



**ANKAFERD KANAMA DURDURUCUNUN 7,12-DİMETİLBENZ[A]ANTRASEN
KULLANILARAK OLUŞTURULAN ORAL EPİTELYAL DİSPLAZİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ**

Murat ÖZLE

**DOKTORA TEZİ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

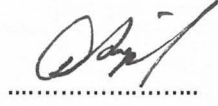
2015

Murat Özle tarafından hazırlanan "Ankaferd Kanama Durdurucunun 7,12-dimetilbenz[a]antrasen kullanılarak oluşturulan oral epitelyal displazi üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Dilek Çankal

Ağız, Diş ve Çene Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Başkan : Prof. Dr. Ümit Kıymet Akal Aktaş

Ağız, Diş ve Çene Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye : Prof. Dr. Cahit Üçok

Ağız, Diş ve Çene Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

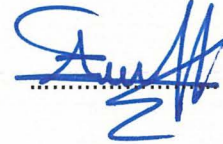
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye : Prof. Dr. Esra Akkol

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye : Prof. Dr. Sedat Çetiner

Ağız, Diş ve Çene Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi:

14/07/2015

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Murat ÖZLE

22/07/2015



ANKAFERD KANAMA DURDURUCUNUN 7,12-DİMETİLBENZ[A]ANTRASEN KULLANILARAK
OLUŞTURULAN ORAL EPİTELYAL DİSPLAZİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK
İNCELENMESİ

(Doktora Tezi)

Murat ÖZLE

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2015

ÖZET

Ankaferd kanama durdurucu ülkemizde hemostatik ajan olarak kullanılan bitkisel kaynaklı bir üründür. Ankaferd; *Thymus vulgaris L.*, *Glycyrrhiza glabra L.*, *Vitis vinifera L.*, *Alpinia officinarum Hance.* ve *Urtica dioica L.* bitkilerinin standardize karışımından oluşmaktadır. İçeriğindeki bitkilerin hemostaz sağlamanın yanı sıra antitümöral ve antioksidan özellikleri de bulunmaktadır. Bu çalışmada, ratların ağız mukozasında, kimyasal bir karsinogen olan 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) kullanılarak oluşturulan oral epitelyal displazi üzerine Ankaferd kanama durdurucunun etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda 36 adet *Sprague Dawley* cinsi rat rastgele 4 gruba ayrılmıştır. Gruplardan ilkinde sadece DMBA, ikincisine hem DMBA hem Ankaferd, üçüncüsüne sadece Ankaferd uygulanmıştır. Kontrol grubu olan son gruba ise hiçbir uygulama yapılmamıştır. 14 haftalık çalışma süresinin sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek ağız mukozaları histopatolojik olarak incelenmiştir. Yapılan histopatolojik inceleme sonucu sadece DMBA uygulanan grupta şiddetli displazi, hem DMBA hem Ankaferd uygulanan gruptaki hayvanların bir kısmında ise sadece hafif dereceli displazi görülürken, bir kısmında hiç displazi görülmemiştir. Hiç uygulama yapılmayan kontrol grubu ve sadece Ankaferd uygulaması yapılan grupta hiçbir displazik değişiklik görülmemiştir. Bu bilgiler ışığında Ankaferd kanama durdurucunun, ratlarda DMBA uygulanarak oluşturulan oral epitelyal displazi üzerinde önleyici etkisi bulunduğu sonucuna varılmıştır.

Bilim Kodu : 1003

Anahtar Kelimeler : Ankaferd kanama durdurucu, 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA), oral epitelyal displazi

Sayfa Adedi : 71

Danışman : Prof. Dr. Dilek ÇANKAL

EVALUATION OF THE CHEMOPREVENTIVE EFFECTS OF ANKAFERD BLOODSTOPPER IN 7,12-DIMETHYLBENZ[A]ANTHRACENE-INDUCED ORAL EPITHELIAL DYSPLASIA

(Ph. D. Thesis)

Murat Özle

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES
July 2015

ABSTRACT

Ankaferd BloodStopper® (ABS) is an herbal extract which has been used historically as a haemostatic agent in traditional Turkish medicine. ABS comprises of standardized mixture of herbs *Thymus vulgaris* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Vitis vinifera* L., *Alpinia officinarum* Hance. and *Urtica dioica* L. In addition to its haemostatic effects, the herbs ABS contains have antioxidant and antitumoral effects. The aim of this study is to investigate the chemopreventive effects of Ankaferd in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced oral epithelial dysplasia. For this purpose, a total of 36 Sprague Dawley rats were randomly divided into 4 groups. Group 1 animals received DMBA alone and group 2 animals received both DMBA and Ankaferd. Group 3 animals received Ankaferd Bloodstopper alone while group 4 animals served as control group and received no treatment. All animals were sacrificed and tissue samples were analyzed histologically at the end of the experimental period (14 weeks). Histological studies have shown that the buccal pouches from animals treated with DMBA alone revealed severe dysplasia while only mild or no dysplasia were noticed in DMBA + Ankaferd group. Animals administered Ankaferd alone and controls showed no dysplasia. The results suggest that Ankaferd Bloodstopper has chemopreventive effect against DMBA-induced oral epithelial dysplasia.

Science Code : 1003

Key Words : Ankaferd Bloodstopper, 7,12-dimethylbenz[a]anthracene, oral epithelial dysplasia

Page Number : 71

Advisor : Prof. Dr. Dilek ÇANKAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	viii
RESİMLERİN LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ağız Mukozası.....	3
2.1.1. Ağız mukozasının fonksiyonu	4
2.2. Ağız Mukozasının Prekanseroz (Premalign) Lezyonları.....	5
2.2.1. Etiyolojik faktörler	9
2.3. Oral Epitelyal Displazi.....	11
2.4. Hiperplazi	17
2.5. Hiperkeratoz.....	17
2.6. Neoplazi	18
2.6.1. Reaktif oksijen ürünlerinin biyolojik sistemler üzerine etkileri	18
2.6.2. Kimyasal Karsinogenler	20
2.7. Ankaferd Kanama Durdurucu (<i>Ankaferd Blood Stopper</i> - ABS)	23
2.7.1. Ankaferd kanama durdurucu'nun içeriğindeki bitkiler ve özellikleri.....	24
2.7.2. Ankaferd kanama durdurucu'nun hemostatik etki mekanizması	26
2.7.3. Ankaferd kanama durdurucu'nun güvenilirliği ve yan etkileri.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Deney Grupları	29

	Sayfa
3.2. Kullanılan Malzemeler	29
3.3. Deneysel Çalışma ve Kontrol Grupları	30
3.4. DMBA ve Ankaferd Kanama Durdurucunun Uygulanması	31
3.5. Sakrifikasyon	33
3.6. Histopatolojik Yöntem	33
3.7. İstatistiksel Yöntem.....	35
4. BULGULAR	37
4.1. Histopatolojik İnceleme Sonuçları	37
4.1.1. Kontrol grubu histopatolojik inceleme bulguları	37
4.1.2. Ankaferd grubu histopatolojik inceleme bulguları	38
4.1.3. DMBA grubu histopatolojik inceleme bulguları.....	40
4.1.4. DMBA ile beraber Ankaferd uygulanan grubun histopatolojik inceleme sonuçları	41
4.2. İstatistiksel İnceleme Bulguları	43
4.2.1. Displazi Bulguları	43
4.2.2. Hiperplazi	43
4.2.3. Hiperkeratoz	44
4.2.4. Neoplazi	45
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ	55
KAYNAKLAR.....	57
EKLER.....	67
EK-1 Etik kurul onayı	68
ÖZGEÇMİŞ	69

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Oral epitelyal displazide mikroskopik tanı ölçütleri	12
Çizelge 2.2. Oral epitelyal displazinin mikroskopik tanı ölçütleri, hücrel değişiklikler.....	13
Çizelge 2.3. Oral epitelyal displazinin mikroskopik tanı ölçütleri, dokulara özgü değişiklikler.....	13
Çizelge 2.4. Oral epitelyal displazi sınıflandırmaları	14
Çizelge 2.5. Prekanseröz lezyonlar: Kanserleşme ve lokalizasyon	16
Çizelge 3.1. Deney ve kontrol grubundaki hayvan sayısı ve yapılan uygulamalar	31
Çizelge 4.1. Kontrol grubunun histopatolojik inceleme sonuçları	37
Çizelge 4.2. Ankaferd kanama durdurucu uygulanan grubun histopatolojik inceleme sonuçları	39
Çizelge 4.3. Sadece DMBA uygulanan grubun histopatolojik inceleme sonuçları	40
Çizelge 4.4. DMBA ile beraber Ankaferd kanama durdurucu uygulanan grubun histopatolojik inceleme sonuçları	42
Çizelge 4.5. Deneklerin displazi değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılıklara ilişkin Kruskal Wallis-H Testi sonuçları	43
Çizelge 4.6. Deneklerin hiperplazi değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılıklara ilişkin Kruskal Wallis-H testi sonuçları	44
Çizelge 4.7. Deneklerin hiperkeratoz değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılıklara ilişkin Kruskal Wallis-H testi sonuçları	44
Çizelge 4.8. Deneklerin neoplazi değerleri ile gruplar arasındaki ilişkilere ilişkin Ki- Kare analizi sonuçları	45

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. 7, 12-dimetilbenz[a]antrasen.....	30
Resim 3.2. Ankaferd kanama durdurucu	30
Resim 3.3. Sağ yanak içi mukozasına DMBA'nın fırça ile uygulanması	32
Resim 3.4. Ankaferd kanama durdurucunun sprej yardımıyla yanak içine uygulanması	32
Resim 3.5. Sağ bukkal mukoza ve cilt dokusunun histopatolojik inceleme amacı ile eksizyonu.....	33
Resim 3.6. %10 formaldehit içerisinde sağ bukkal mukoza ve cilt dokusu	34
Resim 4.1. Kontrol grubu: Matür çok katlı yassı epitel (H.E.x4)	38
Resim 4.2. Ankaferd grubu: Normal histolojik sınırlar içerisindeki çok katlı yassı epitel (H.E.x10).....	39
Resim 4.3. DMBA grubu: Hiperkeratoz ve şiddetli displazik değişiklikler ile birlikte <i>lamina propriaya</i> invaze olmuş neoplazik hücre grupları (H.E.x10).	41
Resim 4.4. DMBA ile beraber Ankaferd kanama durdurucu uygulanan grup: Hafif şiddette hiperkeratoz ve displazik değişiklikler (H.E.x10).....	42

1. GİRİŞ

Teknoloji ve medeniyetlerin gelişmesine paralel olarak insan ölüm nedenleri değişim göstermektedir. 19. yüzyılın başlarında enfeksiyon ve bulaşıcı hastalıklar başlıca ölüm nedenleri olarak görülürken, günümüzde kalp hastalıkları ve kanser ölüme en sık neden olan hastalıklar arasında ilk iki sırada bulunmaktadır. İnsan ömrünün uzamasına karşın sanayileşmenin artmasına paralel olarak yaşanan çevrede fiziksel ve kimyasal karsinojenlere maruz kalma oranı artmaktadır. Bu nedenle kanser giderek büyüyen bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır [1].

Ağız bölgesinde görülen malign tümörler başlıca ölüm nedenlerinden biri olup, Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) tespit ettiği en yüksek mortaliteyle seyreden 8 kanser türü içerisinde yer almaktadır. Dünya genelinde baş-boyun kanserleri tüm kanser vakalarının %5'ini oluşturmaktadır [2]. Ağız kanserlerinin sağ kalım oranlarında son 50 yıllık dönemde ciddi bir artış olmamıştır ve sık görülen kanser tipleri arasında en düşük sağ kalım oranına sahiptir. Yapılan çalışmalarda 5 yıllık ve 10 yıllık sağ kalım oranları sırasıyla %59 ve %48 olarak bildirilmektedir [3, 4]. Baş-boyun kanserlerinin %90'ını skuamöz hücreli karsinom oluşturmaktadır [2]. Skuamöz hücreli karsinom çok katlı yassı epitelde, epitel displazisi olarak başlayan ve displazik epitel hücrelerinin bazal membranı aşarak bağ dokusuna ilerlemesi ile sonuçlanan bir patolojidir [5].

DSÖ'nün yaptığı premalign lezyonların sınıflamasına göre displazi ve karsinoma in situ (*carcinoma in situ* – CIS), oral skuamöz hücreli karsinomanın öncü lezyonları olarak tanımlanmışlardır [6]. Oral epitelyal displazinin doğru tedavisi ve takibi yapılmadığı takdirde, bu rahatsızlığın oral skuamöz hücreli karsinomaya dönüşme riski bulunmaktadır [7].

Ankaferd kanama durdurucu, hemostaz düzenleyicisi olarak fonksiyon gören, vücut dışı yaralanmalar, travmatik kesikler, diş operasyonları, spontan ya da cerrahi girişimler sonrası oluşan minör ve majör kanamaların kontrolünde kullanılan ve uygulamayı takiben hızlı, hemostatik etki gösteren, bitkisel kaynaklı tıbbi bir üründür. Ankaferd, geleneksel olarak kullanılan beş tıbbi ekstrenin standardize karışımından oluşan stabil ve steril bir

üründür: 100 ml'lik ekstrede 7 g *Glycyrrhiza glabra* L. (Meyan), 8 g *Vitis vinifera* L. (Asma), 7 g *Alpinia officinarum* Hance (Havlıcan) kurutulmuş yaprak ekstreleri, 5 g *Thymus vulgaris* L. (Kekik) kurutulmuş toprak üstü ekstresi ve 6 g *Urtica dioica* L. (Isırgan) kurutulmuş kök ekstresi içerir. İçerikteki bitkilerin hemostaz sağlamaya yardımcı olmaları haricinde antifungal, antienflamatuvar, antibakteriyel, antiaterosklerotik etkileri de mevcuttur [8]. Bu özellikler arasında bu çalışma açısından en önemlileri; antioksidan ve antitümöral etkileridir.

7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) immüsupresör bir ajan olup bölge ve organ-spesifik karsinojen olarak 1950'li yıllardan beri kanser çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır [9, 10]. DMBA ile yapılan çalışmalar, oral karsinogeneziste görülen kanser ve prekanseröz lezyonların anlaşılmasında önemli katkı sağlamıştır. DMBA bukkal mukozada oral skuamöz hücreli karsinom oluşturması, cilt ve meme dokusunda karsinogenezisi indüklemesi sebebiyle tıp literatüründe geniş bir kullanım alanı bulmaktadır[11].

DMBA'nın hayvan çalışmalarında çok sık kullanılmasının nedeni; DMBA ile oluşturulan bukkal mukoza tümörlerinin insan ağız boşluğunda oluşan tümörlere morfolojik, histolojik, biyokimyasal olarak ve moleküler seviyede büyük ölçüde benzemesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, DMBA ile oluşturulan yapısal değişiklikler ve patolojik lezyonlar insan ağızında görülen prekanseröz ve kanser lezyonlarına ileri derecede benzerlik gösterir [11].

Yapılan literatür taramasında Ankaferd'in oral epitelyal displazi üzerine etkilerinin incelendiği herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmanın amacı; Ankaferd kanama durdurucu'nun, 7,12-dimetilbenz[a]antrasen kullanılarak ratların yanak mukozalarında oluşturulan oral epitelyal displazi üzerine önleyici etkilerinin araştırılmasıdır. Yapılan bu çalışmanın sonunda displazi mevcudiyeti ve dereceleri histopatolojik olarak değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağız Mukozası

Ağız mukozası, ağız boşluğunu alttaki zengin organ yapısından ayıran, çok katlı yassı epitel örülü, örtücü tabakadır [5]. Ağız boşluğunu örten mukozal epitel dört anatomik tabakadan oluşur [12];

- a) Çok katlı yassı epitel
- b) Bazal membran
- c) *Lamina propria* (bağ dokusu)
- d) Submukoza

Ağız mukozasında epitelin kaynağı, dilde endoderm; dudak, yanak, diş eti, vestibulum oris, damak ve ağız tabanında ise ektodermdir [13]. Ağız mukozasının sert damak bölgesi ortokeratinize epitelle, diş eti, dil sırtı, alveoler mukoza orto ve parakeratinize kalın epitelle; yanak mukozası, yanak vestibül tarafı, labial mukoza ve dudak vestibül tarafı kalın, keratinize olmayan epitelle; ağız tabanı, dilin alt yüzü ve yan tarafı, yumuşak damak ile diş eti aralığı ince, keratinize olmayan epitelle döşelidir [5].

Oral mukoza histolojik olarak, *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum* ve *stratum corneum*'dan oluşmaktadır. Yapısal değişiklikler en fazla epitel tabakasında görülür [13]. Epitel tabakasının alt kısmında, bazal membrana yakın bölümde hücreler bölünerek çoğalırlar. Her hücre bölündüğünde yenisi yerinde sabit kalırken diğeri yüzeye doğru hareket eder ve yüzeye ulaşana kadar pek çok değişikliğe uğrar. Epitel tabakasının bütünlüğünü ve kalınlığının devamını sürekli yenilenme hareketi sağlar. Hücrelerin bazal tabakadan yüzeye hareketleri yaklaşık 10–12 günlük bir süre alır, yani mukoza yüzeyi yaklaşık 2 haftalık sürede kendisini yeniler. Bu nedenle mukozada oluşan lezyonlar ortalama 2 haftalık sürede iyileşmezlerse şüphe ile karşılanmalı ve sebebi araştırılmalıdır [5]. Yaşlı bireylerin ağız mukozası klinik olarak genç bireylere kıyasla genellikle daha yumuşak, atrofik ve kuru bir yüzeye sahiptir. Bu değişikliğin nedeni biyolojik yaşlanma sürecinden çok, sistemik hastalıklar ve ilaç tedavilerinin kümülatif etkileridir. Histolojik

olarak epitel ile bağ dokusunun incelmesi, dilin dorsumundaki filiform papillaların azalması ve foliat papillaların daha baskın hale gelmesi gibi yapısal değişiklikler gözlenir [14].

Epitel tabakasının altında bağ dokusu bulunur. Bağ dokusunun içinde kollajen lifler, bağ dokusu hücreleri olan fibroblastlar ve küçük kan damarları mevcuttur. Bağ dokusuna ait papillalar epitelin içine doğru çıkıntılar yaparak dalgalı bir görünüm oluştururlar. *Lamina propria*'nın altındaki submukoza olarak isimlendirilen tabakada ise damarlar, yağ hücreleri ve mukus salgılayarak mukozanın nemini sağlayan aksesuar tükürük bezleri bulunur [5].

Ağız mukozası fonksiyonuna göre üçe ayrılır. Bunlar; çiğneme mukozası (diş eti ve sert damak), özelleşmiş mukoza (dil sırtı) ve yüzey örtücü mukoza (yanak, dudak, ağız tabanı, dil altı, yumuşak damak ve alveol kreti hareketli mukozası)'dır [5, 15].

2.1.1. Ağız mukozasının fonksiyonu

Ağız mukozasının en önemli görevi, oral kavitede bulunan dokuların korunmasıdır. Oral mukoza ağız boşluğunu kesintisiz kaplayarak bu koruyucu görevi üstlenir [5, 12]. En üst tabaka olan *stratum corneum*'daki pullanma ve dökülme, bakterilerin koloni oluşturmalarını engeller. *Stratum corneum* tabakasını geçen bakteriler *stratum granulosum* tabakasında bulunan keratohyalin granülleri tarafından perifere atılırlar ve mukozadan uzaklaştırılırlar. Keratohyalin hücrelerini aşan ve daha derinlere göç eden bakteriler ise *lamina propria*'da bulunan kan damarlarındaki hücreler tarafından fagosit edilirler [5].

Ağız mukozası konuşma, yutkunma ve çiğneme gibi motor işlevlerde pasif görev alırken, salgılama, duyu algılaması, rezorpsiyon gibi işlevlerde aktif rol oynar. Salgılama görevini büyük ve küçük tükürük bezleri ile yaparak, müsin, amilaz gibi sindirime yardımcı maddeler ile glukoz ve bazı minerallerin salgılanmasını sağlar. Tükürüğün içeriğindeki immunoglobulinler lokal bağışıklıkta rol oynar [5]. Tükürüğün bikarbonat, fosfat, kalsiyum ve florid içeriği tamponlama (pH değerini sabit tutma) kapasitesini ve remineralizasyon potansiyelini belirler. Ayrıca tükürük, akış hızı ve viskozitesine bağlı olarak ağız içini mekanik temizleme etkisi göstermektedir [16].

Mukoza sinir uçları yoluyla termal ve mekanik değişiklikleri algılar. Dildeki tat cisimcikleri de önemli bir duyu organıdır [5].

Ağız mukozasının süratli rezorpsiyon yeteneği, ilaç kullanımında yararlı bir özellik sağlar. Dil altı nitrogliserin tabletlerin kullanımı ve alerjen-toksik maddelerin tükürük aracılığı ile seyreltilip mukozadan emilerek uzaklaştırılması bu özelliğe örnektir [5].

2.2. Ağız Mukozasının Prekanseröz (Premalign) Lezyonları

Premalign lezyon terimi dokuda herhangi bir alanda ortaya çıkan ve latent bir dönemin ardından aynı bölgede malign değişiklik gözlenen lezyonu tanımlar. Premalign lezyon kansere daha fazla dönüşme eğilimi olan morfolojik olarak farklılaşmış dokudur [5]. Ağız mukozasında görülen karsinomlar ya prekanseröz bir lezyonun sonradan kanserleşmesine bağlı olarak oluşur ya da doğrudan kanser olarak başlar. Prekanseröz lezyonlar özellikle skuamöz hücreli karsinomaya dönüşüm gösterebildikleri için önem teşkil etmektedirler [7].

Kanserleşme riski olan mukoza lezyonları 2 ana grupta incelenmektedir. Bunlar; mukozanın gerçek premalign lezyonları ve premalign özelliği olmayan fakat bazı olgularda skuamöz hücreli karsinomaya dönüşme olasılığı bulunan lezyonlardır [7].

Mukozanın gerçek premalign lezyonları

- Eritroplaki
- Lökoplaki
- Sublingual keratoz
- Tütün hiperkeratozları
- Oral submuköz fibrozis
- Diskeratozis *congenita*

Kanserleşme eğilimi gösterebilen mukoza değişiklikleri

- Kronik hiperplastik kandidiyazis

- Liken planus ve likenoid lezyonlar
- Lupus eritamatozus

Premalign lezyonların erken dönemde saptanması, invazyon ve metastaz oluşmadan tedavi edilebilmelerine yardımcı olur. Premalign lezyonlar klinik olarak öncelikle renkleriyle farkedilir. Lezyonlar beyaz veya kırmızı renktedir, bazı olgularda her iki rengi içeren lezyonlar da saptanabilir. Premalign lezyonların malign dönüşümünün saptanması mikroskopik inceleme ölçütlerine dayanır. Lezyonun rengi ne olursa olsun, epitel hücrelerinde saptanan displazik değişimler (oral epitelyal displazi) lezyondaki kanserleşme eğiliminin tek bulgusudur. Oral epitel displazi klinikte karşımıza daha çok beyaz plaklar (lökoplaki) veya kırmızı renkli plaklar (eritroplaki) şeklinde çıkmaktadır [7].

Oral epitelyal displazi modeli oluşturulan bu çalışmada premalign lezyonlardan özellikle lökoplaki ve eritroplaki konusunda daha detaylı bilgi verilecektir. Ayrıca, çalışma sonunda histopatolojik inceleme neticesinde tespit edilen hiperkeratoz, hiperplazi ve neoplazi konularına değinilecektir.

Lökoplaki, beyaz plak anlamına gelmektedir [5]. DSÖ tarafından yapılan tanımlamada ise lökoplaki; klinik ve laboratuvar özellikleri başka bir tanı kategorisine uymayan ve silinme ile mukozadan uzaklaştırılamayan beyaz plaklara verilen isimdir [5, 17]. Lökoplaki oral mukozada en sık görülen prekanseröz lezyondur. Lökoplaki erkeklerde kadınlara oranla daha fazla görülür. İleri yaşlarda (50-60) görülme oranı artmaktadır. Bukkal mukoza ve kommissuralar en sık yerleşim alanlarıdır. Bunu sırasıyla alveoler mukoza, dil, dudaklar, sert ve yumuşak damak izler. Klinik görünümleri düz, geniş, translüsent maküler alanlardan kalın, katı, düzensiz yüzeyle, fissürlü, mukozadan yüksek plaklara kadar değişiklik gösterir. Lökoplaki çoğu zaman asemptomatiktir ve rutin kontroller sırasında ortaya çıkar [5]. Lezyonlar alttaki mukozaya sıkıca yapışık olup, silinme ile mukozadan ayrılmazlar. Plaklara beyaz rengini veren çok katlı yassı epitelde meydana gelen hiperkeratozdur [7].

Lökoplaki, DSÖ'nün sınıflama sistemine göre homojen ve nonhomojen olarak ikiye ayrılmaktadır. Homojen lökoplaki 4 alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar; düz, kıvrımlı, buruşuk

ve sünger benzeri lökoplakidir. Nonhomojen lökoplaki de aynı şekilde 4 alt gruba ayrılır. Bunlar; verrüköz, nodüler (benekli), ülser ve eritrolökoplakidir. Sınıflandırmadaki nonhomojen terimi lezyonun rengini ve yüzey özelliklerini betimlemek için kullanılmaktadır [17-19].

Lökoplaki tedavisi için öncelikle lezyonun benzer görüntü verebilecek lezyonlardan ayırt edilmesi gerekir. Beyaz ağız lezyonları aşırı keratin, fibrin veya kandida enfeksiyonu nedeniyle beyaz renktedirler [20]. Ayırıcı tanıda hiperkeratoz, akantozis, aktinik şelitis, nikotin stomatiti, termal, kimyasal yanıklar, dudakların, yanakların ısırılması alışkanlığını içeren reaktif lezyonlar, skuamöz hücreli karsinoma ve verrüköz karsinoma gibi neoplazik lezyonlar, kandida enfeksiyonları, sifilitik müköz lezyonlar gibi enfeksiyonlar ve liken planus, lupus eritamatozus gibi immünolojik hastalıklar bulunur [5].

Tedavide öncelikle lezyona neden olabilecek kötü ağız hijyeni, sivri kenarlı protezler veya dental restorasyonlar gibi hazırlayıcı etkenler ortadan kaldırılmalıdır. Etkenlerin ortadan kaldırılması sonrası klinik görünüm kandida enfeksiyonu konusunda şüphe uyandırıyorsa antifungal tedavi uygulanıp, 2-4 haftalık bekleme süresi sonunda biyopsi yapılabilir. Biyopsi örneğinin histopatolojik tanısına göre tedavi yönlendirilir. Eğer lezyon premalign veya malign değil ise hiperplaziye neden olan lokal faktörleri ortadan kaldırmak yeterli olabilir [5]. Eğer lezyonda orta derecede veya şiddetli displazi mevcutsa lezyonun tamamı 5 mm cerrahi sınır ile eksize edilmelidir [5, 18]. Şiddetli displazi ve karsinoma in situ vakalarında eksizyon derinliği submukozaya kadar uzanmalıdır. Böylece invazyon olasılığı en aza indirilmiş olup, tedavi prognozu önemli ölçüde iyileştirilmiş olur [20].

Lazer ve kriyoterapi uygulamaları da kullanılan diğer tedavi yöntemleri arasındadır. Kriyoterapi kolay uygulanan bir tedavi seçeneği olmakla birlikte dondurma etkisinin lezyonun ne kadar derinine indiği tam olarak bilinmemektedir. Karbondioksit (CO₂) lazer de tedavi için etkili bir seçenektir [5]. Roodenburg ve arkadaşları yaptıkları çalışmada oral lökoplaki tespit edilen 70 hastayı CO₂ lazer kullanarak tedavi etmişlerdir. Ortalama 5.3 yıllık takip süresi (en fazla 12 yıl) sonrası hastaların %90'ında rekürrens gözlenmemiştir. Ayrıca hastaların hiçbirinde malign dönüşüm izlenmemiştir [21]. Ishii ve ark.'nın yaptıkları

benzer çalışma da bu sonuçları destekler niteliktedir: 97 oral lökoplaki lezyonu lazer cerrahisi ile eksize edilmiştir ve rekürrens oranı yaklaşık %29 olarak bildirilmiştir. 97 lezyondan sadece 4 tanesinde malign dönüşüm izlenmiştir. Çalışmacılar oral lökoplakinin lazer cerrahisi ile tedavisinin sadece rekürrens ve malign dönüşümü azaltmakla kalmadığını, aynı zamanda postoperatif disfonksiyonu da azalttığı sonucuna varmışlardır [21, 22].

Eritroplaki terimi 1978'de DSÖ tarafından yapılan tanımlamaya göre; klinik veya patolojik olarak başka bir tanı kategorisine uymayan, oral mukozada görülen, parlak kırmızı renkli, kadifemsi plaklar olarak belirtilmektedir [4]. Görülme sıklığı coğrafyalara göre farklılık göstermekle birlikte yaklaşık %0.02 ile %0.83 arasında değişmektedir [23]. Ağız mukozasında eritroplaki asemptomatik, daha çok yaşlı ve çok sigara içen erkeklerde görülen bir lezyondur [5]. Lökoplaki kadar sık görülmemesine karşın, eritroplaki en yüksek malign dönüşüm riski taşıyan premalign lezyondur [23]. Klinik olarak düz veya komşu mukozadan basık olabilir. Lezyon bölgesindeki epitel çoğu zaman atrofiktir ve bölgede keratin eksikliği gözlenir. Lezyonun kırmızı olmasının sebebi epitelin inceliğinden kaynaklanmaktadır. Tek olarak veya lökoplaki ile birlikte (eritrolökoplaki) görülebilir. Ağız boşluğunda daha çok ağız tabanında, yumuşak damakta, dilin yan kısmında ve tonsiller bölgede yerleşim gösterirler. Hastaların çoğunda lezyon ile ilgili semptom gözlenmezken, bazı hastalarda yanma ve/veya ağrı şikayeti olabilir [4]. Fazla alkol tüketimi ve tütün ürünleri kullanımı başlıca etiyolojik faktörlerdir [4, 24, 25]. Ayırıcı tanısında eritematöz kandidiyazis, erken dönem skuamöz hücreli karsinoma, lokal irritasyon, mukozitis, liken planus, lupus eritematozus, ilaç reaksiyonları ve *median rhomboid glossitis* bulunmaktadır [4, 26]. Lezyon fark edildikten sonra bilinen bir sebep veya irritasyon faktörü varsa ortadan kaldırılmalıdır. Etken ortadan kaldırıldıktan sonra epiteldeki iltihabi durumun ortadan kalkması ve epitelin yenilenmesi için 2 hafta beklenir. Genellikle kronik enflamasyon ve travmatik lezyonlar bu süre zarfında iyileşirler. 2 hafta sonunda düzelmeyen olgularda biyopsi yapılması gerekir [4, 5]. Biyopsi sonucu ciddi displazi veya karsinoma in situ *tespit edilen vakalar* en az 5 mm sağlam sınır ile eksize edilmelidir [18]. Lokal eksizyon sonrası tekrarlama riski olduğu için bu hastalarda sıkı takip çok önemlidir [5]. Yang ve ark. 84 hastaya eritroplaki teşhisi sonrası CO₂ lazer ile lokal eksizyon tedavisi

uygulamışlardır. Histopatolojik inceleme sonucu 84 biyopsi örneğinin 20'sinde hiperplazi, 26'sında hafif dereceli displazi, 20'sinde şiddetli displazi veya karsinoma in situ, 3 örnekte de karsinoma tespit edilmiştir. Ortalama 46 aylık takip süresi sonrası 84 vakadan 14'ünde (%16.7) rekürrens tespit edilmiş ve lezyon alanının 80 mm² ve üzerinde olmasının rekürrens riskini 5.1 kat arttırdığı belirtilmiştir [23].

Eritroplaki genellikle 3 farklı klinik görünümde karşımıza çıkar;

- Homojen eritroplaki: İyi sınırlı, geniş parlak kırmızı, kadifemsi lezyonlardır.
- Lökoplaki ile görülen eritroplaki: Eritemli sahalar düzensizdir. Homojen formdaki kadar parlak kırmızı değildir.
- Granüler veya benekli eritroplaki: Mukozadan kabarık granüler veya nodüler kırmızı yüzeylerin üzerinde küçük benekler halinde beyaz plaklar görülür. Benekli eritroplakinin malignite riski diğer tiplere oranla daha yüksektir [5].

2.2.1. Etiyolojik faktörler

Ağız mukozasında görülen prekanseröz ve kanseröz lezyonların oluşumunda etkin (karsinojen) ve yardımcı (kokarsinojen) faktörler 5 grup altında toplanabilir [7];

1. Fiziksel etkenler
2. Kimyasal etkenler
3. Canlı etkenler
4. Genetik faktörler
5. İmmünsüpresyon

Fiziksel Etkenler

- Güneş ışınları: Özellikle uzun süre güneş altında çalışan beyaz tenli insanlarda deri ve alt dudakta prekanseröz lezyon veya karsinomalara sık olarak rastlanmaktadır.
- Dişlerle ilgili etkenler: Kötü ağız bakımı, keskin kenarlı dişler, kötü uyumlu protezler gibi faktörler prekanseröz lezyon oluşumunda etkilidir.

- Yüksek Isı: Sigaranın yanan ucunun ağız içerisinde tutularak içilmesi özellikle Güneydoğu Asya ülkelerinde görülen damak ve dil sırtı kanserlerinin en önemli nedenlerindendir. İran ve Afganistan'da sıkça sıcak çay tüketenlerde görülen özafagus kanserleri, yüksek ısının olumsuz etkisini gösteren bir başka örnektir [7].

Kimyasal Etkenler

- Tütün: Ağız, larinks ve akciğer kanserlerinin oluşumunda birincil faktörlerdendir. İçeriğindeki kimyasalların yanı sıra kullanımı sırasında ortaya çıkan ısı ağız mukozasında olumsuz etki göstermektedir.
- Alkol: Uzun süreli, yüksek oranlı alkol tüketimi ağız mukozasında karsinojen etki gösterebilir. Özellikle alkol tüketimi sırasında tütün kullanımı mukoza lezyonlarının oluşma riskini önemli ölçüde artırır.
- *Betel Nut*: Betel doğal bitkilerin yapraklarını ve/veya tohumlarını içeren bir karışımdır. Çiğnenen bitkinin posası ağız içinde, yanak ile alveol kreti arasındaki olukta tutularak emilir. Genellikle Uzak Doğu ve Güneydoğu Asya ülkelerinde (özellikle Hindistan ve Pakistan) yaygındır. Betel kullanımı orafaringeal kanser riskini artırır.
- Avitaminoz: A ve B vitaminlerinin eksikliğine bağlı olarak prekanseröz lezyon ve karsinoma oluşumu tanımlanmıştır. Özellikle A vitamini eksikliği sonrası görülen epitel atrofileri, prekanseröz ve kanseröz lezyonlar için risk faktörü olarak kabul edilmektedir.
- Esrar: Esrar kullananlarda lökoplaki ve eritroplaki oluşabilmektedir [7].

Canlı Etkenler

- Human Papilloma Virüs (HPV): Özellikle kadınlarda vulva, vajina ve servikte görülen papillamatöz oluşumların, displazilerin ve karsinomaların en önemli nedenlerinden biri olarak gösterilen HPV, ağız mukozasının benzer patolojilerinde de rol oynamaktadır. Özellikle HPV16 ve HPV18 ile enfekte insanlarda, ağız mukozası skuamöz hücreli karsinomalarına yakalanma riski 3 kat fazladır.
- Kandida enfeksiyonları: Prekanseröz lezyonlarda olaya eklenmiş olan *Candida albicans* displazik değişiklikleri ve kanserleşme olgusunu hızlandırabilir [7].

Genetik Faktörler

- Tanıya yönelik DNA ve kromozom çalışmaları, çoğu kanser türünde genetik bir alt yapının varlığını ortaya koymuştur [7].

İmmünsüpresyon

Bağışıklık sisteminin baskılanması bazı kanser türlerinin ve fırsatçı enfeksiyon hastalıklarının ortaya çıkmasında önemli rol oynar. Kanser etiolojisinde etkili olan immünsüpresyon ağız kanserleri açısından da önemlidir. Örneğin kemik iliği nakli için immünsüpresyon oluşturulan, *graft-versus-host* tablosu gelişen hastalarda çok genç yaşta olmalarına rağmen, dil, yanak, ve dudak yerleşimli eritroplakiler ile skuamöz hücreli karsinomalar gelişebilmektedir [7].

2.3. Oral Epitelyal Displazi

Dünya Sağlık Örgütü, displazi terimini epitelde yapısal bozulmaya eşlik eden hücresel atipi olarak açıklamıştır [27]. Oral epitelyal displazi (OED) mikroskopik bulgulara dayanan bir kavramdır. İncelenen materyallerdeki çok katlı yassı epiteldeki hücrelerin bir bölümünde görülen morfolojik değişikliklerin skuamöz hücreli karsinomaya dönüşme eğilimini açıklar. Epitel displazilerinin klinik açıdan kesin olarak belirgin nitelikleri yoktur. Kırmızı (eritroplaki) ve beyaz (lököplaki) renkli lezyonlara ya da bu renklerin birlikte bulundukları lezyonlara dikkatle yaklaşılmalıdır [7]. Oral epitelyal displazilerin klinik açıdan önemi oral skuamöz hücreli karsinomaya dönüşebilme potansiyellerinden kaynaklanmaktadır [28]. Amagasa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; 444 lököplaki olgusunun 210'unda oral epitelyal displazi varlığı saptanmış olup, bu sayı tüm vakaların %47.3'üne denk gelmektedir [18].

Oral epitelyal displazi tanısı histolojik incelemeler sonrası konulabilmektedir. Normal görünümdeki hücreler arasında yer yer atipik hücrelerin varlığı, bazal tabaka hücrelerinde sayı artışı (hiperplazi), epitel hücrelerinde olgunlaşma ve tabakalaşma bozuklukları, hiperkromatik çekirdekli hücrelerin bulunması, serpilmiş ve garip mitozların saptanması gibi bulgular çok katlı yassı epitelde görülen displazik değişikliklerin temel bulgularıdır [7, 28].

Oral epitelyal displazi hafif, orta, veya şiddetli şeklinde derecelendirilebilir. Derecelendirme yapılırken olabildiğince çok sayıda kesit incelenir ve tanıda displazinin en ileri derecesi kullanılır. Ancak, epitel displazilerinin derecelendirilmesi çok somut bulgulara dayanmadığından, doku kesitlerini inceleyen değişik patologlar tarafından farklı tanımlar konulabilir. Önemli olan, olası şiddetli displazi alanlarını ve karsinoma in situ bulgularını gözden kaçırmamaktır [7, 28].

Oral epitelyal displazi tanısı koyabilmek için 1997 yılında Pindborg ve arkadaşları değerlendirme ölçütleri belirlemişlerdir [17] (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Oral epitelyal displazide mikroskopik tanı ölçütleri [7, 17]

- Su damlası biçiminde papilmatöz alan
- Çekirdeklerde hiperkromatik boyanma
- Çekirdek pleomorfizmi
- Sitoplazma/ çekirdek oranında bozulma
- Mitoz sayısında artış
- Hücre katmanlarında bozulma
- Diskeratoz
- Diferansiyasyon bozuklukları
- Hücreler arası bağlantıların bozulması

Oral epitelyal displazilerin tanısında uygulanacak ölçütleri gözden geçiren DSÖ çalışanları, 2005 yılında mikroskopik değerlendirme çalışmalarının kapsamını daha da genişletmişlerdir [27] (Çizelge 2.2, 2.3).

Çizelge 2.2. Oral epitelyal displazinin mikroskopik tanı ölçütleri, hücresel değişiklikler [7, 27]

Hücresel değişiklikler
• Çekirdeklerde büyüklük farkı • Hücrelerde büyüklük farkı • Çekirdek/sitoplazma oranında artış • Büyük hücreler/ büyük çekirdekler • Hiperkromatik çekirdek/ pleomorfik çekirdek • Mitoz sayısında artış/ garip mitozlar • Nükleolus sayısında artış

Çizelge 2.3. Oral epitelyal displazinin mikroskopik tanı ölçütleri, dokulara özgü değişiklikler [7, 27]

Dokulara özgü değişiklikler
• Epitelde tabakalaşma bozukluğu • Bazal ve spinal hücrelerde olgunlaşma bozukluğu • Diskeratoz • Hücresel yoğunlukta artış • Bazal hücre hiperplazisi • Geniş tabanlı epitel papillaları (su damlası) • Epitel papillalarında dallanmalar

Oral epitelyal displazinin doğru bir biçimde sınıflandırılması, tedavi seçenekleri, uzun dönem takip ve bu konuda yapılan çalışmalar arasında değerlendirme yapılabilmesi açısından önem taşır. Son birkaç dekatta OED değerlendirilmesi için yaklaşık 20 değişik sınıflandırma sistemi önerilmiştir [29]. Bu sınıflandırmalar arasında en çok kabul görenler: DSÖ sınıflandırması, skuamöz intraepitelyal neoplazi (SIN) sınıflandırması ve Ljubljana (skuamöz intraepitelyal lezyon- SIL) sınıflandırmasıdır [27] (Çizelge 2.4). Literatürde [27,

28, 30-33] en sık DSÖ sınıflandırması kullanılması nedeniyle bizim çalışmamızda da DSÖ sınıflandırması kullanılmıştır.

DSÖ sınıflandırmasında displaziler hafif, orta ve şiddetli olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Hafif dereceli displazilerde genel yapı bozukluğu alt üçte bir epitel ile sınırlıdır ve bu duruma sitolojik atipi eşlik eder. Orta dereceli displazilerde genel yapı bozukluğu epitelin orta üçlüsüne kadar uzanmıştır. Şiddetli displazi derecelendirmesinde ise epitel tabakasının üçte ikisinden çoğunda yapısal bozukluk görülür ve bu duruma sitolojik atipi eşlik eder [27].

Çizelge 2.4. Oral epitelyal displazi sınıflandırmaları [27]

2005 DSÖ Sınıflandırması	SIN Sınıflandırması	Ljubljana Sınıflandırması
Skvamöz hücre hiperplazisi		Skvamöz hücre hiperplazisi
Hafif derece displazi	SIN 1	Bazal/parabazal hücre hiperplazisi
Orta derece displazi	SIN 2	Atipik hiperplazi*
Şiddetli displazi	SIN 3**	Atipik hiperplazi*
Karsinoma in situ	SIN 3**	Karsinoma in situ

* Orta ve şiddetli displazinin derecelendirmesi birbirine benzer olarak sınıflandırılmıştır.

** SIN sistemi şiddetli displazi ve karsinoma in situ derecelerini birleştirmiştir.

Çok katlı yassı epitelde görülen displastik değişikliklerin son aşamasına karsinoma in situ adı verilmektedir. CIS lezyonunun bulunduğu alandaki epitel dokusunun tüm katmaları atipik hücrelerden oluşur, çok sayıda mitoz vardır. Ancak, bazal membran bütünlüğünü koruduğu için bağ dokusuna invazyon görülmez. Bu özellikleri nedeniyle “intraepitelyal karsinom” veya “preinvazif karsinom” olarak da adlandırılır. Karsinoma in situ olgularında epitel bazal membranının aşılması invazyonun başladığını gösterir; bu tip olgulara “invazif karsinom” tanımlaması yapılır [7].

Ho ve ark. 2012 yılında yayınladıkları klinik çalışmada, oral epitelyal displazinin malign dönüşüm göstermesinde etkili olan risk faktörlerini değerlendirmişlerdir. Oral epitelyal displazi tespit edilen 91 hasta çalışmaya dahil edilmiş ve ortalama 48 ay süreyle takip edilmiştir. Takip sonucu 23 hastada oral skuamöz hücreli karsinomaya dönüşüm tespit edilmiştir. Yapılan detaylı inceleme sonucu malign dönüşüm için risk faktörleri; sigara içmeyen oral epitelyal displazi hastası olmak, nonhomojen lezyonlara sahip olmak ve lezyon boyutunun 200mm²'den büyük olması olarak bildirilmiştir [28].

Aynı çalışmacılar bu çalışmanın devamı niteliğinde olan, oral epitelyal displaziden kaynaklanan oral skuamöz hücreli karsinomların tedavi sonuçları ile ilgili başka bir çalışma daha yayınlamışlardır. Bu çalışmada 23 oral skuamöz hücreli karsinom hastası opere edilmiş ve ortalama 24 aylık takip sonuçlarında hastalığa bağlı sağ kalım oranı %100, genel sağ kalım oranı %96 olarak bildirilmiştir. Tüm hastalar T1N0M0 evresinde opere edilmiştir. Hastalığın başlangıç aşamasında yakalanması başarı oranını artırırken, oral epitelyal displazinin dikkatli takibinin önemi vurgulanmıştır [30].

Yapılan başka çalışmalarda OED'nin malign transformasyon riskini arttıran diğer faktörler; lezyonun uzun süre tedavi edilmemesi, lezyonun dil veya ağız tabanında yerleşim göstermesi, idiyopatik lökoplakiler (özellikle nonhomojen tip), yüksek dereceli displaziler, verrüköz tip lezyonlar ve çoklu lezyonlar olarak sınıflandırılmaktadır [28, 31-36]. Ayrıca kadınlarda riskin daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [31].

Epitel displazileri ve CIS, eritroplakilerde ve nonhomojen lökoplakilerde daha sık görülen mikroskopik bulgulardır. Hafif ve orta dereceli epitel displazilerinde regresyon olabilmektedir. İleri dereceli epitel displazilerinin ve CIS olgularının invaziv karsinomaya dönüşme olasılığı oldukça yüksektir (Çizelge 2.5). İleri dereceli displazik değişiklikler ile CIS ve CIS ile invazif karsinoma arasındaki ayırıcı tanı oldukça önemlidir [7].

Çizelge 2.5. Prekanseröz lezyonlar: Kanserleşme ve lokalizasyon [7]

Prekanseröz lezyonların kanserleşme yönünde gösterdiği klinik değişiklikler	Kanserleşme riskinin yüksek olduğu lokalizasyonlar
• Kırmızı renkli alanların belirmesi/artması • Lezyonlar üzerinde nodüler yapılar oluşması • Ülserleşmenin oluşması, lezyonların büyümesi	• Dil (özellikle arka kenarları) • Ağız tabanı • Retromolar bölge • Orofarinks

Epitel displazileri ve karsinoma in situ alanlarına komşu bağ dokusundaki yangısal tepki, intraepitelyal olaylar ile bağışıklık sistemi arasında bir iletişimin başladığını gösterir. Örneğin, CIS olgularında *lamina propria*'da çok sayıda *Russell* cisimcikleri görülebilir [7].

Epitel displazilerinin ayırıcı tanısındaki en önemli zorluk hafif ve orta derecelerdeki displazilere bazı iyi huylu lezyonlarda da rastlanmasıdır; protez irritasyonlarına bağlı epitel hiperplazilerinde, liken planusta ve skuamöz hücreli papillomalarda klinikopatolojik açıdan önemsiz displaziler görülebilir. Demir eksikliği anemisi ve kandida enfeksiyonları, oral epitelyal displazinin gelişimini hızlandırır[7].

OED tedavisine yönelik uygulamalardaki en önemli ilke etiyolojik faktörlerin ortadan kaldırılmasıdır[7]. Sadece hiperkeratoz şeklinde kendini gösteren lezyonlarda devamlı takip ve neden olan etkenlerin ortadan kaldırılması yeterli olmaktadır. Sadece hafif dereceli displazi gösteren lezyonların geri dönüşümlü olduğu düşünülmektedir. Bu lezyonlar hazırlayıcı etkenler 2 haftalık süre sonunda epitelin yenilenme döngüsü bittiğinde çoğunlukla kendiliğinden geçmektedirler. Hafif dereceli displazilerin tedavisinde izotretinoin ve β -karoten gibi ajanların da olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir [20].

Orta dereceden karsinoma in situ'ya kadar derecelendirilen lezyonlarda 5 mm sağlam sınırlı cerrahi eksizyon önerilmektedir. Eksizyon derinliğinin submukozaya kadar uzanması,

invazyon oluşmadan lezyonun tamamen çıkarılması tedavi başarısını arttırmaktadır [18, 20].

Hastaların tedavi sonrası ilk 2 yıl içinde 4 ayda bir kontrolü önerilmektedir. Bu süre zarfında lezyon bölgesinde herhangi bir değişiklik gözlenmez ise takip süresi 6 aya kadar çıkarılabilir [20].

2.4. Hiperplazi

Çok hücreli canlılara yönelik farklı etkiler hiperplazi, hipertrofi, atrofi, displazi gibi değişik nitelikler içeren adaptasyon mekanizmalarının uyarılmasına yol açar. Hiperplazi organ ya da dokuda hücre sayısında artışı ifade eder [7, 37].

Hiperplazi fizyolojik ya da patolojik nedenlere bağlı olarak gelişebilir [37]. İnsanlarda görülen hiperplazilerin büyük bölümü hormonların etkisiyle ortaya çıkar; bunu kronik irritasyonlar ve canlı etkenler gibi faktörler izler. Bazı hiperplazilerin nedeni ise bilinmemektedir[7].

Sindirim kanalının başlangıç bölümünü oluşturan ağız mukozası hormonal, fiziksel ve kimyasal uyarılar ile çeşitli mikroorganizmaların etkisi altındadır. Hiperplazi ağız boşluğunda görülen en yaygın adaptasyon türüdür. Yumuşak dokudaki hücre proliferasyonları saf epitelyal ya da mezenkimal kökenli olabileceği gibi her iki doku türünü de ilgilendirebilir [7].

2.5. Hiperkeratoz

Hiperkeratoz keratin tabakasının hiperplazisi olarak tanımlanır. Genellikle keratinin kalitatif olarak anormalliği bu duruma eşlik eder [37]. Ağız mukozası kronik irritasyona maruz kaldığı zaman bu duruma çoğu zaman hiperkeratoz ile yanıt verir. Kronik irritasyonların yoğun olduğu dil kenarları, dudak ve yanak mukozası ile dişsiz hastalarda alveol kretlerde görülme sıklığı diğer bölgelere oranla daha sıktır. Bu bölgelerden yapılan

biyopsi örneklerinin mikroskopik incelemesinde, düzenli bir epitel sırasının üzerinde güçlü hiperkeratoz bulunur. Ayrıca *lamina propria*'da az sayıda lenfosit varlığı gözlenebilir [7].

2.6. Neoplazi

Neoplazinin kelime anlamı “yeni büyüme”dir. Willis, neoplaziyi “normal dokuyu aşan ve onunla koordine olmayan, değişime yol açan, uyarı durduktan sonra bile aynı şekilde büyümeye devam eden anormal doku kitlesi” olarak tanımlar. Temel olarak bütün neoplazilerin kökeni, normal büyüme kontrollerine verilen cevabın kaybıdır [1, 37]. Neoplazik hücreler belirgin şekilde normal hücre büyümesini kontrol eden düzenleyici etkilere bağımsız olarak çoğalmaya devam etmektedir. Ayrıca neoplaziler parazitlere benzer şekilde davranarak metabolik ihtiyaçları için normal hücreler ile yarışır. Neoplaziler lokal çevreleri ve konakçının beslenme durumuna bakmaksızın az ya da çok büyüklüğünü arttırmaya çalışır [1, 37].

Genel tıp terminolojisinde neoplaziler sıklıkla tümör olarak ve tümör konusu da onkoloji (*onkos*, tümör ve *logos*, çalışma) olarak isimlendirilir. Aslında tümör dokuda ödem, kanama veya diğer nedenlerle oluşan şişlik anlamındadır. Bir tümör mikroskopik ve makroskopik özellikleri ile nispeten sessiz kabul edildiğinde, yani lokalize kalacağı, komşu veya uzak bölgelere yayılmayacağı ve bu nedenle lokal cerrahi eksizyon ile hastanın sağ kalacağı düşünülürse, benign olduğu söylenir [37].

Malign tümör terimi ise komşu yapılara invaze olup onların yıkımına yol açan ve uzak bölgelere yayılım göstererek (metastaz) ölüme yol açabilen tümöral yapıyı ifade eder. Malign tümörler topluca “kanser” olarak adlandırılır. Latince yengeç kelimesinden gelen kanser, vücudun herhangi bir bölümüne yengeç gibi inatçı şekilde yapışmayı tanımlamak için kullanılmıştır. Bütün kanserler ölümle sonuçlanmasa da dikkatli şekilde tedavi ve takip gerektirdiği açıktır [1, 37].

2.6.1. Reaktif oksijen ürünlerinin biyolojik sistemler üzerine etkileri

Serbest radikaller, daha genel adıyla reaktif oksijen ürünleri (Reactive oxygen species-ROS) dış yörüngelerinde çiftleşmemiş tek bir elektron bulunan kimyasal türevlerdir. Serbest radikallerin kimyasal durumları son derece değişken olup, kolayca inorganik veya organik kimyasallar ile reaksiyona girebilirler. Hücrelerde olduğu zaman özellikle nükleik asitler ve bunların yanı sıra çeşitli membran molekülleri ile etkileşime girerek onların parçalanmasına neden olurlar. Buna ek olarak serbest radikaller kolayca otokatalitik reaksiyon başlatırlar. Serbest radikaller ile reaksiyona giren moleküller zamanla serbest radikallere dönüşerek zincirleme reaksiyona neden olur ve hasar zincirini ileterek yayarlar [37].

Serbest radikaller hücre içerisinde üç şekilde oluşabilirler [37];

1. Radyant enerjinin absorpsiyonu ile (ultraviyole ışığı, x-ışınları gibi). Örneğin; iyonize radyasyon, suyu hidroksil (OH^+) ve hidrojen (H^-) serbest radikallerine hidrolize edebilir.
2. Normal fizyolojik olaylar sırasında oluşan redüksiyon-oksidasyon (redoks) reaksiyonlarında, örneğin normal solunum süresince moleküler oksijen su oluşturmak için dört elektronun ilavesiyle birbiri ardına indirgenir. Bu olayda az miktarda toksik ara türev meydana gelir. Bunlar süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve OH^{+} kapsar.
3. Ekzojen kimyasallar maddelerin enzimatik metabolizmaları ile oluşabilirler.

Canlı hücreler sürekli olarak endojen ya da ekzojen kaynaklardan çeşitli reaktif oksijen türevlerine maruz kalmaktadırlar. Bu serbest radikaller yüksek oranda reaktiftir ve hücrelere zarar verme potansiyelindedir [38]. ROS'un organizma içerisinde çok fazla miktarda üretilmesi kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar ile erken yaşlanma gibi pek çok dejeneratif süreçte önemli rol oynamaktadır [38-42].

Yüksek derecede reaktif olan serbest radikaller, organizmalarda hücre membranındaki lipid, protein ve karbonhidratlar gibi hayati önemi olan moleküllerden ve bu moleküllerin

teşkil ettiği organellerden elektron alabilmektedirler [43, 44]. Hücre içinde veya dışında oluşan bir radikal molekül kendi elektron eksikliğini tamamlamaya çalışırken elektronunu radikale kaptıran molekül veya organel de, kaybettiği elektronu karşılamak için, kendisi bir radikal gibi davranma eğilimine girmekte ve böylece hücrede radikaller tarafından yönlendirilen zincirleme bir reaksiyon serisi başlamaktadır [45].

Eğer ROS oluşumu biyolojik sistemlerin antioksidan kapasitesini aşarsa oksidatif stres oluşmaktadır. ROS'lar aerobik organizmaların elektron taşıma zinciri ve aktif fagositoz gibi metabolik yollarında devamlı olarak oluşmakta ve DNA, protein ve lipid gibi makromolekülleri etkileyerek oksidatif hasara neden olmaktadır [46]. Bazı kanser türleri, oksijen merkezli serbest radikallerden ve diğer reaktif oksijen türevlerinden kaynaklanmaktadır. Çünkü bu tür serbest radikallerin normalden fazla sentezlenmesi, biyomoleküllerde (lipitler, proteinler ve DNA) oksidatif hasara neden olmaktadır. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde 103 kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür [40].

Normal olarak ROS'lar spesifik enzim sistemleri (süperoksit dismutaz ve katalaz) ile suda ve lipitte çözünebilen bazı protein yapısında olmayan bileşikler (ürik asit ve tokoferol) tarafından engellenmektedirler [46]. Ancak organizma içerisinde endojen veya ekzojen kaynaklar tarafından çok fazla miktarda üretildiklerinde antioksidan özelliği bulunan ürünlere ihtiyaç duyulabilmektedir. Bu ürünler çoğunlukla bitkisel kaynaklıdır. Ankaferd de içeriğindeki bitki ekstraktlarının yüksek antioksidan özelliği yapılan araştırmalarla kanıtlanmış olan bitkisel bir karışımdır [38, 47, 48].

2.6.2. Kimyasal karsinojenler

Karsinogenezis mekanizmasının temelinde genetik hasar bulunmaktadır. Bu hasara yol açan karsinojenik ajanlar üç grupta toplanabilir. Bunlar; kimyasal karsinojenler, radyasyon enerjisi ve onkojenik virüslerdir. Kimyasal karsinojenlerin tarihçesine bakıldığında İngiliz cerrah, Sir Pervical Pott'un kronik kuruma maruz kalan baca temizleyicilerinin deri kanseri olduğunu bildirmesinin üzerinden 200 yıla yakın bir sürenin geçtiği görülür. O zamandan

günümüze dek pek çok karsinojen madde araştırılması yapılmış olup, yüzlerce kimyasal maddenin karsinojen özelliklerinin olduğu gösterilmiştir [37].

Kimyasal karsinojenlerin incelenmesi sonucu aşağıdaki gözlemler elde edilmiştir [37];

1. Oldukça farklı yapıda oldukları, hem doğal hem sentetik ürünler içerebildikleri tespit edilmiştir.
2. Bazı ajanlar doğrudan reaksiyona girerler ve karsinojenik etki için kimyasal değişime gerek duymazlar. Ancak çoğu indirekt reaksiyona girer ve sadece metabolik dönüşümden sonra aktifleşirler. Bu çalışmada kullanılan 7,12-dimetilbenz[a]antrasen de bu tür karsinojenlere örnek teşkil etmektedir. Böyle ürünlere “prokarsinojen” denir ve aktif son ürünleri, “nihai karsinojen” adını alır.
3. Hem doğrudan reaksiyona giren, hem de nihai karsinojen olan tüm kimyasal karsinojenler oldukça reaktif elektrofillerdir. Bu özellikleri nedeniyle RNA, hücre protein ve özellikle DNA’daki elektrondan zengin atomlarla reaksiyona girerler.
4. Bazı kimyasal maddelerin karsinojen özelliği, tek başlarına çok az aktivite gösteren veya hiç aktivite göstermeyen ajanlarla güçlendirilebilir. Böyle güçlendirici ajanlara “*promoter* (yönlendirici)” adı verilir. Ancak karsinojenlerin büyük bir kısmı yönlendiricilere ihtiyaç duymaz.
5. Çok sayıda kimyasal karsinojen neoplazi oluşturmak için birlikte etki gösterir veya virüs, radyasyon gibi diğer karsinojen tiplerinin etkilerine ihtiyaç duyarlar.

Kimyasal maddelerin karsinojenik-mutajenik etkilerinin incelenmesi amacıyla çeşitli test yöntemleri geliştirilmiştir. Bu testlerden biri de Ames testidir. 1972’de Dr. Bruce Ames tarafından geliştirilmiş olan ve kimyasal maddelerin mutajenik etkilerini belirlemek amacıyla tarama testi olarak uygulanan Ames testi, çok yaygın ve güvenilir bir kısa zamanlı bakteriyel test sistemi olarak kullanılmaktadır [49]. Bu test, özellikle ilaç ham maddesi olarak kullanılmak istenen test maddelerinin toksik, mutajenik-karsinojenik etkilerini incelemek için güvenilir yöntemler arasında kabul edilmektedir[50].

7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA)

DMBA immünsüpresör bir ajan olup bölge ve organ-spesifik karsinojen olarak 1950'li yıllardan beri kanser çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır [9, 10]. DMBA ile yapılan çalışmalar, oral karsinogenezde görülen kanser ve prekanseröz lezyonların anlaşılmasında önemli katkı sağlamıştır. DMBA bukkal mukozada [1, 51-55] oral skuamöz hücreli karsinom oluşturmaları, cilt [56] ve meme [57] dokusunda karsinogenezisi indüklemesi sebebiyle tıp literatüründe geniş bir kullanım alanı bulmaktadır.

DMBA sarı renkli toz formunda, katı kimyasal bir bileşiktir. Ağız içi uygulama için likit forma çevrilmesi gerekmektedir. Bu amaçla likit parafin çalışmalarda sıklıkla kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Oral lezyonların oluşturulması için çoğunlukla likit parafinde çözölmüş %0.5'lik DMBA fırça yardımıyla bukkal mukozaya uygulanır. Oral lezyonların oluşması için 14 hafta boyunca, haftada 3 kere uygulama yapılması gerekmektedir [51].

DMBA'nın karsinogenik etkisi hedef organda DNA formasyonunda değişiklik, kronik enflamasyonun indüklenmesi, reaktif oksijen ürünlerinin fazla üretimi ve oksidatif DNA hasarı oluşturmaları sonucu oluşur. Oral karsinogenezis 3 ayrı safhada ilerler. Bunlar; başlama, gelişme ve ilerleme safhalarıdır [1]. ROS karsinogenezisin ilk 2 safhasında rol oynar [57]. ROS'un artışına bağlı olarak lipid peroksidasyonunda da artış olur. Serbest radikaller aracılığı ile gerçekleşen zincirleme bir reaksiyon olan lipid peroksidasyonu, yağların özellikle de çoklu doymamış yağ asitlerinin bozulmasına yol açmaktadır. Fizyolojik konsantrasyonda lipid peroksitleri hücre bölünmesinin kontrolünde önemli rol oynar. Lipid peroksidasyonu ile hücre çoğalması oranı arasında ters orantı bulunmaktadır. ROS'un fazla üretimi sonucu lipid peroksidasyonunun artışı DNA, protein ve yağların oksidatif hasarı ile sonuçlanmaktadır [11].

DMBA metabolik aktivasyon sonucu esas karsinojen madde olan dihidrodiol epokside dönüşür. Metabolik aktivasyon sonucu oluşan dihidrodiol epoksit ve diğer toksik reaktif oksijen ürünleri DNA'nın adenin rezidülerine bağlanarak mutageniz ve karsinogenez yol açarlar [57].

En önemli tümör baskılayıcı genlerden biri olan p53, hücre siklusunun düzenlenmesinde, apoptozis mekanizmasında, DNA tamirinde, hücre diferensiyasyonunda ve DNA rekombinasyonunda rol oynamaktadır. Baskaran ve arkadaşları ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, DMBA kullanarak oluşturdukları meme kanseri modellerinde p53 geninin mutasyona uğradığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmacılar kontrollü hücre ölümünü durdurarak tümörögenezise yardımcı olan bcl-2 onkojeninin, DMBA ile oluşturulan kanser modellerinde çok fazla miktarda bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu etkilerin sonucu olarak anormal hücre çoğalması ve kontrollü hücre ölümünün engellendiği tespit edilmiştir [57].

Hayvan çalışmalarında DMBA'nın çok sık kullanılmasının nedeni, DMBA ile oluşturulan bukkal mukoza tümörlerinin, insan ağız boşluğunda oluşan tümörlere morfolojik, histolojik, biyokimyasal olarak ve moleküler seviyede oldukça benzemesidir. Ayrıca, DMBA ile oluşturulan patolojik lezyonlar ve yapısal değişiklikler insan ağızında görülen prekanseröz ve kanser lezyonlarına ileri derecede benzerlik göstermektedir [11].

2.7. Ankaferd Kanama Durdurucu (*Ankaferd Blood Stopper* - ABS)

Ankaferd kanama durdurucu, hemostaz düzenleyicisi olarak fonksiyon gören, vücut dışı yaralanmalar, travmatik kesikler, diş operasyonları, spontan ya da cerrahi girişimler sonrası oluşan minör ve majör kanamaların kontrolünde kullanılan ve uygulamayı takiben süratle, hemostatik etki elde edilen, standart bitkisel içerikte, stabil ve steril tıbbi bir üründür. Sağlık Bakanlığı'ndan ruhsatlı ilk Türk kanama durdurucu ürünüdür [8, 58]. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü tarafından eksternal kanamaların kontrolünde kullanılmak üzere ara ürün olarak ruhsatlandırılmış ve Acil Servis ve 112 ilk yardım ambulanslarında rutin kullanımı başlamıştır [59].

Ankaferd isminin kökeni anka kuşu ile Osmanlıcada tek, eşi benzeri olmayan anlamına gelen ferd kelimesinin birleşiminden gelmektedir [59]. İçeriğinde çeşitli oranlarda, *Glycrrhiza glabra* L., *Vitis vinifera* L., *Alphina officinarum* Hance, *Urtica dioica* L. ve *Thymus vulgaris* L. bulunmaktadır. Bu bitkisel karışımın damar endoteli, kan hücreleri, angiogenez ve hücre proliferasyonu üzerine etkileri vardır [8]. Ankaferd bu bitkilerden alınan ekstrelerin standardize karışımından oluşmaktadır. 100 ml'lik ekstrede 7 g *G. glabra*, 8 g *V.*

vinifera, 7 g *A. officinarum* kurutulmuş yaprak ekstreleri, 5 g *T. vulgaris* kurutulmuş toprak üstü ekstresi ve 6 g *U. dioica* kurutulmuş kök ekstresi içerir. Buradaki her bir bitkinin etkisi farklıdır [8].

2.7.1. Ankaferd kanama durdurucunun içeriğindeki bitkiler ve özellikleri

Glycyrrhiza glabra L.

Bitkinin tıbbi olarak kullanılan kısımları soyulmamış kurutulmuş kök ve saçakları, soyulmuş kurutulmuş kök ve köklü rizomlarıdır. Bu bitkinin antianjiyojenik aktivite gösterdiği ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) oluşumunu azalttığı bildirilmiştir [60]. Meyan içerisinde bazı bileşiklerin metisiline dirençli ve duyarlı *Staphylococcus aureus* türleri üzerinde antibakteriyel etkileri olduğu, yapraklarının antifungal ve antibakteriyel etkili bileşikler içerdiği, köklerinden elde edilen ekstrenin antiprotozoal bir ilacın temel yapısını oluşturduğu bildirilmiştir [59, 61, 62]. Çeşitli araştırmalarda bu bitkinin antienflamatuvar, antitrombotik, antioksidan ve antiaterosklerotik etkileri gösterilmiştir [63, 64]. Ayrıca meyan kökünün, mineralokortikoid etki nedeniyle kan basıncını yükselttiği bildirilmiştir [65]. Chin ve ark. yaptıkları çalışmada *G. glabra*'dan elde edilen fenol bileşiklerinin güçlü antioksidan etki gösterdikleri ve fareler üzerinde yapılan deneyde tümör oluşumunu önlediği gösterilmişlerdir [47].

Thymus vulgaris L.

Taze çiçek, kurutulmuş yapraklar veya dilimlenmiş kuru yapraklardan elde edilen yağ tıbbi amaçla kullanılır. Antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiprotozoan özelliklere sahiptir [59]. Aterosklerozla ilişkili lipid peroksidasyonu gibi canlıdaki oksidatif hasarı azaltıcı antioksidan etki göstermektedir [66].

Vitis vinifera L.

Bitkinin tıbbi olarak kullanılan kısmı yapraklar, meyve ve meyvenin suyudur. Üzüm çekirdeği ekstresi bazı kanser hücrelerine karşı sitotoksikite gösterirken, intestinal adenom oluşumunu engelleyici olduğu da bildirilmiştir [59, 67]. *V. vinifera*'nın farklı moleküler mekanizmalar yardımıyla insan kanser hücrelerine karşı koruyucu etkilerinin bulunduğu, bununla beraber hayvan modellerinde tümör büyümesini engellediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [66, 68, 69]. Bu mekanizmalara örnek olarak; hücre döngüsünün düzenlenmesi sayesinde apoptozisin indüklenmesi, hücre proliferasyonunda etkili olan enzimlerin inhibisyonu ve anjiyogenezisin inhibisyonu gösterilebilir [48, 70, 71]. Bileşiğin güçlü antioksidan etkilerine bağlı olan antitümöral aktivitesi deneysel hayvan modelleri ve hücre kültürleri üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [72, 73]. Giovannelli ve ark. hücre kültürleri üzerinde yaptıkları çalışmada *V. vinifera*'nın kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği ve kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkiyi indüklediği belirtilmiştir. Aynı çalışmada *V. vinifera*'nın kanser hücreleri üzerine antitümöral etki gösterirken, normal hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermediği tespit edilmiştir [73]. Aghbali ve ark. yaptıkları çalışmada üzüm çekirdeği ekstresinin oral skuamöz hücreli karsinom tedavisi için potansiyel biyoaktif bileşikler içerdiğini bildirmişlerdir [74].

V. vinifera'nın güçlü antioksidan etkisi bulunmakta ve bu antioksidan özelliklerinin önemli bir kısmı içeriğindeki polifenollerden kaynaklanmaktadır. Stagos ve ark. yaptıkları çalışmada *V. vinifera*'nın içeriğindeki polifenoller sayesinde yüksek antioksidan etki gösterdiğini ve böylece serbest oksijen ürünleri nedeniyle oluşan DNA hasarını engellediğini göstermişlerdir [48].

Antioksidan antitümöral ve özelliklerine ek olarak üzüm çekirdeği ekstresinin karaciğer hücrelerinin apoptotik ve nekrotik hücre ölümünü ve DNA hasarını anlamlı olarak azalttığı ve bacaklardaki venöz problemler gibi semptomları azalttığı [59, 75]; ayrıca antiaterosklerotik etkiye sahip olduğu da bildirilmiştir [66].

Alpinia officinarum Hance.

Tıbbi olarak kullanılan kısmı rizomudur. Bitkinin antispazmodik ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Matsuda ve ark. yaptıkları çalışmada bitkinin lipopolisakkaritlerle (LPS) aktive edilmiş fare peritoneal makrofajında nitrik oksit (NO) üretimini inhibe ettiği saptanmıştır [76].

Urtica dioica L.

Tıbbi kısmı, taze, kurutulmuş, çiçek açmış bitki ve kökleridir. Isırgan yaprağı ekstresi osteoartrit, romatoid artrit ve gut ile ilişkili eklem ağrısında diklofenak ile sinerjik etki göstermektedir. Isırgan kökünün idrar hacminde artış, maksimum üriner akım artışı ve rezidüel idrar azalmasını sağladığı, sıvı kök ekstresinin benign prostat hiperplazisi tedavisinde etkili olduğu, antifungal ve antiviral etkiler gösterdiği tespit edilmiştir [59]. NO'nun serbest bırakılması, potasyum kanallarının açılması ve kasılma gücünün azalması sonucu meydana gelen vazodilatör etki aracılığıyla endotelial hipotansif etki oluşturabilmektedir [77].

2.7.2. Ankaferd kanama durdurucu'nun hemostatik etki mekanizması

ABS içeriğindeki bu bitkiler hiçbir pıhtılaşma faktörünün etkisini bozmadan doku oksijenasyonunu ve fizyolojik hemostatik süreci sağlamaktadır. Ankaferd'in etkisini, fibrinojen başta olmak üzere kan proteinleri ve eritrositlerin plazma ve serumda "protein ağı" meydana getirmesi suretiyle gösterdiği bildirilmektedir. Ankaferd kanama durdurucunun etkisi çok hızlı başlamakta, eritrosit ve kan proteinlerinin birleşmesiyle meydana gelen enkapsüle protein ağı formasyonu 1 saniyeden daha kısa bir sürede oluşmaktadır [58, 78].

ABS'nin hemostaz üzerine etki mekanizmasının pıhtılaşma faktörlerinden bağımsız olması sebebiyle, kanama diyatezi olan hastalarda da etkin olduğu gösterilmiştir. Pıhtılaşma

faktörleri ABS'den etkilenmese de, protein agregasyonu sayesinde anti-hemorajik süreç başlamaktadır [59]. ABS'nin temel hemostatik etki mekanizması, canlı eritrosit agregasyonu için en kapsüle protein ağı oluşumu sayesinde gerçekleşmektedir [79]. ABS kullanımını takiben plazma fibrinojen aktivitesinde ve fibrinojen miktarında azalma olduğu, buna bağlı olarak trombin zamanının uzadığı bildirilmektedir. Ayrıca bu tıkaç etkisi gösteren protein ağı oluşumu sırasında plazmada; total protein, globulin ve albumin seviyelerinin de anlamlı ölçüde düştüğü görülmüştür. Bu yüzden, ABS, fibrinojen-eritrosit aglütinasyon ilişkisini etkilemekte ve sonuçta eritrosit agregasyonunu stimüle eden bir protein ağı oluşturmaktadır [58, 78].

2.7.3. Ankaferd kanama durdurucu'nun güvenilirliği ve yan etkileri

ABS, sterilitesi ve biyouyumluluğunu belirten güvenilirlik ve etkinlik raporlarına dayanarak eksternal hemoraji kontrolünde ve dental kanamalarda topikal kullanımı resmi olarak Türkiye'de onaylandığından beri tedavi protokolüne alınmıştır [58, 80]. Ankaferd'in topikal hemostatik etkinliği hayvanlar üzerinde normal ve defektif hemostaz modellerinde denenmiştir. Birçok klinikopatolojik durumda, kanamayı önlemek veya kontrol etmek amacıyla topikal ABS uygulanmış ve kanama klinik olarak kontrol altına alınabilmektedir [79, 81]. Solüsyon formundaki birçok hemostatik ajanın kolayca çekim soketindeki sinir demetlerine rahatça temas etmesine rağmen ABS'nin nöral dokularla etkileşimi çok az bilinmektedir [82].

ABS'nin deneysel veya klinik topikal uygulamalarında ne lokal ne de sistemik olarak herhangi bir yan etki ve/veya toksisiteye rastlanmamıştır. ABS'nin neoplazik ve enfeksiyöz hastalıklar, erken yaşlanma, ateroskleroz ve diyabet gibi birçok patolojik durumdaki potansiyel rolüne karar verebilmek için ileri çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır [79, 81].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 10.12.2012 tarih ve B.30.2.GÜN.0.05.06.00/165-24522 sayılı izni alınarak başlanmıştır. Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne Doktora tez projesi olarak sunulmuş ve onay alınmıştır (02/2013-01).

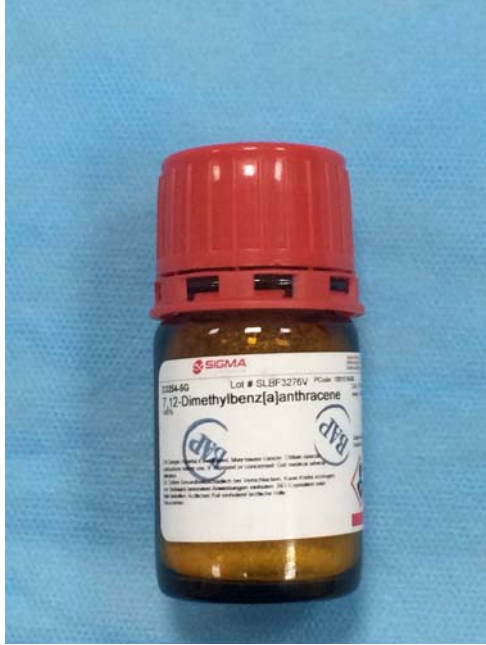
Test materyallerinin deney hayvanlarına uygulanması Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Deney Hayvanları Bakım ve Araştırma Ünitesinde, histopatolojik incelemeler ise Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.1. Deney Grupları

Çalışmada ortalama 200-250 gram ağırlığında, 3-4 haftalık, 36 adet, Sprague Dawley cinsi erişkin, erkek rat kullanılmıştır. Deney hayvanları, Kobay Deney Hayvanları Anonim Şirketinden temin edilmiştir. Çalışma süresince bakımları Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Bakım ve Araştırma Ünitesi'nde yapılmıştır. Çalışma ortamına alışmaları açısından hayvanlar 1 hafta süreyle herhangi bir işleme tabi tutulmadan bekletilmişlerdir. Bütün deney hayvanlarının bakımları aynı oda içerisinde, her kafese 3 adet rat yerleştirilerek yapılmıştır. Ratlar polikarbonattan yapılmış kafeslerde, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde, 21-24 °C'de, %40-45 oranında nemli odada tutulmuşlardır. Çalışma süresince ratlar, standart kuru pelet yem ve su ile beslenmiştir.

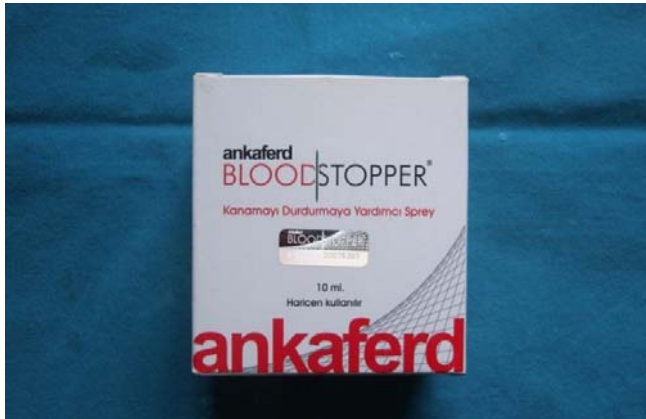
3.2. Kullanılan Malzemeler

Bu çalışmada ağız içi patoloji oluşturma amacı ile DMBA (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, USA) kullanılmıştır (Resim 1). Daha önce yapılan benzer hayvan çalışmaları baz alınarak DMBA %0.5 oranında likit parafin ile seyreltilmiştir. DMBA 4°C sıcaklıkta, ışık görmeyen raflarda saklanmıştır. Her uygulama öncesi DMBA karışımı taze olarak hazırlanmıştır.



Resim 3.1. 7, 12-dimetilbenz[a]antrasen

Deney hayvanlarında oluşturulan oral patolojilerin tedavisi amacıyla Ankaferd (Ankaferd İlaç Kozmetik A.Ş, İstanbul, Türkiye) (Resim 3.2) uygulanmıştır.



Resim 3.2. Ankaferd kanama durdurucu

3.3. Deneysel Çalışma Grupları

1 haftalık alışma süresinin sonunda ratlar rastgele seçilerek, her grupta 10 adet rat olacak şekilde 3 deney grubuna ayrılmıştır. Kontrol grubunda 6 adet rat bulunmaktadır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Deney ve kontrol grubundaki hayvan sayısı ve yapılan uygulamalar

	Hayvan Sayısı	Uygulama
Grup A	10	Ankaferd
Grup B	10	Ankaferd + DMBA
Grup C	10	DMBA
Grup D	6	Kontrol

Deney grubunda toplam 30 adet rat bulunmaktadır. Ratlar rastgele seçilerek 10 hayvandan oluşan, 3 eşit gruba ayrılmışlardır. Birinci gruptaki hayvanlara gün aşırı olacak şekilde haftada 3 kere DMBA uygulanmıştır. İkinci gruptaki hayvanlara haftada 3 kere, gün aşırı DMBA uygulanırken, DMBA uygulamasının ertesi günü Ankaferd kanama durdurucu uygulaması yapılmıştır. Böylece hayvanlara haftada 3 gün Ankaferd, 3 gün DMBA uygulanmıştır. Üçüncü gruptaki hayvanlara ise gün aşırı olacak şekilde haftada 3 kere sadece Ankaferd kanama durdurucu uygulanmıştır. Toplam çalışma süresi 14 hafta olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubundaki 6 adet hayvana herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Hayvanlar her kafeste 3 hayvan olacak şekilde kuru pelet yem ve su ile 14 hafta boyunca beslenmişlerdir.

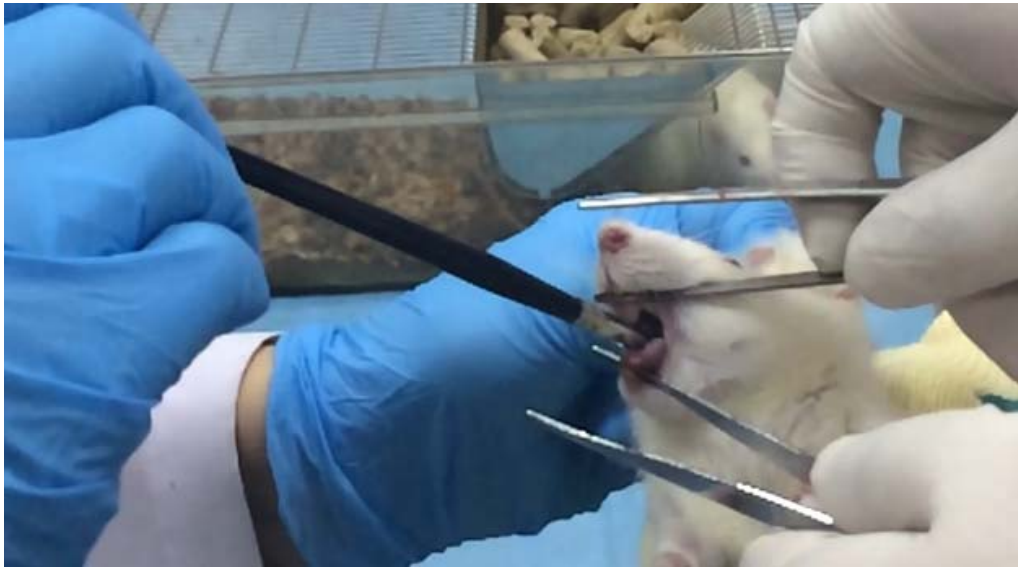
3.4. DMBA ve Ankaferd Kanama Durdurucunun Uygulanması

Uygulamalar sırasında deneklere herhangi bir anestezi yapılmamıştır. Alışma süresinin sonunda hayvanların sağ yanak içi mukozalarına uygulama yapmak amacı ile 2 adet metal ekartör kullanılarak ratların ağzı açılmıştır. DMBA likit parafin kullanılarak seyreltilmiş ve %0.5'lik DMBA çözeltisi elde edilmiştir. Her uygulamada 0.4 mg DMBA çözeltisi 4 numara fırça kullanılarak hayvanların sağ yanaklarına sürülmüştür [52, 83, 84] (Resim 3.3).

DMBA grubu ile aynı şekilde ratlara Ankaferd kanama durdurucu, her bir püskürtmesi sonucu 0.2 cc olacak şekilde sprey ile püskürtülerek uygulanmıştır (Resim 3.4). Her uygulama gününde, her bir hayvana 0.4 cc Ankaferd püskürtülmüştür.

DMBA ve Ankaferd'in birlikte uygulandığı gruba uygulamalar yukarıda anlatılan yöntem kullanılarak yapılmıştır. Hayvanlara haftada 3 kere gūnaşırı DMBA uygulanmış, DMBA uygulamasının ertesi gūnū Ankaferd uygulaması yapılmıştır.

Hayvanlara toplam 14 hafta boyunca uygulama yapılmıştır. DMBA ve Ankaferd grubuna toplam 42 ve DMBA'nın Ankaferd ile beraber uygulandığı gruba toplam 84 uygulama yapılmıştır.



Resim 3.3. Sağ yanak içi mukozasına DMBA'nın fırça ile uygulanması



Resim 3.4. Ankaferd kanama durdurucunun spray yardımıyla yanak içine uygulanması

3.5. Sakrifikasyon

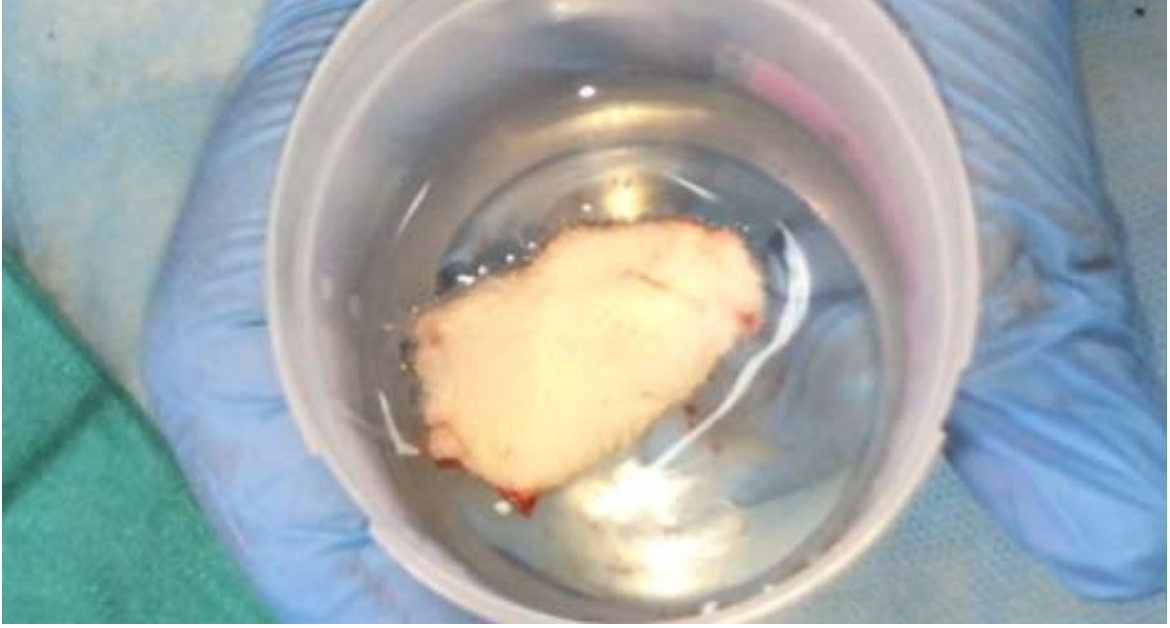
14 haftalık deney süresinin sonunda hayvanlara fetal dozda Ketamin %10 (100 mg/kg Ketamol, İnterhas, Ankara, Türkiye) ve Ksilazin %2 (16mg/kg, Alfazyne, Egevet, İzmir, Türkiye) intraperitonel olarak enjekte edilerek ötenazi uygulanmıştır.

3.6. Histopatolojik Yöntem

Sakrifiye edilen hayvanlara sistemik nekropsi uygulanmıştır. Deney hayvanlarında başlıca, sağ yanak mukozası, alt çene alt sınırından orbita tabanına kadar cerrahi makas yardımı ile eksize edilerek çıkartılmış ve %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilmiştir (Resim 3.5, 3.6).



Resim 3.5. Sağ bukkal mukoza ve cilt dokusunun histopatolojik inceleme amacı ile eksizyonu



Resim 3.6. Formaldehit solüsyonu içerisinde sağ bukkal mukoza ve cilt dokusu

Numuneler 24-72 saat formaldehit fiksasyonunun ardından örneklendirilerek doku takip kasetlerine alınmıştır. Otomatik doku takip cihazında (Leica TP 1020) rutin doku takip prosedürüne uygun olarak dereceli alkol serilerinde (%70'den - %100'e kadar) dehidre edilen dokular ksilolde şeffaflaştırılarak parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklardan *rotary mikrotom* (Leica RM 2155) yardımı ile alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler doku banyosu yardımı ile lama transfer edilmiştir. Lama transfer edilen dokular 65°C'de, 45 dakika süreyle etüvlenerek stabilize edildikten sonra ksilolde deparafinize edilmiş, ardından dereceli alkolde rehidre edilerek hematoksilin-eozin (H.E.) ile boyanıp, solvent bazlı bir yapıştırıcı yardımıyla lamel ile kapatılmıştır. Hematoksilin-eozin ile boyanan kesitler ışık mikroskopuyla (Nikon Eclipse Ci ve Kameram® Dijital İmaj Analiz Sistemi) incelenmiştir.

Histopatolojik değerlendirmelerde; hiperkeratoz, hiperplazi, displazi ve neoplazi varlığı ve şiddeti araştırılmış; displazi derecelendirmesi DSÖ sınıflamasına uygun olarak yapılmıştır [27]:

- 0: Sağlıklı / Herhangi bir patoloji gözlenmeyen epitel
- 1: Hafif dereceli displazi gözlenen epitel
- 2: Orta dereceli displazi gözlenen epitel
- 3: Şiddetli displazi gözlenen epitel

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen veriler SPSS 20 paket programı ile analiz edilmiştir.

Gruplar arasındaki farklılıklar incelenirken değişkenlerin normal dağılımdan gelmemesi durumunda Kruskal Wallis-H Testlerinden yararlanılmıştır.

Kruskal Wallis-H Testinde anlamlı farklılıkların görülmesi durumunda Pos-Hoc Çoklu Karşılaştırma Testi ile aralarında farklılık olan gruplar belirlenmiştir.

Nominal değişkenlerin grupları arasındaki ilişkiler incelenirken Ki-Kare analizi uygulanmıştır. RxC tablolarda gözelerdeki beklenen değerlerin yeterli hacime sahip olmaması nedeniyle Monte Carlo Simülasyonu yardımıyla Pearson Ki-Kare analizi uygulanmıştır.

Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0.05 kullanılmış olup; $p < 0.05$ olması durumunda anlamlı bir farklılığın/ilişkinin olduğu, $p > 0.05$ olması durumunda ise anlamlı bir farklılığın/ilişkinin olmadığı belirtilmiştir.

4. BULGULAR

Deney süresinin tamamlanmasının ardından deney hayvanları sakrifiye edilip, nekropsi uygulaması yapılmıştır. Nekropsi sırasında ratların sağ yanak mukozaları çıkarılarak histopatolojik incelemeye alınmıştır.

4.1. Histopatolojik İnceleme Bulguları

Ratların yanak içi mukozalarında oluşan neoplazi, displazi, hiperplazi ve hiperkeratoz için yapılan derecelendirme çalışma gruplarına göre aşağıda çizelgelerle desteklenerek gösterilmiştir.

4.1.1. Kontrol grubu histopatolojik inceleme bulguları

Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde bukkal mukozadan alınan biyopsi örneklerinin histopatolojik incelemelerinde; başta bazal membran olmak üzere epitel tabakaları ile *lamina propria* ve submukozal yapıların normal histolojik karakterler sergilediği gözlenmiştir (Resim 4.1). Bulgular Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Kontrol grubuna ait histopatolojik inceleme sonuçları

OLGU	NEOPLAZİ	DİSPLAZİ	HİPERPLAZİ	HİPERKERATOZ
Kontrol-1	0	0	0	0
Kontrol-2	0	0	0	0
Kontrol-3	0	0	0	0
Kontrol-4	0	0	0	0
Kontrol-5	0	0	0	0
Kontrol-6	0	0	0	0



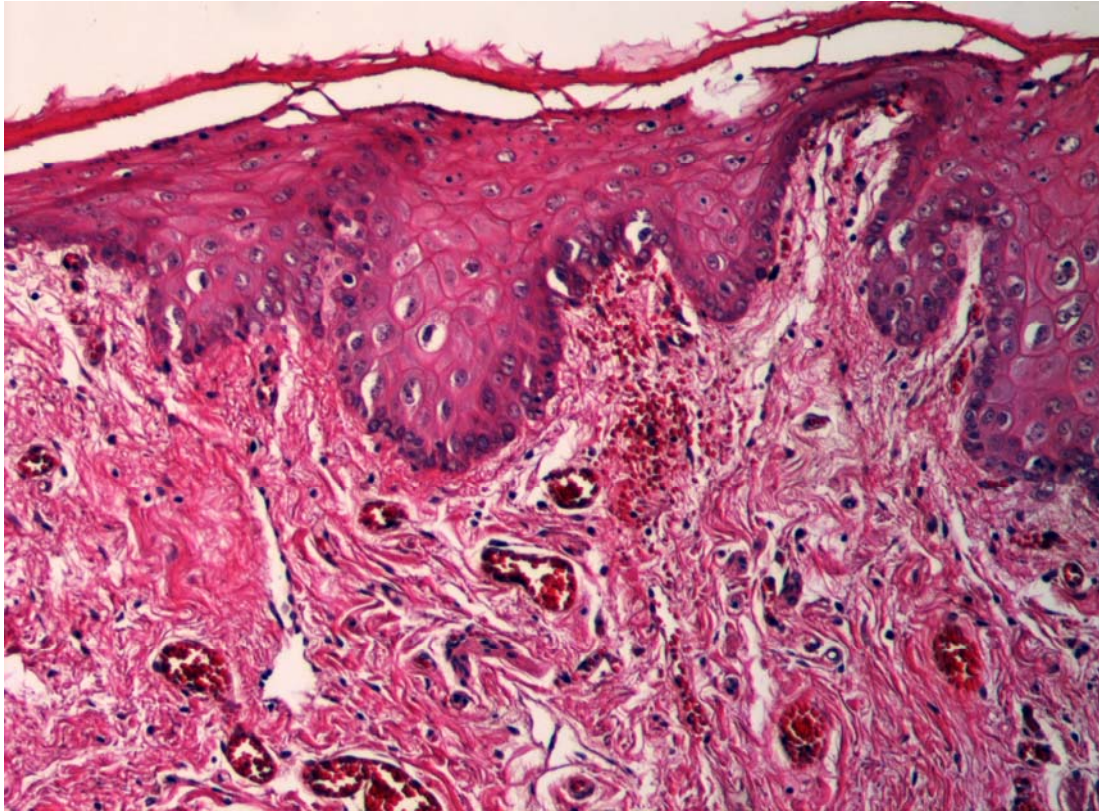
Resim 4.1. Kontrol grubu: Matür çok katlı yassı epitel (H.E.x4)

4.1.2. Ankaferd grubu histopatolojik inceleme bulguları

Çizelge 4.2’de gösterildiği gibi, Ankaferd grubuna ilişkin biyopsi örneklerinin histopatolojik incelemelerinde kontrol grubuna yakın sonuçlar görülmüş olup, büyük oranda keratinize, matür, çok katlı yassı epitel gözlenmiştir (Resim 4.2).

Çizelge 4.2. Ankaferd kanama durdurucu uygulanan gruba ait histopatolojik inceleme sonuçları

OLGU	NEOPLAZİ	DİSPLAZİ	HİPERPLAZİ	HİPERKERATOZ
ABS-1	0	0	0	0
ABS-2	0	0	0	0
ABS-3	0	0	0	0
ABS-4	0	0	0	0
ABS-5	0	0	0	0
ABS-6	0	0	0	0
ABS-7	0	0	0	0
ABS-8	0	0	0	0
ABS-9	0	0	0	0
ABS-10	0	0	0	0



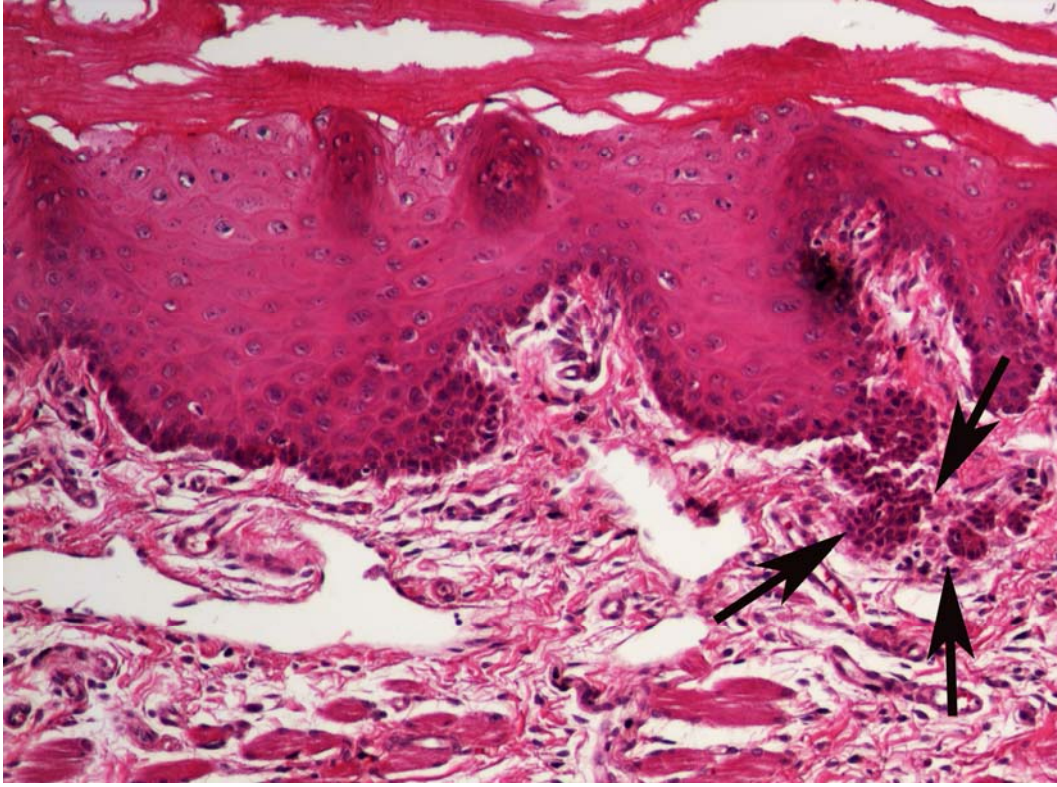
Resim 4.2. Ankaferd grubu: Normal histolojik sınırlar içerisindeki çok katlı yassı epitel (H.E.x10).

4.1.3. DMBA grubu histopatolojik inceleme bulguları

DMBA uygulanan gruba ait örneklerin histopatolojik inceleme sonuçları dikkate alındığında ve diğer gruplar ile kıyaslandığında bu grupta, oldukça şiddetli lezyonların olduğu belirlenmiştir. (Çizelge 4.3). Biyopsi örneklerinde şiddetli displazik görünümlü epitel kısımlarının hemen altındaki granülasyon dokusunda artış görüldüğü dikkat çekmiştir (Resim 4.3). Ayrıca bu gruba ait 2 örnekte epitelyal kökenli neoplazik oluşumlar geliştiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Sadece DMBA uygulanan gruba ait histopatolojik inceleme sonuçları

OLGU	NEOPLAZİ	DİSPLAZİ	HİPERPLAZİ	HİPERKERATOZ
DMBA-1	0	3	2	2
DMBA-2	Var	3	3	3
DMBA-3	Var	3	3	3
DMBA-4	0	3	2	2
DMBA-5	0	3	3	3
DMBA-6	0	2	2	2
DMBA-7	0	3	3	3
DMBA-8	0	3	2	2
DMBA-9	0	3	2	2
DMBA-10	0	3	2	2



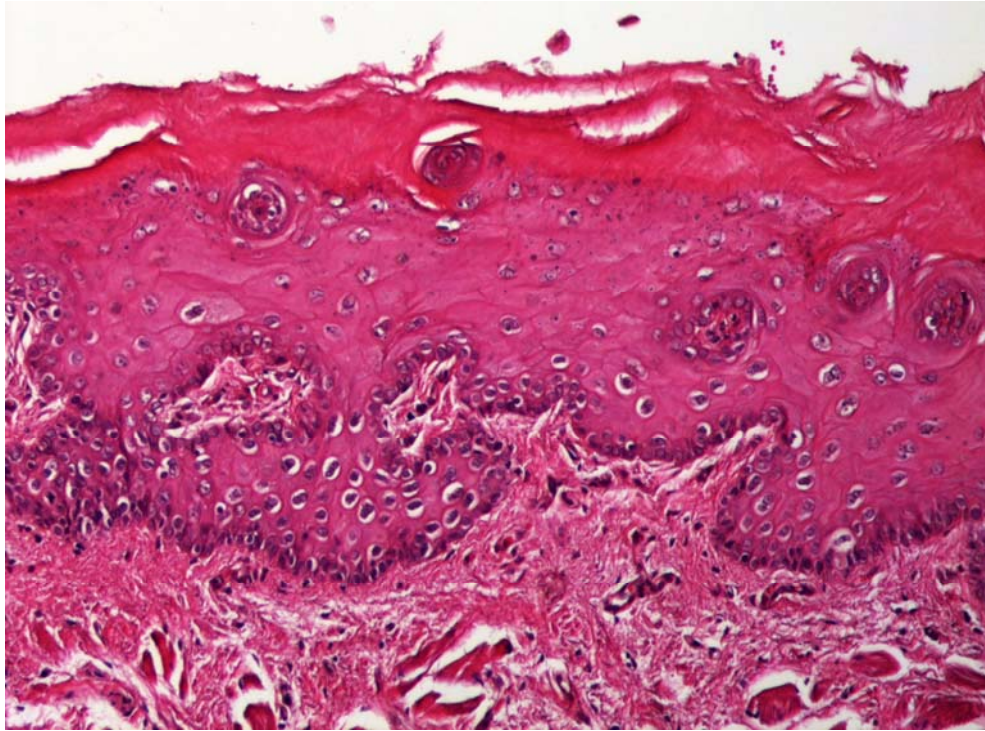
Resim 4.3. DMBA grubu: Hiperkeratoz ve şiddetli displazik değişiklikler ile birlikte lamina propriaya invaze olmuş neoplazik hücre grupları (H.E.x10).

4.1.4. DMBA ile beraber Ankaferd uygulanan grubun histopatolojik inceleme sonuçları

DMBA ile ABS uygulanan hayvanlara ait örneklerde sadece DMBA uygulanan hayvanlara oranla daha anlamlı bir çizelge ile karşılaşılmıştır (Çizelge 4.4). Bu gruptaki hayvanlarda başta displazik lezyonlar olmak üzere lezyonların şiddetinde belirgin bir azalma olduğu kaydedilmiştir (Resim 4.4.).

Çizelge 4.4. DMBA ile beraber Ankaferd kanama durdurucu uygulanan gruba ait histopatolojik inceleme sonuçları

OLGU	NEOPLAZİ	DİSPLAZİ	HİPERPLAZİ	HİPERKERATOZ
DMBA+ABS-1	0	1	1	1
DMBA+ABS-2	0	1	1	1
DMBA+ABS-3	0	0	1	1
DMBA+ABS-4	0	1	1	0
DMBA+ABS-5	0	1	0	1
DMBA+ABS-6	0	0	0	0
DMBA+ABS-7	0	0	0	0
DMBA+ABS-8	0	0	0	0
DMBA+ABS-9	0	1	0	0
DMBA+ABS-10	0	0	1	1



Resim 4.4. DMBA ile beraber Ankaferd kanama durdurucu uygulanan grup: Hafif şiddette hiperkeratoz ve displazik değişiklikler (H.E.x10).

4.2 İstatistiksel İnceleme Bulguları

4.2.1 Displazi Bulguları

Kontrol ve deney gruplarına ait epitelyal displazi oluşumunun istatistiksel değerlendirme sonuçları Çizelge 4.5.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Deneklerin displazi değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılıklara ilişkin Kruskal Wallis-H Testi sonuçları

		n	Mean	Median	Min	Max	SS	Kruskal Wallis-H			Çoklu Karşılaştırma
								Sıra Ort.	H	p	
Displazi	Kontrol (1)	6	0	0	0	0	0	11,00	29,885	0,001	1-3 2-3 4-3
	Ankaferd (2)	10	0	0	0	0	0	11,00			
	DMBA (3)	10	2,9	3	2	3	0,32	31,50			
	DMBA+Ankaferd (4)	10	0,5	0,5	0	1	0,53	17,50			
	Toplam	36	0,94	0	0	3	1,29				

Deneklerin displazi değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p < 0,05$). DMBA grubundaki deneklerin displazi değerleri, diğer gruplardaki deneklerin değerlerine kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

4.2.2 Hiperplazi

Kontrol ve deney gruplarına ait hiperplazi oluşumunun istatistiksel değerlendirme sonuçları Çizelge 4.6.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Deneklerin hiperplazi değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılıklara ilişkin Kruskal Wallis-H testi sonuçları

		n	Mean	Median	Min	Max	SS	Kruskal Wallis-H			Çoklu Karşılaştırma
								Sıra Ort.	H	p	
Hiperplazi	Kontrol	6	0	0	0	0	0	11,00	29,521	0,001	1-3 2-3 4-3
	Ankaferd	10	0	0	0	0	0	11,00			
	DMBA	10	2,4	2	2	3	0,52	31,50			
	DMBA+Ankaferd	10	0,5	0,5	0	1	0,53	17,50			
	Toplam	36	0,81	0	0	3	1,09				

Deneklerin hiperplazi değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p<0,05$). DMBA grubundaki deneklerin hiperplazi değerleri, diğer gruplardaki deneklerin değerlerine kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

4.2.3 Hiperkeratoz

Kontrol ve deney gruplarında hiperkeratoz oluşumunun istatistiksel değerlendirme sonuçları Çizelge 4.7.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Deneklerin hiperkeratoz değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılıklara ilişkin Kruskal Wallis-H testi sonuçları

		n	Mean	Median	Min	Max	SS	Kruskal Wallis-H			Çoklu Karşılaştırma
								Sıra Ort.	H	p	
Hiperkeratoz	Kontrol	6	0	0	0	0	0	11,00	29,521	0,001	1-3 2-3 4-3
	Ankaferd	10	0	0	0	0	0	11,00			
	DMBA	10	2,4	2	2	3	0,52	31,50			
	DMBA+Ankaferd	10	0,5	0,5	0	1	0,53	17,50			
	Toplam	36	0,81	0	0	3	1,09				

Deneklerin hiperkeratoz değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p<0,05$). DMBA grubundaki deneklerin hiperkeratoz değerleri, diğer gruplardaki deneklerin değerlerinden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

4.2.4 Neoplazi

Kontrol ve deney gruplarına ait neoplazi oluşumunun istatistiksel olarak değerlendirilmesi Çizelge 4.8.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. Deneklerin neoplazi değerleri ile gruplar arasındaki ilişkilere ilişkin Ki-Kare analizi sonuçları

	Neoplazi						Ki-Kare Analizi	
	Yok		Var		Toplam			
	n	%	n	%	n	%	Ki-Kare	p
Kontrol	6	17,6	0	0,0	6	16,7	*	0,241
Ankaferd	10	29,4	0	0,0	10	27,8		
DMBA	8	23,5	2	100,0	10	27,8		
DMBA+Ankaferd	10	29,4	0	0,0	10	27,8		
Toplam	34	100,0	2	100,0	36	100,0		

* Bazı gözellerdeki beklenen değerlerin yeterli hacime sahip olmaması nedeniyle Monte Carlo Simülasyonu yardımıyla Pearson Ki-Kare Analizi uygulanmıştır.

Deneklerin neoplazi durumları ile grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

İnsan ölüm nedenleri teknoloji ve medeniyetlerin gelişmesine paralel olarak değişim göstermektedir. 19. yüzyılın başlarında ölüm nedenlerinin başında enfeksiyon ve bulaşıcı hastalıklar gelirken, günümüzde kalp hastalıkları ve kanser en sık ölüme neden olan hastalıklar arasında ilk iki sırada yer almaktadır. Antibiyotiklerin bulunması ile bulaşıcı hastalıklar ve enfeksiyonlar önemli oranda kontrol altına alınmıştır. Antibiyotiklerin yanı sıra aşılarda geliştirilmesi, halk sağlığı hizmetlerindeki gelişmeler, eğitim düzeyinin artması sonucu kişisel hijyene daha fazla dikkat edilmesi, doğru beslenme ve tıp alanındaki gelişmeler sonucu ortalama insan ömrü uzamıştır. İnsan ömrünün uzamasına karşın sanayileşmenin artmasına paralel olarak yaşadığımız çevrede fiziksel ve kimyasal karsinojenlere maruz kalma oranı artmaktadır. Bu nedenle kanser giderek büyüyen bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Kanser yüzyılın başında ölüme neden olan hastalıklar arasında yedinci-sekizinci sırada yer alırken günümüzde dünyanın pek çok ülkesinde ve Türkiye’de kalp hastalıklarının arkasından ikinci sırada yer almaktadır [1]. Dünya Sağlık Örgütü’nün verilerine göre küresel kanser yükü geçtiğimiz 30 yıl içinde iki kattan daha fazla artmıştır. 2008’de 12 milyon yeni kanser vakasının teşhis edildiği, kanserden kaynaklanan 7 milyon ölümün gerçekleştiği ve kanserli 25 milyon kişinin halen hayatta olduğu tahmin edilmektedir. Dünya nüfusunun devam eden artışı ve yaşlanması kanser yükü üzerinde de büyük değişikliklere yol açacaktır. 2030’a gelindiğinde 27 milyon kanser vakası, kanserden kaynaklanan yıllık 17 milyon ölüm ve son beş yıl içinde kanser tanısı konmuş 75 milyon kişi rakamlarına ulaşılması beklenebilir [85]. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu- Kanser Daire Başkanlığı’nın verilerine göre Türkiye’de 2009 yılında kanser hızı erkeklerde 100.000 kişide 269,7, kadınlarda ise 173,3’dür. 2009 yılı kanser istatistiklerine göre ülkemizde her yıl yaklaşık 98 bin erkek ve 63 bin kadın kansere yakalanmaktadır [86].

Ağız bölgesinde görülen malign tümörler başlıca ölüm nedenlerinden biri olup, Dünya Sağlık Örgütü’nün tespit ettiği en yüksek mortaliteyle seyreden 8 kanser türü içerisinde yer almaktadır. Baş ve boyun kanserleri; ağız boşluğu, farinks ve larinks kapsayan, birbirleriyle ilişkili bir grup kanserdir. DSÖ’nün 2008 yılında yayınladığı dünya kanser raporuna göre her yıl yaklaşık 400.000 ağız boşluğu ve farinks kanseri ile 160.000 larinks

kanseri vakası ortaya çıkmakta ve bunlardan yaklaşık 300.000'i ölümlle sonuçlanmaktadır[85]. Dünya genelinde baş-boyun kanserleri tüm kanser vakalarının %5'ini oluşturmaktadır [2]. Amerika Birleşik Devletlerinde ağız boşluğu ve orafaringeal kanser insidansı yıllık 30000 yeni vaka civarında olup, her yıl yaklaşık 7000 kişi baş-boyun kanserleri nedeniyle hayatını kaybetmektedir [87]. Baş-boyun kanseri prevelansı coğrafyalara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Hindistan'da ağız kanserleri en yüksek mortalite oranına sahip ilk üç kanser arasındadır. Hindistan'da, 2012 yılında yaklaşık 52000 kişi ağız kanseri nedeniyle hayatını kaybetmiştir[88]. Aynı yıl içinde Avrupa'da ağız kanseri nedeniyle ölen kişi sayısı yaklaşık 43000 olarak rapor edilmiştir. Rusya Federasyonunda 2012 yılında toplam 9000, Birleşik Krallıklarda 2250, Almanya'da ise 4000 kişinin ağız kanseri nedeniyle öldüğü rapor edilmiştir [89]. Amerika Birleşik Devletlerinde 2015 yılında yaklaşık 45780 yeni ağız kanseri vakasının görüleceği ve aynı yıl içerisinde 8650 kişinin ağız kanseri nedeniyle öleceği tahmin edilmektedir[90]. Coğrafyalar arası prevelans değişikliklerinin görülmesi; etnik, sosyoekonomik, genetik farklılıkların yanı sıra tütün, alkol tüketimi, karsinojenik kimyasallar, enfeksiyöz hastalıklar, radyasyon, beslenme alışkanlıklarındaki farklılığa bağlanabilir [87].

Baş-boyun kanserlerinin %90'ı skuamöz hücreli karsinomdur [2]. Skuamöz hücreli karsinom çok katlı yassı epitelde, epitel displazisi olarak başlayan ve displazik epitel hücrelerinin bazal membranı aşarak bağ dokusuna ilerlemesi ile sonuçlanan bir patolojidir[5]. Ağız kanseri olan hastaların sağ kalım oranlarında son 50 yıllık dönemde ciddi bir artış olmamıştır ve sık karşılaşılan kanser tipleri arasında en düşük sağ kalım oranına sahiptir. Yapılan çalışmalarda 5 yıllık ve 10 yıllık sağ kalım oranları sırasıyla %59 ve %48 olarak bildirilmektedir [3, 4].

DSÖ'nün yaptığı premalign lezyonların sınıflamasına göre displazi ve karsinoma in situ, oral skuamöz hücreli karsinomanın öncü lezyonları olarak tanımlanmışlardır[6]. Ho ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, oral epitelyal displazi tespit edilen 91 hastanın 5 yıllık takip sonrası %22'sinde lezyonların oral skuamöz hücreli karsinomaya dönüşüm gösterdiğini bildirmişlerdir[28]. Oral epitelyal displazinin doğru tedavi ve takibi yapılmadığı takdirde oral skuamöz hücreli karsinomaya dönüşme riski bulunmaktadır [7].

Günümüzde ağız kanserlerinin yüksek mortalite ile seyreden kanser tipleri arasında sınıflandırılması ve oral epiteyal displazinin malign dönüşüm gösterme riskinin fazla olması nedeniyle bu tez çalışmasında deneysel olarak oluşturulan oral epitelyal displazi modeli üzerinde çalışılmıştır.

Deneysel kanser ve prekanseröz lezyon çalışmaları gerek karsinogenezis sürecinin, gerekse de bu süreçte etkili olan karsinojen ve antikarsinojen sistemlerin incelenmesinde büyük katkı sağlamaktadır. Araştırmacılar bu modeller sayesinde hem karsinogenezis sürecini ayrıntılı olarak gözlemlene fırsatı bulmakta hem de kullandıkları çeşitli materyallerin antikarsinojenik özelliklerini inceleyebilmektedirler. Bu deney modelleri arasında en çok kullanılanlarından biri de 7,12-dimetilbenz[a]antrasen uygulanarak oluşturulan yanak mukozası kanser modelleridir [55, 91, 92].

Bu çalışmada Sprague Dawley cinsi ratlarda oral epitelyal dispazi modeli oluşturabilmek amacıyla 7,12-dimetilbenz[a]antrasen kullanılmıştır. DMBA immünsüpresif bir ajan olmakla beraber organ-spesifik karsinojen olarak uzun yıllardır çalışmalarda kullanılmaktadır [10,52,53,93]. DMBA'nın yapılan çalışmalarda etkili olması ve tekrarlanabilir sonuçlar vermesi bu çalışmada da DMBA'nın tercih edilme nedeni olmuştur. Ayrıca DMBA kullanılarak oluşturulan bukkal mukoza tümörleri, insan ağız boşluğunda oluşan tümörlere morfolojik, histolojik, biyokimyasal olarak ve moleküler seviyede oldukça benzemektedirler [11]. DMBA kullanılarak oluşturulan patolojik lezyonların ve yapısal değişikliklerin insan ağızında görülen prekanseröz lezyonlara ve kanser lezyonlarına ileri derecede yakınlık göstermesi de bu çalışmada oral patolojilerin oluşturulmasında DMBA kullanımının tercih edilmesinin bir başka sebebidir.

Tıp ve dişhekimliği literatürü incelendiğinde ağız mukozasında kanser modeli oluşturmak için en sık kullanılan deney hayvanının Suriye hamsterları (*Mesocricetus auratus*) olduğu görülmektedir. Suriye hamsterlarının sık kullanılmasının sebepleri; yanak mukozalarının geniş olması sayesinde kolay uygulama ve gözlem yapılabilmesi ve DMBA kullanılarak kolayca kanser modeli oluşturulabilmesidir. Ancak ülkemizde bu deney hayvanının yeterli sayıda bulunmaması nedeniyle bu çalışmada Suriye hamsterı kullanılamamıştır. Çalışmada

üzerinde farklı kanser modelleri oluşturulabilen Sprague Dawley cinsi rat tercih edilmiştir [94-101]. Sprague Dawley ratların çalışmalarda kullanım avantajları; ülkemizde çok sayıda bulunabilmesi, kolay üretilmesi, ucuz şekilde temin edilebilmesi ve bağışıklık sistemlerinin güçlü olması sayesinde deney tamamlanmadan hayvanların ölme olasılıklarının az olmasıdır. Nitekim bu çalışma süresi boyunca hayvan kaybı olmamıştır.

Literatür taramalarına göre DMBA kullanılarak oluşturulan modellerde lezyonların olgunlaşması için 14 haftalık bir süreye ihtiyaç duyulmaktadır [51-54, 93, 102-104]. Bu nedenle bu çalışmada da deney süresi 14 hafta olarak planlanmıştır.

Ankaferd, standardize edilmiş bitki ekstraktlarından oluşan stabil ve steril bir üründür. Ankaferd'in içeriği; 100 ml'lik ekstrede 7 g *G. glabra*, 8 g *V. vinifera*, 7 g *A. officinarum* kurutulmuş yaprak ekstraktları, 5 g *T. vulgaris* kurutulmuş toprak üstü ekstresi ve 6 g *U. dioica* kurutulmuş kök ekstresinden oluşmaktadır. Ankaferd'in içeriğindeki bu bitkilerin antifungal, antienflamatuar, antibakteriyel, antiaterosklerotik özelliklere sahip olmalarının yanında, özellikle *V. vinifera*, *G. glabra* ve *T. vulgaris*'in antioksidan ve antitümöral etkileri bulunur [8]. *V. vinifera* kullanılarak, hücre kültürleri üzerinde yapılan bir çalışmada, *V. vinifera*'nın kanser hücrelerine antiproliferatif etki gösterdiği ve kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkiyi indüklediği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada *V. vinifera*'nın kanser hücreleri üzerine antitümöral etki gösterirken, normal hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermediği belirtilmiştir [73]. Aghbali ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada da üzüm çekirdek ekstresinin oral skuamöz hücreli karsinom tedavisi için potansiyel biyoaktif bileşikler içerdiğini tespit edilmiştir [74]. *G. glabra* kullanılarak yapılan başka bir çalışmada *G. glabra*'dan elde edilen fenol bileşiklerinin güçlü antioksidan etki gösterdikleri ve *G. glabra*'nın fareler üzerinde yapılan deneyde tümör oluşumunu önlediği gösterilmiştir [47]. Ayrıca Matsuda ve ark. yaptıkları çalışmada *A. officinarum*'un lipopolisakkaridlerle aktive edilmiş fare peritoneal makrofajında nitrik oksit üretimini inhibe ettiği saptanmıştır [76]. Bu çalışmada antioksidan ve antitümöral etkileri bulunan bitkiler içeren Ankaferd'in oral epitelyal displazi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Türk patentli bir ürün olması da bu çalışma için seçilmesinde önem teşkil etmiştir.

Çalışmada 36 adet rat kullanılmıştır. Kontrol grubunda 6 adet hayvan kullanılırken, deney gruplarında toplam 30 adet hayvan bulunmaktadır. Hayvan çalışmalarında istatistiksel olarak anlamlı veri elde edilebilmesi için her bir grupta en az 6 hayvan olması gerekmektedir. Bu nedenle kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak en az sayı olan 6 adet hayvan kullanılmıştır. Deney gruplarında her alt grup 10 hayvan içermektedir. Deney gruplarının 10'ar hayvandan oluşturulmasının nedeni; 14 haftalık sürenin deneysel hayvan çalışması için uzun bir süre olması ve bu süre zarfında yaşanabilecek hayvan ölümlerinin çalışma programını bozmamasıdır.

Çalışmada oral epitelyal displazinin derecelendirilmesi amacıyla DSÖ'nün sınıflandırması kullanılmıştır. DSÖ sınıflandırmasının tercih edilmesinin nedenleri; kolay anlaşılır olması, literatürde bu sınıflama kullanılarak yapılmış çok sayıda çalışma [27, 28, 105-108] bulunması ve böylece çalışmalar arasında karşılaştırma yapma olanağının bulunmasıdır.

Toplam çalışma süresi olan 14 hafta boyunca, hayvanlara deneyler sırasında anestezi uygulaması yapılmamıştır. Hayvanlara herhangi bir cerrahi müdahalede bulunulmaması ve ciddi fiziksel travma oluşturulmaması nedeniyle anestezi uygulamasına ihtiyaç duyulmamıştır.

Deneyler sırasında hayvanlar veteriner hekim gözetiminde, deneyimli personel tarafından tutularak, sabitlenmiştir. Keser dişlerinin arka tarafına yerleştirilen 2 adet pens yardımıyla hayvanların ağzı açtırılmış ve uygulamalar yapılmıştır. DMBA grubunda hayvanların sağ bukkal mukozalarına 14 hafta boyunca, haftada üç kere, gün aşırı olacak şekilde fırça yardımıyla DMBA sürülmüştür. Günlük uygulanan DMBA dozu, DMBA kullanılarak yapılan benzer çalışmalarda kullanıldığı gibi 0.4 mg'dir [52, 83, 84] Ankaferd grubundaki hayvanlara da 14 hafta boyunca, haftada üç kere, gün aşırı olacak şekilde püskürtme yöntemi ile uygulama yapılmıştır. Her bir püskürtmede 0.2 cc Ankaferd açığa çıkmaktadır. Her uygulama sırasında hayvanlara yaklaşık 0.4 cc Ankaferd tatbik edilmiştir. Hem DMBA hem Ankaferd uygulanan gruptaki hayvanlara DMBA uygulanan günün ertesi günü Ankaferd uygulaması yapılmıştır. Aynı gün içerisinde ard arda uygulama yapılmasının

kullanılan materyallerin etkinliğini azaltabilme olasılığı bulunduğu için uygulamalar bir gün DMBA, ertesi gün Ankaferd olacak şekilde planlanmıştır.

Deney süresinin bitiminde hayvanlara fetal dozda Ketamin Hidroklorid %10 (100 mg/kg Ketamol, İnterhas, Ankara, Türkiye) ve Ksilazin Hidroklorid %2 (16mg/kg, Alfazyne, Egevet, İzmir, Türkiye) intraperitonel olarak enjekte edilerek ötenazi uygulanmıştır. Bu yöntem hızlı sonuç veren, etkili bir uygulama olması nedeniyle tercih edilmiştir. Ötenazi işlemi sonrasında histopatolojik inceleme amacıyla hayvanların uygulama yapılan sağ yanak mukozaları eksize edilerek, dokular histolojik özelliklerini koruyabilmeleri amacıyla %10'luk formalin içerisinde saklanmıştır.

Histopatolojik inceleme sonucu elde edilen bulgulara göre herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubunda hiçbir bir patolojik oluşum gözlenmezken, sadece sağlıklı epitel varlığı izlenmiştir. Benzer şekilde sadece Ankaferd uygulanan grupta da patoloji gözlenmeyip, sadece sağlıklı epitel tespit edilmiştir. Sadece DMBA uygulanan grupta şiddetli displazi tespit edilmiş olup, 2 hayvanda epitelyal karsinoma varlığı gözlenmiştir. Bu bulgulara ek olarak DMBA grubunda şiddetli derecede hiperplazi ve hiperkeratoz gözlenmiştir. Hem DMBA hem Ankaferd uygulanan grupta ise hayvanların bir kısmında (%50) sağlıklı epitel izlenirken, 5 ratda sadece hafif şiddette displazi tespit edilmiştir. 4 hayvanda hafif dereceli hiperplazi gözlenirken, 5 hayvanda hafif dereceli hiperkeratoz tespit edilmiştir.

Epitelyal displazi, hiperplazi ve hiperkeratoz derecelerinin gruplar arasında istatistiksel olarak değerlendirilmeleri sonucu; DMBA grubundaki deneklerin, diğer gruplardaki deneklere kıyasla displazi, hiperplazi ve hiperkeratoz dereceleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. ($p < 0.05$)

DMBA grubundaki 2 hayvanda neoplazi görülmesi bu grupta oluşturulan patolojilerin şiddetinin çok yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak neoplazinin sadece iki denekte gözlenmesi diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya koymamaktadır. ($p > 0.05$)

DMBA'nın tek başına uygulandığı gruptaki tüm hayvanlarda gözlenen şiddetli displazi, hiperplazi ve hiperkeratoz oluşumunda rol oynayan faktörler arasında; DMBA'nın uygulanan alanda DNA formasyonunda değişiklik yapması, kronik enflamasyonu indüklenmesi, reaktif oksijen ürünlerinin fazla üretimi ve oksidatif DNA hasarı oluşturması sıralanabilir. Reaktif oksijen ürünlerinin artışına bağlı olarak lipid peroksidasyonunda da artış olmakta ve bu artış DNA, protein ve yağların hasar görmesi ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca DMBA'nın en önemli tümör baskılayıcı genlerden biri olan p53'ü ve kontrollü hücre ölümünü durdurarak tümörögenezise yardımcı olan bcl-2 onkojeninin mutasyona uğrattığı, bu etkilerin sonucu olarak da hücre siklusunun düzenlenmesinde, apoptozis mekanizmasında, DNA tamirinde, hücre diferensiyasyonunda ve DNA rekombinasyonunda bozukluklara yol açtığı, anormal hücre çoğalması ve kontrollü hücre ölümünün engellendiği yapılan çalışmalarda [57, 84, 109] gösterilmiştir. Hiperplazi ve hiperkeratoz oluşumunda kronik irritasyon en önemli etiyolojik faktörlerden biridir [7]. Bu çalışmada da hiperplazi ve hiperkeratoz oluşumunda DMBA'nın olumsuz kimyasal etkilerinin yanı sıra fırça kullanılarak yapılan uygulamalar sırasında oluşturulan kronik travmanın etkili olduğu düşünülmektedir.

DMBA ve Ankaferd'in beraber uygulandığı grupta, hayvanların hiçbirinde şiddetli displazi, hiperplazi, hiperkeratoz veya neoplazi gözlenmemesi, sadece deneklerin bir kısmında hafif derecede displazi, hiperplazi ve hiperkeratoz gözlenmesi Ankaferd kanama durdurucu'nun içindeki bitki ekstraktlarının sahip olduğu antioksidan ve antitümöral özelliklerine bağlanabilir. Bu grupta Ankaferd'in, DMBA'nın karsinojen etkisini önlediği açıkça görülmektedir. Ankaferd'in içeriğindeki *T. vulgaris*, *V. vinifera* ve *G. glabra*'nın antioksidan özellikleri sayesinde DMBA'nın reaktif oksijen ürünlerini fazla üretmesini engelledikleri, böylece serbest radikaller aracılığı ile gerçekleşen zincirleme bir reaksiyon olan lipid peroksidasyonunu önledikleri düşünülmektedir. Ayrıca *G. glabra*'nın antienflamatuvar etkisinin de kronik enflamasyonun gelişimini azaltmış olabileceği düşünülmektedir. *V. vinifera*'nın içindeki üzüm çekirdeği ekstresinin bazı kanser türleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği bilinmektedir [59, 67]. *V. vinifera*'nın bu özelliği sayesinde neoplazi oluşumunu önlediği sonucuna varılmıştır. Ankaferd kanama durdurucu'nun içindeki *G. glabra*, *T. vulgaris*, *V. vinifera*'nın antioksidan ve ayrıca *V.*

vinifera'nın antitümöral özellikleri yapılan çeşitli çalışmalarla da kanıtlanmıştır [63, 64, 66, 72]. Ankaferd kanama durdurucunun içeriğindeki bitki ekstrelerinin bu etki mekanizmaları yoluyla DMBA'nın karsinojen etkisini önlemeye yardımcı olduğu düşünülmektedir.

Bu bilgiler ışığında Ankaferd kanama durdurucunun, ratlarda DMBA kullanılarak oluşturulan oral epitelyal displazi üzerinde önleyici etkisi bulunduğu sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ

Bu çalışmada; Ankaferd kanama durdurucunun kimyasal bir karsinojen olan 7,12-dimetilbenz[a]antrasen kullanılarak ratlarda deneysel olarak oluşturulan oral epitelyal displazi, hiperplazi ve hiperkeratoz üzerine önleyici etkileri araştırılmıştır. Ankaferd'in içeriğindeki bitkilerin antioksidan ve antitümöral etkilerinin olduğu yapılan başka çalışmalar sayesinde bilinmekle birlikte ağız mukozasında oluşturulan epitelyal displazi modeli üzerindeki etkileri daha önce herhangi bir çalışmada incelenmemiştir.

Elde edilen bulgular doğrultusunda;

1. Deneklere DMBA'nın tek başına uygulanmasının dokuda histopatolojik olarak şiddetli epitelyal displazi, hiperplazi ve hiperkeratoz oluşumuna sebep olduğu gözlenmiştir.
2. Deneklere DMBA'nın tek başına uygulanmasının deneklerin bir kısmında epitelyal neoplaziye yol açtığı tespit edilmiştir.
3. Deneklere DMBA ile birlikte Ankaferd kanama durdurucunun uygulanması sonucu deneklerin sadece bir kısmında hafif şiddette epitelyal displazi, hiperplazi ve hiperkeratoz oluşumu gözlenmiştir. Epitelyal displazi, hiperplazi ve hiperkeratoz dereceleri Ankaferd kanama durdurucu ile DMBA'nın birlikte uygulandığı grupta DMBA'nın tek başına uygulandığı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu tespit edilmiştir.
4. DMBA'nın tek başına uygulandığı grupta 2 hayvanda epitelyal neoplazi oluşumu tespit edilmiştir. Sadece DMBA uygulanan gruptaki bu deneklerde histopatolojik olarak şiddetli displazik değişiklikler ile birlikte *lamina propria*'ya invaze olmuş neoplazik hücre grupları tespit edilirken, DMBA ile birlikte Ankaferd kanama durdurucu uygulanan grupta hiçbir hayvanda neoplazi oluşumu gözlenmemiştir.
5. Ankaferd kanama durdurucunun tek başına uygulandığı grupta, hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubuna benzer şekilde normal histolojik sınırlar içerisindeki çok katlı yassı epitel gözlenmiş olup, herhangi bir patolojik değişimin olmadığı kaydedilmiştir.

6. Literatürde antioksidan ve antitümöral özelliklerinin bulunduğu belirtilen Ankaferd kanama durdurucu'nun bu özellikleri sayesinde deneysel olarak oluşturulan oral epitelyal displazi üzerinde önleyici etkisi bulunduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada, klinikte esas olarak hemostaz sağlamak amacıyla kullanılan bir bitkisel karışım olan Ankaferd kanama durdurucu'nun deneysel olarak oluşturulan oral epitelyal displazi üzerine önleyici etkisi bulunduğu gözlenmiştir. Ankaferd kanama durdurucu'nun yapılan başka çalışmalar sonucu ortaya konan pek çok faydalı özelliğinin yanı sıra özellikle antioksidan ve antitümöral etkisinin bulunması, kolay temin edilebilmesi, sadece doğal, bitkisel bir karışım olması, bilinen herhangi bir yan etkisinin bulunmaması ve uygulaması pratik bir materyal olması sayesinde yapılacak daha ileri klinik ve deneysel çalışmaların sonuçlarına göre gelecekte oral epitelyal displazi tedavisinde etkin bir şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Yılmaz, M. (1999). *DMBA (dimetilbenzantrazen) ile dilde meydana getirilen kimyasal kanser modeli üzerinde karsinogenezis sürecinin histopatolojik takibi ve selenyumun karsinogenezis sürecine etkisinin incelenmesi*, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
2. Peyrade, F., Cupissol, D., and Geoffrois, L. et al. (2013). *Systemic treatment and medical management of metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: review of the literature and proposal for management changes*. **Oral Oncology** 49, 482-91.
3. Petersen, PE. (2009). *Oral cancer prevention and control- The approach of the World Health Organization*. **Oral Oncology** 45, 454-60.
4. Villa, A., Villa, C., and Abati, S. (2011). *Oral cancer and oral erythroplakia: an update and implication for clinicians*. **Australian Dental Journal** 56, 253-6.
5. Yücetaş, Ş. (2005). *Ağız ve Çevre Dokusu Hastalıkları*, (Atlas Kitapçılık).
6. Izumo, T. (2011). *Oral premalignant lesions: from the pathological viewpoint*. **International Journal of Clinical Oncology** 16, 15-26.
7. Çöloğlu, S. (2007). *Oral Patoloji Ağız Patolojisi*. (Yeditepe Üniversitesi Yayınları).
8. Fırat H.C., Özdemir, O., Koşar, A., Göker, H., and Haznedaroğlu, İ.C. (2009). *Ankaferd Blood Stopper Annual Review of Arkaferd 08-09*, (Naviga Scientific Publication)
9. Burki, H.R., and Okita G.T. (1969). *Effect of Oral Copper Sulfate on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene Carcinogenesis in Mice* **British Journal of Cancer** 23, 591- 96.
10. Salley, J.J. (1954). *Experimental carcinogenesis in the cheek pouch of the Syrian hamster*. **Journal of Dental Research** 33, 253-62.
11. Manoharan, S., Vasanthaselvan, M., and Silvan, S. et al. (2010). *Carnosic acid: a potent chemopreventive agent against oral carcinogenesis*. **Chemico-Biological Interactions** 188, 616-22.
12. Hollins, C. (2012). *Basic Guide Anatomy and Physiology for Dental Care Professionals*, (Wiley- Blackwell).
13. Özoğlu, C. (2002). *Ağız Histolojisi ve Embriyolojisi*, (Selvi Yayınevi).
14. Nanci, A. (2008). *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure and Function*, (Mosby Elsevier)

15. Newman, M.G., Takei, H.H., Klokkevold, P.R., and Carranza, F.A. (2012). *Carranza's Clinical Periodontology*, (Elsevier, Saunders).
16. Wolf H, F., Rateitschak E, M., Rateitschak K, H., and Hassell T, M. (2005). *Color Atlas of Dental Medicine Periodontology*. (Thieme).
17. Pindborg, J.J., Reichart, P., Smith, C.J., and van der Waal, I. (1997). *World Health Organization: Histological Typing of Cancer and Precancer of the Oral Mucosa*, (Berlin: Springer- Verlag).
18. Amagasa, T., Yamashiro, M., and Uzawa, N. (2011). *Oral premalignant lesions: from a clinical perspective. International Journal of Clinical Oncology* 16, 5-14.
19. Axell, T., Pindborg, J.J., Smith, C.J., and van der Waal, I. (1996). *Oral white lesions with special reference to precancerous and tobacco- related lesions: conclusions of an international symposium held in Uppsala, Sweden, May 18-21 1994. International Collaborative Group on Oral White Lesions. Journal of Oral Pathology and Medicine* 25, 49-54.
20. Marx, R.E, Stern, D. (2003). *Oral and Maxillofacial Pathology, A Rationale for Diagnosis and Treatment*. (Quintessence Publishing).
21. Roodenburg, J.L, Panders, A.K, and Vermey, A. (1991). *Carbon dioxide laser surgery of oral leukoplakia. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 71, 670-4.
22. Ishii, J., Fujita, K., Munemoto, S., and Komori, T. (2004). *Management of oral leukoplakia by laser surgery: relation between recurrence and malignant transformation and clinicopathological features. Journal of Clinical Medicine and Laser Surgery* 22, 27-33.
23. Yang, S.W., Lee, Y.S., Chang, L.C., Hsieh, T.Y., and Chen, T.A. (2015). *Outcome of excision of oral erythroplakia. The British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 53, 142-7.
24. Hashibe, M., Mathew, B., and Kuruvilla, B. et al. (2000). *Chewing tobacco, alcohol, and the risk of erythroplakia. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 9, 639-45.
25. Reichart, P.A., and Philipsen, H.P. (2005). *Oral erythroplakia-a review. Oral Oncology* 41, 551-61.
26. Sciubba, J.J. (2001). *Oral cancer. The importance of early diagnosis and treatment. American Journal of Clinical Dermatology* 2, 239-51.
27. Barnes, L., Eveson, J.W., Reichart, P., and Sidransky, D. (2005). *World Health Organisation Classification of Tumors*. (Lyon: IARC Press).

28. Ho, M.W., Risk, J.M., and Woolgar, J.A. et al. (2012). *The clinical determinants of malignant transformation in oral epithelial dysplasia*. **Oral Oncology** 48, 969-76.
29. Fleskens, S., and Slootweg, P. (2009). *Grading systems in head and neck dysplasia: their prognostic value, weaknesses and utility*. **Head and Neck Oncology** 1, 11.
30. Ho, M.W., Field, E.A., and Field JK, et al. (2013). *Outcomes of oral squamous cell carcinoma arising from oral epithelial dysplasia: Rationale for monitoring premalignant oral lesions in a multidisciplinary clinic*. **The British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery** 51, 594-9.
31. Schepman, K.P., van der Meij, E.H., Smeele, L.E., and van der Waal, I. (1998). *Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from The Netherlands*. **Oral Oncology** 34, 270-5.
32. van der Waal, I., Schepman, K.P., van der Meij, E.H., and Smeele, L.E. (1997). *Oral leukoplakia: a clinicopathological review*. **Oral Oncology** 133, 291-301.
33. Zhang, L., Poh, C.F., Lam, and W.L. et al. (2001). *Impact of localized treatment in reducing risk of progression of low-grade oral dysplasia: molecular evidence of incomplete resection*. **Oral Oncology** 37, 505-12.
34. Holmstrup, P., Vedtofte, P., Reibel, J., and Stoltze, K. (2006). *Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions*. **Oral Oncology** 42, 461-74.
35. Cabay, R.J., Morton, T.H., and Epstein, J.B. (2007). *Proliferative verrucous leukoplakia and its progression to oral carcinoma: a review of the literature*. **Journal of Oral Pathology and Medicine** 36, 255-61.
36. Hamadah, O., Goodson, M.L., and Thomson, P.J. (2010). *Clinicopathological behaviour of multiple oral dysplastic lesions compared with that of single lesions*. **The British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery** 48, 503-6.
37. Kumar, M., Cotran, R.S., Robbins, S.L., and Çevikbaş, U. (2000). *Basic Pathology - Temel Patoloji*. (Elma Basım).
38. Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., and Mazur, M. (2006). *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*. **Chemico-Biological Interactions** 160, 1-40.
39. Apostolou, A., Stagos, D., and Galitsiou, E. et al. (2013). *Assessment of polyphenolic content, antioxidant activity, protection against ROS-induced DNA damage and anticancer activity of Vitis vinifera stem extracts*. **Food Chemical Toxicology** 61, 60-8.
40. Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd edition. (London: Oxford University Press Inc).

41. Finkel, T., and Holbrook, N.J. (2000). *Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing*. **Nature** 408, 239-47.
42. Mylonas, C., and Kouretas, D. (1999). *Lipid peroxidation and tissue damage*. **In Vivo** 13, 295-309.
43. Osawa, T. (1999). *Protective role of dietary polyphenols in oxidative stress*. **Mechanisms of Ageing and Development** 111, 133-9.
44. Zhang, D., Yasuda, T., and Yu, Y. et al. (1996). *Ginseng extract scavenges hydroxyl radical and protects unsaturated fatty acids from decomposition caused by iron-mediated lipid peroxidation*. **Free Radical Biology and Medicine** 20, 145-50.
45. Odabasoglu, F., Aslan, A., and Cakir, A. et al. (2004). *Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species*. **Phytotherapy Research** 18, 938-41.
46. Lichtenthaler, R., Marx, F., and Kind, O.M. (2003). *Determination of antioxidative capacities using an enhanced total oxidant scavenging capacity (TOSC) assay*. **European Food Research Technology** 216, 166-73.
47. Chin, Y.W., Jung, H.A., and Liu, Y. et al. (2007). *Anti-oxidant constituents of the roots and stolons of licorice (Glycyrrhiza glabra)*. **Journal of Agricultural Food and Chemistry** 55, 4691-7.
48. Stagos, D., Kazantzoglou, G., and Magiatis, P., et al. (2005). *Effects of plant phenolics and grape extracts from Greek varieties of Vitis vinifera on Mitomycin C and topoisomerase I-induced nicking of DNA*. **International Journal of Molecular Medicine** 15, 1013-22.
49. Mortelmans, K., and Zeiger, E. (2000). *The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay*. **Mutation Research** 455, 29-60.
50. Ames, B.N., Durston, W.E., Yamasaki, E., and Lee, F.D. (1973). *Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection*. **Proceedings National Academy of Sciences of the United States of America** 70, 2281-5.
51. Baskaran, N., Manoharan, S., Karthikeyan, S., and Prabhakar, M.M. (2012). *Chemopreventive potential of coumarin in 7, 12-dimethylbenz[a] anthracene induced hamster buccal pouch carcinogenesis*. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention** 13, 5273-9.
52. Manoharan, S., Sindhu, G., Vinothkumar, V., and Kowsalya, R. (2012). *Berberine prevents 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis: a biochemical approach*. **European Journal of Cancer Prevention** 21, 182-92.

53. Manoharan, S., Wani, S.A., and Vasudevan, K. et al. (2013). *Saffron reduction of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 14, 951-7.
54. Palanimuthu, D., Baskaran, N., Silvan, S., Rajasekaran, D., and Manoharan, S. (2012). *Lupeol, a bioactive triterpene, prevents tumor formation during 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced oral carcinogenesis. Pathology Oncology Research* 18, 1029-37.
55. Casto, B.C., Knobloch, T.J., and Galioto, R.L., et al. (2013). *Chemoprevention of oral cancer by lyophilized strawberries. Anticancer Research* 33, 4757-66.
56. Ali, H., Dixit, S., and Ali, D., et al. (2015). *Isolation and evaluation of anticancer efficacy of stigmasterol in a mouse model of DMBA-induced skin carcinoma. Drug, Design, Development Therapy* 9, 2793-800.
57. Baskaran, N., Manoharan, S., Balakrishnan, S., and Pugalendhi, P. (2010). *Chemopreventive potential of ferulic acid in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis in Sprague-Dawley rats. European Journal of Pharmacology* 637, 22-9.
58. Goker, H., Haznedaroglu, I.C., and Ercetin, S., et al. (2008). *Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper. The Journal of International Medical Research* 36, 163-70.
59. Karabıyık A. (2011). *Ankaferd ve Defibrotid'in endotel hücre modelinde Endotelial Protein C Reseptörü (EPCR), Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1 (PAI-1) ve Trombin reseptörü (PAR-1) gen ekspresyonları üzerindeki etkisinin araştırılması*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, ANKARA.
60. Sheela, M.L., Ramakrishna, M.K., and Salimath, B.P. (2006). *Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by Glycyrrhiza glabra. International Immunopharmacology* 6, 494-8.
61. Christensen, S.B., Ming, C., and Andersen, L., et al. (1994). *An antileishmanial chalcone from Chinese licorice roots. Planta Medica* 60, 121-3.
62. Vaya, J., Belinky, P.A., and Aviram, M. (1997). *Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. Free Radical Biology and Medicine* 23, 302-13.
63. Mauricio, I., Francischetti, B., Monteiro, R.Q., and Guimaraes, J. A. (1997). *Identification of glycyrrhizin as a thrombin inhibitor. Biochemical and Biophysical Research Communications* 235, 259-63.
64. Yokota, T., Nishio, H., Kubota, Y., and Mizoguchi, M. (1998). *The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. Pigment Cell Research* 11, 355-61.

65. van Rossum, T.G., Vulto, A.G., Hop, and W.C. (1999). *Intravenous glycyrrhizin for the treatment of chronic hepatitis C: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase I/II trial.* **Journal of Gastroenterology and Hepatology** 14, 1093-9.
66. El-Nekeety, A.A., Mohamed, S.R., and Hathout, A.S., et al. (2011). *Antioxidant properties of Thymus vulgaris oil against aflatoxin-induced oxidative stress in male rats.* **Toxicon** 57, 984-91.
67. Ye, X., Krohn, R.L., and Liu, W., et al. (1999). *The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells.* **Molecular Cellular Biochemistry** 196, 99-108.
68. Shrotriya, S., Deep, G., and Gu, M., et al. (2012). *Generation of reactive oxygen species by grape seed extract causes irreparable DNA damage leading to G2/M arrest and apoptosis selectively in head and neck squamous cell carcinoma cells.* **Carcinogenesis** 33, 848-58.
69. Sun, T., Chen, Q.Y., Wu, L.J., Yao, X.M., and Sun, X.J. (2012). *Antitumor and antimetastatic activities of grape skin polyphenols in a murine model of breast cancer.* **Food and Chemical Toxicology** 50, 3462-7.
70. Agarwal, C., Sharma, Y., and Agarwal, R. (2000). *Anticarcinogenic effect of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in human prostate carcinoma DU145 cells: modulation of mitogenic signaling and cell-cycle regulators and induction of G1 arrest and apoptosis.* **Molecular Carcinogenesis** 28, 129-38.
71. Agarwal, C., Singh, R.P., Dhanalakshmi, S., and Agarwal, R. (2004). *Anti-angiogenic efficacy of grape seed extract in endothelial cells.* **Oncology Reports** 11, 681-5.
72. Zhao, J., Wang, J., Chen, Y., and Agarwal, R. (1999). *Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation-promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent.* **Carcinogenesis** 20, 1737-45.
73. Giovannelli, L., Innocenti, M., and Santamaria, A.R., et al. (2014). *Antitumoural activity of viniferin-enriched extracts from Vitis vinifera L. cell cultures.* **Natural Product Research** 28, 2006-16.
74. Aghbali, A., Hosseini, S.V., and Delazar, A., et al. (2013). *Induction of apoptosis by grape seed extract (Vitis vinifera) in oral squamous cell carcinoma.* **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences** 13, 186-91.
75. Ray, S.D., Kumar, M.A., and Bagchi, D. (1999). *A novel proanthocyanidin IH636 grape seed extract increases in vivo Bcl-XL expression and prevents acetaminophen-induced programmed and unprogrammed cell death in mouse liver.* **Archives of Biochemistry and Biophysics** 369, 42-58.

76. Matsuda, H., Ando, S., Kato, T., Morikawa, T., and Yoshikawa, M. (2006). *Inhibitors from the rhizomes of Alpinia officinarum on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. Bioorganic and Medicinal Chemistry* 14, 138-42.
77. Legssyer, A., Ziyat, A., and Mekhfi, H., et (2002). *Cardiovascular effects of Urtica dioica L. in isolated rat heart and aorta. Phytotherapy Research* 16, 503-7.
78. Öztemel, A. (2013). *Ankaferd Blood Stopper'ın kemik dokusu iyileşmesi üzerine olan etkilerinin deneysel olarak incelenmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, ANKARA.*
79. Kurdoğlu, B. (2013). *Ankaferd Blood Stopper ile düşük enerji seviyeli lazerin sinir dokusu iyileşmesi üzerine etkilerinin histopatolojik olarak karşılaştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, ANKARA.*
80. Aktas, A., Er, N., and Onur, M.A. (2010). *Effects of Ankaferd Blood Stopper on Vascular response in rat carotid artery. International Journal of Hematology and Oncology* 20, 156-62.
81. Ercetin, S., Haznedaroğlu, I.C., Mevlut, Kurt., Onal, I., K, Aktas, A., Kurt, O.K., Goker, H., Ozdemir, O., Kirazlı, S., and Fırat, H.C. (2010). *Safety and efficacy of Ankaferd Blood Stopper in Dental Surgery. International Journal of Hematology and Oncology* 20, 1-5.
82. Aktas, A., Er, N., Onur, M.A., Tan, G., and Hayran, M. (2011). *Effects of Ankaferd Blood Stopper on nerve conductance: an experimental study on the rat sciatic nerve. International Journal of Hematology and Oncology* 21, 1-6.
83. Dhanarasu, S., Selvam, M., Salama, S.M., Shanmugam, M., and Sethuraman, P. (2010). *Terminalia Arjuna (Roxb.) Modulates Circulatory Antioxidants on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene- induced Hamster Buccal Pouch Carcinogenesis. Oman Medical Journal* 25, 276-81.
84. Panjamurthy, K., Manoharan, S., Nirmal, M.R., and Vellaichamy, L. (2009). *Protective role of Withaferin-A on immunoexpression of p53 and bcl-2 in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced experimental oral carcinogenesis. Investigational New Drugs* 27, 447-52.
85. Boyle, P., and Levin, B. (2008). *Dünya Sağlık Örgütü, Dünya Kanseri Raporu 2008. (Lyon: WHO Press)*
86. İnternet: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fkanser.gov.tr%2FDosya%2Fca_istatistik%2F2009kanseraporu.pdf&date=2015-06-21 (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6ZS9MaKsl>) Son Erişim Tarihi: 21.06.2015

87. Fonseca, R.J., Marciani, R.D., and Turvey, T.A. (2009). *Oral and Maxillofacial Surgery Second Edition*. (United States: Saunders, Elsevier)
88. Mallath, M.K., Taylor, D.G., and Badwe, R.A., et al. (2014). *The growing burden of cancer in India: epidemiology and social context*. **The Lancet Oncology** 15, e205-12.
89. Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., and Lortet-Tieulent, J., et al. (2013). *Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012*. **European Journal of Cancer** 49, 1374-403.
90. Internet: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.cancer.org%2Facs%2Fgroups%2Fcontent%2F%40research%2Fdocuments%2Fwebcontent%2Facspsc-042151.pdf&date=2015-06-21>(Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6ZS8QhxNu>)Son Erişim Tarihi: 21.06.2015
91. Kavitha, K., Thiagarajan, P., Rathna, J., Nandhini, J., Mishra, R., and Nagini, S. (2013). *Chemopreventive effects of diverse dietary phytochemicals against DMBA-induced hamster buccal pouch carcinogenesis via the induction of Nrf2-mediated cytoprotective antioxidant, detoxification, and DNA repair enzymes*. **Biochimie** 95, 1629-39.
92. Krishnakumar, N., Sulfikkarali, N.K., Manoharan, S., and Venkatachalam, P. (2013). *Raman spectroscopic investigation of the chemopreventive response of naringenin and its nanoparticles in DMBA-induced oral carcinogenesis*. **Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy** 115, 648-53.
93. Krishnaveni, M., and Mirunalini, S. (2012). *Chemopreventive efficacy of Phyllanthus emblica L. (amla) fruit extract on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced oral carcinogenesis--a dose-response study*. **Environmental Toxicology and Pharmacology** 34, 801-10.
94. Tabaczar, S., Domeradзка, K., and Czepas, J., et al. (2015). *Anti-tumor potential of nitroxyl derivative Pirolin in the DMBA-induced rat mammary carcinoma model: A comparison with quercetin*. **Pharmacological Reports** 67, 527-34.
95. Al-Saeedi, F.J. (2014). *Study of the cytotoxicity of asiaticoside on rats and tumour cells*. **BMC Cancer** 14, 220.
96. Tan, X.G., Yang, Z.L., Yang, L.P., and Miao, X.Y. (2014). *Expression of DNA-repair proteins and their significance in pancreatic cancer and non-cancerous pancreatic tissues of Sprague-Dawley rats*. **World Journal of Surgical Oncology** 12, 32.
97. Szaefer, H., Krajka-Kuzniak, V., and Ignatowicz, E., et al. (2014). *The effect of cloudy apple juice on hepatic and mammary gland phase I and II enzymes induced by DMBA in female Sprague-Dawley rats*. **Drug and Chemical Toxicology** 37, 472-9.

98. Feng, M., Feng, C., and Yu, Z., et al. (2015). *Histopathological alterations during breast carcinogenesis in a rat model induced by 7,12-Dimethylbenz (a) anthracene and estrogen-progestogen combinations*. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine** 8, 346-57.
99. Guo, J.C., Li, J., and Yang, Y.C., et al. (2013). *Oligonucleotide microarray identifies genes differentially expressed during tumorigenesis of DMBA-induced pancreatic cancer in rats*. **PLoS One** 8, e82910.
100. Szaefer, H., Krajka-Kuzniak, V., Ignatowicz, E., Adamska, T., and Baer-Dubowska, W. (2014). *Evaluation of the effect of beetroot juice on DMBA-induced damage in liver and mammary gland of female Sprague-Dawley rats*. **Phytotherapy Research** 28, 55-61.
101. Moselhy, S.S., Kumosani, T.A., Al-Malki, A.L., and Naif, A.A. (2015). *Biochemical modulation of cell energy by 2-deoxyglucose and malonate in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced carcinogenesis in rats*. **Toxicol and Industrial Health** 31, 343-50.
102. Vinothkumar, V., Manoharan, S., Sindhu, G., Nirmal, M.R., and Vetrichelvi, V. (2012). *Geraniol modulates cell proliferation, apoptosis, inflammation, and angiogenesis during 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis*. **Molecular and Cellular Biochemistry** 369, 17-25.
103. Sulfikkarali, N., Krishnakumar, N., Manoharan, S., and Nirmal, R.M. (2013). *Chemopreventive efficacy of naringenin-loaded nanoparticles in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced experimental oral carcinogenesis*. **Pathology Oncology Research** 19, 287-96.
104. Manoharan, S., Palanimuthu, D., Baskaran, N., and Silvan, S. (2012). *Modulating effect of lupeol on the expression pattern of apoptotic markers in 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene induced oral carcinogenesis*. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention** 13, 5753-7.
105. Arduino, P.G., Surace, A., and Carbone, M., et al. (2009). *Outcome of oral dysplasia: a retrospective hospital-based study of 207 patients with a long follow-up*. **Journal of Oral Pathology and Medicine** 38, 540-4.
106. Brennan, M., Migliorati, C.A., and Lockhart, P.B., et al. (2007). *Management of oral epithelial dysplasia: a review*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics** 103, e1-12.
107. Liu, W., Bao, Z.X., Shi, L.J., Tang, G.Y., and Zhou, Z.T. (2011). *Malignant transformation of oral epithelial dysplasia: clinicopathological risk factors and outcome analysis in a retrospective cohort of 138 cases*. **Histopathology** 59, 733-40.

108. Lumerman, H., Freedman, P., and Kerpel, S. (1995). *Oral epithelial dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics** 79, 321-9.
109. Rajasekaran, D., Manoharan, S., and Silvan, S., et al. (2012). *Proapoptotic, anti-cell proliferative, anti-inflammatory and anti-angiogenic potential of carnosic acid during 7,12 dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis*. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines** 10, 102-12.

EKLER

EK-1 Etik kurul onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/165-24522
KONU :

10/12/2012

Sayın

Doç.Dr.Esra AKKOL
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakognози Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Esra AKKOL, Dilek UĞAR ÇANKAL, İpek SÜNTAR, Murat ÖZLE ve Hikmet KELEŞ'ten oluşan, G.Ü.ET-12.094 kod numaralı ve "*Ankaferd'in ratlarda oluşturulan 7,12-dimetil benz[*a*]antracen-nedenli oral mukoza karsinomunu tedavi edici etkisinin araştırılması*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-12.094 and entitled "*Investigation of the Therapeutic Effect of Ankaferd on 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene-induced Rat Buccal Pouch Carcinogenesis*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste

L. AÇIK

Prof.Dr.Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ**Kişisel Bilgiler**

Soyadı, adı : Özle, Murat
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 15.05.1986
Medeni hali : Evli
Telefon : 0 312 203 41 42
e-mail : muratozle@yahoo.com



Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi/ Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Devam ediyor
Lisans	Yeditepe Üniversitesi/ Diş Hekimliği	2009
Lise	İstanbul Köy Hizmetleri Anadolu Lisesi	2004
Orta Okul	Bilfen İlköğretim Okulu	2001
İlkokul	Nurettin Teksan İlköğretim Okulu	1996

Yabancı Dil

İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği

Bilimsel Etkinlikler

Yayınlar

1. Gümüřok M, **Özle M**, Küçükkurt S, Barış E, Üçok Ö. Büyük Boyutlu Nazopalatin Kanal Kisti: Olgu Sunumu. Atatürk Ün. Diş Hek. Fak. Derg. 2015;10;6-9.
2. Gümüřok M, **Özle M**, Okur B, Seçkin A, Museyibov F, Üçok Ö, Çetiner S. Multiple Large Periferal Giant Cell Granuloma: A Case Report. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, doi: 10.5505/2015.09709

Posterler

1. Bozkaya S, **Özle M**, Çankal D, Barış E. The Treatment of Capillary Hemangioma Located at Upper Jaw with Cryotherapy: Case Report, 18 th International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 2-6 October, 2011; Antalya, Türkiye.
2. Okur B, **Özle M**, Çetiner S. Oroantral İlişkinin Bukkal Yağ Dokusu Flebi Teknięi Kullanılarak Kapatılması, İstanbul Üniversitesi 6. Uluslararası Bilimsel Kongresi, 21-23 Kasım, 2013; İstanbul, Türkiye.
3. Gümüřok M, **Özle M**, Seçkin A, Okur B, Museyibov F, Üçok Ö, Çetiner S. Multiple Large Periferal Giant Cell Granuloma: A Case Report, 101st FDI Annual World Dental Congress, 28-31 Ağust 2013; İstanbul, Türkiye.
4. Gümüřok M, **Özle M**, Barış E, Güngör K, Çetiner S. A Large Keratocystic Odontogenic Tumour Causing Parasthesia in Mandible: Case Report, 21 st International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 18-22 May, 2014; Bodrum, Türkiye.
5. Küçükkurt S, **Özle M**, Moharremnejad N, Şimşek B. Pheriperal Osteoma Arising from the Genial Tubercle Area, 22 nd International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 19-22 May, 2015; Bodrum, Türkiye.

6. Bozkaya S, **Özle M**, Çakır M, Gültekin E. Kutner Tumour of the Hard Palate: A Case Report, 22 nd International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 19-22 May, 2015; Bodrum, Türkiye.
7. **Özle M**, Bozkaya S, Öğütlü F. Broken Dental Elavator , 22 nd International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 19-22 May, 2015; Bodrum, Türkiye.
8. **Özle M**, Çankal D, Akkol A, İlhan M, Keleş H. The Effect of Ankaferd Blood Stopper on 7, 12---Dimethylbenz[A]Antherence Induced Oral Epithelial Dysplasia, 22 nd International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 19-22 May, 2015; Bodrum, Türkiye.
9. **Özle M**, Küçükkurt S, Çetiner S, Dimililer G, Sengüven B. Heck's Disease: A Case Report, Küçükkurt S, 22 nd International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 19-22 May, 2015; Bodrum, Türkiye.
10. Küçükkurt S, **Özle M**, Çetiner S. Treatment of A Large Dentigerous Cyst in Child Using Decompression Tecnique: A Case Report, 22 nd International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 19-22 May, 2015; Bodrum, Türkiye.
11. Küçükkurt S, **Özle M**, Çetiner S. Nasal Floor Agumentation and Simultaneous Dental Implant Placement: A Case Report, 22 nd International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 19-22 May, 2015; Bodrum, Türkiye.
12. Küçükkurt S, **Özle M**, Serif Rzayev. Pilonidal Cyst of the Chin: Mistreated As Dental Fistula, 22 nd International Scientific Congress of Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery, 19-22 May, 2015; Bodrum, Türkiye.



GAZİ GELECEKTİR..