



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN DALAK HASARINA
MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİLERİ

Sabina AHMADOVA

DANIŞMAN
Prof. Dr. Özlem SAÇAN

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

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya (F.B.E), Tezli Yüksek Lisans Programı

Ocak, 2025

TEZ KABUL VE ONAYI

Sabina AHMADOVA tarafından, **Prof. Dr. Özlem SAÇAN** danışmanlığında hazırlanan "**Sıçanlarda Valproik Asit ile Oluşturulan Dalak Hasarına Moringa Oleifera'nın Etkileri**" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **17/01/2025** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Özlem SAÇAN	<input checked="" type="checkbox"/>
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimya Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ	<input checked="" type="checkbox"/>
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimya Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL	<input checked="" type="checkbox"/>
	Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret



Aileme ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN DALAK HASARINA MORİNGA OLEİRFERA'NIN ETKİLERİ

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana her konuda destek ve rehberlik sağlayan, çok kıymetli danışmanım, canım hocam Sayın Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bilgisi ve deneyimiyle yolumu aydınlattığı, her aşamada sağladığı destek, yaptığı iyilikler ve destekleyici yaklaşımı için kendisine çok minnettarım.

Tez çalışmalarım sırasında her zaman bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, yardım ve desteğini her daim sunan çok kıymetli ikinci danışmanım Sayın Doç. Dr. İ. Burcu TÜRKYILMAZ MUTLU hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Gösterdiği ilgi ve özveriden dolayı kendisine minnettarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca, her zaman öğretici yaklaşımı, verdiği değerli tavsiyeler, gösterdiği ilgi ve desteğiyle bana yol gösteren çok kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimimin çeşitli aşamalarında, göstermiş oldukları destek ve özenli yaklaşımları ile bana büyük katkılar sağlayan, değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Sevim TUNALI, Sayın Doç. Dr. Bertan Boran BAYRAK'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Nezaketi ve duruşuyla bana her zaman örnek olan Sayın Araş. Gör. Dr. Eda DAĞSUYU'na, yüksek lisans sürecimde gösterdiği yardım ve katkılar için tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca bu noktaya gelmemde bana her zaman destek olan, sevgilerini daima hissettiren aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Son olarak, bu sürecin her aşamasında gösterdikleri saygılı yaklaşım, hoşgörü ve yardımlar için tüm çalışma arkadaşlarıma derin teşekkürlerimi sunarım.

Ocak 2025

Sabina AHMADOVA

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	3
2.1. EPİLEPSİ.....	3
2.1.1. Epilepsinin Tanımı	3
2.1.2. Epilepsinin Sağlık Üzerine Etkileri.....	4
2.1.3. Epilepsinin Nedenleri	5
2.1.4. Epilepsinin Patofizyolojisi	6
2.2. EPİLEPSİ YÖNETİM STRATEJİLERİ	8
2.2.1. Antiepileptik İlaç Tedavisi	8
2.2.2. Epilepsi Yönetiminde İlaç Direnci	9
2.2.3. Diyet Tedavisi	9
2.2.4. Cerrahi Müdahale Seçenekleri	9
2.3. VALPROİK ASİT	10
2.3.1. Valproik Asit Hakkında Genel Bilgiler.....	10
2.3.2. Klinik, Biyokimyasal ve Farmakokinetik Özellikleri	10
2.3.3. Valproik Asidin Etki Mekanizması.....	11
2.3.4. Toksik Etkiler ve Yan Etkiler.....	12
2.3.5. Valproik Asit Toksisitesinin Yönetimi	13

2.4. MORİNGA OLEİFERA	14
2.4.1. Tanımı, Botanik Özellikleri ve Yetiştirme Alanları	14
2.4.2. Besin Değeri ve Terapötik Özellikleri	16
2.4.3. Moringa'nın Kullanım Alanları	18
2.5. DALAK	19
2.5.1. Dalağın Anatomisi.....	19
2.5.2. Dalağın Histolojisi.....	21
2.5.3. Dalağın Fizyolojisi	22
2.5.4. Dalağın Bağışıklık Sistemi Üzerindeki Etkileri	23
2.5.5. Dalağın Hematolojik Sistem Üzerindeki Etkileri.....	24
2.5.6. Dalak Patolojileri ve Hastalıkları	26
2.6. ANTIOKSİDANLAR.....	27
2.7. SERBEST RADİKALLER VE OKSİDATİF STRES	29
2.7.1. Serbest Radikaller	29
2.7.2. Oksidatif Stres	30
3. YÖNTEM	32
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR VE ALETLER.....	32
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	32
3.3. BİTKİ ÖRNEKLERİ TOPLAMA VE HAZIRLAMA PROSEDÜRÜ.....	33
3.4. DENEYSEL TASARIM.....	33
3.5. DALAK DOKU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI.....	33
3.6. HOMOJENİZATLARDA ANALİZ EDİLEN BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	34
3.7. DALAK DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTAR TAYİNİ.....	34
3.8. DALAK DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU MİKTAR TAYİNİ	35
3.9. DALAK DOKUSUNDA SİYALİK ASİT MİKTAR TAYİNİ.....	36
3.10. DALAK DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	37
3.11. DALAK DOKUSUNDA KATALAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	39
3.12. DALAK DOKUSUNDA KSANTİN OKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	40
3.13. DALAK DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	40
3.14. DALAK DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	41
3.15. DALAK DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ	42
3.16. DALAK DOKUSUNDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	43

3.17. DALAK DOKUSUNDA ARGİNİAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	44
3.18. DALAK DOKUSUNDA TOTAL ANTİOKSİDAN MİKTAR TAYİNİ	45
3.19. DALAK DOKUSUNDA TOTAL OKSİDAN MİKTAR TAYİNİ	46
3.20. DALAK DOKUSUNDA REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ MİKTAR TAYİNİ.....	47
3.21. DALAK DOKUSUNDA NİTRİK OKSİT MİKTAR TAYİNİ	47
3.22. DALAK DOKUSUNDA İLERİ OKSİDE PROTEİN ÜRÜNLERİ MİKTAR TAYİNİ	48
3.23. DALAK DOKUSUNDA FUKOZ MİKTAR TAYİNİ	49
3.24. DALAK DOKUSUNDA HEKSOZ MİKTAR TAYİNİ.....	51
3.25. DALAK DOKUSUNDA HEKSOZAMİN MİKTAR TAYİNİ	52
3.26. DALAK DOKUSUNDA HİDROKSİ PROLİN MİKTAR TAYİNİ	53
3.27. DALAK DOKUSUNDA LAKTAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	54
3.28. DALAK DOKUSUNDA GLUKOZ-6-FOSFAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	55
3.29. DALAK DOKUSUNDA ASİT FOSFATAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	56
3.30. DALAK DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN MİKTAR TAYİNİ.....	57
3.31. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	58
4. BULGULAR	59
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR.....	77
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	86
ETİK KURUL İZİN YAZISI	87
KURUM İZİN YAZILARI.....	88
ÖZGEÇMİŞ	89

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1: Uluslararası Sınıflandırma ve Terminoloji Komitesinin epilepsilerin sınıflandırılmasıyla ilgili yayımladığı görüş	4
Şekil 2.2: Moringa oleifera'nın çeşitli kısımları	16
Şekil 2.3: Dalaktaki çeşitli bağışıklık hücrelerini içeren alanların şematik tasviri	21
Şekil 2.4: Dalağın kan damar yapısı	25
Şekil 4.1: Tüm deney gruplarına ait GSH, LPO ve siyalik asit düzeyleri	59
Şekil 4.2: Tüm gruplara ait SOD, CAT ve XO aktiviteleri	60
Şekil 4.3: Tüm gruplara ait GR, GST ve GPx aktiviteleri	60
Şekil 4.4: Tüm gruplara ait PON ve arginaz aktiviteleri	61
Şekil 4.5: Tüm gruplara ait TAS, TOS ve ROS değerleri	62
Şekil 4.6: Tüm gruplara ait NO ve AOPP değerleri	63
Şekil 4.7: Tüm gruplara ait fukoz, heksoz, heksozamin ve HP değerleri	64
Şekil 4.8: Tüm gruplara ait LDH, GP6D ve ACP aktiviteleri	65

TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 3.1: Arginaz aktivitesi tayini için deneyin yapılma yöntemi.	45
Tablo 3.2: Fukoz miktar tayini için deneyin yapılma yöntemi.	50
Tablo 3.3: Heksoz miktar tayini için deneyin yapılma yöntemi.	52
Tablo 3.4: Heksozamin miktar tayini için deneyin yapılma yöntemi.	53
Tablo 3.5: Hidroksi prolin miktar tayini için deneyin yapılma yöntemi.	54
Tablo 3.6: Total protein miktar tayini için deneyin yapılma yöntemi.	57



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler Açıklama

Dk	: Dakika
U	: Enzim unitesi
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre

Kısaltmalar Açıklama

4-AAP	: 4-aminoantipirin
ABTS	: 2,2'-azino bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
ATP	: Adenozin trifosfat
CAT	: Katalaz
CDNB	: 1-kloro-2,4-dinitrobenzen
DCF	: 2',7'-diklorofloresan-diasetat
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DTNB	: 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Redükte glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon-S-transferaz
HEPES	: 4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansülfonik asit
HETAB	: Heksadesiltrimetil amonyum bromür

ILAE	: Epilepsiye Karşı Uluslararası Birlik
K	: Kontrol grubu
LPO	: Lipid peroksidasyonu
M	: Moringa grubu
NADH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NEDD	: N-(1-naftil)-etilendiamindihidroklörür
NK	: Natural killer cells (Doğal öldürücü hücreler)
NO	: Nitrik oksit
PON	: Paraoksonaz
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SA	: Siyalik asit
SOD	: Süperoksit dismutaz
TAS	: Toplam antioksidan durumu
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCA	: Triklorasetik asit
TOS	: Toplam oksidan durumu
TP	: Total protein
Tris	: Hidroksimetil aminometan
V	: Valproat grubu
V+M	: Valproat+Moringa grubu
VA	: Valproik asit (Valproat)
XO	: Ksantin oksidaz

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN DALAK HASARINA MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİLERİ

Sabina AHMADOVA

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya (F.B.E), Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman : Prof. Dr. Özlem SAÇAN

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

Valproik asit (VA)'in, histon deasetilazların güçlü bir inhibitörü olması; epilepsi, kanser, bazı nörolojik ve psikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanılmasına olanak sağlamaktadır. VA, gen ekspresyonu üzerine olan etkilerinden dolayı bazı yan etkilere ve toksisitelere neden olmaktadır. VA'in kronik kullanımının; gastrointestinal reaksiyon, alerji, immünolojik fonksiyon bozukluğu gibi olumsuz etkiler açığa çıkardığı ve hiperinsülinemi, oksidatif stres, insülin direnci yaratarak metabolik sendromun gelişimini artırdığı tespit edilmiştir. Moringa oleifera, zengin fitokimyasal ve farmakolojik özelliklere sahip çok işlevli bir bitkidir. Moringa'nın yaprakları; vitaminler, mineraller, amino asitler, doğal antioksidanlar, flavonoidler, karotenoidler, saponinler, tanenler, ve fitatlar açısından zengindir. Bu çalışmada, sıçanlarda oluşturulan VA kaynaklı dalak hasarına karşı Moringa yaprak ekstresinin koruyucu etkileri araştırıldı. Sprague Dawley dişi sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı; Grup I: kontrol grubudur ve 15 gün boyunca %0.9 NaCl (1 mL), Grup II: sadece %70'lik etanollü moringa yaprak ekstresi (300 mg/kg/gün), Grup III: sadece sodyum valproat (500 mg/kg/gün), Grup IV: aynı uygulama prosedürleri ile (doz ve süre) ile sodyum valproat + moringa ekstresi ağız yoluyla verildi. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre, Moringa ekstresinin sodyum valproat grubuna uygulanması, çeşitli antioksidan, anti-inflamatuar ve terapötik özellikleri sayesinde sodyum valproatın yol açtığı biyokimyasal bozulmaları düzelttiği belirlendi.

Ocak 2025 , 105 sayfa.

Anahtar kelimeler: Valproik Asit, Moringa, Dalak, Toksikite, Antioksidanlar

ABSTRACT

[M.Sc. THESIS]

**[EFFECTS OF *Moringa Oleifera* ON VALPROIC ACID INDUCED SPLEEN INJURY
IN RATS]**

[Sabina AHMADOVA]

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Biochemistry Programme

[Supervisor : Prof. Dr. Ozlem SACAN

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. I. Burcu TURKYILMAZ MUTLU]

[Valproic acid (VA), being a potent inhibitor of class I histone deacetylases, is used in the treatment of epilepsy, cancer, and certain neurological and psychiatric disorders. VA, by modifying gene expression, can lead to certain side effects and toxicities. It has been determined that chronic use of VA induces adverse effects such as gastrointestinal reactions, allergic responses, and immunological dysfunction and exacerbates the development of metabolic syndrome through the promotion of hyperinsulinemia, oxidative stress, and insulin resistance. *Moringa oleifera* is a multifunctional plant due to rich phytochemical and pharmacological properties. The leaves of *Moringa* are rich in vitamins, minerals, amino acids, natural antioxidants, flavonoids, carotenoids, saponins, tannins, and phytates. In the present study, the protective effects of *Moringa* leaves on valproate-induced spleen injury were investigated. Sprague Dawley female rats were randomly divided into four different groups; Group I: control (given %0.9 NaCl (1ml) for 15 days), Group II *Moringa* group (given 300 mg/kg/day of 70% ethanol extract of *Moringa* extract for 15 days), Group III: sodium valproate group (given 500 mg/kg/day for 15 days), Group IV: sodium valproate + *Moringa* administered group (applied by following the same procedure as time and dose). Normal saline, sodium valproate, and *Moringa* extract were administered orally. According to the results obtained from our study, it was determined that the administration of *Moringa* extract to the sodium valproate group ameliorated the biochemical disturbances caused by sodium valproate, due to its diverse antioxidant, anti-inflammatory, and therapeutic properties.]

January 2025, [105] pages.

Keywords: [Valproic Acid, Moringa, Spleen, Toxicity, Antioxidants]



1. GİRİŞ

Beyin nöronlarındaki anormal elektriksel aktivite ile karakterize edilen kronik bir nörolojik bozukluk olarak ifade edilen epilepsi, beynin karmaşık moleküler, biyokimyasal, fizyolojik ve anatomik değişiklikleriyle ilişkilidir. Epilepsi, tüm yaş gruplarını etkileyebilse de, özellikle yaşamın ilk 20 yılında ve yaşlılık dönemlerinde belirgin etkiler gösterir. Epileptik hastaların yaklaşık %80'i mevcut antiepileptik ilaçlarla yeterince kontrol altına alınabilirken, %20'si tedavi başarısızlığı yaşamakta ve ek tedaviye ihtiyaç duymaktadır. Yaygın olarak kullanılan antiepileptik ilaçlar, örneğin sodyum valproat, fenitoin, fenobarbital ve karbamazepin semptomatik etkiler sağlasa da epilepsinin temel patolojik durumunu ele almaz. Antiepileptik ilaçların temel dezavantajı, istenmeyen yan etkiler oluşturmalarıdır. Hem epilepsi hem de antiepileptik tedaviler, öğrenme ve hafıza üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir. Günümüzde, epilepsiyi ve sonuçlarını kontrol altına almak için dışsal diyet takviyeleri faydalı bir strateji olarak değerlendirilmektedir (Alam ve diğ., 2023).

Valproik asit (VA), geniş spektrumlu bir antiepileptik ilaç olup, birçok nörolojik ve psikiyatrik durumun tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kimyasal olarak, VA bir dallı zincir karboksilik asittir (2-propilpentanoik asit veya di-n-propilasetik asit). VA, çeşitli türdeki parsiyel ve jeneralize nöbetlerin tedavisinde 30 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır. Ayrıca, bipolar bozukluk, şizoaffektif bozukluk, sosyal fobiler ve nöropatik ağrıyı kontrol etmek için reçete edilmekte; migren baş ağrısının profilaksisi ve tedavisinde de kullanılmaktadır. Uzun süreli VA tedavisi, ölümcül hemorajik pankreatit, kemik iliği baskılanması, hepatotoksisite ve hiperammonemik ensefalopati gibi ciddi komplikasyonlara neden olmaktadır (Lheureux ve Hantson, 2009).

Moringa oleifera (*M. oleifera*), “Hayat Ağacı”, “Mucize Ağacı”, “Bitkilerin Elması” olarak bilinmekte ve kuraklık direnci, hızlı büyüme, besin açısından zengin özellikleri nedeniyle Afrika ve Asya ülkelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Su ve diğ., 2023). *Moringa oleifera*, Moringaceae familyasına ait, yaprak dökken bir ağaçtır. Bitkinin özleri proteinler, vitaminler, mineraller, esansiyel amino asitler, antioksidanlar, flavonoidler, izotiyosiyanatlar açısından zengindir ve anti-inflamatuar, antioksidan, anti-kanser, karaciğer koruyucu, nöroprotektif, hipoglisemik ve kan lipidlerini düşürücü gibi çeşitli nutrasötik veya

farmakolojik işlevler sergilemektedir. Ayrıca, birçok çalışma anti-diyabet, anti-romatoit artrit, anti-ateroskleroz, kısırlığa karşı, ağrı kesici, anti-depresyon, diüretik ve tiroit düzenleme gibi terapötik değerlerini ortaya koymuştur (Kou ve diğ., 2018). *M. oleifera* yapraklarının protein kalitesinin, süt ve yumurtalarının benzer olduğu da araştırmalarda gösterilmiştir (Chiş ve diğ., 2023).

Dalak, vücuttaki en büyük ikincil lenfoid organ olup, hematopoez ve kırmızı kan hücresi temizliği gibi rollerinin yanı sıra geniş bir immunolojik işlev yelpazesi de içermektedir. Dalağın fiziksel yapısı, kanı patojenler ve anormal hücrelerden filtreleyebilmesine ve antijen sunan hücrelerle lenfositler arasında düşük olasılıklı etkileşimleri kolaylaştırabilmesine olanak tanır. Dalak, işlevsel ve yapısal açıdan kırmızı ve beyaz pulpa olarak ikiye ayrılır; bu iki bölge arasında farelerde marginal zona ve insanlarda perifoliküler zona bulunur. Beyaz pulpa, her iki türde de dalaktaki birincil immunolojik bölgedir; ancak dalak dokusunun dörtte birinden daha azını oluşturur. Kırmızı pulpa ise dokunun büyük bir kısmını kaplar ve immun işlevi, beyaz pulpadan farklıdır. Lenf düğümlerinin aksine, dalakta afferent lenfatik damarlar bulunmadığından, tüm hücreler ve antijenler dalağa kan yoluyla girer (Lewis ve diğ., 2019).

Bu çalışmada, Sprague Dawley sıçanlarında valproik asit ile oluşturulan dalak hasarına karşı %70'lik etanol ile hazırlanan *M. oleifera* yaprak ekstresinin koruyucu etkileri araştırıldı. Bu doğrultuda, alınan dalak doku örneklerinden %10'luk doku homojenatları hazırlandı. Bu homojenatlarda indirgenmiş glutatyon, lipid peroksidasyonu, siyalik asit seviyeleri, reaktif oksijen türleri, toplam oksidan seviyesi, toplam antioksidan seviyesi, ileri okside protein ürünleri, glikoprotein seviyeleri, süperoksit dismutaz, katalaz, arginaz, laktat dehidrojenaz, paraoksonaz, glutatyon peroksidaz ve redüktaz, glutatyon-S-transferaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, ksantin oksidaz, asit fosfataz aktiviteleri, hidroksi prolin, nitrik oksit ve protein miktarı gibi biyokimyasal parametreler tayin edildi.

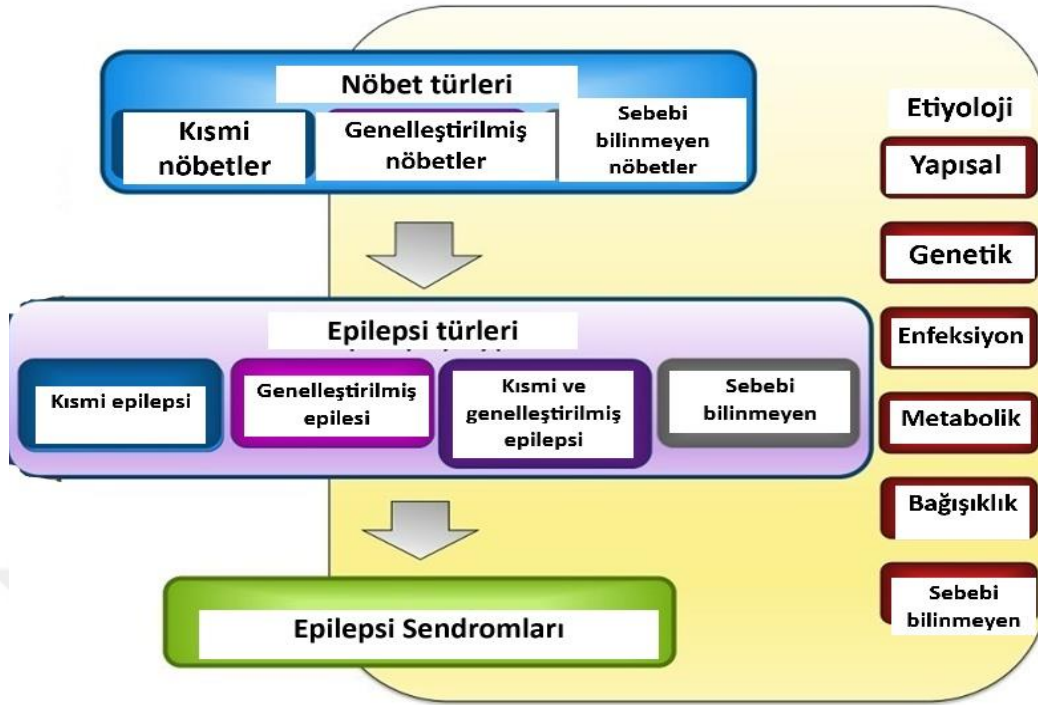
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. EPİLEPSİ

2.1.1. Epilepsinin Tanımı

Epilepsi, tekrarlayan nöbetlerin ortaya çıkmasıyla karakterize edilen kronik nörolojik bir hastalık grubunu kapsamaktadır ve dünya genelinde yaklaşık 60 milyonun üzerinde insan bu hastalıktan muzdarip olmaktadır (Beamer ve diğ., 2017). Nöbetler, kısa ve neredeyse tespit edilemeyecek kadar hafif olabileceği gibi, anormal elektrik aktivitesi nedeniyle uzun süreli şiddetli titremelere de neden olabilir (Bekele ve diğ., 2023). Epilepsi, yaşam boyunca ortaya çıkabilir ve kesin bir test veya biyomarker olmadan klinik bir tanı olarak kalmaktadır (Bush ve diğ., 2024).

Epileptik nöbetler genellikle klinik öyküye dayanarak teşhis edilmektedir; bu öykü dikkatlice toplanmalı ve çoğunlukla hasta ile tanıkların kapsamlı bir şekilde sorgulanmasını gerektirmektedir. Daha karmaşık durumlarda video elektroensefalogram kaydı gerekmektedir. Tanıyı doğrulamak için bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme, pozitif emisyon tomografisi, tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi ve genetik testler gibi çeşitli incelemeler yardımcı olmaktadır (Bekele ve diğ., 2023).



Şekil 2.1: Uluslararası Sınıflandırma ve Terminoloji Komitesinin epilepsilerin sınıflandırılmasıyla ilgili yayımladığı görüş (Scheffer ve diğ., 2017).

2.1.2. Epilepsinin Sağlık Üzerine Etkileri

Epilepsi hastalarında, öğrenme, bellek, dikkat ve yürütücü işlevler gibi bir veya daha fazla alanda bilişsel bozulma görülmektedir; bu bozulmalardan en yaygını bellek bozukluğudur. Bu eksiklikler, epilepsinin etiyolojisi, tekrarlayan nöbetler, antiepileptik ilaçların kullanımı veya bu faktörlerin bir kombinasyonu ile ilişkilidir (Allendorfer ve Arida, 2018). Gelişimsel gecikme, bilişsel yetersizlikler ve psikososyal komorbiditeler, epilepsili çocuklar için önemli zorluklar oluşturarak, nöbet etkinliğinin yanı sıra yaşam kalitesinde de önemli bir kayba neden olmaktadır (Schmidlechner ve diğ., 2023).

Epileptik nöbetler, bu hastaların karşılaştığı en büyük zorluklardan biri olup, işsizlik, boşanma, marjinalleşme, izolasyon ve bekârlık gibi durumlarla sonuçlanabilmektedir. Ayrıca, düşük özsaygı, azalmış okul devamlılığı ve akademik hırs eksikliği, epilepsi hastalarının akademik açıdan zorlanmalarına neden olmaktadır (Bekele ve diğ., 2023).

Depresyon, epilepsi hastalarında yaygın olup, kötü kontrol edilen nöbetleri olan bireylerin %20 ila %55'ini, iyi kontrol edilen nöbetleri olan bireylerin yaklaşık %10 ila %20'sini etkilemektedir (Allendorfer ve Arida, 2018). Epilepsi hastalarının yaşam süresi, genel nüfusa kıyasla %2-10 daha azdır; depresyon ve anksiyete gibi bir dizi komorbidite riski ise 4 kat artmaktadır (Beamer ve diğ., 2017).

2.1.3. Epilepsinin Nedenleri

Epilepsi, geçmiş travmalar, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları ve genetik bozukluklar gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanan tekrarlayan nöbetlerle karakterizedir. Epilepsinin nedenleri: yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik, immün ve bilinmeyen kategorilere ayrılmaktadır (Bekele ve diğ., 2023).

Genetik arka plan ve nöbet türünden etkilenerek nöron ölümü ve doğumu, akson ve dendrit çıkıntıları, gliyozis, membran ve ekstrasellüler matris proteinlerinin molekülerinin yeniden yapılanması gibi değişiklikler oluşabilir. Merkezi sinir sistemine enfeksiyon zarar verildiğinde, dinlenme halindeki mikroglia antijenik özellik kazanarak, şekilleri uzar ve T hücreleriyle birlikte iltihabi reaksiyona katılmak için makrofajlara dönüşürler. Ancak, aşırı aktive olmuş mikroglia, pro-inflamatuvar faktörlerin ve oksidatif stresin önemli kaynaklarıdır ve nörotoksisiteye yol açabilir (Wang ve diğ., 2021).

Kötü beyin sağlığının oluşmasında, potansiyel olarak değiştirilebilir davranışsal etkenler (örneğin, fiziksel hareketsizlik, tütün kullanımı ve zararlı alkol tüketimi), enfeksiyon hastalıkları (örneğin, menenjit ve ensefalit), kronik hastalıklar (örneğin, diyabet, obezite ve hipertansiyon), baş travması, bakım erişimi (örneğin, eşitsizlikler, ayrımcılık ve kırsal-kentsel ayrım), komorbid hastalıklar ve çevresel kirleticilere maruz kalma gibi faktörlerin rol oynaması muhtemeldir (Bush ve diğ., 2024).

Yetersiz beslenme, kötü sanitasyon, artan böcek ve kemirgen sayısı, tıbbi tedaviye erişim eksikliği, yoksulluk ve cehalet ise enfeksiyöz epilepsiyi teşvik etmektedir. Epilepsi hastalarının yaklaşık %80'i gelişmekte olan ülkelerde bulunmaktadır ve bu, sadece sağlık etkileriyle sınırlı olmayıp, aynı zamanda sosyal, kültürel, psikolojik ve ekonomik sonuçları nedeniyle de önemli bir halk sağlığı sorunudur (Bekele ve diğ., 2023).

2.1.4. Epilepsinin Patofizyolojisi

2.1.4.1. Epilepsinin Oluşumunda Nörotransmitterlerin Etkisi

Gamma-aminobutirik asit (GABA), beyindeki en önemli inhibe edici nörotransmitterdir ve epilepsinin oluşumunda ve gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Presinaptik sitoplazmada, glutamat, koenzimi piridoksal fosfat olan glutamat dekarboksilaz tarafından GABA'ya dönüştürülür. GABA daha sonra veziküllerde depolanır ve ekzositoz ile sinapsa salınır; ardından postsinaptik membrandaki GABA reseptörlerine bağlanır. GABA taşıyıcısı, GABA'yı çevredeki glial hücrelere alır; burada GABA, GABA transaminaz ve süksinat semi aldehit dehidrogenaz tarafından süksinik aside dönüştürülür. Süksinik asit daha sonra trikarboksilik asit döngüsünden geçerek tekrar glutamata dönüştürülür ve böylece glutamat-GABA-glutamat döngüsü tamamlanmış olur. GABA metabolizmasının tüm yönlerindeki anormallikler, GABA sentezi, taşınması, GABA reseptörlerini kodlayan genler ve GABA inaktivasyonu dahil, epilepsiye yol açabilir (Feng ve diğ., 2022).

Glutamat, merkezi sinir sistemindeki ana uyarıcı nörotransmitterdir ve memeli beyindeki en çok bulunan amino asittir. Glutamat, öğrenme, bellek, biliş ve duygular gibi sayısız süreç için gereklidir. Tüm beyin glutamat aktivitesi, salınım, etki ve geri alım dahil olmak üzere, ekstrasellüler alanda gerçekleşir. Aşırı glutamat veya yetersiz GABA, merkezi sinir sisteminde aşırı uyarıma yol açabilir ve bu da nöbetlerin meydana gelmesine neden olabilir. Epilepside glutamaterjik mekanizmaların potansiyel düzensizlikleri, nöronal, glial veya nöronal-glial etkileşimlerin işlev bozukluklarını içerebilir. Glutamaterjik düzensizlik, sinaps içinde glutamat birikmesine ve glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonuna neden olabilir; bu da eksitotoksositeye ve nihayetinde hücre ölümüne yol açar. İnhibe edici GABA seviyelerindeki bir azalma da nöbet riskini artıracaktır. Glutamaterjik ve GABAerjik süreçler birbirleriyle yoğun bir şekilde ilişkilidir ve iktogenezi ile epileptogenezi etkiler (Sarlo ve Holton, 2021).

2.1.4.2. İnflamasyonun Epileptik Nöbetler Üzerindeki Etkisi

Beyin iltihabı, birçok nörolojik hastalıkta rol oynadığı gösterilen bir durumdur ve kan-beyin bariyeri geçirgenliğinde artışa neden olduğu, glutamaterjik nörotransmisyonu kolaylaştırdığı, pro-apoptotik sinyal yollarını başlattığı, seçici nöronal ölüme ve sonrasında

ağların yeniden yapılandırılmasına yol açtığı ve astrosit ile mikroglial aktivasyonu teşvik ettiği gösterilmiştir. Nöroinflamasyon, epilepside önemli bir rol oynamaktadır. Bağışıklık sisteminin aktive edilmesi ve aşırı iltihabi yanıt, nöbet sıklığını ve epilepsiye yatkınlığı artırabilir. Ayrıca, epilepsinin patolojik seyri sırasında immunoinflamatuar reaksiyonların düzensizliği, nöbet kaynaklı plastisite ile ilişkilendirilmiştir (Wang ve diğ., 2021).

Özel pro-çözümleyici lipidler (örneğin, lipoksinler, protektinler, rezolvinler ve maresinler) immünokompetan hücrelerde G-protein bağlı reseptörleri aktive ederek inflamatuvar yanıtı kontrol etmede kritik bir rol oynamaktadır. Pro-çözümleyici mediatörler, araşidonik asit veya temel yağ asitleri tarafından siklooksijenazlar veya lipooksijenazlar aracılığıyla üretilir. Pro-çözümleyici reseptörlerin insan temporal lob epilepsisi odaklarında nöronlar ve astrositlerde indüklendiği göz önüne alındığında, omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri veya pro-çözümleyici lipidlerin stabil analoglarının uygulanması epilepsi tedavisinde potansiyel hedefler sağlayabilir (Ravizza ve diğ., 2020).

2.1.4.3. İyon Kanalları ve Sinapslar

İltihabi reaksiyonların nöbetler için eğilimi artırdığı, nöronal uyarılabilirliği değiştirdiği, hücre içi sinyal yollarını aktive ederek nöronal apoptoz ve sinaptik yeniden şekillendirmeyi aracı kıldığı bulunmuştur. Nöbetler, beyindeki mikroglia ve nöronları aktive edebilir ve ek dışsal uyarılar olmaksızın bir dizi iltihabi reaksiyon üretebilir. Sonuç olarak, mikroglia ve nöronlar büyük miktarda pro-inflamatuar faktörler ve prostaglandinler salgılar ve kompleman sistemini aktive eder; bu da nihayetinde nöronal ölüme ve sinaps rejenerasyonuna yol açarak kronik spontane nöbetlere neden olur (Wang ve diğ., 2021).

ATP, hücrel enerji transferindeki iyi bilinen rolünün yanı sıra, önemli bir hücreler arası sinyal molekülü olarak da işlev görür. Bir zarar sonrası, ATP, ekstraselüler alana daha yüksek konsantrasyonlarda salınır. Bu, hasar görmüş ve apoptoz geçiren hücrelerin zayıflamış hücre zarları aracılığıyla veya ekzotoktik veya non-ekzotoktik salınım yoluyla gerçekleşir. ATP, inflamatuvar sinyal yollarını başlatır. Salındıktan sonra, ATP hızla ektinükleotidazlar tarafından ADP, AMP ve adozin gibi farklı parçalanma ürünlerine metabolize edilir; her biri farklı purinerjik reseptörlerin aktivasyonu yoluyla farklı hücrel yanıtları provoke eder (Beamer ve diğ., 2017).

Potasyum kanalları, iyon kanallarının en geniş ve karmaşık ailesini oluşturmaktadır. Potasyum kanalları, birçok hücrede hayati bir rol üstlenmektedir. Epilepsinin patogeneğinde ve hedefe yönelik tedavi etkilerinde de kritik öneme sahiptir. Potasyum kanal genlerinin mutasyonları nedeniyle meydana gelen birçok epilepsi vakası gösterilmektedir (Gao ve diğ., 2022).

2.1.4.4. Hippokampal Skleroz

Hippokampal skleroz, dentat girusunun hilus bölgesinde ve CA1 ve CA3 bölgelerinde nöronal kayıp ve gliyoz içeren karakteristik bir lezyondur. Nöbetlerin hipokampal sklerozun bir nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu konusu uzun süre incelenmiştir. Yapılan birçok çalışmalar, kısa süreli nöbetlerin nöronal kayba yol açabileceğine dair kanıtlar sunmuştur. Sonuç olarak, hem nekrotik hem de apoptoz mekanizmalarının hasara katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Pitkänen ve Sutula, 2002).

2.1.4.5. Kan-Beyin Bariyeri Değişiklikleri

Çoğu antiepileptik ilaçların etki mekanizması, Na^+ ve/veya Ca^{2+} kanallarını bloke etmek, GABA'yı teşvik etmek veya glutamat sinyalini inhibe etmek üzerine kuruludur. Ancak, ilerlemenin sağlanabilmesi için, kan-beyin bariyerinin geçirgenliğindeki değişiklikler, sinaptik plastisite, ağ reorganizasyonu ve gliosis gibi daha geniş bir epilepsi resmi göz önünde bulundurulmalıdır (Beamer ve diğ., 2017).

2.2. EPİLEPSİ YÖNETİM STRATEJİLERİ

2.2.1. Antiepileptik İlaç Tedavisi

Yeni tanı konmuş epilepsi hastaları için antiepileptik ilaçlar birinci basamak tedavi olarak kullanılmaktadır. Mevcut tüm tedaviler, uyarıcı/inhibitör dengesini yeniden sağlamaya dayanan üç ana etki mekanizmasına dayanır: Na^+ ve/veya Ca^{2+} kanallarının bloke edilmesi, GABAergik nörotransmisyonun teşvik edilmesi veya glutamat reseptörlerinin antagonizmi (Beamer ve diğ., 2017). Epilepsiye yol açan akut beyin yaralanmalarına maruz kalan sıçanlarda yapılan farmakolojik ve genetik müdahaleler, anti-inflamatuar ve antioksidan ilaçların hastalık

modifikasyon etkileri gösterdiğini, nöbet yükünü azalttığını ve hücre kaybı ile komorbiditeleri hafiflettiğini kanıtlamıştır (Ravizza ve diğ., 2020).

2.2.2. Epilepsi Yönetiminde İlaç Direnci

Epileptik hastaların yaklaşık %30'u çeşitli antiepileptik ilaçlara dirençlidir ve nihayetinde dirençli epilepsi geliştirir (Wang ve diğ., 2021). Antiepileptik ilaçlar nöbetleri başarılı bir şekilde kontrol edebilse bile, komorbiditeleri kötüleştirebilir veya ciddi yan etkilere neden olabilir (Beamer ve diğ., 2017). Ayrıca, ilaç dirençli epilepsilerin nöbet kontrolü için geniş spektrumlu immünosupresif steroidler, ketojenik diyet, vagus sinir stimülasyonu ve çeşitli klinik müdahale yöntemlerinin tedavi edici etkileri, hastalarda anti-inflamatuvar mekanizmalar aracılığıyla önemli bir rol oynamaktadır (Vezzani ve Rüegg, 2017).

2.2.3. Diyet Tedavisi

Ketojenik diyet, düşük karbohidrat, yüksek yağ ve orta düzeyde protein alımına dayanan bir beslenme şekli olup, çocuklardaki ilaç dirençli epilepsi için popüler bir tedavi seçeneğidir ve dünya genelindeki çoğu özel pediatrik epilepsi merkezinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Zambiya'da yapılan araştırmalar, pediatrik ilaç dirençli epilepsi hastaları arasında bu diyetin umut verici sonuçlar gösterdiğini ortaya koymuştur (Bekele ve diğ., 2023).

2.2.4. Cerrahi Müdahale Seçenekleri

Günümüzde kullanılan antiepileptik ilaçlar ile tedavi edilen hastaların yarısı nöbet yaşamaya devam etmektedir. Çoğu epilepsi, nöbet önleyici ilaçlarla kontrol altına alınabilir; ancak bu mümkün olmadığında, sık nöbetler hastane yatışlarına, yaralanmalara ve ölüme yol açabilir (Bush ve diğ., 2024). Epilepsi cerrahisinin, ilaçlara dirençli epilepsi için etkili bir tedavi olduğu gösterilmiştir; cerrahiden 2 yıl sonra nöbetsizlik oranları %70'i aşmakta olduğu ve komplikasyon oranlarının %5'ten az olduğu bildirilmiştir. Cerrahi yaklaşımlar, epileptojenik bölgenin rezeksiyonu veya nöbet yayılım yollarının anatomik olarak kesilmesi gibi yöntemleri

içerebilir, ancak ikincisinin sonuçları daha az olumlu olabilmektedir. Cerrahi müdahale nöbet aktivitesini azaltabilir ve bilişsel bozulmanın ilerlemesini durdurabilir (Schmidlechner ve diğ., 2023).

2.3. VALPROİK ASİT

2.3.1. Valproik Asit Hakkında Genel Bilgiler

Valproik asit (VA), düşük molekül ağırlığına sahip olan valerik asitten türetilmiş dallı zincirli bir karboksilik asittir (2-propilpentanoik asit veya di-n-propilasetik asit). Kısa zincirli yağ asitlerine çok benzemektedir ve bu durum, VA'nın yağ asidi oksidasyon yolları için bir substrat olmasını sağlar. VA, ruh hali, bipolar ve şizoaffektif bozuklukları, sosyal fobileri, nöropatik ağrıyı kontrol etmek ve migren baş ağrısının profilaksisi için de reçete edilmektedir. VA genellikle iyi tolere edilir, ancak hepatotoksisite ve hiperammonemik ensefalopati gibi ciddi komplikasyonlar da ortaya çıkabilir (Lheureux ve Hantson, 2009; Liu ve diğ., 2023). Ayrıca, VA bağımlılık davranışlarını azaltmak ve uyuşturucu maddelerin (örneğin, metamfetamin) alımından sonra detoksifikasyon için de kullanılır (Shnayder ve diğ., 2023). VA'nın çeşitli akut veya kronik alevlenme modellerinde sitokin üretimini seçici olarak azaltarak anti-inflamatuar yeteneği olduğu ortaya koyulmuştur. Ayrıca, VA'nın, GABA, norepinefrin, dopamin ve serotonin seviyelerini artırma ve voltaj bağımlı sodyum kanallarını bloke etme yeteneği de vardır (Soria-Castro ve diğ., 2020). Ezhilarasan ve Mani (2022) VA'nın antiepileptik etkisinin keşfini 1970li yıllarda ticari olarak temin edilebilir hale geldiğini çalışmalarında ifade etmişlerdir (Ezhilarasan ve Mani, 2022).

2.3.2. Klinik, Biyokimyasal ve Farmakokinetik Özellikleri

VA, güçlü su çözülebilirliğine sahip küçük bir molekül bileşiktir. Ağız yoluyla alındıktan sonra VA hızla emilir, biyoyararlanımı %90'dan fazladır. Plazma protein bağlanma oranı %74 ile %90 arasında değişmektedir, bu durum esasen plazma proteinlerine olan bağlanmasının doyumluğundan kaynaklanmakta olup, aynı zamanda farmakokinetik özelliklerinin doğrusal olmayan bir metabolizma göstermesine neden olmaktadır. Su içinde çözüldüğünde hafif alkalın bir özellik gösterir, pH değeri 7.5 ile 9.0 arasındadır (Liu ve diğ., 2023).

VA, karaciğerde 3 yolak üzerinden metabolize edilir: glukuronid konjugasyonu; mitokondriyal matris içinde β -oksidasyon; ve sitozolde ω -oksidasyon (CYP450 metabolizması). VA metabolizmasının büyük kısmı ilk iki yolla gerçekleşirken, yaklaşık %10'u CYP450 yoluyla metabolize edilmektedir. Bu üç metabolik yol üzerinden VA'in metabolizması, terapötik ve toksik metabolitler üretir ve şimdiye kadar 50'den fazla farklı metabolit keşfedilmiştir. VA'in glukuronid konjugasyonu, valproik asit glukuronidinin ve 2-n-propil 2-pentenoik asidin oluşumuna yol açar; her ikisi de terapötik metabolitlerdir. Mitokondrilerdeki yağ asitlerinin β -oksidasyonu, her bir döngüde iki karbon birimini serbest bırakarak asetil-CoA üretimi ile sonuçlanır. Asetil-CoA, Krebs döngüsüne girerek sitrata dönüştürülür. Bu nedenle, yağ asidi β -oksidasyonu, hücreler için ana enerji kaynağını oluşturur (Gziut ve Thanacoody, 2024).

2.3.3. Valproik Asidin Etki Mekanizması

VA, beyin GABA konsantrasyonlarını artırır ve nöbetler ile diğer nöropsikiyatrik durumları tedavi etmekte kullanılır (Yoshioka ve diğ., 2023). VA, GABA-A ve GABA-B reseptörleri üzerinde doğrudan etkili olarak GABA'nın inhibe edici fonksiyonunu artırır. Bu mekanizmalar, VA'in antiepileptik bir ilaç olarak etkisini destekler. Ek olarak, ekzoselüler serotonin ve dopamin seviyelerini artırdığı bulunmuştur; bu durum, maddenin bipolar bozukluk üzerindeki etkisini açıklayabilir (Gziut ve Thanacoody, 2024).

VA, bilinen bir FDA onaylı histon deasetilaz inhibitörüdür. Bu nedenle, VA, diyabet, fibrotik hastalıklar, kanser gibi durumlar için yardımcı terapötik ajan olarak kullanılmıştır. VA, tümör hücrelerinde apoptozu, farklılaşmayı ve immünojenisiteyi indüklemeye ve metastaz ile anjiyogenezisi azaltma yeteneğine de sahiptir. Bunun yanı sıra, VA'in birincil metabolitleri 2-propil-2-pentenoik asit ve 2-propil-4-pentenoik asit ($\Delta 4$ VA) özellikle, $\Delta 4$ VA metaboliti VA'in hepatotoksik potansiyeli, Reye benzeri sendrom ve teratojenitesi ile ilişkilendirilmiştir. VA metabolitlerinin çoğunluğu (%30-50) idrarla atılmakta, yalnızca küçük bir fraksiyonu (%3) değişmemiş olarak atılmaktadır (Ezhilarasan ve Mani, 2022).

2.3.4. Toksik Etkiler ve Yan Etkiler

VA kaynaklı akut zehirlenme ile ilişkili ölümlerin başlıca nedenleri, sinir sistemi toksisitesi, hiperamonyemi nedeniyle ortaya çıkan ensefalopatiye bağlı ilaç kaynaklı şok, akut karaciğer ve böbrek yetmezliği ile hemodinamik instabiliteye katkıda bulunan solunum depresyonudur (Liu ve diğ., 2023). İlaç etiketinde, hepatotoksisite, teratojenite ve pankreatit gibi yaşamı tehdit eden yan etkiler için siyah kutu uyarısı bulunmaktadır. VA ayrıca ATP üretimini azaltarak mitokondrial bozulmaya neden olur; bu durum, VA tedavisinin sona ermesinden sonra bile devam etmektedir (Ezhilarasan ve Mani, 2022).

VA'nın bulantı, kusma ve pankreatit gibi gastrointestinal, tremor, baş ağrısı ve ekstrapiramidal semptomlar gibi nörolojik yan etkileri de mümkündür. Hematolojik yan etkiler (anemi ve trombositopeni) ve endokrin sistem bozuklukları (uygunsuz antidiüretik hormon salınım sendromu ve dismenore) da belgelenmiştir. VA'nın çeşitli nörolojik bozuklukların tedavisindeki etkinliğine rağmen, uzun süreli kullanımı polikistik over sendromunun birçok özelliğini indükleyebileceği bilinmektedir; bunlar arasında adet düzensizlikleri, hiperandrojenizm, polikistik overler ve obezite yer almaktadır (Inada ve diğ., 2012; Gziut ve Thanacoody, 2024).

VA, sitozolde koenzim A ile bağlanarak valproil-CoA oluşturur. Bu metabolit terapötik bir etki gösterirken, hassas bireylerde mitokondrial DNA azalmasına neden olabilir. Valproil-CoA'nın mitokondri matrisine transferi için L-karnitine ihtiyaç vardır; burada β -oksidasyon gerçekleşir. β -oksidasyon sırasında 2-en-VA da üretilir ve bu metabolit nörotoksik olup, diplopi, ataksi, nöbetler ve bilişsel bozukluklar gibi semptomlara neden olabilir. VA konsantrasyonları akut aşırı doz veya yüksek doz kronik kullanım gibi terapötik seviyeleri aştığında, VA metabolizması ω -oksidasyona kayar. Bu, karbamoil fosfat sentetaz 1'i (CPS1) inhibe eden toksik metabolitler üretebilir. CPS1, amonyağın mitokondride bikarbonat ile bağlanmasını katalize etmek için gereklidir. Bu aşama olmadan, amonyak üre döngüsüne giremez ve idrarda atılamaz. Dolayısıyla, CPS1 inhibisyonu serum amonyak seviyelerinin artmasına yol açar (Gziut ve Thanacoody, 2024).

VA tedavisinde, nadir olarak fatal hemorajik pankreatit, kemik iliği baskılanması gibi ciddi komplikasyonlar meydana gelebilir. Transaminazların, alkalen fosfatazın ve bilirubin seviyelerinin yükselmesi, VA alan hastaların %44'ü kadarında, özellikle tedavinin ilk aylarında

gelişebilir; ancak bu anormallikler genellikle zamanla veya ilaç kesildiğinde geri dönüşümlüdür. VA kaynaklı lipid peroksidasyonu ve glutasyon azalması, VA kaynaklı hepatotoksisiteye etkide bulunabilecek diğer mekanizmalardır. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, 4-en-VA'nın β -oksidasyon yoluyla reaktif ara ürünlere, örneğin 2-propil-2,4-pentadienoik asit (2,4-dien-VA) dönüşerek mitokondrial GSH'nu azalttığı önerilmiştir. β -oksidasyon metaboliti olan 2-en-VA, beyin ve plazmada biriktiğinde beyin ödemeine yol açabilir. Bu metabolitin uzun bir eliminasyon yarı ömrü vardır. VA toksisitesi sırasında β -oksidasyon bozulsa bile, 2-en-VA birikimi, plazma VA'sının terapötik konsantrasyonlara dönmesine rağmen uzun süreli koma durumuna neden olabilir (Lheureux ve Hantson, 2009).

VA'nın serbest radikal üretimi ile ilişkili birçok yaşamı tehdit eden yan etkisi vardır. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) VA toksisitesinin iyi bilinen bir nedeni olduğu kabul edilmektedir. ROS oluşumu, tiol gruplarını etkileyerek paraoksonaz (PON) gibi enzim aktivitelerinde azalmaya neden olabilir; bu gruplar okside olabilir ve enzim aktivitelerini azaltabilir. Bu enzimler, iyon taşınması için önemlidir ve özellikle beyinde antioksidan aktivite gösterir. Protein karbonil (PC) ve ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) seviyeleri, ROS tarafından indüklenen protein oksidasyonu için önemli belirteçlerdir (Turkyilmaz ve diğ., 2020).

VA, bilinen bir teratojendir ve hamileliğin ilk trimesterinde kullanımı fetal valproat sendromuna yol açar; bu sendrom, sinir tüpü defektleri, yüz dismorfizmi, büyüme geriliği gibi belirtilerle karakterizedir. VA plasentayı geçebilir ve fetusta, anneden daha yüksek konsantrasyonda bulunur (Ghodke-Puranik ve diğ., 2013). VA, çocukların gelişimsel dönüm noktaları, kognitif fonksiyon, otizm spektrum bozukluğu ve dil ve bellek işlevleri gibi kötü nörogelişimsel sonuçlarla ilişkilendirilmiştir. Fetal beynin gelişimindeki anormallikler, epilepsi riskini artırabilir (Dreier ve diğ., 2024).

2.3.5. Valproik Asit Toksisitesinin Yönetimi

VA, yüksek oranda protein bağlanması nedeniyle düşük temizlenme (6-20 ml/saat/kg) göstermektedir (Ghodke-Puranik ve diğ., 2013).

Akut VA zehirlenmesinin kurtarma yöntemleri esasen hemoperfüzyon, hemodiyaliz, hemofiltrasyon gibi in vitro eliminasyon yöntemleri ile L-karnitin ve meropenem gibi ilaç

tedavisini içermektedir (Liu ve diğ., 2023). Akut VA aşırı dozunun tedavi stratejileri, destekleyici önlemleri, sıvı resüsitasyonu, IV bikarbonat ile asidozun düzeltilmesini ve gerekirse böbrek replasman tedavisini içerir. Hemodiyaliz, VA'in eliminasyon yarı ömrünü 2.5 saate düşürebilir ve metabolik parametreleri normalleştirmeye yardımcı olabilir. Ayrıca, hemodiyaliz sadece VA'in eliminasyonuna yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda amonyak konsantrasyonlarını da düşürür (Gziut ve Thanacoody, 2024).

2.4. MORİNGA OLEİFERA

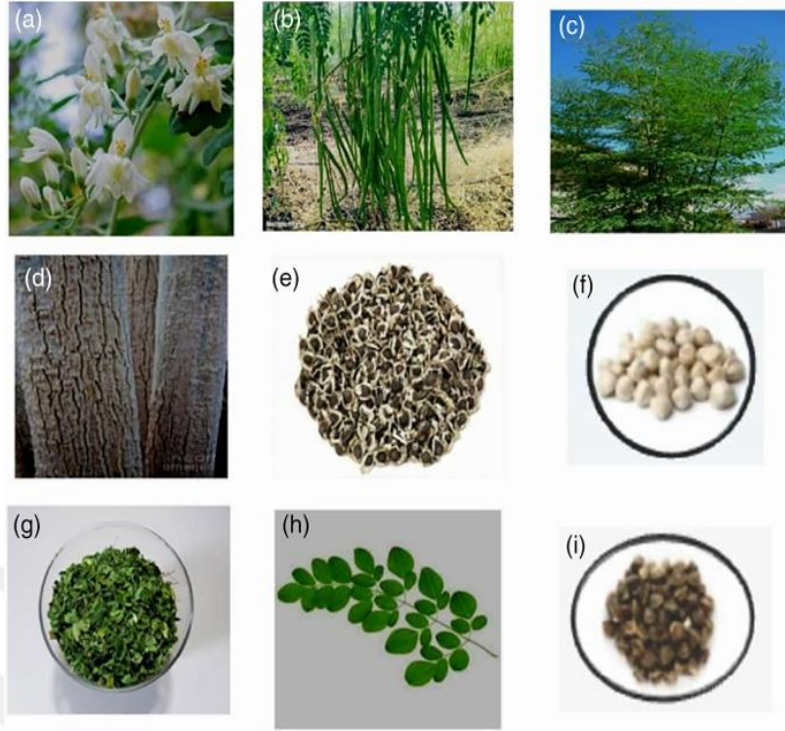
2.4.1. Tanımı, Botanik Özellikleri ve Yetiştirme Alanları

Moringa oleifera (*M. oleifera*), *Moringaceae* familyasına ait, küçük bir ağaçtır. Kuzey Hindistan alt-Himalaya kuşağından köken aldığı bilinir. *M. oleifera* bitkisi, Hindistan, Vietnam, Umman, Katar, Suudi Arabistan, Filipinler, Birleşik Arap Emirlikleri, Afganistan, Bangladeş, Nepal, Burkina Faso, Gana, Eritre, İran, Etiyopya, Gambiya, Haiti, Gine, Endonezya, Togo, Kenya, Kiribati, Liberya, Mali, Marshall Adaları, Myanmar, Nijer, Moritanya, Nijerya, Kuzey Mariana Adaları, Pakistan, Yemen, Senegal, Sierra Leone, Sudan, Tanzanya, Tayland, Uganda, Malezya ve Zanzibar gibi 48'den fazla ülkede yaygın olarak bulunmaktadır. Moringa kuraklığa dayanıklılık, hızlı büyüme ve suya ihtiyaç duymayan tropik alanlara iyi uyum sağlama özelliklerine sahiptir. Dünya üzerindeki en değerli ağaçlardan biri olarak kabul edilir, çünkü bitkinin neredeyse tüm parçaları farklı amaçlar için kullanılabilir. Moringa yapraklarında et proteinlerinde bulunan metiyonin, lizin, izolösin, valin ve treonin gibi amino asitler bulunmaktadır. *M. oleifera*'da bulunan fenolik bileşikler, lipid serbest radikallerini inaktive etme ve hidroperoksitlerin serbest radikallere dönüşümünü önleme yetenekleri nedeniyle ana antioksidanlar olarak kabul edilmektedir. Bu fenolik bileşikler, redoks özellikleri sayesinde tekli oksijeni söndürme ve peroksitleri parçalama gibi önemli işlevler görür (Jikah ve Edo, 2023).

M. oleifera yapraklarının alkaloidler, karotenoidler, flavonoidler, polifenoller, fenolik asitler, tanenler, saponinler ve vitaminler gibi birçok fitokimyasal bileşen içerdiği bildirilmiştir. Bu türün en dikkat çekici özellikleri arasında antioksidan ve anti-inflamatuar özellikler bulunmaktadır. Yapraklarının A ve C vitamini, beta-karoten, klorojenik asit, kaempferol ve kuersetin açısından zengin olduğu ve bu bileşenlerin antioksidan özelliklerine katkıda

bulunduğu belirtilmektedir. *M. oleifera* yaprakları, besin açısından zengin bir kaynak olup, polifenolik ve flavonoid bileşenler sayesinde antitümör, antiinflamatuvar, antiülser, anti-aterosklerotik ve antikonvülsan özellikler taşımaktadır. *M. oleifera* yapraklarının epilepsinin tedavisinde potansiyele sahip olduğu belirtilmektedir (Alam ve diğ., 2023). Hayvanlarda yapılan anti-epileptik çalışmalar, ekstraktın, stres kaynaklı pro-inflamatuvar belirteçleri baskılayarak ve anti-inflamatuvar belirteçleri artırarak nöbetleri azalttığını göstermiştir (Fayez ve diğ., 2023). Kaempferol ve kuersetin, Moringadaki en bol flavonollerdir ve bunların birçok şeker grubu ile bağlı glikozitleri bulunmaktadır (örneğin, asetil heksoz, heksoz ve rutosid). Ayrıca, Moringa ekstrelerinde toplam 22 yağ asidi tespit edilmiştir ve bunların çoğu doymamış yağ asitleridir (Shakour ve diğ., 2023). Bu bitkinin yaprakları, tomurcuğu, çiçekleri, kökleri ve baklaları hem yemeklik hem de tıbbi amaçlarla geniş çapta tüketilmektedir. Bilimsel alışmalar, bu bitkinin anti-inflamatuvar, anti-kanser, karaciğer koruyucu, nöroprotektif ve yaşlanma karşıtı özelliklerini doğrulamaktadır (Azeem ve diğ., 2023). *Moringa oleifera* protein, kalsiyum ve vitamin açısından zengin olması nedeniyle “Hayat Ağacı” olarak bilinir (Wang ve diğ., 2022). Bitki, “Mucize Ağaç”, “Annelerin En İyi Arkadaşı”, “Asla Ölmez” ve “Benzolive Ağacı” olarak da adlandırılmaktadır. Nil Nehri vadisinde ise bu ağaç “Shagara al Rauwaq” olarak adlandırılır ve bu da “şifa Veren Ağaç” anlamına gelir. Geleneksel olarak, bu bitki yaraların, ağrıların, ülserlerin, karaciğer hastalığının, kalp hastalığının, kanserin ve iltihaplanmanın tedavisinde kullanılmaktadır. Farmakolojik alışmalar, bitkinin çeşitli parçalarından elde edilen özlerin karaciğer koruyucu, kalp koruyucu ve anti-inflamatuvar potansiyelini doğrulamaktadır. Bitkinin her parçasında bioaktif bileşenlerin bulunduğu tespit edilmiştir (Pareek ve diğ., 2023).

Bitki, ekimden 6 ay sonra çiçeklenmeye başlar; çiçekler 2 cm genişliğinde ve yaklaşık 1.5 cm uzunluğundadır. Meyve, üç kenarlı kahverengi bir kapsül olup, yaklaşık 20–45 cm boyutunda, içinde 1 cm çapında küresel koyu kahverengi tohumlar taşır. Tohumlar, polenleşmeye yardımcı olan ince, beyaz kanatlara sahiptir, rüzgar veya su ile uniform bir şekilde dağılmalarını sağlar. Doğrudan fidancılık yöntemi en yüksek çimlenme oranını gösterir (Arif ve diğ., 2023).



Şekil 2.2: *Moringa oleifera*'nın çeşitli kısımları

(a) Moringa çiçekleri; (b) Moringa meyveleri; (c) Moringa ağacı; (d) Moringa kabuğu; (e) Kurutulmuş, kabuğu soyulmamış Moringa tohumları (temizlenmemiş); (f) Kurutulmuş, kabuğu soyulmuş Moringa tohumları; (g) Kurutulmuş Moringa yaprakları; (h) Moringa alternatif yaprakları; (i) Temizlenmiş, kabuğu soyulmamış Moringa tohumları (Jikah ve Edo, 2023).

2.4.2. Besin Değeri ve Terapötik Özellikleri

Moringa, birçok hayati mineral ve vitamin içermektedir, A, B, C, D ve E gibi önemli vitaminleri içerir. Vitaminlerin yanı sıra, Moringa kalsiyum, demir, çinko, bakır, potasyum, fosfor, selenyum, kromat ve benzeri birçok mineral de içermektedir. Ayrıca, protein ve çeşitli amino asitler de bulundurur (Jikah ve Edo, 2023). Zengin besin bileşimi dışında, *M. oleifera*'nın ikincil metabolizması üzerine yapılan önceki çalışmalar, flavonoidler, alkaloidler, steroidler, saponinler, glukosinolatlar, antrakuinonlar, tanenler, fenolik asitler ve terpenler gibi birçok fitokimyasal sınıfın varlığını ortaya koymuştur. Bu karmaşık kimyasal bileşim, Moringa bitkisinin antioksidan, bağışıklık artırıcı, antimikrobiyal, yaraların iyileşmesine yardımcı, antiviral, antikanser, antiülser, laktojenik, antihiperlipidemik, antidiyabetik, antiobezite, hipotansif, antiastım, kemik sağlığı, skorbüt, merkezi sinir sistemi baskılayıcı ve ateş düşürücü

gibi çeşitli farmakolojik etkilerine katkıda bulunmaktadır. *M. oleifera* yaprak alkol ekstraktının oksidatif strese ve inflamasyona karşı direnç sağlandığı da belirtilmiştir (Shakour ve diğ., 2023).

Serbest radikallerin azaltılması, antioksidan enzimlerin ifadesinin artmasıyla birlikte lipid peroksidasyonunun azalmasına yol açmaktadır. Fenolik bileşikler, bitkilerde bulunan ve antioksidan, antikanser ve nöroprotektif etkinlik gibi birçok terapötik uygulama sergileyen benzersiz ikincil metabolitlerdir. Hidroksil gruplarının varlığı, fenolik bileşiklerin serbest radikal temizleme kapasitesine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Bulgulara dayanarak, *M. oleifera* yapraklarının etanol ekstraktları güçlü antioksidan, serbest radikal temizleme ve antiepileptik etkilere sahiptir (Alam ve diğ., 2023).

Besin, temel amino asitler ve demir, kalsiyum ve potasyum gibi minerallerin mevcudiyeti nedeniyle, yapraklar ağacın en çok incelenen bileşenidir (Gharsallah ve diğ., 2023). Sadece 100 g kurutulmuş yaprağı, havuçtaki vitamin A içeriğinin 10 katı, portakalda bulunan askorbik asidin 12 katı, sütteki kalsiyum içeriğinin 17 katı, muzda bulunan potasyum içeriğinin 15 katı, ıspanaktaki demirin 25 katı, yoğurttaki protein içeriğinin 9 katı ve 40'tan fazla doğal antioksidan içermektedir. Araştırmalar, Moringa yaprak ekstraktının GABA benzeri etkisi nedeniyle epileptik ve anksiyete ile ilişkili semptomları hafifletmede üstünlüğünü ortaya koymuştur (Fayez ve diğ., 2023).

Moringa yaprağı ekstraktı, yüksek besin ve antioksidan değerine sahip olup terapötik ajan olarak kullanılmaktadır. Moringa yaprağı ekstraktı, temel besin maddeleri, karbohidratlar, yağlar, proteinler, lifler, mineraller ve vitaminlerden oluşmaktadır. Ayrıca, reaktif oksijen türlerini (ROS) azaltarak stresi hafifletmede güçlü bir rol oynayan antioksidanlar, fenoller, flavonoidler, karotenoidler, tokoferol, askorbik asit ve oksalik asit gibi bileşenler içerir. *Moringa oleifera* yaprakları, en yüksek konsantrasyona sahip olan glutamik asit, aspartik asit ve lösin ile birlikte, amino asitler açısından önemli ölçüde yüksek miktarlara sahiptir. Moringa ekstraktları, antioksidan enzimatik mekanizmaları (yani, CAT, POX, SOD, ve GR) teşvik eder ve prolin içeriğini artırarak, reaktif oksijen türleri (ROS) ve malondialdehit (MDA) tarafından meydana gelen oksidatif hasarı azaltmaya yardımcı olur (Arif ve diğ., 2023).

M. oleifera'da bulunan bioaktif bileşenlerin (flavonoidler, alkaloidler, tanenler, izotiosiyinin ve beta-sitosterol) tedavi edici etkisi, hiperlipidemi, hipertansiyon, hepatoprotektif, kanser karşıtı, Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi kronik hastalıklarda

belirtilmiştir. Alkaloidler, fenolik asitler, glikozitler, steroller, glukosinolatlar, flavonoidler, terpenler ve yağ asitleri gibi bileşenlerin varlığı, *M. oleifera*'nın tıbbi etkilerinden sorumludur (Pareek ve diğ., 2023).

M. oleifera'nın antiinflamatuvar etkisinin spesifik mekanizması, inflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyon seviyelerini düzenlemek aracılığıyla olabilir. Bu sitokinler arasında, nitrik oksit (NO) yer almaktadır. Ayrıca, antioksidan enzimlerin (katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GP_x) gibi) gen ekspresyonunu düzenleyerek antioksidan rolü oynamaktadır. *M. oleifera*, zengin aktif bileşenleri sayesinde sinir sistemi üzerinde koruyucu etkiler de dahil olmak üzere çeşitli işlevlere sahiptir. *M. oleifera*, nöroprotektif etkileri olan flavonoidler ve polifenoller bakımından zengindir. Ayrıca, fenoller ve peptitler açısından zengin olan *M. oleifera* yaprak ekstraktının hiperürisemi ve metabolik bozuklukları iyileştirebileceğini göstermiştir (Su ve diğ., 2023).

2.4.3. Moringa'nın Kullanım Alanları

Bu bitkinin zengin biyolojik aktif ve besin özellikleri, onu sağlık, kozmetik, tarım ve gıda endüstrisi gibi birçok alanda faydalı hale getirir. *M. oleifera*, ayrıca gübre, doğal pestisit, büyüme hormonu, organik uyarıcı, hayvan yemi, balın arıtılması, stabilizatör, nişasta kaynağı, cilt bakımı, saç bakımı, biyoyakıt, bağlayıcı madde ve kağıt yapımı gibi çeşitli endüstrilerde kullanılmaktadır (Jikah ve Edo, 2023). Bitki yapraklarından yapılan preparatlar emziren annelere ve yetersiz beslenen bebeklere fayda sağlamakta ve nüfusun genel sağlığını iyileştirmektedir. Yapraklar, uykusuzluk çeken hastalar ve yaraların tedavisi için de yararlı olmuştur (Pareek ve diğ., 2023). *M. oleifera*, antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-tümör, bağırsak mikrobiyotasını iyileştirme, antibakteriyel, nöroprotektif ve metabolik sendromu iyileştirme gibi çeşitli aktiviteler sergilemektedir (Su ve diğ., 2023).

Moringa yapraklarında alkaloidler, saponinler, tanenler, steroidler, fenolik asitler, flavonoidler, glukosinolatlar ve antosiyaninler gibi çeşitli fitokimyasallar; kozmetik, farmasötik ve gıda endüstrilerinde uygulanabilecek farmasötik faydalar için yararlıdır. Bitkinin, fenolik ve flavonoid açısından zengin olması, antioksidan, antimikrobiyal, antiobezite, antihipertansif, anti-kanser ve anti-diyabetik özellikler gösterir. Öte yandan, bitkide bulunan yüksek tekli doymamış yağ asidi içeriği, özellikle oleik asit, sağlığı destekleyen uygun bir işlevsel yenilebilir

yağdır. *M. oleifera*, protein, vitamin, mineral ve karbohidratların mükemmel kaynakları sayesinde yetersiz beslenmeyi azaltma potansiyeline sahiptir (Gharsallah ve diğ., 2023).

M. oleifera'nın kullanımları, hipertansiyon, anksiyete, ishal ve diüretik gibi patolojik değişikliklerde gözlemlenmektedir. Moringa ayrıca dizanteri ve kolit tedavisinde de kullanılmaktadır. Moringa yapraklarından yapılan bir kompres, bezlerin iltihabı, baş ağrısı ve bronşit gibi iltihaplı durumlar için hızlı bir çare olarak kullanılmaktadır (Pareek ve diğ., 2023).

Yerel çiftçiler bu bitkiyi tarım ürünü olarak yetiştirmeye ve hasat etmeye ilgi duymaktadırlar (Azeem ve diğ., 2023). Dünyanın artan nüfusunu beslemek için yenilebilir protein alternatif kaynaklarına ihtiyaç vardır; bunlardan biri de dengeli bir amino asit kompozisyonuna sahip olan *M. oleifera* yapraklarıdır. Yaklaşık 50 g yaprak tozunun, bir kadının hamilelik ve emzirme döneminde günlük demir ve kalsiyum gereksinimlerini karşılayabileceği bildirilmektedir ve temel amino asitler, mineraller ve vitaminler sağlamaktadır (D'Auria ve diğ., 2022). Moringadan elde edilen ekstrakt hem de sürdürülebilir tarım uygulamalarını ve mahsul üretimini artıran ucuz, çevre dostu, yeni bir biyostimülatör ve biyogeliştiricidir. Moringa, düşük maliyetle tohum çimlenmesini, bitki büyümesini, fotosentezi ve verim özelliklerini teşvik eder. Ayrıca, çiçeklenmeyi artırır, çiçek özelliklerini iyileştirir, meyve vermeyi destekler, hasat sonrası süreci iyileştirir ve meyve kalitesini artırır. Moringa, bitki patojenlerine karşı önemli bir biyopestisit olarak işlev görür ve hastalık yönetimi ile bitki sürdürülebilirliğinde kullanılır (Arif ve diğ., 2023).

2.5. DALAK

2.5.1. Dalağın Anatomisi

Dalak, diyaframın sol kubbesinde yer alan, dokuzuncu, onuncu ve on birinci kaburgalarla temas halinde olan intraperitoneal bir organdır. Uzun eksenini, onuncu kaburganın sol tarafında yer almaktadır. Sağlıklı yetişkinlerde dalağın ortalama çevresi 11 cm olup, uzunlamasına ölçülen en geniş kısmı 7 ile 14 cm arasında değişmektedir. Genellikle kanın içeriğine bağlı olarak, ağırlığı 150-200 g arasında değişmektedir. Dalak gelişimi, gelişimin beşinci haftasında başlar ve embriyonik visseral mezodermden köken alır (Varga ve diğ., 2018). Dalak ağırlığının vücut ağırlığına oranı, oldukça sabit kalır ve sıçanlarda genellikle %0.2 civarındadır. Dalak, yoğun lifli doku, elastik lifler ve düz kaslardan oluşan bir kapsül ile

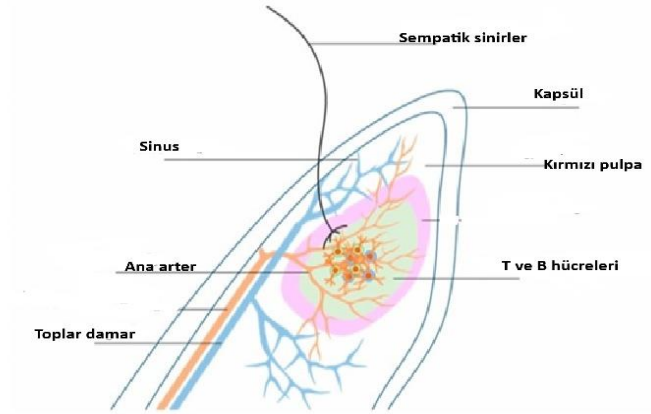
çevrilidir. Dalağın kapsülünün en dış tabakası, histolojik kesitte az belirgin olan mezotelyal hücrelerden oluşmaktadır. Kapsülden dalak parankimine doğru yayılan düzensiz aralıklı düz kas ve fibroelastik doku trabekülleri vardır. Bu trabeküller, kan ve lenfositlerin dalak lenf düğümlerine göç ettiği efferent damarlar olan lenf damarları ile sınırları de içerir (Cesta, 2006). Memelilerde dalak, ikincil bir periferik lenfoid organ olarak kabul edilir ve kırmızı kan hücrelerinin bilinen bir deposudur. Dalak, özellikle yaşlanmış ve hasar görmüş hücrelerin temizlenmesinde önemli bir rol oynamakta ve kanın filtrasyonu açısından kritik bir işlev üstlenmektedir (Brendolan ve diğ., 2007).

Dalak, hematopoietik ve lenfoid unsurları içermektedir, ekstramedüller hematopoiezin birincil yeridir. Bununla birlikte, kan akışından dejeneratif ve yaşlı kırmızı kan hücrelerini, parçacıklı maddeleri ve dolaşan bakterileri de temizler (Suttie, 2006). Dalak, vücudun en büyük bağışıklık organı olarak kabul edilmektedir ve kan filtrasyonu, antijenler, yabancı cisimler ile bağışıklık yanıtı gibi işlevlerden sorumludur (Zhang ve diğ., 2019).

Dalak, beyaz pulpa ve kırmızı pulpa olmak üzere iki ana bileşenden oluşmaktadır, bu iki bölgeyi birbirinden marjinal bölge ayırıyor. Beyaz pulpa, periferik olarak yer alan bir merkezi arteriol ile birlikte açık bir germinal merkez içeren bir folikülden oluşmaktadır ve lenfositlerden oluşan arteriyel lenfatik kılıf ile çevrilmiştir (Arshad ve diğ., 2023). Kırmızı pulpa, demir geri dönüşümünün gerçekleştirildiği bir alan olarak işlev görür ve burada makrofajlar, yaşlanan eritrositleri temizler. Beyaz pulpa, T ve B hücre bölgelerinden oluşur ve bu organın bağışıklık hücrelerinin büyük bir kısmını barındırmaktadır. Ayrıca, adaptif bağışıklık yanıtlarının aktive olduğu bir bölge olarak işlev görür. Marjinal bölge, beyaz pulpayı çevreleyerek, kırmızı pulpadan ayırmaktadır. Marjinal bölge aynı zamanda, kanda yabancı molekülleri ve organizmaları taramakla görevli çeşitli bağışıklık hücreleri ve stromal hücreleri içerir (Ghosh ve Stumhofer, 2021).

İnsan dalağındaki ikincil foliküller, bir germinal merkez, bir manto bölgesi ve bir yüzeysel bölgeden oluşan üç zona sahiptir. İnsanlarda, kırmızı pulpada bulunan arterioller ve kılıflı kılcallar, B hücreleri tarafından çevrelenmiştir. Parçacıkları ve diğer antijenleri, mikroorganizmaları ve yaşlanmış kırmızı kan hücrelerini kandan temizlemenin yanı sıra, dalak farelerde B hücrelerinin olgunlaşmasının son aşamalarında rol oynarken, insanlarda bellek B hücreleri, trombositler ve monositler için önemli bir depo işlevi görmektedir. Farelerde, sıçanlarda, insanlarda ve diğer türlerde, kırmızı pulpa kordonları geniş bir büyük makrofaj

popülasyonunu barındırmaktadır. Bu makrofajlar, venöz sinüs endotelyumunun hemen altında yer alır. Dalak kordonları, bağ dokusu boşluklarında büyük sayıda eritrosit, trombosit ve beyaz kan hücresi içermektedir. Mobilize edilebilir tüm insan trombositlerinin yaklaşık üçte birinin dalak kırmızı pulpasında depolandığı varsayılmaktadır. Hızla koşan ve dalan hayvanlar, eritrositleri dalakta biriktirir ve bu hücreleri dalak kasılmaları ile egzersiz sırasında serbest bırakırlar (Steiniger, 2015).



Şekil 2.3: Dalaktaki çeşitli bağışıklık hücrelerini içeren alanların şematik tasviri (Lori ve diğ., 2017).

2.5.2. Dalağın Histolojisi

Dalak, kanın fagositik ve immünolojik filtresi olarak işlev gören en büyük lenfoid organ olarak kabul edilmiştir. Dalak beyaz pulpası esas olarak lenf nodlarından oluşurken, kırmızı pulpası beyaz ve kırmızı kan hücrelerinden oluşmaktadır (Alcântara ve diğ., 2023).

Beyaz pulp, merkezi bir arteriol etrafında yer alır ve periarteriolar lenfoid örtü (PALS, T-hücre alanı), bitişik foliküller (B-hücre alanı) ve marjinal bölgeyi (B-hücre alanı) içerir. Lenfositlerin yanı sıra, marjinal bölge belirli makrofaj popülasyonlarını da içerir. Marjinal bölge, beyaz ve kırmızı pulp arasında yer alır ve marjinal bölge ile kırmızı pulp arasındaki kesişim her zaman belirgin değildir (Elmore, 2006).

Marjinal alan, kırmızı pulpa kordon makrofajlarından fonksiyonel olarak farklı olan lenfositler ve makrofajlar içerir. Bu hücrelerin, yeni farklılaşmış B-lenfositlerini çekerek marjinal alanın anatomik yapısını korumada önemli olduğu görülmektedir (El-Bassossy ve diğ., 2023).

Kırmızı pulpa, dalak iplikçikleri ve venöz sinüslerden oluşan üç boyutlu bir ağ yapısına sahiptir. Dalak iplikçikleri, retiküler lifler, retiküler hücreler ve bunlarla ilişkili makrofajlardan oluşmaktadır. İplikçikler arasındaki alanlarda, eritrositler, granülositler ve mononükleer hücreler dahil olmak üzere kan hücreleri bulunmaktadır. Ayrıca dalak iplikçikleriyle ilişkili olarak, antijene özgü farklılaşma sonrası folliküllerden ve dış PALS'tan göç eden lenfositler, hematopoietik hücreler, plazma hücreleri ve plazmablastlar da yer alır. Beyaz pulpa; lenfositler, makrofajlar, dendritik hücreler, plazma hücreleri, arterioller ve kapillerlerden oluşan bir retiküler çerçeve ile yapılandırılmıştır (Cesta, 2006).

2.5.3. Dalağın Fizyolojisi

Dalak, diğer lenfoid organlardan farklı olarak afferent lenfatik damarlar bulundurmamakta olup, temel fonksiyonlarını sistemik dolaşım ile ilişkili olarak gerçekleştirmektedir. Kırmızı pulpa, dalakta demir, eritrositler ve trombositler için bir depolama alanıdır. Dalak, vücuttaki lenfositlerin yaklaşık dörtte birini içeren en büyük ikinci lenfoid organ olup, merkezi arteriyelleri çevreleyen beyaz pulpa vasıtasıyla kan yoluyla taşınan antijenlere karşı bağışıklık tepkilerini başlatmaktadır. Dalakta çeşitli pigmentler bulunur. Fagositoz edilen eritrositlerin hemoglobininin elde edilen demir, dalakta depolanmak üzere hemosiderine dönüşmektedir. Demir pigmentleri (hemosiderin ve ferritin) kırmızı pulpadaki makrofajların sitoplazmasında en yaygın pigmentler olmaktadır. Dalakta melanin içeren melanositler, genellikle trabeküllerde veya kırmızı pulpada, lipidlerin oksidasyonundan kaynaklanan ceroid ve lipofuskin ise hücrelerin yaşlanması sonucu az miktarda kırmızı pulpadaki makrofajlarda bulunmaktadır (Cesta, 2006). Dalak, kan yoluyla taşınan partiküllerin filtrelenmesi ve temizlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Dalaktaki marginal bölge, sinüs astarını oluşturan retiküler hücreler, marginal bölge B hücreleri, dendritik hücreler, marginal metallofilik makrofajlar ve marginal bölge makrofajlarından oluşmaktadır. Marginal bölgede, kan terminal arteriyollerden açık sinüslere geçer, kan akışı yavaşlar ve kan yoluyla taşınan

parçacıklar yüksek verimlilikle tuzaklanılır (Aichele ve diğ., 2003). Dalak, normal vücutta fagositozu kolaylaştırır ve enfeksiyonlara karşı savunma yapar (Wang ve diğ., 2023). Bir diğer önemli nokta, dalağın normal fizyolojik trombosit seviyelerinin korunmasında önemli bir rol oynamasıdır. Trombositler sürekli olarak dolaşımdan çıkarılır veya depolanır ya da dalakta lenfositler tarafından yok edilir. Dalakta kırmızı kan hücrelerinin salınımı, sempatik sinir sistemi tarafından kontrol edilmektedir (Brendolan ve diğ., 2007). Dalak, yaşlanmış eritrositleri dolaşımdan uzaklaştırmanın yanı sıra, kan yoluyla taşınan mikroorganizmaların ve hücre atıklarının etkili bir şekilde temizlenmesini sağlar. Bu özellikleriyle, dalak antibakteriyel ve antifungal bağışıklık tepkilerinde hayati bir rol oynayan bir organdır (Hu ve diğ., 2014).

2.5.4. Dalağın Bağışıklık Sistemi Üzerindeki Etkileri

Dalak, vücutta önemli bir immünolojik organ olup, periferik lenfoid organ olarak bağışıklık yanıtlarını düzenlemede görev yapmaktadır (Nawaz ve diğ., 2023). Kronik iltihap yanıtlarından kaynaklanan hastalıkları önlemek için yeterince güçlü bir bağışıklık sistemine ihtiyaç vardır ve dalak, bağışıklık sistemi hücrelerinden olan lenfositlerin en yoğun bulunduğu organlardan biridir (Juliastuti ve diğ., 2022). Dalak, retiküloendotelial sistemin önemli bir bileşeni olup, enfeksiyon ve travma sonrası gelişen sistemik inflamasyonun düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır (El-Bassossy ve diğ., 2023).

Dalak, intravenöz yolla verilen bileşiklerin vücuttan atılmasında kritik bir rol oynamaktadır. B ve T lenfositlerinin varlığı nedeniyle, ksenobiyotiklerin veya metabolitlerin bu hücre popülasyonları üzerindeki immün toksik etkileri dalakta gözlemlenebilir. Radyasyona, virüslere veya T hücrelerinin nekroza ya da apoptoza uğramasına neden olabilecek ilaçlara maruz kalma, dalağın PALS bölgesindeki hücre sayısında azalmaya yol açabilir. Ayrıca, lenfositlerin yok edilmesine yönelik durumlarda, sistemik lenfosit sayıları belirgin bir şekilde azaldığında, kırmızı pulpta da lenfosit hücre sayısında azalma tespit etmek mümkündür. Kırmızı pulp, lenfositler ve makrofajlar içermesine rağmen, ağırlıklı olarak kırmızı kan hücrelerinden oluşmaktadır (Elmore, 2006). Beyaz pulpa, kan yoluyla taşınan antijenler ve antikolar ile etkileşerek bağışıklık yanıtını aktive eden bir bölgedir (Varga ve diğ., 2018).

Doğal antikolar, enfeksiyonlara karşı başlangıç savunmasında rol oynamanın yanı sıra, antijenin dalağa yönlendirilmesine yardımcı olarak adaptif bağışıklık yanıtını güçlendirmektedir (Brendolan ve diğ., 2007). Dalakta meydana gelen büyüme, gelişim ve yapı

değişiklikleri, vücudun bağışıklık yanıtı ve direnci üzerinde doğrudan etkiler yaratabilmektedir (Hu ve diğ., 2014).

Dalak, normal şartlar altında fagositozu kolaylaştırarak enfeksiyonlara karşı savunma işlevi görür. Ancak, sepsis durumunda dalak hasarı meydana geldiğinde, aşırı bir iltihaplanma bağışıklık yanıtını tetikleyebilir. Sepsis kaynaklı dalak hasarı, iltihaplanma yanıtlarını tetiklemenin yanı sıra oksidatif stres ve apoptozla birlikte seyredir. Oksidatif stresin belirgin bir özelliği, malondialdehit (MDA) seviyelerindeki artış iken, SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzimler, hücrel ve dokusal oksidatif hasara karşı etkili bir koruma sağlar (Wang ve diğ., 2023).

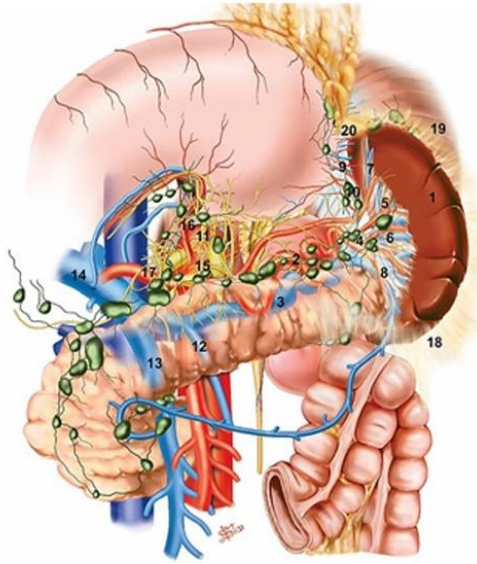
Dalakta sempatik sinir sistemi liflerinin yoğun bir şekilde yerleştiği ve bu liflerin sinaptik uçlarının bağışıklık hücreleriyle etkileşime girdiği, yapılan çeşitli deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Salınan nörotransmitterler, makrofajlar veya lenfositler gibi bağışıklık hücrelerinin yüzeyindeki spesifik reseptörlerle etkileşime girerek, bu hücrelerin yanıtlarını düzenlemektedir. Bunun yanı sıra, dalaktaki bağışıklık hücreleri ile dalak içindeki otonom sinir sisteminin lifleri arasında temel bir bağlantı olmaktadır. Sempatik sinir sistemi, dalakta salınan noradrenalin aracılığıyla bağışıklık hücrelerinin faaliyetlerini düzenlemektedir (Lori ve diğ., 2017).

2.5.5. Dalagın Hematolojik Sistem Üzerindeki Etkileri

Dalak, kanı filtreleyen bir organ olarak oldukça vasküler bir yapıya sahip olmakta ve içindeki kan akışı oldukça karmaşık bir organizasyona dayanmaktadır. Kan, dalak arterinden hilus aracılığıyla dalağa girer. Dalak arteri, dalak parankimine girerken trabeküler arterlere dallanır. Küçük arteriyoller, trabeküler arterlerden dallanarak kırmızı pulpa girer ve burada merkezi arteriyollere dönüşür, merkezi arteriyoller ise lenfoid doku ile çevrilidir. Daha küçük arteriyoller, merkezi arteriyollerden dallanarak beyaz pulpadaki kapiler yataklarına besleme sağlamaktadır. Bu arteriyollerin bir kısmı, beyaz pulpa ile marginal bölgenin birleşiminde marginal sinüste sonlanırken, diğerleri marginal bölgede sonlanmaktadır. Ayrıca, bazı arteriyoller beyaz pulpanın ötesine uzanarak kırmızı pulpadaki damar yapılarıyla birleşmektedir. Marginal sinüse ve marginal bölgeye ulaşan kan, marginal bölgeden süzülükten sonra kırmızı pulpa yönünde hareket eder. Dalaktaki kan akışının büyük bir kısmı, kırmızı pulpanın organizasyonu ile ilişkilidir ve bu süreçte, kanın yaklaşık %90'ı, kırmızı

pulpanın retiküler ağını atlayarak doğrudan venöz sinüslere ulaşmaktadır. Merkezi arteriyoller, beyaz pulpa çevresinde ilerlerken, beyaz pulpa miktarı giderek azalmakta ve arteriyoller, kırmızı pulpa içinde yer alan daha küçük damar yapıları ile devam etmektedir. Kırmızı pulpada toplanan kan, trabeküler venler aracılığıyla daha büyük venöz damarlara taşınarak dalaktan uzaklaştırılır. Ekstramedüller hematopoez, özellikle fetal ve neonatal dönemlerde dalak kırmızı pulpasında yaygın olarak gözlenmektedir. Bu süreçte kırmızı pulpa, hematopoetik hücrelerin üretimi için uygun bir mikroçevre sağlamakta ve eritroid, miyeloid, megakaryosit kökenli hücrelerin farklı kombinasyonlarını bulundurmaktadır (Cesta, 2006).

Dalak, bağışıklık sisteminin ana organlarından biri olup, çeşitli bağışıklık hücre popülasyonlarını barındırmaktadır. Dalakta, T ve B lenfosit popülasyonları ile makrofaj ve dendritik hücre popülasyonları bulunmaktadır. Bu hücreler, dalakta bağışıklık yanıtlarını düzenler ve vücuda giren patojenlere karşı savunma sağlar (Han ve diğ., 2023). Beyaz pulpun arteriolleri, periarteriyolar lenfoid örtü (PALS) ile çevrilidir ve T ve B lenfositlerinin yüksek derecede organize olmuş adalarını oluşturur. Eski ve hasar görmüş hücreler ve kanla taşınan mikroorganizmalar burada yakalanarak fagosite edilmektedir (Brendolan ve diğ., 2007).



Şekil 2.4: Dalağın kan damar yapısı (Weinzirl ve diğ., 2020).

Dalağın iç parankimaya doğru yönelen elastik ve lifli bir kapsülle çevrili olması, yapının stabilitesini sürdürülmesini sağlamaktadır. Dalak arterinden çıkan merkezi arterioller,

trabeküllerde dallanarak beyaz pulpayı çevreleyen marjinal bölge aracılığıyla kırmızı pulpa alanına akar ve sonrasında kan venöz sinüslere yönlendirilir (Lori ve diğ., 2017).

Kan, dalak kırmızı pulpasındaki kılcallardan çıkar ve venöz sinüslerde toplanarak drenaja yönlendirilir. Dalakta, kan hücreleri sinüslerdeki damar yapılarından geçmeden önce belirli bir filtrasyon sürecine tabi tutulurlar ve bu nedenle endotel bariyerini doğrudan geçemezler (Steiniger, 2015).

2.5.6. Dalak Patolojileri ve Hastalıkları

Dalakta iltihaplanma faktörlerinin salınımı sonucunda, pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar bileşenler arasındaki dengesizlik, hipertermi, yaygın koagülasyon, yetersiz doku perfüzyonu ve oksidatif hasar gibi semptomların ortaya çıkmasına yol açabilir. Zayıflamış dalağa sahip bireylerde, fulminan sepsis gelişme riski artmaktadır. Ayrıca, sepsis hastalarında dalak dokusunda belirgin apoptoz gözlemlenmektedir (Wang ve diğ., 2023). Sistemik enfeksiyonlar sırasında, dalak makrofajları kan içerisindeki bakterileri temizler ve organizmayı aşırı sepsis riskinden korur. Dalak alındığında, sepsis riski genel popülasyona kıyasla 10-20 kat daha yüksek olabilmektedir. Aspleniye sahip yenidoğanlarda, mukozal alanlar ve deri yoluyla gelişen bakteriyel enfeksiyonlar, hızla aşırı sepsise yol açar ve bu durum birkaç saat içinde ölüme sebep olabilir (Brendolan ve diğ., 2007).

Dalak, lenfoid kolonizasyon gerçekleşene kadar, yalnızca hematopoietik bir organ olarak işlev görür. Ancak bazı kan veya hematopoietik organların patolojik durumlarında (myelofibrosis gibi) eritroblastlar, miyelositler ve megakaryositler doğumdan sonra dalak içinde tutulmaktadır. Dalakla ilgili çeşitli nadir konjenital anomaliler tanımlanmıştır. Bunlar arasında genellikle Ivemark sendromu ile ilişkilendirilen aspleni (dalak yokluğu), organ heterotaksisi ile bağlantılı olan polispleni (birden fazla dalak bulunması) ve heterotaksi (organların normal anatomik pozisyonlarının dışına çıkması) belirtilir (Varga ve diğ., 2018).

Bağışıklık sistemi bileşenlerinde meydana gelen lezyonlar, dalak fonksiyonunu ve yapısını olumsuz etkileyebilir. Dalak, toksik etkilere maruz kalan bir organ olup, bazı kanserojen maddelerin de hedefi olabilmektedir (Suttie, 2006). Dalak fibrotik hale geldiğinde, orijinal fizyolojik işlevi bozulur. Dalakta bir problem olduğunda, bu bağışıklık sisteminin

işlevini bozar ve bunun sonucunda vücutta metabolik hastalıklar da daha sık görülebilir (Zhang ve diğ., 2019).

Yaşlanan Sprague-Dawley sıçanlarında, lenfosit hücre sayısında belirgin bir azalma ve miyelopoezde artış ile birlikte dalakta genişleme gözlemlenebilir (Elmore, 2006). Ayrıca, ilaçların aşırı dozda kullanımı dalakta toksisiteyi tetiklemektedir (Prince ve diğ., 2023).

2.6. ANTIOKSİDANLAR

Antioksidanlar, hücresel oksidatif stres sonucu sürekli olarak oluşan serbest radikallerin ortadan kaldırılmasına yardımcı olarak oksidasyon-redüksiyon (redoks) dengesinin korunmasında önemli bir rol oynar. Bunun yanı sıra, antioksidanların bazı enzimleri aktive ettikleri ve gen ifadelerinde rol oynadıkları belirtilmektedir. Bu mekanizmalar, organizmanın oksidatif stresle mücadele etmesine ve serbest radikalleri etkili bir şekilde kontrol altında tutarak fizyolojik dengeyi korumasına katkı sağlamaktadır (El-Bassossy ve diğ., 2023). Antioksidanlar, etki mekanizmalarına göre birincil antioksidanlar (radikal süpürücüler), ikincil antioksidanlar (peroksitleri ve diğer oksidanları nötralize edenler) ve metal şelatörleri (şelatlayıcılar) olarak sınıflandırılmaktadır. Birincil antioksidanlar arasında, sentetik bileşiklerden bütil hidroksianisol, bütil hidroksitoluen yer alırken, doğal antioksidanlardan tokoferoller, flavonoidler ve gallik asit esterleri bulunmaktadır. İkincil antioksidanlar arasında ise tiyoeterler, metiyonin gibi bileşikler yer almaktadır (Heş ve diğ., 2019). Antioksidan sistemi, enzimatik (SOD, GPx, CAT) ve enzimatik olmayan (C vitamini, E vitamini, karotenoidler ve glutatyon) antioksidanlarla yüksek reaktif oksijen türlerini en az reaktif ara ürünlere dönüştürmek ve oksidatif stresi azaltmak için çalışmaktadır. Dokulardaki antioksidanların seviyesindeki değişiklikler, oksidatif strese karşı hücresel yanıtı yansıtmaktadır (Arshad ve diğ., 2023). Antioksidan sistemi, esas olarak süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve toplam antioksidan kapasitesi (TAS) gibi antioksidan savunma bileşenlerini içermektedir. TAS, vücutta bulunan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların birleşik seviyesini temsil etmektedir. TAS'taki bir azalma, genellikle oksidatif stresin artışıyla ilişkilidir ve bu da çeşitli hastalıkların gelişimine zemin hazırlayabilir. SOD ve GPx, birbirini tamamlayıcı şekilde çalışarak hücreleri oksidatif hasarlardan korur ve vücutta güçlü bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar (Han ve diğ., 2023). Antioksidan enzimler, serbest radikalleri etkili bir şekilde temizleyerek hücre membranında lipid peroksidasyonunu baskılar. Bu süreç, malondialdehit (MDA) sentezini azaltarak membran hasarının önlenmesine katkı sağlamaktadır

(Hu ve diğ., 2014). GSH, tioredoksin, askorbik asit gibi antioksidanlar ve SOD, GPx, CAT, gibi koruyucu enzimler oksidatif strese karşı koyarak hücre bileşenlerini hasardan korumaktadırlar. Tokoferoller, askorbik asit, karotenoidler, flavonoidler, amino asitler, fosfolipidler ve steroller gibi antioksidanlar, tüketilen gıdalarda bulunan doğal antioksidanlardır. Bu maddeler, serbest radikalleri ve diğer oksidatif bileşenleri etkili bir şekilde nötralize ederek hücrelerin oksidatif stresle başa çıkmalarına yardımcı olmaktadır. Buna ek olarak, antioksidanlar metabolik ve ksenobiotik oksidanların olumsuz etkilerini azaltarak vücudu akut ve kronik hastalıklara karşı koruyabilir (Ali ve diğ., 2019). Kronik oksidatif stres durumunda, özellikle GSH, SOD, CAT ve GPx enzimlerinin aktiviteleri olumsuz şekilde etkilenebilir (Jurčacková ve diğ., 2023). Sağlıklı koşullar altında, reaktif oksijen türleri (ROS), vücuttaki antioksidan sistemlerle dinamik bir denge içinde bulunmaktadır. Ancak, SOD, GPx ve CAT gibi antioksidanların seviyelerinin azalması veya işlevlerinin bozulması, ROS birikmesine ve bunun sonucunda hastalıkların gelişimine yol açabilir (Zhang ve diğ., 2019). GPx ve CAT, hidrojen peroksiti (H_2O_2) zararsız hale getirerek oksidatif strese karşı koruma sağlamaktadır. Bazı dokularda CAT aktivitesinin düşük olduğu durumlarda, GPx sistemi ve glutasyon H_2O_2 'yi temizlemek için devreye girmektedir. Bu antioksidan enzimler birbirleriyle ilişkili bir şekilde çalışmakta olup, aktivitelerindeki azalma, ROS'un ve lipid peroksitlerinin birikmesine yol açarak oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır (Cheng ve diğ., 2018).

Antioksidanlar, oksidasyon tepkimelerini yavaşlatarak serbest radikallerin neden olduğu zincir reaksiyonları durdurabilmektedir. İnsan vücudunda, CAT, SOD, GPx ve GR gibi enzimler biyolojik savunma mekanizmalarının fonksiyonel bir şekilde işleyişinde önemli bir rol üstlenmektedir. SOD, sitozol ve mitokondride bulunan ve metal iyonları ile aktifleşen multimerik yapıda bir enzimdir. CAT ise mitokondride ve büyük ölçüde peroksizomlarda yer alır. GPx, substrata karşı CAT'a göre daha yüksek bir afiniteye sahiptir ve yağ asidi hidroperoksitlerini indirgemesiyle bilinir. Bu özellik, hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerini korumada önemli bir rol oynar. GR, oksitlenmiş glutasyonu (GSSG) NADPH kullanarak indirger, GSH ve GSSG oranını düzenlemeye yardımcı olur. GSSG konsantrasyonunun artışı, genellikle DNA kırılmasına, protein denatürasyonuna ve lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. A, C ve E vitaminleri gibi nonenzimatik antioksidanlar, oksidanların neden olduğu hücresel hasarı engelleyerek DNA, proteinler, lipidler ve diğer moleküllere yönelik oksidatif saldırıları önler ve böylece hücresel bütünlüğün korunmasına katkı sağlar. E vitamini, hücre membranlarının lipid peroksidasyonunda zincir kırıcı bir rol

üstlenir ve bu mekanizma aracılığıyla hücre membranlarını lipid peroksidasyonuna karşı korur. İndirgenmiş veya oksitlenmiş formda glutatyon, tüm hücre bileşenlerinde belirli konsantrasyonlarda bulunmaktadır. GSH, oksidatif stresi azaltmada, redoks dengesini korumada, metabolik detoksifikasyonu artırmada ve bağışıklık sistemini düzenlemede kritik bir rol oynar (Sameni ve diğ., 2023).

2.7. SERBEST RADİKALLER VE OKSİDATİF STRES

2.7.1. Serbest Radikaller

Reaktif oksijen, azot ve reaktif kükürt türleri, lipidler, proteinler ve DNA üzerinde oksidatif hasara neden olmaktadır. Bu reaktif birleşikler, tipik olarak serbest radikaller ve radikal olmayan oksidanlar olarak iki gruba ayrılmaktadır. Serbest radikaller genellikle elektriksel olarak yüklenmiş olup, diğer maddelerle reaksiyona girerek kendilerini nötralize etme eğilimindedirler. Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS) ve reaktif kükürt türleri (RSS), vücutta meydana gelen üç ana oksidan sınıfını oluşturur. ROS arasında, süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikaller bulunurken, reaktif azot türlerinin ana bileşenleri nitrik oksit ve peroksinitrittir. Ayrıca, ROS'un tiol bileşikleriyle reaksiyona girmesi sonucu reaktif kükürt türleri, örneğin thiyl radikali ve disülfidler oluşmaktadır. Serbest radikallerin etkileri, membran lipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonundan proteinlerin yapısal ve fonksiyonel değişikliklerine, DNA ipliklerinin kırılmasından RNA oksidasyonuna, mitokondri depolarizasyonu ve apoptoza kadar bir dizi önemli biyolojik süreci içerir (Ali ve diğ., 2019). Serbest radikaller, yüksek reaktiviteye sahip moleküller olarak, çeşitli enzimlerin oksidasyonunu tetikleyebilir ve membran lipidlerinde oksidasyon yaparak lipid peroksidasyonuna yol açabilir. Bu süreç, serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitleriyle etkileşime girmesi sonucu gerçekleşir ve hücre hasara neden olabilir (Prince ve diğ., 2023). Hücre içindeki serbest radikaller, hücre hasarı ve moleküler işlevler üzerinde zararlı etkilere yol açar, hücre yapıları ve işlevleri olumsuz etkiler; bu durum, DNA, lipidler ve proteinler gibi temel biyomoleküller üzerinde hasara neden olabilir (El-Bassossy ve diğ., 2023).

Serbest radikallerin yüksek seviyeleri, hücre hasarı tetikleyen oksidatif stres mekanizmaları aracılığıyla beyin hasarları, inme ve nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde katkıda bulunabilmektedir. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre zarlarında bulunan

çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek oksidasyon meydana getirmesi sonucunda oluşmaktadır. Bu süreç, hücre zarının yapısal bütünlüğünü bozarak hücrel işlevlerde aksamalara ve oksidatif strese neden olmaktadır. Nitrik oksit (NO), serbest radikal özellik taşıyan bir molekül olup, çiftleşmemiş elektronu sayesinde oksijen, süperoksit anyonu, azot türevleri ve geçiş metalleri ile yüksek reaktivite göstermektedir. NO, çeşitli koşullar altında azot dioksit, azot trioksit, nitrat ve diğer reaktif azot türlerine dönüşebilmekte ve tioller ile reaksiyona girerek reaktif kükürt türleri oluşturabilmektedir. H_2O_2 , süperoksit anyonundan daha az reaktif olmasına rağmen, hücre zarlarından geçebilme özelliği ve difüzyon yapabilmesi nedeniyle biyolojik sistemlerde daha geniş etki alanına sahip olmaktadır (Sameni ve diğ., 2023).

Süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri, mitokondrilerin yanı sıra, endoplazmik retikulumda, peroksizomlarda ve sitozolde, üretilmektedir. Bu süreçlerde, başlıca rol oynayan mekanizmalar arasında solunum zinciri kompleksleri, NADPH oksidaz enzimleri, ksantin oksidaz ve diğer oksidatif enzimler yer almaktadır. Süperoksit anyonu, antioksidan enzim olan SOD tarafından H_2O_2 'ye dönüştürülmektedir. Sonrasında, fazla H_2O_2 , antioksidan enzim CAT ve GPx aracılığıyla su ve moleküler oksijene indirgenir. SOD ve CAT, GPx gibi antioksidan enzimler lipid peroksidasyonunu ve oksidatif stresi azaltarak oksidatif dengenin sağlanmasına katkıda bulunmaktadır (Jurčacková ve diğ., 2023).

2.7.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, hücrelerde ve dokularda reaktif moleküllerin üretilmesi ve birikmesiyle oluşur. ROS, biyomoleküllere saldırarak hücre hasarına yol açar ve bu da çok sayıda hastalık ve metabolik bozukluğa neden olur. SOD, CAT, GPx ve GSH, ksenobiotiklerin toksisitesini değerlendirmek için oksidatif stres biyomarkerleri arasında yer almaktadır. MDA, hücrelerde çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir ve oksidatif stres koşullarında serbest radikallerin artışına yol açmaktadır. Dolayısıyla, MDA'daki fazlalık oksidatif stresin varlığını gösterir. Söz konusu parametrelerdeki varyasyonlar, oksidatif stresin önemli göstergesi olarak kabul edilmektedir (Arshad ve diğ., 2023). Oksidatif stresin indüklenmesi, büyük miktarda reaktif oksijen türlerinin üretilmesi ile lipid peroksidasyonu, protein yıkımını artırarak amonyak seviyelerini yükselmesi, DNA ayrıştırılması ve dalakta hücre hasarına neden olan komplikasyonlara yol açar (Umoren ve diğ., 2023). Lipid peroksidasyonu, hücre zarının bozulması, nükleik asit oksidasyonu ve hücre hasarı, oksidatif

stresin vücudun antioksidan savunma mekanizmasını tüketmesi sonucu meydana gelir (Prince ve diğ., 2023). Yüksek konsantrasyonlarda, birçok antioksidan pro-oksidan olarak davranarak oksidatif stresi artırabilir ve toksisiteye yol açabilir (Hu ve diğ., 2014). Büyük miktarda ROS üretilmesi, oksidatif stresi artırarak oksidatif DNA hasarına yol açar. Bununla birlikte, aşırı ROS, MDA düzeylerini de artırarak hücre yapısına ciddi zarar verir ve hücre fonksiyonunu etkiler. Oksidatif hasardan sorumlu başlıca ROS'lar süperoksit anyon radikalleri, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi radikal olmayan oksidanlardır (Wang ve diğ., 2023). Kronik oksidatif stres, sinyal iletiminde, mitogenezde, hücre ölümü ve apoptozda değişikliklere neden olabilir. Hücrelerde kalıcı veya kronik oksidatif stresin varlığında, endojen antioksidan düzenleyici sistemlerin, özellikle GSH, SOD, CAT ve GPx gibi enzimlerin fonksiyonları genellikle azalmakta veya baskılanmaktadır (Jurčacková ve diğ., 2023). Vücutta sürekli oksidatif stres, kronik iltihaplanmaya neden olabilir. Patolojik koşullar altında, redoks homeostazının bozulması ROS'un aşırı üretimine yol açar, bu da oksidatif strese ve oksidatif hasara neden olur (Pan ve diğ., 2023). Oksidatif stres, birçok kronik hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Oksidatif stres ve iltihap, birbiriyle yakından ilişkili patofizyolojik süreçler olup, pek çok patolojik durumda eş zamanlı olarak ortaya çıkar. İltihap sırasında, makrofajlar gibi aktive olmuş fagositik hücreler, istilacı patojenleri yok etmek amacıyla yüksek miktarda ROS ve RNS üretmektedir. Bu reaktif türlerin bazıları fagositik hücrelerden dışarı difüze olarak lokalize oksidatif stres ve doku hasarını tetikleyebilir (Sameni ve diğ., 2023).

Bu tez çalışmasında, sıçanlarda sodyum valproat ile deneysel olarak oluşturulan dalak hasarına karşı *M. oleifera*'nın olası koruyucu etkileri araştırılması hedeflendi.

3. YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR VE ALETLER

Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda bulunan cihaz ve aletler kullanılmıştır.

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

2,2'-Azino-bis (3-etil benzotiazolin 6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (Sigma 11557), 4-aminoantiprin (Sigma A4382), 1-butanol (Merck 100988), 4-dimetilaminobenzaldehid (Sigma 109762), 5,5'-ditiyobis (2-nitro benzoik asid) (Sigma D218200), d-(+)-fukoz (Sigma F8150), d-(+)-glukozamin hidroklorür (Fluka 49130), d-glukoz 6-fosfat sodyum tuzu (Fluka 49282), N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür monometanoat (Fluka 70720), L-arginin monohidroklorür (Merck 101543), L-hidroksiprolin (Merck 104506), L(+)-sistein hidroklorür monohidrat (Merck 2839), β -nikotinamid adenin dinükleotid (Sigma 43420), β -nikotinamid adenin dinükleotid fasfat disodyum tuzu (Fluka 93205), 4-nitrofenil fosfat disodyum tuzu heksahidrat (Fluka 71770), 1,1,3,3-tetra etoksi propan (Sigma T9889), 2-tiyobarbütirik asid (Fluka 88481), albumin (Merck 112018), benzoik asid (Fluka G145292), çinko sülfat heptahidrat (Merck 8881), diasetilmonoksim (Merck 2918), disodyum fosfat (Fluka 71642), disodyumhidrojen fosfat (Merck 106580), dipotasyum tartarat (Merck 1950209), etilendiamintetraasetik asit sodyum tuzu (Merck 2604134), fenol (Merck 5559), glutatyon redüktaz (Sigma G3664), HEPES (Sigma H3375), hidrojen peroksit (Merck 108600), kalsiyum klorür (Fluka 21085), ksantin (Sigma X0626), ksilenol orange (Merck 108677), meta-fosforik asid (Merck 100546), o-dianisidin dihidroklorür (Sigma D3252), okside glutatyon (Sigma G4376), orsinol monohidrat (Sigma 01875), potasyum dihidrojen fosfat (Merck 104873), potasyum iyodür (Mallinckrodt 9688), potasyum klorür (Merck 4935), redükte NADPH tuzu (Sigma N1630), riboflavin (Sigma 47861), sikloheksanon (Merck 102888), siyalik asit (Fluka 01400), sodyum bikarbonat (Fluka 71628), sodyum hidroksit (Merck 106482), sodyum karbonat (Fluka 71351), sodyum klorür (Sigma 13423), sodyum meta arsenit (Sigma S7400), sodyum nitrit (Merck 6544), sodyum piruvat (Merck 260234), sodyum sülfat (Merck 822286), sodyum sülfat (Merck 822286), sulfanilamid (Fluka 86060), sülfürik asit (Merck 100713), tiosemikarbazid (Merck 108156), trikloro asetik asid (Merck 100807), tris (Merck 108382), üre (Riedel de Haën 15604), valproik asit (Merck 814439), vanadium (III) klorür (Sigma 112393), volframatofosforik asit (Merck 582).

3.3. BİTKİ ÖRNEKLERİ TOPLAMA VE HAZIRLAMA PROSEDÜRÜ

Nijerya'nın Sokoto eyaletinin Sokoto şehrindeki çiftliklerden *M. oleifera*'nın taze yaprakları toplanmış ve bu bitkinin türü, Usmanu Danfodiyo Üniversitesi Sokoto Biyolojik Bilimler Bölümü Botanik Birimi'nden Taksonomist Umar Abdullahi tarafından belirlenmiştir. Moringa yaprakları, distile su ile yıkanarak gölgede kurutulmuştur. Kurutulan yapraklar, toz haline getirilmiştir. Yaprak tozu, %70'lik etanol çözeltisi kullanılarak Sokslet ekstraktörü ile işlenmiştir. 100 g yaprak, 150 mL %70 etil alkol ile birlikte Sokslet cihazına konulmuş ve reflüks edilmiştir. Ekstraksiyon işleminin sonunda, çözücü evaporatörde uzaklaştırılmıştır. Elde edilen kalıntı tartılmış ve etiketli Ependorf tüplerine aktarılmıştır. Son olarak, bu ekstre kullanıma kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.4. DENEYSEL TASARIM

Bu tez çalışması için kullanılan deney hayvanları, Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun "11.2020.mar" numaralı ve 10.02.2020 tarihli etik kurul izni ile alınmıştır. Çalışmada 46 adet Sprague Dawley (3- 3.5 aylık) ırkı dişi sıçanlar kullanıldı. Deneyin uygulanması süresince sıçanlar normal pellet yem ve musluk suyu ile beslendiler. Sıçanlarda dalak hasarı oluşturmak için sodyum valproat kullanıldı. %70'lik moringa alkollü özüt ise sıçanlara koruyucu madde olarak verildi. Çalışmada, rastgele olarak seçilen Sprague Dawley dişi sıçanlar dört gruba ayrıldı: Grup I: kontrol grubudur (n=8) ve 15 gün boyunca %0.9 NaCl (1 mL) verildi, Grup II: sadece %70'lik etanollü moringa yaprak ekstresi (300 mg/kg/gün) verilen (n=15), Grup III: sadece sodyum valproat (500 mg/kg/gün) verilen (n=8), Grup IV: aynı doz ve aynı süre ile sodyum valproat + moringa ekstresi ağız yoluyla verilen gruptur (n=15). Deneyin onaltıncı gününde, bir gece öncesinden aç bırakılan tüm sıçanlar kurban edildi. Alınan dalak dokuları fizyolojik su ile yıkandıktan sonra -80°C'de saklandı.

3.5. DALAK DOKU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI

Dalak homojenizatları hazırlanırken dalak makasla ufak parçalara ayrıldı ve tartıldı. Tartılan dalak dokuları, konsantrasyonları %10 (w/v) olacak şekilde, soğuk serum fizyolojik ile homojenize edildi. Elde edilen homojenizatlar, soğutmalı santrifüj cihazında 10 dakika boyunca +4°C'de 10.000 rpm'de santrifüje edildi. Santrifüjden sonra elde edilen dalak dokularının süpernantlarının üst fazları Ependorf tüplerine alınarak numaralandı ve deneylerin yapılacağı güne kadar -80°C'de saklandı.

3.6. HOMOJENİZATLARDA ANALİZ EDİLEN BİYOKİMYASAL PARAMETRELER

Dalak dokularında, glutatyon (Beutler, 1975) ve lipid peroksidasyonu (Ledwozyw ve diğ., 1986), siyalik asit (Lorentz ve diğ., 1986), hidroksi prolin (Reddy ve Enwemeka, 1996) miktarları, süperoksit dismutaz (Myroie ve diğ., 1986), katalaz (Aebi, 1984), ksantin oksidaz (Corte ve Stirpe, 1968), glutatyon redüktaz (Beutler, 1971), glutatyon-S-transferaz (Habig ve Jakoby, 1981), glutatyon peroksidaz (Wendel, 1981), paraoksonaz (Furlong ve diğ., 1988) ve arginaz (Geyer ve Dabich, 1971) aktiviteleri, total antioksidan seviyesi (TAS) (Erel, 2004), total oksidan seviyesi (TOS) (Erel, 2005), reaktif oksijen türleri (ROS) (Zhang ve diğ., 2018), nitrik oksit (NO) (Miranda ve diğ., 2001), ileri okside protein ürünleri (AOPP) (Witko-Sarsat ve diğ., 1996) miktarları, glikoprotein (fukoz, heksoz ve heksozamin) seviyeleri (Dische ve Shettles, 1948; Winzler, 1955), laktat dehidrojenaz (Bais ve Philcox, 1994), glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (Beutler, 1984), asit fosfataz aktiviteleri (Walter ve Schutt, 1974), protein miktar tayinleri (Lowry ve diğ., 1951) gibi biyokimyasal parametreler tayin edildi.

3.7. DALAK DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTAR TAYİNİ

Dalak dokusunda glutatyon (GSH) miktar tayini, Beutler (1975) metoduna göre yapılmıştır. Ellman ayırıcı (5,5'-ditiyobis-(2-nitro benzoik asit)), tiyol (-SH) gruplarıyla reaksiyona girdiğinde sarı renkli bir ürün oluşturur. Bu ürünün absorbans değeri spektrofotometrede 412 nm'de tayin edilmiştir.

Kullanılan Çözeltiler

Çöktürme Reaktifi

% 1 lik Sodyum Sitrat Çözeltisi

Ellman Ayırıcı

0.3 M Sekonder Sodyum Fosfat Çözeltisi

GSH Stok Standart Çözeltisi

GSH Standart Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

200 µL dalak doku homojenatı üzerine 300 µL çöktürme çözeltisi ilave edildi, karıştırıldı ve 5 dakika 3000 rpm'de santrifüje edildi. Süpernatantlar alındı. Elde edilen süpernatantdan bir deney tüpüne 100 µL alındı. Başka bir tüpüne de 100 µL serum fizyolojik ilave edildi ve bu tüp kör tüpü diye adlandırıldı. Standart tüpüne 100 µL standart çözelti eklendikten sonra tüplere 400 µL 0.3 M Na₂HPO₄ ve 50 µL Ellman ayırıcı ilave edildi. Vortekslendi ve 5 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi. 412 nm dalga boyunda köre karşı okundu.

Dalak dokusunda GSH miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Glutasyon Miktarı (nmol GSH/mg protein)} = (N_{\text{abs}}/\text{Std}_{\text{abs}}) \times [(2.5 \times A)/307.3] \times 106/P$$

N_{abs} : Numune için elde edilen absorbans değeri

Std_{abs} : Standart için elde edilen absorbans değeri

A: Standart konsantrasyonu (% mg)

P: Doku % mg protein miktarı

307.3: Glutasyon'un molekül ağırlığı

3.8. DALAK DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU MİKTAR TAYİNİ

Dalak dokusundaki lipit peroksidasyon (LPO) tayini Ledwozyw ve diğ., (1986) metoduna göre tayin edildi. Kullanılan yöntemde tiyobarbütirik asit (TBA) ve peroksidasyon ürünü olan malondialdehit arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembe rengin absorbansı spektrofotometre cihazında 532 nm dalga boyunda ölçüldü.

Kullanılan Çözeltiler

0.6 M HCl Çözeltisi

1.22 M Trikloro asetik asid (TCA) Çözeltisi

1 N NaOH Çözeltisi

0.047 M TBA Çözeltisi

4.4 nmol/mL LPO Stok Standart Çözeltisi

LPO Çalışma Çözeltisi

n-Butanol

Deneyin Yapılışı

Numune tüpüne 0.4 mL dalak homojenatı eklendi. TCA (1.22 M) çözeltisi numune tüpü ile birlikte kör ve standart tüplerine 2 mL olarak eklendi, karıştırıldı ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda kör tüpüne 0.4 mL serum fizyolojik, standart tüpüne 0.4 mL LPO çalışma standardından ilave edildi. Daha sonra kör, numune ve standart tüplerine 0.6 mL tiyobarbitürik asit çözeltisinden ilave edildi, karıştırıldı. Ağızları kapatılarak kaynar su banyosunda 30 dakika kaynatıldıktan sonra su ile soğutuldu. Bu işlemi takiben bütün tüplere 1.6'şar mL n-butanol ilave edildi, tüpler vorteks cihazında karıştırıldı. Santrifüj tüpüne aktarılan karışımlar 3000 rpm'de 5 dakika santrifüje edildi. Tüplerin absorbansı spektrofotometrede köre karşı 532 nm'de okundu.

Dalak dokusunun LPO miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{LPO Miktarı (nmol MDA/mg protein)} = [N_{\text{abs}}/S_{\text{abs}}] \times [4.4 / P] \times 100$$

N_{abs} : Numunenin absorbans değeri

S_{abs} : Standartın absorbans değeri

4.4 nmol/mL: Standart çözeltinin konsantrasyonu

P: % mg cinsinden protein miktarı

3.9. DALAK DOKUSUNDA SİYALİK ASİT MİKTAR TAYİNİ

Dokuda siyalik asit (SA) miktarı, Lorentz ve diğ., (1986) yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yöntem, periyodik asidin yükseltgenmesi sonucunda oluşan 2-formil pürivik asidin, iki mol tiyobarbitürik asit ile tepkimeye girerek meydana getirdiği renkli bileşiğin 546 nm'deki absorbansının okunmasına dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler

155 mM NaCl Çözeltisi

67 mM H₂SO₄ Çözeltisi

200 mM Sodyum Meta Periyodat Çözeltisi

1.54 mM Sodyum Meta Arsenit Çözeltisi

Tiyobarbitirik Asid Çözeltisi

1.617 mM Siyalik Asid Standardı

Deneyin Yapılışı

Kör, numune ve standart tüpleri alındı. Numune tüpüne 10 µL doku homojenatı, standart tüpüne 10 µL standart çözeltisi ve kör tüpüne de 10 µL serum fizyolojik eklendikten sonra tüm tüplere sırası ile 100 µL 155 mM NaCl ve 300 µL 67 mM H₂SO₄ çözeltisi ilave edilip karıştırıldı. Ağızları kapatılarak 60 dakika 80°C'lik su banyosunda bekletildikten sonra su içerisinde oda sıcaklığında soğutuldu. Soğutma işleminden sonra tüm tüplere 100 µL 200 mM sodyum meta periyodat ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 20 dakika bekletildikten sonra 400 µL 1.54 mM sodyum meta arsenit ilave edildi. Sonra iyodun rengi gidinceye kadar tüpler çalkalandı. Tiyobarbitirik asit çözeltisinden bütün tüplere 1'er mL ilave edildi ve 90°C'de 15 dakika bekletildi. Soğutulduktan sonra 2'şer mL siklohekzanon ilave edilerek 10 dakika santrifüje edildi. Siklohekzanon eklenerek siyalik asit siklohekzanon fazına çekildi ve 546 nm'de spektrofotometrede absorbans değerleri okundu.

Dalak dokusunun siyalik asit miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$SA \text{ Miktarı (mmol/g protein)} = [(N_{Abs} \times 1.617) / Std_{Abs}]$$

N_{Abs} : Numunenin absorbans değeri

Std_{Abs} : Standardın absorbans değeri

3.10. DALAK DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

SOD aktivitesi Mylorie ve diğ., (1986) tarafından geliştirilen yöntemle göre tayin edildi. Riboflavinin floresans ışığın etkisi ile oluşturduğu süperoksit radikali, ortamdaki enzimin etkisi

ile H_2O_2 'e dönüştürülür. Meydana gelen H_2O_2 'in o-dianisidin ile reaksiyonu sonucu oluşan ürünün 460 nm'de spektrofotometrede absorbansı ölçülerek enzim aktivitesi bulunur.

Kullanılan Çözeltiler

50 mM, pH 7.8 Fosfat Tampon Çözeltisi

0.1 mM Etilendiamintetraasetik Asit Çözeltisi (EDTA)

10 mM, pH 7.5 Fosfat Tampon Çözeltisi

6 mM o-Dianisidin-Hidroklorür Çözeltisi

0.2 mM Riboflavin Çözeltisi

120 IU/mL SOD Stok Standardı

Deneyin Yapılışı

Dalak doku homojenatlarında SOD aktivitesi tayininde kör, standart ve numune tüpleri olarak tüpler adlandırıldı. Etilendiamintetraasetik asit içeren pH 7.8 fosfat tamponundan kör tüpüne 1.35 mL, standart tüpüne 1.35 mL ve numune tüpüne 1.3 mL ilave edildi. Tüm tüplere o-dianisidin çözeltisinden 0.05 mL ilave edildi. Dalak doku homojenatından numune tüpüne 0.05 mL, standart tüpüne standarttan 0.05 mL ilave edildikten sonra tüm tüplere riboflavin çözeltisinden 0.05 mL ilave edildi. Tüplerin absorbans değerleri hazırlanan kör tüpüne karşı 460 nm'de ilk absorbans değerleri okunduktan sonra, tüpler sekiz dakika boyunca UV ışık altında oda temperaturünde bekletildikten sonra aynı dalga boyunda tekrar absorbansları okundu.

Tüplerin spektrofotometrede 460 nm'de ilk absorbans değeri okundu. Ardından kör, numune ve standart örnek tüpleri floresans ışıkta 8 dakika bekletildi ve absorbans değerleri tekrar 460 nm'de okundu. Dalak dokusu homojenatının SOD aktivitesi, standart enzim grafiği yardımı ile U/mg protein cinsinden hesaplandı.

3.11. DALAK DOKUSUNDA KATALAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Dalak dokusunda katalaz (CAT) aktivitesi, Aebi (1984) yöntemi kullanılarak tayin edildi. Bu yöntemde, hidrojen peroksit CAT enzimi ile H₂O'ya dönüştürülür ve bu esnada meydana gelen absorbans azalması, spektrofotometrik olarak 240 nm'de ölçüldü.

Kullanılan Çözeltiler

50 mM, pH 7.0 Fosfat Tamponu

3 mM H₂O₂ Çözeltisi

Serum Fizyolojik Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Kör tüpüne 0.2 mL serum fizyolojik, numune tüpüne ise 0.2 mL dalak doku homojenatından ilave edildikten sonra üzerlerine 0.8 mL H₂O₂ çözeltisi ilave edildikten sonra 240 nm'de spektrofotometrede numunelerin 0. ve 1. dakikada köre karşı absorbans değerleri okundu.

Dalak dokusunda CAT aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$\text{CAT Aktivitesi (U/mg protein)} = ((\Delta\text{OD}) / 0.0436) \times (V_T / V_N) \times f / P$$

V_T: Toplam çözelti hacmi

V_N: Numune hacmi

f: Seyreltme katsayısı

P: mg/mL cinsinden doku protein miktarı

ΔOD : 0. ve 1. dakika arasındaki absorbans farkı

3.12. DALAK DOKUSUNDA KSANTİN OKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Dalak dokusunda ksantin oksidaz (XO) aktivitesi Corte ve Stirpe (1968) metoduna göre spektrofotometrik olarak tayin edildi. Enzim, ksantinin ürik aside dönüşümünü katalizler. Reaksiyon sonunda meydana gelen ürik asidin absorbansı 286 nm’de tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

50 mM, pH 7.4 Potasyum Fosfat Tampon Çözeltisi

3 mM EDTA

2 mM Ksantin Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Dalak dokusunda XO aktivite tayini için kör ve numune tüpleri alındı. Doku homojenatından numune tüpüne 10 µL eklendi. Potasyum-fosfat tamponundan kör tüpüne 0.88 mL, numune tüpüne 0.87 mL ilave edildikten sonra sırası ile tüm tüplere 33’şer µL EDTA ve ksantin çözeltileri ilave edildi. Ardından, 286 nm’de spektrofotometrede 0. ve 10. dakikalardaki absorbansları okundu. Aktivite aşağıda verilen formüle göre hesaplandı.

$$\text{XO (U/mg protein)} = (\Delta\text{OD}/10)/\text{mg protein}$$

ΔOD : Absorbans farkı (0. ve 10. dakikalar arasında ölçülen)

3.13. DALAK DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Dalak dokusundaki glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi, Beutler (1971) yöntemine göre tayin edildi. Yöntem, okside glutatyonun glutatyon redüktaz ile indirgenmesi sonucunda yükseltgenen NADPH miktarının hesaplanmasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

50 mM Tris Çözeltisi

1 mM EDTA içeren Tris-HCl (50 mM, pH 8.0) Tampon Çözeltisi

2mM NADPH Çözeltisi

20 mM GSSG Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Dalak dokusunda glutatyon redüktaz aktivitesi tayininde kör ve numune tüpleri alındı. Sıra ile tüplere Tris-HCl tamponundan 180 ve 174 μL , 10 μL NADPH ve GSSG çözeltisi eklendikten sonra numune tüpüne 6 μL homojenat ilave edildi ve 340 nm’de köre karşı 5 dakika boyunca absorbans azalması spektrofotometrede ölçülerek aşağıda verilen formüle göre aktivite hesaplandı.

$$\text{GR Aktivitesi (U/g protein)} = [(\Delta\text{OD}/\text{dk}) / 6.22 \times (V_T/V_Ö) \times f] / \text{g protein}$$

ΔOD : 0. ve 5. dakika arasında ölçülen absorbans farkı

V_T : Toplam çözelti hacmi

$V_Ö$: Örnek hacmi

f: Seyreltme katsayısı

6.22: NADPH için 340 nm’deki molar absorpsiyon katsayısı

3.14. DALAK DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Dalak dokusunda glutatyon-S-transferaz (GST) enzim aktivitesi, Habig ve Jakoby (1981) metoduna göre GSH ve CDNB’nin konjugasyonu sonucunda oluşan ürün spektrofotometrik olarak 340 nm’de okundu.

Kullanılan Çözeltiler

0.2 M, pH 6.5 Potasyum Fosfat Tampon Çözeltisi

60mM GSH Çözeltisi

60 mM 1-Kloro-2,4-Dinitrobenzen (CDNB) Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Dalak dokusunda GST aktivitesi için alınan tüpler kör ve numune tüpü olarak numaralandırıldıktan sonra sırası ile tüplere fosfat tamponundan 2 ve 1.5 mL ilave edildi. Dalak homojenatından numune tüpüne 0.5 mL konuldu. Daha sonra tüm tüplere 50 µL GSH ve CDNB çözeltisi ve 900 µL distile su ilave edildi. Spektrofotometrede 340 nm’de üç dakika boyunca köre karşı absorbans değeri okundu.

GST aktivitesi ;

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

ΔOD : 0. ve 3. dakikalar arasındaki absorbans farkı

f: Seyreltme faktörü

3.15. DALAK DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Dalak dokusundaki glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesinin tayini Wendel (1981) yöntemine göre yapıldı. Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksit varlığında GSH’ın yükseltgenmiş glutatyon dönüşümünü katalizler. GPx reaksiyonu ile oluşan okside glutatyon, NADPH’ın indirgeyici substrat olarak kullanıldığı GR reaksiyonu ile tekrar indirgenmiş glutatyon dönüşür. Reaksiyon sonucunda oluşan absorbans değerindeki azalma 366 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Kullanılan Çözeltiler

0.25 M, pH 7.0 Potasyum Fosfat Tampon Çözeltisi

10 mM GSH Çözeltisi

2.5 mM NADPH Çözeltisi

6 U/mL Glutatyon Redüktaz Çözeltisi

12 mM H₂O₂ Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Dalak dokusunda GPx aktivitesi tayininde kör ve numune tüplerine sıra ile fosfat tamponundan 60 ve 40 μL , numune tüplerine 20 μL doku, 10 μL GSH, NADPH, GR ve günlük olarak hazırlanan H_2O_2 ilave edildi. Spektrofotometrede absorbands değişimi okundu ve aşağıda verilen formüle göre dalak doku homojenatlarının GPx aktivitesi hesaplandı.

$$\text{GPx Aktivitesi (U/mg protein)} = [(\Delta\text{OD}/\text{dk}) / 6.22 \times 10^3 \times (V_T/V_0) \times f] / \text{mg protein}$$

ΔOD : 0. ve 5. dakikalar arasındaki absorbands farkı

V_T : Toplam çözelti hacmi

V_0 : Örnek hacmi

f: Seyreltme faktörü

6.22: Molar ekstinksiyon kat sayısı (mM)

3.16. DALAK DOKUSUNDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Dalak dokusunda paraoksonaz (PON) aktivitesi, Furlong ve diğ., (1988) yöntemi kullanılarak saptandı. Enzimin substratı olan paraokson etili hidrolizi sonucu açığa çıkan p-nitrofenol 405 nm'de spektrofotometrede okunarak tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

pH 8.5 Tris-HCl Çözeltisi

120 mM Paraokson Etil Çözeltisi

Aseton

Deneyin Yapılışı

Dalak dokusunda PON aktivitesi tayininde kör ve numune tüplerine 0.132 M Tris-HCl çözeltisinden 800 ve 760 μL konuldu. Numune tüpüne doku homejenizattan 40 μL ilave

dildikten sonra tüm tüplere taze hazırlanan paraoksan substratından 200 µL ilave edilerek tüpler 37°C’de 5 dakika boyunca inkübe edildi. Numune absorbansı köre karşı 405 nm’de okundu. Dalak dokusunda PON aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$\text{PON Aktivitesi (U/L)} = A/dk \times 1.36 \times 1000$$

$$\text{PON Spesifik Aktivitesi (U/g protein)} = \text{PON aktivitesi/g protein}$$

A: Absorbans değeri

3.17. DALAK DOKUSUNDA ARGİNAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Bu deneyde Geyer ve Dabich (1971)’in metodu uygulanmıştır.

Kullanılan Çözeltiler

Renk Ayıracı

Asid Ayıracı

1 mM MnCl₂ Çözeltisi

Substrat Çözeltisi

pH 10.1, 150mM Karbonat Tamponu

1.6 mM Benzoik Asid Çözeltisi

0.5 µmol üre/mL Üre Stok Standardı

0.1 µmol üre/mL Üre Çalışma Standardı

Deneyin Yapılışı

Dalak doku homojenatları 1 mM MnCl₂ ile seyreltildi. Seyreltilen homojenatlar 20 dakika 65°C’de bekletilerek ön-inkübasyon işleminden geçirildi. Ardından doku homojenatları ve standart örnekleri aşağıda verildiği şekilde çalışıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Arginaz aktivitesi tayini için deneyin yapılma yöntemi.

Çözeltiler	Kör	Standart	Sıfırncı Zaman Tüpü	İnkübasyon Tüpü
Substrat Tamponu	-	-	75 µL	75 µL
Karbonat Tamponu	-	-	100 µL	100 µL
Çalışma Standardı	-	250 µL	-	-
Distile Su	250 µL	-	-	-
Doku Homojenatı	-	-	75 µL	75 µL

İnkübasyon tüpleri 10 dakika 37°C'de inkübe edildi. Diğer tüpler ile çalışmamıza herhangi bir inkübasyon işlemi uygulanmadan devam edildi.

Asid Ayıracı	750 µL	750 µL	750 µL	750 µL
Renk Ayıracı	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL

Tüpler 10 dakika kaynar su banyosunda bekletildi ve 520 nm'de spektrofotometrede absorbans değerleri okundu.

Dalak dokusunda arginaz aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$\text{Arginaz Aktivitesi } (\mu\text{mol üre/mg protein}) = \text{Faktör} \times \Delta\text{OD/mg protein}$$

ΔOD : Absorbans farkı

Faktör: $[\text{Standart konsantrasyonu} \times (\text{seyreltme oranı} \times 6 \times 3.33)] / \text{Standart absorbansı}$

3.18. DALAK DOKUSUNDA TOTAL ANTİOKSİDAN MİKTAR TAYİNİ

Dalak dokusunda total antioksidan miktar (TAS) tayini Erel (2004) yöntemine göre saptandı. Bu metotta TAS miktarı, 660 nm'de spektrofotometrede okunarak tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

Reaktif 1 Çözeltilisi

Reaktif 2 Çözeltisi

Standart Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Kör, numune ve standart tüpü olarak üç adet deney tüplerine 200 µL reaktif 1 ilave edildi. Kör tüpüne 5 µL serum fizyolojik, numune tüpüne 5 µL homojenat, standart tüpüne de 5 µL Trolox standardı ilave edildi. Bütün tüplere 20 µL reaktif 2 çözeltisi ilave edildikten sonra, 10 dakika 37°C'de tutuldu. Tüplerin absorbans değerleri 660 nm'de okundu. Kör absorbansı 0 mM için kabul edildi ve diğer değerlerden körün absorbansı çıkarıldı.

TAS konsantrasyonu standart eğri grafiğinin denkleminde yararlanılarak hesaplandı.

3.19. DALAK DOKUSUNDA TOTAL OKSİDAN MİKTAR TAYİNİ

Dalak dokusunda toplam oksidan miktar (TOS) tayini Erel (2005) yöntemine göre belirlendi. Bu yöntemde, ksilerol oranj reaktifi, ferro amonyum sülfat iyonu ve o-dianisidin kullanılarak TOS miktarı tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

pH 1.75 Reaktif 1 Çözeltisi

Reaktif 2 Çözeltisi

Standart Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Kör, numune ve standart tüpü olarak üç adet deney tüpü alındı. Bütün tüplere 225 µL pH'ı 1.75 olan ve ksilerol oranj ve NaCl'ün H₂SO₄ içinde çözüldükten sonra son hacmine gliserol ile tamamlanan reaktif 1 ilave edildi. Kör tüpüne 35 µL serum fizyolojik, numune tüpüne 35 µL homojenat, standart tüpüne de 35 µL H₂O₂ standardı ilave edildi. Bütün tüplere 11 µL 5 mM ferro amonyum sülfat ve 10 mM o-dianisidinin 25 mM sülfat asidinde çözülmesi ile elde edilen reaktif 2'den ilave edildi. Bunu takiben tüpler 37°C'de 10 dakika bekletildi ve tüplerin absorbansı köre karşı 560 nm'de hemen okundu.

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

Num_{abs} : Numunenin absorbans değeri

Std_{abs} : Standartın absorbans değeri

Std_{kon} : Standartın konsantrasyonu

3.20. DALAK DOKUSUNDA REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ MİKTAR TAYİNİ

Dalak dokusunda reaktif oksijen türleri miktarı tayini Zhang ve diğ., (2018) metoduna göre tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

20 mM, pH 7.25 HEPES- Na^+ Tampon Çözeltisi

2 mM 2',7'-Diklorofloresin diasetat (DCF) Çözeltisi

Dimetil sülfoksit (DMSO)

Deneyin Yapılışı

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

$\text{ROS miktarı} = \Delta\text{OD}/\text{mg protein}$

ΔOD : 30. dk floresans değeri ile 0. dk floresans değeri arasındaki fark

3.21. DALAK DOKUSUNDA NİTRİK OKSİT MİKTAR TAYİNİ

Dalak dokusunda nitrik oksit (NO) tayini Miranda ve diğ., (2001)'lerinin yöntemine göre tayin edildi. Nitritle sülfanilamidin, asidik ortamda NEDD ile reaksiyonu sonucu meydana gelen diazonyum bileşiğinin oluşturduğu renk 540 nm'de spektrofotometrede okundu.

Kullanılan Çözeltiler

%10 Çinko-Sülfat Çözeltisi

1 M Vanadyum Klorür Çözeltisi

%5 HCl Çözeltisi

%2 Sülfanilamid Çözeltisi

%0.1 N-(1-Naftil)-etilendiamindihidroklörür (NEDD) Çözeltisi

0.3 N NaOH Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Doku homojenatlarından 200 µL alındı ve üzerine 200 µL 0.3 N NaOH ilave edildi. Karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi. Üzerine 200 µL %10'luk ZnSO₄ çözeltisi ilave edildi. Karıştırıldı ve +4°C'de 14000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst fazlar alındı. Tüpler kör ve numune tüpü olarak numaralandırıldı. Kör tüpüne 300 µL distile su, numune tüpüne 150 µL süpernatant ilave edildikten sonra her iki tüpe de taze hazırlanmış olan VCl₃, 75 µL sülfanilamid ve NEDD çözeltileri eklendikten sonra tüpler 37°C'de 30 dakika inkübe edildi ve 540 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu.

Dalak dokusunda NO miktarının hesaplanabilmesi için aşağıda belirtilen formül kullanıldı.

$$\text{NO Miktarı (µmol/g protein)} = \text{Abs} \times 169.8 / P$$

P: Dokudaki g protein miktarı

3.22. DALAK DOKUSUNDA İLERİ OKSİDE PROTEİN ÜRÜNLERİ MİKTAR TAYİNİ

Dalak dokusunda ileri okside protein ürünleri (AOPP) Witko-Sarsat ve diğ., (1996) tarafından geliştirilen metot kullanıldı.

Kullanılan Çözeltiler

20mM, pH 7.4 Potasyum Fosfat Tamponu

1.16 M KI

Derişik asetik asit

Deneyin Yapılışı

Dalak dokusunda AOPP miktar tayini için tüpler kör ve numune olarak numaralandırıldı. Tampon çözeltiden kör tüpüne 0.5 mL, numune tüpüne 0.4 mL eklendi. Numune tüpüne 0.1 mL homojenat eklendikten sonra tüm tüplere 25 µL KI eklendikten sonra tüpler karıştırıldı ve 2 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 50 µL derişik asetik asit ilavesinden sonra tüpler iyice karıştırıldı ve 340 nm'de ölçümler yapıldı.

AOPP miktarı formül yardımıyla hesaplandı.

$$\text{AOPP Miktarı (nmol/mg p)} = (\text{Abs}/261 \times V_T/V_N \times f) / \text{mg p}$$

V_T : Toplam hacim

V_N : Numune hacmi

261: Molar absorpsiyon kat sayısı

f: Seyreltme katsayısı

3.23. DALAK DOKUSUNDA FUKOZ MİKTAR TAYİNİ

Dische ve Shettles (1948) metoduna göre dalak dokusundada fukoz miktar tayini saptandı. Metod, doku homojenatlarında bulunan fukozların derişik sülfürik asitli ortamda -SH grupları ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler

1:6 Asit Çözeltisi

%3 Sistein-HCl Çözeltisi

%0.01 Stok Standart Çözeltisi

2 M HCl Çözeltisi

%1 Fosfotungstik Asid Çözeltisi

4 M NaOH Çözeltisi

Hidrolizat Hazırlanması

Tüplere 250 µL dalak homojenatı, 500 µL 2 M HCl ve 500 µL %1 fosfotungstik asidi eklendi, 4 saat boyunca sıcaklığı 100°C'lik etüvde bekletildi. Daha sonra etüvden çıkarılan tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve pH'ları 4 N NaOH ile pH 7.0'a getirildi.

Deneyin Yapılışı

Fukoz miktar tayini aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2: Fukoz miktar tayini için deneyin yapılma yöntemi.

Çözeltiler	Numune	Numune Körü	Standart	Kör	Sisteinsiz Kör
Hidrolizat	200 µL	200 µL	-	-	-
Standart Çözeltisi	-	-	200 µL	-	-
Distile Su	-	-	-	200 µL	200 µL
Sülfürik Asid Çözeltisi	900 µL	900 µL	900 µL	900 µL	900 µL

Tüplere asit ilavesi buz ile hazırlanan ortamda yapıldı. Sonra tüpler 3 dakika boyunca 22°C'de bekletildi. Ardından tüpler 5 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi, soğutuldu.

%3 Sistein-HCl Çözeltisi	20 µL	-	20 µL	20 µL	-
---------------------------------	-------	---	-------	-------	---

Tüpler karıştırıldıktan sonra 60 dakika karanlıkta bekletildi. Spektrofotometrede tüplerin absorbansları havaya karşı önce 396 nm'de ve sonra 430 nm'de ölçüldü.

Numune absorbansından numune körünün absorbansı çıkarıldı. Elde edilen değer, standart eğri grafiğinden bulundu. Bulunan değerler, µg fukoz/mg protein cinsinden ifade edildi.

3.24. DALAK DOKUSUNDA HEKSOZ MİKTAR TAYİNİ

Winzler (1955) metodu kullanılarak dalak dokusunda heksoz miktar tayini yapıldı. Derişik sülfirik asidli ortamda karbohidratların orsinol ile reaksiyonu sonucu açığa çıkan renkli madde spektrofotometrede 425 nm’de okundu.

Kullanılan Çözeltiler

%1 Glukoz Standardı

2 M HCl Çözeltisi

%1 Fosfotungstik Asid Çözeltisi

4 M NaOH Çözeltisi

% 1.6 Orsinol Çözeltisi

%60 H₂SO₄ Çözeltisi

%96 Etil Alkol

Hidrolizatın Hazırlanması

Tüplere 250 µL dalak homojenatı, 500 µL 2 M HCl ve 500 µL %1 fosfotungstik asidi eklendi, 4 saat boyunca sıcaklığı 100°C’lik etüvde bekletildi. Daha sonra etüvden çıkarılan tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve pH’ları 4 N NaOH ile pH 7.0’a getirildi.

Deneyin Yapılışı

Heksoz miktar tayini aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı (Tablo 3.3).

Tablo 3.3: Heksoz miktar tayini için deneyin yapılma yöntemi.

Çözeltiler	Kör	Numune	Standart
Distile su	125 µL	-	-
Hidrolizat	-	125 µL	-
Standart	-	-	125 µL
Orsinol	125 µL	125 µL	125 µL
%60 H ₂ SO ₄	1 mL	1 mL	1 mL

Tüpler 10 dakika kaynar su banyosunda bekletildi, soğutuldu ve daha sonra absorbanları 425 nm’de okundu.

Elde edilen değerler, standart eğri grafiğinden bulundu. Bulunan değer doku proteini ile bölünmesi ile sonuç mg glukoz/mg protein cinsinden ifade edildi.

3.25. DALAK DOKUSUNDA HEKSOZAMİN MİKTAR TAYİNİ

Winzler (1955) metodu kullanılarak dalak dokusunda heksozamin miktarı tayin edildi. Dokudaki heksozamin bileşikleri asetilaseton ile kaynatılarak pirol türevlerine dönüşür. Daha sonra etil alkol ve p-dimetilaminobenzaldehid ile tepkimeye girerek pembe rengin açığa çıkması ile absorbanlar 530 nm’de spektrofotometrede okundu.

Kullanılan Çözeltiler

Asetilaseton Çözeltisi

Ehrlich Ayıracı

Glukozamin HCl Standardı

Hidrolizatın Hazırlanması

Tüplere 250 µL dalak homojenatı, 500 µL 2 M HCl ve 500 µL %1 fosfotungstik asidi eklendi, 4 saat boyunca sıcaklığı 100°C’lik etüvde bekletildi. Daha sonra etüvden çıkarılan tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve pH’ları 4 N NaOH ile pH 7.0’a getirildi.

Deneyin Yapılışı

Heksozamin miktar tayini tabloda belirtilen şekilde yapıldı (Tablo 3.4).

Tablo 3.4: Heksozamin miktar tayini için deneyin yapılma yöntemi.

Çözeltiler	Kör	Numune	Standart
Asetilaseton Çözeltisi	200 µL	200 µL	200 µL
Distile Su	200 µL	-	-
Hidrolizat	-	200 µL	-
Standart	-	-	200 µL

Tüpler 15 dakika kaynar su banyosunda bekletilir. Soğutuldu.

%96 Etil alkol	1 mL	1 mL	1 mL
Ehrlich Ayıracı	200 µL	200 µL	200 µL

Son hacim %96'lik etil alkol ile 2 mL ye tamamlandı.

Tüpler 30 dakika boyunca oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi.

Standart eğri grafiğinden yararlanılarak heksozamin miktarı µg glukozamin cinsinden hesaplandı. Elde edilen veriler, µg glukozamin/mg protein şeklinde belirlendi.

3.26. DALAK DOKUSUNDA HİDROKSİ PROLİN MİKTAR TAYİNİ

Dalak dokusunda hidroksi prolin miktar tayini Reddy ve Enwemeka, (1996)'lerinin metoduna göre tayin edilmiştir.

Kullanılan Çözeltiler

Hidroksi Prolin Stok Çözeltisi

pH 6.5 Asetat/ Sitrat Tamponu

0.056 M Kloramin T

1 M Ehrlich Reaktifi

Deneyin Yapılışı

0.5 mL doku homojenatına 1 mL 6 N HCl ilave edildi, 110°C etüvde 3 saat inkübasyon işlemi gerçekleştirildi. Soğutuldu, santrifüj tüplerine alındı ve üzerine 6 N NaOH ilave edilip 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Reaksiyonun devamı için üst fazları alındıktan sonra aşağıda verilen tabloya göre dalak dokusunda hidroksi prolin miktar tayini gerçekleştirildi (Tablo 3.5).

Tablo 3.5: Hidroksi prolin miktar tayini için deneyin yapılma yöntemi.

Çözeltiler	Örnek	Kör	Standart	Standart körü
Doku Homojenatı	250 µL	-	-	-
6 N NaOH	-	250 µL	-	-
Standart Çözeltisi	-	-	250 µL	-
2 N NaOH	-	-	-	250 µL
Kloramin-T Çözeltisi	450 µL	450 µL	450 µL	450 µL

25 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Ehrlich Reaktifi	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL
-------------------------	--------	--------	--------	--------

20 dakika 65°C'de su banyosunda bekletildi. Soğutuldu.

Tüpler 550 nm'de spektrofotometrede okundu. Doku örneklerindeki hidroksi prolin miktarları, standart eğri grafiği yardımıyla hesaplandı. Elde edilen sonuçlar µg hidroksi prolin/mg protein şeklinde belirlendi.

3.27. DALAK DOKUSUNDA LAKTAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Dalak dokusunda laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin belirlenmesi için Bais ve Philcox (1994) metodu kullanıldı. LDH, NADH varlığında piruvatın laktata dönüşümünü 37°C'de katalizler. NADH'ın nikotinamid adenin dinükleotide oksidasyonu 340 nm'de absorban değerinin azalmasının ölçümü ile enzim aktivitesi hesaplandı.

Kullanılan Çözeltiler

pH 7.4 , 56 mM Tris-HCl Tamponu (5.6 mM EDTA içeren)

170 µM NADH Çözeltisi

14 mM Piruvat Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Dalak dokusunda laktat dehidrojenaz aktivitesi tayininde tüpler kör ve numune olarak adlandırıldı.

Tris-EDTA-NADH çözeltisinden tüm tüplere 0.2 mL ilave edildikten sonra, doku homojenatından numune tüpüne 5 µL ilave edildi. Tüm tüpler 37°C'de 5 dakika inkübe edildikten sonra kör tüpüne üzerlerine 25 µL, numune tüplerine 20 µL piruvat çözeltisi eklenip karıştırıldıktan sonra 1 dakika daha inkübe edildi. 340 nm'de 3 dakika absorbans değerleri okundu.

LDH enzim aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

LDH Aktivitesi (U/g protein) = (Δ OD/dk) x 7143/g protein

Δ OD: 0. ve 3. dakikalar arasındaki absorbans farkı

3.28. DALAK DOKUSUNDA GLUKOZ-6-FOSFAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Dalak dokusunda glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) aktivitesi Beutler (1984) metoduna göre tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

0.1 M MgCl₂

pH 8.0 , 1 M Tris-HCl Tamponu (5 mM EDTA içeren)

2mM NADP⁺

6 mM G6P

Deneyin Yapılışı

Dalak dokusunda glukoz-6-fosfat dehidrojenaz aktivitesinin tayini için alınan kör ve numune tüpüne sırası ile tampon çözeltisi, MgCl₂, NADP⁺ den 25'er µL konuldu. Kör tüpüne 5 µL homojenat, 170 µL distile su, numune tüpüne 5 µL homojenat, 145 µL distile su ilave edildikten sonra 37°C'de 10 dakika inkubasyona bırakıldı. Numune tüpüne 25 µL G6P ilave edildi. 0 ve 5'inci dakikada 340 nm'de okuma yapıldı.

Dalak dokusunda glukoz-6-fosfat dehidrojenaz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$U/ml = \Delta OD/dk/6.22 \times V_T/V_N \times f$$

V_T: Toplam hacim

V_N: Numune hacmi

f: Seyreltme katsayısı

ΔOD: 0. ve 5. dakikada absorbans farkı

3.29. DALAK DOKUSUNDA ASİT FOSFATAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Dalak dokusunda asit fosfataz (ACP) tayini için Walter ve Schutt (1974) yönteminden faydalanıldı.

Kullanılan Çözeltiler

pH 4.8 , 50 mM Sitrat Tamponu

0.1 M NaOH Çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Aktivite tayini için alınan tüplerden bir tanesi kör, diğerleri numune olarak adlandırıldı. Sitrat tamponundan tüplere 0.5 mL ilave edildi. Kör tüpüne 0.1 mL distile su, numune tüpüne 0.1 mL dalak doku örneği ilave edildikten sonra tüplere 37°C'de 30 dakika inkübasyon işlemi yapıldı. Tüplerin hepsine 1'er mL NaOH ilave edilip karıştırıldıktan sonra tüpler iyice karıştırıldı ve tüplerin absorbansları spektrofotometrede 405 nm'de okundu.

ACP aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$\text{ACP Aktivitesi (U/L)} = (\text{Abs} \times 28.8)$$

3.30. DALAK DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN MİKTAR TAYİNİ

Dalak dokusunda protein miktarı tayini Lowry ve diğ., (1951) metoduna göre tayin edildi. Proteinlerin yapısındaki aromatik halka ihtiva eden aminoasitler Folin reaktifi ile mavi renk verir. Reaksiyon fosfo molibdo tungstik asidin aminoasitler tarafından indirgemesi esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

A Reaktifi (%2 Na₂CO₃; 0.1N NaOH içinde)

B Reaktifi (% 0.5 CuSO₄; % 1 dipotasyum tartarat içerisinde)

C Reaktifi

Folin Reaktifi

Deneyin Yapılışı

Dalak dokusunda protein miktar tayini Tablo 3.6'ya göre çalışılmıştır.

Tablo 3.6: Total protein miktar tayini için deneyin yapıma yöntemi.

Çözeltiler	Kör	Standart	Numune
Standart Çözelti	-	100 µL	-
Homojenat	-	-	100 µL
Serum Fizyolojik	100 µL	-	-
C Reaktifi	500 µL	500 µL	500 µL

Tüpler 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Folin Çözeltisi	50 µL	50 µL	50 µL
-----------------	-------	-------	-------

Tüpler karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Absorbans değerleri 500 nm'de köre karşı okundu. Standart eğri yardımıyla %mg protein miktarı hesaplandı.

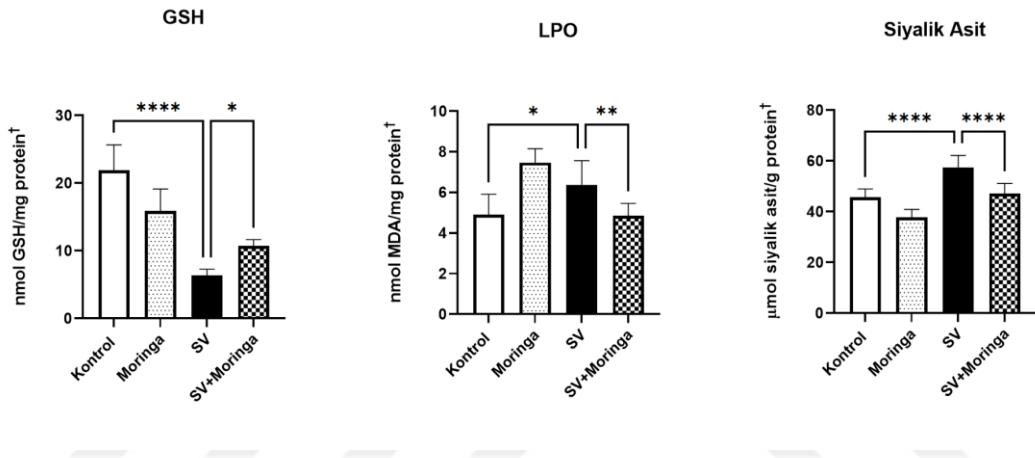
3.31. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Elde edilen veriler, GrapPad Prism 9.0 istatistik programı ile değerlendirildi. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

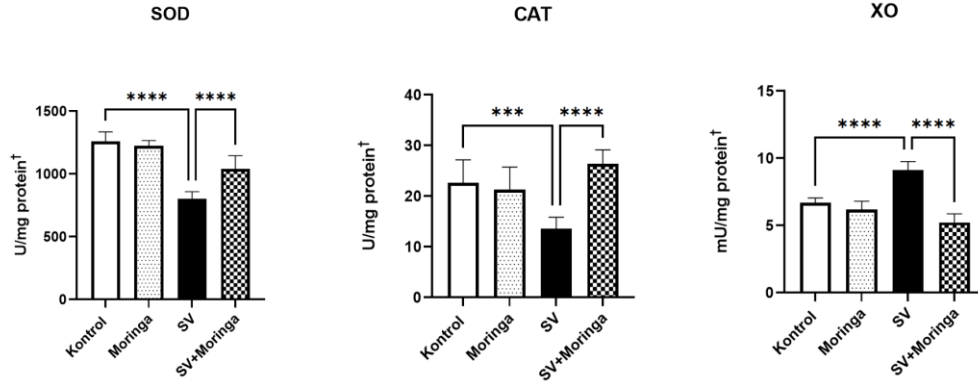
Çalışmamızda elde edilen biyokimyasal bulgulara ait sonuçlar grafikler halinde Şekil 4.1-4.8 arasında gösterilmiştir. Tüm grafiklerde y ekseninde belirtilen yıldız (†) Ortalama \pm Standart Sapma değerini ifade etmektedir.



Şekil 4.1: Tüm deney gruplarına ait GSH, LPO ve siyalik asit düzeyleri.

(*p < 0.05, ** p < 0.01, ****p < 0.0001)

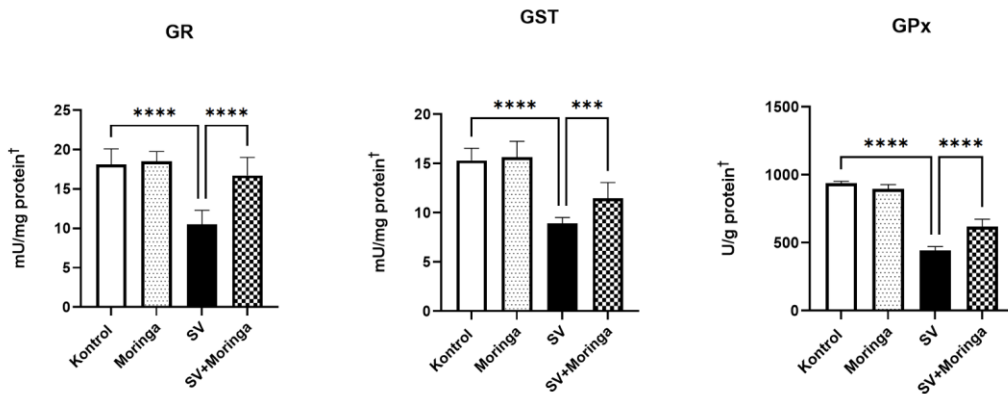
Tüm deney gruplarına ait GSH, LPO ve siyalik asit düzeyleri Şekil 4.1’de gösterildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VA verilen gruba ait GSH seviyelerinde anlamlı bir azalma görülürken ($p < 0.0001$), LPO ve siyalik asit seviyelerinde ise anlamlı bir artış ($p < 0.05$, $p < 0.0001$) meydana geldiği belirlendi. VA grubuna Moringa ekstresi verilmesi ile GSH, LPO ve siyalik değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tersine çevrildi ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.0001$).



Şekil 4.2: Tüm gruplara ait SOD, CAT ve XO aktiviteleri.

(***p < 0.001, ****p < 0.0001)

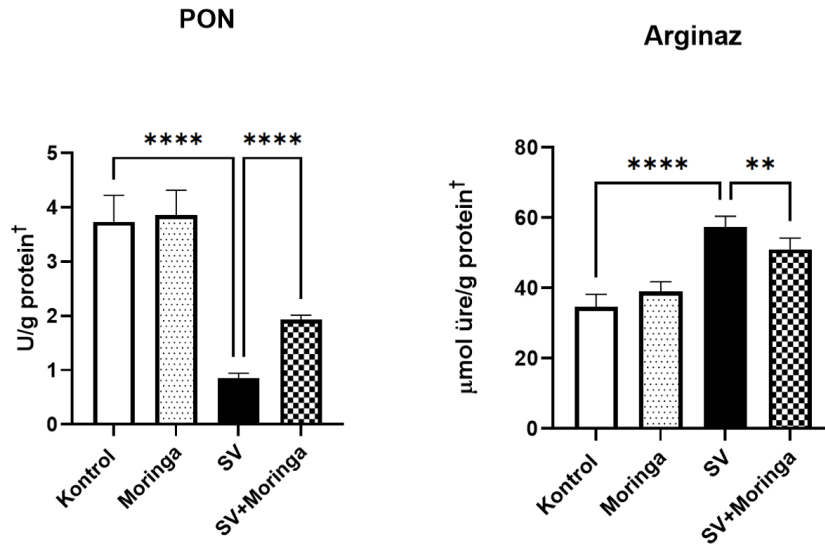
Tüm deney gruplarına ait SOD, CAT, XO düzeyleri Şekil 4.2’de gösterildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VA verilen gruba ait SOD ve CAT aktivitelerinde anlamlı bir azalma oluşurken ($p < 0.0001$, $p < 0.001$), XO aktivitelerinde ise anlamlı bir artış ($p < 0.0001$) meydana geldiği saptandı. VA grubuna Moringa ekstresi verilmesi ile SOD, CAT, XO aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tersine çevrildi ($p < 0.0001$, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$).



Şekil 4.3: Tüm gruplara ait GR, GST ve GPx aktiviteleri.

(***p < 0.001, ****p < 0.0001)

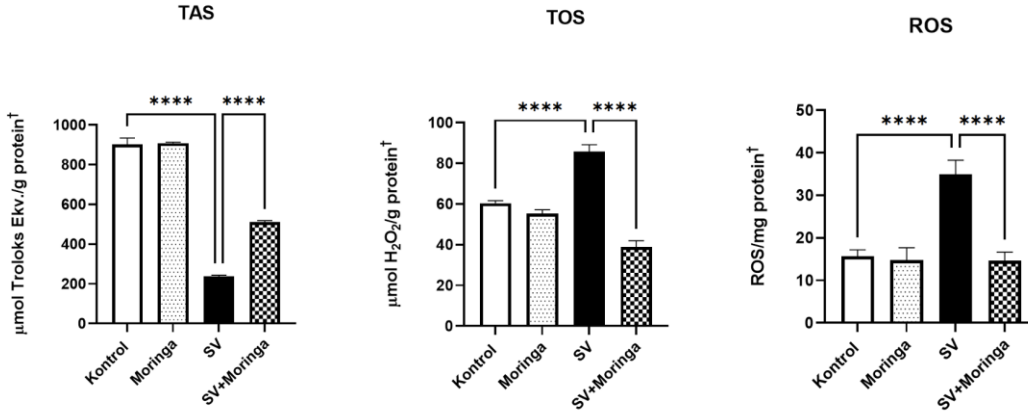
Şekil 4.3’de tüm deney gruplarına ait GR, GST, GPx aktiviteleri verildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VA verilen gruba ait GR, GST, GPx aktivitelerinde anlamlı bir azalma ($p < 0.0001$) olduğu görüldü. VA grubuna Moringa ekstresi verilmesi ile GR, GST, GPx aktivitelerinde, anlamlı bir artış meydana geldi ($p < 0.001$, $p < 0.0001$).



Şekil 4.4: Tm gruplara ait PON ve arginaz aktiviteleri.

(** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$)

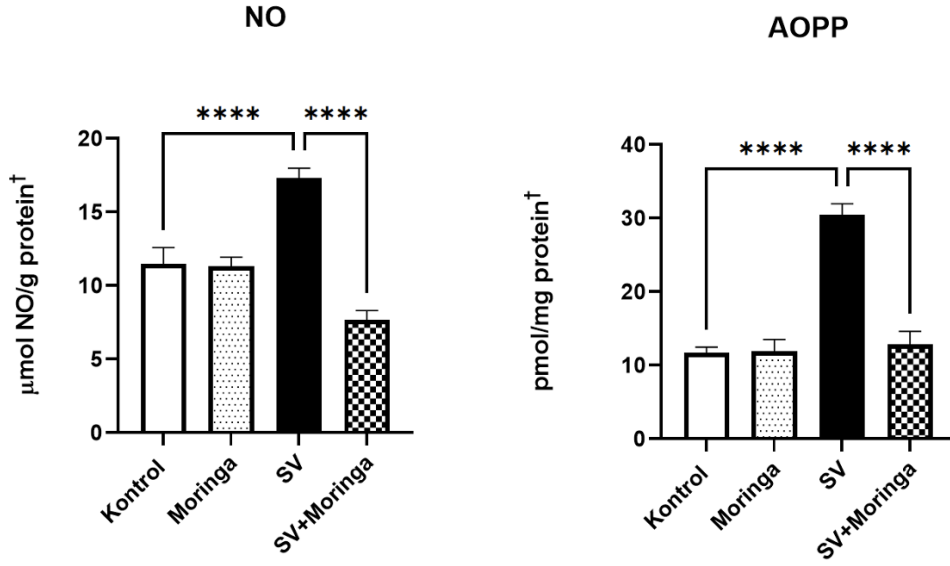
Tm deney gruplarına ait PON ve arginaz aktiviteleri Şekil 4.4’de gösterildi. Kontrol grubuna göre, VA grubuna ait PON aktivitelerinde anlamlı bir azalma ($p < 0.0001$) meydana gelirken, arginaz aktivitelerinde anlamlı bir artış ($p < 0.0001$) görüldü. VA grubuna Moringa ekstresi verilmesi ile PON ve arginaz aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tersine çevrildi ($p < 0.0001$, $p < 0.01$).



Şekil 4.5: Tüm gruplara ait TAS, TOS ve ROS değerleri.

(****p < 0.0001)

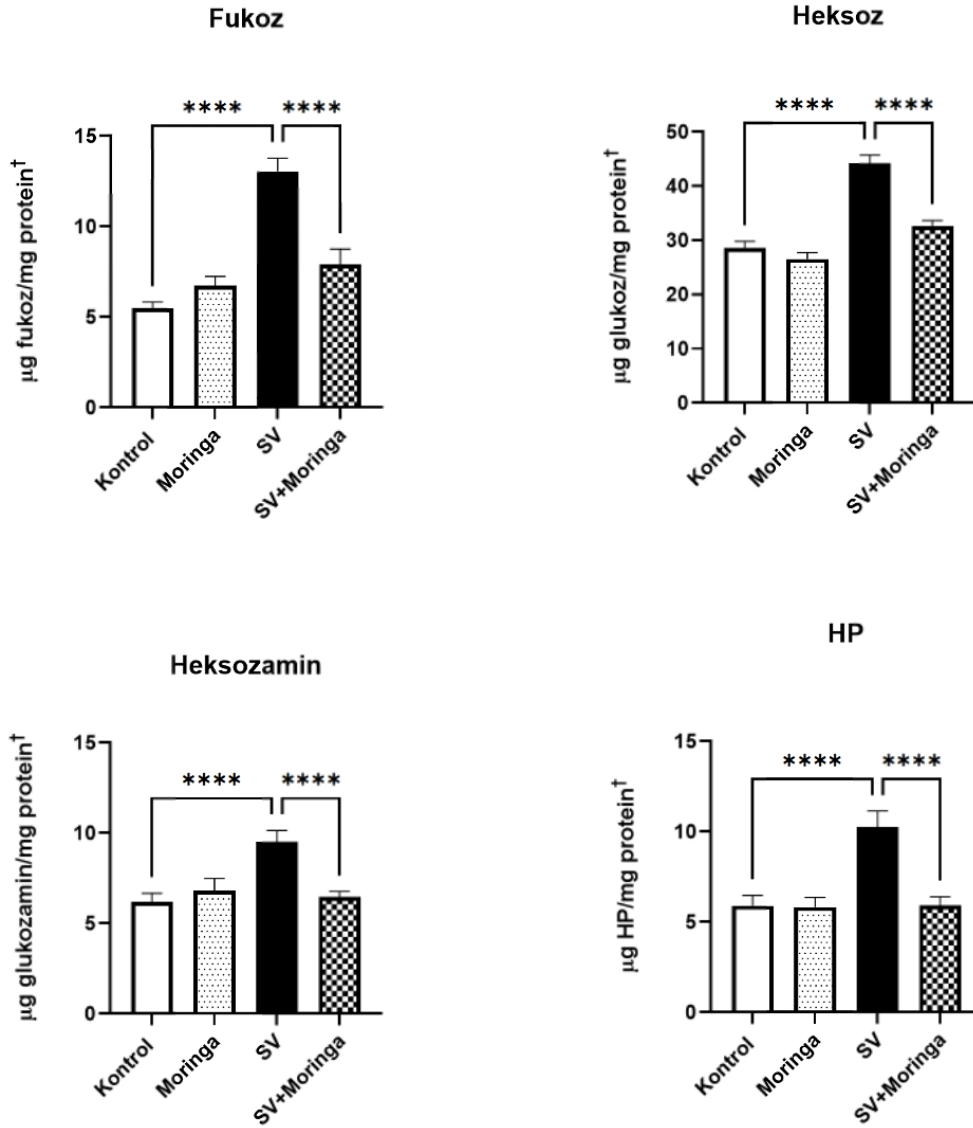
Şekil 4.5’de tüm deney gruplarına ait TAS, TOS, ROS değerleri verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VA verilen gruba ait TAS değerlerinde anlamlı bir azalma ($p < 0.0001$) görülürken, TOS ve ROS değerlerinde anlamlı bir artış ($p < 0.0001$) meydana geldiği saptandı. VA grubuna Moringa ekstresi verilmesi ile TAS değerlerinde VA grubuna göre anlamlı bir artış ($p < 0.0001$), TOS ve ROS değerlerinde ise anlamlı bir azalma görüldü ($p < 0.0001$).



Şekil 4.6: Tüm gruplara ait NO ve AOPP değerleri.

(****p < 0.0001)

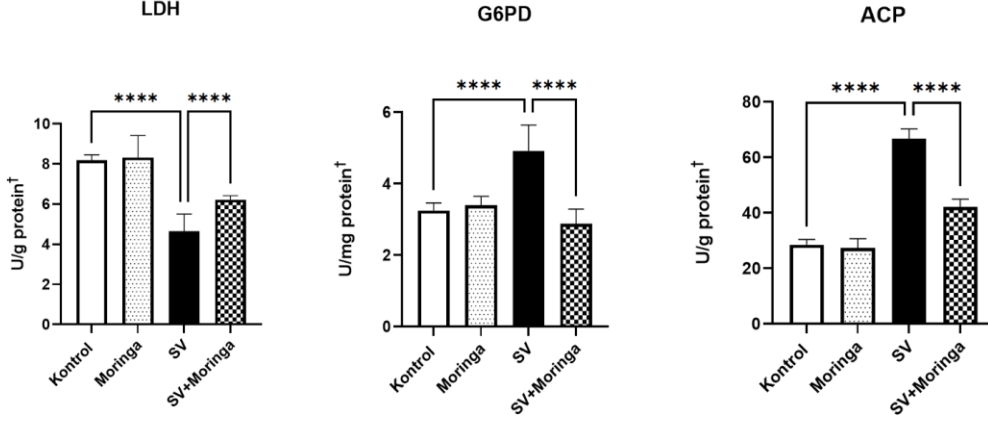
Tüm deney gruplarına ait NO ve AOPP değerleri Şekil 4.6'de gösterildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VA verilen gruba ait NO ve AOPP değerlerinde anlamlı bir artış ($p < 0.0001$) meydana geldiği belirlendi. VA grubuna Moringa ekstresi verilmesi ile NO ve AOPP değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tersine çevrildi ($p < 0.0001$).



Şekil 4.7: Tüm gruplara ait fukoz, heksoz, heksozamin ve HP değerleri.

(**** $p < 0.0001$)

Şekil 4.7’de tüm deney gruplarına ait fukoz, heksoz, heksozamin ve HP değerleri gösterildi. Elde edilen verilere göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VA verilen gruba ait fukoz, heksoz, heksozamin ve HP değerlerinde anlamlı bir artış ($p < 0.0001$) meydana geldi. VA grubuna Moringa ekstresi verilmesi ile fukoz, heksoz, heksozamin ve HP değerlerinde VA grubuna göre anlamlı bir azalma görüldü ($p < 0.0001$).



Şekil 4.8: Tüm gruplara ait LDH, G6PD ve ACP aktiviteleeri.

(****p < 0.0001)

Tüm deney gruplarına ait LDH, G6PD ve ACP aktiviteleeri Şekil 4.8’de belirtildi. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VA verilen gruba ait LDH aktiviteleerinde anlamlı bir azalma ($p < 0.0001$) saptanırken, G6PD ve ACP aktiviteleerinde ise anlamlı bir artma ($p < 0.0001$) meydana geldi. VA grubuna Moringa ekstresi verilmesi ile LDH, G6PD ve ACP aktiviteleeri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tersine çevrildi ($p < 0.0001$).

5. TARTIŞMA

Epilepsi, merkezi sinir sisteminin tekrarlayan nöbetlerle karakterize edilen kronik bir hastalığı olarak kabul edilmekte ve yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik, immün ve bilinmeyen nedenlerden kaynaklanmaktadır. Epileptik nöbetler, beyindeki nöronların aşırı ve anormal bir şekilde etkinleşmesi sonucu, merkezi sinir sisteminde uyarılma ve inhibisyon arasındaki dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Epileptik nöbetler, fokal başlangıçlı (bir yarımkürede başlayan), genelleşmiş başlangıçlı (her iki yarımkürede aynı anda başlayan) ve başlangıçlı bilinmeyen nöbetler olarak üç ana kategoriye ayrılabilir. Epileptik nöbetler sonucunda, anormal nöronal aktivite bölgesinde ROS ve RNS aşırı şekilde üretilerek nöroenflamasyonun, nörodejenerasyonun ve hatalı nörojenezin gelişimine katkıda bulunabilir. Nöronların oksidatif strese maruz kalması, nöbet oluşturma eğilimlerini artırabilirken, antioksidanların uygulanması koruyucu bir etki sağlamaktadır (Koşmider ve diğ., 2023). Epilepsi, birçok nörodejeneratif hastalıkla komorbidite olarak görülebilmektedir (Neri ve diğ., 2022). GABA metabolizması ve GABA-glutamat-glutamat döngüsünün işleme süreçlerindeki bozulmalar, özellikle epilepsi gibi nöronal inhibisyon eksikliği ile karakterize hastalıklarda önemli rol oynamaktadır (Bryson ve Reid, 2023). Beyindeki nöronların aşırı aktif hale gelmesini engelleyerek sinir sisteminin dengesini koruyan, inhibe edici nörotransmitter olan GABA'nın, epileptik beyin dokusunda, inhibisyonun azaldığı, ayrıca beyin omurilik sıvısında ve beyin dokusunda yapılan mikrodializ çalışmaları sırasında GABA seviyelerinde düşüş meydana geldiği rapor edilmiştir (Treiman, 2001).

Moringa oleifera, yüksek besin değeri ve zengin fitokimyasal içeriği ile önemli tıbbi potansiyele sahip bir bitki olmaktadır. Moringa yaprakları, alkaloidler, steroller, tanenler, izotiyosiyanatlar, glukosinolatlar, flavonoidler, terpenoidler, saponinler ve glikozit bileşenler gibi çeşitli fitokimyasalların yanı sıra yüksek lif ve protein içeriği de barındırır. Bu bileşenler, anti-enflamatuar, karaciğer koruyucu, diüretik, kolesterol düşürücü, anti-obezite, anti-kanser ve antiülser gibi birçok özellikler göstererek bağışıklık fonksiyonunu destekler ve antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak oksidatif stresi azaltmaya katkı sağlayabilir (Dahran ve diğ., 2023; Kumawat ve Une, 2024; Fachruddin ve diğ., 2024). Moringa, serbest radikalleri temizleyerek toksisiteyi engellemeye ve doku hasarını önlemeye yardımcı olmaktadır. Ayrıca,

Moringa yaprak ekstraktının içerdiği aktif bileşenler sayesinde kortizol seviyesinde önemli bir azalma gözlemlenmiştir (Khalid ve diğ., 2024).

VA, epilepsi, bipolar bozukluk ve migren tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir anti-epileptik ilaçtır. VA'nın terapötik etkilerinin yanı sıra, ciddi toksisiteye yol açabileceği literatürlerde bildirilmiştir. VA, serbest radikal üretimini artırarak oksidatif stresle ilişkili hücrel hasara yol açarak hücrel fonksiyonları bozar ve organ hasarına yol açabilir (Oktay ve diğ., 2015). Hamilelik sırasında VA'ya maruz kalmanın, fetüsün büyüme ve gelişimini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir; bu durum, VA'nın plasenta bariyerini geçebilme yeteneği ve histon deasetilaz inhibitörü olarak gen ekspresyonunda değişikliklere yol açmasıyla ilişkilendirilmektedir (Ruyani ve Sumarsono, 2023). VA, aşırı ROS üretimiyle oksidatif strese neden olarak antioksidan savunmalarını bozmakta ve lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. Bu oksidatif stres, MAPK ve NF- κ B gibi önemli hücrel sinyal yollarını aktive ederek apoptoz ve iltihaplanmayı tetikleyebilir (Asghar ve diğ., 2024).

GSH, detoksifikasyon mekanizmalarında, özellikle ksenobiyotiklerin ve toksik maddelerin metabolize edilerek zararsız hale getirilmesinde önemli bir rol oynayan tripeptittir. GSH, hücrenin farklı organellerinde, özellikle sitoplazma, endoplazmik retikulum, mitokondri ve vakuoller gibi alanlarda milimolar düzeylerde bulunur (Ali ve diğ., 2019). Yapılan çalışmalarda GSH düzeylerindeki azalma oksidatif stresle ilişkilendirilmektedir (Coremen ve diğ., 2022). GSH, H₂O₂, O₂• ve OH• radikallerini indirgeyerek antioksidan etki göstermekte, lipitler, proteinler ve DNA'nın zarar görmesini engellemektedir (Ede ve diğ., 2023; Saadat ve diğ., 2023). Hücre içi GSH konsantrasyonu, birden fazla mekanizma tarafından dinamik olarak kontrol edilmektedir. Bu mekanizmalar, GSH'nin oksidasyonu, ksenobiyotiklerle konjugasyonu, hücre dışına taşınması, sülfür içeren prekürsörlerin hücre içine alımı ve yeniden sentez hızını kapsamaktadır. Bu süreçler, hücrenin oksidatif stresle başa çıkma kapasitesini ve detoksifikasyon mekanizmalarını doğrudan etkilemektedir (Ursini ve Maiorino, 2020). GSH, hücrenin redoks durumunun korunması ve düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. GSH düzeylerindeki azalmanın, GSH depolarının tükenmesi ve oksidatif stresin artışıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir (Ertik ve diğ., 2023). Çeşitli çalışmalarda, yaratılan hasardan sonra GSH seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (Alev-Tuzuner ve diğ., 2024; Asghar ve diğ., 2024; Asmaa ve diğ., 2025; Oktay ve diğ., 2015; Şener ve diğ., 2022). Beyin dokusunda VA'nın toksik etkisi GSH düzeylerinin artması ile sonuçlanmıştır (Turkyilmaz ve diğ., 2020). Yaptığımız çalışmada, VA'nın dalak dokusuna toksik etki göstererek GSH düzeylerinde azalma meydana

getirdiği tayin edildi. Karaciğer dokusunda VA'in etkisiyle GSH düzeylerinin azaldığı ve aynı çalışmada vitaminle tedavi edilen dokularda GSH'ın artma gösterdiği saptanmıştır (Sokmen ve diğ., 2012). Bir diğer çalışmada, karaciğer dokusunda GSH düzeylerinin yükselerek koruyucu etki göstermesi tayin edilmiştir (Redha ve diğ., 2021). Moringa'nın antioksidan içeriği ve serbest radikalleri doğrudan temizleyebilmesi gibi çeşitli özellikleri ile bozulmuş GSH düzeylerinin normale dönmesini sağlayarak doku sağlığını desteklediği sonucuna varılmıştır (Alam ve diğ., 2023; Wang ve diğ., 2024). Ayrıca, dalak dokusunda yapılan araştırmalarda tedavi sonucu GSH düzeylerinin yükseldiği tespit edilmiştir (El-Bassossy ve diğ., 2023). Çalışmamızda, VA ile oluşturulmuş dalak hasarına Moringa ekstresi uygulanması GSH düzeylerinde belirgin bir artma ile sonuçlanmıştır.

LPO'nun zincir reaksiyonları ile hücrelerde oksidatif stresi tetiklediği ve yapılan çalışmalarda da, oksidatif stresin LPO düzeylerindeki artışı tetiklediği, LPO'nun, GSH tükenmesine yol açtığı ve hücrelere zarar verdiği belirtilmiştir (Ursini ve Maiorino, 2020; Coremen ve diğ., 2022). VA, oksijen bağımlı hücre hasarını tetikleyerek LPO seviyelerini artırır ve bu durum, antioksidan sistemin bozulması ile sonuçlanabilir (Asghar ve diğ., 2024; Oktay ve diğ., 2015). Bu çalışmada, VA'in dalak dokusunda LPO seviyelerini arttırdığı tayin edildi. Birçok çalışma, dokularda yaratılan hasarın LPO seviyelerinde artışa sebep olduğunu göstermektedir. Karaciğer dokusunda VA'in LPO seviyelerinde artma meydana getirmesi belirtilmiştir ve bu yükselme, ROS üretiminin artmasıyla açıklanmaktadır (Sokmen ve diğ., 2012). Hasar yaratılmış beyin dokusunda ROS ve LPO seviyelerinde artma gözlemlenmiştir (Dahran ve diğ., 2023). Kas dokusunda VA'in oluşturduğu hasar LPO seviyelerinde artış ve buna karşılık olarak GSH seviyelerinde düşüş ile gösterilmiş (Ertik ve diğ., 2023), beyinde yapılan çalışmada ise VA'in LPO seviyelerini arttırdığı belirtilmiş (Turkyilmaz ve diğ., 2020). Moringa yaprak ekstresinin ise, mide dokusunda LPO yükselmesine karşı antioksidan savunma mekanizması oluşturduğu Razis ve diğ., (2014) tarafından bildirilmiştir. Alev-Tuzuner ve diğ., (2024) Moringa ekstraktının hasar grubuna verilmesi ile, LPO seviyelerinde anlamlı bir azalma olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda, VA grubuna Moringa özütü verilmesi ile LPO seviyelerinde belirgin bir azalma meydana getirdiği saptandı.

Oksidatif stres, membran proteinlerindeki siyalik asit kalıntılarının hidrolizini artırmaktadır (Alev-Tuzuner ve diğ., 2024). Siyalik asit, dokuz karbonlu iskelete sahip bir monosakarittir. Artan siyalik asit seviyelerinin, inflamatuvar süreçlerde glikoproteinlerinin artan ekspresyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatürde, siyalik asidin çeşitli

inflatuar hastalıkların bir biyobelirteci olarak kullanılabileceği öne sürülmüş, yükselen siyalik asit seviyelerinin organizmanın kendini koruma mekanizmasının bir yansıması olduğu belirtilmiştir. VA uygulamasının ise kontrol grubuna kıyasla bağırsak dokusunda siyalik asit seviyelerini anlamlı derecede artırdığı gösterilmiştir (Oktay ve diğ., 2015). Siyalik asit seviyelerinde artış, oksidatif stres sırasında protein ve lipid yapılarının parçalanması sonucu ya da artan biyosentez nedeniyle meydana gelebilir. Siyalik asit seviyelerinin VA'in etkisiyle artma gösterdiği ve Moringa'nın VA grubuna uygulanmasının siyalik asit seviyelerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu tayin edilmiştir (Ertik ve diğ., 2023). Yapmış olduğumuz çalışmada, VA uygulanan dalak dokularında siyalik asit seviyelerinin arttığı, VA+Moringa gruplarında ise siyalik asit seviyelerinin azaldığı saptandı. VA+Moringa gruplarında, GSH düzeylerinin artması ve siyalik asidin miktarının azalması hasarın azaldığını göstermektedir.

SOD süperoksit anyonlarını temizlemekten sorumlu olan bir enzimdir (Ursini ve Maiorino, 2020). SOD, $O_2\bullet$ radikalini H_2O_2 ve oksijene dönüştürerek antioksidan savunma sisteminin önemli bir parçası olarak hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Ede ve diğ., 2023; Emekli-Alturfan ve diğ., 2015). Moringa ile beslenmiş keçilerin etinde SOD aktivitesinin diğer gruplara kıyasla belirgin bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bulgu, Moringa'nın antioksidan savunma sistemini destekleyici etkisini ortaya koymaktadır (Razis ve diğ., 2014). CAT, hücreleri oksidatif hasara karşı korumada kritik bir rol oynayan antioksidan enzimdir ve bu korumayı, hidrojen peroksidi, su ve oksijene dönüştürerek hayata geçirmektedir. Oksidatif stres oluşturulmuş deneylerde, CAT ve GSH değerlerinin azaldığı saptanmıştır (Saadat ve diğ., 2023). CAT antioksidan enzim olarak oksidatif strese karşı koyar ve lipitleri, proteinleri ve DNA'yı korur. CAT, memeli hücrelerinin peroksizomlarında ve mitokondrisinde, SOD ise sitozol ve mitokondri gibi hücresel bölgelerde bulunmaktadır. SOD, CAT, GSH gibi enzimler serbest radikallerin temizlenmesinde kullanıldığına göre olası oksidatif streste bu enzimlerin seviyeleri azalmaktadır (Ali ve diğ., 2019). CAT'ın ana işlevi ROS temizliği olsa da, hücredeki oksidatif dengeyi sağladığı için dolaylı olarak hormon düzenlemesi üzerinde de etkili olmaktadır (Nithiyanandam ve diğ., 2023). Deney hayvanlarında VA uygulamasının SOD, CAT aktivitelerini azaltabildiğini gösterilmiştir (Ezhilarasan ve Mani, 2022). Oksidatif stres, GSH ve SOD seviyelerinde azalmaya sebep olmuştur (Fan ve diğ., 2023; Han ve diğ., 2023). Çalışmamızda, SOD ve CAT aktiviteleri VA ile oluşturulmuş hasar nedeniyle azalma göstermiş ve LPO seviyelerinin artması oluşmuş toksitenin kanıtı olarak kabul edilmektedir. Dalak dokusunda yaratılan hasar nedeniyle CAT aktivitelerinde azalma tayin edilmiştir (Pan ve diğ.,

2023). Bir başka dalak çalışmasında ise hasar nedeniyle hem SOD hem de CAT enzim aktivitelerinin azaldığı saptanılmıştır (Nithiyandam ve diğ., 2023). Oksidatif stresin hasar verdiği dalak dokusunda CAT ve SOD aktivitelerinin azaldığı görülmüş (Wang ve diğ., 2023; Maity ve diğ., 2023) ve dalak dokusunda SOD, GSH ve CAT seviyelerindeki azalmanın antioksidan savunma mekanizmalarını bozduğu gösterilmiştir. Literatürlerde, terapötik bitki ekstresinin bu enzim seviyelerinin artmasına sebep olduğu (Umoren ve diğ., 2023), beyin CAT ve SOD aktivitelerinin, VA grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azalmış olduğu (Turkyilmaz ve diğ., 2020), ROS ve LPO seviyelerinde artış, CAT, SOD ve GSH seviyelerinde ise azalma olduğu gösterilmiştir (Asmaa ve diğ., 2025). SOD ve CAT seviyelerinin VA uygulanmış dalakta önemli ölçüde azaldığı tayin edilmiştir (Asghar ve diğ., 2024). Çalışmamızda aldığımız sonuçlar, Moringa'nın CAT ve SOD değerlerinde artma gösterdiği ve serbest radikalleri süpürerek oksidatif stresin önüne geçtiği yönündedir.

XO, purin katabolizmasında önemli bir rol üstlenmektedir. XO'nun yükselmiş aktivitesi, süperoksit radikallerinin oluşumuyla ilişkili olup oksidatif strese yol açmaktadır (Coremen ve diğ., 2022). Literatürde, XO aktivitelerinin VA grubunda artma gösterdiği gösterilmiştir (Turkyilmaz ve diğ., 2020). Bu çalışmada, VA ile oluşturulmuş dalak hasarının XO aktivitelerinde artış gösterdiği tayin edildi. VA tedavisi sonrası gözlemlenen XO aktivitesindeki artış, ROS üretimini artırabilir ve bu durum, artan lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasarın bir kısmından sorumlu olabilir (Sokmen ve diğ., 2012). Yapılan bir diğer çalışma, polifenoller gibi kimyasal maddelerin ksantin oksidaz gibi oksidan üreten enzimlerin aktivitelerini engellediği yönündedir (Ali ve diğ., 2019). Çalışmamızda, Moringa'nın polifenol ve vitamin gibi çeşitli bileşenleri içermesi sayesinde VA grubunda artmış olan XO seviyelerinin anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Moringa'nın terapötik etkileri sayesinde, bozulmuş CAT, SOD ve GSH seviyelerinin geri kazanılması belirtilmiş (Alev-Tuzuner ve diğ., 2024; Wang ve diğ., 2024), hasarlı dokuda ROS ve LPO artımının CAT aktivitesinde azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Moringa, beyinde yaratılan nörotoksiteye karşı etki göstererek CAT aktivitelerini artırmıştır (Dahran ve diğ., 2023). Bir başka çalışmada, Moringa'nın karaciğer dokusunu korumada etkili olduğu, SOD, CAT seviyelerini anlamlı bir şekilde arttırdığı belirtilmiştir (Redha ve diğ., 2021). Kas dokusunun VA grubunda, SOD aktiviteleri azalmış, VA+MO grubunda ise Moringa'nın etkisi ile SOD aktivitelerinde artma saptanılmıştır (Ertik ve diğ., 2023).

GR, hücrel antioksidan savunma sisteminde önemli bir enzimdir. GR, oksitlenmiş glutasyonu (GSSG) iki molekül indirgenmiş glutasyon (GSH) haline dönüştürür ve bu reaksiyon için NADPH'yi kofaktör olarak kullanmaktadır. Bu dönüşüm, hücre içi redoks dengesinin korunmasında ve ROS'un neden olduğu hasarın önlenmesinde önemli bir mekanizma olmaktadır (Ertik ve diğ., 2023). GR aktivitesinin yükselmesi antioksidan özelliğinin artmasını göstermektedir (Alam ve diğ., 2023). GPx, hidrojen peroksidi (H₂O₂) indirgenmiş glutasyon (GSH) kullanarak su ve oksitlenmiş glutasyon (GSSG) haline dönüştüren bir enzimdir. Ayrıca, GPx, lipid peroksidasyon ürünlerini detoksifiye ederek hücrel membranları oksidatif hasardan kormaktadır (Azeem ve diğ., 2023). GPx sitoplazma ve mitokondrilerde bulunur. Ayrıca, ROS'un yüksek seviyelerine maruz kalındığında ilk aktive gösteren enzim olarak belirlenmiştir (Ali ve diğ., 2019). GST, reaktif bileşiklerin elektrofilik saldırılarından kaynaklanan hücre hasarını önlemede önemli bir rol oynayan enzimdir. GST hem oksidatif stresin etkilerini hafifletmekte hem de hücrel bütünlüğün korunmasına katkıda sağlamaktadır (Emekli-Alturfan ve diğ., 2015). Çalışmamızda, VA ile hasar oluşturulmuş sıçan dalağında GR, GST, GPx enzim aktivitelerinin azaldığı, VA ve Moringa ekstresi verilen gruplarda ise enzim aktivitelerinin anlamlı bir şekilde arttığı saptandı. Bu bulgular, literatürde çeşitli makalelerle tutarlılık göstermektedir. Literatürlerde, kas dokusunda VA'in etkisiyle GPx aktivitelerinin azaldığı, hasar grubuna Moringa'nın verilmesiyle bu değerlerde artış görülmesi (Ertik ve diğ., 2023), VA'in bağırsak dokusunda, GST aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma göstermesi (Oktay ve diğ., 2015), kalp dokusunda VA grubunda GPx aktivitelerinin azalması (Emekli-Alturfan ve diğ., 2015), hasar yaratılmış dalak dokusunda GPx aktivitelerinin azalması (Han ve diğ., 2023; Nithiyandam ve diğ., 2023; Wang ve diğ., 2023), çeşitli dokularda deney hayvanlarına VA uygulanmasının GPx ve GST seviyelerini azaltabildiği (Ezhilarasan ve Mani, 2022; Asghar ve diğ., 2024), Moringa'nın GST, GR, GPx seviyelerini artırdığı (Alev-Tuzuner ve diğ., 2024; Dağsuyu ve diğ., 2023; Razis ve diğ., 2014; Redha ve diğ., 2021) gösterilmiştir.

Çalışmamızda, VA'in dalak dokusuna etkisi arginaz aktivitelerinin artmasına neden olmuştur. Bu sonuç, aşırı ROS üretimi ve LPO seviyelerinin yükselmesiyle uyumlu olmaktadır. VA ve Moringa verilen gruplarda ise arginaz seviyesinde azalma tayin edildi. Bu inhibisyonun olası nedeni, Moringa'nın içerdiği fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklere sahip olmaları düşünülebilir (Chiş ve diğ., 2023).

PON, özellikle aktive olmuş organofosfatları ve CPF-okson gibi okson yapıdaki molekülleri detoksifiye etmekle sorumlu bir enzimdir. PON aktivitesinin oksidatif stresin etkisiyle değiştiği bilinmektedir (Coremen ve diğ., 2022). PON1, LDL'nin oksidatif modifikasyonunu inhibe ederek lipoproteinleri oksidasyondan korumaktadır (Redha ve diğ., 2021). Literatürde, karaciğer dokusunda PON aktivitesi, VA'in etkisiyle anlamlı şekilde azalmıştır. Oksidatif koşullar altında PON1'in inaktive olduğu belirtilmiştir (Sokmen ve diğ., 2012). Bir başka çalışmada, VA uygulanan gruplarda PON aktivitelerinde azalma gözlemlenmiştir. Bu azalma, ROS oluşumunun tiyol gruplarını etkileyerek oksidasyonlarına yol açması ve dolayısıyla aktivitelerinin azalmasıyla açıklanabilir (Turkyilmaz ve diğ., 2020). Bu çalışmada, VA ile hasar oluşturulmuş dalak dokusunda, PON aktivitelerinde azalma, Moringa uygulanmasının ise PON aktivitelerinde belirgin bir artma gösterdiği tayin edildi. Araştırmalar sonucunda, Moringa'nın çeşitli antioksidan bileşenlerinin, VA'in ROS seviyelerini artırarak meydana gelen oksidatif strese karşı savunmada koruyucu bir etki gösterdiği tespit edilmiştir.

ROS süper oksit radikali, hücrelerde oksidatif stresin başlıca araçlarından biri olarak, hücresel yapıların bozulmasına ve çeşitli patolojik durumların gelişmesine yol açabilen reaktif oksijen türüdür (Ursini ve Maiorino, 2020). ROS seviyelerindeki artımın oksidatif stres nedeni olduğu gösterilmiş (Coremen ve diğ., 2022), ROS üretiminin artması sonucu VA tedavisinin LPO seviyelerini ve hücrelerde toksisite riskini artırdığı bildirilmiştir (Oktay ve diğ., 2015). Oksidatif stres, ROS üretimi ile antioksidan savunma sisteminin bu türleri nötralize etme kapasitesi arasında bir dengesizlik olduğunda meydana gelir, bu da hücresel fonksiyonların bozulmasına ve birçok hastalık sürecinin tetiklenmesine yol açabilir (Asghar ve diğ., 2024). Moringa, hasarlı dokuda ROS aktivitesinin azalmasını sağlayarak terapötik etki göstermiştir (Dahran ve diğ., 2023). ROS ve LPO seviyelerindeki artış, dokuda hasar olduğunu ve antioksidan sistemin bozulduğunu göstermektedir (Asmaa ve diğ., 2025). Oksidatif stres TAS seviyelerinde azalmaya sebep olmuştur (Fan ve diğ., 2023). Dalak dokusunda yaratılan hasar nedeniyle TAS seviyelerinde azalma belirlenmiş (Pan ve diğ., 2023; Han ve diğ., 2023), Moringa'nın TAS aktivitelerini anlamlı bir şekilde arttırdığı belirtilmiştir (Redha ve diğ., 2021). Sodyum valproat ile hasar yaratılan grupta TAS seviyelerinde anlamlı bir düşüş, TOS seviyelerinde ise anlamlı bir artış tayin edilmiştir. Moringa ekstraktı verilen grup, hasar grubuna kıyasla TAS seviyelerini anlamlı şekilde artırmıştır (Alev-Tuzuner ve diğ., 2024). Bir başka çalışmada, VA ile hasar oluşturulan gruplarda ROS, TOS seviyelerinde artma tespit edilmiştir

(Ertik ve diğ., 2023), TAS seviyeleri azalmıştır (Turkyılmaz ve diğ., 2020). VA+Moringa uygulamasının ise TOS, ROS seviyelerinin azalmasına, TAS seviyelerinin artmasına neden olduğu belirtilmiştir (Dağsuyu ve diğ., 2023). Bu çalışmada, VA verilen gruplarda TOS ve ROS aktiviteleri kontrol grubu ile kıyaslandığında belirgin bir şekilde artmış, TAS aktiviteleri ise belirgin bir şekilde azalmıştır. TOS ve ROS seviyelerindeki bu artış, VA'in dalakta yarattığı hasarın en belirgin kanıtıdır. Buna ilave olarak, TAS aktivitelerinin azalması antioksidan sistemin hasar gördüğünü bize bildirmektedir. VA+Moringa grubunda TOS ve ROS aktivitelerinde kontrol grubuna göre azalma, TAS seviyelerinde ise artma saptanmıştır.

AOPP protein oksidasyonunun bir belirteçidir. AOPP seviyelerinde meydana gelen artış, serbest radikallerin hücrelere olumsuz etkileriyle ilişkilendirilmektedir (Coremen ve diğ., 2022). AOPP seviyeleri, ROS tarafından indüklenen protein oksidasyonunun önemli göstergesidir. Literatürde, VA, AOPP seviyelerinde artıma neden olmuş (Turkyılmaz ve diğ., 2020), lens dokusunda AOPP seviyelerinin VA'in toksik etkisi nedeniyle arttığı, Moringa'nın bu gruba etkisiyle AOPP seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir (Dağsuyu ve diğ., 2023). Çalışmamızın bulgularına göre, oksidatif stres nedeniyle AOPP değerlerinin hasar grubunda arttığı, bu gruba Moringa verilmesi ile AOPP değerlerinin azaldığı tespit edildi.

NO, arginin amino asidinden nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla veya enzimatik olmayan yollarla üretilen bir reaktif nitrojen türüdür (Ali ve diğ., 2019). NO, hücresel düzeyde hem koruyucu hem de zarar verici etkiler gösterebilen bir moleküldür. İndüklenebilir NO sentazı (iNOS), makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerde NO sentezler ve bu, bağışıklık ve inflamasyon yanıtlarında rol oynayabilir. Ancak, iNOS tarafından uzun süreli aşırı NO üretimi, oldukça toksik ve reaktif peroksinitritlerin oluşumuna yol açabilmekte, oksidatif doku hasarını ve hücre ölümünü tetiklemektedir (Alev-Tuzuner ve diğ., 2024). NO, önemli bir lipid geçirgenliğine sahip sinyal molekülüdür ve bağışıklık hücrelerinde, özellikle makrofajlar ve doğal öldürücü hücrelerde (NK hücreler), çeşitli iltihaplanma mediatörlerine yanıt olarak uyarılabilmektedir. NO sentezi, düşük konsantrasyonlarda kemokin ve sitokinlere yanıt olarak T lenfositlerinde de tespit edilmiştir (Jurčacková ve diğ., 2023). NO, hem iltihap belirteci olarak işlev görür hem de güçlü bir vazodilatör özelliğe sahiptir (Coremen ve diğ., 2022). Aşırı NO üretimi oksidatif strese neden olarak çeşitli kronik hastalıkları tetikleyebilmektedir. Kolon kanserinde Moringa'nın iNOS gen ifadelerini baskıladığı literatürde belirtilmiştir (Razis ve diğ., 2014). Dalak dokusunda oluşturulan hasar NO seviyelerinde artış göstermiş (Nawaz ve diğ., 2023), Moringa'nın etanollü ekstresi, NO seviyelerini düşürmede etkili olmuştur (Redha

ve diğ., 2021). Lens dokusunda, VA ile oluşturulan hasarın NO seviyelerinde kontrol gruba göre artma, VA+Moringa ise azalma gösterdiği tayin edilmiştir (Dağsuyu ve diğ., 2023). Başka bir çalışmada, VA grubunda NO seviyeleri aktivitelerinde artma, bu gruba Moringa ekstresi uygulaması anlamlı bir azalma sağlamış (Ertik ve diğ., 2023; Alam ve diğ., 2023), beyin dokusunda, VA grubunda NO seviyelerinde artış saptanmıştır (Turkyılmaz ve diğ., 2020). Bu çalışmada, VA'in dalak dokusuna etkisi ile NO seviyelerinde artma, VA+Moringa grubunda ise azalma tayin edilmiştir.

Hidroksi prolin, kolajen yapısının önemli bir bileşeni olup, fibrozis süreçlerinde bir marker olarak kullanılmaktadır (Coremen ve diğ., 2022). Bu çalışmada, dalak dokusuna VA'in toksik etkisi nedeniyle HP değerleri kontrol gruba göre belirgin bir şekilde arttığı, Moringa'nın etkisiyle HP değerlerinin belirgin bir şekilde azaldığı saptandı.

Çalışmamızda, VA uygulanan sıçan dalaklarının heksoz, heksozamin, fukoz seviyelerinde kontrole göre belirgin bir şekilde artma, VA+Moringa da ise belirgin bir şekilde azalma saptandı.

LDH, hücre hasarının belirgin bir biyo-belirteçidir. LDH aktivitesinin ölçümü, kimyasal maddeler veya toksinlerle indüklenen hepatotoksititeyi değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Sokmen ve diğ., 2012). Kas dokusunda yapılan araştırma, Moringa'nın kontrol grubuna göre LDH seviyesini artırdığı yönündedir (Ertik ve diğ., 2023). Çalışmamızda, VA'in neden olduğu dalak doku toksitesinde, LDH aktivitelerinin azalması tayin edilmiş, VA grubuna Moringa'nın etkisi ile LDH aktivitelerinde belirgin bir şekilde artma olduğu saptanmıştır.

G6PD, pentoz fosfat yolunun ana enzimi olarak NADPH sentezinde önemli bir rol oynamaktadır. G6PD aktivitesindeki değişiklikler, NADPH seviyelerini etkileyerek antioksidan sistemin verimliliğini azaltabilir ve bu durum, oksidatif stresin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Kas dokusunda yapılan çalışmada, VA grubunun G6PD aktivitesi anlamlı bir şekilde artmış, Moringa ekstresi uygulanması ise G6PD aktivitesinin anlamlı şekilde azalmasına neden olmuştur (Ertik ve diğ., 2023). Bu çalışmada, VA grubunda kontrol grubuna göre G6PD aktivitelerinde belirgin bir artma, VA+Moringa grubunda ise VA grubuna göre azalma tayin edildi.

Çalışmamızın verilerine göre, dalak dokusunda VA, ACP aktivitelerinde kontrol gruba göre belirgin bir şekilde artma, VA'ya Moringa ekstresi uygulanmasının ise azalma gösterdiği tayin edildi.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, valproik asit ile oluşturulan dalak dokusu hasarında *Moringa oleifera* yaprak ekstresinin koruyucu etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Araştırma sonucunda, valproik asit uygulamasının dalak dokusunda oksidatif stres oluşturarak dokusal hasara yol açtığı tespit edilmiştir. Bu durum, GSH, TAS düzeylerinin yanı sıra SOD, CAT, GR, GST, GPx gibi antioksidan enzimler ve PON, LDH enzim aktivitelerinin azalmasıyla ve LPO, siyalik asit, XO, arginaz, TOS, ROS, NO, AOPP, glikoproteinler, HP, G6PD, ACP gibi yüksek oksidatif stres belirteçlerinin artmasıyla doğrulanmıştır. *Moringa oleifera* yaprak ekstresinin uygulanmasıyla bu biyokimyasal dengesizliklerin düzeldiği, antioksidan savunma sisteminin güçlendiği ve oksidatif hasarın azaldığı saptanmıştır. Bulgular, *Moringa oleifera*'nın dalak dokusundaki valproik asit kaynaklı hasar üzerinde koruyucu ve terapötik etkiler sunabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Aebi, H., 1984, Catalase in vitro, *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Aichele, P., Zinke, J., Grode, L., Schwendener, R.A., Kaufmann, S.H.E., Seiler, P., 2003, Macrophages of the splenic marginal zone are essential for trapping of blood-borne particulate antigen but dispensable for induction of specific t cell responses, *The Journal of Immunology*, 171, 1148-1155.
- Alam, M.N., Singh, L., Khan, N.A., Asiri, Y.I., Hassan, M.Z., Afzal, O., Altamimi, A.S.A., Hussain, M.S., 2023, Ameliorative effect of ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves in combination with curcumin against PTZ induced kindled epilepsy in rats; in vivo and in silico study, *Preprints*, 10.20944/preprints202306.1227.v1.
- Alcântara, L.F.M., Silva, P.T., Oliveira, Q.M., Souza, T.G.S., Silva, M.M., Feitoza, G.S., Costa, W.K., Lira, M.A.C., Chagas, C.A., Júnior, F.C.A.A., Correia, M.T.S., Silva, M.V., 2023, Toxicological safety, antioxidant activity and phytochemical characterization of leaf and bark aqueous extracts of *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J.B. Gillett, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 86, 557-574.
- Alev-Tuzuner, B., Oktay, S., Cergel, E., Elik, G., Magaji, U.F., 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.
- Ali, S.S., Ahsan, H., Zia, M.K., Siddiqui, T., Khan, F.H., 2019, Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players, *Journal of Food Biochemistry*, 44, e13145.
- Allendorfer, J.B., Arida, R.M., 2018, Role of physical activity and exercise in alleviating cognitive impairment in people with epilepsy, *Clinical Therapeutics*, 40, 26-34.
- Arif, Y., Bajguz, A., Hayat, S., 2023, *Moringa oleifera* extract as a natural plant biostimulant, *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 1291-1306.
- Arshad, N., Rubab, M., Zain, A., Mubeen, B., Tariq H., Malik, A., 2023, Green Synthesized FM-AgNPs lead to alterations in hematology, oxidative stress biomarkers, and microanatomy of liver and spleen in rats, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 66, e23220098.
- Asghar, M.A., Tang, S., Wan, B., Chen, Y., Zhang, X., Zhao, Q., 2024, Valproic acid-induced oxidative stress: Systematic review, meta-analysis and network pharmacology highlights disruption in antioxidant pathways in rodents, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 494, 117160.

- Asmaa, L., Mehdi, A.K., Khadija, A., Jawad, L., Rachida, R., 2025, Effects of exposure to micro/nanoplastics of polystyrene on neuronal oxidative stress, neuroinflammation, and anxiety-like behavior in mice: A Systematic Review, *Emerging Contaminants*, 11, 100442.
- 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., *Scientific 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⁺Oxidoreductase, EC 1.1.1.27). International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), *European Journal of Clinical Chemistry Clinical Biochemistry*, 32, 639-655.
- Beamer, E., Fischer, W., Engel, T., 2017, The ATP-Gated P2X7 receptor as a target for the treatment of drug-resistant epilepsy, *Frontiers in Neuroscience*, 11, 21.
- Bekele, B.K., Nebieridze, A., Daniel, I.M., Byiringiro, C., Nazir, A., Kibru, E.A., Wojtara, M., Uwishema, O., 2023, Epilepsy in Africa: a multifaceted perspective on diagnosis, treatment, and community support, *Annals of Medicine & Surgery*, 86, 624-627.
- Brendolan, A., Rosado, M.M., Carsetti, R., Selleri, L., Dear, T.N., 2007, Development and function of the mammalian spleen, *BioEssays*, 29, 166-177.
- Beutler, E., 1971, Red cell metabolism, *A Manual of Biochemical Methods*, 12th Academic Press, London, 68-80.
- Beutler, E., 1975, Glutathione in red cell metabolism, *A Manual of Biochemical Methods*, 2 nd Ed. New York, Grune and Stratton, 112-114.
- Beutler, E., 1984, Red blood cell metabolism: *A Manual of Biochemical Methods*. 3rd Ed., Grune and Stratton, Orlando, pp. 68.
- Bryson, A., Reid, C., 2023, Fundamental Neurochemistry Review: GABAA receptor neurotransmission and epilepsy: Principles, disease mechanisms and pharmacotherapy, *Journal of Neurochemistry*, 165, 6-28.
- Bush, K.J., Cullen, E., Mills, S., Chin, R.F.M., Thomas, R.H., Kingston, A., Pickrell, W.O., Ramsay, S.E., 2024, Assessing the extent and determinants of socioeconomic inequalities in epilepsy in the UK: a systematic review and meta-analysis of evidence, *Lancet Public Health*, 9, e614-28.
- Cesta, M.F., 2006, Normal structure, function, and histology of the spleen, *Toxicologic Pathology*, 34, 455-465.
- Cheng, C., Yi, J., Wang, R., Cheng, L., Wang, Z., Lu, W., 2018, Protection of spleen tissue of γ -ray irradiated mice against immunosuppressive and oxidative effects of radiation by adenosine 5'-monophosphate, *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1273.
- Chiş, A., Noubissi, P.A., Pop, O., Mureşan, C.I., Tange, M.A.F., Kamgang, R., Fodor, A., Sitar-Tăut, A., Cozma, A., Orăşan, O.H., Hegheş, S.C., Vulturar, R., Suharoschi, R., 2023, Bioactive compounds in *Moringa oleifera*: Mechanisms of action, focus on their anti-inflammatory properties, *Plants*, 13(1), 20.

- Coremen, M., Turkeyilmaz, I.B., Us, H., Us, A.S., Celik, S., Ozel, A.E., Bulan, O.K., Yanardag, R., 2022, Lupeol inhibits pesticides induced hepatotoxicity via reducing oxidative stress and inflammatory markers in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 164, 113068.
- Corte, E.D., Stirpe, F., 1968, Regulation of xanthine oxidase in rat liver: modifications of the enzyme activity of rat liver supernatant on the storage at 20 degrees, *The Biochemical Journal*, 108, 349-351.
- Dağsuyu, E., Magaji, U.M., Saçan, Ö., Yanardağ, R., 2023, *Moringa oleifera* ethanolic extract prevents oxidative damage on lens caused sodium valproate used in epilepsy treatment, *European Journal of Biology*, 82, 289-295.
- Dahrn, N., Abd-Elhakim, Y.M., Mohamed, A.A., Abd-Elsalam, M.M., Said, E.N., Metwally, M.M.M., Abdelhamid, A.E., Hassan, B.A., Alsieni, M., Alosaimi, M.E., Abduljabbar, M.H., El-Shetry, E.S., 2023, Palliative effect of *Moringa oleifera*-mediated zinc oxide nanoparticles against acrylamide-induced neurotoxicity in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 171, 113537.
- D'Auria, G., Nitride, C., Nicolai, M.A., Mamone, G., Montesano, D., Mills, E.N.C., Ferranti, P., 2022, Identification of allergen encoding sequences in a novel food ingredient from *Moringa oleifera* leaves, *Food Chemistry*, 401, 134185.
- Dische, Z., Shettles, L.B., 1948, A specific color reaction of methylpentoses and a spectrophotometric micromethod for their determination, *Journal of Biological Chemistry*, 175, 593-603.
- Dreier, J.W., Christensen, J., Igland, J., Gissler, M., Leinonen, M.K., Vegrim, H.M., Sun, Y., Tomson, T., Zoega, H., Bjørk, M., Bromley, R.L., 2024, Prenatal exposure to antiseizure medications and risk of epilepsy in children of mothers with epilepsy, *JAMA Network Open*, 7, e2356425.
- Ede, S., Özbeyli, D., Erdoğan, Ö., Çevik, Ö., Kanpalta, F., Ercan, F., Yanardağ, R., Saçan, Ö., Ertik, O., Yüksel, M., Şener, G., 2023, Hepatoprotective effects of parsley (*Petroselinum Crispum*) extract in rats with bile duct ligation, *Arab Journal of Gastroenterology*, 24, 45-51.
- El-Bassossy, T.A.I., Abdelgawad, A.A.M., Abo-Zaid, M.A., Amin, A.H., El-Agamy, S.A., Elazab, K.M., Ismail, A.H., 2023, Evaluation of the immunomodulatory, antioxidant, and histopathological effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil extract on kidney and spleen in BALB/C mice, *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, 9, 411-422.
- Elmore, S.A., 2006, Enhanced histopathology of the spleen, *Toxicologic Pathology*, 34, 648-655.
- 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 Laboratory and Science*, 45, 166-172.
- 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 (4), 277-285.

- Erel, O., 2005, A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status, *Clinical Biochemistry*, 38, 1103-1111.
- Ertik, O., Magaji, U.F., Sacan, O., Yanardag, R., 2023, Effect of *Moringa oleifera* leaf extract on valproate induced oxidative damage in muscle, *Drug and Chemical Toxicology*, 46, 1212-1222.
- Ezhilarasan, D., Mani, U., 2022, Valproic acid induced liver injury: An insight into molecular toxicological mechanism, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 95, 103967.
- Fachruddin, Suprayogi, A., Manalu, W., Hanif, N., Darusman, H.S., 2024, Data on characteristics of simplicia, phytoconstituents, and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves ethanol extract, *Data in Brief*, 54, 110425.
- Fan, Y., Zhao, Q., Wei, Y., Wang, H., Ga, Y., Zhang, Y., Hao, Z., 2023, Pingwei san ameliorates spleen deficiency-induced diarrhea through intestinal barrier protection and gut microbiota modulation, *Antioxidants*, 12, 1122.
- 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.
- Feng, Y., Wei, Z., Liu, C., Li, G., Qiao, X., Gan, Y., Zhang, C., Deng, Y., 2022, Genetic variations in GABA metabolism and epilepsy, *Seizure: European Journal of Epilepsy*, 101, 22-29.
- Furlong, C.E., Richter, R.J., Seidel, S.L., Motulsky, A.G., 1988, Role of genetic polymorphism of human plasma paraoxonase/arylesterase in hydrolysis of the insecticide metabolites chlorpyrifos oxon and paraoxon, *American Journal of Human Genetics*, 43, 230-238.
- Gao, K., Lin, Z., Wen, S., Jiang, Y., 2022, Potassium channels and epilepsy, *Acta Neurologica Scandinavica*, 146, 699-707.
- Geyer, J.W., Dabich, D., 1971, Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates, *Analytical Biochemistry*, 39, 412-417.
- Gharsallah, K., Rezig, L., Rajoka, M.S.R., Mehwish, H.M., Ali, M.A., 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: pharmacokinetics and pharmacodynamics, *Pharmacogenet Genomics*, 23, 236-241.
- Ghosh, D., Stumhofer, J.S., 2021, The spleen: “epicenter” in malaria infection and immunity, *Journal of Leukocyte Biology*, 110, 753-769.
- Gziut, T., Thanacoody, R., 2024, L-carnitine for valproic acid-induced toxicity, *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1-12.
- Habig, W.H., Jakoby, W.B., 1981, Assays of differentiation on glutathione-S-transferase, *Methods of Enzymology*, 77, 398-405.

- Han, Y., Huang, J., Zhao, C., Zhang, F., Gu, Y., Wang, C., Jin, E., 2023, *Hericium erinaceus* polysaccharide improves the microstructure, immune function, proliferation and reduces apoptosis of thymus and spleen tissue cells of immunosuppressed mice, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 87, 279-289.
- Heś, M., Dziedzic, K., Górecka, D., Jędrusek-Golińska, A., Gujska, E., 2019, Aloe vera (L.) Webb.: Natural sources of antioxidants– A review, *Plant Foods for Human Nutrition*, 74, 255-265.
- Hu, Q., Li, S., Qiao, E., Tang, Z., Jin, E., Jin, G., Gu, Y., 2014, Effects of boron on structure and antioxidative activities of spleen in rats, *Biological Trace Element Research*, 158, 73-80.
- Inada, H., Chihara, K., Yamashita, A., Miyawaki, I., Fukuda, C., Tateishi, Y., Kunimatsu, T., Kimura, J., Funabashi, H., Miyano, T., 2012, Evaluation of ovarian toxicity of sodium valproate (VA) using cultured rat ovarian follicles, *The Journal of Toxicological Sciences*, 37, 587-594.
- 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 of Food and Agriculture*, 103, 7343-7361.
- Juliastuti, H., Ratwita, W., Ridzki, M.A., 2022, Black rice ethanol extract effect on accumulation of lymphocytes in lipopolysaccharide-induced wistar rat spleen, *Journal of Health and Dental Sciences*, 2, 415-428.
- Jurčacková, Z., Ciglanová, D., Mudroňová, D., Tumová, L., Bárcenas-Pérez, D., Kopecký, J., Koščová, J., Cheel, J., Hřčková, G., 2023, Astaxanthin extract from *Haematococcus pluvialis* and its fractions of astaxanthin mono- and diesters obtained by ccc show differential antioxidant and cytoprotective effects on naïve-mouse spleen cells, *Antioxidants*, 12, 1144.
- Khalid, F., Azmat, H., Khan, N., Saima, 2024, Ameliorative effects of *Moringa oleifera* leaf extract against arsenic induced histo-biochemical alterations in *Labeo rohita*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 287, 117258.
- Kou, X., Li, B., Olayanju, J.B., Drake, J.M., Chen, N., 2018, Nutraceutical or pharmacological potential of *Moringa oleifera* Lam., *Nutrients*, 10(3), 343.
- Kośmider, K., Kamieniak, M., Czuczwar, S., Miziak, B., 2023, Second generation of antiepileptic drugs and oxidative stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 3873.
- Kumawat, M., Une, H., 2024, Effect of *Lactobacillus acidophilus*, calcium, and *Moringa oleifera* leaves extract co-administration can prevent chemical-induced carcinogenesis, *Arab Journal of Gastroenterology*, 25, 421-436.
- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepień, A., Kadziolka, A., 1986, The relationship between plasma triglycerides and lipid peroxidation products during human atherosclerosis, *Clinica Chimica Acta*, 155, 275-284.
- Lewis, S.M., Williams, A., Eisenbarth, S.C., 2019, Structure and function of the immune system in the spleen, *Science Immunology*, 4(33), eaau6085.

- Lheureux, P.E.R., Hantson, P., 2009, Carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity, *Clinical Toxicology*, 47, 101-111.
- Liu, R., Xiao, L., Hu, Y., Yan, Q., Liu, X., 2023, Rescue strategies for valproic acid overdose poisoning: Case series and literature review, *Clinical Case Reports*, 12, e8367.
- Lorentz, K., Weiss, T., Kraas, E., 1986, Sialic acid in human serum and cerebrospinal fluid. Comparison of methods and reference values, *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 24, 189-198.
- Lori, A., Perrotta, M., Lembo, G., Carnevale, D., 2017, The spleen: A hub connecting nervous and immune systems in cardiovascular and metabolic diseases, *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1216.
- 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.
- Maity, J., Pal, P., Pal, R., Mukhopadhyay, P.K., 2023, Supplementation of L-ascorbic acid and α tocopherol alleviate arsenic induced immunotoxicities in thymus and spleen by dwindling oxidative stress induced in ammation, *Research Square*, 10.21203/rs.3.rs-3069347/v1.
- 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 (1), 62-71.
- Mylroie, A.A., Collins, H., Umbles, C., Kyle J., 1986, Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 82, 512-520.
- Nawaz, S., Irfan, H.M., Alamgeer, Akram, M., Jahan, S., 2023, Linalool: Monoterpene alcohol effectiveness in chronic synovitis through lowering Interleukin-17, spleen and thymus indices, *International Immunopharmacology*, 121, 110517.
- Neri, S., Mastroianni, G., Gardella, E., Aguglia, U., Rubboli, G., 2022, Epilepsy in neurodegenerative diseases, *Epileptic Disorders*, 24, 249-273.
- Nithyanandam, S., Jaisankar, V., Parthasarathy, M., Katturajan, R., Prince, S.E., 2023, Antioxidant mediated defensive potency of *Caesalpinia bonducella* nut on Acetaminophen-inebriated spleen and cardiotoxicity: Implications on oxidative stress and tissue morphology in an In vivo model, *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 60, 297-306.
- Oktay, S., Alev, B., Tunali, S., Emekli-Alturfan, E., Tunali-Akbay, T., Koc-Ozturk, T., Yanardag, R., Yarat, A., 2015, Edaravone ameliorates the adverse effects of valproic acid toxicity in small intestine, *Human and Experimental Toxicology*, 34 (6), 654-661.
- Pan, E., Chen, H., Wu, X., He, N., Gan, J., Feng, H., Sun, Y., Dong, J., 2023, Protective effect of quercetin on avermectin induced splenic toxicity in carp: Resistance to inflammatory response and oxidative damage, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 193, 105445.
- 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, *The International Journal of Molecular Sciences*, 24, 2098.

- Pitkänen, A., Sutula, T.P., 2002, Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy, *The Lancet Neurology*, 1, 173-81.
- Prince, S.E., Nithiyanandam, S., Jaisankar, V., Parthasarathy, M., Katturajan, R., 2023, Antioxidant mediated defensive potency of *Caesalpinia bonducella* nut on Acetaminophen-inebriated spleen and cardiotoxicity: Implications on oxidative stress and tissue morphology in an In vivo model, *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 60, 297-306.
- Ravizza, T., Terrone, G., Balosso, S., Pauletti, A., Vezzani, A., 2020, Inflammation and reactive oxygen species as disease modifiers in epilepsy, *Neuropharmacology*, 167, 107742.
- Razis, A.F.A., Ibrahim, M.D., Kntayya, S.B., 2014, Health benefits of *Moringa oleifera*, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15, 8571-8576.
- Redha, A.A., Perna, S., Riva, A., Petrangolini, G., Peroni, G., Nichetti, M., Iannello, G., Naso, M., Faliva, M.A., Rondanelli, M., 2021, Novel insights on anti-obesity potential of the miracle tree, *Moringa oleifera*: A systematic review, *Journal of Functional Foods*, 84, 104600.
- Reddy, G.K., Enwemeka, C.S., 1996, A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues, *Clinical Biochemistry*, 29, 225-229.
- Ruyani, S.F., Sumarsono, S.H., 2023, Exposure to Valproic acid (VA) resulted in alterations in the expression of angiogenic genes (NRP-1, VEGFA, VEGFR-2 and sFlt1) and histological modifications in the placenta of mice (*Mus musculus*), *Reproductive Toxicology*, 119, 108405.
- Saadat, M., Taherian, A.A., Aldaghi, M.R., Raise-Abdullahi, P., Sameni, H.R., Vafaei, A.A., 2023, *Prangos ferulacea* (L.) ameliorates behavioral alterations, hippocampal oxidative stress markers, and apoptotic deficits in a rat model of autism induced by valproic acid, *Brain and Behaviour*, 13, e3224.
- Sameni, H.R., Saadat, M., Taherian, A.A., Aldaghi, M.R., Raise-Abdullahi, P., Vafaei, A.A., 2023, *Prangos ferulacea* (L.) ameliorates behavioral alterations, hippocampal oxidative stress markers, and apoptotic deficits in a rat model of autism induced by valproic acid, *Brain and Behavior*, 13, e3224.
- Sarlo, G.L., Holton, K.F., 2021, Brain concentrations of glutamate and GABA in human epilepsy: A review, *Seizure: European Journal of Epilepsy*, 91, 213-227.
- Scheffer, I.E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M.B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G.W., Moshé, S.L., Nordli, D.R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y., Zuberi, S., 2017, ILAE Classification of the epilepsies position paper of the ILAE Commission for classification and terminology, *Epilepsia*, 58 (4), 512-521.
- Schmidlechner, T., Zaddach, M., Heinen, F., Cornell, S., Ramantani, G., Rémi, J., Vollmar, C., Kunz, M., Borggraefe, I., 2023, IQ changes after pediatric epilepsy surgery: A systematic review and meta-analysis, *Journal of Neurology*, 271, 177-187.
- Shakour, Z.T.A., El-Akad, R.H., Elshamy, A.I., Gendy, A.E.G.E., 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.

- Shnayder, N.A., Grechkina, V.V., Khasanova A.K., Bochanova, E.N., Dontceva, E.A., Petrova, M.M., Asadullin, A.R., Shipulin, G.A., Altynbekov, K.S., Al-Zamil, M., Nasyrova, R.F., 2023, Therapeutic and toxic effects of valproic acid metabolites, *Metabolites*, 13, 134.
- Soria-Castro, R., Chávez-Blanco, A.D., García-Pérez, B.E., Wong-Baeza, I., Flores-Mejía, R., Flores-Borja, F., Estrada-Parra, S., Estrada-García, I., Serafín-López, J., Chacón-Salinas, R., 2020, Valproic acid inhibits interferon- γ production by NK cells and increases susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection, *Scientific Reports*, 10, 17802.
- Sokmen, B.B., Tunali, S., Yanardag, R., 2012, Effects of vitamin U (S-methyl methionine sulphonium chloride) on valproic acid induced liver injury in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 3562-3566.
- Steiniger, B.S., 2015, Human spleen microanatomy: why mice do not suffice, *Immunology*, 145, 334-346.
- Suttie, A.W., 2006, Histopathology of the spleen, *Toxicologic Pathology*, 34, 466-503.
- Su, X., Lu, G., Ye, L., Shi, R., Zhu, M., Yu, X., Li, Z., Jia, X., Feng, L., 2023, *Moringa oleifera* Lam.: a comprehensive review on active components, health benefits and application, *The Royal Society of Chemistry*, 13, 24353-24384.
- Şener, G., Karakadıoğlu, G., Ozbeyli, D., Ede, S., Yanardag, R., Saçan, O., Aykac, A., 2022, *Petroselinum crispum* extract ameliorates scopolamine-induced cognitive dysfunction: role on apoptosis, inflammation and oxidative stress, *Food Science and Human Wellness*, 11, 1290-1298.
- Treiman, D.M., 2001, GABAergic mechanisms in epilepsy, *Epilepsia*, 42, 8-12.
- Turkyilmaz, I.B., Sokmen, B.B., Yanardag, R., 2020, Alpha-lipoic acid prevents brain injury in rats administered with valproic acid, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34, e22580.
- Umoren, E., Asiwe, J.N., Okon, I.A., Amangieka, A.L., Nyenke, C.U., Nnamudi, A.C., Modo, E.U., Basse, A.I.L., Nwike, G., Etim, O.E., 2023, *Terminalia catappa* attenuates phenylhydrazine induced anaemia and hepato-renal toxicity in male Wistar rat by boosting blood cells, modulation of lipoproteins and up-regulation of in vivo antioxidant armories, *Biomarkers*, 28, 302-312.
- Ursini, F., Maiorino, M., 2020, Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4, *Free Radical Biology and Medicine*, 152, 175-185.
- Varga, I., Babala, J., Kachlik, D., 2018, Anatomic variations of the spleen: current state of terminology, classification, and embryological background, *Surgical and Radiologic Anatomy*, 40, 21-29.
- Vezzani, A., Rüegg, S., 2017, Introduction to the 2nd meeting on immunity and inflammation in epilepsy (IIE2016), *Epilepsia*, 58, 7-10.
- Walter, K., Schutt, C., 1974, Acid and alkaline phosphatase in serum (two point method), *Method of Enzymatic Analysis*, vol 2, Verlag Chemie GmbH, Boca Raton, FL, 856-860.
- Wang, G., Wang, J., Xin, C., Xiao, J., Liang, J., Wu, X., 2021, Inflammatory response in epilepsy is mediated by glial cell gap junction pathway (Review), *Molecular Medicine Reports*, 24, 493.

- Wang, H., Yang, Y., Zhang, X., Wang, Y., Fan, H., Shi, J., Tan, X., Xu, B., Qiang, J., Pan, E., Chu, M., Dong, Z., Dong, J., 2023, Liensinine attenuates inflammation and oxidative stress in spleen tissue in an LPS-induced mouse sepsis model, *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*, 24(2), 185-190.
- Wang, X., He, L., Huang, Z., Zhao, Q., Fan, J., Tian, Y., Huang, A., 2023, Isolation, identification and characterization of a novel antimicrobial peptide from *Moringa oleifera* seeds based on affinity adsorption, *Food Chemistry*, 398, 133923.
- Wang, Z., Feng, Y., Tian, Y., Yang, M., He, Y., He, Y., Wang, Y., Shi, C., Tao, L., 2024, In vitro antioxidant activity of *Moringa oleifera* lam. leaf after *Monascus purpureus* fermentation and chemical component changes by untargeted metabolomics, *LWT*, 208, 116723.
- Weinzirl, J., Scheffers, T., Garnitschnig, L., Andrae, L., Heusser, P., 2020, Does the spleen have a function in digestion? Medical history, phylogenetic and embryological development of the splenogastric system, *Complement Medicine Research*, 27, 357-363.
- Wendel, A., 1981, Glutathione peroxidase, *Methods in Enzymology*, 77, 325-333.
- Winzler, R.J., 1955, Determination of serum glycoproteins, *Methods of Biochemical Analysis*, 279-311.
- Witko-Sarsat, V., Frielander, M., Capeille`re-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A.T., Zingraff, J., Jungers, P., Descamps-Latscha, B., 1996, Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia, *Kidney International*, 49, 1304-1313.
- Yoshioka, T., Goda, M., Kanda, M., Itobayashi, S., Sugimoto, Y., Izawa- Ishizawa, Y., Yagi, K., Aizawa, F., Miyata, K., Niimura, T., Hamano, H., Sakurada, T., Zamami, Y., Ishizawa, K., 2023, Valproic acid treatment attenuates cisplatin- induced kidney injury by suppressing proximal tubular cell damage, *Clinical and Translational Science*, 16, 2369-2381.
- 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 and Alternative Medicine*, 18, 343.
- Zhang, Q., Zhang, H., Chen, Y., Wang, Y., Yang, M., Guo, M., 2019, Zinc deficiency induces oxidative damage and causes spleen fibrosis, *Biological Trace Element Research*, 194, 203-209.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Sabina_AHMADOVA

ORJİNALLIK RAPORU

% **13**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **12**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **6**

YAYINLAR

% **2**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 7
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
3	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
4	Submitted to Istanbul Medipol Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
5	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<% 1
7	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	<% 1
8	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	<% 1
9	dspace.balikesir.edu.tr	

ETİK KURUL İZİN YAZISI

Uyarı: Canlı denekler üzerinde yapılan tüm araştırmalar için Etik Kurul Belgesi alınması zorunludur.

- Etik Kurul izni gerekmektedir.**
- Etik Kurul izni gerekmemektedir.**

Sabina AHMADOVA



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.

Sabina AHMADOVA

