



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**DOKTORA TEZİ**

**SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN KALP HASARINA MORİNGA  
OLEİFERA'NIN ETKİLERİ**

**Elmas Irmak ÇİL ARSLAN**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Özlem SAÇAN**

**II. DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. İ. Burcu TÜRKYILMAZ MUTLU**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Biyokimya (F.B.E), Doktora Programı**

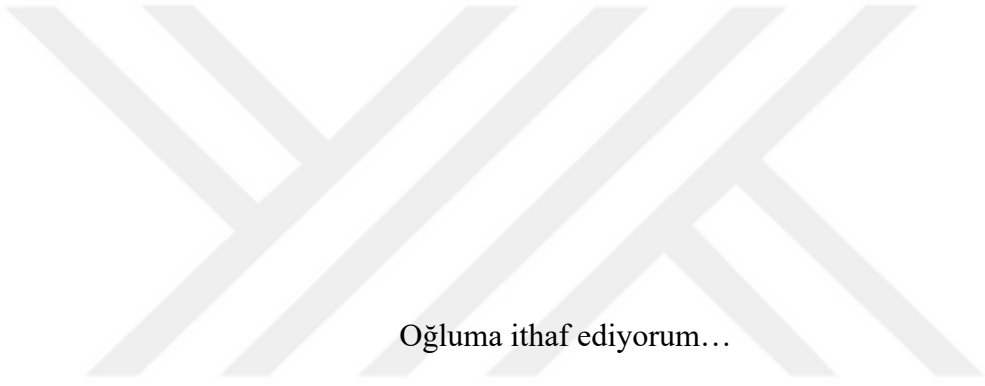
**Haziran, 2025**

## TEZ KABUL VE ONAYI

Elmas Irmak ÇİL ARSLAN tarafından, Prof. Dr. Özlem SAÇAN danışmanlığında hazırlanan "SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN KALP HASARINA MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİLERİ " başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 25/06/2025 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

### Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
<b>DANIŞMAN</b>	Prof. Dr. Özlem SAÇAN İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimya Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimya Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Prof. Dr. Sevim TUNALI İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimya Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Dr. Öğr. Üyesi Nurcihan TAN ERKOÇ Gelişim Üniversitesi Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret



Oğluma ithaf ediyorum...

## **BÜTÇE DESTEKLERİ**

### **SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN KALP HASARINA MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİLERİ**

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.



## TEŞEKKÜR

Doktora tez sürecim boyunca bilgisiyle yolumu aydınlatan; anlayışı, sabrı ve güzel yüreğiyle bana ilham veren; beni her zaman yüreklendiren, kıymeti tarif edilemez birtanecik hocam Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a en içten minnetimle, saygıyla ve sevgiyle teşekkür ederim.

Akademik yolculuğumda bana rehberlik eden, yapıcı katkıları ve teşvik edici yaklaşımıyla hep yanımda olan canım hocam Doç. Dr. İsmet Burcu TÜRKYILMAZ MUTLU'ya gönülden teşekkür ederim.

Doktora tez aşamamda ilgi ve desteklerini esirgemeyen ve “Tez İzleme Komitesi” üyelerinden olan Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a ve Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL'e de teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda kullanmış olduğumuz bitki ekstresi temini konusunda göstermiş olduğu özveriden dolayı sevgili arkadaşım Dr. Umar Faruk MAGAJI'ye de gönülden teşekkür etmek isterim.

Sizlerin varlığı, bu süreci yalnızca bir akademik çalışma olmaktan öte, benim için gerçek bir öğrenme ve gelişme yolculuğuna dönüştürdü; her daim gösterdiğiniz sabır, anlayış ve içten desteğinizle bana güç verdiniz.

Beni özlediği günlerde sabırla bekleyen, bir bakışıyla her şeyi unutturan biricik oğlum Doruk Kaan'a teşekkür ederim.

Bu sürecin her anında sabırla ve sevgisiyle hep yanımda olan, beni yüreklendiren canım eşime, her zaman desteğini sunan, bu uzun yolculukta bir an bile desteğini eksik etmeyen biricik anneme ve babama, bana her zaman inanan, koşulsuz sevgisiyle hep yanımda olan, canım anneanneme ve kalbimin en derin yerinde yeri olan, her zaman yanımda olduğunu hissettiren, koşulsuz destekçim canım kız kardeşime, bu süreçte beni yalnız bırakmayan kayınvalidem ve rahmetli kayınpederime de yürekten teşekkür ederim.

Bu yolculukta bana destek olan, yanımda yürüyen herkese içtenlikle teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Haziran 2025

Elmas Irmak ÇİL ARSLAN

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN .....	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ .....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ .....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xi
ÖZET .....	xiii
ABSTRACT .....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE .....	3
2.1. VALPROİK ASİT VE GENEL ÖZELLİKLERİ .....	3
2.1.1. Valproik Asidin Kimyasal Yapısı ve Genel Özellikleri.....	3
2.1.2. Valproik Asidin Klinik ve Farmakolojik Özellikleri .....	3
2.1.3. Valproik Asidin Etki Mekanizması.....	4
2.1.4. Valproik Asidin Yan Etkileri ve Toksisitesi .....	4
2.2. KALP .....	4
2.2.1. Kalbin Anatomisi ve Yerleşimi.....	5
2.2.2. Kalbin Yapısı ve Bölümleri.....	5
2.2.3. Kalbin Kan Dolaşımı.....	5
2.2.4. Kalp Kasının Hücresel Yapısı ve Bağ Dokusu .....	6
2.2.5. Kalbin Fonksiyonları ve Kardiyak Döngü .....	6
2.2.6. Kalp Dokusu ve Oksidatif Stres .....	6
2.3. VALPROİK ASİDİN KALP ÜZERİNE ETKİLERİ .....	6
2.3.1. Valproik Asidin Kardiyovasküler Etkilerinin İncelenmesi.....	6
2.3.2. Valproik Asit Kaynaklı Oksidatif Stres .....	8
2.4. VALPROİK ASİDİN KALP ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNE KLİNİK YAKLAŞIM VE TEDAVİ YÖNTEMLERİ.....	8

2.5. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR .....	9
2.5.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Türlerin Tanımı .....	9
2.5.2. Serbest Radikallerin Kaynakları ve Oluşum Mekanizmaları .....	9
2.5.3. Oksidatif Stres ve Hücreyel Etkileri .....	9
2.5.4. Antioksidan Savunma Sistemleri ve Mekanizmaları .....	10
2.5.5. Valproik Asidin Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem Üzerindeki Potansiyel Etkileri .....	11
2.6. MORİNGA OLEİFERA .....	12
2.6.1. Tanımı, Özellikleri ve Yetiştirme Alanı .....	12
2.6.2. Moringa oleifera'nın Besinsel Bileşimi ve Tedavi Edici Kullanımı .....	14
<b>3. YÖNTEM .....</b>	<b>17</b>
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR .....	17
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER .....	17
3.3. MORİNGA OLEİFERA BİTKİSİNİN TOPLANMASI VE HAZIRLANMASI .....	17
3.4. DENEYSEL TASARIM .....	17
3.5. BİYOKİMYASAL DENEYLER .....	18
3.5.1. Kalp Dokusunda Glutasyon (GSH) Miktar Tayini .....	18
3.5.2. Kalp Dokusunda İleri Okside Protein Ürünleri (AOPP) Miktar Tayini .....	19
3.5.3. Kalp Dokusunda Total Antioksidan Seviyeleri (TAS) Miktar Tayini .....	19
3.5.4. Kalp Dokusunda Total Oksidan Seviyeleri Miktar Tayini .....	20
3.5.5. Kalp Dokusunda Reaktif Oksijen Türleri Miktar Tayini .....	21
3.5.6. Kalp Dokusunda Katalaz Aktivitesi Tayini .....	21
3.5.7. Kalp Dokusunda Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini .....	22
3.5.8. Kalp Dokusunda Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Tayini .....	23
3.5.9. Kalp Dokusunda Glutasyon-S-Transferaz (GST) Aktivitesi Tayini .....	23
3.5.10. Kalp Dokusunda Gama Glutamil Transferaz (GGT) Aktivitesi Tayini .....	24
3.5.11. Kalp Dokusunda Aspartat Amino Transferaz (Glutamat Oksal Asetat Transaminaz, AST/GOT) Aktivitesi Tayini .....	24
3.5.12. Kalp Dokusunda Miyeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi Tayini .....	25
3.5.13. Kalp Dokusunda Ksantin Oksidaz (XO) Aktivitesi Tayini .....	26
3.5.14. Kalp Dokusunda Nitrik Oksit Miktar Tayini .....	26
3.5.15. Kalp Dokusunda Laktat Dehidrojenaz (LDH) Aktivitesi Tayini .....	27
3.5.16. Kalp Dokusunda Sodyum Potasyum ATPaz (Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPaz) Aktivitesi Tayini .....	28
3.5.17. Kalp Dokusunda Karbonik Anhidraz (CA) Aktivitesi Tayini .....	29
3.5.18. Kalp Dokusunda Heksoz Miktar Tayini .....	29

3.5.19. Kalp Dokusunda Heksozamin Miktar Tayini.....	30
3.5.20. Kalp Dokusunda Alkali Fosfataz (ALP) Aktivitesi Tayini.....	31
3.5.21. Kalp Dokusunda Total Protein Miktar Tayini.....	31
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	32
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>33</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>37</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>44</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>45</b>
<b>İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....</b>	<b>60</b>
<b>ETİK KURUL İZİN YAZISI.....</b>	<b>61</b>
<b>KURUM İZİN YAZILARI.....</b>	<b>62</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>63</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

- Şekil 4.1. Tüm deney gruplarına ait GSH, AOPP, TAS, TOS, ROS ve OSI seviyeleri 29
- Şekil 4.2. Tüm deney gruplarına ait CAT, SOD, GPx, GST, GGT ve GOT aktiviteleri 30
- Şekil 4.3. Tüm deney gruplarına ait MPO, XO aktiviteleri, NO seviyeleri, LDH, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz ve CA aktiviteleri 31
- Şekil 4.4. Tüm deney gruplara ait heksoz, heksozamin seviyeleri ile ALP aktiviteleri 32

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

### Simgeler Açıklama

<b>g</b>	: Gram
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>µL</b>	: Mikrolitre
<b>µM</b>	: Mikromolar

### Kısaltmalar Açıklama

<b>ALP</b>	: Alkali fosfataz
<b>AOPP</b>	: İleri okside protein ürünleri
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>CA</b>	: Karbonik anhidraz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>EKG</b>	: Elektrokardiyografi
<b>GABA</b>	: Gama amino butirik asit
<b>GGT</b>	: Gama glutamil tranferaz
<b>GOT</b>	: Glutamat oksalasetat transaminaz
<b>GPx</b>	: Glutatyon peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutatyon redüktaz
<b>GSH</b>	: İndirgenmiş glutatyon
<b>GSSG</b>	: Yükseltgenmiş glutatyon
<b>GST</b>	: Glutatyon-S-transferaz
<b>HDAC</b>	: Histon deasetilaz
<b>HETAB</b>	: Hekzadesil triamonyum bromür
<b>LDH</b>	: Laktat dehidrojenaz
<b>LPO</b>	: Lipit peroksidasyonu
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MPO</b>	: Miyeloperoksidaz
<b>Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz</b>	: Sodyum potasyum ATPaz
<b>NO</b>	: Nitrik oksit

<b>RNS</b>	: Reaktif azot çeşitleri
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen çeşitleri
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>SVA</b>	: Sodyum valproat
<b>TAS</b>	: Total antioksidan seviyesi
<b>TOS</b>	: Total oksidan seviyeleri
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>XO</b>	: Ksantin oksidaz



## ÖZET

### [DOKTORA TEZİ]

#### [SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN KALP HASARINA MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİLERİ]

[Elmas Irmak ÇİL ARSLAN]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya (F.B.E), Doktora Programı

[Danışman : Prof. Dr. Özlem SAÇAN

II. Danışman : Doç. Dr. İ. Burcu TÜRKYILMAZ MUTLU ]

[Valproik asit (SVA), kısa zincirli bir yağ asidi yapısında olup epilepsi tedavisinde kullanılan bir etken maddedir. Epilepsi tedavisinde en çok tercih edilen antiepileptik ilaç olmasına rağmen, tedavilerdeki kullanım süresi, dozu gibi etkenlere bağlı olarak birçok doku ve organ üzerinde ciddi yan etki ve toksisite meydana getirmektedir. *Moringa oleifera*, içerdiği vitamin, mineral, doğal antioksidanlar, flavonoidler ve alkaloidler sayesinde, başta karaciğer ve mide koruyucu özelliği olmak üzere, güçlü antiepileptik, antikanser ve antiinflamatuvar etkilere sahiptir. Bu tez çalışmasında, *Moringa oleifera* bitkisinin %70'lik alkollü ekstresi hazırlandı ve valproik asit ile oluşturulan kalp hasarının önlenmesi için hazırlanan bu bitki ekstresi uygulanarak *Moringa oleifera*'nın koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışma için Sprague-Dawley soyu dişi sıçanlar tercih edildi. Deney hayvanları rastgele dört gruba ayrıldı. Gruplar kontrol grubu, *Moringa oleifera* ekstresi verilen grup, SVA uygulanan grup ve SVA+*Moringa oleifera* ekstresi verilen grup olarak belirlendi. SVA ve *Moringa oleifera* ekstresi, serum fizyolojik çözeltisinde çözülerek hazırlandı ve gavaj yöntemi ile deney hayvanlarına verildi. Deney süresi 15 gün olarak belirlendi. Bu süre sonunda deney hayvanları bir gece aç bırakıldıktan sonra anestezi altında sakrifiye edildi. Ardından kalp dokuları alındı. Dokular, serum fizyolojik çözeltisi içinde saklanmak üzere, deneylerin yapılacağı güne kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Kalp dokularından hazırlanan homojenizatlarda enzimatik ve enzimatik olmayan biyokimyasal parametreler tayin edildi. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SVA uygulanan gruba ait indirgenmiş glutatyon, ileri okside protein ürünleri, total oksidan seviyeleri, reaktif oksijen türleri, oksidatif stres indeksi, nitrik oksit, heksoz, heksozamin seviyeleri ile glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz, gama glutamil transferaz, glutamat oksal asetat transaminaz, miyeloperoksidaz, karbonik anhidraz aktivitelerinde artma

gözlemlenirken, total antioksidan seviyeleri ile katalaz, süperoksit dismutaz, ksantin oksidaz, laktat dehidrojenaz, sodyum potasyum ATPaz ve alkali fosfataz aktivitelerinde azalma meydana geldiği gözlemlendi. SVA grubuna *Moringa oleifera* ekstresi uygulanması ile bu değerler ve aktiviteler tersine çevrildi. Bu sonuçlar dikkate alındığında, SVA ile oluşturulan kalp hasarına karşı *Moringa oleifera* bitki ekstresinin koruyucu etki gösterdiği sonucuna varılabilir. ]

Haziran 2025 , [79] sayfa.

**Anahtar kelimeler:** [ Valproik asit, Kalp, Oksidatif Stres, *Moringa oleifera* ]



## ABSTRACT

[Ph.D. THESIS]

[EFFECTS OF MORINGA OLEIFERA ON VALPROIC ACID INDUCED HEART  
INJURY IN RATS ]

[Elmas Irmak ÇİL ARSLAN]

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Biochemistry Programme

[Supervisor : Prof. Dr. Özlem SAÇAN

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İ. Burcu TÜRKYILMAZ MUTLU ]

[Valproic acid (SVA) is a short-chain fatty acid and an active ingredient used in the treatment of epilepsy. Although it is the most preferred antiepileptic drug in the treatment of epilepsy, serious side effects and toxicity occur on many tissues and organs depending on the duration of use and dose in the treatments. *Moringa oleifera* has strong antiepileptic, anticancer and anti-inflammatory properties, especially its skill and stomach protective properties, with the presence of vitamins, minerals, natural antioxidants, flavonoids and alkaloids. In this study, 70% alcoholic extract of *Moringa oleifera* plant was prepared and it was aimed to investigate the protective effects of *Moringa oleifera* by applying this plant extract on valproic acid induced heart damage. Sprague-Dawley female rats were preferred for the study. Experimental animals were randomly divided into four groups. The groups were determined as control group, *Moringa oleifera* extract group, SVA applied group and SVA+*Moringa oleifera* extract group. SVA and *Moringa oleifera* extracts were structured by dissolving in serum analysis solutions and experimental options were given by gavage method. The experimental period was determined as 15 days. At the end of this period, the experimental animals were sacrificed under anesthesia after fasting for one night. Then the heart tissues were taken. The tissues were stored in the physiological saline until the experiment day of the experiments at -20 °C. Enzymatic and non-enzymatic biochemical effects were determined in homogenates from heart tissues. According to the results, it was observed that there was an increase in reduced glutathione, advanced oxidized protein products, total oxidant levels, reactive oxygen species, oxidative stress index, nitric oxide, hexose, hexosamine levels and glutathione peroxidase, glutathione-

S-transferase, gamma glutamyl transferase, glutamate oxal acetate transaminase, myeloperoxidase, carbonic anhydrase activities, while there was a decrease in total antioxidant and catalase, superoxide dismutase, xanthine oxidase, lactate dehydrogenase, sodium potassium ATPase and alkaline phosphatase activities in SVA given group when compared to control group. *Moringa oleifera* extract administration to SVA group reversed these levels and activities. Considering these results, it can be concluded that *Moringa oleifera* plant extract showed its protective effects against heart injury induced by SVA. ]

June 2025, [79] pages.

**Keywords:** [Valproic acid, Heart, Oxidative stress, *Moringa oleifera* ]



## 1. GİRİŞ

Kardiyovasküler hastalıklar, dünya genelinde ölümlerin önde gelen nedenleri arasında yer almakta ve giderek artan bir halk sağlığı sorunu haline gelmektedir. Özellikle son yıllarda yaşam tarzı değişiklikleri, obezite, hipertansiyon, diyabet gibi risk faktörlerinin yaygınlaşması ile kardiyovasküler hastalıkların görülme sıklığı dramatik bir şekilde artmıştır (Virani ve diğ., 2021). Kalp dokusu, yoğun enerji tüketimi ve oksidatif metabolik faaliyetleri sebebiyle oksidatif stres ve inflamasyona karşı oldukça hassas bir organdır. Dolayısıyla çeşitli ilaçların, çevresel toksinlerin ve patolojik durumların neden olduğu zararlı etkilere karşı yüksek düzeyde duyarlıdır (Dhalla ve diğ., 2000; D'Oria ve diğ., 2021).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kalması sonucu ortaya çıkan bir dengesizlik durumudur (Sies, 2020). Kardiyak dokuda oluşan oksidatif stres, lipid peroksidasyonu, protein karbonilasyonu, DNA hasarı ve hücrel apoptotik süreçlerin tetiklenmesine yol açarak kardiyak fonksiyonları bozmakta ve uzun dönemde kalp yetmezliği gibi ciddi patolojilerin gelişimine zemin hazırlamaktadır (Tsutsui ve diğ., 2021; Münzel ve diğ., 2022). Ayrıca inflamasyonun da oksidatif stres ile yakından ilişkili olduğu ve kalp hastalıkları patogeneğinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Özellikle proinflamatuvar sitokinler, kardiyak fonksiyonların bozulmasında kritik rol oynayan inflamatuvar mediatörlerdir (Mann, 2021).

Valproik asit (SVA), epilepsi, bipolar bozukluk ve migren gibi nörolojik bozuklukların tedavisinde sıklıkla tercih edilen geniş spektrumlu bir antiepileptik ilaçtır (Löscher, 1999). Valproik asidin etki mekanizması temel olarak gama-aminobütirik asit (GABA) düzeylerini artırmak, voltaj bağımlı sodyum ve kalsiyum kanallarını inhibe etmek gibi birçok yolu içermektedir (Chateauvieux ve diğ., 2010; Ghodke-Puranik ve diğ., 2013). Ancak yaygın kullanımı ve etkinliğine rağmen, SVA'nın uzun süreli kullanımının hepatotoksisite, kilo artışı, osteoporoz, hematolojik komplikasyonlar ve kardiyovasküler yan etkiler gibi ciddi sağlık sorunlarıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Nanau ve Neuman, 2013; Chukwu ve diğ., 2014; Meador ve diğ., 2020).

Son dönem araştırmaları, valproik asidin kardiyotoksik potansiyelini özellikle oksidatif stresin artması, inflamatuvar süreçlerin uyarılması ve kardiyak hücrelerde apoptotik yolların aktive edilmesi gibi mekanizmalar üzerinden değerlendirmektedir (Sztajnkrzyer ve diğ., 2002; Nanau ve Neuman, 2013). SVA kullanımına bağlı kardiyak disfonksiyonların, ilaç tedavisinde dikkatli olunması ve düzenli kardiyak izlem gerektirdiği üzerinde durulmaktadır (Romoli ve diğ., 2021). Kardiyovasküler yan etkilerinin detaylı incelenmesi, uzun vadede SVA ile tedavi edilen hastaların yaşam kalitesi ve güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu alışmada, SVA ile oluşturulan kalp hasarına karşı *Moringa oleifera*'nın koruyucu etkisi, biyokimyasal parametreler uygulanarak incelendi.

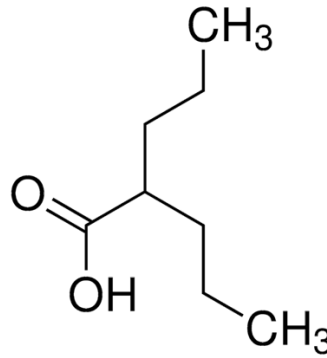


## 2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

### 2.1. VALPROİK ASİT VE GENEL ÖZELLİKLERİ

#### 2.1.1. Valproik Asidin Kimyasal Yapısı ve Genel Özellikleri

Valproik asit/valproat (SVA) valerik asitten elde edilen; kapalı kimyasal formülü  $C_8H_{16}O_2$  olan, dallanmış zincirli kısa zincirli bir yağ asididir (Şekil 2.1). Günümüzde en geniş spektruma sahip antiepileptik ilaçlardan olan SVA, epilepsi ve çeşitli nöbet türlerinin tedavisinin yanında anksiyete, migren, ve diğer psikiyatrik duyu durum bozukluklarında da oldukça etkilidir (Belcastro ve diğ., 2013; Ghodke-Puranik ve diğ., 2013).



Şekil 2.1. Valproik asidin kimyasal yapısı

(www.sigmaaldrich.com)

#### 2.1.2. Valproik Asidin Klinik ve Farmakolojik Özellikleri

SVA, epilepsinin birçok türünde geniş spektrumlu birinci basamak tedavi olarak tercih edilmektedir. Ayrıca bipolar bozuklukta duyu durum stabilizatörü ve migren profilaksisinde de etkili şekilde kullanılmaktadır. Farmakolojik olarak SVA, beyindeki voltaj bağımlı iyon kanallarının aktivitesini düzenleyerek ve inhibitör nörotransmitter olan gama-aminobütirik asidin (GABA) sinaptik konsantrasyonunu artırarak antikonvülzan etkisini göstermektedir (Löscher, 2002; Jochim ve diğ., 2019). Bu etkiler temel olarak voltaj kapılı sodyum kanallarının inhibisyonu, GABA transaminaz ve süksinik semialdehit dehidrojenaz gibi enzimlerin inhibisyonu ve GABA geri alım mekanizmalarının baskılanması ile ilişkilidir (Ghodke-Puranik ve diğ., 2013).

SVA, oral yolla alındıktan sonra hızlı bir biçimde emilir ve büyük oranda karaciğerde metabolize edilir. Metabolizma süreçleri sırasında 2-en valproik asit, 4-en valproik asit ve hidroksillenmiş metabolitler dahil olmak üzere çok çeşitli metabolitler oluşur. Bu metabolitler, esas olarak glukuronit konjugasyonu ve mitokondriyal beta oksidasyon yoluyla elimine edilirler (Löscher, 2002; Ghodke-Puranik ve diğ., 2013).

### **2.1.3. Valproik Asidin Etki Mekanizması**

Valproik asidin temel etki mekanizmaları GABA düzeylerinin artışı, voltaj bağımlı sodyum kanallarının inhibisyonu ve kalsiyum kanallarının modülasyonunu içerir (Chateauvieux ve diğ., 2010; Ghodke-Puranik ve diğ., 2013). Bu mekanizmalar epileptik nöbetlerin önlenmesinde etkilidir; ancak periferik dokularda, özellikle kalp üzerinde potansiyel toksik etkilere de zemin hazırlayabilir.

### **2.1.4. Valproik Asidin Yan Etkileri ve Toksisitesi**

Valproik asit geniş klinik kullanımına karşın, çok çeşitli yan etkiler ve toksik reaksiyonlarla ilişkilendirilmektedir. Akut veya kronik kullanımda mide bulantısı, baş dönmesi, uyku hali, saç dökülmesi, kilo artışı ve hematolojik değişimler (trombositopeni gibi) yaygın olarak görülebilir. Kronik uygulamada ise osteoporoz, polikistik over sendromu, ensefalopati ve doğumsal anomaliler gibi ciddi yan etkiler tanımlanmıştır (Christensen ve diğ., 2013; Chukwu ve diğ., 2014). Ayrıca yüksek dozlarda hipotermi ve ensefalopati gibi akut toksisite durumları da bildirilmiştir (Guo ve diğ., 2001).

Valproik asidin en ciddi toksik etkilerinden biri de hepatotoksisitedir ve bu durum literatürde detaylı biçimde araştırılmıştır (Celik ve diğ., 2021). Diğer organlara yönelik toksik etkileri arasında pankreas, beyin, akciğer, dil, tükürük bezi vb. doku ve organlar bulunmaktadır (Guevara-Campos ve diğ., 2009; Turkyilmaz ve diğ., 2021; Alev-Tuzuner ve diğ., 2024; Ertik ve diğ., 2025; Magaji ve diğ., 2025).

## **2.2. KALP**

Kanın damar sistemi içerisinde tüm vücuda dolaşımını sağlayan ve yaşam için temel öneme sahip organ olan kalp, kanın pompalama fonksiyonunu yerine getirerek dokulara oksijen ve besin taşınmasını sağlar ve karbondioksit ile diğer atıkların uzaklaştırılmasına yardımcı olur. Bu nedenle kalp, dolaşım sisteminin merkezi olarak tanımlanır.

### **2.2.1. Kalbin Anatomisi ve Yerleşimi**

Kalp, göğüs boşluğunda (toraks) mediastinum adı verilen bölgede yer alır ve akciğerlerin arasında, sternumun hemen arkasında konumlanır. Yaklaşık olarak yumruk büyüklüğünde olan kalp, üstteki tabanı (basis) ve alttaki sivri ucu (apeks) ile koni benzeri bir yapıya sahiptir. Apeks, sol ventrikülün alt ucunu oluşturur ve sol göğüs duvarına doğru yönelmiştir (Drake ve diğ., 2020; Standring, 2021).

Kalp, perikard adı verilen fibroz-seröz bir zar ile çevrelenmiştir. Perikard, kalbi dış darbelerden korur, kalp hareketlerini sınırlar ve sürtünmeyi azaltarak kalp kasının etkin çalışmasını sağlar. Perikard iç (visseral) ve dış (pariyetal) tabakadan oluşur ve iki tabaka arasında perikardiyal sıvı bulunur (Marieb ve Hoehn, 2022).

### **2.2.2. Kalbin Yapısı ve Bölümleri**

Kalp, sağ ve sol olmak üzere iki ayrı pompa gibi işlev gören dört odacıktan oluşmaktadır. Üstte yer alan iki küçük odacığa atrium (kulakçık), altta bulunan iki büyük odacığa ise ventrikül (karıncık) adı verilir. Kalbin sağ tarafı oksijence fakir kanı pulmoner dolaşım ile akciğerlere gönderirken, sol tarafı oksijence zenginleşmiş kanı sistemik dolaşım aracılığıyla tüm vücuda dağıtır (Hall, 2020).

Kalbin iç yüzeyi endokard adı verilen endotelial bir tabaka ile kaplıdır. Kalp duvarının en kalın orta tabakasını ise kalp kası olarak bilinen miyokard oluşturur. Miyokard, çizgili kas yapısına sahip ancak istemsiz çalışan özel bir kas dokusudur. Miyokardın dış yüzeyi ise epikard (visseral perikard) ile örtülüdür (Tortora ve Derrickson, 2018; Standring, 2021).

### **2.2.3. Kalbin Kan Dolaşımı**

Kalp dokusunun kendi metabolik ihtiyaçlarını karşılaması için koroner dolaşım adı verilen özel bir damar ağı bulunmaktadır. Koroner arterler, aorttan çıkarak kalp dokusuna oksijen ve besin taşırlar. Sağ ve sol koroner arterler, miyokard dokusunu besleyerek kalbin sürekli olarak çalışabilmesi için gerekli oksijen ve metabolitlerin sağlanmasından sorumludur (Marieb ve Hoehn, 2022). Koroner venler ise miyokarddaki metabolik atıkları toplar ve koroner sinüs aracılığıyla sağ atriuma geri boşaltır (Hall, 2020).

#### **2.2.4. Kalp Kasının Hücresel Yapısı ve Bağ Dokusu**

Kalp kası hücreleri (kardiyomiyositler), branşlı, tek veya çift çekirdekli hücrelerden oluşur ve interkalar diskler adı verilen özel bağlantılar aracılığıyla birbirine sıkıca tutunur. Bu diskler, elektriksel impulsların hızlı yayılmasını ve kalbin senkronize biçimde kasılmasını sağlar (Litviňuková ve diğ., 2020).

Kalbin miyokard dokusunda bulunan bağ dokusu, başlıca kollajen ve elastin liflerinden oluşur. Kollajen lifleri kalbin yapısal bütünlüğünü ve dayanıklılığını sağlarken, elastin lifleri ise kalp kasının esneklik ve gerilim sonrası tekrar eski haline dönebilme yeteneğini kazandırır (Deb ve Ubil, 2014).

#### **2.2.5. Kalbin Fonksiyonları ve Kardiyak Döngü**

Kalbin temel işlevi, kanı damar sistemi içinde sürekli olarak pompalamak ve dolaşımı sürdürmektir. Kalbin kasılması (sistol) ve gevşemesi (diyastol) süreçlerinden oluşan bu düzenli aktiviteye kardiyak döngü adı verilir. Bu döngü, atriyum ve ventriküllerin koordineli olarak kasılıp gevşemesiyle kanın kalp içinde düzenli hareketini sağlar (Tortora ve Derrickson, 2018; Marieb ve Hoehn, 2022).

Kalp fonksiyonlarının etkinliği, kalp debisi (dakikada pompalanan kan miktarı) ve ejeksiyon fraksiyonu gibi parametrelerle değerlendirilir. Kalp debisi, atım hacmi ve kalp atım hızı ile belirlenir ve dolaşım sistemi fonksiyonunun temel göstergesidir (Hall, 2020).

#### **2.2.6. Kalp Dokusu ve Oksidatif Stres**

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunun antioksidan savunma sistemlerini aşması sonucunda oluşan hücresel hasar durumu olarak tanımlanır (Sies, 2020). Kalp dokusunun sürekli enerji talebi, ROS üretimini artırarak lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve mitokondriyal hasar gibi süreçleri tetikleyebilir. Uzun süreli oksidatif stres, kalp yetmezliği, aritmiler ve miyokard infarktüsü gibi kardiyak hastalıkların patogenezinde kritik rol oynar (Tsutsui ve diğ., 2021).

### **2.3. VALPROİK ASİDİN KALP ÜZERİNE ETKİLERİ**

#### **2.3.1. Valproik Asidin Kardiyovasküler Etkilerinin İncelenmesi**

SVA'nın kardiyovasküler sistem üzerindeki potansiyel etkileri çeşitli mekanizmalar aracılığıyla ortaya çıkabilir. Çalışmalar, SVA'nın kardiyak sodyum kanallarını inhibe ettiğini

göstermektedir. Bu doğrudan etki, kalp hücrelerinin elektriksel aktivitesini etkileyerek aritmi riskini potansiyel olarak artırabilir. Ancak, bu etkinin klinik önemi ve hangi dozlarda ortaya çıktığı hala araştırılmaktadır (Jia ve diğ., 2023).

SVA'nın dolaylı mekanizmaları arasında lipid profillerinde neden olduğu değişiklikler yer almaktadır. Uzun süreli SVA kullanımının lipid seviyelerinde değişikliklere yol açabileceği ve bunun da kardiyovasküler olaylara katkıda bulunabileceği belirtilmektedir. SVA'nın toplam kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyelerini artırabileceğini gösteren çalışmaların yanında, önemli bir etki veya hatta bir azalma olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bu çelişkili bulgular, SVA'nın lipid metabolizması üzerindeki etkisinin karmaşık ve muhtemelen hastaya özgü olduğunu düşündürmektedir (Jaeri ve Islamiyah, 2018).

SVA'nın EKG değişikliklerine neden olabileceği de bildirilmiştir. Bunlar arasında QT uzaması, atriyo-ventriküler iletim blokları ve diğer anormallikler yer almaktadır. Bazı çalışmalar SVA ile QT uzaması arasında bir bağlantı olduğunu öne sürerken, diğerleri terapötik dozlarda artan risk kanıtı bulamamıştır. Bu durum, bu etkinin aşırı dozda veya diğer risk faktörleriyle birlikte daha belirgin olabileceğini düşündürmektedir (Guarnieri ve diğ., 2022). Kalp yetmezliği ve aritmilerle ilişkisi de incelenen SVA'nın, miyokard enfarktüsü sonrası yüksek dozlarda potansiyel kardiyoprotektif etkileri olabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Ancak, epilepsi hastalarında SVA kullanımının aritmi riskini artırabileceğine dair kanıtlar da mevcuttur. Bu bulgular, SVA'nın kalp yetmezliği üzerindeki etkisinin karmaşık olduğunu ve spesifik klinik duruma ve hastanın altta yatan sağlık durumuna bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Ayrıca, SVA'nın bradikardiye ve bazı durumlarda hipertansiyona neden olabileceği de bildirilmiştir. Bu çeşitli kardiyak etkiler (bradikardi, taşikardi, hipertansiyon, hipotansiyon), SVA'nın otonom sinir sistemi ve kardiyovasküler düzenleme ile karmaşık bir etkileşim içinde olduğunu düşündürmektedir (English ve diğ., 2022).

Bazı araştırmalar, özellikle miyokard enfarktüsü bağlamında SVA'nın potansiyel kardiyoprotektif etkilerini öne sürmektedir. Bu etkinin, HDAC inhibisyonu ve gen ekspresyonunun modülasyonu yoluyla gerçekleşebileceği düşünülmektedir. Çalışmalar, SVA'nın miyokard enfarktüsü sonrası enfarkt boyutunu ve ventriküler fibrilasyon riskini azaltabileceğini göstermektedir (English ve diğ., 2022; Tian ve diğ., 2019).

Valproik asit uzun vadede, başta oksidatif stres olmak üzere, inflamatuvar ve apoptotik mekanizmaları aktive ederek kalp dokusunda hasara yol açabilir. Yapılan çalışmalarda SVA'nın miyokard hücrelerinde mitokondriyal fonksiyonu bozduğu, enerji üretimini azalttığı ve ROS üretimini artırdığı bildirilmiştir (Nanau ve Neuman, 2013; Sztajnkrzyca ve diğ., 2022). Bu durum, miyokardiyal kontraktilite bozuklukları ve kardiyomiyopati gelişimine yol açabilir.

### 2.3.2. Valproik Asit Kaynaklı Oksidatif Stres

Valproik asit, uzun süreli kullanımda miyokard hücrelerinde lipid peroksidasyonunu artırarak hücre membranlarının yapısal bütünlüğünü bozabilir (Chukwu ve diğ., 2014). Bunun yanında kalp dokusundaki antioksidan sistemlerin (glutasyon, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimlerin) aktivitelerini azaltarak kalbin oksidatif hasara karşı savunmasız kalmasına neden olur. Bu durum, uzun vadede kalp yetmezliği veya kalp fonksiyonlarında belirgin bozuklukların gelişimine zemin hazırlamaktadır (Romoli ve diğ., 2021).

## 2.4. VALPROİK ASİDİN KALP ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNE KLİNİK YAKLAŞIM VE TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Valproik asit kullanan epilepsi hastalarında kardiyotoksikite riskinin değerlendirilmesi klinik açıdan önemlidir. Özellikle uzun süreli tedavilerde kardiyak fonksiyonların rutin olarak izlenmesi, elektrokardiyografi (EKG), ekokardiyografi ve biyokimyasal parametrelerin takibi önerilmektedir (Romoli ve diğ., 2021). Ayrıca, kalpte oluşabilecek oksidatif stresin azaltılması için antioksidan desteği sağlayan terapötik yaklaşımlar araştırılmaktadır. Bunlar arasında C vitamini, E vitamini, koenzim Q<sub>10</sub> ve melatonin gibi antioksidanların kullanımı değerlendirilmektedir (Tsutsui ve diğ., 2021).

Valproik asidin kardiyovasküler sistem üzerindeki potansiyel etkileri, SVA tedavisi gören hastalar için önemli klinik çıkarımlar sunmaktadır. Aritmi riski, EKG değişiklikleri ve kalp yetmezliği ile olası ilişkiler, özellikle altta yatan kardiyak rahatsızlıkları olan veya risk faktörleri taşıyan bireylerde dikkatli bir klinik değerlendirme ve izleme gerektirebilir.

Uzun süreli SVA tedavisi gören hastalarda kardiyak fonksiyonların izlenmesine yönelik mevcut klinik kılavuzlar incelendiğinde, öncelikle karaciğer fonksiyon testleri, hematolojik parametreler ve SVA serum seviyelerinin izlenmesine odaklanıldığı görülmektedir. Rutin kardiyak izleme, spesifik semptomlar ortaya çıkmadıkça veya risk faktörleri mevcut olmadıkça genellikle önerilmemektedir.

## 2.5. SERBEST RADİKALLER VE ANTIOKSİDANLAR

### 2.5.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Türlerin Tanımı

Serbest radikaller, dış orbitallerinde eşleşmemiş elektron taşıyan moleküller veya atomlar olarak tanımlanır ve bu yapı nedeniyle yüksek derecede reaktiftirler. Bu radikaller, elektronlarını eşlemek için diğer moleküllerden elektron alma veya verme eğilimindedir. Böylece hedef moleküllerin oksidasyonunu tetikleyerek biyolojik sistemlerde ciddi hasarlara neden olabilirler (Phaniendra ve diğ., 2015; Sies, 2020).

Canlı organizmalarda serbest radikallerin en önemli kaynağı oksijendir. Oksijenin metabolik işlemler sırasında çeşitli radikal formlarına dönüşmesiyle oluşan türlere reaktif oksijen çeşitleri (ROS), azot temelli türevlerine ise reaktif azot çeşitleri (RNS) adı verilir. ROS, süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroksil radikali ( $\bullet OH$ ) ve hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) gibi çeşitli türleri içerir. RNS'ler ise nitrik oksit ( $NO\bullet$ ) ve peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) gibi azot içeren radikalleri ve reaktif türleri kapsar (Liguori ve diğ., 2018; Forman ve Zhang, 2021).

### 2.5.2. Serbest Radikallerin Kaynakları ve Oluşum Mekanizmaları

Serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklardan oluşabilir. Endojen kaynaklar; hücresel solunum zinciri, inflamatuvar süreçler, peroksizomal beta-oksidasyon reaksiyonları, prostaglandin sentezi, fagositoz, enzimatik reaksiyonlar (örn. ksantin oksidaz aktivitesi) ve iskemi/reperfüzyon süreçleri olarak sıralanabilir (Nita ve Grzybowski, 2016). Bunlara ek olarak, lipid peroksidasyonu süreçleri ve mitokondriyal elektron taşıma zincirindeki kaçak elektron transferi, endojen radikal üretiminin ana kaynaklarıdır.

Eksojen kaynaklar arasında ise kimyasal ajanlar, sigara ve alkol kullanımı, radyasyon, çevresel kirlenmeler, ağır metaller ve bazı ilaçlar bulunur (Sies ve Jones, 2020). Hücresel oksidatif stresin artmasında, bu eksojen faktörlerin uzun süreli maruziyetleri kritik rol oynar (Liguori ve diğ., 2018).

### 2.5.3. Oksidatif Stres ve Hücresel Etkileri

Organizmada serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki denge bozulduğunda ortaya çıkan durum oksidatif stres olarak adlandırılır (Sies, 2020). Bu stres

durumu, biyomoleküllerde (protein, lipid, DNA ve karbonhidratlar) oksidatif hasara neden olur ve hücrel fonksiyonlarda bozulma ile sonuçlanabilir.

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücrel membranlardaki çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girmesi sonucu oluşur ve zar bütünlüğünün bozulması ile sonuçlanarak hücre ölümü ve doku hasarına neden olabilir (Ayala ve diğ., 2014). Proteinlerin karbonilasyonu ve DNA'nın oksidatif modifikasyonları gibi süreçler ise hücre içi sinyal mekanizmalarını bozarak çeşitli patolojilerin oluşmasına zemin hazırlar (Forman ve Zhang, 2021).

Kronik oksidatif stres, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, Alzheimer, Parkinson, diyabet ve kronik inflamatuvar hastalıklar gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır (Liguori ve diğ., 2018; Halliwell ve Gutteridge, 2022).

#### **2.5.4. Antioksidan Savunma Sistemleri ve Mekanizmaları**

Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı önleyerek veya azaltarak hücrel yapıları koruyan maddelerdir. Antioksidan savunma mekanizmaları, serbest radikallerin etkilerini en aza indirmede kritik rol oynarlar ve başlıca iki gruba ayrılırlar: enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar (Birben ve diğ., 2012; Kurutas, 2016).

**Enzimatik antioksidanlar;** süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT), glutatyon bağımlı enzimler (glutatyon peroksidaz-GPx, glutatyon redüktaz-GR ve glutatyon-S-transferaz-GST) gibi enzimleri içerir. Bu enzimler serbest radikalleri ve peroksitleri daha az reaktif veya zararsız bileşenlere dönüştürerek toksik etkilerini azaltırlar (Ighodaro ve Akinloye, 2018).

**Enzimatik olmayan antioksidanlar;** glutatyon (GSH), C vitamini (askorbik asit), E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol), ürik asit, melatonin, karotenoidler ( $\beta$ -karoten) ve koenzim Q10 (ubikinon) gibi molekülleri kapsar. Bu moleküller, doğrudan radikal temizleyici veya zincir kırıcı etkiler göstererek, serbest radikalleri nötralize ederler (Nimse ve Pal, 2015; Forman ve Zhang, 2021).

Antioksidanlar, aşağıdaki mekanizmalar aracılığıyla hücreleri korurlar:

- Serbest radikal oluşumunu başlangıç aşamasında engelleme,
- Oluşan radikallerin doğrudan nötralizasyonu veya etkisiz hale getirilmesi,
- Radikaller tarafından oluşturulan oksidatif hasarın tamiri ve yenilenmesi,
- Zincir reaksiyonlarının ilerleyişinin engellenmesi ve ikinci dalga radikal oluşumunun önlenmesi,
- Hücresel antioksidan savunma kapasitesinin artırılması (Kurutas, 2016; Forman ve Zhang, 2021).

Sonuç olarak, serbest radikaller ile antioksidan sistemler arasındaki hassas denge, hücresel bütünlüğün ve fonksiyonların korunması açısından temel öneme sahiptir ve bu dengenin bozulması çeşitli patolojik durumların gelişimine yol açabilir.

### **2.5.5. Valproik Asidin Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem Üzerindeki Potansiyel Etkileri**

Valproik asidin çeşitli terapötik etkilerinin yanı sıra, oksidatif stres ve antioksidan sistem üzerinde de potansiyel etkileri bulunmaktadır. Bazı araştırmalar, SVA'nın kendisinin oksidatif stresi tetikleyebileceğini göstermektedir. Örneğin, SVA'nın beyin, böbrek ve karaciğer dokularında oksidatif stresi ve inflamasyonu artırdığı, ancak kurkumin adlı doğal bir antioksidanın bu etkilere karşı koruyucu olabileceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Turkyılmaz ve diğ., 2021; Safdar ve Ismail, 2023; Terim Kapakin ve diğ., 2024).

Öte yandan, SVA'nın histon deasetilaz (HDAC) inhibitörü olarak işlevi göz önüne alındığında, gen ekspresyonunu modüle ederek antioksidan savunma mekanizmalarını dolaylı olarak etkileyebileceği de düşünülmektedir. HDAC inhibisyonu, antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırabilir veya oksidatif stresle ilişkili genlerin ekspresyonunu azaltabilir (Ghodke-Puranik ve diğ., 2013).

SVA'nın kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri bağlamında, oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Kanser ilaçlarının kardiyotoksitesi üzerine yapılan araştırmalar, ROS ve mitokondriyal hasarın kardiyotoksik epigenetik modifikasyonlara katkıda bulunduğunu göstermektedir. SVA'nın da benzer mekanizmalarla kardiyak hücreleri

etkileyebileceği öne sürülmektedir. Bazı *in vitro* çalışmalar, SVA'nın metabolizma bağımlı sitotoksitesinde ROS oluşumunun rol oynadığını göstermiştir (Du ve diğ., 2018; Papazoglou ve diğ., 2021).

Ayrıca, SVA'nın mitokondriyal fonksiyonu etkileyebileceği ve bunun da ROS üretimine ve oksidatif strese katkıda bulunabileceği belirtilmektedir. Mitokondriyal disfonksiyon, kardiyomiyosit ve endotel hücre ölümüne ve sonuç olarak kardiyovasküler fonksiyon bozukluğuna yol açabilir (Varga ve diğ., 2015; Papazoglou ve diğ., 2021).

Bazı araştırmalar, SVA'nın miyokard enfarktüsü sonrası kardiyoprotektif etkilerinin olabileceğini öne sürmektedir. Bu etkinin, HDAC inhibisyonu ve antioksidan yolların aktivasyonu yoluyla gerçekleşebileceği düşünülmektedir. Örneğin, SVA'nın miyokard enfarktüsü sonrası enfarkt boyutunu ve ventriküler fibrilasyon riskini azaltabileceği gösterilmiştir (Tian ve diğ., 2019; English ve diğ., 2022; Genoves ve diğ., 2022).

Ancak, SVA'nın oksidatif stres üzerindeki etkileri karmaşıktır ve doza, tedavi süresine ve bireysel faktörlere bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle, SVA'nın kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerini tam olarak anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

## 2.6. MORİNGA OLEİFERA

### 2.6.1. Tanımı, Özellikleri ve Yetiştirme Alanı

*Moringa oleifera* Lamarck (M. oleifera Lam.), neredeyse her parçası farklı bir fayda sağlayan, bu yönüyle ticari değeri yüksek olan, hızlı büyüyen ve kuraklığa dayanıklı, orta boyutlu bir ağaç türüdür. Moringaceae familyasına ait olan bu bitki, türün en yaygın olarak yetiştirilen ve bilinen temsilcisidir.

Kuzey Hindistan'ın alt-Himalaya bölgesine özgü olan *Moringa* bitkisi, günümüzde Hindistan, Pakistan, Nepal, Bangladeş, Vietnam, Tayland, Umman, Katar, Suudi Arabistan, Birleşik Arap Emirlikleri, İran, Etiyopya, Kenya, Nijerya, Senegal, Sudan, Uganda ve daha birçok tropikal ve subtropikal bölgede yaygın olarak yetiştirilmektedir (Jikah ve Edo, 2023). Kuraklığa toleransı yüksek olan bu bitki, düşük su gereksinimi ve hızlı büyüme özelliği sayesinde özellikle tropikal bölgelerde başarıyla yetiştirilmektedir (Jikah ve Edo, 2023).

Bitkinin yaprakları, çiçekleri, meyveleri, tohumları, kökleri ve kabukları dahil olmak üzere tüm kısımları tıbbi ve beslenme amaçlı kullanılmakta; kalp-dolaşım sistemi uyarıcısı, ateş

düşürücü, tümör önleyici, iltihap giderici, epilepsi karşıtı, diüretik, ülser önleyici, spazm çözücü, tansiyon düzenleyici, kolesterol düşürücü, antidiyabetik, antioksidan, antibakteriyel ve hepatoprotektif etkiler göstermektedir. Geleneksel tıp sistemlerinde bu etkiler doğrultusunda yaygın bir şekilde değerlendirilmektedir (Alam ve diğ., 2023).

*Moringa oleifera*'nın yaprakları, yüksek besin değerine sahip olup metiyonin, izolösin, lizin, valin ve treonin gibi temel amino asitleri içerir (Jikah ve Edo, 2023). Ayrıca, bu yapraklar alkaloidler, karotenoidler, flavonoidler, polifenoller, fenolik asitler, tanenler, saponinler ve vitaminler gibi çeşitli fitokimyasallar açısından oldukça zengindir. Özellikle A ve C vitamini, beta-karoten, klorojenik asit, kaempferol ve kuersetin gibi antioksidan bileşenlerin yoğunluğu, bitkiye güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler kazandırmaktadır (Abdel Shakour ve diğ., 2023; Alam ve diğ., 2023). Kaempferol ve kuersetin, *Moringa* yapraklarında en bol bulunan flavonoller arasında yer almakta olup, farklı şeker gruplarına bağlı glikozit türevleri şeklinde bulunurlar (Abdel Shakour ve diğ., 2023).

Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin; karaciğer koruyucu, nöroprotektif, yaşlanma karşıtı ve antikanser potansiyel taşıdığı pek çok farmakolojik çalışmayla ortaya konmuştur (Azeem ve diğ., 2023; Pareek ve diğ., 2023). Özellikle epilepsi üzerine yapılan hayvan deneyleri, *Moringa* özlerinin nöbetleri azalttığını, bu etkinin ise stres kaynaklı pro-inflamatuvar belirteçleri baskılaması ve anti-inflamatuvar belirteçleri artırmasıyla gerçekleştiğini göstermiştir (Fayez ve diğ., 2023).

Botanik açıdan bakıldığında, *Moringa oleifera* ekimden sonraki altı ay içinde çiçek açmaya başlar. Çiçekleri yaklaşık 2 cm genişliğinde ve 1.5 cm uzunluğundadır. Üç kenarlı kahverengi kapsül biçimindeki meyveleri 20–45 cm uzunluğunda olup, içlerinde çapı yaklaşık 1 cm olan koyu kahverengi tohumlar taşır. Bu tohumların üzerinde bulunan beyaz, ince kanatlar polinasyon ve tohum dağılımında etkin rol oynar. En yüksek çimlenme oranına doğrudan fide yöntemiyle ulaşılır (Arif ve diğ., 2023). Bitkiden elde edilen 22 farklı yağ asidinin büyük çoğunluğunu doymamış yağ asitleri oluşturmaktadır (Abdel Shakour ve diğ., 2023).

Tüm bu yönleriyle *Moringa oleifera*, hem geleneksel tıpta hem de modern farmasötik uygulamalarda çok yönlü kullanımı olan, değerli bir bitki olarak kabul edilmektedir. Özellikle biyoaktif bileşen içeriği açısından zengin oluşu, onu küresel ölçekte “şifa veren ağaç” konumuna taşımaktadır (Wang ve diğ., 2022; Pareek ve diğ., 2023).

### 2.6.2. *Moringa oleifera*'nın Besinsel Bileşimi ve Tedavi Edici Kullanımı

*Moringa oleifera*, yüksek besinsel değeri ve farmakolojik potansiyeli ile yalnızca geleneksel tıpta değil, modern bilimsel araştırmalarda da geniş bir uygulama alanı bulan çok işlevli bir bitkidir (Omotoso ve diğ., 2018). Kuraklığa dayanıklılığı, hızlı büyüme kapasitesi ve hemen her parçasının faydalı olması sayesinde dünya genelinde yaygın şekilde kültive edilmektedir (Falowo ve diğ., 2018). Besin öğeleri bakımından zengin olan bu bitki, başta A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, C ve E vitaminleri olmak üzere birçok temel vitaminin yanı sıra, Na, Ca, K, Mg, Fe, Ni, Mn, Zn ve Co gibi önemli mineraller açısından da yüksek değerlere sahiptir (Abd-Elhakim, 2018; Omotoso ve diğ., 2018). Bu özellikleriyle *Moringa oleifera*, “mucize ağaç” veya “her yerde deva bitki” olarak adlandırılmaktadır (Badwaik ve diğ., 2020).

Yaprakları başta olmak üzere; tohumları, tohum kabukları, kabuğu, kökü ve çiçekleri dahil olmak üzere bitkinin pek çok kısmı tıbbi ve fonksiyonel amaçlarla kullanılmaktadır. Yapılan analizler, bu bitkinin flavonoidler (kuersetin, kaempferol, luteolin, apigenin, mirisetin), fenolik asitler (klorojenik, gallik, kafeik, ferulik, p-kumarik, o-kumarik), saponinler, tanenler, alkaloidler, antrakınonlar, niazimisin, moringin, triterpenoidler, steroidler ve indirgen şekerler gibi çok sayıda biyoaktif bileşen içerdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca askorbik asit, karoten, tokoferol, oksalik asit gibi güçlü antioksidanlar da bitkinin farmakolojik etkilerinin temelini oluşturmaktadır (Abd-Elhakim, 2018; Guillén-Román, 2018; Omotoso ve diğ., 2018).

*Moringa oleifera* yapraklarının toplam fenolik bileşik içeriği 118 mg/g olarak belirlenmiş olup, antioksidan kapasitesi 0.636 µmol Trolox/mg düzeyindedir. Bu yüksek antioksidan potansiyel, hücre zarında oksidatif strese bağlı oluşabilecek hasarların önlenmesine katkı sağlar (Omotoso ve diğ., 2018). Bitkinin serbest radikalleri etkisiz hale getirme kapasitesi, antioksidan enzimlerin (katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz vb.) aktivasyonunu destekleyerek, malondialdehit (MDA) düzeylerinde azalma sağlar ve lipid peroksidasyonunu sınırlar (Arif ve diğ., 2023).

Bu bitkinin fonksiyonel faydaları yalnızca oksidatif stresle sınırlı değildir; yapılan deneysel çalışmalar, *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının GABA benzeri nörotransmitter etki göstererek epileptik ve anksiyete temelli semptomların hafifletilmesinde etkili olabileceğini göstermiştir (Fayez ve diğ., 2023). Ayrıca, fenolik yapıdaki antioksidanların merkezi sinir sistemi üzerinde nöroprotektif etkiler yarattığı ve Alzheimer ya da Parkinson gibi

nörodejeneratif hastalıklarda potansiyel tedavi ajanı olarak değerlendirilebileceği öne sürülmektedir (Pareek ve diğ., 2023).

*Moringa oleifera* yaprak tozu, HIV pozitif bireylerde bağışıklık fonksiyonlarını destekleyici etki göstermesi nedeniyle takviye edici gıda olarak değerlendirilmektedir (Omotoso ve diğ., 2018; Abd-Elhakim, 2018). Ayrıca yaprak tozunun hayvan beslenmesinde günlük kuru madde tüketiminin %5'ini aşmayacak şekilde kullanıldığında; büyüme performansı, yem dönüşüm verimliliği ve genel sağlık göstergelerinde iyileşme sağladığı rapor edilmiştir (Falowo ve diğ., 2018). Besin değeri yönünden zengin olan yapraklar, aynı zamanda ıspanaktaki demirin 25, muzda bulunan potasyumun 15, yoğurttaki proteinin 9 ve sütteki kalsiyumun 17 katına kadar mineral içeriği barındırmaktadır (Gharsallah ve diğ., 2023).

Farmasötik uygulamalar bakımından değerlendirildiğinde, *Moringa oleifera*'nın antikanser, antitümör, antihipertansif, antimikrobiyal, antifungal, anti-inflamatuar, antiülser, antidiyabetik, diüretik, kolesterol düşürücü ve hepatoprotektif etkileri bilimsel çalışmalarla desteklenmiştir (Falowo ve diğ., 2018; Omotoso ve diğ., 2018; Abdel Shakour ve diğ., 2023). Özellikle yaprak özütlerinde bulunan kuersetin, kaempferol ve karbamatların çeşitli kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Khor ve diğ., 2018; Khan ve diğ., 2020; Pappas ve diğ., 2021).

Bitki ayrıca hipoglisemik etkilere sahiptir ve bu etkiler,  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu, bağırsaklardaki glukoz emiliminin azaltılması, hepatik glukoneojenezin baskılanması ve insülin sekresyonunda artış ile açıklanabilmektedir (Ahmad ve diğ., 2019; Krawczyk ve diğ., 2022).

Tarım ve çevre mühendisliği alanlarında da ön plana çıkan *Moringa oleifera*, doğal bir pıhtılaştırıcı olarak atık su arıtımında kullanılmaktadır. Tohumlar, kabuklar ve yapraklardan elde edilen sulu çözeltiler, göl ve sızıntı sularındaki ağır metallerin biyosorpsiyon yoluyla uzaklaştırılmasında etkilidir (Ogundiran ve diğ., 2018; Villaseñor-Basulto ve diğ., 2018). Bu özelliği, bitkide doğal olarak bulunan spesifik fonksiyonel bölgelerin metal iyonlarıyla etkileşimi sayesinde ortaya çıkmaktadır.

*Moringa*'nın uçucu yağları ve glukozinolat içeriği de dikkate değerdir. Özellikle tohumlarda bulunan 4- $\alpha$ -ramnopiranoziloksi-benzil glukozinolat (GLC), antikanser, antiinflammatuar ve hipoglisemik etkilere sahip olup, bu bileşenler gıda, ilaç ve nutrasötik

endüstrilerde fonksiyonel ürün geliştirme açısından önem taşımaktadır. İşlenmiş gıdalara Moringa eklenmesi, besin içeriğini artırmanın yanı sıra, ürünün raf ömrünü ve oksidatif stabilitesini de olumlu yönde etkileyebilmektedir (Falowo ve diğ., 2018).

Sonuç olarak, *Moringa oleifera*, besin öğeleri, antioksidan kapasitesi ve terapötik etkileri bakımından olağanüstü bir profile sahiptir. Geniş biyolojik aktivite yelpazesi, onu hem gıda takviyesi hem de farmasötik ajan olarak umut vaat eden bir doğal kaynak haline getirmektedir.



### **3. YÖNTEM**

#### **3.1. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR**

Bu tez çalışmasında Biyokimya Ana Bilim Dalı'na ait cihazlar kullanılmıştır.

#### **3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER**

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddelerin ve çözücülerin hepsi, >99.0 saflıkta olup Merck ve Sigma firmaları tercih edilmiştir.

#### **3.3. MORİNGA OLEİFERA BİTKİSİNİN TOPLANMASI VE HAZIRLANMASI**

Moringa bitkisinin herbarium numarası UDUS/VS/2011/31 olarak Usmanu Danfodiyo Üniversitesi Sokoto Biyolojik Birimler Bölümü Botanik Birimi'nden Taksonomi uzmanı Dr. Umar Abdullahi tarafından tanımlanmıştır.

Uygun kurutma işleminden geçirildikten sonra taze yapraklar toz haline getirildi. Toz haline getirilen numuneler, Soxhlet cihazında %70'lik etanol yardımıyla ekstrakte edildi (10 g toz numune/150 mL çözücü). Ekstraksiyon sonrasında çözücü evapore edildi. Tartılan ham ekstre, endorph tüplerine aktararak -20 °C'de muhafaza edildi.

#### **3.4. DENEYSEL TASARIM**

Tez çalışması için gerekli etik kurul izni, Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun "14.05.2024 tarih ve 28.2024mar numaralı" kararı ile alınmıştır. Çalışmamızda kullanılan 46 adet dişi Sprague-Dawley sıçanların deneysel olarak dağılımı şu şekilde yapılmıştır:

Grup I : Kontrol grubu (n=8)

Grup II : Moringa ekstresi verilen grup (n=15)

Grup III: SVA uygulanan grup (n=8)

Grup IV: SVA+Moringa ekstresi verilen grup (n= 15)

Kontrol grubunu oluşturan deney hayvanlarına, oral yolla serum fizyolojik çözeltisi verilmiştir. Moringa ekstresi, serum fizyolojik ile çözülmüş olup 300 mg/kg doz olacak şekilde hayvanlara gavaj yolu ile verilmiştir. SVA, serum fizyolojik içinde çözülmüş olup, deney hayvanlarına 500 mg/kg doz olacak şekilde oral yolla verilmiştir. SVA+Moringa ekstresi verilen grupta ise aynı doz ve sürede SVA ve bitki ekstresi uygulanmıştır. Deneysel prosedür 15 gün boyunca uygulandı ve bir gece aç bırakılan tüm deney hayvanları 16. günde uygun anestezi koşulları altında sakrifiye edilmiştir. Bu işlemde sonra alınan kalp dokuları serum fizyolojik çözeltisi içinde muhafaza edildi ve -20 °C'de deneylerin yapılacağı güne kadar saklandı.

### 3.5. BİYOKİMYASAL DENEYLER

Kalp dokuları tartıldı ve serum fizyolojik çözeltisi yardımıyla %10 (w/v) konsantrasyonunda olacak şekilde buz içinde homojenize edildi. Elde edilen homojenizatlar, 10000 rpm'de 10 dakika boyunca soğutmalı santrifüj cihazında (+4 °C'de) santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda çeşitli biyokimyasal analizler yapıldı.

#### 3.5.1. Kalp Dokusunda Glutatyon (GSH) Miktar Tayini

GSH miktarı tayini, Beutler (1975) metoduna göre tayin edildi. Bu yöntemde göre, 5,5'-ditiyobis - (2-nitro benzoik asid), sülfidril grupları ile sarı renkli ürün oluşturmaktadır. Oluşan ürünün absorbansı 412 nm'de okunmaktadır.

#### Kullanılan Çözeltiler:

Kalp dokusunda GSH miktar tayininde kullanılan ayraçlar Beutler (1975)' in yöntemine göre hazırlanarak denemelerde kullanıldı.

#### Deneyin Yapılışı:

0.2 mL doku homojenizatu üzerine 0.3 mL çöktürme çözeltisi ilave edildi, karıştırıldı ve 5 dakika 3000 rpm'de santrifüje edildi. Elde edilen süpernatantlardan 0.2 mL alındı ve üzerine 0.8 mL 0.3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisi ile 0.1 mL belirtme reaktifi ilave edildi. Kör ve standart tüplerine, distile su ve çalışma standardı çözeltisi konuldu ve diğer çözeltiler de aynı miktarlarda eklendi. Tüm tüpler, karıştırıldı ve 5 dakika boyunca oda sıcaklığında beklendi.

Örnek ve standart tüplerin absorbanları, kör tüpüne karşı 412 nm'de spektrofotometrede ölçüldü.

$$\text{Glutasyon Miktarı (nmol GSH/mg protein)} = (N_{\text{abs}}/S_{\text{tabs}}) \times [(2.5 \times C_{\text{st}})/307.3] \times 10^6 / P$$

P = Doku protein miktarı (%mg).

### 3.5.2. Kalp Dokusunda İleri Okside Protein Ürünleri (AOPP) Miktar Tayini

AOPP miktarları, Witko-Sarsat ve diğ. (1996) tarafından geliştirilen metoduna göre belirlendi. Oksidatif stres sonucunda, proteinlerde bulunan özellikle tirozin amino asidi ditirozin yapısına dönüşür. Bu durum sonucunda, proteinlerin yapısında değişiklikler meydana getirir ve protein agregasyonları meydana gelir.

#### Kullanılan Çözeltiler:

Kalp dokusunda AOPP tayininde kullanılan çözeltiler, Witko-Sarsat ve diğ. (1996) tarafından geliştirilen yöntemde belirtildiği gibi hazırlandı.

#### Tayin yöntemi:

Kör tüpüne, 2000 µL tampon çözeltisi ve 100 µL KI çözeltisi eklenmiştir. Numune küvetine ise, 1600 µL tampon çözeltisi, 400 µL seyreltik doku homojenizatı ve 100 µL KI çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler karıştırıldı ve karanlıkta 2 dakika beklendi. Bekleme süresinin sonunda tüm tüplere 200 µL derişik asetik asit eklenerek karıştırıldı ve tüplerin absorbanları, köre karşı spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda ölçüldü. Kalp dokusundaki AOPP miktarı şu formüle göre hesaplandı:

$$\text{AOPP Miktarı} = ((N_{\text{abs}}/261) \times (\text{Toplam hacim/Numune hacmi}) \times f) / \text{mg protein}$$

### 3.5.3. Kalp Dokusunda Total Antioksidan Seviyeleri (TAS) Miktar Tayini

TAS tayini Erel (2004) yöntemine göre yapıldı. Bu metotta TAS miktarı, asetat tamponunda, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve ABTS içeren reaktifinin absorbanınının 630 nm'de ELISA okuyucuda okunması ile belirlenir.

#### Kullanılan Çözeltiler:

Kalp dokusunda TAS tayininde Erel (2004)'in yöntemine göre hazırlandı.

### **Deneyin Yapılışı:**

Kör, numune ve standart olmak üzere üç deney tüpü hazırlandı. Tüm tüplere, pH'sı 5.8'e ayarlanmış 0.4 M sodyum asetat tamponundan 200 µL eklendi. Kör tüpe 5 µL serum fizyolojik, numune tüpüne 5 µL doku homojenatı ve standart tüpe 5 µL Trolox (3 mM fosfat tamponu içerisinde hazırlanmış) çözeltisi ilave edildi. Her tüpe, reaktif 2 olarak tanımlanan ve 30 mM asetat tamponunda 2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 10 mM ABTS çözülerek, bu çözülden alınan 204 µL'lik kısmın pH'sı 7.4 olan 3 mM fosfat tamponu ile 10 mL'ye tamamlanmasıyla elde edilen reaktiften 20 µL eklendi. Ardından tüpler 37°C'de 10 dakika inkübe edildi ve absorbans değerleri 660 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Kör tüpün absorbansı 0 mM referans değeri olarak kabul edilerek diğer absorbanslardan çıkarıldı. TAS konsantrasyonu, standart eğri denklemi kullanılarak hesaplandı.

### **3.5.4. Kalp Dokusunda Total Oksidan Seviyeleri Miktar Tayini**

Kalp dokusunda toplam oksidan miktar (TOS) tayini, Erel (2005)' in yöntemine göre yapıldı. Bu metodda TOS miktarı, ksilenol oranj reaktifi, ferröz (ferro amonyum sülfat) iyonu ve o-dianisidin kullanılarak tayin edildi.

### **Kullanılan Çözeltiler:**

Deneyde kullanılan çözeltiler referans olarak kullanılan kaynaktan belirtildiği gibi hazırlanarak TOS miktar tayininde kullanıldı.

### **Deneyin Yapılışı:**

Analiz için kör, numune ve standart olmak üzere üç deney tüpü hazırlandı. Tüm tüplere, pH'sı 1.75'e ayarlanmış ve ksilenol oranj ile NaCl'nin H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içerisinde çözülmesinden sonra gliserol ile son hacme tamamlanarak hazırlanan 225 µL'lik reaktif eklendi. Kör tüpe 35 µL serum fizyolojik, numune tüpüne 35 µL doku homojenatı ve standart tüpe 35 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> standardı ilave edildi. Ardından her tüpe, 5 mM ferröz iyonu ve 10 mM o-dianisidinin 25 mM sülfürik asit içinde çözülmesiyle hazırlanan reaktif 2'den 11 µL eklendi. Sonrasında tüpler 37°C'de 10 dakika inkübe edildi ve reaksiyonun ardından oluşan absorbans değerleri, kör tüpe karşı 660 nm'de anında ELISA okuyucu cihazında okundu.

**TOS miktarı** =  $[\text{Num}_{\text{abs}}/\text{Std}_{\text{abs}}] \times \text{Std konsantrasyonu}$

$\text{Num}_{\text{abs}}$  = Numunenin absorbans değeri

$\text{Std}_{\text{abs}}$  = Standartın absorbans değeri

**Std konsantrasyonu** = Standardın konsantrasyonu

### 3.5.5. Kalp Dokusunda Reaktif Oksijen Türleri Miktar Tayini

Kalp dokusundaki reaktif oksijen türlerinin (ROS) düzeyi, Zhang ve diğ. (2018) geliştirdiği yöntemle göre belirlendi. Bu yöntemde ROS miktarının tayininde, HEPES (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansülfonik asit) tamponu içerisinde çözülmüş 2',7'-diklorofloresin diasetat (DCF) bileşiği kullanılarak ölçüm gerçekleştirilmiştir.

#### **Kullanılan Çözeltiler:**

Kalp dokusunda reaktif oksijen türleri (ROS) tayininde kullanılan ayıraçlar Zhang ve diğ. (2018)'nin yöntemine göre hazırlanarak denemelerde kullanıldı.

#### **Deneyin Yapılışı:**

Deney tüplerinden bir tanesi kör diğeri numune olarak numaralandırıldı. Kör tüpüne 5 µL serum fizyolojik, numune tüpüne 5 µL homojenat eklendi. Daha sonra tüm tüplere sırası ile 55 µL HEPES tamponu (pH 7.25), ve 90 µL 20 µM DCF çözeltisinden ilave edildi. 37°C'de 5 dakika karanlıkta inkübe edildikten sonra ekstiksyon 480 nm; emisyon 535 nm olarak ayarlandı ve 0. dakikada spektrofotometre ile ölçüm yapıldı. Aynı şartlarda 30 dakika sonra tekrar ölçüm yapıldıktan sonra aşağıdaki formüle göre ROS miktarı hesaplandı.

$$\text{ROS} = \Delta\text{RFU}/(\text{mg protein/mL})$$

$\Delta\text{RFU}$  = 0. ve 30. dakika arasındaki floresans farkı

### 3.5.6. Kalp Dokusunda Katalaz Aktivitesi Tayini

Kalp dokusundaki katalaz (CAT) aktivitesi, Aebi'nin (1984) tanımladığı metoda göre belirlendi. Bu yöntem, CAT enziminin hidrojen peroksidi ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) suya dönüştürmesi sırasında meydana gelen  $\text{H}_2\text{O}_2$  azalmasının, 240 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak izlenmesine dayanır.

**Kullanılan Çözeltiler:**

Çözeltiler Aebi (1984) yöntemine göre hazırlanarak denemelerde kullanıldı.

**Deneyin Yapılışı:**

Kör tüpüne 0.5 mL %0.9 NaCl, numune tüpüne 0.5 mL doku homojenatı ilave edildi. Daha sonra her iki tüpe de 2 mL 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edildikten sonra numunenin sıfırncı ve birinci dakikada 240 nm'de spektrofotometrede absorbans değerleri köre karşı ölçüldü.

Kalp dokusundaki CAT aktivitesi aşağıda belirtilen formül yardımı ile hesaplandı.

**CAT Aktivitesi (U/mg protein) =**( $\Delta$ OD/0.0436 x Toplam hacim/Örnek hacmi)/mg protein

$\Delta$ OD= 0. ve 1. dakika arasındaki absorbans farkı

**3.5.7. Kalp Dokusunda Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini**

SOD aktivitesi, Mylroie ve diğ. (1986) geliştirdiği yöntem doğrultusunda belirlendi. Bu yöntemde, riboflavin floresan ışık altında süperoksit radikali üretmesi sağlanır; oluşan süperoksit radikalleri ise ortamda bulunan enzim tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e dönüştürülür. Oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin, o-dianisidin ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelen renkli ürünün 460 nm'deki absorbansı spektrofotometrik olarak ölçülerek enzim aktivitesi hesaplanır.

**Kullanılan Çözeltiler:**

SOD aktivitesi tayininde Mylroie ve diğ. (1986)'lerinin çalışmalarında belirttikleri şekilde hazırlanan reaktifler kullanıldı.

**Deneyin yapılışı:**

Kalp dokusunda SOD aktivitesi tayininde tüpler kör, numune ve standart olarak adlandırıldı. EDTA içeren 50 mM fosfat tamponundan (pH 7.8) kör tüpüne 2.7 mL, diğer tüplere 2.6 mL ilave edildi. 6 mM lık o-dianisidin çözeltisinden tüm tüplere 0.1 mL ilave edildi. Doku homojenatından numune tüpüne 0.1 mL, standart tüpüne de 0.1 mL standart ilave edildikten sonra bütün tüplere riboflavin çözeltisinden (0.2 mM) ilave edildi. Tüplerin absorbansı, köre karşı 460 nm'de okundu. Sonra ultraviyole (UV) ışık ortamında 8 dakika boyunca bekletildi. Tüplerin absorbansı, köre karşı yeniden okundu. İlk ve son absorbans

farıkları alındı. Örneklerdeki SOD aktivitesi, enzim standardı kullanarak çizilen grafik yardımı ile U/mg cinsinden hesaplandı.

### 3.5.8. Kalp Dokusunda Glutatyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Tayini

GPx aktivitesi, Wendel'in (1981) tanımladığı yönteme göre belirlendi. Bu yöntemde, GPx enzimi GSH'ı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) formuna dönüştürür. Oluşan GSSG, NADPH+H<sup>+</sup>'ın NADP<sup>+</sup>'a oksidasyonu eşliğinde yeniden GSH'a indirgenir. Bu süreçte NADPH+H<sup>+</sup>'ın oksidasyonuna bağlı olarak absorbans değerindeki azalma, spektrofotometrik olarak izlenerek enzim aktivitesi tayin edildi.

#### Kullanılan Çözeltiler:

Denemede kullanılan çözeltiler kaynakta belirtildiği gibi hazırlandı (Wendel, 1981).

#### Deneyin Yapılışı:

Numune tüpüne 400 µL, kör tüpüne 600 µL 0.25 M pH 7.0 fosfat tamponu ilave edildi. Numune tüpüne 200 µL homojenat eklendikten sonra her iki tüpe sırasıyla 10 mM GSH, 2.5 mM NADPH, 6 U/L glutatyon redüktaz ve 12 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden 100 µL ilave edildi.

Kör ve numunelere substrat ilave edildikten sonra karıştırılan karışımda başlayan reaksiyonun absorbans değerlerindeki azalma 366 nm'de dakikada bir okundu. Bu işlem 5 dakika boyunca yapıldı. GPx aktivitesi şu şekilde hesaplandı.

**GPx Aktivitesi (U/g protein)** =  $[(\Delta OD/dk) / 6.22 \times 10^3 \times (\text{Toplam hacim}/\text{Örnek hacmi})] / \text{g protein}$

**ΔOD:** İlk ve son okumalar arasındaki absorbans farkları

**Molar ekstinksiyon kat sayısı (mM):** 6.22

### 3.5.9. Kalp Dokusunda Glutatyon-S-Transferaz (GST) Aktivitesi Tayini

GST aktivitesi, Habig ve Jakoby (1981) metoduna göre belirlendi. Yöntem, GST varlığında, GSH ve 1-kloro-2,4-dinitrobenzenin konjugasyonu sonucu oluşan glutatyon-2,4-dinitrobenzen isimli ürünün absorbansının 340 nm'de ölçülmesi esasına dayanır.

### **GST aktivitesi tayininde kullanılan çözeltiler:**

Deneyde kullanılan çözeltiler, Habig ve Jakoby (1981) tarafından geliştirilen metotta belirtildiği gibi hazırlandı.

### **Tayin Yöntemi :**

Kör tüpüne 0.1 mL destile su ve örnek tüplerine de 0.1 mL doku homojenizatlarından konuldu. Tüm tüplere 0.3 mL GST tamponu, 10 µL GSH ve 10 µL CDNB ilave edildikten sonra son hacim 0.6 mL'ye destile su ile tamamlandı. 0. ve 3. dakikalardaki absorbanslar, 340 nm'de ölçüldü. Örneklerdeki GST aktivitesi şu şekilde hesaplandı:

$$\text{GST Aktivitesi (U/mg protein)} = [\Delta\text{OD/dk}] \times 0.625/\text{mg protein}$$

$\Delta\text{OD}$  : İlk ölçüm ve son ölçüm arasındaki absorbans değişimi

### **3.5.10. Kalp Dokusunda Gama Glutamil Transferaz (GGT) Aktivitesi Tayini**

GGT enzim aktivite tayini, Szasz (1969) metoduna göre tayin edildi. Reaksiyon sonucunda oluşan p-nitroanilin için elde edilen absorbans, 405 nm'de ölçülür.

### **Kullanılan Çözeltiler :**

Deneyde kullanılan çözeltiler, Szasz (1969) metodunda belirtildiği şekilde hazırlandı.

### **Deneyin Yapılışı :**

Kör ve numune tüpüne 0.8 mL substrat çözeltisi konulur. Kör tüpüne 0.2 mL destile su, örnek tüpüne de 0.2 mL homojenizat ilave edilir. 37 C'de 10 dakika inkübasyon yapılır ve ardından bütün tüplere 1 mL %25 TCA ilave edilir. 5 dakika santrifüj edilen tüplerin üst fazlarının absorbansları, 405 nm'de 3 dakika boyunca spektrofotometrik olarak ölçüldü.

GGT aktivitesi şu formüle göre hesaplanır :

$$\text{GGT (U/g protein)} = (\Delta\text{OD} \times 1111)/\text{g protein}$$

### **3.5.11. Kalp Dokusunda Aspartat Amino Transferaz (Glutamat Oksal Asetat Transaminaz, AST/GOT) Aktivitesi Tayini**

Dokuda GOT aktivitesi, Reitman ve Frankel (1974) tarafından geliştirilen metoda göre tayin edildi. GOT, L-aspartik asit ve  $\alpha$ -ketoglutarik asit reaksiyonu sonucunda, oksal asetik asit

ve L-glutamik asit oluşturur. Oluşan oksal asetik asit, 2,4-dinitrofenilhidrazin ile alkali ortamda renkli ürün oluşturur. Bu ürünün absorbansı, 546 nm’de spektrofotometrik olarak okunur.

#### **Kullanılan Çözeltiler:**

Deneyde kullanılan çözeltiler, Reitman ve Frankel (1974) yönteminden belirtildiği gibi hazırlandı.

#### **Deneyin Yapılışı:**

0.02 mL örnek üzerine 0.1 mL GOT tamponu ilave edildi ve tüpler 37 C’de 1 saat boyunca inkübe edildi. Ortama 0.1 mL kromojen çözeltisi ilave edilerek reaksiyon durduruldu. 20 dakika oda sıcaklığında yapılan bekletme sonrası, ortama 1 mL 0.4 N NaOH ilave edildi. Oluşan renkli ürünün absorbansı 546 nm’de okundu. Sodyum piruvat kullanılarak oluşturulan standart eğri grafiği üzerinden enzim aktivitesi hesaplandı ve sonuçlar U/g protein olarak verildi.

#### **3.5.12. Kalp Dokusunda Miyeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi Tayini**

MPO aktivitesi, Wei ve Frankel (1991) yöntemi kullanılarak tayin edildi.

#### **Kullanılan Çözeltiler:**

Kalp dokusunda MPO aktivitesinin tayininde kullanılan çözeltiler Wei ve Frankel (1991) yöntemine göre hazırlandı.

#### **Deneyin Yapılışı:**

Doku homojenizasyonu sırasında %0.5 oranında hekzadesiltrimetil amonyum bromür (HETAB) kullanıldı. Homojenatlar, +4°C’de 30 dakika boyunca 3500 rpm’de santrifüjlenerek MPO aktivitesinin tayininde kullanılacak süpernatant elde edildi. Deney için kör ve numune olmak üzere iki ayrı tüp hazırlandı. Her iki tüpe de 1.3 mL’lik 25 mM 4-aminoantipirin ve 20 mM fenol içeren çözelti eklendi. Çözeltiler karıştırıldıktan sonra her tüpe 1.5 mL’lik 1.7 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi ilave edildi. Ardından tüpler 4 dakika boyunca vorteks ile karıştırıldı; numune tüpüne 0.3 mL süpernatant, kör tüpüne ise aynı hacimde distile su eklendi. Absorbans ölçümleri 510 nm’de 5 dakika boyunca gerçekleştirildi. MPO aktivitesi, aşağıda belirtilen formüle göre hesaplandı:

**MPO Aktivitesi (U/g doku) =  $[\Delta OD/dk] \times (0.605)/g$  doku**

$\Delta OD$  = İlk ve son okumalar arasındaki absorbans farkları

### 3.5.13. Kalp Dokusunda Ksantin Oksidaz (XO) Aktivitesi Tayini

Dokudaki XO aktivitesi, Corte ve Stirpe (1968) metoduna göre belirlendi. Enzim, ksantinin ürik aside dönüşümünü katalizler. Oluşan ürünün absorbans değeri, spektrofotometrede 286 nm dalga boyunda ölçüldü.

#### **Kullanılan Çözeltiler :**

Deneyde kullanılan çözeltiler, literatürde belirtildiği şekilde hazırlandı.

#### **Tayin yöntemi :**

Dokuda XO aktivitesinin belirlenmesi için kör tüpüne, 880 µL fosfat tamponu + 33 µL EDTA + 33 µL ksantin, deney tüpüne, 10 µL doku homojenatı + 870 µL fosfat tampon çözeltisi + 33 µL EDTA çözeltisi + 33 µL ksantin çözeltisi ilave edildi. Tüplerin sıfırıncı zaman absorbansları 286 nm'de köre karşı okundu. Tüpler, 10 dakika boyunca 24 °C'lik su banyosunda bekletildi ve absorbanslar tekrardan ölçüldü. XO aktivitesi şu şekilde hesaplandı.

XO Aktivitesi (U/mg protein) =  $[(\Delta OD / dk) / mg \text{ protein}]$

### 3.5.14. Kalp Dokusunda Nitrik Oksit Miktar Tayini

Kalp dokusunda nitrik oksit (NO) tayini Miranda ve diğ. (2001)'lerinin yöntemine göre yapıldı. Bu metodda NO miktarı, vanadyum klorür (III) (VCl<sub>3</sub>), sülfanilamid ve N-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorür (NEDD) kullanılarak hesaplandı. Nitritle sülfanilamidin, asidik ortamda NEDD ile reaksiyonu sonucu meydana gelen diazonyum bileşiğinin oluşturduğu rengin 540 nm'de spektrofotometrede okunması esasına dayanır.

#### **Kullanılan Çözeltiler:**

Kalp dokusunda NO tayininde Miranda ve diğ., (2001) yöntemlerinde belirttikleri şekilde hazırlanan reaktifler denemelerde kullanıldı.

### **Deneyin Yapılışı:**

Bu denemede kullanılan doku homojenizatı serum fizyolojik ile %10'luk olacak şekilde homojenize edildikten sonra, +4°C'de 10 dakika, 4000 rpm'de santrifüje edilerek hazırlandı. Bu şekilde elde edilen süpernatanttan 0.45 mL alındı üzerine 0.45 mL 0.3 M NaOH ilave edildi, karıştırıldı ve 5 dakika beklendi. Üzerine %10'luk ZnSO<sub>4</sub> ilave edildi ve tüpler vortekslendi. Ardından +4°C'de 5 dakika 14000 rpm'de santrifüje edildi. Elde edilen üst faz kullanarak dokulardaki NO miktarı tayin edildi.

Deney tüplerinden bir tanesi kör diğeri numune olarak numaralandırıldı. Kör tüpüne 0.6 mL distile su, numune tüpüne 0.3 mL homojenat eklendikten sonra her iki deney tüpüne de 0.3 mL her gün taze olarak hazırlanan VCl<sub>3</sub>'den ilave edildi. Numune tüpüne sırası ile 0.15 mL sülfanilamit ve NEDD çözeltilerinden ilave edildi. Bunu takiben tüpler 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. 540nm'de absorbands değerleri okundu.

### **NO miktarı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı:**

$$\text{NO Miktarı } (\mu\text{mol/g protein}) = \text{Absorbans} \times 169.8 / P$$

P= Dokudaki g protein miktarı

### **3.5.15. Kalp Dokusunda Laktat Dehidrojenaz (LDH) Aktivitesi Tayini**

LDH aktivitesinin tayini, Bais ve Philcox (1994) metoduna göre yapıldı. LDH, ortamda EDTA bulunan Tris-HCl tamponu ile (pH 7.4), NADH varlığında 37°C'de piruvatın laktata dönüşümünü katalizler. NADH'ın oksidasyonu 340 nm'de absorbands azalması ile belirlenir.

### **Kullanılan Çözeltiler:**

Kalp dokusunda LDH aktivitesi tayininde kullanılan ayıraçlar Bais ve Philcox (1994)'in yöntemine göre hazırlanarak denemelerde kullanıldı.

### **Deneyin Yapılışı:**

Kalp dokusunda LDH aktivitesi aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı. Numune tüpüne 25 µL doku homojenizat eklendi, daha sonra kör ve numune tüplerine 1 mL LDH tamponu eklendi. Tüpler 37°C'de 5 dakika inkübe edildi. Ardından 125 µL sodyum piruvat

ilave edildi. 1 dakika daha inkübasyon yapıldı. Bu süre sonunda köre karşı numune absorbansı üç dakika boyunca 340 nm’de okundu.

Enzim aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{LDH Aktivitesi (U/g protein)} = (\Delta\text{OD/dk}) \times 7143/\text{g protein}$$

$\Delta\text{OD}$ : İlk ve son okumalar arasındaki absorbans farkları

### 3.5.16. Kalp Dokusunda Sodyum Potasyum ATPaz ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz) Aktivitesi Tayini

$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesi Ridderstap ve Bonting (1969) metoduna göre belirlendi. Deneyin prensibine göre, doku homojenizatının uygun miktarda ATP ile inkübasyonu ve hemen ardından enzimatik hidrolizi sırasında oluşan inorganik fosfat belirlenmektedir. Hem total ATPaz hem de  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPaz tayin edilir. Aradaki fark ise  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesini vermektedir.

#### Kullanılan Çözeltiler:

Kalp dokusunda  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler, yöntemde belirtildiği şekilde hazırlandı.

#### Deneyin Yapılışı:

Kalp dokusundaki  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesi aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde tüpler aşağıda belirtilen şekilde hazırlandı.

Numune körü : 0.3 mL A çözeltisi + 0.24 mL destile su + 0.22 mL ATP çözeltisi

Total ATPaz tüpü : 0.3 mL A çözeltisi + 0.2 mL destile su + 0.22 mL ATP çözeltisi

Mg-ATPaz tüpü : 0.3 mL B çözeltisi + 0.2 mL ouabain çözeltisi + 0.22 mL ATP çözeltisi

Bütün tüpler, 37 °C’de 5 dakika inkübe edildikten sonra, Total ATPaz ve Mg-ATPaz tüplerine 0.04 mL homojenizatı eklendi. Bütün tüpler, 37 °C’de 30 dakika inkübasyon yapıldı. Ardından tüm tüplere, buz banyosu içinde 0.04 mL %100 TCA ilave edildi ve 10 dakika boyunca buz banyosunda bekletildi. 3000 rpm’de 10 dakika santrifüje edildi.

Santrifüj sonrası ikinci kısımda ise inorganik fosfor miktarı tayin edildi :

Numune körü, total ATPaz ve Mg-ATPaz üst fazlarından alınan 0.1 mL tüplere aktarıldı. Standart körüne 0.1 mL %5 TCA, çalışma standardı tüpüne 0.1 mL çalışma standardı konuldu. Ardından tüm tüplere, 0.02 mL amonyum molibdat çözeltisi, 0.008 mL Fiske-Subarrow reaktifi, 0.072 mL destile su ilave edildi. Tüpler karıştırıldıktan sonra, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında beklendi. Tüm absorbansları numune körüne karşı, standart tüplerinin absorbansları ise standart körüne karşı 680 nm'de ölçüldü.

**Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>/ATPaz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:**

$$\text{nmol Pi}/(\text{mg protein} \times \text{h}) = [645 \times \% \text{mg Pi}] / [\% \text{mg protein} \times 60] \times 1000$$

### 3.5.17. Kalp Dokusunda Karbonik Anhidraz (CA) Aktivitesi Tayini

CA aktivitesi, Verpoorte ve diğ. (1967) tarafından geliştirilen metoda göre tayin edildi.

**CA aktivitesi tayininde kullanılan çözeltiler:**

Bu yöntemin tayininde kullanılan çözeltiler, Verpoorte ve diğ. (1967) tarafından geliştirilen methoda belirtildiği gibi hazırlandı.

**CA aktivite tayin yöntemi:**

Kör ve numune tüplerine sırası ile 1.5 mL ve 1.4 mL olacak şekilde deney tamponu konuldu. Doku homojenizatından 0.1 mL ilave edildikten sonra, hem kör hem de numune tüplerine 1.5 mL substrat eklendi. Numune tüplerinin absorbansı, kör tüpüne karşı 348 nm'de 5 dakika boyunca spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Kalpde karbonik anhidraz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{CA Aktivitesi (U/mL)} = \Delta \text{OD} \times 1200$$

Aktivite değeri, her numune için belirlenen protein miktarına bölünerek, spesifik aktivite değerleri belirlendi.

### 3.5.18. Kalp Dokusunda Heksoz Miktar Tayini

Heksoz miktarı tayini, Winzler (1955) metoduna göre yapıldı. Bu yöntemde göre, ortamdaki heksoz bileşikleri konsantre sülfat asitli ortamda ve sıcakta orsinol ile renk vermektedir.

**Kullanılan Çözeltiler:**

Kalp dokusunda heksoz miktarı tayininde kullanılan ayıraçlar Winzler (1955)' in yöntemine göre hazırlanarak denemelerde kullanıldı.

**Hidrolizatın Hazırlanması:**

0.25 mL doku homojenizatı, 0.5 mL 2 N HCl ve 0.5 mL %1 fosfotungstik asid ile karıştırıldı. 4 saat boyunca, 100°C'de etüvde hidroliz edildi. Bekletilen örneklerin pH'ları 4 N NaOH ile pH 7.0'a getirildi.

**Deneyin Yapılışı:**

Kör tüpüne 100 µL destile su, numune tüpüne 100 µL hidrolizat ve standart tüpüne 100 µL standart konuldu. Tüm tüplere 100 µL orsinol ve 0.8 mL konsantre sülfat asidi çözeltisi ilave edildi. 10 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletilen tüpler süre sonunda aniden soğutuldu. Tüplerin absorbansları, 425 nm'de köre karşı ölçüldü. Kaydedilen absorbans değerleri ile dokulardaki heksoz miktarları, glukoz standardı ile çizilen standart eğri grafiği yardımıyla µg glukoz/mL olarak belirlendi. Değerler, protein miktarlarına bölünerek µg glukoz/mg protein üzerinden son sonuç elde edildi.

**3.5.19. Kalp Dokusunda Heksozamin Miktar Tayini**

Heksozamin miktarı, Winzler (1955) tarafından geliştirilen metoda göre belirlendi. Heksozamin bileşikleri, asetilaseton ve p-dimetilaminobenzaldehit ile pembe renkli ürün oluşturmaktadır ve oluşan ürünün absorbansı, 530 nm'de spektrofotometrede ölçülür.

**Kullanılan Çözeltiler:**

Kalp dokusunda heksozamin miktarı tayininde kullanılan ayıraçlar Winzler (1955)' in yöntemine göre hazırlanarak denemelerde kullanıldı.

**Hidrolizatın Hazırlanması:**

0.25 mL doku homojenizatı, 0.5 mL 2 N HCl ve 0.5 mL %1 fosfotungstik asid ile karıştırıldı. 4 saat boyunca, 100°C'de etüvde hidroliz edildi. Bekletilen örneklerin pH'ları 4 N NaOH ile pH 7.0'a getirildi.

### **Deneyin Yapılışı:**

Kör tüpüne 0.5 mL asetilaseton çözeltisi, 0.5 mL destile su, numune tüpüne 0.5 mL asetilaseton çözeltisi ve 0.5 mL hidrolizat, standart tüpüne ise 0.5 mL asetilaseton ve glukozamin standardı konulduktan sonra tüm tüpler, 15 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. Bu işlem sonrası soğutulan tüplerin hepsine 2.5 mL %96 etil alkol ve 0.5 mL Ehrlich ayıracağı ilave edildi. Son hacim etil alkol ile 5 mL'ye tamamlandı. Tüm tüpler 1 saat boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi ve absorban ölçümleri 530 nm'de yapıldı. Standart eğri grafiği yardımıyla her numunedeki heksozamin miktarı  $\mu\text{g}$  glukozamin/mL cinsinden hesaplandı ve  $\mu\text{g}$  glukozamin/mg protein şeklinde değerlendirildi.

### **3.5.20. Kalp Dokusunda Alkali Fosfataz (ALP) Aktivitesi Tayini**

Bu deneyde Walter ve Schutt (1974) tarafından metodu uygulanmıştır. ALP, substrat olarak 4-nitrofenilfosfatı p-nitrofenol'e hidroliz etmektedir. Meydana gelen sarı renkli ürünün absorbanı, 405 nm'de okunur.

### **Kullanılan Çözeltiler**

Deneyde kullanılan çözeltiler, literatürde belirtildiği şekilde hazırlandı ve deneyde kullanıldı.

### **Deneyin Yapılışı**

Kör ve numune tüplerine sırasıyla 0.25 mL ve 0.2 mL ALP tamponu konulur. Numune tüpüne 0.05 mL homojenizat eklenir. 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyon yapıldıktan sonra tüm tüplere 10 mL 0.05 N NaOH ilave edilir. Absorbanslar, 405 nm'de köre karşı okunur. ALP aktivitesi şu şekilde hesaplanır:

ALP aktivitesi (U/L) = Abs x 434 formülü kullanılmıştır.

### **3.5.21. Kalp Dokusunda Total Protein Miktar Tayini**

Total protein tayini, Lowry ve diğ. (1951) tarafından geliştirilen metoda göre tayin edildi. Bu yöntem, proteinlerin yapısındaki halkalı yapı içeren amino asitlerin folin reaktifi ile mavi renk vermesi esasına dayanır.

**Total protein miktar tayininde kullanılan çözeltiler:**

Bu yöntemin tayininde kullanılan çözeltiler, Lowry ve diğ. (1951) tarafından geliştirilen metotta belirtildiği gibi hazırlandı.

**Total protein tayin yöntemi:**

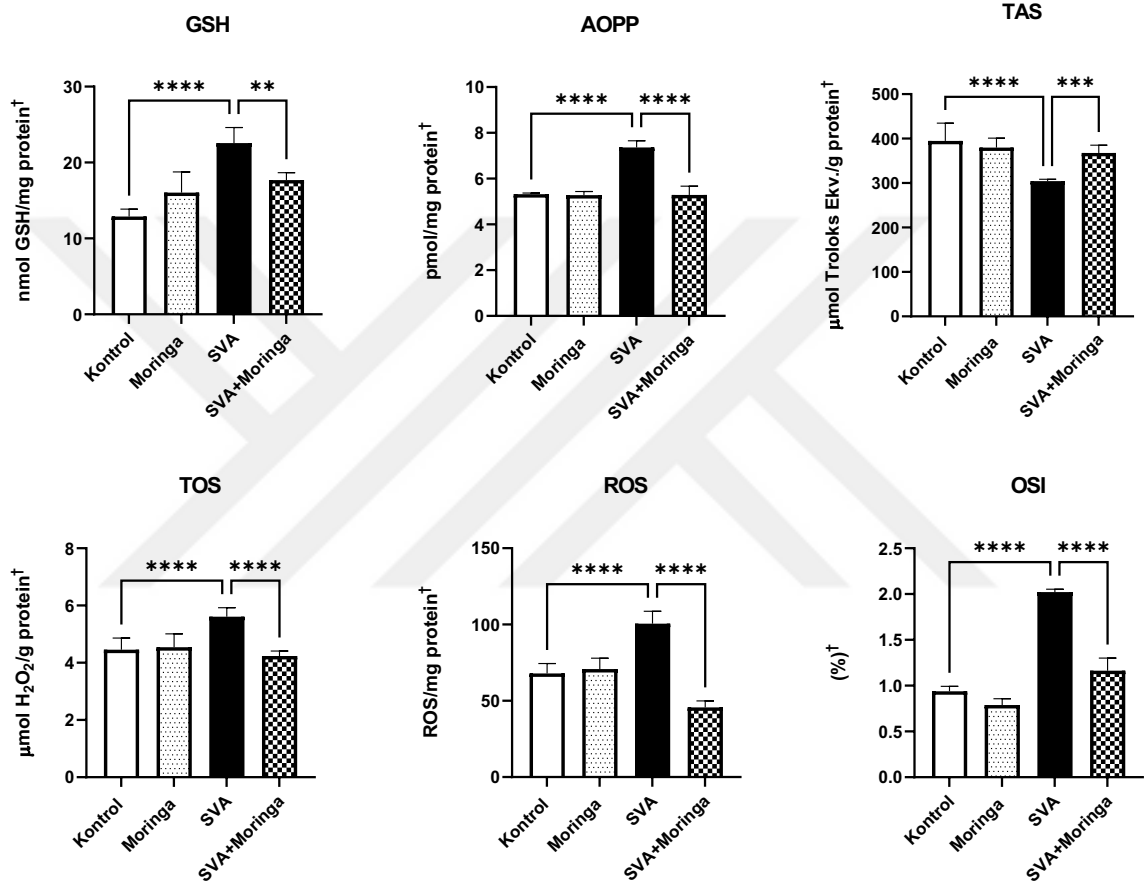
Kör tüpüne 0.5 mL serum fizyolojik, numune tüplerine 0.5 mL seyreltik doku homojenizatı, standart tüplerine ise 0.5 mL standart ilave edildikten sonra tüm tüplere 2.5 mL C reaktifi eklendi. Tüpler karıştırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Ardından bütün tüplere Folin çalışma çözeltilerinden 0.25 mL ilave edilerek yine oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Numune ve standart tüplerinin absorbansları, 500 nm'de kör tüpüne karşı okundu. Doku örneklerine ait protein miktarı, standart eğri grafiği çizilerek mg/100 mL olarak hesaplandı.

**3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

DeneySEL prosedür uygulaması sonucunda elde edilen tüm biyokimyasal sonuçlar, GraphPad Prism 9.0 istatistik programına göre değerlendirildi.  $p < 0.05$  değeri, "istatistiksel olarak anlamlı" olarak kabul edildi.

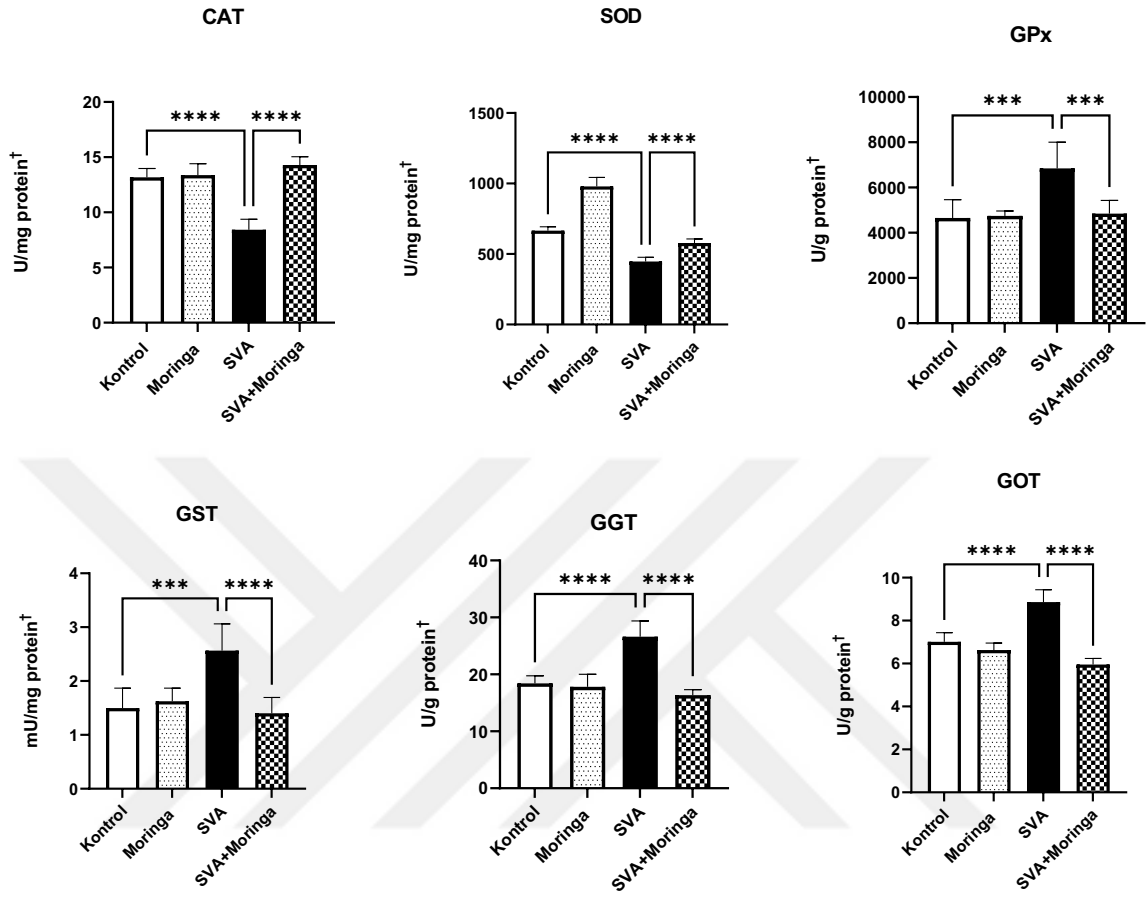
## 4. BULGULAR

Çalışmamızda elde edilen biyokimyasal bulgular, Şekil 4.1-4.4 arasında gösterildi.



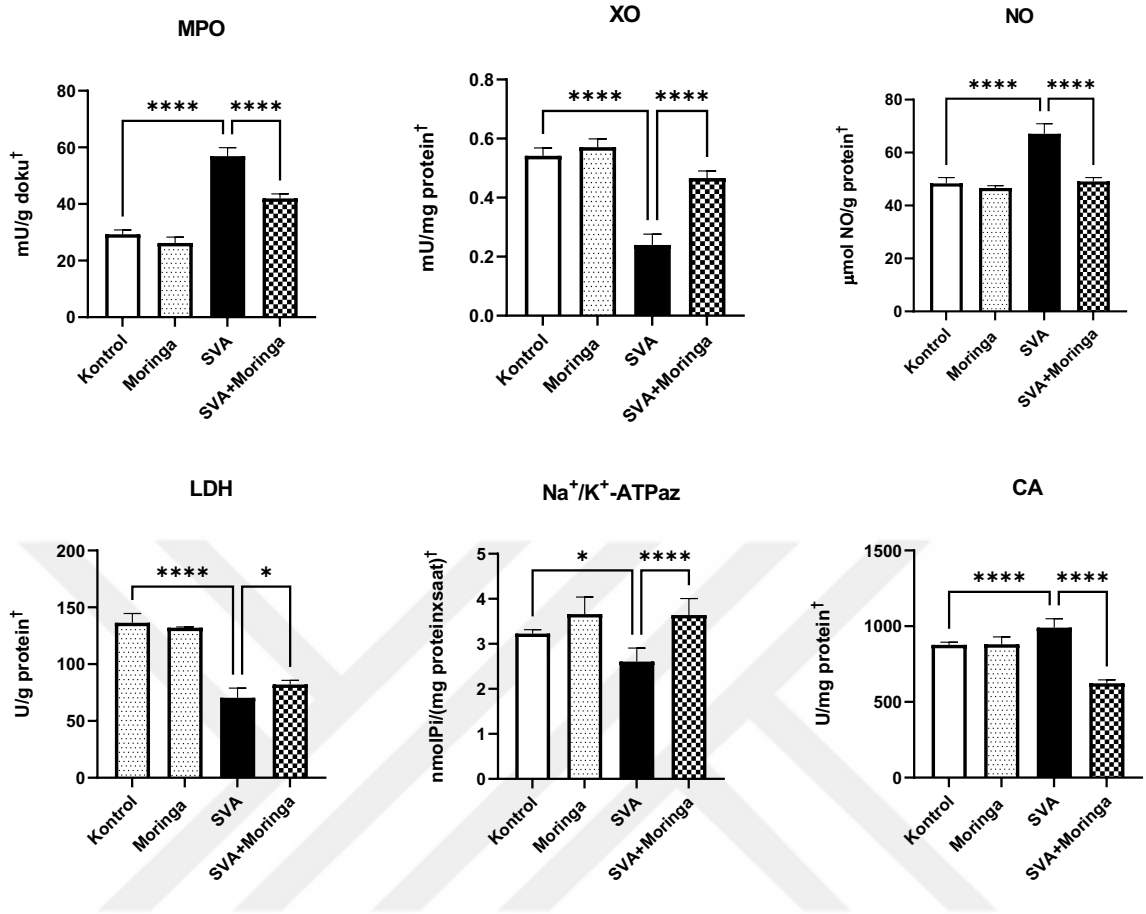
**Şekil 4.1.** Tüm deney gruplarına ait GSH, AOPP, TAS, TOS, ROS ve OSİ seviyeleri.  
\*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, \*\*\*\*p<0.0001.

Tüm deney gruplarına ait GSH, AOPP, TAS, TOS, ROS ve OSİ değerleri Şekil 4.1'de verildi. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubuna SVA uygulanması ile GSH, AOPP, TOS, ROS ve OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlemlenirken, TAS seviyelerinde ise anlamlı bir azalma meydana geldiği belirlendi (p<0.0001). SVA grubuna Moringa ekstresi uygulanması ile bu değerler anlamlı olarak tersine çevrildi (p<0.01, p<0.001, p<0.0001) (Şekil 4.1).



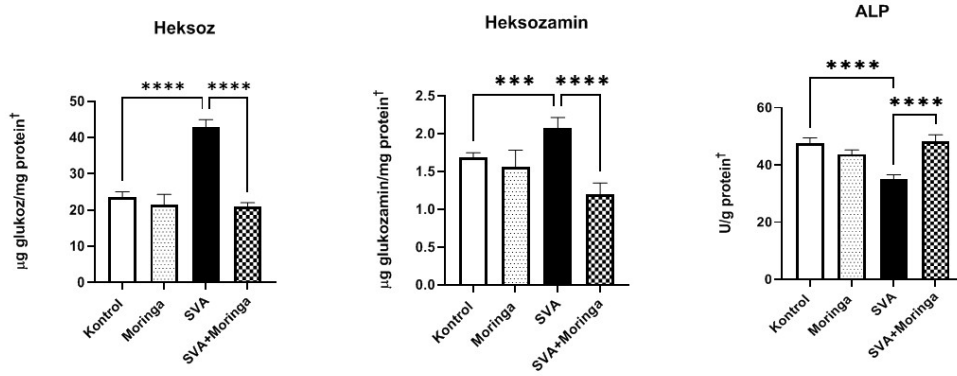
**Şekil 4.2.** Tüm deney gruplarına ait CAT, SOD, GPx, GST, GGT ve GOT aktiviteleri.  
\*\*\*p<0.001, \*\*\*\*p<0.0001.

Tüm gruplara ait CAT, SOD, GPx, GST, GGT ve GOT değerleri Şekil 4.2’de verildi. Bu sonuçlara göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SVA grubuna ait CAT ve SOD aktivitelerinde anlamlı bir azalma meydana geldiği, GPx, GST, GGT ve GOT aktivitelerinde ise anlamlı bir artma meydana geldiği tespit edildi ( $p<0.001$ ,  $p<0.0001$ ). SVA ve SVA+Moringa gruplarına ait enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında, SVA grubuna Moringa ekstresi uygulanması ile bu aktivitelerin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tersine çevrildiği belirlendi ( $p<0.001$ ,  $p<0.0001$ ) (Şekil 4.2).



**Şekil 4.3.** Tüm deney gruplarına ait MPO, XO aktiviteleri, NO seviyeleri, LDH, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz ve CA aktiviteleri. \*p<0.05, \*\*\*\*p<0.0001.

Tüm gruplara ait MPO, XO aktiviteleri, NO seviyeleri, LDH, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz ve CA aktiviteleri Şekil 4.3'de sunuldu. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubuna SVA uygulanması ile MPO ve CA aktiviteleri ile NO seviyelerinde anlamlı bir artış gözlemlenirken, XO, LDH ve Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz aktivitelerinde ise anlamlı bir azalma meydana geldiği tespit edildi (p<0.05, p<0.0001). SVA grubuna Moringa verilmesi ile bu değerler ve aktiviteler anlamlı olarak tersine çevrildi (p<0.05, p<0.0001) (Şekil 4.3).



**Şekil 4.4.** Tüm deney gruplara ait heksoz, heksozamin seviyeleri ile ALP aktiviteleri.

\*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

Tüm gruplara ait heksoz, heksozamin seviyeleri ile ALP aktiviteleri, Şekil 4.4'de verildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, SVA uygulanan gruba ait heksoz ve heksozamin seviyelerinde anlamlı bir artma görülürken, ALP aktivitelerinde ise anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi. SVA grubuna Moringa uygulanması ile bu değerler ve aktiviteler, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tersine çevrildi ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.0001$ ) (Şekil 4.4).

## 5. TARTIŞMA

Kalp hastalıkları ve ilişkili olduğu kanser vb. rahatsızlıklar, tüm dünyada görülen birçok hastalığın ve ölümlerin temel sebebi olarak kabul edilmektedir (Najafi ve diğ., 2020).

Çalışmamızda kalp hasarı oluşturmak üzere kullanılan SVA'nın, birçok doku ve organda oksidatif stres seviyelerini attırdığı rapor edilmiştir (Chaudhary ve Parvez, 2012; Chaudhary ve diğ., 2015; Ertik ve diğ., 2025). Oksidatif stres, hücresel düzeyde oksidan ve antioksidan özellik gösteren etkenler arasında meydana gelen bir denge değişimi sonucu, ortamda oksidan konsantrasyonu artışı ile sonuçlanan, moleküler düzeyde de redoks kontrolünün zarar gördüğü bir sistem olarak tanımlanır (Sies, 2020). Oksidatif stresin artması ile proteinler, membranlar, DNA yapısı da dahil makromoleküllerin hasara uğradığı bilinmektedir.

Kalp dokusunda bulunan kardiyomiyosit hücrelerindeki mitokondri organelinin sayısı, diğer dokulara oranla çok daha fazladır. Bu oranın fazla olmasının sebebi, kardiyomiyositlerin ATP'yi normalden fazla kullanması ve mitokondrinin de ATP üretiminde kritik rol oynamasından kaynaklanmaktadır (Sheibani ve diğ., 2022). Mitokondri, tüm hücrelerdeki temel organeldir ve kalp dokusunda normal fonksiyonların devamı için önemli rol oynamaktadır. Fizyolojik olarak, mitokondriyal ATP depoları ile kalp ATP tüketimindeki değişiklikler birbiriyle orantılıdır (Griffiths, 2012). Mitokondrinin enerji üretimi yanı sıra, hücresel düzeyde redoks durumunun korunmasında ve apoptoz düzenlenmesinde de önemli rolü olduğu için bir hücrenin normal işleyişinin en önemli kısmı, mitokondrilerin yapısal ve işlevsel bütünlüğünün korunmasıdır.

Mitokondriler, ROS üretiminde ana kaynaktır ve mitokondride meydana gelebilecek işlev bozukluğu oksidatif stresin oluşmasına ve dolayısıyla hücresel aktivitede çeşitli problemlere yol açabilir (Murphy, 2009; Kim ve Kim, 2018). Çeşitli araştırmacılar tarafından belirtildiği gibi, oksidatif stresin oluşumu, metabolik sendrom, nörodejeneratif, inflamatuvar ve kardiyovasküler kökenli hastalıklara sebep olabilmektedir (Hernández-Aguilera ve diğ., 2013; Bullon ve diğ., 2014). Kalp hastalıkları ile ROS üretimindeki ilişki ise şu şekilde açıklanmaktadır: Kalp dokusundaki ROS üretiminin hücresel boyuttaki kaynakları, kardiyak

miyositler, endotelyal hücreler ve nötrofillerdir. Özellikle kardiyak miyositlerde ROS, mitokondri kaynaklı olabilmektedir. Mitokondride meydana gelen ROS üretiminin büyük çoğunluğu solunum zincirinde moleküler oksijene bir elektron aktarımı sırasında meydana gelmektedir. Transport zincirinin aksaması ve dolayısıyla radikal üretiminin artması ile kompleks enzim aktivitelerinde azalma söz konusudur. Kalp hastalıklarının gelişiminde organizmanın oksijene ulaşma kapasitesinde de azalma olacağı için iskemi/hipoksi gibi durumlar oluşabilmekte ve mitokondri kökenli ROS oluşumu da artmaktadır. Bu negatif durumlar, miyosit hasarına ve daha ileri düzeyde kalp krizine yol açabilmektedir. Dahası, mitokondri ROS hasarına neden olabildiği gibi, organelin kendisi de ROS üretiminden etkilenmektedir. Mitokondriyal DNA'nın ROS-kaynaklı hasar oluşumlarında en büyük hedef olan makromolekül olduğu bilinmektedir. Bu hasar oluşumunda üç ana etken mevcuttur: Bunlardan ilki, mitokondrinin ROS ürünlerine karşı koruyucu bir bariyer yapabilecek şekilde histon proteini içeren kompleks bir kromatin yapısına sahip olmayışıdır. İkinci etken, mitokondriyal DNA'nın olası DNA hasarlarına karşı çok kısıtlı bir onarıcı aktivitesinin olmasıdır. Üçüncü etken ise, mitokondride üretilen süperoksit radikalinin mitokondri membranını kolaylıkla aşamayıp organelin içinde kalmasıdır (Sawyer ve Colucci, 2000; Perrelli ve diğ., 2011; Tsutsui ve diğ., 2011).

Bu bilgiler göz önünde bulundurularak, tez çalışmamızda SVA ile oluşması beklenen oksidatif hasara karşı *Moringa oleifera* bitkisinin koruyucu etkilerinin çeşitli biyokimyasal parametreler ile araştırılması hedeflenmiştir.

Antioksidan sistemler, ROS etkilerinin azaltılması için gerekli olan sistemlerdir ve genel olarak iki ana sınıfa ayrılmaktadır. Bu iki ana sınıf, antioksidan enzimler ve düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar olarak bilinmektedir. En önemli enzimatik antioksidanlar CAT, SOD, GPx vb. enzimler olarak sıralanırken, düşük molekül ağırlıklı antioksidan maddeler ise C ve E vitamini, karotenoidler, flavonoidler, glutatyon vb. maddeler olarak sıralanabilir (Jomova ve diğ., 2024).

Hücrel redoks homeostazisi, aşırı miktarda oluşan redüksiyon ve oksidasyon reaksiyonlarını önleyen önemli ve gerekli bir tamponlama mekanizmasıdır. GSH, sırasıyla gama glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan, vücut için son derece önemli ve antioksidan özelliğe sahip bir tripeptittir. Oksidan maddelerle reaksiyona giren GSH, reaksiyon sonunda yükseltgenmiş formu olan glutatyon disülfid (GSSG) formuna dönüşür. Bu

indirgenme/yükseltgenme potansiyeli sayesinde GSH/GSSG sistemi, önemli bir “redoks tampon sistemi”ni oluşturmaktadır. Hücrel glutatyon redoks durumundaki değişimler, glutatyonilasyon veya sistein çapraz köprülerinin oluşumu yoluyla hedef proteinlerdeki redoks duyarlı tiyol gruplarını geri dönüşümlü olarak değiştirebilirler (Csiszár ve diğ., 2016). GSH’ın antioksidan özellik göstermesinin yanı sıra, katıldığı bazı enzimatik reaksiyonlarda organizma için önem taşımakta ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini göstermelerinde yardımcı olmaktadır. Antioksidan enzimler, protein/metaloprotein sınıfına ait olan enzimlerdir. Bu enzimler CAT, SOD, GPx vb. enzimler olmakla beraber, ROS ve ROS türevi ürünleri genel olarak daha zararsız ürünlere dönüştürmek suretiyle organizmayı korumakta görev alırlar (Matés ve diğ., 1999). GPx, ilk olarak eritrositlerde bulunmuş olup, hemoglobinin glutatyon sayesinde hidrojen peroksitin zararlı etkilerinden korunmasında görevli olduğu tespit edilmiştir (Mills, 1957). Bunun yanı sıra, GPx hem hidrojen peroksidin hem de hidroperoksitlerin indirgenmesini katalizleyen önemli enzimlerden biridir. Fakat, bu indirgenmenin sonucunda hidroksi radikalleri de oluşabilmektedir. Bunun yanı sıra, GPx’in hidrojen peroksite olan afinitesi CAT enziminden daha fazladır. Ayrıca, kalp dokusunda SOD enziminin de süperoksit radikali üzerindeki etkisi sonucunda meydana gelen hidrojen peroksit oluşumundan dolayı, GPx’in SOD enzimine nazaran oksidatif hasara karşı daha etkili olduğu bildirilmiştir (Tsutsui ve diğ., 2011). GST ise elektrofilik ksenobiyotikler ve metabolitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan multifonksiyonel enzim ailesinin bir üyesidir. Bu enzim, elektrofilik olarak karbon, azot ve kükürt atomu içeren farklı bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalizler. Bunun yanı sıra, peroksidasyon reaksiyonları sonucunda meydana gelen ürünlerin de detoksifikasyonunda önemli rolü vardır (Singhal ve diğ., 2015).

Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, SVA verilen gruba ait CAT ve SOD aktivitelerinin azaldığı, GSH seviyeleri ile GPx ve GST aktivitesinin ise arttığı tespit edildi. Bu enzimatik bulgulara ek olarak, SVA grubuna ait TAS değerlerinin azaldığı, TOS, ROS ve OSİ değerlerinin de kontrol grubuna göre önemli derecede artış gösterdiği tespit edildi. Bu sonuçlara göre, GSH seviyeleri ile GSH-bağımlı antioksidan enzim aktivitelerindeki artış, SVA tarafından oluşturulan ve artan oksidatif strese bir yanıt olarak değerlendirilebilir. Farklı ilaç etken maddeler ile farklı dokular üzerinde oluşturulan oksidatif hasar temelli doku hasarlarında, GSH seviyelerinde ve GSH-bağımlı enzimatik aktivitelerde artış meydana geldiği rapor edilmiştir (Bayrak ve diğ., 2022). Bunun yanı sıra, SVA grubuna ait CAT ve SOD aktivitelerinde elde ettiğimiz aktivite azalmaları, çeşitli araştırmacılar tarafından literatürde

belirtilen SVA deney ve ilaç kullanımları neticesinde elde edilen verilerle uyumluluk göstermektedir (Emekli-Alturfan ve diğ., 2015; Zhang ve diğ., 2011). GST aktiviteleri için çalışmamızda elde ettiğimiz artış, SVA tarafından indüklenen oksidatif stres sonucunda fazla miktarda oluşmuş olan peroksidasyon ürünlerinin detoksifikasyonu ile ilişkilendirilebilir. SVA uygulanan deney grubuna Moringa ekstresinin verilmesi ile bu aktiviteler ve seviyeler tersine çevrildi. Bunun yanı sıra, Moringa bitkisi üzerinde yapılan GC-MS analizleri sonucunda aralarında askorbik asit ve türevlerinin, flavonoid, fenolik bileşikler, vitaminler gibi birçok antioksidan özellikte madde bulunduğu tespit edilmiştir (Aja ve diğ., 2014; Liu ve diğ., 2022). Yapısındaki askorbik asidin ve kükürt içeriğinin de glutasyon seviyelerinin ve buna bağlı antioksidan enzim aktivitelerinin dengelenmesinde olumlu etkisinin olduğu ileri sürülebilir. Tez çalışmamızda SVA grubunda elde ettiğimiz TAS, TOS, ROS ve OSİ sonuçlarındaki olumlu değişiklikler neticesinde, Moringa bitkisinin antioksidan özelliğinin bir kez daha kanıtlandığını söyleyebiliriz.

$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz, sarkolemmal membrana gömülü bir şekilde bulunan ve kardiyomiyositlerdeki temel görevi sodyum ve potasyum iyonlarının giriş çıkışı esnasında membran içi ve dışı arasında bir elektrokimyasal gradient oluşturarak bir denge sağlamaktır. Bunun yanı sıra, bu enzim, kardiyomiyositlerde hücrel gelişim ve farklılaşma, bir hücrenin yaşam döngüsünün devamı ve sonlandırılması gibi farklı metabolik proseslerde de dolaylı olarak rol oynamaktadır (Dhalla ve diğ., 2024). Yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda, kalp hasarlarında  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesinde artma, azalma ve aktivitenin stabil kalması gibi çeşitli durumların görüldüğü öne sürülmüştür. Buna göre, 1970-1999 yılları arasında deney hayvanları ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, taşikardi ile indüklenen kardiyomiyopati, kongestif kalp rahatsızlıkları, idiyopatik kardiyomiyopatiler, miyokard enfarktüs ve aort kasılması gibi durumlarda  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz enziminin aktivitesinde azalma meydana geldiği bildirilmiştir (Ellingsen ve diğ., 1994; Ishino ve diğ., 1999; Spinale, 1992; Yazaki ve Fujii, 1972). Bu enzimin aktivitesinin azalması, farklı araştırmacılar tarafından oksidatif stresin yol açtığı membran yapısı bütünlüğünün bozulması ile de ilişkilendirilmektedir (Sacan ve diğ., 2016; Ertik ve diğ., 2021; Magaji ve diğ., 2023). Çalışmamızda membran bütünlüğünün bir göstergesi olarak membran glikoprotein miktarları da tayin edildi. Elde edilen sonuçlarına göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SVA grubuna ait  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz enziminin aktivitesinin azaldığı ve heksoz-heksozamin gibi glikoprotein miktarlarının da artış gösterdiği tespit edildi. SVA grubuna Moringa ekstresi verilmesi ile bu aktivite ve seviyeler tersine çevrildi. Moringa

ekstresinin bu etkisinin yapısındaki antioksidanlar sayesinde oksidatif stresi azaltarak membran yapısını koruması ile ilişkili olduğu öne sürülebilir.

AOPP, plazma proteinleri ile klorlanmış oksidan maddeler (hipokloröz asit gibi) arasında gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda oluşan maddelerdir. Oluşan bu ürünler, sirkülasyonda albumin ile taşınırlar. Koroner arter hastalıkları, ateroskleroz ve kronik böbrek rahatsızlıkları genel olarak oksidatif stres ve sistemik olarak miktarı artan AOPP ile karakterize edilmektedir. AOPP, direkt olarak kardiyomiyosit ölümüne sebep olmaktadır (Valente ve diğ., 2013; Witko-Sarsat ve diğ., 1996). MPO, hem peroksidaz enzim ailesine ait bir enzimdir. Bu enzim, hidrojen peroksit ile halojen iyonların reaksiyonunu katalizler ve bu reaksiyon sonucunda hipokloröz asit ve diğer oksidan maddeler oluşur. MPO enziminin yapısında lizin ve arginin amino asitlerinin çok fazla miktarda bulunması ile enzimin Ip değeri yaklaşık 10 civarına ulaşmaktadır. Enzimin bu özelliği, bakteriyel, endotel hücreler ve ekstraselüler matriks bileşenleri, albumin vb. gibi yapısında negatif yük bulduran birçok yapı ile etkileşim olanağı sağlamaktadır. NO, koroner vazodilatasyon, trombosit ve nötrofil yapışması/aktivasyonunun inhibisyonu ve kalp kaslarının kasılma fonksiyonunun modülasyonu dahil olmak üzere kardiyak fonksiyonun düzenlenmesi için gereklidir (Ndrepepa, 2019). Ancak oksidatif stres koşullarında oluşan süperoksit radikali nitrik oksit molekülü ile reaksiyona girdikten sonra oluşan ve çok reaktif olan peroksinitrit molekülü, nitrik oksidin hücre koruyucu etkisini ortadan kaldırmaktadır (Takimoto ve Kass, 2007; Tsutsui ve diğ., 2011). Çalışmamızda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SVA grubuna ait AOPP ve NO seviyeleri ile MPO enziminin aktivitelerinin ortamda artan oksidatif stres koşulları sonucunda artış gösterdiği tespit edildi. SVA grubuna Moringa verilmesi ile bu seviyeler ve aktiviteler tersine çevrildi. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, Moringa ekstresi SVA verilen gruba ait antioksidan seviyelerini arttırmıştır. Bu iyileştirici etki göz önünde bulundurularak SVA grubu ile karşılaştırıldığında SVA+Moringa verilen gruba ait AOPP ve NO seviyeleri ile MPO aktivitelerinin azaldığı sonucuna varılabilir.

XO, pürin metabolizmasının katabolizmasında yer alan ve ksantin/hipoksantin üzerinden ürik asit oluşumunu katalizleyen bir enzimdir. Ürik asidin kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarda hidroksi radikallerini, hidrojen peroksidi yakalayıcı, metal iyonlarını bağlayıcı vb. özellikleri sayesinde antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir (Yu ve Cheng, 2020). ALP, çoğunlukla karaciğer, kemik ve böbrek dokularında olmakla beraber vücudun diğer doku ve organlarında da önemli miktarda bulunan bir hidrolaz enzimidir. Temel olarak karaciğer ve kemik dokuları ile ilgili hastalıkların belirteci olması ile birlikte, son yıllarda

yapılan araştırmalar ALP enziminin kardiyovasküler hastalıklarda C-reaktif protein gibi bir inflamasyon belirteci olarak kabul edilebileceğini ortaya koymuştur (Kunutsor ve diğ., 2015). Glikoliz, bir hücrede glukozun katabolize edildiği önemli bir metabolik yoldur ve bir seri enzimatik reaksiyon sonucunda glukozun laktata çevrimi gerçekteşir. Son basamakta piruvatın laktata dönüşümü katalizleyen enzim, LDH enzimidir.

Çalışmamızda kontrol grubuna göre SVA verilen grupta XO, LDH ve ALP aktivitelerinde bir azalma meydana geldiği belirlendi. XO aktivitesinin SVA verilen grupta azalmasının nedeni, artan antioksidan ihtiyacı nedeniyle ürik asidin oluşumunun arttırılması ve bunun sonucunda enzim miktarındaki azalma ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca, ortamda SVA ile oluşturulan oksidatif stres koşullarından kaynaklanan inflamasyon artışı da elde ettiğimiz NO seviyeleri ile desteklenmektedir. SVA grubuna ait ALP aktivitelerindeki azalmanın daha ileri bir düzeydeki inflamasyonun önüne geçmek için organizma tarafından bir düzenleme olabileceği öne sürülebilir. LDH enziminin kalp dokusunda baskın olan izoenzimi olan LDH-A'nın pirüvik asit üzerinden oluşturduğu laktatın vasküler düz kas hücrelerinde farklılaşmayı kontrol eden bir sinyal molekülü olduğu Yang ve diğ. (2017) tarafından rapor edilmiştir (Yang ve diğ., 2017). Kalp dokusunun karşı karşıya kalabilebileceği beklenmedik basınç ve hasar durumlarında ise LDH-A eksikliğinin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Dai ve diğ., 2020). Çalışmamızda elde edilen bu aktivitelere ait sonuçlar, bu yaklaşımlar ile paralellik göstermektedir. Bunun yanı sıra, SVA grubuna Moringa ekstresinin verilmesi ile bu aktiviteler SVA grubunda tersine çevrilmiştir. Moringa bitkisinin SVA ile oluşturulan akciğer hasarında sitokin seviyelerini azaltarak inflamasyonu önlediği hem biyokimyasal hem de histolojik olarak Magaji ve diğ. (2025) tarafından kanıtlanmıştır (Magaji ve diğ., 2025). Elde ettiğimiz sonuçlara göre, Moringa ekstresinin bu iyileştirici etkisinin yapısında yer alan antioksidan bileşenlerden ve inflamasyonu azaltıcı etkisinden kaynaklandığı öne sürülebilir.

Karbondioksit ( $CO_2$ ), suda çözünmeyen bir yapıya sahiptir. CA,  $CO_2$  ile  $H_2O$  arasındaki reaksiyonunun oluşmasını sağlayarak karbonik asit ( $H_2CO_3$ ) ve bu molekölün iyonlarını ( $HCO_3^-$  ve  $H^+$ ) oluşturun bir enzimdir. pH'ı düzenlemede ve biyolojik sistemlerde  $CO_2$  taşınmasında da önemli rolü vardır. Kalp hastalıklarında CA izoenzimlerinin artan aktivitelerinin iyon kanalları üzerindeki etkisinin olduğuna dair literatür verileri de mevcuttur. Hem pH değerinin korunması hem de iyon kanallarının dengede kalması için çeşitli kalp hastalıklarında CA inhibitörlerinin yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Swenson ve diğ., 2021; Torella ve diğ., 2014; Vargas ve diğ., 2016). GGT, sitoplazmadaki glutatyonun fizyolojik

konsantrasyonunun korunmasında etkili olan ve hücre içine amino asit taşınmasını da sağlayan bir enzimdir. GSH sentezlendikten sonra hücre dışına alınır ve GGT tarafından glutamil kalıntısına ve sisteinil-glisine parçalanır. Hücre dışı boşlukta glutatyonun parçalanması, hücreler tarafından alınan ve glutatyon ve proteinlerin hücre içi sentezi için temel bir öncü olarak kullanılan sisteinin kullanılabilirliğini artırır. Ancak sisteinil glisinin dolaylı yoldan demir II iyonu ile reaksiyona girmesi sonucunda oluşan demir III iyonu, ileriki basamaklarda dolaylı olarak oksidatif stres temelli moleküllerin oluşmasına ve dahası LDL oluşumu ve buna bağlı olarak ateroskleroza neden olabilecek plak oluşumlarına da neden olmaktadır (Ndrepepa ve Kastrati, 2016). GOT, transaminazlar sınıfına dahil olan bir enzim olup çeşitli metabolik fonksiyonlarda görev almaktadır. Temel olarak ise malat-aspartat mekik sistemi için aspartatın sağlanmasına katkıda bulunarak NADH'ın mitokondriye aktarılmasına yardımcı olmaktadır. Böylece  $NAD^+/NADH+H^+$  oranının da korunması gerçekleşmiş olur. GOT'ın kalp dokusunda meydana gelen hasarları belirten önemli bir enzim olduğu ve membran yapısının hasar görmesi ile aktivitesinde artış gösterdiği bilinmektedir (Ndrepepa, 2021).

Çalışmamızda SVA uygulanan gruba ait CA, GGT ve GOT seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla arttığı tespit edildi. Elde ettiğimiz veriler, literatürle uyum göstermektedir. SVA grubuna Moringa uygulanması ile bu aktiviteler tersine çevrildi. Moringa ekstresinin bu etkisinin potansiyel membran koruyucu ve antioksidan özelliğinden kaynaklandığı ve böylece kalp dokusunda meydana gelen oksidatif stres kaynaklı hasar oluşturuca etkilerini azalttığını öne sürebiliriz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, SVA ile oluşturulan kalp hasarında *Moringa oleifera* ekstresinin koruyucu etkilerini araştırmayı amaçlanmıştır. Elde edilen bulgulara göre, SVA uygulanan grupta GSH, AOPP, TOS, ROS, OSİ, GPx, GST, GGT, GOT, MPO, NO, CA, heksoz ve heksozamin parametrelerinde artış gözlemlenirken, TAS, CAT, SOD, XO, LDH, sodyum potasyum ATPaz ve ALP parametrelerinde azalma olduğu saptanmıştır. *Moringa oleifera* ekstresinin uygulanmasıyla bu biyokimyasal değişikliklerin normale döndüğünü, antioksidan savunma sisteminin arttığını ve oksidatif stresin azaldığını söyleyebiliriz.

## KAYNAKLAR

- Abd-Elhakim, Y.M., El Bohi, K.M., Hassan, S.K., El Sayed, S., Abd-Elmotal, S.M., 2018, Palliative effects of *Moringa olifera* ethanolic extract on hemato-immunologic impacts of melamine in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 114, 1-10.
- Abdel Shakour, Z.T., El-Akad, R.H., Elshamy, A.I., El Gendy, A.E.G., Wessjohann, L.A., Farag, M.A., 2023, Dissection of *Moringa oleifera* leaf metabolome in context of its different extracts, origin and in relationship to its biological effects as analysed using molecular networking and chemometrics, *Food Chemistry*, 399, 133948.
- Ahmad, J., Khan, I., Blundell, R., 2019, *Moringa oleifera* and glycemic control: A review of current evidence and possible mechanisms, *Phytotherapy Research*, 33, 2841-2848.
- Aebi, H., 1984, Catalase in vitro, *Methods in Enzymology*, 105, 121–126.
- Aja, P.M., Nwachukwu, N., Ibiam, U.A., Igwenyi, I.O., Offor, C.E., Orji, U.O., 2014, Chemical constituents of *Moringa oleifera* leaves and seeds from Abakaliki, Nigeria, *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 2, 310-321.
- Alam, M.A., Khandaker, Z.H., Talukder, M.A.I., Hasal-Al-Sharif, M., Al-Mamun, M., 2023, Evaluation of degradability of *Moringa*, Pineapple waste and Plantain herbs by in situ and in vitro gas production technique, *Bangladesh Journal of Animal Science*, 52, 88-98.
- Alev-Tuzuner, B., Oktay, S., Cergel, E., Elik, G., Magaji, U.M., Sacan, O., Yanardag, R., Yarat, A., 2024, *Moringa oleifera* hydroalcoholic leaf extracts mitigate valproate-induced oxidative status in the extraorbital lacrimal gland in a rat model, *Experimental Eye Research*, 248, 110104.
- Arif, Y., Bajguz, A., Hayat, S., 2023, *Moringa oleifera* extract as a natural plant biostimulant, *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 1291–1306.

- Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S., 2014, Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal, *Oxidative Medicine and Cell Longevity*, 2014, 360438.
- Azeem, M., Pirjan, K., Qasim, M., Mahmood, A., Javed, T., Muhammad, H., Yang, S., Dong, R., Ali, B., Rahimi, M., 2023, Salinity stress improves antioxidant potential by modulating physio-biochemical responses in *Moringa oleifera* Lam., *Science Reports*, 13, 2895.
- Bais, R., Philcox, M., 1994, Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase (L-Lactate: NAD<sup>+</sup>Oxidoreductase, EC 1.1.1.27). International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), *European Journal of Clinical Chemistry Clinical Biochemistry*, 32, 639-655.
- Badwaik, H.R., Hoque, A.A., Kumari, L., Sakure, K., Baghel, M., Giri, T.K., 2020, Moringa gum and its modified form as a potential green polymer used in biomedical field, *Carbohydrate Polymers*, 249, 116893.
- Bayrak, G., Turkyilmaz, I.B., Yanardag, R., 2022, The protective effect of vitamin U on pentylenetetrazole-induced brain damage in rats, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, e23169.
- Belcastro, V., D'Egidio, C., Striano, P., Verrotti, A., 2013, Metabolic and endocrine effects of valproic acid chronic treatment, *Epilepsy Research*, 107, 1-8.
- Beutler, E., 1975, Glutathione in red cell metabolism, *A Manual of Biochemical Methods*, 2nd ed., Grune and Stratton, New York, 112–114.
- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O., 2012, Oxidative stress and antioxidant defense, *World Allergy Organization Journal*, 5, 9-19.
- Bullon, P., Newman, H.N., Battino, M., 2014, Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction?, *Periodontology*, 64, 139–153.
- Celik, E., Tunalı, S., Gezginçi-Oktayoglu, S., Bolkent, S., Can, A., Yanardag, R., 2021, Vitamin U prevents valproic acid-induced liver injury through supporting enzymatic antioxidant

- system and increasing hepatocyte proliferation triggered by inflammation and apoptosis, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 31, 600-608.
- Chateauvieux, S., Morceau, F., Dicato, M., Diederich, M., 2010, Molecular and therapeutic potential and toxicity of valproic acid, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 479364.
- Chaudhary, S., Ganjoo, P., Raiusddin, S., Parvez, S., 2015, Nephroprotective activities of quercetin with potential relevance to oxidative stress induced by valproic acid, *Protoplasma*, 252, 209–217.
- Chaudhary, S., Parvez, S., 2012, An in vitro approach to assess the neurotoxicity of valproic acid-induced oxidative stress in cerebellum and cerebral cortex of young rats, *Neuroscience*, 225, 258–268.
- Christensen, J., Grønberg, T.K., Sørensen, M.J., Schendel, D., Parner, E.T., Pedersen, L.H., Vestergaard, M., 2013, Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism, *JAMA*, 309, 1696-1703.
- Chukwu, J., Delanty, N., Webb, D., Cavalleri, G.L., 2014, Weight change, genetics and antiepileptic drugs, *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 7, 43-51.
- Corte, E.D., Stirpe, F., 1968, Regulation of xanthine oxidase in rat liver: Modifications of the enzyme activity of rat liver supernatant on storage at 20 degrees, *Biochemical Journal*, 108, 349-351.
- Csiszár, J., Horváth, E., Bela, K., Gallé, Á., 2016, *Glutathione-related enzyme system: Glutathione reductase (GR), glutathione transferases (GSTs) and glutathione peroxidases (GPXs)*, In: Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses, 137–158.
- Dai, C., Li, Q., May, H. I., Li, C., Zhang, G., Sharma, G., Sherry, A. D., Malloy, C. R., Khemtong, C., Zhang, Y., Deng, Y., Gillette, T. G., Xu, J., Scadden, D. T., Wang, Z. V., 2020, Lactate dehydrogenase a governs cardiac hypertrophic growth in response to hemodynamic stress, *Cell Reports*, 32, 108087.
- Deb, A., Ubil, E., 2014, Cardiac fibroblast in development and wound healing, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 70, 47–55.

- Dhalla, N.S., Elimban, V., Adameova, A.D., 2024, Role of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase alterations in the development of heart failure, *International Journal of Molecular Sciences*, 25, 10807.
- D'Oria, M., Mani, K., DeMartino, R., Czerny, M., Donas, K.P., Wanhainen, A., Lepidi, S., 2021, Narrative review on endovascular techniques for left subclavian artery revascularization during thoracic endovascular aortic repair and risk factors for postoperative stroke, *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 32, 764-772.
- Drake, R.L., Vogl, A.W., Mitchell, A.W.M., 2020, *Gray's Anatomy for Students* (4. baskı). Elsevier.
- Du, S., Huang, Y., Jin, H., Wang, T., 2018, Protective mechanism of hydrogen sulfide against chemotherapy-induced cardiotoxicity, *Frontiers in Pharmacology*, 9:32.
- Ellingsen, Ø., Holthe, M.R., Svindland, A., Aksnes, G., Sejersted, O.M., Ilebekk, A., 1994, Na,K-pump concentration in hypertrophied human hearts, *European Heart Journal*, 15, 1184–1190.
- Emekli-Alturfan, E., Alev, B., Tunali, S., Oktay, S., Tunali-Akbay, T., Ozturk, L.K., Yanardag, R., Yarat, A., 2015, Effects of edaravone on cardiac damage in valproic acid induced toxicity, *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 45, 166–172.
- English, J.D., Tian, S., Wang, Z., Luzum, J.A., 2022, Association of valproic acid use with post-myocardial infarction heart failure development: A meta-analysis of two retrospective case–control studies, *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 27:10742484221140303.
- Erel, O., 2004, A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation, *Clinical Biochemistry*, 37, 277-285.
- Erel, O., 2005, A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status, *Clinical Biochemistry*, 38, 1103-1111.
- Ertik, O., Saçan, Ö., Kabasakal, L., Şener, G., Yanardağ, R., 2021, Protective effect of chard extract on glycoprotein compounds and advanced oxidation protein product levels in diabetic rat livers, *Experimed*, 11, 27–32.

- Ertik, O., Koroglu, P., Magaji, U.F., Bulan, N. O., Sacan, O., Yanardag, R., 2025, Treatment of oxidative damage caused by valproic acid in tongue tissue with ethanolic *Moringa oleifera* leaves extract and prediction of potential bioactive molecules with molecular docking, *Journal of Molecular Histology*, 56:37.
- Fayez, S., Shady, N.H., Fawzy, I.M., Maher, S.A., Saber, E.A., Elrehany, M., Alqahtani, A.M., Allehyani, E.S., Shawky, A.M., Abdelmohsen, U.R., Mostafa, N.M., 2023, *Moringa* extract reverses pilocarpine-induced hippocampal sclerosis in rats with temporal lobe epilepsy, *Journal of Functional Foods*, 111, 105905.
- Falowo, A.B., Mukumbo, F.E., Idamokoro, E.M., Lorenzo, J.M., Afolayan, A.J. and Muchenje, V., 2018, Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review, *Food Research International*, 106, 317-334.
- Forman, H.J., Zhang, H., 2021, Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy, *Nature Reviews- Drug Discovery*, 20, 689-709.
- Genoves, P., Arias-Mutis, O.J., Parra-Giraldo, G., Such-Miquel, L., Del Canto Serrano, I., Zarzoso, M., Ortiz-Guzman, J., Alberola Aguilar, A., Such-Belenguer, L., Chorro Gasco, F.J., 2022, The administration of valproic acid exerts a protective effect by reducing the infarct size and the triggering of ventricular fibrillation in an experimental model of chronic myocardial infarction, *European Heart Journal*, 43, ehac544.2909.
- Gharsallah, K., Rezig, L., Riaz Rajoka, M.Ş., Mehwish, H.M., Abbas Ali, M., Chew, S.C., 2023, *Moringa oleifera*: Processing phytochemical composition, and industrial applications, *South African Journal of Botany*, 160, 180-193.
- Ghodke-Puranik, Y., Thorn, C.F., Lamba, J.K., Leeder, J.S., Song, W., Birnbaum, A.K., Altman, R.B., Klein, T.E., 2013, Valproic acid pathway, *Pharmacogenetics and Genomics*, 23, 236–241.
- Griffiths, E.J., 2012, Mitochondria and heart disease, *Advances in the Mitochondrial Medicine*, 942, 249-267.

- Guarnieri, G., Cammarata, G., Battini, V., Mosini, G., Leoni, C., Carnovale, C., Radice, S., Gringeri, M., 2022, Valproic acid and prolonged QT: Highlights from the FDA Adverse Event Reporting System FAERS Database, *Pharmadvances*, 4, 38.
- Guevara-Campos, J., González-Guevara, L., Vacaro-Bolívar, I., Rojas, J.M., 2009, Acute pancreatitis associated to the use of valproic acid, *Archivos de Neuro-Psiquiatria*, 67, 513-515.
- Guo, C.Y., Ronen, G.M., Atkinson, S.A., 2001, Long-term valproate and lamotrigine treatment may be a marker for reduced growth and bone mass in children with epilepsy, *Epilepsia*, 42, 1141-1147.
- Guillén-Román, C.J., Guevara-González, R.G., Rocha-Guzmán, N.E., Mercado-Luna, A., Pérez-Pérez, M.C.I., 2018, Industrial crops and products effect of nitrogen privation on the phenolics contents , antioxidant and antibacterial activities in *Moringa oleifera* leaves, *Industrial Crops and Products*, 114, 45–51.
- Habig, W.H., Jakoby, W.B., 1981, Assays for differentiation of glutathione-S-transferases, *Methods in Enzymology*, 77, 398–405.
- Hall, J.E., 2020, *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*, 14. Baskı, Elsevier.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2022, Reprint of: Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 726, 109246.
- Hernández-Aguilera, A., Rull, A., Rodríguez-Gallego, E., Riera-Borrull, M., Luciano-Mateo, F., Camps, J., Menéndez, J.A., Joven, J., 2013, Mitochondrial dysfunction: A basic mechanism in inflammation-related non-communicable diseases and therapeutic opportunities, *Mediators of Inflammation*, 2013, 1–13.
- Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A., 2018, First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence, *Alexandria Journal of Medicine*, 54, 287-293.
- Ishino, K., Bøtker, H.E., Clausen, T., Hetzer, R., Sehested, J., 1999, Myocardial adenine nucleotides, glycogen, and Na,K-ATPase in patients with idiopathic dilated

- cardiomyopathy requiring mechanical circulatory support, *The American Journal of Cardiology*, 83, 396–399.
- Jaeri, S., Islamiyah, W.R., 2018, The potential mechanisms of effect of valproic acid on lipid profiles: An updated review, *Journal of Epileptology*, 26, 47–52.
- Jia, L., Verkerk, A.O., Tan, H.L., 2023, The anti-epileptic drugs lamotrigine and valproic acid reduce the cardiac sodium current, *Biomedicines*, 11, 477.
- Jikah, A.N., Edo, G.I., 2023, Moringa oleifera: a valuable insight into recent advances in medicinal uses and pharmacological activities, *Journal of the Science Food and Agriculture*, 103, 7343-7361.
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., Valko, M., 2024, Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants, *Archives of Toxicology*, 98, 1323–1367.
- Jochim, J., Rifkin-Zybutz, R.P., Geddes, J., Cipriani, A., 2019, Valproate for acute mania, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 10, CD004052.
- Khan, F., Pandey, P., Jha, N.K., Jafri, A., Khan, I., 2020, Antiproliferative effect of Moringa oleifera methanolic leaf extract by down-regulation of Notch signaling in DU145 prostate cancer cells, *Gene Reports*, 19, 100619.
- Khor, K.Z., Lim, V., Moses, E.J., Abdul Samad, N., 2018, The in vitro and in vivo anticancer properties of Moringa oleifera, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1071243.
- Kim, S.H., Kim, H., 2018, Inhibitory Effect of astaxanthin on oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction-a mini-review, *Nutrients*, 10, 1137.
- Krawczyk, M., Burzynska-Pedziwiatr, I., Wozniak, L.A., Bukowiecka-Matusiak, M., 2022, 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*, *Current Issues in Molecular Biology*, 44, 699-717.

- Kunutsor, S.K., Bakker, S.J.L., Kootstra-Ros, J.E., Gansevoort, R.T., Gregson, J., Dullaart, R.P.F., 2015, Serum alkaline phosphatase and risk of incident cardiovascular disease: interrelationship with high sensitivity C-reactive protein, *Plos ONE*, 10:e0132822.
- Kurutas, E.B., 2016, The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state, *Nutrition Journal*, 15, 71.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P., 2018, Oxidative stress, aging, and diseases, *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757-772.
- Litviňuková, M., Talavera-López, C., Maatz, H., Reichart, D., Worth, C.L., Lindberg, E.L., Kanda, M., Polanski, K., Heinig, M., Lee, M., Nadelmann, E.R., Roberts, K., Tuck, L., Fasouli, E.S., DeLaughter, D.M., McDonough, B., Wakimoto, H., Gorham, J.M., Samari, S., Mahbubani, K.T., Saeb-Parsy, K., Patone, G., Boyle, J.J., Zhang, H., Zhang, H., Viveiros, A., Oudit, G.Y., Bayraktar, O.A., Seidman, J.G., Seidman, C.E., Nosedá, M., Hubner, N., Teichmann, S.A., 2020, Cells of the adult human heart, *Nature*, 588, 466-472.
- Liu, R., Liu, J., Huang, Q., Liu, S., Jiang, Y., 2022, *Moringa oleifera* : A systematic review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 74, 296–320.
- Lowry, O.H., Rosebrough, H.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Löscher, W., 1999, *The discovery of valproate*, In: Löscher, W. (eds) Valproate. Milestones in Drug Therapy. Birkhäuser, Basel. Online ISBN : 978-3-0348-8759-5.
- Magaji, U.F., Koroglu, P., Coremen, M., Bulan, O.K., Sacan, O., Yanardag, R., 2025, Effects of *Moringa oleifera* extract on biochemical and histological parameters of sodium valproate induced lungs damage, *Journal of Molecular Histology*, 56:56.
- Magaji, U.F., Miftari, S., Saçan, Ö., Yanardağ, R., 2023, Effect of antiepileptic drug sodium valproate on stomach tissue glycoproteins: The protective role of moringa extract, *Archives of Epilepsy*, 29, 41–45.

- Mann, J.K., Lutzker, L., Holm, S.M., Margolis, H.G., Neophytou, A.M., Eisen, E.A., Costello, S., Tyner, T., Holland, N., Tindula, G., Prunicki, M., Nadeau, K., Noth, E.M., Lurmann, F., Hammond, S.K., Balmes, J.R., 2021, Traffic-related air pollution is associated with glucose dysregulation, blood pressure, and oxidative stress in children, *Environmental Research*, 195:110870.
- Marieb, E.N., Hoehn, K., 2022, *Human Anatomy and Physiology*, 11. Baskı, Pearson.
- Matés, J.M., Pérez-Gómez, C., De Castro, I.N., 1999, Antioxidant enzymes and human diseases, *Clinical Biochemistry*, 32, 595–603.
- Meador, K., 2020, Teratogenicity and antiseizure medications, *Epilepsy Currents*, 2020, 15S-17S.
- Mills, G.C., 1957, Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown, *The Journal of Biological Chemistry*, 229, 189–197.
- Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A., 2001, A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite, *Nitric Oxide*, 5, 62-71.
- Murphy, M.P., 2009, How mitochondria produce reactive oxygen species, *Biochemical Journal*, 417, 1–13.
- Münzel, T., Hahad, O., Sørensen, M., Lelieveld, J., Duerr, G.D., Nieuwenhuijsen, M., Daiber, A., 2022, Environmental risk factors and cardiovascular diseases: A comprehensive expert review, *Cardiovascular Research*, 118, 2880-2902.
- Mylroie, A.A., Collins, H., Umbles, C., Kyle, J., 1986, Erythrocyte SOD activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 82, 512–520.
- Najafi, M., Hooshangi Shayesteh, M.R., Mortezaee, K., Farhood, B., Haghi-Aminjan, H., 2020, The role of melatonin on doxorubicin-induced cardiotoxicity: A systematic review, *Life Sciences*, 241, 117173.

- Nanau, R.M., Neuman, M.G., 2013, Adverse drug reactions induced by valproic acid, *Clinical Biochemistry*, 46, 1323-1338.
- Ndrepepa, G., Kastrati, A., 2016, Gamma-glutamyl transferase and cardiovascular disease. *Annals of Translational Medicine*, 4:481.
- Ndrepepa, G., 2019, Myeloperoxidase – A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease, *Clinica Chimica Acta*, 493, 36–51.
- Ndrepepa, G., 2021, Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease—a narrative review, *Journal of Laboratory and Precision Medicine*, 6:6.
- Nimse, S.B., Pal, D., 2015, Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanism, *RSC Advances*, 35, 27986-28006.
- Nita, M., Grzybowski, A., 2016, The role of the reactive oxygen species and oxidative stress in the pathomechanism of the age-related ocular diseases and other pathologies of the anterior and posterior eye segments in adults, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 3164734.
- Ogundiran, M.B., Mekwunyei, N.S., Adejumo, S.A., 2018, Compost and biochar assisted phytoremediation potentials of *Moringa oleifera* for remediation of lead contaminated soil, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6, 2206-2213.
- Omotoso, G.O., Gbadamosi, I.T., Afolabi, T.T., Abdulwahab, A.B., Akinlolu, A.A., 2018, Ameliorative effects of *Moringa* on cuprizone-induced memory decline in rat model of multiple sclerosis, *Anatomy and Cell Biology*, 51, 119-127.
- Papazoglou, P., Peng, L., Sachinidis, A., 2021, Epigenetic mechanisms involved in the cardiovascular toxicity of anticancer drugs, *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8:658900.
- Pappas, I.S., Siomou, S., Bozinou, E., Lalas, S.I., 2021, *Moringa oleifera* leaves crude aqueous extract down-regulates of BRCA-1, mta-1 and oncogenes c-myc and p53 in AsPC-1, MCF-7 and HTC-116 cells, *Food Bioscience*, 43, 101221.

- Pareek, A., Pant, M., Gupta, M.M., Kashania, P., Ratan, Y., Jain, V., Pareek, A., Chaturgoon, A.A., 2023, *Moringa oleifera*: An updated comprehensive review of its pharmacological activities, ethnomedicinal, phytopharmaceutical formulation, clinical, phytochemical, and toxicological aspects, *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 2098.
- Perrelli, M.G., Pagliaro, P., Penna, C., 2011, Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: Role of mitochondria and reactive oxygen species, *World Journal of Cardiology*, 3, 186.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B., Periyasamy, L., 2015, Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30, 11-26.
- Reitman, S., Frankel, S., 1974, A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases, *American Journal of Clinical Pathology*, 28, 56-63.
- Ridderstap, A.S., Bonting, S.L., 1969, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-activated ATPase and exocrine pancreatic secretion in vitro, *The American Journal of Physiology*, 217, 1721- 1727.
- Romoli, M., Mazzocchetti, P., D'Alonzo, R., Siliquini, S., Rinaldi, V.E., Verrotti, A., Calabresi, P., Costa, C., 2019, Valproic acid and epilepsy: From molecular mechanisms to clinical evidences, *Current Neuropharmacology*, 17, 926-946.
- Sacan, O., Turkyilmaz, I.B., Bayrak, B.B., Mutlu, O., Akev, N., Yanardag, R., 2016, Zinc supplementation ameliorates glycoprotein components and oxidative stress changes in the lung of streptozotocin diabetic rats, *Biometals*, 29, 239-248.
- Safdar, A., Ismail, F., 2023, A comprehensive review on pharmacological applications and drug-induced toxicity of valproic acid, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 31, 265–278.
- Sawyer, D.B., Colucci, W.S., 2000, Mitochondrial oxidative stress in heart failure, *Circulation Research*, 86, 119–120.
- Sheibani, M., Azizi, Y., Shayan, M., Nezamoleslami, S., Eslami, F., Farjoo, M.H., Dehpour, A.R., 2022, Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An overview on pre-clinical therapeutic approaches, *Cardiovascular Toxicology*, 22, 292–310.

- Sies, H., 2020, Oxidative stress: Concept and some practical aspects, *Antioxidants*, 9, 852.
- Sies, H., Jones, D.P., 2020, Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents, *Nature Reviews-Molecular Cell Biology*, 21, 363-383.
- Singhal, S.S., Singh, S.P., Singhal, P., Horne, D., Singhal, J., Awasthi, S., 2015, Antioxidant role of glutathione S-transferases: 4-Hydroxynonenal, a key molecule in stress-mediated signaling, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 289, 361–370.
- Spinale, F., 1992, Myocardial Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase in tachycardia induced cardiomyopathy, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 24, 277–294.
- Standring, S., 2021, *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice* (42. baskı). Elsevier.
- Swenson, E.R., Kumar, A., Kumar, N., Alvarez, B.V., 2021, *Targeting carbonic anhydrases in cardiovascular and pulmonary disease*, In: Chegwiddden, W.R., Carter, N.D. (eds) *The Carbonic Anhydrases: Current and Emerging Therapeutic Targets*, Progress in Drug Research, 75, Springer.
- Szasz, G., 1969, A kinetic photometric method for serum  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, *Clinical Chemistry*, 15, 124-136.
- Sztajnkrzyca, M.D., 2002, Valproic acid toxicity: overview and management, *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*, 40, 789-801.
- Takimoto, E., Kass, D.A., 2007, Role of oxidative stress in cardiac hypertrophy and remodeling, *Hypertension*, 49, 241-248.
- Terim Kapakin, K.A., Bolat, İ., İskender, H., Dokumacioğlu, E., Manavoğlu Kirman, E., Bolat, M., Gül, M., 2024, Protective effects of curcumin against valproic acid induced brain kidney and liver damage in rats, *Drug and Chemical Toxicology*, 1–16.
- Tian, S., Lei, I., Gao, W., Liu, L., Guo, Y., Creech, J., Herron, T.J., Xian, S., Ma, P.X., Eugene Chen, Y., Li, Y., Alam, H.B., Wang, Z., 2019, HDAC inhibitor valproic acid protects heart function through Foxm1 pathway after acute myocardial infarction, *EBioMedicine*, 39, 83–94.

- Torella, D., Ellison, G. M., Torella, M., Vicinanza, C., Aquila, I., Iaconetti, C., Scalise, M., Marino, F., Henning, B. J., Lewis, F. C., Gareri, C., Lascar, N., Cuda, G., Salvatore, T., Nappi, G., Indolfi, C., Torella, R., Cozzolino, D., Sasso, F.C., 2014, Carbonic anhydrase activation is associated with worsened pathological remodeling in human ischemic diabetic cardiomyopathy, *Journal of the American Heart Association*, 3, e000434.
- Tortora, G.J., Derrickson, B.H., 2018, *Principles of Anatomy and Physiology*, 15. Baskı, Wiley.
- Tsutsui, H., Kinugawa, S., Matsushima, S., 2011, Oxidative stress and heart failure, *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 301, H2181–H2190.
- Turkyilmaz, I.B., Altas, N., Arisan, I., Yanardag, R., 2021, Effect of vitamin B<sub>6</sub> on brain damage in valproic acid induced toxicity, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35, e22855.
- Valente, A.J., Yoshida, T., Clark, R.A., Delafontaine, P., Siebenlist, U., Chandrasekar, B., 2013, Advanced oxidation protein products induce cardiomyocyte death via Nox2/Rac1/superoxide-dependent TRAF3IP2/JNK signaling, *Free Radical Biology and Medicine*, 60, 125–135.
- Varga, Z.V., Ferdinandy, P., Liaudet, L., Pacher, P., 2015, Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity, *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 309, H1453–H1467.
- Vargas, L.A., Pinilla, O.A., Díaz, R.G., Sepúlveda, D.E., Swenson, E.R., Pérez, N.G., Álvarez, B.V., 2016, Carbonic anhydrase inhibitors reduce cardiac dysfunction after sustained coronary artery ligation in rats, *Cardiovascular Pathology*, 25, 468–477.
- Verpoorte, J.A., Mehta, S., Edsall, J.T., 1967, Esterase activities of human carbonic anhydrases B and C, *The Journal of Biological Chemistry*, 242, 4221-4229.
- Villaseñor-Basulto, D.L., Astudillo-Sanchez, P.D., del Real-Olvera, J., Bandala, E.R., 2018, Wastewater treatment using *Moringa oleifera* Lam seeds: A review, *Journal of Water Process Engineering*, 23, 151-164.
- Virani, S.S., Alonso, A., Aparicio, H.J., Benjamin, E.J., Bittencourt, M.S., Callaway, C.W., Carson, A.P., Chamberlain, A.M., Cheng, S., Delling, F.N., Elkind, M.S.V., Evenson,

- K.R., Ferguson, J.F., Gupta, D.K., Khan, S.S., Kissela, B.M., Knutson, K.L., Lee, C.D., Lewis, T.T., Liu, J., Loop, M.S., Lutsey, P.L., Ma, J., Mackey, J., Martin, S.S., Matchar, D.B., Mussolino, M.E., Navaneethan, S.D., Perak, A.M., Roth, G.A., Samad, Z., Satou, G.M., Schroeder, E.B., Shah, S.H., Shay, C.M., Stokes, A., VanWagner, L.B., Wang, N.Y., Tsao, C.W., 2021, American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2021 Update: A report from the american heart association, *Circulation*, 143, e254-e743.
- Walter, K., Schutt, C., 1974, Acid and alkaline phosphatase in serum (two point method), *Methods Enzymatic Analysis*, vol 2, Verlag Chemie GmbH, Boca Raton, FL, 856-860.
- Wang, Y.Y., Peng, C., Zhang, Y., Wang, Z.R., Chen, Y.M., Dong, J.F., Xiao, M.L., Li, D.L., Li, W., Zou, Q.J., Zhang, K., Wei, P., 2022, Optimization, identification and bioactivity of flavonoids extracted from *Moringa oleifera* leaves by deep eutectic solvent, *Food Bioscience*, 47, 101687.
- Wei, H., Frenkel, K., 1991, In vivo formation of oxidized DNA bases in tumor promoter-treated mouse skin, *Cancer Research*, 51, 4443–4449.
- Wendel, A., 1981, Glutathione peroxidase, *Methods in Enzymology*, 77, 325–333.
- Winzler, R.J., 1955, *Methods of Biochemical Analysis*, Glick, DP, ed. New York: Interscience Publishers Inc, 279-311.
- Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillère-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A. T., Zingraff, J., Jungers, P., and Descamps-Latscha, B., 1996, Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia, *Kidney International*, 49, 1304–1313.
- Yang, L., Gao, L., Nickel, T., Yang, J., Zhou, J., Gilbertsen, A., Geng, Z., Johnson, C., Young, B., Henke, C., Gourley, G. R., Zhang, J., 2017, Lactate promotes synthetic phenotype in vascular smooth muscle cells, *Circulation Research*, 121, 1251–1262.
- Yazaki, Y., Fujii, J., 1972, Depressed Na-K-ATPase activity in the failing rabbit heart, *Japanese Heart Journal*, 13, 73–83.

- Yu, W., Cheng, J.D., 2020, Uric acid and cardiovascular disease: An update from molecular mechanism to clinical perspective, *Frontiers in Pharmacology*, 11:582680.
- Zhang, Y., Zhang, M., Wang, X., Yu, Y., Jin, P., Wang, Y., 2011, Effects of sodium valproate on neutrophils' oxidative metabolism and oxidant status in children with idiopathic epilepsy, *Chinese Journal of Pediatrics*, 49, 776–781.
- Zhang, Y., Chen, J., Ji, H., Xiao, Z.G., Shen, P., Xu, L.H., 2018, Protective effects of Danshen injection against erectile dysfunction via suppression of endoplasmic reticulum stress activation in a streptozotocin-induced diabetic rat model, *BMC Complementary Alternative Medicine*, 18:343.



**İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI**

Elmas_Irmak_Cil_Arslan			
ORJİNALLİK RAPORU			
% 15	% 12	% 7	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
BİRİNCİL KAYNAKLAR			
1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı		% 6
2	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi		% 1
3	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı		% 1
4	Elik, Gülsüm. "Valproik Asit Verilen Sıçanların Derisi Üzerine Moringa Oleifera Ekstresinin Etkisinin İncelenmesi", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2023 Yayın		% 1
5	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi		% 1
6	openaccess.marmara.edu.tr İnternet Kaynağı		<% 1
7	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı		<% 1

## KURUM İZİNİ YAZILARI

**Uyarı:** Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- Kurum izni gerekmektedir.
- Kurum izni gerekmemektedir.

Elmas Irmak ÇİL ARSLAN

