

T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı

**RATLARDA İONİZE RADYASYON İLE
İNDÜKLENEN TÜKÜRÜK BEZİ
DİSFONKSİYONUNA KARŞI BERBERİN'İN
RADYOPROTEKTİF ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Hasan YILDIRIM

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi M. Sedat SAKAT

ERZURUM-2018

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

İLGİ: 19.03.2018 tarih ve 1800091812 sayılı yazınız.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı tıpta uzmanlık öğrencisi Arş. Gör. Dr. Hasan YILDIRIM'ın olduğu **“Ratlarda İyonize Radyasyon İle İndüklenen Tükürük Bezi Disfonksiyonuna Karşı Berberin'in Radyoprotektif Etkisinin Araştırılması”** konulu tezini incelemek üzere tez jürisi 28.03.2018 tarihinde toplanmış ve ilgili tez öğrencisinin tez savunmasını almıştır.

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda adı geçen tez jüri üyelerince oy birliği ile kabul edilmiştir.

Bilgilerinize arz ederiz.28.03.2018



Prof. Dr. Bülent AKTAN
Atatürk Üniversitesi Kulak, Burun ve Boğaz
Hastalıkları Öğr. üye
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Selçuk ARSLAN
Karadeniz Teknik Üniversitesi
Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Öğr. Üye
Jüri Üyesi



Dr. Öğretim Üyesi M. Sedat SAKAT
Atatürk Üniversitesi
Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Öğr. Üye
Jüri Üyesi

İÇİNDEKİLER

TABLolar DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
KISATMALAR DİZİNİ	IV
TEŞEKKÜR	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Anatomi.....	3
2.1.1.1. Parotis Bezi	3
2.1.1.2. Submandibuler Bez	5
2.1.1.3. Sublingual Bez	6
2.1.1.4. Minör Tükürük Bezleri	7
2.2. Tükürük Bezleri Histolojisi.....	8
2.3. Tükürük Bezi Embriyolojisi.....	8
2.4. Tükürük Bezleri Fizyolojisi ve Fonksiyonları	9
2.5. Radyoterapi	12
2.5.1. Genel Bilgiler	12
2.5.2. Radyoterapinin Yan Etkileri	14
2.5.2.1. Ağız Kuruluğu (Kserostomi)	15
2.5.2.2. Mukozit	16
2.6. Radyasyona Karşı Tükürük Bezlerinin Korunması	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar	23
3.2. İlaç Uygulama Protokolü	24
3.3. Radyasyon Uygulaması.....	24
3.4. Submandibuler ve Parotis Bezlerinin Eksizyonu.....	25
3.5. Biyokimyasal Analiz.....	25
3.6. Histopatolojik İnceleme	30
3.7. İstatiksel Analiz.....	30

4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA	36
KAYNAKLAR	43



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. GPx protokolünde reaktiflerin hazırlanması	26
Tablo 2. MDA(doku) protokolünde reaktiflerin hazırlanması	28
Tablo 3. SOD ölçümünde reaktiflerin hazırlanması.....	30
Tablo 4. Tükürük bezi histopatolojik değerlendirmesi	32
Tablo 5. Tüm ratların biyokimyasal analiz sonuçları.....	35



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Berberinin moleküler yapısı	20
Şekil 2. Ratlara radyasyonun verilişi	24
Şekil 3. Submandibular ve parotis bezlerinin diseksiyonu	25
Şekil 4. Kontrol grubu: Tükürük bezi, normal histolojik görünümü.	33
Şekil 5. Radyoterapi grubu: Tükürük bezi, müköz bezlerde dejenerasyon, nekroz, atrofi, intersitisyel dokuda mononükleer hücre infiltrasyonu ve damarlarda hiperemi.	33
Şekil 6. Berberin grubu: Tükürük bezi, normal histolojik görünümü.	34
Şekil 7. Radyoterapi+Berberine grubu: Tükürük bezi, müköz bezlerde dejenerasyon, intersitisyel dokuda çok az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonu ve damarlarda hiperemi.	34

KISATMALAR DİZİNİ

A	: Arter
Ca	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik Adenosin Monofosfat
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
Gpx	: Glutasyon Peroksidaz
Gy	: Gray
Ig	: İmmunoglobulin
KCL	: Potasyum Klorür
KT	: Kemoterapi
L	: Litre
M	: Muskulus
MDA	: Malondialdehit
N	: Nervus
RT	: Radyoterapi
SKM	: Sternokleidomastoid Kası
SOD	: Süperoksit Dismutaz
V	: Ven
α	: Alfa

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimi tamamladığım Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim dalında bizlere iyi bir eğitim ve çalışma ortamı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Bülent AKTAN'a,

Asistanlık eğitimimde, tez konumun ortaya çıkışında ve gerçekleştirilmesinde büyük katkısı olan tüm aşamalarında desteğiyle yardımcı olan çok değerli tez hocam Dr. Öğr. Üyesi M. Sedat SAKAT'a,

KBB ihtisasım boyunca hem mesleki hem de sosyal anlamda her zaman bana yol gösterici olan Prof. Dr. Ahmet URAL, Prof. Dr. Özgür YÖRÜK, Prof. Dr. Mehmet İMAMOĞLU, Prof. Dr. Osman BAHADIR, Prof. Dr. Abdulcemel Ümit IŞIK, Doç. Dr. Selçuk ARSLAN, Doç. Dr. Arzu TATAR, Dr. Öğr. Üyesi Korhan KILIÇ, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Sıtkı GÖZELER, Dr. Öğr. Üyesi Vahit MUTLU, Dr. Öğr. Üyesi Zülküf KAYA'ya ve Tıbbi Biyokimya Anabilimdali Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a, Radyasyon Onkoloji Anabilimdali Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN'e, Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilimdali Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Serkan YILDIRIM'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında yanımda hissettiğim ve bu günüme gelmemde sonsuz emeği olan, bana bilim, etik, ahlak, saygı ve diğer insani tüm değerler hakkında bildiğim herşeyi öğreten babam Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM'a,

Karşılıksız her türlü fedakârlığıyla ve sabırla beni yetiştiren annem Hatice YILDIRIM'a ve sevgili kız kardeşim Zeynep YILDIRIM'a,

Bana her zaman destek olan eşim Op. Dr. Zeynep ATAMAN YILDIRIM'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Dr. Hasan YILDIRIM

ÖZET

Ratlarda İyonize Radyasyon İle İndüklenen Tükürük Bezi Disfonksiyonuna Karşı Berberin'in Radyoprotektif Etkisinin Araştırılması

Amaç: Günümüzde kanser tedavisinde radyoterapinin önemi giderek artmaktadır. Tüm kanser hastalarının %50-60'ının tedavisinin bir bölümünde radyoterapi yer almaktadır.

Tükürük bezlerinin, baş ve boyun tümörlerinin tedavisinde sık kullanılan radyoterapiye ileri derecede duyarlı olması ve radyoterapi yan etkilerine bağlı olarak hastaların yaşam kalitesindeki azalma, bu konu üzerinde ileri çalışmaların yapılması ihtiyacını ortaya koymaktadır. Berberinin lökositler, karaciğer, akciğer, mide, kolon, deri, ağız, özofagus, beyin, kemik, göğüs ve genital kanser hücreleri gibi birçok kanser hücre dizisinde antitümör etkileri olduğunda gösterilmiştir. Bunun yanında berberinin anti-diyareik, antiaritmik ve anti-inflamatuar ve radyoprotektif ajan olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada belirtilen özellikleri bilinen berberinin ratlarda radyasyon ile indüklenen tükürük bezi disfonksiyonuna karşı muhtemel radyoprotektif etkisini araştırdık.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda 32 adet dişi, sprague dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar randomize olarak, her grupta 8 rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Grup 1 kontrol grubu olarak değerlendirildi. Grup 2 radyasyon verilen grup olarak değerlendirildi. Grup 3 sadece berberin alan grup, Grup 4 ise radyasyon ve berberin alan grup olarak değerlendirildi. Grup 3 ve Grup 4'e literatürde belirtilen dozda ve şekilde 7 gün boyunca berberin verildi. Grup 2 ve Grup 4'e 8. gün baş ve boyun bölgesini içine alacak şekilde 10 Gy radyasyon verildi. Radyasyondan 24 saat sonra tüm ratların parotis ve submandibular gland eksizyonu yapıldı ve materyaller biyokimyasal ve histopatolojik incelemeye gönderildi.

Bulgular: Grup 1 histopatolojik olarak değerlendirildiğinde normal histolojik yapıda olduğu görüldü. Grup 2 değerlendirildiğinde mukoz bez epitellerinde dejenerasyon ve nekroz, müköz bezlerde atrofi görüldü. İnterstisyel dokuda hafif mononükleer hücre infiltrasyonu ve intersitisyel damarlarda hiperemi belirlendi.

Grup 3 değerlendirildiğinde incelendiğinde normal histolojik yapıda olduğu görüldü. Grup 4 incelendiğinde özellikle müköz bez epitellerinde hafif hidropik dejenerasyon ve intersitsiyel dokularda çok hafif mononükleer hücre infiltrasyonu ve damarlarda hiperemi görüldü. Radyasyon grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) düzeyde tükürük bezi hasarının engellendiği belirlendi. Biyokimyasal bulguları değerlendirdiğimizde ise radyoterapi alan ratların submandibular glandlarında kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek Malondialdehit(MDA) seviyeleri tespit edildi. Aynı zamanda gland dokularında Süperoksit Dismutaz(SOD) ve Glutasyon Peroksidaz(GPx) aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma izlendi. Aynı zamanda radyoterapi alan ratlar ile radyoterapi öncesi berberin alan ratlar arasında da MDA seviyeleri, SOD ve GPx aktiviteleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi.

Sonuç: Çalışmamızda literatürde ilk defa berberinin radyasyon ile indüklenen tükürük bezi hasarına karşı koruyucu etkisini histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırdık. Sonuç olarak radyasyondan önce kullanılan berberinin tükürük bezlerinde oluşan oksidatif stresi engellediğini ve tükürük bezlerini histopatolojik olarak radyasyon alan gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede koruduğunu tespit ettik.

Anahtar kelimeler: Berberin, Radyoterapi, Tükürük Bezleri

ABSTRACT

The Investigation of Radioprotective Effect of Berberine on the Salivary Gland Dysfunction Which Were Induced With Ionize Radiation in the Rats

Objective: The prominence of radiotherapy is increasing in cancer treatment. Radiotherapy is part of the treatment of % 50 – 60 of all cancer patients. The sensitivity of salivary glands to radiotherapy which is a frequently used treatment modality in head and neck cancer and the resultant decrease in quality of life put forward the necessity of further studies on the subject. Berberine has been shown to have antitumor effects in many cancer cell such as leukocytes, liver, lung, stomach, colon, skin, mouth, esophagus, brain, bone, breast and genital cancer cells. It has also been shown that berberine can be used as an anti-diarrheic, antiarrhythmic, anti-inflammatory and radioprotective agent. In this study, we investigated the possible radioprotective effect of berberine against radiation-induced salivary gland damage dysfunction in rats due to the above-mentioned features.

Materials and methods: In our study, 32 females and a sprague dawley rat were used. Rats were randomly divided into 4 groups. Group 1 was evaluated as the control group. Group 2 was evaluated as the group receiving radiation. Group 3 was evaluated as a group receiving only berberine and Group 4 as a group receiving radiation and berberine. Group 3 and Group 4 received berberine for 7 days at the dose indicated in the literature. Group 2 and Group 4 received 10 Gy radiation on the 8th day to cover the head and neck region. Twenty-four hours after radiation, excision of the parotid and submandibular glands was performed in all rats. Materials were submitted for biochemical and histopathological examination.

Results: Group 1 was found to be in normal histological structure. When group 2 was evaluated, degeneration and necrosis of mucous gland epithelium and atrophy of mucous glands were observed. Mild mononuclear cell infiltration in interstitial tissue and hyperemia in interstitial vessels were determined. When evaluated in Group 3, it was found that it was in normal histological structure. When Group 4 was examined, mild hydropic degeneration, especially mucous gland

epithelium, and very mild mononuclear cell infiltration in interstitial tissues and hyperemia were observed in the veins. Statistically significant ($p < 0,05$) level of salivary gland damage was inhibited when compared with radiation group. When biochemical findings were evaluated, high MDA levels were detected in the submandibular glands of the rats receiving radiotherapy at a significantly higher rate than the control group. At the same time, there was a significant decrease in SOD and GPx activities in the gland tissues compared to the control group.

Conclusion: In our study, we investigated the protective effect of berberine against radiation induced salivary gland injury histopathologically and biochemically. As a result, we found that berberine used before radiation prevented the oxidative stress in the salivary glands and maintained the salivary glands at a statistically significant level compared with the histopathologically irradiated group.

Keywords: Berberine, radiotherapy, salivary gland

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde kanser tedavisinde radyoterapinin önemi giderek artmaktadır. Tüm kanser hastalarının %50-60'ının tedavisinin bir bölümünde radyoterapi yer almaktadır (1). Bu yüzden radyoterapiye bağlı yan etkilerle daha sık karşılaşılmaya başlanmıştır.

Baş ve boyun bölgesi tümörleri dünya genelinde en sık görülen 5 tümörden birisidir (2). Teknolojik ilerlemenin kullanılmasına rağmen sadece tümör lokalizasyonlu radyoterapi vermek henüz mümkün değildir. Bu durum radyoterapi alan kanser hastalarında ciddi yan etkiler oluşturmakta ve hastaların yaşam kalitesini ciddi oranda etkilemektedir (3).

Tükürük bezleri baş ve boyun bölgesine uygulanan radyoterapiden en fazla etkilenen dokulardandır. Radyoterapi alan bireylerin tedavisinin ilk haftasında tükürük miktarının % 50-60 oranında azaldığı gösterilmiştir (4, 5). Radyoterapinin baş ve boyun bölgesi tümörlerinde sık kullanılıyor olması, tükürük bezlerinin radyoterapiye karşı ileri derecede duyarlı olması ve radyoterapinin yan etkileri sonucunda hastaların yaşam kalitesinde azalma olması bu konu üzerinde ileri çalışmaların gerekliliğini göstermektedir.

Histopatolojik çalışmalar radyasyonun tükürük bezleri üzerinde fokal asini kaybı, fokal hücre nekrozu, boşaltıcı duktus hasarına neden olduğunu göstermiştir (6). Bu yan etkiler radyoterapinin doğrudan etkileri ya da radyoterapiden kaynaklanan endotelial proliferasyon ve fibrozisin sebep olduğu mikrovasküler doku yetersizliğinden kaynaklanmaktadır (7). Farelerde de radyasyonun serbest radikaller ve diğer yollarla hücreleri apoptozise sürüklediği ve tükürük bezlerinin etkilendiği görülmüştür (8). Radyasyon sonucu oluşan serbest radikaller, oksidatif stres ve oksidasyon, iplik kopması ve iyonizasyon ile DNA hasarı, proliferasyon ve hücre sinyal yollarında rol alan genlerde, tümör büyümesi ve kanser progresyonu için kritik defektlere yol açmaktadır. Bu nedenle antioksidanlar, oksidasyona bağlı hücresel hasarın önlenmesinde koruyucu bir rol oynamaktadır. Bu ve diğer mekanizmalar ile radyasyona karşı koruyucu olan maddelere radyoprotektif

maddeler denmektedir. Radyoterapiye bağlı tükürük bezi hasarına karşı koruyucu birçok madde çalışılmıştır. E vitamini, C vitamini ve selenyum bunlara örnek verilebilir (9, 10).

Berberin, *Berberis vulgaris* ve *Coptis chinensis* gibi çeşitli bitkilerin sapları ve köklerinden izole edilebilen izokinolin türevli bir alkaloidtir. Çeşitli berberin türlerinin, örneğin *B. Cretica* (tüm vücut) , *B. Microphylla* (meyve), *B. Koreana* (ağaç kabuğu), *B. Aristat* (kök), ve *B. Croaticae* (kök, dallar ve yapraklar)'nin antioksidan aktivitesinin olduğu gösterilmiştir (11-15). Bunun yanında berberinin anti-diyareik, antiaritmik ve anti-inflamatuar ajan olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (16-18). Ayrıca, berberinin lökositler, karaciğer, akciğer, mide, kolon, deri, ağız, özofagus, beyin, kemik, göğüs ve genital kanser hücreleri gibi birçok kanser hücre dizisinde antitümör etkileri olduğuda gösterilmiştir (19-24).

Literatürde berberinin tükürük bezi üzerine radyoprotektif etkisiyle ilgili bir çalışma olmadığını gördük. Bizde bu çalışmamızda yukarıda belirttiğimiz özelliklerinden dolayı berberinin ratlarda radyasyon ile indüklenen tükürük bezi disfonksiyonuna karşı muhtemel radyoprotektif etkisini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

Tükürük Bezleri ve Özellikleri

Tükürük bezleri major ve minör tükürük bezleri olarak iki gruba ayrılır. Major tükürük bezleri parotis, submandibular ve sublingual bezlerdir. Bunlar tükürük üretiminin % 55-70'inden sorumludurlar. Parotis bezi çoğunluğu seröz özellikte, submandibular ve sublingual bezler çoğunluğu serö-müköz özellikte tükürük üretimi yapar. Beslenme esnasında parotis bezi salgısı ön plandadır. Minör tükürük bezleri ise oral ve faringeal bölge boyunca dağılmış olup müköz karakterde tükürük üretirler (25, 26).

2.1. Anatomi

2.1.1.1. Parotis Bezi

Parotis bezi tükürük bezlerinin en büyüğüdür. Parotis bezi ortalama kraniokaudal 6 cm, ventrodorsal 3,5 cm uzunluğundadır. Ortalama ağırlığı 20 gramdır. Saf seröz asinüslerden oluşur (27). Parotis en büyük tükürük bezi olmasına rağmen üretilen toplam tükürüğün yaklaşık olarak %30'unu üretir.

Parotis bezi retromandibuler fossa lokalizasyonlu olup tepesi yukarıda bir üçgen konumundadır. Dış kulak aurikulasının anterior-inferiorunda yer alır ve ismini de buradan almaktadır. Parotis bezinin sınırlarını üstte zigoma; arkada meatus acusticus externa; altta stiloid proces ve buraya tutunan kaslar, internal karotis arter, juguler ven; önde zigoma kökünden meatus acusticus externa'ya çizilen diyagonal çizgi oluşturur. Ayrıca; kas, kemik, kıkırdak, vasküler yapılar ve nöral yapılarla değişik kalınlaşma ve yapışıklıklar gösterir. Parotisin yüzeysel ve derin olmak üzere iki fasyası vardır. Yüzeysel fasya masseter kas ve SKM'den zigomaya uzanır ve parotisin yukarı parçasına, zigomanın alt kenarına ve malar oluşumlara sıkıca yapışır. Derin fasya stiloid çıkıntından beze doğru uzanır. Digastrik kasın önünde, stiloid çıkıntı ve buna yapışan ligament ve kasları örter.

Fasyal örtüde anatomik ve embriyolojik olarak belirlenmiş zayıf alanlar vardır. Dış kulak yolunun membranöz parçasının postero-inferioru ile fasyal kapsül arasında “*Huschke forameni*” denilen bir embriyolojik bağlantı vardır. Parotisteki enfeksiyon bu yolla dış kulak yoluna drene olabileceği gibi dış kulak enfeksiyonu da parotis lojuna geçebilir. Ayrıca burası malign neoplazmlar için de bir geçiş yoludur. Daha önemli ve sıklıkla karşılaşılan bir diğer zayıf bölge parotisin retromandibuler parçasında stilomandibuler membranın üst kısmında yer alır. Bütün bu zayıf alanlar enfeksiyon veya neoplazmların parotisin derin lobundan lateral farengeal boşluğa doğru ilerlemesini veya yayılmasını kolaylaştırır (28).

Parotis bezinin duktusu (Stenon veya Stensen kanalı) yaklaşık 6-7 cm uzunluğundadır. Parotisin süperfisyel lobunun ön kısmından kaynaklanır ve masseter kasını çaprazlayarak ilerler. Bu kasın ön kenarında içe dönerek buksinatör kas ve bukkal mukozayı delerek üst ikinci molar diş hizasında ağız içine açılır. Topografik olarak bakılacak olursa parotis kanalı, zigoma arkusu, ağız kösesi ile üst dudak filtrumunu ve tragus arasından geçen çizgilerin kesişim yerine denk düşmektedir. Kanalin uzunluğu yaklaşık 20-40 mm, çapı 3-5 mm dir.

Arteria Karotis Eksterna'nın dalları parotis bezinin beslenmesinden sorumludur. Parotid loj arteryel damar ağından zengindir. Arteryel kompartman glandın derin parçasının içinde olup Eksternal Karotis arter, İnternal Maksiller ve Superfisial Temporal arterler bulunur. Venöz kompartman parotisin arka kısmında yer alır. Fasial sinirin derindedir. Venler sinir ve arterler arasında seyredir. Sinirler yüzeyde, arterler derindedir. Esas venöz drenajı sağlayan Retromandibular ven posteroaurikular vene katılıp v.jugularis eksternayı oluştururlar.

Parotis salgılamayı yaptıran sempatik ve parasempatik innervasyona sahiptir. Sempatik sinirler C2-4 (Servikal 2-4) dorsal segmentlerden başlayan lifler gangliyon servikale superiorda bir kesilme gösterdikten sonra postganglioner lifler olarak karotis arteri boyunca tükürük bezlerine dağılırlar. Bu beze giden lifler kapillerler üzerinde vazokonstrüktör etki yaparak bezden bol müsinli koyu bir tükürük çıkmasına sebep olurlar. Parotise gelen parasempatik lifler, nucleus salivatorius inferior medulla oblangatadan çıkar, n.glossopharyngeus içinde ilerler ve

n.tympanikus ve n.petrozus minör ile ganglion oticum'a gelirler. Buradan çıkan postganglioner parasempatik lifler nervus auriculotemporalis'e katılarak parotis bezine gelirler. Vazodilatatör etkiye sahip olan parasempatik lifler asetilkolinin etkisi ile bol ve sulu salgıya sebep olurlar.

Parotis lenf nodları embriyolojik olarak glanddan önce gelişir. Lenfatik drenaj, paraparotik ve intraparotik nodlara olur. Paraparotik nodlar temporal bölgeyi, skalp ve aurikulyayı drene eder. İntraparotik nodlar ise kulak, posterior nazofarenks, yumuşak damağın drenajını sağlar (29).

Bezin derin kısmı parafarengial boşluğun prestiloid kompartmanında yer alır. Bu bölgeye yerleşen parotis tümörlerine 'Dumbbell (Halter) Tümörleri' denir. Bezin mandibuler ramus üzerindeki retromandibuler parçalarını birleştiren parçasına istmus denir. Parotis bez kuyruğu SKM üst 1/4 üzerindedir ve mastoid çıkıntıya uzanım gösterir. Parotitis hastalarının sıklıkla çiğneme sırasında ağrı duymalarının nedeni bezin ağzın açılması sırasında mandibula ve mastoid çıkıntı arasında sıkışmasındandır.

2.1.1.2. Submandibuler Bez

Ağız tabanının altında, diğastrik kasın ön-arka karınları ve mandibulanın inferior sınırı arasında kalan submandibular üçgende yer alır. Ortalama ağırlıkları 7 - 12 gram arasındadır. Salgı yapan kısımları seröz asinuslardan ve seröz yarımaylı müköz tübüllerden oluştuğu için mikst bir bezdir (27). Submandibular bez süperfisyel boyun fasyası, platizma ve derin servikal fasyanın yüzeysel tabakası ile örtülür. A. facialis, v. facialis ve fasial sinirin marjinal, mandibuler ve servikal dalları bezi çaprazlar. Derin yüzeyi milohyoid, hiyoglosus, stilohyoid ve stiloglosus kaslarına yakın komşuluktadır. A. fasialis bezin derin parçasını aşağı yukarı yönde çaprazlar. Bu nedenle bezin eksizyonunda bu arteri iki defa ligatüre etmek gerekir.

Submandibuler bez duktusu (Wharton kanalı, Ductus submandibularis) ortalama 5 cm uzunluktadır. Duktus milohyoid ve hiyoglosus kasları arasında ilerler ve genioglosus kası üzerinde uzanır. Bu seyirinde n. hipoglosus altta, lingual sinir ise

duktusun yukarisındadır. Lingual sinir duktusu ön ucunda çaprazlar. Submandibuler bez diseksiyonunda bu ilişki kolayca görülür. Wharton kanalı, ağız tabanında frenulum linguae'nın iki yanında dışarı açılır. Boşaldığı yerdeki ostiumu rölatif olarak dardır. Bu ostium karunkula sublingualis denilen çıkıntı üzerindedir. Ostiumun ağzı yer çekiminin aksine yukarı yönde olduğundan tükürük taşı oluşmasında yardımcı bir rol oynar. Wharton kanalının ostiumu % 60 oranında tek, % 30 iki, %5 ise üç tane olabilir.

Parotis ve submandibuler bezin duktusları farklılık gösterir. Parotis duktusu dardır fakat ostiumu nispeten geniştir. Submandibuler bez duktusu ise daha kalındır ama ostiumu nispeten dardır (28). Submandibular glandın arteriyel beslenmesi fasial arterin (A. karotis eksterna'nın dalıdır) submental dalından olur. Ayrıca arteria lingualisten de dallar alır.

Venöz drenaj anterior fasial ven tarafından sağlanır. Bu da marjinal mandibular sinirin derininde ilerler.

Submandibular bezin sempatik innervasyonu lingual arter boyunca superior servikal gangliyondan sağlanır. Parasempatik innervasyonu ise lingual sinir yoluyla submandibular gangliyon tarafından sağlanır.

Submandibuler bezin lenfatikleri bez ile fasya arasında bulunur. Bezin içine gömülmüş lenf nodu bulunmaz. Lenfatikler fasiyal arter ve ven ile yakın ilişki içerisinde derin jügüler ve servikal zincire dökülür.

2.1.1.3. Sublingual Bez

Majör tükürük bezlerinin en küçüğünü oluşturur. Diğerlerinin aksine kapsülü yoktur. Badem şekillidir, ağırlığı yaklaşık olarak 2 gramdır ve anterior ağız tabanında submukozal olarak yerleşim gösterir.

Bu bez iç yanda m. genioglossus ve m. geniohyoideus ile dış yanda ise mandibula ile sınırlandırılmıştır. Altta ise bezi m. mylohyoideus sınırlar. Ağız tabanı

mukozaasının altında, dil frenilumunun lateralinde mylohyoid kas üzerinde yerleşir. Tek bir kanalla değil, "*Rivinus*" kanalları adı verilen 10 - 20 adet olan ve sublingual plika boyunca ağız tabanına ayrı ayrı açılan kanalları vardır. Bu kanallardan birkaç tanesi birleşerek ortak bir kanal oluşturabilirler (Bartolin kanalı).

Arterial beslenmesi lingual arterin sublingual dalından ve fasial arterin submental dalından sağlanır. Venleri ise v. sublingualis ve v. profunda linguae yolu ile vena jugularis internaya dökülürler.

İnervasyonu korda timpaniden parasempatik lifler ve fasial arterdeki pleksustan sempatik lifler ile sağlanır. Sensitif lifleri lingual sinirden alır.

Lenfatikleri ise submental ve submandibuler lenf nodlarına drene olurlar.

2.1.1.4. Minör Tükürük Bezleri

Majör tükürük bezlerinin aksine minör tükürük bezlerini drene edebilecek duktuslardan yoksundurlar. Bunun yerine her tükürük ünitesi kendi tek duktusuna sahiptir. Sayıları 600-1000 arasındadır. Minör tükürük bezleri bukkal, labial, palatal ve lingual bölgelerde lokalize olmuştur. Ayrıca minör tükürük bezleri tonsillerin superior polünde de bulunurlar (Weber glandı). Tonsiller plikalar, dil tabanı (Von Ebner glandı), molar, retromolar (Carmalt Glandları), paranasal sinüsler, larinks, trakea ve bronşlarda da bulunurlar.

Minör tükürük bezlerinden kaynaklanan en yaygın tümör bölgeleri, üst dudak ve yanaklardır.

Minör bezlerin birçoğunun parasempatik innervasyonu lingual sinir yoluyla olurken, damakta yerleşen minör tükürük bezleri sfenopalatin gangliyondan gelen palatin sinirler yoluyla innerve olurlar.

2.2. Tükürük Bezleri Histolojisi

Tükürük bezleri tubuler ve tubuloalveolar yapılar gösteren dış salgı bezleridir. Tükürük bezleri parankim ve stromadan oluşmuştur. Parankim asini, salgı kanalı ve boşaltma kanalından oluşur. Stroma bağ dokusundan yapılmış olup, parankimi destekler. İçerisinde tükürük kanalikülleri, kan ve lenf damarları bulunmaktadır. Tükürük bezleri salgılarını bir kanal yardımıyla dışarı boşalttıklarından ekzokrin bezler grubuna dâhil edilirler.

Tükürük bezleri, salgılarını ürettiği ve sekrete ettiği sekretuar ünitelerden oluşmuştur. Sekretuar ünite (tükürük ünitesi) asiniler, miyoepitelyal hücreler, birleştirici kanallar, salgı kanalları ve boşaltıcı kanallarından oluşur. Salgılar sırasıyla birleştirici (*intercalated*) kanaldan çizgili (*striated*) kanala daha sonra ise salgı boşaltıcı (*excretory*) kanala drene olur (30).

Tükürük duktal sistemde su ve elektrolitle karışır. Strial kanallar aktif sıvı salgılanmasını sağlarken, sıvı transportu interlobüler kanallarda olur. Tükürük bezleri ana boşaltım kanalı ile oral kaviteye açılır ve bu kanal bölünerek daha küçük olan interlobüler ve interlobüler boşaltım kanalları ile bezin lob ve lobüllerine girer. İntralobüler kanal komponenti çizgili kanaldır ve bu kanal, primer tükürük modifikasyonunda önemli rol oynar. Çizgili kanallar bir veya iki kez dallanarak interkalar kanalları oluştururlar. İnterkalar kanallar asinuslara açılır. Asinusların lümeni interkalar kanalların lümeni ile devam eder (27).

Parotisin salgısı seröz, submandibular bezin salgısı serömüköz, minör bezlerin salgısı ise müköz olarak kabul görür.

2.3. Tükürük Bezi Embriyolojisi

Tükürük bezleri ağız boşluğu epitelinden gelişirler. Ağız boşluğunu döşeyen epitelin proliferasyonu ile oluşan solid hücre kümeleri mezenkim içine doğru yönelerek bez taslağını oluştururlar.

Gelişmeye ilk başlayan bez parotis bezidir. İlk parotis taslağı embriyo 10-15 mm uzunluğunda iken görülmeye başlar. Bu taslak primitif ağız kıvrımından solid hücre yığınlarının kordon şeklinde yanağın iç tarafından arka ve üst kısımlara uzanmasıyla meydana gelir. Taslağı oluşturan kordonlardan terminal duktus ve sekretuar asiniler gelişir. Asini hücreleri gelişimlerini en son tamamlarlar. Sekretuar kısımlar duktal sistemden daha sonra gelişme gösterir. Daha önceden yerini almış olan fasial sinir bez içinde daha az direnç gösteren kısımlara doğru ilerler. Bez çevresindeki mezenkim dokusu içeri doğru uzantılar göndererek bezi lobullere ayırır ve ayrıca kapsülün gelişmesine yardımcı olur.

Sublingual bez embriyonel hayatın 8. haftasında bağımsız ve ayrı duktuslar halinde gelişir. Ağız tabanında, dilaltında, submandibuler bez taslağının lateralinde dizilen 10-20 taslak olarak meydana gelir. Doğum sırasında lobları mevcuttur.

Submandibuler bez, parotis gibi ektodermal kökenli olup primitif ağız epitelinden gelişir. Bu bezler 5 - 6. haftada görülüp 6. haftada en erken yerine geçen bez olarak kabul edilirler. Doğum sırasında submandibular bezin lobu tamamlandığı halde parotis tam gelişmemiştir.

Ağız mukozasında dağılmış olan minör tükürük bezleri de primitif ağız epitelinden gelişip, kendi kanalcıkları ile ağız boşluğuna açılırlar. Fetal hayatın 3. ayında gelişmeye başlarlar.

2.4. Tükürük Bezleri Fizyolojisi ve Fonksiyonları

Genel olarak tükürüğün % 99,5'i sudur. Geri kalan % 0,5'i organik ve inorganik bileşenlerden oluşmuştur. Organik kısım karbonhidratlar, proteinler ve lipitlerden oluşur. Bu bileşenler glikoproteinler, IgA, laktoperoksidaz ve laktoferrin gibi savunma elemanları yapısında olabildikleri gibi üre, ürik asit kreatinin gibi metabolit ya da enzimatik yapıdadırlar (31).

İnorganik kısım ise majör bileşenler olarak % 15 - 25 potasyum, % 1 - 26 sodyum, % 14 - 28 klorit, % 14 - 28 bromit, % 5 inorganik fosfat, % 6 - 70 bikarbonat, % 1 - 2 kalsiyum, % 0.01 magnezyum ve flordan oluşur (32).

Tükürüğün pH'sı 5.75 - 7.05 arasındadır. Ozmolaritesi Na, K, Cl ve bikarbonat gibi majör iyonlar tarafından belirlenir. pH'sı ise bikarbonatın temel tampon sistemi olması nedeniyle çoğunlukla CO₂ içeriğine bağlıdır (30).

Tükürük salgısı, alfa-amilaz gibi sindirim sisteminde görevli enzimler ile viskositesini sağlayan glikoproteinleri ihtiva etmektedir.

Tükürük salgılanması tükürük bezlerinin ana görevi olup ağırlıklı olarak otonom sinir sisteminin kontrolü altında gerçekleşir. Tükürüğün içeriğinde bulunan mukus çigneme ile besinlerin içine iyice karışarak besinlerin özellikle yutulması sırasında özofagusta kayganlık sağlayıp, yutmayı kolaylaştırır. Konuşma sırasında dil gibi organların rahat şekilde hareketini sağlama, sindirime yardımcı olma ve dişler başta olmak üzere vücudu koruma gibi işlevler de tükürük salgısının diğer bazı önemli görevleri arasında yer alır (33).

Günlük tükürük salgısı ortalama olarak 1 L civarındadır. Tükürük akış hızı, gün içinde ve mevsimsel olarak değişkenlik gösterir. Sağlıklı bireylerde, stimüle edilmeyen tükürük akış hızı 0,3 ml/dk, stimüle edilen tükürüğün akış hızı ise 1,5 - 2,0 ml/dk civarındadır. Stimüle edilmeyen tükürük salgısının % 69'u submandibuler bezden, % 26'sı parotis bezinden ve % 5'i sublingual bezden salgılanır (33). Parotis bezinden salgılanan tükürük uyarılmaya bağlı olarak yaklaşık 2/3 oranında artabilir (33). Uyarılmaya bakılmaksızın toplam tükürük salgısının yaklaşık olarak % 7 - 8'i minör tükürük bezleri tarafından salgılanır.

Tükürük sayesinde besinler ağız içinde daha iyi çözünür ve tat tomurcuklarına partiküller daha iyi iletilerek tat alma duyusu daha iyi sağlanmış olur (33).

Tükürük salgısı plazmaya göre hipotoniktir. Salgı miktarı arttıkça tükürüğün osmolaritesi belirgin olarak artar. Salgı oranına göre tükürüğün elektrolit içeriği değişkenlik gösterir (33)

Tükürüğün organik içeriğini α -amilaz, pityalin, lingual lipaz, mukus, lizozim, Ig A, kan grubu antijenleri (A, B, AB ve O) oluşturur (33). Kallikrein plasma proteinlerini vazodilatatör bir ajan olan bradikinine çevirerek tükürük bezindeki kanlanmanın artmasını sağlar. Lizozim, Ig A ve laktoferrinin tükürükle beraber salgılanması tükürüğün anti-bakteriyel ve anti-mikrobiyal özelliğini ön plana çıkarır. Ig A'nın tükürükle beraber salgılanan sekretuvar kısmı immün kompleks oluşturarak bakteriler ve virüsler üzerine öldürücü etki sağlar. Lizozim bakteriyel aglütinasyon ve otoliz yaparak bakteri hücre duvarlarının yıkılmasına neden olarak anti-bakteriyel özellik gösterir. Laktoferrin bakteri kolonilerinin büyümesi için çok önemli olan demir gibi elementlerin şelasyonunu sağlayarak bakterilerin büyümesine engel olur. Tükürük salgısı ağza alınan sıcak besinlerin sıcaklığını düşürüp ağız mukozası ve ağız içinde bulunan diğer yapıların yanığa karşı korunmasını sağlar. Tükürük salgısının azalması ağız içi kronik mukozal hastalıklara, diş ve diş eti hastalıklarına neden olur.

Tükürük salgısı otonom sinir sisteminin kontrolü altında daha çok parasempatik sistemin etkisi ile kontrol edilir. Majör tükürük bezlerinin parasempatik innervasyonu fasiyal ve glossofarengial sinirlerin parasempatik dallarından gelir. Parasempatik sistemin uyarılması ile tükürük bezinde asiner hücre aktivitesinde artış, duktal transport mekanizmalarında artış, tükürük bezi damarlarında vazodilatasyon ve miyoepitelyal hücrelerde kasılma izlenir. Parasempatik sisteminin uyarılması ile tükürük bezlerinde bulunan muskarinik reseptörleri uyaran asetilkolin salgılanır. Asetilkolin, hücre duvarında bulunan reseptörüne bağlanarak hücre içinde inozitol trifosfat yolunu uyarır. Böylece hücre içinde Ca^{+2} miktarı artar. Hücre içinde artan Ca^{+2} ikinci haberci olarak görev yapıp tükürük salgısını belirgin olarak artırır. Öte yandan asetilkolin, asetilkolini parçalayan asetilkolinesteraz enzimi tarafından parçalanır ve tükürük salgısı inhibe olur.

Tükürük bezlerinin sempatik innervasyonu torasik spinal sinirin süperiyör servikal gangliyonu tarafından sağlanır. Sempatik sistemin uyarısı ile tıpkı parasempatik sistemin uyarısında olduğu gibi miyoepitelyal hücreler kasılır. Tükürük bezlerine olan kan akım hızı sempatik sistemin uyarısı ile bifazik değişim gösterir. Önce α -adranerjik reseptör aktivasyonu ile vazokonstriksiyon ardından aktivasyon sonrası oluşan vazodilatör maddelerin oluşmasıyla vazodilatasyon gerçekleşir. Sempatik sistemin nörotransmitteri olan nöroepinefrinin α -adranerjik reseptöre bağlanması ile 3',5'-cyclic adenosine monophosphate (cAMP) oluşur. Hücre içinde cAMP çeşitli proteinlerin fosforilasyonunu sağlayarak farklı enzimlerin aktivasyonuna neden olur. Bu sayede tükürük salgısında bulunan enzim ve mukus miktarı artar (33).

2.5. Radyoterapi

2.5.1. Genel Bilgiler

Radyoterapi iyonizan radyasyon ışınlarının ya da atom partiküllerinin kullanılarak kanser ve bazen de kanser dışı hastalıkların tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Amacı yaşam süresini uzatmak ve hayat kalitesini arttırmak için malign hücrelerin tamamını öldürmek veya onların ileri hücre bölünmelerini veya çoğalmalarını, tümörün etrafındaki sağlam dokulara fazla zarar vermeksizin belirlenen tümör volumüne hesaplanan radyasyon dozunu uygulamaktır (34, 35).

Radyasyon dokularla girdiği etkileşim göz önünde bulundurulduğunda iyonize ve iyonize olmayan radyasyon olarak iki ana başlık altında incelenebilir.

İyonize radyasyon bir ortama veya bir organizmaya girdiğinde atomlara çarparak elektron koparan (iyonlaşma) veya çarptıkları atomların elektronlarını koparmasalar bile daha yüksek enerji seviyesine çıkaran radyasyon türüdür (36). Bunlar alfa, beta, gama ve X ışınlarıdır.

İyonizan radyasyonun hücreleri öldürücü etkisinin temel mekanizması hücre içindeki hayati yapıları etkilemesi, özellikle de DNA'da kopma, kırılma şeklinde

hasar meydana getirmesidir. Biyolojik ortamdan geçen radyasyonun DNA üzerinde oluşturduğu etki doğrudan ve dolaylı yollardan meydana gelir. Doğrudan etkide fırlatılan elektron veya yüklü parçacıklar yolu üzerindeki DNA'da kopma ve kırılmalara sebep olurken dolaylı etkide ise iyonizasyon yapan ışın DNA hasarı oluştururken nükleus içinde de bazı kimyasal yapıları meydana getirir. Bunlara serbest radikaller adı verilir. Dolaylı etki dokuların majör bileşeni olan su (H₂O) ile etkileşmesiyle olur. Bu etkileşim sonucu ortaya çıkan serbest radikallerin (oksidasyon yapan radikal => -OH; redüksiyon yapan radikal => -H) etkilerini oksijen kuvvetli bir şekilde arttırır. Oksijen kaybı ile ortaya çıkan lokal asidik çevre ve serbest oksijen radikallerini temizleyen maddelerin (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz vb.) ortamda bulunuşu dokuyu radyasyondan koruyan en önemli faktörlerdir. Hücreler iyonizan radyasyona genellikle hücre bölünme fazlarından G2 ve mitoz fazında duyarlı olurlar. Dolayısı ile hızlı hücre bölünmesi gösteren dokular radyasyondan daha fazla, daha yavaş bölünen dokular daha az etkilenirken, hiç bölünmeyen dokular ise etkilenmezler (37-40).

İyonize olmayan radyasyon ise etkileştiği ortamdaki atomlardan elektron koparamayan, kütsüz elektromanyetik dalga olarak tanımlanır. Mikrodalgalar, görünür ışık, radyo dalgaları, kızılötesi ve morötesi ışık, iyonize olmayan radyasyona örnektir.

Radyoterapi (RT) tümörü tamamen ortadan kaldırmanın mümkün olduğu durumlarda küratif, mümkün olmadığı durumlarda ise palyatif amaçlı olarak kullanılır. Küratif radyoterapi primer radyoterapi, kombine tedavi ve adjuvan tedavi olarak kullanılır. Primer radyoterapi özellikle radyokürabl tümörlerde ana tedavinin radyoterapi ile yapıldığı bir tedavi şeklidir. Amaç kür sağlamaktır. Kombine tedavi iki veya daha fazla tedavi yönteminin birlikte kullanımıyla kür şansının sağlanabildiği tedavi kombinasyonudur. Genellikle ileri evre kanserli hastalarda cerrahi ve kemoterapi ile birlikte kullanılır. Adjuvan radyoterapi lokal ve bölgesel nüksü azaltmak için uygulanır. Amaç lokal kontrolü sağlamaktır. Palyatif radyoterapi kür şansı olmayan kanserli hastalarda primer tümör ve metastazların lokal veya sistemik etkileri sonucu gelişen birçok semptom ve bulguların giderilmesinde

uygulanan bir radyoterapi çeşididir. Amaç palyasyonu sağlayarak hayat kalitesini arttırmaktır (34, 35).

Radyoterapi, hedeflenen vücudun doğru bölgesine ve gereken dozda uygulanmalıdır. Amaç, sağlıklı doku ve organlara hasar vermeden kanser hücrelerini tamamen yok etmeye çalışmaktır. Dokunun absorbe ettiği dozun standart birimi Gray (Gy)'dir ve kg başına 1 Joule olarak tanımlanır. Daha önce kullanılan birim olan Rad, 1 centigray (1cGy)'e eşdeğerdir ve $1 \text{ Gy} = 100 \text{ cGy} = 100 \text{ Rad}$ 'a karşılık gelmektedir (41).

Radyoterapi ile tümörün ortadan kaldırılması uygulanan ışın dozuyla orantılıdır. Işın dozu arttıkça tümörün lokal kontrolü artar. Klinik radyoterapide ışın dozları günlük dozlar halinde (fraksiyon) uygulanır. Bunun amacı normal dokulara ciddi hasar vermeden tümörü yok etmektir (34, 35). Işının dozu arttıkça tümör daha rahat kontrol altına alınacak ancak bu sefer de radyasyona maruz kalan sağlam dokularda istenmeyen komplikasyonlar ortaya çıkacaktır.

2.5.2. Radyoterapinin Yan Etkileri

Radyoterapi esnasında veya ilk üç ay içerisinde görülen akut reaksiyonlar, daha çok tedavi alanı içerisine giren ve hızlı çoğalan dokularda (mukoza, deri, kemik iliği) görülür. Deride eritem, kuruma, gerilme, dermatit, hiperpigmentasyon görülebilir. Işınlanan anatomik lokalizasyona bağlı olarak özefajit, laringeal mukozit ve ödem, oral mukozit, disfaji, tat duyusunda bozulma, tükürükte koyulaşma ve hiposalivasyon görülebilir. Burun ışınlanan bölgenin içindeyse nazal kuruluk ve kaşıntı, kulak ışınlanan bölgenin içindeyse otitis eksterna ve otitis media görülebilir. Tedaviye ait parametrelerin (fraksiyon dozu, total doz, toplam tedavi süresi ve ışınlama volümü) yanı sıra akut reaksiyonları etkileyen diğer faktörler hastanın yaşı, genel durumu, radyoterapi öncesi veya eşzamanlı kemoterapi (KT) ve radyoterapinin (RT) uygulanması öncesinde uygulanan cerrahinin niteliğidir (42).

Radyoterapi sonrası gözlenen geç komplikasyonlar, tedavi alanına giren ve özellikle yavaş çoğalan dokularda (bağ dokusu, kemik, yumuşak doku, sinir sistemi)

tedavi bitiminden 3 - 6 ay sonra gözlenebilir. Bu dokularda RT sırasında hemen hemen hiç akut reaksiyon görülmezken geç dönemde reaksiyonlar görülür ve bunlar geç komplikasyonlardır. Ortaya çıktığı doku ve organlara göre; deride atrofi, telenjektazi, hipo–hiperpigmentasyon, yumuşak dokularda fibrozis, atrofi, ülserasyon, kemik nekrozu, işitme kaybı, retinopati, katarakt, endokrin yetersizlikler, Lhermit sendromu (medulla spinalisin geçici demiyelinizasyonuna bağlı), radyasyon miyeliti baş boyun bölgesine uygulanan RT'nin geç komplikasyonları olarak görülebilir (42).

2.5.2.1. Ağız Kuruluğu (Kserostomi)

Kserostomi uyarılmamış tükürük miktarının 0,1 ml/dk'nın altına inmesi olarak tanımlanmaktadır. Ağız kuruluğu olan hastaların şikâyetlerine ek olarak, genellikle ağızda yanma hissi, mukozada ülser lezyonlar, oral bölgede genel bir hassasiyet, tat ve koku bozuklukları, çiğneme ve yutkunmada güçlük yakınmaları görülebilir ki bu yakınmalar hastaların yaşam kalitesini düşürmekte ve tedaviye uyumunu etkilemektedir.

Baş ve boyun bölgesine uygulanan radyoterapi, tükürük bezlerinin de içinde bulunduğu tedavi bölgesine uygulandığı için belirgin ve kalıcı bir ağız kuruluğuna neden olabilir. Bu 5200 cGy seviyesinden fazla seviyelerde maruz kalındığında beklenen bir komplikasyondur (43). Baş ve boyuna uygulanan radyoterapilerde, ilk fraksiyondan sonraki birkaç saat içerisinde geçici hassasiyet ve bazen de tükürük bezlerinde şişme görülür. Bu erken reaksiyon genellikle birkaç saat içerisinde azalır. 2,25 Gy'lik tek doz uygulamasından 24 saat sonra ise tükürük salgısında bir azalma belirlenmiştir (44). Tükürük akış hızı, RT sırasında azalmaya devam eder ve 6 - 8 hafta sonunda ölçülmesi zor olacak miktara kadar iner. Ağız kuruluğu; tükürük bezinin radyasyona maruz kalan hacmine, toplam radyasyon dozuna ve hastanın özelliklerine bağlı olarak birkaç ay veya yıl boyunca sürebilir ya da bir daha hiç düzelme izlenmeyebilir (44).

Radyoterapi süresince dış tedavileri, hasta için büyük risk oluşturabileceğinden özellikle osteoradyonekroz riskinin göz önünde bulundurulması

gerekir. Bu nedenle diş hekimleri, baş ve boyun radyoterapisi alacak olan hastalarda, radyoterapi öncesi gerekli olan tüm acil ve koruyucu diş tedavilerinin planlanmasına özen göstermelidirler. Hastalara radyoterapi dönemini, hatta sonraki dönemlerini rahat geçirebilmeleri için beslenme ve ağız hijyenine dikkat etmeleri konusunda bilgi verilmelidir (45).

2.5.2.2. Mukozit

Baş boyun radyoterapisiyle birlikte daha çok kişi tedavi edildikçe sağkalım süresi artmakta ve buna bağlı olarak oral bakıma olan ihtiyaç da artmaktadır (46). Hastaların çoğunda en yaygın doz kısıtlayıcı toksisite, büyük morbiditeye sebep olan mukozittir (47). Oral mukozit baş boyun kanserleri nedeniyle üst boyun alanına yüksek doz RT alan hastalarda çok sıktır (48). Mukozit iyonizan radyasyonun doğrudan ve/veya dolaylı etkilerine bağlı olarak gelişen, ülserasyonlarla birlikte olabilen inflamatuvar değişikliklerle karakterizedir (49).

Hem doğrudan hem de dolaylı faktörler oral mukozitin gelişimini etkiler. Doğrudan etkili faktörler; kemoterapötik ilaçlar, radyoterapi fraksiyon ve total dozu, tedavi volümü, yaş, cinsiyet, beslenme durumu, tedavi süresince oral bakım ile tükürük salgısının miktarı ve kalitesidir. Dolaylı yoldan etkili faktörler ise kemik iliği ve immün sistemin baskılanması, azalmış sekretuar Ig A ve enfeksiyonlardır (50).

Klinik olarak orofaringeal mukozit konvansiyonel dozlarda (2 Gy/gün, haftada 5 gün) yaklaşık olarak 10 Gy'den sonra görülmeye başlar. Mitotik aktivitenin azalmasıyla yüzeysel hücrelerde birikim gözlenir. Keratinizasyon artışı sonucu beyaz bir görünüm oluşur. Lökoplaki olarak adlandırılan bu lezyonlar radyoterapiye bağlı oral kavitede gelişen en erken değişikliklerdendir. Epitel hücreleri döküldükçe mukoza ince ve kolay kanayan bir hal alır. Başlangıç evresinde radyasyon dozu arttıkça eritem şiddeti artar. Hasta mukozal hassasiyetten ve tad alma hissindeki azalmadan şikâyetçi olur. Bunların etiyolojisinde akut vasküler cevap ve ödem rol oynar (51-53).

Üçüncü haftada hücre ölümü ve mitotik inhibisyona bağlı olarak mukozal membranlarda hücre azalması gerçekleşir. Küçük damar ve ekstrasvasküler dokularda geçirgenlik artar, buna bağlı olarak bağ dokusunda ödem artar ve lokal hücre yıkımına bağlı olarak mukoza gerginleşir. Toplam doz 25 Gy'e ulaştığında ödem belirginleşir, buna bağlı eritem daha az gibi görünür. 30 Gy'den sonra ise dilde ödem ve ülserasyon gelişebilir (53,54).

Oral reaksiyonlar dördüncü ve beşinci haftalarda en üst düzeye ulaşırlar. Fibröz eksuda ve radyoepitelyit, radyoterapi uygulanan alanlarda kandida lezyonlarını taklit eden beyaz veya sarı renkte psödomembranlar oluşturur. Bu lezyonlar zarar görmüş kılcıl damarlardan plazmanın ekstrasvazasyonu ve mukozal yüzeydeki ölü epitelyal hücrelerin birikiminden dolayıdır. Bu lezyonlar ağrılıdır ve mukozadan kaldırılması bazen mümkün olmaz. Radyasyon hasarı altındaki doku çıplak ve kanamalıdır. Ufak travmalar bile ülser lezyonlara neden olabilir (51).

Tüm bu lezyonlar iki veya üç hafta sonra klinik olarak iyileşirler. Ancak damarlar ve bağ dokusundaki hasar nedeniyle fonksiyonel tabakadaki sabit mitoz sonrası hücrelerde azalma görülür. Bu nedenle tam iyileşme mümkün olmaz. Radyasyonun geç dönem hasarı olan telenjektazi kılcıl damarlarda tıkanıklık ve fibrozis, tüm bunların sonucunda da travma ve enfeksiyona duyarlı olan hipersensitif ve hipotrofik mukoza membranları meydana gelir (54).

Baş boyun radyoterapisine bağlı oral mukozitin azaltılmasında en önemli yaklaşım koruyucu ağız bakımındır. Diş fırçalaması ve diş ipi kullanımı bakteriyel diş plaklarının önlenmesinde maliyet, etkinlik açısından en uygun yöntemdir. Her yemekten sonra oral kavite mutlaka temizlenmelidir (49).

2.6. Radyasyona Karşı Tükürük Bezlerinin Korunması

Radyoterapi öncesi ve sonrasında tükürük bezlerini korumak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Radyasyona maruziyet sonrası oluşan serbest radikallerin kalsiyum ve magnezyum gibi ağır metallere etkileşimi hücre yıkımını arttırmaktadır. Radyoterapi öncesi verilen pilokarpin ve betanekonol parotis bezinde asiner hücreleri

uyararak salgı miktarını arttırmaktadır. Böylece radyoterapi sonrası tükürük salgısı daha az miktarda azalmaktadır (55). Çoğu hasta pilokarpine bağlı kalp ritim bozukluğu ve aşırı terleme gibi yan etkileri tolere edemeyebilir (55).

Amifostin radyoterapi ve kemoterapide kullanılan sitoprotektif etkiye sahip bir ilaçtır. Amifostin bir sitoprotektif olarak uzun zamandır bilinmektedir ve baş boyun kanserli hastaların primer cerrahi sonrası adjuvan radyoterapileri sırasında tükürük bezlerinin korunması için ruhsat almıştır. Fakat normal dokuları koruması yanında tümörü de radyoterapiden koruyabileceği halen bir tartışma konusudur (56). Baş boyun kanseri olup radyoterapi alan hastalarda denenip ağır bulantı ve kusma gibi yan etkileri nedeniyle çoğu hasta ilacı tolere edememiştir (57, 58). Aslında 1980'li yıllarda yürütülen prelinik hayvan deneyleri, amifostinin tümör dokusunu da koruduğunu göstermiştir. Clement ve Johnson, farelerde lösemi ve akciğer kanseri modelinde lösemi için 1,4'lük, akciğer kanseri için 1.3'lük doz modifikasyon faktörü kadar radyasyon duyarlılığında azalma izlemişlerdir (59).

Isı şok proteini olan tempol (4 hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl) ile ratlarda yapılan çalışmada radyasyon verilmeden bir gün önce ratların submandibuler bezlerine enjeksiyon yapılmıştır. Tükürük salgısının ve histopatolojik yapının korunması anlamında kısmi yanıt alınmıştır (60).

Büyüme faktörleri DNA onarım mekanizmalarını aktive ederek hücre ölümünü engellemektedir. İnsülin benzeri büyüme faktörünün rat parotis bezi hücre kültüründe asiner hücreleri aktive ettiği gözlenmiştir (61).

Palifermin (keratinosit büyüme faktörü) faz II çalışmaları yapılmış olup çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (62).

Ratlarda tek doz radyasyondan dört saat önce verilen fibroblast büyüme faktörü sayesinde programlı hücre ölümünün % 44 oranında azaldığı gözlenmiştir (63).

Submandibuler bezi radyasyon verilen alandan cerrahi olarak uzaklaştırma yöntemi denenmiştir. Submandibuler bez submental alana alınmıştır (64). Cerrahi sırasında tükürük bezinin kanlanması bozulduğu için yüz güldürücü yanıt alınamamıştır.

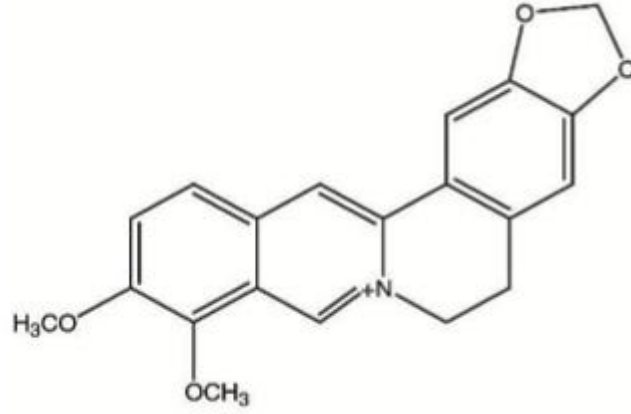
Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (The U.S. Food and Drug Administration; FDA) 2000 yılında insanlarda normal fizyolojik fonksiyonlarda E ve C vitamini ile selenyumun diyet antioksidanları olduğunu ve reaktif oksijen türlerinin yan etkilerini azalttığını onaylamıştır (10).

E vitamini lipoproteinler ve hücre membranları içinde bulunan ve yağda eriyen en önemli antioksidanlardan biri olarak bilinir. En güçlü serbest radikal temizleyicilerinden birisidir (9). Antioksidan aktivitesine bağlı olarak immün yanıtı arttırdığı ve optimize ettiği görülür ve doku hasarını önlemek için serbest radikal molekülleri ile reaksiyona girer. Membranların oksidatif zedelenmesini baskılar (65). E vitamini düşük toksisite avantajına sahiptir ve farmakolojik dozlarda uygulandığında radyasyondan koruyucu etkisi vardır (66, 67).

Radyasyon cihazlarındaki teknolojik gelişmelerde tükürük bezi ve diğer sağlıklı organların korunmasında önemli rol oynamaktadır. Üç boyutlu planlama tekniği ve konfirmasyonel doz verme tekniği sayesinde tükürük bezleri korunup radyoterapi sonrası ağız kuruluğu azaltılmıştır (67, 68).

2.7. Berberin

Berberin, Berberis vulgaris ve Coptis chinensis gibi çeşitli bitkilerin sapları ve köklerinden izole edilebilir (69-71). Berberin, interkalatör ajanlara çok benzer bir yapıya sahip, azotlu siklik bir bileşiktir (Şekil 1) (70, 72). İnterkalatör ajanlar, hücre işlevlerini incelemek için nükleik asit boyaları olarak sıklıkla kullanılırlar. Berberin, yaygın olarak flüoresan bir boya olarak kullanılan, bilinen bir alkaloid ilaçtır.



Şekil 1. Berberinin Moleküler Yapısı

Bir izokinolin türevi alkaloid olan berberinin, son zamanlarda birçok etkinliği olduğu gösterilmiştir. Berberinin geniş farmakolojik ve biyokimyasal etkileri vardır. Berberinin anti-diyareik, antiaritmik ve anti-inflamatuar ajan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (16-18). Ayrıca, berberinin lökositler, karaciğer, akciğer, mide, kolon, deri, ağız, özofagus, beyin, kemik, göğüs ve genital kanser hücreleri gibi birçok kanser hücre dizisinde antitümör etkileri olduğu gösterilmiştir (19-24).

Berberin meme, akciğer, kolon ve karaciğer kanserinde kanserli hücrelerde apopitozisi indükler ve hücre proliferasyonunu inhibe eder. Bununla birlikte berberinin, vinkristin ve irinotekan da dahil olmak üzere daha toksik ilaçlarla birlikte kullanımının tedavi edilen hücreler üzerinde sinerjik etkileri olduğu gösterilmiştir (73, 74). Önceki araştırmalar, vinkristinin hepatoma hücrelerine karşı berberinle kombine kullanımının etkili olduğunu (73) ve ilaçlara karşı hücre direncinin, berberinle kombinasyon tedavileriyle azaldığını göstermiştir (74).

Berberinin radyasyon ile kombinasyon halinde kansere karşı sinerjik etkilere sahip olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Berberinin, akciğer kanseri hücrelerini radyasyona duyarlı hale getirdiği gösterilmiştir (75). Kansere karşı sinerjik etkilere ek olarak, berberinin radyasyona bağlı yaralanmaya karşı koruyucu etkisi vardır. Berberinin radyasyonla indüklenen akciğer hasarı ve bağırsak yaralanması insidansını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (76, 77).

Serbest radikaller, oksidatif stres ve oksidasyon, iplik kopması ve iyonizasyon da dahil olmak üzere radyasyonla oluşturulan DNA hasarı, proliferasyon ve hücre sinyal yollarında rol alan genlerin tümör büyümesi ve kanser progresyonu için kritik olan defektlere yol açabilir. Bu nedenle, antioksidanlar, oksidasyona bağlı hücrel hasarın önlenmesinde koruyucu bir rol oynamaktadır.

Çeşitli berberis türlerinin, örneğin B. Cretica (tüm vücut), B. Microphylla (meyve), B. Koreana (ağaç kabuğu), B. Aristat (kök) ve B. Croaticae (kök, dallar ve yapraklar)'nin antioksidan aktivitesinin olduğu gösterilmiştir (11-15). Reaktif oksijen türleri, spesifik enzimler veya antioksidan ajanlarla nötralize edilebilen esas olarak oksidatif yan ürünlerdir. Hücrel reaktif oksijen türlerini üreten üç ana enzim lipoksigenaz (78), ksantin oksidaz (79) ve siklooksigenaz-2 (COX2) (80,81) 'dir. Bu enzimlerin azaltılmış aktivasyonu, daha sonra reaktif oksijen türlerinin seviyelerinin azalmasına yol açar. Yine de, diğer alkaloidlerin antioksidan aktivitesi örneğin ksantin oksidaz (82) ve COX2 (80, 83) aktivitesini azaltmada etkili olduğu görülmüştür. Bu da reaktif oksijen radikallerinin seviyelerini düşürür. Buna ek olarak, berberinin süperoksit dismutaz aktivitesini azalttığı ve daha sonra reaktif oksijen radikallerinin seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (83).

Berberinin hücre koşullarına ve türüne bağlı olarak hücrel reaktif oksijen türü içeriği üzerinde farklı etkileri olduğu gösterilmiştir. Örneğin; berberin, normal epitel hücrelerinde değil, prostat kanseri hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin üretilmesini sağlamıştır (83- 85).

Kanser hücrelerinde berberinin antioksidan aktivitesinin daha iyi tanımlanması için daha fazla çalışma yapılmalıdır. Berberinin doza bağımlı etkisinin bilinmesi, bu bileşiğin sırasıyla normal ve etkilenmiş hücrelerde bir kemoprotektif ve kemoterapötik madde olarak kullanılması açısından avantajlı olacaktır. NAC (N-asetil-L-sistein) gibi bazı güçlü antioksidan ajanların reaktif oksijen tür düzeylerini düşürdüğü ve muhtemelen berberinin neden olduğu bir sitokrom c apoptotik proteini serbest bırakarak berberine bağlı apoptozu önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (85, 86). Önceki çalışmalar güçlü antioksidanların kanser hücrelerini apoptozisten koruyabildiklerini ve dolayısıyla hücre sağkalımını artırdıklarını ileri sürmektedir.

Ancak bu durum berberinde farklılık göstermekle birlikte bununla ilgili daha fazla çalışma yapmayı gerektirmektedir.

Apoptozis, mitokondriyal birikme, kaspaz aktivasyonu ve ardından DNA parçalanması ile indüklenen hücre ölümüne yol açan farklı moleküller tarafından düzenlenir. Apoptozis çeşitli sinyal yollarını içerir. En önemli apoptotik yollar şunlardır: (1) Reaktif oksijene bağlı apoptozis, (2) Fas-bağımlı apoptozis, (3) p53-bağımlı apoptozis ve (4) p53 bağımsız apoptozis. Berberinin bu süreçlerin hepsini etkilediği gösterilmiştir (87, 88). Ayrıca berberinin çeşitli yollarla apoptozisi indüklediği de gösterilmiştir (87). Reaktif oksijene bağlı apoptozise ilaveten, berberinin kaspaz-3, kaspaz-8 (89) ve kaspaz-9 gibi belirli kaspazları önemli ölçüde aktive ettiği gösterilmiştir (89-91). Kaspazlar, FasL ve tümör nekrotik faktörleri de dahil olmak üzere apoptotik faktörler tarafından aktive edilen proteolitik enzimlerdir ve hücrel enzimleri hedeflemektedir. Berberin, kanser hücre dizilerinde kaspaz aktivitesini indüklemek üzere hem Fas hem de FasL ekspresyonunu indükleyebilir (21, 86). Dahası, berberin apoptozis aktivasyonuna yol açan iki büyük kaspaz inhibitörünü, yani c-IAP1 ve XIAP'ı deaktive etmek suretiyle apoptozisi aktive edebilir (90).

Nöroblastoma hücrelerinde, berberin p53'e bağımlı hücre büyümesini apoptozis indüksiyonu ile inhibe ettiği gösterilmiştir (92, 93).

Kalp hasarından oluşan hücrel bir modelde, berberin doksorubisin ile tedavi edilen kardiyomyositlerde apoptozisi azaltmıştır; bu da, kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivitesinde azalma ile gösterilmiştir (94).

Yapılan çalışmalarda apoptozis ve serbest oksijen radikalleri üzerine olan etkileri ile tümöral hücrelerde antitümör özelliğinin olduğu normal hücrelerde ise koruyucu özelliğinin olduğu görülmüştür. Bunun tam mekanizması açık olmamakla birlikte berberin ile ilgili daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Hayvanlar ve Gruplar

Çalışmamız, Atatürk Üniversitesi Deneysel Hayvan Etik Kurulu'nun "30.06.2017" tarihli ve "5" sayılı oturumunda onayını aldıktan sonra Atatürk Üniversitesi Tıbbi Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen 250-350 gram ağırlığındaki sağlıklı erişkin 32 adet dişi, sprague dawley cinsi rat üzerinde ATADEM'de gerçekleştirilmiştir.

Ratlar tüm çalışma boyunca 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyodunda, 22 ± 2 °C sıcaklık ve $\% 40 \pm 10$ nisbi nem sağlanmış çelik kafesler içinde barındırılarak, herhangi bir besin kısıtlaması içermeyen taze sebze ve yemle beslendi. Çalışmamızda uluslararası Helsinki deklarasyonunda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara itina ile uyuldu.

Ratlar randomize olarak, her grupta 8 rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı:

Grup 1: Bu grup kontrol grubu olarak değerlendirildi ve 8 rata 7 gün boyunca günde bir kez intragastrik gavaj yoluyla 2 ml serum fizyolojik verildi.

Grup 2: Bu grup radyoterapi grubu olarak değerlendirildi ve gruptaki 8 rata baş boyun bölgesini içerecek şekilde çalışmanın 7. Gününde tek doz 10 Gy radyasyon verildi.

Grup 3: Bu grup berberin tedavi grubu olarak değerlendirildi ve bu gruptaki 8 rata 7 gün boyunca günde bir kez olacak şekilde intragastrik gavaj yoluyla 20 mg/kg dozunda berberin (Sigma Aldrich Chemical Comp) verildi.

Grup 4: Bu grup Radyoterapi+Berberin grubu olarak değerlendirildi ve bu gruptaki 8 rata 7 gün boyunca intragastrik gavaj yoluyla 20 mg/kg berberin verilmesini takiben baş boyun bölgesini içerecek şekilde tek doz 10 Gy radyasyon verildi.

3.2. İlaç Uygulama Protokolü

Herhangi bir işlem görmemiş sağlıklı 32 rat teslim alındı. Ratlara literatürde kullanılan dozda 20 mg/kg berberin uygulamaya karar verildi. Hesaplanan berberin % 0,5'lik carboksimetilselüloz içerisinde homojen olarak çözdürüldü. Grup 3 ve Grup 4 deki 16 rata 3 cc içerisinde 20 mg/kg berberin olacak şekilde hazırlanan solüsyonlar 7 gün boyunca tek doz olarak oral gavaj ile mideye verildi. Berberin verilen sürede hiçbir ratda kilo kaybı olmadı.

3.3. Radyasyon Uygulaması

Işınlanma öncesi ketamin hidroklorür (Ketalar flakon, Pfizer, İstanbul) 40 mg/kg + xylazine hidroklorür (Rompun flakon, Bayer, İstanbul) 10 mg/kg intraperitoneal (i.p) ile ratlara genel anestezi yapıldı. Işınlanma uygulanacak ratlar anestezi sağlandıktan sonra supin pozisyonda sabitlendi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkoloji Anabilim Dalı'nda ratların baş-boyun bölgesi hedeflenerek dörtlü gruplar halinde, 40 cm x 17,5 cm lik alan içinde supin pozisyonda, SAD tekniğiyle 1 cm bolus kullanılarak ışına hazırlandı. 6 MV enerji ve tek fraksiyon olacak şekilde gantry 0°'de 600 mu/dk doz hızıyla toplam 10 Gy foton (X-ray) radyasyon 13.6 Version Varian Trilogy (Seri No: 6196 USA) marka lineer akseleratör cihazıyla uygulandı.



Şekil 2. Ratlara radyasyonun verilmesi

3.4. Submandibuler ve Parotis Bezlerin Eksizyonu

Radyoterapi uygulamasından 24 saat sonra tüm ratlara 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar ampul, Pfizer, İstanbul) ile 10 mg/kg xylazine hidroklorür (Rompun flakon, Bayer, İstanbul) intraperitoneal (i.p) uygulanarak genel anestezi yapıldı ve ratlar sacrifiye edildi. Daha sonra boyun orta hattan yapılan dik bir insizyonla her iki submandibular gland çıkarıldı. Sağ taraf histopatolojik inceleme için ayrıldı. Sol taraf ise biyokimyasal analiz için tahsis edildi.



Şekil 3. Submandibular ve parotis bezlerinin diseksiyonu

3.5. Biyokimyasal Analiz

Biyokimyasal analiz için ayrılan gland dokuları fizyolojik salin ile yıkayıp kurutulduktan sonra -80°C sıcaklıktaki donduruculara konularak çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma gününde dondurucudan çıkarılan gland dokuları 0,1 gram doku başına 900 μl 0,1 M KCL ile homojenize edildi. Ardından homojenat 13000 rpm hızında 30 dakika santifüj edilerek süpernatant alındı. Biyokimyasal incelemeler aşağıda belirtildiği şekilde yapıldı.

GPx Protokolü: GPx protokolü analizi Paglia ve arkadaşlarının tarif ettiği yönteme göre yapıldı (95).

Reaktifler:

1. Modifiye GPx fosfat tamponu (50 mM)

0.988 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 0.379 gr KH_2PO_4 + 0.062 gr EDTA disodyum tuzu ve NaN_3 bir miktar suda çözülerek hacmi 100 mL ye tamamlanıp, pH =7 ye ayarlandı.

2. Ko-substrat (GSH + NADPH + Glutasyon redüktaz)

Deneyden hemen önce 0.004 gr NADPH + 0.008 gr GSH(redükte) + 50 μL glutasyon redüktaz 5 mL distile suda çözülür. (5 mL de 5Ü enzim olmalı)

3. H_2O_2 (2 mM)

% 30 luk H_2O_2 den 30 μL alınıp, 5 mL distile suda çözüldü. Sonra bundan 30 μL alınıp 5 mL tamponda çözülüp renkli şişede saklanıp deneyden hemen önce hazırlandı.

Tablo 1. GPx protokolünde reaktiflerin hazırlanması

	Numune tüpü	Kör tüpü
Modifiye GPx tamponu	150 μL	150 μL
Numune	25μL	–
Distile Su	–	25μL
Ko-substrat	50	50 μL
5 dk. 37 °C de inkübe edildi.		
H_2O_2 (2mM)	25μL	25μL

Mikroplate ELİSA Reader de 340 nm de 8 okutma yapıp, maksimum slop değerleri alındı. Bu değer dakikadaki absorbans azalış değeridir.

$$\text{Hesaplama; GPx (İU/ L)} = (\Delta \text{ Abs/ dk}) \times 10 / 6,22 \cdot 10^{-3}$$

MDA Protokolü: MDA protokolü analizi Okhawa ve arkadaşlarının tarif ettiği yöntemeye göre yapıldı (96).

Reaktifler:

1. Sodyum Dodesil Sülfat(%8,1)

8,1 gr SDS alınarak bir miktar distile suda çözülp hacmi 100 mL ye tamamlandı.

2. % 20 Asetik Asit

100 mL %100 lük asetik asitten alınıp, 400 mL distile suya tamamlandı.

3. %0,9 TBA

4,5 gr Thiobarbuturik asit (TBA) alınıp 500 mL distile suda çözüldü.

4. n-Butanol/Piridin(15/1) V/V

5. Standart

1,1,3,3 tetraethoxypropane(Sigma Chemical Co, St. Lovis) kullanıldı. 50 µL alınıp 1000 mL ye tamamlandı.

Tablo 2. MDA(doku) protokolünde reaktiflerin hazırlanması

	Numune	Standart	Kör
SDS %8,1	200 µL	200 µL	200 µL
% 20 Asetik Asit	1500µL	1500µL	1500µL
%0,9 TBA	1500µL	1500µL	1500µL
Numune	100 µL	–	–
Standart	–	100 µL	–
Distile su	700 µL	700 µL	800 µL
Vortekslenir ve 60 dk. 95 °C de inkübe edildi.			
Su altında tüpler soğutuldu.			
Distile su	1000µL	1000 µL	1000 µL
n-Butanol/Piridin	5 mL	5 mL	5 mL

Pipetlemeler yapıldıktan sonra vortekslendi ve 4000 rpm de 10 dk. santrifüj edildi. Sonrasında numune ve standartlardan 200 µL alınıp ELİSA Mikroplate de vellere pipetlenip 532nm de end point okutuldu.

$$\text{Hesaplama: MDA(nmol/mL)} = \text{Abs}/0.156 \times (\text{DF}) = \text{Abs} \times 320$$

SOD Ölçümü: SOD ölçümü analizi Sun ve arkadaşlarının tarif ettiği yöntemle göre yapıldı (97).

Kullanılan Çözeltiler

1. Assay Reaktifi

- Xanthine (0,3 mM): 0,00913 gr Xanthin 200 mL distile suda çözüldü.
- EDTA (2 Na tuzu, 0,6 mM): 0.023 gr EDTA 100 mL distile suda çözüldü.

- c) NBT: 0,0123 gr Nitroblue tetrazolium mL distile suda çözüldü. Renkli şişede ışıktan korundu.
- d) Na₂CO₃ (0,4 M): 2,544 gr Na₂CO₃ 60 mL distile suda çözüldü.
- e) Bovin serum albumin. (1 gr/L): 0,030 gr bovin serum albumin 30 mL distile suda çözüldü.

Hazırlanan bu beş reaktif +4 °C saklanır. Deneyin çalışılacağı gün renkli bir şişede birleştirildi. Aksi takdirde Assay Reaktifi bozulacağı için hatalı absorbans verecektir.

2. Xanthin Oksidaz (167 U/L)

50 µL Xanthin oksidaz alındı. (Sigma X-1875) 600 µL 2 M (NH₄)₂SO₄ ile dilüe edildi. (Amonyum Sülfat soğuk ve taze olmalıdır.)

3. (NH₄)₂SO₄(2 M)

2,643 gr (NH₄)₂SO₄ alınıp 10 mL distile suda çözüldü.

SOD Assay Reaktifi:

- 20 ml Xanthin
- 10 mL EDTA
- 10 mL NBT
- 6 mL Na₂CO₃
- 3 Mbsa

Deneyden hemen önce koyu şişede birleştirildi.

Tablo 3. SOD ölçümünde reaktiflerin hazırlanması

	Numune tüpü	Kör tüpü
Distile Su	40 µL	50 µL
Numune	10 µL	-
Xanthin Oksidaz	10 µL	10 µL
Assay Reaktifi	200 µL	200 µL

Mikroplate nazikçe karıştırıldı ve 25 °C’de 20 dk inkübe edildi. Enzimi 1 dk ara ile tüplere konuldu. 20 dk sonunda 1 dk arayla oluşan mor renkli kompleksin absorbansı havaya karşı 560 nm’de okutuldu.

Hesaplama:

1 U →% 50’lik NBT inhibisyonuna 1 U denir.

$$\% \text{ inhibisyon} = (A_{\text{kör}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kör}}$$

$$\text{SOD (U/mL)} = \% \text{ inhibisyon} / (50 \times 0.01)$$

3.6. Histopatolojik İnceleme

Yapılan nekropsi sonucu histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan tükürük bezlerine ait doku örnekleri % 10’luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Rutin doku takip işlemleri sonucu parafin bloklara gömüldü. Her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi (Leica DM 1000, Germany). Kesitler lezyon varlığına göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

3.7. İstatiksel Analiz

İstatistik analizleri için SPSS 13,0 paket programı kullanıldı. Histopatolojik incelemede semikantitatif olarak elde edilen verilerin gruplar arasındaki farklılıkların

analizi için nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis testi, ikili grupların mukayesesi için Mann Whitney U testi kullanıldı. Biyokimyasal verilerin analizinde de One-Way ANOVA testi ve post-Hoc Tukey testi kullanıldı. Tüm analizler için $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Histopatolojik bulgular

Grup 1: Bu grupta bulunan ratların tükürük bezleri incelendiğinde normal histolojik yapıda olduğu görüldü (Şekil 4).

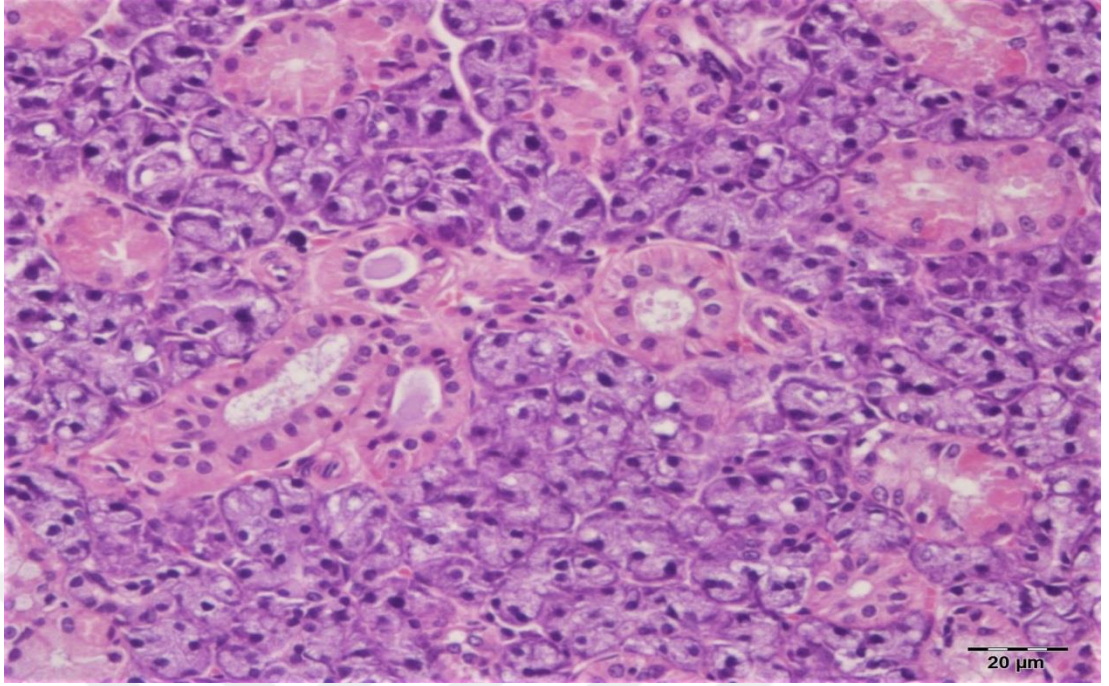
Grup 2 (Radyoterapi grubu): Bu grupta bulunan ratların tükürük bezleri incelendiğinde, mukoz bez epitellerinde dejenerasyon ve nekroz, müköz bezlerde atrofi görüldü. İntersitsiyel dokuda hafif mononükleer hücre infiltrasyonu ve intersitsiyel damarlarda hiperemi belirlendi (Şekil 5).

Grup 3 (Berberin grubu): Ratların tükürük bezleri incelendiğinde normal histolojik yapıda olduğu görüldü (Şekil 6).

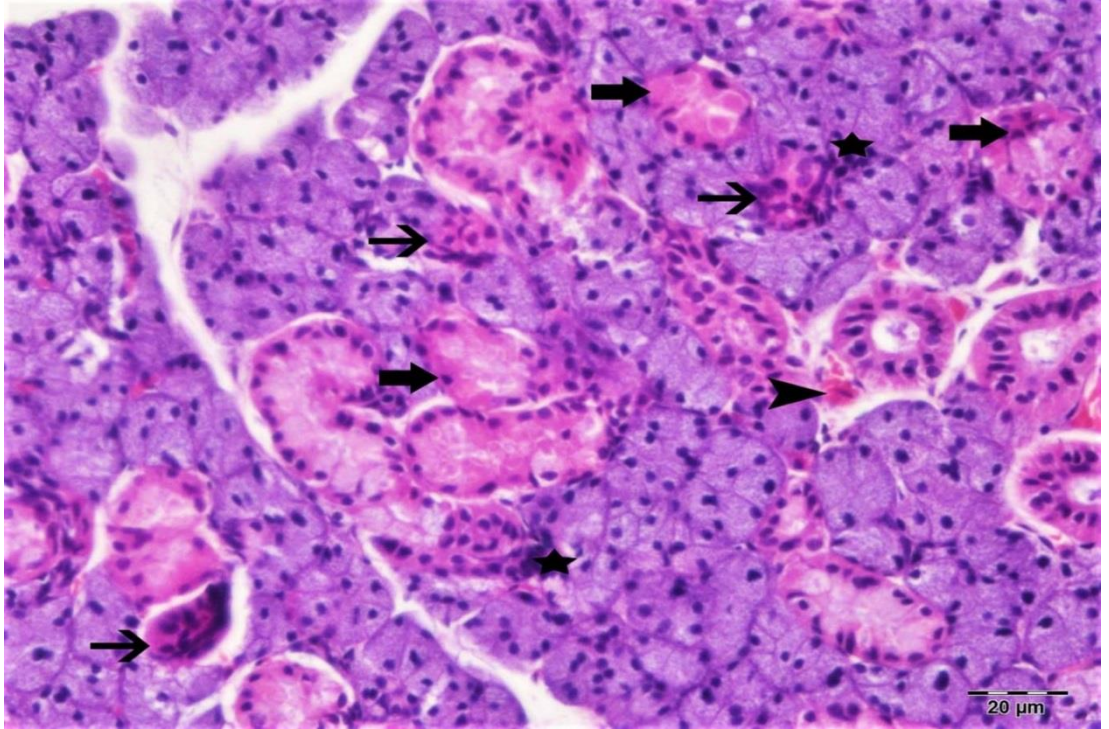
Grup 4 (Radyoterapi+Berberin grubu): Bu grupta bulunan ratların tükürük bezleri incelendiğinde, özellikle müköz bez epitellerinde hafif hidropik dejenerasyon ve intersitsiyel dokularda çok hafif mononükleer hücre infiltrasyonu ve damarlarda hiperemi görüldü (Şekil 7). Radyasyon grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) düzeyde tükürük bezi hasarının engellendiği belirlendi. Histopatolojik bulgular Tablo 4 de özetlendi.

Tablo 4. Tükürük bezi histopatolojik değerlendirmesi

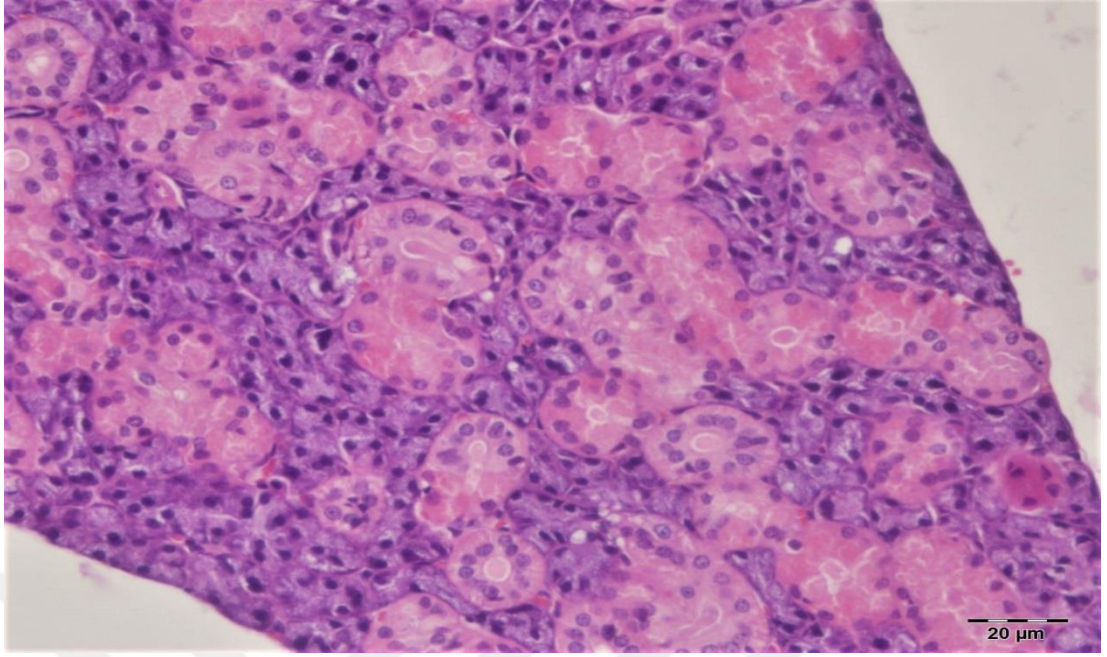
	Kontrol grubu	Berberin grubu	Radyasyon grubu	Radyasyon+Berberin grubu
Müköz bez epitellerinde dejenerasyon	-	-	+++	++
Müköz bez epitellerinde nekroz	-	-	+++	+
Müköz bez epitellerinde atrofi	-	-	++	-
İntersitsiyel dokularda mononükleer hücre inf	-	-	++	+
İntersitsiyel dmarlarda hiperemi	-	-	+++	++



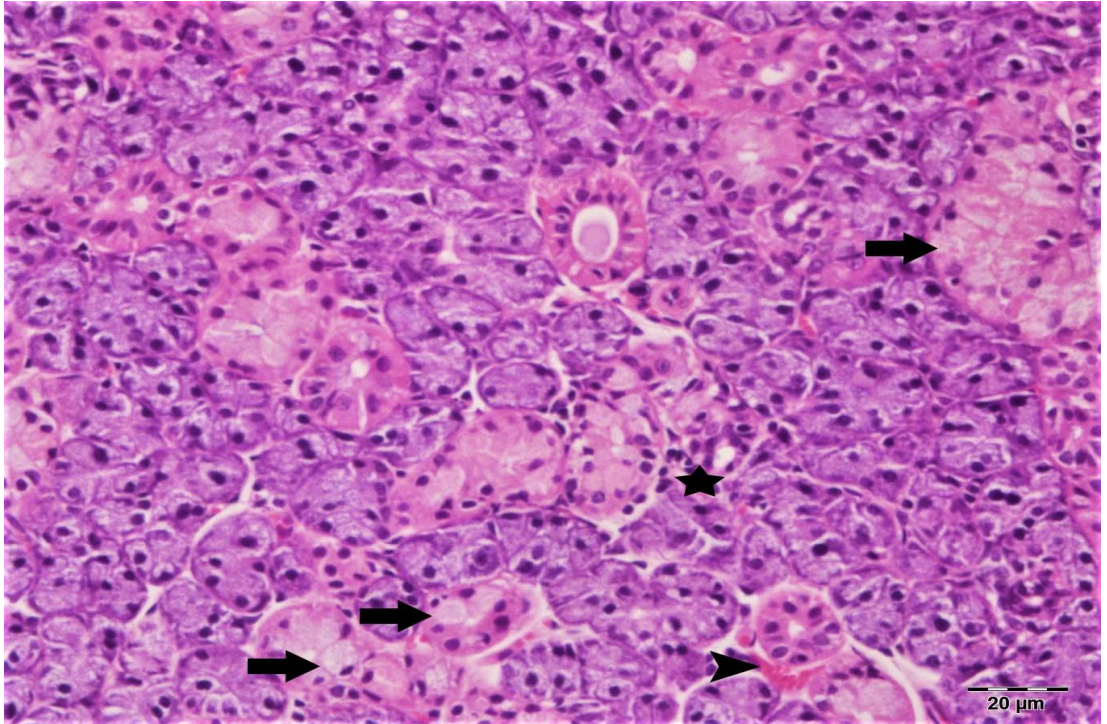
Şekil 4. Kontrol grubu: Tükürük bezi, normal histolojik görünümü, H&E, Bar:20µm.



Şekil 5. Radyoterapi grubu: Tükürük bezi, müköz bezlerde dejenerasyon, nekroz (Kalın oklar), atrofi (ince oklar), intersitisyel dokuda mononükleer hücre infiltrasyonu (Yıldızlar) ve damarlarda hiperemi (Ok başı), H&E, Bar:20µm.



Şekil 6. Berberin grubu: Tükürük bezi, normal histolojik görünümü, H&E, Bar:20μm.



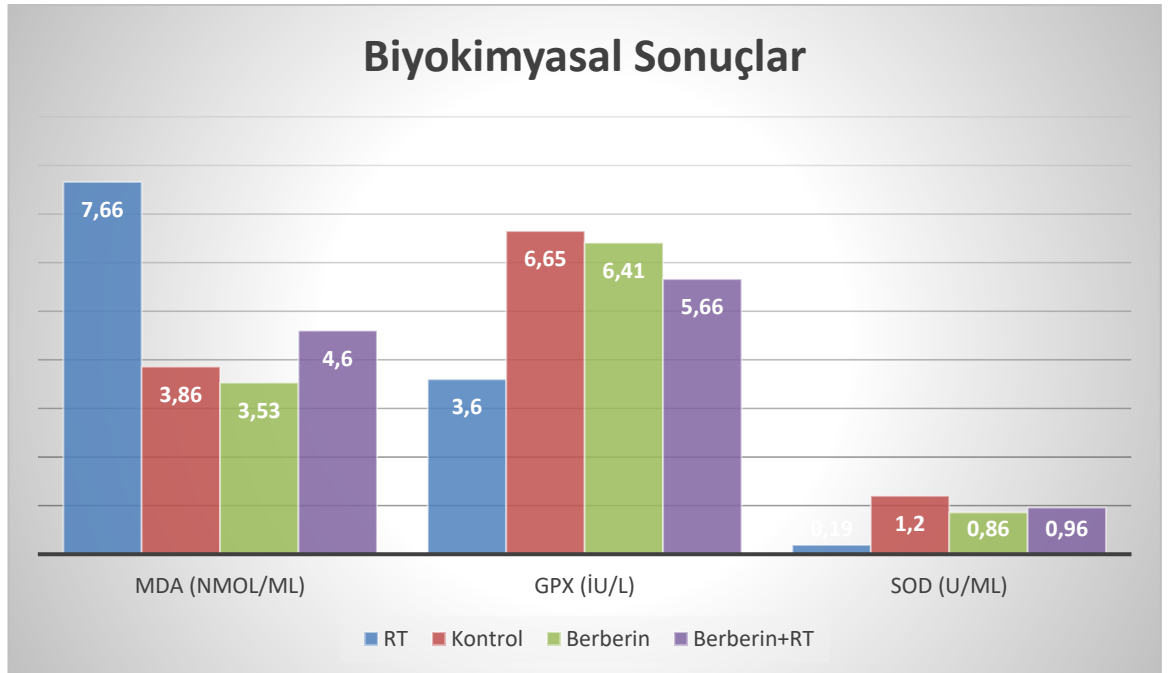
Şekil 7. Radyoterapi+Berberine grubu: Tükürük bezi, müköz bezlerde dejenerasyon (oklar), interstisyel dokuda çok az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonu (yıldız) ve damarlarda hiperemi (ok başı), H&E, Bar:20μm.

Biyokimyasal Bulgular:

Rat submandibular glandlarından yapılan biyokimyasal analiz sonucunda, radyoterapi alan ratların submandibular glandlarında kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek MDA seviyeleri tespit edildi. Aynı zamanda gland dokularında SOD ve GPx aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma izlendi. Bu durum radyoterapinin etkisi ile gland dokusunda oksidatif dengenin bozulduğunu, oksidatif stres ortaya çıktığını göstermektedir.

Radyoterapi öncesinde berberin ile tedavi edilen ratlarda ise gland dokusunda MDA seviyeleri, SOD ve GPx aktiviteleri ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık izlenmedi. Aynı zamanda radyoterapi alan ratlar ile radyoterapi öncesi berberin alan ratlar arasında da MDA seviyeleri, SOD ve GPx aktiviteleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. Bu durum radyoterapi öncesi berberin verilmesinin, radyoterapiye bağlı oluşan oksidatif stresi engellediğini, oksidatif dengeyi koruduğunu göstermektedir. Tüm ratların biyokimyasal analiz sonuçları Tablo 5’te gösterilmiştir.

Tablo 5. Tüm ratların biyokimyasal analiz sonuçları



5. TARTIŞMA

Baş boyun kanserli hastaların major küratif tedavisinde radyoterapi önemli bir rol oynamaktadır. İyonize radyasyon, biyolojik dokularda hızlı kimyasal değişikliklere sebep olan iyon üretebilme kapasitesine sahip partikül veya elektromanyetik dalgalardır. Bu değişiklikler günler veya haftalar içerisinde hücre hasarı ya da organizmanın ölümüne sebep olabilen birtakım metabolik değişikliklere sebep olur. İyonize radyasyon hasarı hem hedef hücre moleküllerine direk etkileşim yoluyla hem de başlıca su molekülü tarafından üretilen kimyasal ve farmakolojik aktif elementlerin oluşumu yoluyla indirek olarak hasara sebep olabilmektedir (98).

Doku tarafından absorbe olan radyasyon, atomların elektronları ile neredeyse tama yakın etkileşime geçer. Bu süreç pozitif iyonlar oluştururken bu moleküller yörüngelerinin birincisinde çiftleşmemiş bir elektron içerirler. Bu durum da serbest radikal oluşumu ile sonuçlanır. Dokuda su baskınlığından dolayı, iyonlaşma olaylarının çoğu suda meydana gelir. Suyun radyolizisi sonucunda hidrojen peroksit, moleküler hidrojen ve çok sayıda hidrojen radikali, hidroksil radikali, hidroperoksil radikali ve süperoksit gibi birçok yüksek derecede aktif radikal molekül meydana gelir (98). Oluşan bu serbest radikaller de iyonize radyasyon hücreleri öldürürken temel etki mekanizması olan DNA hasarlanmasından sorumludur. Aynı zamanda iyonize radyasyonun direk etkisi de DNA da kırılmalara ve kopmalara sebep olabilmektedir. Doğrudan radyasyon etkisi, fırlatılan elektron ve yüklü parçacıkları yoluyla olurken, dolaylı etki de iyonizasyon yapan ışının serbest radikal üretimine sebep olması ile meydana gelir (99).

Hücreler iyonize radyasyona bölünme fazında iken daha duyarlıdırlar. Dolayısıyla, hızlı bölünme kapasitesine sahip hücreleri içeren dokular daha yavaş bölünen hücre içeren dokulara göre radyasyondan daha fazla etkilenirler. Hiç bölünmeyen dokular ise radyasyondan etkilenmezler.

Tükürük bezleri de hızlı bölünme kapasitesine sahip hücrelerden oluştuğu için iyonize radyasyona karşı oldukça duyarlıdırlar. Bu nedenle baş boyun kanserlerinin radyoterapisi esnasında tükürük bezleri risk altındadır. Radyasyona

maruz kalan tükürük bezlerinde gland fonsiyonlarında geri dönüşümsüz bir takım problemler oluşmaktadır. Radyoterapinin bir etkisi olarak gland boyutlarında %30'a varan azalmalar olabileceği gösterilmiştir (100). Ayrıca glandda sitoplazmik vakualizasyon, hipovaskularizasyon, ödem, fibroz doku oluşumu ve nihayetinde hücre ölümünü içeren bir takım mikroskopik değişiklikler de ortaya çıkmaktadır (101). Tükürük bezi hasarına bağlı oluşan komplikasyonlar kalıcı olup, hastaların hayat kalitesini önemli oranda düşürmektedirler.

Tükürük ilk olarak izotonik primer bir sekresyon olarak asini hücreleri tarafından üretilir. Bu sekresyon daha sonra duktal sistemden geçerken içerisindeki sodyum ve klor uzaklaştırılarak hipotonik hale getirilir. Bu nedenle radyasyon hasarında etkilenen ana hücrelerin asiner hücreler olduğu düşünülmektedir. Radyasyon ayrıca tükürük bezi stromasında, vasküler yapılarda ve nöronal yapılarda da hasara neden olmaktadır. Nöronal komponentte olan hasara bağlı olarak tükürük bezleri uygun bir şekilde uyarılamadığı için hücre döngüsü yavaşlar ve doku kendini yenileyemez (101,102). Tüm bu etkilere rağmen, radyasyona bağlı primer hasarın sekretuar asiner ve duktal hücrelerde radyasyonun direk etkisine bağlı olarak ortaya çıktığı ifade edilmektedir. Fakat bu konu literatürde halen tam olarak ortaya konulamamıştır.

Radyasyona bağlı tükürük bezi disfonksiyonunda azalmış tükürük sekresyonu, disfaji, ağız kuruluğu, artmış mukozal enfeksiyon gibi klinik bulgular ortaya çıkmaktadır. Radyoterapi alan hastaların % 95-100 kadarında tükürük bezlerinde hasar meydana gelmektedir. Bunun sonucu olarak da ağız kuruluğu oluşur. Ağız kuruluğu, azalmış tükürük sekresyonuna bağlı olarak ortaya çıkan subjektif bir duygudur (103, 104). Baş boyun kanseri nedeniyle radyoterapi alan hastalarda görülen en yaygın komplikasyonlardan biridir. Radyoterapi alanına giren tükürük bezlerinde oluşan onarılamaz hasar ağız kuruluğunun başlıca sebebidir. Ağız kuruluğu sadece hayat kalitesini bozmakla kalmayıp, ilerleyen dönemde oral hastalıklara da sebep olabilmektedir. Kserostomi tedavisi son derece güç bir durum olduğu için, önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu yan etkileri ortadan kaldırmak ve tükürük bezlerini radyasyonun etkisinden korumak amacıyla literatürde birçok radyoprotektif ajan ile çalışmalar yapılmıştır.

Abedi ve arkadaşları (105) ratlarda radyasyona bağı tükürük bezi hasarına karşı thymolün koruyucu etkisini araştırmışlardır. 15 Gy tek doz radyasyon alan ratların tükürük bezi fonksiyonları sintigrafik olarak değerlendirilmiş ve radyasyondan önce verilen thymolün tükürük bezi fonksiyonlarını anlamlı derecede koruduğunu tespit etmişlerdir. Thymolün radyasyona bağı tükürük bezinde oluşan geç ve erken yan etkilere karşı koruyucu olduğunu bildirmişlerdir.

Abedi ve arkadaşları (106) bir başka çalışmalarında radyasyona bağı tükürük bezi hasarından korunmada vitamin E'nin etkisi araştırmışlar ve 15 Gy tek doz radyasyonla oluşturulan tükürük bezi hasarına karşı radyasyon öncesinde uygulanan E vitamininin tükürük bezi fonksiyonlarını koruduğunu tespit etmişlerdir.

Liping Xu ve arkadaşları farelerde radyasyona bağı oluşan tükürük bezi hasarını önlemede resveratrolün koruyucu etkisini incelemişlerdir. Çalışmaları sonucunda radyasyonun tükürük bezinde hipofonksiyona sebep olduğunu, tükürük sekresyonunu azalttığını, MDA seviyelerini arttırdığını ve SOD seviyelerini düşürdüğünü, histopatolojik olarak asiner hücrelerde vakuolizasyon ve yoğunlaşmış çekirdek yapısına neden olduğunu göstermişlerdir. Radyasyondan 3 gün önce verilen resveratrolün tüm bu değişiklikleri engellediğini ve radyasyonun olası yan etkilerine karşı tükürük bezini koruduğunu tespit etmişlerdir (107).

Biz de çalışmamız sonucunda histopatolojik incelemede radyasyon alan ratların submandibuler glandlarında müköz bezlerde dejenerasyon, nekroz, atrofi, intersitisyel dokuda mononükleer hücre infiltrasyonu ve damarlarda hiperemi tespit ettik. Ayrıca biyokimyasal incelemede RT alan ratların gland dokusunda MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış, SOD ve GPx aktivitelerinde ise anlamlı derecede azalma tespit ettik. RT ile birlikte berberin alan ratlarda ise histopatolojik olarak müköz bez epitellerinde hafif hidropik dejenerasyon ve intersitisyel dokularda çok hafif mononükleer hücre infiltrasyonu olduğunu gördük. Bu tablo sadece RT alan ratlarla kıyaslandığında berberinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde tükürük bezi hasarını engellediğini tespit ettik. Ayrıca biyokimyasal olarak da RT ile birlikte berberin alan ratların gland dokularında MDA

seviyeleri, SOD ve GPx aktivitelerinin kontrol grubu ile benzer özellikte olduğunu tespit ettik.

Su ve arkadaşları tavşanlarda radyasyonun tükürük bezlerine etkisine karşı lidokainin tükürük bezlerini koruyucu etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir (108).

Lee ve arkadaşları ratlarda radyasyona bağlı submandibuler gland hasarını önlemede heat shock protein 25 ve 70i'nin etkisini incelemiştir. Çalışmaları sonucunda HSP25 ve HSP70i'nin tükürüğün onarımı ve hücre ölümünü inhibe ederek glandı radyasyonun etkisinden koruduğunu göstermişlerdir. Ayrıca HSP25'in HSP70i'den daha etkili olduğunu bildirmişlerdir (60).

Karaer ve arkadaşları ratlarda radyasyonun tükürük bezleri üzerine olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında, radyasyon alan ratlarda MDA seviyelerinin arttığını, glutatyon ve katalaz aktivitelerinin azaldığını, histopatolojik olarak da asiner hücrelerde şişlik ve perinükleer vakuolizasyon izlendiğini bildirmişlerdir. Koruyucu ajan olarak kullandıkları melatoninin histopatolojik ve biyokimyasal parametreleri anlamlı derecede koruduğunu ve radyoterapinin etkisini önlediğini göstermişlerdir (109).

Amifostin; radyoterapi ve kemoterapinin yan etkilerine karşı kullanılan başka bir sitoprotektif ajandır. Amifostin bir sitoprotektif olarak uzun zamandır bilinmektedir ve baş-boyun kanserli hastaların primer cerrahi sonrası adjuvan radyoterapileri sırasında tükürük bezlerinin korunması ve ağız kuruluğu tedavisi için onay almıştır. Fakat normal dokuları koruması yanında tümörü de radyoterapiden koruyabileceği halen bir tartışma konusudur (56). Baş boyun kanseri olup radyoterapi alan hastalarda denenip ağır bulantı ve kusma gibi yan etkileri nedeniyle çoğu hasta ilacı tolere edememiştir (57, 58).

Sagovski ve arkadaşları da amifostinin radyoprotektif etkisini incelemiş ve amifostinin radyasyonun tükürük bezleri üzerine geç toksik etkilerine karşı önemli bir sitoprotektik ajan olduğunu fakat akut toksisiteye karşı etkili olmadığını bildirmişlerdir (110).

Büyüme faktörleri DNA onarım mekanizmalarını aktive ederek hücre ölümünü engellemektedir. İnsülin benzeri büyüme faktörünün rat parotis bezi hücre kültüründe asiner hücreleri aktive ettiği gözlenmiştir (61). Ayrıca Kojima ve arkadaşları da, farelerde yaptıkları çalışmada, fibroblast büyüme faktörünün radyasyon ile indüklenmiş tükürük bezi disfonksiyonuna karşı koruyucu etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (111).

Xu ve arkadaşları radyasyona bağlı gelişen tükürük bezi hasarının önlenmesinde simvastatinin etkisini inceledikleri çalışmaları sonucunda, simvastatinin tükürük bezinde oluşan yan etkileri yatıştırdığını ve klinik olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (112).

Akyüz ve arkadaşları da radyasyonun ratlarda tükürük bezinde oluşturduğu hasar üzerine timokininin etkisini araştırdıkları çalışmalarında, timokininin oksidatif ve nitrosatif stres parametrelerini azaltarak antioksidan ve serbest radikal süpürücü aktivitesi ile tükürük bezini hasardan koruduğunu göstermişlerdir (113).

Nejaim ve arkadaşları radyasyona bağlı tükürük bezi hasarı üzerine aloe veranın etkisini incelemiş ve aloe veranın koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir (114).

Literatürde bunlara benzer birçok madde ile ilgili değişik çalışmalar mevcuttur. Ancak, antioksidan, antiinflamatuvar ve antitümör ajan olarak bilinen berberinin bu konu ile ilgili literatürde çalışıldığı bir araştırma bulunmamaktadır. Biz de bu nedenle berberinin radyasyona bağlı tükürük bezi hasarına karşı koruyucu etkinliğini araştırmayı amaçladık.

Berberin, Berberis olarak da adlandırılan bir grup bitkiyi de içeren farklı bitkilerden elde edilebilen biyoaktif bir moleküldür. Teknik olarak alkalanoitler olarak adlandırılan bir grup içerisindedir. Sarı renginden dolayı boya olarak da kullanılan berberin çeşitli hastalıkların tedavisi için geleneksel Çin tıbbında uzun süredir kullanılmaktadır. Günümüzde de modern bilimde farklı birçok sağlık

probleminin çözümü için berberinin etkileyici faydalarından yararlanılmaktadır (115).

Berberin ile ilgili yapılan çalışmalarda, berberinin diffüz aksonal hasarda hafıza ve öğrenme bozukluğuna karşı nöroprotektif bir özellik sergilediği gösterilmiştir. Bu özelliğini enflamasyonu, anjiogenezisi ve apoptozisi baskılayarak gösterdiği bildirilmiştir (116). Ayrıca; bir başka çalışmada berberinin yavru rat beyinde gelişen hipoksik iskemik hasara karşı doza bağımlı olarak koruyucu olduğu ve bu nedenle bir antistroke ajan olarak da kullanılabileceği bildirilmiştir (117).

Berberinin bu etkilerini araştıran çalışmaların yanı sıra, radyoprotektif özelliğini araştıran az sayıda çalışma da mevcuttur. Nitekim Guang ve ark farelerde radyasyon ile indüklenen intestinal sistem hasarına karşı berberinin etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında; berberinin mortaliteyi geciktirdiğini ve intestinal hasarı yatıştırdığını göstermişlerdir. Guang çalışmasında berberinin bu radyoprotektif etkisinin mekanizmasının henüz tam olarak bilinmediğini de vurgulamıştır. Bu çalışmalarında berberin 20 mg/kg dozunda intragastrik lavaj yoluyla RT'den 12, 4 ve 1 saat önce uygulanmıştır (77). Bizde yaptığımız çalışmada berberinini bu doz ve verilmiş şekliyle 7 gün boyunca tatbik ettik.

Liu ve arkadaşları da akciğer kanseri nedeniyle radyoterapi alan hastalarda berberinin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmalarında, berberinin transforming growth faktor-beta-1 ve soluble interselluler adezyon molekülü-1 (sCAM-1) seviyelerini azaltarak ve pulmoner fonksiyonları düzelterek radyasyonun sebep olduğu akciğer hasarını önemli derecede azalttığını bildirmişlerdir (76). Hastalara 20 mg/kg dozunda berberin günde bir kez olacak şekilde RT süresi olan 6 hafta boyunca vermişlerdir.

Çalışmamızda literatürde ilk defa berberinin radyasyon ile indüklenen tükürük bezi hasarına karşı koruyucu etkisini histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırdık. Sonuç olarak radyasyondan önce kullanılan berberinin tükürük bezlerinde oluşan oksidatif stresi engellediğini ve tükürük bezlerini histopatolojik olarak

radyasyon alan gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede koruduğunu tespit ettik.



KAYNAKLAR

1. Daly JM, Bertagnoli M, De Cosse JJ, Morton DL. Oncology. In: Principles of Surgery, Vol. 1. Schwartz SI ed. McGraw-Hill, New York, 1999; p335–347.
2. Seiwert TY, Salama JK, Vokes EE. The chemoradiation paradigm in head and neck cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2007; 4:156-171.
3. Cox JD, Ang KK. Rational, Technique, Results, Part 3 Head and Neck. Radiation Oncology. 8th Ed. Mosby 2003 p145-310.
4. Henson BS, Eisbruch A, D'Hondt E, Ship JA. Two-year longitudinal study of parotid salivary flow rates in head and neck cancer patients receiving unilateral neck parotid-sparing radiotherapy treatment. *Oral Oncol* 1999; 35:234-241.
5. Eisbruch A, Kim HM, Terrell JE, et al. Xerostomia and its predictors following parotid-sparing irradiation of head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 50:695-704.
6. Grundmann O, Mitchell GC, Limesand KH. Sensitivity of salivary glands to radiation: from animal models to therapies. *Journal of dental research*. 2009;88(10):894-903.
7. Coleman JJ, 3rd. Management of radiation-induced soft-tissue injury to the head and neck. *Clinics in plastic surgery*. 1993;20(3):491-505.
8. Humphries MJ, Limesand KH, Schneider JC, et al. Suppression of apoptosis in the PKC delta null mouse in vivo. *J Biol Chem* 2006; 281:9728-9737.
9. Bhartiya US, Raut YS, Joseph LJ, et al. Evaluation of the radioprotective effect of turmeric extract and vitamin E in mice exposed to therapeutic dose of radioiodine. *Indian J Clin Biochem* 2008;23:382-6.
10. Weiss JF, Landauer MR. Protection against ionizing radiation by antioxidant nutrients and phytochemicals. *Toxicology* 2003;189:1-20.
11. Kukulka-Koch, W., Aligiannis, N., Halabalaki, et al. Influence of extraction procedures on phenolic content and antioxidant activity of Cretan barberry herb. *Food Chem*. 2013; 138, 406–13.
12. Ruiz, A., Hermosín-Gutiérrez, I., Mardones, C., et al. Polyphenols and Antioxidant Activity of Calafate (*Berberis microphylla*) Fruits and Other Native Berries from Southern Chile. *J. Agric. Food Chem*. 2010; 58 (10).

13. Qadir, S.A., Kwon, M.C., Han, J.G, et al. Effect of different extraction protocols on anticancer and antioxidant activities of *Berberis koreana* bark extracts. *J. Biosci. Bioeng.* 2009; 107, 331–8.
14. Singh J, Kakkar P. Antihyperglycemic and antioxidant effect of *Berberis aristata* root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2009; 123, 22–6.
15. Zovko Končić M, Kremer D, Karlović K, Kosalec I. Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. *Food Chem. Toxicol.* 2010; 48, 2176–80
16. Yamamoto K, Takase H, Abe K, et al. Pharmacological studies on antidiarrheal effects of a preparation containing berberine and *geranii herba*. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* 1993; 101(3):169-75.
17. Huang WM, Wu ZD and Gan YQ: Effects of berberine on ischemic ventricular arrhythmia. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi* 1989; 17: 300-301.
18. Takase H, Yamamoto K, Ito K and Yumioka E: Pharmacological studies on antidiarrheal effects of berberine and *geranii herba*. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* 1993;102: 101-112.
19. Sanders MM, Liu AA, Li TK, et al: Selective cytotoxicity of topoisoemerase-directed protoberberines against glioblastoma cells. *Biochem Pharmacol.* 1998; 56: 1157-1166.
20. Lin CC, Yang JS, Chen JT, et al: Berberine induces apoptosis in human HSC-3 oral cancer cells via simultaneous activation of the death receptor-mediated and mitochondrial pathway. *Anticancer Res.* 2007;27: 3371-3378.
21. Hwang JM, Kuo HC, Tseng TH, et al. Berberine induces apoptosis through a mitochondria/caspases pathway in human hepatoma cells. *Arch Toxicol.* 2006;80: 62-73.
22. Lin JP, Yang JS, Lee JH, et al. Berberine induces cell cycle arrest and apoptosis in human gastric carcinoma SNU-5 cell line. *World J Gastroenterol.* 2006;12: 21-28.
23. Mantena SK, Sharma SD and Katiyar SK. Berberine, a natural product, induces G1-phase cell cycle arrest and caspase-3-dependent apoptosis in human prostate carcinoma cells. *Mol Cancer Ther.* 2006;5: 296-308.

24. Liu Z, Liu Q, Xu B, et al: Berberine induces p53-dependent cell cycle arrest and apoptosis of human osteosarcoma cells by inflicting DNA damage. *Mutat Res.* 2009;662: 75-83.
25. Mira JG, William BW, Starcke EN, et al. Some Factors Influencing Salivary Function Whwn Treating With Radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1981; 7: 535-541.
26. Burlage FR, Coppes RP, Meertens H, et al. Parotid an submandibularsublingual salivary flow during high dose radiotherapy. *Radiother Oncol* 2001; 61(3):271-274.
27. Nanci, A., *Salivary Glands Ten Cate's Oral Histology, Development, Structure, and Function, Chapter 11, 6th. Ed., Mosby, Missouri, USA, 2003. p299- 328.*
28. Kaya, S. *Tükürük Bezi Hastalıkları. Günes Tıp Kitabevi Ankara 1997.*
29. Montgomery WW. *Surgery of the Upper Respiratory System. Lea-Febiger, Philadelphia 1989; 225-330.*
30. Cummings, C.W. M.D., *Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, Çeviri editörü: Prof.Dr. KOÇ C., 2. Cilt., 4. Baskı, Beşinci Kısım, Tükürük Bezleri, Güneş Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2007; p1293-1403.*
31. Mandel ID. The functions of saliva. *J Dent Res.* 1987; 66: 623.
32. Thylstrup A, Fcjerskov O. Saliva formation, composition and possible role. *Textbook of Cariology. 1st Ed . Munksgaard 1986.*
33. Myers EN and Ferris RL, *Salivary gland disorders. pp. 2-16, Springer Science & Business Media, USA. 2007; p2-16.*
34. Perez CA, Brady LW, Roti Roti JL. Et al. *Principles and Practice of Radiation Oncology. 3rd ed. Lippincott-Raven. 1998; p1-78.*
35. Topuz E, Aydiner A, Karadeniz AN. Karadeniz AN. *Radyoterapinin Temel İlkeleri. Klinik Onkoloji. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları, Tunç Matbaası. 2000; p16-33.*
36. Özalpan, A., *Temel Radyobioloji, 1. Basım, Haliç Üniversitesi Yayınları, İstanbul. 2001; p1-218.*

37. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg AS. Principles of cancer management radiation therapy. Cancer: Principles and Practice of Oncology 6ed Lippincott Williams and Wilkins. 2001; 265-288.
38. Leibel SA, Phillips TL, Verhey LJ. Principles of radiation physics. Textbook of Radiation Oncology. WB. Saunders Company. 1998; 91-114.
39. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı, Konya: Mimoza Yayınları. 1995. p1-84.
40. Perez CA, Brady LW, Withers HR, McBride WH. Biologic basis of radiation therapy. Principles and Practice of Radiation Oncology. LippincottRaven. 1998; 79-118.
41. Rothwell, B.R. Prevention and treatment of the orofacial complications of radiotherapy, The Journal of the American Dental Association. 1987;114, 316-322.
42. Mendenhall WM, Parsons JT, Mancuso AA, et al. Principles and Practice of Radiation Oncology. Philadelphia, Lippincott-Raven. 1998; 1069-1093.
43. Fox P.C, DDS, FDS, RCS. Xerostomia: Recognition and Management Access Special Supplementary Issue. 2008; 28.
44. Glass JB, Langlais RP, Xerostomia: Diagnosis and Treatment Planning Consideration. Oral Surg Oral Med. Oral Pathol. 1984;58, p248-252.
45. Büyükköprü D, Dural S. Baş ve boyun radyoterapisinin tükürük akış hızı ve Ph'sına olan etkisinin incelenmesi Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi. 2008; s:71-78.
46. Engelmeier RL, King GE. Complications of head and neck radiation therapy and their management. Maxillofacial Proshetics and Dental İmplants. 1983; 49(4): 51422.
47. Büntzel J, Küttner K, Fröhlich D et al. Selective cytoprotection with amifostine in concurrent radiochemotherapy for head and neck cancer. Annals of Oncology. 1998; 9(5): 505-509.
48. Douglas EP. Research advances in oral mucositis. Current Opinion in Oncology. 1999; 11: 261-266.

49. Yavuz NM, Yavuz AA. Kanser tedavisinde görülen oral komplikasyonlar: mukozit, oral infeksiyon, ağız kuruluğu ve tat alma bozukluğu. *Hematoloji-Onkoloji*. 2001; 3(3): 197-203.
50. Berger AM, Kilroy JT. Oral Complications. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg AS. (ed) *Cancer: Principles and Practice of Oncology* 6. ed. Lippincott Williams and Wilkins. 2001; 2881-2993.
51. Al-Tikriti U, Martin MV, Bramley PA. A pilot study of the clinical effects of irradiation on oral tissues. *British J. Oral Maxillofacial. Surgery*. 1984; 22: 77-86.
52. Spijkervet FK, Saene HKF, Saene JJM et al. Mucositis prevention by selective elimination of oral flora in irradiated head and neck cancer patients, *J. Oral Pathol. Med*. 1990; 19: 486-490.
53. Spijkervet FK, Saene HKF, Saene JJM et al. Scoring irradiation mucositis in head and neck cancer patients. *J. Oral Pathol. Med*. 1989; 18: 167-171.
54. Baker DG. Radiobiological basis for tissue reactions in oral cavity following therapeutic X- ray. *Arch. Otolaryngol*. 1982; 108; 21-24.
55. Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, et al. Prevention and treatment of salivary gland hypofunction related to head and neck radiation therapy and chemotherapy. *Supportive cancer therapy*. 2004; 1(2): 111-118.
56. Brizel DM, Overgaard J. Does amifostine have a role in chemoradiation treatment? *Lancet Oncol*. 2003; 4: 378-381.
57. Brizel DM, Wasserman TH, Henke M, et al. Phase III randomized trial of amifostine as a radioprotector in head and neck cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2000; 3339-3345.
58. Dirix P, Nuyts S, and Van den Bogaert W. Radiation-induced xerostomia in patients with head and neck cancer. *Cancer* 2006; 107(11): 2525-2534.
59. Clement JJ, Johnson RK. Influence of WR 2721 on the efficacy of radiotherapy and chemotherapy of murine tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1982; 8: 539-42.
60. Lee H-J, Lee Y-J, Kwon H-C, et al., Radioprotective effect of heat shock protein 25 on submandibular glands of rats. *The American journal of pathology*. 2006; 169(5): 1601-1611.

61. Grundmann O, Fillinger JL, Victory KR, et al. Restoration of radiation therapy-induced salivary gland dysfunction in mice by post therapy IGF-1 administration. *BMC Cancer* 2010;10:417.
62. Brizel DM, Murphy BA, Rosenthal DI, et al. Phase II study of palifermin and concurrent chemoradiation in head and neck squamous cell carcinoma. *Journal of Clinical Oncology* 2008; 26(15).
63. Thula TT, Schultz G, Tran-Son-Tay R, and Batich C, Effects of EGF and bFGF on irradiated parotid glands. *Annals of biomedical engineering* 2005; 33(5).
64. Al-Qahtani K, Hier MP, Sultanum K, and Black MJ, The role of submandibular salivary gland transfer in preventing xerostomia in the chemoradiotherapy patient. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2006; 101(6): 753-756.
65. Aydogan F, Aydın E, Tastan E, ve ark. Is there a relationship between serum levels of vitamin A, vitamin E, copper and zinc and otitis media with effusion in children? *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013;65:594-7.
66. Fallahi B, Beiki D, Abedi SM, et al. Does vitamin E protect salivary glands from I-131 radiation damage in patients with thyroid cancer? *Nucl Med Commun*. 2013;34:777-86.
67. Henson B, Inglehart M, Eisbruch A, and Ship J. Preserved salivary output and xerostomia-related quality of life in head and neck cancer patients receiving parotid-sparing radiotherapy. *Oral oncology* 2001; 37(1): 84-93.
68. Malouf JG, Aragon C, Henson BS, et al. Influence of parotid-sparing radiotherapy on xerostomia in head and neck cancer patients. *Cancer detection and prevention* 2003; 27(4): 305-310.
69. Vuddanda, P.R., Chakraborty, S., Singh, S. Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities. *Expert opinion on investigational drugs* 2010;19(10), 1297-1307.
70. Bhardwaj, D., Kaushik, N.. Phytochemical and pharmacological studies in genus *Berberis*. *Phytochem. Rev*. 2013;11, 523–542.
71. Potdar, D., Hirwani, R.R., Dhulap, S.. Phyto-chemical and pharmacological applications of *Berberis aristata*. *Fitoterapia*. 2012;83, 817–830.

72. Krey, A.K., Hahn, F.E., Berberine: complex with DNA Science 1969; 166, 755-757.
73. Wang, L., Wei, D., Han, X., et al. The combinational effect of vincristine and berberine on growth inhibition and apoptosis induction in hepatoma cells. J Cell Biochem 2014; 115 (4),721-30.
74. Yu M., Tong X., Qi B., et al. Berberine enhances chemosensitivity to irinotecan in colon cancer via inhibition of NF κ B. Mol Med Rep. 2014;9 (1), 249-54.
75. Peng PL, Kuo WH, Tseng HC and Chou FP: Synergistic tumorkilling effect of radiation and berberine combined treatment in lung cancer: the contribution of autophagic cell death. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008;70: 529-542.
76. Liu Y, Yu H, Zhang C, et al: Protective effects of berberine on radiation-induced lung injury via intercellular adhesion molecular-1 and transforming growth factor-beta-1 in patients with lung cancer. Eur J Cancer 2008;44: 2425-2432.
77. Li GH, Zhang YP, Tang JL, et al. Effects of berberine against radiation-induced intestinal injury in mice. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2010; 77: 1536-1544.
78. Vavreckova, C., Gawlik, I., Muller, K. Benzophenanthridine alkaloids of *Chelidonium majus*; 1. Inhibition of 5- and 12- lipoxigenase by a non-redox mechanism. Planta Med. 1996; 62, 397-401.
79. Kim, S.A., Kwon, Y., Kim, J.H., et al.. Induction of topoisomerase II-mediated DNA cleavage by a protoberberine alkaloid, berberrubine. Biochemistry 1998; 37.
80. Lin, C.-M., Chen, C.-S., Chen, C.-T., et al.. Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. Biochemical and Biophysical Research Communications 2002; 294(1), 167–72.
81. Liu, J., Zhang, X., Liu, A., et al.. Berberine induces apoptosis in p53-null leukemia cells by down-regulating XIAP at the post-transcriptional level. Cell Physiol. Biochem. 2013;32 (5), p1213-24.
82. Chang, W.S., Chang, Y.H., Lu, F.J., Chiang, H.C.,. Inhibitory effects of phenolics on xanthine oxidase. Anticancer Res. 1994;12 (2A), 501-6.

83. Liu, W., Liu, P., Tao, S., et al. Berberine inhibits aldose reductase and oxidative stress in rat mesangial cells cultured under high glucose. *Arch. Biochem. Biophys.* 2008; 475, 128–34.
84. Meeran, S.M., Katiyar, S., Katiyar, S.K. Berberine-induced apoptosis in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species generation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2008; 229, 33–43.
85. Oberoi-Khanuja, T. K., Murali, a, & Rajalingam, K. IAPs on the move: role of inhibitors of apoptosis proteins in cell migration. *Cell Death & Disease* 2013; 4(9).
86. Hsu WH, Hsieh YS, Kuo HC, et al. Berberine induces apoptosis in SW620 human colonic carcinoma cells through generation of reactive oxygen species and activation of JNK/p38 MAPK and FasL. *Arch. Toxicol.* 2007;81, 719–28.
87. Piyanuch, R., Sukhthankar, M., Wandee, G., Baek, S.J. Berberine, a natural isoquinoline alkaloid, induces NAG-1 and ATF3 expression in human colorectal cancer cells. *Cancer Lett.* 2007;258, 230–40.
88. James MA, Fu H, Liu Y, et al. M. Dietary administration of berberine or *Phellodendron amurense* extract inhibits cell cycle progression and lung tumorigenesis. *Mol. Carcinog.* 2011;50, 1–7.
89. Ho Y., Lu C, Yang J, et al. Berberine Induced Apoptosis via Promoting the Expression Factor and Endonuclease G in SCC-4 Human Tongue Squamous Carcinoma Cancer Cells 2009; 4070, 4063–4070.
90. Lin, JP, Yang, JS, Lee, JH, et al. Berberine induces cell cycle arrest and apoptosis in human gastric carcinoma SNU-5 cell line. *World J. Gastroenterol.* 2006; 12, 21-28.
91. Mantena SK, Sharma SD, Katiyar SK. Berberine inhibits growth, induces G1 arrest and apoptosis in human epidermoid carcinoma A431 cells by regulating Cdk1-Cdk-cyclin cascade, disruption of mitochondrial membrane potential and cleavage of caspase 3 and PARP. *Carcinogenesis* 2006; 27, 2018–27.
92. Choi MS, Oh JH, Kim SM, et al.. Berberine inhibits p53-dependent cell growth through induction of apoptosis of prostate cancer cells. *Int J Oncol.* 2009; 1221–1230.

93. Choi MS, Yuk DY, Oh JH, et al. Berberine inhibits human neuroblastoma cell growth through Induction of p53-dependent Apoptosis 2008; 3784, 3777–3784.
94. Lv X, Yu X, Wang Y, et al. Berberine inhibits doxorubicin-triggered cardiomyocyte apoptosis via attenuating mitochondrial dysfunction and increasing Bcl-2 expression. PLoS One 2012;7.
95. Donald E. Paglia and William N. Valentina. Studies on the quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J. Lab. & Clin Med. 1967; 158- 169.
96. Ohkawa H, Ohiski N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbutric acid reaction. Anal Biochem. 1979; 95:351-358.
97. Sun Yi, Larry W. Oberley, Ying Li. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 1988; 3413:497-500.
98. Khan FM, The physics of radiation therapy. Lippincott Williams & Wilkins 2010.
99. EA Varanda, DC Tavares. Radioprotection: mechanisms and radioprotective agents including honeybee venom. Journal of Venomous Animals and Toxins 1998.
100. Fiorentino A, Caivano R, Metallo V, et al. Parotid gland volumetric changes during intensity-modulated radiotherapy in head and neck cancer. Br J Radiol. 2012; 85(1018):1415-9.
101. Acauan MD, Figueiredo MA, Cherubini K, et al. Radiotherapy-induced salivary dysfunction: Structural changes, pathogenetic mechanisms and therapies. Arch Oral Biol. 2015; 60(12):1802-10.
102. Malallah OS, Garcia CMA, Proctor GB, et al. Buccal drug delivery technologies for patient-centred treatment of radiation-induced xerostomia (dry mouth). Int J Pharm. 2018; 6;541(1-2):157-166.
103. Chambers MS, Garden AS, Kies MS, Martin JW. Radiation-induced xerostomia in patients with head and neck cancer: pathogenesis, impact on quality of life, and management. Head Neck. 2004;26(9):796-807.
104. Jay WM, Nazarian SM. Bilateral sixth nerve pareses with temporal arteritis and diabetes. J Clin Neuroophthalmol. 1986;6(2):91-5.

105. Abedi SM, Yarmand F, Motallebnejad M, et al. Radioprotective Effect of Thymol Against Salivary Glands Dysfunction Induced by Ionizing Radiation in Rats. *Iran J Pharm Res.* 2016; 15(4):861-866.
106. Abedi SM, Yarmand F, Motallebnejad M, et al. Vitamin E protects salivary glands dysfunction induced by ionizing radiation in rats. *Arch Oral Biol.* 2015; 60(9):1403-9.
107. Xu L, Yang X, Cai J, et al. Resveratrol attenuates radiation-induced salivary gland dysfunction in mice. *Laryngoscope.* 2013; 123(11):E23-9.
108. Su YX, Benedek GA, Sieg P, et al. Radioprotective effect of lidocaine on neurotransmitter agonist-induced secretion in irradiated salivary glands. *PLoS One.* 2013; 8(3).
109. Cakmak Karaer I, Simsek G, Yildiz A, et al. Melatonin's protective effect on the salivary gland against ionized radiation damage in rats. *J Oral Pathol Med.* 2016; 45(6):444-9.
110. Sagowski C, Wenzel S, Metternich FU, Kehrl W. Studies on the radioprotective potency of amifostine on salivary glands of rats during fractionated irradiation: acute and late effects. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2003; 260(1):42-7.
111. Kojima T, Kanemaru S, Hirano S, et al. The protective efficacy of basic fibroblast growth factor in radiation-induced salivary gland dysfunction in mice. *Laryngoscope.* 2011; 121(9):1870-5.
112. Xu L, Yang X, Chen J, et al. Simvastatin attenuates radiation-induced salivary gland dysfunction in mice. *Drug Des Devel Ther.* 2016; 10:2271-8.
113. Akyuz M, Taysi S, Baysal E, et al. Radioprotective effect of thymoquinone on salivary gland of rats exposed to total cranial irradiation. *Head Neck.* 2017; 39(10):2027-2035.
114. Nejaim Y, I V Silva A, V Vasconcelos T, et al. Evaluation of radioprotective effect of aloe vera and zinc/copper compounds against salivary dysfunction in irradiated rats. *J Oral Sci.* 2014; 56(3):191-4.
115. Lan J, Zhao Y, Dong F, et al. Meta-analysis of the effect and safety of berberine in the treatment of type 2 diabetes mellitus, hyperlipemia and hypertension. *J Ethnopharmacol.* 2015; 161:69-81.

116. Wang HC, Wang BD, Chen MS, et al. Neuroprotective effect of berberine against learning and memory deficits in diffuse axonal injury. *Exp Ther Med.* 2018; 15(1):1129-1135.
117. Benaissa F, Mohseni-Rad H, Rahimi-Moghaddam P, Mahmoudian M. Berberine reduces the hypoxic-ischemic insult in rat pup brain. *Acta Physiol Hung.* 2009; 96(2):213-20.

