

Sıçanlarda radyasyona bağlı oral mukozitte propolisin etkisi

Effect of propolis against radiation-induced oral mucositis in rats

Dr. Yasemin Benderli Cihan,¹ Dr. Kemal Deniz²

¹Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyasyon Onkoloji Bölümü, Kayseri, Türkiye;

²Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada, sıçanlarda baş-boyun bölgesine uygulanan radyoterapiye bağlı oluşan oral mukoza hasarı üzerine kantitatif, biyokimyasal ve histopatolojik yaklaşımlarla propolisin koruyucu rolü olup olmadığı belirlendi.

Gereç ve Yöntem: Kırk sekiz adet, sekiz haftalık ve 213±27 gram ağırlığında Wistar Albino yetişkin dişi sıçan bu çalışmaya alındı ve rasgele altı gruba ayrıldı: Grup 1: kontrol, grup 2: sadece ışınlama uygulanan, grup 3: ışınlama ile birlikte 50 mg/kg/gün propolis verilen; grup 4: ışınlama ile birlikte 100 mg/kg/gün propolis verilen; grup 5: sadece 50 mg/kg/gün propolis verilen; grup 6: sadece 100 mg/kg/gün propolis verilen grup olarak belirlendi. İlk propolis dozu, ışınlamadan 30 dakika önce, diğer dozlar ise günde bir defa olmak üzere yedi gün boyunca topikal olarak uygulandı. Radyoterapi total kraniale, tek fraksiyonda, doz 18 Gy olacak şekilde verildi. Deney boyunca sıçanların mukoza muayeneleri ve ağırlık ölçümleri yapıldı. Yedinci günde sıçanlar ketamin anestezisi altında iken kan örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edildi ve dil doku örnekleri alındı. Kan örneklerinde total kan sayımı, biyokimyasal ve antioksidan aktiviteler analiz edildi. Dil dokularında ise mikroskopik inceleme yapıldı.

Bulgular: Radyoterapi grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında vücut ağırlığının azaldığı, nötrofil sayısının düştüğü ve mukozit derecesinin arttığı görüldü ($p<0.001$). Ayrıca, yalnızca ışınlama uygulanan grupta kontrol grubuna göre plazma malondialdehit konsantrasyonunda artış ($p<0.001$), katalaz ve superoksit dismutaz aktivitesinde ise anlamlı düşüş gözlemlendi ($p<0.001$). Işınlama ile birlikte propolis verilen gruplarda, yalnızca ışınlama uygulanan grupla ile kıyaslandığında doza bağımlı olarak kantitatif, biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerde normalizasyon sağlandığı görüldü.

Sonuç: Sonuçlar propolisin baş-boyun ışınlaması sonucu gelişen oral mukozitin şiddetini azaltmada etkili olduğunu gösterdi.

Anahtar Sözcükler: Baş-boyun kanseri; ışınlama; oral mukozit; radyoterapi; propolis.

Objectives: This study aims to investigate whether propolis has a protective role in oral mucosal damage induced by radiotherapy applied to head-neck region, using quantitative, biochemical and histopathological approaches.

Materials and Methods: Forty eight Wistar-Albino adult female rats at eight weeks of age and weighing 213±27 grams were included in this study and randomly divided into six groups: Group 1: control, group 2: only irradiated rats, group 3: irradiated rats with propolis administration at 50 mg/kg/day, group 4: irradiated rats with propolis administration at 100 mg/kg/day, group 5: only propolis administration at 50 mg/kg/day, group 6: only propolis administration at 100 mg/kg/day. The first dose of propolis was administered before 30 minutes irradiation and the other doses after irradiation once daily for seven days by topical application. Radiotherapy was applied to the total cranium by single fraction at a dose of 18 Gy. The mucositis degrees and body weights of the animals were measured throughout the experiment. On the 7th day of study, blood samples were taken from the rats under ketamine anesthesia and then the rats were sacrificed and tongue tissues samples were taken. Complete blood count and biochemical and antioxidant activities were analysed in the blood samples. The tongue samples were microscopically examined.

Results: Radiotherapy group had a decrease in body weight and neutrophil count, and an increase in oral mucositis as compared with the control group ($p<0.001$). Moreover, an increase in plasma malondialdehyde concentrations ($p<0.001$) and significant decreases in catalase and superoxide dismutase activities ($p<0.001$) were observed in irradiation-alone group when compared to the control group. Propolis administered irradiated rat groups showed a dose-dependent normalization in quantitative, biochemical and histopathological parameters when compared with the irradiation-alone group.

Conclusion: The results showed that propolis is effective in reducing the severity of oral mucositis induced by head-and-neck irradiation.

Key Words: Head and neck cancer; irradiation; oral mucositis; radiotherapy; propolis.

Radyoterapi baş-boyun tümörlerinde sık kullanılan bir tedavi yöntemidir.^[1,2] Bulantı, kusma, kilo kaybı, miyelosüpresyon, mukozit gibi akut yan etkiler baş-boyun ışınlanması yapılan hastalarda sık karşılaşılan komplikasyonlardır.^[2,3] En sık görülen yan etki olan oral mukozitler doğası, süresi ve şiddeti tam olarak belirlenemeyen bir fonksiyon bozukluğu olup, uygulanan tedaviye ve hastaya göre değişkenlik gösterir. Oral mukozada oluşan lezyonlar genellikle keratinize olmayan yanakta, dilin ön kısmında ve ağız tabanı gibi bölgelerde sık görülmekle birlikte keratinize bölge olan dilin sırt tarafında da görülebilir.^[1-7]

Oral mukoza, hızlı proliferen olan hücrelerden oluşur. Bundan dolayı radyoterapiye başlandıktan sonraki 2. ve 3. günlerde mukozit gelişmeye başlar. Konvansiyonel fraksiyone radyoterapi uygulamalarında 20 Gy (1-2 haftada) civarında eritem, hafif ağrı, tat duyusunda değişiklikler görülürken; 30-40 Gy'de ise yama tarzında mukozit, psödomembran oluşumu, şiddetli ağrı ve ülserasyon görülür. Daha ileri aşamalarında ise derin ülserasyon ve hemorajinin eşlik ettiği semptomlara rastlanır. Radyoterapiye bağlı oluşan lezyonlar çoğunlukla enflamasyonlu, kanamalı ülserasyon şeklinde ve ağrılıdır. Birincil tümöre yüksek doz verilmesi, eşzamanlı kemoterapi ilavesi, hızlandırılmış fraksiyonlar ve hiperfraksiyon uygulamaları mukozitin görülmeye sıklığı ve şiddetini artırır.^[1,2,4,6,8-10]

Oral mukozitin önlenmesi veya tedavisi için çeşitli ajanlar araştırılmasına rağmen etkin bir tedavi henüz bulunamamıştır. Mukozada ışın tedavisine bağlı oluşan eritem ve buna bağlı gelişen enfeksiyondan korunmak tedavinin temelini oluşturur.^[7-10] Randomize olan ve olmayan klinik çalışmalarla düzenli ağız bakımı protokollerinin uygulanması, ağızda buz tutulması, topikal analjezikler, büyüme faktörlerin kullanılması, antiseptik ve antifungal gibi ajanların alınmasının, mukozitin profilaksisinde ve tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir. Uygulanan ajan, mukozitin belirli fazında, anlamlı düzeyde etkinlik gösterirken bir diğer fazında ise aksine yıkıcı etkiye sahip olabilmektedir.^[11-16]

Son yıllarda, mukozitin önlenmesi ve tedavisinde doğal ve yan etkisi olmayan papatya (kamomil) suyu, adaçayı, tormentil ve rezene gibi ürünlerin kullanımı hız ve önem kazanmıştır.^[17] Bu nedenle, araştırmacılar bu konuda doğal maddelerin kullanılmasına yönelik eğilimle birlikte biyolojik etkileri kanıtlanmış doğal maddelerin arayışına

gitmeye başlamışlardır. Günümüzde giderek artan bir önem kazanan ve doğal bir ürün olan propolis, bal arılarının, bitkilerin canlı kısımlarından topladıklarına tükürük enzimlerini ekleyip, mumla karıştırarak kovanda çeşitli amaçla kullandıkları, yapışkan koyu renkli reçinemsî bir maddedir. Propolis antibakteriyel, antiviral ve antifungal özelliklerinin yanı sıra antioksidan, anti-enflamatuvar, antitümöral, antiülseratif ve immünostimulan gibi biyolojik aktiviteleri nedeniyle, popüler bir ilaç olarak halk tıbbında, apiterapide, kozmetikte ve ilaç sanayinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır.^[18-29]

Bu araştırmanın amacı, çok sayıda biyolojik etkisi kanıtlanmış ve kolay bulunabilen doğal bir madde olan propolisin, sıçanlarda baş-boyun radyoterapisinde oluşan oral mukoza hasarı üzerindeki koruyucu rolünü kantitatif (kilo ölçümü, fizik muayene), biyokimyasal (total kan sayımı, biyokimyasal parametreler ve oksidatif stres belirteçleri) ve histopatolojik bulgularla incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınarak Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkez'inde (DEKAM) yapıldı.

Deney hayvanları ve deneme grupları: Araştırmada, 48 adet sağlıklı, 8 haftalık, 213±27 g ağırlığında Wistar albino türü dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar standart laboratuvar koşullarında (12 saat ışık, 12 saat karanlık ve 25±3 °C) barındırıldı ve standart ticari pelet yem ile beslendi. Sıçanlar her grupta sekiz adet olmak altı gruba ayrıldı. Gruplar aşağıdaki şekilde planlandı:

Grup 1: Radyoterapi ve propolis verilmeyen kontrol grubu (K),

Grup 2: Sadece radyoterapi verilen (RT),

Grup 3: Radyoterapi ile birlikte 50 mg/kg/gün propolis verilen (RT+P50),

Grup 4: Radyoterapi ile birlikte 100 mg/kg/gün propolis verilen (RT+P100),

Grup 5: Sadece 50 mg/kg propolis verilen (P50),

Grup 6: Sadece 100 mg/kg propolis verilen grup (P100).

Radyoterapi uygulaması: Radyoterapi, sıçanlar ketamine anestezisi altında iken, Co-60 (Theratron

780 C, Kanada) cihazı ile ikili gruplar halinde, Plexiglas tablada prone pozisyonunda, total kraniale, 5x15 cm'lik alana, tek fraksiyonda, doz 18 Gy olacak şekilde verildi. Verilecek radyoterapi dozu ve verilme şekli daha önce yapılan çalışmalara göre belirlendi.^[5,30,31]

Propolis uygulaması: Propolis, Civan Arıcılık Limited Şirketi'nden (Kayseri) elde edildi. Ham olarak kovanlardan elle toplanan propolis laboratuvara getirilerek porselen havanda toz haline gelene kadar ezildi, %80 etil alkol ile bir hafta boyunca ekstrakte edildikten sonra üç kez Whatmann A-4 filtre kağıdından filtre edildi ve 50 °C'de vakum evaporatörde alkolü uzaklaştırıldı. Geride kalan supernatant istenilen konsantrasyonda hazırlanarak kullanılabilecek kadar koyu renkli cam kaplarda serin ve karanlık bir ortamda saklandı. Bankova ve ark.nın^[27] tanımladığı şekilde propolis distile su içerisinde çözülüp sıçanlara topikal olarak 50 ve 100 mg/kg/gün dozunda verildi. Verilecek propolis dozu ve verilme şekli literatür taraması ile belirlendi.^[24-30]

Deney hayvan ağırlığı ve mukozit bulguları muayenesi: Bütün hayvanlar gün aşırı tartıldı. Mukoza muayenesi günlük olarak yapıldı. Mukozit değerlendirmesinde Parkins ve ark.nın^[32] önerdiği skora dikkate alındı: skor 0: normal, skor 0.5: hafif pembe, skor 1: hafif kırmızı, skor 2: şiddetli kırmızı, skor 3: fokal deskuamasyon, skor 4: dudakın 1.5 katından az eksüstasyon veya kabuk bağlamak, Skor 5: dudakın 1.5 katından fazla eksüstasyon veya kabuk bağlamak.

Kan ve doku örnekleri: Çalışmanın yedinci gününde intraperitoneal ketamin anestezisi altında iken total kan sayımı, biyokimyasal analiz ve antioksidan aktivite tayini için sıçanlardan intrakardiyak 4-5 cc kan örnekleri alındı. Alınan kan numunelerinin 1 cc'si etilen diamin tetra-asetik asit (EDTA)'li tüplere kondu. Geriye kalan numuneler 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmaları ayrıldı. Kan numuneleri alındıktan sonra dil dokuları çıkarıldı. Buzlu izotonik salin solüsyonunda yıkandıktan sonra histopatolojik inceleme için formalin içine kondu.

Biyokimyasal analizler: Tüm gruplardan alınan kan örnekleri yukarıda tanımlandığı gibi işleme tabii tutulduktan sonra biyokimyasal analiz gerçekleştirilinceye kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Alınan kan numunelerinden EDTA'lı tüplere konulan örneklerde total kan sayımı (hemoglobün, trombosit ve nötrofil) yapıldı. Seviyeleri Konelab-60 model otoanalizör ile belirlendi. Serum glukoz,

BUN, kreatin, kalsiyum, sodyum, potasyum, klor ve serum lactate dehidrogenase (LDH) konsantrasyonları spektrofotometrik yöntemle çalışan ticari kitler kullanılarak Konelab 60i model otoanalizör (Termo Clinical Labsystems, Finland) ile değerlendirildi. Oksidatif stress belirleyicileri ve antioksidan maddeler Elisa kiti ile çalışıldı.

Oksidatif stres belirleyicileri ve antioksidan aktivite-lerinin belirlenmesi: Plazma malondialdehid (MDA) analizleri için Yoshioka ve ark.^[33] tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Bu yöntem, lipid peroksidasyonun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiyobarbitürik asitin reaksiyonu temeline dayanarak ve açığa çıkan renkli kompleksin absorban- sının 535 nm'de ölçümüyle belirlenen bir yöntem olup, sonuçlar nmol/mL cinsinden hesaplandı. Katalaz aktivitesinin ölçümü için Luck'un belirlediği H₂O₂'nin katalaz tarafından yıkılması ve açığa çıkan ürünün 240 nm'de ışığı absorbe etmesi esasına dayanmaktadır.^[34] süperoksit dismutaz (SOD)'ın enzim aktivitesi tayini için Sun'un belirlediği yöntem kullanıldı. Bu yöntemde ksantin- ksantinoksidaz'ın nitroblue tetrazolium ile inhibisyonu sonucu oluşan formazon'un 560 nm'deki absorbanı ölçülür.^[35] SOD ve katalaz için sonuçlar U/mg Hb cinsinden hesaplandı.

Histopatolojik inceleme: Sıçanlardan alınan dil örnekleri %10'luk formaldehitte tespit edildikten sonra dokulardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilin-eosin ile boyandı. Histopatolojik incelemeler Leica marka görüntülü mikroskop ile ve x400 büyütme ile incelendi. Histopatolojik incelemede enflamasyon ve ülserasyon dikkate alındı ve şu skora sistemi kullanıldı: Enflamasyon için; grade 0: normal, grade 1: enflamatuvar hücrelerin fokal infiltrasyonu, grade 2: sadece az miktarda lamina propria da enflamasyon, grade 3: şiddetli enflamasyon, grade 4: musküler tabakaya kadar yayılmış şiddetli enflamasyon. Ülserasyon için; 0: normal, 1: epitelial deskuamasyon, 2: epitelin total kaybı, 3: musküler tabakanın destrüksiyonu.

İstatistiksel analiz

Analizler için Windows için SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) 11.0 versiyon istatistik programı kullanıldı. Çalışmada gruplardaki ortalama, standart sapma, en alt ve en üst düzeyler ve gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans analiziyle (One-way ANOVA) belirlendi; farklılık gösteren gruplar ise Duncan's testi ile tespit edildi. Anlamlılık düzeyi p<0.05 kabul edildi.

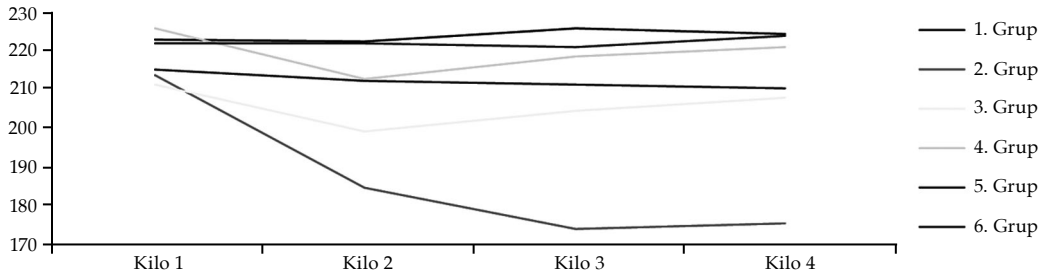
BULGULAR

Çalışmanın başlangıcında hayvanların ağırlıkça homojen dağılması sağlandığından, başlangıç ağırlıkları arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu. RT grubunda tedavinin üçüncü gününde kilo kaybında önemli düşme gözlemlendi ($p<0.05$) Bu düşüş beşinci günde devam etmesine rağmen yedinci günde bir değişiklik olmadı. RT+P gruplarında ağırlık azalışının fazla olmadığı ve beşinci gün ölçümünde ağırlık artışının olduğu gözlemlendi. En fazla kilo kaybı RT grubunda gözlenirken; RT+P gruplarında propolis dozuna bağlı olarak ağırlıkta artış gözlemlendi ($p<0.05$). Sadece propolis verilen gruplarda ve kontrol grubunda deney boyunca ağırlık başlangıçtaki ağırlıkları ile aynı kaldı ($p>0.05$, Şekil 1).

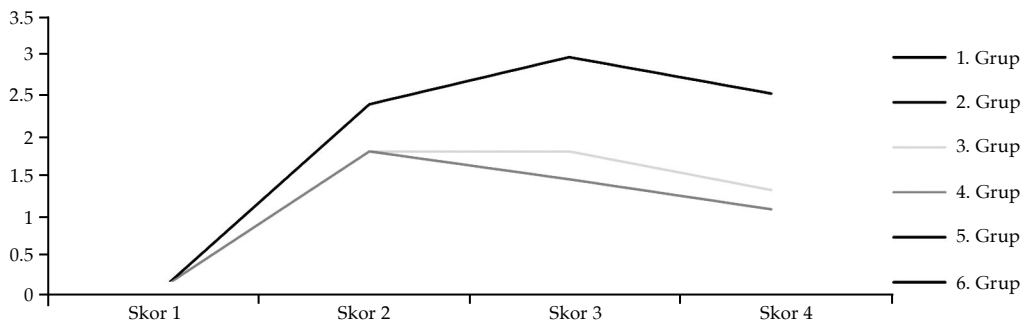
Mukozit derecelendirmesinde kontrol ve sadece propolis verilen gruplarda normal mukoza yapısı görüldü. Radyoterapi uygulanan grupta mukozitin şiddetinde 3. günde 2-3 derece arasında artış, 5. günde ise daha fazla artış var iken, 7. günde hafif derece azalma oldu ($p<0.05$). Radyoterapi + propolis verilen gruplarda 3. günde, RT grubuna göre mukozitte iyileşme tespit edildi. Beşinci günde bu iyileşmenin devam ettiği; RT+P100 grubunda ise iyileşmenin daha fazla olduğu; 7. günde de iyileşmenin sürdüğü görüldü ($p<0.05$; Şekil 2).

Araştırma grupları arasında hemoglobin ve trombosit değerleri arasında farklılık belirlenmedi. En düşük hemoglobin değeri RT+P100 verilen grupta iken en yüksek değer RT+P50 verilen grupta oldu. Trombosit değeri en düşük RT verilen grupta, onu takiben RT+50P, RT+P100 verilen gruplarda gözlemlendi. Propolis, radyoterapinin neden olduğu trombosit düşüklüğünü istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yükseltti. En yüksek nötrofil değeri K grubunda iken, en düşük nötrofil değeri RT verilen grupta gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). Radyoterapi + propolis verilen gruplarda doza bağımlı olarak nötrofil değerinde yükselme görüldü ($p<0.001$). Sadece propolis verilen gruplarda nötrofil değerleri kontrol grubuna yakın bulundu (Tablo 1).

Araştırma gruplarının biyokimyasal analizleri değerlendirildiğinde (Tablo 2); klor değerleri dışında analiz edilen diğer parametrelerde gruplar arasında önemli farklar gözlemlendi. Deneme süresince propolis verilen grupların glukoz değerleri diğer gruplardan yüksek bulundu. En düşük glukoz değeri RT grubunda, en yüksek değer P100 grubunda bulundu. Kan üre azotu (BUN) değeri bakımından da gruplar arasındaki fark önemliydi ($p<0.001$). En yüksek BUN değeri RT verilen grupta gözlenirken; propolis ilavesi ile doza bağımlı olarak BUN değerinde düşme gözlemlendi. Kreatin en yüksek



Şekil 1. Deneme gruplarının deneme boyunca canlı ağırlıkları (Gram, $p<0.05$).



Şekil 2. Deneme gruplarının deneme boyunca mukozit skorları ($p<0.05$).

Tablo 1. Tüm gruplarda hemoglobin, nötrofil ve trombosit parametreleri ile ilişkin değerler (p<0.001)

Gruplar	Hemoglobin (g/dl)	Nötrofil (10 ³ /ml)	Trombosit (10 ⁶ /ml)
	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS
Grup 1	15.31±1.66	1.29±0.50 ²	539.00±66.00
Grup 2	15.36±1.52	0.63±0.12 ^{1 5 6}	484.37±35.25
Grup 3	16.13±0.79	0.82±0.20	521.62±53.02
Grup 4	14.62±1.28	0.98±0.22	528.25±101.43
Grup 5	15.20±0.77	1.25±0.53 ²	549.25±46.61
Grup 6	16.31±0.71	1.17±0.32 ²	548.25±46.63

^{1 2 3 4 5 6}: Aynı satırda farklı rakamları taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (p<0.001); Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma.

RT grubunda gözlenirken, diğer grupların kreatin değeri RT grubundan düşüktü (p<0.001). Grupların LDH değerleri arasındaki fark önemli bulundu (p<0.001). En yüksek LDH değeri yıkımın fazla olduğu RT grubunda gözlemlendi. Kalsiyum deneme boyunca RT, RT+P50 ve RT+P100 verilen gruplarda diğer gruplara göre daha düşüktü, en yüksek kalsiyum değeri ise P50 grubunda tespit edildi (p<0.001). Sodyum bakımından RT verilen gruptaki değerler daha düşük iken diğer grupların değerleri birbirine yakın bulundu (p<0.001). Potasyum ölçümünde en yüksek değer RT+P100 grubunda, en düşük ölçüm ise RT grubunda saptandı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı görüldü (p<0.001).

Araştırmadaki oksidatif stres parametreleri incelendiğinde kontrol grubu en düşük MDA seviyesine sahip iken, RT grubu en yüksek seviyeye sahip idi (p<0.001). RT+P verilen gruplarda, sadece RT verilen gruba göre daha düşük MDA seviyesi görüldü ve bu fark anlamlı bulundu (p<0.001). Katalaz aktivitesi bakımından da gruplar arasında önemli farklılık gözlemlendi (p<0.001). Kontrol, P50 ve P100 grupları arasında önemli farklılık gözlenmezken, RT+P100 grubu dışında diğer grupların katalaz değerleri bu gruplara göre düşük ölçüldü. En düşük katalaz aktivitesi RT grubunda iken, en yüksek ise RT+P100 grubunda ölçüldü. SOD seviyesi de gruplar arasında

Tablo 2. Deneme gruplarının biyokimyasal parametrelerine ilişkin değerler (p<0.001)

Gruplar	Glukoz (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	LDH (U/L)
	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS
Grup 1	247.50±12.30 ^{2 3}	19.50±0.92 ^{2 3 4 5 6}	0.43±0.02 ²	1063.87±107.12 ^{2 3 4}
Grup 2	167.87±28.31 ^{1 5 6}	24.37±1.06 ^{1 4 5 6}	0.52±0.03 ^{1 3 4 5 6}	1224.87±44.20 ^{1 3 4 5 6}
Grup 3	173.00±45.69 ^{1 5 6}	23.25±1.03 ^{1 4 5 6}	0.44±0.05 ²	946.00±28.67 ^{1 2 5}
Grup 4	212.50±92.49 ¹	21.62±1.06 ^{1 2 3 5 6}	0.43±0.08 ²	957.50±86.48 ^{1 2 5}
Grup 5	254.25±20.40 ^{2 3}	17.87±0.64 ^{1 2 3 4}	0.43±0.01 ²	1077.00±72.81 ^{2 3 4 5}
Grup 6	258.12±9.86 ^{2 3}	16.62±1.18 ^{1 2 3 4}	0.42±0.01 ²	1027.50±35.82 ³

^{1 2 3 4 5 6}: Aynı satırda farklı rakamları taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (p<0.001); BUN: Kan üre azotu; LDH: Serum laktat dehidrogenaz; Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma.

Gruplar	Kalsiyum (nmol/L)	Klor (nmol/L)	Potasyum (nmol/L)	Sodyum (nmol/L)
	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS
Grup 1	9.35±0.34 ²	103.37±2.26	4.43±0.35 ²	138.37±2.06
Grup 2	8.50±0.35 ^{1 3 4 5 6}	100.50±2.67	3.88±0.52 ^{1 3 4}	135.00±2.67 ⁶
Grup 3	9.16±0.10 ²	101.37±4.24	4.37±0.17 ²	138.00±3.38
Grup 4	9.26±0.18 ²	102.12±1.72	4.73±0.30 ^{2 5 6}	137.62±2.55 ²
Grup 5	9.56±0.26 ²	104.50±2.20	4.27±0.08 ⁴	138.37±0.91
Grup 6	9.52±0.31 ²	102.37±2.82	4.27±0.07 ⁴	138.75±1.58 ²

^{1 2 3 4 5 6}: Aynı satırda farklı rakamları taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (p<0.001); Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma.

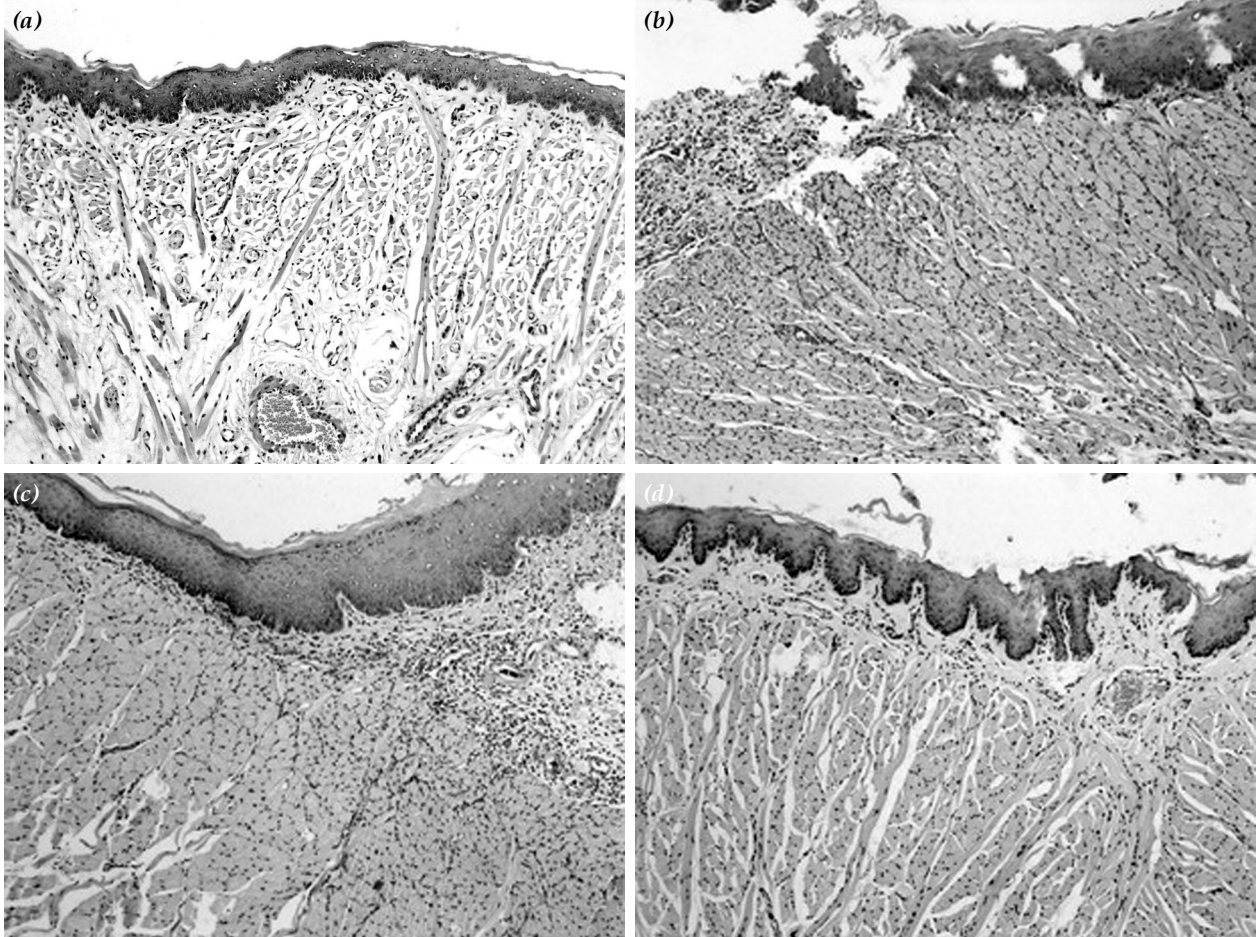
Tablo 3. Deneme gruplarında plazma da MDA seviyeleri ile SOD, katalaz aktiviteleri ($p<0.001$)

Gruplar	MDA (nmol/mL)	CAT (U/mg-protein)	SOD (U/mg-protein)
	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS
Grup 1	4.68±0.09 ^{2 3 4 6}	9.57±0.06 ^{2 3 4 6}	0.66±0.02 ^{2 3 4 6}
Grup 2	8.47±0.36 ^{1 3 4 5 6}	6.71±0.04 ^{1 3 4 5 6}	0.38±0.01 ^{1 3 4 5 6}
Grup 3	6.71±0.24 ^{1 2 4 5 6}	7.41±0.09 ^{1 2 4 5 6}	0.55±0.02 ^{1 2 4 5 6}
Grup 4	6.31±0.11 ^{1 2 3 5 6}	8.59±0.03 ^{1 2 3 5 6}	0.72±0.03 ^{1 2 3 5 6}
Grup 5	4.78±0.17 ^{2 3 4}	9.50±0.06 ^{2 3 4}	0.64±0.03 ^{2 3 4}
Grup 6	4.74±0.11 ^{2 3 4}	9.49±0.05 ^{2 3 4}	0.67±0.04 ^{2 3 4}

^{1 2 3 4 5 6}: Aynı satırda farklı rakamları taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir ($p<0.001$); MDA: Malondialdehit; CAT: Katalaz; SOD: Süperoksit dismutaz; Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma.

önemli farklılık gösterdi ($p<0.001$). Kontrol, P50 ve P100 grupları arasında SOD seviyesi bakımından önemli farklılık gözlenmezken, RT grubuna göre, RT+P gruplarında propolis dozuna bağılı olarak SOD seviyesinde istatistiksel olarak artış tespit edildi (Tablo 3).

Deneme gruplarının histopatolojik olarak incelenmesinde; kontrol grubunda ve sadece propolis kullanılan gruplarda dil dokusu normal görünümde, sadece RT alan grupta inflamatuvar hücrelerin varlığı, nekroz ve ülser tespit edilirken, RT+P50 verilen grupta bu bulguların azaldığı görüldü.



Şekil 3. (a-d) Kontrol grubunda, propolis 50 ve propolis 100 gruplarında dil dokusunun normal görünümde olduğu ancak (b) radyoterapi grubunda inflamatuvar hücre varlığı, doku kaybı ve nekroz varlığı tespit edilirken (c) radyoterapi + propolis 50 grubunda bu bulguların azaldığı; (d) radyoterapi + propolis 100 grubunda ise normal doku yapısına benzer olduğu görülmektedir (H-E x 200).

RT+P100 grubunda ise doku normale yakın bulundu (Şekil 3).

TARTIŞMA

Baş-boyun kanserli hastalarda radyoterapi-de yeni gelişen teknolojik yöntemlere rağmen, mukozit, dermatitis, miyelosüpresyon, bulantı, kusma, kserostomi gibi akut yan etkiler sıklıkla görülür. En sık görülen yan etkilerden biri olan oral mukozit, morbiditeye, komplikasyonlara ve tedavinin kesilmesine neden olabilir.^[1-7] Trotti ve ark.^[1] yaptıkları çalışmada; baş-boyun ışınlanmasında oral mukozit görülme oranını değişik radyoterapi şemalarında %85-100 arasında bulmuşlar; hızlandırılmış fraksiyone radyoterapide %100, konvansiyonel radyoterapide %97, kemoradyoterapide %89 olarak bildirmişlerdir. Radyoterapi tamamlandıktan sonraki 2-6 haftalık dönemde mukozitin azaldığını belirtmişlerdir. Rose-Ped ve ark.^[2] baş-boyun kanserlerinde en fazla yan etki olarak oral mukozitin görüldüğünü; bunun radyoterapi uygulanan hastalarda %38, yüksek doz kemoterapi uygulananlarda ise %42 olduğunu bildirmişlerdir.

Oral mukozit için çeşitli derecelendirme sistemleri vardır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) toksisite kriterleri, WCCNR (Western Consortium for Cancer Nursing Research) sınıflandırma sistemi ve OAG (Oral Assessment Guide) gibi çok sayıda değerlendirme aracı kullanılmakla birlikte sıklıkla DSÖ tarafından önerilen sınıflama kullanılmaktadır. Bu sınıflamaya göre mukozit, enflamatuvar/vasküler, epitelial, ülseratif/bakteriyolojik ve iyileşme olmak üzere dört fazdan oluşur.^[36]

Radyoterapi veya kemoradyoterapi sonucu gelişen oral mukozitin sıklığı ve şiddetinin azaltılmasında oral hijyenin sağlanması ve oral mukozanın enfeksiyonlardan korunması ana ilkedir. Bu amaçla, mukozit tedavisi hakkında çok sayıda araştırma yapılmış ve pek çok farklı yöntem önerilmiştir. Araştırmalardan elde edilen sonuçların farklılık göstermesinden dolayı standart bir tedavi yaklaşımı oluşturulamamıştır. Yaklaşımlar sadece tavsiye veya öneri düzeyinde kalmıştır. Mukozit tedavisinde hafif gargaralar, kriyoterapi, mukozal örtüleyiciler, antiseptik ve antiinflamatuvar maddeler, sitokin benzeri ajanlar, büyüme faktörleri, lazer ve tükürük üretimini artırıcı ajanlar kullanılmıştır.^[10-16,36]

Son yıllarda mukozit tedavisinde ada çayı, papatya, rezene gibi bitkisel ve doğal ürünlerin kullanımına ilgi artmıştır. Papatya suyunun anti-

bakteriyel, antiseptik ve antispazmotik etkilerinin bazı hastalarda mukozit tedavisinde yararlı olduğu ifade edilmekle birlikte, bir çalışmada papatya suyunun etkinliğinin plaseboya göre farklı olmadığı gösterilmiştir.^[17,36] Günümüzde, artan bir önem kazanan ve doğal bir ürün olan propolis, bal arıları tarafından çeşitli bitkisel kaynaklardan toplanan reçineli, yapışkan maddenin genel ismidir. Bitkilerin salgıladıkları reçine, ağaçlarda dış etmenler tarafından oluşturulan yaralanmaların yol açtığı enfeksiyonlardan korunmak için üretilmekte, çok soğuk havalarda tomurcuk gelişimini, keza polenin mikroorganizmalar tarafından enfekte olmasını engellemektedir. Propolis, genel olarak %50 reçine ve bitkisel balzamlar, %30 balmumu, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik maddelerden oluşmaktadır.^[18-29] Bu çalışmada, propoliste bulunan reçinenin mukozal örtüleyici ajan gibi kullanılarak mukozit tedavisinde koruyuculuğu test edildi.

Propolis çok eski zamanlardan beri halk sağlığında kullanılmakla birlikte son yıllarda antibakteriyel, antifungal, antitümoral, antioksidan, immünomodülatör ve diğer pek çok faydalı biyolojik etkileri çok sayıda araştırmacı tarafından ispatlanmıştır.^[18-22] Kimoto ve ark.,^[29] F344 dişi sıçanlarda iki basamaklı bir karsinogenez modelinde propolis ekstraktlarının etkilerini incelemiş; %0.1 ve %0.01 propolis uygulamalarıyla memeli karsinomların nüks etme oranı ve üremesini önemli oranda azalttığını belirtmişlerdir.

Çeşitli çalışmalarda propolis 30-200 mg/kg aralarında dozda kullanılmıştır. Propolis su, metanol, etanol, eter ve yağ özütleri hazırlanarak uygulanmış bununla birlikte araştırmalarda en çok kullanılan propolisin etanolik özütünün antibakteriyel ve antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir.^[18-27] Ghassemi ve ark.^[37] radyasyona bağlı olarak oluşan oral mukozitin tedavisinde propolisin etanolik özütünü intraperitoneal olarak, 100-200 mg/kg dozunda vermişler. Sonuçta propolisin oral mukozitin şiddetini ve derecesini azalttığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise propolis topikal olarak su ekstrektili hazırlanarak 50-100 mg/kg dozunda verildi. Propolisin etanol ve metanol özütlerinin topikal uygulamada radyasyona bağlı oral mukozal hasarı artırabileceği düşünüldüğünden, su özütleri hazırlandı. Topikal uygulanmasının nedeni öncelikle mukozitteki lokal etkiyi, vücutta emildikten sonra ise antibakteriyel, antioksidan ve immünomodülatör etkileri araştırmaktır.

Araştırmamızın sonunda sıçanların ağırlık artışı bakımından gruplar arasında önemli farklılık tespit edildi; RT verilen grupta ağırlık azalışı daha fazla görülürken, RT+P50 verilen grupta doza bağımlı olarak kilo artışı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Radyoterapiye bağlı kilo kaybını önlemede propolisin etkili olduğu görüldü. Yapılan çalışmalarda baş-boyun tümörlü hastalarda gerek hastalığın natürü gerekse verilen tedavilerden dolayı kilo kaybının olduğu gösterilmiştir. Kilo kaybının ve malnütrisyonun önlenmesi ile kanserli hastalarda sağkalım ve yaşam kalitesinde artış sağladığı bildirilmiştir.^[1,2,6,10] Makkonen ve ark.nun^[11] radyoterapiye bağlı mukozitin önlenmesinde, makrofaj-koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) etkinliğini incelemişler. Kontrol grupları ve GM-CSF arasında oral mukozit dereceleri, oral ağrı, analjezik drog kullanımı ve kilo kaybı yönünden anlamlı fark sağlamadığını bildirmişlerdir. Nitekim Lee ve ark.^[38] epidermal growth faktör uygulamasının RT sonrasında ağırlık artışı sağladığını ve mukoziti azalttığını bildirmişlerdir.

Mukozit derecelendirmesinde, radyoterapinin neden olduğu mukozitin önlenmesinde propolisin etkili olduğu görüldü. Bu sonuca göre propolisin mukozal hasarda mukoza örtüleyici gibi etki ettiği söylenebilir. Bununla birlikte mukoza örtüleyicileri olarak bilinen sükralfat süspansiyonu, prostoglandin E2, hidrokspipril selüloz film ve amifostinin mukozit tedavisinde etkileri halen tartışmalıdır.^[9] Cengiz ve ark.^[12] yaptıkları çalışmada tek başına oral sükralfat süspansiyonu kullanımı ile radyoterapinin neden olduğu mukozitin derecelerinde anlamlı düşme sağlanabileceğini bildirmişlerdir. Amifostinin mukozitleri önlemedeki etkinliği genellikle baş-boyun kanseri tanısı ile kemoradyoterapi alan hastalarda incelenmiştir. Bu ajanın kemoterapi ve radyoterapiye bağlı gelişen grade 3 ve 4 mukozitleri önlemede etkili olduğu ifade edilse de, farklı çalışmalarda etkili olmadığı vurgulanmıştır.^[13,14] Öztürk ve ark.^[28] korneal epitelial yara iyileşmesi üzerine propolisin topikal uygulaması ile topikal asetilkolinin etkilerini incelemişler. Sıçanlarda propolis ve asetilkolinin korneal yara epitel iyileştirmesini hızlandırdığı ve bunların klinik olarak uygulanabileceğini belirtmişlerdir.

Araştırma grupları arasında nötrofil değerlerinde istatistiksel olarak önemli farklılık belirlendi. Trombosit değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç olmasa da ölçülen değerlerde rakamsal bir anlamlılık vardı. Hem trombosit hem de nötrofil

değerleri üzerinde RT+P uygulaması olumlu etki gösterdi. Nagler ve ark.^[39] radyasyona bağlı oral mukoziti azaltmada çinko desferrioksamin kullanmış, bunun kilo kaybını önlediğini ve beyaz küre sayısını artırdığını bildirmiş, sonuçta beslenmenin ve immünolojik desteğin baş-boyun ışınlamasında önemli olduğunu vurgulamışlardır. Benković ve ark.^[40] tüm vücut ışınlaması uygulanan farelerde etanolik propolis derivesinin lökosit sayısını artırdığını ve radyoprotektör etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise propolis içerisinde olan flavonoidlerin, immün sistemini aktive ettiği gösterilmiştir.^[41]

Araştırma gruplarının biyokimyasal verileri değerlendirildiğinde; deneme süresince RT+P verilen grupların glikoz değerleri, RT verilen gruptan yüksek bulundu. Bunun nedeni muhtemelen propolisin ağız mukozasındaki yarayı iyileştirmesi ve buna bağlı olarak oral alımın artmasıdır. Yine BUN, kreatin, kalsiyum, potasyum ve LDH değerleri kontrol, P50 ve P100 verilen gruplarda birbirine yakın bulundu. Radyoterapi grubunda bu değerler kontrol grubuna göre yüksekti ($p < 0.001$). Özen ve ark.^[42] cisplatin uygulaması sonucu kreatin ve BUN seviyesinin arttığını, araştırmada denenen propolisin aktif komponentlerinden biri olan kafeik asit fenil ester (CAPE)'in BUN seviyesini düşürdüğünü ancak bu düşüşün kontrol grubu seviyesinde olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmamızda incelenen diğer biyokimyasal parametreler ilk defa incelendiğinden, elde edilen veriler diğer araştırmalarla kıyaslanamamıştır. Bununla birlikte klor ve sodyum dışında, propolisin incelenen tüm biyokimyasal parametreler üzerine olumlu etki göstermesi araştırmanın bütünlüğü açısından önemli bir bulgudur.

Araştırmada oksidatif stres parametreleri incelendiğinde radyoterapinin, MDA seviyesini artırırken, SOD ve katalaz aktivitesini düşürdüğü görüldü. Propolisin ise antioksidan aktiviteleri artırdığı tespit edildi. Bizim araştırmamızda propolisin tespit edilen antioksidan aktivitesi başka araştırmacılar tarafından da saptanmıştır. Bunun, içerisinde bulunan flavonoidlere bağlı olduğu; flavonoidlerin de superoksit anyon radikal ve hidroksil radikalleri gibi aktif oksijen türlerine karşı temizleyici aktivite gösterdiği belirtilmiştir.^[40,41] Özen ve ark.^[42] kafeik asit fenil ester'in katalaz, SOD ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerini artırdığını, ancak bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir. Orsolici ve ark.^[43] radyasyonun verdiği hasara karşı propolisin katalaz, SOD ve

GSH-Px aktivitesini artırdığı ve bu artışa da flavonoidlerin neden olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırmamızda dil dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde; kontrol, P50 ve P100 gruplarında mukoza normal görünümde bulundu. RT grubunda çoğunlukla submukozada enflamatuvar hücrelerin varlığı, nekroz, yer yer ülserasyonlar ve epitel tabakasının incelendiği görüldü. Propolisin ise radyoterapinin neden olduğu hasarı azaltma da etkili olduğu tespit edildi. Bu bulguların, kantitatif ve biyokimyasal parametrelerin sonuçlarını desteklediği görüldü. Elde edilen bulgular diğer araştırmacılar tarafından bulunanlarla uyumludur.^[4,38,44]

Sonuç olarak, günümüzde, oral mukozit tedavisinde, hiçbir ajanın tam olarak etkin olduğu gösterilememiştir. Bununla birlikte, propolisin, oral mukozit semptomlarının hafifletilmesi ve yok edilmesi bakımından yararlı etkiye sahip olduğu bu çalışma ile gösterildi. Ayrıca propolisin antioksidan, antibakteriyel ve immünomodülatör özelliği dolayısıyla da mukoza hasarını azalttığını düşünmekteyiz. Konuyla ilgili klinik çalışmaların tasarlanması ve uygulanması daha etkin stratejilerin oluşturulmasını sağlayacaktır. Bununla birlikte propolisin mukozitin yan etkilerini önlerken tümör üzerine nasıl bir etki göstereceğini söyleyebilmek için farklı doz ve deneklerle yapılacak deneysel ve klinik çalışmaların tasarlanmasına ve uygulanmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Trotti A, Bellm LA, Epstein JB, Frame D, Fuchs HJ, Gwede CK, et al. Mucositis incidence, severity and associated outcomes in patients with head and neck cancer receiving radiotherapy with or without chemotherapy: a systematic literature review. *Radiation Oncol* 2003;66:253-62.
2. Rose-Ped AM, Bellm LA, Epstein JB, Trotti A, Gwede C, Fuchs HJ. Complications of radiation therapy for head and neck cancers. The patient's perspective. *Cancer Nurs* 2002;25:461-7.
3. Sonis ST, Tracey C, Shklar G, Jenson J, Florine D. An animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;69:437-43.
4. Saadeh CE. Chemotherapy- and radiotherapy-induced oral mucositis: review of preventive strategies and treatment. *Pharmacotherapy* 2005;25:540-54.
5. Dörr W, Kummermehr J. Increased radiation tolerance of mouse tongue epithelium after local conditioning. *Int J Radiat Biol* 1992;61:369-79.
6. Barasch A, Peterson DE. Risk factors for ulcerative oral mucositis in cancer patients: unanswered questions. *Oral Oncol* 2003;39:91-100.
7. Rubenstein EB, Peterson DE, Schubert M, Keefe D, McGuire D, Epstein J, et al. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. *Cancer* 2004;100(9 Suppl):2026-46.
8. Plevová P. Prevention and treatment of chemotherapy- and radiotherapy-induced oral mucositis: a review. *Oral Oncol* 1999;35:453-70.
9. Epstein JB, Schubert MM. Oral mucositis in myelosuppressive cancer therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;88:273-6.
10. Stokman MA, Spijkervet FK, Boezen HM, Schouten JP, Roodenburg JL, de Vries EG. Preventive intervention possibilities in radiotherapy- and chemotherapy-induced oral mucositis: results of meta-analyses. *J Dent Res* 2006;85:690-700.
11. Makkonen TA, Minn H, Jekunen A, Vilja P, Tuominen J, Joensuu H. Granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) and sucralfate in prevention of radiation-induced mucositis: a prospective randomized study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;46:525-34.
12. Cengiz M, Ozyar E, Öztürk D, Akyol F, Atahan IL, Hayran M. Sucralfate in the prevention of radiation-induced oral mucositis. *J Clin Gastroenterol* 1999; 28:40-3.
13. Bensadoun RJ, Schubert MM, Lalla RV, Keefe D. Amifostine in the management of radiation-induced and chemo-induced mucositis. *Support Care Cancer* 2006;14:566-72.
14. Büntzel J, Glatzel M, Kuttner K, Weinaug R, Fröhlich D. Amifostine in simultaneous radiochemotherapy of advanced head and neck cancer. *Semin Radiat Oncol* 2002;12(1 Suppl 1):4-13.
15. Borges L, Rex KL, Chen JN, Wei P, Kaufman S, Scully S, et al. A protective role for keratinocyte growth factor in a murine model of chemotherapy and radiotherapy-induced mucositis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006;66:254-62.
16. Bensadoun RJ, Franquin JC, Ciais G, Darcourt V, Schubert MM, Viot M, et al. Low-energy He/Ne laser in the prevention of radiation-induced mucositis. A multicenter phase III randomized study in patients with head and neck cancer. *Support Care Cancer* 1999;7:244-52.
17. Köstler WJ, Hejna M, Wenzel C, Zielinski CC. Oral mucositis complicating chemotherapy and/or radiotherapy: options for prevention and treatment. *CA Cancer J Clin* 2001;51:290-315.
18. Nagai T, Sakaia M, Inoue R, Inoue H, Suzukia N. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chem* 2001;75:237-240.
19. Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 2000;71:109-14.
20. Hu F, Hepburn HR, Li Y, Chen M, Radloff SE, Daya S. Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. *J Ethnopharmacol* 2005;100:276-83.
21. Wang L, Mineshita S, Ga I, Shigemitsu T, Matsuno T. Anti-inflammatory effect of propolis. *Jpn J Pharmacol Ther* 1993;24:223-4.
22. Grange JM, Davey RW. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J R Soc Med* 1990;83:159-60.
23. Scheller S, Wilczok T, Imielski S, Krol W, Gabrys J, Shani J. Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. *Int J Radiat Biol* 1990;57:461-5.

24. Orsi RO, Funari SRC, Soares AMVC, Calvi SA, Oliveria SL, Sforcin JM, et al. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *Journal of Venom Animals Toxins* 2000;6:1-11.
25. Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993;329:21-4.
26. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 2002;73 Suppl 1:S1-6.
27. Bankova V, Popova M, Bogdanov S, Sabatini AG. Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results. *Z Naturforsch C* 2002;57:530-3.
28. Oztürk F, Kurt E, Inan UU, Emiroğlu L, Ilker SS. The effects of acetylcholine and propolis extract on corneal epithelial wound healing in rats. *Cornea* 1999;18:466-71.
29. Kimoto N, Hirose M, Kawabe M, Satoh T, Miyataka H, Shirai T. Post-initiation effects of a super critical extract of propolis in a rat two-stage carcinogenesis model in female F344 rats. *Cancer Lett* 1999;147:221-7.
30. Rezvani M, Ross GA. Modification of radiation-induced acute oral mucositis in the rat. *Int J Radiat Biol* 2004;80:177-82.
31. Cassatt DR, Fazenbaker CA, Bachy CM, Hanson MS. Preclinical modeling of improved amifostine (Ethyol) use in radiation therapy. *Semin Radiat Oncol* 2002;12(1 Suppl 1):97-102.
32. Parkins CS, Fowler JF, Yu S. A murine model of lip epidermal/mucosal reactions to X-irradiation. *Radiation Oncol* 1983;1:159-65.
33. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979;135:372-6.
34. Luck HS. Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods in analysis*. London: Academic Press; 1965. p. 855-84.
35. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34:497-500.
36. Çubukçu ÇE, Baytan B, Güneş AM. Oral mukozitin önlenmesi ve tedavisi: Güncel yaklaşımlar. *Güncel Pediatri* 2006;2:52-5.
37. Ghassemi L, Zabihi E, Mahdavi R, Seyedmajidi M, Akram S, Motallebnejad M. The effect of ethanolic extract of propolis on radiation-induced mucositis in rats. *Saudi Med J* 2010;31:622-6.
38. Lee SW, Jung KI, Kim YW, Jung HD, Kim HS, Hong JP. Effect of epidermal growth factor against radiotherapy-induced oral mucositis in rats. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;67:1172-8.
39. Nagler RM, Barak V, Nagler A. Short-term systemic effects of head and neck irradiation. *Anticancer Res* 2000;20:1865-70.
40. Benković V, Knezević AH, Dikić D, Lisicić D, Orsolčić N, Basić I, et al. Radioprotective effects of quercetin and ethanolic extract of propolis in gamma-irradiated mice. *Arh Hig Rada Toksikol* 2009;60:129-38.
41. Orsolčić N, Sver L, Terzić S, Basić I. Peroral application of water-soluble derivative of propolis (WSDP) and its related polyphenolic compounds and their influence on immunological and antitumour activity. *Vet Res Commun* 2005;29:575-93.
42. Ozen S, Akyol O, Iraz M, Söğüt S, Ozuğurlu F, Ozyurt H, et al. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2004;24:27-35.
43. Orsolčić N, Benković V, Horvat-Knezević A, Kopjar N, Kosalec I, Bakmaz M, et al. Assessment by survival analysis of the radioprotective properties of propolis and its polyphenolic compounds. *Biol Pharm Bull* 2007;30:946-51.
44. França CM, França CM, Núñez SC, Prates RA, Noborikawa E, Faria MR, et al. Low-intensity red laser on the prevention and treatment of induced-oral mucositis in hamsters. *J Photochem Photobiol B* 2009;94:25-31.