TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MORİNGA OLEİFERA'NIN VALPROİK ASİT VERİLEN SIÇANLARDA TÜKÜRÜK BEZLERİ ÜZERİNE OLASI KORUYUCU ETKİSİNİN İNCELENMESİ

EDA ÇERGEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (ECZ) ANABİLİM DALI

BESLENME VE BİYOKİMYASI PROGRAMI

DANIŞMAN

Prof. Dr. AYŞEN YARAT

2. DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi BURÇİN ALEV TÜZÜNER

İSTANBUL- 2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Eda ÇERGEL

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından TYL-2022-10383 numaralı proje ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren , bilgisini aktaran, tezim boyunca benden yardımlarını ve desteğini esirgemeyen, bazen kendisini yorsam da bana her zaman sabırla yaklaşan çok değerli tez danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Ayşen YARAT'a ,**

Tez dönemim boyunca en zor anlarımda yanımda olan değerli hocalarım Sayın **Dr. Öğr. Üyesi Burçin ALEV TÜZÜNER'e ve Doç. Dr. N. Şehkar OKTAY'a,**

Yüksek lisans eğitimim boyunca derslerinden birçok bilgi öğrendiğim hocalarım Sayın **Prof. Dr. Tuğba AKBAY'a, Prof. Dr. Ebru Işık ALTURFAN'a** ve **Doç. Dr. Özlem BİNGÖL ÖZAKPINAR'a,**

Bitki ekstrelerinin hazırlanmasındaki yardımları için Sayın **Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a, Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a ve Dr. Umar Faruk MAGAJİ'ye,**

Çalışmamıza verdikleri maddi katkılardan dolayı **M.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,**

Çocukluğumdan veri birlikte olduğum bana güç katan, beni her koşulda destekleyen **tüm arkadaşlarıma** ve hayatım boyunca koşulsuz olarak daima yanımda olan **aileme** en içten duygularımla teşekkür ederim.

Eda ÇERGEL

İÇİNDEKİLER

BEYAN i
TEŞEKKÜR iii
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ vii
ŞEKİL LİSTESİ x
TABLO LİSTESİ xii
1. ÖZET 1
2. SUMMARY 2
3. GİRİŞ ve AMAÇ 3
4. GENEL BİLGİLER 5
4.1. Valproik Asit 5
4.1.1. Kimyasal yapısı 5
4.1.2. Etki mekanizması 6
4.1.3. Farmokinetik etkisi 8
4.1.4. Toksisite ve yan etkiler 10
4.2. Tükürük Bezleri 10
4.2.1. Parotis tükürük bezleri 12
4.2.2. Submandibular tükürük bezleri 12
4.2.3. Sublingual tükürük bezleri 12
4.3. *M. oleifera* 13
4.3.1. *M. oleifera'*nın genel özellikleri 13
4.3.2. *M. oleifera* yapraklarının besinsel ve kimyasal bileşenleri 15
4.3.3. *M. oleifera* yapraklarının terapötik özellikleri 17
4.4. Deneysel Parametreler 17
4.4.1. Glutatyon 17
4.4.2. Lipid peroksidasyonu 19
4.4.3. Glutatyon-S-transferaz 19
4.4.4. Katalaz 20
4.4.5. Süperoksit dismutaz 21
4.4.6. Siyalik asit 22
4.4.7. Nitrik oksit 22
4.4.8. Doku faktörü 22

4.4.9. Total protein 23
4.4.10. Total antioksidan seviye 23
4.4.11. Total oksidan seviye 23
4.4.12. Bor 24
5. GEREÇ ve YÖNTEM 25
5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 25
5.2. Kullanılan Araç ve Gereçler 25
5.3. Kullanılan Deney Hayvanları 25
5.4. Deney Hayvanlarının Beslenmesi 26
5.5. *M. oleifera* Bitki Ekstresinin Hazırlanması 26
5.6. Gruplar ve Deney Protokolü 26
5.7. Sıçan Tükürük Bezleri Homojenatının Hazırlanması ve İncelenen Parametreler 27
5.7.1. Sıçan tükürük bezlerinde indirgenmiş glutatyon tayini 28
5.7.2. Sıçan tükürük bezlerinde lipid peroksidasyonu tayini 29
5.7.3. Sıçan tükürük bezlerinde glutatyon-S-transferaz aktivitesi tayini 30
5.7.4. Sıçan tükürük bezlerinde katalaz aktivitesi tayini 31
5.7.5. Sıçan tükürük bezlerinde süperoksit dismutaz aktivitesi tayini 31
5.7.6. Sıçan tükürük bezlerinde total siyalik asit tayini 33
5.7.7. Sıçan tükürük bezlerinde nitrik oksit seviyesi tayini 34
5.7.9. Sıçan tükürük bezlerinde protein tayini 36
5.7.10. Sıçan tükürük bezlerinde total oksidan seviyesi tayini 38
5.7.11. Sıçan tükürük bezlerinde total antioksidan seviyesi tayini 39
5.7.12. Sıçan tükürük bezlerinde bor tayini 41
5.8. İstatiksel Analiz 42
6. BULGULAR 43
6.1. Tükürük Bezlerinde İncelenen Parametrelerin Sonuçları 43
6.1.1. Glutatyon sonuçları 43
6.1.2. Lipid peroksidasyon sonuçları 44
6.1.3. Glutatyon-S-Transferaz aktivitesi sonuçları 45
6.1.4. Katalaz aktivitesi sonuçları 46
6.1.5. Süperoksit dismutaz aktivitesi sonuçları 47
6.1.6. Siyalik asit sonuçları 48

6.1.7. Nitrik oksit sonuçları 49
6.1.8. Doku faktörü aktivitesi sonuçları 50
6.1.9. Total protein sonuçları 51
6.1.10. Total antioksidan seviyesi sonuçları 52
6.1.11. Total oksidan seviyesi sonuçları 53
6.1.12. Bor sonuçları 54
7. TARTIŞMA ve SONUÇ 55
8. KAYNAKLAR 62
9. EKLER 84
10. ÖZGEÇMİŞ 88

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

ABTS: 2,2-azinobis (3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit)

CDNB: 1-kloro-2,4-dinitro-benzen

cGST: Sitosolik glutatyon S-transferaz

COX: Siklooksijenaz

CYP450: Sitokrom p450

D: Doku

DF: Doku faktörü

DTNB: 5-5’ ditiyobis 1-2 nitrobenzoik asit

ecSOD: Ekstraselüler SOD

EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit

GABA: Gama amino bütirik asit

GPx: Glutatyon peroksidaz

GR: Glutatyon redüktaz

GS: Glukosinolat

GSH: İndirgenmiş glutatyon

GSSG: Okside glutatyon

GST: Glutatyon-S-transferaz

H_2O_2: Hidrojen peroksit

HAT: Histon asetiltransferaz

HDAC: Histon deasetilaz (Histone deacetylase)

ITC: İzotiyosiyanat

KAT: Katalaz

LOX: Lipoksijenaz

LPO: Lipid peroksidasyonu

M. oleifera: *Moringa oleifera*

MDA: Malondialdehit

mGST: Mitokondriyal glutatyon -S-transferaz

NaCl: Sodyum klorür

NEDD: N-(1-Naftil)-etilendiamin dihidroklorür

Neu5AC: 5-N-asetilnöraminik asit

Neu5C: N-Glikolilnöraminik asit

NO: Nitrik oksit

pKa: Asidik iyonlaşma sabiti

ROS: Reaktif oksijen türleri

SA: Siyalik asit

SOD: Süperoksit dismutaz

SOD1: Süperoksit dismutaz 1

SOD2: Süperoksit dismutaz 2

SOD3: Süperoksit dismutaz 3

Süksinil KoA: Süksinil koenzim A

TAS: Total antioksidan seviye

TBA: Tiyobarbitürik asit

TCA: Triklorasetik asit

TOS: Total oksidan seviye

TP: Total protein

UV: Ultraviyole

VPA: Valproik asit

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Valerik asit, valproik asit ve sodyum valproatın kimyasal yapıları ile formülleri.....5

Şekil 2. Valproik asidin etki mekanizması..... 7

Şekil 3. Valproik asidin HDAC inhibitörü etkisi..... 8

Şekil 4. Valproik asit metabolizması ve metabolik ürünleri..... 9

Şekil 5. İndirgenmiş glutatyon ve okside glutatyon..... 19

Şekil 6. Glutatyon-S-transferaz fonksiyonu..... 20

Şekil 7. Deney Grupları..... 27

Şekil 8. Tükürük bezlerinde GSH değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması…43

Şekil 9. Tükürük bezlerinde LPO değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması…44

Şekil 10. Tükürük bezleri GST aktivitesinin gruplar arasındaki karşılaştırılması 45

Şekil 11. Tükürük bezleri KAT aktivitesinin gruplar arasındaki karşılaştırılması..... 46

Şekil 12. Tükürük bezleri SOD aktivitesinin gruplar arasındaki karşılaştırılması..... 47

Şekil 13.Tükürük bezleri SA değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması..... 48

Şekil 14.Tükürük bezleri NO değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması..... 49

Şekil 15. Tükürük bezleri DF aktivitesinin gruplar arasındaki karşılaştırılması..... 50

Şekil 16.Tükürük bezleri TP değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması..... 51

Şekil 17. Tükürük bezleri TAS değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması..... 52

Şekil 18.Tükürük bezleri TOS değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması..... 53

Şekil 19. Tükürük bezleri bor değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....54

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Tükürük bezleri 11

Resim 2. *M.oleifera* ağacı..... 14

Resim 3. *M.oleifera* ağacının yapısal kısımları 15

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kullanılan Cihazlar ve Markaları 25

Tablo 2. Deney Grupları 26

Tablo 3. Tükürük bezlerinde GSH değerleri (mg/g D) 43

Tablo 4. Tükürük bezlerinde LPO değerleri (µmol MDA/g D) 44

Tablo 5. Tükürük bezlerinde GST aktivitesi değerleri (U/g D) 45

Tablo 6. Tükürük bezlerinde KAT aktivitesi değerleri (kU/g D) 46

Tablo 7.Tükürük bezlerinde SOD aktivitesi değerleri (kU/g D) 47

Tablo 8. Tükürük bezlerinde SA değerleri (mg/g D) 48

Tablo 9.Tükürük bezlerinde NO değerleri (µmol/g D) 49

Tablo 10.Tükürük bezlerinde DF aktivitesi değerleri (sn) 50

Tablo 11.Tükürük bezlerinde TP değerleri (mg/g D) 51

Tablo 12. Tükürük bezlerinde TAS değerleri (µmol/g D) 52

Tablo 13.Tükürük bezlerinde TOS değerleri (µmol/g D) 53

Tablo 14. Tükürük bezlerinde bor değerleri (ppm) 54

1. ÖZET

Tezin başlığı : *Moringa oleifera*'nın valproik asit verilen sıçanlarda tükürük bezleri üzerine olası koruyucu etkisinin incelenmesi
Öğrencinin Adı, Soyadı : Eda ÇERGEL
Danışmanın Adı, Soyadı : Ayşen YARAT
Programın Adı : Beslenme ve Biyokimyası
Amaç: Bu çalışmada, *M. oleifera* ekstresinin valproik asit verilen Sprague Dawley sıçanlarında tükürük bezi üzerine olası koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Sprague Dawley dişi sıçanları; kontrol grubu (%0,9 g'lık NaCl verilen), kontrol + moringa grubu (0,3 g/kg/gün dozunda %70'lik etanollü *Moringa oleifera* ekstresi verilen), valproik asit grubu (0,5 g/kg/gün valproik asit verilen) ve valproik asit + moringa grubu (benzer dozlarda valproik asit ve *Moringa oleifera* ekstresi verilen) olmak üzere dört gruba ayrıldı. On altıncı günde aç bırakılan sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi. Parotis, submandibular ve sublingual tükürük bezleri alınarak %0,9 g'lık NaCl ile homojenize edildi ve deney gününe kadar -78 ^{o}C'de saklandı. Tüm tükürük bezlerinde çeşitli biyokimyasal antioksidan ve oksidan parametreler tayin edildi.

Bulgular: Valproik asit verilen tüm tükürük bezlerinde glutatyon, glutatyon-S-transferaz, süperoksit dismutaz değerleri kontrol grubu sıçanlarına göre anlamlı olarak azaldı. Total antioksidan kapasite ise sadece parotis ve sublingual tükürük bezlerinde azaldı, submandibular bezde anlamlı olarak değişmedi. Lipid peroksidasyon, siyalik asit, nitrik oksit değerleri ise valproik asit verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttı. Total oksidan kapasite ise sublingual bezde değişmedi ancak diğer dokularda anlamlı derecede arttı. Katalaz, doku faktörü aktivitesi ve total protein değerlerinde ise kontrol grubu ve valproik asit verilen grupta anlamlı olarak değişmedi. *Moringa oleifera* ekstresinin valproik asit grubuna uygulanması, çeşitli antioksidan ve terapötik özellikleri aracılığıyla valproik asidin neden olduğu değişen biyokimyasal parametreleri olumlu yönde etkiledi.

Sonuç: *Moringa oleifera* ekstresi tükürük bezlerinde valproik aside bağlı oksidan hasarın gerilemesinde etkili oldu. Tükürük bezlerinde oksidan hasara karşı farklı tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde *Moringa oleifera* bitkisi alternatif olabilir.

Anahtar kelimeler: *Moringa oleifera* ekstresi, valproik asit, tükürük bezi, antioksidan-oksidan parametreler

2. SUMMARY

Title of Thesis: Investigation of the possible protective effect of *Moringa oleifera* on salivary glands of valproic acid given rats
Student Name, Surname: Eda ÇERGEL
Supervisor Name: Prof. Dr. Ayşen YARAT
Program Name: Nutrition and Biochemistry
Objective: In this study, it was aimed to investigate the possible protective effects of *M. oleifera* extract on the salivary glands of valproic acid given Sprague Dawley rats.

Material and Methods: Sprague Dawley female rats were divided into four groups as; control group (administered 0,9 g % NaCl), control + moringa group (administered 70% ethanol extract of *M. oleifera* 0,3 g/kg/day), valproic acid group (administered 0,5 g/kg/day valproic acid) and valproic acid + moringa group (administered similar doses of valproic acid and *M. oleifera* extract). On the 16th day, fasted rats were sacrificed under anesthesia. Parotis, submandibular and sublingual salivary glands were taken and homogenized with 0,9 g % NaCl and stored at -78 °C until the day of the experiment. Various biochemical antioxidant and oxidant parameters were determined in all salivary glands.

Results: Glutathione, glutathione-S-transferase and superoxide dismutase values in all salivary glands given valproic acid were significantly decreased compared to control group rats. Total antioxidant capacity decreased only in parotis and sublingual salivary glands. It did not change significantly in the submandibular gland. Lipid peroxidation, sialic acid and nitric oxide values increased significantly in the valproic acid group compared to the control group. Total oxidant capacity did not change in the sublingual gland, but increased significantly in the others. Catalase, tissue factor activity and total protein values did not change significantly between groups. *Moringa oleifera* extract was found to correct these biochemical deteriorations caused by valproic acid through its various antioxidant and therapeutic properties.

Conclusion: *Moringa oleifera* extract was effective in the regression of valproic acid-induced oxidant damage in salivary glands. *Moringa oleifera* plant may be an alternative for the development of different treatment approaches against oxidant damage in salivary glands.

Key words: *Moringa oleifera*, valproic acid, salivary gland, antioxidant-oxidant parameters

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Tükürük bezleri büyük (majör) ve küçük (minör) bezler olmak üzere iki ana gruptan oluşur. Her iki kulağın ön ve alt tarafında konumlanmış olan parotis tükürük bezleri, çene altı (submandibular) tükürük bezleri ve dilaltı (subligual) tükürük bezleri, büyük (majör) tükürük bezleri olarak sınıflandırılır. Ağız içinde, dudak ve damakta çok sayıda küçük (minör) tükürük bezi yer alır. Tükürük bezlerinin ana görevi ağız içini nemlendiren, sindirime yardım eden ve mikroplara karşı koruyucu enzimleri içeren tükürük salgısını üretmektir. Çeşitli hastalıkların tedavisine yönelik ilaçlar tükürük bezi disfonksiyonu, tükürük bezi hipofonksiyonu, siyalore (aşırı tükürük salgılanması), ağız kuruluğu gibi olumsuz etkilere neden olabilir (Wolff ve ark., 2017).

Valproik asit/ valproat (VPA) ya da diğer adıyla 2-propilpentanoik asit, valerik asitten elde edilen dallı kısa zincirli bir yağ asididir. VPA özellikle epilepsi tedavisinde kullanılmasının yanında anksiyete, bipolar bozukluk ve migren gibi psikiyatrik bozukluklarda da kullanımı etkili bir ilaçtır (Ghodke-Puranik ve ark., 2013). VPA'nın psikiyatrik ve nörolojik bozukluklarda tedavi edici etkisinin, santral sinir sisteminde inhibitör bir nörotransmitter olan gama amino bütirik asit (GABA) yardımıyla olduğu bilinmektedir. GABA sentezinde önemli bir rol oynayan glutamik asit dekarboksilaz aktivitesini arttırır ve metabolizmasında görev alan GABA aminotransferazı inhibe ederek GABAerjik fonksiyonları güçlendirir (Löscher, 2002; Oktay ve ark., 2016). Genellikle iyi tolere edilen bir ilaçtır ve nispeten güvenli olduğu kanıtlansa da birçok yan etkisi de olduğu anlaşılmıştır (Kostrouchova ve ark., 2007; Dreifuss ve Langer, 1988) Valproik asidin klinik yan etkileri hazımsızlık, kilo alma, disfori, yorgunluk, baş dönmesi, uyuşukluk, saç dökülmesi, baş ağrısı, bulantı, sedasyon ve tremordur. VPA pek çok klinik yan etkilerine ek olarak sialadenoza ve ağız kuruluğuna neden olduğu (Mauz ve ark., 2005; Wolff ve ark., 2017) ve VPA tedavisinin tükürük bezi tümörlerinin büyümesini engellediği ileri sürülmektedir (Nagai ve ark., 2014).

Moringa oleifera (M. oleifera), Moringaceae ailesine ait olan 13 türden olup, Moringa cinsinin en çok bilinen ve yetiştirilen türüdür (Dhakad ve ark., 2019). Farklı farklı adlandırılan bir bitki olup halk arasında çeşitli rahatsızlıkları ve kronik hastalıkları iyileştirmesi sebebiyle "Mucize ağaç" olarak da isimlendirilir (Abdull Razis ve ark.,

2014). Moringa bitkisinin tohum, yaprak, meyve gibi her bölümü insanlar ile hayvanların tüketimine uygundur ve tıbbi olarak, faydalı gıda bileşenleri, nutrasötikler, su sanitizasyonu ve biyoyakıt üretimi için değerlidir (Ayasan, 2015). *M. oleifera* yaprakları kalsiyum, potasyum, çinko, magnezyum, demir ve bakır gibi mineraller içerir. Ayrıca beta-karoten, C vitamini, E vitamini, protein ve polifenoller açısından zengindir ve iyi bir doğal antioksidan kaynağı olarak bilinir (Gopalakrishnan ve ark., 2016; Leone ve ark., 2016). *M. oleifera*'dan elde edilen ekstraktlar; antiinflamatuar, antioksidan, antikanser, hepatoprotektif, nöroprotektif, kan şekerini ve lipidini azaltıcı fonksiyonlar dahil olmak üzere birçok nutrasötik ve farmakolojik özellik gösterir ve bu faydalı işlevleri yapabilmeleri flavonoidler veya biyoaktiviteye sahip izotiyosiyanatlar gibi fitokimyasallar ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Aja ve ark., 2014; Kou ve ark., 2018; Vargas-Sánchez ve ark., 2019).

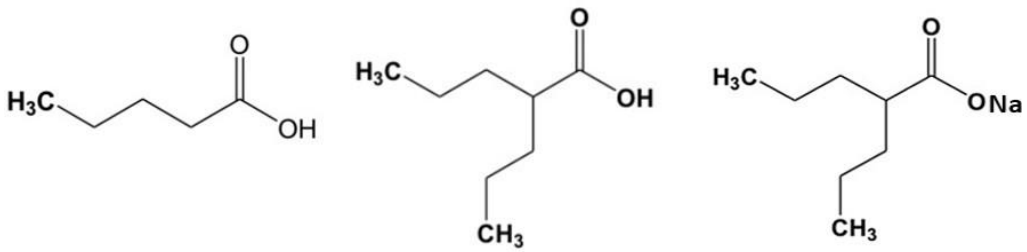
Gıda ve ilaçlarda yaygın olarak kullanılmasına rağmen insanlarda *M. oleifera* yaprağının ve bitkinin diğer kısımlarının terapötik etkisini gösteren klinik deneyler üzerinde çok az çalışma vardır (Dhakad ve ark., 2019). Literatürde bu ağaç yapraklarının VPA'e bağlı çeşitli tükürük bezleri üzerine koruyucu etkisi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada *M. oleifera* ekstresinin, VPA verilen Sprague Dawley sıçanlarının tükürük bezleri üzerine etkileri incelenmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Valproik Asit

4.1.1. Kimyasal yapısı

Valproik asit (VPA), ilk defa 1882 yılında Burton tarafından valerik asit analoğu olarak sentezlenmiştir. 1962 yılında Pierre Eymard tarafından antikonvülsan etkisi bulunmuştur. Bileşiğin güçlü bir antikonvülsan aktivite gösterdiği gözlemlenmiş ve bu da VPA'nın epilepsi için yararlı bir ajan olduğunu araştırmaya yol açmıştır. 1967 yılında Fransa'da antiepileptik ilaç olarak kullanımı onaylanmıştır. Günümüzde en geniş spektruma sahip antiepileptik ilaçlardan biridir (Belcastro ve ark., 2013).



Şekil 1. Valerik asit, valproik asit ve sodyum valproatın kimyasal yapıları ile formülleri (Hamaidia ve ark., 2016'dan değiştirilerek kullanılmıştır)

VPA, düşük moleküler ağırlıklı bir karboksilik asit olan valerik asitten türetilen dallı kısa zincirli bir karboksilik asittir (Şekil 1) (Romoli ve ark., 2019). Valproik asit, *Valeriana officinalis* (kedi otu) bitkisinden elde edilen doğal bir ürün olan valerik asidin bir analoğudur (Singh ve ark., 2021). Omurgası pentanoik asit ve ikinci karbona bağlı bir propil grubu olan sekiz karbonlu bir molekül olup pKa değeri 4,8' dir. İyi bir lipofilik yapıda olmasına rağmen hücreye taşıyıcı protein yardımıyla alınır. Suda az, organik çözücülerde yüksek oranda çözünebilen yapıya sahiptir (Mishra ve ark., 2021). VPA'nın sodyum tuzuna sodyum valproat denir (Linde ve ark., 2013).

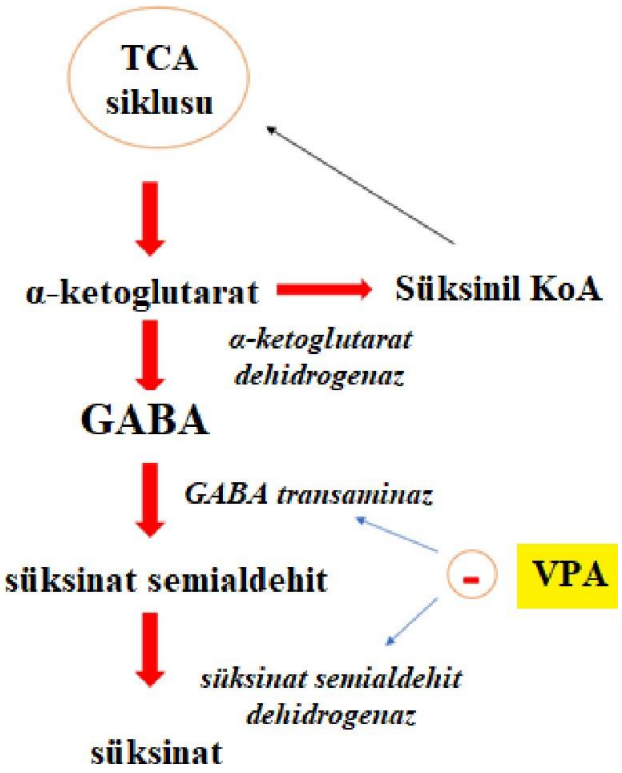
VPA, hem yetişkinlerde hem de çocuklarda gözlenen birçok farklı nöbet çeşidi ile epileptik sendromlar için başvurulan antiepileptik tedavinin temel ajanıdır. Mevcut tüm antiepileptik ilaçlara kıyasla en geniş antikonvülzan etki spektrumuna sahiptir (Romoli ve ark., 2019).

4.1.2. Etki mekanizması

VPA'nın 50 yılı aşkın bir süredir psikiyatrik ve nörolojik bozuklukların tedavisinde kullanılmasına rağmen kesin etki mekanizması henüz aydınlatılmamıştır. Valproatın merkezi sinir sistemi üzerindeki çeşitli etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında hem in vitro hem de in vivo olarak gama amino bütirik asidin (GABA) inhibitör etkilerinin güçlenmesi bulunmuştur (Schäfer ve Brandl, 2020).

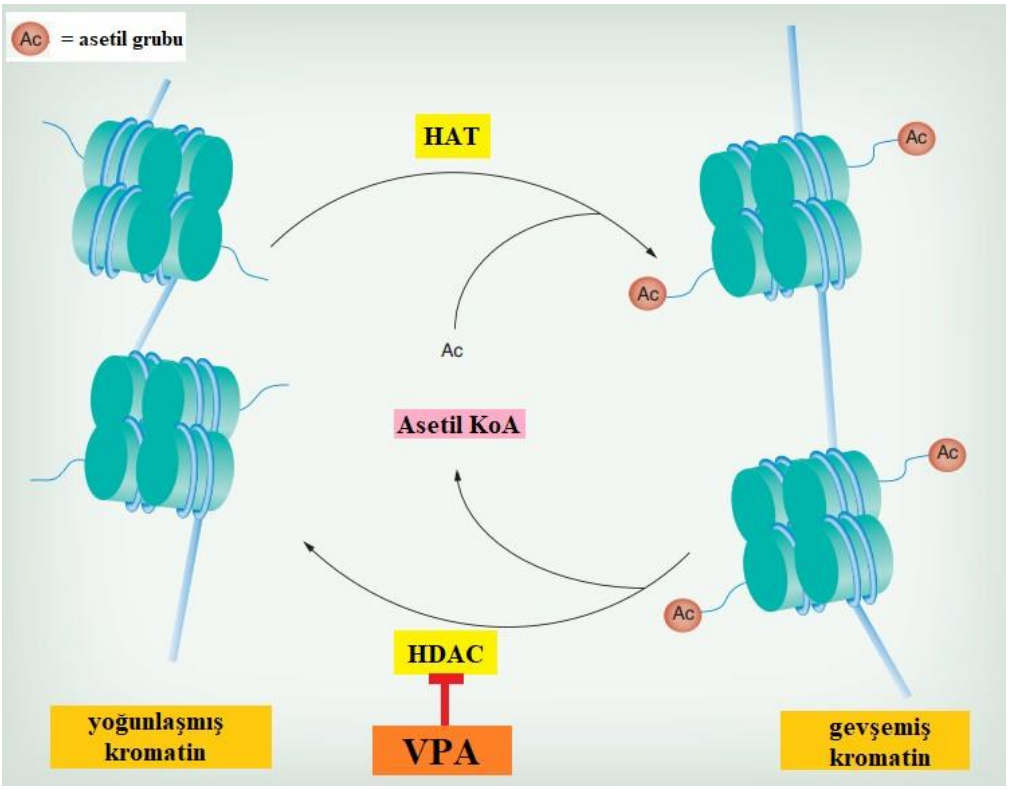
VPA'nın ana mekanizmalarından biri, GABAerjik iletimin presinaptik ve postsinaptik modülasyonu ile ilgilidir. VPA, hem presinaptik hem de postsinaptik mekanizmalarla GABA'nın inhibe edici aktivitesini arttırır. Sinaptik GABA'nın mevcudiyetini arttırmasının yanı sıra GABA aracılı tepkilerin gerçekleşmesini kolaylaştırır (Romoli ve ark., 2018).

GABAerjik inhibitör aktivitenin bozulması, konvülsiyonlara yol açarak bu yolun kontrolünü antiepileptik ilaçlar için bir hedef haline getirir. GABA, trikarboksilik asit döngüsü boyunca α-ketoglutarattan oluşur ve GABA transaminaz tarafından süksinat semialdehite ve daha sonra ise süksinat semialdehit dehidrojenaz ile süksinata metabolize olur (Ghodke-Puranik ve ark., 2013). GABAerjik sinyallemenin inhibisyonunun nöbetlere neden olduğu ve GABAerjik sinyallemenin güçlenmesinin nöbetleri önlediği bilinmektedir. VPA, GABA antagonistlerinin neden olduğu nöbetleri önler ve serebral kortekste GABAerjik inhibisyonu artırırak antiepileptik etki gösterir (Lagace ve ark., 2004). Ayrıca VPA ve türevleri, GABA transaminaz ve süksinik semialdehit dehidrogenaz enzimlerinin inhibisyonunu sağlayarak inhibitör bir nörotransmitter olan GABA'nın bozulmasını engeller (Şekil 2) (Bourin, 2020).



Şekil 2. Valproik asidin etki mekanizması (Rahman ve Nyugen, 2020'den değiştirilerek kullanılmıştır)

VPA, aynı zamanda bir histon deasetilaz (HDAC) inhibitörüdür. Sınıf I ve sınıf IIa HDAC'lerin aktivitelerini inhibe ederek histon proteinlerindeki asetil gruplarının uzaklaştırılmasını ve kromatin yoğunlaşmasını engeller (Khan ve ark., 2016; Ni ve ark., 2017). VPA, HDAC aktivitesininin inhibasyonunu sağlayarak histon asetiltransferaz (HAT) ve HDAC arasındaki homeostazı etkiler. HDAC substratlarının çok çeşitli olması nedeniyle VPA'nın bu etkisi nörodejeneratif, metabolik ve kanser gibi hastalıkların tedavisiyle ilişkilendirilmiştir (Şekil 3) (Sixto-López ve ark., 2020).



Şekil 3. Valproik asidin HDAC inhibitörü etkisi (Khan ve ark., 2016'dan değiştirilerek alınmıştır)

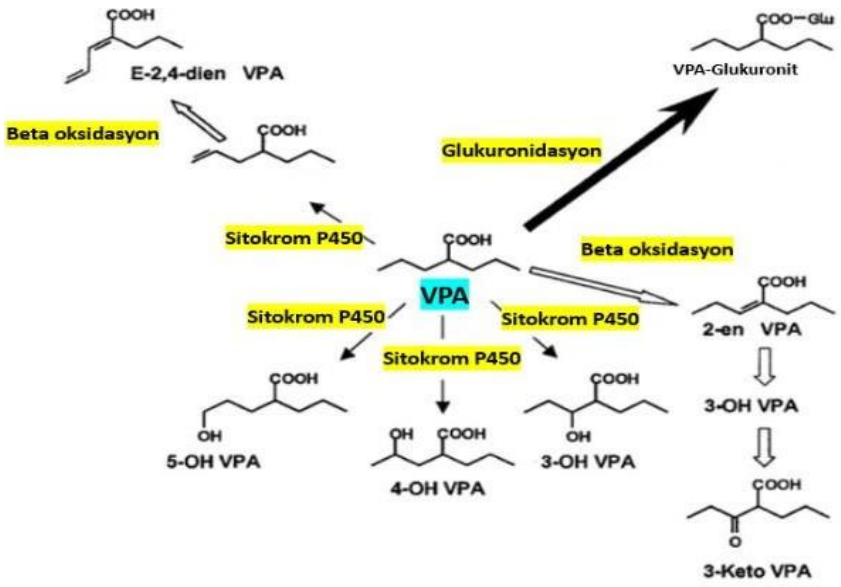
4.1.3. Farmokinetik etkisi

VPA'nın dağılımı, etki alanları ve eliminasyon yolları gibi birçok farmakokinetik özelliğinin açıklanmasında yağ asidi yapısı önemli rol oynar (Lagace ve ark., 2004). Valproat hemen salınan veya enterik kaplı tablet, şurup ve intravenöz formülasyonlarda mevcuttur. Açlık durumunda, oral valproat hızla emilir ve 4 saat (hızlı salımlı formülasyon) ile 7 saat (enterik kaplı formülasyon) arasında pik plazma konsantrasyonlarına ulaşır. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır ve çoğu hastada 8 ile 20 saat arasında yarı ömrü vardır. İlacın alım dozu, plazma konsantrasyonu ve terapötik etkileri arasında ilişki net olarak anlaşılamamıştır (Zawab ve Carmody, 2014).

İlaç genellikle hızla emilir ve yüksek bir biyoyararlanıma sahiptir. Ancak formülasyonlar arasında VPA absorpsiyon hızı ve biyoyararlanımda farklılıklar mevcuttur. Maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma süresi de uygulanan

formülasyona göre değişir. Örneğin, pik konsantrasyonlar sürekli salımlı formülasyonların alınmasından 5-10 saat sonra ve şurup alımından 2-3 saat sonra ölçülür. Enterik kaplı tabletlerin emilimi eş zamanlı gıda alımı ile gecikebilir (Schäfer ve Brandl, 2020). VPA'nın yaklaşık %90-95'i albümine bağlanır ancak yaş, kullanılan başka ilaçlar, böbrek ve karaciğer hastalıkları ile gebelik durumu gibi çeşitli faktörler VPA'nın proteine bağlanmasını etkileyebilir. VPA esas olarak karaciğer tarafından metabolize edilir. Az miktarda bulunan değişmemiş formu ise idrarlar atılır (Methaneethorn, 2018).

VPA'nın metabolizması oldukça karmaşıktır ve en az 14 farklı metabolitin üretilmesiyle sonuçlanır (Lagace ve ark., 2004). VPA insanlarda glukuronidasyon, mitokondride beta oksidasyon ve P450 sistemi aracılığı ile oksidasyon olmak üzere üç ana yol ile metabolize olur. Beta oksidasyon ve glukuronidasyon ilaç dozunun %40-50'sini metabolize eden ana yollar olarak kabul edilirken, sitokrom P450 aracılı oksidasyon ise ilaç dozunun %10'unu metabolize eden minör bir yolaktır (Ghodke-Puranik ve ark., 2013). Valproat glukuronit, VPA'nın idrardaki başlıca metabolitidir ve toksik değildir. Bunula birlikte VPA'nın valproat glukuronit dışındaki bazı metabolitleri hepatotoksik olarak bilinir (Şekil 4) (Romoli ve ark., 2019).



Şekil 4. Valproik asit metabolizması ve metabolik ürünleri (Chang ve Abbott, 2006'dan değiştirilerek kullanılmıştır)

4.1.4. Toksisite ve yan etkiler

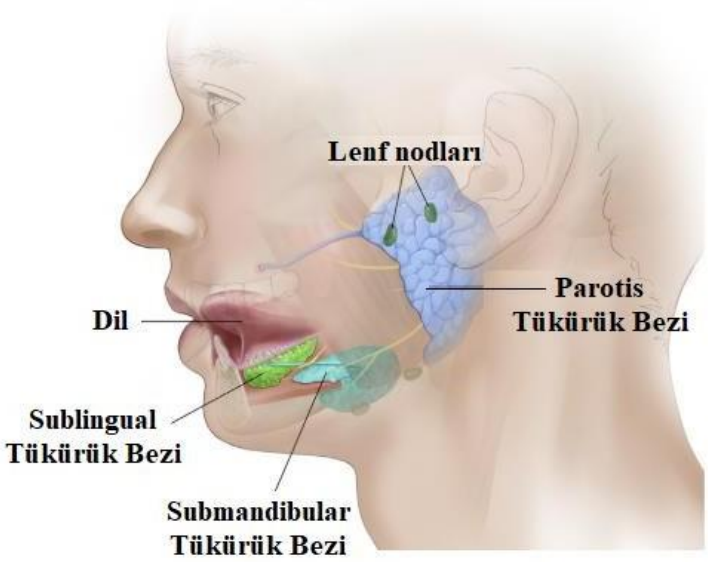
Diğer birçok antiepileptik ilaçta olduğu gibi, VPA'nın klinik kullanımına bağlı birçok yan etki literatürde bildirilmiştir (Chateauvieux ve ark., 2010). VPA ile tedavi sırasında genellikle hafif ve geçici yan etkileri görülmekle birlikte, nadiren yaşamı tehdit eden toksik etkiler ortaya çıkabilir. İlacın teratojenik etkileri nedeniyle doğurganlık çağındaki kadın hastalar için kullanımı uygun değildir (Schäfer ve Brandl, 2020).

Valproatın yaygın yan etkileri mide bulantısı, üst karın krampları, anormal karaciğer fonksiyonu, kilo alımı ve ishaldir. Titreme, yorgunluk, sedasyon, konfüzyon ve baş dönmesi gibi nörolojik yan etkiler de sıklıkla görülür. Diğer potansiyel yan etkiler arasında alopesi, azalmış kemik yoğunluğu, trombositopeni, anemi, lökopeni ve hiperamonyemi bulunur. İlacın seyrek olarak karaciğer fonksiyon bozukluğu ve pankreatit gibi fatal yan etkileri olabilir (Zawab ve Carmody, 2014). Ayrıca VPA, spina bifida aperta, kardiyak malformasyonlar, yarık damak ve uzuv kusurlarına sebep olan güçlü bir teratojendir (Lagace ve ark., 2004).

4.2. Tükürük Bezleri

Ağız boşluğu mukozasında ve çevresinde yerleşim gösteren tükürük bezleri, tükürük adı verilen salgıyı sentezleyerek bir kanal ile mukoza yüzeyine iletir (Polat, 2021). Tükürük bezleri sindirim sisteminin bir parçası olup vücuttaki sindirim, tat alma, bağışıklık, antibakteriyel koruma ve genel homeostazın sağlanması için gerekli olan tükürüğü salgılarlar (Lamy ve ark., 2020).

Tükürük bezi salgıları, ağız mukozasını kayganlaştırarak ağız sağlığının korunmasını sağlar. Çiğneme sırasında gıda bolusu oluşturulmasına katkıda bulunup, bu bolusun yutulmasına izin vererek ve alfa-amilaz enzimiyle nişastayı maltoz ile glikoza parçalayarak ağız boşluğunda sindirimin erken aşamalarını başlatmaktan sorumludur (Fouani ve ark., 2021). Tükürük salgısı azaldığında diş çürükleri ve ağız enfeksiyonları gibi farklı ağız sağlığı problemleri gelişebilir (Roa ve del Sol., 2018).



Resim 1. Major tükürük bezleri (Uchida ve Ovitt, 2022'den değiştirilerek alınmıştır)

Tükürük bezleri majör ve minör olmak üzere iki grupta sınıflandırılır (Resim 1) ve bu sınıflandırma hem ürettikleri tükürük miktarlarına hem de bezin anatomik yapısına göre düzenlenir. Tükürük parotis, submandibular ve sublingual olarak adlandırılan üç çift majör bezden ve ağız boşluğuna dağılmış çok sayıda minor tükürük bezleri tarafından üretilir (Varga, 2012). Minör tükürük bezleri, ağız boşluğu boyunca dağılmış 600-1000 adet bezden oluşur. Tükürük bezleri, morfolojik olarak epitelden türetilen özel hücrelerden oluşur (de Paula ve ark., 2017). Tükürük bezleri asiner, duktal ve epitelyal olarak adlandırılan üç ana hücre tipinden oluşur. Majör bezler toplam tükürük hacminin yaklaşık olarak %90-95 'lik kısmını üretir, kalan miktar ise minör tükürük bezleri tarafından oluşturulur (Varga, 2012).

Tükürük bezlerine ait kanal ağı interkalasyonlu, çizgili ve boşaltım kanalları gibi farklı kanal tiplerinden oluşur. Salgıyı alan ilk yapılar interkalasyonlu kanallardır. Daha sonra plazma membranı yoluyla tükürük sıvısı ile hücre dışı matris arasında çeşitli elektrolit değişimlerinin meydana geldiği çizgili kanallara iletilir. Tükürük daha hipotonik hale geldikçe, geniş ekstralobüler boşaltım kanalları glandüler lobüllerdeki tüm sıvıyı toplar ve ağız boşluğuna salgılar (de Paula ve ark., 2017).

4.2.1. Parotis tükürük bezleri

Parotis bezleri, başın her iki yanında, mandibulanın dış işitsel kanalının ve kafa tabanının arkasında yer alan en büyük tükürük bezleridir. Ortalama ağırlıkları 25-30 g arasındadır (de Paula ve ark., 2017). Parotis bezleri müsin içermeyen ancak amilaz ve prolinden zengin proteinlerden yüksek oranda içeren seröz bir salgı salgılar (Tvarijonaviciute ve ark., 2020). Parotis tükürük bezleri stimüle edilmediğinde tükürük salgısının %25-30'undan, stimüle edildiğinde ise %50'sinden sorumludur (Uchida ve Ovitt, 2022). Parotis bezi salgılarını oral kaviteye açılan Stenon kanalı vasıtasıyla salgılar. Parotis bezi, içerisinde intraglandüler lenf bezlerinin olduğu tek majör tükürük bezi olarak bilinir (Balıkcı ve Özkul, 2012).

4.2.2. Submandibular tükürük bezleri

Submandibular tükürük bezleri, mandibulanın aşağısında, hyoidin (dil kemiği) üstünde ve digastrik kasın ön göbeğinin arkasında bulunur. Ağırlığı 7-12 g arasındadır (Balıkcı ve Özkul, 2012). Submandibular tükürük bezleri parotis bezlerinin yaklaşık yarısı kadar büyüklüktedir. Tükürüğü ağız boşluğuna yönlendiren Wharton Kanalı olarak bilinen tek bir kanalı vardır (Maruyama ve ark., 2019). Submandibular tükürük bezleri stimüle edilmediğinde tükürük salgısının %60'ından, stimüle edildiğinde ise %35'inden sorumludur (Uchida ve Ovitt, 2022).

4.2.3. Sublingual tükürük bezleri

Sublingual tükürük bezleri büyük tükürük bezlerinin en küçüğü olup 2-4 g ağırlığındadır ve mukoza asiner hücrelerinden oluşur. Sublingual tükürük bezleri ağzın ön tabanında, mylohyoid kasın üzerinde düz bir şekilde yer alır (Proctor ve Carpenter, 2014; Hand, 2004). Sublingual tükürük bezleri, Bartholin ve Rivinus kanallarından ağız boşluğuna geçen, birkaç seröz asiner hücrenin yer aldığı mukoz asiniler tarafından az miktarda üretilen yüksek viskoziteli tükürük salgılar. Sublingual tükürük bezleri hem stimüle edilmiş hem de stimüle edilmemiş tükürük salgısının %8'inden sorumludur (Uchida ve Ovitt, 2022).

4.3. M. oleifera

4.3.1. *M. oleifera'*nın genel özellikleri

M. oleifera, Moringaceae ailesinin 13 türünden biri olup yüksekliği 5-10 metre arası değişebilen çok yıllık bir bitki türüdür. *M. oleifera* Hindistan'a özgüdür ancak Afrika, Asya, Orta ve Güney Amerika'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde de yaygındır (Grosshagauer ve ark., 2021). Hızlı büyüyen ve kuraklığa dayanıklı bir ağaçtır (Resim 2). Nemli tropik bölgelerde, sıcak kuru iklimlerde ve az verimli topraklarda bile çok iyi bir şekilde büyüyebilir (Mohanty ve ark., 2021). Bitki ilk yıl 2 metreye, olgunlaştığında da 12 metreye kadar uzayabilir ve bu ilk yıl içinde uzun, baget şeklinde baklalar oluşturur (Tshabalala ve ark., 2019).

M. oleifera sahjana, baget ağacı (drumstick tree), yaban turpu ağacı (horseradish tree) ve benoil ağacı adlarıyla da bilinir. Moringa adı yeni oluşan meyveye atıfta bulunan, "bükülmüş bakla" anlamına gelen bir kelime olan *murungai*'den türemiştir. Bitkinin her bir parçası tıbbi ve faydalı gıda bileşenleri olarak, su arıtma ve biyoyakıt üretimi gibi farklı birçok amaç için kullanılmaktadır. *M.oleifera'nın* çiçekleri, olgunlaşmamış meyveleri ve yaprakları dünya çapında gıda olarak tüketilmektedir (Resim 3) (Dhakad ve ark., 2019). Bitkinin her kısmı yenilebilir iken, köklerinin spirochin adlı nöral paralitik bir toksin içermesinden dolayı tüketilmesi sakıncalı olabilir (Mohanty ve ark., 2021; Anwar ve ark., 2007).

İnsanlar arasında çeşitli rahatsızlıklar ve bazı hastalıklar için iyileştirici yetenekleri olduğuna dair inanışlar nedeniyle "Mucize ağaç" adıyla da bilinmektedir. *M. oleifera*'nın birçok kültür ve topluluk tarafından yaşam deneyimlerine dayalı olarak iddia edilen tıbbi kullanımı artık bilimsel araştırmalar tarafından da yavaş yavaş doğrulanmaya yönelik bir ilerleme kaydetmektedir (Abdull Razis ve ark., 2014). İnsan sağlığını korumaya doğrudan veya dolaylı olarak yardımcı olduğu bilinen, nutrasötik potansiyel özelliği olan çeşitli doğal biyoaktif bileşiklerin zengin bir kaynağıdır (Mahato ve ark., 2022). Literatürde *M. oleifera* 'nın antiinflamatuvar, antioksidan, antikanser, hepatoprotektif, nöroprotektif ve antidiyabetik etkileri bilinmektedir. *M. oleifer*a'nın bu olumlu etkileri flavonoidler veya izotiyosiyanatlar gibi biyoaktif fitokimyasallar ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Kou ve ark., 2018).

M. oleifera anne sütünün hacmini artırmak için kullanılan bitkisel bir galaktagog olarak bilinir. Filipinler, Afrika ve Hindistan'ın bazı bölgelerinde, moringa içeren yemekler süt üretimi için bir tedavi olarak kullanılmaktadır (Foong ve ark., 2020). Hormon prekürsörleri olan kampesterol, stigmasterol ve sitosterol gibi fitosteroller açısından zengindir ve bu fitosteroller, süt üretimi için meme bezi kanallarının çoğalmasını uyaran östrojen hormonunun üretimine yardımcı olur. Bu nedenle Filipinler'de 'annelerin en yakın arkadaşı' olarak da bilinir (Ansari, 2017).



Resim 2. *M.oleifera* Ağacı (Leone ve ark., 2016)



Resim 3. *M.oleifera* ağacının yapısal kısımları (Patil ve ark., 2022'den değiştirilerek alınmıştır)

4.3.2. *M. oleifera* yapraklarının besinsel ve kimyasal bileşenleri

M. oleifera'nın yaprak, tohum ve gövdesinin besin bileşimi, karbohidrat ve yağlardan fakir olmasına rağmen protein, esansiyel amino asitler, mineraller, vitaminler ve diğer biyoaktif bileşikler açısından zengindir (Arora ve Arora, 2021)

Yaprakların ham protein içeriği kuru ağırlık bazında %10-30, karbohidrat içeriği %13-63, yağ içeriği %6-20, ham lif içeriği %7-35 ve mineral madde içeriği de %7-10 arasında değişmektedir. *M. oleifera*'nın yaprakları, gıda olarak tüketilen diğer yapraklara kıyasla son derece yüksek miktarda protein içerir. *M. oleifera* yapraklarının 16-19 çeşit amino asit içerdiği ve bunların 10 tanesinin de esansiyel amino asit olduğu (lizin, lösin, izolösin, histidin, fenilalanin, metiyonin, triptofan, treonin, tirozin ve valin) bildirilmiştir (Kashyap ve ark., 2022).

M. oleifera'nın yaprakları, bitkinin en çok kullanılan kısmı olup vitaminler, karotenoidler, polifenol, fenolik asitler, flavonoidler, alkaloidler, glukozinolatlar,

izotiyosiyanatlar, tanenler ve saponinler açısından zengindir (Leone ve ark., 2015; Hassan ve ark., 2021). Glukozinolatlar (GS), glikozidik sekonder metabolitler içeren heterojen bir kükürt ve nitrojen grubudur. Çoğunlukla *Moringaceae* ailesi ile lahana, brokoli ve karnabaharı içeren *Brassicaceae* ailesine özgü ikincil metabolit bileşiklerdir (Tshabalala ve ark., 2019). Bu GS'ler, bitki hasar gördüğünde veya strese girdiğinde izotiyosiyanatlara (ITC) dönüşümünü katalize eden, mirosinaz olarak bilinen endojen bir enzim tarafından hidrolize edilir (Lopez-Rodriguez ve ark., 2020). ITC'ler, detoksifikasyon enzimlerini aktive etmeleri nedeniyle antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite gösteren biyoaktif bileşiklerdir. *M. oleifera*'da bulunan başlıca GS glukomoringin, başlıca ITC ise moringindir (Giuberti ve ark., 2021). Oksidatif stresin bitkilerde güçlü bir GS indükleyicisi olduğu ve GS moleküllerinin oksidatif stresin etkilerini azalttığı gösterilmiştir (Tshabalala ve ark., 2019). Biyoaktif bileşiklerin konsantrasyonu bitkinin ekotipine ve çevresel koşullara bağlıdır. Bu nedenle, *M. oleifera* yapılarında GS içeriği ekstraksiyon teknikleri ve kurutma yöntemlerinden etkilenmektedir. *M.oleifera* bitkisindeki GS ve ITC' nin sağlık üzerine olumlu etkileri, temel olarak çeşitli detoksifikasyon enzimlerinin aktivasyonu ve belirli inflamatuvar belirteçlerin azaltılması ile ilgilidir (Lopez-Rodriguez ve ark., 2020).

M. oleifera bitkisi yüksek miktarda fenolik bileşikler, özellikle flavonoidler, fenolik asitler ve bunların glikozitlerini içerir. *M. oleifera* yapraklarında bulunan başlıca fenolik bileşikler kaempferol, mirisetin, kersetin, klorojenik asit, gallik asit, luteolin, vanilin ve rutindir (Hassan ve ark., 2021). Fenolik bileşiklerin antioksidan, antimikrobiyal ve antifungal aktivite gösterdikleri bulunmuştur. *M. oleifera'*nın çiçekleri ve tohumları da çok miktarda polifenol içermektedir (Mahato ve ark., 2022). Bitkinin yaprakları köklere kıyasla daha yüksek miktarda fenolik içerir (Tshabalala ve ark., 2019).

Yaprak ekstraktlarından klorojenik asitlerin çeşitli izomerleri tanımlanmıştır Klorojenik asitlerin genel olarak oksidatif strese bağlı hastalıklara karşı koruma sağladığı bilinmektedir. *M. oleifera'*daki fenolik asit miktarı yağış, bitkinin hasat aşaması, *M. oleifera* çeşidi ve kullanılan ekstraksiyon yöntemi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Bitkilerde su eksikliğinin oksidatif strese neden olduğu ve bitkilerin bu duruma antioksidan bileşiklerin üretimini arttırarak yanıt vermeleri sebebiyle stresli

ortamlarda yetişen *M. oleifera* bitkilerinin daha fazla toplam fenolik ve antioksidan kapasiteye sahip oldukları gözlemlenmiştir (Tshabalala ve ark., 2019).

Tanenler, alkaloidler ve proteinlere bağlanan suda çözünür olan fenolik bileşiklerdir (Leone ve ark., 2015). Radikal bileşikleri temizleyerek ve lipid peroksidasyonunu inhibe edip süperoksit dismutaz ile glutatyon peroksidaz aktivitelerini arttırarak antioksidan etki gösterirler (Hassan ve ark., 2021). Kurutulmuş *M. oliefera* yaprakları önemli birer tanen kaynağı olup gram başına 14 ila 20,6 mg tannik asit içerir. *M. oleifera*'nın kök kısımları yapraklardan daha fazla miktarda tanenlere (proantosiyanidinler) sahiptir, bu da köklerin daha yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olmasını sağlar (Tshabalala ve ark., 2019).

4.3.3. *M. oleifera* yapraklarının terapötik özellikleri

Yapılan araştırmalar, moringa yaprağının farklı türden ekstrelerinin çeşitli kanser hücreleri için sitotoksik olduğunu göstermektedir. Karbamatlar, kuersetin ve kaempferol gibi fitobileşenler *M. oleifera*'nın antikanser aktivitesinden sorumludur (Khan ve ark., 2020; Khor ve ark., 2018; Pappas ve ark., 2021; Bhattacharya ve ark., 2022).

M. oleifera'nın hipoglisemik ve antidiyabetik etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda *M. oleifera* yapraklarının tüketiminin kan glukozunu düşürdüğünü, bu durumu oluşturan potansiyel mekanizmaların, α-amilaz ve α-glukozidaz aktivitelerinin inhibisyonu, kaslarda ve karaciğerde artan glukoz alımı, bağırsaktan glukoz alımının inhibisyonu, karaciğerde glukoneojenezin azalması, artan insülin sekresyonu veya duyarlılığı gibi birçok farklı sebepten dolayı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Ahmad ve ark., 2019; Krawczyk ve ark., 2022).

4.4. Deneysel Parametreler

4.4.1. Glutatyon

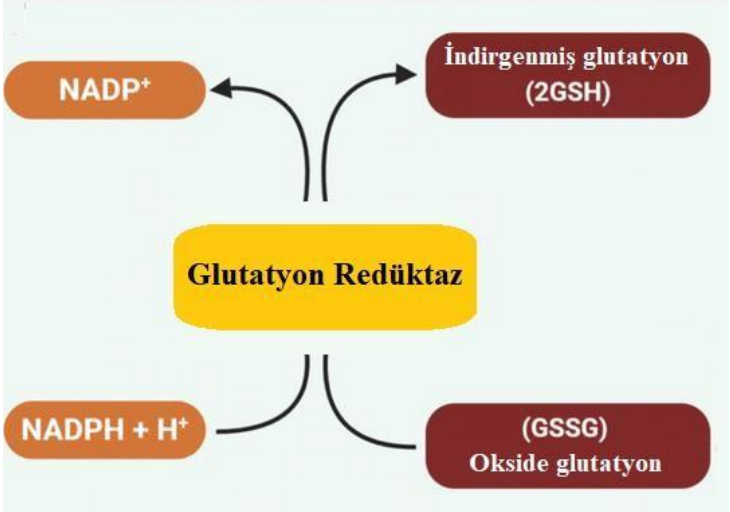
Glutatyon (GSH) sistein, glisin ve glutamik asitten oluşan, birçok vücut dokusunda bulunan bir tripeptittir. Oksidatif stresin azaltılmasında, redoks dengesinin sağlanmasında, metabolik detoksifikasyonun arttırılmasında ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde önemli rol oynar (Minich ve Brown, 2019).

GSH, hücrelerdeki redoks durumlarının homeostazını koruyan ve tüm hücrelerin fizyolojik işlevlerini sürdürmesinde rol oynayan önemli bir antioksidandır. Tiyol (sülfhidril, SH) kalıntıları hücre içi redoks durumu homeostazının korunmasında önemli bir rol oynar. GSH miktarı karaciğer ve böbrekte yüksek oranda iken, beyin dokusunda az miktarda bulunur (Aoyama, 2021). GSH, tiyol ile indirgenmiş (GSH) ve disülfid ile oksitlenmiş (GSSG) formlarda bulunur. GSH baskın formdur ve toplam glutatyon miktarının %98'inden fazlasını oluşturmaktadır. Hücresel GSH miktarının %80-85 kadarı sitozolde, %10-15'i mitokondride ve küçük bir yüzdesi ise endoplazmik retikulumda bulunmaktadır (Lu, 2013).

GSH'ın ROS'a karşı koruyucu etkisi, glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimler yardımıyla gerçekleşir. GPx, GSSG'ye dönüştürülen GSH varlığında hidrojen peroksit ve lipid peroksitin indirgenmesini katalize eder. Buna karşılık GSSG, esas olarak pentoz fosfat yolunda üretilen nikotinamid adenin dinükleotit fosfat [NAD(P)H] varlığında GR tarafından GSH'a indirgenir (Adeoye ve ark., 2018).

GSH sırasıyla metiyonin döngüsü, transsülfürasyon yolu ve GSH sentez yolu aşamalarından geçerek üretilir (Şekil 5) (Ghanizadeh ve ark., 2012). GSH sentezi sadece sitozolde gerçekleşir ve ATP bağımlı iki basamaktan oluşur (Calabrese ve ark., 2017).

Araştırmalar, birçok kronik hastalığın GSH seviyelerindeki azalma ile ilişkili olduğunu bulmuştur, bu da artan GSH seviyelerinin bu hastalıkların ilerlemesini önlemeye ve/veya hafifletmeye yardımcı olabileceği hipotezine neden olmaktadır (Minich ve Brown, 2019).



Şekil 5. İndirgenmiş glutatyon ve okside glutatyon (Kirtonia ve ark., 2020'den değiştirilerek kullanılmıştır)

4.4.2. Lipid peroksidasyonu

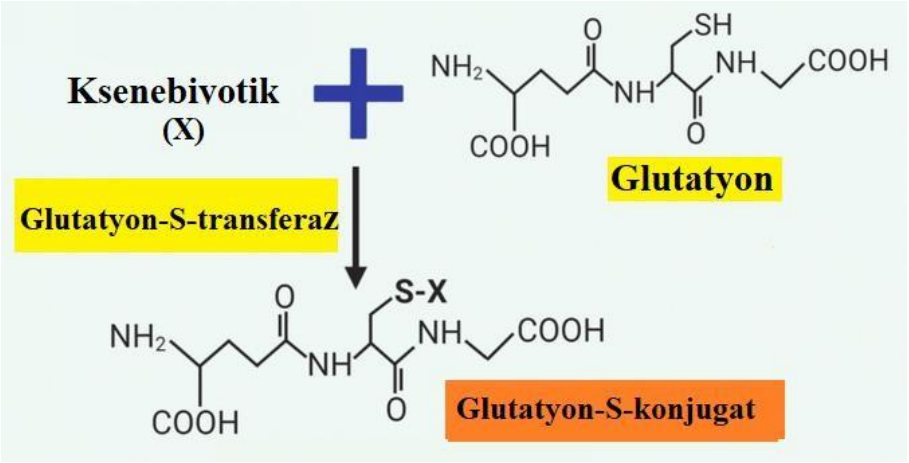
Lipid peroksidasyonu (LPO), peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikal türlerinin lipidlerden elektronları uzaklaştırdığı ve daha sonra başka reaksiyonlara girebilecek reaktif ara ürünler ürettiği bir süreçtir. Hücre veya organel zarları, yüksek çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) nedeniyle, LPO olarak adlandırılan ROS hasarına duyarlıdır (Su ve ark., 2019). LPO, enzimatik veya enzimatik olmayan oksidasyon olarak iki şekilde oluşur. Enzimatik oksidasyon, siklooksijenaz (COX), lipoksijenaz (LOX), fosfolipaz A2 ve sitokrom p450 (CYP450) gibi peroksidazlar yardımıyla gerçekleşir (Jaganjac ve ark., 2021). LPO'nun genel süreci başlatma, yayılma ve sonlandırma adı verilen üç aşamadan oluşur (Ayala ve ark., 2014). Başlatma aşamasındaki en önemli olay, lipid radikalinin oluşumudur. Hücresel membran lipid oksidasyonu, hava kirliliği, sigara, UV ışığı ve radyasyonu gibi ekzojen fiziksel ve kimyasal faktörler ile bazı endojen enzimler tarafından indüklenebilir (Yin ve ark., 2011)

4.4.3. Glutatyon-S-transferaz

Glutatyon S-transferaz (GST), indirgenmiş olan GSH organik elektrofilik substratlarla konjugasyon reaksiyonunu katalizleyen bir grup enzimin adıdır (Dasari ve ark., 2018). GST'lerin tiyol grubunun ikinci bir substratın elektrofilik bölgesine konjugasyon

reaksiyonlarını katalizlemeleri sonucu oluşan glutatyon konjugatı daha az toksiktir ve çözünür formda vücuttan atılır (Çağlar ve Bilgin, 2018). GST'ler sitozolik (cGST), mitokondriyal (mGST) ve mikrozomal (MGST) olmak üzere konumlarına göre üç ana gruba ayrılmıştır. Bunlar dışında bazı spesifik katalitik özelliklere sahip GST'lerin plazma zarında, dış mitokondriyal zarda ve ayrıca çekirdekte bulundukları bilinmektedir (Raza, 2011). GST'ler ikinci faz çok işlevli ve yönlü detoksifikasyon ve ksenobiyotik metabolize edici enzimler olarak tanımlanırlar (Dasari ve ark., 2018). cGST'ler glutatyon bağlanma yeri (G bölgesi) ve substrat (ksenobiyotik) bağlanma bölgesi (H bölgesi) olarak tanımlanan iki bağlanma yeri vardır (Tsuchida ve Yamada, 2014).

GST'ler elektrofilik merkez içeren birçok ksenobiyotik ve faz I reaksiyonları sonucu oluşan ara ürünlerin GSH ile konjugasyonunu katalize ederler (Şekil 6). GST'nin katalizlediği tepkimeler iki farklı şekilde yürümektedir. İlk tip reaksiyonda GSH'ın elektrofilik bir merkeze nükleofilik atağını katalizleyerek GSH'ın SH grubu ile ksenobiyotiklerin elektrofilik bölgelerini nötralize ederek dayanıklı bir GSH konjugatı oluştururken ikinci tip reaksiyonda redüklenmiş bir ara ürün ve okside glutatyon (GSSG) oluşur (Orhan ve Sahin, 1995).



Şekil 6. Glutatyon-S-transferaz fonksiyonu (Kirtonia ve ark., 2020'den değiştirilerek kullanılmıştır.)

4.4.4. Katalaz

Katalaz (KAT), hidrojen peroksit (H_2O_2) metabolizmasında görevli önemli bir enzimdir. İki H_2O_2 molekülünü bir oksijen molekülüne ve iki molekül suya iki aşamalı

bir reaksiyonla ayırarak süperoksit dismutaz (SOD) tarafından başlatılan serbest radikallerin nötralizasyonunun sağlanmasından sorumludur (Nandi ve ark., 2019). Oksijen kullanan hemen hemen tüm canlı dokularda bulunur. Esas olarak peroksizomlarda lokalizedir ve memeli hücrelerinin mitokondrilerinde bulunmaz (Ighodaro ve ark., 2018).

GPx ve peroksiredoksin, düşük konsantrasyonlarda çalışabiliyor iken KAT yüksek H_2O_2 konsantrasyonlarının giderilmesinde rol oynar. Bu enzim grubu, ROS'lara karşı ikinci savunma kademesinde bulunur (Tehrani ve ark, 2017). Katalazlar yapılarına ve fonksiyonlarına göre tipik katalazlar, katalaz-peroksidazlar ve mangan katalazları olmak üzere üç gruba ayrılır. İlk iki grup enzimleri prostetik grup olarak hem içerirken, üçüncü grup enzimleri hem olmayan mangan grupları içerir (Galasso ve ark., 2021).

4.4.5. Süperoksit dismutaz

SOD, süperoksit radikallerinin oksijen ve hidrojen peroksite dönüşümünü katalize eden bir enzimdir. ROS'a karşı birinci basamak savunma sisteminin bir bileşeni olarak görev yapan önemli bir endojen antioksidan olarak bilinir (Eleutherio ve ark., 2021). Süperoksitin metabolize edilmesinde rol oynayarak, H_2O_2 gibi daha az reaktif bir ürün oluşturur. Geniş kapsamlı hasara neden olan oksitleyici zincir reaksiyonlarının ve hipoklorit, peroksinitrat, hidroksil radikali gibi zararlı ROS'ların oluşumunu önler (Bresciani ve ark., 2015; Miller, 2012).

SOD tarafından kofaktör olarak gerekli olan metal iyonunun tipine bağlı olarak, enzimin çeşitli formları mevcuttur. Normalde SOD tarafından bağlanan metal iyonları demir (Fe), çinko (Zn), bakır (Cu) ve manganezdir (Mn) (Ighodaro ve ark., 2018). Oksijenli solunum yapan tüm canlı hücrelerde bulunur. Tüm memeliler bakır/çinko SOD (Cu/ZnSOD veya SOD1), mitokondriyal mangan SOD (MnSOD veya SOD2) ve hücre dışı SOD (ecSOD veya SOD3) şeklinde adlandırılan üç SOD izoformuna sahiptir (Che ve ark., 2016).

SOD'un terapötik potansiyelini ve fizyolojik önemini ortaya koyan çeşitli çalışmalar mevcuttur. Enzim, bir antiinflamatuvar ajan olarak bilinir ve ayrıca kanser öncesi hücre değişikliklerini önleyebilir. SOD'un steroide duyarlı nefrotik sendrom, skleroz, AIDS, kanser, kistik fibroz, postkolesistektomi ağrı sendromu, malignite, Alzheimer

dahil olmak üzere birçok sağlık probleminde önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (Younus, 2018).

4.4.6. Siyalik asit

Siyalik asitler (SA), nöraminik asit ve 2-keto-3-deoksi-nonülosonik asit içeren, dokuz karbonlu omurga yapısı olan bir α-ketoaldonik asit ailesinin genel adıdır. SA'ler bitkilerde, hayvanlarda ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunur. 50'den fazla farklı tip SA tanımlanmıştır ve N-asetilnöraminik asit (Neu5Ac), N-glikolilnöraminik asit (Neu5Gc) ve deaminonöraminik asit en bol bulunan doğal SA 'lerdir (Yang ve ark., 2021). SA'lerin çoğu proteine veya lipide bağlı formlarda bulunurken, serbest formlarda çok az miktarda bulunur. SA ayrıca birçok akut faz proteininin yapısında da mevcuttur (Esmaeilnejad ve ark., 2020). Alfa keto asit özelliği sebebiyle oldukça asidik bir yapıya sahiptir (Röhrig ve ark., 2017). SA 'in mukus viskozitesini sağlama, proteinlerin proteolitik korunması, hücre tanıma, üreme, enfeksiyon, bağışıklık ve bilişsel gelişim ile ilgili önemli rol oynadığı bilinmektedir.

4.4.7. Nitrik oksit

Nitrik oksit (NO), insan vücudundaki hemen hemen tüm hücre tiplerinde, dokularda ve organlarda sentezlenen endojen bir bileşiktir. NO, nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından sentezlenir. NOS'un nöronal, indüklenebilir ve endotelyal olarak üç türü bulunmaktadır (Tenopoulou ve Doulias, 2020). NO, moleküler oksijen varlığında nispeten kararsız olup hızla oksitlenir (Robbins ve Grisham, 1997).

4.4.8. Doku faktörü

Doku faktörü (DF), faktör VII (FVII) ile kan pıhtılaşma sürecini başlatan bir integral membran proteinidir (Butenas ve ark., 2008). Kendi başına enzimatik aktiviteye sahip değildir. Bu protein FVII'yi bağlar, aktivasyonunu destekler ve FVIIa'nın proteolitik aktivitesini büyük ölçüde artırır (Hoffman, 2018). DF, molekülün N-terminal bölümünü temsil eden ve FVIIa ile kompleks oluşumunda görev alan hücre dışı alan, DF'yi zara bağlayan transmembran alan ile sinyal iletiminde yer alan sitoplazmik C-terminal alanı olmak üzere üç etki alanından oluşur (Butenas, 2012).

DF, vasküler adventisya tabakasında, astroglial hücrelerde ve organ kapsüllerinde eksprese edilir. Vücudun birçok bölgesi, fibroblast ve iskelet kası gibi çok düşük ekspresyon seviyelerine sahiptir (Hoffman, 2018). Merkezi sinir sistemi, akciğerler ve plasentada diğer doku ve yapılara göre nispeten yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Butenas ve ark., 2008).

DF, hücre yüzeylerinde DF-VIIa kompleksinin oluşumunu sağlayarak hem pıhtılaşma kaskadını tetikler hem de proteazla aktive olan reseptörlerin (PAR) aktivasyonu yoluyla hücre sinyalini iletir (Pendurthi ve Rao, 2008). DF-FVIIa kompleksi, FX'in FXa'ya ve FIX'in FIXa'ya aktivasyonunu katalize eder. Bunun sonucunda fibrinojenden fibrin üretimini gerçekleştiren trombin oluşumu gerçekleşir. Yaralanma bölgesinde (yara yatağı, iltihaplı doku vb.) bu yolak, trombin sayesinde trombosit aktivasyonu, trombosit yüzeyi aracılı katalitik komplekslerin birleşmesi ve fibrin oluşumu ile ilerleyen bir seri reaksiyonla pıhtı oluşumuna yol açar (D'Alessandro ve ark., 2018). DF'nin ayrıca kanser, inflamasyon, anjiyogenez ve embriyogenezde önemli rolleri olduğu belirlenmiştir (Butenas, 2012).

4.4.9. Total protein

Toplam protein tayini klinik analizlerde, gıda, protein kimyası, biyokimya, fizyoloji, tıbbi araştırma ve ekoloji gibi birçok araştırma alanının yanı sıra daha birçok alanda kullanılmakta olan bir metottur (Zaia ve ark., 2000).

4.4.10. Total antioksidan seviye

Toplam antioksidan seviyesi (TAS), enzimatik ve non-enzimatik antioksidanların durumunu yansıtan bir parametredir. Reaktif oksijen ve nitrojen radikallerine karşı organizmanın antioksidan savunma etkisini bir bütün olarak gösterir (Rubio ve ark., 2016).

4.4.11. Total oksidan seviye

Toplam oksidan seviye (TOS), dokuların genel oksidasyon durumunu tahmin etmek için kullanılan biyokimyasal bir parametredir. Oksidatif stresin belirteçlerinden biridir (Wu ve ark., 2017).

4.4.12. Bor

Bor (B), atom numarası 5 ve moleküler ağırlığı 10,81 g/mol olan 3A grubu bir eser elementtir. Bor, doğada yaygın olarak kayalarda, toprakta ve suda, diğer elementlere kıyasla düşük miktarlarda bulunur (Uluişik ve ark., 2018). Bor, bitki, hayvan ve insan sağlığı için gerekli olan, henüz insanlar için temel bir besin maddesi olarak kabul edilmemiş olmasına rağmen, metabolizmada çok çeşitli ve hayati derecede önemli rollere sahip bir mikro mineraldir (Pizzorno ve ark., 2020; Pizzorno, 2015). Yapraklı sebzeler, kabuklu yemişler, baklagiller, avokado ve deniz sebzeleri gibi bitki kökenli gıdalar en iyi bor kaynakları olarak kabul edilir (Pizzorno ve ark., 2020). Bor doğada elemental form olarak bulunmaz, diğer elementlerle bileşik oluşturur (Khaliq ve ark., 2018). Oksijen ve diğer elementlerle oluşturduğu bu bileşiklere boratlar denir. Bor bileşikleri arasında metal boratlar, borik asit, borik oksit ve borik asit esterleri bulunur. İnsanlar bor elementini genellikle borik asit veya boratlar şeklinde vücuda almaktadır. Borun insan sinir ve endokrin sistemi, kalsiyum ve D vitamini metabolizması, kemik gelişimi, artrit, osteoporoz, hepatik metabolizma ve oksidatif stres regülasyonu üzerindeki yararlı etkilerinin olduğunu bildirmiştir (Sarıaltın ve ark., 2022). Borun, çeşitli mekanizmalarla antioksidan savunma mekanizmalarını indüklediğini ve antioksidan enzimlerin seviyesini artırdığını öne süren çalışmalar da mevcuttur (Pizzorno, 2015).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Merck, Sigma Aldrich ve Fluka firmalarından temin edilmiştir.

5.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Tablo 1. Kullanılan cihazlar ve markaları

Kullanılan Cihaz	Cihazın Markası
Buzdolabı	Philco
Buz yapma makinası	King
Homojenizatör	Janke & Kunkel Ultra Turraxt 25
Distile-deiyonize su cihazları	Purelab Option Q DV25
Otomatik Pipetler	Gilson
Etüv	Nuve EN 400
Elektronik Terazi	Shimadzu AUX 220
Manyetik karıştırıcı	Janke & Kunkel, Ika Labor Technık
Vortex	Heidolph
pH metre	Thermo Scientific Orion
Santrifüj	Labofuge 200
Mikro santrifüj	Heidolph
Spektrofotometre	Rayleigh-UV-1800
Su banyosu (37°C)	Boehringer- Mannheim
Su banyosu (100°C)	Nuve BT 400
Kül fırını	Nuve MF 205

5.3. Kullanılan Deney Hayvanları

Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Etik kurulu onayı (Karar No: 60.2021mar) alınarak yapılan çalışmamızda 250-300 g ağırlığındaki 3 aylık Sprague Dawley dişi sıçanlar kullanıldı. Deney süresince deney hayvanları ısı, nem ve aydınlık/karanlık koşulları optimum olan hayvan odasında barındırılmıştır. Deney süresince laboratuvar koşulları 20°C ± 2 sıcaklığa ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortama ayarlandı.

5.4. Deney Hayvanlarının Beslenmesi

Çalışmamızda kullanılan sıçanlar sürekli kafeslerinde tutuldu. Deney süresi boyunca bütün deney grupları oral yolla beslendi, beslenme ve su ihtiyaçları günlük olarak laboratuvar şartlarında karşılandı Su ihtiyaçları için taze çeşme suyu, beslenmeleri için ise normal pellet tipi sıçan yemi kullanıldı.

5.5. *M. oleifera* Bitki Ekstresinin Hazırlanması

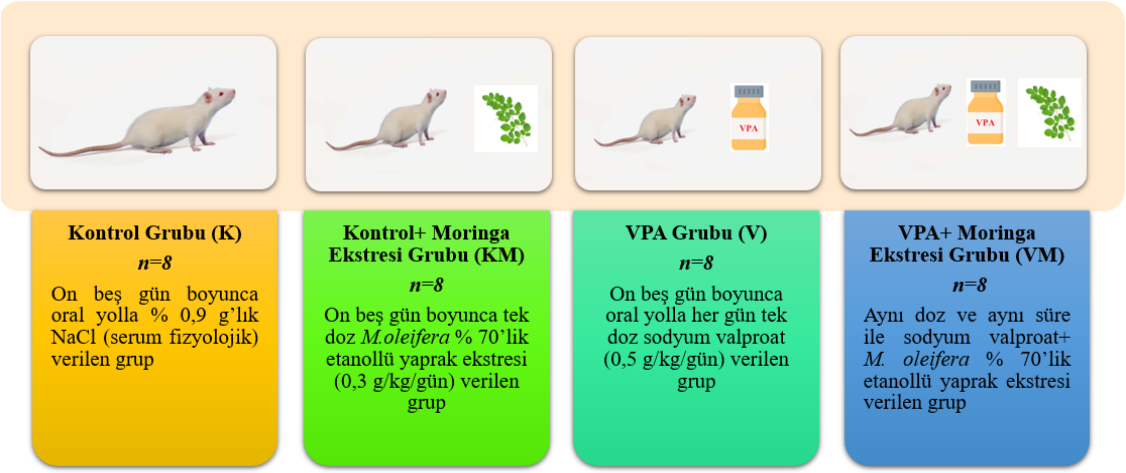
Taze yapraklar toz haline getirilmeden önce gölgede kurutuldu. Elde edilen toz halindeki bitki yaprakları kağıt zarflara konuldu ve kontaminasyonu ve nem emilimini önlemek için polietilen torbalarda saklandı. %70'lik etanol içeren bitki ekstresi hazırlamak için 100 gr bitki yaprağı soxhlet cihazına konuldu. 150 mL %70 'lik etil alkol ilave edildi ve en az 20 sifon oluşana kadar geri akıtıldı. Çözücü buharlaştırıcıda uçuruldu. Ortaya çıkan tortu tartıldı, etiketli eppendorf tüplerine aktarıldı ve kullanılana kadar -20°C'de saklandı.

5.6. Gruplar ve Deney Protokolü

Çalışmamızda her grupta 8'er hayvan olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu (Tablo 2, Şekil 7).

Tablo 2. Deney Grupları

Deney Grupları	Açıklama	Hayvan Sayısı
Kontrol (K) Grubu	On beş gün boyunca oral yolla % 0,9 g'lık NaCl (serum fizyolojik) verilen gruptur.	8
Kontrol + Moringa Ekstresi (KM) Grubu	Onbeş gün boyunca tek doz *M. oleifera* % 70 'lik etanollü yaprak ekstresi (0,3 g/kg/gün) verilen gruptur.	8
VPA (V) Grubu	Onbeş gün boyunca oral yolla tek doz sodyum valproat (0,5 g/kg/gün) verilen gruptur.	8
VPA + Moringa Ekstresi (VM) Grubu	Aynı doz ve aynı süre ile sodyum valproat + *M. oleifera* % 70 mL'lik etanollü yaprak ekstresi verilen gruptur.	8



Şekil 7. Deney Grupları

5.7. Sıçan Tükürük Bezleri Homojenatının Hazırlanması ve İncelenen Parametreler

Alınan sıçan tükürük bezlerinin her biri serum fizyolojik ile yıkandı; yağ dokusu, kan ve damarlarından temizlendi. Süzgeç kağıdı ile kurutulduktan sonra tartılıp tartım sonucu kaydedildi. Makas yardımıyla küçük parçalara ayırılarak gerekli miktarda serum fizyolojik ile cam homojenizatörde aynı hızda ve her biri eşit sürede homojenize edildi. Parotis ve sublingual tükürük bezi dokuları %5 g, submandibular tükürük bezi dokuları %10 g'lık homojenatlar halinde hazırlandı. Hazırlanan her tükürük bezi homojenatı ayrı ayrı küçük miktarlara ayrıldı, gerekli bilgiler üzerlerine yazılarak eppendorf tüpleri içinde derin dondurucuda (-80ºC'de) çalışılacağı güne kadar saklandı. Bütün işlemler soğukta yapıldı. Deneyin yapılacağı vakit homojenatlar derin dondurucudan çıkarıldı. Önce -20ºC'de bir gece, sonra +4ºC'de yaklaşık 1 saat, daha sonra oda sıcaklığında buz üstünde bekletilerek çözünmeleri sağlandı. DF için homojenat direkt olarak kullanıldı, diğer parametreler için ise 4000 rpm'de 10 dk soğukta santrifüj eldildikten sonra elde edilen süpernatant kullanıldı. Tükürük bezleri homojenatlarında total protein, GSH, LPO, SA, NO düzeyleri, GST, KAT, SOD, DF aktiviteleri ve bor düzeyleri ile TAS ve TOS tayinleri yapıldı.

5.7.1. Sıçan tükürük bezlerinde indirgenmiş glutatyon tayini

Prensip:

Elmann ayıracı, 5-5' ditiyobis 1-2 nitro benzoikasit (DTNB) ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan renkli ürün spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Beutler, 1975).

Gerekli Çözeltiler:

Sodyum sitrat çözeltisi (% 1 g) : 1 g sodyum sitrat tartılır, biraz distile suda çözülerek hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Elmann ayıracı (% 40 mg DTNB) : 40 mg DTNB tartılır, biraz sodyum sitrat çözeltisinde (% 1 g) çözülür. Hacmi %1 g'lık sodyum sitrat çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlanır.

Proteinsizleştirme çözeltisi : 1,67 g metafosforik asit, 0,2 g etilen diamin tetra asetik asit sodyum tuzu (EDTA-Na) ve 30 g sodyum klorür ayrı ayrı biraz distile suda çözülür. Hepsi birleştirilir ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.

Disodyum fosfat çözeltisi (0,3 M) : 4,26 g Na_2HPO_4 veya (5,34 gNa_2HPO_4. $2H_2O$) biraz distile suda çözülür ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 0,2 mL doku homojenatı konur. Vorteks ile karıştırılır. Üzerine 0,3 mL proteinsizleştirme çözeltisinden ilave edilir. Vorteksle karıştırılır. 5 dk oda sıcaklığında bekletilir. 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Çökelti atılır. Süpernatant alınır. İki tane deney tüpü alınır. Numune ve kör olarak işaretlenerek aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Distile su	-	0,2 mL
Süpernatant	0,2 mL	-
Na_2HPO_4	0,8 mL	0,8 mL
Elmann ayıracı	0,1 mL	0,1 mL

Tüpler vortekste karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 5 dk bekletilir. Köre karşı 412 nm'de absorbanslar kaydedilir. Sonuçlar oluşan sarı renkli ürünün 412 nm'de ekstinksiyon katsayısı ($13600/M^{-1}cm^{-1}$) kullanılarak hesaplanır.

5.7.2. Sıçan tükürük bezlerinde lipid peroksidasyonu tayini

Prensip:

LPO ürünü olan malondialdehit (MDA) ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembemsi rengin absorbansı spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Ledwozyw ve ark., 1986).

Gerekli Çözeltiler:

TBA çözeltisi (0,047 M) : 500 mg TBA ile 6 mL 1 M'lık NaOH ile karıştırılır. Üzerine 69 mL distile su ilave edilir.

NaOH (1 M) : 4 gram NaOH tartılır, biraz distile suda çözülür, hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.

Triklorasetik asit (TCA) çözeltisi (1,22 M, 0,6 M HCl' deki): 20 mL TCA (%100 g TCA) ile 5 mL HCl (% 37 g'lık, d=1,19 g/mL'lik HCl) karıştırılır ve hacmi distile su ile 100 mL ye tamamlanır.

n-bütanol : Orijinal şişesinden kullanılır.

Deneyin Yapılışı:

2 tane deney tüpü alınarak numune ve kör olmak üzere işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Doku homojenatı	0,25 mL	-
Distile su	-	0,25 mL
TCA	1,25 mL	1,25 mL
Vortekste karıştırılır ve 15 dk bekletilir.		
TBA	0,75 mL	0,75 mL
Vorteks ile karıştırılır ve 30 dk kaynar su banyosunda inkübe edilir.		
n-bütanol	2 mL	2 mL

İlave edilir. Vortekslenir ve 10 dk 3000 rpm'de santrifüj edilir. Bütanol fazı alınarak 532 nm'de köre karşı absorbanslar kaydedilir. MDA için saptanmış ekstinksiyon kat sayısı ($1{,}56.10^5$ $M^{-1}cm^{-1}$) kullanılarak sonuçlar hesaplanır.

5.7.3. Sıçan tükürük bezlerinde glutatyon-S-transferaz aktivitesi tayini

Prensip:

GST aktivitesi tayini, GSH ve 1-kloro-2,4-dinitro-benzenin (CDNB) konjugasyonu ile oluşan ürünün, 340 nm'deki absorbansının spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanır (Habig ve Jacoby, 1981).

Gerekli çözeltiler:

Sodyum fosfat tamponu (0,2 M, pH= 6,5): 0,534 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ ve 2,3 g KH_2PO_4 ayrı ayrı biraz distile suda çözülür, birbirine karıştırılır ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanır. Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 6,5 'e ayarlanır. +4^oC'de saklanır.

GSH (60 mM):1,84 g GSH biraz distile suda çözülür ve hacmi 100 mL'ye tamamlanır. Taze hazırlanır.

1-klor-2,4-dinitro-benzen (CDNB) (60 mM) : Absolü etanolde taze hazırlanır. 1,22 g CDNB tartılır ve biraz etanolde çözülür. Sonra hacmi 100 mL'ye tamamlanır. Taze hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

% 10 g'lık doku homojenatı 10 dakika 4000 rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant alınır ve gerekli oranda serum fizyolojik ile seyreltilerek çalışılır. Numune ve kör olarak işaretlenmiş iki tüp alınır ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Dilue süpernatant	0,5 mL	-
SF veya Distile Su	-	0,5 mL
Fosfat Tamponu	1,5 mL	1,5 mL
GSH çözeltisi	0,05 mL	0,05 mL
CDNB çözeltisi	0,05 mL	0,05 mL
Distile su	0,90 mL	0,90 mL
Toplam Hacim	3 mL	3 mL

Karıştırılır. 3 dakika süre (0., 1., 2., 3. dakikalarda) ile karışımın 340 nm'de (25 ^oC) absorbansları izlenir ve kaydedilir. Absorbans artışı hesaplanır. Glutatyon ve CDNB'nin konjugasyonu sonucu oluşan ürün için saptanmış olan ekstrinksiyon katsayısı 9,6 mM^{-1} x cm^{-1} kullanılarak sonuçlar hesaplanır. Enzimsel konjugasyon sonucundan, enzimsel olmayan konjugasyon değerleri çıkarılır.

5.7.4. Sıçan tükürük bezlerinde katalaz aktivitesi tayini

Prensip:

KAT; H_2O_2'nin, H_2O'ya dönüşüm reaksiyonunu katalizler. Bu dönüşüm 240 nm'de absorbansın azalması ile takip edilebilir. 1 dk'da absorbanstaki azalma KAT aktivitesi ile ilgilidir (Aebi, 1974).

Gerekli Çözeltiler:

Fosfat tamponu (50 mM, pH=7,0) : a) 6,81 g KH_2PO_4 ve b) 8,90 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ tartılıp ayrı ayrı biraz distile suda çözüldükten sonra hacimleri ayrı ayrı distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır. Kullanılacağı vakit a'dan 1 hacim b'den 1,5 hacim alınarak karıştırılır (pH=7,0 olmalı). +4ºC'de saklanır. Fosfat tamponu bakteriyal kontaminasyon olmadığı sürece stabildir, kullanılabilir.

H_2O_2 çözeltisi (30 mM) + Fosfat tamponu : Yoğunluğu d=1,11 g/mL olan % 30 g'lık H_2O_2 çözeltisinden 0,31 mL alınır ve 50 mM'lık fosfat tamponu (pH=7,0) ile 100 mL'ye seyreltilir (taze hazırlanır).

Deneyin Yapılışı:

% 10 g'lık doku homojenatı 10 dakika 4000 rpm de santrifüj edilir. Süpernatant alınır ve gerekli oranda serum fizyolojik ile seyreltilerek çalışılır. Süpernatant dilue edildikten sonra 5-10 dakika içinde mutlaka çalışılmalıdır. Numune ve kör olarak işaretlenmiş 2 ayrı deney tüpü alınır. Aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Fosfat tamponu	-	0,2 mL
Dilue süpernatant	0,4 mL	0,4 mL
H_2O_2 çözeltisi + fosfat tamponu	0,2 mL	-

İlave edilir ve karıştırılır. 1 dk sonra 240 nm'de absorbansları okunarak kaydedilir. Sonuçlar bu deney için ekstinksiyon katsayısı 0,004 (0,00394) mM^{-1}/ mm^{-1} göz önüne alınarak hesaplanır.

5.7.5. Sıçan tükürük bezlerinde süperoksit dismutaz aktivitesi tayini

Prensip:

SOD aktivitesi, riboflavin ile uyarılmış o-dianisidinin foto-oksidasyon hızını arttırma yeteneği olarak ölçülür. Riboflavinin floresans ışığı etkisiyle oluşturduğu süperoksit radikali, ortamdaki SOD'un etkisiyle H_2O_2'ye dönüşür. H_2O_2 ise o-dianisidin ile

reaksiyona girerek renkli ürün oluşturur. SOD aktivitesi ne kadar çok ise renkli ürün oluşumu da o kadar fazla olur. Oluşan renkli ürünün absorbansı 460 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Mylorie ve ark., 1986).

Gerekli Çözeltiler:

Fosfat Tamponu (50 mM, pH = 7,8): 0,36 gram KH_2PO_4 ve 0,697 gram K_2HPO_4 tartılıp ayrı ayrı biraz distile su içinde çözülür, birleştirilir ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır. Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 7,8'e ayarlanır. +4^oC'de saklanır.

Fosfat tamponu + 0,1 mM'lık Na-EDTA: 0,0037 gram Na-EDTA tartılır, biraz 50 mM'lık fosfat tamponunda çözülür ve hacmi 50 mM'lık fosfat tamponu ile 100 mL'ye tamamlanır.

Potasyum fosfat tamponu (10 mM, pH=7,5): 0,041 gram KH_2PO_4 ve 0,122 gram K_2HPO_4 tartılıp ayrı ayrı biraz distile su içinde çözülür, birleştirilir ve hacmi distile su ile100 mL'ye tamamlanır. Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 7,5'a ayarlanır. +4^oC'de saklanır.

Riboflavin (0,2 mM): 7,5 mg riboflavin 100 mL potasyum fosfat tamponunda (10 mM'lık, pH = 7,5) çözülür.

o- dianisin (6 mM): 19 mg o-dianisin.2HCl 10 mL distile suda çözülür.

SOD (120 IU /mL) stok standardı (Sigma S-2515-3000 U): Liofilize SOD standardı 120 IU /mL olacak şekilde soğuk distile su ile çözülür. Daha sonra bu stok standarttan uygun hacimler alınarak deney ortamında 3, 6, 9, 12 ünite SOD olması sağlanır.

Deneyin Yapılışı:

% 10 g'lık doku homojenatı 10 dakika 4000 rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant alınır tam veya gerekli oranda serum fizyolojik ile seyreltilerek çalışılır. Numune, standart ve kör olmak üzere 3 deney tüpü alınır.

	Numune	Standart (3 U)	Standart (6 U)	Standart (9 U)	Standart (12 U)	Kör
Fosfat Tamponu	2,6 mL	2,6 mL	2,6 mL	2,6 mL	2,6 mL	2,6 mL
o- dianisidin	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL
Distile Su	-	0,075 mL	0,05 mL	0,025 mL	-	0,1 mL
Stok standart	-	0,025 mL	0,05 mL	0,075 mL	0,1 mL	-
Dilue süpernetant	0,1 mL	-	-	-	-	-

Her tüpe 30 sn ara ile 0,2 mL riboflavin konur, karıştırılır. 460 nm 'de absorbans okunur. Sonra tüpler oda sıcaklığında 20 W Floresans lamba bulunan kutu içinde 8 dk inkübe edilir. 460 nm'de absorbans okunur. Lamba 20 dk önceden açılır ve ısınması sağlanır. Standart grafiği çizilerek sonuçlar hesaplanır.

5.7.6. Sıçan tükürük bezlerinde total siyalik asit tayini

Prensip:

SA, periyodik asit oksidayonuna uğrayarak, β-formilpürivik asit oluşur. Bu bileşik 2 mol tiyobarbütirik asit ile reaksiyonlaşarak, 549 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir bileşik oluşturur. Bu ürün stabil değildir, bu nedenle siklohegzanon fazına çekilir. Oluşan rengin şiddeti 549 nm'de maksimum absorbansa sahiptir (Warren, 1959).

Gerekli Çözeltiler:

0,1 N H_2SO_4: 1 L'lik bir ölçü kabına bir miktar distile su ilave ettikten sonra üzerine 2,72 mL derişik sülfürik asit çözeltisinden (d= 1,84 g/ mL, %98 g/g'lık) konur ve hacim distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır.

9 M fosforik asit çözeltisi: 250 mL'lik bir ölçü kabına bir miktar distile su ilave edildikten sonra üzerine yavaş yavaş derişik fosforik asit (d=1,88 g/ mL, %85 g/g'lık) çözeltisinden 151, 7 mL konur, hacmi distile sui le 250 mL'ye tamamlanır.

0,2 M Sodyum meta periyodat : 10,695 g sodyum meta periyodat 9 M fosforik asit çözeltisiyle hacmi 250 mL'ye tamamlanır.

0,5 M sodyum sülfat (0,1 N H_2SO_4 içerisinde) :500 mL'lik bir balon jojeye 35,51 g sodyum sülfat bir miktar 0,1 N sülfürik asit içinde çözüldükten sonra hacim 500 mL'ye 0,1 N sülfürik asit ile tamamlanır.

%10 g Sodyum arsenit (0,1 N sülfürik asitte hazırlanan 0,5 M sodyum sülfat içerisinde): 10 g sodyum arsenit tartılır bir miktar 0,5 M sodyum sülfat içerisinde çözülür, hacim 0,5 M sodyum sülfat ile 100 mL'ye tamamlanır.

% 0,6 g TBA (0,1 N sülfürik asitte hazırlanan 0,5 M sodyum sülfat içerisinde): 0,6 g TBA tartılır bir miktar 0,5 M sodyum sülfat içerisinde çözülür, hacim 0,5 M sodyum sülfat ile 100 mL'ye tamamlanır (Kullanılacağı zaman taze hazırlanır).

Siklohekzanon: Direk olarak orijinal şişesinden kullanılır.

Deneyin yapılışı:

% 10 g'lık doku homojenatı 10 dakika 3000 rpm de santrifüj edilir. Süpernatant ayrılır. 180 µL 0,1 N H_2SO_4 ile 20 µL süpernatant karıştırılır, tüplerin ağzı kapatılarak 1 saat 80 °C'de etüvde hidroliz edilir. Elde edilen hidrolizat numune olarak işaretlenmiş bir deney tüpüne koyularak aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Hidrolizat	0,2 mL	-
0,2 M sodyum metaperiyodat	0,1 mL	-
20 dakika oda sıcaklığında bekletilir.		
%10 g sodyum arsenit	1 mL	
Meydana gelen sarı renk kaybolunca kadar çalkalanır.		
% 0,6 g TBA	3 mL	-
100 C° 'lik su banyosunda 15 dakika bekletilir. Bu süre sonunda tüpler su banyosundan alınarak buzlu su içinde oda ısısına soğutulur.		
Siklohegzanon	-	4,3 mL

Kör olarak siglohekzanon kullanılır. Organik fazın renk şiddeti 549 nm'de okunur. Sonuçlar ekstinksiyon katsayısı ($57000/M^{-1}cm^{-1}$) kullanılarak hesaplanır.

5.7.7. Sıçan tükürük bezlerinde nitrik oksit seviyesi tayini

Prensip:

Nitrat, vanadyum (III) klorür (VCl_3) ile nitrite indirgenir. Nitrit ile sülfanilamidin asidik ortamda N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür ile reaksiyonu sonucu

kompleks diazonyum bileşiği oluşur ve bu renkli kompleks 540 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Miranda ve ark., 2001).

Gerekli Çözeltiler:

NaOH çözeltisi (0,3 M): 0,6 g NaOH tartılarak bir miktar distile suda çözülür. Hacim 50 mL'ye distile su ile tamamlanır.

ZnSO4 (%10 g): 5 g $ZnSO_4$ veya 8,9 g $ZnSO_4.7H_2O$ tartılır. Bir miktar distile suda çözülerek 50 mL'ye distile su ile tamamlanır.

HCl (1 M): 50 mL distile su üzerine derişik HCl'den 4,2 mL yavaş yavaş ilave edilir, karıştırılır.

VCl_3: 0,4 g VCl_3 bir miktar 1M HCl'de çözülerek üzeri 5 mL'ye aynı çözeltiyle tamamlanır.

Seyreltik HCl : 25 mL distile su üzerine yoğunluğu d=1,19 g/mL olan %37'lik HCl den 2,86 mL yavaş yavaş ilave edilir.

SULF (Sülfanilamid) (%2): 0,5 g sülfanilamid tartılarak 25 mL seyreltik HCl içerisinde çözülür.

NEDD (N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür) (%0,1 g): 0,025 g NEDD tartılarak bir miktar deiyonize suda çözülür. Üzeri 25 mL'ye deiyonize suyla tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

Doku homojenatı 10 dk 4000 rpm'de santrifüj edilir. 0,3 mL süpernatant alınarak üzerine 0,3 mL 0,3 M NaOH ilave edilir. Oda sıcaklığında 5 dk bekletilir. 0,3 mL %10'luk $ZnSO_4$ ilave edilerek vortekslenir. 5 dk +4 °C'de 14000 rpm'de santrifüj edilir. Üst faz alınarak 5 dk +4 °C'de 14000 rpm'de santrifüj edilir. 2 adet deney tüpü kör ve numune olarak işaretlenir, aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Deproteinize Sıvı	0,3 mL	-
Distile Su	-	0,6 mL
VCl_3	0,3 mL	0,3 mL
SULF	0,15 mL	-
NEDD	0,15 mL	-
30 dk 37 °C'de etüvde inkübe edilir.		

Köre karşı 540 nm'de absorbans kaydedilir. Sonuçlar 53000 M^{-1} /cm $^{-1}$ ekstinsiyon katsayısı kullanılarak hesaplanır.

5.7.8. Sıçan tükürük bezlerinde doku faktörü aktivitesi tayini

Prensip:

Dokuların DF aktiviteleri Quick metoduna göre tespit edilir. Tromboplastin kaynağı olarak doku homojenatı kullanılır. $CaCl_2$ ilavesinden sonra fibrin oluşumu için geçen süre tayin edilir. Aktivite süre ile ters orantılı olarak değişir (Ingram ve Hills, 1976).

Gerekli Çözeltiler:

Sodyum sitrat çözeltisi (%3,8 g) : 3.8 g sodyum sitrat biraz distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Plazma : Sağlıklı kişiden sitratlı kan (9 mL kan + 1 mL % 3,8 g'lık sitrat) alınarak plazması ayrılır.

Stok kalsiyum klorür çözeltisi (0,2 M) : 2,22 gram $CaCl_2$ biraz distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.

Seyreltik kalsiyum klorür çözeltisi (0,02 M) : 1 mL stok kalsiyum klorür çözeltisi üzerine 9 mL distile su konur ve karıştırılır. 37 ºC'de tutulur. Taze hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

37ºC'lik su banyosunda küçük bir deney tüpü içine;

Doku homojenatı	0,1 mL
İlave edilir ve 2 dk inkübe edilir.	
Plazma	0,1 mL
İlave edilir ve karıştırılır 30 saniye inkübe edilir	
0,02 M lık $CaCl_2$ çözeltisi	0,1 mL
İlave edilir ve karıştırılır. Pıhtı oluşumu için geçen süre kronometre ile tayin edilir.	

5.7.9. Sıçan tükürük bezlerinde protein tayini

Prensip:

Bu metotta önce proteinler alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyona sokulur. Daha sonra fosfomolibdik fosfotungstik asit reaktifi (folin reaktifi) ile indirgenir. Oluşan mavi rengin şiddeti spektrofotometrik olarak değerlendirilir. Oluşan mavi rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile orantılıdır (Lowry ve ark., 1951).

Gerekli Çözeltiler:

A çözeltisi : Sodyum karbonat çözeltisi (% 2 g, 0,1 N NaOH'teki); 0,4 g NaOH biraz suda çözülür ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır. 2 g sodyum karbonat hazırlanan 0,1 N NaOH çözeltisinde çözülür ve hacmi 100 mL'ye 0,1 N NaOH çözeltisi ile tamamlanır.

Bakır sülfat çözeltisi (% 1 g) : 1 g bakır sülfat biraz distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Sodyum potasyum tartarat çözeltisi (% 2 g): 2 g sodyum potasyum tartarat biraz distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

B çözeltisi : %1 g'lık bakır sülfat çözeltisi ile % 2 g'lık sodyum potasyum tartarat çözeltisi eşit hacimde (1/1) karıştırılarak kullanılır (kullanılacağı zaman taze hazırlanır).

C çözeltisi : 50 mL A çözeltisi ve 1 mL B çözeltisi karıştırılarak kullanılır (kullanılacağı zaman taze hazırlanır).

Folin çözeltisi : Orijinal şişesinden alınarak kullanıldı.

Serum fizyolojik (% 0,9 g NaCl) : 0,9 g NaCl biraz suda çözülür ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.

Protein stok standart çözeltisi (% 100 mg'lık albümin çözeltisi): 100 mg albümin biraz serum fizyolojikte çözüldükten sonra hacmi 100 mL'ye serum fizyolojik ile tamamlanıp hazırlanır.

Protein çalışma standart çözeltileri : Stok çözeltiden uygun hacimler alınarak % 5, 10, 15 mg albümin ihtiva edecek şekilde serum fizyolojik ile seyreltilerek hazırlanır

Deneyin Yapılışı:

5 deney tüpü alınarak numune (N), standart 1 (St_1), standart 2 (St_2), standart 3 (St_3) ve kör (K) olmak üzere işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune (N)	St_1 % 5 mg Albümin	St_2 % 10 mg Albümin	St_3 % 15 mg Albümin	Kör (K)
Albümin (%100 mg)	-	25 µL	50 µL	75 µL	-
Doku homojenatı (veya süpernatanat)	10 µL	-	-	-	-
Serum fizyolojik	490 µL	475 µL	450 µL	425 µL	0,5 mL
Toplam hacim	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL
Vortekste karıştırılır.					
C çözeltisi	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL
Vortekste iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.					
Folin ayıracı	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL

Vortekste iyice karıştırılır, oda sıcaklığında 30 dk bekletilir. 30 dk. sonunda 500 nm'de köre karşı absorbanslar kaydedilir. Standart grafiği çizilir. Doku protein miktarı hesaplanır.

5.7.10. Sıçan tükürük bezlerinde total oksidan seviyesi tayini

Prensip:

Bu metot Erel'in yöntemine göre yapılmıştır Numunede içinde bulunan oksidanlar, ferröz iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyonuna oksitler. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bulunan gliserol molekülleri tarafından güçlendirilir. Ferrik iyonu asidik ortamda ksilenol oranj ile renkli bir kompleks oluşturur. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan oksidan moleküllerin toplam miktarı ile ilişkilidir (Erel, 2005).

Gerekli Çözeltiler:

Gliserol çözeltisi (Stok): Orijinal şişesinden kullanılır.

H_2SO_4 çözeltisi (25 mM): Bir miktar distile su üzerine %98'lik yoğunluğu 1,84 g/mL olan H_2SO_4 çözeltisinden 0,136 mL ilave edilir. Daha sonra hacim diştile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Reaktif 1: 0,818 g NaCl ve 11,41 mg ksilenol oranj ayrı ayrı bir miktar H_2SO_4 çözeltisinde (25 mM) çözülür. Daha sonra birbirine karıştırılır. Stok gliserol çözeltisinden 11,72 mL alınarak çözeltiye eklenir ve hacim H_2SO_4 çözeltisi (25 mM) ile 100 mL'ye tamamlanır. pH=1,75 olmalıdır.

Çalışma Standartları: Konsantrasyonu %30 (g/g) ve yoğunluğu 1,11 g/mL olan H_2O_2 çözeltisinden distile su ile uygun seyreltmelerle 12,5, 25 ve 50 µM'lık çalışma standartları hazırlanır.

Reaktif 2: 0,317 g o-dianisidin-HCl ve 0,196 g ferroz amonyum sülfat ayrı ayrı bir miktar H_2SO_4 çözeltisinde (25 mM) çözülür. Daha sonra birbirine karıştırılır ve hacim H_2SO_4 çözeltisi (25 mM) ile 100 mL'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

%10 g'lık doku homojenatı 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant alınır ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune körü	Numune
Reaktif 1	225 µL	225 µL
Standart / Süpernatant	35 µL	35 µL
Reaktif 2	-	11 µL
	Karıştırılır, 560 nm'de ilk absorbans okunur.	Karıştırılır, 3-4 dk inkübe edildikten sonra 560 nm'de son absorbans okunur.
Son okunan absorbanstan ilk okunan absorbans değeri çıkarılır. Çizilen standart grafiği yardımıyla total oksidan seviyesi µmol H_2O_2 Equiv/L olarak hesaplanır.		

5.7.11. Sıçan tükürük bezlerinde total antioksidan seviyesi tayini

Prensip:

Bu method Erel'in yöntemine göre yapılmıştır ve 2,2-Azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-sülfonik asitin (ABTS) karakteristik renginin ağartılmasına dayandırılmaktadır. Numunede bulunan antioksidanlar, ağartma oranını konsantrasyonlarıyla orantılı bir derecede hızlandırır. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak izlenebilir ve ağartma hızı numunenin TAS'ı ile ters orantılıdır (Erel, 2004).

Gerekli Çözeltiler:

Reaktif 1 (Asetat tamponu (0,4 M pH=5,8): 5 g $NaCH_3COO.3H_2O$ ve 0,188 ml CH_3COOH (%100 g/g, d=1,05 g/mL, Ma=60,05) bir miktar distile suda çözülür. Daha sonra hacimleri distile su ile 100 mL'ye tamamlanır (hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 5,8 olacak şekilde ayarlanır)

Asetat tamponu (30 mM pH=3,6): 0,027 g $NaCH_3COO.3H_2O$ ve 0,16 ml CH_3COOH bir miktar distile suda çözülür. Daha sonra hacimleri distile su ile 100 mL'ye tamamlanır (hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 3,6 olacak şekilde ayarlanır)

Fosfat tamponu (30 mM, pH 7,4): 0,34 g Na_2HPO_4 ve 0,091 g $NaH_2PO_4.2H_2O$ tartılır, ayrı ayrı bir miktar distile suda çözülür, birleştirilir ve distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlanır. (Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan pH kontrol edilir ve pH 7,4'e ayarlanır).

H_2O_2 çözeltisi (2 mM): %30 g'lık yoğunluğu d=1,11 g/mL olan H_2O_2 çözeltisinden 0,204 mL alınarak hacim asetat tamponu (30 mM, pH 3,6) ile 1 mL'ye tamamlanır. Hazırlanan çözelti 3 defa 1/10 oranında asetat tamponu (30 mM, pH 3,6) ile seyreltilir.

Reaktif 2 (ABTS) (10 mM): 55 mg ABTS tartılarak 10 mL H_2O_2 çözeltisi (2 mM) içinde çözülür.

Stok standart (6 mM): 15 mg Trolox tartılarak 10 mL fosfat tamponunda (30 mM, pH:7,4) çözülür.

Çalışma Standartları: 6 mM'lik stok Trolox çözeltisinden fosfat tamponu ile (30 mM, pH:7,4) uygun seyreltmelerle 0,5, 1, 2 ve 3 mM'lık çalışma standartları hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

%10 g'lık doku homojenatı 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant alınır ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune körü	Numune
Reaktif 1	200 µL	200 µL
Standart / Süpernatant	5 µL	5 µL
Reaktif 2	-	20 µL
	Karıştırılır, 660 nm'de ilk absorbans okunur.	Karıştırılır, 5 dk inkübe edildikten sonra 660 nm'de son absorbans okunur.

Son okunan absorbanstan ilk okunan absorbans değeri çıkarılır. Çizilen standart grafiği yardımıyla total antioksidan seviyesi mmol Trolox equiv/L olarak hesaplanır.

5.7.12. Sıçan tükürük bezlerinde bor tayini

Prensip:

Bu yöntem sülfirik asitli ortamda, karminik asit ve borun tepkimesi ile meydana gelen renkli kompleksin spektrofotometrik olarak 585 nm'deki absorbansının değerlendirilmesi temeline dayanır. Tayin edilecek maddedeki bor konsantrasyonuna bağlı meydana gelen kompleksin rengi parlak kırmızıdan mavimsi kırmızıya veya maviye dönüşür. Çalışmamızda Hatcher ve Wilcox'un bu metodu modifiye edilerek kullanıldı. (Hatcher ve Wilcox, 1950; Kuru ve ark., 2019).

Gerekli Çözeltiler:

Stok bor çözeltisi (10 ppm): 571,6 mg borik asit tartılarak bir miktar distile suda çözülür. Hacim 100 mL'ye distile su ile tamamlanır. Hazırlanan çözelti 2 defa 1/10 oranında distile su ile seyreltilir (İlk seyreltmede 100 ppm'lik, ikinci seyreltmede ise 10 ppm'lik çözelti elde edilir).

Çalışma Standartları: 10 ppm'lik stok bor çözeltisinden uygun seyreltmelerle 1, 2, 4, 8, 10 ppm'lik çalışma standartları hazırlanır.

Hidroklorik asit çözeltisi (6N): Balon jojede bir miktar distile suya yavaşça 49,6 mL derişik HCl karıştırılarak ilave edilir. Çözeltinin hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.

Karmin reaktifi (0,4 mM): 9,2 mg karminik asit tartılarak hacmi derişik sülfat asidi ile 50 mL'ye tamamlanır (taze hazırlanır).

Sodyum hidroksit çözeltisi (1N): 4 g NaOH tartılarak bir miktar distile suda çözülür. Daha sonra hacim 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

Bor tayini yapılacak örnek yüksek sıcaklığa dayanıklı porselen kroze içine alınır ve NaOH (1N) ile alkali yapıldıktan sonra etüvde 75°C'de 1 gece bekletilir. Kroze kül fırınına yerleştirilir ve 4 saat boyunca 550°C'de yakılır. Desikatörde oda sıcaklığına gelene kadar soğuması beklenir. Distile su ile ıslatılır, her örnek için gramı başına 3 mL 6 N HCL eklenir. Distile su ile uygun hacime seyreltilir. 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatanttan 0,2 mL alınır, aşağıdaki gibi çalışılır.

			Bor Çalışma Standartları				
	Numune	**Kör**	**1 ppm**	**2 ppm**	**4 ppm**	**8 ppm**	**10 ppm**
Örnek	0,2 mL	-	-	-	-	-	-
Stok Bor Çözeltisi (10 ppm)	-	-	0,02 mL	0,04 mL	0,08 mL	0,16 mL	0,2 mL
Distile Su	-	0,2 mL	0,18 mL	0,16 mL	0,12 mL	0,04 mL	-
Konsantre HCL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL
Konsantre H_2SO_4	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Karmin Reaktifi	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL

Her tüp vorteksle karıştırılır. En az 45 dk beklenir ve absorbanslar 585 nm'de köre karşı spektrofotometrede okunur. Standart grafiği yardımıyla örneklerdeki bor konsantrasyonları ppm cinsinden hesaplanır.

5.8. İstatiksel Analiz

İstatistiksel analiz Graphpad Prism 9.0 (Graphpad Yazılım, San Diego, Ca, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm veriler ortalama ± ortalama standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. Biyokimyasal veri grupları varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey testi kullanılarak karşılaştırılmış olup $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Tükürük Bezlerinde İncelenen Parametrelerin Sonuçları

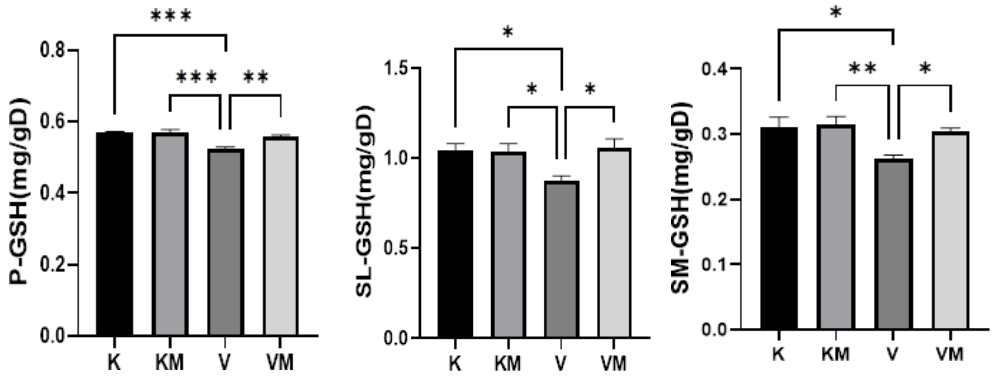
6.1.1. Glutatyon sonuçları

Tükürük bezlerinde GSH değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$, $p<0,01$) (Tablo 3, Şekil 8).

Tablo 3. Tükürük bezlerinde GSH değerleri (mg/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-GSH (mg/g D)	Ortalama değer	0,569	0,569	0,524	0,558
	Standart hata	0,004	0,010	0,006	0,006
SM-GSH (mg/g D)	Ortalama değer	0,311	0,315	0,263	0,305
	Standart hata	0,015	0,012	0,005	0,005
SL-GSH (mg/g D)	Ortalama değer	1,044	1,040	0,873	1,060
	Standart hata	0,0378	0,042	0,031	0,050

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **GSH:** Glutatyon, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 8. Tükürük bezlerinde GSH değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **GSH:** Glutatyon, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:**Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, ***p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.**

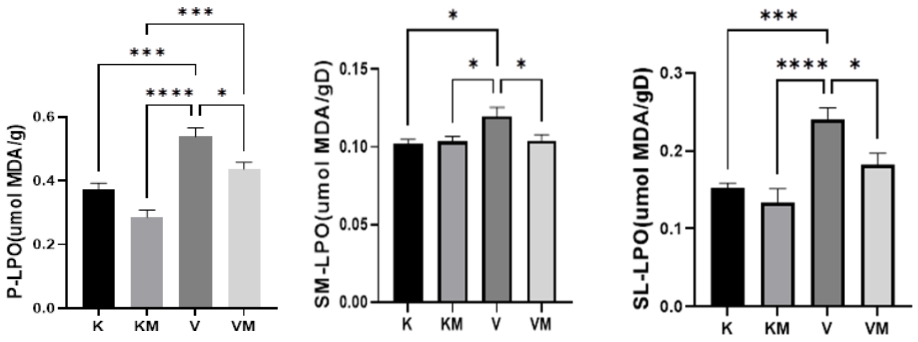
6.1.2. Lipid peroksidasyon sonuçları

Tükürük bezlerinde LPO değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$, $p<0,001$, $p<0,0001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı ($*p<0,05$) olarak azaldı (Tablo 4, Şekil 9).

Tablo 4. Tükürük bezlerinde LPO değerleri (µmol MDA/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-LPO (µmol MDA/g D)	Ortalama değer	0,373	0,286	0,540	0,438
	Standart hata	0,020	0,022	0,026	0,021
SM-LPO (µmol MDA/g D)	Ortalama değer	0,103	0,104	0,120	0,104
	Standart hata	0,003	0,003	0,006	0,006
SL-LPO (µmol MDA/g D)	Ortalama değer	0,153	0,134	0,240	0,183
	Standart hata	0,006	0,018	0,016	0,015

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **LPO:** Lipid peroksidasyonu, **MDA:** Malondialdehit, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 9. Tükürük bezlerinde LPO değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **LPO:** Lipid peroksidasyonu, **MDA:** Malondialdehit**, K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, ***p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.**

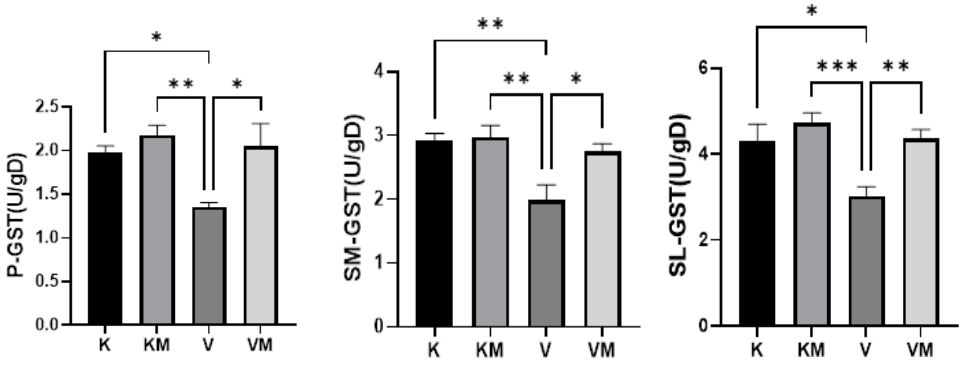
6.1.3. Glutatyon-S-Transferaz aktivitesi sonuçları

Tükürük bezlerinde GST aktivitesi V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$, $p<0,01$) (Tablo 5, Şekil 10).

Tablo 5. Tükürük bezlerinde GST aktivitesi değerleri (U/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-GST (U/g D)	Ortalama değer	1,978	2,179	1,355	2,049
	Standart hata	0,075	0,110	0,047	0,259
SM-GST (U/g D)	Ortalama değer	2,924	2,975	1,979	2,743
	Standart hata	0,105	0,182	0,249	0,127
SL-GST (U/g D)	Ortalama değer	4,313	4,716	3,021	4,355
	Standart hata	0,382	0,239	0,219	0,211

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **GST:** Glutatyon-S-transferaz, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 10. Tükürük bezleri GST aktivitesinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **GST:** Glutatyon-S-transferaz, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, ***p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001**

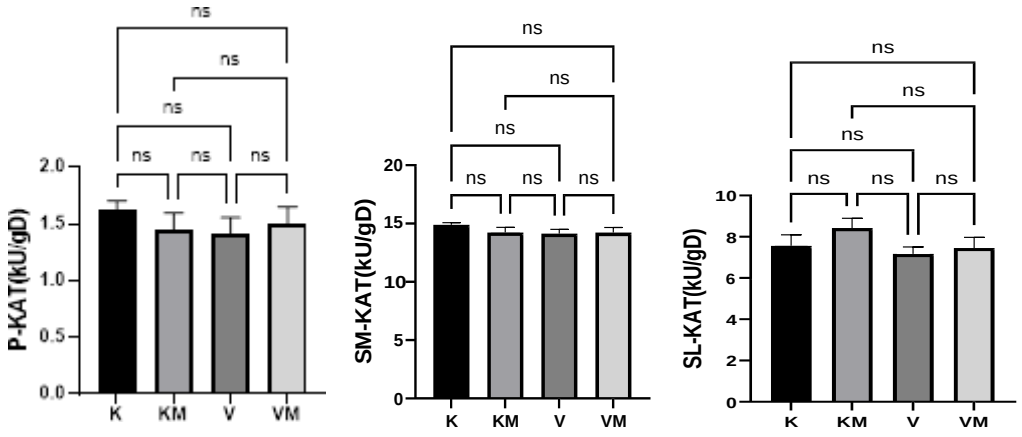
6.1.4. Katalaz aktivitesi sonuçları

Tükürük bezleri KAT aktiviteleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı (p>0,05) (Tablo 6, Şekil 11).

Tablo 6. Tükürük bezlerinde KAT aktivitesi değerleri (kU/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-KAT (kU/g D)	Ortalama değer	1,631	1,448	1,408	1,496
	Standart hata	0,070	0,148	0,148	0,154
SM-KAT (kU/g D)	Ortalama değer	14,890	14,240	14,140	14,220
	Standart hata	0,180	0,440	0,357	0,437
SL-KAT (kU/g D)	Ortalama değer	7,566	8,421	7,174	7,455
	Standart hata	0,527	0,476	0,330	0,519

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **KAT:** Katalaz, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 11. Tükürük bezleri KAT aktivitesinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **KAT:** Katalaz, **K:** Kontrol grup, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grup, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, **ns: p>0,05(anlamsız).**

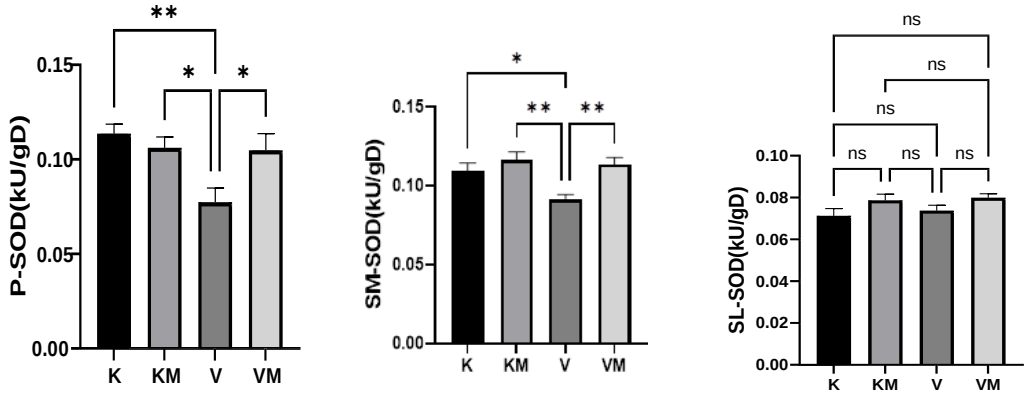
6.1.5. Süperoksit dismutaz aktivitesi sonuçları

Parotis ve submandibular tükürük bezlerinde SOD aktivitesi V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$, $p<0,01$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$, $p<0,01$). Ancak sublingual tükürük bezinde gruplar arasında SOD aktivitesinde anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 7, Şekil 12).

Tablo 7. Tükürük bezlerinde SOD aktivitesi değerleri (kU/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-SOD (kU/g D)	Ortalama değer	0,114	0,106	0,078	0,105
	Standart hata	0,005	0,006	0,008	0,009
SM-SOD (kU/g D)	Ortalama değer	0,109	0,116	0,091	0,114
	Standart hata	0,005	0,005	0,003	0,004
SL-SOD (kU/g D)	Ortalama değer	0,071	0,079	0,074	0,080
	Standart hata	0,004	0,003	0,003	0,002

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku **SOD:** Süperoksit dismutaz, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 12. Tükürük bezleri SOD aktivitesinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **SOD:** Süperoksit dismutaz, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, **p<0.05, **p<0.01; ns: p>0,05(anlamsız).**

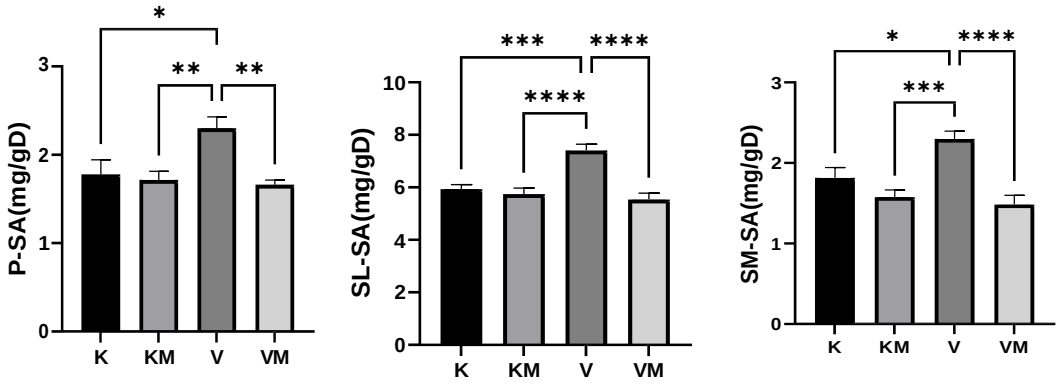
6.1.6. Siyalik asit sonuçları

Tükürük bezlerinde SA değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$, $p<0,0001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı ($p<0,01$; $p<0,0001$) olarak azaldı (Tablo 8, Şekil 13).

Tablo 8. Tükürük bezlerinde SA değerleri (mg/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-SA (mg/g D)	Ortalama değer	1,779	1,718	2,301	1,661
	Standart hata	0,164	0,097	0,127	0,052
SM-SA (mg/g D)	Ortalama değer	1,814	1,575	2,298	1,483
	Standart hata	0,129	0,088	0,097	0,113
SL-SA (mg/g D)	Ortalama değer	5,935	5,743	7,413	5,546
	Standart hata	0,172	0,230	0,236	0,23

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **SA:** Siyalik asit, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 13. Tükürük bezleri SA değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** doku, **SA:** Siyalik asit, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, ***p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001; ****p<0,0001**.

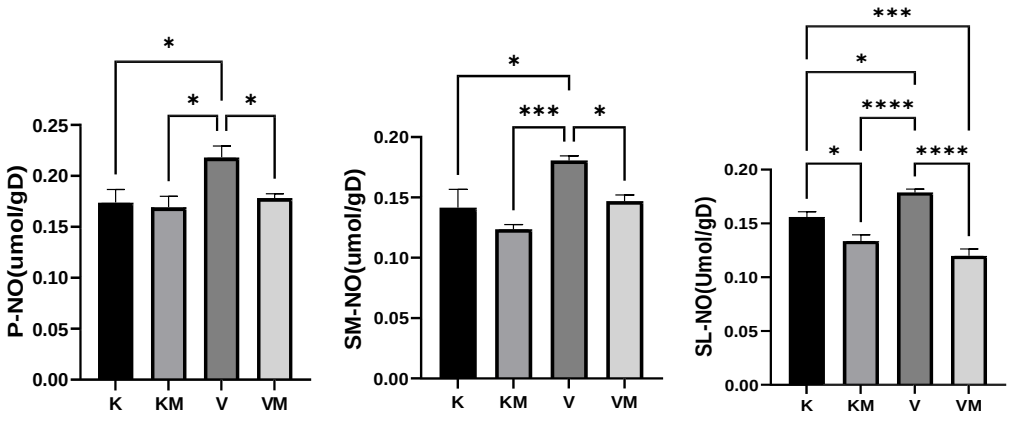
6.1.7. Nitrik oksit sonuçları

Tükürük bezlerinde NO değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$, $p<0,001$, $p<0,0001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı ($p<0,05$; $p<0,0001$) olarak azaldı (Tablo 9, Şekil 14).

Tablo 9. Tükürük bezlerinde NO değerleri (µmol/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-NO (µmol/g D)	Ortalama değer	0,174	0,169	0,218	0,178
	Standart hata	0,013	0,010	0,011	0,004
SM-NO (µmol/g D)	Ortalama değer	0,142	0,124	0,181	0,147
	Standart hata	0,015	0,004	0,004	0,005
SL-NO (µmol/g D)	Ortalama değer	0,156	0,134	0,179	0,120
	Standart hata	0,005	0,006	0,003	0,006

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **NO:** Nitrit oksit, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 14. Tükürük bezleri NO değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **NO:** Nitrtit oksit, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, ***p<0.05, ***p<0,001; ****p<0.0001**.

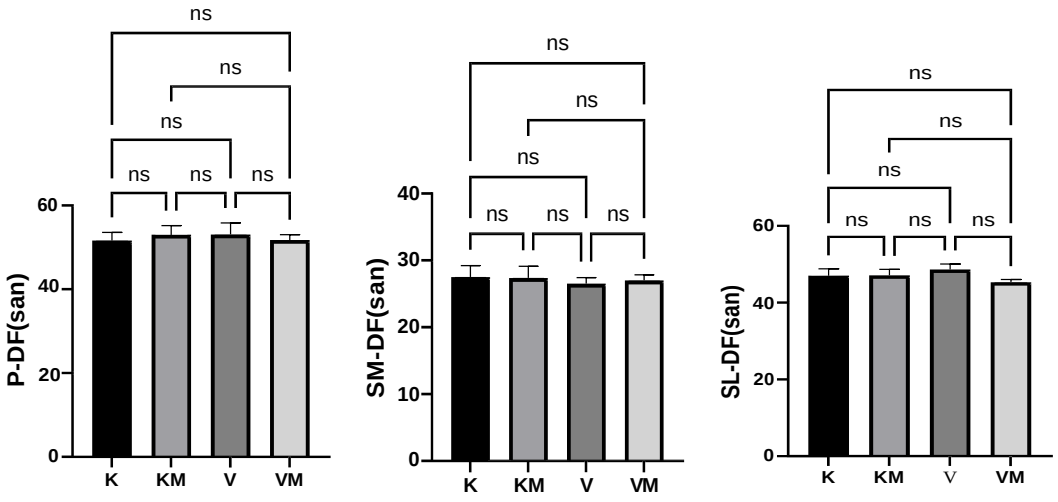
6.1.8. Doku faktörü aktivitesi sonuçları

Tükürük bezlerinde DF aktiviteleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı (p>0,05) (Tablo 10, Şekil 15).

Tablo 10. Tükürük bezlerinde DF aktivitesi değerleri (sn)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-DF (sn)	Ortalama değer	51,67	53,00	53,13	51,75
	Standart hata	1,970	2,228	2,748	1,319
SM-DF (sn)	Ortalama değer	27,50	27,38	26,50	27,00
	Standart hata	1,722	1,742	0,906	0,866
SL-DF (sn)	Ortalama değer	47,00	47,13	48,63	45,38
	Standart hata	1,803	1,552	1,426	0,653

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **DF:** Doku faktörü, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 15. Tükürük bezleri DF aktivitesinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **san:** Saniye, **DF:** Doku faktörü, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, **ns: p>0,05(anlamsız).**

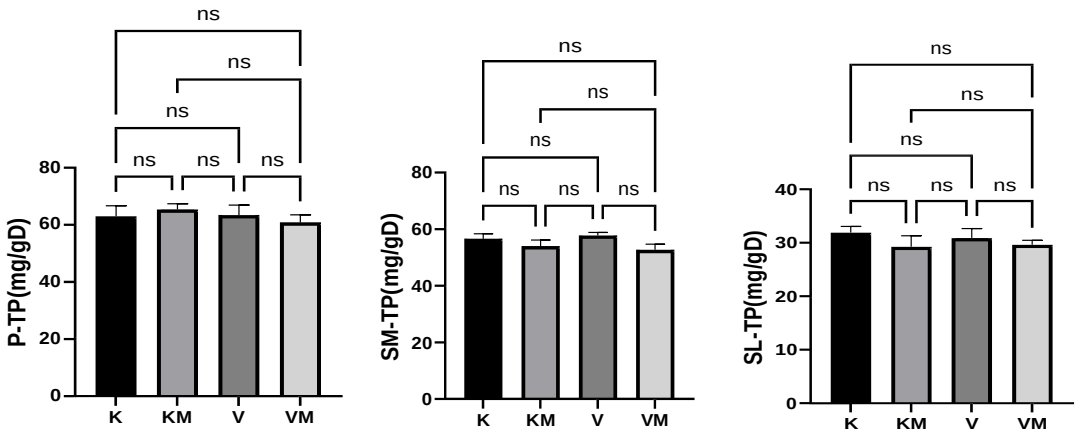
6.1.9. Total protein sonuçları

Tükürük bezlerinde TP değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı (p>0,05) (Tablo 11, Şekil 16).

Tablo 11. Tükürük bezlerinde TP değerleri (mg/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-TP (mg/g D)	Ortalama değer	63,06	65,40	63,47	60,91
	Standart hata	3,691	2,033	3,494	2,662
SM-TP (mg/g D)	Ortalama değer	56,61	54,05	57,81	52,77
	Standart hata	1,835	2,215	1,100	1,981
SL-TP (mg/g D)	Ortalama değer	31,89	29,26	30,89	29,62
	Standart hata	1,159	2,040	1,761	0,8209

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **TP:** Total Protein, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 16. Tükürük bezleri TP değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **TP:** Total protein, **D:** Doku, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, **ns: p>0,05(anlamsız).**

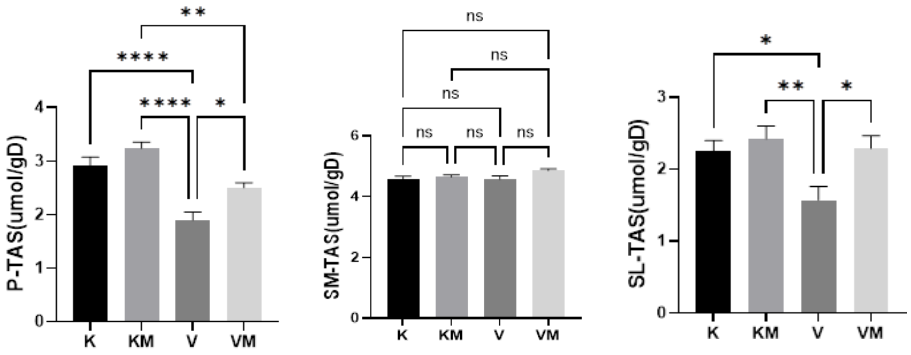
6.1.10. Total antioksidan seviyesi sonuçları

Parotis ve sublingual tükürük bezlerinde TAS değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$, $p<0,0001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$, $p<0,01$). Ancak submandibular tükürük bezinde gruplar arasında TAS değerinde anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 12, Şekil 17).

Tablo 12. Tükürük bezlerinde TAS değerleri (µmol/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-TAS (µmol/g D)	Ortalama değer	2,926	3,243	1,903	2,506
	Standart hata	0,150	0,117	0,147	0,0918
SM-TAS (µmol/g D)	Ortalama değer	4,583	4,650	4,584	4,865
	Standart hata	0,097	0,075	0,105	0,051
SL-TAS (µmol/g D)	Ortalama değer	2,253	2,423	1,569	2,288
	Standart hata	0,143	0,176	0,187	0,174

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **TAS:** Total antioksidan kapasite, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 17. Tükürük bezleri TAS değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **TAS:** Total antioksidan kapasite, **D:** Doku, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, ***p<0.05, **p<0.01, ****p<0.0001; ns: p>0,05(anlamsız).**

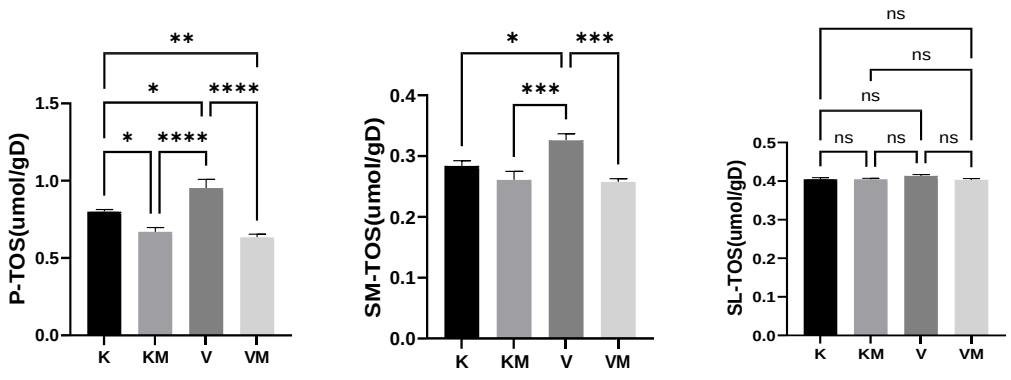
6.1.11. Total oksidan seviyesi sonuçları

Parotis ve submandibular tükürük bezlerinde TOS değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$, $p<0,001$, $p<0,0001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,001$, $p<0,0001$). Ancak sublingual tükürük bezinde gruplar arasında TOS değerinde anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 13, Şekil 18).

Tablo 13. Tükürük bezlerinde TOS değerleri (µmol/g D)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-TOS (µmol/g D)	Ortalama değer	0,800	0,669	0,951	0,634
	Standart hata	0,013	0,028	0,057	0,020
SM-TOS (µmol/g D)	Ortalama değer	0,284	0,261	0,326	0,258
	Standart hata	0,009	0,014	0,011	0,005
SL-TOS (µmol/g D)	Ortalama değer	0,405	0,405	0,414	0,404
	Standart hata	0,004	0,003	0,004	0,003

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **D:** Doku, **TOS:** Total oksidan kapasite, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 18. Tükürük bezleri TOS değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **TOS:** Total oksidan kapasite, **D:** Doku, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, ***p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001; ****p<0,0001; ns: p>0,05(anlamsız)**

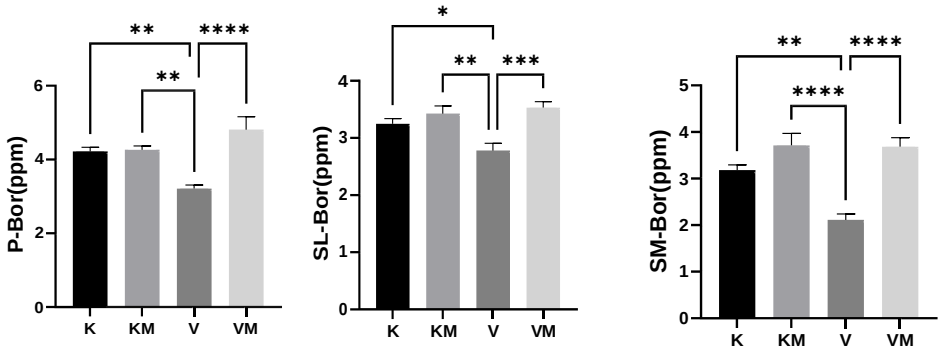
6.1.12. Bor sonuçları

Tükürük bezlerinde bor değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,0001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p<0,001$, $p<0,0001$) (Tablo 14, Şekil 19).

Tablo 14. Tükürük bezlerinde bor değerleri (ppm)

		K (n=8)	**KM (n=8)**	**V (n=8)**	**VM (n=8)**
P-Bor (ppm)	Ortalama değer	4,223	4,267	3,215	4,813
	Standart hata	0,113	0,106	0,096	0,349
SM-Bor (ppm)	Ortalama değer	3,183	3,713	2,109	3,685
	Standart hata	0,112	0,258	0,132	0,192
SL-Bor (ppm)	Ortalama değer	3,250	3,426	2,780	3,532
	Standart hata	0,089	0,134	0,127	0,103

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 19. Tükürük bezleri bor değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

P: Parotis tükürük bezi, **SM:** Submandibular tükürük bezi, **SL:** Sublingual tükürük bezi, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, ***p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001; ***p<0,001; ****p<0,0001.**

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

VPA veya sodyum valproat, yaygın veya fokal nöbetler için sıklıkla kullanılan bir antiepileptik ilaçtır. Ayrıca Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi tarafından manik depresif psikoz, majör depresif bozukluk ve travma sonrası stres bozukluğu dahil olmak üzere çeşitli psikiyatrik bozuklukların tedavisi için yetkilendirilmiş bir duygudurum düzenleyicidir (Wu ve ark., 2021).

Genel olarak hücrelerde pro-oksidan ve antioksidan sistemler arasında bir denge olmalıdır. Prooksidanlar ROS olarak sınıflandırılmakta olup, serbest radikalleri ve moleküler oksijenden türetilen diğer bazı molekülleri içermektedir. VPA da prooksidan faktörler arasındadır (Ghanizadeh ve ark., 2012).

VPA karaciğer, beyin ve ince bağırsak dahil olmak üzere çeşitli dokularda hücre içi ROS seviyelerini arttırır. Son yıllarda doğal bileşikler kanser, kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma, diyabet ve özellikle nörodejeneratif bozukluklara karşı umut verici terapötik ajan olarak kabul edilmektedir. VPA'nın, bozulmuş lipogenez, glukoneogenez ve üre metabolizması ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Iqbal ve ark., 2022).

VPA'nın metabolizması sonucu karaciğer tarafından birçok metabolit üretilir. VPA'nın hepatotoksisite mekanizması hala bilinmemektedir, ancak aşırı ROS üretimine bağlı oksidatif stresi arttırdığı ve antioksidan dengesini bozduğu düşünülmektedir. Oksidatif stres etkisi ile ortaya çıkan aşırı serbest radikal üretimini dengelemek için redoks homeostazını arttırma mekanizmaları korunmalıdır. Bu mekanizmalar arasında, hücre fonksiyonlarını sürdürmek için etkili antioksidan özellikleri nedeniyle polifenoller üzerinde son zamanlarda birçok çalışma yapılmıştır (Abdelkader ve ark., 2020).

Zengin biyoaktif bileşenlere sahip olmaları nedeniyle bitkilerin tıp alanında kullanımı da günümüzde oldukça artmıştır. *M. oleifera* da bitkilerden biridir. *M. oleifera* yaprakları mineraller, vitaminler ve polifenoller açısından zengin olup, elde edilen ekstreler antiinflamatvuar, antioksidan, antikanser, hepatoprotektif, nöroprotektif, hipoglisemik ve kan lipidini azaltıcı fonksiyonlar dahil olmak üzere çoklu nutrasötik

veya farmakolojik fonksiyonlar sergiler (Gopalakrishnan ve ark., 2016; Leone ve ark., 2016). Bu etkileri flavonoidler veya biyoaktiviteye sahip izotiyosiyanatlar gibi fitokimyasallar ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Aja ve ark., 2014; Kou ve ark., 2018; Vargas-Sánchez ve ark., 2019). *M. olifera*'dan gelen polifenoller ve flavonoidler, süperoksit anyonları ve lipid peroksil radikalleri ile doğrudan reaksiyona girebildikleri için doğal antioksidanlar olarak tanımlanmaktadır (El-sharkawy ve ark., 2018).

Gıda ve ilaçlarda yaygın olarak kullanılmasına rağmen, insanlarda Moringa yaprağının ve diğer ürünlerinin terapötik etkisini gösteren klinik deneyler üzerinde çok az çalışma vardır (Dhakad ve ark., 2019). Literatürde VPA kullanımının ve bu bitkinin yapraklarının tükürük bezleri üzerine etkisi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda VPA'nın ve *M. oleifera* ekstresinin tükürük bezleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızda sıçanlara verilen *M. oleifera* dozu 0,3 g/kg/gün olup *M. oleifera'*nın %70'lik etanollü ekstratı kullanılmıştır. *M. oleifera* yaprakları için en uygun ekstraksiyon yönteminin %70'lik etanol ile olduğu ve güçlü antioksidan aktiviteyi bu şekilde gösterdiği birçok çalışmada belirtilmiştir (Nobossé ve ark., 2018; Wang ve ark., 2017; Vongsak ve ark., 2013). Ayrıca yapılan literatür incelemelerinde *M. oleifera'*nın yaprak ekstraktlarının 100–300 mg/kg/gün dozu ile 2 haftalık ilk tedavi süresinden 8 haftaya kadar yaygın olarak kullanıldığı ve ekstratların terapötik etkilerinin bu doz aralıklarında etkisini gösterdiği (Mthiyane ve ark., 2022) ve güvenli doz aralığında olduğu bildirilmektedir (El-Hadary ve Ramadan., 2019). Bu doz düzeyleri bizim çalışmamızda uygulanan *M. oleifera* dozu ile aynıdır.

GSH, hücrede bol miktarda bulunan ve tiyol grubu içeren tripeptit molekülüdür (Forman ve ark., 2009). Serbest radikaller ve ROS türlerini yakalayarak oksidatif stresi önleyebilen bir antioksidandır (Niu ve ark., 2021). Ayrıca lipid peroksit oluşumunu durdurarak lipidler gibi önemli biyomoleküllerin yıkımını engeller (Pompella ve ark., 2003).

Çalışmamızda V grubunda GSH miktarlarının azaldığı bulunmuştur. Tükürük bezlerinde GSH'ın azalması VPA'nın yaptığı hasarın bir göstergesidir. Literatürde mevcut çalışmaların çoğunda VPA uygulaması yapılan gruplarda GSH miktarlarının

azaldığı saptanmıştır. Hücre içi artmış ROS ve reaktif VPA metabolitleri indirgenmiş GSH seviyelerini tüketerek lizozomal hasara ve oksidatif strese yol açabilir (Devaraj ve Uthirappan., 2022). Bu çalışmada, VM grubunda tükürük bezlerinin GSH seviyelerinde V grubuna göre önemli bir artış görüldü. *M. oleifera* ekstresi ile yapılan bazı çalışmalarda da oksidan stres altında olan sıçanlara *M.oleifera* ektresi verildiğinde bizim çalışmamızla aynı sonuçlar elde edilmiştir (Abdel-Daim ve ark., 2020). LPO**,** ROS'un çoklu doymamış yağ asitlerini hedef alması ile gerçekleşir ve oksidatif stresin LPO üzerindeki etkisinin önemli belirteçlerinden biri de MDA'dır (Angelova ve ark., 2021; Mas-Bargues ve ark., 2021). VPA kaynaklı toksisitenin başlıca göstergesi GSH'ın azalması ve ters orantılı olarak LPO'nun artmasıdır (Raza ve ark., 1997; Huang ve ark., 2003; Hill ve ark., 2012). Reaktif VPA metabolitleri, plazma zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin LPO'yu indükleyerek LPO yan ürünlerinin serbestleşmesine ve oksidatif strese neden olur (Devaraj ve Uthirappan., 2022). Literatürde VPA'nın tükürük bezlerinde LPO üzerine etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır ancak diğer dokularda yapılan deneysel çalışmalarda VPA uygulamasından sonra MDA artışı bildirilmiştir. Heidari ve ark.'nın yaptığı çalışmada VPA verilen sıçanların böbrek dokularında GSH rezervleri ve doku antioksidan kapasitesi azaldığı ve LPO 'nun arttığı saptanmıştır (Heidari ve ark., 2018). Çalışmamızın bulguları bu ters orantıyı desteklemektedir. V grubunda K grubuna göre tükürük bezlerinde LPO anlamlı olarak artmış, GSH da yukarıda ifade ettiğimiz gibi azalmıştır. VM grubunda ise V grubuna göre GSH seviyelerini arttarken, LPO düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır.

GST, hücreler için zararlı elektrofillerin GSH ile konjugasyonunu katalizleyen bir enzimdir. GST bu özelliğiyle kanserojenlere, terapötik ilaçlara ve çeşitli hücresel oksidatif hasarlara karşı çok önemli bir rol oynar (Kim ve ark., 2017). Çalışmamızda, tükürük bezlerinde GST aktiviteleri, valproat kaynaklı toksisite nedeniyle önemli ölçüde azalmıştır. Bulgularımızla uyumlu olarak, VPA toksisitesinin karaciğer (Sancar Baş ve ark., 2016), pankreas (Oktay ve ark., 2017) ve lens (Tunali ve ark., 2015) gibi dokularda GST aktivitelerinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda moringa ekstresinin antioksidan özellikleri nedeni ile VM grubunda GST aktiviteleri tükürük bezlerinde V grubuna göre anlamlı olarak artmıştır.

SA, H_2O_2'nin neden olduğu oksidatif hasarın giderilmesini sağlamaya çalışan güçlü bir antioksidan molekülüdür (Iijima ve ark., 2004). SA'nın glikozidik bağının süperoksit ve diğer ilgili ROS'lar için potansiyel bir hedef olduğu bilinmektedir (Eguchi ve ark., 2005). Çalışmalar dokulardaki SA miktarının artmış ROS seviyesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Yadav ve ark., 2020). Turkyilmaz ve ark., çalışmalarında sıçanların beyin dokusunda VPA uygulamasının SA miktarını arttığını bildirmişlerdir (Turkyilmaz ve ark., 2021). Literatürdeki diğer çalışmalarda da inflamatuar hastalıklarda önemli rol oynayan serbest radikaller tarafından oksidatif hasar oluşturulduğu ve bu serbest radikallerin LPO'ya ve hücresel hasara yol açan serum SA seviyesinin artmasına neden olduğu bildirilmiştir. SA miktarının artışının artan ROS'a karşı savunma amaçlı olduğu düşünülmektedir (Oto ve ark., 2016; Mohan ve ark., 2010). Çalışmamızda moringa ekstresinin verilmesi VPA'nın arttırdığı SA değerlerinin anlamlı olarak azalmasına neden olmuştur. Bunun nedeni moringanın yapısındaki bileşikler ve bu maddelerin antioksidan aktivitesi ile ROS türlerini temizlemesi olabilir.

SOD ve KAT, serbest radikal oluşumunu engelleyen antioksidan etkili enzimler olup birincil savunma antioksidanları olarak da bilinirler (Ighodaro ve ark., 2018; El-Sayed ve ark, 2008). SOD'lar, süperoksit radikalini daha az zararlı hidrojen peroksite dönüştürürken, KAT hidrojen peroksiti oksijen ve suya dönüştürerek zararsız hale getirir (Weydert ve Cullen, 2015). Çalışmamızda, VPA'nın neden olduğu oksidatif stres, sublingual tükürük bezi hariç parotis ve submaniubular tükürük bezlerinde SOD aktivitesini anlamlı olarak azaltırken, KAT aktivitesinde olan azalma anlamlı bulunmamıştır. Literatürdeki sıçanlar ile yapılan çalışmalarda akciğer (Oztay ve ark., 2020), beyin (Chaudhary ve Parvez, 2012; Turkyilmaz ve ark., 2020), lens (Tunali ve ark., 2015), karaciğer (Ibrahim ve ark., 2017) ve pankreas dokularında (Oktay ve ark., 2017) SOD ve KAT aktivite değerlerinin VPA verilen gruplarda kontrol gruplarına göre anlamlı biçimde azalma saptandığı bildirilmiştir. Bizim bulgularımıza paralel olarak karaciğer dokusunda (Koroglu ve ark., 2021) yapılan çalışmada SOD aktivitesi azalırken KAT aktivitesinde anlamlı bir değişme saptanmamıştır. Çalışmamızda VM grubunda V grubuna göre parotis ve submandibular tükürük bezlerinde azalmış olan SOD aktiviteleri anlamlı olarak artmıştır. KAT aktivitesinde tükürük bezleri açısından fark saptanmamıştır. Literatürde mevcut çalışmalarda kalp (Aju ve ark., 2019) ve beyin

(Ganguly ve ark., 2005) dokularının SOD ve KAT aktivitelerinde artış meydana gelmiştir. Ertik ve ark.' nın yaptığı çalışmada kas dokusunda *M.oleifera* yaprak ekstratı SOD aktivitesini arttırırken, KAT aktivitesini azaltmıştır (Ertik ve ark., 2022). Çalışmalardaki sonuç farklılığı dozların miktarı, veriliş şekli ve sıklığına bağlı olarak meydana gelmiş olabilir.

NO, biyolojik fonksiyonlarda yer alan bir haberci moleküldür. LPO reaksiyonlarının sonlandırılmasında görev aldığı için antioksidan etki göstermektedir. NO, eşleşmemiş elektrona sahip bir serbest radikaldir. Bu nedenle yüksek konsantrasyonlarda bir prooksidan olarak hareket eder (Hummel ve ark., 2006; Kowalczyk ve ark., 2005). Çalışmamızda, VPA uygulaması, tükürük bezlerinde V grubunda NO değerlerinin K grubuna göre yükselmesine neden olmuştur. NO değerlerinin V grubunda artması NOS'ın aşırı ekspresyonu veya NO-sitrulin döngüsünün uyarılmasıyla NO üretiminin artması, ROS ile VPA toksik metabolitlerinin birikmesinden kaynaklanan enflamasyon ve enflamatuar yanıtların bileşkesi olabilir (Hayashi ve ark., 2021). VM grubunda, tükürük bezlerinde NO değerleri düşmüştür. Bu durum *M. oleifera* ekstresinin VPA toksisitesini azalttığının bir göstergesidir. Moringa ekstresi verilmesi ile azalan NO düzeyleri, alfa-lipoik asit (Turkyilmaz ve ark, 2020) ve edaravon (Celik ve ark., 2022) gibi antioksidan ajanlar tarafından azaltıldığını bildiren önceki çalışmalar ile uyumludur. Ayrıca *M.oleifera* ekstresi kas (Ertik ve ark., 2022), karaciğer (Mousa ve ark., 2019; El-Hadary ve Ramadan., 2019) ve böbrek dokularında (Akinrinde ve ark., 2020) çeşitli oksidanların etkisiyle artan NO seviyelerini düşürmüştür. Bahsedilen bu verilerle çalışmamızın NO verileri uyumlu bulunmuştur.

TOS biyolojik bir numunede bulunan oksidanların ve ROS'un seviyesi hakkında bilgi verirken, TAS ise toplam antioksidan durumunu ölçmek için kullanılır (Du ve ark., 2018). Antioksidan – oksidan denge bozulduğunda ve denge oksidanların lehine doğru kaydığında vücutta toksik moleküller birikmeye başlar ve oksidatif stresi ortaya çıkarır. ROS kaynaklı oksidasyon ile ROS molekülleri hücre zarı üzerindeki tüm makromoleküllerle reaksiyona girebilir ve bu reaksiyonlar hücre hasarına, DNA mutasyonuna ve çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur (Ekinci ve ark., 2017; Bakry ve ark., 2014; Gupta, 2015). Çalışmamızda, V grubunda tükürük bezlerinde TOS değerlerinin anlamlı olarak arttığı ve TAS değerlerinin ise azaldığı

saptandı. Literatürdeki başka araştırmalarda da bu durum VPA uygulaması yapılan farklı doku tiplerinde de saptanmıştır (Heidari ve ark., 2018; Turkyilmaz ve ark., 2020; Omidipour ve ark., 2021). Tükürük bezlerinde artan TOS ve azalan TAS değerleri bu bezlerde oluşan oksidatif stres durumunun bir belirtecidir. TAS'ın düşük olması, oksidatif stresi veya oksidatif hasara karşı artan duyarlılığı gösterir (Imro'ati ve ark., 2021). Bu duruma yukarıda belirttiğimiz antioksidan molekül düzeylerinin ve enzim aktivitelerinin azalması, VPA'ya bağlı oksidatif stresin artması neden olmuş olabilir. Moringa ekstresi uygulanması, VM grubunda TAS ve TOS değerlerini düzeltmiştir. Bunun nedeni, moringa ekstresinin antioksidan aktiviteye sahip olmasıdır. Çeşitli araştırmalarda da *M. oleifera* ekstresi uygulamasının sinir (Imran ve ark., 2022), testis (Celik ve ark., 2022) ve beyin (Turkyilmaz ve ark, 2020) gibi diğer farklı doku çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir.

Çalışmamızda incelediğimiz diğer bir parametre ise DF aktivitesidir. DF koagülasyon sisteminin ana başlatıcısıdır ve yeterli bir hemostatik pıhtı normal yara iyileşme süreci için gereklidir (Hoffman, 2018). DF'nin doku dağılımı eşit olmamakla birlikte beyin, akciğer gibi vaskülarizasyonun fazla olduğu organlarda yüksek miktarda bulunmaktadır (Østerud ve Bjørklid, 2006; Emekli-Alturfan ve ark., 2007). Çalışmamızda tükürük bezlerinde DF aktivitesi açısından fark tespit edilmemiştir.

Literatürde daha önce tükürük bezi bor düzeylerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada sıçanların plazma, böbrek, beyin ve karaciğer dokularında bor düzeyinin düştüğü ve bunun oksidatif stres ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Coban ve ark., 2015). Çeşitli çalışmalar, borun enerji ve lipid metabolizmasında rol oynadığını göstermiştir (Aysan ve ark., 2013; Doğan ve ark., 2017). İnsanlarda diyetle yüksek bor alımının serum ve tükürük bor düzeylerini artırdığı ve vücut ağırlığını, serum düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü, çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü, toplam kolesterolü ve trigliserit düzeylerini azalttığı bildirilmiştir (Kuru ve ark., 2019).

Bor ve bor içeren moleküllerin, günlük diyette doğal antikanser ajanı veya potansiyel ilaçlar olarak kullanılabileceği önerilmektedir (Uluisik ve ark., 2018). Bazı deneysel çalışmalarda borun hücrelerde oluşabilecek oksidatif stresi ve oksidatif hasarı azalttığı bildirilmiştir (Meacham ve ark., 2010; Warrington, 1923; Nielsen, 1987).

Epidemiyolojik insan çalışmalarında bor alımı arttığında prostat kanseri ve akciğer kanseri ve anormal servikal sitopatoloji riskinin azaldığı gözlenmiştir (Hunt, 2010). Diyet bor alımının arttırılmasının obezite, lipid metabolizması ve tiroid metabolizması üzerinde faydalı etkilere yol açabileceği gösterilmiştir. Tükürük bor miktarı, serum borunu yansıtabilir ve bor diş hekimliğinde karyostatik bir ajan olarak kullanılabilir. Bor açısından zengin gıdalarda potasyum, lif, demir, A vitamini ve E vitamini gibi diğer diyet faktörlerinin alımının artması, açıklanan etkilerden sorumlu olabilir (Kuru ve ark., 2019)

Çalışmamız bor takviyesi çalışması değildir. Tüm gruplara aynı kaynaktan yiyecek ve içme suyu verildiği için su ve gıda yoluyla bor alımının tüm gruplar için benzer olacağı düşünülebilir.

Çalışmamızda moringa ekstresinin bor miktarı yaklaşık 9 ppm, sıçanlara verilen yemin bor miktarı ise yaklaşık 9 ppm olarak tayin edilmiştir. Sıçanların içme suyunda ise bor tayini karminin asit yöntemi ile yapılmamıştır. Ancak daha önce yapılan bir çalışmada Marmara bölgesinin içme sularında bor miktarı 0,08 ppm olarak tespit edilmiştir (Kuru ve ark., 2020). Çalışmamızda V grubunda tükürük bezlerinin bor konsantrasyonunun K grubuna göre anlamlı olarak azaldığı; moringa ekstresi verilmesi ile bor miktarının anlamlı olarak yükseldiği saptandı. Bunun nedeni *M. oleifera* bitkisinin bor değerinin fazla olması olabilir.

SONUÇ

Tükürük bezlerinde VPA'nın neden olduğu GSH, GST, SOD, TAS ve borun azalması; LPO, TOS, SA ve NO'in artması ile tespit edilen oksidatif hasarı *M. oleifera*'nın antioksidan ve terapötik özellikleri nedeniyle düzelttiği söylenebilir. Bu koruyucu etki, artan bor seviyeleri ile de ilişkili olabilir. Ancak mekanizmanın açıklanması için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. KAYNAKLAR

Abdel-Daim MM, Khalil SR, Awad A, Abu Zeid EH, El-Aziz RA, El-Serehy HA. Ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves influences NF-κB signaling pathway to restore kidney tissue from cobalt-mediated oxidative injury and inflammation in rats. Nutrients. 2020;12(4):1031.

Abdelkader NF, Elyamany M, Gad AM, Assaf N, Fawzy HM, Elesawy WH. Ellagic acid attenuates liver toxicity induced by valproic acid in rats. J Pharmacol Sci. 2020;143(1):23-29.

Abdull Razis AF, Ibrahim MD, Kntayya SB. Health benefits of *Moringa oleifera*. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15(20):8571-8576.

Adeoye O, Olawumi J, Opeyemi A, Christiania O. Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. JBRA Assist Reprod. 2018;22(1):61-66.

Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1974;105:121-126.

Ahmad J, Khan I, Blundell R. *Moringa oleifera* and glycemic control: A review of current evidence and possible mechanisms. Phytother Res. 2019;33(11):2841-2848.

Aja P, Nwachukwu N, Ibiam U, Igwenyi I, Offor C, Orji U. Chemical constituents of *Moringa oleifera* leaves and seeds from Abakaliki, Nigeria. Am J Phytomed Clin Ther. 2014;2(3):310-321.

Aju B, Rajalakshmi R, Mini S. Protective role of *Moringa oleifera* leaf extract on cardiac antioxidant status and lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetic rats. Heliyon. 2019;5(12):e02935

Akinrinde AS, Oduwole O, Akinrinmade FJ, Bolaji-Alabi FB. Nephroprotective effect of methanol extract of *Moringa oleifera* leaves on acute kidney injury induced by ischemia-reperfusion in rats. Afr Health Sci. 2020;20(3):1382-1396.

Angelova PR, Esteras N, Abramov AY. Mitochondria and lipid peroxidation in the mechanism of neurodegeneration: Finding ways for prevention. Med Res Rev. 2021;41(2):770-784.

Ansari KA. Sahjana (*Moringa oleifera*), pharmacognosy and pharmacology: A review. J Pharmacogn Phytochem. 2017;6(1):442-445.

Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. Phytother Res. 2007;21(1):17-25

Aoyama K. Glutathione in the Brain. Int J Mol Sci. 2021;22(9):5010. https://doi.org/10.3390/ijms22095010

Arora S, Arora S. Nutritional significance and therapeutic potential of *Moringa oleifera*: The wonder plant. J Food Biochem. 2021;45(10):e13933.

Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxid Med Cell Longev. 2014;2014.

Ayasan T. Use of *Moringa oleifera* in poultry and ruminant nutrition. Turk Tarim Gida Bilim Teknol Derg. 2015;3(6):425-429.

Aysan E, Şahin F, Telci D, Erdem M, Müslumanoglu M, Yardımcı E, Bektaşoğlu H. Mechanism of body weight reducing effect of oral boric acid intake. Int J Endocrinol. 2013;2013:1-5.

Bakry OA, Elshazly RMA, Shoeib MAM, Gooda A. Oxidative stress in alopecia areata: a case–control study. Am J Clin Dermatol. 2014;15(1):57-64.

Balıkcı H, Özkul MH. Tükrük Bezi Hastalıkları. Klinik Gelişim. 2012;25(4): 87-92.

Belcastro V, D'Egidio C, Striano P, Verrotti A. Metabolic and endocrine effects of valproic acid chronic treatment. Epilepsy Res. 2013;107(1-2):1-8.

Beutler E. Glutathione in Red Cell Metabolism: A manual of biochemical methods, 2nd ed., Grune and Stratton, New York; 1975, s: 112-114.

Bhattacharya A, Tiwari P, Sahu PK, Kumar S. A review of the phytochemical and pharmacological characteristics of *Moringa oleifera*. J Pharm Bioallied Sci. 2022;10(4):181-191.

Bourin M. Mechanism of action of valproic acid and its derivatives. SOJ Pharm Sci. 2020;7(1):1-4.

Bresciani G, da Cruz IBM, González-Gallego J. Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation. Adv Clin Chem. 2015;68:87-130.

Butenas S, Orfeo T, Mann KG. Tissue factor activity and function in blood coagulation. Thromb Res. 2008;122:42-46.

Calabrese G, Morgan B, Riemer J. Mitochondrial glutathione: Regulation and functions. Antioxid Redox Signal. 2017;27(15):1162-1177.

Celik C, Bayrak B, Hacihasanoglu Cakmak N, Yanardag R. Protective effect of edaravone on rat testis after valproic acid treatment. J Pharm Res. 2022;26(1):52-62

Chang TK, Abbott FS. Oxidative stress as a mechanism of valproic acid-associated hepatotoxicity. Drug Metab Rev. 2006;38(4):627-639.

Chateauvieux S, Morceau F, Dicato M, Diederich M. Molecular and therapeutic potential and toxicity of valproic acid. J Biomed Biotechnol. 2010; 2010:1-18.

Chaudhary S, Parvez S. An in vitro approach to assess the neurotoxicity of valproic acid-induced oxidative stress in cerebellum and cerebral cortex of young rats. Neurosci. 2012;225:258-268.

Che M, Wang R, Li X, Wang H-Y, Zheng XS. Expanding roles of superoxide dismutases in cell regulation and cancer. Drug Discov Today. 2016;21(1):143-149.

Coban FK, Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Hazman O. Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. Drug Chem Toxicol. 2015;38:391-399.

Çağlar MK, Bilgin R. Glutatyon-s-transferaz enziminin epiklorohidrin ara kolu üzerinden magnetik demir nanopartiküllere kovalent immobilizasyonu ve karakterizasyonu. Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi. 2018;36(5):1-16.

D'Alessandro E, Posma J, Spronk H, Ten Cate H. Tissue factor (: Factor VIIa) in the heart and vasculature: More than an envelope. Thromb Res. 2018;168:130-137.

Dasari S, Ganjayi MS, Meriga B. Glutathione S-transferase is a good biomarker in acrylamide induced neurotoxicity and genotoxicity. Interdiscip Toxicol. 2018;11(2):115-121

de Paula F, Teshima THN, Hsieh R, Souza MM, Nico MMS, Lourenco SV. Overview of human salivary glands: highlights of morphology and developing processes. Anat Rec. 2017;300(7):1180-1188.

Devaraj E, Uthirappan M. Valproic acid induced liver injury: An insight into molecular toxicological mechanism. Environ Toxicol Pharmacol. 2022:103967.

Dhakad AK, Ikram M, Sharma S, Khan S, Pandey VV, Singh A. Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera Lam*. Phytother Res. 2019;33(11):870-903.

Doğan A, Demirci S, Abdik H, Bayrak OF, Güllüoğlu S, Tüysüz EC, Gusev O,Rizvanov AA, Nikerel E, Şahin F. A new hope for obesity management: Boron inhibits adipogenesis in progenitor cells through the Wnt/β-catenin pathway. Metabolism. 2017;69:130-142

Dreifuss FE, Langer DH. Side effects of valproate. Am J Med. 1988;84(1):34-41.

Du X-F, Zhang L-L, Zhang D-Z, Yang L, Fan Y-Y, Dong S-P. Clinical significance of serum total oxidant/antioxidant status in patients with operable and advanced gastric cancer. OncoTargets Ther. 2018;11: 6767–6775.

Eguchi H, Ikeda Y, Ookawara T, Koyota S, Fujiwara N, Honke K, Wang PG, Taniguchi N, Suzuki K. Modification of oligosaccharides by reactive oxygen species decreases sialyl lewis x-mediated cell adhesion. Glycobiology. 2005;15(11):1094-1101.

Ekinci A, Karataş D, Yetiş A, Demir E, Özcan M. Serum oxidative stress levels in patients with nasal septal deviation. Turk Arch Otorhinolaryngol. 2017;55(3):125-128.

Eleutherio ECA, Magalhães RSS, de Araújo Brasil A, Neto JRM, de Holanda Paranhos L. SOD1, more than just an antioxidant. Arch Biochem Biophys. 2021;697:108701.

El-Hadary AE, Ramadan MF. Antioxidant traits and protective impact of *Moringa oleifera* leaf extract against diclofenac sodium-induced liver toxicity in rats. J Food Biochem. 2019;43(2):e12704

El-Sayed ESM, Abo-Salem OM, Abd-Ellah MF, Abd-Alla GM. Hesperidin, an antioxidant flavonoid, prevents acrylonitrile-induced oxidative stress in rat brain. J. Biochem Mol Toxicol. 2008;22(4):268-273.

El-sharkawy RT, El-kammar HA, Obeid RF, Bdelkhalek AA. Effects of *moringa oleifera* aqueous leaf extract on submandibular salivary glands of diabetic albino rats. Egypt Dent J. 2018;64(2):1293-1303.

Emekli-Alturfan E, Kasikci E, Yarat A. Tissue factor activities of streptozotocin induced diabetic rat tissues and the effect of peanut consumption. Diabetes Metab Res Rev. 2007;23(8):653-658.

Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem. 2005;38(12):1103-1111.

Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin Biochem. 2004;37(4):277-285.

Ertik O, Magaji UF, Sacan O, Yanardag R. Effect of *Moringa oleifera* leaf extract on valproate-induced oxidative damage in muscle. Drug Chem Toxicol. 2022:1-11.

Esmaeilnejad B, Tavassoli M, Dalir-Naghadeh B, Samiei A, Rajabi S, Mohammadi V, Anassori E, Ehteshamfar S. Status of oxidative stress, trace elements, sialic acid and cholinesterase activity in cattle naturally infected with Babesia bigemina. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2020;71:101503.

Foong SC, Tan ML, Foong WC, Marasco LA, Ho JJ, Ong JH. Oral galactagogues (natural therapies or drugs) for increasing breast milk production in mothers of non-hospitalised term infants. Cochrane Database Syst Rev. 2020:(5);1-147.

Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. Mol Aspects Med. 2009;30(1-2):1-12.

Fouani M, Basset CA, Jurjus AR, Leone LG, Tomasello G, Leone A. Salivary gland proteins alterations in the diabetic milieu. J Mol Histol. 2021;52(5):893-904.

Galasso M, Gambino S, Romanelli MG, Donadelli M, Scupoli MT. Browsing the oldest antioxidant enzyme: catalase and its multiple regulation in cancer. Free Radic Biol Med. 2021;172:264-272.

Ganguly R, Hazra R, Ray K, Guha D. Effect of *Moringa oleifera* in experimental model of Alzheimer's disease: Role of antioxidants. Ann Neurosci. 2005;12(3):33-36.

Ghanizadeh A, Akhondzadeh S, Hormozi M, Makarem A, Abotorabi-Zarchi M, Firoozabadi A. Glutathione-related factors and oxidative stress in autism, a review. Curr Med Chem. 2012;19(23):4000-4005.

Ghodke-Puranik Y, Thorn CF, Lamba JK, Leeder JS, Song W, Birnbaum AK, Almand RB, Kleind TE. Valproic acid pathway: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. Pharmacogenet Genomics. 2013;23(4):236-241.

Giuberti G, Rocchetti G, Montesano D, Lucini L. The potential of Moringa oleifera in food formulation: A promising source of functional compounds with health-promoting properties. Curr Opin Food Sci. 2021;42:257-269.

Gopalakrishnan L, Doriya K, Kumar DS. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. Food Sci Hum Wellness. 2016;5(2):49-56.

Grosshagauer S, Pirkwieser P, Kraemer K, Somoza V. The future of Moringa foods: A food chemistry perspective. Front Nutr. 2021;8:751076. doi: 10.3389/fnut.2021.751076

Gupta D. Methods for determination of antioxidant capacity: A review. Int J Pharm Sci. 2015;6(2):546-566.

Habig WH, Jacoby WB. Assays for differentation of glutathion- S- transferases. Methods in Enzymology. 1981; 77: 398-405.

Hamaidia M, Barez PY, Carpentier A, Lebecque S, Miazek K, Paul A, Sriramareddy SN, Staumont B, Danthine S, Deleu M, Frederich M, De Pauw E, Delaplace P, Delvigne F, Goffin D, Ongena M, Duysinx B, Louis R, Cosse JP, Willems L. From Valeriana officinalis to cancer therapy: the success of a bio-sourced compound. Biotechnol Agron Soc Environ. 2016; 20(S1): 314-320.

Hand RA. Salivary Glands, Anatomy and Histology. In: Johnson LA (eds). Encyclopedia of Gastroenterology. 2nd ed. Amsterdam: Academic Press;2004,p:313-317.

Hassan MA, Xu T, Tian Y, Zhong Y, Ali FAZ, Yang X, et al. Health benefits and phenolic compounds of *Moringa oleifera* leaves: A comprehensive review. Phytomedicine. 2021;93:153771.

Hatcher JT, Wilcox LV. Colorimetric determination of boron using carmine. Anal Chem. 1950; 22:567-569.

Hayashi D, Okubo T, Suzuki T, Miyazaki Y, Tanaka K, Usami M, Takizawa T. Valproic acid up-regulates the whole NO-citrulline cycle for potent iNOS-NO signaling to promote neuronal differentiation of adipose tissue-derived stem cells. Nitric Oxide. 2021;106:35-44.

Heidari R, Jafari F, Khodaei F, Shirazi Yeganeh B, Niknahad H. Mechanism of valproic acid-induced Fanconi syndrome involves mitochondrial dysfunction and oxidative stress in rat kidney. Nephrol. 2018;23:351-361.

Hill A, Mercier M, Hill T, Glyn S, Jones N, Yamasaki Y, Futamura T, Duncan M, Stott CG, Stephens GJ, Williams CM, Whalley BJ. Cannabidivarin is anticonvulsant in mouse and rat. Br J Pharmacol. 2012;167(8):1629-1642.

Hoffman M. The tissue factor pathway and wound healing. Semin Thromb Hemost. 2018;44(02):142-150.

Huang Y-L, Hong H-S, Wang Z-W, Kuo T-t. Fatal sodium valproate–induced hypersensitivity syndrome with lichenoid dermatitis and fulminant hepatitis. JAAD. 2003;49(2):316-319.

Hummel SG, Fischer AJ, Martin SM, Schafer FQ, Buettner GR. Nitric oxide as a cellular antioxidant: a little goes a long way. Free Radic Biol Med. 2006;40(3):501-506.

Hunt CD (2010) Boro. In: Coates PM, Blackman MR, Cragg GM, Levine M, Moss J, White JD (eds) Encyclopedia of Dietary Supplements, 2nd edn. Marcel Dekker, New York, pp 55–65.

Ibrahim MA, Abdel-Karim RI, Tamam HG, Mohamed AA, Wani FA. Protective effect of silymarin and ascorbic acid in valproic acid-induced hepatic toxicity in male albino rats. MJFCT. 2017;25(2):33-49.

Ighodaro O, Akinloye O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria J Med. 2018;54(4):287-293.

Iijima R, Takahashi H, Namme R, Ikegami S, Yamazaki M. Novel biological function of sialic acid (N-acetylneuraminic acid) as a hydrogen peroxide scavenger. FEBS Lett. 2004;561(1-3):163-166.

Imran M, Hussain G, Hameed A, Iftikhar I, Ibrahim M, Asghar R, Nisar I, Farooq T, Khalid T, Rehman K, Assiri MA. Metabolites of *Moringa oleifera* activate physio-biochemical pathways for an accelerated functional recovery after sciatic nerve crush injury in mice. Metabolites. 2022;12(12):1242 https://doi.org/10.3390/metabo12121242

Imro'ati TA, Sugihartono T, Widodo B, Nefertiti EP, Rovian I, Wibawa IGN. The relationship between serum total oxidant status, total antioxidant status, and oxidative stress index with severity levels of gastroesophageal reflux disease: A literature review. Open Access Maced J Med Sci. 2021;9(F):584-589.

Ingram GIC, Hills M. Reference method for the one stage prothrombin time test on human blood. Thromb Haemostas. 1976; 36: 237-238.

Iqbal MO, Manzoor M, Mumtaz A, Riaz R, Arshad S, Khan IA, Javaid U, Manzoor Z, Munawar SH, Andleeb S, Ahmed MM, Aslam A. Evaluation of the hepatoprotective activity of hydroalcoholic extract of *Alhagi camelorum* against valproic acid-induced hepatotoxicity in rats. Biomed Pharmacother. 2022;150:112953.

Jaganjac M, Cindrić M, Jakovčević A, Žarković K, Žarković N. Lipid peroxidation in brain tumors. Neurochem Int. 2021;149:105118.

Kashyap P, Kumar S, Riar CS, Jindal N, Baniwal P, Guiné RPF, Correia PMR, Mehra R, Kumar H. Recent advances in Drumstick (*Moringa oleifera*) leaves bioactive compounds: Composition, health benefits, bioaccessibility, and dietary applications. Antioxidants. 2022;11(2):402.

Khaliq H, Juming Z, Ke-Mei P. The physiological role of boron on health. Biol Trace Elem Res. 2018;186(1):31-51.

Khan F, Pandey P, Jha NK, Jafri A, Khan I. Antiproliferative effect of Moringa oleifera methanolic leaf extract by down-regulation of Notch signaling in DU145 prostate cancer cells. Gene Rep. 2020;19:100619 .

Khan S, Ahirwar K, Jena G. Anti-fibrotic effects of valproic acid: Role of HDAC inhibition and associated mechanisms. Epigenomics. 2016;8(8):1087-1101.

Khor KZ, Lim V, Moses EJ, Abdul Samad N. The in vitro and in vivo anticancer properties of *Moringa oleifera*. Evid-based Complement Altern Med. 2018;2018. https://doi.org/10.1155/2018/1071243

Kim Y, Cha SJ, Choi H-J, Kim K. Omega class glutathione S-transferase: Antioxidant enzyme in pathogenesis of neurodegenerative diseases. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017.

Kirtonia A, Sethi G, Garg M. The multifaceted role of reactive oxygen species in tumorigenesis. Cell Mol Life Sci. 2020; 77: 4459–4483.

Koroglu OF, Gunata M, Vardi N, Yildiz A, Ates B, Colak C, Tanriverdi LH, Parlakpinar H. Protective effects of naringin on valproic acid-induced hepatotoxicity in rats. Tissue Cell. 2021;72:101526.

Kostrouchova M, Kostrouch Z, Kostrouchova M. Valproic acid, a molecular lead to multiple regulatory pathways. Folia Biol. 2007;53(2):37-49.

Kou X, Li B, Olayanju JB, Drake JM, Chen N. Nutraceutical or pharmacological potential of *Moringa oleifera* Lam. Nutrients. 2018;10(3):343 doi:10.3390/nu10030343

Kowalczyk E, Kopff A, Kopff M, Fijałkowski P, Błaszczyk J. Nitric oxide--oxidant or antioxidant? Wiad Lek. 2005;58(9-10):540-542.

Krawczyk M, Burzynska-Pedziwiatr I, Wozniak LA, Bukowiecka-Matusiak M. Evidence from a Systematic Review and Meta-Analysis Pointing to the Antidiabetic Effect of Polyphenol-Rich Plant Extracts from *Gymnema montanum*, *Momordica charantia* and *Moringa oleifera*. Curr Issues Mol Biol. 2022;44(2):699-717.

Kuru R, Yilmaz S, Balan G, Tuzuner BA, Tasli PN, Akyuz S, Ozturk FY, Altuntas Y, Yarat A, Sahin F. Boron-rich diet may regulate blood lipid profile and prevent obesity: A non-drug and self-controlled clinical trial. J Trace Elem Med Biol. 2019;54:191-198.

Kuru R, Yilmaz S, Sacan O, Yanardag Y, Yarat A, Sahin F. Boron concentrations in tap water in many cities of Turkey. Toxicol Environ Chem. (2020);102(5-6):240-249. Doi:10.1080/02772248.2020.1778701

Lagace DC, O'Brien WT, Gurvich N, Nachtigal MW, Klein PS. Valproic acid: how it works. Or not. Clin Neurosci Res. 2004;4(3-4):215-225.

Lamy E, Torregrossa A-M, Castelo PM, Capela e Silva F. Saliva in ingestive behavior research: Association with oral sensory perception and food intake. In: Lamy E, Torregrossa A-M, Castelo P, Capela e Silva F, eds. Saliva in Health and Disease. Springer, Berlin/Heidelberg, Germany; 2020, p:23-48.

Ledwozyw A, Michalak D, Stepien A, Kadziolka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. Clin Chim Acta. 1986; 155: 275-283.

Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S. *Moringa oleifera* seeds and oil: Characteristics and uses for human health. Int J Mol Sci. 2016;17(12):2141. doi: 10.3390/ijms17122141

Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. Int J Mol Sci. 2015;16(6):12791-12835.

Linde M, Mulleners WM, Chronicle EP, McCrory DC. Valproate (valproic acid or sodium valproate or a combination of the two) for the prophylaxis of episodic migraine in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2013(6). doi:10.1002/14651858.cd010611

Lopez-Rodriguez NA, Gaytán-Martínez M, de la Luz Reyes-Vega M, Loarca-Piña G. Glucosinolates and isothiocyanates from *Moringa oleifera:* Chemical and biological approaches. Plant Foods Hum Nutr. 2020;75(4):447-457.

Löscher W. Basic pharmacology of valproate. CNS Drugs. 2002;16(10):669-694.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951; 193: 265-275.

Lu SC. Glutathione synthesis. Biochim Biophys Acta Gen Subj. 2013;1830(5):3143-3153.

Mahato DK, Kargwal R, Kamle M, Sharma B, Pandhi S, Mishra S, Gupta A, Mahmad C, Gupta MK, Singha B, Kumar P. Ethnopharmacological properties and nutraceutical potential of *Moringa oleifera*. Phytomedicine Plus. 2022;2(1):100168.

Maruyama CL, Monroe M, Hunt J, Buchmann L, Baker OJ. Comparing human and mouse salivary glands: A practice guide for salivary researchers. Oral Dis. 2019;25(2):403-415.

Mas-Bargues C, Escrivá C, Dromant M, Borrás C, Viña J. Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease. Arch Biochem. 2021;709:108941.

Mauz P, Mörike K, Kaiserling E, Brosch S. Valproic acid-associated sialadenosis of the parotid and submandibular glands: Diagnostic and therapeutic aspects. Acta Otolaryngol. 2005;125(4):386-391.

Meacham S, Karakas S, Wallace A, Altun F. Boron in human health: Evidence for dietary recommendations and public policies. Open Miner Process J. 2010:3;36–53. https://doi.org/10.2174/ 1874841401003010036

Methaneethorn J. A systematic review of population pharmacokinetics of valproic acid. Br J Clin Pharmacol. 2018;84(5):816-834.

Miller AF. Superoxide dismutases: Ancient enzymes and new insights. FEBS Lett. 2012;586(5):585-595.

Minich DM, Brown BI. A review of dietary (phyto) nutrients for glutathione support. Nutrients. 2019;11(9):2073.

Miranda KM, Michael GE, David AW. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrike. Nitric oxide. 2001; 5: 62-71.

Mishra MK, Kukal S, Paul PR, Bora S, Singh A, Kukreti S, Saso L, Muthusamy K, Hasija Y,Kukreti R. Insights into structural modifications of valproic acid and their pharmacological profile. Molecules. 2021;27(1):104

Mohan SK, Priya V. Serum total sialic acid, lipid peroxidation, and glutathione reductase levels in patients with rheumatoid arthritis. Turk J Med Sci. 2010; 40(4): 537-540.

Mohanty M, Mohanty S, Bhuyan SK, Bhuyan R. Phytoperspective of *Moringa oleifera* for oral health care: An innovative ethnomedicinal approach. Phytother Res. 2021;35(3):1345-1357.

Mousa AA, El-Gansh HAI, Eldaim MAA, Mohamed MAE-G, Morsi AH, El Sabagh HS. Protective effect of *Moringa oleifera* leaves ethanolic extract against thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats via modulation of cellular antioxidant, apoptotic and inflammatory markers. Environ Sci Pollut. 2019;26(31):32488-32504.

Mthiyane FT, Dludla PV, Ziqubu K, Mthembu SX, Muvhulawa N, Hlengwa N, Nkambule BB, Mazibuko-Mbeje1 SE. A review on the antidiabetic properties of *Moringa oleifera* extracts: Focusing on oxidative stress and inflammation as main therapeutic targets. Front Pharmacol. 2022;13.

Mylroie AA, Collins H, Umbles C, Kyle J. Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of cupper status in rats ingesting lead acetate. Toxicol Appl Pharmacol. 1986; 82:512-520.

Nagai H, Fujioka-Kobayashi M, Ohe G, Hara K, Takamaru N, Uchida D, Tamatani T, Fujisawa K, Miyamoto Y. Antitumour effect of valproic acid against salivary gland cancer in vitro and in vivo. Oncol Rep. 2014;31(3):1453-1458.

Nandi A, Yan L-J, Jana CK, Das N. Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. Oxid Med Cell Longev. 2019;2019.

Ni L, Wang L, Yao C, Ni Z, Liu F, Gong C, Zhu X, Yan X, Watowich SS, Lee DA, Zhu S. The histone deacetylase inhibitor valproic acid inhibits NKG2D expression in natural killer cells through suppression of STAT3 and HDAC3. Sci Rep. 2017;7(1):1-9.

Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, Hunt JR .Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. FASEB J.1987: 1;394–397.

Niu B, Liao K, Zhou Y, Wen T, Quan G, Pan X, Wua C. Application of glutathione depletion in cancer therapy: Enhanced ROS-based therapy, ferroptosis, and chemotherapy. Biomaterials. 2021;277:121110.

Nobossé P, Fombang EN, Mbofung CM. Effects of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera L.* leaves. Food Sci Nutr. 2018;6(8):2188-2198.

Oktay S, Alev B, Koc Ozturk L, Tunalı S, Demirel S, Emekli Alturfan E, Tunalı-Akbay T, Akyüz S, Yanardag R, Yarat A. Edaravone ameliorates valproate-induced gingival toxicity by reducing oxidative-stress, inflammation and tissue damage. Marmara Pharm J. 2016;20(3):243-251.

Oktay S, Alev-Tüzüner B, Tunalı S, Ak E, Emekli-Alturfan E, Tunalı-Akbay T, Koç-Öztürk L, Çetinel Ş, Yanardağ R, Yarat A. Investigation of the effects of edaravone on valproic acid induced tissue damage in pancreas. Marmara Pharm J. 2017;21(3):570-577.

Omidipour R, Zarei L, Boroujeni MB, Rajabzadeh A. Protective effect of thyme honey against valproic acid hepatotoxicity in Wistar rats. Biomed Res Int. 2021(2021):1-11.

Orhan, H, Şahin G. Glutatyon S-Transferazların Klinik ve Toksikolojik Önemi. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri. 1995:15; 303-315.

Østerud B, Bjørklid E. Sources of tissue factor. Semin Thromb Hemost Seminars.2006:32(1);11-23

Oto G, Ekin S, Özdemir H, Bulduk M, Uyar H, Öksüz E. The protective role of resveratrol on serum total sialic acid and lipid-bound sialic acid in female rats with chronic fluorosis. East J Med. 2016;21(4):168-172.

Oztay F, Tunali S, Kayalar O, Yanardag R. The protective effect of vitamin U on valproic acid-induced lung toxicity in rats via amelioration of oxidative stress. J Biochem Mol Toxicol. 2020;34(12):e22602.

Pappas IS, Siomou S, Bozinou E, Lalas SI. *Moringa oleifera* leaves crude aqueous extract down-regulates of BRCA1, mta-1 and oncogenes c-myc and p53 in AsPC-1, MCF-7 and HTC-116 cells. Food Biosci. 2021;43:101221.

Patil SV, Mohite BV, Marathe KR, Salunkhe NS, Marathe V, Patil VS. Moringa tree, gift of nature: A review on nutritional and industrial potential. Curr Pharmacol Rep. 2022;8(4):262-280.

Pendurthi UR, Rao LVM. Role of tissue factor disulfides and lipid rafts in signaling. Thromb Res. 2008;122:14-18.

Pizzorno, JE. Boron. In: JE Pizzorno, Murray MT(eds). Boron. Textbook of Natural Medicine,5.th edition. Elseiver; 2020. p: 451-457.

Pizzorno L. Nothing boring about boron. IMCJ. 2015;14(4):35-48.

Polat SÖ. Tükürük bezlerine güncel bakış: Yeni bir organ tartışması. Arşiv Kaynak Tarama Derg. 2021;30(2):59-67.

Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, De Tata V, Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. Biochem Pharmacol. 2003;66(8):1499-1503.

Proctor GB, Carpenter GH. Salivary secretion: mechanism and neural regulation. In: Ligtenberg AJM, Veerman ECI, (eds).Saliva: Secretion and functions. Basel: Karger;2014,p:14-29. doi: 10.1159/000358781

Raza H. Dual localization of glutathione S-transferase in the cytosol and mitochondria: implications in oxidative stress, toxicity and disease. FEBS J. 2011;278(22):4243-4251.

Raza M, Al-Bekairi A, Ageel A, Qureshi S. Biochemical basis of sodium valproate hepatotoxicity and renal tubular disorder: Time dependence of peroxidative injury. Pharmacol Res. 1997;35(2):153-157.

Roa I, Del Sol M. Obesity, salivary glands and oral pathology. Colomb Med. 2018;49(4):280-287.

Robbins RA, Grisham MB. Nitric oxide. Int J Biochem Cell Biol. 1997;29(6):857-860.

Röhrig CH, Choi SS, Baldwin N. The nutritional role of free sialic acid, a human milk monosaccharide, and its application as a functional food ingredient. Crit Rev Food Sci Nutr. 2017;57(5):1017-1038.

Romoli M, Costa C, Siliquini S, Corbelli I, Eusebi P, Bedetti C, Caproni S, Cupini LM, Calabresi P, Sarchielli P. Antiepileptic drugs in migraine and epilepsy: Who is at increased risk of adverse events? Cephalalgia. 2018;38(2):274-282.

Romoli M, Mazzocchetti P, D'Alonzo R, Siliquini S, Rinaldi VE, Verrotti A, Calabresi P, Costa C. Valproic acid and epilepsy: From molecular mechanisms to clinical evidences. Curr Neuropharmacol. 2019;17(10):926-946.

Rubio CP, Hernández-Ruiz J, Martinez-Subiela S, Tvarijonaviciute A, Ceron JJ. Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: An update. BMC Vet Res. 2016;12(1):1-7.

Sancar Baş S. The influence of vitamin U supplementation on liver injury of amiodarone-administered rats. Eur J Biol. 2016;75(1):1-10.

Sarıaltın SY, Üstündağ A, Chinheya RM, İpek S, Duydu Y. Cytotoxicity, genotoxicity, oxidative stress, apoptosis and cell cycle arrest in human Sertoli cells exposed to boric acid. J Trace Elem Med Biol. 2022;70:126913.

Schäfer M, Brandl EJ. (2020). Mood Stabilizers: Valproate. In: Riederer P, Laux G, Mulsant B, Le W, Nagatsu T(eds). NeuroPsychopharmacotherapy. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-56015-1_49-1

Singh D, Gupta S, Verma I, Morsy MA, Nair AB, Ahmed A-SF. Hidden pharmacological activities of valproic acid: a new insight. Biomed Pharmacother. 2021;142:112021. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112021.

Sixto-López Y, Bello M, Correa-Basurto J. Exploring the inhibitory activity of valproic acid against the HDAC family using an MMGBSA approach. J Comput Aided Mol Des. 2020;34(8):857-878.

Su LJ, Zhang J-H, Gomez H, Murugan R, Hong X, Xu D, Jiang F, Zhi-Yong P. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. Oxid Med Cell Longev. 2019;2019.

Tehrani HS, Moosavi-Movahedi AA. Catalase and its mysteries. Prog Biophys Mol Biol. 2018;140:5-12.

Tenopoulou M, Doulias PT. Endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide in the regulation of metabolism. F1000Res. 2020;9.

Tshabalala T, Ncube B, Madala NE, Nyakudya TT, Moyo HP, Sibanda M, Ndhlala AR. Scribbling the cat: a case of the “miracle” plant, *Moringa oleifera.* Plants. 2019;8(11):510. doi:10.3390/plants8110510

Tsuchida S, Yamada T. Glutathione Transferases, In: Tsuchida S, Yamada T (eds). Reference Module in Biomedical Sciences, Hirosaki; Elseiver: 2014. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.04351-8

Tunali S, Kahraman S, Yanardag R. Vitamin U, a novel free radical scavenger, prevents lens injury in rats administered with valproic acid. Hum Exp Toxicol. 2015:34(9);904-910.

Turkyilmaz IB, Altas N, Arisan I, Yanardag R., Effect of vitamin B6 on brain damage in valproic acid induced toxicity. J Biochem Mol Toxicol. 2021:35(9); e22855.

Turkyilmaz IB, Bilgin Sokmen B, Yanardag R. Alpha-lipoic acid prevents brain injury in rats administered with valproic acid. J Biochem Mol Toxicol. 2020;34(11):e22580

Tvarijonaviciute A, Zamora C, Ceron JJ, Bravo-Cantero AF, Pardo-Marin L, Valverde S, Lpoez-Jornet P. Salivary biomarkers in Alzheimer's disease. Clin Oral Investig. 2020;24(10):3437-3444.

Uchida H, Ovitt CE. Novel impacts of saliva with regard to oral health. Prosthet Dent. 2022;127(3):383-391.

Uluisik I, Karakaya HC, Koc A. The importance of boron in biological systems. J Trace Elem Med Biol. 2018:45:156–162. https://doi. org/10.1016/j.jtemb.2017.10.008

Varga G. Physiology of the salivary glands. Surgery (Oxford). 2012;30(11):578-583.

Vargas-Sánchez K, Garay-Jaramillo E, González-Reyes RE. Effects of *Moringa oleifera* on glycaemia and insulin levels: A Review of animal and human studies. Nutrients. 2019;11(12):2907. doi:10.3390/nu11122907

Vongsak B, Sithisarn P, Mangmool S, Thongpraditchote S, Wongkrajang Y, Gritsanapan W. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant

activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. Ind Crops Prod. 2013;44:566-571.

Wang Y, Gao Y, Ding H, Liu S, Han X, Gui J, Liu D. Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity. Food Chem. 2017;218:152-158.

Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. J Biol Chem. 1959;234:1971-1975.

Warrington K. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. Ann Bot. 1923;37(4):629–672.

Weydert CJ, Cullen JJ, Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. Nat Protoc. 2010;5(1):51-66

Wolff A, Joshi RK, Ekström J, Aframian D, Pedersen AML, Proctor G, Narayana N, Villa A, Sia YW, Aliko A, McGowan R, Ross Kerr A, Jensen SB, Vissink A, Dawes C. A guide to medications inducing salivary gland dysfunction, xerostomia, and subjective sialorrhea: A systematic review sponsored by the world workshop on oral medicine VI. Drugs R D. 2017;17(1):1-28.

Wu J, Li J, Jing W, Tian X, Wang X. Valproic acid-induced encephalopathy: A review of clinical features, risk factors, diagnosis, and treatment. Epilepsy Behav. 2021;120:107967.

Wu R, Feng J, Yang Y, Dai C, Lu A, Li J, Liao Y, Xiang M, Huang Q, Wang D, Du XB. Significance of serum total oxidant/antioxidant status in patients with colorectal cancer. PLoS One. 2017;12(1):1-13.

Yadav J, Verma AK, Garg RK, Ahmad K, Mahdi AA, Srivastava S. Sialic acid associated with oxidative stress and total antioxidant capacity (TAC) expression level

as a predictive indicator in moderate to severe Alzheimer's disease. Exp Gerontol. 2020;141:111092.

Yang H, Lu L, Chen X. An overview and future prospects of sialic acids. Biotechnol Adv. 2021;46:107678.

Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. Chem Rev. 2011;111(10):5944-5972.

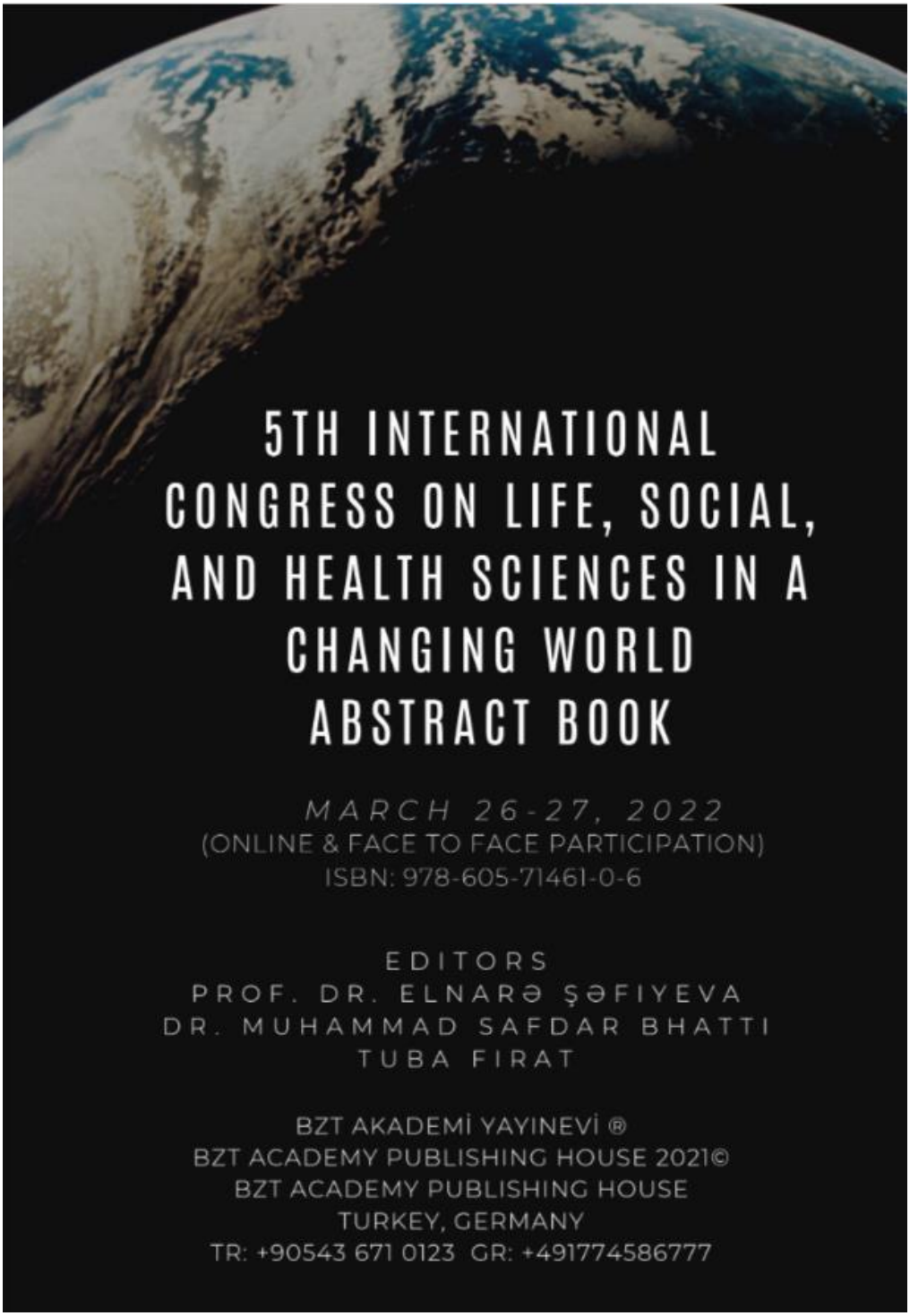
Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. Int J Health Sci. 2018;12(3):88-93.

Zaia D, Verri Jr W, Zaia C. Determination of total proteins in several tissues of rat: A comparative study among spectrophotometric methods. Microchem J. 2000;64(3):235-239.

Zawab A, Carmody J. Safe use of sodium valproate. Aust Prescr. 2014;37:124-127

9. EKLER

EK 1. Tezle İlgili Sözel Sunum I



5TH INTERNATIONAL CONGRESS
ON LIFE, SOCIAL, AND HEALTH SCIENCES IN A CHANGING WORLD
MARCH 26-27, 2022

MORİNGA OLEİFERA, SIÇANLARIN SUBMANDİBULAR BEZLERİNDE VALPROİK ASİT KAYNAKLI LİPİD PEROKSİDASYON SEVİYELERİNDEKİ ARTIŞI AZALTTI.

Eda Çergel[1], Burçin Alev Tüzüner[2], Umar Faruk Magaji [3,3a], Şehkar Oktay[4], İsmet Burcu Türkyılmaz[3], Özlem Saçan[3], Refiye Yanardağ[3], Ayşen Yarat[4]

[1]Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Yüksek Lisans Öğrencisi, Maltepe, İstanbul, Türkiye
[2]İstanbul Gelişim Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü-Biyokimya, Avcilar, İstanbul/Türkiye,
[3]Istanbul Üniversitesi-Cerrahpasa, Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü, Avcılar, İstanbul/Türkiye,
[3a]Federal Üniversitesi Birnin Kebbi, Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Bölümü, Birnin Kebbi, Kebbi, Nigeria
[4]Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri-Biyokimya, Maltepe, İstanbul/Türkiye.

ÖZET

Moringa oleifera Lam. (*M. oleifera*) ekstresi, anti-inflamatuar, antioksidan, anti-kanser, hepatoprotektif, nöro-koruyucu, hipoglisemik ve kan lipid azaltıcı fonksiyonlar dahil olmak üzere çoklu nutrasötik veya farmakolojik fonksiyonlar sergilemektedir. Valproik asit (VPA), migren, bipolar bozukluk, anksiyete ve diğer psikiyatrik bozukluklarda etkili olan geniş spektrumlu bir anti-epileptik ilaçtır. VPA'nın bilinen birçok klinik yan etkisinin yanı sıra siyaladenoz ve ağız kuruluğuna neden olduğu belirtilirken, VPA tedavisinin tükürük bezi tümörlerinin büyümesini engellediği de iddia edilmektedir. Bu çalışmada, VPA uygulanan sıçanlarda *M.oleifera* alkolik ekstraktının majör tükürük bezlerinden biri olan submandibular bez üzerindeki olası koruyucu etkisi araştırıldı. Submandibular bez lipid peroksidasyon değerleri VPA grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttı. Lipid peroksidasyon değerleri *M. oleifera* ekstresinin uygulanmasıyla önemli ölçüde azaldı. Bu çalışma Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (Proje No:TYL-2022-10383) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Valproik asit, *M. oleifera* ekstresi, submandibular gland, lipid peroksidasyon

EK 2. Tezle İlgili Sözel Sunum II



OP21

Protective effect of Moringa oleifera on oxidant damage caused by valproic acid in the parotid gland of rats

Eda Cergel[1], Burcin Alev Tuzuner[2], Umar Faruk Magaji [3,3a], Sehkar Oktay[4], Ozlem Sacan[3], Refiye Yanardag[3], Aysen Yarat[4]

[1]Marmara University, Health Sciences Institute, Biochemistry Master of Science Student, Maltepe, Istanbul, Turkey, 2Istanbul Gelisim University, Faculty of Dentistry, Biochemistry Department, Avcilar, Istanbul/Turkey,
[3]Istanbul University-Cerrahpasa, Faculty of Engineering, Department of Chemistry, Division of Biochemistry, Avcilar, Istanbul/Turkey,
[3a]Federal University Birnin Kebbi, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Birnin Kebbi, Kebbi, Nigeria,
[4]Marmara University, Faculty of Dentistry, Basic Medical Sciences, Biochemistry, Maltepe, Istanbul/Turkey.

Valproic acid (VPA) is a broad spectrum anti-epileptic drug that is effective in migraine, bipolar disorder, anxiety and other psychiatric disorders. In addition to many known clinical side effects of VPA, it is stated that it causes sialadenosis and dry mouth, and it is also claimed that VPA treatment prevents the growth of salivary gland tumors.

Moringa oleifera Lam. (M. oleifera) is also known as "miracle tree" among people because of its healing of various ailments and chronic diseases. Extracts from M. oleifera exhibit multiple nutraceutical or pharmacological functions including anti-inflammatory, anti-oxidant, anti-cancer, hepatoprotective, neuroprotective, hypoglycemic, and blood lipid-reducing functions.

In this study, the possible protective effect of M.oleifera alcoholic extract on the parotid gland, which is one of the major salivary glands, was investigated in VPA-treated rats. Parotid gland lipid peroxidation values were significantly increased in the VPA group compared to the control group. Lipid peroxidation values were significantly decreased with the administration of M. oleifera extract.

Keywords: Valproic acid, M. oleifera extract, parotid gland, lipid peroxidation

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Eda
Soyadı	ÇERGEL
Doğum Yeri	Kadıköy/ İSTANBUL
Uyruğu	T.C

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi-Beslenme ve Biyokimyası	
Lisans	Acıbadem Üniversitesi-Beslenme ve Diyetetik	2018

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1	Haliç Üniversitesi- Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2020- halen

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
İngilizce	Çok iyi	Orta	Orta

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
76								

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	92,11461	90,40943	88,13839
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
Microsoft Office	İyi
SPPS	Orta

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.*