



## Parkinson modelinde borik asit ve kuersetin kombinasyonunun oksidatif stres/bilişsel fonksiyon üzerine etkisi

Elif Yavuz<sup>1</sup>, Güven Çevik<sup>1</sup>, Burcu Çevreli<sup>2</sup>, Emel Serdaroğlu Kaşıkçı<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, 34662, Türkiye

<sup>2</sup>Üsküdar Üniversitesi, Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul, 34662, Türkiye

### MAKALE BİLGİSİ

#### Makale Geçmişi:

İlk gönderi 9 Aralık 2023

Kabul 17 Temmuz 2023

Online 30 Eylül 2023

#### Araştırma Makalesi

DOI: 10.30728/boron.1215949

#### Anahtar kelimeler:

Borik asit  
Kuersetin  
Oksidatif stres  
Parkinson  
Rotenon

### ÖZET

Parkinson hastalığı, beyinde dopaminerjik nöronlara etki eden önemli bir nörodejeneratif bozukluktur. Kuersetin, doğrudan radikal temizleme aktiviteleri ve antioksidatif enzimlerin indüksiyonu ile tüm flavonoidler arasında en güçlü antioksidanlardan biridir. Yapılan çalışmalarda Borik asidin kalsiyum, vitamin D ve magnezyum ile etkileşime girerek organlar için yararlı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada 3 aylık Wistar-albino erkek sıçandan oluşan deney grupları 8 gruba (n=7) ayrılmış ve beyin doku örneklerinde glutasyon ve malondialdehit seviyeleri manuel olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda total antioksidan durumu (TAS), ticari kit kullanılarak tayin edilmiştir. Sıçanların bilişsel işlevlerini değerlendirmek için lokomotor aktivite ve nesne tanıma testleri uygulanmıştır. İstatistiksel analizlerde GraphPad Prism 9 versiyonu kullanılmıştır. Değerler, tek yönlü ANOVA ile istatistiksel olarak analiz edilmiş, gruplar arasındaki farklılıklar Uncorrected Fisher's LSD testleri kullanılarak belirlenmiştir.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Buna göre bu çalışmanın sonucunda Kuersetin ve Borik asidin antioksidan kapasite üzerine olumlu etkiler yaparak TAS seviyelerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Elde edilen veriler, borik asidin Parkinson hastalığı patogenezini önleyerek oksidan-antioksidan dengeyi olumlu yönde etkilediğini göstermiştir.

## Effect of boric acid and quercetin combination on oxidative stress/cognitive function in parkinson model

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received December 9, 2023

Accepted July 17, 2023

Available online September 30, 2023

#### Research Article

DOI: 10.30728/boron.1215949

#### Keywords:

Boric acid  
Quercetin  
Oxidative stress  
Parkinson  
Rotenone

### ABSTRACT

Parkinson's disease is an important neurodegenerative disorder that affects dopaminergic neurons in the brain. Quercetin is one of the most potent antioxidants among all flavonoids, with direct radical scavenging activities and induction of antioxidative enzymes. Studies have shown that boric acid interacts with calcium, vitamin D and magnesium to have beneficial effects for organs. In this study, experimental groups consisting of 3-month-old Wistar-albino male rats were divided into 8 groups (n=7) and glutathione and malondialdehyde levels were determined manually in brain tissue samples. Also, total antioxidant status (TAS) was determined using a commercial kit. Locomotor activity and object recognition tests were applied to evaluate the cognitive functions of the rats. GraphPad Prism 9 version was used for statistical analysis. Values were statistically analyzed with one-way ANOVA, and differences between groups were determined using Uncorrected Fisher's LSD tests.  $p < 0.05$  was considered statistically significant. Accordingly, as a result of this study, it has been shown that Quercetin and Boric acid have positive effects on antioxidant capacity and are effective in TAS levels. Obtained data has shown that boric acid would positively effect the oxidant-antioxidant balance by preventing the pathogenesis of Parkinson's disease.

### 1. Giriş (Introduction)

Parkinson hastalığı (PH), beyindeki substantia nigra pars compacta'daki dopaminerjik nöronların yıkımı ile karakterize bir tür nörodejeneratif hastalıktır [1]. PH patogenezinin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır ancak artan kanıtlar, oligomerler

olarak bilinen çözünür  $\alpha$ -sinüklein ( $\alpha$ -syn) kümelerinin, hücrel mekanizmaları bozarak PH oluşumu üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir [2,3].  $\alpha$ -syn kümeleri, mitokondriyal disfonksiyon, proteostaz kaybı, sinaptik yapıların bozulması, hücrel apoptoz süreçleri ve nöroinflamasyon dâhil olmak üzere çeşitli şekillerde sitotoksositeye neden olabilir [4].

\*Corresponding author: emel.serdaroglukasikci@uskudar.edu.tr

PH genellikle hastalarda motor semptomların gözlemlenmesiyle teşhis edilir. Ortaya çıkan nöron dejenerasyonu, striatumda dopamin seviyesinin düşmesine neden olarak anormal motor kontrolüne yol açar. Dopaminerjik nörotransmitter eksikliği sonucu Parkinson hastalığında limbik sistemle ilişkili olan substantia nigra pars compacta'da hem dopamin üretimi hem de hastalığın seyri boyunca dopamin üreten hücrelerin sayısı azalır [5]. Bu durum istirahat tremoru, bradikinezi, rijidite ve postural instabilite gibi primer motor semptomlara neden olur. PH'nin ayrıca anosmi, uyku bozuklukları ve kabızlık gibi motor olmayan semptomların yanı sıra bilişsel ve psikiyatrik semptomlara da neden olduğu kabul edilmektedir [6].

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminde artış ve antioksidan savunma sisteminde eksiklik ile karakterize bir süreçtir [1,7]. Oksidatif stres Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, amiotrofik lateral skleroz, multipl skleroz, depresyon ve hafıza kaybı dahil olmak üzere çeşitli nörolojik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir [8,9]. Serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonunda güçlü başlatıcılar olarak rol oynar ve hastalık oluşum mekanizması üzerinde doğrudan etkilere sahiptir [10-12].

Dünyada yaygın olarak kullanılan bir pestisit olan Rotenon (ROT), insan Parkinson hastalığının deneysel modellerinde yaygın olarak kullanılan ve PH mekanizmalarını yansıtabilen kimyasal bir nörotoksindir [13]. Etkili bir mitokondriyal kompleks I inhibitörü olan ROT, merkezi sinir sisteminde bozukluklara neden olur ve lipofilik yapısı nedeniyle kan-beyin bariyerini kolayca geçen bir hidrofobik bileşik türüdür [14]. ROT'un oksidatif strese, nöroinflamasyona, dopaminerjik nöronların apoptozisine, davranışsal eksikliklere ve  $\alpha$ -syn agregasyonuna neden olduğu çeşitli çalışmalar ışığında bildirilmiştir [15].

Bor, periyodik cetvelde 3A grubunda yer alan bir ametaldir [16-18]. Diyet bor kaynakları bitki bazlıdır (sebzeler, meyveler ve badem ve fındık gibi sert kabuklu yemişler) [20,36]. Borik asit (BA), organik bileşiklerin hidroksil gruplarıyla ester kompleksleri oluşturur. Ancak bor ve borik asidin biyokimyasal mekanizması tam olarak bilinmemektedir [10,19,20]. BA'nın kalsiyum, magnezyum, D vitamini, aldehit dehidrojenaz, ksantin oksidaz, sitokrom b redüktaz, insülin, östrojen, testosteron, T3, T4, trigliserit ve glukoz metabolizmasını etkiler ve ayrıca antioksidan aktiviteye sahiptir [21,22].

Kuersetin (KUE), elma, çay, soğan, fındık ve ceviz gibi meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan bir flavonoiddir [23]. Doğrudan radikal süpürücü aktiviteleri ve antioksidan enzimlerin indüklenmesi nedeniyle tüm flavonoidler arasında en güçlü antioksidanlardan biridir [24,25]. Deneysel çalışmalarda, sıçanlarda PH tedavisinde ve rotenon kaynaklı çalışmalarda KUE'nin motor defisitleri ve biyokimyasal ve nörotransmitter değişikliklerini hafiflettiği gözlemlenmiştir [26,27]. KUE'nin ayrıca serbest radikalleri baskılayarak ve

glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz dahil olmak üzere antioksidan enzimlerin seviyelerini artırarak farelerde karaciğer hasarını hafiflettiği gözlemlenmiştir [28,29].

Bu çalışmanın amacı, ülkemizin önemli doğal kaynaklarından biri olan ve nöro-koruyucu etkiye sahip olabileceğini düşündüğümüz BA ve özellikle bitkisel besinlerde bol miktarda bulunan güçlü bir antioksidan olan KUE'in birlikte uygulanmasının bu hastalığın oluşum ve gelişimi üzerine önleyici etkisini araştırmak ve tedaviye yönelik katkı sağlamak olacaktır.

## 2. Malzemeler ve Yöntemler (Materials and Methods)

### 2.1. Hayvanlar (Animals)

Bu çalışmada 200-250 g ağırlığında 56 adet 3 aylık erkek Wistar-Albino sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar ad libitum olarak beslenerek 12 saatlik aydınlık-karanlık periyodunda, uygun laboratuvar koşullarında muhafaza edilmiştir. İlgili etik kurul onayı, Üsküdar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (ÜÜ-HAYDEK 2021-07).

### 2.2. Deneysel Protokolü (Experimental Protocol)

Deneysel gruplar (n=7) Tablo 1'de verilmiştir. Kontrol grubuna deney süresince 35 gün ayçiçek yağı (1mL/kg deri altı (sc)) ve Grup 2'ye 35 gün süreyle ROT 2 mg/kg/gün tek doz sc olarak verilmiştir [4]. Hayvan deneyleri sonunda bir gecelik açlıktan sonra anestezik ajan olarak ketamin ve ksilazin uygulanmıştır. Beyin doku örneklerindeki Glutatyon (GSH) ve Malondialdehit (MDA) seviyeleri manuel yöntemle ve bu örneklerdeki Total Antioksidan Durum (TAS) seviyeleri ticari kit kullanılarak belirlenmiştir. Sıçanların bilişsel işlevlerini değerlendirmek için Parkinson modelinde sıklıkla kullanılan davranış testleri olan Lokomotor Aktivite (LMA) ve Nesne Tanıma Test (ORT)'leri uygulanmıştır.

Tablo 1. Experimental groups (n=7).

Grup Adı	ROT (mg/kg/gün)	BA (mg/kg/gün)	KUE (mg/kg/gün)
Grup 1	-	-	-
Grup 2	2	-	-
Grup 3	-	50	-
Grup 4	-	-	30
Grup 5	-	50	30
Grup 6	2	50	-
Grup 7	2	-	30
Grup 8	2	50	30

### 2.3. Biyokimyasal Parametreler (Biochemical Parameters)

#### 2.3.1. TAS Ölçümü (Measurement of TAS)

Beyin dokusu örneklerinde TAS'ın belirlenmesi: TAS Assay Kiti (Rel-Assay, Gaziantep, Türkiye) vit. E analogu olan Trolox standart olarak kullanılarak

ölçülmüştür.

### 2.3.2. GSH ölçümü (Measurement of GSH)

Beyin dokusu örneklerinde GSH tayini: Ellman reaktifi ile elde edilen renkli bileşik spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir [30].

### 2.3.3. MDA ölçümü (Measurement of MDA)

Beyin doku örneklerinde MDA tayini: Lipid peroksidasyonunun (LPO) sonucu oluşan MDA pembe-kırmızı renk reaksiyonu sonucu spektrofotometrik olarak ölçülmüştür [10].

## 2.4. Davranış Deneyleri (Behavioral Assessment)

### 2.4.1. Lokomotor aktivite testi (Locomotor activity test)

Lokomotor aktivite testinde deney düzeneğindeki deney ve kontrol gruplarındaki sıçanların lokomotor aktiviteleri Üsküdar Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi (ÜSKUDAB) lokomotor aktivite, açık alan hareket görüntüleme sistemi ile ölçülmüştür. LMA testi; 40×40×30 cm (MAY 9908, Commat Ltd., Ankara, Türkiye) ölçülerinde ses geçirmez dokuz odalı açık alan aktivite izleme sisteminde gerçekleştirilmiştir [31]. LMA, 30 dakikalık uzun test süresi için "hareket edilen toplam mesafe" miktarı belirlenerek ölçülmüştür [31]. Sistem kızılötesi fotosellere sahiptir. Hesaplamalar bilgisayara 0,1 doğrulukla aktarılır. Test sonucunda her bir hayvanın kat ettiği toplam mesafe, hareketsiz kaldığı süre ve yetiştirme sayısı kaydedilir. Deneklerin aktivitesi, otomatik bir video izleme cihazı ve yazılımı (Noldus, Ethovision v3.1, Hollanda) tarafından izlenmiş ve analiz edilmiştir [32].

### 2.4.2. Nesne tanıma testi (Object recognition test)

Yeni nesne tanıma testi olarak da bilinen ORT; farelerde farklı öğrenme ve hafıza aşamalarını test etmek için nispeten hızlı ve etkili bir araçtır. ORT'nin diğer kemirgen hafıza testlerine göre ana avantajı, kemirgenlerin yeniliği keşfetme konusundaki doğal eğilimlerine dayanmasıdır [33]. Testin temel mantığı, teste maruz kalan hayvanların ilk karşılaştıkları nesneyle değil, yeni karşılaştıkları nesneyle vakit geçirmelerine dayanmaktadır. Aralıklı olarak gerçekleştirilen bu testin ilk aşamasında hayvanın (40×40×40) ilk nesil ile tarlada 5 dakika vakit geçirmesi ve onu tanıması sağlanacaktır. Bir saat sonra aynı cisim ve farklı bir cisim birbirinden eşit uzaklıkta olacak şekilde alana eklenecektir. Deneyde ölçülecek parametreler, deneğin ilk temas ettiği nesne ve her iki nesneyle geçirdiği toplam süre olacaktır. Deneyde kullanılan her iki nesne de yükseklik ve hacim bakımından tutarlıdır, ancak renk ve şekil bakımından farklılık gösterir [23].

## 2.5. İstatistiksel Analiz (Statistical Analysis)

İstatistiksel analizlerde GraphPad Prism 9 versiyonu

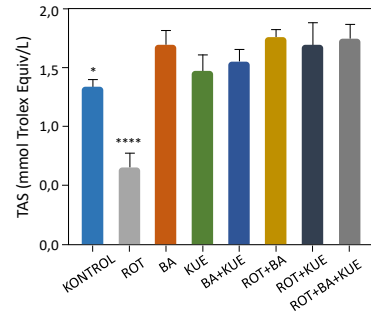
kullanılmıştır. Değerler, tek yönlü ANOVA ile istatistiksel olarak analiz edildi, gruplar arasındaki farklılıklar Uncorrected Fisher's LSD testleri kullanılarak belirlendi.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 3. Sonuçlar ve Tartışma (Results and Discussion)

### 3.1. Sonuçlar (Results)

#### 3.1.1. Biyokimyasal değerlendirme (Biochemical assesment)

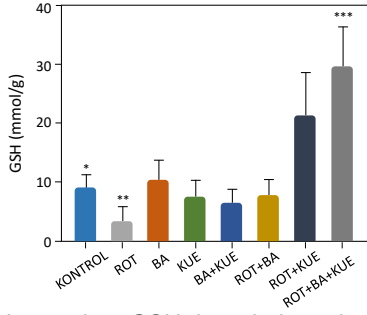
Şekil 1'de görüldüğü gibi TAS düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ( $p = 0,0007$ ). Anlamlı farklılığın hangi gruplar arasında olduğunun belirlenmesi amacı ile yapılan Uncorrected Fisher's LSD test sonuçlarına göre TAS düzeyleri ROT grubu ile BA ( $p < 0,0001$ ), KUE ( $p < 0,0001$ ), BA+KUE ( $p < 0,0001$ ), ROT+BA ( $p < 0,0001$ ), ROT+KUE ( $p < 0,0001$ ), ROT+BA+KUE ( $p < 0,0001$ ) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. KONTROL grubu ile ROT ( $p = 0,0002$ ), BA ( $p = 0,0341$ ), ROT+BA ( $p = 0,0138$ ), ROT+KUE ( $p = 0,0315$ ), ROT+BA+KUE ( $p = 0,0124$ ) grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. Sonuç olarak BA ve KUE'nin antioksidan kapasite üzerine olumlu etkiler yaparak TAS seviyelerinde etkili olduğu gösterilmiştir (\*\*\*\*  $p < 0,0001$ , \* $p < 0,05$ ).



**Şekil 1.** TAS sonuçları. TAS düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. (\*\*\*\*  $p < 0,0001$ , \* $p < 0,05$ ). (Results of TAS. TAS levels showed a statistically significant difference between the groups (\*\*\*\*  $p < 0,0001$ , \* $p < 0,05$ )).

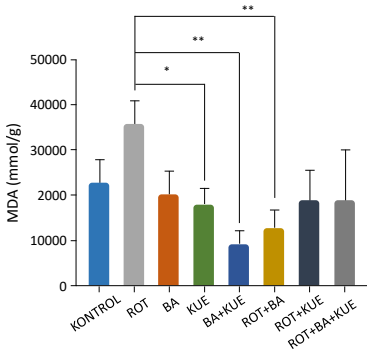
Şekil 2'de görüldüğü gibi GSH ortalamaları gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ( $p = 0,0016$ ). Buna göre GSH düzeyleri ROT+BA+KUE grubu ile KONTROL ( $p = 0,0018$ ), ROT ( $p = 0,0001$ ), BA ( $p = 0,0032$ ), KUE ( $p = 0,0011$ ). BA+KUE ( $p = 0,0005$ ), ROT+BA ( $p = 0,0011$ ), ROT+KUE ( $p = 0,1810$ ) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. ROT+KUE grubu ile ROT ( $p = 0,0062$ ), KUE ( $p = 0,0397$ ), BA+KUE ( $p = 0,0224$ ), ROT+BA ( $p = 0,0384$ ) grupları arasında da anlamlı bir farklılık göstermiştir. Aynı zamanda ROT grubunda KONTROL grubuna kıyasla GSH düzeylerinde bir azalma gözlenmiş ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ( $p = 0,3667$ ). Bu çalışmada ROT grubuna kıyasla ROT+KUE ve

ROT+BA+KUE gruplarında GSH düzeylerinde artış olduğu tespit edilmiştir (\*\* $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ ).



**Şekil 2.** GSH sonuçları. GSH düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir (\*\* $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ ). (Results of GSH. GSH levels showed a statistically significant difference between the groups (\*\* $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ )).

Şekil 3'te görüldüğü gibi MDA düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. Buna göre MDA düzeyleri ROT grubu ile KUE ( $p = 0,0704$ ), BA+KUE ( $p = 0,0031$ ), ROT+BA ( $p = 0,089$ ) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. KONTROL grubu ile kıyaslandığında ROT grubunda MDA düzeylerinde bir artış gözlenmiş ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ( $p = 0,1326$ ). Tüm sonuçlar incelendiğinde ROT grubuna kıyasla BA ve KUE'nin MDA düzeylerini anlamlı derecede azalttığı görülmektedir (\*\*  $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ ).



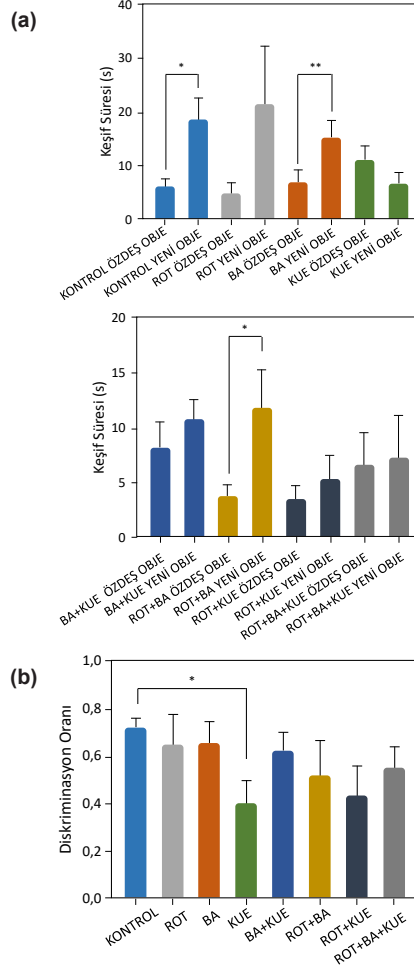
**Şekil 3.** MDA sonuçları. MDA düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir (\*\*  $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ ). (Results of MDA. MDA levels showed a statistically significant difference between the groups (\*\*  $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ )).

### 3.1.2. Davranış deneyleri (Behavioral assessment)

#### 3.1.2.1. Nesne tanıma testi (Object recognition test)

Şekil 4'te görüldüğü gibi obje tanıma testinin keşif süreleri ortalamaları KONTROL Özdeş Objeye ile KONTROL Yeni Objeye ( $p = 0,0239$ ), BA Özdeş Objeye ile BA Yeni Objeye ( $p = 0,0096$ ), arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. ROT grubunun yeni nesneyi tanıma belleğindeki artışa bakıldığı zaman ROT'un beyinde oksidatif hasara yol açtığını

fakat öğrenme belleğinde kalıcı zararlara yol açamayabileceği şeklinde yorumlayabiliriz (\*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ ). Buna göre obje tanıma testinin keşif süreleri ortalamaları ROT+BA Özdeş Objeye ile ROT+BA Yeni Objeye ( $p = 0,0367$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir (\*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ ).

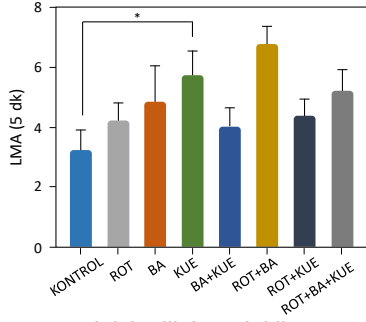


**Şekil 4.** a) Objeye tanıma testi keşif süreleri, b) Objeye tanıma testi diskriminasyon oranı. İstatistiksel olarak objeye tanıma testi diskriminasyon oranı KONTROL grubu ile KUE ( $p = 0,0310$ ) grubu arasında anlamlı bir farklılık göstermiştir (\* $p < 0,05$ ). (a) Object recognition test discovery times, b) Object recognition test discrimination rate. Statistically, object definition discrimination rate showed a significant difference between CONTROL group and CUE ( $p = 0.0310$ ) group (\* $p < 0.05$ )).

#### 3.1.2.2. Lokomotor aktivite testi (Locomotor activity test)

Şekil 5'de 5 dakikalık lokomotor aktivite ortalamaları incelendiğinde ROT+KUE sırasıyla;

KONTROL ( $p = 0,0039$ ), ROT ( $p = 0,0176$ ), KUE ( $p = 0,0187$ ), BA+KUE ( $p = 0,0010$ ), ROT+BA ( $p = 0,0105$ ), ROT+BA+KUE ( $p = 0,0221$ ) grupları arasında ve de BA grubu ile BA+KUE ( $p = 0,0401$ ) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (\* $p < 0,01$ ).



**Şekil 5.** Lokomotor aktivite ilk beş dakika sonuçları. ROT grubunun sonucunun KONTROL grubuna yakın çıkması ROT maddesinin hayvanlarda keşif duygularını köreltmediğini düşündürmektedir (\* $p < 0,01$ ). (Locomotor activity first five minutes results. The result of the ROT group being close to the CONTROL group suggests that the ROT substance does not blunt the sense of discovery in animals (\* $p < 0.01$ )).

### 3.2. Tartışma (Viscosity Measurements)

Fernandes ve ark. (2012) [34] yaptığı çalışmaya benzer şekilde bu çalışmada davranış testleri incelendiğinde obje tanıma testinde özdeş obje süresi göz önüne alındığında ROT grubunda hareket ve keşif duygularının körelendiği gözlemlenmiştir. Aynı zamanda lokomotor aktivite testi deneysel çalışmalarda uygulanan kimyasal ajanların motor hareketlilik üzerine etkilerini tespit etmede tercih edilen bir testtir. Bu aşamada motor hareketliliği artıran bir sıçanda keşif duygusunun da arttığı bilinmektedir. Bu çalışmada lokomotor aktivite testinin KONTROL grubuna kıyasla ROT grubunda artışı ile obje tanıma testinde de ROT grubunda özellikle yeni obje tanıma keşif süresinde artış gözlenmiştir. Ancak keşif duygusundaki artış deney hayvanının her zaman sunulan objeyi tanıyacağı anlamına da gelmemektedir. Bu bilgiler doğrultusunda özdeş obje süresi yönünden değerlendirildiğinde, bu çalışmada deneysel Parkinson modelinin oluşumunun sağlandığı değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada uygulanan BA dozu Ayhancı ve ark.'nın çalışmasında belirtildiği gibi herhangi bir toksik etki göstermemektedir. BA'nın LD50 değerinin yaklaşık 1700-3450 mg/kg olduğu bildirilmiştir [35]. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada sıçan pellet yemine 100 mg/kg BA ilavesinin hayvanlarda toksik olmadığı ifade edilmiştir [21,36-38]. Kar F ve ark. yaptıkları bir başka çalışmada iskemi-reperfüzyon modeli oluşturulan böbrek dokusunda BA'nın farklı dozlarının etkileri değerlendirilmiştir. 50, 100 ve 200 mg/kg BA üç farklı doz uygulaması (intraperitoneal) sonucu böbrek dokusunda 200 mg/kg yüksek doz BA uygulamasının MDA düzeylerini azaltırken, GSH, Süperoksit dismutaz ve Katalaz düzeylerini arttırdığı belirlenmiştir [36]. Yapılan literatür taraması sonucu çalışmalarda genellikle kısa süreli (7 gün) doz uygulaması yapılmışken, bu çalışmada düşük doz BA'i (50 mg/kg) 35 gün süre ile kronik olarak uygulama uygun görülmüştür.

Bununla birlikte Serdaroglu- Kasikci E çalışmasında

yaşlanma modeli oluşturulan sıçanlarda KUE'nin oksidatif stres üzerine etkilerini değerlendirmiş ve yaşlanma sürecinde 30 mg/kg/gün KUE uygulamasının beyin doku örneklerinde GSH düzeylerini ve SOD aktivitesini artırdığı, MDA ve Nitrik oksit düzeylerini azalttığı belirtilmiştir [7]. Yapılan çalışmalarda rotenonla oluşturulan Parkinson modelinde GSH, SOD, Katalaz ve serum demir düzeylerinin azaldığı, hidrojen peroksit ve LPO aktivitesinin arttığı ifade edilmiştir. Aynı zamanda benzer bir çalışmada KUE'nin tedavi amaçlı kullanılan levodopanin yan etkilerini de azalttığı gösterilmiştir [39,40]. Joseph ve ark. 2015 yılında yaptığı bir çalışmada 21 gün süre ile ROT uygulanan Parkinson modelinde beyinde MDA düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte GSH beyinde en fazla bulunan antioksidan tioldür ve Parkinsonlu hastaların dopaminerjik nöronlarında GSH düzeylerinin azaldığı ve bu azalmanın artmış oksidatif stresle ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada balık yağı ve KUE kombine tedavisinin ROT ile uyarılmış oksidatif markerları onardığı gösterilmiştir [41].

Yapılan çalışmalara benzer şekilde bu çalışmada ROT uygulanan gruplarda KONTROL'e kıyasla GSH ve TAS düzeylerinin azaldığı, aksine MDA düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bu çalışmada oluşturulmuş olan Parkinson modelinde oksidatif stres sürecinin olumsuz etkilerini göstermektedir. Aynı zamanda ROT ile birlikte BA, KUE ve BA+KUE kombine uygulanan grupların ROT grubuna kıyasla MDA düzeylerindeki azalmanın bu sürece olumlu katkılar sağladığı görülmektedir.

### 4. Sonuçlar (Discussion)

Bu çalışmada BA'nın ve KUE'nin oksidatif stres belirteçleri ve davranış testleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda BA ve KUE'nin kombine uygulanmasının lipid peroksidasyonu üzerine olumlu etkiler sergilediği gözlenmiştir. Bu sonuç BA'nın takviye gıda olarak kullanılabileceğini de anlamlı kılmaktadır. Ayrıca KUE'nin antioksidan etkileri birçok metabolik ve nörodejeneratif hastalık modellerinde gösterilmiştir. Fakat BA'nın özellikle nörodejeneratif bozukluklar üzerine etkilerini gösteren çok az çalışma bulunmaktadır. Dolayısı ile elde ettiğimiz verilerin kronik BA uygulamasının olumlu etkilerinin altında yatan metabolik mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacağı değerlendirilmiştir.

### Teşekkür (Acknowledgement)

Üsküdar Üniversitesi Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezine katkılarından dolayı teşekkür ederim. Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 2209-A programı kapsamında (Proje No:1919B01210044) desteklenmiştir.

### Kaynaklar (References)

[1] Sankhla, C. S. (2017). Oxidative stress and parkinson's

- disease. *Neurology India*, 65(2), 269-270. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.201842>.
- [2] Radhakrishnan, D. M., & Goyal, V., (2018). Parkinson's disease: A review. *All India Institute of Medical Sciences*, 66(7), 26-35. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.226451>.
- [3] Rocha, E. M., De Miranda, B., & Sanders, L. H. (2018). Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, 109(Pt B), 249-257. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.04.004>.
- [4] Alikatte, K., Palle, S., Rajendra Kumar, J., & Pathakala, N. (2021). Fisetin improved rotenone-induced behavioral deficits, oxidative changes, and mitochondrial dysfunctions in rat model of parkinson's disease. *Journal of Dietary Supplements*, 18(1), 57-71. <https://doi.org/10.1080/19390211.2019.1710646>.
- [5] Xu, Q., Yang, S., Wu, F., Lin, Y., Zhong, J., Tang, L., ... & Cai, J. (2020). Congrong shujing granule-induced GRP78 expression reduced endoplasmic reticulum stress and neuronal apoptosis in the midbrain in a parkinson's disease rat model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 4796236, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2020/4796236>.
- [6] Pajares, M. I Rojo, A., Manda, G., Boscá, L., & Cuadrado, A. (2020). Inflammation in parkinson's disease: Mechanisms and therapeutic implications. *Cells*, 9(7), 1687. <https://doi.org/10.3390/cells9071687>.
- [7] Serdaroglu Kasikci, E., (2018). Evaluation of longterm quercetin administration on age related oxidative stress induced by D-galactose in rats. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(11), 7781-7786. <https://doi.org/11/2018 pages 7781-7786>.
- [8] Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, ... & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 8416763, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.
- [9] Smeyne, M., & Smeyne, R. J., (2013). Glutathione metabolism and parkinson's disease. *Free Radical of Biological Medicine*, 62, 13-25. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.001>.
- [10] Coban, F. K., Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H. H., & Hazman, O. (2015). Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 38, 391-399. <https://doi.org/10.3109/01480545.2014.974109>.
- [11] Sinha, N., & Dabla, P. K. (2015). Oxidative stress and antioxidants in the hypertension-a current review. *Current Hypertension Reviews*, 11(2), 132-142. <https://doi.org/10.2174/1573402111666150529130922>.
- [12] Tan, B. L., Norhaizan, M. E., & Liew, W. P. (2018). Nutrients and Oxidative Stress: Friend or Foe? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 9719584, 1-24. <https://doi.org/10.1155/2018/9719584>.
- [13] Radad, K., Al-Shraim, M., Al-Emam, A., Wang, F., Kranner, B., Rausch, W. D., & Moldzio, R. (2019). Rotenone: from modeling to implication in Parkinson's disease. *Folia Neuropathologica*, 57(4), 317-326. <https://doi.org/10.5114/fn.2019.89857>.
- [14] Bisbal, M., & Sanchez, M. (2019). Neurotoxicity of the pesticiderotenone on neuronal polarization: a mechanistic approach. *Neural Regeneration Research*, 14(5), 762-766. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.249847>.
- [15] Jayaraj, R. L., Beiram, R., Azimullah, S., Meeran M. F. N., Ojha, S. K., Âdem, A., & Jalal, F. Y. (2021). Noscapine prevents rotenone-induced neurotoxicity: Involvement of oxidative stress, neuroinflammation and autophagy pathways. *Molecules*, 26(15), 4627. <https://doi.org/10.3390/molecules26154627>.
- [16] Clarke, W. B., Webber, C. E., & Koekebakker, M. (1987). Lithium and boron in human blood. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 109(2), 155-158.
- [17] Jones, J. G., (2016). Hepatic glucose and lipid metabolism. *Diabetologia*, 59, 1098-1103. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-3940-5>.
- [18] Penland, J. G., (1998). The importance of boron nutrition for brain and psychological function. *Biological Trace Element Research*, 66, 299-317. <https://doi.org/10.1007/BF02783144>.
- [19] Hegsted, M., Keenan, M. J., Siver, F., & Wozniak, P., (1991). Effect of boron on vitamin D deficient rats. *Biological Trace Element Research*, 28, 243-255. <https://doi.org/10.1007/BF02990471>.
- [20] Khaliq, H., Juming, Z., & Ke-Mei, P. (2018). The physiological role of boron on health. *Biological Trace Element Research*, 186, 31-51. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1284-3>.
- [21] Ince, S., Kucukkurt, I., Cigerci, I. H., Fidan, A. F., & Eryavuz, A., (2010). The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(3), 161-164. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2010.01.003>.
- [22] Nielsen, F. H. (2014). Update on human health effects of boron. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28, 383-387. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.06.023>.
- [23] Ghaffari, F., Moghaddam, A. H., & Zare, M., (2018). Neuroprotective effect of quercetin nanocrystal in a 6-Hydroxydopamine model of parkinson disease: Biochemical and behavioral evidence. *Basic Clinical Neuroscience*, 9(5), 317-324. <https://doi.org/10.32598/bcn.9.5.317>.
- [24] El-Horany, H. E., Abd El-Atif, R. N., ElBatsh, M. M., & Emam M. N., (2016). Ameliorative effect of quercetin on neurochemical and behavioral deficits in rotenone rat model of parkinson's disease: modulating autophagy (quercetin on experimental parkinson's disease). *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 30(7), 360-369. <https://doi.org/10.1002/jbt.21821>.
- [25] Karuppagounder, S. S., Madathil, S. K., Pandey, M., Haobam, R., Rajamma, U., & Mohanakumar K. P., (2013). Quercetin up-regulates mitochondrial complex-I activity to protect against programmed cell death in rotenone model of parkinson's disease in rats. *Neuroscience*, 236, 136-148. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.01.032>.

- [26] Bors, W., Heller, W., Michel, C., & Saran, M. (1990). Flavonoid as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiency. *Methods in Enzymology*, 186, 334-355. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86128-i](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86128-i).
- [27] Sharma, S., Raj, K., & Singh, S., (2020). Neuroprotective effect of quercetin in combination with piperine against rotenone- and iron supplement-induced parkinson's disease in experimental rats. *Neurotoxicity Research*, 37, 198-209. <https://doi.org/10.1007/s12640-019-00120-z>.
- [28] Ay, M., Luo, J., Langlely, M., Jin, H., Anantharam, V., Kanthasamy, A., & Kanthasamy, A. G., (2017). Molecular mechanisms underlying protective effects of quercetin against mitochondrial dysfunction and progressive dopaminergic neurodegeneration in cell culture and mitopark transgenic mouse models of parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry*, 141(5), 766-782. <https://doi.org/10.1111/jnc.14033>.
- [29] Shen, P., Lin, W., Deng, X., Ba, X., Han, L., Chen, Z., ... & Tu, S. (2021). Potential implications of quercetin in autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, 12, 689044. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.689044>.
- [30] Beutler, E., Duron, O., Kelly, & B.M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 61, 882-888. PMID: 13967893.
- [31] Tekin, M., Kaya-Yertutanol, F. D., Çevreli, B., Özdoğru, A. A., Kulaksız, H., & Uzbay, İ. T. (2021). Sodium valproate improves sensorimotor gating deficit induced by sleep deprivation at low doses. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 51(3), 1521-1530. Doi: 10.3906/sag-2011-229. <https://doi.org/10.3906/sag-2011-229>.
- [32] Kujawska, M., & Jodynis-Liebert, J., (2018). Polyphenols in parkinson's disease: A systematic review of in vivo studies. *Nutrients*, 10(5), 642. <https://doi.org/10.3390/nu10050642>.
- [33] Lueptow, L. M. (2017). Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, (126), 55718. <https://doi.org/10.3791/55718>.
- [34] Fernandes, V. S., Santos, J. R., Leão, A. H., Medeiros, A. M., Melo, T. G., Izídio, G. S., ... & Silva, R. H. (2012). Repeated treatment with a low dose of reserpine as a progressive model of Parkinson's disease. *Behavioural Brain Research*, 231(1), 154-163. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.03.008>.
- [35] Ayhanci, A., Tanriverdi, D. T., Sahinturk, V., Cengiz, M., Appak-Baskoy, S., & Sahin, I. K. (2020). Protective effects of boron on cyclophosphamide-induced bladder damage and oxidative stress in rats. *Biological Trace Element Research*, 197, 184-191. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01969-z>.
- [36] Kar, F., Hacıoglu, C., Senturk, H., Donmez, D. B., & Kanbak, G. (2020). The role of oxidative stress, renal inflammation, and apoptosis in post ischemic reperfusion injury of kidney tissue: The protective effect of dose-dependent boric acid administration. *Biological Trace Element Research*, 195, 150-158. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01824-1>.
- [37] Nicholas, V. C., & Hunt, R. C. D., (2020). Diadenosine phosphates and S-adenosylmethionine: Novel boron binding biomolecules detected by capillary electrophoresis. *Neurotoxicity Research*, 37, 198-209. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(01\)00130-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(01)00130-1).
- [38] Sogut, I., Oglakçı, A., Kartkaya, K., Kusat Ol K., Sogut, M. S., Kanbak, G., & Inal, M. E. (2015). Effect of boric acid on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 9, 1023-1027. <https://doi.org/10.3892/etm.2014.2164>.
- [39] Romuk, E. B., Szczurek, W., Nowak, P. G., Hudziec, E., Chwalińska, E., & Birkner, E. (2016). Effects of propofol on the liver oxidative-antioxidant balance in a rat model of parkinson's disease. *Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University*, 25(5), 815-820. <https://doi.org/10.17219/acem/36459>.
- [40] Boyina, H. K., Geethakrishnan, S. L., Panuganti, S., Gangarapu, K., Devarakonda, K. P., Bakshi, V., & Guggilla, S. R. (2020). In silico and in vitro studies on quercetin as potential anti-parkinson agent. *Advances in Experimental Biology*, 1195, 1-11. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-32633-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-32633-3_1).
- [41] Deny Joseph, K. M., & Muralidhara. (2015). Combined oral supplementation of fish oil and quercetin enhances neuroprotection in a chronic rotenone rat model: relevance to parkinson's disease. *Neurochemical Research*, 40(5), 894-905. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1542-0>.