşir B, Kıyak E. Baş-Boyun Tümörlerine Yaklaşım. 1. baskı ed: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., 1995.
27. Jansma J, Vissink A, Bouma J, Vermey A, Panders AK, Gravenmade EJ. A survey of prevention and treatment regimens for oral sequelae resulting from head and neck radiotherapy used in Dutch radiotherapy institutes. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1992;24:359-367.
28. Van der Kogel A. Radiobiology of Normal Tissues. 1th Ed ed. Boston: Brown and Company, 1993:99-107.
29. Withers HR, Taylor JM, Maciejewski B. Treatment volume and tissue tolerance. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1988;14:751-759.
30. Philip R, Constine L, Williams J. Late Effects of Cancer Treatment: Radiation and Drug Toxicity. 3th Ed ed. Philadelphia: Lippincott Raven Publishers, 1997:155-205.

31. Hendry J. Normal tissue radiobiology: In defence of target cell. Istanbul, Turkey: 19th Annual Estro Meeting, 2000: 56.
32. Fajardo L. Morphology of radiation effects on normal tissues. 3th Ed ed. Philadelphia: Lippincott Raven Publishers, 1997:143-154.
33. Alper T, Cramp WA. The role of repair in radiobiology. *Experientia* 1989;45:21-33.
34. Iliakis G. The role of DNA double strand breaks in ionizing radiation-induced killing of eukaryotic cells. *Bioessays* 1991;13:641-648.
35. Ihn H. Pathogenesis of fibrosis: role of TGF-beta and CTGF. *Curr Opin Rheumatol* 2002;14:681-685.
36. Martin M, Lefaix JL, Pinton P, Crechet F, Daburon F. Temporal modulation of TGF-beta 1 and beta-actin gene expression in pig skin and muscular fibrosis after ionizing radiation. *Radiat Res* 1993;134:63-70.
37. Ruifrok AC, McBride WH. Growth factors: biological and clinical aspects. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;43:877-881.
38. Dent P, Yacoub A, Contessa J, Caron R, Amorino G, Valerie K, et al. Stress and radiation-induced activation of multiple intracellular signaling pathways. *Radiat Res* 2003;159:283-300.
39. Martin M, Lefaix J, Delanian S. TGF-beta1 and radiation fibrosis: a master switch and a specific therapeutic target? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;47:277-290.
40. Randall K, Coggle JE. Long-term expression of transforming growth factor TGF beta 1 in mouse skin after localized beta-irradiation. *Int J Radiat Biol* 1996;70:351-360.
41. Roberts AB. Transforming growth factor-beta: activity and efficacy in animal models of wound healing. *Wound Repair Regen* 1995;3:408-418.
42. Roberts AB. TGF-beta signaling from receptors to the nucleus. *Microbes Infect* 1999;1:1265-1273.
43. Attisano L, Wrana JL. Signal transduction by the TGF-beta superfamily. *Science* 2002;296:1646-1647.
44. Flanders KC, Sullivan CD, Fujii M, Sowers A, Anzano MA, Arabshahi A, et al. Mice lacking Smad3 are protected against cutaneous injury induced by ionizing radiation. *Am J Pathol* 2002;160:1057-1068.
45. Rubin P, Constine L, JP W. Late effects of cancer treatment: radiation and drug toxicity. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997:155-211.

46. Maciejewski B, Zajusz A, Pilecki B, Swiatnicka J, Skladowski K, Dorr W, et al. Acute mucositis in the stimulated oral mucosa of patients during radiotherapy for head and neck cancer. *Radiother Oncol* 1991;22:7-11.
47. Shieh SH, Wang ST, Tsai ST, Tseng CC. Mouth care for nasopharyngeal cancer patients undergoing radiotherapy. *Oral Oncol* 1997;33:36-41.
48. Lindsey AM, Piper BF, Stotts NA. The phenomenon of cancer cachexia: a review. *Oncol Nurs Forum* 1982;9:38-42.
49. Smith SA. Theories and intervention of nutritional deficit in neoplastic disease. *Oncol Nurs Forum* 1982;9:43-46.
50. Denham JW, Walker QJ, Lamb DS, Hamilton CS, O'Brien PC, Spry NA, et al. Mucosal regeneration during radiotherapy. Trans Tasman Radiation Oncology Group (TROG). *Radiother Oncol* 1996;41:109-118.
51. Uzal C. *Kanserde Işınlama Teknikleri*. 2. Baskı ed. Ankara: Öncü Ltd, 1995:25-31.
52. Van der Schueren E, Van den Bogaert W, Vanuytsel L, Van Limbergen E. Radiotherapy by multiple fractions per day (MFD) in head and neck cancer: acute reactions of skin and mucosa. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990;19:301-311.
53. Marks JE, Davis CC, Gottsman VL, Purdy JE, Lee F. The effects of radiation of parotid salivary function. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1981;7:1013-1019.
54. Haydaroglu A, Esassolak M, Aras A, Cünbay S. Early and Late Effects of Radiotherapy on Total Protein Levels of Saliva. *Eido-Electal; Vol 2n:4/91:77-85*.
55. Marks G, Mohiuddin M. The surgical management of the radiation-injured intestine. *Surg Clin North Am* 1983;63:81-96.
56. Emami B, Lyman J, Brown A, Coia L, Goitein M, Munzenrider JE, et al. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991;21:109-122.
57. Roswit B, Malsky SJ, Reid CB. Severe radiation injuries of the stomach, small intestine, colon and rectum. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1972;114:460-475.
58. Read PE, Ash DV, Thorogood J, Benson EA. Short term morbidity and cosmesis following lumpectomy and radical radiotherapy for operable breast cancer. *Clin Radiol* 1987;38:371-373.
59. Teo P, Tai TH, Choy D, Tsui KH. A randomized study on palliative radiation therapy for inoperable non small cell carcinoma of the lung. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;14:867-871.

60. Sur RK, Kochhar R, Singh DP. Oral sucralfate in acute radiation oesophagitis. *Acta Oncol* 1994;33:61-63.
61. Goldstein HM, Rogers LF, Fletcher GH, Dodd GD. Radiological manifestations of radiation-induced injury to the normal upper gastrointestinal tract. *Radiology* 1975;117:135-140.
62. Lepke RA, Libshitz HI. Radiation-induced injury of the esophagus. *Radiology* 1983;148:375-378.
63. Brooks J. The National Medical Series for Independent Study. 2th Ed ed. New York, 1994.
64. Bentzen S, Overgaard J. Clinical Manifestations of Normal Tissue Damage. 1th Ed, ed. Boston: Brown and Company 1993:99-107.
65. Granot I, Bartov I, Plavnik I, Wax E, Hurwitz S, Pines M. Increased skin tearing in broilers and reduced collagen synthesis in skin in vivo and in vitro in response to the coccidiostat halofuginone. *Poult Sci* 1991;70:1559-1563.
66. Bruck R, Genina O, Aeed H, Alexiev R, Nagler A, Avni Y, Pines M. Halofuginone to prevent and treat thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Hepatology* 2001;33:379-386.
67. Pines M, Knopov V, Genina O, Lavelin I, Nagler A. Halofuginone, a specific inhibitor of collagen type I synthesis, prevents dimethylnitrosamine-induced liver cirrhosis. *J Hepatol* 1997;27:391-398.
68. Levi-Schaffer F, Nagler A, Slavin S, Knopov V, Pines M. Inhibition of collagen synthesis and changes in skin morphology in murine graft-versus-host disease and tight skin mice: effect of halofuginone. *J Invest Dermatol* 1996;106:84-88.
69. Nagler A, Firman N, Feferman R, Cotev S, Pines M, Shoshan S. Reduction in pulmonary fibrosis in vivo by halofuginone. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1082-1086.
70. Nyska M, Nyska A, Rivlin E, Porat S, Pines M, Shoshan S, Nagler A. Topically applied halofuginone, an inhibitor of collagen type I transcription, reduces peritendinous fibrous adhesions following surgery. *Connect Tissue Res* 1996;34:97-103.
71. Nagler A, Rivkind AI, Raphael J, Levi-Schaffer F, Genina O, Lavelin I, Pines M. Halofuginone--an inhibitor of collagen type I synthesis--prevents postoperative formation of abdominal adhesions. *Ann Surg* 1998;227:575-582.
72. Choi ET, Callow AD, Sehgal NL, Brown DM, Ryan US. Halofuginone, a specific collagen type I inhibitor, reduces anastomotic intimal hyperplasia. *Arch Surg* 1995;130:257-261.

73. Nagler A, Miao HQ, Aingorn H, Pines M, Genina O, Vlodavsky I. Inhibition of collagen synthesis, smooth muscle cell proliferation, and injury-induced intimal hyperplasia by halofuginone. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:194-202.
74. Nagler A, Katz A, Aingorn H, Miao HQ, Condiotti R, Genina O, et al. Inhibition of glomerular mesangial cell proliferation and extracellular matrix deposition by halofuginone. *Kidney Int* 1997;52:1561-1569.
75. Halevy O, Nagler A, Levi-Schaffer F, Genina O, Pines M. Inhibition of collagen type I synthesis by skin fibroblasts of graft versus host disease and scleroderma patients: effect of halofuginone. *Biochem Pharmacol* 1996;52:1057-1063.
76. Nagler A, Pines M. Topical treatment of cutaneous chronic graft versus host disease with halofuginone: a novel inhibitor of collagen type I synthesis. *Transplantation* 1999;68:1806-1809.
77. Schultze-Mosgau S, Wehrhan F, Rodel F, Amann K, Radespiel-Troger M, Grabenbauer GG. Transforming growth factor-beta receptor-II up-regulation during wound healing in previously irradiated graft beds in vivo. *Wound Repair Regen* 2003;11:297-305.
78. McGaha T, Kodera T, Phelps R, Spiera H, Pines M, Bona C. Effect of halofuginone on the development of tight skin (TSK) syndrome. *Autoimmunity* 2002;35:277-282.
79. Elkin M, Ariel I, Miao HQ, Nagler A, Pines M, de-Groot N, et al. Inhibition of bladder carcinoma angiogenesis, stromal support, and tumor growth by halofuginone. *Cancer Res* 1999;59:4111-4118.
80. Gross DJ, Reibstein I, Weiss L, Slavov S, Dafni H, Neeman M, et al. Treatment with halofuginone results in marked growth inhibition of a von Hippel-Lindau pheochromocytoma in vivo. *Clin Cancer Res* 2003;9:3788-3793.
81. Gavish Z, Pinthus JH, Barak V, Ramon J, Nagler A, Eshhar Z, Pines M. Growth inhibition of prostate cancer xenografts by halofuginone. *Prostate* 2002;51:73-83.
82. Pinthus JH, Sheffer Y, Nagler A, Fridman E, Mor Y, Genina O, Pines M. Inhibition of Wilms tumor xenograft progression by halofuginone is accompanied by activation of WT-1 gene expression. *J Urol* 2005;174:1527-1531.
83. Elkin M, Reich R, Nagler A, Aingorn E, Pines M, de-Groot N, et al. Inhibition of matrix metalloproteinase-2 expression and bladder carcinoma metastasis by halofuginone. *Clin Cancer Res* 1999;5:1982-1988.
84. Clouzeau-Girard H, Guyot C, Combe C, Moronvalle-Halley V, Housset C, Lamireau T, et al. Effects of bile acids on biliary epithelial cell proliferation

- and portal fibroblast activation using rat liver slices. *Lab Invest* 2006;86:275-285.
85. Kayaalp O. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Ankara: Feryal matbacılık, 1993:2566-626.
86. Uhler TA, Frim DM, Pakzaban P, Isacson O. The effects of megadose methylprednisolone and U-78517F on toxicity mediated by glutamate receptors in the rat neostriatum. *Neurosurgery* 1994;34:122-127; discussion 7-8.
87. Bautista A, Tojo R, Varela R, Estevez E, Villanueva A, Cadranel S. Effects of prednisolone and dexamethasone on alkali burns of the esophagus in rabbit. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996;22:275-283.
88. Mazigh Mrad S, Boukthir S, Sfaihi L, Fetni I, Dabbabi A, Zouari B, Barsaoui S. [Therapeutic management and clinical course of severe caustic oesophageal burns in children treated with methyl-prednisolone. Experience at a digestive endoscopic unit]. *Tunis Med* 2004;82:951-957.
89. Gunel E, Caglayan F, Caglayan O, Canbilen A, Tosun M. Effect of antioxidant therapy on collagen synthesis in corrosive esophageal burns. *Pediatr Surg Int* 2002;18:24-27.
90. Hein R, Mauch C, Hatamochi A, Krieg T. Influence of corticosteroids on chemotactic response and collagen metabolism of human skin fibroblasts. *Biochem Pharmacol* 1985;37:2723-2729.
91. Jansen NJ, van Oeveren W, van den Broek L, Oudemans-van Straaten HM, Stoutenbeek CP, Joen MC, et al. Inhibition by dexamethasone of the reperfusion phenomena in cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991;102:515-525.
92. Cywes S, Millar A, Rode H, Brown R. Corrosive strictures of the oesophagus in children. *Pediatr Surg Int* 1993;8:8-13.
93. de Boer MF, Pruyn JF, van den Borne B, Knegt PP, Ryckman RM, Verwoerd CD. Rehabilitation outcomes of long-term survivors treated for head and neck cancer. *Head Neck* 1995;17:503-515.
94. Koka VN, Deo R, Lusinch A, Roland J, Schwaab G. Osteoradionecrosis of the mandible: study of 104 cases treated by hemimandibulectomy. *J Laryngol Otol* 1990;104:305-307.
95. Lazarus CL, Logemann JA, Pauloski BR, Colangelo LA, Kahrilas PJ, Mittal BB, Pierce M. Swallowing disorders in head and neck cancer patients treated with radiotherapy and adjuvant chemotherapy. *Laryngoscope* 1996;106:1157-1166.

96. Talmi YP, Finkelstein Y, Zohar Y. Postirradiation hearing loss. *Audiology* 1989;28:121-126.
97. Mosier HD, Jr., Jansons RA. Stunted growth in rats following x-irradiation of the head. *Growth* 1967;31:139-148.
98. Spiechowicz E, Rusiniak-Kubik K, Skopinska-Rozewska E, Sokolnicka I, Zabuska-Jablonska K, Brajczewska-Fischer W, et al. Immunological status of patients with denture stomatitis and yeast infection after treatment of maxillofacial tumors. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1994;42:263-267.
99. Laurell G, Kraepelien T, Mavroidis P, Lind BK, Fernberg JO, Beckman M, Lind MG. Stricture of the proximal esophagus in head and neck carcinoma patients after radiotherapy. *Cancer* 2003;97:1693-700.
100. Chabora BM, Hopfan S, Wittes R. Esophageal complications in the treatment of oat cell carcinoma with combined irradiation and chemotherapy. *Radiology* 1977;123:185-187.
101. Korsten MA, Rosman AS, Fishbein S, Shlein RD, Goldberg HE, Biener A. Chronic xerostomia increases esophageal acid exposure and is associated with esophageal injury. *Am J Med* 1991;90:701-706.
102. Nagler RM. Extended-term effects of head and neck irradiation in a rodent. *Eur J Cancer* 2001;37:1938-1945.
103. Maisin J, Maldague P, Dunjic A, Maisin H. [Fatal syndromes & late effects of total & subtotal irradiation in the rat.]. *J Belge Radiol* 1957;40:346-398.
104. Menard TW, Izutsu KT, Ensign WY, Keller PJ, Morton TH, Truelove EL. Radioprotection by WR-2721 of gamma-irradiated rat parotid gland: effect on gland weight and secretion at 8-10 days post irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1984;10:1555-1559.
105. Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* 1989;119:298-304.
106. Sreebny LM. Recognition and treatment of salivary induced conditions. *Int Dent J* 1989;39:197-204.
107. Granot I, Halevy O, Hurwitz S, Pines M. Halofuginone: an inhibitor of collagen type I synthesis. *Biochim Biophys Acta* 1993;1156:107-112.
108. McGaha TL, Phelps RG, Spiera H, Bona C. Halofuginone, an inhibitor of type-I collagen synthesis and skin sclerosis, blocks transforming-growth-factor-beta-mediated Smad3 activation in fibroblasts. *J Invest Dermatol* 2002;118:461-470.
109. Barnes PJ, Adcock I. Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. *Trends Pharmacol Sci* 1993;14:436-441.

110. Brauchle M, Fassler R, Werner S. Suppression of keratinocyte growth factor expression by glucocorticoids in vitro and during wound healing. *J Invest Dermatol* 1995;105:579-584.
111. Perez JR, Shull S, Gendimenico GJ, Capetola RJ, Mezick JA, Cutroneo KR. Glucocorticoid and retinoid regulation of alpha-2 type I procollagen promoter activity. *J Cell Biochem* 1992;50:26-34.
112. Eliashar R, Ochana M, Maly B, Pines M, Sichel JY, Nagler A. Halofuginone prevents subglottic stenosis in a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006;115:382-386.
113. Ertugrul EE, Cincik H, Dogru S, Cekin E, Berber U, Gungor A, Poyrazoglu IE. Effects of halofuginone on fibrosis formation secondary to experimentally induced subglottic trauma. *Laryngoscope* 2007;117:299-302.
114. Salmela K. Comparison of the effects of methylprednisolone and hydrocortisone on granulation tissue development. An experimental study in rat. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1981;15:87-91.
115. Holund B, Junker P, Christoffersen P, Lyon H, Lorenzen I. The effect of D-penicillamine and methylprednisolone on the morphology of experimental granulation tissue in rats. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [A]* 1982;90:51-55.
116. Ward HE, Kemsley L, Davies L, Holecek M, Berend N. The effect of steroids on radiation-induced lung disease in the rat. *Radiat Res* 1993;136:22-28.
117. Kivirikko KI, Risteli L. Biosynthesis of collagen and its alterations in pathological states. *Med Biol* 1976;54:159-186.
118. Pihlajaniemi T, Myllyla R, Kivirikko KI. Prolyl 4-hydroxylase and its role in collagen synthesis. *J Hepatol* 1991;13:2-7.
119. Followill DS, Travis EL. Differential expression of collagen types I and III in consequential and primary fibrosis in irradiated mouse colon. *Radiat Res* 1995;144:318-328.
120. Dominguez JM, Jakate SM, Speziale NJ, Savin MH, Altringer WE, Saclarides TJ. Intestinal anastomotic healing at varying times after irradiation. *J Surg Res* 1996;61:293-299.
121. Ozcelik MF, Pekmezci S, Saribeyoglu K, Unal E, Gumustas K, Dogusoy G. The effect of halofuginone, a specific inhibitor of collagen type I synthesis, in the prevention of esophageal strictures related to caustic injury. *Am J Surg* 2004;187:257-260.
122. Talas DU, Nayci A, Atis S, Comelekoglu U, Polat A, Bagdatoglu C, Renda N. The effects of corticosteroids and vitamin A on the healing of tracheal anastomoses. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003;67:109-116.

123. Girinsky T. [Effects of ionizing radiation on the blood vessel wall]. *J Mal Vasc* 2000;25:321-324.
124. Abbas B, Hume SP, McCullough JS, Wilson DJ, Stewart PC, Carr KE. Early morphological changes in blood capillaries of mouse duodenal villi induced by X-irradiation. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1990;22:609-614.

8. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Sivas'ın Altınyayla ilçesinde doğdum. İlkokulu Karaman Gazi Mustafa Kemal ilkokulu, orta ve lise tahsilimi Karaman Anadolu Lisesinde tamamladım. 1996 yılında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yüksek öğrenimime başlayıp 2002 yılında mezun oldum. Aynı yıl içerisinde girdiğim Tıpta Uzmanlık Sınavında (TUS) Fırat üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz bölümünü kazandım ve ihtisasa başladım. Halen bu klinikte araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.