



T.C.

ALTINBAŞ ÜNİVERSİTESİ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı

Kemoterapinin Neden Olduğu

Oral Mukozit İçin Sıçan Modeli Oluşturma

Dt. Mina TÜRKMEN KARAÇÖL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN: Doç. Dr. Buğra ÖZEN

İSTANBUL 2021

“Mina TÜRKMEN KARAÇÖL” tarafından hazırlanmış ve 10/02/2021 sunulmuş
“Kemoterapinin neden olduğu oral mukozit için fare modeli oluşturma” başlıklı ocuk Diş
Hekimliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak **oy birliği/oy çokluğu** ile kabul
edilmiştir.

Doç. Dr. Buğra ÖZEN

Danışman

Tez Savunma Sınavı Jüri yeleri:

Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

Eczacılık Fakültesi,
Marmara Üniversitesi

Prof. Dr. Ceyhan ALTUN

Diş Hekimliği Fakültesi,
Altınbaş Üniversitesi

Doç. Dr. Buğra ÖZEN

Diş Hekimliği Fakültesi,
Altınbaş Üniversitesi

Bu tezin Yüksek Lisans. tezi olarak bütün şartları sağladığını beyan ederim.

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü kabul tarihi:

____/____/____

Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışlara uygun olarak edinildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde, bu çalışmada, orijinal olmayan tüm materyalleri ve sonuçları tamamen alıntı yaptığımı ve referans gösterdiğimi de beyan ederim.

Mina TÜRKMEN KARAÇÖL



TEŞEKKÜRLER

Eğitim süresi içinde bilgi ve tecrübeleriyle desteğini her an gördüğüm, hiçbir zaman yardımını esirgemeyen, hoşgörülü ve sevecen olmakla disiplinli olmayı birleştiren ve her zaman kendime örnek aldığım, tez çalışmamın her aşamasında büyük katkıları olan tez danışmanım değerli hocam, Sayın Doç. Dr. Buğra Özen'e,

Çalışmanın planlanması ve gerçekleştirilmesinde yer alan Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu, Doç. Dr. Özlem Bingöl Özakpınar ve Porf. Dr. Vakur Olgaç'a,

Gerek fakülte eğitimimde gerek mesleki tecrübelerinden yararlanabildiğim, fikir danışabildiğim hocam Prof. Dr. Ceyhan Altun'a,

Tez çalışmamdaki yardımları için Dr. Öğr. Üyesi Nilay Aksoy'a

Altınbaş Çocuk Diş Hekimliği ailesinin değerli uzmanları, Prof. Dr. Hayriye Sönmez, Dr. Öğr. Üyesi Simge Aksoy, Dr. Öğr. Üyesi Gülce Esentürk ve Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe Gürcan'a,

Yüksek lisans eğitimim ilk gününden beri yan yana olduğum, fakülteden kliniğimize olan yol arkadaşlığımızda her konuda bana destek olan birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili arkadaşım Dt. Pırıl Bozkan'a,

Beni her zaman sevip koruyan, bugünlere gelmemi sağlayan hayatımın her döneminde anlayış ve desteklerini her an üzerinde hissettiğim sevgili aileme,

Sabri, sevgisi ve hoşgörüsü ile her zaman yanımda olan, tüm kararlarımda beni destekleyen sevgili eşim Erkam Karaçöl'e

En içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

KEMOTERAPİNİN NEDEN OLDUĞU

ORAL MUKOZİT İÇİN SIÇAN MODELİ OLUŞTURMA

Günümüzde kanserler, salgınlar ve buna benzer hastalıklar hastaların yaşam standartlarını etkilemekte ve hastalıklara bağlı mortalite riski gün geçtikçe artmaktadır. Kanser tedavisinde birçok yöntem kullanılmakla beraber en sık kullanılan yöntemlerin başında kemoterapi tedavisi gelmektedir. Kemoterapide kullanılan antimetabolit ajanlar, malign özelliği gösteren hücrelerin büyümesini, gelişmesini ve proliferasyonunu durdururken diğer bir yandan ise malignite özelliği göstermeyen normal hücreleri de etkilemektedir. Kemoterapinin sitotoksik zararından en çok zarar gören hücreler, hızlı bölünebilme özelliğine sahip oral mukoza epitel hücreleridir. Oral mukoza hücrelerinin baskılanması sonucu mukozal bariyerin bozulur ve mukozit tablosu meydana gelir. Oral mukozit tablosunda hastalarda şiddetli ağrılar, beslenmede zorluk, enfeksiyon ve uzun hastane kalış süreci izlenir ve bu belirtiler hastanın tedavi sürecini olumsuz yönde etkilemektedir.

Bu çalışmanın amacı, oral mukozit tedavisinde çalışmalarının yapılabileceği ideal bir sıçan modeli oluşturmaktır. Oral mukozit modeli oluşturabilmek için birbirini izleyen 4 farklı pilot ve bir ana çalışma yapılmıştır. Birinci pilot çalışmada toplam 100 mg/kg 5-Fu intraperitoneal (i.p.) olarak 4 sıçana uygulanmış fakat oral mukozit oluşturulamamıştır. İkinci pilot çalışmada yanak mukozası iğne ucu ile çizilmiş sıçanlara toplamda 120 mg/kg 5-Fu uygulaması yapılmış olup, bu modelde de başarı elde edilememiştir. Bu sıçanlar kurban edilerek 2. Sıklarda birinci gün 60 mg/kg, 3. Gün 150 mg/kg ve 5. Gün 60 mg/kg 5-Fu uygulanmış, sıçanların yanakları çizilerek asetik asit (AA) sürülmüş ve oral mukozit modeli başarı ile oluşturulmuştur. Bunun üzerine 4. çalışmaya geçilerek 40 sıçana 3. çalışmanın gereç yöntemi uygulanarak oral mukozit modeli elde edilmeye çalışılmış fakat hayvanların tümü 4. günde kaybedilmiştir. Literatürdeki bu çalışmalarda kullanılan doz miktarlarına bağlı mortalitenin tam olarak gerçeği yansıtmadığı düşüncesiyle modelin tam olarak çalışabilmesi ve gelecekteki diğer çalışmalarda hayvan kayıplarının önüne geçebilmesi amacıyla 5. Çalışma planlanmıştır. Bu amaçla çalışmamızda 6 aylık Sprague Dawley cinsi erkek 22 adet erişkin sıçan kullanılmıştır. Çalışmadaki sıçanlar 5 farklı gruba ayrılarak kontrol grubuna seçilen 2 sıçan haricindeki tüm hayvanlara 1. gün 60 mg/kg, 5.gün 150 mg/kg olmak üzere toplamda 2 kez i.p. olarak 5-Fu verilmiş ve bütün

hayvanların yanak mukozası çizilerek %20'lik A.A. uygulaması yapılmıştır. 13. Günde hayvanlar sakrifiye edilip, kan ve doku örnekleri alınmıştır.

Edinilen bulgular ışığında, 60mg/kg + 150 mg/kg dozlarında verilen 5-Fu ile yanak mukozasına %20'lik asetik asit (15 ul) uygulamalarının oral mukozit oluşturarak hayvanların bir çalışmada kullanılabilecek kadar uzun süreli, düşük mortalite verileri ile hayatta kalabildiği klinik, histolojik ve laboratuvar bulguları ile desteklenmiştir.

Anahtar kelimeler: Oral Mukozit, Sıçan modeli, 5-Fluorourasil, Kemoterapi, Asetik asit



ABSTRACT

Developing A Rat Model for Oral Mucositis Induced by Chemotherapy

Today, cancers, epidemics and similar diseases affect the living standards of patients and the risk of mortality due to diseases increases day by day. Although several methods are used in cancer treatment, the most commonly used one is chemotherapy treatment. The antimetabolite agents used in chemotherapy stop the growth, development and proliferation of the cells with malignant characteristics. They also affect normal cells that do not show malignant characteristics. The cells most damaged by the cytotoxic damage of chemotherapy are oral mucosal epithelial cells which have rapid division. As a result of the suppression of oral mucosa cells, the mucosal barrier is disrupted and mucositis occurs. The oral mucositis causes severe pain, difficulty in feeding, infection and a long hospital stay, and these symptoms affect the patient's treatment process negatively.

The aim of this study was to create an ideal rat model that can be studied in the treatment of oral mucositis. In order to create an oral mucositis model, 4 different pilots and a main study were conducted consecutively. In the first pilot study, a total of 100 mg/kg 5-Fu was administered intraperitoneally (i.p.) to the 4 rats, but oral mucositis could not be induced. In the second pilot study, a total of 120 mg / kg 5-Fu was administered to the rats whose buccal mucosa was drawn with a needle, and this model was also unsuccessful. These rats were not sacrificed and 5-Fu administered in the 2nd cycle again as 60 mg/kg on the first day 150 mg/kg on the 3rd day, 60 mg/kg on the 5th day and acetic acid (AA) was applied by scratching the cheeks of the rats, then the oral mucositis model was successfully established. Thereupon, as a 4th study, the oral mucositis model was tried to be obtained by applying the material method of the 3rd study to the 40 rats, but all animals were lost on the 4th day. The 5th study was planned in order to make the model work fully and to prevent animal losses in other future studies, considering that the mortality depending on the dose amounts used in these studies in the literature does not reflect the reality. For this purpose, 22 adult male rats of 6 months old Sprague Dawley breed were used in this study. The rats in the study were divided into 5 different groups and all animals except 2 rats selected as the control group received 60 mg / kg on the first

day and 150 mg / kg 5-Fu i.p. on the fifth day were given as and the buccal mucosa of all animals was drawn and 20% A.A. has been applied. On the 13th day, animals were sacrificed, and blood and tissue samples were taken.

In the light of the findings obtained, the clinic, where the administration of 20% acetic acid (15 µl) to the buccal mucosa with 5-Fu given at doses of 60mg / kg + 150 mg / kg can cause oral mucositis and the animals can survive with low mortality data for a long time enough to be used in a study was supported by histological and laboratory findings.

Keywords: Oral mucositis, Rat model, 5-Fluorouracil, Chemotherapy, Acetic acid

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.2.2.1. Bazı Kemoterapi Rejimlerinde Grad 3-4 Mukozit ve Diyare Riski

Tablo: 2.2.3.1. Mukozit Evreleri,

Tablo 2.2.4.1. NCI: Toksisite Kriterleri

Tablo 2.2.4.2. Ağız Değerlendirme Rehberi (ADR)

Tablo 3.2.1.1. Serum glukoz konsantrasyonu ölçüm tablosu

Tablo 3.2.2.1. Serum üre konsantrasyonu ölçüm tablosu

Tablo 3.3.1.1. MDA analiz tablosu

Tablo 3.3.2.1. GSH analiz tablosu

Tablo 5.1.1.1. Sıçanlardaki ağırlık değişimi

Tablo 5.1.3.1.1.5 Fu tedavisi öncesi ve sonrası sıçanlardaki kilo değişimi

Tablo 5.1.3.1.2. 5-FU uygulanmasından önceki ve sonraki skollama

Tablo 5.1.5.1. Çalışma grubu ve Kontrol grubu arasındaki ağırlık farkı

Tablo 5.1.5.2. Çalışma grupları ve Kontrol grubu arasındaki skollama farkı (alt ve üst değerler)

Tablo 5.1.5.3. Çalışma grubu ve kontrol grubundaki ALT, AST ve Üre Sonuçları

Tablo 5.1.5.4. Çalışma grubu ve kontrol grubundaki Doku MDA Ve Antioksidan Enzim Seviye Sonuçları

Tablo 5.1.5.5. Çalışma grubu ve Kontrol grubu Mortalite Tablosu

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.2.1.1. Mukozit Oluşum Fizyopatolojisi

Şekil 2.2.2.1. : Yanak mukozasında mukozit görünümü

Şekil 2.2.2.2. : Dilin yan kısmında mukozit görünümü

Şekil 5.1.2.2.1. Dile 5-Fluorourasil + Çizgi uygulamasının ödemli bağ dokusu içinde çok sayıda mast hücresi ve histamin deşarjı

Şekil 5.1.2.2.2. Dilde 5-Fluorourasil + Çizgi uygulamasının dilate damar kesitleri (H&E X200).

Şekil 5.1.3.2.1. Yüzeyi örten çok katlı yassı epitelyum şekli

Şekil 5.1.3.2.2. Ağızdaki yüzeyi örten çok katlı yassı epitel şekli

Şekil 5.1.3.2.3. Karaciğerde parenkim hücreleri şekli

Şekil 5.1.5.1.1. Kemoterapi Grup-1 yüzey epiteli şekli

Şekil 5.1.5.1.2. Kontrol grubundaki düzensiz akantoz şekli

KISALTMALAR

DNA	:Deoksiribonükleik Asit
RNA	:Ribonükleik Asit
KOAH	:Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
5-Fu	:5-Fluorouracil
HPV	:Human Papilloma Virus
iNOS	:İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
COX-2	:Siklooksijenaz-2
PGE	:Prostaglandin E
ALT	:Alaninaminotransferaz
AST	:Aspartataminotransferaz
PBS	:Phosphate Buffer Salined
MDA	:Malondialdehit
GSH	:Glutasyon
MPO	:Myeloperoksidaz
SOD	:Süperoksit Dismutaz
KAT	:Katalaz
NO	:Nitrit Oksit
IL	:İnterlökin
ROS	:Reaktif Oksijen Türevleri
İ.P.	İntraperitoneal
AA	Asetik Asit
WHO	World Health Organisation
WCCNR	Western Consortium for Cancer Nursing Research
OAG	Oral Assessment Guide
NCI	National Cancer Institute

İÇİNDEKİLER

ÖZET	V
ABSTRACT.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KANSER.....	3
2.1.1 Kanser Etiyolojisi.....	3
2.1.1.1. Kansere Neden Olan İç Etkenler	3
2.1.1.2 Kansere Neden Olan Dış Etkenler.....	4
2.1.2 Kanser Tedavisi.....	4
2.1.2.1. Cerrahi	4
2.1.2.2. Radyasyon Tedavisi	5
2.1.2.3. Hedeflenmiş Tedavi	5
2.1.2.4. İmmünoterapi	6
2.1.2.5. Kök Hücreler	6
2.1.2.6. Fotodinamik tedavi.....	6
2.1.2.7. Kan trasfüzyonu	6
2.1.2.8. Kemoterapi	6
2.2. Mukozit.....	7
2.2.1. Mukozit gelişiminde patolojik olay aşamaları	8
2.2.2. Mukozit Yerleşimi	9

2.2.3. Mukozitin Evrenlenmesi:	10
2.2.4. Oral Mukoza Bütünlüğünün Değerlendirilmesi.....	11
2.2.5. İdeal Mukozit Yönetimi	13
2.2.6. Oral Mukozit Yönetiminde Kanıta Dayalı Uygulamalar	13
2.2.7. Oral mukozitin önlenmesi ve tedavisi.....	14
2.2.7.1. Tedavi Öncesi Mukozit Önlenmesi	14
2.2.7.2. Oral Mukozitin Yönetiminde Kullanılan Yaklaşımlar	15
2.2.7.3. Farmakolojik Olmayan Yaklaşımlar:	17
2.2.7.4. Kemoterapide kullanılan antineoplastik ajanlar	17
2.2.7.5. Antineoplastik ilaçların sınıflandırması (Mandel NM, 2015)	17
3. GEREÇ YÖNTEM	19
3.1. Çalışmalar	20
3.1.1 Birinci Pilot Çalışma:	20
3.1.2. İkinci Pilot Çalışma.....	20
3.1.3. Üçüncü Pilot Çalışma.....	20
3.1.4. Dördüncü Pilot Çalışma	21
3.1.5. Beşinci Çalışma:	22
3.2. Serumda Biyokimyasal Analizler	23
3.2.1. Serum glukoz konsantrasyonunun ölçülmesi.....	23
3.2.2. Serum üre konsantrasyonunun ölçülmesi	24
3.2.3. Serum ALT ve AST konsantrasyonlarının ölçülmesi	24
3.3. Yanak, Böbrek ve Karaciğer Dokusunda Biyokimyasal Analizler	25
3.3.1. Doku Malendialdehid (MDA) seviyelerinin ölçülmesi	25
3.3.2. Doku Glutasyon (GSH) seviyelerinin ölçülmesi	26
3.3.3. Doku Miyeloperoksidaz (MPO), Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (KAT) ve Nitrik Oksit (NO) Seviyelerinin Analizi	26
3.3.4. Doku Sitokin Düzeylerinin Analizi.....	27
4. İSTATİSTİKSEL SONUÇLAR	28

5. BULGULAR.....	29
5.1. Çalışmalar	29
5.1.1. Birinci Pilot Çalışma.....	29
5.1.2. Histolojik Değerlendirme.....	30
5.1.2.1. Yanak.....	30
5.1.2.2. Dil.....	30
5.1.2. İkinci Pilot Çalışma.....	32
5.1.3. Üçüncü Pilot Çalışma.....	32
5.1.3.1. Gözlem ve Skolama	32
5.1.3.2. Histolojik Değerlendirme	34
5.1.4. Dördüncü Pilot Çalışma	36
5.1.5. Beşinci Çalışma.....	37
5.1.5.1. Patolojik Değerlendirme.....	40
6. TARTIŞMA.....	42
6.1. Mortalite	43
6.2. Ağırlık Kaybı.....	46
6.3. Skolama Tablosu.....	46
6.4. Histolojik Olarak Değerlendirme.....	48
6.5. Alt, Ast ve Üre Değerleri	48
6.6. Mpo Sonuçları.....	49
7. SONUÇ	50
REFERANSLAR	51

1. GİRİŞ

Günümüzde dolaşım sistemi, solunum sistemi, diyabet, kanser ve benzeri birçok hastalıklar hastaların yaşam kalitelerini etkilemekte ve mortalite riski de giderek artmaktadır. Kanser, dünyada ölüm insidansında ikinci olarak yer alan önemli bir sağlık sorunudur.

Kemoterapi ve radyoterapi kanser tedavisinde kullanılan yöntemlerdendir. İlaçla tedavi anlamına gelen kemoterapide güçlü antineoplastik ajanlar kullanılır. Kullanılan antineoplastik ajanlar, kanserli hücrelerin yanı sıra neoplastik özellik göstermeyen hücreleri de olumsuz yönde etkilemektedir. . Bu normal hücreleri etkileyen zararları, DNA ve RNA'yı etkileyerek protein sentezini bozarak oluştururlar. (Patients & Practices, 2015)

Kemoterapinin zararından en çok zarar gören hücreler ise hızlı çoğalabilme kapasitesine sahip olan oral mukoza epitel hücreleridir. Kemoterapide kullanılan ilaçlar, oral mukozada bulunan hücrelerinin gelişmesini ve çoğalmasına engel olarak primer mukoza bütünlüğünün kaybına neden olurlar (Münstedt & Männle, 2019). Primer mukozal bariyerin bozulması ile ülserasyon ve enflamasyon sonucunda da mukozit meydana gelir. Oral mukozit, keratinize olmayan mukozanın eritemli ülserasyonuna neden olur; bu da şiddetli ağrıya, beslenme yetersizliğine, uzun hastane yatış sürecine ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olarak hastanın tedavi sürecini olumsuz yönde etkilemektedir. (Henke et al., 2011)

Mukozitin iyileşme protokolünde , hastaya verilen ilacın yanı sıra dozu ve ilaç tedavisine paralel olarak verilen radyoterapide tedavi sürecini etkilemektedir. . Hastaya ait kişisel parametreler mukozit prevalansını ve şiddetini değiştirmektedir. Bu özelliklerin arasında hastanın yaşı, oral hijyen alışkanlığı, immün sistem özellikleri ve beslenme düzeni sayılabilir. l (Hita-Iglesias, Torres-Lagares, & Gutiérrez-Pérez, 2006)

Kemoterapi sonucu oluşan oral mukozitin önlenmesi için geliştirilen ajanlar, sıçan modelleri üzerinde uygulanmaktadır. Çalışmanın verimliliği, güvenilirliği ve standardizasyonu açısından akıllarda soru işareti bırakmayan, tüm araştırmalarda kullanılabilecek ideal bir fare modeli olmalıdır. Yapılan araştırmalar sonucunda uygun bir

hayvan modeli tam olarak tespit edilememiş ve çalışmaların çoğu mortalite oranlarını gizleyerek model başarısının güvenilirliğini alt sınırlara çekmiştir. Bu çalışmanın amacı; oral mukozit oluşturabilmek için ideal bir sıçan modelinin geliştirilmesidir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. KANSER

Kanser; insanlık tarihi kadar eskidir.

Kanser hakkında ilk yazılı kayıtlar M.Ö. 3000 yılına dayanmaktadır.

Kanser, kontrolü sağlanamayan anormal hücre çoğalması olarak ya da fizyolojik koordinasyonunu kaybetmiş hücrelerin çoğalması şeklinde tanımlanabilir. Standart protokoller bulunmasına rağmen herkanser türüne özel tedavi yöntemleri vardır. Bu birbirinden ayrı yaklaşımların olmasının temel nedeni, her insanın farklı bir DNA'ya sahip olmasıdır. Kanser tedavisinde birçok yöntem tek başına veya kombine şeklinde kullanılabilir. (Fitzmaurice et al., 2015)(Pavlopoulou, Spandidos, & Michalopoulos, 2015)

En yüksek ölüm oranı görülen kanser tipi akciğerde görülendir. (Siegel, Miller, & Jemal, 2015).

Kanser sonucunda görülen ölümlerin yaklaşık üçte biri; beslenme ile ilgili risk faktörlerinden ve beş davranışsal özellikten kaynaklanmaktadır. Bu beş davranışsal özellikler şu şekilde sıralanabilir: sigara/alkol tüketimi, karbonhidrat bakımından zengin diyet ve hareketsiz yaşam. Kansere bağlı ölümlerin %22'sinin nedeni sigara tüketimidir. (American et al., n.d.)(V. Under et al., 2019)

2.1.1 Kanser Etiyolojisi

Kansere neden olan etkenler, iç ve dış olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. (Birol, L., Akdemir, N., Bedük, 1990)

2.1.1.1. Kansere Neden Olan İç Etkenler

1. Kişinin yaşı
2. Kişinin cinsiyeti
3. Kişinin hormonal Sistemi
4. Irk

5. Kalıtsal özellikleri

6. Bağışıklık kabiliyeti

2.1.1.2 Kansere Neden Olan Dış Etkenler

1. Coğrafik ve Bölgesel Etkileşimler

2. Toplumsal Faktörler

3. Yetersiz ve dengesiz beslenme

4. Travma geçmişi

5. Biyolojik (virüs ve parazitler)

6. Radyoaktivite (X ışınları, mor ötesi ışınlar, radyoaktif etkenler)

7. Kimyasal maddeler

2.1.2 Kanser Tedavisi

Kanser tedavisinde en sık benimsenen protokol, cerrahi ve radyoterapi yöntemlerine kemoterapinin eklenmesi oluşmuş multidisipliner bir tedavidir. Bu şekilde farklı özelliklere sahip kanser çeşitlerinde benzer tedavi rejimleri uygulanarak hastalarda iyileşme görülmektedir. (Fitzmaurice et al., 2015) (Pavlopoulou et al., 2015).

2.1.2.1. Cerrahi

Kanserin teşhisinde, yayılım alanının izlenmesinde ve tedavisinde kullanılan yöntemlerden biridir. Tek başına kullanılmasının yanı sıra radyoterapi tedavisine ek olarak veya radyoterapi ve kemoterapinin beraber uygulandığı multidisipliner bir tedaviye yardımcı olarak çok sık kullanılan yöntemdir. Vücutta başka bölgelere/organlara metastaz yaparak yayılmamış olan kanserlerde başarı şansı yüksektir. (Baykara O, 2016)

Konvansiyonel teknikler yanı sıra kriyo cerrahi, robotik cerrahi, lazer cerrahi, elektro cerrahi ve laparoskopik cerrahi gibi çeşitli teknikler kanser tedavisinde cerrahi işlem başarısı açısından tercih edilmektedir. (Göksoy, 2001)

2.1.2.2. Radyasyon Tedavisi

Yüksek enerjili radyasyon ile kanserin iyileştirilmesi amaçlanır. Uygulanan yüksek dozdaki radyasyon, kanserli hücrelerinin bölünmesini ve çoğalmasını önler. Hücrelerin ölümünden dolayı olabilirler (Senan, Palma, & Lagerwaard, 2011).

Kanser tedavisinde %60 oranını radyoterapi oluşturur. Radyoterapi tümörli alan sınırlanarak yüksek doz ışınlar sadece kanserli hücrelerin bulunduğu bölgeye gönderilir. Ortalama yarım saat süren radyoterapi seansı sonrasında hasta, günlük yaşamına devam edebilir. sadece. (Baykara O, 2016)

Radyoterapi, tüm vücudu hedef alan tedavilerin yanı sıra vücudun sadece belli bir bölgesini hedef alan tedavi protokolü şeklinde de uygulanabilmektedir. Çeşitli yöntemlerin uygulanmasındaki başlıca hedef, sağlıklı hücreler üzerinde minimum düzeyde hasarı verecek fakat aynı zamanda öldürülmesi amaçlanan kanser hücreleri üzerine maksimum etki gösterecek bir tedavi protokolünün geliştirilmesidir. (Senan et al., 2011)(Varela & Gómez-Hernández, 2016)

Radyoterapi amaç, başarılı bir tedavinin yanı sıra tedaviden sonra da hastanın konforlu bir hayat yaşamasıdır. Bu amaçla tümörün sınırlarını belirleyerek sadece kanserli bölgeyi hedef alan tedaviler geliştirilmiştir. Bu sayede sağlıklı dokuların zarar görmesi tamamen önlenemese de alınan ışınlama tolerans sınırları içinde kalmaktadır. (Salama et al., 2016)

2.1.2.3. Hedeflenmiş Tedavi

Kanser tedavileri konusunda alanında uzman kişiler tarafından, kanser hücreleriyle ilgili çalışmalar yapıldıkça, tedavide kullanılan ajanların gelişimi ile ilgili de daha çok bilgi sahibi olunmaktadır. Geliştirilen bu ajanlarla uygulamaya hedeflenmiş tedavi adı verilmektedir. Bu tedavide amaç, kanserin ilerlemesinin önüne geçilmesidir. r

(Hemmatzadeh, Mohammadi, Jadidi-Niaragh, Asghari, & Yousefi, 2016)

2.1.2.4. İmmünoterapi

- İmmünoterapi, hastanın immün sisteminin kanser gibi sağlık sorunları ile mücadelede uygulanmaktadır. Bu yöntemde amaç, immün sistemin uyarılması ile neoplastik hücreleri yok etmeye çalışmasını başlatmaktır. (Jabbour, O'Brien, Ravandi, & Kantarjian, 2015) (Buie, Pecoraro, Horvat, & Daley, 2015)

2.1.2.5. Kök Hücreler

Kök hücreler diğer hücre tiplerine dönüşebilen özel hücrelerdir.

Kök hücrelerin başka hücre tipine dönüşebilme, konak hücrede yaşayabilme, çevre dokulara ve organlara hasar vermeme gibi özellikleri sayesinde bu işlevleri yerine getirirler. (Cho et al., 2013) (Eto et al., 2008)

2.1.2.6. Fotodinamik tedavi

Fotosensitize edici ajanlar olarak isimlendirilen ilaçlar, toksik etki yaratan lazer ışığı veya LED ışık yardımıyla uygulanan tedavi yöntemidir. Tedavinin seyrinde kullanılacak antineoplastik ajan, kanser hücreleriyle absorbe edilir.. Bunun sonrasında kullanılan lazer ışığı, hedeflenen bölgeye uygulanır.. (Lucena et al., 2015)

2.1.2.7. Kan trasfüzyonu

Kan veya kan hücrelerinin intravenöz yol ile ihtiyacı olan hastaya verilmesidir.

- (Edwards & DeMeo, 2020)

2.1.2.8. Kemoterapi

İlaç kullanılarak yapılan tedavi anlamına gelen kemoterapi, sıklıkla antineoplastik ilaçlar kullanılarak kanserli hücrelerin çoğalmasını önlemek için kullanılır. Sitotoksik antineoplastik ajanlar kemoterapi tedavisinde önemli bir yere sahiptir. (Mian et al., 2016)

Kemoterapinin amacı, sağlıklı hücrelere zarar göstermeden kanserli hücrelerin gelişimini baskılamak, çoğalmalarını önleyerek tek başına veya diğer yöntemlerle beraber multidisipliner bir tedavi protokolu oluşturmaktır. (Patients & Practices, 2015)

Kemoterapiye bağlı görülen diğer yan etkiler; bulantı/kusma, diyare, sistit, sterilite, miyalji ve nöropati, iştahsızlık, ağız yaraları ve ateştir.

Görülen yan etkiler kemoterapi sona erdiğinde kaybolur(Patients & Practices, 2015)

2.2. Mukozit

Kanser tedavisinde en sık ortaya çıkan yan etkilerden biridir. Mukozit, oral ve gastrointestinal sistem (GİS) mukozasında görülen ülserasyonu ve enflamasyon tablosudur. Bu yan etkilerle beraber enfeksiyonun görülmesiyle enflamatuvar bir durum ortaya çıkmaktadır.

Oral ve GİS mukozasındaki epitel hücrelerinin mitotoik bölünme hızı yüksektir ve bu nedenlerle kanser tedavisinde görülen yan etkilere daha duyarlıdır.

Görülen yan etkilerden biri olan mukozit, kemoterapi tedavisinden 1 hafta sonra ortaya çıkar ve tedavi bitimiyle ortalama 21 gün içinde iyileşir.(Epstein et al., 2012)

Kanser tedavisinde kullanılan yöntemlerden olan kemoterapi ve radyoterapide, DNA hasarı oluşur. Bu durumun sonucunda dokularda harabiyet, ülserasyon tablosu ile karşılaşılır. Bu tablonun görülmesiyle bakteriyel kontaminasyona karşı savunmasız bir mukoza görlr. (S T Sonis, 1998)

Mukozit, görülme bölgesine göre oral mukozit ve gis mukozit olarak ikiye ayrılır.

Oral mukozitin şiddeti, kemoterapi ve / veya radyoterapinin türüne ve dozuna bağlıdır. (Münstedt & Mnnle, 2019)

Oral mukozit, keratinize olmayan mukozanın eritemli ülserasyonuna neden olur; bu da şiddetli ağrıya, beslenme yetersizliğine, uzun hastane yatış sürecine ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olur. (Münstedt & Mnnle, 2019)Bu yan etkiler nedeniyle tedavide gecikmeler olabilir ve optimal kanser tedavisini etkileyebilir, böylece klinik remisyonları ve tedavi başarısını etkiler. (Münstedt & Mnnle, 2019)

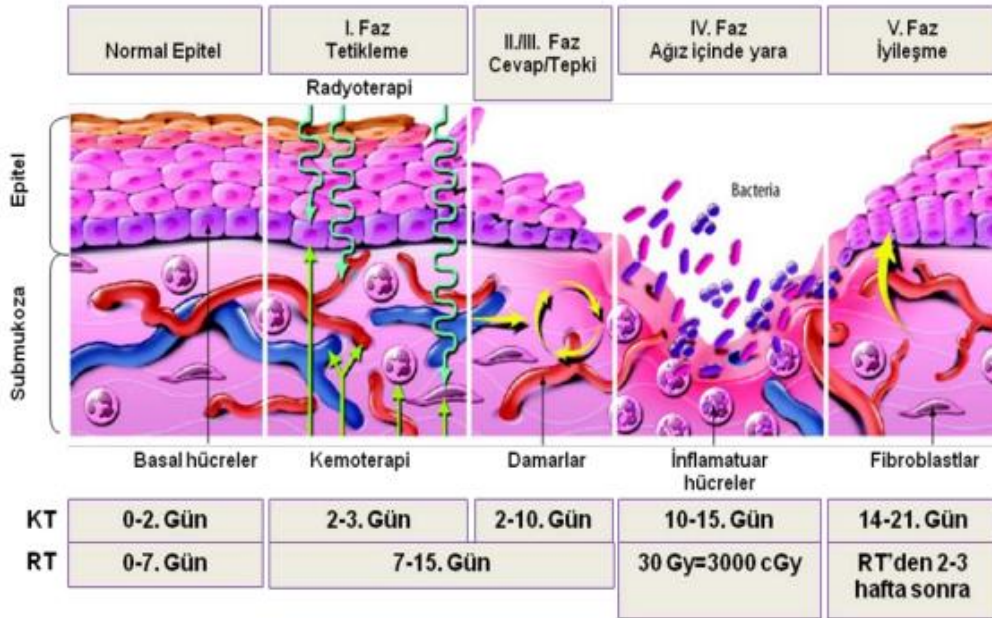
Kanser hastalarında sık görülen yan etkilerden biri olan mukozitin görülme sıklığı ile ilişkili bazı parametreler vardır. Bunlar arasında, uygulanan tedavi, yaş, cinsiyet, oral hijyen, otoimmün hastalık hikayesi, tükürük tamponlama kapasitesi, genetikzellikler, diyet, tütün kullanımı, gibi parametreler bulunur (Münstedt & Mnnle, 2019).

2.2.1. Mukozit gelişiminde patolojik olay aşamaları

I. Enflamatuar faz: Kemoterapiden hemensonra, klinik ve patolojik olası bir değişikliğin izlenmediği fazdır. II. Epitelyal faz: Kemoterapinin 4.-5. gününde,eritemli ve atrofik epitelgörülr. Hastanın Konuşma, yutma veçiğneme fonksiyonları azalır.

III. Ülseratif faz Tedavinin ilk haftasından sonra görölürMukozadaki epitel bütünlüğün bozulması ile ülserler meydana gelir..

IV. İyileşme fazı: Tedavinin 12.-16. günleri arasında görölür. Bu iyileşme fazının süresi yeni oluşacak epitel hücrelerinin hızına, floranın yenilenebilme kapasitesine, ülserasyon ve enfeksiyon varlığına göre değışkenlik gösterir(S T Sonis, 1998).



Şekil 2.2.1.1. Mukozit Oluşum Fیزیopatolojisi

2.2.2. Mukozit Yerleşimi

Mukozit, ketarinize olmayan oral mukozada, damakta, yanak mukozasında, dudak ve ağız tabanında izlenir..



Şekil 2.2.2.1. Yanak mukozasında mukozit görünümü



Şekil 2.2.2.2. Dilin yan kısmında mukozit görünümü

Mukozit oluşumu; uygulanacak kemoterapinin protokolüne, neoplastik özellik gösteren bölgenin baş-boyun bölgesine olan yakınlığına ve hastanın medikal geçmişi ile ilişkilidir.. (Bensadoun 2006), (D. E. Peterson, Bensadoun, & Roila, 2011)

Oluşan mukozitin derecesi tedavide hem kullanılan kemoterapik ajanın dozuna hemde hastanın bireysel özellikleri ve tedaviye karşı olan toleransına göre değişiklik göstermektedir. (Tablo 2.2.2.1.) (Bensadoun, 2006)

Baş-boyun kanseri olan ve radyoterapi gören hastalarda, oral mukozit tablosu önemli bir doz sınırlayıcı bir faktördür.

Tablo 2.2.2.1.Kemoterapi ProtokolündeGrad 3-4 Mukozit ve Diyare Riski
(Bensadoun, 2006)

Tablo 2.2.2.1.: Kemoterapi ProtokolündeGrad 3-4 Mukozit ve Diyare Riski				
Rejimler	Çalışma Sayısı	Hasta Sayısı	Grad 3-4 oral mukozit riski (%)	Grad 3-4 diyare riski (%)
Akciğer kanserli bütün olgular	49	4750	0,79	1,38
Platinum + paklitaksel	16	2009	0,49	1,59
Platinum + paklitaksel (düşük doz)	1	49	1,02	1,02
Platinum + paklitaksel + diğer	7	451	1,47	2,80
Platinum + dosetaksel + diğer	1	83	0,60	0,60
Gemsitabin + platinum	18	1476	1,08	1,08
Gemsitabin + paklitaksel	2	109	1,84	3,69
Gemsitabin + vinorelbin	1	67	0,75	2,99
Vinorelbin + paklitaksel	1	175	0,29	0,20
Vinorelbin + platinum	1	203	0,25	0,25

2.2.3. Mukozitin Evrenlenmesi:

Oral mukozit incelenmesinde birçok sınıflandırma aracı kullanılmaktadır. En çok tercih edilen sınıflandırma çeşidi National Cancer Institute Common Terminology kriterleridir. (Hugoy, Lerdal, Rustoen, & Oksholm, 2019)

Tablo: 2.2.3.1. Mukozit Evre Sınıflandırılması

Mukozit Evreleri	
Evre 1	semptom göstermeyen veya hafif semptom varlığı/tedavi gerekmez
Evre 2	Orta seviye ağrı, beslenmeyi etkilemiyor / Beslenmede değişiklik şart
Evre 3	Şiddetli ağrı / Oral beslenme yapamaz
Evre 4	Hayati risk/ Acil müdahale gerekli
Evre 5	Ölüm

2.2.4. Oral Mukoza Bütünlüğünün Değerlendirilmesi

Günümüzde mukozitin evrenmesinde WHO [World Health Organisation Dünya Sağlık Örgütü] ve NCI [National Cancer Institute-Amerika Ulusal Kanseri Enstitüsü] toksisite kriterleri, WCCNR [Western Consortium for Cancer Nursing Research] sınıflandırma sistemi ve OAG [Oral Assessment Guide-Ağız Değerlendirme Rehberi] gibi çok sayıda değerlendirme aracı kullanılmaktadır.

NCI ‘nın toksisite kriterlerinde mukozit ve mukozitle ilişkili diğer yan etkilerin şiddetini 0-5 likert puanlama kullanılarak tek bir parametrede altında yansıtılmaktadır. (Rosenthal & Trotti, 2009)

Tablo 2.2.4.1. NCI: Toksisite Kriterleri

Grad						
	0	1	2	3	4	5
Ağız kuruluğu	-	Hafif Ağızda kuruluk var, tükürük yoğunluğu artmış ancak beslenme alışkanlığı değişmemiş	Orta Beslenme alışkanlığı değişmiş	Ağızdan Gıda alamıyor	-	
Dişetlerinde Hassasiyet	-	Hafif ağrı mevcut	Gıda alımını kısıtlanmasını gerektiren orta şiddette ağrı mevcut	Gıda alımını engelleyen ciddi ağrısı mevcut	-	
Mukozit (ağız içi)	-	Var, mukozite bağlı yakınma yok veya hafif yakınma var	Gıda alımını engellemeyen, diyet gerektiren orta derecede ağrılı mukozit var	Beslenmeyi önleyen şiddetli ağrısı mevcut	Acil müdahale gereksinimi var	Ölüm
Kilo Kaybı	-	Başlangıç kilosuna kıyasla tedavi gerektirmeyen %5-10 kilo kaybı mevcut	Başlangıç kilosuna kıyasla besin takviyesi gerektiren %10-20 kilo kaybı mevcut	Başlangıç kilosuna kıyasla %20 kilo kaybı mevcut	-	

Oral mukozitlerin değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir araç olan Ağız Değerlendirme Rehberi; multidisipliner değerlendirme yöntemi olup ve oral mukozada mukozit oluşumu sonucunda ortaya çıkan tabloyu araştırmaktadır.

Sekiz bölümden oluşan Ağız Değerlendirme Rehberi, 1, 2, 3 gibi sayısal değerler kullanılarak konuşmada, yutmada, dudaklarda, dilde, tükürükte, müköz membranda, diş etlerinde, dişler ya da protezlerde oluşan değişiklikler hasta anamnezi alınarak ve ağız içi muayene edilerek incelenmektedir.

Bu değerlendirme ile ilde edilen verilen ışığından oral mukozitin ilerleyişi ve tedavi takip protokolü izlenmektedir. (Tarakçıoğlu Çelik, 2016)

2.2.5. İdeal Mukozit Yönetimi

Multinational Association for Supportive Care in Cancer ve International Society of Oral Oncology (MASCC/ISOO), mukozit tedavisi için protokol oluşturmuştur.

Bu protokole göre oral mukozitlerin yönetimi; oral hijyen, oral mukozitlerin tedavisi, ağrı kontrolü ve beslenme desteği seçeneklerini içermektedir. (Stephen T. Sonis et al., 2004)

Mukozitin yönetiminde oral hijyen, oral mukozitlerin yönetiminde kullanılan yaklaşımlar, ağız kuruluşunun palyasyonu, ağrı kontrolü, disfajinin yönetimi ve beslenme desteği seçeneklerini içermektedir. Dişdoktorları, ve diyetisyenlerin kontrolünde oral mukozitin önlenmesi ve tedavisi yapılmalıdır. Bu amaç doğrultusunda tedaviye başlamadan önce riskli hasta grupları belirlenerek oral mukoza üzerinde etkisi olan bu riskler en aza indirilmeye çalışılır.

Sigara ve alkol oral mukoza sağlığını etkilediğinden hastaların sigara ve alkol kullanımını bırakmaları sağlanmalıdır. Radyoterapi öncesi uygulanan periodontal tedavi ve yapılan diş çekimleri radyasyon çürüklerinin, periodontal hastalığın progresyonunun ve olası osteonekrozun önlenmesi için çok önemlidir. (Stephen T. Sonis et al., 2004)

Kemoterapi ve/veya radyoterapi uygulanacak kişilere işlem öncesinde uzman diş doktoru tarafından ağız içi muayenesi yapılmalı ve tespit edilen problemler ivedi bir şekilde ortadan kaldırılmalıdır.

“Ortaya çıkabilecek problemler hakkında bilgilendirme yapılmalı ve iyileşme sürecinde ağız hijyeninin önemi anlatılmalıdır. (Bonan, Lopes, Pires, & de Almeida, 2006)

2.2.6. Oral Mukozit Yönetiminde Kanıta Dayalı Uygulamalar

Mukozit tedavisinin anlatıldığı tıp ve diş dallarında, önleyici olarak belirlenmiş standart bir tedavi protokolü bulunmamaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalar dışında belirlenmiş özel bir ajan yoktur. Herhangi bir uygulamanın diğer yöntemden daha başarılı olduğunu kanıtlayan veriler mevcut değildir. (Brown & Wingard, 2004)

2.2.7. Oral mukozitin önlenmesi ve tedavisi

2.2.7.1. Tedavi Öncesi Mukozit Önlenmesi

İyi bir oral hijyen, oral mukoza sağlığının devam etmesinde ve oluşabilecek yan etkilerin ihtimalini azaltmada etkili bir unsurdur. Uzmanlar tarafından en çok tavsiye edilen yöntemlerin başında gelmektedir. Oral hijyen için en çok tavsiye edilen gargaralar sodyum bikarbonat, mukostatin ve çeşitleri özelliklerine sahip olanlardır.

Kanser tedavisi uygulanmadan hastaya detaylı bir oral muayene yapılmalı ve tedavi devam ederken probem oluşturma ihtimali olan hastalıklar ve bunların çözülmesi, tedavi seyrinde meydana gelebilecek yan etkileri ortadan kaldıracaktır. Kanserde destekleyici bakım için Alman S3 Kılavuzu mukozitin önlenmesi amacıyla oluşturulmuştur. Bu kılavuzda düzenli aralıklarla ağızın çalkalanması, ideal oral hijyen, zararlı alışkanlıklardan kaçınma, kronik enfeksiyon mevcudiyetine ağrı kontrolü, diş hekimlerinin koruyucu önlemleri, flor uygulaması ve tedavi seyrinde düzenli kontrol bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar neticesinde oral mukozitin önüne geçilmesi ve iyileştirilmesi için ideal bir protokol bulunmamıştır. Yapılmış çalışmalar, sıklıkla tercih edilen klorheksidinin, mukozit şiddetini azaltmada ya da prevelansını azaltmada etkili olmadığını bulmuştur. Düşük seviye lazer tedavisinin, yapılan çalışmalar neticesinde başarısı ispat edilmiştir, fakat antimetalotik özelliğine sahip 5-fluorourasil ajanını kullanan hastalarda oral kriyoterapi tavsiye edilmektedir. (Münstedt & Männle, 2019)

MASCC (Multinational Association of Supportive Care in Cancer and International Society for Oral Oncology) kılavuzunda da oral kriyoterapi, palifermin ve düşük doz lazer tedavisinin yararlı olduğu belirtilmektedir. (Jones, 2006)

5 fluorourasil tedavisi gören kişilerde, mukozit çok sık görülen bir yan etkidir. Yapılmış bazı araştırmaların sonucunda lokal soğuk uygulamasının etkili olduğu bulunmuştur. (Jones, 2006)

2.2.7.2. Oral Mukozitin Yönetiminde Kullanılan Yaklaşımlar

2.2.7.2.1. Temel Ağız Bakımı

Oral hijyende ana hedef, fırsatçı enfeksiyona engel olmaktır. Bu nedenle doğru beslenme alışkanlığı, iyi bir oral hijyen, florürlü macun kullanımı, kemoterapi öncesi iyi bir oral bakım yapılmalıdır. (Douglas E. Peterson & Lalla, 2010)

Tedavi boyunca mukozada tahrişe neden olabilecek besinler, alkol ve tütün kullanımı, zararlı alışkanlıklar, baharatlı yiyecek ve içecekler uzak durulması gereken bazı parametrelerdir. Tedavi devam ettiği süre boyunca dudaki yanak içi ve damak mukozası kontrol edilmelidir. (Martinez et al., 2014)

2.2.7.2.2. Farmakolojik Yaklaşımlar

2.2.7.2.2.1. Klorheksidin:

Geniş etki mekanizmasına sahip olan klorheksidin, antispetik ve antimikrobiyal özellik gösterir. Uzun dönem yararlanım sonucunda dişlerde renkleşmeler meydana gelebilir. (Turan & Erdoğan, 2018)

Madan ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada baş-boyun kanser hikayesine sahip 76 hastada %0.12 klorheksidin gargara olarak uygulandığında oral mukoziti engelleyici özelliğe sahip olmadığını gözlemlemişlerdir. (Madan Kumar, Sequeira, Shenoy, & Shetty, 2008)

MASCC=ISOO klinik uygulama klavuzunda belirtilenler doğrultusunda kemoterapi gören hastalarda radyoterapi gören baş-boyun tümörlü hastalarda; mukozit oluşmasını engellemek ve oluşan mukozitin tedavi edilmesinden klorheksidin kullanımı tavsiye edilmemektedir. (Bowen et al., 2013)

2.2.7.2.2.2. Benzidamin Hidroklorid:

Anestezeik, antimikrobiyal ve enflamatuar önleyici etkileri vardır. Bu etkiler sayesinde oral mukozit nedeniyle hastada görülen ağrı şikayetini gidermek amacıyla kullanılır. (Bowen et al., 2013)

2.2.7.2.2.3. Sodyum Bikarbonat:

Tahriş etmeyen ve ağız kuruluğu problemi oluşturmeyen bir gargara türüdür. Oral mukozit görülme sıklığı en düşük olan hasta gruplarında kullanılmalıdır. Ağrı kesici özelliği bulunmadığı için kullanan hastalarda boğaz ağrısı görülme ihtimali çok fazladır. (Patients & Practices, 2015)

2.2.7.2.2.4. Sodyum Klorür:

%0,9 Sodyum Klorür tükürük pH'sını etkilemez ve oral mukozayı tahriş etmez. Sodyum klorürün mukozit oluşumu sonrası mukozal bütünlüğün tekrar oluşmasına ve iyileşmeye yardımcı olacağı gözlemlenmiştir (Nicolatou-Galitis et al., 2013) (Bhatt, Vendrell, Nau, Crumb, & Roy, 2010).

2.2.7.2.2.5. Pilokarbin/Suni Tükürük:

Pilokarbin, tükürük salınımını uyaran bir ajandır. Kemoterapi gören hastalarda ağız kuruluğu çok sık görülen yan etkilerden biridir. Ağız kuruluğunu engellemek, eğer oluştuysa etkisini azaltmak için suni tükürük kullanımı sıklıkla önerilmektedir. Suni tükürükte, antimikrobiyal etki görülmemesi nedeniyle MASCC=ISOO protokülünde yer almamaktadır .. (Bowen et al., 2013) .

2.2.7.2.2.6. Povidon iyodin:

Bakteri, bazı tür virüs ve mantarlar üzerinde tesirli olan povidon iyodinin uygulaması topikal yapılmaktadır. Mukozitin oluşumunu engelleyen ve oluşan mukozitin iyileşme aşamasında uygulanması ile ilgili bir araştırma bulunmamaktadır.

2.2.7.2.2.7. Destek Maddeler/Hücre Koruyucular:

Kemoterapi ve radyoterapi oksitleyici etkisi olan tedavi yöntemleridir. Destek maddelerin kullanımı ile ilgili araştırmaların eksik olması nedeniyle MASCC=ISOO protokülde kullanımları tavsiye edilmemektedir..

2.2.7.2.2.8. L-Glutamin:

İnsan vücudunda en çok bulunan protein yapıtaşlarından biridir. Büyüme ve gelişimin devamlılığı açısından vücutta bulunması şarttır. 2.2.7.3. Farmakolojik Olmayan Yaklaşımlar:

Farmakolojik olmayan yaklaşımlarda kriyoterpi, lazer tedavisi, karadut şurubu ve arı sütü kullanılmaktadır.

2.2.7.4. Kemoterapide kullanılan antineoplastik ajanlar

Antineoplastik ilaçların birçoğu nükleotit sentezini inhibe eder ve böylelikle hücre çoğalmasının önüne geçer

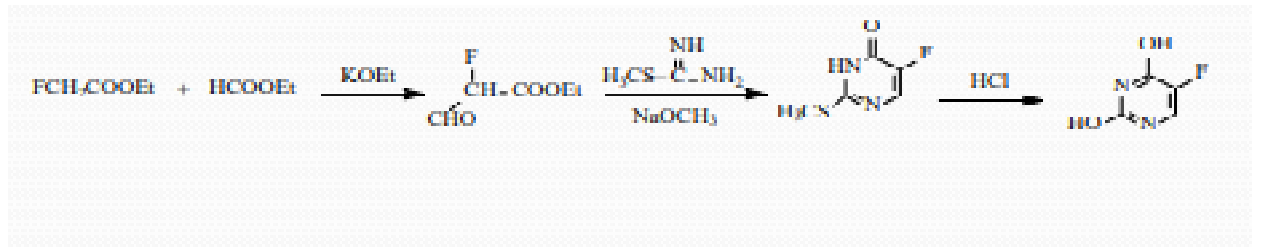
2.2.7.5. Antineoplastik ilaçların sınıflanması (Mandel NM, 2015)

Antineoplastik ilaçlar- mitoz inhibitörleri, Alkilleyici Ajanlar, Vinka Alkaloidleri, Sitostatik Antibiyotikleri, Hormon ve Hormon Antagonistleri, Monoklonal Antikorları ve Antimetabolit Bileşikler olmak üzere 5 gruba ayrılmaktadır.

Çalışmamızda kullanılan fluorourasil, antimetabolit bileşiklere örnektir.

Fluorourasil:

5-Fluoro-2,6-dihidroksipirimidin



2.2.7.5.7.1. Fluorouracil Endikasyonları

Kolon, mide, karaciğer, pankreas, meme, böbrek, prostat kanserleri

2.2.7.5.7.2. Toksik Etkileri

Diare, mukozit, bulantı ve kusma, konvülziyon, oryantasyon bozukluğu, tırnak değişiklikleri, el ve ayak sendromu, ışığa duyarlılık, anemi, dermatit, lökopeni, trombositopeni.

2.2.7.5.7.3. Dikkat Edilmesi Gerekenler ve Uygulama Şekli

İlaç IV,infüzyon, intraperitonal olarak ve oral yöntemlerle uygulanabilir.

2.2.7.5.7.4. Saklama Koşulları

-Işık ile teması kesildiği takdirde oda sıcaklığında -Çökelti meydana gelirse 54 C dereceyi geçmemek şartı ile çözünebilir (Can G, 2005).

3. GEREÇ YÖNTEM

5-Fluorourasil'in antikanser, antineoplastik/sitotoksik bir ilaç olması ve klinikte 5-Fluorourasil kullanımına bağlı olarak hastalarda oral mukozit sıklıkla görülmesinden hareketle mukozit modeli oluşturmak için 5-Fluorourasil seçilmiştir. Sıçanlar 3 gün karantinada tutulduktan mukozit intraperitoneal (i.p.) olarak 5-Fluorourasil injeksiyonu ile indüklenmiştir. Araştırmada deneye başlamadan tüm hayvanların bazal ağırlıkları alınmıştır. Hayvanların ağırlığı kaydedilip, ağız mukozasındaki değişiklikler Parkins ve ark'a göre skorlanmıştır.

Kullanılan skrolama aşağıda belirtilmiştir.

Skor 0 : Normal;

Skor 0,5 : Hafif pembe;

Skor 1 : Hafif kırmızı;

Skor 2 : Koyu kırmızı;

Skor 3 : Odaklaşma;

Skor 4 : Eksuda artışı ve dudağa kısmen taşan kabuklanma;

Skor 5 : Aşırı eksuda artışı ve dudağın çoğuna taşan kabuklanma

Skorlama iki farklı değerlendirici tarafından yapılmıştır.

Çalışmamızda 5-Fluorourasil intraperitoneal olarak uygulanması ile sıçanlarda oral mukozit oluşturmak amacıyla pilot çalışmalarla farklı zamanlarda toplamda 5 defa çalışma planlanmış ve 5. çalışma sonunda model oluşturulmuştur.

T.C. Sağlık Bakanlığı'na bağlı İstanbul Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi bünyesinde bulunan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayları ve bu onaylarda izin verdiği hayvan sayısı kadar pilot çalışma yapılarak ilerlenmiştir.

20.03.2017 tarihli ve 2017/37 sayılı Etik Kurul onayında doz ve etkinin belirlenmesi amacıyla pilot çalışma yapılmasını istemiştir.

3.1. Çalışmalar

3.1.1 Birinci Pilot Çalışma:

Çalışmaya 5 sıçan dahil edilmiş, 4 sıçana 5-FU uygulaması yapılırken 1 sıçan kontrol grubu olarak ayrılmıştır. 5-FU uygulanacak 1 sıçanın Yanak mukozası çizilmişken, diğer 3 hayvanın yanağına herhangi bir işlem uygulanmamıştır. Ertesi gün 60 mg/kg 5-FU i.p. injeksiyonu ve ikinci gün ise tekrar 5-Fluorourasil (5-FU) 40 mg/kg i.p. olarak 4 sıçana uygulanmıştır. Toplam Fluorourasil (5-FU) dozu iki gün için 100 mg/kg'i.p olarak gerçekleştirilmiştir. 7 gün sonra oral mukozit skorlanmıştır.

3.1.2. İkinci Pilot Çalışma

1., 3. ve 5. Gün 5-Fluorourasil (40 mg/kg/gün) uygulanmıştır.

İkinci pilot çalışmada 5-Fluorourasil (40 mg/kg/gün) iki gün aralıklarla toplamda 3 kez intraperitoneal olarak uygulanmış, ilaç serum fizyolojik içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Yalnız bu sefer sadece sıçanlarda yanakta çizik değil, en son uygulanan 5-Fluorourasil dozundan sonra sıçanların yanaklarına asetik asit (AA) uygulanarak model oluşturulmuştur. Bu işlem için 30 mg/kg ketamin hidroklorid , 5 mg/kg ksilazin injeksiyonundan sonra sağ yanak dış tarafa çevrilerek aynı doğru boyuncasteril iğne yardımıyla iki kez çizilmiştir. Bu modelde oral mukozitin çizilmeden sonra 2. gün oluşması öngörülmüştür.

3.1.3. Üçüncü Pilot Çalışma

T.C. Sağlık Bakanlığı'na bağlı İstanbul Bağıcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi bünyesinde bulunan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 22.07.2018 tarihli ve 2018/117 sayılı Etik Kurul onayında doz ve etkinin belirlenmesi amacıyla çalışma yapılmasını onaylamıştır.

2. sıklıta birinci gün 60mg/kg, 3. Gün 150mg/kg ve 5. Gün 60mg/kg 5-FU olarak uygulanmıştır.

İkinci pilot çalışmada yine oral mukozit oluşturmak açısından tam başarı edilemediği için literatürde sıçanlara uygulanan maksimum dozlar verilmesi düşünülmüş;

bu ikinci grup pilot çalışmada sıçanlar sakrifiye edilmeden, son aldıkları dozdan sonra 2 hafta sonra aynı hayvanlar ikinci bir grup doz daha verilmiştir.

Araştırmada deneye başlamadan tüm hayvanların bazal ağırlıkları alınmıştır. Sıçanlar 3 gün karantinada tutulduktan mukozit intraperitoneal (i.p.) olarak 5-Fluorourasil injeksiyonu (60 mg/kg) ile indüklenmiştir. Üçüncü gün 150 mg/kg, 5. günde ise tekrar 60 mg/kg doz verilmiştir. En son uygulanan 5-Fluorourasil dozundan sonra 3 gün sonra (Deneyin 8.gün) sıçanların yanakları çizilmiş ve çizgi üzerine asetikasit (AA) sürülerek model oluşturulmuştur. Sıçanlar bir hafta sonra (15.gün) sakrifiye edilmişlerdir.

3.1.4. Dördüncü Pilot Çalışma

1., 3. ve 5. Gün toplamda $60+150+60=270$ mg/kg 5-FU olmak üzere planlanmış ve 30 rat denek olarak kullanılmıştır.

Mukozit modeli başarılı olunca, esas çalışma gruplarına geçilmiş; son deneye başlamadan önce tüm hayvanların bazal vücut ağırlıkları alınmıştır. Sıçanlar 3 gün karantinada tutulduktan sonra 5-FU (60 mg/kg, i.p) injekte edilerek mukozit oluşumu indüklenmiştir. Deneyin üçüncü günü doz 150 mg/kg ve 5. gününde ise 60 mg/kg olacak şekilde tekrarlanmıştır. En son uygulanan 5-FU dozundan sonra sıçanların yanakları çizilmiş ve çizgi üzerine asetikasit (AA) sürülerek model oluşturulmuştur.

1., 3. ve 5. Gün toplamda $60+150+60=270$ mg/kg 5-FU deneklere uygulanmış ve son uygulamadan sonra 4 gün içinde hayvanların 23'ü kaybedilmiş, sonraki günlerde de 7 hayvan daha kaybedilmiştir. Burada verilen toplam doz, yukarıdaki tabloda verilen dozlardan çok daha az olup, bölünmüş dozlardır. Ayrıca ikinci pilot çalışmada $120\text{mg/kg} + 270\text{mg/kg} = 390\text{mg/kg}$ doz alan ratlarda böyle bir durum ile karşılaşılmamıştır. Bu nedenle bütün hayvanların niye öldüğünü tam olarak anlayamıyoruz. Yukarıdaki çalışmalarda mortalite oranları net olmadığı için, literatür bilginin yanlış yönlendirmesi sonucunda bu oranda mortalite olduğunu düşünsek de pilot çalışmamızdaki olumlu sonuçları da bununla açıklayamıyoruz.

Önceki çalışmamızda 5-Fluorourasil iki gün aralıklarla toplamda 3 kez intraperitoneal olarak 1.gün 60 mg/kg/gün, 3. gün 150mg/kg/gün, 5. gün 60 mg/kg/gün tarzında serum fizyolojik içerisinde çözülerek uygulanmıştır. Pilot çalışmada burada oral

mukozit elde etmede başarılı olsak da ana çalışmada hayvanlar için bu doz ağır gelmiştir ve kaybedilmişlerdir. 40 sıçan 3. Dozu takiben ilk gün 8'i, ikinci gün 23'ü, 3.gün 2'si ve 4.gün son 7'si kaybedilmiştir. Hayvanların esas problemleri 3. dozdan sonra ortaya çıktığı için uygulama iki doz olarak revize edilmesi düşünülmüştür.

3.1.5. Beşinci Çalışma:

T.C. Sağlık Bakanlığı'na bağlı İstanbul Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi bünyesinde bulunan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 4. Çalışmada yaşanan kayıpları literatüre eklenmemesinin etik dışı olduğuna karar vermiştir. Hayvan kayıplarının literatüre yazılması şartıyla 5. Çalışma 26.06.2019'da 2019/99 numaralı Etik Kurul onayında doz ve etkinin belirlenmesi amacıyla onaylamıştır.

Çalışmada 6 aylık erkek sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlara totalde 2 defa intraperitoneal yöntemle 5-Fluorourasil verilmiştir. Uygulanan ilaç 1. gün 60 mg/kg ve 5.gün 150 mg/kg dozunda ayarlanmıştır. Serum fizyolojik solüsyonunda çözelti olarak ayarlanmıştır.. Kontrol grubunda bulunan hayvanlar benzer süre ve aynı dozlarda serum fizyolojik verilmiştir.

22 adet erişkin Sprague Dawley sıçan 3 gün boyunca karantinaya tutulup 5 grup olarak sınıflandırılmıştır.. Deneye başlanmadan önce hayvanların bazal ağırlıkları alınmıştır.

1.grup (Kemoterapi+asetik asit): Denek sayısı 2 sıçan olarak planlanmıştır. Deneyin 1. günü hayvanların azot protoksit veya isoflurane kullanılarak anestezi yapıldıktan sonra sonra i.p. olarak 5-Fu injeksiyonu 60 mg/kg ve deneyde 5.günü 150 mg/kg yapılmıştır. Deneyin 3. Günü sağ yanak mukozası dışı doğru döndürülmüş ve insülin iğnesi ile tahriş edilerek %20'lik asetik asit (15 ul) yanak mukozasında doğrusal olarak sürülmüştür. Oral mukozitin uygulamadan itibaren 6.günde meydana gelmesi (deneyin 9. günü) öngörülmüş ve oluşan ülserasyonderecelendirilmiştir. Skorelama deneyin 1,5,9,11 ve 13. günlerinde toplam 5 kez yapılmıştır. Hayvanlar ilk günden itibaren gün aşırı tartılmış ve ağız mukozası skorlandırılmıştır. 13. Günde hayvanlar kurban edilib, kan ve doku doku örnekleri alınmıştır.

2, 3, ve 4. Gruplar 6'şar rattan toplamda 18 hayvandan oluşmaktadır. Hayvanlara, 1.grup hayvanlardaki işlemlerin aynısı yapılmış olup ilaveten 9. Gün başka bir araştırma için mukozit tedavisinde kullanılan ilaçlar eklenmiştir.

5.Grup (Kontrol grubu): Denek sayısı 2 sıçan olarak planlanmıştır. Deneyin 3. Günü sağ yanak mukozası dışı doğru döndürülmüş ve steril bir insülin iğnesi ile çizilerek %20'lik asetik asit (15 ul) yanak boyunca doğrusal bir hareketle uygulanmıştır. Skorlama deneyin 1., 5., 9., 11. ve 13. günlerinde toplam 5 kez yapılmıştır. Hayvanların ağırlığı ilk günden itibaren 2 günde bir ölçülmüş ve ağız mukozası incelenip skorlandırılmıştır. Deneyin 13.günde anestezi yapılarak kalpten kan, yanaktan da doku numunesialınarak sakrifiye edilmiştir.

Parafin bloklar kullanılarak 5 µm'lik kesitler alınıp hemotoksilen eosin renklendirilmesi ile enfeksiyon değerlendirilmiştir. Kan numunelerinde katalaz, süperoksit dismutaz, BUN, glukoz, ALT, AST LDH, MDA ve SOD düzeyleri değerlendirilmiştir.

3.2. Serumda Biyokimyasal Analizler

Dekapitasyon işlemi öncesinde kalpten alınan kan örnekleri, kuru vakumlu tüplerin içinde saklanmıştır. Oda sıcaklığında yarım saat bekletilen kan örneklerine daha sonrasında 4000 rpm' de 15 dakika boyunca santrifüj işlemi uygulandı. Elde edilen serum örnekleri araştırmanın yapılmasına kadar -20°C' de bekletilmiştir.

3.2.1. Serum glukoz konsantrasyonunun ölçülmesi

-20 C° sıcaklıktan bulunan serum örnekleri oda sıcaklığına ulaşana kadar bekletildi. Serum glukoz konsantrasyonu ölçümü için ticari kit (Biolab, Glucosa, GOD-PAP) kullanılarak spektrofotometre (BioTek) sonuçları elde edilmiştir.. Elde edilen tüpler vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi ve bekletilen bu karışım 550 nm'de ölçüme alındı (Tablo 3.2.1.1.)

Tablo 3.2.1.1. Serum glukoz konsantrasyonu ölçüm tablosu

	Örnek	Standart	Kör
Reaktif	1 mL	1 mL	1 mL
Örnek	10 µL	-	-
Standart	-	10 µL	-
Distile su	-	-	10 µL

3.2.2. Serum üre konsantrasyonunun ölçülmesi

Serum üre konsantrasyonu ölçümü ticari kit olan Biolabo, Urea Colorimetric Method yardımıyla spektrofotometre kullanılarak elde edilmiştir.

Tablo 3.2.2.1. Serum üre konsantrasyonu ölçüm tablosu

	Örnek	Standart	Kör
Reaktif (1)	1 mL	1 mL	1 mL
Örnek	10 µL	-	-
Standart	-	10 µL	-
Distile su	-	-	10 µL

Serum üre konsantrasyonunun hesaplanması için $[\text{Absorbans (örnek)}/\text{Absorbans (standard)} \times \text{Standard konsantrasyon (40 mg/dL)}]$ formülü kullanıldı ve sonuçlar mg/dL olarak verildi.

3.2.3. Serum ALT ve AST konsantrasyonlarının ölçülmesi

Ticari Rat ALT ELISA Kit ve RAT AST ELISA Kit (YL Biotech) yardımıyla AST ve ALT konsantrasyon değerleri elde edildi. Kit prosedürü takip edilerek elde edilen standart grafikler yardımıyla sonuçlar U/L olarak verildi.

3.3. Yanak, Böbrek ve Karaciğer Dokusunda Biyokimyasal Analizler

Dekapitasyon işleminden sonra çıkarılan dokular, PBS tamponu (137 mM NaCl, 2,7mM KCl, 10mM Na₂HPO₄, 1,8 mM KH₂PO₄) ile yıkanarak tartıldı. Bu dokular ependorf tüplere konularak -80° C’ de ölçümler zamanına kadar saklandı. Biyokimyasal ölçümlerin gerçekleşeceği gün -80’den çıkarılan dokular soğuk 150 mM KCl çözeltisi yardımıyla homojenize edilerek %10’luk doku homojenatı hazırlandı.

3.3.1. Doku Malendialdehid (MDA) seviyelerinin ölçülmesi

Lipid peroksidasyonun yıkım ürünlerinden biri olan MDA’nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu pembe kompleksin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümü yapıldı. Reaktif olarak %8,1’lik sodyum dodesil sülfat (SDS), %20 asetik asit, %0,8 TBA 2 mmol//L tetraetoksipropan çözeltileri bu işlem sırasında kullanıldı

Hazırlanan çözelti tüplere eklendikten sonra vorteks işlemi gerçekleştirildi. Kaynar suyun içerisinde 1 saat bekletildikten sonra akan su altında soğutulan tüplere 500 rpm’de 10 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Pembe renkli süpernatantların absorbansları 532 nm’de okundu ve 1.1’,3,3’ tetraetoksipropanla hazırlanan standart grafiğinden yararlanılarak nmol/gr doku cinsinden MDA seviyeleri ölçüldü.

Tablo 3.3.1.1. MDA analiz tablosu

	Numune	Kör
Homojenat	100 μl	----- -
% 8,1 SDS	200 μl	200 μl
% 20’lik asetik asit	1500 μl	1500 μl
% 0,8’lik TBA	1500 μl	1500 μl
Distile su	700 μl	800
		801

3.3.2. Doku Glutasyon (GSH) seviyelerinin ölçülmesi

Hücre, doku ve organ sistemlerinin tamamının yapısal ve fonksiyonel olarak korunmasından sorumlu olan GSH seviyesi ölçüldü. Beutler vd., (1963) geliştirdikleri metod, bu çalışmada kullanıldı.

Analiz tüpünde bulunan GSH ile 5,5'-ditiyobis 2- nitrobenzoik asit (DTNB) tepkimesi sonucu sarımsı renk oluşturur ve bu rengin 410 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümünün elde edilmesi ile protokol işlemektedir. Dokulara 5000 rpm'de +4 derecede 20 dakika boyunca santrifüj işlemi uygulandı. Elde edilen süpernatanta %10'luk TCA çözeltisi ilave edildi ve tekrar +4 C° sıcaklıkta, 3000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüj işlemi uygulandı, bu yolla proteinlerin çökmesi gerçekleşti. Açık renkli süpernatant numuneleri GSH seviyelerinin ölçümünde kullanılmıştır.

Deney tüpleri aşağıdaki tabloya göre hazırlandı. (Tablo 3.3.2.1). Oda sıcaklığında 5 dakika tutulan numunelerin 401 nm'de spektrofotometrik ölçümü yapıldı. Glutasyon standart grafiği kullanılarak umol/gr cinsinden GSH düzeyleri elde edildi.

Tablo 3.3.2.1. GSH analiz tablosu

	Numune	Kör
%10'luk Homojenat	500µl	-----
Na ₂ HPO ₄ (0,3M)	4 ml	4 ml
DTNB	500 µl	500 µl
Distile su	-----	500

3.3.3. Doku Miyeloperoksidaz (MPO), Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (KAT) ve Nitrik Oksit (NO) Seviyelerinin Analizi

MPO, SOD, KAT ve NO analizi için Rat MPO ELISA Kit (YL Biotech), Rat SOD ELISA Kit (ElabScience), Rat Catalase ELISA Kit (YL Biotech) ve Total Nitric Oxide ELISA Kit (ThermoFischer) kullanılmıştır. Kit prosedürler işlemlerin ardından oluşturulanini takiben yapılan uylumaların ardından standart grafikler MPO, SOD, KAT ve

NO konsantrasyonlarının ölçülmesinde kullanılmıştır. Sonuçlar MPO için ng/mL, SOD için ng/mL, KAT için ng/mL, NO için uM olarak verilmiştir.

3.3.4. Doku Sitokin Düzeylerinin Analizi

Yanak, böbrek ve karaciğerden alınan dokulardaki IL-6, IL-10 ve IL-1 β seviyelerinin ölçümü için ticari bir kit olan Rat IL-6 ELISA Kit, Rat IL-10 ELISA Kit ve Rat IL-1 β ELISA kit (YL Biotech) yardımıyla gerçekleştirildi. Dokulardaki sitokin konsantrasyonunun belirlenmesi için standart grafiklerden yararlanılmıştır. Sonuçlar ng/mL cinsinden verilmiştir



4. İSTATİSTİKSEL SONUÇLAR

Analizler SPSS 20 (Statistical Package for Social Sciences) programı ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar %95'lik güven aralığında ve $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki fark ANOVA testi ile belirlenmiştir.



5. BULGULAR

5.1. Çalışmalar

5.1.1. Birinci Pilot Çalışma

Yanak mukozası çizildikten sonra ertesi gün 60 mg/kg 5-FU i.p. injeksiyonu ve ikinci gün ise tekrar 5-Fluorourasil (5-FU) 40 mg/kg i.p. olarak uygulanmıştır. Toplam Fluorourasil (5-FU) dozu iki gün için 100 mg/kg'i.p olarak gerçekleştirilmiştir.

Oral mukozit oluşturmak için pilot çalışmada klinik olarak bir başarı elde edilmemiştir. Burada kontrol grubu ile kemoterapi alan sıçanlar arasında gerek dil gerek yanakta gruplar arasında belirgin fark izlenmemekle birlikte; özellikle dilde jel uygulanan hayvanlarda mast hücre sayısının daha az olması ve görülen hücrelerin genellikle degranüle olmadıklarının izlenmesi inflamatuvar yanıtın baskılandığı yönünde izlenim uyandırmıştır. Bu arada deneklerde herhangi bir kilo kaybı da oluşmamıştır. Ancak ilaç uygulama, sakrifikasyon zamanı gibi kriterlerin kemoterapötik ilacın farmakolojik özelliklerine göre tekrar belirlenip daha yüksek denek sayısı ile araştırılması için ikinci pilot çalışma için birinci rapor düzenlenerek etik kurulunuzdan tekrar izin istenmiştir.

Tablo 5.1.1.1. Sıçanlardaki ağırlık değişimi

Sıçanlar	5-FU'dan önceki kilo (g)	5-FU'dan sonraki kilo (g)	En son kilo (g)
Kontrol	203	Uygulanmadı	204
1. sıçan yanağı çizilen	193	183	190
2. sıçan	232	226	227
3. sıçan	209	204	212
4.sıçan	204	203	206

5.1.2. Histolojik Değerlendirme

5.1.2.1. Yanak

Kontrol: Doğal görünümde çok katlı yassı epitel, altında normal görünümlü bağ dokusu izlenmektedir

5-Fluorourasil + Çizgi: Çok katlı yassı epitelde hiper keratoz, akantoz, bağ dokusunda ödem görülmektedir.

Diğer hayvanlarda, Epitelde akantoz, hipergranüloz hiperkeratoz ve bağ dokusunda ödemli görünüm, bağ dokusunda bazı alanlarda kollagen lif artışı görülmektedir.

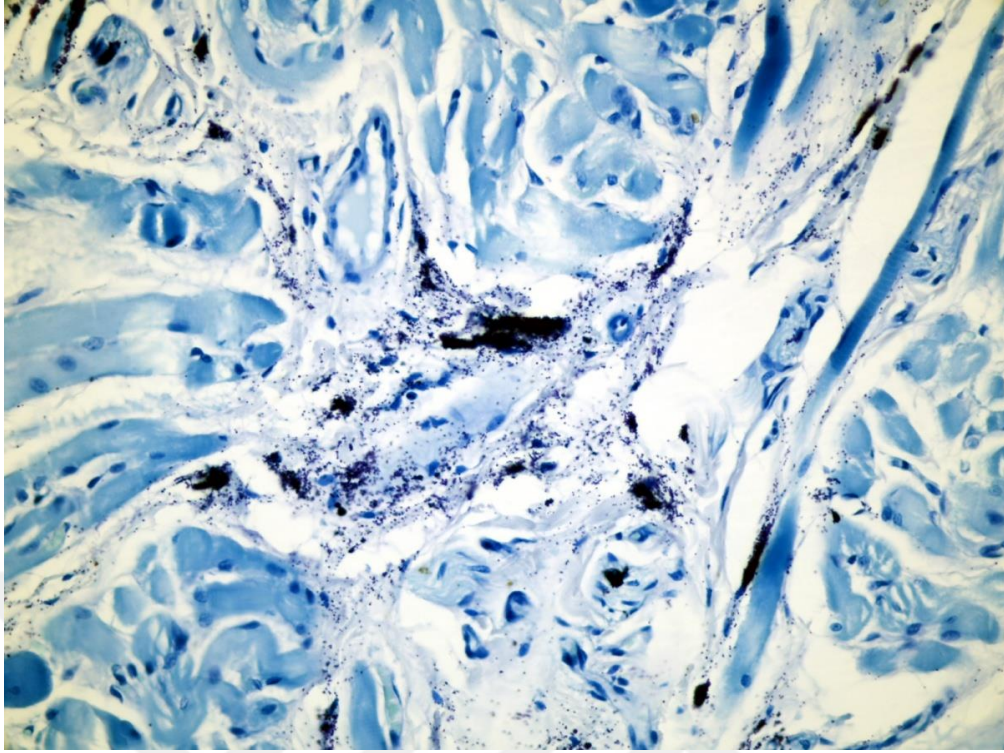
5.1.2.2. Dil

Kontrol: Doğal yapıda yüzey epiteli ve altında çizgili kas dokusu görülmektedir.

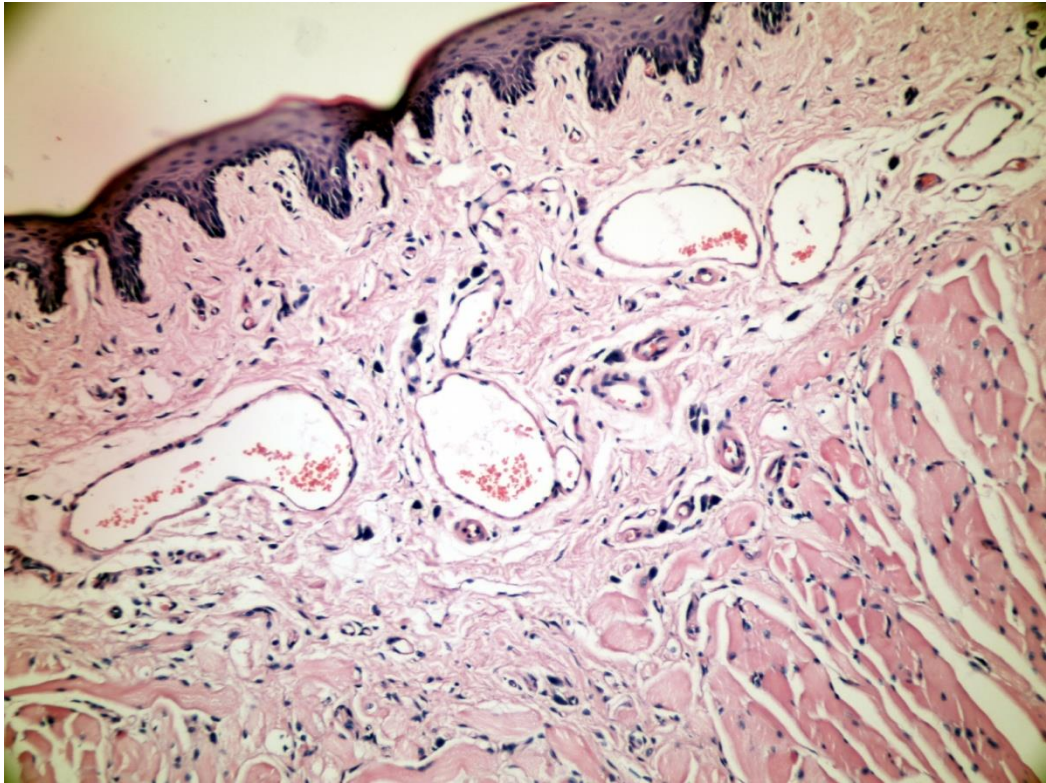
5-Fluorourasil + Çizgi: Yüzey epiteli ince, bağ dokusunun yüzeyel bölümlerinde damarların dilate görünümde oldukları, çevre dokuda, kas lifleri arasında ödem izlenmektedir. Ödemli alanlarda çok sayıda bir bölümü degranüle mast hücreleri saptanmaktadır.

Diğer hayvanlarda yüzey epiteli doğal yapıda, yüzeyel damarlarda, dilatasyon ve hiperemi görülmektedir. Dil ucuna doğru ödemli görünüm dikkati çekmektedir. Çok katlı yassı epitel doğal görünümde, çizgili kas lifleri arasında ödem ve çevrede mast hücresi artışı görülmektedir.

Gerek dil gerek yanakta gruplar arasında belirgin fark izlenmemektedir.



Şekil 5.1.2.2.1. Dile 5-Fluorourasil + Çizgi uygulamasının ödemli bağ dokusu içinde çok sayıda mast hücresi ve histamin deyarjı (Toluidine blue X400).



Şekil 5.1.2.2.2. Dilde 5-Fluorourasil + Çizgi uygulamasının dilate damar kesitleri (H&E X200).

Yukarıda özetlenmeye çalışılan bulgular doğrultusunda yöntemin revize edilmesine ihtiyaç duyulmuştur.

Sonuç olarak ilk uyguladığımız pilot çalışmada materyal metotta belirli bir başarı edilse de sonuçlarımızı tam olarak açıklayamamaktadır. Bu deney örneklerinin sayısının az olmasından, sıçanlarının iyileşme potansiyellerin yüksek olması ve 5-Fluorourasil'in uygulama metodundan kaynaklanabileceği düşüncesiyle yöntemde değişiklik talebimiz, Etik Kurula sunulmuş ve 2. Pilot çalışmaya geçilmiştir.

5.1.2. İkinci Pilot Çalışma

Klinik olarak oral mukozit oluşmayan deneklerde intestinal mukozit oluşmuş, hayvanlar ishal olmuş ama kilo kaybı çok az olmuştur.

Bu durumun; deney örneklerinin sayısının az olması, sıçanların iyileşme potansiyelinin yüksek olması ve 5-Fluorourasil (5-FU)'in uygulama metodundan kaynaklanabileceği düşüncesiyle yeni bir pilot çalışma daha planlanmış (n=2) ve kullanılan hayvan modelinin kısmi modifikasyonu ile kullanılabilir hale gelmesi hedeflenmiştir.

5.1.3. Üçüncü Pilot Çalışma

İlk uyguladığımız pilot çalışmada materyal metotta belirli bir başarı edilse de sonuçlarımızı tam olarak açıklanamamıştır. Bu deney örneklerinin sayısının az olmasından, sıçanlarının iyileşme potansiyellerin yüksek olması ve 5-Fluorourasil'in uygulama metodundan kaynaklanabileceği düşüncesiyle 2. bir pilot çalışma 2 sıçan ile yapılmış ama klinik olarak oral mukozit oluşmamış ve aşağıdaki bulgular ışığında hayvan modelinin çalışır hale gelmesi sağlanmıştır.

5.1.3.1. Gözlem ve Skolama

Gözlem sırasında, hayvanlarda, fluorourasil uygulandıktan sonra kiloda ani bir düşüş ve gıda kullanımında azalma, bitkinlik ve ishal gözlemlenmiştir.

Kilodaki değişimler aşağıdaki tabloda açıklanmıştır.

Tablo 5.1.3.1.1. 5 Fu tedavisi öncesi ve sonrası sıçanlardaki kilo değişimi

Sıçanlar	5FLU'dan önceki kilo (g)	Sakrifiye edilmeden önceki son kilo (g)
1. Sıçan	260	210
2. Sıçan	246	182

Hayvanların ağız mukozasındaki değişiklikleri iki kez skorlanmıştır. Skorlama iki farklı değerlendirici tarafından yapılmıştır. Skorlamanın birincisi ilk doz florourasil uygulanmasından bir gün sonra, ikincisi ise sakrifiye edilmeden önceki gün yapılmıştır.

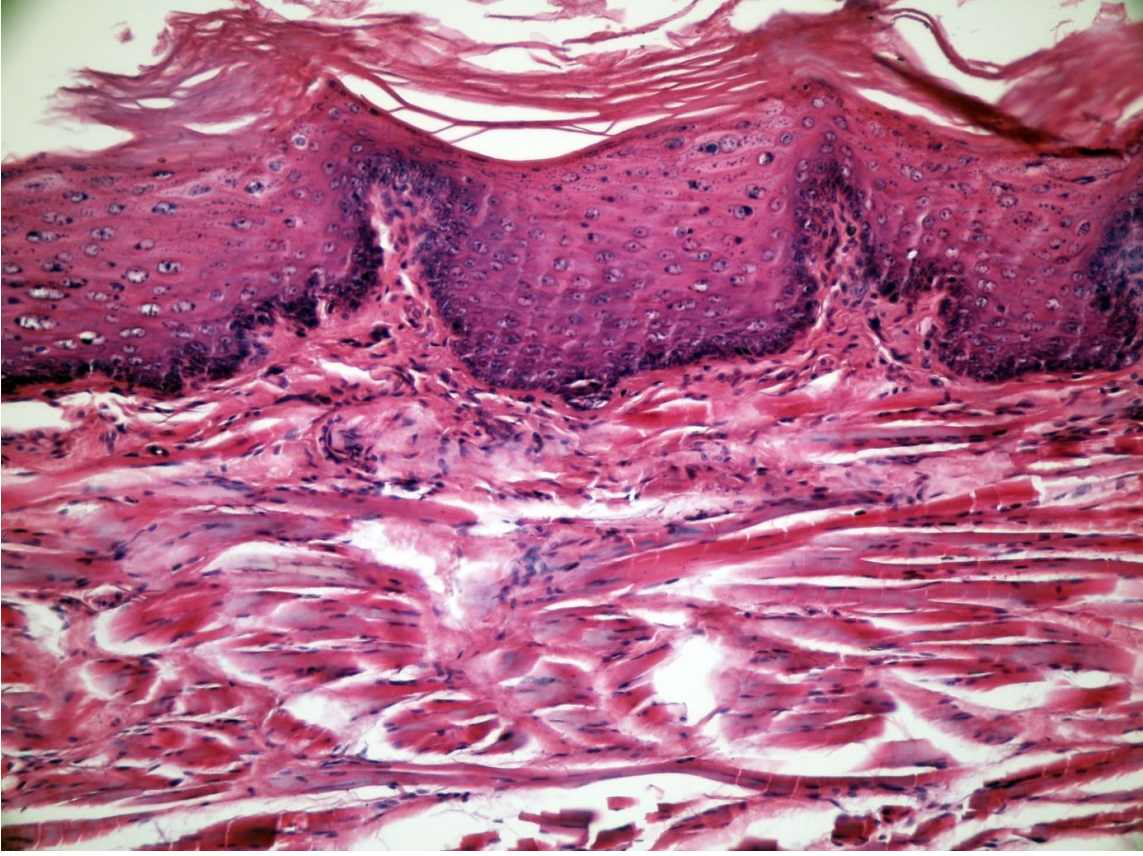
5-FU uygulanmasından önceki ve sonraki skorlama aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 5.1.3.1.2. 5-FU uygulanmasından önceki ve sonraki skorlama

Sıçanlar	5-FU uygulamadan sonraki ilk skorlama	Sakrifiye edilmeden önceki skorlama
1. Sıçan	0-0.5	3
2. Sıçan	0.5	4

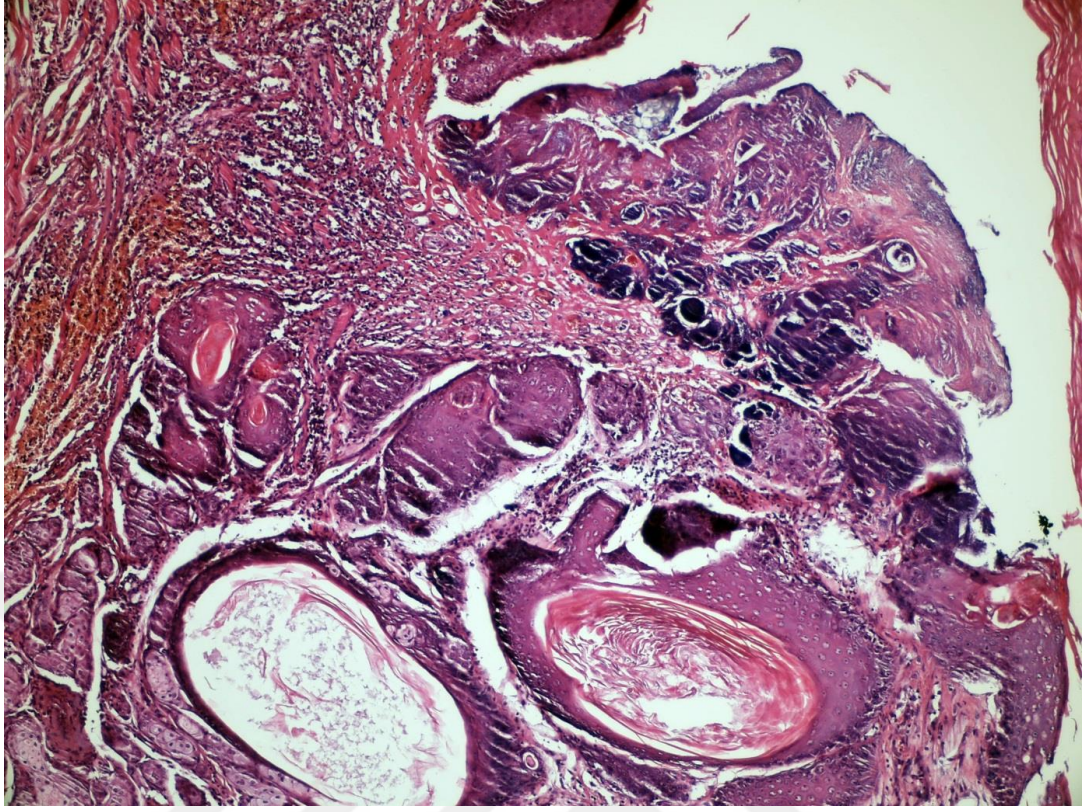
5.1.3.2. Histolojik Değerlendirme

Histolojik incelemede ise alttaki bulgulara ulaşılmıştır:



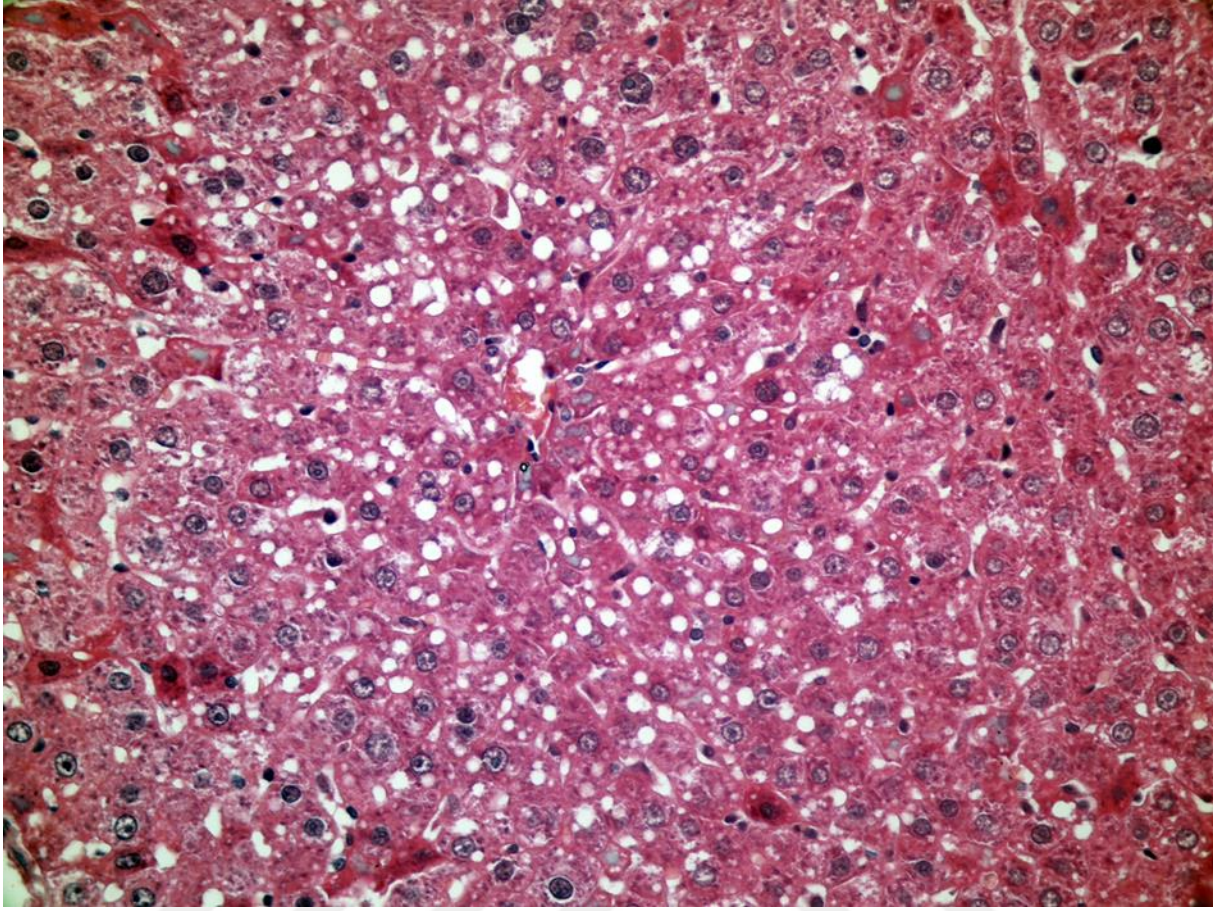
Şekil 5.1.3.2.1. Yüzeyi örten çok katlı yassı epitelyum şekli

Yüzeyi örten çok katlı yassı epitelyum şekli ortadan kalmıştı, buraları eksuda ve debris örtmekteydi. Bunların altında bağ dokusu içinde lenfosit ve iyileşme periyodu polimorf infiltrasyonu saptanmaktaydı (H&E X200).



Şekil 5.1.3.2.2. Ağızdaki yüzeyi örten çok katlı yassı epitel şekli

Ağızdaki yüzeyde bulunan çok katlı yassı epitel akantoz ve hiperkeratoz dikkati çekmekteydi. Epitelde retelerin kalınlaştığı görülmekteydi. Altında liften zengin bağ dokusu vardı (H&E X200).



Şekil 5.1.3.2.3. Karaciğerde parenkim hücreleri şekli

Karaciğerde parenkim hücreleri şeklinde hidropikdegenerasyon , makroveziküler yağlanma ve sinüsoidlerin düzensiz oldukları izlenmekteydi (H&E X400)

5.1.4. Dördüncü Pilot Çalışma

Önceki çalışmamızda 5.1.5. 5-Fluorourasil iki gün aralıklarla toplamda 3 kez intraperitoneal olarak 1.gün 60 mg/kg/gün, 3. gün 150mg/kg/gün, 5. gün 60 mg/kg/gün tarzında serum fizyolojik içerisinde çözülerek uygulanmıştır. Pilot çalışmada burada oral mukozit elde etmede başarılı olsak da ana çalışmada hayvanlar için bu doz ağır gelmiştir ve kaybedilmişlerdir. 40 sıçan 3. Dozu takiben ilk gün 8'i, ikinci gün 23'ü, 3.gün 2'si ve 4.gün son 7'si kaybedilmiştir. Hayvanların esas problemleri 3. dozdan sonra ortaya çıktığı için uygulama iki doz olarak revize edilmesi düşünülmüştür.

5.1.5. Beşinci Çalışma

Beşinci çalışmadaki bulgular aşağıda verilmiştir.

Tablo 5.1.5.1. Çalışma grubu ve Kontrol grubu arasındaki ağırlık farkı

Gün	Kemoterapi Grup-1 Ağırlık	Kemoterapi Grup-2 Ağırlık	Kemoterapi Grup-3 Ağırlık	Kemoterapi Grup-4 Ağırlık	Kontrol Grubu Ağırlık
1.G ün	462	477,6	413,8	443, 1	476,5
3. Gün	450	472,5	431 *	433	478,5
5. Gün	459	471	434	435, 6	483
7. Gün	440	462	414,8	423	476,5
9. Gün**	417,5	445,1	396,4	389, 8	477,5
11. Gün	406,5				
13. Gün	381				
Ağır lık Farkı (1.-9. Gün arası)	-44,5	-32,5	-17,4	- 53,3	+1

*: Hayvan Ölümü

** : Mukozit tedavisi için ilaçlar başlamıştır

Tablo 5.1.5.2. Çalışma grupları ve Kontrol grubu arasındaki skorlama farkı (alt ve üst değerler)

Gün	G	Kemoterapi Grup-1		Kemoterapi Grup-2		Kemoterapi Grup-3		Kemoterapi Grup-4		Kontrol Grubu	
		yanak	Dil	yanak	dil	yanak	dil	yanak	dil	yanak	dil
5. Gün	5.	0,5-1	0,5	0,5-2	0,5-1	0,5	0,5	0,5-1	0,5	0	0
9. Gün	9.	3-5	2-3	3-4	3-4	3-4	2-3	4-5	4	0	0
1. Gün	1	3-5	2							0	0
3. Gün	1	4	3							0	0

Tablo 5.1.5.3. Çalışma grubu ve kontrol grubundaki ALT, AST ve Üre Sonuçları

Biyomedikal Değerleri	Parametre	Kemoterapi Grup-1	Kontrol Grubu	P değeri
ALT		13,1 ± 1,03	14,87 ± 1,41	0,37
AST		27,57 ± 3,39	21,74 ± 0,86	<0.05*
ÜRE		73,43 ± 6,11	40,17 ± 4,51	<0.05*

<0.05* istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 5.1.5.4. Çalışma grubu ve kontrol grubundaki Doku MDA Ve Antioksidan Enzim Seviye Sonuçları

Doku Enzim ve Sitokin Sonuçları- Yanak	Kemoterapi Grup-1	Kontrol Grubu	P değeri
MDA	66,67	32,56	0.05
GSH	15,36	32,4	<0.05*
SOD	1,04	2,24	<0.05*
KATALAZ	21,26	91,87	<0.05*
MPO	11,63	8,34	0,157
IL-6	2,63	1,66	<0.05*
IL-10	49,78	35,73	0,29
IL-1 β	1019,97	357,81	<0.05*
NO (μ m)	113,07	62,59	0,189

<0.05* istatistiksel olarak anlamlı

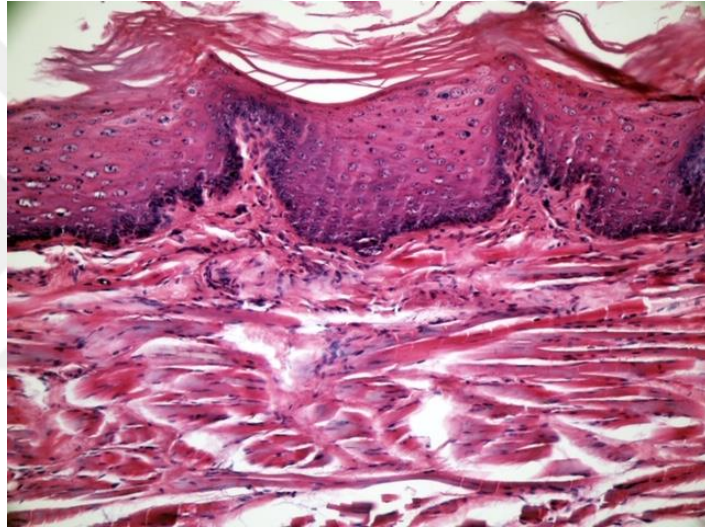
Tablo 5.1.5.5. Çalışma grubu ve Kontrol grubu Mortalite Tablosu

n	Gü	Kemoterapi Grup-1- (2 rat)	Kemoterapi Grup-2 (6 rat)	Kemoterapi Grup-3 (6 rat)	Kemoterapi Grup-4 (6 rat)	Kontrol Grubu (2 rat)
3. Gün	3.	0	0	1 %16,6	0	0
5. Gün	5.	0	0	0	0	0
7. Gün	7.	0	0	0	0	0
9. Gün	9.	0	0	0	0	0
11. Gün	11.	0	0	1 / % 20	3 / % 50	0
13. Gün	13.	1 / %50	2 / %33,3	1 / % 25	1 / %33,3	0
Total Ölüm		% 50	%33,3	%50	%66,6	0

5.1.5.1. Patolojik Değerlendirme

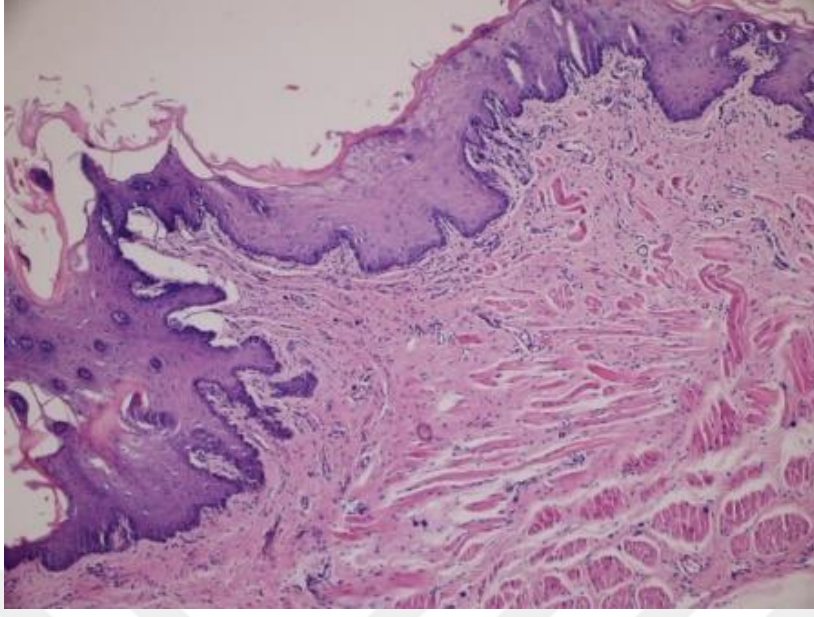
Kemoterapi Grup-1 hayvanda yüzey epitelinde belirgin hiperkeratoz, hipergranülozis, bazal tabakada düzensizlik dikkati çekmektedir. Altındaki bağ dokusu içinde hafif iltihapsal infiltrasyon görülmektedir. Yüzeyel ve derin bölgelerde Önemli bir bölümü degranüle görülen mast hücreleri dikkati çekmektedir.

Kontrol grubundaki hayvanlarda yüzey epiteli düzensiz kalınlaşmalar, papillamatoz ve hiperkeratoz göstermekteydi, bazal tabaka belirginleşmiş, bazal hücreler aktif görünümündü. Bağ dokusu içinde hafif lenfosit infiltrasyonu ve mast hücreleri içermekteydi.



Şekil 5.1.5.1.1. Kemoterapi Grup-1 yüzey epiteli resmi

Kemoterapi Grup-1 yüzey epiteli resmi, akantoz, hafif papillomatoz, hipergranülozis ve hiperkeratoz gösteren yüzey epiteli (H&E X200).



Şekil 5.1.5.1.2. Kontrol grubundaki düzensiz akantoz şekli

Kontrol grubundaki düzensiz akantoz şekli, papillamatoz ve hiperkeratoz gösteren yüzey epiteli,ve altında liften zengin, çizgili kas lifleri vardır (H&E X200).

6. TARTIŞMA

Günümüzde diyabet, kanser ve benzeri birçok hastalıklar hastaların yaşam kalitelerini etkilemekte ve mortalite riski de giderek artmaktadır. Ülkemizde ve dünya da ölüm insidansı olarak ikinci olarak gösterilenyer alan kanser önemli bir sağlıksorunu oluşturmaktadır. Kanser tedavisinde sıklıkla tercih edilen, ilaçla tedavi anlamına gelen kemoterapide, antineoplastik ajanlar kullanılır. Bu ajanlar kanser hücrelerinde sayıca artışave gelişmesini engellerken normal hücrelerin yapısını da etkileyebilmektedir.(Patients & Practices, 2015)

Oral mukoza epitel hücreleri, hızlı bölünebilme kapasiterlerinden dolayı kemoterapiden en fazla zarar gören hücrelerdir. Kemoterapide kullanılan antineoplastik ajanlar oral mukoza hücrelerinin olgunlaşmasını ve büyümesini durdurarak ağız ve boğaz yerleşimi gösteren primer mukozal bariyerinin bütünlüğünün kaybolmasına neden olur (Münstedt & Männle, 2019). Primer mukozal bariyerin bütünlüğünün kaybolması ile ülserasyon ve enflamasyon meydana gelir; bunun sonucunda mukozit tablosu ile karşılaşırız. Non-keratinize mukozanın eritemli ülserasyonu ile özellik gösteren oral mukozit ile tablosunda; hafif olarak nitelendirilemeyecek ağrı, beslenmede güçlük ve hastanede kalış süresinin artması ile hastanın tedavisi her yönden negatif etkilenmektedir. (Henke et al., 2011)

Kemoterapide kullanılan ilaçları yan etkisi olarak gözlenen oral mukozitin önlenmesi için geliştirilen ajanlar, hayvan modelleri üzerinde sıkça çalışılmaktadır. Yapılan çalışmaların başarısı, gerçekleri yansıtması ve aynı standartlara sahip olması açısından soru işareti bırakmaması için, yapılacak çalışmalarda kullanılabilecek ideal bir hayvan modeli bulunmalıdır. Yaptığımız bu çalışmadaki amacımız; oral mukozit oluşturabilmek için ideal bir rat modelinin geliştirilmesidir.

Kanser tedavisinde kullanılan antimetabolit ilaçlar vücutta bulunan bir hücrelerin hücre içindeki biyokimyasal reaksiyonlara katılması için yapılan hareketleri taklit ederek işlev görür, böylece metabolik bir işlemin eylemlerini bloke ederek hücrenin DNA, RNA gibi makromoleküllerin yapısını ve metabolizmasını bozarak fonksiyonlarını engelleyebilir. 5-Fu antimetabolit ilaçların sahip olduğu bu özelliklerinin hepsini yapabilmektedir (Brown & Wingard, 2004).

Sıklıkla kemoterapi tedavisinde antimetabolit ilaçlardan biri olarak kullanılan 5-Fu, hastalarda kemoterapi sonucu oluşan mukozite neden olmaktadır. Kemoterapi tedavisinde 5-Fu kullanan hastaların yaklaşık %80'inde kemoterapi kaynaklı mukozit tablosu görülmektedir. Sıçanlarda oral mukozit oluşturmak amacıyla çalışmamızda kullandığımız antimetabolit bir ajan olan 5-Fu, intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Yaptığımız bu araştırmada, pilot çalışmalarla farklı zamanlarda toplamda 5 defa çalışma planlanmış ve 5. çalışma sonunda mukozit oluşturabilmek için bir sıçan modeli oluşturulmuştur.

6.1. Mortalite

Yapılan birçok çalışmada, mukozit oluşturmak için farklı 5-Fu dozları kullanılmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan total 5-Fu dozu 60 mg/kg-400 mg/kg aralığındadır. (Kim et al., 2018) (Ciobanu et al., 2020) (Tefas et al., 2020) Bu çalışmaların çoğu kullanılan hayvanlar üzerinde mukozit oluşturduklarını belirtmelerine karşın, çalışmanın verimliliği, güvenilirliği ve standardizasyonu açısından akıllarda soru işareti oluşturmuşlardır. Örnek olarak Takeuchi ve ark. (Takeuchi, Kawamata, & Makino, 2020) yaptığı çalışmada mukozit oluşturmak için 4 farklı 5-Fu dozu kullanmış ve total doz olarak 60, 90, 120 ve 150 mg/kg 5-Fu verilmiştir. Total doz olarak 120 mg/kg kullanılması hem ideal mukozit oluşumu hem de düşük mortalite oluşturması sebebiyle bu çalışmanın sonucunda önerilen doz değeridir. Abdurrahman K.A. ve ark. (Lalla et al., 2014) yaptıkları çalışmada tek doz 150 mg/kg 5-Fu tedavisi ile Takeuchi ve ark. ile aynı çalışma sonucuna ulaşmıştır. Ancak bizim çalışma sonucumuzda, düşük doz kullanıldığında (100 mg/kg-1. Pilot çalışma, 120mg/kg-2. Pilot çalışma) sonucunda belirgin bir mukozit izlenmemiştir.

Takeuchi ve ark. (Takeuchi et al., 2020), kanser kemoterapisinin neden olduğu oral mukozitin sıçan modelini geliştirmeyi amaçlamışlar ve bunun için 9 haftalık Wistar cinsi sıçanlara deneyin, -5, -3 ve -1. günlerinde 5-Fluorourasli hayvanların vücut ağırlıklarına bağlı olarak 20, 30, 40, veya 50 mg/kg vermişlerdir. Deney günü 25.0 µl'lük asetik asit sulu çözeltisini de hayvanları gruplayarak üç ayrı konsantrasyonda sıçanların sağ yanak mukoza zarına enjekte etmişlerdir. Deneyin 0. günde vücut ağırlığı azalmıştır ve bu kilo kaybının doza bağlı olduğunu saptamışlardır. 50 mg/kg 5-FU solüsyon uygulama grubunda, 5-FU enjeksiyonundan birkaç gün sonra sıçanların% 40'ı, %30 asetik asit sulu çözelti uygulama grubunda, asetik asit enjeksiyonundan birkaç gün sonra sıçanların%33'ü

ölmüştür. Klinik ve histolojik bulgular ve kan tablosuna göre, 40 mg / kg'lık 5-FU dozunun ve %25 asetik asit konsantrasyonun yanağa enjeksiyonuyla oluşturulan kombinasyonunun kullanımıyla başarılı bir sıçan oral mukozit modeli geliştirdikleri belirtmişlerdir.

Takeuchi ve ark.'nın yaptığı bu çalışmada en uygun 5-FU dozunun 40 mg / kg'lık üç defa uygulaması (120 mg/kg) olarak deklare etmelerine rağmen, bizim 1. ve 2. Pilot çalışmamızda benzer uygulamalarda bu başarı elde edilememiştir. 1. Pilot çalışmamızda bu doza yaklaşık bir uygulamamız ve bir sıçanın yanak içinde yara yeri oluşturmamıza rağmen histopatolojik olarak yanakta bağ dokusunda ödem görülmüş ama klinik olarak oral mukozit oluşturmamıştır. Bu durum yanak mukozasında oluşturulan yara yerinin o bölgede gerekli tahribatı yapamadığı ile açıklanabilir. Bu nedenle ikinci pilot çalışmamızda hem toplam doz 120 mg/kg'a çıkarılmış, yanak içi mukozaya iki çizik atılmış ve %20'lik asetik asit uygulaması yapılmıştır. Bu doz ve asit kombinasyonu uygulamada yine klinik olarak oral mukozit oluşmazken deneklerde intestinal mukozit oluşmuş, hayvanlar ishal olmuş ama kilo kaybı çok az olmuştur. Takeuchi ve ark.'nın bu yöntemle başarı elde etmesindeki temel nokta, hayvanların oldukça genç olmasından, buna bağlı olarak hızla immünosupresif durumun ortaya çıkmasını tetiklemiş olabilir ki bu düşüncemiz çalışmalarında %40'lık hayvan kaybıyla da açıklanabilir. Bizim çalışmamızda ise bu dozlarda sıçanlarda herhangi bir ölüm olmadığı gibi, hayvanların oldukça sağlıklı oldukları da söylenebilir.

2. Pilot çalışmada klinik olarak oral mukozit oluşmazken deneklerde ishal görülmüş ama kilo kaybı çok az olmuştur. Bulgular, hayvanlarda bu dozun intestinal mukozit meydana getirmiş olarak yorumlanmış, bu durumun; deney örneklerinin sayısının az olması, sıçanların iyileşme potansiyelinin yüksek olması ve 5-Fluorourasil (5-FU)'in uygulama metodundan kaynaklanabileceği düşüncesiyle yeni bir pilot çalışma daha önce 2. Pilot çalışmada kullanılan iki hayvanla planlanmış ve kullanılan hayvan modelinin kısmi modifikasyonu ile kullanılabilir hale gelmesi hedeflenmiştir. 5-Fluorourasil iki gün aralıklarla toplamda 3 kez intraperitoneal olarak 1.gün 60 mg/kg/gün, 3. gün 150mg/kg/gün ve 5. gün 60 mg/kg/gün tarzında serum fizyolojik içerisinde çözülerek uygulanması ile oral mukozit elde edilmiştir. Hayvanlar daha önceden kemoterapide 120mg/kg 5-FU ve ikinci döngüde 270 mg/kg 5-FU almalarına rağmen hayata kalmışlar; oral ve intestinal mukozit gözlemleri histolojik ve klinik bulgularla desteklenmiştir. Doza karar verirken yapılan çalışmalarda sıçanlarda 400 mg/kg 5-FU'nun güvenle kullanıldığı

görülmüştür (Kim et al., 2018) (Tefas et al., 2020) (Tefas et al., 2020) (Ciobanu et al., 2020)

Tefas ve arkadaşları (Tefas et al., 2020), 16 dişi Wistar cinsi sıçanlara deneyin 3. gününde i.p. olarak 400 mg/kg 5-FU uygulanmış, hayvanlarda intestinal mukozit oluşturmuşlar ve 9. günde hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Çalışmada mortalite oranlarından bahsedilmemiştir. Ciobanu ve ark. (2020), 17 Wistar cinsi sıçanlara deneyin 7. gününde i.p. olarak 400 mg/kg 5-FU uygulanmış, hayvanlarda intestinal mukozit oluşturmuşlar ve 9. günde sakrifiye etmişlerdir.

Kim ve ark. (Kim et al., 2018) 2018 yılında yaptıkları çalışmada 120-130 gr ağırlığında 30 erkek Sprague-Dawley sıçana 400 mg/kg 5-FU'yu tez doz olarak ikinci günde vermiş ve 7. Günde hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Bu çalışmalar dikkatlice incelendiğinde 400mg/kg 5-FU verilen hayvanların birkaç gün içinde sakrifiye edildikleri görülecektir ve bu çalışmalar hayvan ölüm oranlarından bahsedilmemektedir. Ayrıca çalışmanın neden 3-5 gün içerisinde bitirildiğini tam olarak açıklamamaktadırlar. Dördüncü pilot çalışmamızda, 5-Fluorourasili iki gün aralıklarla toplamda 270 mg/kg olarak serum fizyolojik içerisinde çözülerek uygulanmasına rağmen hayvanlar 4 gün içerisinde kaybedilmiştir. Diğer çalışmalara oranla çok daha az bir dozu günlere bölerek vermemize rağmen tüm hayvanlar ölmüştür. Fakat çalışmayı 3 günde kesip oral ve intestinal mukozit oluşturduk diye kalan hayvanları sakrifiye etseydik ve ölüm oranlarını saklasaydık, çalışma modelimizi etik dışı bir yaklaşımla başarılı kabul edebilirdik.

Yukarıdaki çalışmalarda mortalite oranları net olmadığı için, literatür bilginin yanlış yönlendirmesi sonucunda bu oranda mortalite olduğunu düşünsek de üçüncü pilot çalışmamızdaki olumlu sonuçları da bununla açıklayamıyoruz. İkinci pilot çalışmada 120mg/kg ve üçüncü çalışmada 270mg/kg ekstar dozla toplamda 390mg/kg doz alan ratlarda böyle bir durum ile karşılaşılmamıştır. Bu nedenle dördüncü pilot çalışmamızda bütün hayvanların niye öldüğünü tam olarak anlayamıyoruz.

Doğru modeli bulmak adına çalışmalarımızı sadece eğitim modelinden çıkmış ve zaten sakrifiye edilecek sıçanlarda devam etme şansı bulunca, dördüncü pilot çalışmada hayvanların esas problemleri 3. dozdan sonra ortaya çıktığı için uygulama iki doz olarak revize edilmesi düşünülmüştür ve 5. Çalışmada toplamda 210 mg/kg 5-FU ve %20'lik asetik asit uygulamasıyla başarılı bir model elde edilmiştir.

6.2. Ağırlık Kaybı

Mukozit oluşumu sonrası gözlenen parametrelerden biri ağırlık kaybıdır. Çalışmamızda 1. Gün 1. Doz olan 60mg/kg 5-Fu enjeksiyonundan sonra sıçanlarda ortalama 12 gr kayıp gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise 2.5 gr artış söz konusudur. 1. gün ile 9. Gün arasındaki ağırlık farkı, kemoterapi grup-1 de 44.5 gr kayıp; kontrol grubunda ise 1 gr artış olarak izlenmiştir. Bu sonuçlara göre; sıçanlarda izlenen kilo kaybının, mukozit sonrası görülen ağrı, beslenememe ve bunların neticesinde ortaya çıkan kilo kaybı nedeniyle oluştuğunu düşünmekteyiz.

Abalo ve ark. yaptıkları çalışmada (Abalo et al., 2017) diğer çalışmalarla uyumlu olarak (Shiota et al., 2010) (Whittaker et al., 2017), 5-FU'nun vücut ağırlığını ve gıda alımını azalttığı belirtmişlerdir. Vücut ağırlığındaki kaybı, gıda alımındaki azalma ile açıklamışlar fakat diğer faktörlerin de katkıda bulunmuş olabileceğini göz ardı etmemişlerdir. Kemoterapi genellikle yorgunluğa neden olduğundan ve motor aktiviteyi azalttığından, enerji harcamasında bir artışın söz konusu olmadığından bahsetmişlerdir. Ayrıca, yetersiz beslenme ve dehidrasyonu destekleyebilen ve kilo alımının azalmasına katkıda bulunan ishal gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da buna uyumlu olarak ishalin kilo kaybına neden olduğu ve dehidrasyonun, su alımında bir artışı tetiklemiş olabileceğini gözlemlemiştik.

Yapılan çeşitli çalışmalarda(Shiota et al., 2010)(Kim et al., 2018), 300 mg ve daha yüksek verilen 5-Fu dozlarında mukozit gözlenmiş olsa da hayvanların genellikle çok kısa sürede sakrifiye edildikleri raporlanmaktadır. Bizim çalışmamızda ise ağız mukozasında meydana gelen oral mukozitin iyileşme sürecini inceleyebilmemiz için hayvanların çok daha uzun süre hayatta kalması gerekmektedir. Bu sebeplerle bizim yaptığımız bu çalışmada verilen dozların daha düşük olmasına ve hayvan kayıpları yaşanmasına rağmen oluşturduğumuz sıçan modelinde ağızda belli bir lezyon meydana gelmiş ve lezyonun iyileşebilmesini gözlemleyebilmek için gerekli olan süre boyunca hayvanlar hayatta kalmıştır.

6.3. Skorlama Tablosu

Çalışmamızdaki bütün kemoterapi gruplarında (kemoterapi grup1,2,3 ve 4), 5. Günde gerçekleşen 2. Doz 5-Fu tedavisinden 3 gün sonra yapılan incelemede klinik skorlama sonucunda belirgin bir mukozit tablosu izlenmiştir. Bütün gruplarda mukozit

skorlama değeri sonucu en az 2-3 (Koyu kırmızı ve odaklaşma) aralığında olarak gözlenmiştir. Hatta bazı hayvanlarda skor 4 (eksuda artışı ve dudağa kısmen taşan kabuklanma) izlenmiştir.

Campos ve ark. 5-Fu ile yaptıkları hamster çalışmasında Deneyin 1. ve 3. günlerinde, sırasıyla 100 mg/ kg ve 65 mg/kg 5-Fu intraperitoneal olarak uygulamışlardır. Oral mukoziti indüklemek için deneyin 4. ve 5. günlerde, hayvanların hem sol hem de sağ yanak içi mukozaları bir iğnenin ucu ile yüzeysel olarak tahriş etmişlerdir. Yanak mukozasını 5.,7. ve 10. Günlerde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen kriterler ve Wilder-Smith ve ark. (Wilder-Smith et al., 2007) göre hamsterler için modifiye edilmiş Oral Mukozit Değerlendirme Ölçeği (OMAS) baz alınacak derecelendirmişlerdir. Ölçeklere göre, oral mukozit lezyonlarının klinik değerlendirmesinde gruplar arasında benzer sonuçlar gözlemlenmiştir. WHO skalasına göre 4. ve 5. günde bir veya daha fazla yerde ülser oluşumu ve ülserlerin psödomembran nedeniyle sarı gri olabileceğini ve kümülatif boyutunun yanağın yaklaşık 1 / 4 ile yarısı kadar olduğunu skorlamışlardır. Bölgede şiddetli eritem ve vazodilatasyon da mevcuttur. Hamsterlara uygulanan toplam 165mg/kg 5 Fu'nun bu derece şiddetli oral mukozit oluşturmaya rağmen, kendi çalışmalarımıza göre sıçanlarda bu dozun şiddetli bir oral mukozit oluşturmayacağını söyleyebiliriz.

Oral mukozit sadece kemoterapi bağlı gelişmeyip, ışın tedavilerinde de ortaya çıkmaktadır. Radyasyona bağlı oral mukozitin şiddeti ile ilgili bir çalışma yapan Miyamoto ve ark. (Miyamoto et al., 2015) ışınlama grupları arasında mukozit skorları açısından anlamlı fark bulamamışlardır. Buna karşılık, 10-Gy ışınlama grubundaki skorlar, diğer 2 ışınlanmış grupta görülenlerden önemli ölçüde daha düşük çıkmıştır. Işınlamadan sonraki 10. günde ortalama mukozit skoru, 10-Gy ışınlama grubunda ortalama 0-0.5, 18-Gy ışınlama grubunda ortalama 1 ve 30-Gy ışınlama grubunda ortalama 4-5. 18-Gy ışınlama grubundaki skorlar, 30-Gy ve 10-Gy ışınlama grubundakilerle göre önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır. Işınlamadan sonra 13. günde ortalama oral mukozit skoru 10-Gy ışınlama grubunda 0, 18-Gy ışınlama grubunda ortalama 1-2 ve 30-Gy'de ortalama 2-3 olarak raporlanmıştır. 30-Gy ışınlama grubundaki skorlar, 18-Gy ışınlama grubundakilerden anlamlı derecede yüksek çıkmıştır.

6.4. Histolojik Olarak Değerlendirme

Bültzingslöwen ve ark yaptığı çalışmada (Von Bültzingslöwen, Jontell, Hurst, Nannmark, & Kardos, 2001), ışık mikroskobu ile incelendiğinde 5-Fu ile tedavi edilen tüm hayvanlarda epitelyumun bazal hücrelerinin düzensiz yapısına rastlamışlar ve elektron mikroskobu kullanarak bu bulguyu doğrulamışlardır. Tedavi prosedürü uygulanmayan kontrol grubu ile tedavi edilen hayvanlar karşılaştırıldığında bazal laminaya en yakın hücre katmanlarında hücreler arası boşlukların genişlediğini gözlemlemişlerdir. Desmozomları izlemiş ancak desmozomlar arasındaki mesafenin tedavi edilen hayvanlarda normalden biraz daha büyük olduğunu ve bağlantı komplekslerinin bir dereceye kadar kaybolduğunu raporlamışlardır. Epitel yüzeyine daha yakın konumlanan hücre katmanlarında hem hücreler hem de hücre içi temasların etkilenmediği görmüşler. 3 gün boyunca 5-Fu ile tedavi edilen hayvanlarda, bazal laminaya bitişik hücrelerde dejenerasyon, büzülme ve hücreden hücreye temas kaybı izlenmiş. Tedavi edilen hayvanların lamina propria ve submukozasında, erken enflamatuar değişikliklerin belirtileri gözlenmiş. Hem eozinofiller hem de nötrofiller görülmüş ayrıca, granüllerini çevreleyen mast hücreleri de raporlanmış.

Bizim yaptığımız 3. Pilot çalışmada sonucunda 5-Fu tedavisi uygulandıktan sonra hayvanların ağızdaki yüzeyi örten çok katlı yassı epitel tabakasında akantoz ve hiperkeratoz dikkat çekici şekilde belirgin olarak gözlemlendi. Epitel tabakasında retelerin tedavisi öncesine göre daha çok kalınlaşmış olduğu görüldü. Yüzeyde bulunan çok katlı yassı epitelyum şekli yerine bu kısımda eksuda ve debris birikimi saptandı. 5. Çalışmamızın sonucunda ise Kemoterapi Grup-1’de akantoz, hafif papillomatoz, hipergranülozis ve hiperkeratoz gözlenen yüzey epiteli; kontrol grubunda ise düzensiz akantoz şeklinde papillomatoz ve hiperkeratoz özelliği gösteren yüzey epiteli ve bu yüzey epitelinin altında zengin çizgili kas lifleri izlendi. Bültzingslöwen ve ark. (2001) yaptığı çalışmaya uyumlu olarak bu dokuların altında bağ dokusu içinde lenfosit ve nötrofil polimorf infiltrasyonu izlendi.

6.5. Alt, Ast ve Üre Değerleri

ALT, AST ve LDH gibi enzim seviyeleri genellikle hepatik hasarı değerlendirmek için kullanılır.

Çalışmamızda ALT seviyelerinin kemoterapi grubunda, kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Kemoterapi grubunda $13,1 \pm$

1,03 ve kontrol grubunda $14,87 \pm 1,41$ olarak gözlemlenmiştir ($p=0,37$). Kemoterapi tedavisi, ratlarda hepatoksisite oluşturmamış ve değerler hala normal aralık içindedir. Bu da sıçanların iyileşme periyodunda olduklarını gösterebilir.

AST seviyelerinin kemoterapi, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve değerlerin kemoterapi $27,57 \pm 3,39$ ve kontrol grubunda $21,74 \pm 0,86$ olarak gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Kemoterapi ve kontrol gruplarındaki AST değerleri ratlarda hepatoksisite oluşturmamış ve değerler normal aralık içinde gözlemlenmiştir.

Gelen ve ark. yaptıkları çalışmada (Gelen et al., 2017) 5-FU ile tedavi edilen sıçanlarda AST ve LDH'de önemli ölçüde artış olmuştur. Serumda ALT ve ALP düzeyleri diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılık gözlenmemiştir ($P> 0.05$). Bu sonuç bizim yaptığımız çalışma ile aynı sonuca sahiptir. Bu sonucun görülme nedeni, sıçanların kemoterapi tedavisi sonrası sıvı ve gıda tüketiminin yetersizliği ve bu nedenlerle dehidrasyon tablosunun ortaya çıkmasıdır.

Üre serum seviyelerinin kemoterapi, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve değerlerin kemoterapi $73,43 \pm 6,11$ ve kontrol grubunda $40,17 \pm 4,51$ olarak gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Bu değerler sıçanlardaki dehidrasyon seviyesinin kontrol grubuna daha yüksek olduğu ve su ile besin tüketiminin daha az olduğu sonucundan kaynaklanmak.

6.6. Mpo Sonuçları

Değerlendirildiğinde kemoterpi grubunda kontrol grubuna göre artmış aktiviteyi gözlemlemekteyiz. Lindsay (Lindsay, Geier, Yazbeck, Butler, & Howarth, 2010) Ve ark. 150 mg/kg 5Fu uyguladıkları sıçanlarda yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuç bizim çalışmamızın sonucu ile uyumludur.

7. SONUÇ

Oral mukozit, kemoterapi uygulanan hastalarda en sık rastlanan akut bir yan etki olarak kabul edilir. Klinik olarak oral mukozit, ağrı ve eritem ile karakterizedir ve şiddetli olduğunda, normal oral fonksiyonlara müdahale eden ülseratif lezyonlarla seyredebilir. Şiddetli ve / veya yaygın olduğunda, yoğun ağrı ve kanama ile ilişkilendirilerek sistemik enfeksiyon riskini arttırır. Bunun sonucunda hastanın beslenme desteği ihtiyacı ve hastanede kalma maliyetleri artabilir. Oluşabilecek bu durumlar hastanın antikanser tedavisine olan uyumu etkilediği için çözülmesi gereken ciddi bir sorundur. Oral mukozitin üstesinden gelebilmek için bugüne kadar oral mukozit modeli üzerinde çalışılmıştır. (Eto et al., 2008)(Sonis, 1990)(Tefas et al., 2020) Fakat yapılmış olan araştırmalarda çalışma gruplarındaki hayvan sayılarının farklı olması belirtilmeyen ölümleri düşündürürken, raporlanan dozların gerçeği yansıtmadaki güvenilirliği akıllarda soru işaretleri bırakmaktadır. Bu tarz araştırmaların planlanmasının, literatür çalışmalarına paralel 5-Fu letal doz hesaplamalarıyla desteklenerek yapılması daha sağlıklı olduğu kanaatindeyiz. Bu çalışmada, kanser kemoterapisi (5-FU) ve asetik asit kombinasyonunun kullanımıyla bir sıçan oral mukozit modeli geliştirmeyi başardığımızı, tüm mortalite oranlarını deklare ederek hem etik bir çalışma modeli oluşturduğumuzu hem de gelecekte yapılacak çalışmalarda doza bağımlı olarak boş yere oluşabilecek hayvan kayıplarının önünü geçebileceğimizi düşünüyoruz.

REFERANSLAR

- Abalo, R., Uranga, J. A., Pérez-García, I., de Andrés, R., Girón, R., Vera, G., ... Martín-Fontelles, M. I. (2017). May cannabinoids prevent the development of chemotherapy-induced diarrhea and intestinal mucositis? Experimental study in the rat. *Neurogastroenterology and Motility*, 29(3), 1–14. <https://doi.org/10.1111/nmo.12952>
- American, T., Society, C., Cancer, N., States, U., Ncic, T., Time, C., ... Pain, M. (n.d.). *American Cancer Society National Cancer Information Center (NCIC)*. 1–6.
- Atici, E. (2007). Tıp tarihinde kanser ve lösemi. *Türk Onkoloji Dergisi*, 22(4), 197–204.
- Baykara O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. In *Balikesir Saglik Bil Derg Cilt:5 Sayı:3* (p. 155).
- Bensadoun, R. J. (2006). Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. *Proceedings of the 6th International Congress of the World Association of Laser Therapy, WALT 2006*, (February), 69–73. <https://doi.org/10.1002/cncr.22484>
- Bhatt, V., Vendrell, N., Nau, K., Crumb, D., & Roy, V. (2010). Implementation of a standardized protocol for prevention and management of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic cell transplantation. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 16(3), 195–204. <https://doi.org/10.1177/1078155209348721>
- Biol, L., Akdemir, N., Bedük, T. (1990). İç Hastalıkları Hemşireliği. In *Vehbi Koç Vakfı Yayınları no6* (p. ss. 66-78).
- Bonan, P. R. F., Lopes, M. A., Pires, F. R., & de Almeida, O. P. (2006).

- Dental management of low socioeconomic level patients before radiotherapy of the head and neck with special emphasis on the prevention of osteoradionecrosis. *Brazilian Dental Journal*, 17(4), 336–342. <https://doi.org/10.1590/s0103-64402006000400013>
- Bowen, J. M., Elad, S., Hutchins, R. D., & Lalla, R. V. (2013). Methodology for the MASCC/ISOO mucositis clinical practice guidelines update. *Supportive Care in Cancer*, 21(1), 303–308. <https://doi.org/10.1007/s00520-012-1592-7>
- Brown, C. G., & Wingard, J. (2004). Clinical consequences of oral mucositis. *Seminars in Oncology Nursing*, 20(1), 16–21. <https://doi.org/10.1053/j.soncn.2003.10.004>
- Buie, L. W., Pecoraro, J. J., Horvat, T. Z., & Daley, R. J. (2015). Blinatumomab: A First-in-Class Bispecific T-Cell Engager for Precursor B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Annals of Pharmacotherapy*, 49(9), 1057–1067. <https://doi.org/10.1177/1060028015588555>
- Can G. (2005). *Antineoplastik ilaçların yan etkileri .pdf* (pp. 8–15). pp. 8–15. Retrieved from file:///C:/Users/User/Downloads/D8_Sanerk_Antineoplastik.pdf
- Cho, D. Y., Lin, S. Z., Yang, W. K., Lee, H. C., Hsu, D. M., Lin, H. L., ... Ho, L. H. (2013). Targeting cancer stem cells for treatment of glioblastoma multiforme. *Cell Transplantation*, 22(4), 731–739. <https://doi.org/10.3727/096368912X655136>
- Ciobanu, L., Tefas, C., Oancea, D. M., Berce, C., Vodnar, D. A. N., Mester, A., ... Taulescu, M. (2020). *Effect of Lactobacillus plantarum ACTT 8014 on 5 - fluorouracil induced intestinal mucositis in Wistar rats*. 1–7. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9339>

- Epstein, J. B., Thariat, J., Bensadoun, R.-J., Barasch, A., Murphy, B. A., Kolnick, L., ... Maghami, E. (2012). Oral complications of cancer and cancer therapy. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 62(6), 400–422. <https://doi.org/10.3322/caac.21157>
- Eto, M., Kamiryo, Y., Takeuchi, A., Harano, M., Tatsugami, K., Harada, M., ... Naito, S. (2008). Posttransplant administration of cyclophosphamide and donor lymphocyte infusion induces potent antitumor immunity to solid tumor. *Clinical Cancer Research*, 14(9), 2833–2840. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1742>
- Fitzmaurice, C., Dicker, D., Pain, A., Hamavid, H., Moradi-Lakeh, M., MacIntyre, M. F., ... Naghavi, M. (2015). The Global Burden of Cancer 2015. *JAMA Oncology*, 1(4), 505–527. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.0735>
- Gelen, V., Şengül, E., Gedikli, S., Atila, G., Uslu, H., & Makav, M. (2017). The protective effect of rutin and quercetin on 5-FU-induced hepatotoxicity in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(7), 647–653. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.06.013>
- Göksoy, E. (2001). *Onkolojik Cerrahinin Temel İlkeleri*. (December), 235–239.
- Henke, M., Alfonsi, M., Foa, P., Giralt, J., Bardet, E., Cerezo, L., ... Berger, D. (2011). Palifermin decreases severe oral mucositis of patients undergoing postoperative radiochemotherapy for head and neck cancer: A randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Oncology*, 29(20), 2815–2820. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.32.4103>
- Hita-Iglesias, P., Torres-Lagares, D., & Gutiérrez-Pérez, J. L. (2006). Evaluation of the clinical behaviour of a polyvinylpyrrolidone and

- sodium hyaluronate gel (Gelclair®) in patients subjected to surgical treatment with CO₂ laser. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 35(6), 514–517.
<https://doi.org/10.1016/j.ijom.2005.12.004>
- Hugoy, T., Lerdal, A., Rustoen, T., & Oksholm, T. (2019). Predicting postoperative fatigue in surgically treated lung cancer patients in Norway: A longitudinal 5-month follow-up study. *BMJ Open*, 9(9), 0–71.
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-028192>
- Hv, W., Je, C., Am, G., & Mg, M. (2011). receiving treatment (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4).
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD000978.pub5>. Copyright
- Jabbour, E., O'Brien, S., Ravandi, F., & Kantarjian, H. (2015). Monoclonal antibodies in acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 125(26), 4010–4016.
<https://doi.org/10.1182/blood-2014-08-596403>
- Jones, J. B. (2006). *Randomized , Placebo-Controlled Trial of Saforis for Prevention and Treatment of Oral Mucositis in Breast Cancer Patients Receiving Anthracycline-Based Chemotherapy*. (December), 322–331.
<https://doi.org/10.1002/cncr.22384>
- Katranc, N., Ovayolu, N., Ovayolu, O., & Sevinc, A. (2012). *European Journal of Oncology Nursing Evaluation of the effect of cryotherapy in preventing oral mucositis associated with chemotherapy e A randomized controlled trial*. 16, 339–344. <https://doi.org/10.1016/j.ejon.2011.07.008>
- Kim, S. H., Chun, H. J., Choi, H. S., Kim, E. S., Keum, B., Seo, Y. S., ... Kim, C. D. (2018). Ursodeoxycholic acid attenuates 5-fluorouracil-induced mucositis in a rat model. *Oncology Letters*, 16(2), 2585–2590.
<https://doi.org/10.3892/ol.2018.8893>

- Lalla, R. V., Bowen, J., Barasch, A., Elting, L., Epstein, J., Keefe, D. M., ... Zadik, Y. (2014). MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. *Cancer*, 120(10), 1453–1461. <https://doi.org/10.1002/cncr.28592>
- Lindsay, R. J., Geier, M. S., Yazbeck, R., Butler, R. N., & Howarth, G. S. (2010). Orally administered emu oil decreases acute inflammation and alters selected small intestinal parameters in a rat model of mucositis. *British Journal of Nutrition*, 104(4), 513–519. <https://doi.org/10.1017/S000711451000084X>
- Lucena, S. R., Salazar, N., Gracia-Cazaña, T., Zamarrón, A., González, S., Juarranz, Á., & Gilaberte, Y. (2015). Combined treatments with photodynamic therapy for non-melanoma skin cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 25912–25933. <https://doi.org/10.3390/ijms161025912>
- Madan Kumar, P., Sequeira, P., Shenoy, K., & Shetty, J. (2008). The effect of three mouthwashes on radiation-induced oral mucositis in patients with head and neck malignancies: A randomized control trial. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 4(1), 3–8. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.39597>
- Mandel NM. (2015). No Title. In *Onkoloji El Kitabı* (pp. 100–124).
- Martinez, J. M., Pereira, D., Chacim, S., Mesquita, E., Sousa, I., Martins, Â., ... Mariz, J. M. (2014). Mucositis care in acute leukemia and non-Hodgkin lymphoma patients undergoing high-dose chemotherapy. *Supportive Care in Cancer*, 22(9), 2563–2569. <https://doi.org/10.1007/s00520-014-2199-y>
- Mian, M., Tinelli, M., De March, E., Turri, G., Meneghini, V., Pescosta, N.,

- ... Zambello, R. (2016). Bortezomib, thalidomide and lenalidomide: Have they really changed the outcome of multiple myeloma? *Anticancer Research*, 36(3), 1059–1066.
- Miyamoto, H., Kanayama, T., Horii, K., Kawai, T., Tsuchimochi, T., Shigetomi, T., ... Shibuya, Y. (2015). The relationship between the severity of radiation-induced oral mucositis and the myeloperoxidase levels in rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 120(3), 329–336. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2015.04.012>
- Münstedt, K., & Männle, H. (2019). Using Bee Products for the Prevention and Treatment of Oral Mucositis Induced by Cancer Treatment. *Molecules*, 24(17), 3023. <https://doi.org/10.3390/molecules24173023>
- Nicolatou-Galitis, O., Sarri, T., Bowen, J., Di Palma, M., Kouloulis, V. E., Niscola, P., ... Lalla, R. V. (2013). Systematic review of anti-inflammatory agents for the management of oral mucositis in cancer patients. *Supportive Care in Cancer*, 21(11), 3179–3189. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-1847-y>
- Patients, T. I., & Practices, B. (2015). Kemoterapi Alan Hastalarda Görülen Oral Mukozitin Önlemesi ve Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar : Kanıta Dayalı Uygulamalar Current Approaches to Oral Mucositis Prevention and Treatment In Patients Receiving Chemotherapy : Evidence- Based Practices. *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi* (2015), 70–77.
- Pavlopoulou, A., Spandidos, D. A., & Michalopoulos, I. (2015). Human cancer databases (Review). *Oncology Reports*, 33(1), 3–18. <https://doi.org/10.3892/or.2014.3579>
- Peterson, D. E., Bensadoun, R. J., & Roila, F. (2011). Management of oral

- and gastrointestinal mucositis: ESMO clinical practice guidelines. *Annals of Oncology*, 22(SUPPL. 6), 78–84. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr391>
- Peterson, Douglas E., & Lalla, R. V. (2010). Oral mucositis: The new paradigms. *Current Opinion in Oncology*, 22(4), 318–322. <https://doi.org/10.1097/CCO.0b013e32833a9fab>
- Piedbois, P. (1998). Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: Effect of administration schedule and prognostic factors. *Journal of Clinical Oncology*, 16(11), 3537–3541. <https://doi.org/10.1200/JCO.1998.16.11.3537>
- Rosenthal, D. I., & Trotti, A. (2009). Strategies for Managing Radiation-Induced Mucositis in Head and Neck Cancer. *Seminars in Radiation Oncology*, 19(1), 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2008.09.006>
- Salama, J. K., Gu, L., Wang, X., Pang, H. H., Bogart, J. A., Crawford, J., ... Ready, N. E. (2016). Positive interaction between prophylactic cranial irradiation and maintenance sunitinib for untreated extensive-stage small cell lung cancer patients after standard chemotherapy: A secondary analysis of CALGB 30504 (ALLIANCE). *Journal of Thoracic Oncology*, 11(3), 361–369. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2015.11.001>
- Senan, S., Palma, D. A., & Lagerwaard, F. J. (2011). Stereotactic ablative radiotherapy for stage I NSCLC: Recent advances and controversies. *Journal of Thoracic Disease*, 3(3), 189–196. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2011.05.03>
- Shiota, A., Hada, T., Baba, T., Sato, M., Yamanaka-Okumura, H., Yamamoto, H., ... Takeda, E. (2010). Protective effects of glyco glycerol lipids extracted from spinach on 5-fluorouracil induced intestinal mucosal

- injury. *Journal of Medical Investigation*, 57(3–4), 314–320.
<https://doi.org/10.2152/jmi.57.314>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2015). Cancer statistics, 2015. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(1), 5–29.
<https://doi.org/10.3322/caac.21254>
- Sonis, S T. (1998). *Mucositis as a biological process : a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity*. 34, 39–43.
- Sonis, Stephen T., Elting, L. S., Keefe, D., Peterson, D. E., Schubert, M., Hauer-Jensen, M., ... Rubenstein, E. B. (2004). Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury. *Cancer*, 100(S9), 1995–2025.
<https://doi.org/10.1002/cncr.20162>
- Sonis, Stephen T., Tracey, C., Shklar, G., Jenson, J., & Florine, D. (1990). An animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 69(4), 437–443.
[https://doi.org/10.1016/0030-4220\(90\)90376-4](https://doi.org/10.1016/0030-4220(90)90376-4)
- Takeuchi, I., Kawamata, R., & Makino, K. (2020). A rat model of oral mucositis induced by cancer chemotherapy for quantitative experiments. *Anticancer Research*, 40(5), 2701–2706.
<https://doi.org/10.21873/anticanres.14241>
- Tarakçıoğlu Çelik, G. H. (2016). Onkoloji Hemşireliğinde Semptom Yönetimi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(4), 93–100.
- Tefas, C., Ciobanu, L., Berce, C., Meşter, A., Onica, S., Toma, C., ... Taulescu, M. (2020). Beneficial effect of oral administration of zinc sulfate on 5-fluorouracil-induced gastrointestinal mucositis in rats.

- European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24(21), 11365–11373. https://doi.org/10.26355/eurev_202011_23628
- Trotti, A., Byhardt, R., Stetz, J., Gwede, C., Corn, B., Fu, K., ... Curran, W. (2000). Common toxicity criteria: Version 2.0. An improved reference for grading the acute effects of cancer treatment: Impact on radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 47(1), 13–47. [https://doi.org/10.1016/S0360-3016\(99\)00559-3](https://doi.org/10.1016/S0360-3016(99)00559-3)
- Turan, T., & Erdoğan, Ç. (2018). EvidenceBased Practice for Oral Care in Children. *Population*, 25(11), 26.
- Uslu, Y., Under, V., Kocatepe, V., & Karabacak, U. (2019). Example of a Simulation Design in Nursing Education: Safe Chemotherapy Administration. *Florence Nightingale Journal of Nursing*, 27(3), 304–313. <https://doi.org/10.5152/fnjin.2019.18081>
- Varela, G., & Gómez-Hernández, M. T. (2016). Stereotactic ablative radiotherapy for early stage non-small cell lung cancer: A word of caution. *Translational Lung Cancer Research*, 5(1), 102–105. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2218-6751.2015.10.10>
- Von Bültzingslöwen, I., Jontell, M., Hurst, P., Nannmark, U., & Kardos, T. (2001). 5-Fluorouracil induces autophagic degeneration in rat oral keratinocytes. *Oral Oncology*, 37(6), 537–544. [https://doi.org/10.1016/S1368-8375\(01\)00009-4](https://doi.org/10.1016/S1368-8375(01)00009-4)
- Whittaker, A. L., Zhu, Y., Howarth, G. S., Loung, C. S., Bastian, S. E. P., & Wirthensohn, M. G. (2017). Effects of commercially produced almond by-products on chemotherapy-induced mucositis in rats. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 8(4), 176–187. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v8.i4.176>

Wilder-Smith, P., Hammer-Wilson, M. J., Zhang, J., Wang, Q., Osann, K., Chen, Z., ... Epstein, J. (2007). In vivo imaging of oral mucositis in an animal model using optical coherence tomography and optical Doppler tomography. *Clinical Cancer Research*, 13(8), 2449–2454. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2234>

