



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAYDARPAŞA NUMUNE SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ-BOYUN CERRAHİSİ KLİNİĞİ

İŞINLANMIŞ SIÇAN LARENKS MUKOZASINDA N-ASETİLSİSTEİN'İN
RADYOPROTEKTİF VE ANTİİNFLAMATUAR ETKİLERİNİN
HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Mustafa ESER

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2023



T.C.

SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAYDARPAşA NUMUNE SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
KULAK BURUN BOğAZ VE BAş-BOYUN CERRAHİSİ KLİNİğİ

İşINLANMIş SIçAN LARENKS MUKOZASINDA N-ASETİLSİSTEİNİN
RADYOPROTEKTİF VE ANTİİNFLAMATUAR ETKİLERİNİN
HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
DEğERLENDİRİLMESİ

Dr. Mustafa ESER

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Çiğdem Tepe Karaca

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL 2023

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca en iyi şekilde yetişebilmem için bilgi, birikim ve deneyimlerini esirgemeyen sadece tıbbi pratiğini değil tıbbi etiğini ve çalışma disiplini de örnek aldığım her konuda desteğini üzerimde hissettiğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. Sema Zer Toros'a,

Birikim ve tecrübelerini sabır ve içtenlikle aktaran hem tıbbi hem sosyal olarak her zaman yanımda olan birlikte çalışmaktan büyük onur duyduğum değerli tez danışmanı hocam Doç. Dr. Çiğdem Tepe Karaca'ya,

Tecrübesi, cesareti ve öğretme isteğini her zaman en üst seviyede tutan değerli hocam Doç. Dr. Ayşegül Verim'e,

Asistanlığım boyunca statüyü bir kenara koyup kardeşi gibi davranan, tecrübelerini ve vakitlerini içtenlikle paylaşarak eğitimimde büyük emekleri olan kliniğimizin mevcut ve ayrılan uzmanları; Doç. Dr. Selçuk Yıldız, Op. Dr. Lütfü Şeneldir, Op. Dr. Ömer Çağatay Ertugay, Op. Dr. Önder İhvan, Op. Dr. Taner Özdemir, Op. Dr. Emre Gürkan, Op. Dr. Fatma Gülüm İvgin Bayraktar, Op. Dr. Özgür Karameşe, Op. Dr. Nihal Alkan Taşçı, Op. Dr. Gökçe Tanyeri Toker'e,

Tez çalışmamın histopatolojik incelemelerini gerçekleştiren Uzm. Dr. Zuhâl Özcan'a, laboratuvar çalışmalarının her basamağında emeğini esirgemeyen Doç. Dr. Eray Metin Güler'e, hem ışınlama esnasında hem de diğer basamaklarda desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Serhat Aras'a,

Birlikte geçirdiğim beş yıl boyunca gösterdikleri her zorluğa beraber göğüs gerdiğimiz, her güzel anı beraber paylaştığımız; özveri, fedakârlık ve dostlukları için tüm kıdemlilerim ve asistan arkadaşlarıma,

KBB kliniğimizin hemşirelerine, odyolog ve personellerine,

Eğitim hayatımın başından beri bana desteğini esirgemeyen ilköğretim öğretmenim İsa Çetin'e,

Bugünlere gelmemi sağlayan ve yaşamım boyunca sevgi ve desteğini benden esirgemeyen kıymetli annem, babam ve abilerime, her zaman sevgisi ve desteği ile yanımda olan değerli eşim, yol arkadaşım Dr. Ayşenur Özdil Eser'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Dr. Mustafa ESER

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
KISALTMALAR	V
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
RESİMLER DİZİNİ	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT.....	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. LARENKSE AİT ÖZELLİKLER	3
2.1.1. Larenks Embriyolojisi.....	3
2.1.2. Larenks Anatomisi.....	4
2.1.2.1. Larenks İskeleti	5
2.1.2.2. Larenks Bölümleri ve Önemli Boşluklar	7
2.1.2.4. Larenks Lenfatik Drenajı.....	8
2.1.2.5. Larenks İnnervasyonu	9
2.1.3. Larengeal Mukoza ve Histoloji.....	9
2.1.4. Larenks Fizyolojisi.....	10
2.1.4.1. Ses Üretimi (Fonasyon).....	10
2.1.4.2. Sfinkter Fonksiyonu: Koruma ve Regülasyon	10
2.1.4.3. Öksürme.....	11
2.2. SIÇAN LARENKSİNE AİT ÖZELLİKLER	11
2.2.1. Sıçan Larenksi İskeleti	12
2.2.1.1. Sıçan Larenksi Kıkırdakları	12
2.2.1.2. Sıçan Larenksi Kasları	13
2.2.2. Sıçan Larenksi İnnervasyonu	14
2.2.3. Sıçan Larenksi Kıvrımları ve Bölümleri	14
2.2.4. Sıçan Larenksi Mukozası	14
2.2.5. Sıçan Larenksinin Kesitlere Ayrılması	15

2.3. RADYOTERAPİ (IŞIN TEDAVİSİ).....	16
2.3.1. Etki Mekanizması	16
2.3.2. Baş-Boyun Kanserlerindeki Önemi	17
2.3.3. Yan Etkileri	18
2.3.3.1. Sistemik Yan Etkileri.....	18
2.3.3.2. Lokal (Baş-Boyun Bölgesi) Yan Etkileri.....	18
2.4. N-ASETİLSİSTEİN (NAC)	19
2.4.1. Farmakodinamisi ve Farmakokinetiği.....	19
2.4.2. Yan Etkileri	20
2.4.3. Etki Mekanizması	20
2.4.3.1. Antioksidan Etkileri.....	21
2.4.3.2. Antiinflatuar Etkileri.....	21
2.4.3.3. Radyoprotektif Etkileri	22
2.5. OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN DENGESİ	22
2.5.1. Total Oksidan Seviyesi (TOS) ve Total Antioksidan Seviyesi (TAS).....	23
2.5.2. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ).....	24
2.5.3. Total ve Native Tiyoil Düzeyi.....	24
2.5.4. Disülfid Düzeyi	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. ARAŞTIRMANIN TİPİ.....	26
3.2. DENEY HAYVANI ÖZELLİKLERİ VE BARINMA ŞARTLARI	27
3.3. ÇALIŞMANIN TASARIMI	28
3.3.1. Deney Gruplarının Belirlenmesi.....	28
3.3.2. Işınlama Protokolü	29
3.3.3. Serum Eldesi ve Muhafazası.....	30
3.3.4. Cerrahi Teknik.....	32
3.3.5. Histopatolojik İnceleme.....	33
3.3.6. Biyokimyasal İnceleme	34
4. BULGULAR	36
4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR	36
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	43
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ.....	64

7. KAYNAKLAR	65
8. ÖZGEÇMİŞ.....	73
9. EKLER.....	75
9.1. TEZ KONUSU ONAY FORMU	75
9.2. ETİK KURUL ONAY FORMU.....	76



KISALTMALAR

- ABD:** Amerika Birleşik Devletleri
ACA: Alar krikoaritenoid kas
CAT: Katalaz
DNA: Deoksiribonükleik asit
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
FDA: Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration)
GPO: Glutasyon peroksidaz
GSH: Glutasyon
Gy: Gray (radyasyon birimi kısaltması)
IFN: İnterferon
IL: İnterlökin
LAIC: Larengeal alar kıkırdak
NAC: N-asetilsistein
NF- κ B: Nükleer faktör kapp B
OSİ: Oksidatif stres indeksi
PMNL: Polimorf nüveli lökosit
RNS: Reaktif nitrojen türleri
ROS: Reaktif oksijen türleri
SCA: Superior krikoaritenoid kas
SOD: Süperoksit Dismütaz
TNF: Tümör nekroz faktör
TOS: Total oksidan seviye
TAS: Total antioksidan seviye

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Sıçan grupları ve özellikleri	28
Tablo 2. Larenks kesitlerinde kullanılan histopatolojik değerlendirme ölçeği	33
Tablo 3. Gruplar arasında total oksidan seviye, total antioksidan seviye ve oksidatif stres indeksi bulgularının karşılaştırılması.....	36
Tablo 4. Gruplar arasında total tiyol, native tiyol ve disülfit ölçümlerinin karşılaştırılması.....	39
Tablo 5. Gruplar arasında IL-1 β , IL-6 ve TNF düzeylerinin karşılaştırılması	41
Tablo 6. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait ödem bulgularının karşılaştırılması.....	45
Tablo 7. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait vasküler dilatasyon bulgularının karşılaştırılması	47
Tablo 8. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait psödostratifikasyon bulgularının karşılaştırılması	49
Tablo 9. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait inflamasyon bulgularının karşılaştırılması....	50
Tablo 10. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait siliyer kayıp bulgularının karşılaştırılması..	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Larenks gelişiminin (4, 5, 6. farengeal ark) şematik görünümü (5).....	3
Şekil 2. Larenks eksternal anatomisi (anterolateral görünüm) (8).....	5
Şekil 3. Larenksin innervasyonu (11).....	8
Şekil 4. Sıçan larenksinin mid-sagittal kesitsel anatomisi (19).....	12
Şekil 5. Sıçan larengeal kaslarına ait özellikler (22).....	13
Şekil 6. Sıçan larenksinin kesitlere ayrılması: Üç kesit önerisi (24).....	15
Şekil 7. Total oksidan seviyelerinin gruplara göre dağılımı.....	37
Şekil 8. Total antioksidan seviyelerinin gruplara göre dağılımı.....	38
Şekil 9. Oksidatif stres indeksinin gruplara göre dağılımı.....	38
Şekil 10. Total tiyol ölçümlerinin gruplara göre dağılımı.....	40
Şekil 11. Native tiyol ölçümlerinin gruplara göre dağılımı.....	40
Şekil 12. Disülfid ölçümlerinin gruplara göre dağılımı.....	40
Şekil 13. IL-1 β ölçümlerinin gruplara göre dağılımı.....	42
Şekil 14. IL-6 ölçümlerinin gruplara göre dağılımı.....	42
Şekil 15. TNF α ölçümlerinin gruplara göre dağılımı.....	42
Şekil 16. Ortalama ödem skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı.....	45
Şekil 17. Vasküler dilatasyon skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı.....	47
Şekil 18. Psödostrafikasyon skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı.....	49
Şekil 19. İnflamasyon skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı.....	51
Şekil 20. Siliyer kayıp skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı.....	53

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Deney hayvanı özellikleri ve barınma şartları	27
Resim 2. Işınlama protokolünde sıçan pozisyonu	29
Resim 3. Radyoterapi işlemi için doz ekran sayfası ve dozimetrik parametreler	30
Resim 4. Kan örneklerinin alınması	30
Resim 5. Serum eldesinde kullanılan santrifüj cihazı.....	31
Resim 6. Serum örneklerinin muhafaza edildiği -80 °C dolap	31
Resim 7. Sıçan larenksinin ortaya konması	32
Resim 8. Eksize edilen larenksin önden (sol) ve arkadan (sağ) görünümü	32
Resim 9. Biyokimyasal analiz amacıyla kullanılan cihaz	34
Resim 10. Grup 1’de yer alan bir sıçana ait glottik kesit.....	43
Resim 11. Grup 2’de yer alan bir sıçana ait subglottik kesit	43
Resim 12. Grup3’te yer alan bir sıçana ait subglottik kesit.....	44
Resim 13. Grup 4’te yer alan bir sıçana ait supraglottik kesit.....	44
Resim 14. Grup 2’de yer alan bir sıçanda görülen yoğun ödem.....	46
Resim 15. Grup 3’te yer alan bir sıçanda görülen azalmış ödem	46
Resim 16. Grup 2’de yer alan bir sıçanda görülen yoğun vasküler dilatasyon	48
Resim 17. Grup 3’te yer alan bir sıçanda görülen hafif vasküler dilatasyon.....	48
Resim 18. Grup 2’te yer alan bir sıçanda görülen artmış psödostrafikasyon	50
Resim 19. Grup 2’de yer alan bir sıçanda görülen artmış inflamasyon.....	51
Resim 20. Grup 4’te yer alan bir sıçanda görülen azalmış inflamasyon	52
Resim 21. Grup 2’de yer alan bir sıçanda görülen yoğun silya kaybı	54
Resim 22. Grup 3’te yer alan bir sıçanda görülen normal silya	54

IŞINLANMIŞ SIÇAN LARENKS MUKOZASINDA N-ASETİLSİSTEİNİN RADYOPROTEKTİF VE ANTİİNFLAMATUAR ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

GİRİŞ: Hem larengeal kanser hem de radyoterapinin sağlıklı dokuda yol açtığı mukozal hasar, mukoza atrofi ve fibrozis, ses kısıklığı ve disfaji gibi lokal doku hasarı ile ilişkili semptomlarda şiddetlenmeyle sonuçlanabilmektedir. Hayat kalitesini doğrudan etkileyen semptomların palyasyonu amacıyla hem larenks kanseri hem de radyoterapi etkisiyle meydana gelen doku hasarının engellenmesi, klinisyenlerin larengeal kanserlerde cerrahi ve cerrahi dışı tedaviler haricindeki en önemli tedavi hedeflerini oluşturmaktadır. NAC (N-asetilsistein)'in primer kullanım hedefleri antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitesi ile ilişkili olsa da, NAC'ın farklı fizyolojik koşullarda antioksidan ve sitoprotektif kapasitesini hangi mekanizmalar aracılığıyla uyguladığı henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

Çalışmamızın amacı antioksidan, antiinflamatuvar ve radyoprotektif etkilere sahip NAC'ın baş-boyun radyoterapisine sekonder gelişen doku hasarına etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla NAC'ın larenks dokusunda meydana getirdiği biyokimyasal ve histopatolojik etkilerin sağlıklı kontrol grubu, radyasyon uygulanan grup, NAC'ın radyasyon öncesi ve radyasyon sonrası uygulanan olmak üzere dört farklı sıçan grup aracılığıyla karşılaştırmalı bir şekilde incelenmesi hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM: Çalışmamızda birinci grup, kontrol grubu; ikinci grup sadece radyoterapi uygulanan sıçanların yer aldığı grup; üçüncü grup radyoterapi öncesi beş gün boyunca günde bir kez 1gr/kg/gün (insan eşdeğeri biyolojik eşdeğer doz) intraperitoneal NAC (1gr/kg/gün) uygulanan grup; dördüncü grup radyoterapi sonrası 5 gün boyunca günde bir kez NAC (1gr/kg/gün) uygulanan gruptu. Her bir sıçan genel anestezi altında lineer akseleratörden 100 cm uzağa yerleştirildi ,6MV enerjili iyonize X-ışınları ile larenks alanı 15 Gy dozunda ışınlandı. Deney bitiminde patolojik inceleme için larenks eksizyonu yapıldı ve lamina propriada (ödem, vasküler dilatasyon ve

inflamasyon), skuamöz epitelde (inflamasyon) ve respiratuar epiteldeki değişiklikler (silier kayıp ve psödostratifikasyon) değerlendirildi. Elde edilen serum örneklerinden total antioksidan seviye, total oksidan seviye, total tiyol ve natif tiyol düzeyleri fotometrik yöntemler kullanılarak çalışıldı. ELİSA kitleri aracılığıyla IL-1 beta, IL6 ve TNF-alfa düzeyleri çalışıldı. Oksidatif stres indeks ve disülfid düzeyleri ise matematiksel işlemler kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar gruplar arası karşılaştırılarak değerlendirildi.

BULGULAR: Çalışmamızda NAC uygulamasının biyokimyasal parametreler üzerinde anlamlı pozitif değişikliklere yol açtığını tespit ettik. Çalışmamız NAC'ın pozitif histopatolojik değişikliklere yol açtığını gösterse de, radyasyon öncesi ve sonrası NAC uygulanan gruplar ile sadece radyasyon uygulanan grup arasındaki histopatolojik bulgu farklılığı istatistiksel olarak anlamlı değildi.

SONUÇ: Çalışmamızda N-asetilsistein'in radyasyon bağımlı larenks hasarında biyokimyasal ve histopatolojik olarak pozitif etkilerinin olduğu, erken dönem yan etkilerin oluşmasını önleyen antioksidan, antiinflamatuvar ve radyoprotektif bir ajan olduğu görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELELER: radyoterapi, larenks kanseri, N-asetilsistein, NAC, hayvan deneyi, sıan

HISTOPATHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EVALUATION OF THE RADIOPROTECTIVE AND ANTIINFLAMMATORY EFFECTS OF N-ACETYLCYSTEINE IN IRRADIATED RAT LARYNX MUCOSA

ABSTRACT

INTRODUCTION: Mucosal damage to healthy tissue caused by both laryngeal cancer and radiotherapy can result in mucosal atrophy and fibrosis, exacerbation of symptoms associated with local tissue damage such as hoarseness and dysphagia. Preventing tissue damage resulting from both laryngeal cancer and the effects of radiotherapy to palliate symptoms that directly affect the quality of life constitutes a critical treatment objective for clinicians, beyond surgical and non-surgical treatments, in cases of laryngeal cancers. Although the primary usage targets of N-acetylcysteine (NAC) are associated with its antioxidant and anti-inflammatory activities, the mechanisms through which NAC exerts its antioxidant and cytoprotective capacities under various physiological conditions have not yet been fully elucidated.

The objective of our study is to investigate the impact of NAC, possessing antioxidant, anti-inflammatory, and radioprotective effects, on tissue damage secondary to head and neck radiotherapy. To achieve this, we aimed to comparatively examine the biochemical and histopathological effects of NAC on laryngeal tissue through four different rat groups: a healthy control group, a radiation-exposed group, a group receiving NAC prior to radiation, and a group receiving NAC after radiation.

MATERIALS AND METHODS: In our study, the first group was the control group; the second group consisted of rats subjected solely to radiotherapy; the third group received intraperitoneal NAC (1g/kg/day), equivalent to the human biological equivalent dose, once a day for five days before radiotherapy; the fourth group received NAC (1g/kg/day) for 5 days after radiotherapy. Each rat was positioned 100 cm away from the linear accelerator under general anesthesia, and the laryngeal area was irradiated with a 15 Gy dose of 6 MV ionizing X-rays. At the conclusion of the experiment, laryngectomy was performed for pathological examination, and changes in the lamina propria (edema,

vascular dilation, and inflammation), squamous epithelium (inflammation), and respiratory epithelium (ciliary loss and pseudostratification) were evaluated. Total antioxidant level, total oxidant level, total thiol and native thiol levels were determined in serum samples using photometric methods. ELISA kits were used to assess IL-1 beta, IL6, and TNF-alpha levels. Oxidative stress index and disulfide levels were calculated using mathematical operations. Results were evaluated through inter-group comparisons.

FINDINGS: In our study, we found that the application of NAC led to significant positive changes in biochemical parameters. Although our study demonstrated positive histopathological changes caused by NAC, the histopathological difference between the groups receiving NAC before and after radiation and the group receiving radiation alone was not statistically significant.

RESULTS: Our study indicates that N-acetylcysteine has positive biochemical and histopathological effects on radiation-induced laryngeal damage, serving as an antioxidant, anti-inflammatory, and radioprotective agent that prevents the onset of early adverse effects.

KEYWORDS: radiotherapy, laryngeal cancer, N-acetylcysteine, NAC, animal experiment, rat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Larenks, ses üretimi (fonasyon), solunum ve yutma gibi çok sayıda önemli fonksiyonu yerine getiren baş-boyun bölgesinin en önemli organlarından. Üst ve alt solunum yollarının ayrıştığı seviye olan larenks, farenks ile yakın komşuluğu nedeniyle sindirim ve solunum sisteminin kesiştiği stratejik bir konumda yer almaktadır. Farenks ile yakın komşuluğunun doğal bir sonucu, epiglot aracılığıyla nefes alıp verme sırasında trakea ve akciğerleri gıda ve sindirim sistemi artıklarından yani aspirasyondan korumaktır. Aynı zamanda yapısındaki ses telleri ile ses üretimi yani fonasyon için bir ses kutusu işlevi görür. Diğer görevleri arasında konuşma, yutkunma, solunum yer almaktadır.

Larenks patolojileri arasında larenjit ve epiglotit gibi enfektif patolojiler; polip, nodül, kist gibi benign tümörler ve laringeal kanser yer almaktadır. İletişim ve hayati fonksiyonların idamesi nedeniyle larengeal patolojiler başta ses kısıklığı olmak üzere dispne, disfaji, öksürük ve ağrı ortaya çıkarabilmektedir. Başlangıçta ses kısıklığı ve diğer alarm semptomları ile ortaya çıkan larengeal kanserde ilerleyen dönemde kilo kaybı ve büyüyen tümöral doku etkisiyle kitlesel semptomlar ortaya çıkabilmektedir.

Radyoterapi larengeal kanserlerde sıkça kullanılan cerrahi dışı tedavi yöntemlerindedir. Halk arasında ışın tedavisi olarak adlandırılan radyoterapi, yüksek enerjili X ışınları aracılığıyla tümöral dokularda yol açtığı DNA hasarı ile replikasyonu engelleyerek tümöral dokuların büyümesini engelleyerek etki etmektedir. DNA'da çift zincir kırıkları, sinyal üretiminde bozulma, apoptoz ve büyüme faktörlerinin tahrip edilmesi gibi etkileri ile radyoterapi, kanserli dokuların kontrol altına alınmasında kullanılan önemli tedavi araçlarından. Tümöral dokularda reaktif oksijen radikalleri oluşumu, vasküler hasar, hipoksi ve inflamasyon gibi mekanizmalar aracılığıyla etki etmektedir (1). Her ne kadar radyoterapi tümöral dokulara karşı geliştirilen bir tedavi aracı olsa da etkilerinin normal dokularda da hasara yol açması ve tümör spesifik uygulanamaması sahip olduğu en önemli dezavantajlardandır.

Hem larengeal kanser hem de radyoterapinin sağlıklı dokuda yol açtığı mukozal hasar, mukoza atrofisi ve fibrozis ile ses kısıklığı ve disfaji gibi lokal doku hasarı ile ilişkili

semptomlarda şiddetlenmeyle sonuçlanabilmektedir (2). İletişimin en temel ögesi olan konuşma becerisindeki kayıp, yeme-içme gibi temel ihtiyaçların karşılanamaması ve solunum gibi hayati fonksiyonların idame edilememesi istenmeyen etkilerin en önemlilerindedir. Hayat kalitesini doğrudan etkileyen semptomların palyasyonu amacıyla hem larenks kanseri hem de radyoterapi etkisiyle meydana gelen doku hasarının engellenmesi klinisyenlerin larengeal kanserlerde cerrahi ve cerrahi dışı tedaviler haricindeki en önemli tedavi hedeflerini oluşturmaktadır.

N-asetilsistein (NAC) uzun yıllardır parasetamol intoksikasyonu tedavisinde antidot olarak ve yakın dönemde respiratuvar hastalıklarda mukolitik tedavi amacıyla FDA'dan kullanım onayı almış önemli bir ilaçtır. NAC'ın primer kullanım hedefleri antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitesi ile ilişkili olsa da NAC'nın farklı fizyolojik koşullarda antioksidan ve sitoprotektif kapasitesini hangi mekanizmalar aracılığıyla uyguladığı henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (3). Kulak burun boğaz ve baş boyun cerrahisi pratiğinde larengeal kanser tedavisinde sıkça tercih edilen radyoterapinin inflamatuvar hasar ve reaktif oksijen radikali oluşumu gibi etkiler ile kanserli dokuların çoğalmasına engel olduğu bilinmektedir. NAC'ın sahip olduğu antioksidan, antiinflamatuvar ve radyoprotektif etkileri, radyoterapi uygulanan larengeal kanserli hastalarda lokal doku hasarının engellenmesi amacıyla kullanılabileceği fikrini ortaya atmıştır.

Literatürde NAC'ın ışınlanmış larenks dokusunda meydana gelen doku hasarı üzerindeki etkilerini araştıran bir bilimsel çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızın amacı antioksidan, antiinflamatuvar ve radyoprotektif etkilere sahip NAC'ın baş-boyun radyoterapisine sekonder gelişen doku hasarına etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla NAC'ın larenks dokusunda meydana getirdiği biyokimyasal ve histopatolojik etkilerin sağlıklı kontrol grubu, radyasyon uygulanan grup, NAC'ın radyasyon öncesi ve radyasyon sonrası uygulanan olmak üzere dört farklı sıçan grup aracılığıyla karşılaştırmalı bir şekilde incelenmesi hedeflenmiştir.

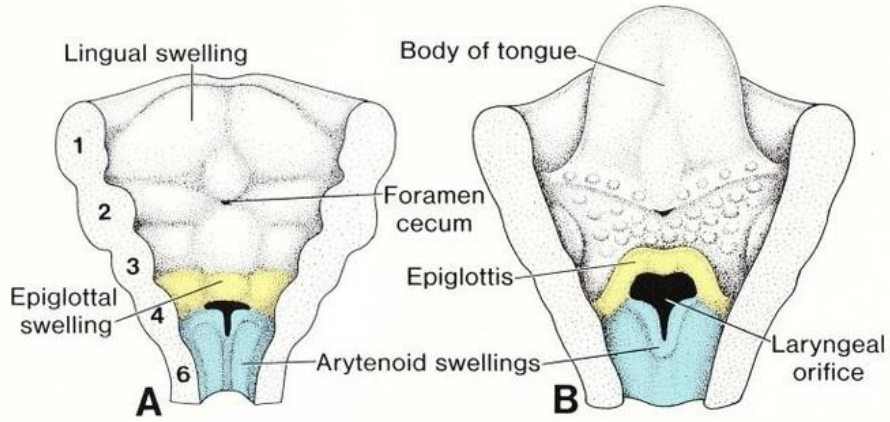
2. GENEL BİLGİLER

2.1. LARENKSE AİT ÖZELLİKLER

Larenks (gırtlak) farenksin devamında ve alt solunum yollarının başlangıcında konumlanmış, ağız ve burnun trakea ve akciğer ile bağlantısını sağlayan, baş-boyun bölgesinin önemli bir bileşenidir.

2.1.1. Larenks Embriyolojisi

Larenks, larengotrakeal tüpün kranial ucunun endodermal tabakasından ve çevreleyen mezenkimden gelişmektedir. Larenk epiteli, larengotrakeal tüpün kranial ucunun endodermal tabakasından gelişirken; larenks, kendisini çevreleyen kıkırdaklarla birlikte 4, 5, ve 6. farengeal arklardan gelişmektedir (Şekil 1). İnsanda ilk larenks, embriyonik yaşamın dördüncü haftasında, larengotrakeal oluk olarak bilinen uzunlamasına bir çentik olarak ilkel farengeal tabana kadar izlenebilmektedir. Daha sonra embriyonik yaşamın beşinci haftasına geldiğinde larengotrakeal oluk ventralde solunum sistemi ve dorsalde özofagus şeklinde özofagotrakeal septumu oluşturacaktır (4).



Şekil 1. Larenks gelişiminin (4, 5, 6. farengeal ark) şematik görünümü (5).

3. ve 4. farengeal arkın ventral kısmında yer alan mezenkimin proliferasyonu ile hipofarengeal eminens oluşur ve hipofarengeal eminens ilerleyen dönemde epiglottisi oluşturmaktadır.

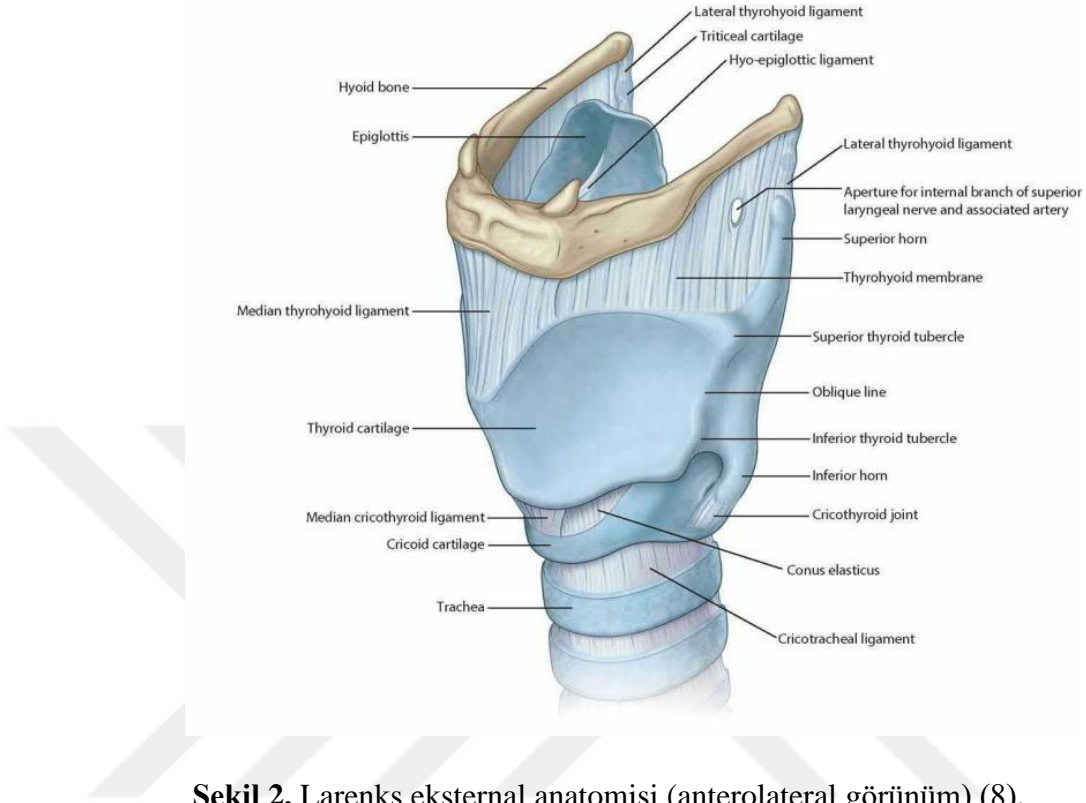
Larengotrakeal tüpün kranial ucunda yerleşen 6. farengeal arkın mezenkimin proliferasyonu ile aritenoid ŐiŐlik meydana gelir. Aritenoid ŐiŐlik dile doğru büyüyerek primordial glottisi meydana getirir. Aritenoid ŐiŐliđin daha da gelişimi sonucunda primordial glottis T Şekilli larengeal giriŐi (inlet) oluşturacaktır (Şekil 1). Aritenoid ŐiŐliđin bir diğer fonksiyonu da larengeal kıkırdakların gelişimi sağlamasıdır. Larengeal kıkırdaklar brankiyal arkın kıkırdak çubuklarından aritenoid ŐiŐlikler içinde geliŐir. Larenks geliŐiminden sorumlu larengotrakeal oluk, alt solunum yollarının diğer organları olan trakea, bronŐlar ve akciğerlerin de geliŐimini sağlamaktadır. Larentotrakeal oluğun proksimali trakea, ortası bronŐlar ve distali ise akciğer geliŐiminden sorumludur (6).

Larenks epitelinin hızlı proliferasyonu larengeal inletin geçici olarak tıkanmasına yol açmaktadır. Larengeal inletin tıkanıklığı, gebeliğin 10. haftasında rekanalizasyon meydana gelmesi ve sonucunda bir çift larengeal ventrikül oluşumu ile sonuçlanır. Larengeal ventriküllerin bağlantısı ilerleyen dönemde gerçek ve yalancı ses tellerine dönüŐecek olan doku tarafından sağlanmaktadır (6).

Larenks gelişimi sırasında 4. ve 6. farengeal arkın innervasyonu n.vagus (10.kranial sinir) tarafından sağlanmaktadır. N.vagusun dalları olan superior larengeal sinir 4. farengeal arkın innervasyonunu sağlarken, rekürren larengeal sinir ise 6. farengeal arkın innervasyonunu sağlar (7).

2.1.2. Larenks Anatomisi

Larenks boyun orta hatta ve n kısımda yerleşen, yetiŐkinde C3-7 vertebralar arasında konumlanmış alt solunum sisteminin önemli bir organıdır. Larenks, ses üretimi (fonasyon), solunum ve yutma gibi çok sayıda önemli fonksiyonu yerine getiren baş-boyun bölgesinin en önemli organlarındanıdır. Larenks, elastik yapısını birbiri ile bağlantılı membran, kıkırdak ve kas dokusu aracılığıyla sağlanmış olup, esnek yapıda doku özelliği sayesinde yüksek elastisiteye sahip bir organdır.



Şekil 2. Larenks eksternal anatomisi (anterolateral görünüm) (8).

2.1.2.1. Larenks İskeleti

Larenks çok sayıda kıkırdak, eklem, ligament, membran ve kaslardan oluşan, anatomik pozisyonunu korumasını sağlayan ve elastik özellik kazandıran bir iskelete sahiptir.

2.1.2.1.1. Larengeal Kıkırdaklar

Larenks kıkırdak dokudan zengin bir organ olup yapısında üç adet tek ve üç adet çift olmak üzere toplamda 9 adet kıkırdak içermektedir. Larenksin tek kıkırdakları yukarıdan aşağıya doğru epiglottis, tiroid ve krikoid kıkırdaktır. Larenksin çift kıkırdakları ise aritenoid, kornikulat ve kuneiform kıkırdaklardır. Kornikulat kıkırdağı santorini kıkırdağı ve kuneiform kıkırdağı ise wrisberg kıkırdağı şeklinde farklı adlandırmalara da sahiptir.

2.1.2.1.2. Larengeal Ligamentler

Larenks, fonksiyonuna ve konumuna göre intrinsek ve ekstrinsek olmak üzere iki farklı ligament türüne sahiptir. Larenks kıkırdaklarının birbiri ile bağlantısını sağlayan ligamentlere intrinsek ligamentler; larenksin hiyoid kemik, trakea gibi komşu organlar ile bağlantısını ve böylece larenksin boyun orta-ön hattaki konumunun devamlılığını sağlayan ligamentlere ise ekstrinsek ligamentler denir.

İntrinsek ligamentler sırasıyla krikotiroid, tiroepiglottik, krikokornikulat, tiroaritenoid ve aritenoepiglottik ligamenttir. Ekstrinsek ligamentler ise tirohiyoid, hiyoepiglottik ve krikotrakeal ligamenttir (4). Larengeal ligamentler arasında uzandığı iki yapının adını içeren bir adlandırmaya sahiptir.

2.1.2.1.3. Larengeal Kaslar

Larengeal kaslar, tıpkı larengeal ligamentler gibi fonksiyonuna ve konumuna göre intrinsek ve ekstrinsek olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. İntrinsek kasların temel fonksiyonu ses üretimi iken, ekstrinsek kaslar çiftler halinde bulunur ve larengeal hareketlerin gerçekleştirilmesini sağlar.

Eksternal kaslardan tirohiyoid, mylohiyoid, stilohiyoid, geniohiyoid ve digastrik kaslar larenksin yükseltilmesini sağlar; omohiyoid, sternohiyoid ve sternotiroid kaslar ise larenksin alçaltılmasını sağlamaktadır. İnternal kaslardan posterior krikoaritenoid kas glottis'in açılmasını sağlar; lateral krikoaritenoid kas, eksternal tiroaritenoid ve transvers-oblik interaritenoid kaslar ise glottisin kapanmasını sağlamaktadır. Krikotiroid kas vokal kordları geren böylece daha yüksek perdeden ses çıkışını sağlayan en önemli larengeal kastır (4).

2.1.2.1.4. Larengeal Membranlar

Larengeal membranlar da tıpkı larengeal kaslar ve ligamentler gibi intrinsek ve ekstrinsek olmak üzere ayrılmaktadır. İntrensek membranlar konus elastikus ve kuadrangüler membran iken; ekstrinsek membranlar ise krikotiroid, tirohiyoid ve krikotrakeal membranlardır. Krikotrakeal membran larenksin trakea ile bağlantısını sağlarken, krikotiroid membran ise üst havayolu obstrüksiyonuna neden olan ve hayati tehlike ortaya çıkaran patolojilerin yönetiminde başvuru koniotomi uygulamasının gerçekleştirildiği membrandır. Krikotiroid membranın cilt ile havayollarının birbirine en yakın olduğu bölge olması koniotomide tercih edilen bölge olmasında en önemli etkidir. Tirohiyoid membranın en önemli özelliği ise içerisinde arter, ven ve nervus laringeus superior'un internal dalının geçmesidir.

2.1.2.2. Larenks Bölümleri ve Önemli Boşluklar

Larenks, vokal kordlara göre ayrılan ve supraglottik, glottik ve subglottik şeklinde adlandırılan üç bölge ile reinke, preepiglottik ve paraglottik şeklinde adlandırılan üç önemli boşluğa sahiptir. Supraglottik bölge epiglot ve aritenoidlerin larengeal yüzeyi, ariepiglottik plika, ventriküller ve band ventriküllerin bulunduğu bölgedir. Glottik bölge vokal kordlar ile ön-arka komissür ve rima glottidis içerir. Subglottik bölge kranial sınırı vokal kordun alt sınırı, kaudal sınırı ise krikoidin alt kenarıdır. Ventral sınır, krikotiroid ligamanın medyan kısmı tarafından, dorsal kısım ise krikoid kırık tarafından oluşturulur (9).

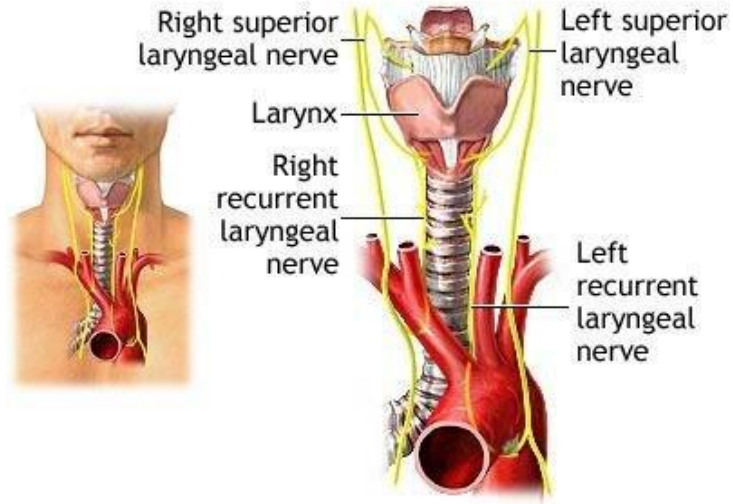
Glottik bölge yetişkin bir insanda hava yolunun en dar olduğu bölge olması ve içerisinde vokal kordlar ile rima glottidis içermesi yönüyle önemli bir larenks bileşenidir. Larengeal boşluklar larengeal malignitelerin yayılımında yüksek öneme sahiptir. Paraglottik boşluk ve preepiglottik boşluğu larengeal malignitelerin invaze edebilmesi ve hatta tümörlerin boşluk boyunca transglottik yayılım ve ekstralarengeal yayılım gerçekleştirebilmesi yönüyle önem arz etmektedir.

2.1.2.3. Larenks Vaskülarizasyonu

Larenksin arteriyel beslenmesi superior tiroidal arterin dalı olan superior larengeal arter ve inferior tiroidal arterin dalı olan inferior larengeal arter tarafından sağlanır. Larenksin supraglottik bölgesi superior larengeal arter tarafından, glottik ve subglottik bölgesi ise inferior larengeal arter tarafından beslenmektedir. Larenksin venöz drenajı, arter ile aynı isimli venler aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Larenksin venöz kanını drene eden superior ve inferior larengeal venler, internal juguler ven ve ardından subklavian vene bağlanarak sistemik dolaşım katılır (10).

2.1.2.4. Larenks Lenfatik Drenajı

Larenks bölümleri kendi içerisinde farklı yoğunlukta lenfatik drenaja sahiptir. Glottik bölgenin lenf drenajı olmadığı (yok denecek kadar az) için larenksin lenfatik drenajından bahsedilirken temel olarak supraglottik bölge ve subglottik bölge şeklinde ayırım yapılır. Supraglottik bölge, infraglottik bölgeye göre lenfatik sistem açısından daha zengin bir bölgedir. Supraglottik bölgenin lenf drenajı derin servikal lenfatiklere; subglottik bölgenin lenfatik drenajı ise pretrakeal, paratrakeal ve prelarengeal nodlar aracılığıyla derin servikal lenfatiklere olur (10).



Şekil 3. Larenksin innervasyonu (11).

2.1.2.5. Larenks İnnervasyonu

Larenks innervasyonu nervus vagus tarafından gerçekleştirilir. Vagus'un dalları olan superior larengeal ve inferior (rekürren) larengeal sinirler, larenksin hem motor hem de duysal innervasyonundan sorumludur. (12). Superior larengeal sinir tirohiyoid membran seviyesinde larenkse girerek eksternal ve internal olmak üzere iki dala ayrılır. Larenks innervasyonunda krikotiroid kas superior larengeal sinirin eksternal dalı tarafından innerve olurken inferior (rekürren) larengeal sinir ise larenksin geriye kalan tüm yapılarının innervasyonunu sağlar. Superior larengeal sinir ile ve inferior larengeal sinirin duysal dalı birleşerek Galen anastomozunu meydana getirir.

2.1.3. Larengeal Mukoza ve Histoloji

Larenks düzensiz şekilli hiyalin ve elastik kıkırdak plakalarından oluşan solunum sisteminin karmaşık bir tübüler bölümüdür. Larengeal mukoza, çoğunluğu çok katlı silyalı kolumnar epitel ve az bir kısmı ise skuamöz epitel ile olmak üzere iki farklı epitel ile döşelidir. Larengeal mukoza, larenks lümenine uzanan iki çift kıvrım ile gerçek ve yalancı ses tellerini meydana getirmektedir. Larengeal mukozada mekanik strese maruz kalan bölgeler non-keratinize skuamöz epitel ile döşelidir. Skuamöz epitelde dendritik antijen sunan Langerhans hücreleri bulunmaktadır. Normalde larengeal mukozada keratinizasyon görülmez ancak sigara, duman maruziyeti gibi kronik irritasyon etkisiyle larengeal mukozada keratinizasyon görülebilmektedir.

Vokal kordlar, epiglotun lingual ve larengeal yüzünün bir kısmı non-keratinize skuamöz epitel ile döşelidir. Larenksin geri kalanı ise zengin goblet hücresi içeren yalancı çok katlı silyalı epitel ile döşelidir. Gerçek ses telleri dışında lamina propria çoğunlukla gevşek bağ dokusundan oluşur ve küçük, dallanmış tubuloalveolar bez grupları içerir (13).

2.1.4. Larenks Fizyolojisi

Larenks, ses üretimi (fonasyon), solunum ve yutma gibi çok sayıda önemli fonksiyonu yerine getiren baş-boyun bölgesinin önemli bir bileşenidir. Larenksin primer işlevi, nefes alıp verme sırasında trakea ve akciğerleri gıda ve sindirim sistemi artıklarından yani aspirasyondan korumaktır. Aynı zamanda yapısındaki ses telleri ile ses üretimi yani fonasyon için bir ses kutusu işlevi görür. Diğer önemli görevleri arasında konuşma, yutkunma, solunum yer almaktadır.

2.1.4.1. Ses Üretimi (Fonasyon)

Larenks, vokal kordlar aracılığıyla ses üretimi yani fonasyon için bir ses kutusu işlevi görmektedir. Mekanik olarak ses üretimi, glottis içerisindeki karmaşık sıvı-yapı etkileşimini ve bunun larengeal kas aktivasyonu ile kontrolünü içermektedir. Fonasyon döngüsü genellikle glottisin açıldığı (açılma fazı) ve kapandığı (kapanma fazı) şeklinde gerçekleşen iki faza sahiptir. Açık fazda larengeal akış önce artar sonra azalarak kapalı faza geçilir. Kapalı fazda larengeal akış sıfır veya minimum kalır (14).

Akciğerlerden solunun verilmesi sırasında hava, larenks içerisinde yer alan vokal kordlara çarparak ham ses oluşur. Çarpma etkisiyle vokal kordlar saniyede (cinsiyet ve yaşa göre değişmekle birlikte) yüzlerce kez titreşmektedir. Vokal kordlardan elde edilen ham ses boğaz, ağız ve hatta burun boşluklarında şekillenerek insana özgü ses tonunu meydana getirmektedir.

2.1.4.2. Sfinkter Fonksiyonu: Koruma ve Regülasyon

Larenks intratorasik basıncın dengelenmesi ve yutma sırasında gerçekleştirdiği koruma fonksiyonu ile önemli bir sfinkter görevi üstlenmektedir. Larenks, nefes alıp verme sırasında trakea ve akciğerleri, gıda ve sindirim sistemi artıklarına karşı korumaktadır. Yutma eylemi sırasında larengeofarenkse giren gıda, yeterli hava yolu korumasını sağlamak için hayati önem taşıyan birkaç farklı mekanizma tarafından seçici olarak arkadan özefagusu doğru itilir. Yutma sırasında larenks öne doğru yükselir. Ayrıca

uvula geriye doğru eğim alır ve böylece larenksi kapatır. Ayrıca aritenoidler öne doğru eğilir ve son olarak da üst özefagus sfinkteri gevşer ve sıvı-katı gıdaların özofagusa girmesine izin verir (15).

2.1.4.3. Öksürme

Öksürük, doğuştan gelen ilkel bir refleks olup vücudun bağışıklık sisteminin bir parçası olarak mukosilyer aktivite ile hava yolu içerisindeki fazla sekresyonun ve iritan yabancı maddelerin atılmasından sorumlu, büyük ölçüde kontrolsüz, koruyucu bir mekanizmadır. Bu refleks, intratorasik basıncın 300 mm Hg'yi aşması ile eş zamanlı glottisin kapanması ile karakterizedir. Öksürük, hava yolu içeriğinin glottis yoluyla faringeal boşluğa ve vücut dışına kuvvetli bir şekilde atılması sağlar (16). Öksürmenin gerçekleştirilebilmesinde glottis ve larenks önemli fonksiyona sahiptir.

2.2. SIÇAN LARENKSİNE AİT ÖZELLİKLER

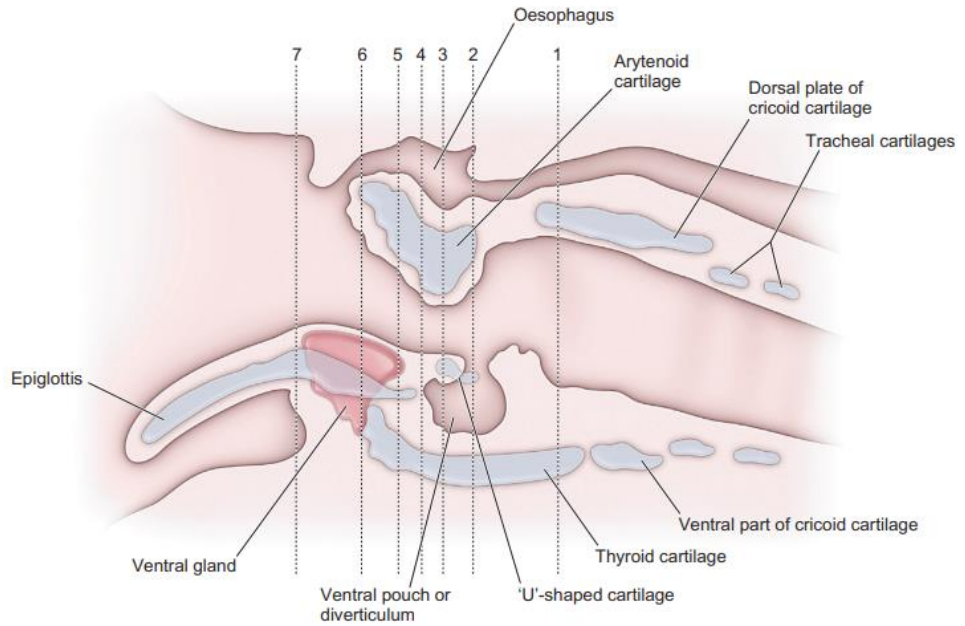
Sıçan larenksi, gelişim, yaşlanma, hastalık ve farmakolojik ajanlara karşı yapısal ve fonksiyonel nöromüsküler larengeal adaptasyonları araştırmak için kullanılabilir en iyi modeldir. Sıçanlar, düşük maliyetleri, bulunabilirlikleri ve kullanım kolaylıkları nedeniyle deneysel modeller için popüler laboratuvar hayvanlarıdır. Sıçan intrinsek larengeal kaslarının küçük boyuta sahip olması, özellikle histoloji çalışmalarında sonuçların kesin, güvenilir ve tekrarlanabilir olmasını sağlamak için sistematik, standart prosedürlerin kullanılmasını gerektirmektedir (17).

2.2.1. Sıçan Larenksi İskeleti

Sıçan larenksi, sayı ve yerleşiminde birtakım farklılıklar olsa da tıpkı insan larenksi gibi çok sayıda kıkırdak, eklem, ligament, membran ve kaslardan oluşan, anatomik pozisyonunu korumasını sağlayan ve elastik özellik kazandıran bir larengeal iskelete sahiptir. Sıçan larengeal kasları, insan larengeal kasları ile benzer fonksiyona sahip olup yeme-içme sırasında havayoluna katı-sıvı gıdaların kaçışına engel olarak havayolu güvenliğinin idamesini sağlamaktadır.

2.2.1.1. Sıçan Larenksi Kıkırdakları

Sıçan iskeletinin temelini oluşturan larengeal kıkırdaklar, insan ile yapı, sayı ve isim olarak benzerlik göstermektedir. Sıçanlarda da insanlardaki gibi tiroid kıkırdak, krikoid kıkırdak, aritenoid kıkırdak ve epiglottis bulunur. Sıçanlarda insanlardan farklı olarak şekli nedeniyle ‘u şeklindeki kıkırdak’ olarak adlandırılan ilave bir kıkırdak bulunmaktadır. (18). Sıçan larengeal iskeletinin önemli bileşenleri sagittal kesit ile şekil 4’te gösterilmiştir.



Şekil 4. Sıçan larenksinin mid-sagittal kesitsel anatomisi (19)

Sıçanlarda epiglot, nazofarenksin arkasında yer alır ve bu durum yeme-içme ve yutkunma sırasında nefes ve koku alma gibi işlevlerin devam etmesini sağlar. Sıçanlarda larenks kıkırdakları insana göre birtakım farklılıklara sahiptir (18-21):

1. Sıçanlarda tiroid kıkırdak delikli yapıya olup sıçanlarda tiroid kıkırdak ile hiyoid kemik arası mesafe kısa olduğu için tirohiyoid membran dardır.
2. Sıçanlarda aritenoid kıkırdak piramit şeklini kaybetmiş, V şeklini almıştır.
3. Sıçanlarda ayrıca kanat şeklindeki görüntüsünden dolayı ‘larengeal alar kıkırdak (LAIC)’ olarak adlandırılan, epiglotun tabanına bağlı, larengeal kas gruplarının bağlantı görevi üstlenen bir kıkırdak mevcuttur.

2.2.1.2. Sıçan Larenksi Kasları

Sıçan larenksi insandaki ile benzer şekilde tiroaritenoid kas, krikotiroid kas, lateral krikoaritenoid kas ve posterior krikoaritenoid kasları içermektedir. Sıçan larenksinde, insana ilave olarak iki farklı kas grubu daha izlenmektedir. Bunlardan ilki, alar krikoaritenoid (ACA) kas olarak adlandırılan ve LAIC’e anteriordan bağlanan kastır. Larenksin en uzun kası olan ACA, posterior uzanımına sahip olup tiroaritenoid kasın üst-ön kısmı boyunca uzanarak aritenoid kasın lateral parçasına bağlanmaktadır. İnsan larenksinde bulunmayıp sıçan larenksinde tespit edilen ikinci kas ise aritenoid kıkırdaktan posteromedial boyunca uzanarak krikoid kıkırdağın orta hatta bulunan çıkıntısına bağlanan superior krikoaritenoid (SCA) kasıdır (22).

Muscle	Attachment		Average length		Fast fiber	
	From-To		(mm)	(Range)	(%)	(Range)
TA lateral	AC-TC		2.93	(2.81-3.12)	100	
TA medial	AC-TC			—	100	
LCA	AC-CC		1.77	(1.69-1.81)	94.9	(91.7-97.9)
CT	TC-CC		2.30	(2.20-2.49)	71.2	(68.0-73.8)
PCA	AC-CC		3.93	(3.81-4.09)	81.2	(76.1-85.9)
SCA	AC-CC		1.17	(1.09-1.21)	99.0	(98.3-99.5)
ACA	LAIC-both AC & CC		3.02	(2.89-3.12)	100	

ACA, Alar cricoarytenoid muscle; CT, cricothyroid muscle; PCA, posterior cricoarytenoid muscle; SCA, superior cricoarytenoid muscle; TA, thyroarytenoid muscle; AC, arytenoid cartilage; CC, cricoid cartilage; TC, thyroid cartilage; LAIC, laryngeal alar cartilage.

Şekil 5. Sıçan larengeal kaslarına ait özellikler (22)

2.2.2. Sıçan Larenksi İnnervasyonu

Sıçan larenksinin innervasyonu, tıpkı insan larenksi gibi nervus vagus tarafından gerçekleştirilmektedir. Sıçan larenksinde krikotiroid kas innervasyonu superior larengeal sinirin dalı olan eksternal larengeal sinir tarafından gerçekleştirilirken, krikotiroid kas haricindeki kas gruplarının tamamı rekürren larengeal sinir tarafından gerçekleştirilmektedir (18).

2.2.3. Sıçan Larenksi Kıvrımları ve Bölümleri

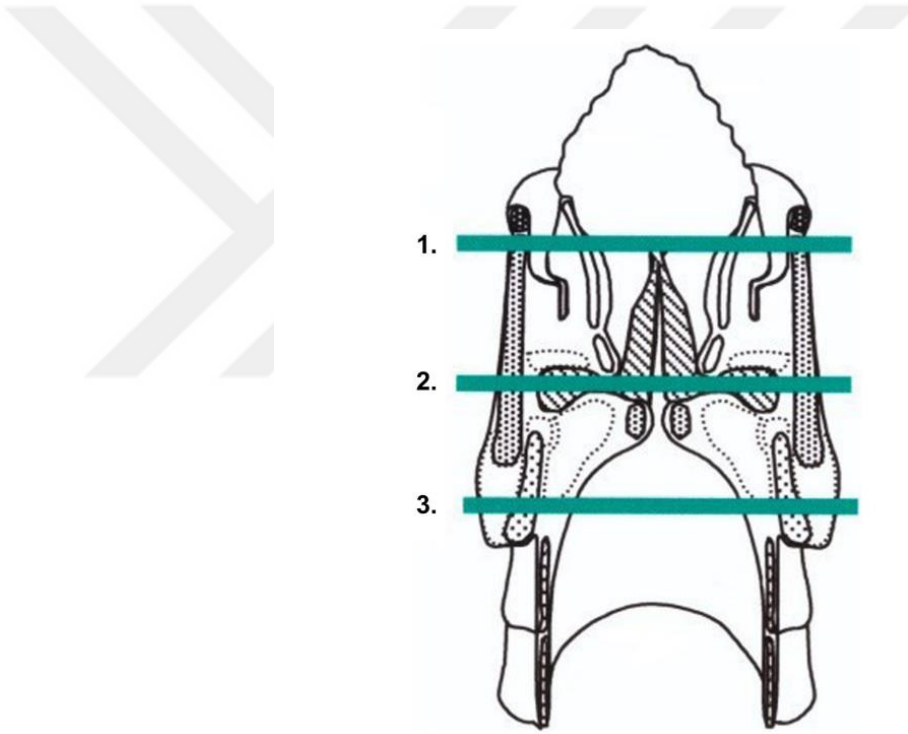
İnsanda ariepiglottik, vokal ve vestibüler katlantı olmak üzere üç farklı katlantı bulunmaktadır. Vokal katlantılar insanda larenksi glottis, supraglottik ve infraglottik olmak üzere üç bölüme ayırmaktadır. Sıçanlarda insanlardan farklı olarak vestibüler katlantılar bulunmaz. Yine insanda vokal ve vestibüler katlantılar arasında larengeal sinüs olarak bilinen küçük bir boşluk bulunmaktadır. Bu boşluktan larenks sakkülü adı verilen dar ve kör uçlu bir kanal çıkar. Sıçanlarda insanlardan farklı olarak vestibüler katlantı ve sakkül (kese) bulunmamaktadır (18).

2.2.4. Sıçan Larenksi Mukozası

Sıçan larenksi mukozasının kimi kaynakta dört farklı (18) kimi kaynakta ise de toplamda beş farklı (23) epitel çeşidi ile döşeli olduğu belirtilmektedir. Epiglottis, aritenoidler ve lateral ventriküllerin üzeri çok katlı skuamöz epitel döşelidir. Vokal katlantılar düşük skuamoid tipte bir epitel ile döşelidir. Aritenoid katlantıların iç kısımlar ve vokal kordların kaudalindeki tüm mukoz sıçan solunum sisteminde yaygın olarak bulunan respiratuvar epitel ile döşelidir. Aritenoid çıkıntılar seviyesinde ventrolateral yüz iki farklı psödostratifiye küboidal epitel ile döşelidir (23). Sıçan larenksi boyunca serömüsinöz submukozal glandlar bulunmaktadır. Epiglotis üst kısmında yerleşen mukozal glandlar daha büyük boyutludur (21).

2.2.5. Sıçan Larenksinin Kesitlere Ayrılması

Araştırmacılar tarafından sıçan larenksinin tek kesitleme ile değerlendirilebileceği belirtilse de Kittel ve ark. (24) sıçan larenksinin değerlendirilmesi sırasında en az üç kesit elde edilmesi gerektiğini savunmaktadır. Üç kesit önerisine göre sıçan larenksinin değerlendirilmesi sırasında ilki epiglottis tabanı, ikincisi ventral kese ve üçüncüsü ise krikoid kıkırdaktan geçen üç kesit elde edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Kittel ve ark.'nın sıçan larenksinin değerlendirmesi sırasında önerdiği üç kesit şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. Sıçan larenksinin kesitlere ayrılması: Üç kesit önerisi (24)

Farklı görüşler olsa da sıçan larenksinin değerlendirilmesi sırasında elde edilmesi gereken asgari kesit sayısı ya da mutlak kesit sayısı ile ilgili görüş birliğine varılmamıştır. Nitekim Sagartz ve ark. sıçan larenksinin değerlendirilmesi sırasında yedi farklı kesit elde edilebileceğini belirtmektedir (19). Sagartz ve ark.'nın sıçan larenksinin değerlendirmesi sırasında önerdiği yedi kesit şekil 4'te gösterilmiştir.

2.3. RADYOTERAPİ (IŞIN TEDAVİSİ)

Yüksek frekanslı, ultraviyole (mor ötesi) elektromanyetik dalga tiplerinden olan X ışınının, hedeflenmiş bir dokuya etki etmesi amacıyla belli bir vücut bölgesine yoğun şekilde uygulanmasına radyoterapi (ışın tedavisi) denir. X ışınları vücut dokularını hızla kat edip derin dokulara ulaşabilmektedir. Bu yönüyle özellikle DNA yapısında yol açtığı hasar ile hem kanserli dokuların ölümüne yol açar hem de kanserli hücrelerin replikasyonunun engellenmesi ile büyümesinin önüne geçer.

Radyoterapi doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki farklı şekilde uygulanabilmektedir. Radyoterapinin en sık tercih edilen şekli X ışınının doğrudan vücudun belirli bir bölgesine uygulanması iken kan dolaşımına katılan çeşitli kimyasallar aracılığıyla doku içerisine X ışınlarının ulaştırılması şeklinde yani dolaylı yoldan da uygulanabilmektedir. Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü'nün (NCI) yayınladığı verilere göre kanserli hastaların yaklaşık yarısının tedavisinde radyoterapi, tercih edilen tedavi yöntemi olmuştur (25). Bu istatistik, radyoterapinin ortaya çıkardığı hasarın önlenmesi/tedavi edilmesini klinisyenlerin odak noktası haline getirmiştir. Nitekim çalışmamız da N-asetilsisteinin (NAC) larenks kanseri tedavisinde kullanılan radyoterapinin sağlıklı dokuda ortaya çıkardığı hasarı engelleme noktasındaki etkinliğinin test edilmesi şeklinde yürütülmüştür.

2.3.1. Etki Mekanizması

Bir tümörün radyosensitivite ve radyo direncine bağlı olan radyasyon yanıtı, terapötik etkiyi belirleyen temel faktördür. Radyoterapi tarafından indüklenen DNA hasarı, hücre proliferasyonunun engellenmesine ve hücre döngüsünün değişerek apoptozis veya diğer programlanmış hücre ölüm mekanizmalarının aktivasyonuna yol açmaktadır (26).

Radyoterapi, iyonizan radyasyon aracılığıyla doğrudan DNA hasarına yol açabileceği gibi DNA'yı çevreleyen diğer moleküllere yüksek enerjili dalga boylarının emiliminin teşvik edilmesi ile dolaylı yoldan da hasar verebilmektedir. Radyoterapinin

dolaylı yoldan ortaya çıkardığı etki DNA'ya hasar veren reaktif serbest radikallerin oluşumu aracılığıyla gerçekleşmektedir (27). Bu serbest radikaller, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu, ardından oksidatif stresi tetikleyerek kanser hücrelerinin hasara uğratılmasını sağlar. Radyoterapi tümör hücrelerinin ölümü için hücre içinde yerleşen DNA'ya çeşitli şekillerde hasar verir. Radyoterapinin DNA'ya en belirgin etkileri DNA'da abazik bölgelerin oluşumu, tek sarmal kırıkları (SSBs) ve çift sarmal kırıklarıdır (DSBs). Çift sarmal kırıkları radyoterapinin DNA üzerinde meydana getirdiği en önemli zararlı etkidir (28). Radyoterapinin ortaya çıkardığı DNA hasarına yanıt olarak kanser hücreleri hayatta kalabilmek için bir dizi karmaşık reaksiyonu aktive eder, bu da DNA hasarından sonra kanserin tekrarlama riskini artırabilir (29).

2.3.2. Baş-Boyun Kanserlerindeki Önemi

Radyoterapi günümüzde kemoterapi ya da cerrahi ile birlikte kanserlerin büyük bir kısmında tercih edilen önemli bir tedavi modalitesidir. Baş-boyun bölgesi kanserlerinin radyoterapiye iyi yanıt vermesi, radyoterapinin baş-boyun kanserlerinde yüksek oranda tercih edilen önemli bir tedavi yöntemi olmasını sağlamıştır. Baş-boyun kanseri tanımı üst solunum yolu ve sindirim sistemine ait yapılar, paranazal sinüsler, tükürük bezi ve tiroid bezlerinden kaynaklanan heterojen bir tümör grubunu kapsamaktadır. Nazofarenks ve larenks kanserleri de baş-boyun bölgesi kanserlerinin önemli bir bileşenlerindedir.

Baş-boyun bölgesi, harici ışın (external beam) radyoterapisi şeklinde özellikle ağız, tükürük bezleri, boğaz, dil, tonsiller, nazofarenks, larenks ve farenks kanserinde sıkça kullanılmaktadır. External beam harici brakiterapi olarak adlandırılan dahili radyoterapi ise özellikle baş-boyun bölgesinin sınırları iyi belirlenmiş tümör tiplerinde tercih edilmektedir (30). Baş-boyun kanserlerinin optimal yönetimi multidisipliner bir yaklaşım gerektirmekle birlikte, baş-boyun bölgesi kanserlerinde başlıca tedavi yöntemleri cerrahi ve radyoterapidir.

2.3.3. Yan Etkileri

Radyoterapi, uygulanması sırasında ağrı-acı hissine yol açan bir işlem olmasa da geçici ya da kalıcı yan etkiler ortaya çıkarabilmektedir. Yan etkilerin temeli uygulanması sırasında tümöral dokuya yakınlığı sebebiyle sağlıklı dokuda meydana gelen ve istenmeyen fizyohistolojik değişimlerdir. Radyoterapiye bağlı yan etkiler uygulamadan saatler sonra başlayabileceği gibi günler-haftalar sonra da ortaya çıkabilmektedir. Radyoterapiye bağlı gelişen yan etkiler geçici/kalıcı, erken/geç dönem ve lokal/sistemik şeklinde sınıflandırılabilir.

Larenks kanseri diğer baş-boyun bölgesi kanserleri gibi cerrahi ve radyoterapinin birlikte uygulandığı ve bu yönüyle neo-adjuvan radyoterapi (cerrahi öncesinde, sırasında ya da sonrasında uygulanan radyoterapi) tedavi modalitesinin tercih edildiği önemli malignite çeşitlerindedir. Larenksin solunum ve sindirim sistemi arasındaki denge rolü ile solunum ve ses üretme gibi günlük hayatın kaliteli sürdürülebilmesini sağlayan fonksiyonları, hem larenks kanseri hem de tedavide uygulanan radyoterapiye sekonder ortaya çıkan önemli problemlerindedir.

2.3.3.1. Sistemik Yan Etkileri

Radyoterapi, kemoterapi kadar geniş spektrumlu ve ağır sistemik yan etkiler yerine çoğunlukla lokal etkiler ortaya çıkarsa da radyoterapi uygulamalarında halsizlik ve bulantı-kusma gibi sistemik etkiler de görülebilmektedir (31).

2.3.3.2. Lokal (Baş-Boyun Bölgesi) Yan Etkileri

Baş-boyun bölgesine uygulanan radyoterapinin ortaya çıkardığı lokal yan etkiler arasında oral mukozit, tat değişiklikleri, ağız kuruluğu (kserostomi), yutma güçlüğü (disfaji), hipotiroidi ve yumuşak doku ödemeine bağlı lenfödem bulunur (32). Baş-boyun bölgesine uygulanan radyoterapinin aynı zamanda karotis arter darlığına yol açarak serebrovasküler hastalık riskini artırabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (33).

Radyoterapi nedeniyle baş-boyun bölgesi cildinde erken dönemde güneş yanığı benzeri eritem ve kaşıntı ortaya çıkabileceği gibi kuru cilt, ciltte deskuamasyon, nadiren ülserasyon ve kanama görülebilmektedir. Radyoterapinin baş-boyun bölgesinde meydana getirdiği uzun dönem etkiler arasında disfaji, odinofaji, ses kısıklığı ve ses değişikliği, dental komplikasyonlar ve nadiren trakeoözefageal fistül, trakeal striktür, özefageal striktür ve mandibula osteonekrozu yer almaktadır (32).

2.4. N-ASETİLSİSTEİN (NAC)

N-asetilsistein (NAC) uzun yıllardır parasetamol intoksikasyonu tedavisinde antidot olarak ve yakın dönemde respiratuvar hastalıklarda mukolitik tedavi amacıyla FDA'dan kullanım onayı almış önemli bir ilaçtır (34). NAC ayrıca başta Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Avustralya dahil olmak üzere çok sayıda ülkede antioksidan özellikleri nedeniyle nutrasötik (gıdaların kullanılması ile hazırlanan ve toz, hap ya da kapsül şeklinde tüketilen ürün) olarak pazarlanan, yüksek çekicilik ve büyük ticari hacme sahip reçetesiz satılan önemli bir besin takviyesidir (35). NAC'ın primer kullanım hedefleri antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitesi ile ilişkili olsada, NAC'ın farklı fizyolojik koşullarda antioksidan ve sitoprotektif kapasitesini hangi mekanizmalar aracılığıyla uyguladığı henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (3).

2.4.1. Farmakodinamisi ve Farmakokinetiği

N-asetilsistein (NAC), L-sistein aminoasitinin n-asetillenmiş bir türevidir. NAC yapısında karbon, hidrojen, oksijen, azot ve kükürt içeren organik bir bileşiktir. Molekül formülü $C_5H_9NO_3S$ şeklindedir. Molekül ağırlığı 163.2 g/mol olup, proteinlere (özellikle albümin) %66-97 oranında bağlanmaktadır. NAC'ın oral ya da intravenöz olmak üzere iki farklı formu mevcuttur (36). NAC'ın biyoyararlanımı oral alımı takiben %6-10 olup 150mg/kg intravenöz uygulama sonrası 15.dakikada serum konsantrasyonu 500mg/L düzeyindedir. Sistein ve glutasyon prekürsörüdür. Alımı takiben karaciğerde deasetilasyon ile sisteine dönüşmektedir (37).

2.4.2. Yan Etkileri

NAC'ın yan etkileri arasında cilt döküntüsü, kaşınma, kızarıklık gibi her ilacın yan etkileri arasında görülen alerjik yan etkiler yer almaktadır. NAC'a bağlı alerjik reaksiyonlar cilt döküntüsü gibi basit bir kızarıklıktan; dispne, hipotansiyon, bronkospazm ve anjiödem ile karakterize, mortalitesi yüksek anafilaktik reaksiyonlara kadar değişkenlik gösterebilmektedir. İntravenöz NAC uygulamasının oral NAC'a göre daha yüksek anafilaksi riski mevcuttur. NAC'ın ortaya çıkardığı anafilaktik etkileri astımlı hastalarda daha şiddetli olabileceği gibi ölüm ile sonuçlanabilmektedir. NAC'ın anafilaktik reaksiyonlar haricinde göğüste sıkışma ve bronkokonstriksiyona yol açabileceği bildirilmektedir. NAC ile indüklenen bronkospazm nadir olarak görülmektedir (37).

2.4.3. Etki Mekanizması

L-sistein aminoasidinin n-asetillenmiş formu olan NAC, içerdiği sülfidril grupları ile glikoprotein yapıdaki mukus yapısında yer alan disülfid bağlarını parçalayarak mukolitik etki göstermektedir. Bu yönüyle solunum yolları sekresyonlarının atılımını sağlamakta, solunumu kolaylaştırmakta ve respiratuvar fonksiyonların düzenlenmesini sağlamaktadır. NAC protein depolimerizasyonuna neden olmadığı için fibrin ve diğer canlı dokular üzerine etkisi olmadığı gibi DNA üzerine de etkisizdir. Mukolitik etkiler haricinde NAC'ın antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği sahip olduğu ve hücrel redoks dengesinin korunmasını desteklediği bilinmektedir (37).

Hayvan çalışmalarında NAC'ın farklı koşullarda oksidatif stres ve inflamasyona karşı güçlü bir koruyucu etki gösterdiği; mukolitik etkileri haricinde güçlü antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda NAC'ın geçici serebral iskemi tarafından indüklenen beyin hasarının iyileştirilmesi (38), enfeksiyon durumunda ağrı ve inflamasyon yönetimi (39) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun azaltılması yoluyla tiroid morfolojisinin düzeltilmesi (40) etkileri araştırılmıştır.

2.4.3.1. Antioksidan Etkileri

NAC'ın antioksidan özelliklerinin temelinde kendine özgü moleküler yapısı yer almaktadır. Kükürt grubu içeren L-sistein dahil tüm aminoasitlerin antioksidan özelliklere sahip olduğu kabul edilmektedir. NAC yani N-asetilsistein, L-sistein aminoasitinin amino (NH₂) grubuna bağlı bir asetil (CO-CH₃) grubu içerdiğinden dolayı yapısı itibariyle antioksidan özelliklere sahip bir moleküldür.

Tükenmiş glutatyon (GSH) rezervi vücutta oksidatif stres ve inflamasyon neden olmaktadır. L-sistein, indirgenmiş GSH öncüsü olduğundan, NAC kullanımını antioksidan özelliğe sahip hücre içi indirgenmiş GSH düzeyinin artmasına katkıda bulunmaktadır. GSH artışı ile NAC, hücrelerin bozulmuş redoks durumunun normalleşmesine ve böylece redoksa duyarlı hücre sinyal mekanizmaları ve transkripsiyon yollarını etkileyebilmektedir (41). Literatürde NAC aktivasyonunun c-Jun N-terminal kinaz, p38 MAP kinaz, SAPK/INK, c-Fos yolaklarının yanı sıra nükleer faktör κ B'nin (NF- κ B) NAC aktivasyonunu inhibe ettiğini destekleyen yayınlar yer almaktadır (42,43).

2.4.3.2. Antiinflamatuvar Etkileri

NAC'ın mukolitik ve antioksidan özellikleri haricinde önemli antiinflamatuvar etkilere sahip olduğu bilinmektedir. NAC'ın önemli antiinflamatuvar etkilerinden biri, oksidatif strese yanıtta yer alan ve inflamatuvar kaskad ile immün yanıtta kritik bir rol oynayan NF- κ B hafif zincir arttırıcısının inhibisyonu şeklinde gerçekleşmektedir (36). NAC, proinflamatuvar gen ekspresyonunun düzenlenmesinden sorumlu transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'nin translokasyonunu ve nükleer aktivasyonunu bloke etmektedir (44,45). NAC'ın ayrıca lipopolisakaritle aktive olan makrofajlarda, inflamatuvar sitokinler olan TNF α , interlökin (IL)-1 β ve IL-6'nın salınımını baskıladığı gösterilmiştir (46). NAC'ın sahip olduğu antiinflamatuvar etkinliği KOAH, idiopatik pulmoner fibrozis (IPF), Parkinson, Alzheimer hastalığı ve multipl skleroz (MS) gibi nörodejeneratif hastalıklarda, parasetamol zehirlenmesi, akut karaciğer hasarı ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi çok sayıda patolojide kullanılmasını sağlamıştır (36).

2.4.3.3. Radyoprotektif Etkileri

NAC'ın antioksidan ve antiinflamatuvar etkiler haricinde hücre ve dokuların iyonizan radyasyonun zararlı etkilerinden koruma özelliğine sahip olduğu (radyoprotektif etki) gösterilmiştir. NAC'ın radyoprotektif etkisi çeşitli mekanizmalar üzerinden gerçekleşmektedir. Bunlar:

1. Serbest radikallerin nötralizasyonu ve atılımı
2. Hücresel antioksidan savunma mekanizmalarının güçlendirilmesi
3. DNA onarımının stimülasyonu

NAC, radyasyona maruziyet nedeniyle oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) dahil olmak üzere serbest radikalleri doğrudan temizleyebilen güçlü bir antioksidandır (47). NAC, serbest radikalleri nötralize ederek hücresel yapılardaki oksidatif hasarı önlemeye yardımcı olur. NAC ayrıca hücrelerde önemli bir endojen antioksidan olan glutatyonun (GSH) öncüsü olarak görev almaktadır. Hücresel GSH seviyelerini artıran NAC hücrenin, radyasyonun neden olduğu oksidatif strese karşı koyma yeteneğini geliştirir (48,49). NAC'ın ayrıca radyasyon nedeniyle gelişen DNA hasarının onarımını arttırdığı ve böylece ışınlanmış hücrelerin iyileşmesini desteklediği bildirilmiştir (50).

2.5. OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN DENGESİ

Vücutta oksijen aracılığıyla besinlerin yıkımının gerçekleştirilmesini sağlayan metabolik reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan bazı atık ve yan ürünler; hücre ve doku bütünlüğünü sağlayan enzim, gen ürünü ve yapı elemanlarına hasar vermektedir. Bu durum, oksijen aracılığıyla gelişen bu reaksiyonlar sonucunda oluşması nedeniyle, oksidatif hasar/stres olarak adlandırılmakta, ortaya çıkan zararlı ürünler ise oksidan maddeler ya da reaktif oksijen radikalleri olarak adlandırılmaktadır (51). Reaktif oksijen radikallerinin enfeksiyon hastalıkları, malignite, romatizmal hastalıklar ve miyokardiyal enfarktüs gibi çok sayıda patolojiye ve hatta erken yaşlanmaya yol açabileceği belirtilmektedir.

Vücutun doğal metabolik aktivitesi sonucu oluşan reaktif oksijen radikallerinin yol açtığı/açacağı hasarın önüne geçerek vücudu oksidatif strese karşı koruyan maddelere antioksidan adı verilmektedir. Antioksidanlar serbest radikallerini nötralize ederek hücre hasarını engelleyebilen maddelerdir. Antioksidanlar maddeler ya doğal olup vücut tarafından üretilirler ya da destek ürünler olarak alınabilmektedir (52).

Antioksidanlar süperoksit dismütaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPO) ve glutatyon redüktaz gibi enzimler olabileceği gibi; glutatyon (GSH), melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q-10, selenyum, alfa lipoik asit, transferrin ve serüloplazmin gibi non-enzimatik antioksidanlar ve vitamin E, vitamin A, vitamin C ve folik asit gibi eksojen vitamin türevi antioksidanlar yer almaktadır (53). Reaktif oksijen türleri (ROS), iki atomlu oksijenden oluşan oldukça reaktif kimyasallardır. ROS örnekleri arasında süperoksit, hidroksil radikali, peroksitler ve alfa-oksijen bulunmaktadır (54).

2.5.1. Total Oksidan Seviyesi (TOS) ve Total Antioksidan Seviyesi (TAS)

Literatürde oksidatif stresin meme, tiroid, servikal kanser ve prostat kanserlerinin oluşumu ve gelişimi ile yakından ilişkili olduğunu bildirmiştir (55-57). Ancak çalışmaların çoğunda bir veya daha fazla oksidan/antioksidan ayrı ayrı ölçülmüştür. Bu çalışmalar arasında serum toplam oksidan/antioksidan durumu ile maligniteler arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma sayısı oldukça azdır. Mevcut teknolojiler her bir oksidanın/antioksidanın serum seviyelerinin ayrı ayrı ölçülmesine izin verse de ölçümlerin zaman alıcı olması, fazla efor istemesi ve doğru sonuç vermemesi önemli dezavantajlarıdır. Doğru sonuç vermeme sebepleri arasında kanda hala bilinmeyen oksidanlar/antioksidanların olabileceği ve serumda aynı sistemdeki farklı tipte oksidanlar/antioksidanların birbirleriyle etkileşime girerek aditif ya da sinerjistik bir etkiye neden olabileceğidir (58).

Serumda yalnızca bir veya birkaç ayrı oksidan/antioksidanın ölçülmesi, oksidatif stres ile malignite arasında kesin bir ilişki kurmak için yetersizdir (58). Bu nedenle total oksidan seviyesi (TOS) genellikle vücudun genel oksidasyon durumunu tahmin etmek için kullanılır (59). Benzer şekilde, total antioksidan seviyesi (TAS), vücudun genel antioksidan durumunu ölçmek için kullanılmaktadır (60).

2.5.2. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Vücutta oksidan ve antioksidanlar arasındaki oksidan maddeler lehine olan dengesizliğe oksidatif stres indeksi (OSİ) denir. OSİ, oksidanları değerlendirmek için reaktif oksijen metabolitleri (d-ROM testi) ve antioksidanları ölçmek için plazma antioksidan kapasite testi ile belirlenir. OSİ, TOS'un TAS'a oranı şeklinde hesaplanır. OSİ, oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki genel dengenin niceliksel bir ölçüsünü sağlar (61).

Oksidan ve antioksidan arasındaki dengenin değerlendirilmesinde TOS, TAS, OSİ, tiyol ve disülfid oranı gibi farklı belirteçler kullanılmaktadır. Yakın dönemde Erel ve ark. tarafından geliştirilen tiyol/disulfid dengesi önemli bir oksidan/antioksidan denge göstergesidir (62).

2.5.3. Total ve Native Tiyol Düzeyi

Tiyol (total ve native); reaktif oksijen radikalleri oluşumunun azaltılması ve inaktivasyonunun artırılması ile oksidatif stresi dengeleyerek etki gösteren antioksidan özelliğe sahip bir maddedir. Tiyol grupları reaktif oksijen radikallerinin oksitlenmesini sağlayarak reversibl disülfid bağları meydana getirir (63). Native tiyol hücrelerdeki tiyol gruplarının oksitlenmemiş yani reaktif olmayan şeklini temsil ederken total tiyol ise hem doğal tiyol hem de disülfid formları dahil olmak üzere hücrelerde bulunan tüm tiyol gruplarını temsil etmektedir.

2.5.4. Disülfit Düzeyi

Reaktif oksijen radikallerinin tiyol grupları ile oksitlenmesi sonucunda disülfit bağları oluşmaktadır. Disülfit, tiyol gruplarının oksitlenmiş halini temsil etmektedir. Disülfit oluşumu, hücresel oksidatif modifikasyonların önemli bir göstergesidir. Ortamda bulunan oksidan maddeler disülfit bağlarını oksitleyerek reversibl(tersinir) disülfit bağlarına dönüştürürler. Meydana gelen tersinir disülfit bağları tekrar tiyol gruplarına redüklenebilme özelliğine sahiptir. Bu durum tiyol-disülfit dengesinin devam etmesini sağlayan en önemli mekanizmadır.

Serum tiyol ve disulfid arasındaki denge, vücudun detoksifikasyon, antioksidan savunma, apoptozis, transkripsiyon, enzimatik aktivitenin düzenlenmesi ve hücresel sinyal ileti mekanizmalarında önemli role sahiptir (63). Oksidatif stress varlığında total tiyol ve native tiyol düzeyi düşerken; disülfit düzeyinin artışına bağlı olarak disülfit/tiyol, disülfit/total tiyol ve native tiyol/total tiyol oranlarında artış meydana gelmektedir (62).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan ACU-HADYEK 2023/08 sayılı karar numarası ile hayvan deneyi etik kurul onayı alınmıştır. Çalışmamızın tez konusu onayı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Eğitim Planlama Kurulu (EPK) tarafından E-62977267-771-216252050 karar numarası ile verilmiştir. Tez ve etik kurul onayları sonrası çalışmamız, S.B.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından 2023/057 proje numarası ile Tıpta Uzmanlık Projesi kapsamında sağlanan destek ile finanse edilmiştir.

Çalışmamızda deney hayvanı olarak kullanılan sıçanlar Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (ACUDEHAM) temin edildi. Sıçan deneyleri yine aynı merkezde gerçekleştirildi. Sıçanlara radyoterapi uygulama işlemi Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyasyon Onkolojisi Kliniği'nde gerçekleştirildi. Biyokimyasal parametrelerin analizi Sağlık Bilimleri Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Biyokimya Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Patolojik inceleme Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı Patoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma esnasında 5199 numaralı "Hayvanları Koruma Kanunu" ve Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın deneysel ve diğer bilimsel amaçlar için kullanılan deney hayvanlarının korunması, deney hayvanlarının üretim yerleri ile deney yapacak olan laboratuvarların kuruluş, çalışma, denetleme, usul ve esaslarına dair yönetmeliğine ve Avrupa Konseyi'nin önerdiği European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS123) standartlarına uyuldu.

3.1. ARAŞTIRMANIN TİPİ

Çalışmamız deneysel tipte bir çalışma olup deney hayvanları aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

3.2. DENEY HAYVANI ÖZELLİKLERİ VE BARINMA ŞARTLARI

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (ACUDEHAM) çalışmamızda kullanılmak üzere ortalama ağırlıkları 250-300 gr olan, 3 aylık, 32 adet sağlıklı erkek sıçan temin edildi. Hayvanlar 30x60x30 cm boyutlarında kafesler içerisinde sabit sıcaklık (22 °C) ve nemde (% 45±5) 12 saatlik aydınlık ve 12 saatlik karanlık olacak şekilde sabit bir döngüde tutuldu. Kafeslerde altlık olarak ağaç talaşı kullanıldı. Deney öncesinde ve deney süresince hayvanların suya ve gıdaya serbestçe erişmelerine izin verildi. Beslenme, sıçan yemi (pellet) ve cam biberonlardaki çeşme suyu kullanılarak gerçekleştirildi. Deneyler sırasında hayvan bakımı ve muamelesi ile ilgili belirlenmiş uluslararası standartlara uyuldu.



Resim 1. Deney hayvanı özellikleri ve barınma şartları

3.3. ÇALIŞMANIN TASARIMI

3.3.1. Deney Gruplarının Belirlenmesi

Çalışmaya toplamda 32 adet sıçan dahil edildi. Tüm sıçanlar kullanılarak her bir grupta 8 sıçan yer alacak şekilde toplamda 4 grup rastgele oluşturuldu. Grupların dağılım özellikleri tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Sıçan grupları ve özellikleri

Grup Numarası	Grup Özelliği	Denek Sayısı
1. grup	Kontrol grubu	8
2. grup	Sadece radyoterapi grubu	8
3. grup	Radyoterapi öncesi 5 gün boyunca NAC uygulanan grup	8
4. grup	Radyoterapi sonrası 5 gün boyunca NAC uygulanan grup	8
Toplam Denek Sayısı		32

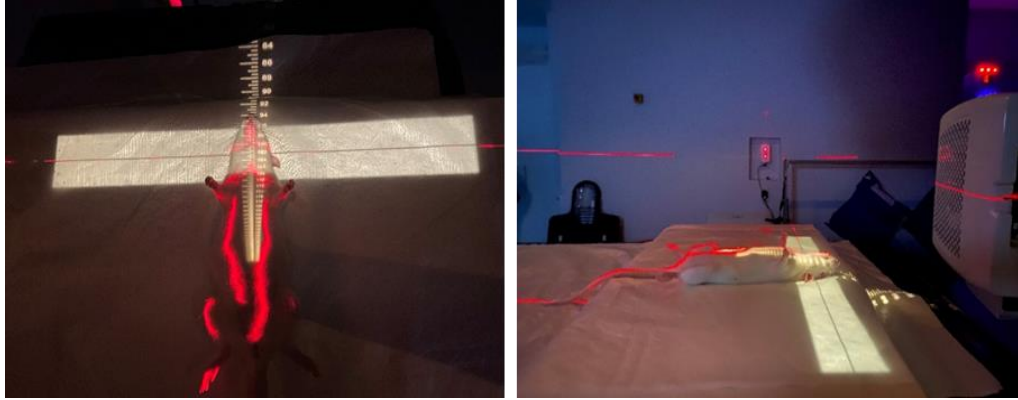
Çalışmamızda birinci grup, kontrol grubu olarak adlandırılmakta olup herhangi bir ilaç veya radyoterapi uygulanmayan sıçanların yer aldığı gruptu. Bu grup çalışmanın bazal değerlerinin elde edildiği grup olarak belirlendi. İkinci grup ise sadece radyoterapi uygulanan sıçanların yer aldığı gruptu. Bu grup, radyoterapinin tek başına olası etkilerinin gözlemlenmesi amacıyla belirlendi. İkinci grupta radyoterapinin tek başına olası patolojik ve biyokimyasal etkilerini gözlemlemek için tek gün 15Gy dozunda radyoterapi uygulandı. Üçüncü grup ise radyoterapi öncesi beş gün boyunca günde bir kez 1 gr/kg/gün (insan eşdeğeri biyolojik eşdeğer doz) intraperitoneal NAC uygulanan ve NAC uygulaması sonrası radyoterapi gerçekleştirilen gruptu. Dördüncü grup ise radyoterapi sonrası beş gün boyunca günde bir kez 1 gr/kg/gün (insan eşdeğeri biyolojik eşdeğer doz) intraperitoneal NAC uygulanan sıçanların yer aldığı grup olarak belirlendi.

Üç ve dördüncü grupta her N-asetilsistein (NAC) uygulaması öncesinde taze olarak hazırlandı. Tedavide Asist ® 300mg/3ml ampul (Bilim Pharmaceuticals, Türkiye) müstahzarı kullanıldı. Çalışma süresince sıçanların günlük kan şekeri ve kilo takibi yapıldı. Sıçan gruplarına uygulanan radyoterapi ve NAC dozu Konak ve ark.’nın çalışması esas alınarak hazırlanmıştır (64).

İlk üç grupta ışınlama tamamlandıktan sonra 36-48 saat içinde, dördüncü grupta ise son doz intraperitoneal NAC tedavisi bitiminden sonra 36-48 saat içinde ışınlamanın akut etkilerinin gözlemlenmesi amacıyla larenks eksizyonu yapıldı ve sitokin ölçümü için kan alındı. Hayvanların ötenazisi yüksek doz genel anestezi kullanılarak gerçekleştirildi.

3.3.2. Işınlama Protokolü

Radyoterapi öncesi intraperitoneal 100 mg/kg ketamin HCl (Ketalar® 500mg/10ml flakon, Pfizer, ABD) ile 30-45 dakika boyunca derin anestezi ve analjezi sağlandı. Her bir sıçan genel anestezi altında lineer akselaratörden 100 cm uzağa yerleştirildi ve 6MV enerjili iyonize X-ışınları ile larenks alanı 15 Gy (insan eşdeğeri biyolojik eşdeğer doz 50-60 Gy) radyoterapi dozu uygulandı. Varian marka Trilogy model lineer hızlandırıcı cihazı ile radyoterapi işlemi uygulandı. Ek olarak, cilt dozunu artırmak için ışınlama alanına, su-doku eşdeğeri superflab bir cm kalınlığında bolus materyali kullanıldı.



Resim 2. Işınlama protokolünde sıçan pozisyonu



Resim 3. Radyoterapi işlemi için doz ekran sayfası ve dozimetrik parametreler

3.3.3. Serum Eldesi ve Muhafazası

Sıçanlara uygulanan 100 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar® 500mg/10 ml, Pfizer, ABD) ve 10 mg/kg Ksilazin HCl (Rompun® %2, 25 mg/ml, Bayer, Almanya) anestezisi altında juguler venden 21 gauge enjektörler kullanılarak 5cc'lik venöz kan alındı. Alınan kan örnekleri jelli biyokimya tüplerine eklendi. Kan örneklerine +4 °C'de 10 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüj uygulandı. Elde edilen serum örnekleri test edilene kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Total antioksidan seviye, total oksidan seviye, total tiyol ve natif tiyol düzeyleri fotometrik yöntemler kullanılarak çalışıldı. ELİSA kitleri aracılığıyla IL-1 beta, IL6 ve TNF-alfa düzeyleri çalışıldı. Oksidatif stres indeks ve disülfid düzeyleri ise matematiksel işlemler kullanılarak hesaplandı.



Resim 4. Kan örneklerinin alınması



Resim 5. Serum eldesinde kullanılan santrifüj cihazı



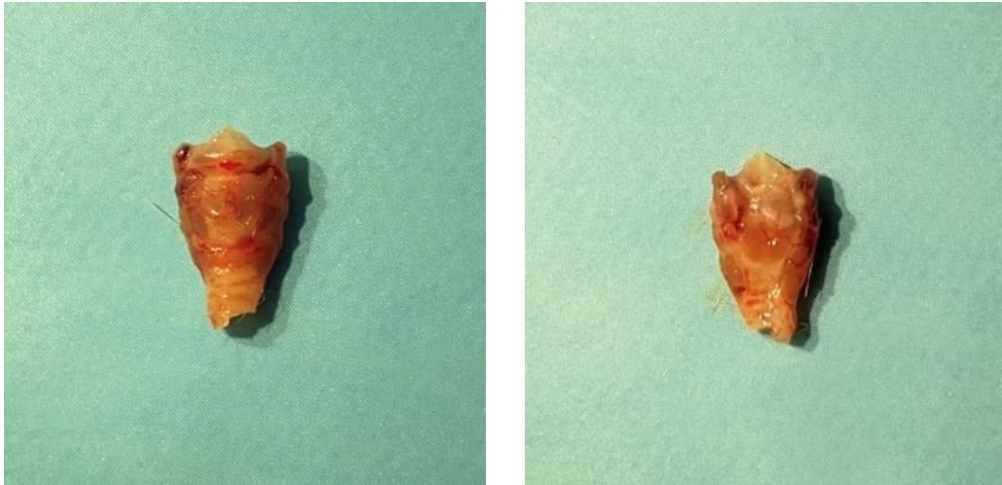
Resim 6. Serum örneklerinin muhafaza edildiği -80 °C dolap

3.3.4. Cerrahi Teknik

Sıçanlara cerrahi işlem öncesi intraperitoneal yolla 100 mg/kg ketamin HCl ve 10 mg/kg ksilazin HCl kombinasyonu kullanılarak anestezi gerçekleştirildi. Anestezi derinliği refleks monitörizasyonu (kornea, ekstremitte çekme) ile takip edildi. Kan alma işlemi sonrası sakrifikasyon (öldürme işlemi) sağlandı. Larenks eksizyonu için boyun orta hatta vertikal cilt insizyonu yapıldıktan sonra larenkse ulaşana kadar strep kaslar diseke edilip; larenks, süperior sınırında dil kökü ve inferior sınırında trakea 3-4. halkalar görülecek şekilde ortaya konularak eksize edildi.



Resim 7. Sıçan larenksinin ortaya konması



Resim 8. Eksize edilen larenksin önden (sol) ve arkadan (sağ) görünümü

3.3.5. Histopatolojik İnceleme

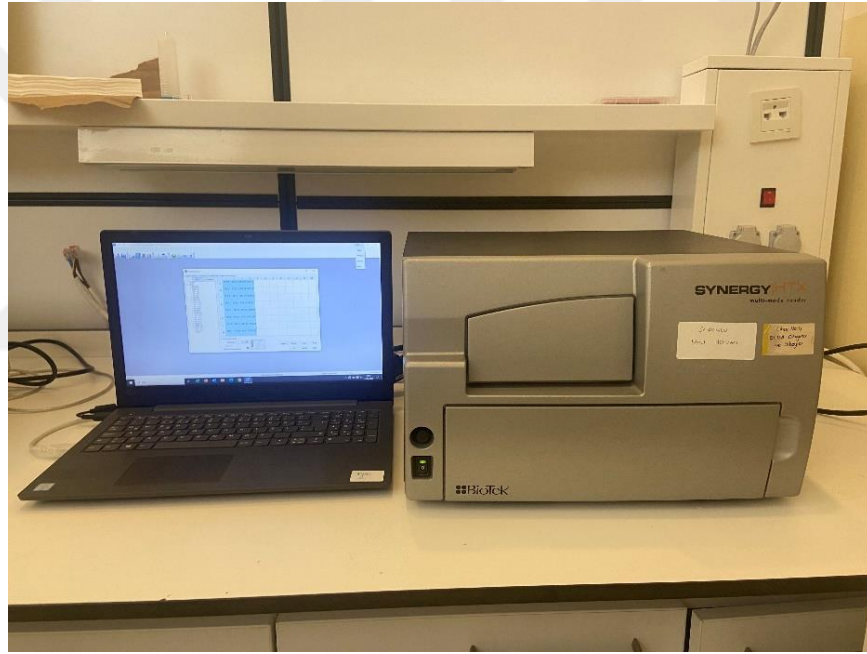
Eksize edilen larenks %10 formaldehit solusyonunda 24 saat bekletildikten sonra transvers düzlemde supraglottik, glottik ve subglottik alanlara bölünerek kasetlendi. Ardından takip cihazında standart işlem uygulanarak parafine gömüldü ve parafin bloktan alınan 2,5-3 mikronluk kesitler elde edilerek Hematoksilen & Eozin boyama işlemi gerçekleştirildi. Alınan kesitlerden farklı birer örnek de 45 dk deparafinizasyon, 20dk ksilen, 5dk alkol ve ardından 10 dk toluidin blue solüsyonunda bekletildi. Sonrasında aynı örnekler alkol ve ksilenden geçirilerek kapama işlemi gerçekleştirildi ve histokimyasal boyama işlemi yapılarak mukozal silya kaybı değerlendirildi. CD31 ve CD45 ile firma tarafından uygulanan immünohistokimyasal boyama eşliğinde vasküler yapılanma ve lenfoid hücre popülasyon yoğunluğu değerlendirildi. Tüm preparatlar tek bir histopatolog tarafından gruplar bilinmeden (kör araştırmacı) değerlendirildi. Lamina propriada (ödem, vasküler dilatasyon ve inflamasyon), skuamöz epitelde (inflamasyon) ve respiratuar epiteldeki değişiklikler (silier kayıp ve psödostratifikasyon) tablo 2’de belirtilen kriterlere uygun olarak semikantitatif değerlendirilip puanlandı. Her parametre 100x büyütme ile 0’dan 3’e skorlandı. İnflamasyon göstergesi olarak polimorf nüveli lökosit (PMNL) ve lenfosit sayısı kabul edildi. Histopatolojik inceleme ve değerlendirme amacıyla kullanılan kriterler Oyan ve ark.’nın gerçekleştirdiği çalışma esas alınarak belirlenmiştir (65).

Tablo 2. Larenks kesitlerinde kullanılan histopatolojik değerlendirme ölçeği

Parametre	0 puan	1 puan	2 puan	3 puan
Ödem	Değişiklik yok	Hafif	Orta	Şiddetli
Vasküler Dilatasyon	Değişiklik yok	Hafif	Orta	Şiddetli
Psüdostratifikasyon	Değişiklik yok	Hafif	Orta	Şiddetli
İnflamasyon	1-2 lenfosit PMNL yok	21-50 lenfosit 1-2 PMNL	51-80 lenfosit 3-10 PMNL	81-120 lenfosit >10 PMNL
Silier Kayıp (normal alana göre)	Değişiklik yok	Daha az kayıp	Daha şiddetli kayıp	Total silier kayıp

3.3.6. Biyokimyasal İnceleme

Biyokimyasal parametrelerin analizi Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Biyokimya Laboratuvarı'nda BioTek Synergy HTX Multimode Reader kullanılarak gerçekleştirildi. Biyokimyasal analiz amacıyla kullanılan cihaza ait görüntü Resim 9'da gösterilmiştir. Total antioksidan seviye, total oksidan seviye, total tiyol ve native tiyol düzeyleri fotometrik yöntemler kullanılarak çalışıldı. ELİSA kitleri aracılığıyla IL-1 beta, IL6 ve TNF-alfa düzeyleri çalışıldı. Oksidatif stres indeks ve disülfid düzeyleri ise matematiksel işlemler kullanılarak hesaplandı.



Resim 9. Biyokimyasal analiz amacıyla kullanılan cihaz

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler için SPSS (IBM Corp., Armonk, NY, USA) 21.0 versiyon bilgisayar program paketi kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, yüzde, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler (histogram, Q-Q grafiği) ile sınanmıştır. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerde ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi ve istatistiksel anlamlılık olması durumunda post-hoc Dunn-Bonferroni testi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma 22 Temmuz 2023 ile 2 Ağustos 2023 tarihleri arasında 32 adet sağlıklı erkek sıçan ile gerçekleştirildi. Kontrol grubundan 2 sıçan, sadece radyoterapi grubundan 2 sıçan, radyoterapi öncesi NAC uygulanan gruptan 1 sıçan, radyoterapi sonrası NAC uygulanan gruptan 2 sıçan deney sırasında ölmüş olup çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışma 25 adet sıçan ile tamamlanmıştır.

4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Çalışmamızda biyokimyasal analizin ilk bölümünde sıçan gruplarında total oksidan seviye, total antioksidan seviye ve oksidatif stres indeksi bulguları değerlendirilmiştir. Gruplara ait total oksidan seviye, total antioksidan seviye ve oksidatif stres indeksi sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 3'te gösterilmiştir.

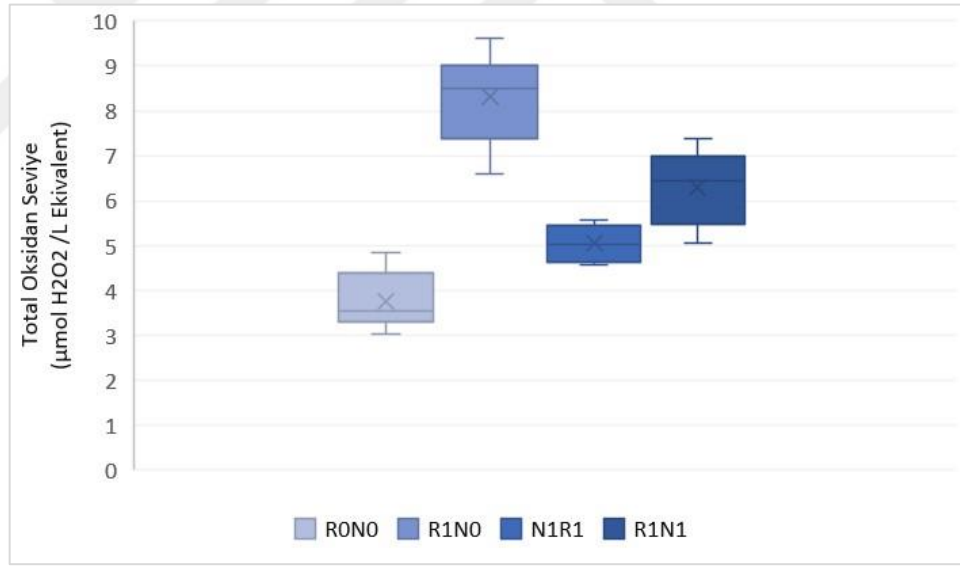
Tablo 3. Gruplar arasında total oksidan seviye, total antioksidan seviye ve oksidatif stres indeksi bulgularının karşılaştırılması

	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ /L ekivalent)	TAS (mmol Askorbik Asit/L ekivalent)	OSİ (AU)
	Medyan (Q1 – Q3)	Medyan (Q1 – Q3)	Medyan (Q1 – Q3)
	Ortalama \pm SD	Ortalama \pm SD	Ortalama \pm SD
Grup 1 (kontrol grubu)	3,54 (3,29 – 4,38) 3,76 \pm 0,7	0,84 (0,71 – 0,89) 0,81 \pm 0,12	5 (3,5 – 6,7) 5,3 \pm 2,1
Grup 2 (radyoterapi grubu)	8,51 (7,39 – 9) 8,31 \pm 1	0,33 (0,28 – 0,39) 0,36 \pm 0,1	22,7 (20,6 – 32,7) 25,5 \pm 6,5
Grup 3 (NAC + radyoterapi grubu)	5 (4,64 – 5,46) 5,04 \pm 0,4	0,6 (0,55 – 0,7) 0,62 \pm 0,1	9,2 (8,1 – 11) 9,7 \pm 2,8
Grup 4 (radyoterapi + NAC grubu)	6,44 (5,49 – 6,99) 6,3 \pm 0,86	0,52 (0,48 – 0,6) 0,53 \pm 0,07	12,6 (10,6 – 16) 13,5 \pm 3,8
p	<0,001^a	0,001^a	<0,001^a
Post Hoc Dunn test	p	p	p
Grup 1-2	<0,001	<0,001	<0,001
Grup 1-3	1,000	0,880	1,000
Grup 1-4	0,036	0,081	0,065
Grup 2-3	0,021	0,062	0,02
Grup 2-4	0,956	0,792	0,518
Grup 3-4	0,880	1,000	1,000

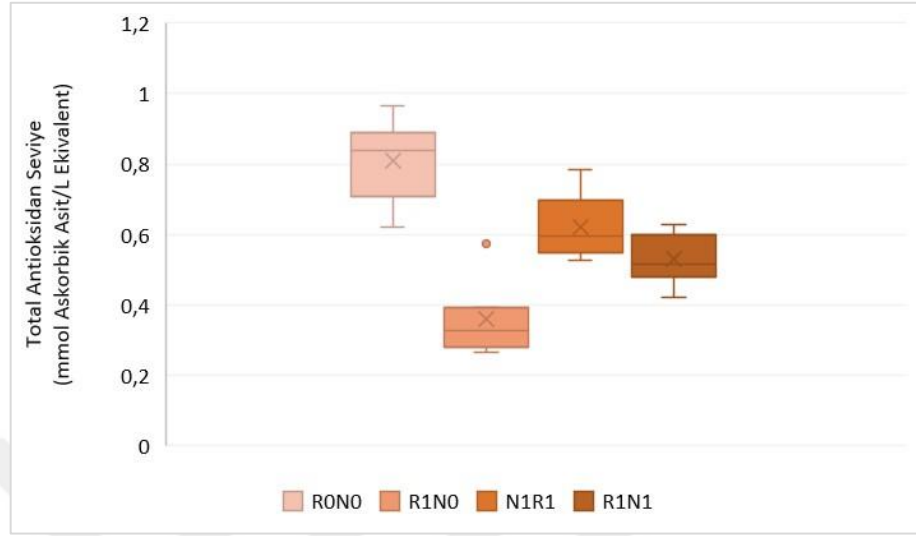
^aKruskal Wallis testi. Kısaltmalar: TOS=Total oksidan seviye, TAS=Total antioksidan seviye, OSİ=Oksidatif stres indeksi, Q1=1. çeyreklik, Q3=3. çeyreklik, SD=Standart deviasyon.

Gruplar arasında total oksidan seviye, total antioksidan seviye ve oksidatif stres indeksi ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla $p<0,001$; $p=0,001$; $p<0,001$).

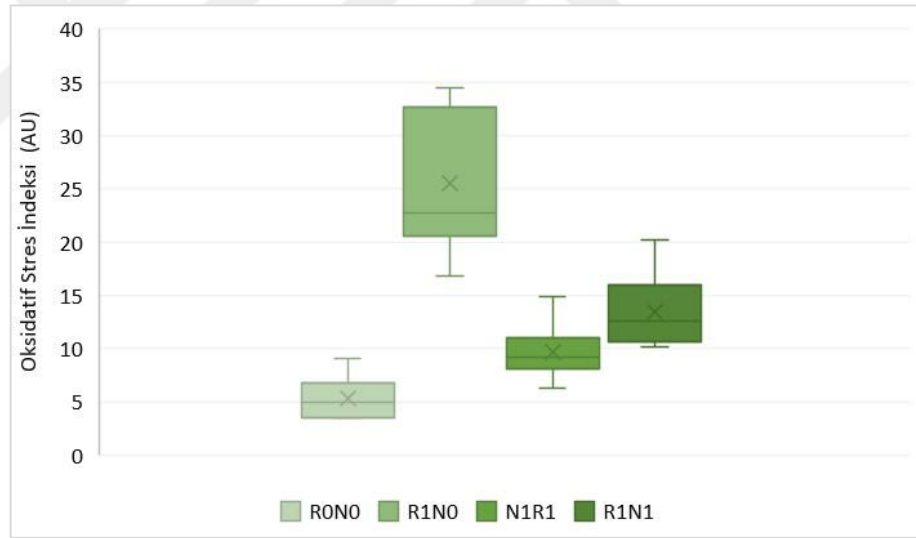
Grup 2'nin (R_1N_0) ortalama ve medyan total oksidan seviyesi ile oksidatif stres indeksi, grup 1'e (R_0N_0) ($p<0,001$; $p<0,001$) ve grup 3'e (N_1R_1) (sırasıyla $p=0,021$; $p=0,02$) göre yüksek; total antioksidan seviyesi ise grup 3'e göre düşük saptanmış ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,001$) tespit edilmiştir. Grup 2'nin ortalama ve medyan total antioksidan seviyesi, grup 3 ve grup 4'e göre düşük olmakla birlikte gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görüldü. Ayrıca grup 1 ve grup 4 arasında total oksidan seviyesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0,036$) saptandı.



Şekil 7. Total oksidan seviyelerinin gruplara göre dağılımı



Şekil 8. Total antioksidan seviyelerinin gruplara göre dağılımı



Şekil 9. Oksidatif stres indeksinin gruplara göre dağılımı

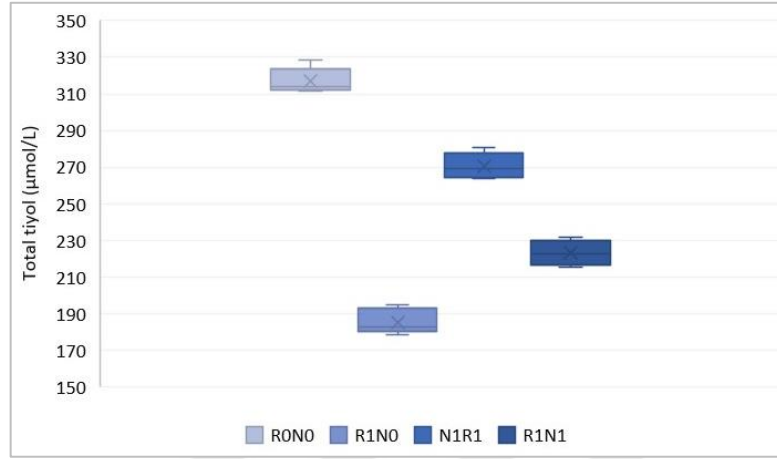
Çalışmamızda biyokimyasal analizin ikinci bölümünde sıçan grupları arasında total tiyol, native tiyol ve disülfid seviyeleri karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında total tiyol, native tiyol ve disülfid ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla $p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$). Gruplar arasındaki total tiyol, native tiyol ve disülfid ölçümlerinin karşılaştırılması Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4. Gruplar arasında total tiyol, native tiyol ve disülfid ölçümlerinin karşılaştırılması

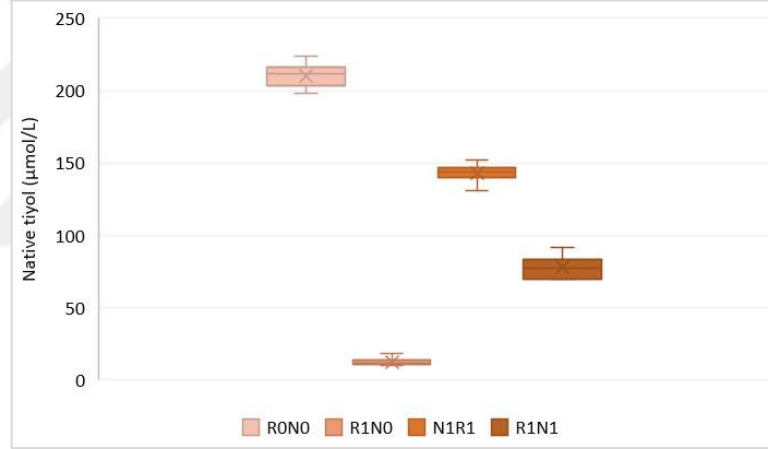
	Total Tiyol ($\mu\text{mol/L}$) Medyan (Q1 – Q3) Ortalama \pm SD	Native Tiyol ($\mu\text{mol/L}$) Medyan (Q1 – Q3) Ortalama \pm SD	Disülfid ($\mu\text{mol/L}$) Medyan (Q1 – Q3) Ortalama \pm SD
Grup 1 (kontrol grubu)	314,1 (312,3 - 323,4) 317,1 \pm 6,7	211,4 (203,1 – 216,3) 210,6 \pm 8,7	56,1 (47,2 – 58,9) 53,6 \pm 7,9
Grup 2 (radyoterapi grubu)	182,9 (180,5 – 193) 185,2 \pm 6,4	11,3 (10,5 – 13,8) 12,4 \pm 2,7	87,5 (82,5 – 92,9) 88,1 \pm 5
Grup 3 (NAC + radyoterapi grubu)	269,3 (264,2 – 277,7) 270,7 \pm 7	143,8 (140,1 – 146,8) 143,1 \pm 6,7	58,3 (53,1 – 67,7) 59,5 \pm 7,4
Grup 4 (radyoterapi + NAC grubu)	222,5 (216,3 – 230,1) 223 \pm 6,8	77,1 (69,9 – 83,2) 77,6 \pm 8,3	74,4 (68,1 – 80,3) 73,7 \pm 7,9
	p	<0,001^a	<0,001^a
Post Hoc Dunn test	p	p	p
Grup 1-2	<0,001	<0,001	0,001
Grup 1-3	0,948	0,948	1,000
Grup 1-4	0,028	0,028	0,168
Grup 2-3	0,014	0,014	0,004
Grup 2-4	0,674	0,674	0,659
Grup 3-4	0,948	0,948	0,506

^aKruskal Wallis testi. Kısaltmalar: Q1=1. çeyreklik, Q3=3. çeyreklik, SD=Standart deviasyon.

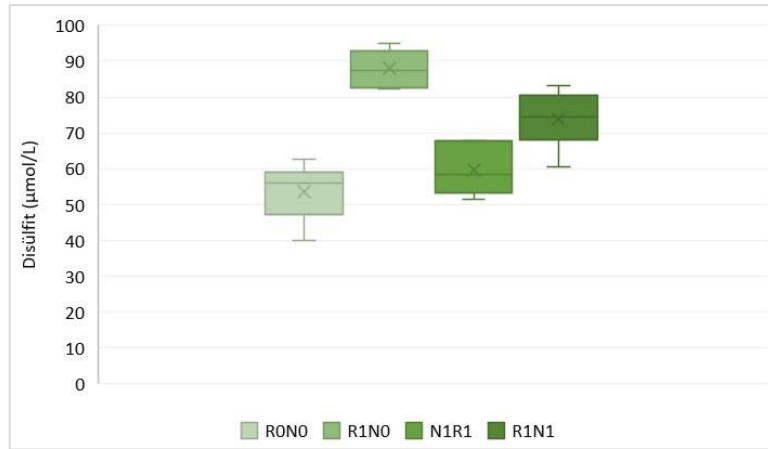
Grup 2'nin (R₁N₀) ortalama ve medyan total ve native tiyol düzeyi, grup 1 (R₀N₀) (sırasıyla p<0,001; p<0,001) ve grup 3'e (N₁R₁) (sırasıyla p=0,014; p=0,014) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük (p=0,001); disülfid düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek (p=0,004) bulundu. Grup 2'nin diğer gruplara göre ortalama ve medyan total ve native tiyol düzeyi düşük ve disülfid düzeyi yüksek olmasına rağmen, gruplar arasında total ve native tiyol düzeyi ile disülfid düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05). Ayrıca grup 1 ve grup 4 arasında total tiyol düzeyleri (p=0,028) ve native tiyol düzeyleri (p=0,028) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı.



Şekil 10. Total tiyol ölçümlerinin gruplara göre dağılımı



Şekil 11. Native tiyol ölçümlerinin gruplara göre dağılımı



Şekil 12. Disülfid ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

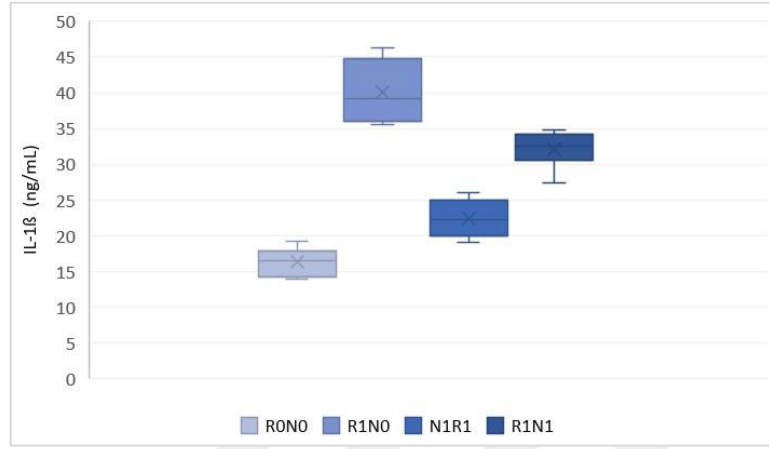
Çalışmamızda biyokimyasal analizinin üçüncü bölümünde sıçan grupları arasında IL-1B, IL-6 ve TNF seviyeleri karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında IL-1B, IL-6 ve TNF ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$). Gruplar arasındaki IL-1B, IL-6 ve TNF düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Gruplar arasında IL-1B, IL-6 ve TNF düzeylerinin karşılaştırılması

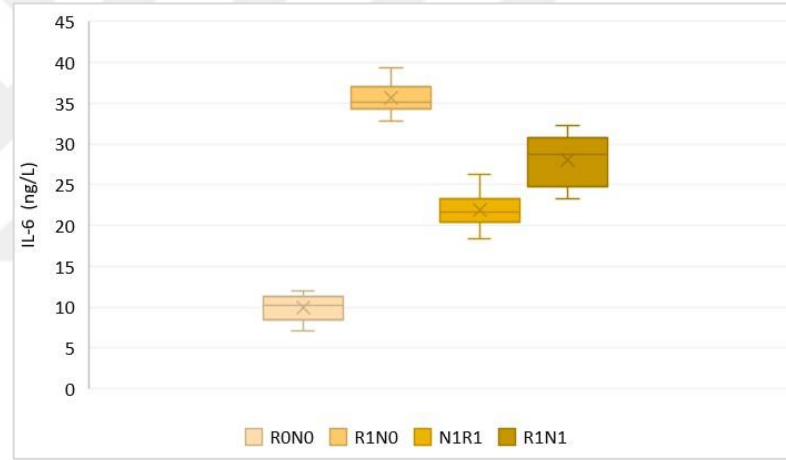
	IL-1B (ng/mL)	IL-6 (ng/mL)	TNF (ng/mL)
	Medyan (Q1 – Q3) Ortalama \pm SD	Medyan (Q1 – Q3) Ortalama \pm SD	Medyan (Q1 – Q3) Ortalama \pm SD
Grup 1 (kontrol grubu)	16,5 (14,2 – 17,8) 16,3 \pm 2	10,2 (8,5 – 11,3) 9,9 \pm 1,7	420,6 (416,3 – 435,2) 424,5 \pm 10,4
Grup 2 (radyoterapi grubu)	39,1 (36 – 44,7) 40 \pm 4,1	35,1 (34,3 – 37) 35,7 \pm 2,1	543,9 (529,3 – 556,6) 551,8 \pm 30,4
Grup 3 (NAC + radyoterapi grubu)	22,2 (20 – 24,9) 22,4 \pm 2,6	21,6 (20,4 – 23,3) 21,9 \pm 2,5	480,7 (459,5 – 500,3) 480,2 \pm 21,9
Grup 4 (radyoterapi + NAC grubu)	32,5 (30,5 – 34,2) 32,1 \pm 2,6	28,7 (24,8 – 30,8) 28,1 \pm 3,3	512,2 (493,2 – 525,9) 511 \pm 19,6
	p	<0,001^a	<0,001^a
Post Hoc Dunn test	p	p	p
Grup 1-2	<0,001	<0,001	0,001
Grup 1-3	1,000	0,817	1,000
Grup 1-4	0,032	0,036	0,168
Grup 2-3	0,012	0,018	0,004
Grup 2-4	0,674	0,571	0,659
Grup 3-4	0,880	1,000	0,506

^aKruskal Wallis testi. Kısaltmalar: IL=İnterlökin, TNF=Tümör nekrozis faktör, Q1=1. çeyreklik, Q3=3. çeyreklik, SD=Standart deviasyon.

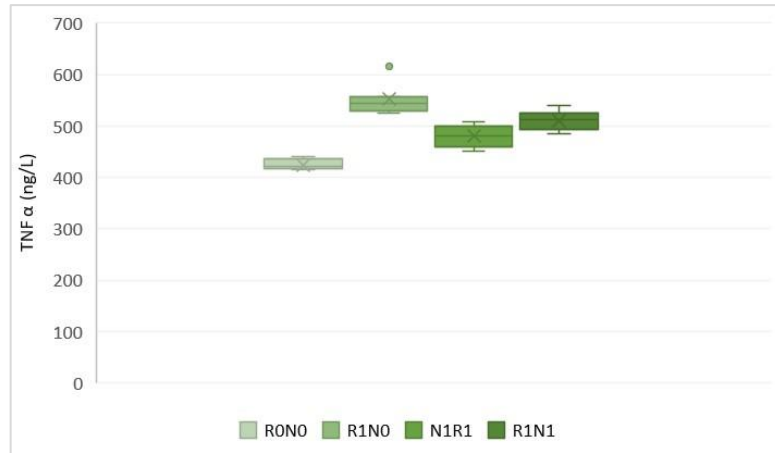
Grup 2'nin (R₁N₀) ortalama ve medyan IL-1B, IL-6 ve TNF değerlerinin, grup 1'e (R₀N₀) (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$; $p=0,001$) ve grup 3'e (N₁R₁) (sırasıyla $p=0,012$; $p=0,018$; $p=0,004$) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. Grup 2'nin ortalama ve medyan IL-1B, IL-6 ve TNF değerleri, grup 4'e göre (R₁N₁) yüksek olmakla birlikte gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görüldü. Ayrıca grup 1 ve grup 4 arasında IL-1B ($p=0,032$) ve IL-6 ($p=0,036$) düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.



Şekil 13. IL-1 β ölçümlerinin gruplara göre dağılımı



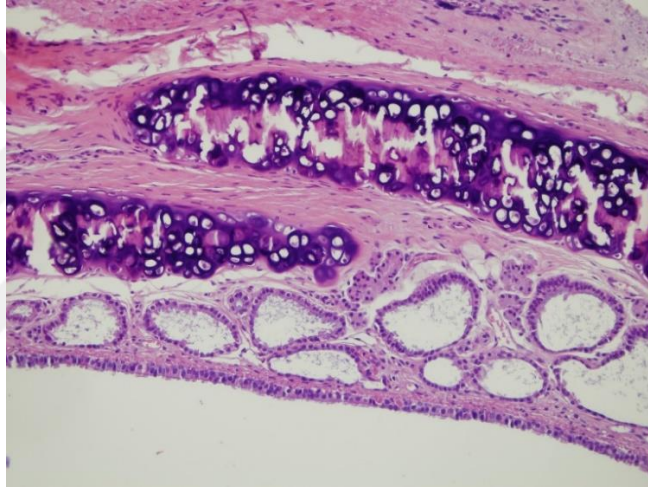
Şekil 14. IL-6 ölçümlerinin gruplara göre dağılımı



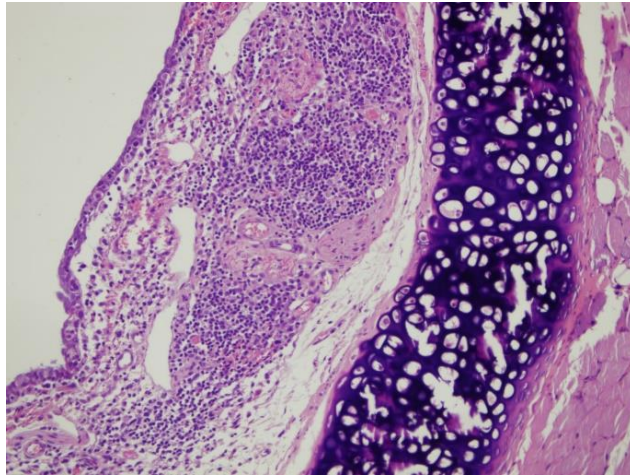
Şekil 15. TNF α ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

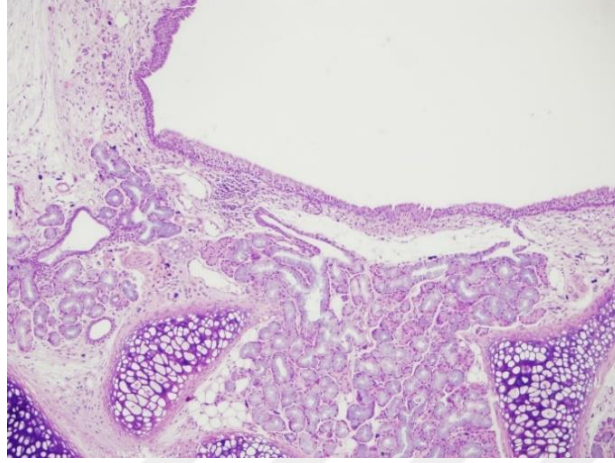
Çalışmamızda larenksin kesitsel incelemesi sırasında elde edilen preparatlar tek bir histopatolog tarafından gruplar bilinmeden (kör araştırmacı) değerlendirildi. Lamina propriada (ödem, vasküler dilatasyon ve inflamasyon), skuamöz epitelde (inflamasyon) ve respiratuar epiteldeki değişiklikler (silier kayıp ve psödostratifikasyon) semikantitatif olarak değerlendirildi. Her parametre 100x büyütmede değerlendirildi. İnflamasyon göstergesi olarak polimorf nüveli lökosit (PMNL) ve lenfosit sayısı kabul edildi. Histopatolojik incelemeye ait örnek görseller Resim 10-22'de gösterilmiştir.



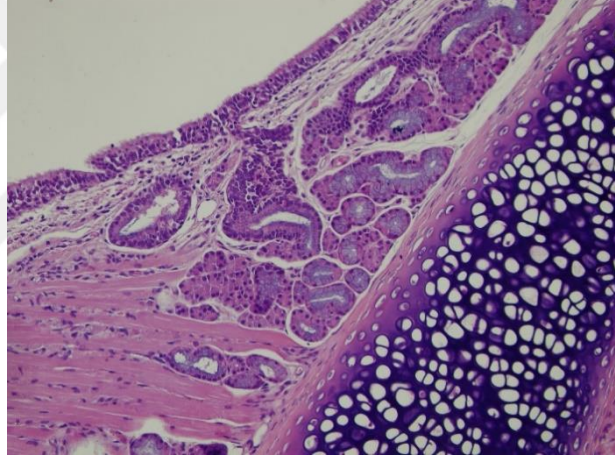
Resim 10. Grup 1'de yer alan bir sıçana ait glottik kesit



Resim 11. Grup 2'de yer alan bir sıçana ait subglottik kesit



Resim 12. Grup3'te yer alan bir sıçana ait subglottik kesit



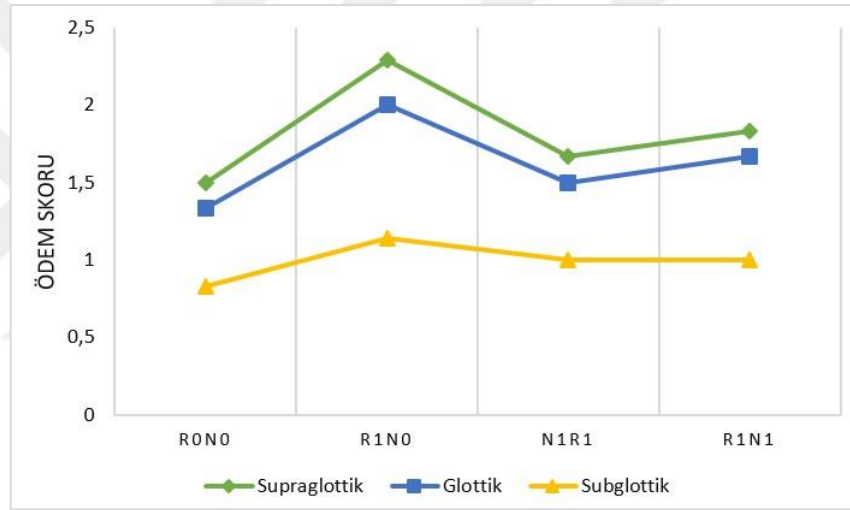
Resim 13. Grup 4'te yer alan bir sıçana ait supraglottik kesit

Çalışmamızda histopatolojik analizin ilk bölümünde sıçan grupları arasında larengeal bölgelere ait larengeal ödem bulguları değerlendirilmiştir. Grup 2'de yer alan sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama ödem skorları, diğer gruplarda yer alan sıçanlara göre yüksek saptanmasına rağmen gruplar arasında sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ödem skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Gruplar arasında supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ödem bulgularının karşılaştırılması Tablo 6'da gösterilmiştir. Grup 2 ve 3'te yer alan sıçanlardaki ödem bulgularına ait örnek larenks kesitleri Resim 14-15'de gösterilmiştir.

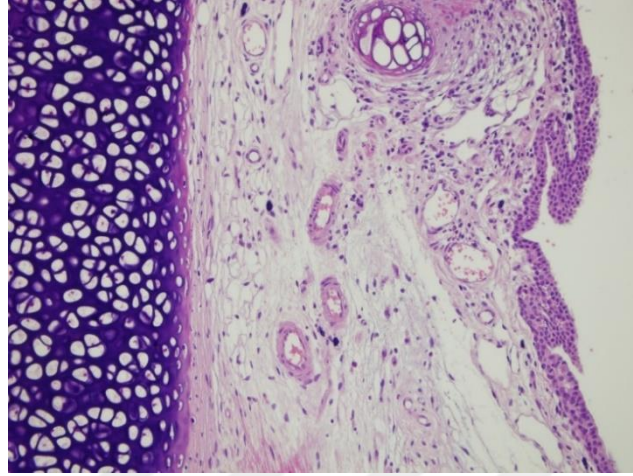
Tablo 6. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait ödem bulgularının karşılaştırılması

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
Supraglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1,5 (1 – 2)	2 (2 – 3)	1,5 (1 – 2,25)	2 (1 – 2,25)	0,271 ¹
Ortalama \pm SD	1,5 \pm 0,5	2,29 \pm 0,8	1,67 \pm 0,8	1,83 \pm 0,8	
Glottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1 (1 – 2)	2 (2 – 2)	1,5 (1 – 2)	1,5 (1 – 2,25)	0,263 ¹
Ortalama \pm SD	1,33 \pm 0,5	2 \pm 0,6	1,5 \pm 0,5	1,67 \pm 0,8	
Subglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1 (0 – 1,25)	1 (1 – 1)	1 (0,75 – 1,25)	1 (1 – 1)	0,744 ¹
Ortalama \pm SD	0,83 \pm 0,8	1,14 \pm 0,4	1 \pm 0,6	1 \pm 0	

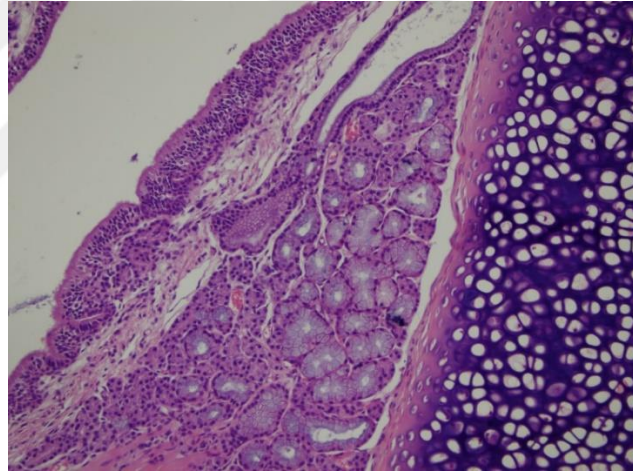
¹Kruskal Wallis testi



Şekil 16. Ortalama ödem skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı



Resim 14. Grup 2’de yer alan bir sıçanda görülen yoğun ödem



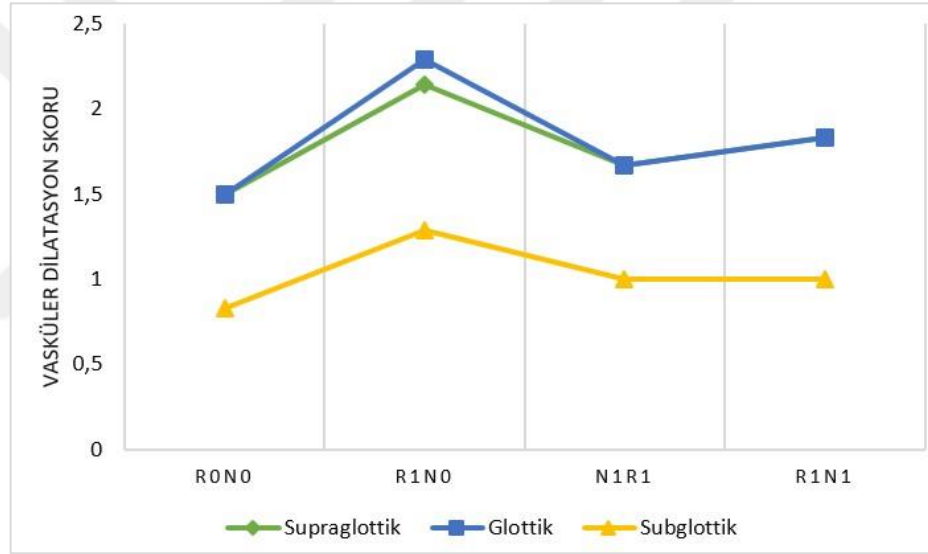
Resim 15. Grup 3’te yer alan bir sıçanda görülen azalmış ödem

Çalışmamızda histopatolojik analizin ikinci bölümünde sıçan grupları arasında larengeal bölgelere ait vasküler dilatasyon bulguları değerlendirilmiştir. Grup 2’deki sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama vasküler dilatasyon skorları diğer gruplarda yer alan sıçanlara göre yüksek saptanmasına rağmen, gruplar arasında sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama vasküler dilatasyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Gruplar arasında supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki vasküler dilatasyon bulgularının karşılaştırılması Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait vasküler dilatasyon bulgularının karşılaştırılması

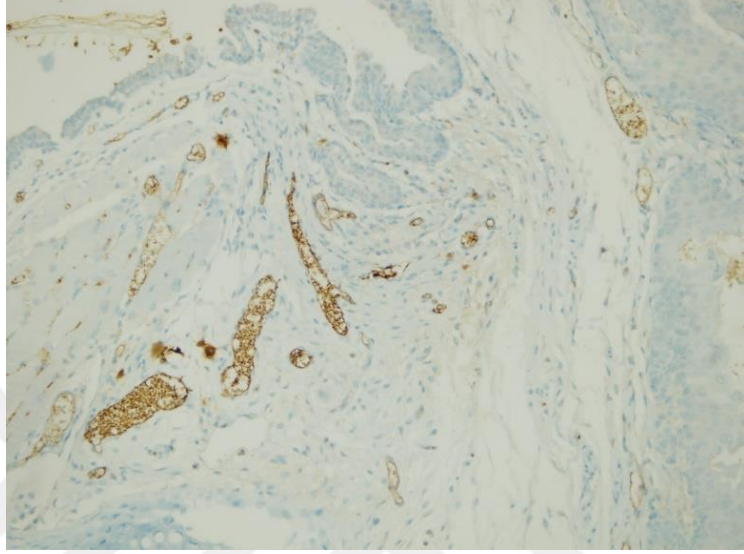
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
Supraglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1,5 (1 – 2)	2 (2 – 3)	1,5 (1 – 2,25)	2 (1 – 2,25)	0,401 ¹
Ortalama \pm SD	1,5 \pm 0,5	2,14 \pm 0,7	1,67 \pm 0,8	1,83 \pm 0,8	
Glottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1,5 (1 – 2)	2 (2 – 3)	2 (1 – 2)	2 (1,75 – 2)	0,151 ¹
Ortalama \pm SD	1,5 \pm 0,5	2,29 \pm 0,8	1,67 \pm 0,5	1,83 \pm 0,4	
Subglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1 (0 – 1,25)	1 (1 – 2)	1 (1 – 1)	1 (0,75 – 1,25)	0,501 ¹
Ortalama \pm SD	0,83 \pm 0,8	1,29 \pm 0,5	1 \pm 0	1 \pm 0,6	

¹Kruskal Wallis testi

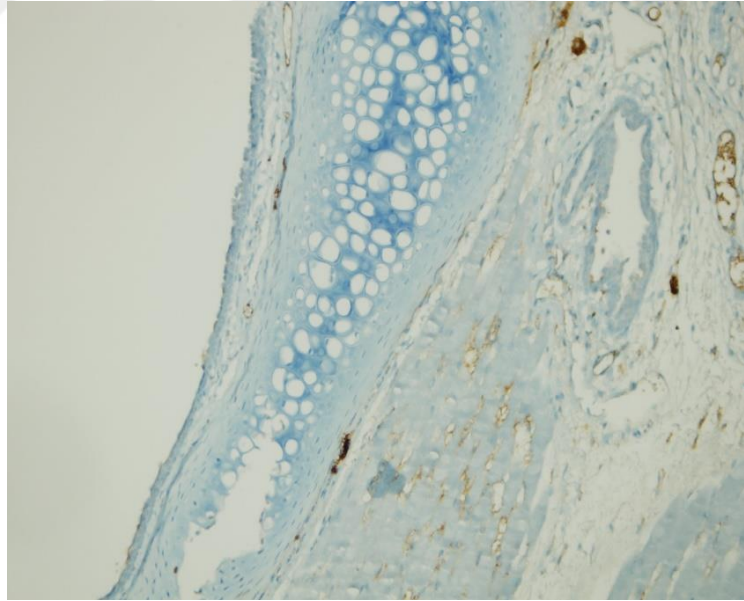


Şekil 17. Vasküler dilatasyon skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı

Grup 2 ve 3'te yer alan sıçanlardaki larengeal dokunun CD31 boyama ile elde edilen örnek kesitlerine ait vasküler dilatasyon bulguları Resim 16-17'de gösterilmiştir.



Resim 16. Grup 2'de yer alan bir sıçanda görülen yoğun vasküler dilatasyon



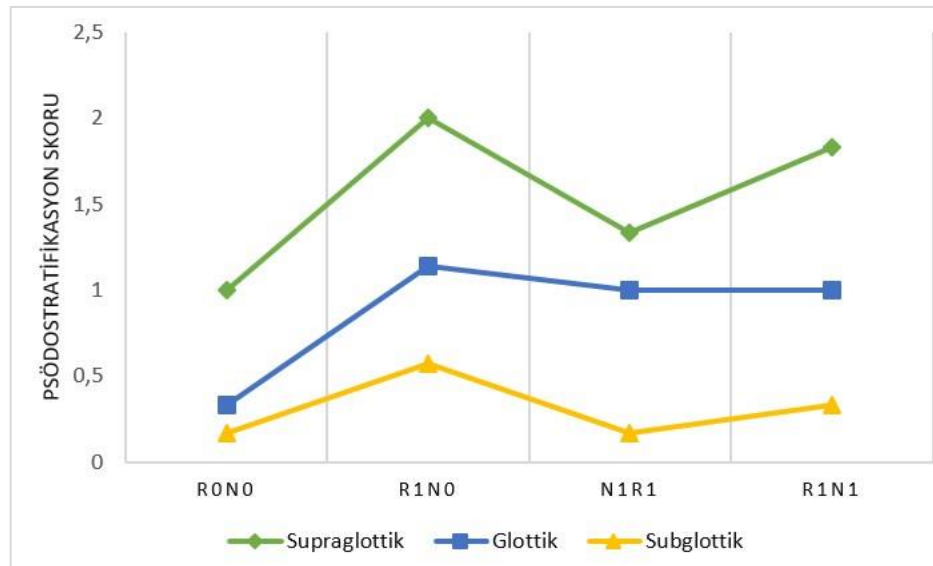
Resim 17. Grup 3'te yer alan bir sıçanda görülen hafif vasküler dilatasyon

Çalışmamızda histopatolojik analizin üçüncü bölümünde sıçan grupları arasında larengeal bölgelere ait psödostratifikasyon bulguları değerlendirilmiştir. Grup 2'deki sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama psödostratifikasyon skorları diğer gruplarda yer alan sıçanlara göre yüksek saptanmasına rağmen, gruplar arasında sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama psödostratifikasyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Gruplar arasında supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki psödostratifikasyon bulgularının karşılaştırılması Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait psödostratifikasyon bulgularının karşılaştırılması

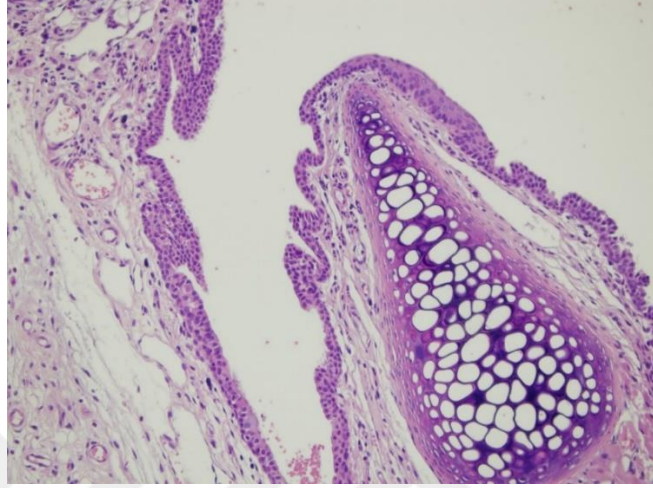
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
Supraglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1 (0,75 – 1,25)	2 (2 – 2)	1,5 (0,75 – 2)	2 (1 – 2,25)	0,074 ¹
Ortalama ± SD	1 ± 0,6	2 ± 0,6	1,33 ± 0,8	1,83 ± 0,8	
Glottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	0 (0 – 1)	1 (1 – 2)	1 (0 – 2)	1 (0 – 2)	0,254 ¹
Ortalama ± SD	0,33 ± 0,5	1,14 ± 0,7	1 ± 0,9	1 ± 0,9	
Subglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	0 (0 – 0,25)	1 (0 – 1)	0 (0 – 0,25)	0 (0 – 1)	0,362 ¹
Ortalama ± SD	0,17 ± 0,4	0,57 ± 0,5	0,17 ± 0,4	0,33 ± 0,5	

¹Kruskal Wallis testi



Şekil 18. Psödostratifikasyon skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı

Grup 2’de yer alan sıçanlardaki larengeal dokunun H&E boyama ile elde edilen örnek kesitlerine ait psödostrafikasyon bulguları Resim 18’de gösterilmiştir.



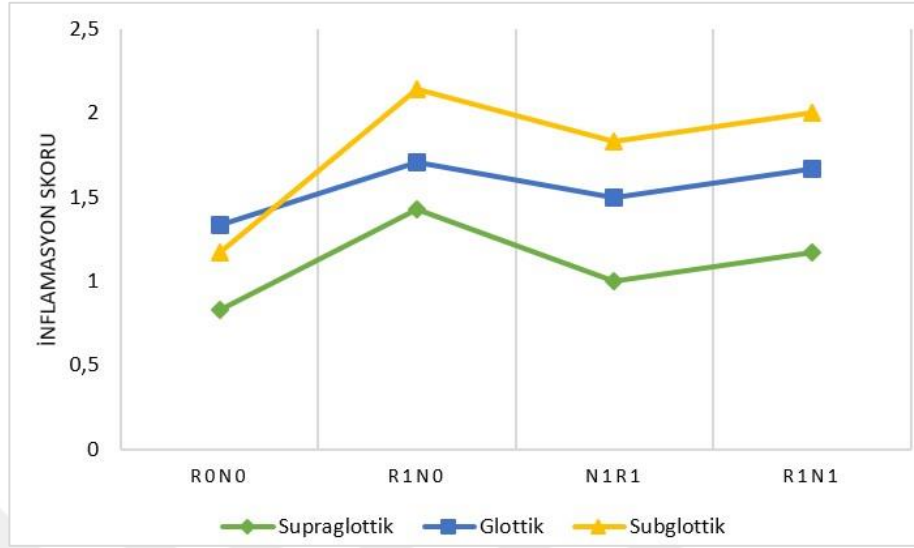
Resim 18. Grup 2’te yer alan bir sıçanda görülen artmış psödostrafikasyon

Çalışmamızda histopatolojik analizin dördüncü bölümünde sıçan grupları arasında larengeal bölgelere ait inflamasyon bulguları değerlendirilmiştir. Grup 2’deki sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama inflamasyon skorları diğer gruplarda yer alan sıçanlara göre yüksek saptanmasına rağmen, gruplar arasında sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama inflamasyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Gruplar arasında supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki inflamasyon bulgularının karşılaştırılması Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait inflamasyon bulgularının karşılaştırılması

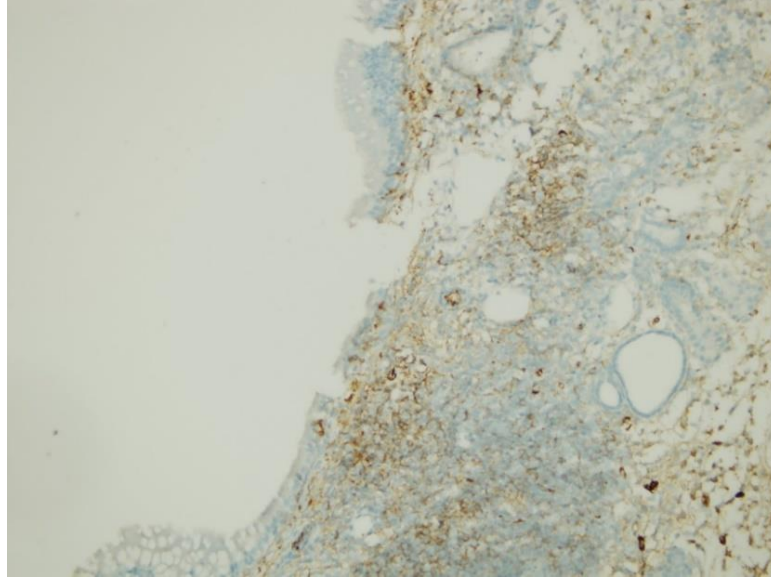
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
Supraglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1 (0,75 – 1)	1 (1 – 2)	1 (1 – 1)	1 (1 – 1,25)	0,089 ¹
Ortalama \pm SD	0,83 \pm 0,4	1,43 \pm 0,5	1 \pm 0	1,17 \pm 0,4	
Glottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1 (1 – 1,5)	2 (1 – 2)	1 (1 – 2,25)	1,5 (1 – 2,25)	0,666 ¹
Ortalama \pm SD	1,33 \pm 0,8	1,71 \pm 0,8	1,5 \pm 0,8	1,67 \pm 0,8	
Subglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1 (0,75 – 2)	3 (1 – 3)	2 (0,75 – 3)	2 (1 – 3)	0,374 ¹
Ortalama \pm SD	1,17 \pm 0,8	2,14 \pm 1,1	1,83 \pm 1,3	2 \pm 0,9	

¹Kruskal Wallis testi

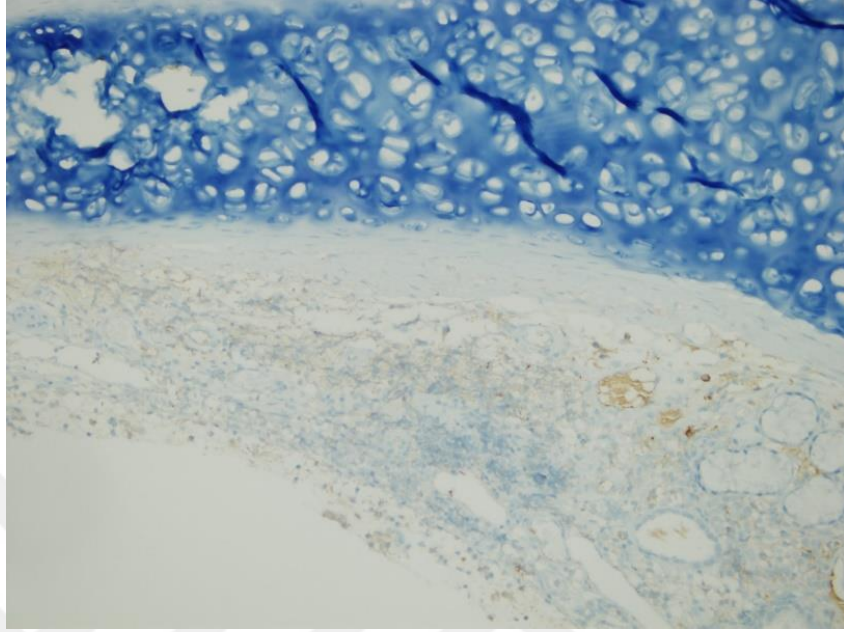


Şekil 19. İnflamasyon skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı

Grup 2 ve 4'te yer alan sıçanlardaki larengeal dokunun CD45 boyama ile elde edilen örnek kesitlerine ait inflamasyon bulguları Resim 19-20'de gösterilmiştir.



Resim 19. Grup 2'de yer alan bir sıçanda görülen artmış inflamasyon



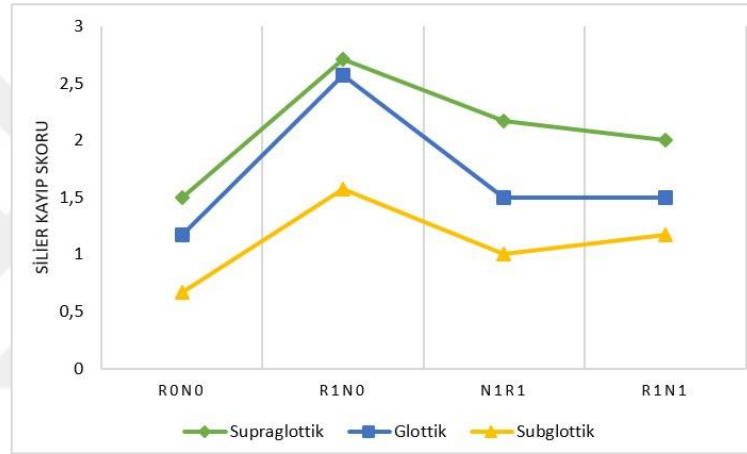
Resim 20. Grup 4’te yer alan bir sıçanda görülen azalmış inflamasyon

Çalışmamızda histopatolojik analizin beşinci bölümünde sıçan grupları arasında larengeal bölgelere ait siliyer kayıp bulguları değerlendirilmiştir. Gruplara göre sıçanların supraglottik, glottik alanlardaki siliyer kayıp skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla $p=0,025$; $p=0,04$). Gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesi amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre, grup 2’de yer alan sıçanların supraglottik ve glottik alanlardaki siliyer kayıp skorları, grup 1’de yer alan sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (sırasıyla $p=0,015$; $p=0,047$). Grup 3 ve 4’te yer alan sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama siliyer kayıp skorları, grup 2’de yer alan sıçanlara göre düşük olsa da; gruplar arasında ortalama siliyer kayıp skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Gruplar arasında supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki siliyer kayıp bulgularının karşılaştırılması Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. Gruplar arasında larengeal bölgelere ait siliyer kayıp bulgularının karşılaştırılması

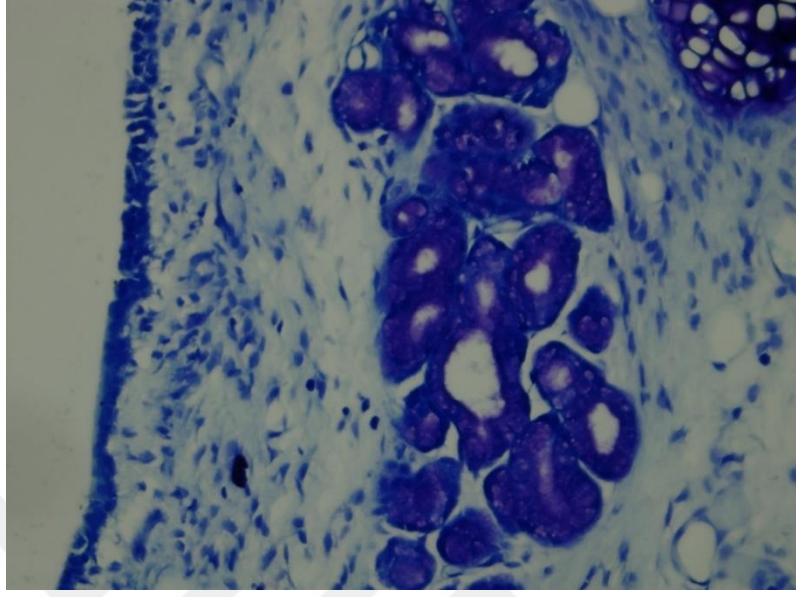
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
Supraglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1,5 (1 – 2)	3 (2 – 3)	2 (1,75 – 3)	2 (1,75 – 2,25)	0,025¹
Ortalama ± SD	1,5 ± 0,5	2,71 ± 0,5	2,17 ± 0,8	2 ± 0,6	
Glottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1 (0,75 – 2)	3 (2 – 3)	1,5(0,75–2,25)	1,5 (1 – 2)	0,04¹
Ortalama ± SD	1,17 ± 0,8	2,57 ± 0,8	1,5 ± 1	1,5 ± 0,5	
Subglottik Bölge					
Medyan (Q1 – Q3)	1 (0 – 1)	2 (1 – 2)	1 (0,75 – 1,25)	1 (1 – 1,25)	0,167 ¹
Ortalama ± SD	0,67 ± 0,5	1,57 ± 1	1 ± 0,6	1,17 ± 0,4	

¹Kruskal Wallis testi

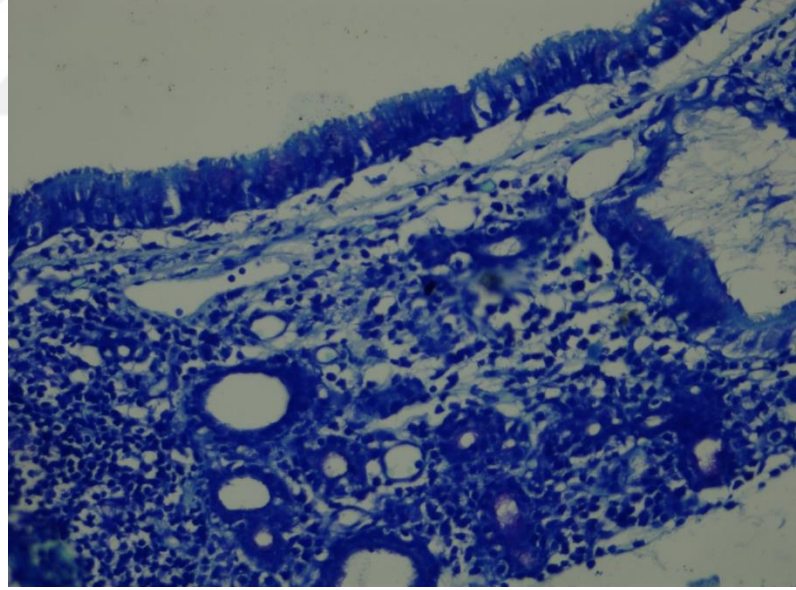


Şekil 20. Siliyer kayıp skorlarının gruplara ve bölgelere göre dağılımı

Grup 2 ve 3'te yer alan sıçanlardaki larengeal dokunun toluidine blue boyama ile elde edilen örnek kesitlerine ait silya bulguları Resim 21-22'de gösterilmiştir.



Resim 21. Grup 2’de yer alan bir sıçanda görülen yoğun silya kaybı



Resim 22. Grup 3’te yer alan bir sıçanda görülen normal silya

5. TARTIŞMA

N-asetilsistein (NAC), solunum yollarında sergilediği güçlü mukolitik etkisinin yanı sıra oksidatif stres ve inflamasyona karşı vücudun savunma sistemine önemli katkı sağlamaktadır. Yakın geçmişte NAC'ın güçlü antiinflamatuvar, antioksidan ve radyoprotektif etkilerinin olduğu bildirilmiş ve NAC'ın mukolitik harici bu etkileri, güncel deneysel çalışmalara sıkça konu edilmiştir. Nitekim çalışmamızda da NAC'ın son dönemde literatürde sıkça bahsedilen radyoprotektif etkilerini, ışınlanmış sıçan larenksi mukozasında kontrol grubu ile karşılaştırmalı bir şekilde test ettik. Çalışmamızda NAC uygulamasının biyokimyasal parametreler üzerinde anlamlı pozitif değişikliklere yol açtığını tespit ettik. Radyasyon öncesi NAC tedavisi uygulanan sıçan grubunda, sadece radyasyon uygulanan gruba göre total oksidan seviyede ve oksidatif stres seviyesinde anlamlı düşüklük saptadık. Yine radyasyon öncesi NAC tedavisi uygulanan sıçan grubunda, sadece radyasyon uygulanan gruba göre ortalama total ve native tiyol düzeylerinde anlamlı yükseklik, disülfit düzeylerinde ise anlamlı düşüklük saptadık. Çalışmamızda ayrıca, radyasyon öncesi NAC tedavisi uygulanan sıçan grubunda, sadece radyasyon uygulanan gruba göre ortalama IL-1B, IL-6 ve TNF düzeylerinde anlamlı düşüklük saptadık. Çalışmamız NAC'ın pozitif histopatolojik değişikliklere yol açtığını gösterse de radyasyon öncesi NAC uygulanan grup ile sadece radyasyon uygulanan grup arasındaki histopatolojik bulgu farklılığı istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Radyoterapinin ortaya çıkardığı istenmeyen etkilerin ortadan kaldırılması günümüz çalışmalarının odak noktası olmuştur. Radyoprotektif ajanlar genel olarak radyokoruyucular, radyasyon azaltıcılar ve terapötik ajanlar olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Radyokoruyucular, temelde serbest radikalleri temizleyerek, antioksidan savunma mekanizmasını güçlendirmekte ve organizmaları radyoterapi sırasında hücresel ve moleküler hasardan korumaktadır (66). Radyasyon azaltıcılar ise radyasyon sonrası, semptomların ortaya çıkmasından önce uygulanan ve genellikle DNA onarımını, hücresel sinyalleşmesini ve hücrelerin tiyol redoks sistemini modüle ederek organizmayı koruyan ajanlar olarak tanımlanmaktadır (67). Radyasyon terapötik ajanları ise semptomların ortaya çıkmasından sonra, işlevsel hasar görmemiş hücrelerin bölünmesini uyararak

dokuları yenilemek için uygulanır (68). Radyoprotektif ajanlar içerisinde ayrıca adaptojenler ve radyasyon emici ajanların da bulunduğu belirtilmektedir. Adaptojenler, antioksidanları ve onarımı artırarak savunma sisteminin uyarıcısı olarak hareket ederek radyo direncini artıran bileşiklerdir. Radyasyon emiciler ise bireyi alınan radyonüklidlerden korumak için şelatör görevi gören bileşiklerdir (69). Çalışmalarda çok sayıda farklı maddenin radyoprotektif etkileri test edilmiştir. Radyasyonun ortaya çıkardığı zararlı etkilerin ortadan kaldırılmasında kullanılabilecek radyoprotektif etkili ajanlar arasında E vitamini, aminoguanidin, amifostin, erdosteine, C vitamini, sistein ve melatonin gibi çok sayıda farklı ajan bulunmaktadır (70-75). Çalışmamızda da ucuz, kolay ulaşılabilir, yan etkisi az, kolay doz ayarı yapılabilen bir ajan olan N-asetilsisteinin (NAC) radyoprotektif etkilerinin sıçanlarda test edilmesi hedeflenmiştir.

Literatürde NAC'ın radyoprotektif etkilerinin test edildiği çok sayıda çalışma mevcuttur. Mercantepe ve ark.'nın 24 adet sıçan ile gerçekleştirdiği, NAC'ın tüm vücut iyonizan radyasyonunun böbreklerde meydana getirdiği hasar üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada, NAC'ın renal hasarı engellediği ve bu yönüyle radyoprotektif etkili olduğu gösterilmiştir (76). Gao ve ark.'nın 24 adet dişi sıçan ile gerçekleştirdiği, NAC'ın iyonize radyasyona bağlı ovarian yetersizlik ve over rezervi kaybı üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada, NAC'ın over ve uterus fonksiyonunu başarıyla restore ettiği ve bu yönüyle radyoprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (77). Jia ve ark.'nın sıçanlar üzerinde, NAC'ın abdominal iyonize radyasyona bağlı ölümün azaltılması ve engellenmesi ile ilgili gerçekleştirdiği çalışmada NAC'ın radyasyona bağlı 10 ve 30 günlük mortalite oranını %50'den fazla azalttığı ve bu yönüyle radyoprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (78). Topcu ve ark.'nın 40 adet erkek sıçan ile gerçekleştirdiği, NAC'ın radyoterapiye bağlı testiküler hasar üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada NAC'ın Johnsen skoru (seminifer tübül ve spermatogenezin değerlendirilmesi için geliştirilmiş skorlama) ve doku GSH düzeylerini sadece radyoterapi uygulanan gruba göre arttırdığı ve bu yönüyle NAC'ın radyoprotektif etki amacıyla kullanılabileceği gösterilmiştir (79).

Serumda yalnızca bir veya birkaç ayrı oksidanın ölçülmesinin oksidatif stres ile malignite arasında kesin bir ilişki kurmak için yetersiz olduğu ve bu nedenle oksidanların tek tek değerlendirilmesi yerine, genel oksidasyon göstergesi olan total oksidan seviyesi (TOS) kullanılması gerektiği belirtilmektedir (58-59). Oksidatif stress varlığında TOS ile TAS arasında TOS lehine dengesizlik meydana gelmektedir. Alkis ve ark.'nın 18 adet sıçanı, bir grubu kontrol grubu olacak şekilde üç gruba ayırdığı ve diğer iki gruba 1800 MHz ve 2100 MHz mikrodalga radyasyon uyguladığı çalışmasında TOS'un 1800 MHz ve 2100 MHz uygulanan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) yüksek olduğu gösterilmiştir (80). Çalışmamızda ise yalnızca radyoterapi uygulanan sıçan grubunda, ortalama total oksidan seviyesi, kontrol grubu ve NAC sonrası radyoterapi uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı. Çalışmamızda elde edilen veriler literatür verileri ile uyumlu olup radyoterapinin TOS artışına neden olduğunu doğrulamaktadır. Çalışmamızda ayrıca radyoterapi öncesi NAC uygulamasının TOS'u anlamlı derecede azalttığı saptandı. Ozcelik ve ark.'nın 21 adet sıçanı, bir grubu kontrol grubu olacak şekilde üç gruba ayırdığı ve diğer iki gruba sırasıyla gama radyasyon ile birlikte salin ve NAC uyguladığı çalışmasında, NAC uygulanan grupta glutatyon peroksidaz (GPO) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerinde salin ve radyoterapi uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüş görüldüğü bildirilmiştir. Aynı çalışmada ayrıca NAC tedavisi etkisiyle ile artan GSH radyoterapi etkisiyle gelişen oksidatif stresi azaltmada rol oynayan temel antioksidan olabileceği belirtilmektedir (81). Çalışmamızda da radyoterapi öncesi NAC uygulanan sıçan grubunda radyoterapi grubuna göre TOS seviyesi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Bulgularımız literatür verileri ile uyumlu olup radyoterapi öncesi NAC uygulamasının TOS seviyesinde anlamlı düşüş sağladığını desteklemektedir.

Oksidatif stres indeksi (OSİ), vücutta oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki, oksidan maddeler lehine olan dengesizliğin niceliksel bir ölçüsüdür (61). Mercantepe ve ark.'nın 24 adet sıçanı, bir grubu kontrol grubu olacak şekilde üç gruba ayırdığı ve diğer gruplara sırasıyla sadece radyoterapi ve radyoterapi sonrası NAC uyguladığı çalışmasında tek bir doz tüm vücut iyonizan radyasyonun, artan

oksidatif stres etkisiyle bağırsak villus ve kript hücrelerinde apoptoza neden olduğu gösterilmiştir (76). Ekici ve ark.'nın 40 adet sıçanı, bir grubu kontrol grubu olacak şekilde beş gruba ayırdığı ve aminoguanidinin radyoprotektif etkilerini incelediği çalışmasında radyoterapi uygulanan grupta TOS ve OSİ'nin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (70). Çalışmamızda da radyoterapi uygulanan grupta ortalama OSİ değeri, kontrol grubu ve radyoterapi öncesi NAC uygulanan gruba göre anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. Sadece radyoterapi uygulanan gruba göre, radyoterapi öncesi NAC uygulaması gerçekleştirilen sıçan grubunda ortalama OSİ düzeyinin düşük olması, NAC'ın ortalama OSİ düzeyini anlamlı derecede düşürdüğünü ve radyoterapinin olumsuz etkilerinin ortadan kaldırılması noktasında anlamlı etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Radyasyonun reaktif oksijen radikalleri oluşumunun artmasına neden olması, radyoterapi uygulamalarında TOS düzeyinde artma ve TAS düzeyinde ise azalma ile sonuçlanmaktadır. Sebastià ve ark.'ın 42'sinin mesleği gereği düşük doz iyonizan radyasyona maruz kaldığı, toplamda 70 sağlık çalışanı ile gerçekleştirdiği, iyonize radyasyona maruziyetin redoks ve total antioksidan düzeyine etkisinin araştırıldığı çalışmada kümülatif doz radyasyona maruziyetin kandaki total antioksidan düzeyinde radyasyon dozu ile orantılı bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (82). Chevion ve ark.'nın kemik iliği transplantasyonu öncesi total vücut ışınlaması gerçekleştirilen 14 hasta ile gerçekleştirdiği ve radyasyonun total antioksidan seviyeye (TAS) etkisinin incelendiği çalışmada total vücut ışınlamasının oksidatif stresi ciddi ölçüde artırdığı ve antioksidan kapasitede önemli derecede azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir (83). Çalışmamızda radyoterapi uygulanan grupta ortalama TAS düzeyi, kontrol grubu ve radyoterapi öncesinde NAC uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı. Sadece radyoterapi uygulanan gruba göre radyoterapi öncesi NAC uygulaması gerçekleştirilen sıçan grubunda ortalama TAS düzeyinin yüksek olması NAC'ın ortalama TAS düzeyini anlamlı derecede yükselttiği ve radyoterapinin olumsuz etkilerinin ortadan kaldırılması noktasında anlamlı etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Tiyol, önemli bir antioksidan maddedir. NAC ise tiyol içerdiği bilinen ve 50 yılı aşkın süredir kullanılan önemli bir ajandır (84). Oksidatif stress varlığında total tiyol ve native tiyol düzeyi düşmektedir. Ayrıca disülfid düzeyinin artışına bağlı olarak disülfid/tiyol, disülfid/total tiyol ve native tiyol/total tiyol oranlarında artış meydana gelmektedir (62). Wu ve meslektaşlarının in vitro çalışmasında, NAC'a son derece benzeyen ve hücreler üzerinde önemli etkileri olan ve tiyol antioksidanı içeren n-asetilsistein amid'in Çin hamsterinin over hücrelerinde radyasyona bağlı sitotoksiteyi azalttığı gösterilmiştir (58). Arıcan ve ark.'nın gerçekleştirdiği düşük doz iyonizan radyasyon maruziyetinin dinamik tiyol-disülfid homeostazı ve iskemi ile modifiye edilmiş albümin seviyeleri üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmada, radyasyona maruz kalan katılımcılarda albumin, native ve total tiyol düzeyleri anlamlı olarak düşük saptandığı bildirilmiştir (85). Literatürde yer alan çalışmalar tiyolün önemli bir antioksidan olduğunu, NAC kullanımının serum tiyol düzeyinde artışa sebep olduğu ve radyasyon etkisiyle serum tiyol düzeyinde azalmaya neden olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda sadece radyoterapi uygulanan sıçan grubunda kontrol grubuna göre serum total ve native tiyol seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük ve serum disülfid düzeyleri ise istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. NAC'ın radyoprotektif etkisini araştırdığımız, radyoterapi öncesi NAC uyguladığımız grupta ise serum total ve native tiyol düzeyi sadece radyoterapi uyguladığımız gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek, serum disülfid düzeyi ise anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Çalışmamızın sonucu literatür verileri ile uyumlu bir şekilde NAC'ın antioksidan özelliğe sahip serum total ve native tiyol düzeyinde artışa, disülfid düzeyinde ise azalmaya neden olduğunu desteklemektedir.

İyonizan radyasyona maruziyetin ciddi oksidatif hasara, DNA kırılmasına ve hücre ölümüne yol açtığını göstermiştir. Oksitlenmiş DNA, apoptotik cisimler ve yüksek mobiliteli grup kutusu 1 (HMGB1) gibi nekrotik ürünler gibi hücresel elemanların salınması, makrofajlar ve lenfositler tarafından immun yanıtın aktivasyonuna yol açmaktadır. Aktive olan makrofajlar, dendritik hücreler ve lenfositler, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-18, IL-33, TNF-a, TGF-p ve IFN-y gibi birçok proinflamatuvar

ve profibrotik sitokinlerin salınımını tetiklemektedir (86). Çalışmamızda sadece radyoterapi uygulanan grupta kontrol grubuna göre serum IL-1B, IL-6 ve TNF düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. NAC'ın radyoprotektif etkisini araştırdığımız, radyoterapi öncesi NAC uyguladığımız grupta ise serum IL-1B, IL-6 ve TNF düzeyleri sadece radyoterapi uyguladığımız gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Çalışmamızın sonucu literatür verileri ile uyumlu bir şekilde, NAC'ın oksidan özelliğe sahip serum IL-1B, IL-6 ve TNF düzeylerinde azalmaya neden olduğunu ve bu yönüyle NAC'ın antioksidan özelliğe sahip bir radyoprotektif ajan olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

Park ve ark.'nın iyonizan radyasyonun malign olmayan insan meme epitel hücrelerinin (HMEC) dokuya özgü morfogenez geçirme yeteneğinin test edildiği çalışmasında ışınlanmış tek HMEC'in, polarite ve iletişimin kurulması için gerekli proteinler olan E-cadherin, β -katenin ve connexin-43'ün lokalizasyonunda azalma sergileyen kolonilere yol açtığı tespit edilmiştir. Ayrıca ışınlanmış HMEC'nin bozulmuş hücre-hücre iletişimi, anormal hücre-hücre dışı matris etkileşimleri ve dokuya özgü mimarinin kaybı gibi özelliklerinin neoplastik ilerlemenin karakteristiği olduğu belirtilmiştir (87). Literatürde radyoterapinin epitelyal etkileri sıçan ince bağırsağı üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar neticesinde derecelendirilmiş ve hafiften şiddetli hasara doğru: lateral villus kollapsı, dikey villus kollapsı, konik villus, rudimenter villus ve bazen ülserasyonla birlikte düz mukoza şeklinde sıralandırılmıştır (88). Jia ve ark.'nın sıçanlar üzerinde NAC'ın abdominal iyonize radyasyona bağlı ölümün azaltılması ve engellenmesi ile ilgili gerçekleştirdiği çalışmada 20 Gy iyonizan radyasyona maruz bırakılan sıçanlarda duodenal villusların çoğunluğunun ödemli olduğu, duodenum villuslarının kısalmış ya da harap olduğu ve villi yüzeyindeki epitel hücrelerinin düzensizleştiği ve kript kaybının belirginleştiği belirtilmiştir (78). Karaer ve ark.'nın total kranium irradyasyonu (33 Gy dozunda) uygulanan 40 sıçan üzerinde gerçekleştirdiği melatoninin iç kulak üzerindeki radyoprotektif etkilerinin incelendiği çalışmada irradyasyon uygulanan sıçan grubunda korti organlarında hidropik ve vakuolar dejenerasyon, spiral ganglion ve stria vaskülariste ödem, vakuolazisyon, epitel

dejenerasyonu ve hücre sel kayıp geliştiği bildirilmiştir (89). Literatürde radyasyonun epitel dokuya etkileri genellikle farklı dokularda değerlendirilse de epitel dokuların geneli üzerindeki etkileri benzerlik göstermektedir. Topcu ve ark.'nın 40 adet erkek sıçan ile gerçekleştirdiği, NAC'ın radyoterapiye bağlı testiküler hasar üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada farklı dozlarda ancak sadece radyoterapi uygulanan sıçan grupların seminifer tübüllerinde diğer gruplara göre diffüz ödem ve artmış vasküler konjesyon bulguları gözlendiği bildirilmiştir. Ayrıca radyoterapiye ilave olarak NAC tedavisi verilen sıçanlarda, sadece radyoterapi uygulanan sıçan gruplarına göre ödem ve vasküler konjesyonda belirgin azalma saptandığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda NAC'ın testislerde radyoterapiye bağlı gelişen ödem ve vasküler konjesyonun azaltılması, testiküler doku hasarının engellenmesi amacıyla kullanılabileceğine işaret ettiği bildirilmiştir (79). Çalışmamızda sadece radyoterapi uygulanan sıçan grubunda supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama ödem skorları, diğer gruplarda yer alan sıçanlara göre yüksek saptanmasına rağmen gruplar arasında sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ödem skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Çalışmamızda radyoterapinin epitel dokuda meydana getirdiği ödemi destekleyen bulgular her ne kadar istatistiksel olarak da doğrulanamasa da sayısal veriler açısından bakıldığında kontrol grubunda sadece radyoterapi uygulanan gruba göre supraglottik ve glottik bölgede ortalama ödem skoru açısından farklılık bulunmaktadır. Ayrıca radyoterapi öncesi NAC uygulanan grupta, sadece radyoterapi uygulanan gruba göre glottik supraglottik ve glottik bölgede ortalama epitelyal ödem skoru düşük saptanmıştır. Bu durum, artırılmış denek sayısı ile gerçekleştirilecek güncel çalışmalar ile NAC'ın radyasyona bağlı epitel ödemini azaltmadaki etkinliğinin sayısal verilerin yanı sıra istatistiksel olarak da desteklenebileceğini düşündürmektedir.

Dokuda inflamasyon hidropik şişme ve inflamatuvar mediatörlerin salınımı nedeniyle ödem ve vasküler dilatasyon ile sonuçlanmaktadır. Radyasyonun dokularda meydana getirdiği inflamasyon da diğer tüm inflamatuvar süreçler ile benzeşmektedir. Oyan ve ark.'nın 24 yetişkin dişi sıçan ile gerçekleştirdiği, gastroözofageal reflü ve radyoterapinin larengeal mukozada meydana getirdiği erken histopatolojik değişikliklerin

incelendiği çalışmada, lamina propriada ödem ve vasküler dilatasyonun radyoterapi uygulanan sıçan grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek ve aynı Şekilde skuamöz epitelde inflamasyonun kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Çalışmada ayrıca radyoterapi uygulanan sıçan grubunda solunum yolu epitelinde belirgin bir silia kaybı izlendiği bildirilmiştir (65). Çalışmamızda sadece radyoterapi uygulanan sıçan grubunda sıçanların supraglottik ve glottik alanlardaki siliyer kayıp skorları, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Çalışmamızda ayrıca radyoterapi ncesi NAC uygulanan grup ile radyoterapi sonrası NAC uygulanan grupta yer alan sıçanların supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama siliyer kayıp skorları, sadece radyoterapi uygulanan grupta yer alan sıçanlara göre düşük görülse de sonuç istatistiksel olarak anlamlı görülmedi. Bu sonuç, artırılmış denek sayısı ile gerçekleştirilecek güncel çalışmalar ile NAC'ın radyasyona bağlı larengeal siliyer kaybı geri döndürmedeki etkinliğinin sayısal verilerin yanı sıra istatistiksel olarak da desteklenebileceğini düşündürmektedir.

Mercantepe ve ark.'nın 24 adet sıçan ile gerçekleştirdiği, NAC'ın tüm vücut iyonizan radyasyonunun böbreklerdeki hasar üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada, sadece radyoterapi uygulanan grupta tübüler nekroz, proksimal tübüllerin fırça kenarlarında hasar, proksimal ve distal tübüllerde atipik glomerül yapısı ve interstisyel boşlukta vasküler konjesyon görüldüğü bildirilmiştir. Aynı çalışmada radyoterapi ile birlikte NAC uygulanan sıçan grubunda proksimal ve distal tble ait yapılarda kontrol grubu ile benzer, normal histolojik yapılaşma görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda NAC'ın radyoterapi etkisiyle gelişen renal hasarı engellemek amacıyla kullanılabilceği bildirilmiştir (76). Çalışmamızda ise sadece radyoterapi uygulanan sıçan grubunda supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama vasküler dilatasyon skorları kontrol grubuna ve radyoterapi ile birlikte NAC tedavisi uygulanan (ncesinde ve sonrasında) gruplardaki sıçanlara göre yüksek olmasına rağmen; gruplar arasındaki vasküler dilatasyon bulgularının farklılığı istatistiksel verilerle desteklenememiştir. Çalışmamızda ayrıca sadece radyoterapi uygulanan sıçan grubunda supraglottik, glottik ve subglottik alanlardaki ortalama psödostratifikasyon skorları kontrol grubuna ve

radoterapi ile birlikte NAC tedavisi uygulanan (öncesinde ve sonrasında) gruplardaki sıçanlara göre yüksek olmasına rağmen; gruplar arasındaki vasküler dilatasyon bulgularının farklılığı istatistiksel verilerle desteklenememiştir. Artırılmış denek sayısı ile gerçekleştirilecek güncel çalışmalar aracılığıyla, NAC'ın radyasyona bağlı psödostrafikasyon skorları üzerindeki etkisinin istatistiksel veriler ile daha net bir şekilde ortaya konulabileceğini düşünmekteyiz.

Toplamda 25 adet sıçan kullanarak gerçekleştirdiğimiz, NAC'ın sıçan larenks mukozasında radyoterapinin ortaya çıkardığı hasarı engelleme noktasındaki etkisini, biri kontrol grubu olacak şekilde dört grup halinde değerlendirdiğimiz, bir gruba sadece radyoterapi uyguladığımız ve iki grubun birine radyoterapi öncesi, diğerine ise radyoterapi sonrası NAC uyguladığımız çalışmamızda biyokimyasal parametrelerin tamamı açısından literatür ile uyumlu, istatistiksel anlamlı sonuçlar elde ettik. Çalışmamızda sadece radyoterapi uygulanan sıçan grubunda kontrol grubuna göre oksidan parametrelerde anlamlı artış, antioksidan parametrelerde anlamlı azalma saptadık. NAC'ın radyoterapi etkisiyle ortaya çıkan biyokimyasal parametreleri istatistiksel olarak anlamlı derecede etkilediği, oksidan biyokimyasal parametrelerde anlamlı azalma ve antioksidan biyokimyasal parametrelerde anlamlı artış sağladığını gösterdik. Histopatolojik açıdan saptadığımız bulgular radyoterapinin dokuda meydana getirdiği hasarı literatür ile uyumlu şekilde destekliyordu. Aynı şekilde NAC'ın radyoterapi etkisiyle dokuda gelişen histopatolojik hasarı iyileştirme noktasında etkili olduğunu literatür verileri ile uyumlu bir şekilde gösterdik. Ancak hem radyoterapinin ortaya çıkardığı etkiler hem de NAC'ın radyoterapi etkisiyle gelişen hasarı iyileştirdiğini gösterdiğimiz histopatolojik değişiklikler istatistiksel veriler ile desteklenemedi.

Radyoterapinin larengeal dokuda meydana getirdiği histopatolojik hasar ile NAC'ın larengeal dokuda radyoterapi etkisiyle meydana gelen hasarın engellenmesi noktasındaki pozitif etkilerinin daha net ortaya konulabilmesi için denek sayısının artırıldığı, güncel çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Çalışmamızda NAC uygulamasının biyokimyasal parametreler üzerinde anlamlı pozitif değişikliklere yol açtığını tespit ettik. Çalışmamızda radyasyon öncesi NAC tedavisi uygulanan sıçan grubunda, sadece radyasyon uygulanan gruba göre total oksidan seviye ve oksidatif stres seviyesinde anlamlı düşüklük saptadık. Yine radyasyon öncesi NAC tedavisi uygulanan sıçan grubunda, sadece radyasyon uygulanan gruba göre ortalama total ve native tiyol düzeylerinde anlamlı yükseklik, disülfid düzeylerinde ise anlamlı düşüklük saptadık. Çalışmamızda ayrıca, radyasyon öncesi NAC tedavisi uygulanan sıçan grubunda, sadece radyasyon uygulanan gruba göre ortalama IL-1B, IL-6 ve TNF düzeylerinde anlamlı düşüklük saptadık. Çalışmamız NAC'ın pozitif histopatolojik değişikliklere yol açtığını gösterse de, radyasyon öncesi NAC uygulanan grup ile sadece radyasyon uygulanan grup arasındaki histopatolojik bulgu farklılığı istatistiksel olarak anlamlı değildi.

7. KAYNAKLAR

1. Nepon, H., Safran, T., Reece, E. M., Murphy, A. M., Vorstenbosch, J., & Davison, P. G. (2021). Radiation-Induced Tissue Damage: Clinical Consequences and Current Treatment Options. *Seminars in plastic surgery*, 35(3), 181–188. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1731464>
2. Chaput, G., & Regnier, L. (2021). Radiotherapy: Clinical pearls for primary care. *Canadian family physician Medecin de famille canadien*, 67(10), 753–757. <https://doi.org/10.46747/cfp.6710753>
3. Ezeriņa, D., Takano, Y., Hanaoka, K., Urano, Y., & Dick, T. P. (2018). N-Acetyl Cysteine Functions as a Fast-Acting Antioxidant by Triggering Intracellular H₂S and Sulfane Sulfur Production. *Cell chemical biology*, 25(4), 447–459.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2018.01.011>
4. Suárez-Quintanilla J, Fernández Cabrera A, Sharma S. Anatomy, Head and Neck: Larynx. [Updated 2022 Sep 5]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538202/>
5. Available at: <https://embryology4genius.weebly.com/development-of-larynx.html>
6. Kakodkar KA, Schroeder JW, Holinger LD. Laryngeal development and anatomy. *Adv Otorhinolaryngol*. 2012;73:1-11.
7. Mahabadi N, Goizueta AA, Bordoni B. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): Oct 17, 2022. Anatomy, Thorax, Lung Pleura And Mediastinum.
8. Gray's Atlas of Anatomy (Gray's Anatomy) 3rd Edition. Richard Drake PhD FAAA, A. Wayne Vogl PhD FAAA, Adam W. M. Mitchell MB BS FRCS FRCR, Richard Tibbitts, Paul Richardson. 2020. Page: 1147-1155. Publisher: Churchill Livingstone. ISBN: 9780323636391
9. Kutta, H., Steven, P., & Paulsen, F. (2006). Anatomical definition of the subglottic region. *Cells, tissues, organs*, 184(3-4), 205–214. <https://doi.org/10.1159/000099628>
10. Meller SM. Functional anatomy of the larynx. *Otolaryngol Clin North Am* 1984;17:3–12.
11. A.D.A.M Student Atlas of Anatomy 2nd Edition. Todd R. Olson, Albert Einstein College of Medicine, New York, Wojciech Pawlina, Mayo Clinic. Cambridge University Press. 2008.
12. Soriano RM, Winters R, Gupta V. Anatomy, Head and Neck: Larynx Nerves. [Updated 2022 Sep 18]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557742/>
13. Stiblar-Martincic D.(1997). Histology of laryngeal mucosa. *Acta oto-laryngologica. Supplementum*, 527, 138–141.

14. Zhang Z. (2016). Mechanics of human voice production and control. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 140(4), 2614. <https://doi.org/10.1121/1.4964509>
15. Matsuo, K., & Palmer, J. B. (2008). Anatomy and physiology of feeding and swallowing: normal and abnormal. *Physical medicine and rehabilitation clinics of North America*, 19(4), 691–vii. <https://doi.org/10.1016/j.pmr.2008.06.001>
16. Boulet, L. P., & Turmel, J. (2019). Cough in exercise and athletes. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 55, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2019.02.003>
17. Lenell, C., Shembel, A. C., & Johnson, A. M. (2020). Preparation of the Rat Vocal Fold for Neuromuscular Analyses. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (159), 10.3791/61327. <https://doi.org/10.3791/61327>.
18. Maynard, Robert Lewis (2019). Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research || *Larynx*. , (), 123–128. doi:10.1016/B978-0-12-811837-5.00011-3
19. Sagartz, J. W., Madarasz, A. J., Forsell, M. A., Burger, G. T., Ayres, P. H., & Coggins, C. R. (1992). Histological sectioning of the rodent larynx for inhalation toxicity testing. *Toxicologic pathology*, 20(1), 118–121. <https://doi.org/10.1177/019262339202000115>
20. Smith G. (1977). Structure of the normal rat larynx. *Laboratory animals*, 11(4), 223–228. <https://doi.org/10.1258/002367777780936404>
21. Lewis D. J. (1991). Morphological assessment of pathological changes within the rat larynx. *Toxicologic pathology*, 19(4 Pt 1), 352–357. <https://doi.org/10.1177/0192623391019004-104>
22. Katsuhide Inagi; Edward Schultz; Charles N. Ford (1998). An anatomic study of the rat larynx: Establishing the rat model for neuromuscular function., 18(1), 0–81. doi:10.1016/s0194-5998(98)70378-x
23. Lewis, D. J., & Prentice, D. E. (1980). The ultrastructure of rat laryngeal epithelia. *Journal of anatomy*, 130(Pt 3), 617–632.
24. Birgit Kittel; Christine Ruehl-Fehlert; Gerd Morawietz; Jan Klapwijk; Michael R. Elwell; Barbara Lenz; M. Gerard O'Sullivan; Daniel R. Roth; Peter F. Wadsworth (2004). Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice – Part 2: A joint publication of the RITA)and NACAD)groups. , 55(6), 413–431. doi:10.1078/0940-2993-00349
25. Barton, M. B., Frommer, M., & Shafiq, J. (2006). Role of radiotherapy in cancer control in low-income and middle-income countries. *The Lancet. Oncology*, 7(7), 584–595. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(06\)70759-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(06)70759-8)

26. Wang, J. S., Wang, H. J., & Qian, H. L. (2018). Biological effects of radiation on cancer cells. *Military Medical Research*, 5(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s40779-018-0167-4>
27. Azzam EI, Jay-Gerin JP, Pain D. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer Lett.* 2012;327(1-2):48-60.
28. Borrego-Soto, G., Ortiz-López, R., & Rojas-Martínez, A. (2015). Ionizing radiation-induced DNA injury and damage detection in patients with breast cancer. *Genetics and molecular biology*, 38(4), 420–432. <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150019>
29. Liu, Y. P., Zheng, C. C., Huang, Y. N., He, M. L., Xu, W. W., & Li, B. (2021). Molecular mechanisms of chemo- and radiotherapy resistance and the potential implications for cancer treatment. *MedComm*, 2(3), 315–340. <https://doi.org/10.1002/mco2.55>
30. Yeh S. A. (2010). Radiotherapy for head and neck cancer. *Seminars in plastic surgery*, 24(2), 127–136. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1255330>
31. Dilalla, V., Chaput, G., Williams, T., & Sultanem, K. (2020). Radiotherapy side effects: integrating a survivorship clinical lens to better serve patients. *Current oncology (Toronto, Ont.)*, 27(2), 107–112. <https://doi.org/10.3747/co.27.6233>
32. Shishodia, N. P., Divakar, D. D., Al Kheraif, A. A., Ramakrishnaiah, R., Pathan, A. A., Parine, N. R., Chandroth, S. V., & Purushothaman, B. (2015). End stage palliative care of head and neck cancer: a case study. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 16(3), 1255–1258. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.3.1255>
33. Carpenter, D. J., Mowery, Y. M., Broadwater, G., Rodrigues, A., Wisdom, A. J., Dorth, J. A., Patel, P. R., Shortell, C. K., Clough, R., & Brizel, D. M. (2018). The risk of carotid stenosis in head and neck cancer patients after radiation therapy. *Oral oncology*, 80, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2018.02.021>
34. Tardiolo, G., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2018). Overview on the Effects of N-Acetylcysteine in Neurodegenerative Diseases. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(12), 3305. <https://doi.org/10.3390/molecules23123305>
35. Ooi S.L., Green R., Pak S.C. N-Acetylcysteine for the treatment of psychiatric disorders: A review of current evidence. *BioMed Res. Int.* 2018;2018:8. doi: 10.1155/2018/2469486.
36. Tenório, M. C. D. S., Graciliano, N. G., Moura, F. A., Oliveira, A. C. M., & Goulart, M. O. F. (2021). N-Acetylcysteine (NAC): Impacts on Human Health. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(6), 967. <https://doi.org/10.3390/antiox10060967>

37. National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 12035, Acetylcysteine. Retrieved July 19, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetylcysteine>.
38. Cuzzocrea S., Mazzon E., Costantino G., Serraino I., Dugo L., Calabrò G., Cucinotta G., De Sarro A., Caputi A.P. Beneficial effects of n-acetylcysteine on ischaemic brain injury. *Br. J. Pharmacol.* 2000;130:1219–1226. doi: 10.1038/sj.bjp.0703421.
39. Crupi R., Gugliandolo E., Siracusa R., Impellizzeri D., Cordaro M., Di Paola R., Britti D., Cuzzocrea S. N-acetyl-L-cysteine reduces *Leishmania amazonensis*-induced inflammation in BALB/c mice. *BMC Vet. Res.* 2020;16:13. doi: 10.1186/s12917-020-2234-9.
40. Poncin S., Colin I.M., Decallonne B., Clinckspoor I., Many M.C., Deneff J.F., Gérard A.C. N-acetylcysteine and 15 deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ exert a protective effect against autoimmune thyroid destruction in vivo but not against interleukin-1 α /interferon γ -induced inhibitory effects in thyrocytes in vitro. *Am. J. Pathol.* 2010;177:219–228. doi: 10.2353/ajpath.2010.091253.
41. Radomska-Lesniewska D.M., Skopinski P. N-acetylcysteine as an anti-oxidant and anti-inflammatory drug and its some clinical applications. *Centr. Eur. J. Immunol.* 2012;37:57–66.
42. Sadowska AM, Verbraecken J, Darquennes K, De Backer WA (2006): Role of N-acetylcysteine in the management of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 1: 425-434.
43. Radomska-Leceniewska DM, Skopińska-Rózewska E, Jankowska-Steifer E, et al. (2010): N-acetylcysteine inhibits IL-8 and MMP-9 release and ICAM-1 expression by bronchoalveolar cells from interstitial lung disease patients. *Pharmacol Rep* 62: 131-138.
44. De Andrade K.Q., Moura F.A., Dos Santos J.M., De Araújo O.R., De Farias Santos J.C., Goulart M.O.F. Oxidative stress and inflammation in hepatic diseases: Therapeutic possibilities of N-Acetylcysteine. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16:30269–30308. doi: 10.3390/ijms161226225.
45. Pei Y., Liu H., Yang Y., Yang Y., Jiao Y., Tay F.R., Chen J. Biological activities and potential oral applications of n-acetylcysteine: Progress and prospects. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2018;2018:1–14. doi: 10.1155/2018/2835787.
46. Palacio J.R., Markert U.R., Martínez P. Anti-inflammatory properties of N-acetylcysteine on lipopolysaccharide-activated macrophages. *Inflamm. Res.* 2011;60:695–704. doi: 10.1007/s00011-011-0323-8.
47. Halasi, M., Wang, M., Chavan, T. S., Gaponenko, V., Hay, N., & Gartel, A. L. (2013). ROS inhibitor N-acetyl-L-cysteine antagonizes the activity of proteasome inhibitors. *The Biochemical journal*, 454(2), 201–208. <https://doi.org/10.1042/BJ20130282>

48. Gao W, Liang J-X, Ma C, Dong J, Yan Q (2017) The protective effect of N-acetylcysteine on ionizing radiation induced ovarian failure and loss of ovarian reserve in female mouse. *Biomed Res Int* 2017:1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/4176170>
49. Farhood B, Goradel NH, Mortezaee K, Khanlarkhani N, Salehi E, Shabani Nashtaei M, Shabeeb D, Musa AE, Fallah H, Najafi M (2019) Intercellular communications-redox interactions in radiation toxicity; potential targets for radiation mitigation. *J Cell Commun Signal* 13:3–16. <https://doi.org/10.1007/s12079-018-0473-3>
50. Heba H. Mansour; Hafez F. Hafez; Nadia M. Fahmy; Nemat Hanafi (2008). Protective effect of N-acetylcysteine against radiation induced DNA damage and hepatic toxicity in rats. , 75(3), 773–780. doi:10.1016/j.bcp.2007.09.018
51. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2010; 3(1): 91-100.
52. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
53. Salehi, B., Martorell, M., Arbiser, J. L., Sureda, A., Martins, N., Maurya, P. K., Sharifi-Rad, M., Kumar, P., & Sharifi-Rad, J. (2018). Antioxidants: Positive or Negative Actors?. *Biomolecules*, 8(4), 124. <https://doi.org/10.3390/biom8040124>
54. Ray, P. D., Huang, B. W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling*, 24(5), 981–990. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.01.008>
55. Feng JF, Lu L, Zeng P, Yang YH, Luo J, Yang YW, et al. Serum total oxidant/antioxidant status and trace element levels in breast cancer patients. *Int J Clin Oncol*. 2012; 17(6):575–583.
56. Wang D, Feng JF, Zeng P, Yang YH, Luo J, Yang YW. Total oxidant/antioxidant status in sera of patients with thyroid cancers. *Endocrine-Related Cancer*. 2011; 18:773–782. 10.1530/ERC-11-0230
57. Srivastava S, Natu SM, Gupta A, Pal KA, Singh U, Agarwal GG, et al. Lipid peroxidation and antioxidants in different stages of cervical cancer: Prognostic significance. *Indian Journal of Cancer*. 2009; 46(4):297–302. 10.4103/0019-509X.55549
58. Wu, R., Feng, J., Yang, Y., Dai, C., Lu, A., Li, J., Liao, Y., Xiang, M., Huang, Q., Wang, D., & Du, X. B. (2017). Significance of Serum Total Oxidant/Antioxidant Status in Patients with Colorectal Cancer. *PloS one*, 12(1), e0170003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170003>

59. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *ClinBiochem*.2005;38(12):1103–1111.
60. Erel O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, 37(4), 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015>
61. Sánchez-Rodríguez, M. A., & Mendoza-Núñez, V. M. (2019). Oxidative Stress Indexes for Diagnosis of Health or Disease in Humans. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 4128152. <https://doi.org/10.1155/2019/4128152>
62. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem* 2014 Dec; 47: 326-32.
63. Oliveira PVS, Laurindo FRM. Implications of plasma thiol redox in disease. *Clin Sci (Lond)* 2018 Jun 21; 132): 1257-80
64. Konak, M., Cincik, H., Erkul, E., Kucukodaci, Z., Gungor, A., Ozdemir, S., Cekin, E., Arisan, V., Mutluoglu, M., & Salihoglu, M. (2016). The protective effects of different treatments on rat salivary glands after radiotherapy. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 273(12), 4501–4506. <https://doi.org/10.1007/s00405-016-4159-2>
65. Oyan, S., Tatlıpınar, A., Atasoy, B. M., Güneş, P., Özbeyli, D., Keskin, S., & Değerli, A. D. (2018). Early effects of irradiation on laryngeal mucosa in a gastroesophageal reflux model: an experimental study. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 275(8), 2089–2094. <https://doi.org/10.1007/s00405-018-5010-8>
66. Singh VK, Hauer-Jensen M. gamma-Tocotrienol as a promising countermeasure for acute radiation syndrome: current status. *Int J Mol Sci*. 2016
67. Mishra, K., & Alsbeih, G. (2017). Appraisal of biochemical classes of radioprotectors: evidence, current status and guidelines for future development. *3 Biotech*, 7(5), 292. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0925-0>
68. Citrin D, Cotrim AP, Hyodo F, Baum BJ, Krishna MC, Mitchell JB. Radioprotectors and mitigators of radiation-induced normal tissue injury. *Oncologist*. 2010;15(4):360–371. doi: 10.1634/theoncologist.2009-S104.
69. Nair CK, Parida DK, Nomura T. Radioprotectors in radiotherapy. *J Radiat Res*. 2001;42(1):21–37. doi: 10.1269/jrr.42.21.

70. Ekici, K., Temelli, O., Parlakpınar, H., Samdancı, E., Polat, A., Beytur, A., Tanbek, K., Ekici, C., & Dursun, I. H. (2016). Beneficial effects of aminoguanidine on radiotherapy-induced kidney and testis injury. *Andrologia*, 48(6), 683–692. <https://doi.org/10.1111/and.12500>
71. Schuchter LM. Guidelines for the administration of amifostine. *Semin Oncol*. August 1996;23(4 Suppl 8):40-3.
72. Patt HM, Tyree EB, Straube RL, Smith DE. Cysteine Protection against X Irradiation. *Science*. 26 Ağustos 1949;110(2852):213-4.
73. Keithahn C, Lerchl A. 5-Hydroxytryptophan is a more potent in vitro hydroxyl radical scavenger than melatonin or vitamin C. *J Pineal Res*. 2005;38(1):62-6.
74. Vijayalaxmi, Reiter RJ, Tan D-X, Herman TS, Thomas CR. Melatonin as a radioprotective agent: a review. *Int J Radiat Oncol*. Temmuz 2004;59(3):639-53.
75. Elkady, A. A., & Ibrahim, I. M. (2016). Protective effects of erdosteine against nephrotoxicity caused by gamma radiation in male albino rats. *Human & experimental toxicology*, 35(1), 21–28. <https://doi.org/10.1177/0960327115574919>
76. Mercantepe, F., Topcu, A., Rakici, S., Tunkaya, L., & Yılmaz, A. (2019). The effects of N-acetylcysteine on radiotherapy-induced small intestinal damage in rats. *Experimental biology and medicine* (Maywood, N.J.), 244(5), 372–379. <https://doi.org/10.1177/1535370219831225>
77. Gao, W., Liang, J. X., Ma, C., Dong, J. Y., & Yan, Q. (2017). The Protective Effect of N-Acetylcysteine on Ionizing Radiation Induced Ovarian Failure and Loss of Ovarian Reserve in Female Mouse. *BioMed research international*, 2017, 4176170. <https://doi.org/10.1155/2017/4176170>
78. Jia, D., Koonce, N. A., Griffin, R. J., Jackson, C., & Corry, P. M. (2010). Prevention and mitigation of acute death of mice after abdominal irradiation by the antioxidant N-acetyl-cysteine (NAC). *Radiation research*, 173(5), 579–589. <https://doi.org/10.1667/RR2030.1>
79. Topcu, A., Mercantepe, F., Rakici, S., Tunkaya, L., Uydu, H. A., & Mercantepe, T. (2019). An investigation of the effects of N-acetylcysteine on radiotherapy-induced testicular injury in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 392(2), 147–157. <https://doi.org/10.1007/s00210-018-1581-6>
80. Alkis, M. E., Akdag, M. Z., & Dasdag, S. (2021). Effects of Low-Intensity Microwave Radiation on Oxidant-Antioxidant Parameters and DNA Damage in the Liver of Rats. *Bioelectromagnetics*, 42(1), 76–85. <https://doi.org/10.1002/bem.22315>
81. Ozcelik M, Erisir M, Guler O, Baykara M. The effect of N-Acetylcysteine on oxidant/antioxidant status in irradiated rats. *Erciyes Univ Vet Fak Derg* 2020; 17(3): 221-226.

82. Sebastià, N., Olivares-González, L., Montoro, A., Barquinero, J. F., Canyada-Martinez, A. J., Hervás, D., Gras, P., Villaescusa, J. I., Martí-Bonmatí, L., Muresan, B. T., Soriano, J. M., Campayo, J. M., Andani, J., Alonso, O., & Rodrigo, R. (2020). Redox Status, Dose and Antioxidant Intake in Healthcare Workers Occupationally Exposed to Ionizing Radiation. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(9), 778. <https://doi.org/10.3390/antiox9090778>
83. Chevion, S., Or, R., & Berry, E. M. (1999). The antioxidant status of patients subjected to total body irradiation. *Biochemistry and molecular biology international*, 47(6), 1019–1027. <https://doi.org/10.1080/15216549900202143>
84. C.M. Powell, R. T. Taggart, T. C. Drumheller et al., “Molecular and cytogenetic studies of an X;autosome translocation in a patient with premature ovarian failure and review of the literature,” *American Journal of Medical Genetics*, vol. 52, no. 1, pp. 19–26, 1994.
85. Arıcan, S., Dertli, R., Baktik, S., Hacibeyoglu, G., Erol, A., Ulukaya, S. O., Goger, E., & Erel, Ö. (2020). Efeito da exposição à radiação ionizante de baixa dose na homeostase dinâmica de tiol-dissulfeto e níveis de albumina modificada por isquemia: estudo observacional [The effect of low dose ionizing radiation exposure on dynamic thiol-disulfide homeostasis and ischemia modified albumin levels: an observational study]. *Brazilian journal of anesthesiology (Elsevier)*, 70(3), 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.bjan.2020.02.009>
86. Amini, P., Kolivand, S., Saffar, H., Rezapoor, S., Motevaseli, E., Najafi, M., Nouruzi, F., Shabeeb, D., & Musa, A. E. (2019). Protective Effect of Selenium-L-methionine on Radiation-induced Acute Pneumonitis and Lung Fibrosis in Rat. *Current clinical pharmacology*, 14(2), 157–164. <https://doi.org/10.2174/1574884714666181214101917>
87. Park, C. C.; Henshall-Powell, R. L.; Erickson, A. C.; Talhouk, R.; Parvin, B.; Bissell, M. J.; Barcellos-Hoff, M. H. (2003). Ionizing radiation induces heritable disruption of epithelial cell interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(19), 10728–10733. doi:10.1073/pnas.1832185100
88. Carr K. E. (1981). Scanning electron microscopy of tissue response to irradiation. *Scanning electron microscopy*, 4, 35–46.
89. Karaer, I., Simsek, G., Gul, M., Bahar, L., Gürocak, S., Parlakpınar, H., & Nuransoy, A. (2015). Melatonin protects inner ear against radiation damage in rats. *The Laryngoscope*, 125(10), E345–E349. <https://doi.org/10.1002/lary.25376>