



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN AKCİĞER VE BÖBREK
HASARINA MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİLERİ**

Umar Faruk MAGAJI

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ**

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

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Haziran, 2022

TEZ KABUL VE ONAYI

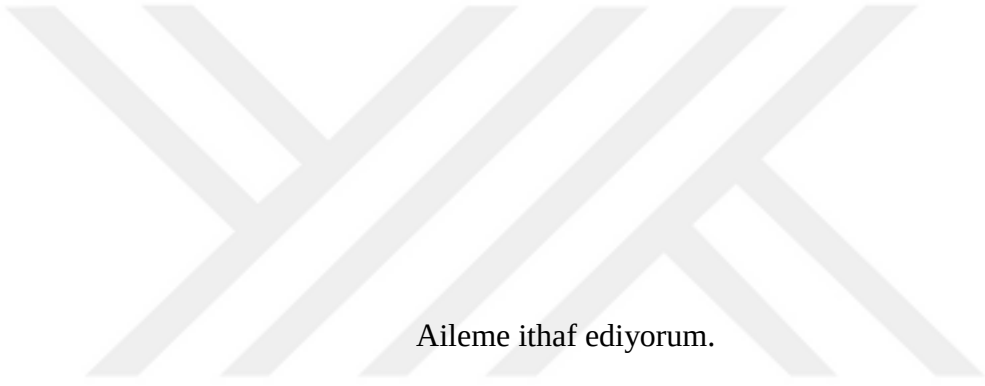
Umar Faruk MAGAJİ tarafından, **Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ** danışmanlığında hazırlanan "**SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN AKCİĞER VE BÖBREK HASARINA MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİLERİ**" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **01/06/2022** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi		İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ		☒
	İstanbul Üniversitesi -		Kabul
	Cerrahpaşa		☐
	Kimya Anabilim Dalı		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Sevim TUNALI		☒
	İstanbul Üniversitesi -		Kabul
	Cerrahpaşa		☐
	Kimya Anabilim Dalı		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ayşen YARAT		☒
	Marmara Üniversitesi		Kabul
	Temel Tıp Bilimleri Anabilim		☐
	Dalı		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ayşe OGAN		☒
	Marmara Üniversitesi		Kabul
	Biyokimya Anabilim Dalı		☐
			Ret
ÜYE	Prof. Dr. Nihal ONUL		☒
	İstanbul Üniversitesi-		Kabul
	Cerrahpaşa		☐
	Organik Anabilim Dalı		Ret

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Umar Faruk MAGAJI



Aileme ithaf ediyorum.

BÜTÇE DESTEKLERİ

SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN AKCİĞER VE BÖBREK HASARINA MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİLERİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: FDK-2021-35519

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam boyunca hiçbir desteğini esirgemeyen ömür boyu hakkını üzerimde taşıyacağım çok değerli canım hocam Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında benimle bilgi ve deneyimlerini paylaşarak çalışmalarına destek olan ikinci danışmanım Prof. Dr. Özlem SAÇAN ve Tez İzleme Komitesi üyeleri Prof. Dr. Sevim TUNALI ve Prof. Dr. Ayşen YARAT'a, ayrıca Dr. Öğr. Üyesi Bertan Boran BAYRAK, Dr. Öğr. Üyesi İsmet Burcu TÜRKYILMAZ, Araş. Gör. Dr. Onur ERTİK ve benim güzel hemşehrim Araş. Gör. Dr. Eda DAĞSUYU'na gösterdikleri yardım, ilgi ve anlayış için teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili rahmetli Babam Magaji Garba GELE'ye, annem Amina MUHAMMAD'a, eşim Safiya MUHAMMAD'a, oğlum İbrahim ve kızım Amina'ya, kardeşlerime (Abubakar, Usman, Aliyu, Ahmad, Abdulrahman, Hamza, İsmail ve İbrahim), kıymetli profesörlerime; (Prof. Dr. Danladi Mahuta SAHABİ, Prof. Dr. Yusuf SAİDU ve Dr. Abubakar Lailaba ABUBAKAR), bütün sevgili akrabalarım ve arkadaşlarıma en içten duyularım ile teşekkür ederim.

Çalışmamın uygulama kısmı destekleyen İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim. Ayrıca Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (DEHAMER)'na teşekkür ederim.

Haziran 2022

Umar Faruk MAGAJİ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	3
2.1. EPİLEPSİ.....	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Yaygınlık.....	3
2.1.3. Mekanizma	3
2.1.4. Nedenler	4
2.1.5. Sınıflandırılması.....	5
2.1.6. Belirti ve Bulgular	6
2.1.7. Tedaviler.....	6
2.2. VALPROİK ASİT	8
2.2.1. Kimyası	8
2.2.2. Klinik ve Biyokimyasal Özellikleri.....	8
2.2.3. Olumsuz Etki ve Toksisite	9
2.2.4. Valproatın Akciğer ve Böbrek Üzerindeki Yan Etkileri	9
2.3. <i>MORİNGA OLEİFERA</i>	11
2.3.1. Kökeni ve Yetiştirme	11
2.3.2. Moringa Yapraklarının Kimyasal Bileşimi	12
2.3.3. Moringa Yapraklarının Tıbbi ve Terapötik Faydaları	13
2.4. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR	14
2.4.1. Serbest Radikaller	14
2.4.2. Oksidatif Stres	14
2.4.3. Antioksidanlar	15
2.5. AKCİĞER.....	15
2.5.1. Akciğerlerin Yeri.....	16
2.5.2. Akciğer Segmentleri.....	16
2.5.3. Akciğerlerin Bağ Dokusu.....	17
2.5.4. Akciğerlerin Solunum Epiteli.....	17

2.5.5. Akciğerlerin Solunum Bölgesi	17
2.5.6. Pulmoner Alveoller	18
2.5.7. Akciğerlerin İşlevi.....	19
2.6. BÖBREK	19
2.6.1. Böbreklerin Yeri.....	19
2.6.2. Böbreklerin Anatomisi	20
2.6.3. Böbreklerde Kan ve Sinir Beslemesi	20
2.6.4. Böbreklerin İşlevi.....	21
3. YÖNTEM	23
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR/ENSTRÜMANLAR.....	23
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	23
3.3. BİTKİ NUMUNE TOPLAMA VE HAZIRLAMA.....	24
3.4. DENEYSEL TASARIM.....	24
3.5. BİYOKİMYASAL ANALİZ.....	25
3.5.1. Serum Hazırlama.....	25
3.5.2. Akciğer ve Böbrek Homojenatı Hazırlama.....	25
3.5.3. Serumda Üre Miktar Tayini	26
3.5.4. Serumda Kreatinin Miktar Tayini	26
3.5.5. Serumda Ürik Asit Miktar Tayini	27
3.5.6. Akciğer ve Böbrek Dokularında Glutasyon Miktar Tayini	28
3.5.7. Akciğer ve Böbrek Dokularında Lipit Peroksidasyonu Miktar Tayini	28
3.5.8. Akciğer ve Böbrek Dokularında Protein Karbonil Miktar Tayini	29
3.5.9. Akciğer ve Böbrek Dokularında Siyalik Asit Miktar Tayini	30
3.5.10. Akciğer ve Böbrek Dokularında Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini	31
3.5.11. Akciğer ve Böbrek Dokularında Katalaz Aktivite Tayini.....	31
3.5.12. Akciğer ve Böbrek Dokularında Glutasyon Redüktaz Aktivite Tayini.....	32
3.5.13. Akciğer ve Böbrek Dokularında Glutasyon-S-Transferaz Aktivite Tayini.....	33
3.5.14. Akciğer ve Böbrek Dokularında Glutasyon Peroksidaz Aktivite Tayini	33
3.5.15. Akciğer ve Böbrek Dokularında Paraoksonaz Aktivite Tayini.....	34
3.5.16. Akciğer ve Böbrek Dokularında Arginaz Aktivite Tayini	35
3.5.17. Akciğer ve Böbrek Dokularında Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini	36
3.5.18. Akciğer ve Böbrek Dokularında Toplam Antioksidan Miktar Tayini	36
3.5.19. Akciğer ve Böbrek Dokularında Toplam Oksidan Miktar Tayini	37
3.5.20. Akciğer ve Böbrek Dokularında Reaktif Oksijen Türleri Miktar Tayini.....	37

3.5.21. Akciğer ve Böbrek Dokularında Nitrik Oksit Miktar Tayini	38
3.5.22. Akciğer ve Böbrek Dokularında Tümör Nekroz Faktörü Alfa Miktar Tayini	39
3.5.23. Akciğer ve Böbrek Dokularında İnterlökin 6 Miktar Tayini	39
3.5.24. Akciğer ve Böbrek Dokularında Toplam Protein Miktar Tayini	39
3.5.25. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR	41
5. TARTIŞMA.....	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	78



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Bazı antiepileptik ilaçların kimyasal yapısı	7
Şekil 2.2: Valproatın kimyasal yapısı	8
Şekil 2.3: <i>M. oleifera</i> ağacı.	11
Şekil 2.4: <i>M. oleifera</i> yaprakları.	12
Şekil 2.5: <i>M. oleifera</i> yaprağı tozu.....	13
Şekil 2.6: Akciğerlerin yapısı.....	16
Şekil 2.7: Alveollerin yapısı.....	18
Şekil 2.8: Böbreğin anatomisi	20
Şekil 2.9: Nefronun yapısı	21
Şekil 4.1: Deney ve kontrol grubu sıçanların serum üre miktarları.	41
Şekil 4.2: Deney ve kontrol grubu sıçanların serum kreatinin miktarları.	42
Şekil 4.3: Deney ve kontrol grubu sıçanların serum ürik asit miktarları.	42
Şekil 4.4: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer GSH değerleri.....	43
Şekil 4.5: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek GSH değerleri.	44
Şekil 4.6: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer LPO değerleri.	44
Şekil 4.7: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek LPO değerleri.....	45
Şekil 4.8: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer PK değerleri.....	46
Şekil 4.9: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek PK değerleri.	46
Şekil 4.10: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer SA değerleri.....	47
Şekil 4.11: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek SA değerleri.	47
Şekil 4.12: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer SOD aktivite değerleri.....	48
Şekil 4.13: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek SOD aktivite değerleri.	48

Şekil 4.14: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer CAT aktivite değerleri.....	49
Şekil 4.15: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek CAT aktivite değerleri.	49
Şekil 4.16: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğerlerin GR aktivite değerleri.....	50
Şekil 4.17: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek GR aktivite değerleri.....	50
Şekil 4.18: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğerlerinin GST aktivite değerleri.....	51
Şekil 4.19: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek GST aktivite değerleri.	51
Şekil 4.20: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer GPx aktivite değerleri.....	52
Şekil 4.21: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek GPx aktivite değerleri.	52
Şekil 4.22: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer PON aktivite değerleri.....	53
Şekil 4.23: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek PON aktivite değerleri.	53
Şekil 4.24: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer arginaz aktivite değerleri.	54
Şekil 4.25: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek arginaz aktivite değerleri.....	54
Şekil 4.26: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer MPO aktivite değerleri.	55
Şekil 4.27: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek MPO aktivite değerleri.....	55
Şekil 4.28: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer TAS değerleri.	56
Şekil 4.29: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek TAS değerleri.....	57
Şekil 4.30: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer TOS değerleri.	57
Şekil 4.31: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek TOS değerleri.....	58
Şekil 4.32: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer ROS değerleri.	58
Şekil 4.33: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek ROS değerleri.....	59
Şekil 4.34: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer NO değerleri.	59
Şekil 4.35: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek NO değerleri.....	60
Şekil 4.36: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer TNF- α düzeyleri.	60
Şekil 4.37: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek TNF- α düzeyleri.....	61
Şekil 4.38: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğerler IL-6 düzeyleri.....	62
Şekil 4.39: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek IL-6 düzeyleri.....	62

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
DNPH	: 2,4-Dinitrofenil hidrazin
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DTNB	: 5,5'-Ditiyobis-2-nitrobenzoik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent tahlili
GABA	: Gama amino bütirik asit
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
IL-6	: İnterlökin 6
ILAE	: Epilepsiye Karşı Uluslararası Birlik
K	: Kontrol grubu
LPO	: Lipid peroksidasyonu
M	: Moringa grubu
MDA	: Malondialdehid
MPO	: Miyeloperoksidaz
MÜHDEK	: Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
NADH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NEDD	: N-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorür
NO	: Nitrik oksit
PK	: Protein karbonil
PON	: Paraoksonaz
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SA	: Siyalik asit
SOD	: Süperoksit dismutaz
TAS	: Toplam antioksidan durumu
TBA	: Tiyoarbitürik asit
TCA	: Triklorasetik asit
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü alfa
TOS	: Toplam oksidan durumu
Tris	: Hidroksimetil aminometan
UDP	: Uridin difosfat
V	: Valproat grubu
V+M	: Valproat+Moringa grubu
VPA	: Valproik asit (Valproat)

ÖZET

[DOKTORA TEZİ]

[SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN AKCİĞER VE BÖBREK HASARINA *MORINGA OLEIFERA*'NIN ETKİLERİ]

[Umar Faruk MAGAJİ]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

[Danışman : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

II. Danışman : Prof. Dr. Özlem SAÇAN]

[Valproat, kısmi ve jeneralize nöbetlere karşı kullanılan birinci basamak geniş spektrumlu bir anti-epileptik ilaçtır. Etkinliğine ve yaygın kullanımına rağmen, uzun süreli uygulama, valproatın neden olduğu oksidatif stresin eşlik ettiği histolojik hasarlar, antioksidan sistemin bozulması ve toksik metabolitlerin birikmesi nedeniyle çoklu organ hasarına neden olur. *Moringa oleifera*, ekonomik ve terapötik faydaları nedeniyle halk arasında “mucize ağaç” olarak bilinir. Bitki yaprakları, vitaminler, mineraller, kükürt içeren amino asitler ve flavonoidler bakımından zengin olup bitkiye farmakolojik potansiyeller kazandırır. Bu çalışmada, *Moringa* yapraklarının valproat kaynaklı akciğer ve böbrek hasarı üzerindeki etkileri araştırıldı. Sprague Dawley dişi sıçanları; Grup I: kontrol (15 gün boyunca %0.9 NaCl verilen n=8), Grup II: *Moringa* grubu (15 gün boyunca %70 etanollü ekstre 0.3 g/kg/gün; n=15), Grup III: valproat grubu (15 gün boyunca 0.5 g/kg/gün valproat verilen; n=8), Grup IV: valproat + *Moringa* verilen grup (benzer dozlarda valproat ve *Moringa* verildi; n=15) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Ön altıncı günde aç bırakılan sıçanlar anestezi altında kurban edildi. Kalp kanları alındı. Akciğer ve böbrek dokuları alınarak %0.9 NaCl içerisinde deney gününe kadar -78 C de saklandı. Kanlardan elde edilen serum örneklerinde ürik asit, üre ve miktarı tayin edildi. Valproat grubunda serum üre ve ürik asit düzeylerinin arttığı saptandı. Doku örneklerinde, glutatyon ve toplam antioksidan miktarlarının azaldığı, lipid peroksidasyonu, protein karbonil, siyalik asit, reaktif oksijen türleri, nitrik oksit, tümör nekroz faktör alfa,

interlökin-6 seviyeleri, arginaz, miyeloperoksidaz ve paraoksonaz aktivitelerinin arttığı, antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azaldığı tespit edildi. %70'lik etanollü Moringa ekstresinin valproat grubuna uygulanması, çeşitli antioksidan ve terapötik özellikleri aracılığıyla valproatın neden olduğu bu biyokimyasal bozulmaları düzelttiği saptandı. |

Haziran 2022 , [122] sayfa.

Anahtar kelimeler: [Moringa, Valproat, Akciğerler, Böbrek, Toksisite.]



ABSTRACT

Ph.D. THESIS

EFFECTS OF *MORINGA OLEIFERA* ON VALPROIC ACID INDUCED LUNG AND KIDNEY INJURY IN RATS

Umar Faruk MAGAJI

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Biochemistry Programme

Supervisor : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Co-Supervisor: Prof. Dr. Özlem SAÇAN

Valproate is a first-line broad-spectrum anti-epileptic drug used against partial and generalised seizure. Despite its efficacy and wide usage, long term administration causes multiple organ damage, due to valproate induced oxidative stress accompanied by histological damages, disruption of the antioxidant system and accumulation of toxic metabolites. *Moringa oleifera* is popularly known as the “miracle tree” due to its plethora of economic and therapeutic benefits. The plant leaves are rich in vitamins, minerals, sulphur containing amino acids and flavonoids, which confer to it pharmacological potentials. In the present study, the effects of Moringa leaves on valproate induced lung and kidney injury was investigated. Sprague Dawley female rats were divided into four groups; Group I: control (given %0.9 NaCl; n=8), Group II Moringa group (given 0.3 g/kg/day of 70% ethanol extract of Moringa extract for 15 days; n=15), Group III: valproate group (given 0.5 g/kg/day for 15 days; n=8), Group IV: valproate + Moringa administered group (given similar doses of valproate and Moringa; n=15). Biochemical analysis revealed elevated levels of serum urea and uric acid in the valproate group. Glutathione and total antioxidant status were depleted, lipid peroxidation, protein carbonyl, sialic acid, reactive oxygen species, nitric oxide, tumour necrosis factor alpha, interleukin-6 levels, arginase, myeloperoxidase and paraoxonase activities were elevated, while activities of antioxidant enzymes were disrupted. The administration of Moringa to the

valproate group mitigated these valproate induced biochemical defects via its diverse antioxidant and therapeutic properties. |

June 2022, [122] pages.

Keywords: [Moringa, Valproate, Lungs, Kidney, Toxicity.]



1. GİRİŞ

Epilepsi, dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişiyi etkileyen anormal beyin aktivitesinin kronik nörolojik bir hastalığıdır. Epileptik hastaların yaklaşık %80'i düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşamaktadır. Yaygın özellikleri arasında nöbet bozukluğu, kolların ve bacakların sarsılma hareketi, geçici karışıklık, bilinç kaybı ve bazen psikiyatrik komplikasyonlar bulunmaktadır. Genetik bozukluklar, beyin enfeksiyonu/tümör, ağır kafa yaralanması, inme, doğum öncesi ve perinatal komplikasyonlar epilepsinin önde gelen nedenleri arasındadır. Tedavisi öncelikle, anti-nöbet ilacı kullanımını içermektedir. Bu şekilde tedavi yöntemi ile epileptik hastaların %70'inden fazlasında nöbet hali engellenebilmektedir (WHO, 2019).

Valproik asit (2-propilpentanoik asit; VPA), genelleştirilmiş nöbete karşı en yaygın ve etkili standart geniş spektrumlu anti-epileptik ilaçtır (Löscher, 2002; Perucca, 2002; Olsen ve diğ., 2007; Kwan, 2010). Valproik asidin; GABAerjenik (GABA; Gama-aminobutirik asit) nöronlar, nöropeptid Y (GABAerjenik nöronlar tarafından sentezlenen) ve voltaj kapılı kanalların üzerinde etki yaparak nöbetleri bloke ettiği literatürlerde ileri sürülmektedir (Owens ve Nemeroff, 2003; Decressac ve Barker, 2012; Ghodke-Puranik ve diğ., 2013). VPA, kansızlık, osteoporoz, kilo alımı, büyüme anormallikleri, titreme, intihar etme davranışı veya düşüncesi, saç dökülmesi, hipotermi, polikistik over sendromu, ensefalopati ve en önemlisi hepatotoksisite gibi birçok yan etki gösterir (Kochen ve diğ., 1983; Wu ve diğ., 2004a; Tong ve diğ., 2005; Bilo ve Meo, 2008; Pourahmad ve diğ., 2012; Chukwu ve diğ., 2014).

Moringa oleifera (*M. oleifera*), Moringaceae familyasının 13 türü arasında en yaygın şekilde yetiştirilen türüdür. Yetiştirilme nedeni, zengin fitokimyasal ve farmakolojik özellikleridir. Afrika ve Asya'da yaygın olarak gıda, gıda katkı maddesi, halk ilacı ve barınak kaynağı olarak kullanılır (Akhtar ve diğ., 2007; Lea, 2010). Bu bitkinin yaprakları β -karoten, B vitamini, C vitamini, metiyonin ve sistein amino asit kaynağıdır (Makkar ve Becker, 1996; Peter, 2008; Aja ve diğ., 2014). Kuersetin, kaemferol, mirisetin, ferulik asit, gallik asit, rutin ve kafeik asit gibi flavonoid bileşiklerinin de yapraklarda bulunduğu bildirilmiştir (Siddhuraju ve Becker, 2003; Fahey, 2005; Anwar ve diğ., 2007; Sultana ve Anwar, 2008). Bitkinin ortak tedavi edici yararları arasında yara iyileşmesi, iltihapların ve ülserlerin tedavisi, kardiyovasküler hastalıklar, gastrointestinal rahatsızlıklar, karaciğer ve böbrek

komplkasyonları, hematolojik bozukluklar, antiplazmodik, antimikrobiyal ve sitotoksik ajanlar yer almaktadır (Pal ve diğ., 1995; Pandey ve diğ., 2012; Ruttarattanamongkol ve Petrasch, 2015; Khor ve diğ., 2018; Abdalla ve Mohamed, 2019).

Bu çalışmada, Sprague Dawley sıçanlarda valproik aside bağı doku hasarlarına karşı *M. oleifera* yaprak ekstresinin etkileri araştırıldı. Sıçanlardan, alınan kalp kanlarından elde edilen serumlarda, üre, kreatinin ve ürik asit miktarı tayin edildi. Alınan akciğer ve böbrek doku örneklerinden, %10'luk doku homojenatları hazırlandı. Bu homojenatlarda glutatyon, lipit peroksidasyon, protein karbonil, siyalik asit seviyeleri ile, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, paraoksonaz, arginaz ve miyeloperoksidaz aktiviteleri ve toplam antioksidan seviyesi, toplam oksidan seviyesi, reaktif oksijen türleri, nitrik oksit, tümör nekroz faktörü alfa, interlökin 6 ve protein miktarı gibi biyokimyasal parametreler tayin edildi.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. EPİLEPSİ

2.1.1. Tanım

Epilepsi, aralıklı nöbet, titreme ve kafa karışıklığı ile karakterize, kronik, bulaşıcı olmayan nörolojik bozukluklar veya hastalıklar grubudur. Aynı zamanda beyindeki ani bir elektriksel darbe dalgalanmasından kaynaklanan nörolojik işlev bozukluğunun bir sonucu olarak tekrarlayan bir nöbet oluşumu olarak kabul edilir (Fisher ve diğ., 2014; WHO, 2019).

2.1.2. Yaygınlık

Epilepsi, her yaş ve cinsiyeti etkileyen en yaygın nörolojik hastalıklar arasındadır. 2012 yılı itibarıyla, aktif vakaların 1000 kişi başına 3 ila 10 olduğu tahmin edilmektedir. 2019'da Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tahminleri, büyük çoğunluğu düşük veya orta gelirli ülkelerde yaşayan dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişide bu hastalığın yaygın olduğunu göstermektedir (Hirtz ve diğ., 2007; WHO, 2019). Epilepsi, yaşlı nüfusta (75 ve üzeri) genç nüfusa (20 yaş altı) göre üç kat daha fazladır. Erkekler kadınlara göre epilepsiye daha yatkındır (Newton ve Garcia, 2012).

2.1.3. Mekanizma

Beyin veya merkezi sinir sistemi, bir ileti alındığında sinyalleri ileten sinir ağından oluşan koordineli bir sistemdir. Bu sistemin aktivitesi, dejenere olmuş iyon kanalları, glial hücreler, reseptörler, kan beyin bariyeri, gen ekspresyonu, sinaptik plastisite ve enzimatik aktiviteler ve bunlarla sınırlı olmamak üzere çeşitli faktörler tarafından modüle edilir (Blumenfeld, 2005; Oby ve Janigro, 2006). Epilepsinin kesin mekanizması bilinmemekle birlikte, sinir sistemi modülasyon mekanizmalarından bir veya daha fazlasının patolojik durumlara bağlı olarak çökmesinin epileptojenezde önemli rol oynadığına inanılmaktadır (Le Van Quyen ve diğ., 2003; Lopes da Silva ve diğ., 2003; Noebels ve Avoli, 2012; Rana ve Musto, 2018). Sinyal devrelerinin yukarı regülasyonu, inhibitör devrelerin aşağı regülasyonu ve nöronların uyarılmasının azalması en yaygın epileptojenik faktörlerdir (Hammer ve McPhee, 2010; Goldberg ve Coulter, 2013). Sinir impulsu koordinasyonundaki bozulma nedeniyle

azalan nöbet eşiği, alkolizm, uyuşturucu kullanımı, stres, uykusuzluk gibi faktörler epileptik nöbeti şiddetlendirebilir (Le Van Quyen ve diğ., 2003; Hammer ve McPhee, 2010).

2.1.4. Nedenler

DSÖ epilepsinin etiyolojik temelini şu şekilde sıralamıştır: yapısal, genetik, bulaşıcı, metabolik, bağışıklık ve bilinmeyen nedenler (WHO, 2019). Küresel epileptik vakaların yüzde ellisinin nedenleri bilinmemekle birlikte, bilinen birincil nedenler geniş bir şekilde genetik veya edinsel faktörler olarak gruplandırılabilir (Berkovich ve diğ., 2013).

2.1.4.1. Genetik Faktörler

Genetik, doğrudan veya dolaylı olarak epilepsinin en sık nedenidir. Bunlar genellikle genetik mutasyon ve/veya serebral korteks ve sinir sistemindeki bozukluktan kaynaklanır. Epilepsinin %1-2'sinin genetik nedenlerinin tek gen kusurundan kaynaklandığını, büyük çoğunluğunun ise ekolojik faktörlerle çoklu gen etkileşimlerinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Pandolfo, 2011; WHO, 2019). Gen değişiklikleri, sinir dokularının ve bunlarla sınırlı olmamak üzere iyon kanalları, reseptörler, enzimler, nörotransmitterler ve G proteini içeren nörotransmitter düzenleyici moleküllerin işlevselliğini ve sentezini bozar (Berkovich ve diğ., 2013). Araştırmalar, Down ve Angelman sendromlu hastaların epileptik olma olasılığının genel nüfusa göre %10 ila %90'dan daha yüksek olduğunu, epileptik hastaların yakın akrabalarının ise 5 kat daha fazla epileptik olma olasılığının olduğunu göstermektedir (Bhalla ve diğ., 2011). Pandolfo (2011), tek yumurta ikizlerinden birinin epileptik olması durumunda diğersinin epilepsi olma olasılığının %50 ila %60 arasında olduğunu öne sürmektedir. Bu risk çift yumurta ikizlerinde %15'e kadar düşmektedir (Pandolfo, 2011).

2.1.4.2. Edinilmiş Faktörler

Edinsel epilepsinin gelişimi ile yakından ilişkili faktörlerin etkisi geniştir. Bunlara enfeksiyonlar, metabolik ve immünolojik bozukluklar, travma ve yaralanmalar dahildir. Nörosistiserkoz (domuz tenyasının neden olduğu: sistiserkoz), tüberküloz, insan bağışıklık virüsü, serebral sıtma, Zika virüsü ve sitomegalovirüs gibi enfeksiyöz ve konjenital hastalıklar menenjit veya ensefaliti hızlandırarak epilepsiyi tetikleyebilir. Porfiri, üremi ve piridoksine bağlı nöbetler, epilepsiye dönüşebilen metabolik bozukluklardır. Çoklu organ sistemlerinin ve sinir sisteminin otoimmün ve enflamasyon bozuklukları epileptik atakları başlatabilir (WHO, 2019). Diğer yüksek risk nedenleri toksoplazmoz, Alzheimer hastalığı, multipl skleroz, tuberoskleroz, serebral palsy ve otoimmün ensefalittir. Menenjit takiben epilepsi riski %10'dan

küçük, herpes simpleks ensefalitinde %25'e kadardır. Nörosistiserkoz, parazitin yaygın olduğu bölgelerde epilepsi vakalarının yaklaşık %50'sini oluşturur. Ayrıca kronik alkolizm epileptik riski 2,5 kat arttırır. Patogenez mekanizması bilinmemekle birlikte malnütrisyonun bir risk faktörü olduğu iddia edilmektedir (Bhalla ve diğ., 2011; Newton ve Garcia, 2012). Ayrıca travma, felç, şok, beyin tümörleri epilepsiye dönüşebilir. Doğumda veya yetişkinlerde kaza nedeniyle beyin hasarı epilepsiye neden olabilir. Birleşik Krallık'ta yapılan bir araştırmada, %20'ye kadar epilepsi vakasının kafa travmasına bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Hafif ve şiddetli beyin yaralanmaları riski sırasıyla 2 ve 7 kat epilepsiyi arttırır. Kafadan ateşli silah yaralanmalarında risk %50'ye varan oranlardadır (Bhalla ve diğ., 2011).

2.1.5. Sınıflandırılması

Epilepsi, altta yatan nedenlere göre sınıflandırılır. 1981'de ve daha sonra 1989'da, Uluslararası Epilepsiye Karşı Birlik (ILAE), epilepsileri ve epileptik sendromları dört kategoride sınıflandırmıştır (ILAE, 1989). 2010 yılında, ILAE'nin Epilepsi Sınıflandırma Komisyonu, önceki sınıflandırmada, epilepsinin klinik seyrinin ve prognozunun ana belirleyicisinin ayrıntılarını kapsamadığı hakkında yapılan eleştirileri göz önünde bulundurarak sınıflandırmayı tekrar gözden geçirmiştir. Epilepsiyi genetik, yapısal/metabolik ve bilinmeyen neden olarak üç kategoride sınıflandırmışlardır (Berg ve diğ., 2010). 2011'de kategoriler, son teknolojik ve bilimsel gelişmeleri yansıtmak için dört kategoride yeniden tanımlanmıştır (Shorvon, 2011).

2011 sınıflandırmasının kategori ve alt kategorileri şu şekildedir:

1. Bilinmeyen neden (çoğunlukla genetik veya varsayılan genetik köken)
 1. Tek gen bozukluklarına bağlı saf epilepsiler
 2. Karmaşık kalıtımla saf epilepsiler
2. Semptomatik (büyük anatomik veya patolojik anormallikler ile ilişkili)
 1. Çoğunlukla genetik veya gelişimsel nedensellik
 2. Çoğunlukla edinilmiş nedenler
3. Tahrik (belirli bir sistemik veya çevresel faktör, nöbetlerin baskın nedenidir)
 1. Tahrik edici faktörler
 2. Refleks epilepsileri
4. Kriptojenik (nedenin tanımlanmadığı varsayılan semptomatik yapı)-

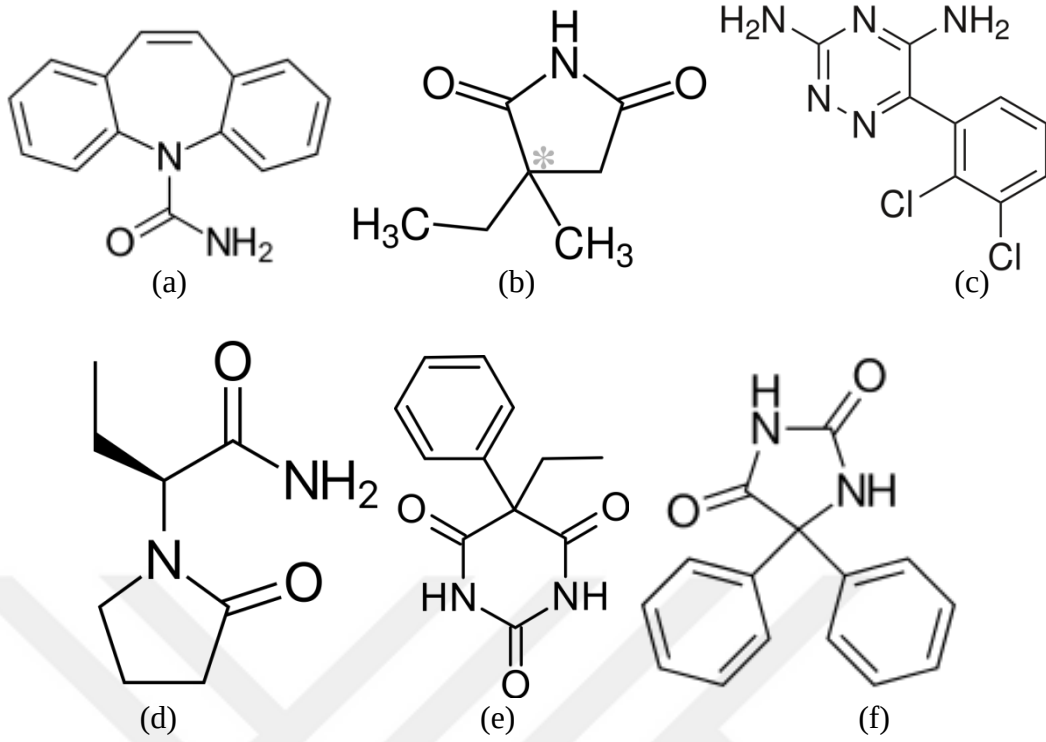
2.1.6. Belirti ve Bulgular

Epilepsinin belirgin özelliği, uzun süreli tekrarlayan nöbet epizodu (ruh halinin dalgalanma durumu)'dur (Duncan ve diğ., 2006). Konvülsiyon en sık yaşanan nöbettir. Erken evrelerde jeneralize (yaygın) nöbetler veya jeneralize nöbetlere dönüşen fokal nöbetler olarak kendini gösterir. Daha az yaygın olan nöbetler konvülsif değildir, ancak tipik olarak yaklaşık 10 saniye süren bilinç kaybıyla bağlantılıdır (Xue ve Ritaccio, 2006; Hughes, 2009). Bir nöbet atağından sonraki döneme postiktal durum denir. Bu durumda, bilinç birkaç dakika veya birkaç saat sonra tamamen geri gelebilir. Buna daha sonra yorgunluk, baş ağrısı, hareket, duyum, konuşma, ruh hali ve bilişsel performans bozuklukları eşlik eder.

2.1.7. Tedaviler

Epileptik hastaların büyük çoğunluğu yaklaşık olarak %70'i doğru teşhis ve tedavi edildiğinde nöbetsiz yaşar. Ancak hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde tedavi eksikliği nedeniyle bu sağlanamamakta veya elde edilememektedir. Bu nedenle kafa yaralanmalarını en aza indirmek, uygun doğum/perinatal bakım, ateş/vücut ısısını kontrol etmek ve uygun olduğunda parazitik ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarından kaçınmak en iyi önleyici seçeneklerdir (WHO, 2019). Şekil 2.1'de bazı epileptik ilaçların kimyasal yapıları verilmiştir.

Epilepsinin ana tedavisi antikonvülsan kullanımını içerir. Tedavi, nöbet tipine/belirtisine, şiddetine ve nöbetlerin tekrarlamasına bağlı olarak ömür boyu veya başka şekilde olabilir. Ayrıca epilepsi sendromu, önceki sağlık durumu, yaş ve yaşam tarzı, kullanılacak ilacın seçiminde önemli rol oynamaktadır (NCGC, 2012; WHO, 2019). Jeneralize ve fokal nöbet tedavisinde kullanılan yaygın ilaçlar fenitoin, karbamazepin ve valproattır. Valproat, jeneralize nöbetler için birinci basamak tedavi olarak onaylanırken, lamotrijin ikinci basamak bir ilaçtır (Nevitt ve diğ., 2018; Nevitt ve diğ., 2019). Nöbeti olmayan hastalarda etosuksimit ve valproat önerilir. Valproat esas olarak miyoklonik, tonik ve/veya atonik nöbetlerde etkilidir. Fenobarbital, DSÖ'ne göre gelişmekte olan ülkelerde birinci basamak ilaçtır, çünkü en ucuzudur (Ilangaratne ve diğ., 2012; Newton ve Garcia, 2012).



Şekil 2.1: Bazı antiepileptik ilaçların kimyasal yapısı [(a) Karbamazepin; (b) Ethosuksimit; (c) Lamotrijin; (d) Levetirasetam; (e) Fenobarbital; (f) Fenitoin] (Martins ve diğ., 2011; Matias ve diğ., 2016; Sungthong ve diğ., 2019; Yazdanbakhsh ve diğ., 2019; Zhu, ve diğ., 2019).

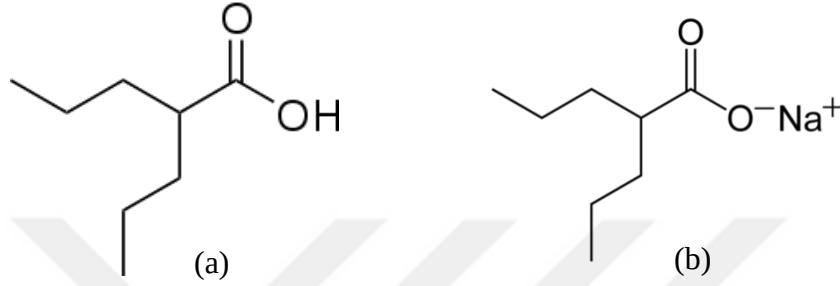
Çoğu hastada, hafif ve doza bağlı, ruh hali değişiklikleri, uyku hali veya dengesiz yürüyüş gibi advers ilaç etkileri bildirilmiştir. Döküntüler, hepatotoksisite, aplastik anemi ve doğum kusurları gibi ilaca bağlı olmayan etkiler de bildirilmiştir (Perucca ve Gilliam, 2012). Yaygın ilaçlar arasında levetirasetam ve lamotrijin en düşük doğum kusuru risklerini sergilerken, valproat, fenitoin, karbamazepin, fenobarbital ve gabapentin doğum kusurları riskinin artmasını etkilediği bildirilmiştir. Toksisite ve doku hasarı potansiyelini azaltmak için, 2 ila 4 yıl süre içerisinde nöbet geçirmemiş hastalarda ilacın yavaş yavaş doktor kontrolünde bırakılması önerilmektedir (Weston ve diğ., 2016).

Diğer tedavi alanları arasında cerrahi (Duncan, 2007; Krucoff ve diğ., 2017), nörostimülasyon (Bergey, 2013), ketojenik diyet tüketimi (düşük karbohidrat, yeterli protein ve yüksek yağlı diyet) (Martin-McGill ve diğ., 2018), glutensiz diyet (Jackson ve diğ., 2012), vitamin takviyesi (Ranganathan ve Ramaratnam, 2005), akupunktur (Cheuk ve Wong, 2014) ve yoga (Panebianco ve diğ., 2015) yer almaktadır.

2.2. VALPROİK ASİT

2.2.1. Kimyası $C_8H_{15}NaO_2$ 'dir (Şekil 2.2).

Valproik asit (Valproat), 2-propilpentanoik asit olarak adlandırılan dallı zincirli bir yağ asididir. Valproik asit, sodyum valproat veya valproat semisodyum olarak ticari olarak temin edilebilir. Valproik asit ve sodyum valproatın kimyasal formülleri sırasıyla $C_8H_{16}O_2$ ve



Şekil 2.2: Valproatın kimyasal yapısı [(a) Valproik asit; (b) Sodyum valproat] (Rakitin, 2017; Abualhasan ve diğ., 2020).

2.2.2. Klinik ve Biyokimyasal Özellikleri

Valproat, kısmi ve jeneralize nöbetlere karşı kullanılan birinci basamak geniş spektrumlu bir anti-epileptik ilaçtır. Bipolar bozukluğu tedavi etmek ve migren baş ağrısını önlemek için de kullanılır. Çalışmalar, valproatın, beyin dokusundaki voltaj kapılı kanalları bloke ederek veya gama-aminobütirik asit (GABA) seviyelerini arttırarak farmakolojik etkiler (yani antiepileptik veya antikonvülzan etki) göstermektedir. Bunlar, voltaj kapılı sodyum kanalları, GABAerjik nöronlar ve nöropeptid Y üzerindeki derin etkisi ile belirgindir (Löscher, 2002; Perucca, 2002; Olsen ve diğ., 2007; Kwan, 2010; Jochim ve diğ., 2019). Hayvan modellerinde, valproat uygulaması, GABA ve glisin gibi inhibitör sinaptik nörotransmitterlerin serebral seviyelerini yükseltir. Bu muhtemelen GABA transaminaz ve süksinat-semialdehit dehidrojenazın inhibisyonundan veya nöronların GABA'ın geri alımını bloke etmesinden kaynaklanmaktadır (Owens ve Nemeroff, 2003; Decressac ve Barker, 2012; Ghodke-Puranik ve diğ., 2013).

Karaciğer, valproat metabolizmasının ana organıdır. Valproik asit, sitokrom P₄₅₀ veya UDP-glukuronoziltransferaz enzimleri tarafından 2-ene-valproik asit, 3Z-en-valproik asit, 3E-en-valproik asit, 4-en-valproik asit, β-O-glukuronit, 3-oksovalproik asit, 3-hidroksivalproik asit, 4-hidroksivalproik asit, 5-hidroksivalproik asit ve valproil-CoA gibi çok çeşitli metabolitlere metabolize edilir. Erişkinlerde, uygulanan dozun üçte biri glukuronit konjugatı

olarak, yaklaşık %40 ila 60'ı mitokondriyal beta oksitlenmiş ürünler ve/veya diğer alternatif oksidatif mekanizma ürünleri olarak ve %3'ten azı idrar yoluyla değişmeden dışarı atılır (Kochen ve diğ., 1983; Löscher, 2002; Owens ve Nemeroff, 2003; Ghodke-Puranik ve diğ., 2013).

2.2.3. Olumsuz Etki ve Toksisite

Valproatın geniş spektrumlu antiepileptik etkisi risksiz değildir. Birkaç çalışma, valproatın olası yan etkisini veya toksisitesini bildirmiş ve yüksek dozlarda (aşırı doz) toksisitesini tespit etmiştir. Etkileri trombositopeni, ensefalopati, hipotermi, bulantı, kusma, uyuşukluk, baş dönmesi ve yorgunluğu içerir. Diğer uzun vadeli yan etkiler midriyazis, osteoporoz, büyüme anormallikleri, saç dökülmesi, titreme, intihar davranışı/düşünceleri ve kilo alımıdır (Guo ve diğ., 2001; Wu ve diğ., 2004a; Chukwu ve diğ., 2014). Bu ilaçlar ayrıca kadınlarda polikistik over sendromu (Bilo ve Meo, 2008), fetal anormallikler (Moore ve diğ., 2000; Kulkarni ve diğ., 2006), düşük zekâ katsayısı (Umur ve diğ., 2012), valproat alan kadınların çocuklarında daha fazla otizm riski (Meador ve diğ., 2006; Christensen ve diğ., 2013) ile bağlantılıdır. Valproatın en derin zararlı etkileri, çoklu organ toksisitesinde kendini gösterir. Karaciğer (Kochen ve diğ., 1983; Cakmak ve Yanardag, 2015; Celik ve diğ., 2021), pankreas (Guevara-Campos ve diğ., 2009), kalp (Emekli-Alturfan ve diğ., 2015), lens (Tunali ve diğ., 2015), bağırsak (Oktay ve diğ., 2015), böbrek (Yoshikawa ve diğ., 2002; Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2015) akciğer (Choi ve diğ., 2011; Kim ve diğ., 2014; Oztay ve diğ., 2020), testis (Celik ve diğ., 2022), beyin (Turkyilmaz ve diğ., 2021), tükürük bezi (Oktay ve diğ., 2016) ve deri (Tunali-Akbay ve diğ., 2017) gibi çeşitli organlara toksik etkisinin olduğunu kanıtlamıştır.

2.2.4. Valproatın Akciğer ve Böbrek Üzerindeki Yan Etkileri

Klinik çalışmalar, valproik asidin çoklu organ hasarına neden olabileceğini göstermiştir. Akciğerler ve böbrekler de dahil olmak üzere birçok organın morfolojisini ve işlevselliğini bozabilir. Klinik gözlemler, valproik asidin hastalarda akut eozinofilik efüzyon, yaygın alveoler kanama ve genel bir interstisyel akciğer hastalığına yol açabileceğini göstermiştir (Kim ve diğ., 2014). Valproik asit, yüksek miktarda reaktif oksijen türleri (ROS) ve lipid peroksidasyonu ile birlikte antioksidan kaynaklarının azalmasına neden olabilir. Valproik asit uygulaması nedeniyle laktat dehidrojenaz aktivitesinin önemli ölçüde yükseldiğini ve antioksidan enzim aktivitelerinin bozulduğunu gösteren bulgular, valproatın akciğer dokusu üzerindeki toksik etkilerinin açık göstergesidir (Bayrak ve diğ., 2021). Benzer şekilde, Oztay ve diğ. (2020)

tarafından akciğer dokusunun histolojik analizi valproat uygulanan deney hayvanlarının akciğer dokusunda yapısal bozulma ve fibrotik değişikliklerin olduğu bildirilmiştir. Bu değişikliklerin akciğerdeki valproat kaynaklı oksidatif stresin bir sonucu olduğu ileri sürülmektedir.

Valproik asit gibi ilaçların böbrek fonksiyon bozukluğunu indükleyebileceği ileri sürülmüştür. Deney hayvanları kullanılarak yapılan deneysel çalışmalar, valproik asidin mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres yoluyla valproik asit kaynaklı Fanconi sendromunu (Çocuklarda görülen kalıtsal böbrek hastalığı) indükleyebileceğini göstermiştir (Heidari ve diğ., 2017). İnsan deneklerde, valproik asidin epileptik çocuklarda Fanconi sendromunu indüklediği rapor edilmiştir. İlacın kesilmesinden ortalama 4 ay sonra idrar anormallikleri kaybolur (Emad ve James, 2002; Ayumi ve diğ., 2010). Gezginci-Oktayoglu ve diğ. (2015) ve Hamouda ve diğ. (2019) deney hayvanlarına valproik asit verilmesinin böbrek dokularında ciddi histolojik değişikliklerle sonuçlandığını göstermişlerdir. Ek olarak, sodyum potasyum ATPaz'ın aktivitesi büyük ölçüde azaltılırken, lipid peroksidasyon seviyeleri ve laktat dehidrojenaz ve miyeloperoksidaz aktiviteleri anlamlı olarak arttığı belirtilmiştir. Deney hayvanlarında antioksidan enzimlerin aktiviteleri de bozulmuştur. Fanconi sendromuna ek olarak, valproatın hiperamonyemik ensefalopatiye ve diğer renal tübüler disfonksiyonlara neden olduğu bildirilmektedir, bu nedenle renal tübüller proteinler, glukoz ve elektrolitleri içeren temel biyomolekülleri geri ememezler (Altunbasak ve diğ., 2001; Martin ve diğ., 2004; Christie ve Kristen, 2012; Knights ve Finlay, 2014). Valproik asit uygulamasının histolojik hasarı tetikleyebileceğini ve böbreğin glomerüler filtrasyonunu değiştirebileceği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Valproat ile tedavi edilen deney hayvanlarında ayrıca antioksidan seviyelerinde bir azalma ve tiyobarbitürik asit reaktif madde seviyelerinde artışın olduğunda çalışmalarda gösterilmiştir (Chaudhary ve diğ., 2015; Aktaş ve Bayram, 2020; Alasmari, 2021).

Genel olarak, valproik asidin akciğerler ve böbrekler üzerindeki toksik etkisi, antioksidan sistemin değişmesi, toksik metabolitlerin ve ileri oksidasyon protein ürünlerinin birikmesi, artan lipid peroksidasyonu ve nihayetinde bu organların histolojik ve morfolojik yapılarının bozulmasından kaynaklanmaktadır.

2.3. MORİNGA OLEİFERA

2.3.1. Kökeni ve Yetiştirme

Moringa oleifera (*M. oleifera*) Lam. (Dumstick ağacı, Mucize ağacı veya Horseradish ağacı olarak da bilinir) Moringaceae familyasına ait çok yıllık bir bitkidir (Şekil 2.3). Bitki küçük, narin, hızlı büyüyen, kuraklığa dayanıklı ve gövde veya tohum tarafından yayılan açık şemsiye şeklinde bir tacı vardır. Gövde düz, mantarimsı beyazımsı bir kabukla ve 5-15 metre yükseklik aralığına sahiptir. Ağacın Kuzey-Batı Hindistan'daki Himalayaların eteklerinden geldiğine inanılmaktadır. Şimdi Asya, Afrika ve Güney Amerika'ya da özgü olduğu bilinmektedir (Akhtar ve diğ., 2007; Lea, 2010).



Şekil 2.3: *M. oleifera* ağacı.

M. oleifera, çok amaçlı faydaları nedeniyle gelişmekte olan dünyanın birçok yerinde ve Nijerya'da yaygın olarak yetiştirilmektedir. Bitkinin tüm kısımları belirgin ve özel kullanıma sahiptir (Abdulsalam ve diğ., 2007). Bitki gıda, tedavi edici, antimikrobiyal, biyopıhtılaştırıcı ve diğer endüstriyel ve tarımsal amaçlar için yetiştirilmektedir (Anjorin ve diğ., 2010).

2.3.2. Moringa Yapraklarının Kimyasal Bileşimi

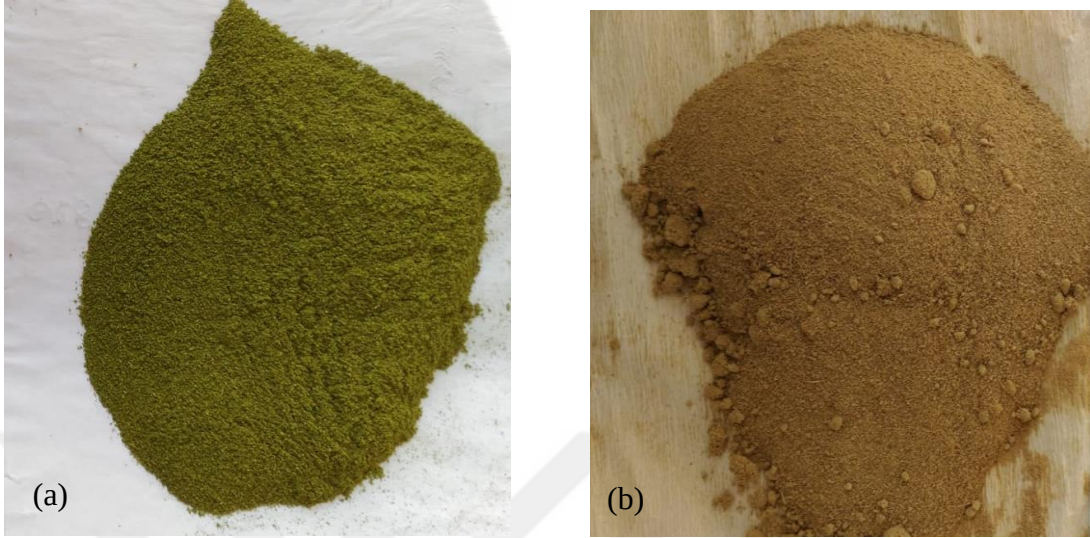
Yapraklar iyi bir β -karoten (provitamin A), B vitamini, C vitamini, kalsiyum, demir, potasyum ve istisnai bir kükürt içeren amino asit (metiyonin ve sistein) kaynağıdır (Şekil 2.4). Özellikle yetersiz beslenmenin en yaygın olduğu kuru ve kurak iklimde doğal olarak yetiştiği için; beri-beri, skorbüt, Kwashiorkor, gece körlüğü ve kansızlık gibi dünyadaki yetersiz beslenme ile ilgili hastalıkların çoğunun tedavi edilmesinde kullanılır (Makkar ve Becker, 1996; Babu, 2000; Hempstead, 2005; Peter, 2008).



Şekil 2.4: *M. oleifera* yaprakları.

Moringa yapraklarının kütle analizi sonucunda 100g'ında, 22.75g protein, 4.65g lipid, 13.02g mineral içeriği, 7.92g lif ve 51.66g çözünür karbohidrat içerdiği bildirilmiştir (Melo ve diğ., 2013). Aja ve diğ. (2014)'leri tarafından yapılan GC-MS analizi sonucunda dokuz ana bileşen içerdiği gösterilmiştir. Bu tespit edilen bileşikler ve içerikleri şu şekilde verilmiştir: %20.89 9-oktadekenoik asit, %19.66 L-askorbik asit-2,6-diheksadekanoat, %8.11 14-metil-8-heksadesenal, %7.01 4-hidroksi-4-metil-2-pentanon, %6.14 3-etil-2,4-dimetil-pentan, %4.25 fitol, %1.23 oktadeametil-siklononasiloksan, %2.46 1,2-benzendikarboksilik asit, %1.78 3,4-epoksi-etanon. Tespit edilen diğer bileşikler, N-(-1-metiletiliden)-benzen etanamin (%1.54), 4,8,12,16-tetrametilheptadekan-4-olid (%2.77), 3-5-bis (1,1-dimetiletil) -fenol (%2.55), 1-heksadekanol (%1.23), 3,7,11,15-tetrametil-2-heksadesen-1-ol (%1.17), heksadekanoik asit (%2.03) ve 1,2,3-propanetriil ester-9-oktadekenoik asit (%1.23) (Aja ve diğ., 2014). Kuersetin, kaempferol ve mirisetin gibi flavonoid bileşiklerin de yapraklarda bulunduğu bildirilmektedir

(Siddhuraju ve Becker, 2003; Sultana ve Anwar, 2008). *M. oleifera* yapraklarının toz halininin sokslet ekstraksiyonundan önce ve sonraki görünümü Şekil. 2.5’de gösterilmiştir.



Şekil 2.5: *M. oleifera* yaprağı tozu [(a) Sokslet ekstraksiyonundan önce; (b) Sokslet ekstraksiyonundan sonra].

2.3.3. Moringa Yapraklarının Tıbbi ve Terapötik Faydaları

M. oleifera yapraklarının farklı terapötik aktiviteye sahip olduğu literatürlerde bildirilmiştir. Aldoz redüktaz (Sarabia-Sanchez ve diğ., 2017), protein-tirozin fosfataz 1B (Saidu ve diğ., 2016; Sarabia-Sanchez ve diğ., 2017), α -glukozidaz (Adisakwattana ve Chanathong, 2011; Magaji ve diğ., 2020), α -amilaz (Adisakwattana ve Chanathong, 2011; Magaji ve diğ., 2020), anjiyotensin dönüştürücü enzim (Obloh ve diğ., 2015; Acuram ve Chichioco-Hernandez, 2019; Aktar ve diğ., 2019), arginaz (Obloh ve diğ., 2015), kolinesteraz (Ghous ve diğ., 2014; Nwidi ve diğ., 2018), lipaz (Magaji ve diğ., 2022) ve proteaz (Bijina ve diğ., 2011) gibi enzimleri inhibe ederek tıbbi özellik gösterdiği ileri sürülmektedir. Yaprak ekstresinin antidiyabetik (Muhammad ve diğ., 2016; Magaji ve diğ., 2020), hipokolesterolemik/hipolipidemik (Chumark ve diğ., 2008), antioksidan (Ghous ve diğ., 2014; Vats ve Gupta, 2017; Nwidi ve diğ., 2018; Magaji ve diğ., 2022), antiülser (Verma ve diğ., 2012; Choudhary ve diğ., 2013), antihipertansif (Acuram ve Chichioco-Hernandez, 2019; Adefegha ve diğ., 2019), antikanser (Zayas-Viera ve diğ., 2016; Welch ve Tietje, 2017; Khor ve diğ., 2018), antienflamatuar (Waterman ve diğ., 2014) ve çok çeşitli antimikrobiyal etkilere (Al-husnan ve Alkahtani, 2016; Arevalo-Hijar ve diğ., 2018) sahip olduğu bildirilmektedir. Ayrıca yaprakların hepatoprotektif (Sharifudin ve diğ., 2013; Toppo ve diğ., 2015), nefroprotektif (Ouedraogo ve diğ., 2013), kardiyoprotektif (Arabshahi-Delouee ve diğ., 2009;

Nandave ve diğ., 2009) ve yara iyileştirici etkiler (Hukkeri ve diğ., 2006) de gösterdiğini ileri süren çalışmalar mevcuttur. Genel olarak, yaprak ekstrelerinin yüksek konsantrasyonlarda bile toksik olmadığı, bu nedenle çok çeşitli enfeksiyonların, dejeneratif hastalıkların tedavisi ve yönetimi için toksisite korkusu olmaksızın etkili bir şekilde kullanılabileceği bildirilmiştir (Stohs ve Hartman, 2015; Uwaifo ve diğ., 2018).

2.4. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR

2.4.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha çok ortaklanmamış elektronu, bağımsız olarak orbitallerinde bulunduran atom veya moleküllerdir. Farklı moleküller ile rahat bir şekilde elektron alışverişine girerek bu yapıları oldukça reaktif duruma dönüştüren oldukça kararsız ve reaktif olan yapılardır. Bu şekilde radikal olmayan yapılar, radikale dönüşürler (Durmuş ve Ünsaldı, 2005; Lobo ve diğ., 2010).

Oksijenli solunum ile yaşamlarını sürdüren organizmalar için elzem olan oksijen aynı zamanda serbest radikallerin ana kaynağının sebeplerindendir. Bunun yanı sıra, azot kaynaklı radikaller de organizmada meydana gelebilir. Oksijen kaynaklı olanlara reaktif oksijen türleri (ROS) ve azot kaynaklı olanlara ise reaktif nitrojen türleri (RNS) denir. Biyolojik olarak önemli reaktif ROS ve RNS süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), alkoksil ($RO^{\cdot}$), hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$), lipit peroksil ($LOO^{\cdot}$), nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ve azot dioksittir ($NO_2^{\cdot}$) (Karabulut ve Gülay, 2016). Serbest radikaller organik yapıların yanında anorganik molekülde olabilirler. Elektrik yük olarak nötr, negatif veya pozitif yüklü bulunabilirler (Durmuş ve Ünsaldı, 2005; Karabulut ve Gülay, 2016).

Serbest radikallerin oluşum sebebi *in vivo* ve *in vitro* kaynaklara bağlıdır. *In vivo* kaynaklar arasında, fagositoz, iskemi, egzersiz, enflamasyon, elektron transport sistemi, lipit peroksidasyonu, ksantin oksidaz sayılabilir. İlaçlar, tarım ilaçları, kimyasal çözücüler, alkol, sigara/puro/pipo kullanımında *in vitro* kaynaklar arasındadır. Organizmada enzimle katalizlenen yada katalizlenmeyen reaksiyonlar sonucunda bu radikaller devamlı olarak oluşmaktadır (Lobo ve diğ., 2010).

2.4.2. Oksidatif Stres

Serbest radikaller protein, DNA, karbohidrat, lipit, enzimler ve diğer molekül grupları ile reaksiyona girerek metabolizmanın yapısında değişikliklere neden olur. Dokularda meydana

getirdiği hasar kolajen ve hiyaluronik aside olan etkisinden kaynaklanmaktadır. Hücre zar yapı bileşenlerinden olan fosfolipidlerdeki yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak hücrelere zarar verirler. Bu etkiler az miktarda olduğunda antioksidan metabolizma tarafından zararsız hale getirilirler.

Dokularda yıkım, antioksidan sistemin azaldığı yani serbest radikal üretiminin aşırı düzeyde gerçekleştiği durumlarda başlar (Durmuş ve Ünsaldı, 2005). Antioksidan savunma sistemi ile serbest radikal üretimi arasında meydana gelen bu dengesizlik sonucunda oksidatif stres ortaya çıkar. Hasar meydana gelen dokularda radikal üreten enzimlerin artışı, elektron transport zincirinin bozulması durumlarında aşırı ROS üretimi meydana gelir. Meydana gelen ROS'leri, diyabet, yaşa bağlı göz hastalığı ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda meydana gelmektedir (Lobo ve diğ., 2010).

2.4.3. Antioksidanlar

Oksidan maddeleri zararsız hale dönüştüren maddelere antioksidan denir. Hücre zarında ve dışında ROS/RNS'lerin zararlı etkilerini en aza indirmek için enzimatik olmayan antioksidanlar (glutatyon, melatonin, askorbik asit, beta karoten, ürik asit, tokoferoller ve ubikinonlar) ve enzimatik antioksidanlar (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz ve katalaz) mevcuttur (Lobo ve diğ., 2010).

Antioksidanlar savunma etkilerini

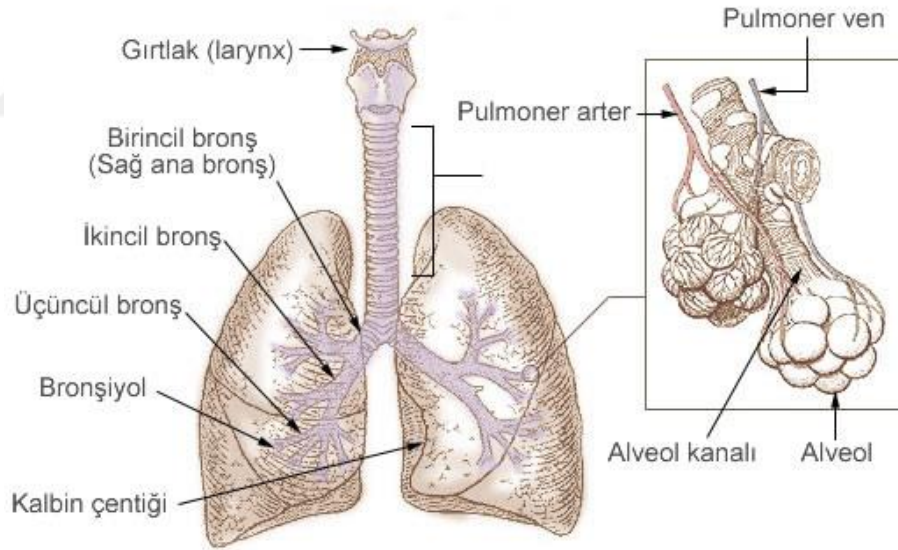
- i Radikal metabolit üretiminin engellenmesi
- ii Meydana gelen radikallerin söndürülmesi
- iii Meydana gelen hasarın tamir edilmesi
- iv Sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının engellenmesi
- v *In vivo* antioksidan miktarın artırılması şeklinde gösterirler (Dündar ve Aslan, 1999).

2.5. AKCİĞER

Bronşiyal hava yollarını barındıran alt solunum yollarının bir parçası olan akciğerler, memeliler ve diğer omurgalıların çoğunda solunum sisteminin birincil organlarıdır. Kalbin her iki yanında bulunan ana işlevi, havadan oksijeni alıp kan dolaşımına aktarmak ve solunum olarak adlandırılan bir süreçte kan dolaşımından atmosfere karbondioksit salmaktır. Farklı kas sistemleri tarafından yürütülen solunum, insanda ana kas diyaframı tarafından sağlanır (Drake ve diğ., 2014).

2.5.1. Akciğerlerin Yeri

Akciğerler koni şeklindedir ve kalbin her iki yanında göğüs kafesinin içinde bulunur. Üstte dar yuvarlak bir tepeye ve diyaframın dışbükey yüzeyine dayanan geniş bir içbükey tabana sahiptirler. Akciğerlerin tepe noktası, boyun köküne kadar uzanır ve birinci kaburganın sternal ucunun seviyesinin üzerine kadar ulaşır. Göğüs kafesinde omurganın yakınından göğsün önüne ve trakeanın alt kısmından diyaframa doğru aşağıya uzanırlar (Drake ve diğ., 2014). Sol akciğer kalple aynı alanı paylaşır ve sınırında kardiyak çentik adı verilen bir girinti vardır (Şekil 2.6). Akciğerlerin ön ve dış tarafları, yüzeylerinde hafif girintiler oluşturan kaburgalara bakar. Akciğerlerin mediyal yüzeyleri göğsün merkezine bakar ve kalbe, büyük damarlara ve trakeanın iki ana bronşa ayrıldığı karınaya doğru uzanır (Standring, 2008). Her iki akciğerde, kan damarlarının ve hava yollarının akciğerin kökünü oluşturan akciğerlere geçtiği, hilum adı verilen merkezi bir durgunluk vardır. Sol ve sağ akciğerler, visseral plevranın fissür olarak katlanmasıyla lob adı verilen bölümlere ayrılır. Loblar segmentlere ayrılır ve segmentler ayrıca lobüllere ayrılır. Sağ akciğerde üç lob ve sol akciğerde iki lob vardır (Standring, 2008).



Şekil 2.6: Akciğerlerin yapısı (Standring, 2008).

2.5.2. Akciğer Segmentleri

Ana veya birincil bronşlar akciğerlere hilustan girer ve başlangıçta akciğerin her bir lobuna hava sağlayan lobar bronşlar olarak da bilinen ikincil bronşlara ayrılır. Lobar bronşlar, aynı zamanda segmental bronşlar olarak da bilinen üçüncül bronşlara ayrılır ve bunlar, bronkopulmoner segmentler olarak bilinen lobların diğer bölümlerine hava sağlar. Her bronkopulmoner segmentin kendi bronşu ve arteriyel kaynağı vardır. Segmental anatomi,

akciğerlerdeki hastalık süreçlerini lokalize etmek için klinik olarak yararlıdır. Segment, çevreleyen dokuyu ciddi şekilde etkilemeden cerrahi olarak çıkarılabilen ayrı bir birimdir (Arakawa ve diğ., 2000).

2.5.3. Akciğerlerin Bağ Dokusu

Akciğerlerin bağ dokusu, kılcal damarlar ve alveol duvarlar arasında bulunan elastin ve kolajen liflerinden oluşur. Elastin, hücre dışı matrisin anahtar proteindir ve elastik liflerin ana bileşenidir. Elastin, akciğerlerin solunum ile ilgili esnekliğinin oluşmasına katkıda bulunur. Süngerimsi bir görünüme sahip olan bağ dokusu, akciğer parankimini oluşturmak için tüm alveollerini birbirine bağlar. Alveollerin duvarlarında Kohn gözenekleri olarak bilinen ve birbirine bağlanan hava geçitleri vardır (Mithieux ve Weiss, 2005).

2.5.4. Akciğerlerin Solunum Epiteli

Trakea, bronşlar ve bronşiyoller dahil olmak üzere alt solunum yollarının tamamı solunum epiteli ile kaplıdır. Solunum yolu boyunca epitel hücreleri ve submukozal bezler, bileşimi sıkı bir şekilde düzenlenen ve mukosilyer klirensin ne kadar iyi çalıştığını belirleyen hava yolu yüzey sıvısı salgılar. Bu, müsin (mukusun ana bileşeni), siliyer hücreler ve bazal hücreler üreten kadeh hücreleri ile serpiştirilmiş siliyer bir epiteldir (Stanke, 2015).

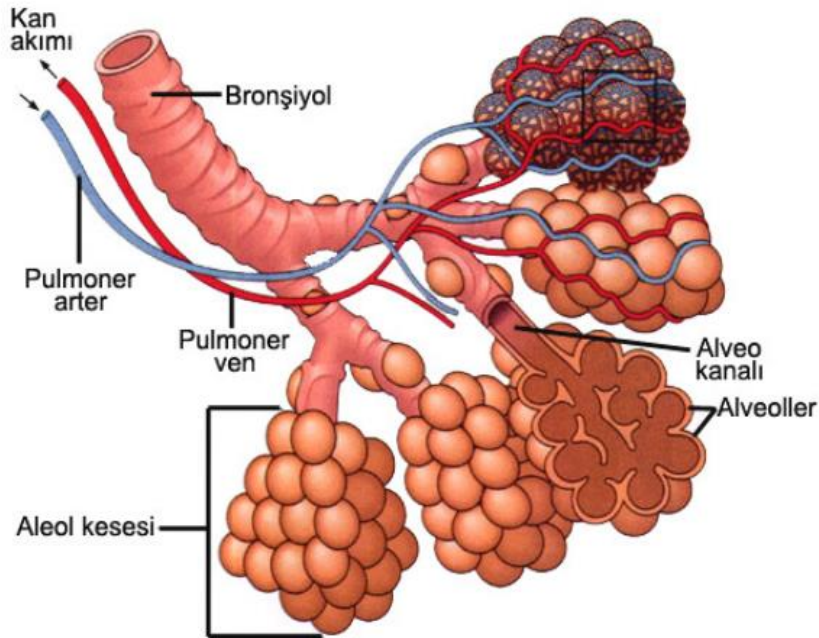
Pulmoner nöroendokrin hücrelerden gelen sitoplazmik süreçler, solunan gazın bileşimini algılayabilecekleri hava yolu lümenine uzanır. Özellikle hava yolu bağlantı noktalarına odaklanmış sinirlerle beslenen hava yolu epitel hücreleridir. Bu hücreler serotonin, dopamin ve norepinefrin ile polipeptit ürünleri üretebilir (Garg ve diğ., 2019).

2.5.5. Akciğerlerin Solunum Bölgesi

Solunum yolu, solunum bronşiyollerini, alveol kanalları, alveol keseleri ve alveollerini içeren, asin adı verilen terminal solunum biriminin başlangıcını oluşturur. Asinus, 10 mm çapa kadar ölçüm yapar (Hochegger, 2019). Primer pulmoner lobul, alveol kanalları, keseleri ve alveollerini içeren, solunum bronşiyollerini içermeyen asinus parçasıdır. Sekonder pulmoner lobul veya respiratuar lobul, solunum bronşiyollerine ayrılan bir terminal bronşiyol tarafından sağlanan 30 ila 50 primer lobulden oluşan, yardımsız görülebilen akciğerin en küçük bileşeni olan ayrı bir birimdir. Solunum bronşiyolleri, her bir asinustaki alveollerini besler ve buna bir pulmoner arter dalı eşlik eder. Her lobul interlobuler septa ile çevrilidir (Hall, 2011; Hochegger, 2019).

2.5.6. Pulmoner Alveoller

Gaz değişiminin olduğu kısım alveoller olarak adlandırılır. Akciğerlerde yaklaşık 150-250 milyon alveol bulunmaktadır. Alveol keseleri alveollerin oluşturduğu kümeler ile çevrilmiş boşluktur. Alveol keseleri çoğu zaman alveol kanallarının ucuna bağlanmaktadır. Alveol kanallar, alveollere açılan hava yoludur. Duvarların yapısında tek katlı kübik epitel ve düz kas demetleri içeren çok ince bir bağ dokusu yer almaktadır. Alveollerin etrafında kan kapillerleri içeren çok ince bir bağ doku çevrilidir. Alveolar kanalların birden fazla alveole aıldığı alanlara atrium adı verilir. Alveoller iki tip alveol hücre ve bir alveol makrofajdan oluşur. İki hücre tipi, duvarları ve alveol septayı oluşturan tip I ve tip II hücreler olarak bilinir. Tip I hücreler son derece incedir ve her alveol duvar yapısının yüzey alanında bulunan skuamöz epitel hücrelerini oluşturur ve böylece kolay gaz alışverişini sağlar. Tip I hücreler ayrıca her alveolü ayıran alveol bir epitel astar ve ilişkili bazal membranlardan oluşan septayı oluşturur. Küboit bir şekle sahip olan tip II hücreler genellikle alveollerin köşlerinde kümelenir. Tip II hücreler daha büyüktürler, alveolleri hizalarlar ve epitelyal astar sıvısı ve akciğer sürfaktanı üretirler. Tip I hücreler ise bölünemezler buda tip II hücrelerden farklı olmalarını sağlar (Standring, 2008; Srikanth ve diğ., 2015).



şekil 2.7: Alveollerin yapısı (Standring, 2008).

2.5.7. Akciğerlerin İşlevi

Akciğerlerin işlevi, akciğerler ve kan damarları arasındaki gaz alışverişidir. Alveol ve pulmoner kapiler gazlar, akciğerlerin ince kan hava bariyeri boyunca dengelenir. Bu ince zar (yaklaşık 0.5 – 2.0 μm kalınlığında) yaklaşık 300 milyon alveol şeklinde katlanır ve gaz değişiminin gerçekleşmesi için son derece geniş bir yüzey alanı (tahmini olarak 70 ile 145 m^2 arasında değişir) sağlar (Tortora ve Anagnostakos, 1987; Srikanth ve diğ., 2015).

Diyaframın kasılması yoluyla göğüs boşluğunun hacmindeki artış ve kas solunumu adı verilen bir süreçle interkostal kaslar, akciğerlerin genişlemesine yardımcı olur, böylece gaz alışverişi için daha yüksek yüzey alanı elde edilir. Bu kasların gevşemesi, akciğerleri dinlenme pozisyonuna döndürür, böylece gaz alışverişini dışa doğru salıverir (Tortora ve Anagnostakos, 1987). Bu kasların kasılması ve gevşemesi sırasında meydana gelen solunum sürecine sırasıyla nefes alma ve nefes verme denir.

2.6. BÖBREK

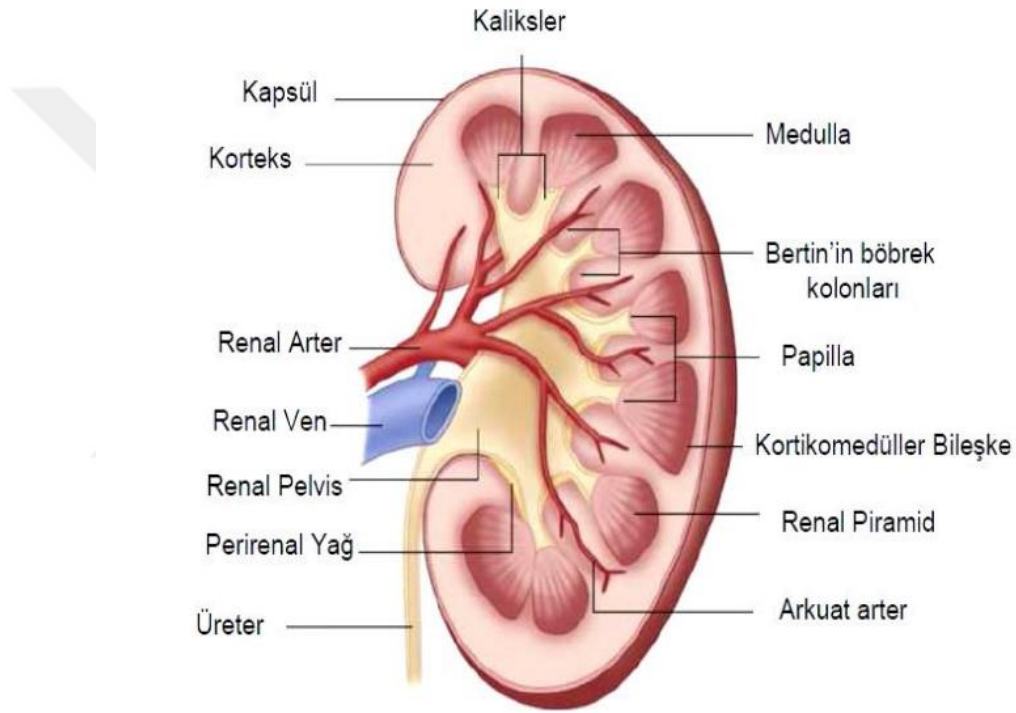
Böbrekler, omurgalılarda retroperitoneal boşlukta solda ve sağda bulunan 12 santimetre büyüklüğünde iki kırmızımsı-kahverengi fasulye şeklinde bulunan organdır. Her böbrek, atılan idrarı mesaneye taşıyan üreter adı verilen bir tüpe bağlıdır. Kan, eşleştirilmiş renal arterler yoluyla böbreklere akar ve eşleştirilmiş renal damarlardan çıkar. Bu organlar, kontrol vücut sıvı hacmi, osmolalite, asit-baz dengesi ve elektrolit konsantrasyonunun yanı sıra atık/toksinlerin uzaklaştırılmasında da yer alırlar. Böbreğin genel işlevi, glomerüler filtrasyon adı verilen bir süreçle gerçekleşir. Süzme işleminde kan, böbreklerin nefron adı verilen ve istenmeyen maddelerin süzülmesi fonksiyonel biriminden geçer; çözünmeyen su, sodyum, bikarbonat, glukoz, amino asitler gibi gerekli maddeler glomerül tarafından geri emilir. Böbreğin diğer glomerüler olmayan işlevleri arasında, D vitamininin aktif formuna dönüştürülmesi, eritropoetin ve renin gibi hormonların sentezleri yer alır (Glodny ve diğ., 2009).

2.6.1. Böbreklerin Yeri

İnsanın karın boşluğunda yuksekte, omurganın her iki yanında birer tane olarak bulunan böbrekler, hafif eğik bir açıyla retroperitoneal pozisyonunda uzanırlar. Sağ böbrek sol böbreğe göre biraz daha küçük ve daha aşağıda yer alır (Glodny ve diğ., 2009).

2.6.2. Böbreklerin Anatomisi

Dış renal korteksi ve iç renal medulla, böbreğin iki fonksiyonel parankimidir. Böbreklerin korteks ve medullasını kapsayan idrar üreten fonksiyonel yapılara nefron denir. Korteks, bir nefronun ilk süzme kısmıdır, bunu korteksten medüller piramitlerin derinliklerine geçen bir renal tübül takip eder. Piramitten çıkan medüller ışın tek bir toplama kanalına akar. Bu piramitler tarafından üretilen idrar, küçük kalikslere, ardından büyük kalikslere ve son olarak üreteri oluşturan renal pelvise boşaltılır. Hilumda üreter ve renal ven böbrekten çıkarken renal arter böbreğe girer (Walter, 2004; Clapp, 2009) (Şekil 2.8)



Şekil 2.8: Böbreğin anatomisi (Tortora ve Anagnostakos, 1987).

2.6.3. Böbreklerde Kan ve Sinir Beslemesi

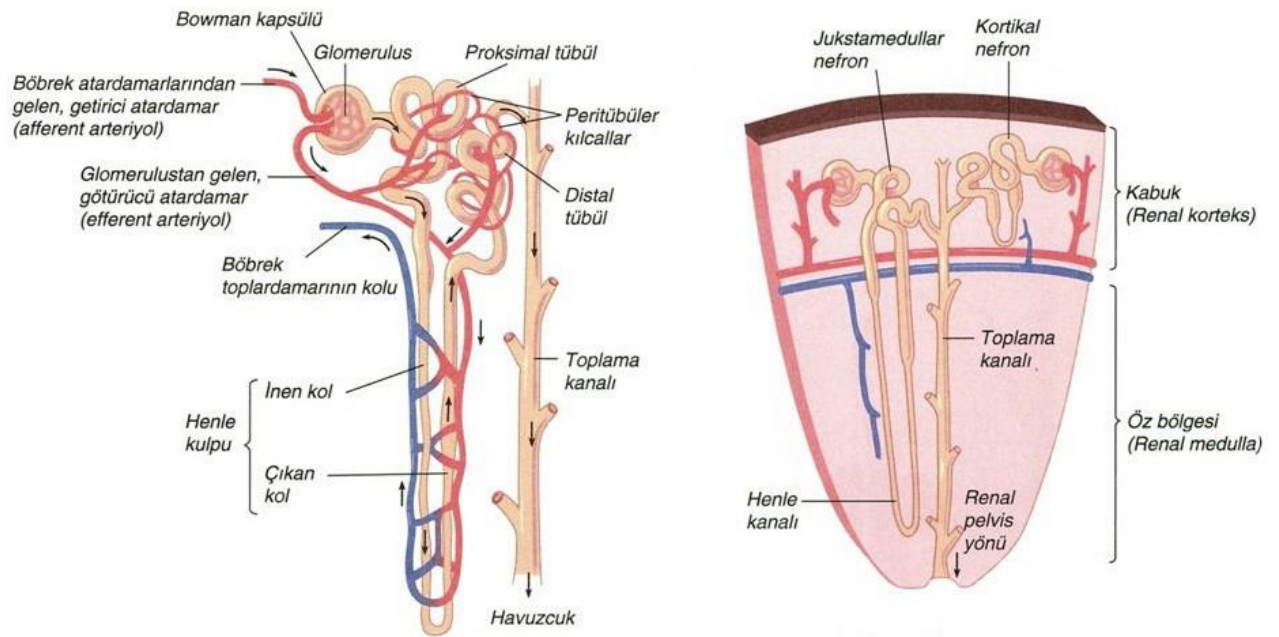
Doğrudan abdominal aorttan gelen kan renal arterlerden böbreğe gelir. Kan akışının yaklaşık %20'si böbreklerden geçer. Kan, filtrasyondan sonra küçük damarlardan (venüller) oluşan küçük bir ağda hareket eder ve interlobuler damarlarda birleşir. İnterlobuler, kanı arkuat damarlara, ardından tekrar interlobar damarlara taşır. Renal damarlarda toplanan kan ve geri emilen maddeler, alt vena kava yoluyla böbreğe drene edilir ve böbrekten çıkar (Walter, 2004).

Böbrek ve merkezi sinir sistemi arasındaki iletişim renal plexus ve vagus siniri aracılığıyla gerçekleşir. Birincisi sempatik sinir sistemi ile iletişimi içerir, böbrekte

vazokonstriksiyonu tetikler, bu şekilde böbrek kan akışı azaltılır. İkincisi ise, parasempatik sinir sistemi ile ilgilidir ve işlevi hala bilinmemektedir (Schrier ve diğ., 1972; Bard ve diğ., 2003).

2.6.4. Böbreklerin İşlevi

Böbrekler filtrasyon, emilim ve salgılama işlevlerini içeren bir dizi işlem vasıtası ile iç ortamın kimyasal yapısını düzenler. Filtrasyon, glomerüllerde gerçekleşir. Nefronun tübül bölümleri özellikle proksimal tübüller filtrat içindeki vücut metabolizmasına faydalı olan maddeleri emer ve bu şekilde iç ortamdaki hemeostasisi sağlar. Nefronlar, istenmeyen maddeleri plazmadan temizleme işlevine sahiptirler (Şekil 2.9). Böbrekten geçen kan, atıkların süzülmesine, yeniden emilmesine, salgılanmasına ve atılmasına, dolayısıyla idrar üretimine uğrar. İdrar yoluyla atılan atıklar, sırasıyla protein katabolizması ve nükleik asit metabolizması sonucu oluşan üre ve ürik asit gibi azotlu metabolitleri içerir (Nahon ve diğ., 2011; Tefekli ve Cezayirli, 2013). Bu duruma ek olarak böbrek, asit-baz dengesini, elektrolit konsantrasyonlarını, hücre dışı sıvı hacmini ve kan basıncını düzenleyerek homeostaziye katılır. Homeostatik işlevler, hem bağımsız olarak hem de diğer organlarla, özellikle endokrin sistem ile uyum içinde gerçekleştirilir. Bu endokrin fonksiyonları koordine eden endokrin hormonlar arasında renin, anjiyotensin II, aldosteron, antidiüretik hormon ve atriyal natriüretik peptidler bulunur (Salem ve Eknayan, 1999; Nahon ve diğ., 2011; Tefekli ve Cezayirli, 2013; Kalantar-Zadeh ve diğ., 2021).



Şekil 2.9: Nefronun yapısı (Tortora ve Anagnostakos, 1987).

Bu çalışmada, sıçanlarda valproat ile oluşturulan akciğer ve böbrek hasarı zerine, *M. oleifera* %70 etanollü ekstresinin koruyucu etkisi araştırıldı. Epilepsi tedavisinde kullanılan valproatın oluşturduğu akciğer ve böbrek hasarında moringa ekstresinin koruyucu etkisinin gösterilmesi epilepsi tedavisine katkı sağlayacaktır.



3. YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR/ENSTRÜMANLAR

Bu çalışmada, buzdolabı (Arçelik), çalkalayıcı su banyosu (Memmert WB 14 Çalkalayıcı), derin dondurucular (New-Brunswick Scientific -76 °C, Beko -20 °C), distile su cihazı (Brand MonoDest 3000), etüv (Memmert UNB 500), floresan spektrometre (BioTek FLx800), fluoresans mikroyayt okuyucu (BioTek ELx808 Absorbance Microplate Reader), homojenatör (Cam Homojenatör), pH metre (Hanna pH/ORPvMeter HI 2211), rotary evaporatör (BUCHI R-210 Rotavapor), santrifüj cihazı (Denley BS400), soğutmalı santrifüj cihazı (Sigma Laboratory Centrifuges 3K30), sonikatör (Bandelin Sonorex), spektrofotometre (Shimadzu UV- Vis 1240, Shimadzu Corp. 03462), spektrofotometre (Shimadzu UV-1700 UV-Visible Spectrophotometer), spektrofotometre (Shimadzu UV-1800), terazi (Radwag XA 60/220/X Hassas terazi), terazi (Radwag XA AS 220/C/2 Hassas terazi) ve vorteks (Fisons Whirlimixer) gibi standart laboratuvar cihazları kullanılmıştır.

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

1-Klor-2,4-dinitrobenzen (Fluka 24440), 2,4-dinitrofenil hidrazin (Merck 3081), 2-amino-4-naftol-sülfonik asit (Fluka 08751), 2-tiyobarbitürik asit (Merck 108180), 4-aminoantipirin (Fluka 08751), 5,5'-ditiyobis-2-nitro benzoik asit (Fluka 43760), albumin (Merck 112018), amonyum molibdat (Merck 1181), asetilaseton (Fluka 900), ATP (Aldrich A26209), bakır sülfat (Panreac), brom (Merck 1945), demir-III-klorür heksahidrat (Merck 3946), dimetilamino benzaldehit (Merck 057), dipotasyum tartarat (Merck 5160), etanol (Riedel de Hæn 32221), etil asetat (Merck 822277), etilendiamintetraasetik asit sodyum tuzu (Merck 2604134), fenol (Merck 5559), fosfat asidi (Merck 4967293), fosfotungstik asit (Merck 582), glutatyon redüktaz (Sigma G3664), guanidin hidroklorür (Fluka 50940), hidrojen peroksit (Merck 108600), hidroklorik asit (Merck 100314), redükte glutatyon (Fluka 49750), redükte NADPH tuzu (Sigma N1630), kalsiyum klorür (Merck 2386), lityum sülfat (Merck 5695), magnezyum klorür (Fluka 63065), metanol (Merck 106009), m-fosforik asit (Carlo Erba 407465), NADH (Fluka 43420), n-butanol (Merck 100988), o-dianisidin hidroklorür (Fluka

33430), okside glutatyon (Sigma G45776), orsinol monohidrat (Sigma 01875), ouabain (Sigma 03125), paraoksan etil (Riedel de H  en 36186), potasyum dihidrojen fosfat (Merck 105101), potasyum fosfat (Riedel de H  en 04243), potasyum iyodür (Mallinckrodt 9688), potasyum klorür (Riedel de H  en 12636), riboflavin (Sigma 47861), sekonder dipotasyum hidrojen fosfat (Merck A116773847), sekonder sodyum fosfat (Merck 106586), sikloheksanon (Merck 102888), sistein (Merck 2839), siyalik asit (Fluka 01400), sodyum azit (Sigma 71289), sodyum dihidrojen fosfat (Fluka 71642), sodyum disülfit (Merck 6357), sodyum hidroksit (Merck 6462), sodyum hipoklorit (Merck 105614), sodyum karbonat (Riedel de H  en 13418), sodyum klorür (Merck 106404), sodyum meta arsenit (Fluka 71287), sodyum meta periyodat (Fluka 71860), sodyum molibdat (Merck 6521), sodyum sitrat (Merck 6447), sodyum sülfat (Merck 106649), sodyum sülfit (Merck 6652), sodyum tungstat (Merck 106673), sülfürik asit (Merck 100713), trikloroasetik asit (Merck 100807), Tris (Merck 108382), Tris-HCl (Merck 108387) ve trisodyum sitrat dihidrat (Merck 6432) gibi standart kimyasal maddeleri kullanıldı.

3.3. B  TK   NUMUNE TOPLAMA VE HAZIRLAMA

M. oleifera'nın taze yaprakları, 2018 yılının Temmuz ayı civarında, Sokoto Eyaleti/Nijerya'nın Sokoto kasabasındaki   ftliklerden toplandı. Bu bitki, Usmanu Danfodiyo Üniversitesi Sokoto Biyolojik Bilimler Bölümü Botanik Birimi'nden Taksonomist Umar Abdullahi (PhD) (herbaryum numarası: UDUS/VS/2011/31) tarafından tanımlandı.

Taze yapraklar toz haline getirilmeden önce gölgede kurutuldu, daha sonra toz haline getirilerek toz kağıt zarf i  ine konularak pakatlendi. Nakliye sırasında nem ve kontaminasyonu önlemek için hava geçirmez bir polietilen torba içinde saklandı. Yaprak tozu, Sokshlet ekstrakt  r  nde %70'lik etanol   z  ltisi kullanılarak ekstrakte edildi. 10 g yaprak tozu 150 mL %70'lik etanol içinde ekstre edildi. Ekstraksiyon işleminin sonunda çözücünün uzaklaştırılması için evaporatör kullanıldı. Elde edilen ham ekstre tartıldı, etiketli Eppendorf tüplerine aktarıldı ve kullanılıncaya kadar -20   C'de saklandı.

3.4. DENEYSEL TASARIM

Bu   alı  ma Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun 10.02.2020 tarihli ve 11.2020 mar. protokol numaralı izni ile yapılmıştır. Çalışmada 46 adet 3-3.5 aylık Sprague Dawley ırkı dişi sıçanlar kullanıldı. Deney süresince sıçanlar normal pellet yem ve

musluk suyu ile beslendiler. Çalışmada, ratsgele olarak seçilen Sprague Dawley dişi sıçanlar dört gruba ayrıldı: I. Grup kontrol grubu (n=8). II. Grup 15 gün boyunca sadece %70'lik etanollü moringa yaprak ekstresi (0.3 g/kg/gün) verilen grup (n=15). III. Grup 15 gün boyunca sadece sodyum valproat (0.5 g/kg/gün) verilen grup (n=8). IV. Grup aynı doz ve aynı süre ile sodyum valproat+moringa ekstresi verilen grup (n=15). Moringa ekstresi ve sodyum valproat ağız yoluyla verildi. Grup I'e 1 mL serum fizyolojik ağız yoluyla verildi. Deneyin onaltıncı gününde, bir gece öncesinden aç bırakılan tüm sıçanlar sakrifiye edildi. Deneylerde kullanılan serum örnekleri sıçanların kalp kanlarının onbeş dakika 3000 rpm'de santrifüje edilmesi ile elde edildi. Bu serumlar, üre (Barker, 1944), kreatinin (Bonsnes ve Taussky, 1945) ve ürik asit (Caraway, 1955) miktarlarının tayininde kullanıldı. Alınan akciğer ve böbrek doku örnekleri homojenize edildi. %10'luk hazırlanan doku homojenatlarında glutatyon (Beutler, 1975), lipid peroksidasyon (Ledwozyw ve diğ., 1986), protein karbonil (Levine ve diğ., 1990), siyalik asit (Lorentz ve diğ., 1986) seviyeleri ile, süperoksit dismutaz (Mylroie ve diğ., 1986), katalaz (Aebi, 1984), glutatyon redüktaz (Beutler, 1971), glutatyon-S-transferaz (Habig ve Jakoby, 1981), glutatyon peroksidaz (Wendel, 1981), paraoksonaz (Furlong ve diğ., 1988), arginaz (Geyer ve Dabich, 1971) ve miyeloperoksidaz (Wei ve Frenkel, 1991) aktiviteleri ile total antioksidan miktarı (TAS) (Erel, 2004), total oksidan miktarı (TOS) (Erel, 2005), reaktif oksidan miktarı (ROS) (Zhang ve diğ., 2018), nitrik oksit (NO) (Miranda ve diğ., 2001), tümör nekroz faktör (TNF- α), inter lökin (IL-6) ve protein miktar tayinleri (Lowry ve diğ., 1951) gibi biyokimyasal parametreler tayin edildi.

3.5. BİYOKİMYASAL ANALİZ

3.5.1. Serum Hazırlama

Kalp kanları onbeş dakika 3000 rpm'de santrifüje edildi. Bu şekilde elde edilen serumlar, numaralarının etiketlendiği Ependorf tüplerine bölünerek ve deney günü kullanılmak için -78°C'lik derin dondurucuya konuldu.

3.5.2. Akciğer ve Böbrek Homojenatı Hazırlama

Akciğer ve böbrek homojenatları hazırlanırken her iki doku makasla ufak parçalara ayrıldı ve tartıldı. Tartılan dokuların homojenatları cam homojenatör yardımı ile %0.9'luk NaCl çözeltisi içinde %10'luk (w/v) olarak hazırlandı. Hazırlanan örnekler +4°C'de 10 dakika 10.000 rpm'de santrifüje edildi. Santrifüjden sonra akciğer ve böbrek dokularının süpernatantları

ependorflara konularak numaralandırıldı ve deney günü kullanılmak için -78°C'lik derin dondurucuya konuldu.

3.5.3. Serumda Üre Miktar Tayini

Serumdaki üre miktarı, Oxime metodu kullanılarak kolorimetrik olarak tayini edildi (Barker, 1944). Yöntemin esası, serumda bulunan ürenin asit çözeltisi varlığında diasetil monoksim ile sıcak ortamda verdiği rengin 520 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmasına dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler:

Serumda üre miktar tayininde kullanılan tüm çözeltiler literatürde belirtildiği şekilde hazırlandı (Barker, 1944).

Deneyin Yapılışı:

Öncelikle serum yapısında bulunan proteinlerinden uzaklaştırıldı. Bunun için santrifüj tüpüne alınan serum örneğinin üzerine sodyum tungstat (%10) ilave edilerek santrifüje edildi. Santrifüj sonrası elde edilen proteinsiz filtrat başka bir tüpe aktarıldı. Daha sonra 3 adet deney tüpü alındı. Kör, standart ve numune olmak üzere ayrıldı. Hacim olarak 0.1 mL distile su kör tüpüne, çalışma standardı standart tüpüne, proteinsiz filtrat numune tüpüne konulduktan sonra bütün tüplere sırasıyla 1.5'er mL oksim ve asit çözeltileri ilave edildi ve tüpler vorteks yardımı ile karıştırıldı. Tüplerin ağızları kapatılarak kaynar su banyosunda 15 dakika kaynatıldı, oda sıcaklığında soğutuldu ve 520 nm dalga boyunda spektrofotometrede meydana gelen renk okundu. Serumda üre miktarı aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı.

$$\% \text{ mg üre azotu} = (\text{Numune Absorbansı} / \text{Standart Absorbansı}) \times 30$$

$$\% \text{ mg üre} = (\text{Numune Absorbansı} / \text{Standart Absorbansı}) \times 30 \times (60/28)$$

3.5.4. Serumda Kreatinin Miktar Tayini

Serumdaki kreatinin miktarı kolorimetrik olarak tayin edildi (Bonsnes ve Taussky, 1945). Proteinlerinden Folin-Wu ayıraçları ile uzaklaştırılmış olan serumdaki kreatininin alkali ortamda pikrik asit ile verdiği rengin fotometrede okunması ile tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler:

Kreatinin miktar tayini için çözeltiler Bonsnes ve Taussky'nin çalışmalarında belirttiği şekilde hazırlandı (Bonsnes ve Taussky, 1945).

Deneyin Yapılışı:

Öncelikle serum örneği santrifüj tüpüne alındı, üzerine sodyum tungstat (%10) ilave edilerek santrifüje edildi. Santrifüj sonrası elde edilen proteinsiz filtrat başka bir tüpe aktarıldı. Bu işlemi takiben 3 adet deney tüpü alındı. Kör, standart ve numune olmak üzere ayrıldı. Kör tüpüne 0.5 mL, standart tüpüne 0.3 mL, numune tüpüne 0.3 mL distile su ilave edildi. Daha sonra standart tüpüne 0.2 mL çalışma standardı, numune tüpüne de 0.2 mL proteinsiz filtrat konulduktan sonra tüpler vorteks yardımı ile karıştırıldı. Tüm tüplere 0.2'şer mL 2/3 N H₂SO₄ ilave edildi, tekrar vortekslendi. Daha sonra tüm tüplere sırası ile 0.1'er mL pikrik asit (0.04 M) ve sodyum hidroksit (0.75 N) ilave edildi. Tüpler karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Çalışılan tüm tüplerin absorbensları 520 nm dalga boyunda spektrofotometre okundu.

Hesaplama aşağıda verilen formüle göre hesaplandı.

% mg Kreatinin = (Numune Absorbansı/Standart Absorbansı) x 133 x (Standart içindeki madde miktarı).

3.5.5. Serumda Ürik Asit Miktar Tayini

Serumdaki ürik asit miktarı Caraway (1955) yöntemine göre tayin edildi. Bu metotta, ürik asidin alkali ortamda fosfotungstik asit ile indirgemesi sonucu açığa çıkan mavi rengin spektrofotometrede 700 nm'de okunmasına dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler:

Ürik asit miktar tayini için çözeltiler Caraway'ın çalışmasında belirttiği şekilde hazırlandı (Caraway, 1955).

Deneyin Yapılışı:

Serum örnekleri santrifüj tüpüne alındı. Üzerine serum proteinlerini çöktürmek için %20'lik triklorasetik asit (TCA) dan ilave edildi. Tüpler 5 dakika 4000 rpm santrifüje edildi. Santrifüj sonrası elde edilen santrifükat üzerinden deneye devam edildi. Bu amaçla 3 deney tüpü alındı. Kör, standart ve numune tüpü olarak işaretlendi. Numune tüpüne 0.2 mL santrifükat eklendi. Daha sonra tüm tüplere 0.2 mL sodyum karbonat (%14.85) ilave edildi. Distile su ilavesi tüplere sırası ile 0.77 mL, 0.57 mL ve 0.57 mL olarak gerçekleştirildi. Standart tüpüne 0.2 mL lavdat ayırıcı ilave edildikten sonra renk oluşumu için tüm tüplere 0.03 mL Folin-Denis ayırıcından ilave edildi. Bütün tüpler vorteksle karıştırıldıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında

bekletildi ve tüplerdeki çözeltilerin absorbensları 530 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu. Hesaplama aşağıda verilen formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ mg Ürik asit} = (\text{Numune Absorbansı} / \text{Standart Absorbansı}) \times 5.$$

3.5.6. Akciğer ve Böbrek Dokularında Glutasyon Miktar Tayini

Glutasyon (GSH) miktarı, Beutler (1975) metoduna göre ayırıcın sülfidril grupları ile verdiği reaksiyon sonucunda oluşan sarı renkli ürünün absorbensının spektrofotometrede okunması ile tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler:

Dokuda GSH miktar tayini için çözeltiler Beutler'in çalışmasında belirttiği şekilde hazırlandı (Beutler, 1975).

Deneyin Yapılışı:

Doku homojenatından 0.5 mL santrifüj tüpüne pipetlendikten sonra 0.75 mL çöktürme çözeltisi ilave edildi, karıştırıldı ve 5 dakika 3000 rpm'de santrifüje edildi. Elde edilen süpernatantdan bir deney tüpüne 0.5 mL alındı. Başka bir tüpe de 0.5 mL serum fizyolojik ilave edildi ve bu tüp kör tüpü diye adlandırıldı. Sonra tüplere 2 mL 0.3 M Na₂HPO₄ ve 0.25 mL 5,5'-ditiyobis-2-nitro benzoik asit (DNTB)'in %1 sitrat içindeki çözeltisinden ilave edildi. Vortekslendi ve 5 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi. 412 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Bu işlemler standart madde için de uygulandı Dokudaki GSH düzeyi aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı.

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

N_{abs} = Numunenin absorbens değeri

S_{abs} = Standardın absorbens değeri

307.3 = Glutasyonun molekül ağırlığı

A = % mg standart konsantrasyonu

P = % mg doku proteini

3.5.7. Akciğer ve Böbrek Dokularında Lipit Peroksidasyonu Miktar Tayini

Akciğer ve böbrek dokularındaki lipit peroksidasyon (LPO) tayini Ledwozyw ve diğ. (1986) metoduna göre spektrofotometrik olarak belirlendi. Reaksiyon sonucunda meydana

gelen LPO ürünlerinin tiyobarbitürik asit ile reaksiyonu sonucu oluşan pembe rengin absorbansı spektrofotometrede okundu.

Kullanılan Çözeltiler:

Yöntemde kullanılan çözeltiler literatürde belirtilen şekilde hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Numune tüpüne 0.25 mL doku homojenatı eklendi. TCA (1.22 M) çözeltisi numune tüpü ile birlikte kör ve standart tüplerine 1.25 mL olarak eklendi, karıştırıldı ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda kör tüpüne 1.25 mL serum fizyolojik, standart tüpüne 0.25 mL LPO çalışma standardından ilave edildi. Daha sonra kör, numune ve standart tüplerine 0.375 mL tiyobarbitürik asit çözeltisinden ilave edildi, karıştırıldı. Ağzıları kapatılarak kaynar su banyosunda 30 dakika kaynatıldı. Süre sonunda su ile soğutuldu. Bu işlemi takiben bütün tüplere 1'er mL n-butanol ilave edildi, tüpler vorteks cihazında karıştırıldı. Karışımlar santrifüj tüpüne aktarıldıktan sonra 10 dakika 3000 rpm'de santrifüje edildi. 532 nm'de tüplerin absorbansı spektrofotometrede köre karşı okundu.

Dokuların 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} = Standardın absorbans değeri

4.4 = Standart çözelti (nmol/mL)

P = % mg cinsinden protein miktarı

3.5.8. Akciğer ve Böbrek Dokularında Protein Karbonil Miktar Tayini

Doku protein karbonil (PK) miktarı, spektrofotometrik olarak karbonil gruplarının 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNFH) ile reaksiyona girmesi ile meydana gelen 2,4-dinitrofenilhidrazonun tayinine dayanır. Metal katalizli oksidasyona uğramış proteinler için DNFH bir belirteçtir (Levine ve diğ., 1990).

Kullanılan Çözeltiler

Denemede kullanılan çözeltiler Levine ve diğ.'lerinin çalışmasındaki yöntemle göre hazırlandı (Levine ve diğ., 1990).

Deneyin Yapılışı:

Santrifüj tüplerinden bir tanesi kör, diğeri numune olarak numaralandırıldı. Her iki santrifüj tüpüne 0.5 mL homojenat ilave edildi. Numune tüpüne 2 mL 10 mM 2,4-dinitrofenil hidrazin, kör tüpüne de 2 mL 2.5 M HCl ilave edildi. Tüpler 15 dakikada bir vorteksle karıştırılarak, bir saat oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi. Sonra her tüpe 2.5 mL TCA (%20'lik) çözeltisi ilave edildi.

Buz içerisinde 5 dakika bekletilen tüpler santrifüje edildi. Santrifüj sonrası elde edilen çökelti 2 mL etanol-etil asetat (1:1) karışımı ile üç defa yıkandı. 1 mL guanidin hidroklorür (6 M) ile muamele edilen çökelti 37 °C'de su banyosunda 10 dakika inkübe edildi. Örneklerin 370 nm'de köre karşı absorbans değerleri okundu. PK miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{PK Miktarı (nmol protein karbonil/mg protein)} = \text{Abs} \times 90.9 / \text{mg protein}$$

Abs: Absorbans değeri

3.5.9. Akciğer ve Böbrek Dokularında Siyalik Asit Miktar Tayini

Dokuda siyalik asit (SA) miktarı Lorentz ve diğ.'lerinin yöntemine göre tayin edildi (Lorentz ve diğ., 1986). Periyodik asidin yükseltgenmesi sonucu meydana gelen 2-formil pürivik asidin iki mol tiyobarbitürik asit ile reaksiyonu ile oluşan renkli bileşiğin 546 nm'de absorbansının okunmasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

Çözeltiler Lorentz ve diğ.,(1986)'lerinin yöntemine göre hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Numune, standart ve kör tüpleri alındı. Kör tüpüne serum fizyolojik, numune tüpüne doku homojenatı ve standart tüpüne standarttan 10'ar µL ilave edildi. Daha sonra bütün tüplere sırasıyla 100 µL NaCl ve 300 µL H₂SO₄ eklendi. 80 °C'de bir saat bekletildi ve oda sıcaklığında su içerisinde soğutuldu. Soğutma işleminden sonra bütün tüplere 100 µL sodyum meta periyodat ilave edildi ve oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Ardından 400 µL sodyum meta arsenit ilave edildikten sonra iyodun rengi gidinceye kadar tüpler çalkalandı. Tiyobarbitürik asitten bütün tüplere 1'er mL ilave edildi ve 90 °C'de 15 dakika bekletildi. Soğutulduktan sonra 2'şer mL sikloheksanon ilave edilerek 10 dakika santrifüje edildi. Siyalik asit sikloheksanon fazına çekildi ve 546 nm de spektrofotometrede absorbans değerleri okundu.

Dokuda siyalik asit miktarı aşağıda verilen formül yardımı ile hesaplandı.

$$\text{SA Miktarı (mmol/mg protein)} = [(N_{\text{Abs}} \times 1.617) / \text{Std}_{\text{Abs}}]$$

N_{abs} = Numunenin absorbans değeri

Std_{abs} = Standardın absorbans değeri

3.5.10. Akciğer ve Böbrek Dokularında Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, riboflavinin floresans ışığının etkisi ile oluşturduğu süperoksit radikali, ortamdaki SOD'un etkisi ile H_2O_2 'e dönüştürülür. Meydana gelen H_2O_2 in o-dianisidin ile reaksiyonu sonucu oluşan ürünün 460 nm'de absorbansı spektrofotometrede okunur. Çalışmamızda SOD aktivitesi Mylorie ve diğ. (1986) yöntemi kullanılarak tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler:

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

Deneyin yapılışı:

Akciğer ve böbrek dokularında SOD aktivitesi tayininde tüpler kör, numune ve standart olarak adlandırıldı. EDTA içeren 50 mM fosfat tamponundan (pH 7.8) kör tüpüne 2.7 mL, diğer tüplere 2.6 mL ilave edildi. 6 mM lık o-dianisidin çözeltisinden tüm tüplere 0.1 mL ilave edildi. Doku homojenatından numune tüpüne 0.1 mL, standart tüpüne de 0.1 mL standart ilave edildikten sonra bütün tüplere riboflavin çözeltisinden (0.2 mM) ilave edildi. Tüplerin absorbansı, köre karşı 460 nm'de okundu. Sonra karanlıkta ultraviyole (UV) ışığı altında 8 dakika boyunca bekletildi. Sekizinci dakika sonunda tüplerin absorbansı, köre karşı yeniden okundu. 0. ve 8. dakikadaki absorbans farkları alındı. Numunelerin SOD aktivitesi, standartlar kullanılarak çizilen grafik yardımı ile U/mg cinsinden hesaplandı.

3.5.11. Akciğer ve Böbrek Dokularında Katalaz Aktivite Tayini

Aebi (1984) yöntemi kullanılarak katalaz (CAT) aktivitesi tayin edildi. Katalaz enzimiyle H_2O_2 'in H_2O 'ya dönüşümü sağlanarak, azalan absorbans değerinin spektrofotometrede 240 nm'de ölçülmesine dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:

Çözeltiler Aebi (1984) yöntemine göre hazırlanarak denemelerde kullanıldı (Aebi 1984).

Deneyin Yapılışı:

Kör tüpüne 0.5 mL %0.9 NaCl, numune tüpüne 0.5 mL doku homojenatı ilave edildi. Daha sonra her iki tüpe de 2 mL 3 mM H₂O₂ ilave edildikten sonra numunenin sıfırncı ve birinci dakikada 240 nm’de spektrofotometrede absorbans değerleri köre karşı ölçüldü.

Akciğer ve böbrek dokularındaki CAT aktivitesi aşağıda belirtilen formül yardımı ile hesaplandı.

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

$$\text{CAT 'ın Spesifik Aktivitesi} = (\text{Katalaz Aktivitesi})/(\text{mg protein})$$

ΔOD = 0. ve 1. dakika arasındaki absorbans farkı

V_T = Toplam hacim

V_N = Numune hacmi

f = Seyreltme katsayısı

3.5.12. Akciğer ve Böbrek Dokularında Glutasyon Redüktaz Aktivite Tayini

Yöntemin esası, yükseltgenmiş glutasyonun glutasyon redüktaz (GR) ile redüksiyonu sırasında oksitlenen NADPH miktarının hesaplanmasına dayanır (Beutler, 1971).

Kullanılan Çözeltiler:

Denemede kullanılan çözeltiler Beutler’in çalışmasındaki gibi hazırlandı (Beutler, 1971).

Deneyin Yapılışı:

Numune ve kör tüplerine 1 mM EDTA içeren 50 mM Tris-HCl tamponundan 870 ve 900 µL ilave edildi. Daha sonra her iki tüpe 50 µL 2 mM NADPH, 50 µL GSSG (20 mM) ilave edildi. Numune tüpüne 30 µL homojenat ilave edildi.

Köre karşı, örnek absorbansındaki azalma 5 dakika boyunca 340 nm’de ölçüldü ve dakikadaki absorbans değişimi saptandı. Her bir örnek için GR aktivitesi ünite/g protein olarak hesaplandı.

$$\text{GR Aktivitesi (U/g protein)} = [(\Delta\text{OD}/\text{dk}) / 6.22 \times (V_T/V_0) \times f] / \text{g protein}$$

ΔOD : 0. ve 5. dakika arasındaki absorbans farkı

V_T : Toplam çözelti hacmi

V_0 : Örnek hacmi

f: Seyreltme faktörü

6.22: NADPH için 340 nm'deki molar absorpsiyon katsayısı

3.5.13. Akciğer ve Böbrek Dokularında Glutatyon-S-Transferaz Aktivite Tayini

Akciğer ve böbrek dokularında glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesi Habig ve Jakoby (1981) metoduna göre spektrofotometrik olarak tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

Denemede kullanılan çözeltiler Habig ve Jakoby (1981)'nin çalışmasındaki yöntemdeki gibi hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Numune tüpüne 0.5 mL homojenat ilave edildi. Daha sonra numune ve kör tüplerine sırasıyla 200 mM fosfat tamponu (pH 6.5)'nden 1.5 mL, 60 mM GSH ve 60 mM 1-kloro-2,4-dinitrobenzen çözeltilerinden 0.05 mL ilave edildi. Son olarak numune tüpüne 0.9 mL, kör tüpüne 1.4 mL distile su ilave edildi.

Spektrofotometrede 340 nm'de örneklerin köre karşı 3 dakika boyunca absorbans değerlerindeki artış tespit edildi.

GST Aktivitesi (U/mg protein) cinsinden hesaplanır.

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

ΔOD : 0. ve 3. dakika arasındaki absorbans farkı

f: Seyreltme faktörü.

3.5.14. Akciğer ve Böbrek Dokularında Glutatyon Peroksidaz Aktivite Tayini

Akciğer ve böbrek dokularında glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi, Wendel (1981) yöntemi kullanılarak saptandı. GPx, indirgen glutatyonun H_2O_2 varlığında yükseltgenmiş glutatyona oksidasyonunu sağlar. Oluşan okside glutatyonun, indirgen glutatyona dönüşümü NADPH'nın NADP'ye yükseltgenmesi ile olur. Bu oksidasyon ile meydana gelen absorbans azalışı spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Kullanılan Çözeltiler:

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

Deneyin Yapılışı:

Numune tüpüne 400 µL, kör tüpüne 600 µL 0.25 M pH= 7.0 fosfat tamponu ilave edildi. Numune tüpüne 200 µL homojenat eklendikten sonra her iki tüpe sırasıyla 10 mM GSH, 2.5 mM NADPH, 6 U/L glutatyon redüktaz ve 12 mM H₂O₂ çözeltisinden 100 µL ilave edildi.

Kör ve numunelere substrat ilave edildikten sonra karıştırılan karışımda başlayan reaksiyonun absorbans değerlerindeki azalma 366 nm’de dakikada bir okundu. Bu işlem 5 dakika boyunca yapıldı. GPx aktivitesi (U/mg protein dk.) cinsinden 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. dakika arasındaki absorbans farkı

V_T : Toplam çözelti hacmi

V_0 : Örnek hacmi

f: Seyreltme faktörü

6.22: Molar ekstinksiyon kat sayısı (mM)

3.5.15. Akciğer ve Böbrek Dokularında Paraoksonaz Aktivite Tayini

Furlong ve diğ. (1988)’lerinin geliştirdiği yönteme göre akciğer ve böbrek dokularında paraoksonaz (PON) aktivitesi tayin edildi. Substrat olarak kullanılan paraokson etilin, PON tarafından hidrolizi sonucu açığa çıkan p-nitrofenol’ün spektrofotometrede 405 nm’de absorbansının ölçülmesi yöntemin esasını oluşturmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler:

PON aktivite tayini Furlong ve diğ. (1988)’lerinin yöntemine göre hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Deney tüplerinden bir tanesi kör, diğeri numune olarak numaralandırıldı. 0.132 M Tris-HCl (pH 8.5) tamponundan kör tüpüne 800 µL, numune tüpüne 760 µL ilave edildi. Doku homojenatından numune tüpüne 40 µL eklendikten sonra her iki tüpe 6 mM paraoksan etil’den 200 µL ilave edildi ve 5 dakika 37°C’de bekletildi. Numune absorbansı köre karşı 405 nm’de okundu.

PON aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{PON Aktivitesi (U/mL)} = A/dk \times 1.36 \times 10^3$$

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

A= Absorbans değeri

3.5.16. Akciğer ve Böbrek Dokularında Arginaz Aktivite Tayini

Arginaz aktivitesinin tayininde Geyer ve Dabich (1971) yöntemi kullanıldı. Asidik ortamda diasetil monooksim, ısıнын etkisinde diasetil ve hidroksilamine dönüşür. Oluşan bileşiklerin üre ile tepkimeye girmesi sonucu meydana gelen pembe renkli bileşiğin 520 nm’de absorbansı okunur. Meydana gelen rengin kararlılığı tiyosemikarbazit ve Fe^{2+} iyonları kullanılarak sağlanır.

Kullanılan Çözeltiler:

Geyer ve Dabich’in çalışmalarında bildirdikleri çözeltilere göre hazırlandı (Geyer ve Dabich, 1971).

Deneyin Yapılışı:

Homojenatlar 1 mM MnCl_2 çözeltisi ile 1/600 oranında seyreltildi ve 20 dakika 65°C’de ön-inkübasyon işlemine tabi tutuldu. Daha sonra denemeye kör, standart, sıfırcı zaman ve inkübasyon olarak tanımlanan dört adet deney tüpü ile devam edildi. Kör tüpüne 0.25 mL distile su, standart tüpüne 0.25 mL çalışma standardı, sıfırcı zaman ve inkübasyon tüplerine sırası ile 0.075 mL homojenat, 0.1 mL karbonat tamponu ve 0.075 mL L-arginin çözeltisi ilave edildi. İnkübasyon tüpleri 10 dakika 37 °C’de inkübe edildi. Diğer tüpler ile çalışmamıza herhangi bir inkübasyon işlemi uygulanmadan devam edildi. Bütün tüplere sıra ile 0.75 mL asit ayırıcı ve renk ayırıcından ilave edildi. Tüpler 10 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. 520 nm’de spektrofotometrede absorbans değerleri okundu.

Arginaz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

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

$$\Delta\text{OD} = \text{Absorbans farkı}$$

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

3.5.17. Akciğer ve Böbrek Dokularında Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini

Akciğer ve böbrek dokularında Wei ve Frankel (1991) yöntemi kullanılarak mieloperoksidaz (MPO) aktivitesi gerçekleştirildi.

Kullanılan Çözeltiler:

Akciğer ve böbrek dokularında MPO aktivitesinin tayininde kullanılan çözeltiler Wei ve Frankel (1991) yöntemine göre hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Dokuların homojenizasyonunda heksadesiltrimetil amonyum bromür (HETAB) (%0.5) kullanıldı. Santrifüj işlemi +4 °C'de 35 dakika boyunca, 3500 rpm'de gerçekleştirildi ve MPO aktivitesini gerçekleştireceğimiz süpernatant bu şekilde ilave edildi. Deney tüpleri kör ve numune olarak adlandırıldı. Her iki tüpe 1.3 mL'lik 25 mM 4-aminoantipirin ve 20 mM fenol çözeltisi eklendi. İki çözelti karıştırıldıktan sonra yine her iki tüpe 1.7 mM H₂O₂ çözeltisinden 1.5 mL ilave edildi. Tüpler 4 dakika vorteksle karıştırıldıktan sonra numune tüpüne 0.3 mL süpernatant, kör tüpüne de aynı hacimde distile su ilave edildi. 510 nm'de 5 dakika boyunca absorbans değerleri okundu. Aktivite hesabı aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

MPO Aktivitesi (U/g doku) = $[\Delta OD/dk]/g \text{ doku}$

ΔOD = 0. ve 5. dakika arasındaki absorbans farkı

3.5.18. Akciğer ve Böbrek Dokularında Toplam Antioksidan Miktar Tayini

Akciğer ve böbrek dokularında toplam antioksidan miktar (TAS) tayini Erel (2004) yöntemine göre yapıldı. Bu metodda TAS miktarı, asetat tamponunda, H₂O₂ ve ABTS içeren reaktifinin absorbansının 660 nm'de spektrofotometrede okunması esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:

Akciğer ve böbrek dokularında TAS tayininde Erel (2004)'in yöntemine göre hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Kör, numune ve standart tüpü olarak üç adet deney tüpü alındı. Bütün tüplere 200 µL pH'ı 5.8 olan 0.4 M sodyum asetat ilave edildi. Kör tüpüne 5 µL serum fizyolojik, numune tüpüne 5 µL homojenat, standart tüpüne de 5 µL Trolox (3mM fosfat tamponunda) standardı ilave edildi. Bütün tüplere 20 µL reaktif 2 (30 mM asetat tamponunda, 2 mM H₂O₂ ve 10 mM

ABTS çözüldükten sonra bu çözeltiden alınan 204 µL alınarak 10 mL hacme pH'ı 7.4 olan 3 mM fosfat tamponu ile tamamlandı). Bunu takiben 10 dakika 37°C'de tutulan tüplerin absorbens değerleri 660 nm'de okundu.

Kör absorbensı 0 mM için kabul edildi ve diğer değerlerden körün absorbensı çıkarıldı. TAS konsantrasyonu standart eğri grafiğinin denkleminde yararlanılarak hesaplandı.

3.5.19. Akciğer ve Böbrek Dokularında Toplam Oksidan Miktar Tayini

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

Kullanılan Çözeltiler:

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

Deneyin Yapılışı:

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 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 ferröz iyonu 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 absorbensı köre karşı 560 nm'de hemen okundu.

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

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

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

$$\text{Std}_{\text{konsantrasyonu}} = \text{Standartın konsantrasyonu}$$

3.5.20. Akciğer ve Böbrek Dokularında Reaktif Oksijen Türleri Miktar Tayini

Akciğer ve böbrek dokularında reaktif oksijen türleri (ROS) tayini Zhang ve diğ. (2018) yöntemine göre yapıldı. Bu metodda ROS miktarı, HEPES (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetsülfonik asit) tamponunda çözülen, 2',7'-diklorofloresin diasetat (DCF) bileşiğinin kullanılması ile hesaplandı.

Kullanılan Çözeltiler:

Akciğer ve böbrek dokularında reaktif oksijen türleri (ROS) tayininde kullanılan ayıraçlar Zhang ve diğ. (2018)'inin yöntemine göre hazırlanarak denemelerde kullanıldı.

Deneyin Yapılışı:

Deney tüplerinden bir tanesi kör diğeri numune olarak numaralandırıldı. Kör tüpüne 5 µL serum fizyolojik, numune tüpüne 5 µL homojenat eklendi. Daha sonra tüm tüplere sırası ile 55 µL HEPES tamponu (pH 5.8), 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 spektrofotometre ile ölçüm yapıldı. Aynı şartlarda 30 dakika sonra tekrar ölçüm yapıldıktan sonra aşağıdaki formüle göre ROS miktarı hesaplandı.

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

ΔRFU = 0. ve 30. dakika arasındaki floresans farkı

3.5.21. Akciğer ve Böbrek Dokularında Nitrik Oksit Miktar Tayini

Akciğer ve böbrek dokularında nitrik oksit (NO) tayini Miranda ve diğ. (2001)'lerinin yöntemine göre yapıldı. Bu metodda NO miktarı, vanadyum klorür (III) (VCl₃), sülfanilamid ve N-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorür (NEDD) kullanılarak hesaplandı. Nitritle sülfanilamidin, asidik ortamda NEDD ile reaksiyonu sonucu meydana gelen diazoniyum bileşiğinin oluşturduğu rengin 540 nm'de spektrofotometrede okunması esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:

Akciğer ve böbrek dokularında NO tayininde Miranda ve diğ. (2001)'lerinin yöntemlerinde belirttikleri şekilde hazırlanan reaktifler denemelerde kullanıldı.

Deneyin Yapılışı:

Bu denemede kullanılan doku homojenizatı serum fizyolojik ile %10'luk olacak şekilde homojenize edildikten sonra, +4°C'de 10 dakika, 4000 rpm'de santrifüje edilerek hazırlandı. Bu şekilde elde edilen süpernetanttan 0.45 mL alındı üzerine 0.45 mL 0.3 M NaOH ilave edildi, karıştırıldı ve 5 dakika beklendi. Üzerine %10'luk ZnSO₄ ilave edildi ve tüpler vortekslendi. Ardından +4°C'de 5 dakika 14000 rpm'de santrifüje edildi. Elde edilen üst faz kullanarak dokulardaki NO miktarı tayin edildi.

Deney tüplerinden bir tanesi kör diğeri numune olarak numaralandırıldı. Kör tüpüne 0.6 mL distile su, numune tüpüne 0.3 mL homojenat eklendikten sonra her iki deney tüpüne de 0.3 mL her gün taze olarak hazırlanan VCl_3 'den ilave edildi. Numune tüpüne sırası ile 0.15 mL sülfanilamit ve NEDD çözeltilerinden ilave edildi. Bunu takiben tüpler $37^{\circ}C$ 'de 30 dakika inkübe edildi. 540nm'de absorbens değerleri okundu.

NO miktarı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

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

P= Dokudaki g protein miktarı

3.5.22. Akciğer ve Böbrek Dokularında Tümör Nekroz Faktörü Alfa Miktar Tayini

Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) miktar tayininde, Rat TNF alpha platinum ELISA kiti (Affymetrix eBioscience) kullanıldı. Deney TNF- α kitinin kılavuzuna göre gerçekleştirildi.

3.5.23. Akciğer ve Böbrek Dokularında İnterlökin 6 Miktar Tayini

İnterlökin 6 (IL-6) miktar tayininde, IL-6Rat ELISA Kiti (invitrogen, ThermoFischer Scientific) kullanıldı. Deney IL-6 kitinin kılavuzuna göre gerçekleştirildi.

3.5.24. Akciğer ve Böbrek Dokularında Toplam Protein Miktar Tayini

Lowry ve diğ. (1951) geliştirdiği metot yardımı ile akciğer ve böbrek dokularında protein miktarı tayin edildi. Folin reaktifi içeriğinde aromatik halka bulunduran amino asitlerden oluşan proteinler ile mavi renk oluşturur. Reaksiyon fosfo molibdo tungstik asidin amino asitler tarafından indirgemesi esasına dayanır. Meydana gelen rengin şiddeti spektrofotometrede absorbens artışı ve protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Kullanılan Çözeltiler:

Protein miktar tayinine Lowry ve diğerlerinin çalışmalarında belirttiği şekilde reaktifler hazırlanarak devam edildi (Lowry ve diğ. 1951).

Deneyin Yapılışı:

Kör, standart ve numune tüpleri alındı. Kör tüpüne 0.5 mL serum fizyolojik, standart tüpüne 0.5 mL standart ve numune tüpüne de 0.5 mL örnek ilave edildi. Daha sonra tüm tüplere bakır sülfat çözeltisinin potasyum tartarattaki çözeltisinin ilave edildiği alkali sodyum karbonat çözeltisinden 2.5'er mL ilave edildi ve vortekslendi. 10 dakika beklendikten sonra yine bütün

tüplere 0.25 er mL Folin ayıracı ilave edilip 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 500 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans değerleri okundu. Numunelerin protein miktarı aynı yöntem ile çalışılarak elde edilen standart eğri yardımı ile % mg olarak hesaplandı.

3.5.25. İstatistiksel Analiz

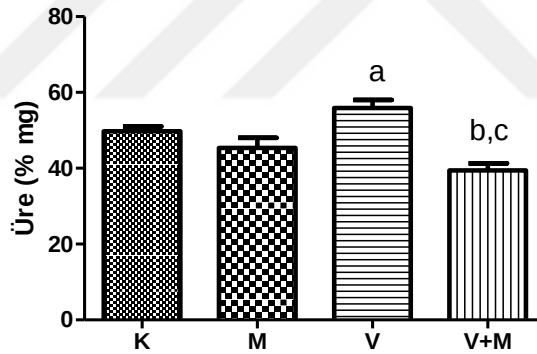
İstatistiksel analiz için tüm veriler, GraphPad 6.0 Prism istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında Tukey's Testi uygulandı ve ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışmamızda valproik asit ile oluşturulan akciğer ve böbrek hasarında %70'lik etanolü moringa ekstresinin sıçan akciğer ve böbrek dokuları üzerinde olan etkilerini incelemek amacıyla sıçanların akciğer ve böbrek doku örnekleri alındı. Bu doku örneklerinde de enzim aktiviteleri ve bazı biyokimyasal miktar tayinleri yapıldı.

Deney ve kontrol grubu sıçanların serum üre, kreatinin ve ürik asit seviyeleri sırasıyla Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'te verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların serum üre değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Valproat verilen grupta (V) üre düzeylerinin kontrol (K) grubuna göre anlamlı olarak arttığı ($^a p < 0.05$) görüldü (Şekil 4.1). Moringa ekstresi verilen valproatlı grubun (V+M) serumdaki üre miktarının valproat uygulanan gruba göre azaldığı tespit edildi ($^b p < 0.0001$).



Şekil 4.1: Deney ve kontrol grubu sıçanların serum üre miktarları.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

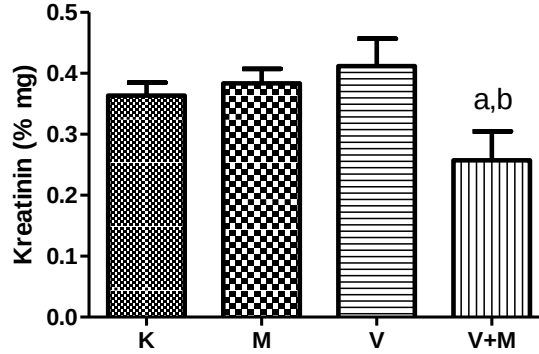
$^a p < 0.05$ kontrol grubuna göre.

$^b p < 0.0001$ valproat grubuna göre.

$^c p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların serum kreatinin değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.0002$). Şekil 4.2'de görüldüğü gibi, kontrol ve valproat verilen sıçanların serum kreatinin miktarları arasında anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Bununla birlikte, V+M uygulanan grupta kreatinin

düzeyi, V grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu saptandı ($^a p < 0.0001$).



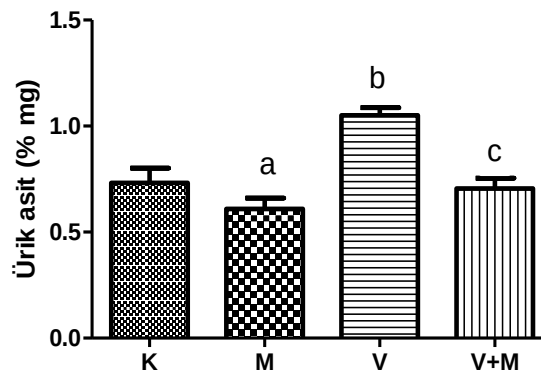
Şekil 4.2: Deney ve kontrol grubu sıçanların serum kreatinin miktarları.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^a p < 0.0001$ valproat grubuna göre.

$^b p < 0.05$ kontrol grubuna göre.

Serum ürik asit miktarı gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında değişikliklerin anlamlı olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Moringa ekstresi uygulanan grubun (M) ürik asit miktarının (Şekil 4.3), kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı ($^a p < 0.001$). Buna karşılık, valproat uygulanan sıçanların serum ürik asit seviyesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış olduğu saptanırken ($^b p < 0.0001$), V+M grubunun serum ürik asit miktarının valproat uygulanan gruba göre anlamlı olarak azaldığı saptandı ($^c p < 0.0001$).



Şekil 4.3: Deney ve kontrol grubu sıçanların serum ürik asit miktarları.

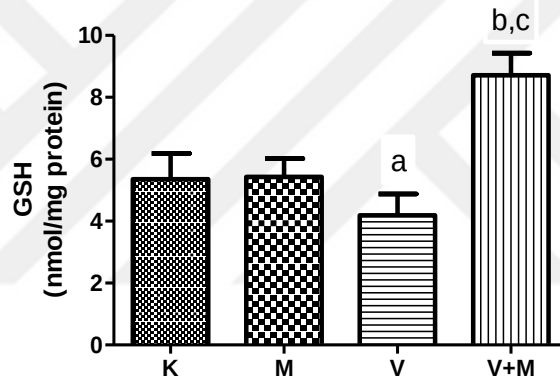
K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^a p < 0.001$ kontrol grubuna göre;

^bp < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^cp < 0.0001 valproat grubuna göre.

Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer ve böbrek dokularının GSH seviyeleri sırasıyla Şekil 4.4 ve 4.5'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bütün grupların GSH değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Akciğer dokusunda, valproat uygulanan grubun GSH seviyesinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı saptandı (^ap < 0.05). Buna karşılık, V+M grubunun GSH düzeylerinin V grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulundu (^bp < 0.0001) (Şekil 4.4). Böbrek dokusunun GSH düzeyleri K grubu ile M grubu birbirleri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi. V+M grubunun GSH düzeyinin, V grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulundu (^ap < 0.0001) (Şekil 4.5).



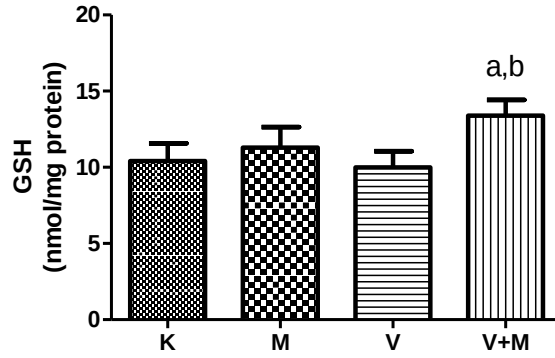
Şekil 4.4: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer GSH değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.05 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 valproat grubuna göre.

^cp < 0.0001 kontrol grubuna göre.



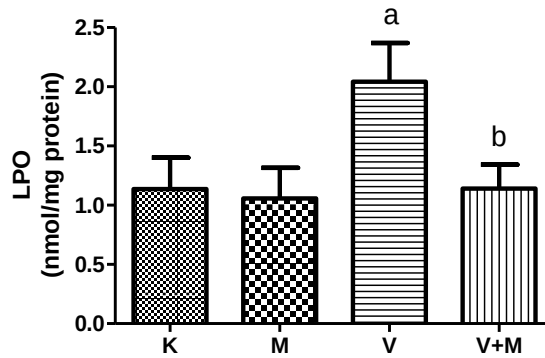
Şekil 4.5: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek GSH değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.0001 valproat grubuna göre.

^bp < 0.001 kontrol grubuna göre.

Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer ve böbrek dokularının LPO seviyeleri sırasıyla Şekil 4.6 ve 4.7'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek LPO değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Şekil 4.6'de V grubunun akciğer LPO düzeyinin, K grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttığı saptandı (^ap < 0.0001). Valproat grubu ile V+M grubu birbiri ile karşılaştırıldığında akciğer LPO düzeyleri anlamlı olarak azaldı (^bp < 0.0001) (Şekil 4.6). Moringa grubunun böbrek dokusundaki (Şekil 4.7) LPO düzeyi ile V grubunun LPO düzeyi, K grubu ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir farklılık görülmedi. V+M grubunun LPO düzeyi V grubuna göre anlamlı olarak azaldı (^ap < 0.0001).

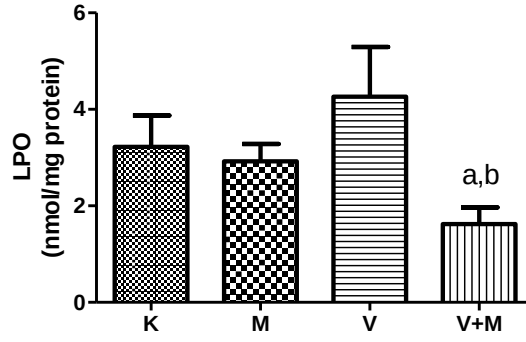


Şekil 4.6: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer LPO değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 valproat grubuna göre.



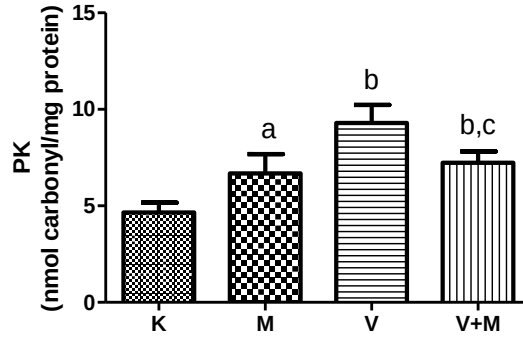
Şekil 4.7: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek LPO değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.0001 valproat grubuna göre.

^bp < 0.001 kontrol grubuna göre.

Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer ve böbrek protein karbonil (PK) düzeyleri sırasıyla Şekil 4.8 ve 4.9'da verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek PK değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Deney hayvanlarının akciğer dokusundaki PK düzeylerinin M ve V uygulanması ile anlamlı olarak arttığı bulundu ($^a p < 0.001$; $^b p < 0.0001$). V ve V+M grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında V+M grubunda anlamlı bir azalma olduğu saptandı ($^c p < 0.0001$) (Şekil 4.8). Böbrek dokusunda PK düzeyleri V grubu ile K grubu arasında karşılaştırıldığında, V grubunda anlamlı bir artış olduğu saptandı ($^a p < 0.001$). Diğer taraftan V grubu V+M grubu birbiri ile karşılaştırıldığında, Moringa ekstresinin uygulanması ile V+M grubunun PK düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu saptandı ($^b p < 0.0001$) (Şekil 4.9).



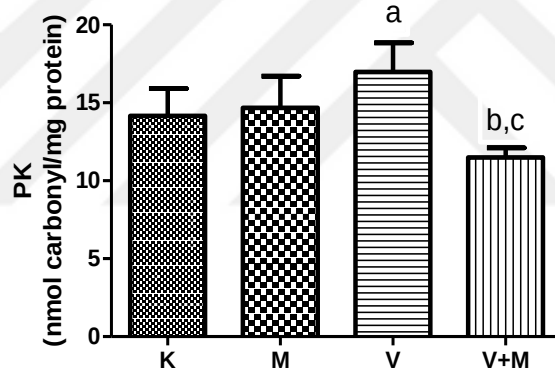
Şekil 4.8: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer PK değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^cp < 0.0001 valproat grubuna göre.



Şekil 4.9: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek PK değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

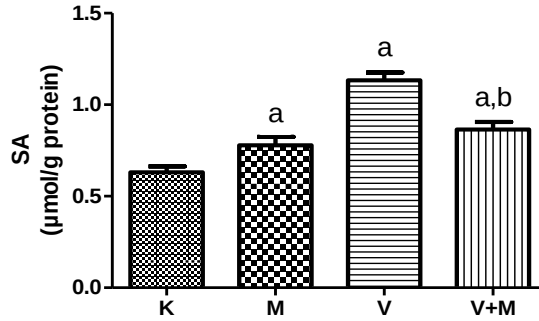
^ap < 0.001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 valproat grubuna göre.

^cp < 0.05 kontrol grubuna göre.

Akciğer ve böbrek dokularındaki siyalik asit (SA) düzeyleri sırasıyla Şekil 4.10 ve 4.11'de verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların SA değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Şekil 4.10'da, akciğer dokusunda SA değerleri V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak arttı (^ap < 0.0001). Bununla birlikte, V+M grubunun akciğer SA düzeyleri V grubuna göre anlamlı olarak azaldı (^bp < 0.0001) (Şekil 4.10). Böbrek dokusunda SA seviyelerinin V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptandı (^ap < 0.0001). V+M grubu V grubu ile

karşılaştırıldığında V+M grubunun SA değerlerinde anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ($^b p < 0.0001$) (Şekil 4.11).

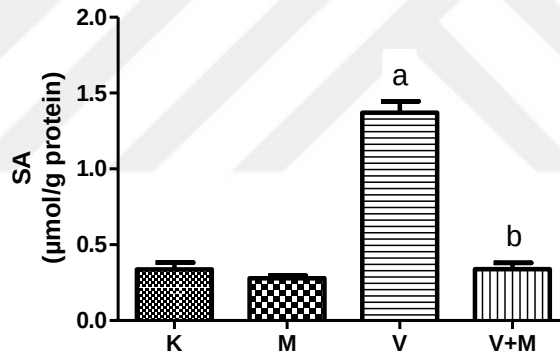


Şekil 4.10: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer SA değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^a p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

$^b p < 0.0001$ valproat grubuna göre.



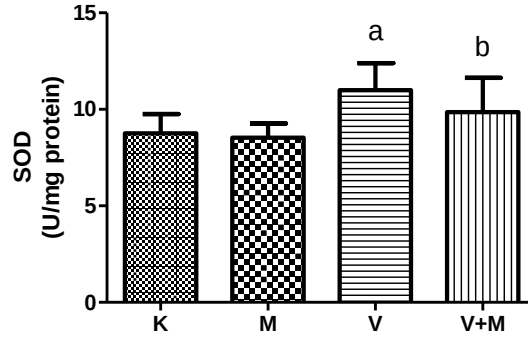
Şekil 4.11: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek SA değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^a p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

$^b p < 0.0001$ valproat grubuna göre.

Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer ve böbrek dokularının SOD aktiviteleri sırasıyla Şekil 4.12 ve 4.13'te verilmiştir. Elde edilen verilere göre bütün grupların akciğer ve böbrek SOD aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı idi ($P_{ANOVA} = 0.05$; $P_{ANOVA} = 0.0001$). Hem akciğer hem de böbrek doku homojenatlarında SOD aktivitesi V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($^a p < 0.001$). Moringa ekstresinin verildiği V+M grubunun SOD aktivite değerleri V grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edildi ($^b p < 0.001$; $^b p < 0.0001$) (Şekil 4.12 ve Şekil 4.13).

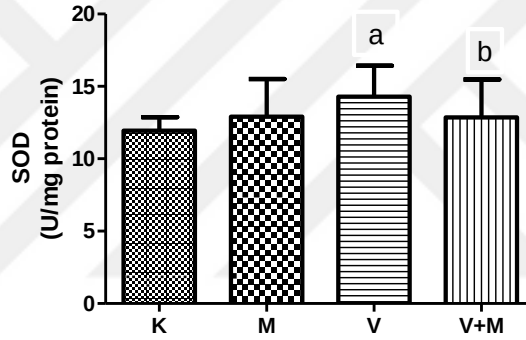


Şekil 4.12: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer SOD aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.001 valproat grubuna göre.



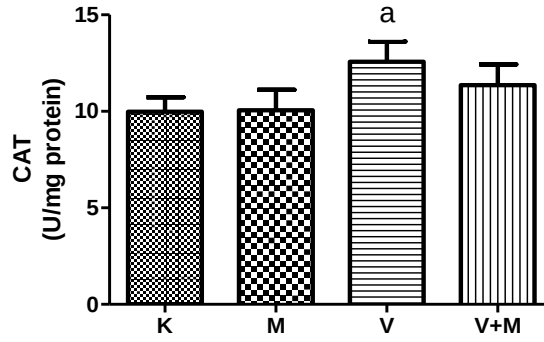
Şekil 4.13: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek SOD aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 valproat grubuna göre.

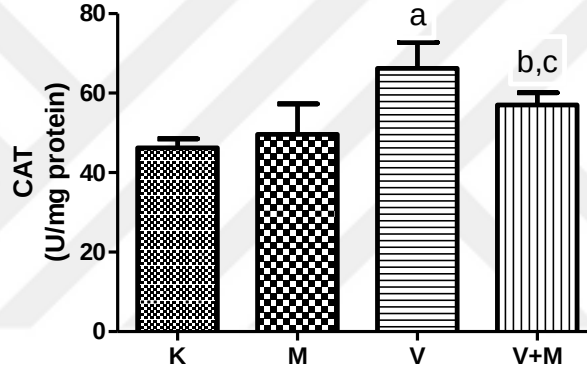
Tüm grupların akciğer ve böbrek dokularının CAT aktiviteleri sırasıyla Şekil 4.14 ve 4.15'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek CAT aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar tespit edildi ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Akciğer ve böbrek dokularında CAT aktivitesinin V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptandı (^ap < 0.001). Her iki dokudaki CAT aktivitesinin V grubundaki artış V+M grubu ile karşılaştırılması sonucunda moringa uygulanmasının böbrek dokusunda azalmaya neden olurken (^bp < 0.05), akciğer dokusunda meydana gelen değişimin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15).



Şekil 4.14: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer CAT aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.001 kontrol grubuna göre.



Şekil 4.15: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek CAT aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

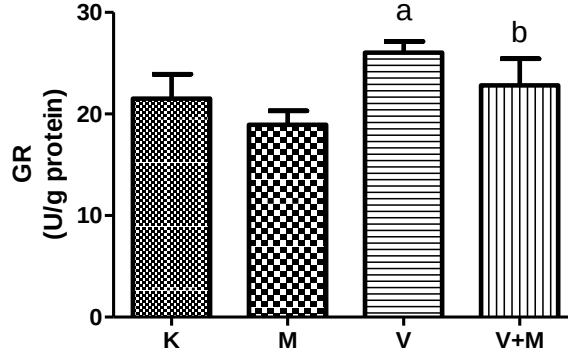
^ap < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.05 valproat grubuna göre.

^cp < 0.05 kontrol grubuna göre.

Akciğer ve böbrek dokularının GR aktivitesi Şekil 4.16 ve 4.17'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların GR değerleri her iki doku içinde geçerli olmak kaydı ile birbirleriyle karşılaştırıldığında farklılıkların anlamlı olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Akciğer dokusunda K grubuna göre, M grubunda meydana gelen GR aktivitesindeki azalmanın anlamlı olmadığı saptandı ($p > 0.05$). M grubunun böbrek homojenatlarındaki GR aktivitesi, K grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde azaldığı ($^a p < 0.05$) tespit edilmiştir (Şekil 4.16). Bununla birlikte, GR aktivitesi, V grubu, K grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hem akciğer hem de böbrek dokularında ($^a p < 0.001$; $^b p < 0.001$) önemli oranda artmıştır (Şekil 4.16 ve Şekil 4.17). V+M grubunun akciğer ve böbrek dokularındaki GR aktivitesi, V grubu ile

karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı saptandı (^bp < 0.05; ^cp < 0.0001) (Şekil 4.16 ve Şekil 4.17).

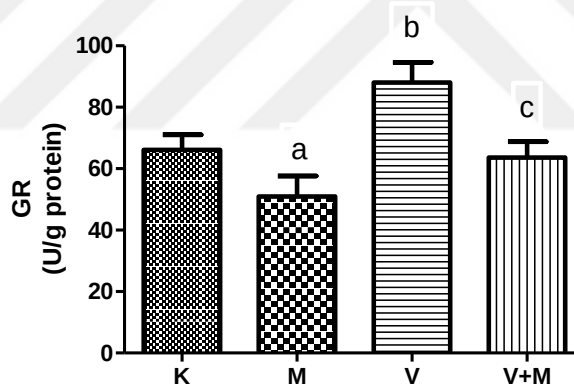


Şekil 4.16: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğerlerin GR aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.05 valproat grubuna göre.



Şekil 4.17: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek GR aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

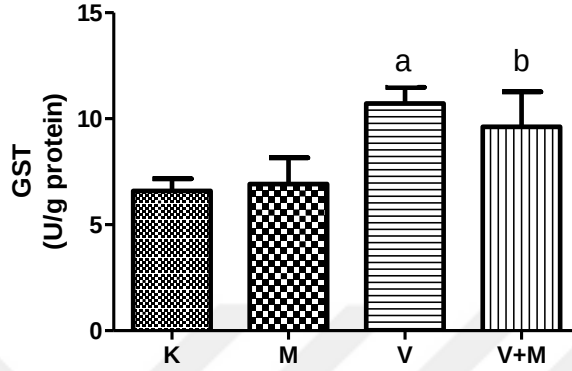
^ap < 0.05 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.001 kontrol grubuna göre.

^cp < 0.0001 valproat grubuna göre.

Akciğer ve böbrek dokularındaki tüm grupların GST aktiviteleri sırasıyla Şekil 4.18 ve 4.19'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek GST değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı olarak bulundu ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Hem akciğer hem de böbrek dokularında GST aktivitesi K ve M grubu arasındaki karşılaştırmada anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). Aksine, her iki dokuda da K grubuna

göre, V grubunda enzimin aktivitesinde anlamlı artış saptandı ($^ap < 0.0001$) (Şekil 4.18 ve Şekil 4.19). Akciğer dokusunda V+M grubunun GST aktivitesinde V grubuna göre anlamlı bir değişim gözlenmedi (Şekil 4.18). Ancak böbrek dokusunda anlamlı bir azalma olduğu saptandı ($^bp < 0.001$) (Şekil 4.19).

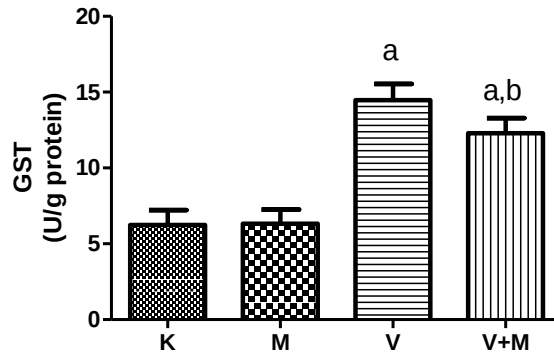


Şekil 4.18: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğerlerinin GST aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^ap < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

$^bp < 0.001$ kontrol grubuna göre.



Şekil 4.19: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek GST aktivite değerleri.

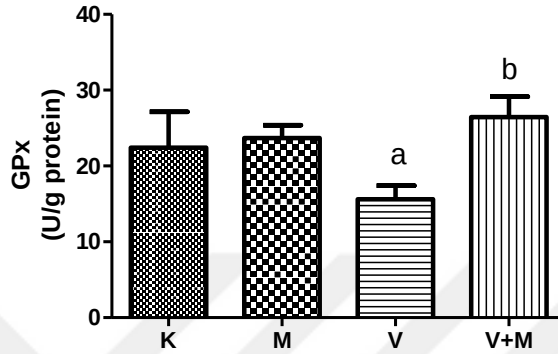
K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^ap < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

$^bp < 0.001$ valproat grubuna göre.

Akciğer ve böbrek dokularının GPx aktiviteleri sırasıyla Şekil 4.20 ve 4.21'de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre akciğer ve böbrek dokularındaki tüm grupların GPx değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında farklılıkların anlamlı olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.0001$). GPx aktiviteleri her iki doku için K ve M grupları birbirleri ile

karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan bir farklılık göstermediği bulundu ($p > 0.05$). V grubu K grubuyla karşılaştırıldığında her iki dokuda GPx aktivitesindeki azalmanın önemli ölçüde olduğu saptandı ($^a p < 0.001$). V+M grubunun hem akciğer hem de böbrek dokularındaki GPx aktivitesindeki artışın V grubuna göre anlamlı olduğu bulundu ($^b p < 0.0001$) (Şekil 4.20 ve Şekil 4.21).

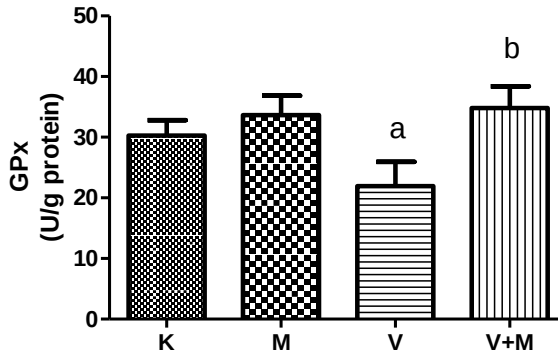


Şekil 4.20: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer GPx aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^a $p < 0.001$ kontrol grubuna göre.

^b $p < 0.0001$ valproat grubuna göre.



Şekil 4.21: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek GPx aktivite değerleri.

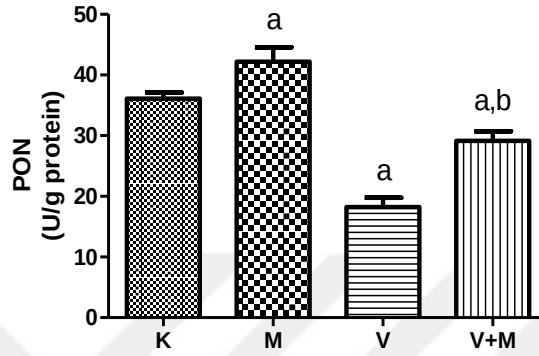
K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^a $p < 0.001$ kontrol grubuna göre.

^b $p < 0.0001$ valproat grubuna göre.

Şekil 4.22 ve 4.23'te sırasıyla akciğer ve böbrek dokusunun PON aktivitesi verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek PON aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.0001$). M grubunun PON aktivitesi, K grubu ile karşılaştırıldığında akciğer dokusunda anlamlı bir artış

saptanırken ($^a p < 0.0001$), böbrek dokusunda anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Şekil 4.22 ve Şekil 4.23). V grubunun hem akciğer hem de böbrek dokusundaki PON aktivitesi, K grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde azaldığı bulundu ($^a p < 0.0001$; $^a p < 0.001$). V+M grubunun enzim aktivitesi, V grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı ($^b p < 0.0001$) (Şekil 4.22 ve Şekil 4.23).

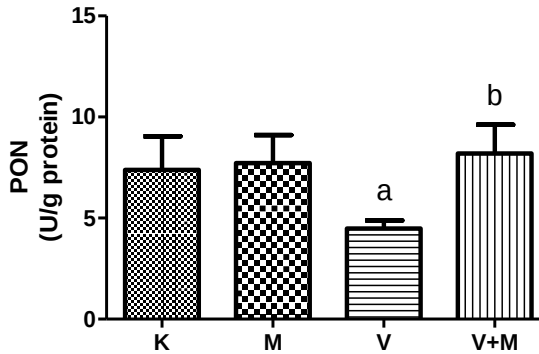


Şekil 4.22: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer PON aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^a p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

$^b p < 0.0001$ valproat grubuna göre.



Şekil 4.23: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek PON aktivite değerleri.

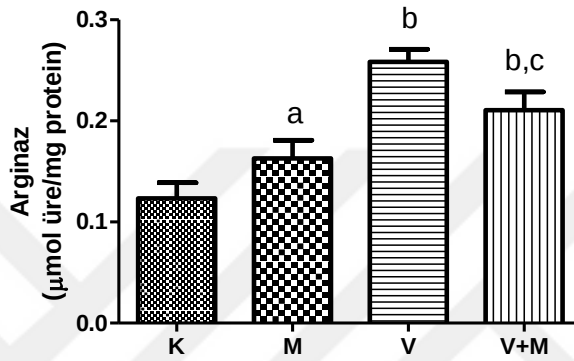
K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^a p < 0.001$ kontrol grubuna göre.

$^b p < 0.0001$ valproat grubuna göre.

Akciğer ve böbrek dokularının arginaz aktiviteleri sırasıyla Şekil 4.24 ve 4.25'te gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek arginaz değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.0001$). M ve K grupları birbirleri ile karşılaştırılması sonucunda Moringa verilmesinin akciğer

dokusunda anlamlı bir yükselmeye neden olduğu ($^a p < 0.001$), böbrek arginaz aktivitelerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.24 ve Şekil 4.25). Her iki doku örneklerinde V grubu ile K grubunun karşılaştırılmasında arginaz aktivitesinin anlamlı olarak arttığı saptandı ($^b p < 0.0001$; $^a p < 0.0001$) (Şekil 4.24 ve Şekil 4.25). V grubunun V+M grubu ile karşılaştırılması sonucunda hem akciğer hem de böbrek doku homojenatlarında arginaz aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı tespit edildi ($^c p < 0.0001$; $^b p < 0.0001$) (Şekil 4.24 ve Şekil 4.25).



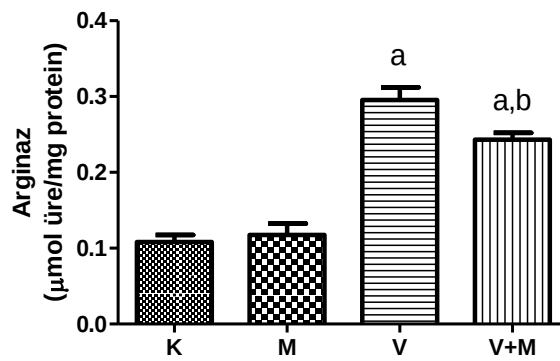
Şekil 4.24: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer arginaz aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^a p < 0.001$ kontrol grubuna göre.

$^b p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

$^c p < 0.0001$ valproat grubuna göre.



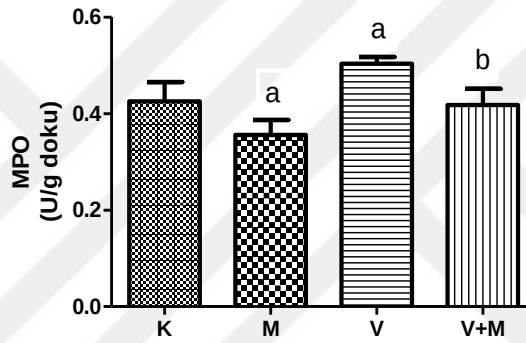
Şekil 4.25: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek arginaz aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^a p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

$^b p < 0.0001$ valproat grubuna göre.

Kontrol ve deney hayvanlarının akciğer ve böbrek dokularının MPO aktiviteleri sırasıyla Şekil 4.26 ve 4.27'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek MPO aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı idi ($P_{ANOVA} = 0.0001$; $P_{ANOVA} = 0.001$). MPO aktivitesinin, K ve M grupları arasında karşılaştırılması sonucunda, M grubunda akciğer dokusunda anlamlı bir azalma meydana gelirken ($^a p < 0.001$), böbrek dokusunda bir değişimin olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.26 ve Şekil 4.27). Her iki doku örneğinde de MPO aktivitesi V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak arttığı ($^a p < 0.001$; $^a p < 0.0001$) saptanmıştır. Aynı şekilde V ve V+M gruplarının her iki dokunun kıyaslanması sonucunda V+M grubunun MPO aktivitesinin V grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı ($^b p < 0.0001$; $^b p < 0.001$) (Şekil 4.26 ve Şekil 4.27).

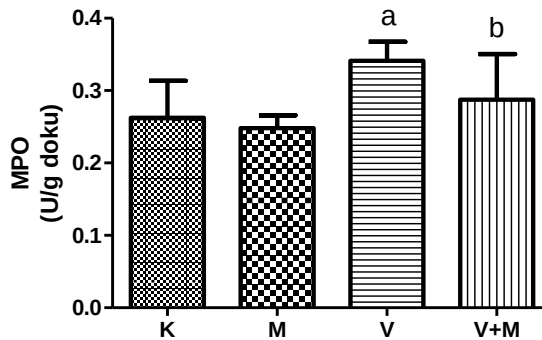


Şekil 4.26: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer MPO aktivite değerleri.

C: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^a $p < 0.001$ kontrol grubuna göre.

^b $p < 0.0001$ valproat grubuna göre.



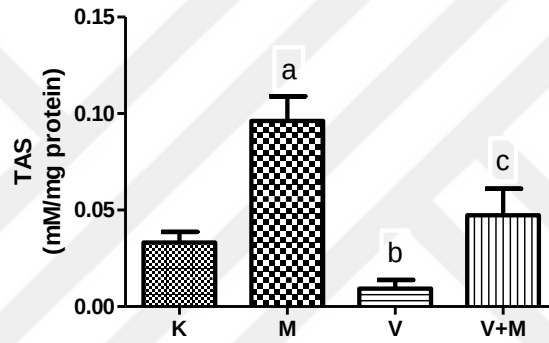
Şekil 4.27: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek MPO aktivite değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^a $p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

^b $p < 0.001$ valproat grubuna göre.

Kontrol ve deney hayvanlarının akciğer ve böbrek dokularının toplam antioksidan durumları (TAS) sırasıyla Şekil 4.28 ve 4.29'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek TAS değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı idi ($P_{ANOVA} = 0.0001$). M grubunun TAS seviyesi akciğer dokusunda K grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artışa ($^a p < 0.0001$) neden olurken, böbrek dokusunda anlamlı bir değişimin olmadığı saptandı (Şekil 4.28 ve Şekil 4.29). Her iki dokunun V grubu ile K grubunun karşılaştırılması sonucunda TAS seviyesindeki azalmanın anlamlı olduğu bulundu ($^b p < 0.001$; $^a p < 0.0001$) (Şekil 4.28 ve Şekil 4.29). Özellikle, V+M grubunun her iki dokuda TAS seviyesi V grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($^c p < 0.0001$; $^b p < 0.0001$) (Şekil 4.28 ve Şekil 4.29).



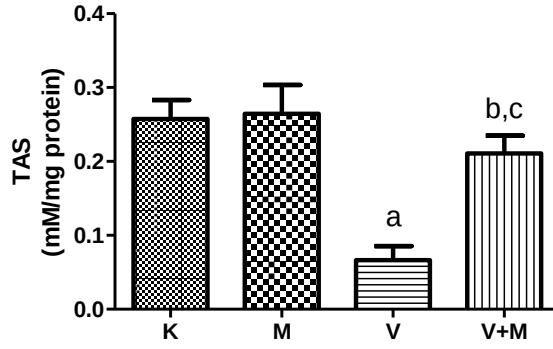
Şekil 4.28: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer TAS değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

$^a p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

$^b p < 0.001$ kontrol grubuna göre.

$^c p < 0.0001$ valproat grubuna göre.



Şekil 4.29: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek TAS değerleri.

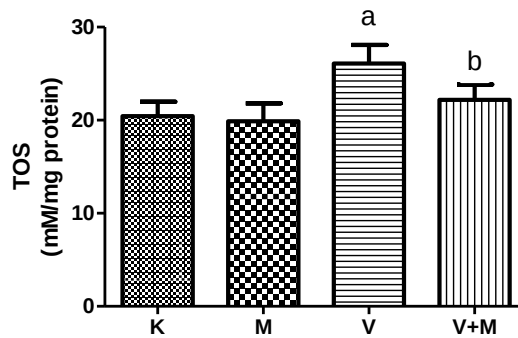
K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 valproat grubuna göre.

^cp < 0.05 kontrol grubuna göre.

Kontrol ve deney gruplarına ait akciğer ve böbrek dokularının toplam oksidan (TOS) miktarı sırasıyla Şekil 4.30 ve 4.31'de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek TOS değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Akciğer ve böbrek dokularının her ikisinde de TOS seviyesi V grubunda, K grubu ile karşılaştırıldığında artışın anlamlı olduğu tespit edildi (^ap < 0.0001; ^ap < 0.05) (Şekil 4.30 ve Şekil 4.31). Buna karşılık V+M grubunun TOS seviyesi V grubu ile karşılaştırıldığında her iki dokuda da azalma olduğu saptandı (^bp < 0.001; ^bp < 0.05) (Şekil 4.30 ve Şekil 4.31).

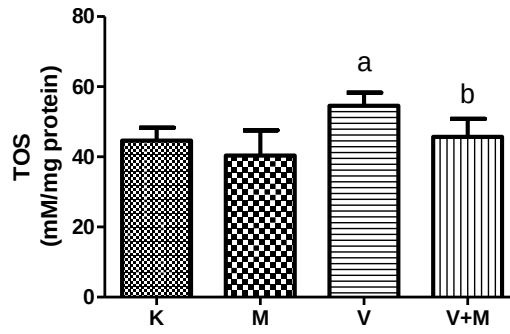


Şekil 4.30: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer TOS değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.001 valproat grubuna göre.



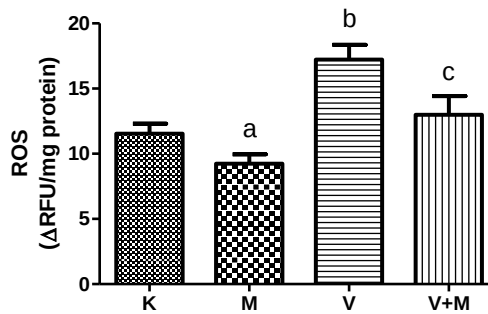
Şekil 4.31: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek TOS değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.05 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.05 valproat grubuna göre.

Kontrol ve deney gruplarının akciğer ve böbrek homojenatlarındaki reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesi sırasıyla Şekil 4.32 ve 4.33'te sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek ROS değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.0001$). K grubu ile M grubu her iki doku örneklerinde birbirleri ile karşılaştırıldığında ROS değerlerinin M grubunda K grubuna göre daha düşük olduğu saptandı (^ap < 0.05; ^ap < 0.0001). Ancak K ve V grubu birbirleri ile karşılaştırıldığında durumun tersinin yani V grubunun ROS değerlerinin anlamlı olarak artmış olduğu saptandı (^bp < 0.0001; ^bp < 0.001) (Şekil 4.32 ve Şekil 4.33). V+M grubundaki ROS değerleri her iki dokuda da V grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır (^cp < 0.0001) (Şekil 4.32 ve Şekil 4.33).



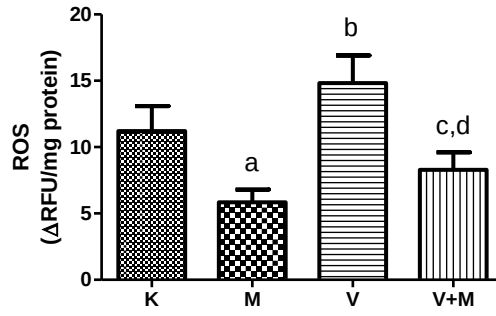
Şekil 4.32: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer ROS değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.05 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^cp < 0.0001 valproat grubuna göre.



Şekil 4.33: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek ROS değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

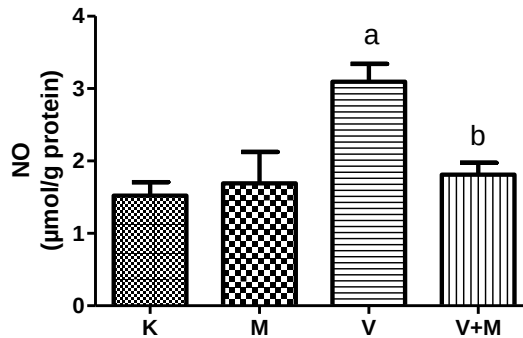
^ap < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.001 kontrol grubuna göre.

^cp < 0.0001 valproat grubuna göre.

^dp < 0.05 kontrol grubuna göre.

Kontrol ve deney grubu sıçanların Şekil 4.34 ve 4.35'te sırasıyla akciğer ve böbrek NO seviyeleri verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek NO seviyeleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0001$). V grubunun NO düzeyleri her iki doku için de geçerli olmak kaydı ile K grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir yükselme olduğu saptandı (^ap < 0.0001) (Şekil 4.34 ve Şekil 4.35). V+M grubunun NO seviyeleri hem akciğer hem de böbrek doku örneklerinde V grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır (^bp < 0.0001; ^bp < 0.05) (Şekil 4.34 ve Şekil 4.35).

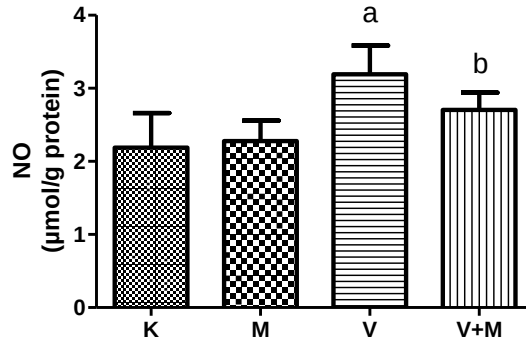


Şekil 4.34: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer NO değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 valproat grubuna göre.



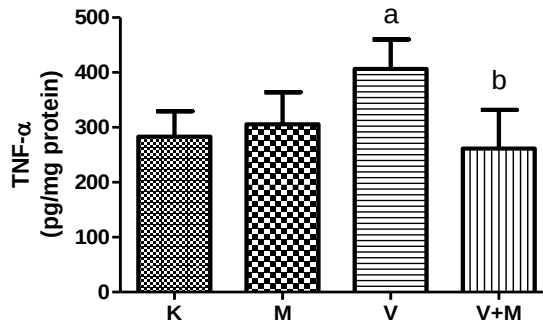
Şekil 4.35: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek NO değerleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.05 valproat grubuna göre.

Kontrol ve deney hayvanlarının akciğer ve böbrek TNF- α seviyeleri sırasıyla Şekil 4.36 ve 4.37'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek TNF- α değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.001$; $P_{ANOVA} = 0.0001$). TNF- α değerleri her iki doku içinde geçerli olmak üzere V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak artarken (^ap < 0.001; ^ap < 0.0001), K ve M gruplarının karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Şekil 4.36 ve Şekil 4.37). V+M grubundaki TNF- α seviyeleri, V grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı hem akciğer hem de böbrek dokularında saptanmıştır (^bp < 0.0001) (Şekil 4.36 ve Şekil 4.37).

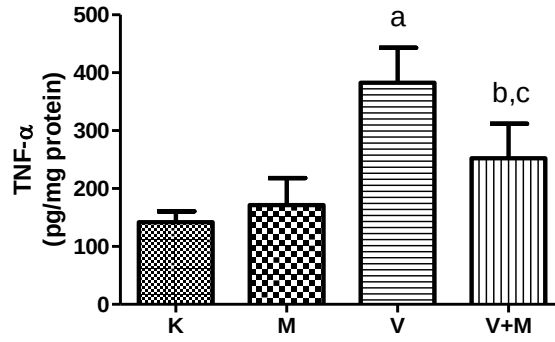


Şekil 4.36: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğer TNF- α düzeyleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 valproat grubuna göre.



Şekil 4.37: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek TNF- α düzeyleri.

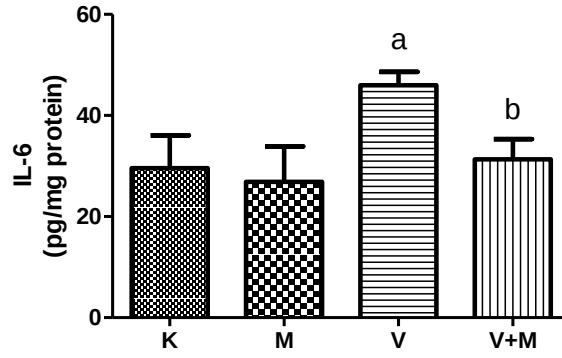
K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^ap < 0.0001 kontrol grubuna göre.

^bp < 0.0001 valproat grubuna göre.

^cp < 0.001 kontrol grubuna göre.

Kontrol ve deney hayvanlarının akciğer ve böbreklerdeki IL-6 seviyeleri sırasıyla Şekil 4.38 ve 4.39'da verilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların akciğer ve böbrek IL-6 seviyeleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Akciğer dokusunda K grubu ile M grubunun karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4.38). Bununla birlikte, böbrek dokusunda M grubunun IL-6 düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu saptandı (^ap < 0.05) (Şekil 4.39). Diğer yandan her iki dokuda da V grubu ile K grubunun karşılaştırılması sonucunda IL-6 seviyesinin V grubunda anlamlı olarak artmış olduğu bulundu (^ap < 0.0001; ^bp < 0.0001) (Şekil 4.38 ve Şekil 4.39). V ve V+M gruplarının her iki dokuda karşılaştırılması sonucunda Moringa uygulanan valproatlı grubun IL-6 değerinin anlamlı olarak azaldığı saptandı (^bp < 0.0001; ^cp < 0.001) (Şekil 4.38 ve Şekil 4.39).

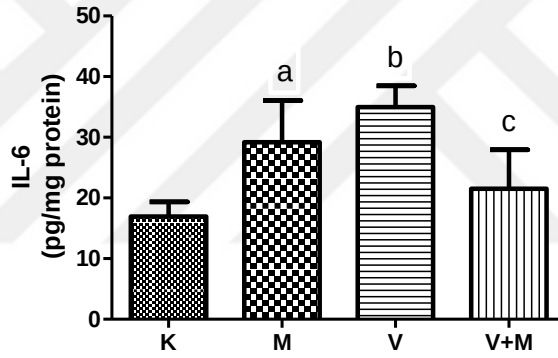


Şekil 4.38: Deney ve kontrol grubu sıçanların akciğerler IL-6 düzeyleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^a $p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

^b $p < 0.0001$ valproat grubuna göre.



Şekil 4.39: Deney ve kontrol grubu sıçanların böbrek IL-6 düzeyleri.

K: Kontrol grubu; M: Moringa grubu; V: Valproat grubu; V+M: Valproat + Moringa grubu.

^a $p < 0.05$ kontrol grubuna göre.

^b $p < 0.0001$ kontrol grubuna göre.

^c $p < 0.001$ valproat grubuna göre.

5. TARTIŞMA

Nörolojik bozukluklar, merkezi sinir sisteminin hastalıklarıdır. Beyin veya sinir dokularının biyokimyasal, elektriksel veya yapısal anormallikleri olarak ortaya çıkarlar. Anormal beyin aktivitesi ile bağlantılı nörolojik bozukluklar arasında epilepsi en yaygın olan hastalıklardan biridir. Hastaların yaklaşık %80'inin düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşayan insanlarda görüldüğü ve dünya çapında bu hastalığın 50 milyon insanı etkilediği tahmin edilmektedir (WHO, 2019). Epilepsi belirtileri arasında bilinç kaybı, geçici kafa karışıklığı ve nöbet, kol ve bacaklarda ani hareketler ve ayrıca psikiyatrik komplikasyonlar sayılabilir. Genetik bozukluklar, beyin tümörü, kafa travması, felç, doğum öncesi ve perinatal komplikasyonlar, önde gelen epilepsi nedenlerindendir. Nöbet önleyici ilaç kullanımına ek olarak, yaşam tarzı değişiklikleri, nörorehabilitasyon, beyin cerrahisi, fizyoterapi ve özel diyet alışkanlıkları epileptik hastaların %70'inden fazlasının nöbetsiz olmasına neden olabilir (WHO, 2019; Zis ve Hadjivassiliou, 2019).

Valproik asit, histon deasetilazı inhibe etme yeteneğine sahiptir. Bu enzimin inhibisyonu, genlerin transkripsiyonu ve translasyonu için temel bir gereklilik olan DNA'nın translasyon sonrası modifikasyonunu önler (Lin ve diğ., 2022). Bu durum normal büyüme ve gelişme için gerekli olan önemli protein moleküllerinin biyosentezinin engellenmesine sebep olmaktadır (Joensuu ve diğ., 2018). Çalışmalar, valproatın histon deasetilaz ve diğer DNA translasyon sonrası ilgili enzimler üzerindeki inhibitör etkisinin otizm (Lin ve diğ., 2022), epigenetik insan hastalığı (Ornoy et al., 2022) ve anksiyete benzeri davranışların (Shafaghi ve diğ., 2022) gelişiminde rol oynadığını göstermiştir. Valproik asit veya valproatın antiepileptik bir ilaç olarak etkinliğine rağmen, metabolitlerinin esansiyel organlar üzerindeki toksisitesinden kaynaklanan yan etkileri ve yukarıda bahsedilen bozukluklar, ilacın güvenli kullanımı konusunda ciddi sorunlar oluşturmaktadır. Valproik asit veya valproatın kullanımı ile insanlarda ciddi yan etkiler meydana gelmektedir.

Son yıllarda bitkiler tıbbi amaçlar için biyoaktif bileşenlerin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Diğer fitokimyasal özelliklere ek olarak, bu bitkiler antioksidan bileşikler için mükemmel kaynaklardır. Moringa, tıbbi olarak vazgeçilmez bu tür bitkilerin tipik bir örneğidir. Yetiştirme kolaylığı (özellikle yoksul endemik topluluklarda) ve çok amaçlı faydalarının yanı

sıra yaprakları fitokimyasal ve farmakolojik özellikler açısından zengindir (Akhtar ve diğ., 2007; Lea, 2010). Çalışmalar, bitki yapraklarının olağanüstü β -karoten, B vitamini, C vitamini, metiyonin ve sistein amino asit kaynakları olduğunu göstermiştir (Makkar ve Becker, 1996; Peter, 2008; Aja ve diğ., 2014). Ayrıca diğer flavonoid bileşiklerin yanı sıra moringa yaprakları yapısında kuersetin, kaempferol, mirisetin, ferulik asit, gallik asit, rutin ve kafeik asit içermektedir (Siddhuraju ve Becker, 2003; Fahey 2005; Anwar ve diğ., 2007; Sultana ve Anwar, 2008). Bitkinin yaygın terapötik faydaları arasında antispazmodik, antimikrobiyal, enflamatuvar, sitotoksik ve yara iyileştirici özellikleri bulunur. Moringa ülserasyonları, kardiyovasküler hastalıkları, gastrointestinal rahatsızlıkları, hepatorenal komplikasyonları ve hematolojik bozuklukları tedavi etmek için kullanılır (Pal ve diğ., 1995; Ruttarattanamongkol ve Petrasch, 2015; Khor ve diğ., 2018; Abdalla ve Mohamed, 2019).

Üre, azot metabolizmasının önemli bir metabolitidir ve memeli hayvanlarda üre döngüsü yoluyla sentezlenen başlıca azotlu bir maddedir (Wang ve diğ., 2014). Kan üre düzeyi (bazen kan üre nitrojeni olarak anılır) böbrek fonksiyonunun önemli bir belirteçidir (Traynor ve diğ., 2006). Çalışmalar, kan üre klirensi ve böbrek fonksiyonunun (glomerüler filtrasyon) ters orantılı olduğunu göstermiştir (Sandilands ve diğ., 2013). Üst sınırların üzerindeki yüksek serum üre seviyeleri, glomerüler fonksiyonun ve böbrek fonksiyonunda genel bir olası hasarın göstergesidir (Eastham, 1957). Kreatinin ayrıca protein metabolizmasının bir yan ürünüdür. Kas proteini kreatin fosfatın parçalanması üzerine üretilir (Allen, 2012). Kreatinin, esas olarak böbreğin glomerüler filtrasyonunun aktiviteleri yoluyla sürekli olarak üretilir ve biyolojik sistemden atılır (Shemesh ve diğ., 1985). Bu nedenle, kusurlu bir böbrek fonksiyonu durumunda, kreatinin serum seviyesi yükselme eğilimlidir. Bu durumda, glomerüler filtrasyon hızı ve böbrek fonksiyonu için önemli bir belirteç olmasını sağlar (Samra ve Abcar, 2012; Lewis ve diğ., 2016). Aktaş ve Bayram (2020) tarafından yapılan çalışmada, 100 mg/kg/gün silmarin'in valproik asidin neden olduğu histolojik hasarları engellediği, bununla beraber hem kreatinin hem de kan üre azotu seviyelerini önemli ölçüde azaltarak böbreğin glomerüler filtrasyon hızını düzelttiğini bildirmişlerdir. Aktaş ve diğ., (2010) deneysel hayvan çalışmalarında valproik asit uygulamasının böbrek dokusunun glomerüler bazal membranında ve filtrasyon prosesinde dejeneratif hasarlara neden olduğunu göstermişlerdir. Valproik asidin (tek doz 400 mg/kg) folik asit (400 mg/kg) veya E vitamini (250 mg/kg) ile birlikte uygulanması, valproik asidin böbreğin ultrastrüktür yapısı üzerindeki olumsuz etkilerini önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Al-Amoudi de önceki çalışmalarda gösterildiği gibi, valproik asidin neden olduğu histolojik bozuklukların rezene yağı ile düzeldiğini göstermiştir (Al-

Amoudi, 2017). Ürik asit insan purin metabolizmasının son ürünüdür. Purin nükleotidlerinden hipoksantin ve ksantin ksantin oksidaz enzimi ile oksidasyonu yolu ile sentezlenir (Hille, 2005). Ürik asit atılımı çoğunlukla idrar yoluyla gerçekleşir. Ürik asidin yüksek çözünürlüğü nedeniyle, biyolojik sistemden kolaylıkla uzaklaştırılır. Bozulmuş böbrek fonksiyonu altında, ürik asit serumda birikerek hiperürisemiye yol açabilir (Vitart ve diğ., 2008) ve ayrıca hastayı gut (Heinig ve Johnson, 2006), tip 2 diyabet (Dehghan ve diğ., 2008) ve kardiyovasküler hastalıklara (Borghi ve diğ., 2014) yatkın hale getirebilir. Bu çalışmada, valproat grubunun üre ve ürik asit seviyeleri, kontrol grubu hayvanların değerleri ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde yükseldiği saptanmıştır. Bununla birlikte, kreatinin düzeyi valproat uygulamasından önemli ölçüde etkilenmedi. Al-Amoudi (2017)'nin çalışmasında, deney hayvanlarına valproik asit verilmesinin serum kreatinin ve üre seviyelerini önemli derecede yükselttiği bildirilmiştir. Benzer şekilde Gezgin-Oktayoglu ve diğ. (2015)'leri, valproik asit ile tedavi edilen hayvanların hem üre hem de kreatinin düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada gözlemlenen serum kreatinin düzeyindeki önemsiz değişikliğe rağmen, üre ve ürik asit sonuçları, valproik asit uygulaması ile böbrek fonksiyonunun bozulduğunu bize göstermektedir. Valproik asit ve moringa verilen sıçanların, hem üre hem de ürik asit düzeylerinin normal seviyelerine geri döndüğü ve serum kreatinin seviyelerini düşürdüğü saptanmıştır. Bu etkiler, moringa yapraklarının yapısında antioksidan maddelerin bulunmasına ve bu maddelerin biyoaktif ve fitokimyasal özellikler içermesine bağlanabilir.

GSH, biyokimyasal öneme sahip, hayvan hücrelerinin ve diğer ökaryotların sitozol ve organellerinde bol miktarda bulunan küçük bir tiyol tripeptit molekülüdür (Wu ve diğ., 2004b). GSH, hidrojen atomunu vererek ROS oluşumunu veya birikimini önleyen önemli bir antioksidan moleküldür (Shen ve diğ., 2005; Shang ve diğ., 2016). Ayrıca lipid peroksidasyonunu ve lipid peroksit oluşumunu durdurarak lipidler gibi önemli biyomoleküllerin yıkımını da engeller (Pompella ve diğ., 2003). GSH'nin antioksidan sistemdeki biyolojik önemi nedeniyle, GSH'nin (indirgenmiş glutatyon) GSSG'ye (okside glutatyon) oranı oksidatif stresin önemli bir biyolojik belirteci olmaya devam etmektedir (Pastore ve diğ., 2001; Lu, 2013). Sağlıklı hücrelerde/dokularda oluşan glutatyon havuzunun büyük çoğunluğu indirgenmiş formda saklandığından, düşük GSH/GSSG oranı, artan oksidatif stres seviyesinin bir göstergesidir (Halprin ve Ohkawara, 1967). Bayrak ve diğ. (2021)'leri, valproik asit uygulamasının sıçan akciğer dokularında GSH seviyelerinde önemli bir düşüşe yol açtığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen veriler de bu mevcut çalışmanın sonucu ile

uyumludur. Emekli-Alturfan ve diğ. (2015)'leri valproik asit uygulamasının kalp dokusunun GSH düzeyi üzerinde bir etkisi olmadığını ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde, çalışmamızda da valproat verilen grupta böbrek dokusunda GSH düzeylerinin önemli ölçüde etkilemediği tespit edilmiştir. Gezginci-Oktayoglu ve diğ. (2015)'leri, valproik asit verilen sıçanların böbreklerindeki GSH seviyesinin, kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığını bulmuşlardır. Valproatın doku ve hücrelerde GSH düzeyinin azalmasına neden olarak oksidatif stresi arttırdığını bildiren araştırmacılar da bulunmaktadır (Raza ve diğ., 1997; Sokmen ve diğ., 2012; Tunali ve diğ., 2015; Cakmak ve Yanardag 2015; Oktay ve diğ., 2015; Ustundag ve diğ., 2016; Najafi ve diğ., 2017; Oktay ve diğ., 2017; Yadav ve diğ., 2017; Turkyilmaz ve diğ., 2020; Turkyilmaz ve diğ., 2021). Buna karşılık, bazı çalışmalarda kontrol grubuna kıyasla valproik asit uygulanan hayvanların testis (Celik ve diğ., 2022) ve beyin dokusunda (Tunali ve diğ., 2020) GSH düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir. Endojen/hücrel GSH seviyesinin korunması, tüketilen eksojen antioksidan moleküller (C vitamini, E vitamini, A vitamini, flavonoidler, fenoller ve diğer bitki bazlı antioksidan kaynakları gibi) ile sıkı bir şekilde ilişkilidir. Bu eksojen antioksidan moleküller, yüksek hücrel GSH seviyesinin korunmasına yardımcı olmaktadır (Hughes, 1964; Scholz ve diğ., 1989; Dringen, 2000). Bu çalışmada, valproat ve moringa ekstresi verilen hayvanların, hem böbrek hem de akciğer dokularında GSH seviyelerinde önemli bir artış meydana geldi. Yapılan çalışmalarda, antioksidan aktiviteye sahip moleküllerin/maddelerin uygulanmasının, toksik maddelerin neden olduğu oksidatif stres sırasında GSH seviyesini eski haline getirebileceğini göstermiştir. Bu olumlu etkiye sahip olduğu gösterilen maddeler arasında tiyol indirgeyici olarak C ve E vitamini (Malle ve diğ., 1996; Adikwu ve Deo, 2013), B₆ vitamini (Turkyilmaz ve diğ., 2021), U vitamini (Sokmen ve diğ., 2012; Tunali ve diğ., 2015; Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2015), alfa-lipoik asit (Turkyilmaz ve diğ., 2020), alfa-linolenik asit ve gama-linolenik asit (Yadav ve diğ., 2017), edaravon (Cakmak ve Yanardag, 2015; Oktay ve diğ., 2015; Oktay ve diğ., 2017; Bayrak ve diğ., 2021), N-asetilsistein ve ditiyoeritrol (Najafi ve diğ., 2017), silmarin (Song ve diğ., 2006; Singh ve diğ., 2014), *M. oleifera*'nın çiçek ve yaprak ekstreleri (Fakurazi ve diğ., 2012; Singh ve diğ., 2014), pazı ekstresi (Ustundag ve diğ., 2016; Tunali ve diğ., 2020) vb. ile yapılan çalışmalar mevcuttur. Moringa yaprağının, antioksidan aktiviteleri olan diğer fitokimyasallar arasında zengin bir beta karoten, B vitamini, C vitamini, metiyonin, sistin, çeşitli miktarda esansiyel lipidler ve flavonoid kaynağı olduğu bilinmektedir (Makkar ve Becker, 1996; Siddhuraju ve Becker, 2003; Fahey 2005; Anwar ve diğ., 2007; Peter, 2008; Sultana ve Anwar, 2008; Aja ve diğ., 2014). Valproik asit uygulanan hayvanlara silmarin verilmesi ile bu olumlu

değişiklerin yanında glutatyon seviyelerini normal düzeye döndürdüğü reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonunu azalttığıda çalışmalarda gösterilmiştir (Aktaş ve Bayram, 2020). Çalışmamızda, moringa bitkisinin %70'lik etanollü ekstresinin, valproatın neden olduğu oksidatif strese karşı koruma sağladığı ve valproat uygulanan sıçanların hem akciğer hem de böbrek dokularında GSH seviyesini arttırdığı bulunmuştur. Moringa'nın yapısındaki çeşitli antioksidan maddelerin GSH'nun miktarının artmasına neden olduğu görülmektedir. GSH'un miktarının artması toksik metabolitlerin detoksifikasyonunda rolü olan ROS birikimini azalttığı öne sürülebilir.

Lipit peroksidasyonu (LPO), serbest radikallerin veya ROS'un çoklu doymamış yağ asitlerinden elektronları (hidrojen atomları) soyutladığı bir işlemdir. Bu, son ürünler olarak malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal gibi reaktif lipit peroksitlerin oluşumu yoluyla hücre zarının lipit bileşenlerini ve diğer biyolojik bileşenleri yok edebilen bir zincirleme reaksiyona yol açar (Huang ve diğ., 2002; Davey ve diğ., 2005). Lipit peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA, oksidatif stresin önemli bir belirtecidir. Oksidatif stres nedeniyle meydana gelen LPO'nun yoğunluğu hakkında bilgi verir (Davey ve diğ., 2005; Del Rio ve diğ., 2005). GSH azalmasına ek olarak, yüksek LPO'nun valproik asit kaynaklı toksisitenin başlıca mekanizmaları arasında olduğu bildirilmektedir (Raza ve diğ., 1997). Azalan biyolojik GSH seviyeleri ve diğer antioksidanlar, LPO'nun ilerlemesini desteklemektedir (Huang ve diğ., 2002; Hill ve diğ., 2012). Bu nedenle, GSH ve LPO seviyeleri ters orantılıdır. Valproat grubuna moringa verilmesi, GSH seviyelerini eski düzeylerine getirirken, LPO seviyesinin azaldığını bize göstermektedir. Bayrak ve diğ. (2021)'leri çalışmalarında, edaravonun antioksidan aktivitesi nedeniyle, valproik asit uygulanan Sprague-Dawley sıçanların akciğer dokusunda hem GSH hem de LPO seviyelerini düzelttiğini bildirmişlerdir. Fakurazi ve diğ. (2012)'leri asetaminofenon kaynaklı toksisitenin bir sonucu olarak ortaya çıkan yüksek LPO seviyelerinin, antioksidan yapıları aracılığıyla *M. oleifera* yapraklarının veya çiçeğinin %80 etanollü ekstresinin LPO değerini önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir. Benzer şekilde, Singh ve diğ. (2014)'leri, karbon tetraklorür ile oluşturulan karaciğer toksisitesinde deney farelerinde LPO seviyesinin artmasının *M. oleifera* yaprak ekstresi ile önemli ölçüde önlendiğini bildirmiştir. *Nigella sativa*'nın yağ ekstresi ve bitki tohumu yağının ana biyoaktif bileşeni (yani timokinon) valproatın böbrek üzerindeki toksik etkisini azalttığı gösterilmiştir. Elde edilen bulgular, *Nigella sativa* tohumu yağı ve timokinonun böbrekte histolojik dejenerasyon oluşumunu önlediğini, lipit peroksidasyonunu ve nitrik oksit seviyelerini dengelediğini, daha yüksek GSH seviyelerini geri kazandığını ve valproat ile tedavi edilen deney hayvanlarında

normal antioksidan enzim aktivitelerini koruduğu çeşitli araştırmacılar tarafından literatürde gösterilmiştir (Morsy ve diğ., 2017; Al-Brakati ve Al omairi, 2019). Jassim, (2013) ve Amrani ve diğ., (2016) tarafından benzer deneysel hayvan çalışmaları sırasıyla *Petroselinum crispum* ve *Chrysanthemum fontanesii* ekstrelerinin valproik asidin neden olduğu böbrek hasarlarını azaltabileceği literatürde verilmiştir. Bu ekstreler ile valproik asit birlikte uygulandığında, böbrek dokusunda histolojik dejenerasyonu hafiflettiğini, lipit peroksidasyonu azalttığını, glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitelerini ve daha yüksek GSH seviyelerini geri kazandırdığını ileri sürmüşlerdir.

Protein karbonilasyonu, proteinin belirli amino asit yan zincirlerinin ya karbon monoksit eklenmesi yoluyla karbonatlandığı ya da doğrudan ilgili reaktif aldehitlerine, ketonlarına veya esterlerine oksitlendiği bir işlemdir. İşlem, ROS tarafından teşvik edilirken, oluşan ürünlere protein karbonil (PK) adı verilir (Suzuki ve diğ., 2010). PK'ler, hidrazonlar oluşturmak için 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile reaksiyona girer. Oksidatif stres biyokimyasal olarak kullanılan bir prosedür (Dalle-Donne ve diğ., 2003) ve oksidatif DNA hasarı için dolaylı bir biyobelirteçtir (Kolgiri ve Patil., 2017). Bu çalışmada, valproat kaynaklı olarak oluşan oksidatif stres, deney hayvanlarının hem akciğer hem de böbrek doku homojenatlarında PK seviyelerini artmıştır. Valproat grubuna moringa verilmesiyle bu hasar önlenmiştir. Mevcut bulgu, valproik asidin beyinde PK seviyelerinin yükselmesine neden olduğunu bildiren Tunali ve diğ. (2020), Turkyilmaz ve diğ. (2020) ve Turkyilmaz ve diğ. (2021)'lerinin çalışmaları ile uyumludur. Benzer şekilde Bayrak ve diğ. (2021)'leri ve Celik ve diğ. (2022)'leri, valproatın neden olduğu oksidatif stresin bir sonucu olarak valproik asidin akciğer ve testis dokularında PK düzeylerinin yükselmesine neden olduğunu göstermiştir. Pazı ekstre (Tunali ve diğ., 2020), alfa-lipoik asit (Turkyilmaz ve diğ., 2020), B₆ vitamini (Turkyilmaz ve diğ., 2021), edaravon (Bayrak ve diğ., 2021; Celik ve diğ., 2022), U vitamininin valproik asidin neden olduğu olumsuzlukları önlediğini göstermişlerdir. Aldini ve diğ. (2010)'leri yaptıkları çalışmada, edaravon gibi antioksidan özelliklere sahip bileşiklerin ROS ve reaktif karbonil temizleyicileri olabileceğini ve aşırı ROS birikimi ve düşük protein karbonilasyon sürecini önlediğini göstermişlerdir. Buna paralel olarak, bu çalışmada moringa'nın yapısındaki antioksidan bileşikler PK oluşumunu ve birikimini azaltmış olabilir.

Siyalik asit (SA), dokuz karbonlu bir monosakkarit, protein ve lipidlerin temel bir yapısal bileşenidir (Wang ve Brand-Miller, 2003). Hücre zarı yüzeylerinde bulunan glikolipitler, glikoproteinler ve proteoglikanlar SA açısından zengindir. Bu bölgeler, hücre

iletişim, negatif yükü korumak ve hücre yüzeyinde su homeostazını korumak için gereklidir. Çalışmalar SA'in ROS temizleyicisi olarak hareket edebileceğini, dolayısıyla antioksidan özellik sergilediğini göstermiştir (Iijima ve diğ., 2004; Yadav ve diğ., 2020). SA'in doku ve hücre düzeyleri, değişen ve parçalanmış glikokonjugatları telafi etmek için oksidanlar tarafından indüklenen biyosentez nedeniyle oksidatif stres durumu sırasında yükselebilir. Çalışmamızda, valproat kaynaklı oksidatif stres nedeniyle hem akciğer hem de böbrek dokularının SA düzeyleri önemli ölçüde arttı. Buna göre Oktay ve diğ. (2015)'leri, Ustundag ve diğ. (2016)'leri, Oktay ve diğ. (2017)'leri ve Turkyilmaz ve diğ. (2021)'leri, sırasıyla valproik asit uygulanan kontrol hayvanlarının ince bağırsak, kalp, pankreas ve beyin dokularında önemli ölçüde SA düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. Emekli-Alturfan ve diğ. (2015)'leri, kalp dokusunda valproik aside bağlı SA düzeylerindeki artışın kontrol hayvanları ile karşılaştırıldığında önemli bir farklılık olmadığını göstermişlerdir. Valproik asit ile yapılan çalışmalarda valproat grubunun edaravon (Oktay ve diğ., 2015; Oktay ve diğ., 2017), pazı ekstresi (Ustundag ve diğ., 2016) ve B₆ vitamini (Turkyilmaz ve diğ., 2021) ile tedavisinde SA seviyelerini anlamlı bir şekilde normale yakın seviyeye düşürdüğü gösterilmiştir. Çalışmamızda, moringa ekstresinin valproat deney grubunda daha düşük SA düzeylerinin saptanması, moringanın yapısındaki bileşiklerin fazla olması ve bu maddelerin antioksidan aktivitesinin ROS türlerini temizlemesi nedeni ile olabilir.

Süperoksitler, oksijen metabolizması yoluyla üretilen reaktif türlerdir. Bu moleküllerin düzensiz sentezi doku hasarına yol açabilir (Hayyan ve diğ., 2016). Süperoksitlerin detoksifikasyonu SOD tarafından gerçekleştirilir. Bu antioksidan enzim, süperoksit radikalinin moleküler oksijen ve hidrojen peroksit dismutasyonunu katalize eder. Hidrojen peroksit de zararlı bir moleküldür ve bu nedenle daha fazla detoksifiye edilmesi gerekir. Bu işlev, katalaz (CAT) adı verilen başka bir temel antioksidan enzim tarafından gerçekleştirilir. CAT enzimatik olarak hidrojen peroksidi su ve oksijene ayrıştırır (Chelikani ve diğ., 2004). SOD ve CAT, dokuları ve hücrel bileşenleri ROS ve oksidatif hasara karşı korumak için gereklidir (Gaetani ve diğ., 1996; Ho ve diğ., 2004; Selvaratnam ve Robaire, 2016). SOD biyosentezi oksidatif stres sırasında indüklenir. SOD, aşırı/birikmiş süperoksit radikallerinin detoksifikasyonu için bir strateji olarak hizmet eder. SOD'un bir antienflamatuar enzim olarak hareket ettiği, ROS oluşumunu ve oksidatif stresi azalttığı farklı çalışmalarla gösterilmiştir (Marberger ve diğ., 1974; McGinness ve diğ., 1978; Segui ve diğ., 2004; Wilcox, 2010). Çalışmamızda, valproatın neden olduğu oksidatif stres, hem akciğer hem de böbrek doku homojenatlarında SOD ve CAT aktivitelerinde önemli artışa neden olmuştur. Bu enzim aktivitelerindeki artışın, moringa

ekstresinin uygulanması ile azaldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde, valproik asit kaynaklı hasardan kaynaklanan yüksek SOD ve CAT düzeylerinin, edaravon (Emekli-Alturfan ve diğ., 2015; Celik ve diğ., 2022) ve pazı ekstresinin (Tunali ve diğ., 2020) uygulanması ile valproik asit uygulanan sıçanlarda azaldığı belirtilmiştir. Mevcut bulguların aksine, akciğer (Bayrak ve diğ., 2021), karaciğer (Celik ve diğ., 2021), böbrek (Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2015), ince bağırsak (Oktay ve diğ., 2015), pankreas (Oktay ve diğ., 2017), lens (Tunali ve diğ., 2014), beyin (Turkyilmaz ve diğ., 2020; Turkyilmaz ve diğ., 2021) ve kalp (Ustundag ve diğ., 2016) gibi dokularda SOD ve CAT aktivitelerinde azalma olduğu bildirilmiştir. Valproik asidin neden olduğu oksidatif stresin SOD ve CAT aktiviteleri üzerindeki etkileri mevcut çalışma ile karşılaştırıldığında arasındaki fark, ilacın kimyasal durumu, uygulama şekli veya dozaj süresinde yatmaktadır. Bu çalışmalarda, valproik asit çoğunlukla bir hafta süreyle intraperitoneal olarak uygulanırken, çalışmamızda valproat tuzu iki hafta süreyle oral yoldan uygulanmıştır.

Bir diğer önemli antioksidan enzim ise glutatyon redüktazdır (GR). Bu enzim NADPH + H⁺ koenzimini kullanarak oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) indirgenmiş glutatyon'a (GSH) dönüşümünü kataliz eder. GR'ın aktivitesi, hücrel ortamı korumak ve oksidatif strese karşı koymak için kritik bir molekül olan indirgen haldeki glutatyonun (GSH) rejenerasyonunda esastır (Mannervik, 1987; Deponte, 2013). Çalışmamızda, GR'ın akciğer ve böbrek dokusundaki aktiviteleri, valproat kaynaklı oksidatif stres nedeniyle önemli ölçüde yükselmiştir. Artan GR aktivitesi, ROS ve valproatın diğer toksik metabolitlerinin detoksifikasyonunda kullanılan GSH seviyelerini telafi etmek için gereklidir. İndüklenen GR aktivitesi, valproat grubu dokularında azalan GSH seviyesinin bir sonucu olabilir. Benzer şekilde Tunali ve diğ., (2020)'leri ve Celik ve diğ., (2022)'leri sırasıyla, valproik asit toksisitesine bağlı olarak beyin ve testis dokularında GR aktivitesinin arttığını bildirmiştir. Pazı ekstresi (Tunali ve diğ., 2020) ve edaravon (Celik ve diğ., 2022) verilen valproik asitli dokularda GR aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Bu maddelerin, valproat grubunda artmış olan GR aktivitesini azalttığını bize göstermektedir. Aksine, bazı araştırmacılar akciğer (Bayrak ve diğ., 2021), karaciğer (Celik ve diğ., 2021) ve beyin (Turkyilmaz ve diğ., 2021) dokularında valproik asit toksisitesine bağlı olarak azalmış GR aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir. İlacın neden olduğu oksidatif stresin GR üzerindeki etkisi bu çalışmada kullanılan sodyum valproatın oral yoldan verilmesinden çok diğer çalışmalarda kullanılan valproik asidin interperitoneal olarak uygulamasından kaynaklanabilir.

GSH ile konjugasyon yoluyla ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu GST tarafından katalize edilir (Atkinson ve Babbitt, 2009). Konjugasyon işleminde, GSH'ın sülfhidril grubu, potansiyel olarak reaktif olan birçok substratın elektrofilik kısımlarına bağlanır, böylece onları suda daha çözünür, daha fazla bozulmaya eğilimli, atılım için uygun hale getirir ve önemli biyomoleküller ve hücresel bileşenlerle etkileşimlerini önler (Josephy, 2010; Oakley, 2011). Enzimatik aktiviteye ek olarak, GST çok sayıda metabolite bağlanabilir, böylece bir taşıma proteini olarak işlev görebilir (Litwack ve diğ., 1971; Leaver ve George, 1998). Valproat kaynaklı oksidatif stres/toksisite, antioksidan rezervlerinin (GSH gibi) tükenmesi ve ayrıca reaktif ara ürünlerin birikmesi yoluyla ortaya çıkar. Bu çalışmada, akciğer ve böbrek dokularındaki GST aktiviteleri, valproat kaynaklı toksisite nedeniyle önemli ölçüde yükselmiştir. Mevcut bulgularla uyumlu olarak, daha önceki çalışmalarda beyin (Tunali ve diğ., 2020; Turkyilmaz ve diğ., 2020) ve testis (Celik ve diğ., 2022) dokularında valproik asit toksisitesine bağlı olarak ortaya çıkan GST düzeyinde artış bildirilmiştir. Diğer çalışmalarda valproik asit toksisitesinin karaciğer (Sancar Baş ve diğ., 2017), pankreas (Oktay ve diğ., 2017) ve lens (Tunali ve diğ., 2014) dokularındaki GST aktivitelerinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Alfa-lipoik asit (Turkyilmaz ve diğ., 2020), edaravon (Oktay ve diğ., 2017; Celik ve diğ., 2022), U vitamini (Sancar Baş ve diğ., 2017) ve pazı ekstresi (Tunali ve diğ., 2020) gibi antioksidan ajanlar GST aktivitelerinde artışa neden olmuştur. Kuarsetin ve rutin gibi antioksidan aktiviteye sahip polifenolik bileşiklerin böbrek dokusunda valproat kaynaklı oksidatif hasarı azalttığı kanıtlanmıştır. Deneysel olarak kuarsetin ile ön tedavi edilen sıçanların, artan lipid peroksidasyonu ve protein karbonilasyonu düşürülerek valproat kaynaklı oksidatif stresi engellediği gösterilmiştir. Glutasyon ve protein olmayan tiyol seviyeleri, ayrıca antioksidan enzimlerin aktiviteleri (glutasyon-S-transferaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz gibi) valproik asit uygulamasından önce kuarsetin ön tedavisi ile korunmuştur (Chaudhary ve diğ., 2015). Deney hayvanlarına rutin (50 ila 100 mg/kg) ve valproik asidin (500 mg/kg) birlikte uygulanmasının, valproat ile indüklenen yüksek lipid peroksidasyonunu dengelediği, antioksidan enzimlerin (örn. süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyon peroksidaz) aktivitelerini ve glutasyon seviyesini stabilize ettiği bildirilmiştir. Çalışmamızda moringa ekstresinin, çeşitli antioksidan özellikleri nedeni ile aktivitelerinde azalmaya neden olmuştur.

Bir diğer önemli antioksidan enzim sınıfı ise glutasyon peroksidazlardır (GPx). Bu enzim sınıfı, lipid peroksitlerin alkollerine veya hidrojen peroksidin suya indirgenmesinden sorumludur (Muthukumar ve diğ., 2011). GPx aktivitesi, organizmaların oksidatif strese ve

oksidatif hasara karşı korunması için gereklidir (Muthukumar ve Nachiappan, 2010). Çalışmamızda, valproatın uygulanması, deney hayvanlarının hem akciğer hemde böbrek dokularında GPx aktivitesinde önemli bir azalmaya neden olmuştur. Sprague-Dawley sıçanlara intraperitoneal valproik asit uygulamasının akciğer dokusunda GPx aktivitesinde dikkate değer bir azalmaya neden olduğu Bayrak ve diğ.'lerinin sonuçları ile uyumludur (Bayrak ve diğ., 2021). Valproatın benzer etkisi karaciğer (Celik ve diğ., 2021), kalp (Emekli-Alturfan ve diğ., 2015), pankreas (Oktay ve diğ., 2017) ve lens (Tunali ve diğ., 2014) dahil olmak üzere birçok dokuda rapor edilmiştir. Moringa ekstresinin, valproat uygulanan sıçanların hem akciğer hem de böbrek GPx aktivitesini arttırdığı saptanmıştır. Moringa ekstresinde bulunan antioksidan özellikli maddeler GPx aktivitesinin artmasına neden olmuştur.

Paraoksonaz (PON), arildialkilfosfataz aktivitesine sahip üç kalsiyum bağlı protein ailesidir. İnsan hastalıklarının gelişiminde kritik rol oynarlar. Bu enzimlerin organofosfat aktivitesi, ilaçların, pestisitlerin ve diğer toksik metabolitlerin biyolojik olarak parçalanmasında önemlidir (Tomas ve diğ., 2004; Richter ve diğ., 2010; Litvinov ve diğ., 2012). Düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu önlemede veya hücrel bileşenleri oksidatif hasara karşı doğrudan korumada kritik bir rol oynarlar (Ng ve diğ., 2001; Draganov ve diğ., 2005; Litvinov ve diğ., 2012). Bu enzimlerin düşük aktivitesi, LDL'nin hızlı oksidasyonu nedeniyle ateroskleroz gelişiminde rol oynamıştır (Mackness ve diğ., 2004; Parthasarathy ve diğ., 2010; Litvinov ve diğ., 2012; Shunmoogam ve diğ., 2018). Bu çalışmada, akciğer ve böbrek dokularında PON aktiviteleri, valproata bağlı toksisite nedeniyle büyük ölçüde azalmıştır. Valproik asit kaynaklı hepatotoksitenin bir sonucu olarak düşük PON aktivitesi seviyeleri Sokmen ve diğ. (2012)'lerinin çalışması ile uyumludur. Turkyilmaz ve diğ. (2020)'leri tarafından ayrıca valproat uygulanan sıçanların beyin dokusunda PON aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Tıpkı U vitamini (Sokmen ve diğ., 2012) ve alfa-lipoik asit (Turkyilmaz ve diğ., 2020) gibi, moringa ekstresi uygulanan sıçanlarda valproat grubunda PON aktivitelerinde artış meydana gelmiştir. Bu artma moringa ekstresinde bulunan antioksidan maddeler nedeni ile olabilir.

Arginaz, L-argininin L-ornitine ve üreye dönüşümünü katalize eden mangana bağlı bir metalloenzim üreohidrolazdır (Wu ve Morris, 1998). Bu enzimin aktivitesi, amonyağın detoksifikasyonu ve atılımı için önemlidir (Di Costanzo ve diğ., 2007). Memelilerde, arginaz her biri farklı enzimatik aktiviteye sahip iki izoformda bulunur. Esas olarak ürejeniz ile ilgili olan arginaz I karaciğerde bulunur. İkinci izoform olan arginaz II, en çok böbrek ve prostatta

bol miktarda bulunur, aynı zamanda beyin, makrofajlar ve süt veren meme bezleri gibi çeşitli dokularda daha az oranda bulunur. Çoğunlukla hücre içi arginin/ornitin seviyelerini düzenler (Morris, 2002). Arginaz birikimi ile sonuçlanan patolojik koşullar altında (hiperargininemi ve karaciğer toksisitesi gibi) düşük arginaz I aktivitesinin, böbrekte arginaz II'nin artan aktivitesini indüklediğine inanılmaktadır. Bu alternatif yol, biyolojik sistemden amonyak ve fazla arginin atılmasına yardımcı olur (Iyer ve diğ., 2002). Arginaz II ayrıca cinsel organlarda ve diğer düz kas dokularında nitrik oksit sentaz ile birlikte eksprese edilir. Nitrik oksit sentazın aktivitesi ise nitrik oksidin biyoyararlanımı ile ilişkilidir. Bu molekül, nitrik oksite bağlı düz kas gevşemesini indükler ve aynı zamanda bir oksidan görevi görebilir. Arginazın hiperaktivitesi, arginin havuzunun azalmasına eşlik eder. Bunun erektil disfonksiyonu hızlandırdığına ve düz kas gevşemesini azalttığına inanılmaktadır (Cama ve diğ., 2003; Christianson, 2005). Astım, oksidatif stresin neden olduğu diyabet (Kiss ve diğ., 2014), kronik obstrüktif akciğer hastalığı (van den Berg ve diğ., 2018), ilaca bağlı fibroz (Endo ve diğ., 2003) ve kistik fibrozda (Maarsingh ve diğ., 2008) arginazın aktivitesinin yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmamızda, valproatın neden olduğu oksidatif stres, hem akciğer hem de böbrek doku homojenatlarında arginaz aktivitesinin yükselmesine neden olmuştur. Gezinci-Oktayoglu ve diğ. (2015)'leri ve Bayrak ve diğ. (2021)'leri, sırasıyla valproat uygulanan hayvanların akciğer ve böbrek dokularında arginaz aktivitesinin arttığını bildirmiştir. Bizim verilerimizde mevcut araştırmaların sonucu ile uyumludur. Valproat grubuna güçlü antioksidan özelliği sahip moringa ekstresinin verilmesi sonucunda her iki dokuda da arginaz aktivitesinin azalması bu dokulardaki hasarın önlendiğini bize göstermektedir.

Miyeloperoksidaz (MPO), enflamatuar ve bağışıklık sisteminin önemli bir enzimidir. Beyaz kan hücrelerinin nötrofil granülositlerinde eksprese edilir ve depolanır (Klebanoff, 2005). Bu enzimin aktivitesi, hipokloröz asit (hidrojen peroksit ve klorür anyonu) ve tirozil radikalinin (oksitleyici ajan olarak hidrojen peroksit kullanan tirozinden) sentezini içerir. Bu iki sitotoksik ajan, nötrofilin antimikrobiyal aktivitelerinin temelidir (Hampton ve diğ., 1998). Bununla birlikte, aşırı hipokloröz asit ve tirozil radikali üretimine yol açan MPO'nun hiperaktivitesi biyolojik sistem için zararlıdır. Bunun nedeni, oksidatif hasara ve protein çapraz bağlanmasına yol açabilmesidir (Heinecke ve diğ., 1993; Davies, 2011). Bu çalışmada, valproat verilen sıçanlarda akciğer ve böbrek dokularında yüksek MPO aktivitesinde artış görülmüştür. Bu, toksik valproat metabolitlerinin yanı sıra ROS tarafından tetiklenen antienflamatuar yanıt nedeniyle ortaya çıkmış olabilir. Moringa yapraklarının antioksidan (Magaji ve diğ., 2022) ve antienflamatuar (Waterman ve diğ., 2014) aktiviteleri nedeniyle, valproat grubuna ekstre

verilmesi ile MPO aktivitesinde azalma olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, valproik asidin testis (Celik ve diğ., 2022), ince bağırsak (Oktay ve diğ., 2015), pankreas (Oktay ve diğ., 2017), karaciğer (Sokmen ve diğ., 2012) ve beyin (Turkyilmaz ve diğ., 2021) gibi dokularda MPO aktivitesinin yükselmesine neden olduğunu bildirmiştir. Belirtilen bu çalışmaların sonuçları ile bizim elde ettiğimiz çalışma sonuçlarımız uyumludur. Moringa verilmesi ile serbest radikal oluşumunda azalma meydana gelmiş ve MPO aktivitesinde azalma olduğu saptanmıştır.

TAS, biyolojik bir numunede bulunan tüm potansiyel antioksidan moleküllerin antioksidan aktivitelerinin toplamını temsil eder (endojen olarak sentezlenen veya diyet yoluyla alınan) (Sies, 1997; Vertuani ve diğ., 2004). Bu antioksidan moleküller; GSH, C vitamini, E vitamini, karotenoidler, lipoik asit, ürik asit, ubiquinol içerir ancak sadece bunlarla sınırlı değildir. Bu antioksidan moleküller, antioksidan enzim sistemi ile sinerjik ve birbirine bağlı olarak çalışır (Sies, 1993; Chaudiere ve Ferrari-Iliou, 1999). Bir antioksidanın etkinliği, diğer antioksidanlarla ve genel olarak antioksidan sistemle olan genel etkileşimine bağlıdır (Vertuani ve diğ., 2004). Bu nedenle TAS, biyolojik sistemin gerçek antioksidan gücü değil, biyolojik bir numunenin olası antioksidan durumu için bir belirteçtir. TOS ve ROS, biyolojik bir numunede bulunan oksidanların ve ROS'un seviyesi hakkında bilgi sağlar. Yaygın ROS oksidanları, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, organik hidroperoksit, alkoksi radikalleri, peroksi radikalleri, hipokloröz asit ve peroksinitrit (Rice-Evans ve Gopinathan, 1995). Antioksidan sistemde dengesizlik ile birleştğinde bu potansiyel olarak toksik moleküllerin birikmesi, oksidatif strese ve önemli biyomoleküllerde oksidatif hasarlara neden olur (Schafer ve Buettner, 2001; Evans ve Cooke, 2004; Valko ve diğ., 2005; Valko ve diğ., 2006; Vigor ve diğ., 2014; Akazawa-Ogawa ve diğ., 2015; Yoshida, 2015). Çalışmamızda, valproat uygulanan deney hayvanlarının akciğer ve böbrek doku homojenatlarında önemli ölçüde TOS ve ROS seviyelerinin arttığı TAS seviyesinin ise azaldığı gözlemlendi. Bu, çalışmamızın valproat deney grubundaki GSH'nin azalması, yüksek LPO, PK ve SA seviyeleri, bozulmuş antioksidan enzim aktiviteleri ve artan MPO aktiviteleri (aşırı üretime ve hipokloröz birikimine yol açmış olabilir) ile belirgin olan valproata bağlı oksidatif stres nedeniyle ortaya çıkmış olmalıdır. Moringa ekstresi uygulanması, valproat grubunun doku homojenatlarının TAS, TOS ve ROS seviyelerini onarmıştır. Bunun nedeni, bitki yapraklarının güçlü antioksidan aktivitesinden kaynaklanmaktadır, dahası da diyet antioksidan alımı toplam antioksidan durumu ile pozitif ilişkilidir, ancak TOS ve ROS seviyeleri ile ters orantılıdır (Öztağ ve Güneş, 2022). Çeşitli araştırmacılar tarafından akciğer (Bayrak ve diğ., 2021), testis (Celik ve diğ.,

2022) ve beyin (Turkyilmaz ve diğ., 2020; Turkyilmaz ve diğ., 2021) gibi diğ er dokularda da benzer sonuçlar olduğu bildirilmiştir.

NO, biyolojik sistemde nitrik oksit sentaz tarafından sentezlenen küçük bir sinyal molekülüdür. Oldukça reaktiftir ve küçük boyutundan dolayı biyolojik membranlardan kolaylıkla difüze olabilir. Normal koşullar altında NO, biyolojik bir sinyal molekülü olarak (Hou ve diğ., 1999; Perez ve Laughon, 2015; Liu ve diğ., 2017) ve bağışıklık sistemi mekanizmasının (Green ve diğ., 1990) bir parçası olarak hareket eder. NO, eşleşmemiş elektrona sahip yarı kararlı bir serbest radikaldir. Bu nedenle, oksidatif hasara neden olabilen (Shami ve diğ., 1995) veya enflamatuvar yanıtları indükleyebilen (Kaibori ve diğ., 1999) potansiyel bir pro-oksidan olarak hareket eder. Dahası, arginaz II'nin birçok dokuda nitrik oksit sentaz (substrat rakibi) ile birlikte eksprese edildiğine (David, 2004), ve dolayısıyla bu koşullar altında NO'in aşırı üretimine yol a tığına inanılmaktadır. Çalışmamızda, valproatın neden olduğu akciğer ve böbrek doku toksisitesine, yüksek NO seviyeleri eşlik etmiştir. Bunun nedeni muhtemelen arginazın karşılık gelen yüksek aktivitesine bağlı olarak bu dokularda nitrik oksit sentazın aşırı ekspresyonu veya ROS ve valproatın toksik metabolitlerinin birikmesinden kaynaklanan enflamasyon ve enflamatuvar yanıtların bir sonucudur. Valproat deney grubuna moringa ekstresi verilmesi, her iki organda normal NO seviyelerini koruyarak bu olumsuzlukları azaltmıştır. Bu çalışmanın bulguları, valproik asidin neden olduğu yüksek NO düzeyinin alfa-lipoik asit (Turkyilmaz ve diğ., 2020) ve edaravon (Bayrak ve diğ., 2021; Celik ve diğ., 2022) gibi antioksidan ajanlar tarafından azaltıldığını bildiren önceki çalışmalar ile uyumludur.

TNF- , enflamatuvar yanıtlar için gerekli olan hücreden hücreye sinyalleşme için bir sitokin görevi gören bir transmembran proteindir (Sethi ve Hotamisligil, 2021). Hareket eden reseptöre bağlı olarak, TNF- , otoimmün reaksiyonları ve apoptozu teşvik eder. Tümör nekroz faktör reseptör 1 aracılığıyla proenflamatuvar olabilir yada tümör nekroz faktör reseptör 2 aracılığı ile hücre proliferasyonunu ve yara iyileşmesini teşvik ederek antienflamatuvar olabilir (Gough ve Myles, 2020; Heir ve Stellwagen, 2020; Rolski ve B yszczuk, 2020). TNF-  diğer moleküllerle birlikte fagositlerde indüklenebilir nitrik oksit sentazın (iNOS) indüklenmesini tetikleyebilir (Green ve diğ., 1993; Kamijo ve diğ., 1995). Bu proteinin hiperaktivitesi, depresyon (Dowlati ve diğ., 2010; Bobinska ve diğ., 2017), Alzheimer hastalığı (Swardfager ve diğ., 2010) ve enflamatuvar bağırsak hastalığı (Brynskov ve diğ., 2002; Mikocka-Walus ve diğ., 2007) gibi oksidatif strese bağlı otoimmün hastalıklarla bağlantılıdır. Bu nedenle, biyolojik

bir sistemdeki yüksek TNF- α seviyeleri, bir organizmanın genel işleyişi için zararlıdır (Lei ve diğ. 2014). Çalışmamızda, akciğer ve böbrek dokularında valproatın neden olduğu toksisiteye bağlı olarak TNF- α düzeylerinde önemli bir yükselme meydana geldiği bulunmuştur. Bu, valproatın RNS, ROS, PK ve LPO'nun toksik metabolitlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkan enflamatuvar yanıtlardan kaynaklanabilir. Bu çalışmada gözlemlenen yüksek NO seviyeleri, fagositlerde ve diğer ilgili bağışıklık hücrelerinde TNF- α tarafından iNOS'un uyarılması ile yakından ilişkili olabilir. Moringanın güçlü antioksidan ve terapötik özelliği, valproat uygulanan deney grubunun akciğer ve böbrek dokularındaki bu hasarı azaltmıştır. Gezginci-Oktayoglu ve diğ. (2015)'leri, valproik asidin neden olduğu böbrek hasarının böbrek dokusunda TNF- α seviyesinin yükselmesine neden olduğunu bildirmiştir. U vitamini, bu valproik asit kaynaklı biyokimyasal hasarları antioksidan özelliği ile azaltmıştır.

Düz kas hücreleri tarafından ve kan damarlarında tunika ortamı tarafından üretilen IL-6, proenflamatuvar bir sitokindir. Miyokin olarak, IL-6, diğer proenflamatuvar sitokinleri (TNF- α ve IL-1 gibi) inhibe ederek bir antienflamatuvar sitokin görevi görür ve antienflamatuvar sitokini (örn. IL-1ra ve IL-10) aktive eder (Ferguson-Smith ve diğ., 1988; Brandt ve Pedersen, 2010). Yabancı moleküllerin ve metabolitlerin varlığında, patojenle ilişkili moleküler yapılar Toll benzeri reseptörler gibi yapı tanıma reseptörlerine bağlandığında makrofajlar tarafından IL-6 salgılanır. Bu kademeli süreçler, enflamatuvar sitokin üretimine yol açar. Sonuç olarak, oksidatif stres veya ilaca bağlı toksisite nedeniyle lökositler tarafından bu proteinin aşırı ekspresyonu, toksik enflamatuvar yanıtları başlatabilir. Bu çalışmada, valproat toksisitesi hem akciğer hem de böbrek dokularında IL-6 düzeylerinin yükselmesine neden olmuştur. Bu, valproatın neden olduğu oksidatif hasar sırasında artan enflamatuvar yanıtın bir göstergesidir. Moringa ekstresi verilmesi, valproat grubunun akciğer ve böbrek dokularındaki bu hasarı azaltmıştır. Önceki çalışmalar, valproat toksisitesinin böbrek ve beyin dokularında proenflamatuvar sitokin - interlökin-1 β 'de bir artışa yol açtığını göstermiştir (Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2015; Celik ve diğ., 2021). Bu bulgular, çalışmamızın sonucu ile uyumludur.

Valproik asit tarafından tetiklenen antienflamatuvar yolun aşırı ekspresyonu, aktive edilmiş B hücrelerinin nükleer faktör kappa-hafif zincir güçlendiricisi (NF- κ B), tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin 6 (İL-6), janus kinaz 2 (JAK3) ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3) ekspresyonunu baskılayarak rutin tarafından azaltılırken, transkripsiyon faktörü etkinleştirilme 6 (ATF6), protein kinaz RNA benzeri ER-kinaz (PERK), inositol gerektiren protein 1 (IRE1) ve 78-kDa glukoz regüle protein (GRP78) ekspresyonunu

baskılayarak valproat kaynaklı endoplazmik retikulum oksidatif stresin önlediği bildirilmiştir (Kandemir ve diğ., 2022).

Farklı bal türlerinin, özellikle arı sütü (royal jelly) ve kekik balının (thyme honey), valproat kaynaklı oksidatif hasara karşı organ koruyucu etkilerinin olduğu Galaly ve diğ., (2014) ve Omidipour ve diğ., (2021) yaptıkları çalışmalarda ileri sürölmüştür. Galaly ve diğ., (2014) arı sütünün valproatın neden olduğu enflamatuar hücre infiltrasyonunu ve glomeröl dejenerasyonunu azalttığı, Omidipour ve diğ., (2021) ise, kekik balının antioksidan bileşimi ve özellikleri sayesinde hepatosellöler yıkımı önlediğini çalışmalarda bildirmişlerdir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, deney hayvanlarına valproat uygulanması serum üre ve ürik asit düzeylerinde artışa neden olmuştur. Bu artış böbrek fonksiyonlarının bozulduğunu göstermektedir. Akciğer ve böbrek dokularında valproatın neden olduğu toksisite nedeni ile endojen antioksidan durumunda azalma (yani GSH ve TAS), oksidatif stres biyobelirteçlerin seviyelerinde artma (LPO, PK, siyalik asit, ROS ve NO gibi), antioksidan enzimlerin aktivitelerinde bozulma (yani SOD, CAT, GR, GST ve GPx) ve ayrıca enflamatuar protein seviyelerinde (arginaz, MPO, PON, TNF- α ve IL-6) artma meydana gelmiştir. Halk arasında gıda maddesi olarak kullanılan ve çeşitli hastalıkların tedavisinde yardımcı olarak kullanılabileceği belirtilen *M. oleifera* yaprak ekstresinin, çok çeşitli antioksidan ve terapötik özellikleri nedeni valproat kaynaklı oksidatif stresten kaynaklanan biyokimyasal hasarları azalttığı veya önlediği öne sürülebilir.

KAYNAKLAR

- Abdalla, E.E., Mohamed, F.R., 2019, Antioxidant traits and protective impact of *Moringa oleifera* leaf extract against diclofenac sodium-induced liver toxicity in rats, *Journal of Food Biochemistry*, 43 (2), e12704.
- Abdulsalam, S., Gital, A.A., Misau, I.M., Suleiman, M.S., 2007, Water clarification using *Moringa oleifera* seed coagulant: Maiduguri raw water as a case study, *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5 (1), 302–306.
- Abualhasan M., Odeh N.W., Younis G.N., Zeidan O.F., 2020, Analytical method development for sodium valproate through chemical derivatization, *International Journal of Analytical Chemistry*, 5672183.
- Acuram, L.K., Chichioco-Hernandez, C.L., 2019, Anti-hypertensive effect of *Moringa oleifera* Lam, *Cogent Biology*, 5, 1–10.
- Adefegha, S.A., Oboh, G., Iyoha, A.E., Oyagbemi, A.A., 2019, Comparative effects of horseradish (*Moringa oleifera*) leaves and seeds on blood pressure and crucial enzymes relevant to hypertension in rat, *Pharmanutrition*, 9, 100152.
- Adikwu, E., Deo, O., 2013, Hepatoprotective effect of vitamin C (ascorbic acid), *Pharmacology and Pharmacy*, 4 (1), 84–92.
- Adisakwattana, S., Chanathong, B., 2011, α -Glucosidase inhibitory activity and lipid-lowering mechanisms of *Moringa oleifera* leaf extract, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15, 803–808.
- Aebi, H., 1984, Catalase *in vitro*, *Methods in Enzymology*, 105, 121–126.
- Aja, P.M., Nwachukwu, N., Ibiam, U.A., Igwenyi, I.O., Offor, C.E., Orji, U.O., 2014, Chemical constituents of *Moringa oleifera* leaves and seeds from Abakaliki, Nigeria, *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 2, 310–321.
- Akazawa-Ogawa, Y., Shichiri, M., Nishio, K., Yoshida, Y., Niki, E., Hagihara, Y., 2015, Singlet-oxygen-derived products from linoleate activate Nrf2 signaling in skin cells, *Free Radical Biology and Medicine*, 79, 164–175.
- Akhtar, M., Hasany, S.M., Bhanger, M.I., Iqbal, S., 2007, Sorption potential of *Moringa oleifera* pods for the removal of organic pollutants from aqueous solutions, *Journal of Hazardous Material*, 141, 546–556.
- Aktar, S., Das, P.K., Asha, S.Y., Siddika, M.A., Islam, F., Khanam, J.A., AbdurRakib, M., 2019, *Moringa oleifera* leaves methanolic extract inhibits angiotensin converting enzyme activity *in vitro* which ameliorates hypertension, *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, 2 (2), 73–77.
- Aktaş, A., Nergiz, Y., Akkuş, M., Nasır, Y., 2010, The effects of valproic acid on renal corpuscle of pregnant rats and protective role of folic acid and vitamin E, *African Journal of Biotechnology*, 9 (34), 5605–5610.

- Aktaş, I., Bayram, D., 2020, Investigation of the effects of silymarin on valproic acid-induced kidney damage in rats, *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9 (1) , 42-48.
- Al-Amoudi, W.M., 2017, Protective effects of fennel oil extract against sodium valproate-induced hepatorenal damage in albino rats, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24 (4), 915-924.
- Alasmari, A.F., 2021, Cardioprotective and nephroprotective effects of quercetin against different toxic agents, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 25 (23), 7425-7439.
- Al-Brakati, A.Y., Al omairi, N.E., 2019, The protective effects of thymoquinone against valproate-induced nephrotoxicity in rats, *International Journal of Advanced Research*, 7, 83-90.
- Aldini, G., Vistoli, G., Regazzoni, L., Benfatto, M.C., Bettinelli, I., Carini, M., 2010, Edaravone inhibits protein carbonylation by a direct carbonyl scavenging mechanism: Focus on reactivity, selectivity, and reaction mechanisms, *Antioxidants and Redox Signaling*, 12, 381–392.
- Al-husnan, L.A., Alkahtani, M.D.F., 2016, Impact of Moringa aqueous extract on pathogenic bacteria and fungi *in vitro*, *Annals of Agricultural Sciences*, 61 (2), 247–250.
- Allen, P.J., 2012, Creatine metabolism and psychiatric disorders: Does creatine supplementation have therapeutic value? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36 (5), 1442–1462.
- Altunbasak, S., Yıldız, D., Anarat, A., Burgut, H.R., 2001, Renal tubular dysfunction in epileptic children on valproic acid therapy, *Pediatric Nephrology*, 16, 256–259.
- Amrani, A., Benaissa, O., Boubekri, N., Biod, K., Djabari, R., Beroa, N., Zama, D., Benayache, F., Benayache, S., 2016, Impact of *Chrysanthemum fontanesii* extract on sodium valproate mediated oxidative damage in mice kidney, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6 (4), 67-71.
- Anjorin, T.S., Ikokoh, P., Okolo, S., 2010, Mineral composition of *Moringa oleifera* leaves, pods and seeds from two regions in Abuja, Nigeria, *International Journal of Agriculture and Biology*, 12, 431–434.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.H., 2007, *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses, *Phytotherapy Research*, 21, 17–25.
- Arabshahi-Delouee, S., Aalami, M., Urooj, A., Krishnakantha, T.P., 2009, *Moringa oleifera* leaves as an inhibitor of human platelet aggregation, *Pharmaceutical Biology*, 47 (8), 734–739.
- Arakawa, H., Niimi, H., Kurihara, Y., Nakajima, Y., Webb, W.R., 2000, Expiratory high-resolution CT: diagnostic value in diffuse lung diseases, *American Journal of Roentgenology*, 175 (6), 1537–1543.
- Arevalo-Hijar, L., Aguilar-Luis, M.A., Caballero-Garcia, S., Gonzales-Soto, N., Del Valle-Mendoza, J., 2018, Antibacterial and cytotoxic effects of *Moringa oleifera* (Moringa) and *Azadirachta indica* (Neem) methanolic extracts against strains of *Enterococcus faecalis*, *International Journal of Dentistry*, 1071676, 1–5.
- Atkinson, H.J., Babbitt, P.C., 2009, Glutathione transferases are structural and functional outliers in the thioredoxin fold, *Biochemistry*, 48 (46), 11108–11116.

- Ayumi, E., Yukihiro, F., Tatsuo, F., Shori, T., Hideo, M., 2010, Fanconi syndrome caused by valproic acid, *Pediatric Neurology*, 42 (4), 287–290.
- Babu, S.C., 2000, Rural nutrition interventions with indigenous plant foods: A case study of vitamin A deficiency in Malawi, *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 4, 169–179.
- Bard, J., Vize, P.D., and Woolf, A.S., 2003, *The kidney: from normal development to congenital disease*, Academic Press, Boston. ISBN 978-0-12-722441-1.
- Barker, S.B., 1944, The direct colorimetric determination of urea in blood and urine, *Journal of Biological Chemistry*, 152, 453–463.
- Bayrak, B.B., Yilmaz, S., Hacıhasanoglu, C.N., Yanardag, R., 2021, The effects of edaravone, a free-radical scavenger in lung injury induced by valproic acid demonstrated via different biochemical parameters, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2021, e22847.
- Berg, A.T., Berkovic, S.F., Brodie, M.J., Buchhalter, J., Cross, J.H., van Emde Boas, W., Engel, J., French, J., Glauser, T.A., Mathern, G.W., Moshe, S.L., Nordli, D., Plouin, P., Scheffer, I.E., 2010, Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE commission on classification and terminology, 2005–2009, *Epilepsia*, 51 (4), 676–685.
- Bergey, G.K., 2013, Neurostimulation in the treatment of epilepsy, *Experimental Neurology*, 244, 87–95.
- Berkovich, L., Earon, G., Ron, I., Rimmon, A., Vexler, A., Lev-Ari, S., 2013, *Moringa oleifera* aqueous leaf extract down-regulates nuclear factor-kappaB and increases cytotoxic effect of chemotherapy in pancreatic cancer cells, *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 13, 212.
- Beutler, E., 1971, *Glutathione in red cell metabolism a manual of biochemical methods*, 12th ed., Academic Press, London, 68–70.
- Beutler, E., 1975, *Glutathione in red cell metabolism a manual of biochemical methods*, 2nd ed., Grune and Stratton, New York, 112–114.
- Bhalla, D., Godet, B., Druet-Cabanac, M., Preux, P.M., 2011, Etiologies of epilepsy: A comprehensive review, *Expert Review of Neurotherapeutics*, 11 (6), 861–876.
- Bijina, B., Chellappan, S., Krishna, J.G., Basheer, S.M., Elyas, K.K., Bahkali, A.H., Chandrasekaran, M., 2011, Protease inhibitor from *Moringa oleifera* with potential for use as therapeutic drug and as seafood preservative, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18 (3), 273–281.
- Bilo, L., Meo, R., 2008, Polycystic ovary syndrome in women using valproate: A review, *Gynecological Endocrinology*, 24 (10), 562–570.
- Blumenfeld, H., 2005, Cellular and network mechanisms of spike-wave seizures, *Epilepsia*, 46 (9), 21–33.
- Bobinska, K., Gałęcka, E., Szemraj, J., Gałęcki, P., Talarowska, M., 2017, Is there a link between TNF gene expression and cognitive deficits in depression? *Acta Biochimica Polonica*, 64 (1), 65–73.
- Bonsnes, R.W., Taussky, H.H., 1945, On colorimetric determination of creatinine by the Jaffe reaction, *Journal of Biological Chemistry*, 158, 581–591.

- Borghini, C., Verardi, F.M., Pareo, I., Bentivenga, C., Cicero, A.F., 2014, Hyperuricemia and cardiovascular disease risk, *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 12 (10), 1219–1225.
- Brandt, C., Pedersen, B.K., 2010, The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 520258.
- Brynskov, J., Foegh, P., Pedersen, G., Ellervik, C., Kirkegaard, T., Bingham, A., Saermark, T., 2002, Tumour necrosis factor alpha converting enzyme (TACE) activity in the colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease, *Gut*, 51 (1), 37–43.
- Cakmak, N.H., Yanardag, R., 2015, Edaravone, a free radical scavenger, protects liver against valproic acid induced toxicity, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 80 (5), 627–637.
- Cama, E., Colletuori, D.M., Emig, F.A., Shin, H., Kim, S.W., Kim, N.N., Traish, A.M., Ash, D.E., Christianson, D.W., 2003, Human arginase II: Crystal structure and physiological role in male and female sexual arousal, *Biochemistry*, 42 (28), 8445–8451.
- Caraway, W.T., 1955, Determination of uric acid in serum by a carbonate method, *American Journal of Clinical Pathology*, 25 (7), 840–845.
- Celik, C., Bayrak, B.B., Hacıhasanoğlu C.N., Yanardag, R., 2022, Protective effect of edaravone on rat testis after valproic acid treatment, *Journal of Research in Pharmacy*, 26 (1), 52–62.
- Celik, E., Tunalı, S., Gezginci-Oktayoglu, S., Bolkent, S., Can, A., Yanardag, R., 2021, Vitamin U prevents valproic acid-induced liver injury through supporting enzymatic antioxidant system and increasing hepatocyte proliferation triggered by inflammation and apoptosis, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 31 (8), 600–608.
- Chaudhary, S., Ganjoo, P., Raiusddin, S., Parvez, S. (2015). Nephroprotective activities of quercetin with potential relevance to oxidative stress induced by valproic acid, *Protoplasma*, 252 (1), 209–217.
- Chaudiere, J., Ferrari-Iliou, R., 1999, Intracellular antioxidants: From chemical to biochemical mechanisms, *Food and Chemical Toxicology*, 37 (9–10), 949–962.
- Chelikani, P., Fita, I., Loewen, P.C., 2004, Diversity of structures and properties among catalases, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61 (2), 192–208.
- Cheuk, D.K., Wong, V., 2014, Acupuncture for epilepsy, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 5 (5), CD005062.
- Choi, K.H., Nam, T.S., Kim, J.T., Choi, S.M., Park, M.S., Kim, B.C., Kim, M.K., Cho, K.H., 2011, Valproate associated diffuse alveolar haemorrhage, *European Journal of Neurology*, 18, 98–99.
- Choudhary, M.K., Bodakhe, S.H., Gupta, S.K., 2013, Assessment of the antiulcer potential of *Moringa oleifera* root-bark extract in rats, *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 6 (4), 214–220.
- Christensen, J., Gronborg, T.K., Sorensen, M.J., Schendel, D., Parner, E.T., Pedersen, L.H., Vestergaard, M., 2013, Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism, *JAMA*, 309 (16), 1696–1703.
- Christianson, D.W., 2005, Arginase: Structure, mechanism, and physiological role in male and female sexual arousal, *Accounts of Chemical Research*, 38, 191–201.

- Christie, M.M., Kristen, H.S., 2012, Levocarnitine for valproic-acid-induced hyperammonemic encephalopathy, *American Journal of Health-System Pharmacy*, 69 (1), 35–39.
- Chukwu, J., Delanty, N., Webb, D., Cavalleri, G.L., 2014, Weight change, genetics and antiepileptic drugs, *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 7 (1), 43–51.
- Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N.P., Phivthong-ngam, L., Ratanachamnong, P., Srisawat, S., Pongrapeeporn, K.S., 2008, The *in vitro* and *ex vivo* antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves, *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 439–446.
- Clapp, W.L., 2009, *Renal Anatomy*, In: Zhou, X.J., Laszik, Z., Nadasdy, T., D'Agati, V.D., Silva, F.G., eds. *Silva's diagnostic renal pathology*, Cambridge University Press, New York.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., Colombo, R., 2003, Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress, *Clinica Chimica Acta*, 329 (1–2), 23–38.
- Davey, M.W., Stals, E., Panis, B., Keulemans, J., Swennen, R.L., 2005, High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues, *Analytical Biochemistry*, 347 (2), 201–207.
- David, E.A., 2004, Structure and function of arginases, *Journal of Nutrition*, 134 (10), 2760–2764.
- Davies, M.J., 2011, Myeloperoxidase-derived oxidation: Mechanisms of biological damage and its prevention, *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 48 (1), 8–19.
- Decressac, M., Barker, R.A., 2012, Neuropeptide Y and its role in CNS disease and repair, *Experimental Neurology*, 238 (2), 265–272.
- Dehghan, A., van Hoek, M., Sijbrands E.J., Hofman A., Witteman, J. C., 2008, High serum uric acid as a novel risk factor for type 2 diabetes, *Diabetes Care*, 31 (2), 361–362.
- Del Rio, D., Stewart, A.J., Pellegrini, N., 2005, A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15 (4), 316–328.
- Deponte, M., 2013, Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830 (5), 3217–3266.
- Di Costanzo, L., Moulin, M., Haertlein, M., Meilleur, F., Christianson, D.W., 2007, Expression, purification, assay, and crystal structure of perdeuterated human arginase I, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 465 (1), 82–89.
- Dowlati, Y., Herrmann, N., Swardfager, W., Liu, H., Sham, L., Reim, E.K., Lanctot, K.L., 2010, A meta-analysis of cytokines in major depression, *Biological Psychiatry*, 67 (5), 446–457.
- Draganov, D.I., Teiber, J.F., Speelman, A., Osawa, Y., Sunahara, R., La Du, B.N., 2005, Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities, *Journal of Lipid Research*, 46 (6), 1239–1247.
- Drake, R.L., Vogl, W., and Mitchell, A.W.M., 2014, *Gray's anatomy for students*, 3rd ed., Churchill Livingstone/Elsevier, Edinburgh. ISBN 978-0-7020-5131-9.
- Dringen, R., 2000, Metabolism and functions of glutathione in brain, *Progress in Neurobiology*, 62 (6), 649–671.

- Duncan, J.S., 2007, Epilepsy surgery, *Clinical Medicine*, 7 (2), 137–142.
- Duncan, J.S., Sander, J.W., Sisodiya, S.M., Walker, M.C., 2006, Adult epilepsy, *Lancet*, 367 (9516), 1087–1100.
- Durmuş, A.S., Ünsaldı, E., 2005, Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve kırık iyileşmesi, *Doğu Anadolu Araştırmaları Dergisi*, 3, 20–27.
- Dündar, Y., Aslan, R., 1999, Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller - antioksidanlar, *Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi*, 2, 134–142.
- Eastham, R.D., 1957, The blood urea clearance and renal function, *British Journal of Urology*, 29 (2), 175–178.
- Emad, L.Z., James, E.S., 2002, Renal injury from valproic acid: case report and literature review, *Pediatric Neurology*, 27(4), 318–319.
- Emekli-Alturfan, E., Alev, B., Tunali, S., Oktay, S., Tunali-Akbay, T., Ozturk, L.K., Yanardag, R., Yarat, A., 2015, Effects of edaravone on cardiac damage in valproic acid induced toxicity, *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 45 (2), 166–172.
- Endo, M., Oyadomari, S., Terasaki, Y., Takeya, M., Suga, M., Mori, M., Gotoh, T., 2003, Induction of arginase I and II in bleomycin-induced fibrosis of mouse lung, *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 285, 313–321.
- 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.
- Evans, M.D., Cooke, M.S., 2004, Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids, *Bioessays*, 26 (5), 533–542.
- Fahey, J.W., 2005, *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties, Part 1, *Trees for Life Journal*, 1, 5–20.
- Fakurazi, S., Sharifudin, S.A., Arulselvan, P., 2012, *Moringa oleifera* hydroethanolic extracts effectively alleviate acetaminophen-induced hepatotoxicity in experimental rats through their antioxidant nature, *Molecules*, 17 (7), 8334–8350.
- Ferguson-Smith, A.C., Chen, Y.F., Newman, M.S., May, L.T., Sehgal, P.B., Ruddle, F.H., 1988, Regional localization of the interferon-beta 2/B-cell stimulatory factor 2/hepatocyte stimulating factor gene to human chromosome 7p15-p21, *Genomics*, 2 (3), 203–208.
- Fisher, R.S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J.H., Elger, C.E., Engel, J., Forsgren, L., French, J.A., Glynn, M., Hesdorffer, D.C., Lee, B.I., Mathern, G.W., Moshe, S.L., Perucca, E., Scheffer, I.E., Tomson, T., Watanabe, M., Wiebe, S., 2014, ILAE official report: A practical clinical definition of epilepsy, *Epilepsia*, 55 (4), 475–482.
- 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.

- Gaetani, G.F., Ferraris, A.M., Rolfo, M., Mangerini, R., Arena, S., Kirkman, H.N., 1996, Predominant role of catalase in the disposal of hydrogen peroxide within human erythrocytes, *Blood*, 87 (4), 1595–1599.
- Galaly, S.R., Abdella, E.M., Mohammed, H.M., Khadrawy, S.M., 2014, Effects of royal jelly on genotoxicity and nephrotoxicity induced by valproic acid in albino mice, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 3 (1), 1-15.
- Garg, A., Sui, P., Verheyden, J.M., Young, L.R., Sun, X., 2019, Consider the lung as a sensory organ: A tip from pulmonary neuroendocrine cells, *Current Topics in Developmental Biology*, 132, 67–89.
- Geyer, J.W., Dabich, D., 1971, Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates, *Analytical Biochemistry*, 39 (2), 412–417.
- Gezginci-Oktayoglu, S., Turkyilmaz, I.B., Ercin, M., Yanardag, R., Bolkent, S., 2015, Vitamin U has a protective effect on valproic acid-induced renal damage due to its anti-oxidant, anti-inflammatory, and anti-fibrotic properties, *Protoplasma*, 253 (1), 127–135.
- 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, *Pharmacogenetics and Genomic*, 23 (4), 236–241.
- Ghous, T., Rasheed, A., Yasin, K.A., Nasim, F., Younas, F., Andleeb, S., 2014, Exploring anti-acetylcholinesterase, antioxidant and metal chelating activities of extracts of *Moringa oleifera* L. for possible prevention and cure of Alzheimer's disease, *Scientific Research and Essays*, 9 (11), 523–527.
- Glodny, B., Unterholzner, V., Taferner, B., Hofmann, K.J., Rehder, P., Strasak, A., Petersen, J., 2009, Normal kidney size and its influencing factors – a 64-slice MDCT study of 1.040 asymptomatic patients, *BMC Urology*, 9 (1), 19.
- Goldberg, E.M., Coulter, D.A., 2013, Mechanisms of epileptogenesis: A convergence on neural circuit dysfunction, *Nature Reviews Neuroscience*, 14 (5), 337–349.
- Gough, P., Myles, I.A., 2020, Tumor necrosis factor receptors: Pleiotropic signaling complexes and their differential effects, *Frontiers in Immunology*, 11, 585880.
- Green, S.J., Mellouk, S., Hoffman, S.L., Meltzer, M.S., Nacy, C.A., 1990, Cellular mechanisms of nonspecific immunity to intracellular infection: Cytokine-induced synthesis of toxic nitrogen oxides from L-arginine by macrophages and hepatocytes, *Immunology Letters*, 25 (1–3), 15–19.
- Green, S.J., Nacy, C.A., Schreiber, R.D., Granger, D.L., Crawford, R.M., Meltzer, M.S., Fortier, A.H., 1993, Neutralization of gamma interferon and tumor necrosis factor alpha blocks *in vivo* synthesis of nitrogen oxides from L-arginine and protection against *Francisella tularensis* infection in *Mycobacterium bovis* BCG-treated mice, *Infection and Immunity*, 61 (2), 689–698.
- Guevara-Campos, J., González-Guevara, L., Vacaro-Bolívar, I., Rojas, J.M., 2009, Acute pancreatitis associated to the use of valproic acid, *Archivos de Neuro-Psiquiatria*, 67 (2-B), 513–515.
- Guo, C.Y., Ronen, G.M., Atkinson, S.A., 2001, Long-term valproate and lamotrigine treatment may be a marker for reduced growth and bone mass in children with epilepsy, *Epilepsia*, 42 (9), 1141–1147.

- Habig, W.H., Jakoby, W.B., 1981, Assays for differentiation of glutathione-S-transferases, *Methods in Enzymology*, 77, 398–405.
- Hall, J., 2011, *Guyton and Hall textbook of medical physiology*, 12th ed., Saunders/Elsevier, Philadelphia. ISBN 978-1-4160-4574-8.
- Halprin, K.M., Ohkawara, A., 1967, The measurement of glutathione in human epidermis using glutathione reductase, *Journal of Investigative Dermatology*, 48 (2), 149–152.
- Hammer, G.D. and McPhee, S.J., 2010, 7. *Pathophysiology of disease: An introduction to clinical medicine*, 6th ed., McGraw-Hill Medical, New York.
- Hamouda, M.H.M.A., Abdel Aal, F.S., El-Mashad, F.H.Y., 2019, Effect of sodium valproate on the structure of the renal cortex of adult male Albino rat and the role of cinnamon, *Al-Azhar Medical Journal*, 48 (1), 1-28.
- Hampton, M.B., Kettle, A.J., Winterbourn, C.C., 1998, Inside the neutrophil phagosome: Oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing, *Blood*, 92(9), 3007–3017.
- Hayyan, M., Hashim, M.A., Nashef, I.M., 2016, Superoxide ion: Generation and chemical implications, *Chemical Reviews*, 116 (5), 3029–3085.
- Heidari, R., Jafari, F., Khodaei, F., Shirazi Y.B., Niknahad, H., 2017, The mechanism of valproic acid-induced Fanconi syndrome involves mitochondrial dysfunction and oxidative stress in rat kidney, *Nephrology*, 23, 351–361.
- Heinecke, J.W., Li, W., Francis, G.A., Goldstein, J.A., 1993, Tyrosyl radical generated by myeloperoxidase catalyzes the oxidative cross-linking of proteins, *Journal of Clinical Investigation*, 91 (6), 2866–2872.
- Heinig, M., Johnson, R.J., 2006, Role of uric acid in hypertension, renal disease, and metabolic syndrome, *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 73 (12), 1059–1064.
- Heir, R., Stellwagen, D., 2020, TNF-mediated homeostatic synaptic plasticity: From *in vitro* to *in vivo* models, *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 565841.
- Hempstead, H., 2005, Moringa-the Miracle Tree, *Appropriate Technology*, 32 (1), 34.
- Hill, S., Lamberson, C.R., Xu, L., To, R., Tsui, H.S., Shmanai, V.V., Bekish, A.V., Awad, A.M., Marbois, B.N., Cantor, C.R., Porter, N.A., Clarke, C.F., Shchepinov, M.S., 2012, Small amounts of isotope-reinforced polyunsaturated fatty acids suppress lipid autoxidation, *Free Radical Biology and Medicine*, 53 (4), 893–906.
- Hille, R., 2005, Molybdenum-containing hydroxylases, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 433 (1), 107–116.
- Hirtz, D., Thurman, D.J., Gwinn-Hardy, K., Mohamed, M., Chaudhuri, A.R., Zalutsky, R., 2007, How common are the "common" neurologic disorders? *Neurology*, 68 (5), 326–337.
- Ho, Y.S., Xiong, Y., Ma, W., Spector, A., Ho, D.S., 2004, Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury, *Journal of Biological Chemistry*, 279 (31), 32804–32812.
- Hochhegger, B., 2019, Pulmonary acinus: understanding the computed tomography findings from an acinar perspective, *Lung*, 197 (3), 259–265.
- Hou, Y.C., Janczuk, A., Wang, P.G., 1999, Current trends in the development of nitric oxide donors, *Current Pharmaceutical Design*, 5 (6), 417–441.

- Huang, H.Y., Appel, L.J., Croft, K.D., Miller, E.R., Mori, T. A., Puddey, I.B., 2002, Effects of vitamin C and vitamin E on *in vivo* lipid peroxidation: Results of a randomized controlled trial, *American Journal of Clinical Nutrition*, 76 (3), 549–555.
- Hughes, J.R., 2009, Absence seizures: A review of recent reports with new concepts, *Epilepsy and Behavior*, 15 (4), 404–412.
- Hughes, R.E., 1964, Reduction of dehydroascorbic acid by animal tissues, *Nature*, 203 (4949), 1068–1069.
- Hukkeri, V.I., Nagathan, C.V., Karadi, R.V., Patil, B.S., 2006, Antipyretic and wound healing activities of *Moringa oleifera* Lam. in rats, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68 (1), 124–126.
- Iijima, R., Takahashi, H., Namme, R., Ikegami, S., Yamazaki, M., 2004, Novel biological function of sialic acid (*N*-acetylneuraminic acid) as a hydrogen peroxide scavenger, *FEBS Letters*, 561 (1–3), 163–166.
- Ilangaratne, N.B., Mannakkara, N.N., Bell, G.S., Sander, J.W., 2012, Phenobarbital: Missing in action, *Bulletin of the World Health Organization*, 90 (12), 871–871.
- International League Against Epilepsy (ILAE), 1989, Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes: Commission on classification and terminology of the international league against epilepsy, *Epilepsia*, 30 (4), 389–399.
- Iyer, R.K., Yoo, P.K., Kern, R.M., Rozengurt, N., Tsoa, R., O'Brien, W.E., Yu, H., Grody, W.W., Cederbaum, S.D., 2002, Mouse model for human arginase deficiency, *Molecular and Cellular Biology*, 22 (13), 4491–4498.
- Jackson, J.R., Eaton, W.W., Cascella, N.G., Fasano, A., Kelly, D.L., 2012, Neurologic and psychiatric manifestations of celiac disease and gluten sensitivity, *Psychiatric Quarterly*, 83 (1), 91–102.
- Jassim, A.M., 2013, Protective Effect of *Petroselinum crispum* (parsley) extract on histopathological changes in liver, kidney and pancreas induced by sodium valproate- in male rats, *Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences*, 4 (1), 20–27.
- Jochim, J., Rifkin-Zybutz, R., Geddes, J., Cipriani, A., 2019, Valproate for acute mania, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 10, CD004052.
- Joensuu, M., Lanoue, V., Hotulainen, P., 2018, Dendritic spine actin cytoskeleton in autism spectrum disorder, *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 84 (Pt B), 362–381.
- Joseph, P.D., 2010, Genetic variations in human glutathione transferase enzymes: Significance for pharmacology and toxicology, *Human Genomics and Proteomics*, 2010, 876940.
- Kaibori, M., Sakitani, K., Oda, M., Kamiyama, Y., Masu, Y., Okumura, T., 1999, Immunosuppressant FK506 inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression at a step of NF- κ B activation in rat hepatocytes, *Journal of Hepatology*, 30 (6), 1138–1145.
- Kalantar-Zadeh, K., Jafar, T.H., Nitsch, D., Neuen, B.L., Perkovic, V., 2021, Chronic kidney disease, *Lancet*, 398 (10302), 786–802.
- Kamijo, R., Gericitano, J., Shapiro, D., Green, S.J., Aguet, M., Le, J., Vilcek, J., 1995, Generation of nitric oxide and clearance of interferon-gamma after BCG infection are impaired in mice that lack the interferon-gamma receptor, *Journal of Inflammation*, 46 (1), 23–31.

- Kandemir, F.M., Ileriturk, M., Gur, C., 2022, Rutin protects rat liver and kidney from sodium valproate-induced damage by attenuating oxidative stress, ER stress, inflammation, apoptosis and autophagy, *Molecular Biology Reports*. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07395-0>
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş., 2016, Serbest radikaller, *MAKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4 (1), 50–59.
- Khor, K.Z., Lim, V., Moses, E.J., Abdul Samad, N., 2018, The *in vitro* and *in vivo* anticancer properties of *Moringa oleifera*, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1071243.
- Kim, S.J., Jhun, B.W., Lee, J.E., Kim, K., Choi, H.Y., 2014, A case of drug-induced interstitial pneumonitis caused by valproic acid for the treatment of seizure disorders, *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 77 (3), 145–148.
- Kiss, A., Tratsiakovich, Y., Gonon, A., Fedotovskaya, O., Lanner, J., Andersson, D., Yang, J., Pernow, J., 2014, The role of arginase and Rho kinase in cardioprotection from remote ischemic preconditioning in non-diabetic and diabetic rat *in vivo*, *PLoS One*, 9 (8), e104731.
- Klebanoff, S.J., 2005, Myeloperoxidase: Friend and foe, *Journal of Leukocyte Biology*, 77 (5), 598–625.
- Knights, M.J., Finlay, E., 2014, The effects of sodium valproate on the renal function of children with epilepsy, *Pediatric Nephrology*, 29 (7), 1131–1138.
- Kochen, W., Schneider, A., Ritz, A., 1983, Abnormal metabolism of valproic acid in fatal hepatic failure, *European Journal of Pediatrics*, 141, 30–35.
- Kolgiri, V., Patil, V.W., 2017, Protein carbonyl content: A novel biomarker for aging in HIV/AIDS patients, *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 21 (1), 35–41.
- Koster, T.D., Slebos, D.J., 2016, The fissure: interlobar collateral ventilation and implications for endoscopic therapy in emphysema, *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 11, 765–773.
- Krucoff, M.O., Chan, A.Y., Harward, S.C., Rahimpour, S., Rolston, J.D., Muh, C., Englot, D.J., 2017, Rates and predictors of success and failure in repeat epilepsy surgery: A meta-analysis and systematic review, *Epilepsia*, 58 (12), 2133–2142.
- Kulkarni, M.L., Zaheeruddin, M., Shenoy, N., Vani, H.N., 2006, Fetal valproate syndrome, *Indian Journal of Pediatrics*, 73 (10), 937–939.
- Kwan, S.Y., 2010, The role of intravenous valproate in convulsive status epilepticus in the future, *Acta Neurologica Taiwanica*, 19 (2), 78–81.
- Le Van Quyen, M., Navarro, V., Martinerie, J., Baulac, M., Varela, F.J., 2003, Toward a neurodynamical understanding of ictogenesis, *Epilepsia*, 44 (12), 30–43.
- Lea, M., 2010, Bioremediation of turbid surface water using seed extract from *Moringa oleifera* Lam. Tree, *Current Protocols in Microbiology*, 16, 1–14.
- Leaver, M.J., George, S.G., 1998, A piscine glutathione S-transferase which efficiently conjugates the end-products of lipid peroxidation, *Marine Environmental Research*, 46 (1–5), 71–74.

- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepień, A., Kadziolka, A., 1986, The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis, *Clinica Chimica Acta*, 155, 275–283.
- Lei, Y., Wang, K., Deng, L., Chen, Y., Nice, E.C., Huang, C., 2014, Redox regulation of inflammation: Old elements, a new story, *Medicinal Research Reviews*, 35 (2), 306–340.
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel, S., Stantman, E.R., 1990, Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, *Methods in Enzymology*, 186, 464–478.
- Lewis, S.L., Bucher, L., Heitkemper, M.M., Harding, M.M., Kwong, J. and Roberts, D., 2016, *Medical-surgical nursing: assessment and management of clinical problems*. 10th ed., Elsevier Health Sciences, St. Louis, Missouri, 1025.
- Lin, J., Zhang, K., Cao, X., Zhao, Y., Khan, N.U., Liu, X., Tang, X., Chen, M., Zhang, H., Shen, L., 2022, iTRAQ-based proteomics analysis of rat cerebral cortex exposed to valproic acid before delivery, *ACS Chemical Neuroscience*, 13 (5), 648–663.
- Litvinov, D., Mahini, H., Garelnabi, M., 2012, Antioxidant and anti-inflammatory role of paraoxonase 1: Implication in arteriosclerosis diseases, *North American Journal of Medical Sciences*, 4 (11), 523–532.
- Litwack, G., Ketterer, B., Arias, I.M., 1971, Ligandin: A hepatic protein which binds steroids, bilirubin, carcinogens and a number of exogenous organic anions, *Nature*, 234 (5330), 466–467.
- Liu, H., Weng, L., Yang, C., 2017, A review on nanomaterial-based electrochemical sensors for H₂O₂, H₂S and NO inside cells or released by cells, *Microchimica Acta*, 184 (5), 1267–1283.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., 2010, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacognosy Reviews*, 4 (8), 118–126.
- Lopes da Silva, F., Blanes, W., Kalitzin, S.N., Parra, J., Suffczynski, P., Velis, D.N., 2003, Epilepsies as dynamical diseases of brain systems: Basic models of the transition between normal and epileptic activity, *Epilepsia*, 44 (12), 72–83.
- 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.
- Lowry, O.H., Rosebrough, H.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265–275.
- Löscher, W., 2002, Basic pharmacology of valproate: A review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy, *CNS Drugs*, 16 (10), 669–694.
- Lu, S.C., 2013, Glutathione synthesis, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General subjects*, 1830 (5), 3143–3153.
- Maarsingh, H., Pera, T., Meurs, H., 2008, Arginase and pulmonary diseases, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 378 (2), 171–184.
- Mackness, M.I., Durrington P.N., Mackness B., 2004, The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: Potential for therapeutic intervention, *American Journal of Cardiovascular Drugs*, 4 (4), 211–217.

- Magaji, U.F., Sacan, O., Yanardag, R., 2020, Alpha amylase, alpha glucosidase and glycation inhibitory activity of *Moringa oleifera* extracts, *South African Journal of Botany*, 128, 225–230.
- Magaji, U.F., Sacan, O., Yanardag, R., 2022, Antilipase, antiacetylcholinesterase and antioxidant activities of *Moringa oleifera* extracts, *Romanian Biotechnological Letters*, 27 (1), 3208–3214.
- Makkar, H.P.S., Becker, K., 1996, Nutritional value and anti-nutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves, *Animal Feed Science and Technology*, 63, 221–228.
- Malle, J., Frank, S.A., Wei, T., Hide, S.H., Larry, W.W., 1996, Cytotoxicity of unsaturated metabolites of valproic acid and protection by vitamins C and E in glutathione-depleted rat hepatocytes, *Toxicology*, 112 (1), 69–85.
- Mannervik, B., 1987, The enzymes of glutathione metabolism: An overview, *Biochemical Society Transactions*, 15 (4), 717–718.
- Marberger, H., Huber, W., Bartsch, G., Schulte, T., Swoboda, P., 1974, Orgotein: A new anti-inflammatory metalloprotein drug evaluation of clinical efficacy and safety in inflammatory conditions of the urinary tract, *International Urology and Nephrology*, 6 (2), 61–74.
- Martin, K., Jorg, S., Malte, H., Ertan, M., Thorsten, R., 2004, Fanconi syndrome caused by antiepileptic therapy with valproic acid, *Epilepsia*, 45 (7), 868–871.
- Martin-McGill, K.J., Jackson, C.F., Bresnahan, R., Levy, R.G., Cooper, P.N., 2018, Ketogenic diets for drug-resistant epilepsy, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11, CD001903.
- Martins, M., Paim, C., Steppe, M., 2011, LC and UV methods for lamotrigine determination in pharmaceutical formulation, *Chromatography Research International*, 860168.
- Matias, M., Silvestre, S., Falcao, A., Alves, G., 2016, Recent highlights on molecular hybrids potentially useful in central nervous system disorders, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 17 (6), 486–517.
- McGinness, J.E., Proctor, P.H., Demopoulos, H.B., Hokanson, J.A., Kirkpatrick, D.S., 1978, Amelioration of cis-platinum nephrotoxicity by orgotein (superoxide dismutase), *Physiological Chemistry and Physics*, 10 (3), 267–277.
- Meador, K.J., Baker, G.A., Finnell, R.H., Kalayjian, L.A., Liporace, J.D., Loring, D.W., Mawer, G., Pennell, P.B., Smith, J.C., Wolff, M.C., 2006, In utero antiepileptic drug exposure: Fetal death and malformations, *Neurology*, 67 (3), 407–412.
- Melo, V., Vargas, N., Quirino, T., Calvo, C.M.C., 2013, *Moringa oleifera* L. - An underutilized tree with macronutrients for human health, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25 (10), 785–789.
- Mikocka-Walus, A.A., Turnbull, D.A., Moulding, N.T., Wilson, I.G., Andrews, J.M., Holtmann, G.J., 2007, Controversies surrounding the comorbidity of depression and anxiety in inflammatory bowel disease patients: A literature review, *Inflammatory Bowel Diseases*, 13 (2), 225–234.
- 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.

- Mithieux, S.M., Weiss, A.S., 2005, Elastin, *Advances in Protein Chemistry*, 70, 437–461.
- Moore, S.J., Turnpenny, P., Quinn, A., Glover, S., Lloyd, D.J., Montgomery, T., Dean, J.C.S., 2000, A clinical study of 57 children with fetal anticonvulsant syndromes, *Journal of Medical Genetics*, 37 (7), 489–497.
- Morris, S.M., 2002, Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism, *Annual Review of Nutrition*, 22 (1), 87–105.
- Morsy, B.M., Safwat, G.M., Hussein, D. A., Samy, R. M., 2017, The protective effect of *Nigella sativa* oil extract against neurotoxicity induced by valproic acid , *International Journal of Bioassays*, 6 (9), 5474-5484.
- Muhammad, H.I., Asmawi, M.Z., Karim K., Nurzalina A., 2016, A review on promising phytochemical, nutritional and glycemic control studies on *Moringa oleifera* Lam. in tropical and sub-tropical regions, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6 (10), 896–902.
- Muthukumar, K., Nachiappan, V., 2010, Cadmium-induced oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*, *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 47 (6), 383–387.
- Muthukumar, K., Rajakumar, S., Sarkar, M.N., Nachiappan, V., 2011, Glutathione peroxidase 3 of *Saccharomyces cerevisiae* protects phospholipids during cadmium-induced oxidative stress, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 99 (4), 761–771.
- Myloie, A.A., Collins, H., Umbles, C., Kyle, J., 1986, Erythrocyte SOD activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 82, 512–520.
- Nahon, I., Waddington, G., Dorey, G., Adams, R., 2011, The history of urologic surgery: from reeds to robotics, *Urologic Nursing*, 31 (3), 173–180.
- Najafi, N., Heidari, R., Jamshidzadeh, A., Fallahzadeh, H., Omid, M., Abdoli, N., Najibi, A., Azarpira, N., Niknahad, H., 2017, Valproic acid-induced hepatotoxicity and the protective role of thiol reductants, *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 3 (2), 63–70
- Nandave, M., Ojha, S.K., Joshi, S., Kumari, S., Arya, D.S., 2009, *Moringa oleifera* leaf extract prevents isoproterenol-induced myocardial damage in rats: Evidence for an antioxidant, antiperoxidative, and cardioprotective intervention, *Journal of Medicinal Food*, 12 (1), 47–55.
- National Clinical Guideline Centre (NCGC), 2012, *The epilepsies: The diagnosis and management of the epilepsies in adults and children in primary and secondary care*, National Institute for Health and Clinical Excellence, 21–28.
- Nevitt, S.J., Marson, A.G., Tudur Smith, C., 2019, Carbamazepine versus phenytoin monotherapy for epilepsy: An individual participant data review, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2019 (7), CD001911.
- Nevitt, S.J., Marson, A.G., Weston, J., Tudur Smith, C., 2018, Sodium valproate versus phenytoin monotherapy for epilepsy: An individual participant data review, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018 (8), CD001769.
- Newton, C.R., Garcia, H.H., 2012, Epilepsy in poor regions of the world, *Lancet*, 380 (9848), 1193–1201.
- Ng, C.J., Wadleigh, D.J., Gangopadhyay, A., Hama, S., Grijalva, V.R., Navab, M., Fogelman, A.M., Reddy, S.T., 2001, Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with

- antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein, *Journal of Biological Chemistry*, 276 (48), 44444–44449.
- Noebels, J.L. and Avoli, M., 2012, *Jasper's basic mechanisms of the epilepsies*, Oxford University Press, 466–470.
- Nwidu, L.L., Elmorsy, E., Aprioku, J.S., Siminialayi, I., Carter, W.G., 2018, *In vitro* anti-cholinesterase and antioxidant activity of extracts of *Moringa oleifera* plants from Rivers State, Niger Delta, Nigeria, *Medicines*, 5 (3), 71.
- Oakley, A., 2011, Glutathione transferases: A structural perspective, *Drug Metabolism Reviews*, 43 (2), 138–151.
- Oboh, G., Ademiluyi, A.O., Ademosun, A.O., Olasehinde, T.A., Oyeleye, S.I., Boligon, A.A., Athayde, M.L., 2015, Phenolic extract from *Moringa oleifera* leaves inhibits key enzymes linked to erectile dysfunction and oxidative stress in rats' penile tissues, *Biochemistry Research International*, 175950, 1–8.
- Oby, E., Janigro, D., 2006, The blood-brain barrier and epilepsy, *Epilepsia*, 47 (11), 1761–1774.
- Oktay, S., Alev, B., Tunali, S., Emekli-Alturfan, E., Tunali-Akbay, T., Koc-Ozturk, L., 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.
- Oktay, S., Alev-Tüzüner, B., Tunali, S., Ak, E., Emekli-Alturfan, E., Tunali-Akbay, T., Koç-Öztürk, L., Çetinel, S., Yanardağ, R., Yarat, A., 2017, Investigation of the effects of edaravone on valproic acid induced tissue damage in pancreas, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21 (3), 570–577.
- Oktay, Ş., Alev, B., Koc Ozturk, L., Tunali, S., Demirel, S., Emekli Alturfan, E., Tunali-akbay, T., Akyuz, S., Yanardag, R., Yarat, A., 2016, Edaravone ameliorates valproate-induced gingival toxicity by reducing oxidative-stress, inflammation and tissue damage, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20 (3), 243–251.
- Olsen, K.B., Tauboll, E., Gjerstad, L., 2007, Valproate is an effective, well-tolerated drug for treatment of status epilepticus/serial attacks in adults, *Acta Neurologica Scandinavica Supplementum*, 187, 51–54.
- Omidipour, R., Zarei, L., Boroujeni, M.B., Rajabzadeh, A., 2021, Protective effect of thyme honey against valproic acid hepatotoxicity in Wistar rats, *BioMed Research International*, 8839898.
- Ornoy, A., Weinstein-Fudim, L., Becker, M., 2022, SAME, choline, and valproic acid as possible epigenetic drugs: Their effects in pregnancy with a special emphasis on animal studies, *Pharmaceuticals*, 15, 192.
- Ouedraogo, M., Lamien-Sanou, A., Ramde, N., Ouedraogo, A.S., Ouedraogo, M., Zongo, S.P., Goumbri, O., Duez, P., Guissou, P.I., 2013, Protective effect of *Moringa oleifera* leaves against gentamicin-induced nephrotoxicity in rabbits, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65 (3), 335–339.
- Owens, M.J., Nemeroff, C.B., 2003, Pharmacology of valproate, *Psychopharmacology Bulletin*, 37 (2), 17–24.
- Oztay, F., Tunali, S., Kayalar, O., Yanardag, R., 2020, The protective effect of vitamin U on valproic acid-induced lung toxicity in rats via amelioration of oxidative stress, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35, e22602.

- Öztağ, M., Güneş, F.E., 2022, Validation of a food frequency questionnaire for assessing total antioxidant status, *Clinical Nutrition ESPEN*, 48, 351–355.
- Pal, S.K., Mukherjee, P.K., Saha, B.P., 1995, Studies on the antiulcer activity of *Moringa oleifera* leaf extract on gastric ulcer models in rats, *Phytotherapy Research*, 9, 463–465.
- Pandey, A., Pandey, R.D., Tripathi, P., Gupta, P.P., Haider, J., Bhatt, S., Singh, A.V., 2012, *Moringa oleifera* Lam. (Sahijan) - A plant with a plethora of diverse therapeutic benefits: An updated retrospection, *Medicinal Aromatic Plants*, 1, 101.
- Pandolfo, M., 2011, Genetics of epilepsy, *Seminars in Neurology*, 31 (5), 506–518.
- Panebianco, M., Rigby, A., Weston, J., Marson, A.G., 2015, Vagus nerve stimulation for partial seizures, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2015 (4), CD002896.
- Parthasarathy, S., Raghavamenon, A., Garelnabi, M.O., Santanam, N., 2010, Oxidized low-density lipoprotein, free radicals and antioxidant protocols, *Methods in Molecular Biology*, 610, 403–417.
- Pastore, A., Piemonte, F., Locatelli, M., Lo Russo, A., Gaeta, L.M., Tozzi, G., Federici, G., 2001, Determination of blood total, reduced, and oxidized glutathione in pediatric subjects, *Clinical Chemistry*, 47 (8), 1467–1469.
- Perez, K.M., Laughon, M., 2015, Sildenafil in term and premature infants: A systematic review, *Clinical Therapeutics*, 37 (11), 2598–2607.
- Perucca, E., 2002, Pharmacological and therapeutic properties of valproate: A summary after 35 years of clinical experience, *CNS Drugs*, 16 (10), 695–714.
- Perucca, P., Gilliam, F.G., 2012, Adverse effects of antiepileptic drugs, *Lancet Neurology*, 11 (9), 792–802.
- Peter, K.V., 2008, *Underutilized and underexploited horticultural crops*, 4th ed., New India Publishing, 112.
- Pompella, A., Visvikis, A., Paolicchi, A., De Tata, V., Casini, A.F., 2003, The changing faces of glutathione, a cellular protagonist, *Biochemical Pharmacology*, 66 (8), 1499–1503.
- Pourahmad, J., Eskandari, M.R., Kaghazi, A., Shaki, F., Shahraki, J., Fard, J.K., 2012, A new approach on valproic acid induced hepatotoxicity: Involvement of lysosomal membrane leakiness and cellular proteolysis, *Toxicology in vitro*, 26, 545–551.
- Rakitin A., 2017, Does valproic acid have potential in the treatment of diabetes mellitus? *Frontiers in Endocrinology*, 8:147.
- Rana, A., Musto, A.E., 2018, The role of inflammation in the development of epilepsy, *Journal of Neuroinflammation*, 15 (1), 144.
- Ranganathan, L.N., Ramaratnam S., 2005, Vitamins for epilepsy, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2005 (2), CD004304.
- Raza, M., Al-Bekairi, A.M., Ageel, A.M., Qureshi, S., 1997, Biochemical basis of sodium valproate hepatotoxicity and renal tubular disorder: Time dependence of peroxidative injury, *Pharmacological Research*, 35, 153–157.
- Rice-Evans, C.A., Gopinathan, V., 1995, Oxygen toxicity, free radicals and antioxidants in human disease: Biochemical implications in atherosclerosis and the problems of premature neonates, *Essays in Biochemistry*, 29, 39–63.

- Richter, R.J., Jarvik, G.P., Furlong, C.E., 2010, Paraoxonase 1 status as a risk factor for disease or exposure, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 660, 29–35.
- Rolski, F., Błyszczuk, P., 2020, Complexity of TNF- α signaling in heart disease, *Journal of Clinical Medicine*, 9 (10), 3267.
- Ruttarattanamongkol, K., Petrasch, A., 2015, Antimicrobial activities of *Moringa oleifera* seed and seed oil residue and oxidative stability of its cold pressed oil compared with extra virgin olive oil, *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 37, 587–594.
- Saidu, Y., Muhammad, S.A., Bilbis, L.S., Sani, B.M., 2016, Inhibitory activity of fractions of *Senna nigricans* toward protein tyrosine phosphatase 1B and dipeptidyl peptidase IV, *Journal of Medicinal Plants Research*, 10 (18), 242–247.
- Salem, M.E., Eknoyan, G., 1999, The kidney in ancient Egyptian medicine: where does it stand? *American Journal of Nephrology*, 19 (2), 140–147.
- Samra, M., Abcar, A.C., 2012, False estimates of elevated creatinine, *Permanente Journal*, 16 (2), 51–52.
- Sancar Baş, S., Türkyılmaz, I.B., Bolkent, Ş., Yanardag, R., 2017, The influence of vitamin U supplementation on liver injury of amiodarone-administered rats, *IUFS Journal of Biology*, 75 (1), 1–10.
- Sandilands, E.A., Dhaun, N., Dear, J.W., Webb, D.J., 2013, Measurement of renal function in patients with chronic kidney disease, *British Journal of Clinical Pharmacology*, 76 (4), 504–515.
- Sarabia-Sanchez, M.J., Sanchez-Munoz, M.A., Perez-Velazquez, J.R., Valdez-Solana, M.A., Avitia-Dominguez, C., Tellez-Valencia A., Sierra-Campos, E., 2017, Modes of inhibition of human protein-tyrosine phosphatase 1b and aldose reductase by *Moringa oleifera* Lam leaves extract, *MOJ Bioorganic and Organic Chemistry*, 1 (1), 00005.
- Schafer, F.Q., Buettner, G.R., 2001, Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple, *Free Radical Biology and Medicine*, 30 (11), 1191–1212.
- Scholz, R.W., Graham, K.S., Gumprich, E., Reddy, C.C., 1989, Mechanism of interaction of vitamin E and glutathione in the protection against membrane lipid peroxidation, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 570 (1), 514–517.
- Schrier, R.W., Berl, T., Harbottle, J.A., 1972, Mechanism of the antidiuretic effect associated with interruption of parasympathetic pathways, *Journal of Clinical Investigation*, 51 (10), 2613–2620.
- Segui, J., Gironella, M., Sans, M., Granell, S., Gil, F., Gimeno, M., Coronel, P., Pique, J.M., Panes, J., 2004, Superoxide dismutase ameliorates TNBS-induced colitis by reducing oxidative stress, adhesion molecule expression, and leukocyte recruitment into the inflamed intestine, *Journal of Leukocyte Biology*, 76 (3), 537–544.
- Selvaratnam, J., Robaire, B., 2016, Overexpression of catalase in mice reduces age-related oxidative stress and maintains sperm production, *Experimental Gerontology*, 84, 12–20.
- Sethi, J.K., Hotamisligil, G.S., 2021, Metabolic messengers: Tumour necrosis factor, *Nature Metabolism*, 3 (10), 1302–1312.

- Shafaghi, A., Shahrababaki, S.S.V., Aminzadeh, A., Heidari, M.R., Meymandi, M.S., Bashiri, H., 2022, The effect of early handling on anxiety-like behaviors of rats exposed to valproic acid pre-and post-natally, *Neurotoxicology and Teratology*, 89 (2022), 107050.
- Shami, P.J., Moore, J.O., Gockerman, J.P., Hathorn, J.W., Misukonis, M.A., Weinberg, J.B., 1995, Nitric oxide modulation of the growth and differentiation of freshly isolated acute non-lymphocytic leukemia cells, *Leukemia Research*, 19 (8), 527–533.
- Shang, Y., Siow, Y.L., Isaak, C.K., Karmin, O., 2016, Downregulation of glutathione biosynthesis contributes to oxidative stress and liver dysfunction in acute kidney injury, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 9707292.
- Sharifudin, S.A., Fakurazi, S., Hidayat, M.T., Hairuszah, I., Moklas M.A.M., Arulselvan, P., 2013, Therapeutic potential of *Moringa oleifera* extracts against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats, *Pharmaceutical Biology*, 51 (3), 279–288.
- Shemesh, O., Golbetz, H., Kriss, J.P., Myers, B.D., 1985, Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients, *Kidney International*, 28 (5), 830–838.
- Shen, D., Dalton, T.P., Nebert, D.W., Shertzer, H.G., 2005, Glutathione redox state regulates mitochondrial reactive oxygen production, *Journal of Biological Chemistry*, 280, 25305–25312.
- Shorvon, S.D., 2011, *The causes of epilepsy: Common and uncommon causes in adults and children*. Cambridge University Press, 467, ISBN 978-1-139-49578-3.
- Shunmoogam, N., Naidoo, P., Chilton, R., 2018, Paraoxonase (PON)-1: A brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance, *Vascular Health and Risk Management*, 14, 137–143.
- Siddhuraju, P., Becker, K., 2003, Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2144–2155.
- Sies, H., 1993, Strategies of antioxidant defense, *European Journal of Biochemistry*, 215 (2), 213–219.
- Sies, H., 1997, Oxidative stress: Oxidants and antioxidants, *Experimental Physiology*, 82 (2), 291–295.
- Singh, D., Arya, P.V., Aggarwal, V.P., Gupta, R.S., 2014, Evaluation of antioxidant and hepatoprotective activities of *Moringa oleifera* Lam. leaves in carbon tetrachloride-intoxicated rats, *Antioxidants*, 3 (3), 569–591.
- 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 (10), 3562–3566.
- Song, Z., Deaciuc, I., Song, M., Lee, D.Y., Liu, Y., Ji, X., McClain, C., 2006, Silymarin protects against acute ethanol-induced hepatotoxicity in mice, *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 30 (3), 407–413.
- Srikanth, L., Venkatesh, K., Sunitha, M.M., Kumar, P.S., Chandrasekhar, C., Vengamma, B., Sarma, P.V.G.K., 2015, *In vitro* generation of type-II pneumocytes can be initiated in human CD34+ stem cells, *Biotechnology Letters*, 38 (2), 237–242.
- Standring, S., 2008, *Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice*, 40th ed., Churchill Livingstone/Elsevier, Edinburgh. ISBN 978-0-443-06684-9.

- Stanke, F., 2015, The contribution of the airway epithelial cell to host defense, *Mediators of Inflammation*, 463016.
- Stohs, S.J., Hartman, M.J., 2015, Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera*, *Phytotherapy Research*, 29 (6), 796–804.
- Sultana, B., Anwar, F., 2008, Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants, *Food Chemistry*, 108, 879–884.
- Sungthong, B., Rattarom, R., Sato, V., Sato, H., 2019, Development and validation of a new RP-HPLC-UV method for the simultaneous determination of phenytoin impurities, benzophenone, and benzyl, *Acta Chromatographica*, 31, 241–245.
- Suzuki, Y.J., Carini, M., Butterfield, D.A., 2010, Protein carbonylation, *Antioxidants and Redox Signaling*, 12(3), 323–325.
- Swardfager, W., Lanctot, K., Rothenburg, L., Wong, A., Cappell, J., Herrmann, N., 2010, A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease, *Biological Psychiatry*, 68 (10), 930–941.
- Tefekli, A., Cezayirli, F., 2013, The history of urinary stones: in parallel with civilization, *Scientific World Journal*, 423964.
- Tomas, M., Latorre, G., Senti, M., Marrugat, J., 2004, The antioxidant function of high density lipoproteins: A new paradigm in atherosclerosis, *Revista Espanola de Cardiologia*, 57 (6), 557–569.
- Tong, V., Teng, X.W., Chang, T.K.H., Abbott, F.S., 2005, Valproic acid I: Time course of lipid peroxidation biomarkers, liver toxicity, and valproic acid metabolite levels in rats, *Toxicological Sciences*, 86 (2), 427–435.
- Toppo, R., Roy, B.K., Gora, R.H., Baxla, S.L., Kumar, P., 2015, Hepatoprotective activity of *Moringa oleifera* against cadmium toxicity in rats, *Veterinary World*, 8 (4), 537–540.
- Tortora, G.J., and Anagnostakos, N.P., 1987, *Principles of anatomy and physiology*, 5th ed., Harper & Row Publishers, New York. ISBN 978-0-06-350729-6.
- Traynor, J., Mactier, R., Geddes, C.C., Fox, J.G., 2006, How to measure renal function in clinical practice, *British Medical Journal*, 333 (7571), 733–737.
- Tunali, S., Cimen, E.S., Yanardag, R., 2020, The effects of chard on brain damage in valproic acid-induced toxicity, *Journal of Food Biochemistry*, 44 (10), e13382.
- Tunali, S., Kahraman, S., Yanardag, R., 2015, Vitamin U, a novel free radical scavenger, prevents lens injury in rats administered with valproic acid, *Human and Experimental Toxicology*, 34 (9), 904-910.
- Tunali-Akbay, T., Alev, B., Tunali, S., Oktay, S., Emekli-Alturfan, E., Ipekci, H., Ozturk, L.K., Yanardag, R., Yarat, A., 2017, Protective role of edaravone against valproic acid induced changes in skin, *Indian Journal of Experimental Biology*, 55, 286-291
- Turkyilmaz, I.B., Altas, N., Arisan, I., Yanardag, R., 2021, Effect of vitamin B₆ on brain damage in valproic acid induced toxicity, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35 (9), e22855.
- Turkyilmaz, I.B., Bahar, B.S., Yanardag, R., 2020, Alpha-lipoic acid prevents brain injury in rats administered with valproic acid, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2020, e22580.

- Umur, A.S., Selcuki, M., Bursali, Umur A.N., Kara B., Vatansever H.S., Duransoy Y.K., 2012, Simultaneous folate intake may prevent adverse effect of valproic acid on neuroregulating nervous system, *Child's Nervous System*, 28, 729–737.
- Ustundag, U.V., Tunali, S., Alev, B., Ipekci, H., Emekli-Alturfan, E., Akbay, T.T., Yanardag, R., Yarat, A., 2016, Effects of chard (*Beta vulgaris L. var. cicla*) on cardiac damage in valproic acid-induced toxicity. *Journal of Food Biochemistry*, 40 (2), 132–139.
- Uwaifo, F., Obi, E., Ngokere, A., Olaniyan, M.F., Oladeinde, B.H., Mudiaga, A., 2018, Histological and biochemical changes induced by ethanolic leaf extract of *Moringa oleifera* in the heart and kidneys of adult wistar rats, *Imam Journal of Applied Sciences*, 3, 59–62.
- Valko, M., Morris, H., Cronin, M.T., 2005, Metals, toxicity and oxidative stress, *Current Medicinal Chemistry*, 12 (10), 1161–208.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 160 (1), 1–40.
- van den Berg, M.P.M., Meurs, H., Gosens, R., 2018, Targeting arginase and nitric oxide metabolism in chronic airway diseases and their co-morbidities, *Current Opinion in Pharmacology*, 40, 126–133.
- Van Lommel, A., 2001, Pulmonary neuroendocrine cells (PNEC) and neuroepithelial bodies (NEB): chemoreceptors and regulators of lung development, *Paediatric Respiratory Reviews*, 2 (2), 171–176.
- Vats, S., Gupta, T., 2017, Evaluation of bioactive compounds and antioxidant potential of hydroethanolic extract of *Moringa oleifera* Lam. from Rajasthan, India, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 239–248.
- Verma, V.K., Singh, N., Saxena, P., Singh, R., 2012, Anti-ulcer and antioxidant activity of *Moringa oleifera* (lam) leaves against aspirin and ethanol induced gastric ulcer in rats, *International Research Journal of Pharmaceuticals*, 2 (2), 46–57.
- Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S., 2004, The antioxidants and pro-antioxidants network: An overview, *Current Pharmaceutical Design*, 10 (14), 1677–1694.
- Vigor, C., Bertrand-Michel, J., Pinot, E., Oger, C., Vercauteren, J., Le Faouder, P., Galano, J.M., Lee, J.C., Durand, T., 2014, Non-enzymatic lipid oxidation products in biological systems: Assessment of the metabolites from polyunsaturated fatty acids, *Journal of Chromatography B*, 964, 65–78.
- Vitart, V., Rudan, I., Hayward, C., Gray, N.K., Floyd, J., Palmer, C.N., Knott, S.A., Kolcic, I., Polasek, O., Graessler, J., Wilson, J.F., Marinaki, A., Riches, P.L., Shu, X., Janicijevic, B., Smolej-Narancic, N., Gorgoni, B., Morgan, J., Campbell, S., Biloglav, Z., Barac-Lauc L., Pericic, M., Klaric, I.M., Zgaga, L., Skaric-Juric, T., Wild, S.H., Richardson, W.A., Hohenstein, P., Kimber, C.H., Tenesa, A., Donnelly, L.A., Fairbanks, L.D., Aringer, M., McKeigue, P.M., Ralston, S.H., Morris, A.D., Rudan, P., Hastie, N.D., Campbell, H., Wright, A.F., 2008, SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout, *Nature Genetics*, 40 (4), 437–442.
- Walter, F.B., 2004, *Medical physiology: a cellular and molecular approach*. Elsevier/Saunders. ISBN 978-1-4160-2328-9.

- Wang, B., Brand-Miller, J., 2003, The role and potential of sialic acid in human nutrition, *European Journal of Clinical Nutrition*, 57 (11), 1351–1369.
- Wang, H., Ran, J., Jiang, T., 2014, Urea, *Subcellular Biochemistry*, 73, 7–29.
- Waterman, C., Cheng, D.M., Rojas-Silva, P., Poulev, A., Dreifus, J., Lila, M.A., Raskin, I., 2014, Stable, water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation *in vitro*, *Phytochemistry*, 103, 114–122.
- Wei, H., Frenkel, K., 1991, *In vivo* formation of oxidized DNA bases in tumor promoter-treated mouse skin, *American Association for Cancer Research*, 51 (16), 4443–4449.
- Welch, R.H., Tietje A.H., 2017, Investigation of *Moringa oleifera* leaf extract and its cancer-selective antiproliferative properties, *Journal of the South Carolina Academy of Science*, 15 (2), 8–13.
- Wendel, A., 1981, Glutathione peroxidase, *Methods in Enzymology*, 77, 325–333.
- Weston, J., Bromley, R., Jackson, C.F., Adab, N., Clayton-Smith, J., Greenhalgh, J., Hounsborne, J., McKay, A.J., Tudur Smith, C., Marson, A.G., 2016, Monotherapy treatment of epilepsy in pregnancy: Congenital malformation outcomes in the child, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11, CD010224.
- WHO, 2019, *Epilepsy: a public health imperative*. Publication of World Health Organisation, ISBN: 978-92-4-151593-1.
- Wilcox, C.S., 2010, Effects of tempol and redox-cycling nitroxides in models of oxidative stress, *Pharmacology and Therapeutics*, 126 (2), 119–145.
- Wu, G., Fang, Y., Yang, S., Lupton, J.R., Turner, N.D., 2004b, Glutathione metabolism and its implications for health, *Journal of Nutrition*, 134 (3), 489–492.
- Wu, G., Morris, S.M., 1998, Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond, *Biochemical Journal*, 336 (1), 1–17.
- Wu, S., Legido, A., De Luca, F., 2004a, Effects of valproic acid on longitudinal bone growth, *Journal of Child Neurology*, 19 (1), 26–30.
- Xue, L.Y., Ritaccio, A.L., 2006, Reflex seizures and reflex epilepsy, *American Journal of Electroneurodiagnostic Technology*, 46 (1), 39–48.
- Yadav, J., Verma, A.K., Garg, R.K., Ahmad, K., Shiuli, Mahdi, A.A., Srivastava, S., 2020, Sialic acid associated with oxidative stress and total antioxidant capacity (TAC) expression level as a predictive indicator in moderate to severe Alzheimer's disease, *Experimental Gerontology*, 141, 111092.
- Yadav, S., Tiwari, V., Singh, M., Yadav, R.K., Roy, S., Devi, U., Gautam, S., Rawat, J.K., Ansari, M.N., Saeedan, A.S., Prakash, A., Saraf, S.A., Kaithwas, G., 2017, Comparative efficacy of alpha-linolenic acid and gamma-linolenic acid to attenuate valproic acid-induced autism-like features, *Journal of Physiology and Biochemistry*, 73 (2), 187–198.
- Yazdanbakhsh, A., Nemati, R., Massoudinejad, M., Jafari, M., Dashtdar, M., 2019, Solar photodegradation of carbamazepine from aqueous solutions using a compound parabolic concentrator equipped with a sun tracking system, *Open Chemistry*, 17, 477–484.
- Yoshida, Y., 2015, Chemistry of lipid peroxidation products and their use as biomarkers in early detection of diseases, *Journal of Oleo Science*, 64 (4), 347–356.

- Yoshikawa, H., Watanabe, T., Abe, T., 2002, Tubulo-interstitial nephritis caused by sodium valproate, *Brain and Development*, 24 (2), 102–105.
- Zayas-Viera, M.D.M., Vivas-Mejia, P.E., Reyes, J., 2016, Anticancer effect of *Moringa oleifera* leaf extract in human cancer cell lines, *Journal of Health Disparities Research and Practice*, 9 (1), 141–142.
- Zhang, Y., Chen, J., Ji, H., Zhang-Gang, X., Shen, P., Xu, L., 2018, Protective effect of Danshen injection against erectile dysfunction via: Suppression of endoplasmic reticulum stress activation in streptozotocin induced diabetic rat model, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 343.
- Zhu, M., Dong, G., Cai, Y., Huang, C.W., 2019, Determination of barbiturates in biological specimens by flat membrane-based liquid-phase microextraction and liquid chromatography-mass spectrometry, *Molecules*, 24 (8), 1494.
- Zis, P., Hadjivassiliou, M., 2019, Treatment of neurological manifestations of gluten sensitivity and coeliac disease, *Current Treatment Options in Neurology*, 21 (3), 10.

2602170116 Umar Faruk MAGAJI

ORJİNALLİK RAPORU

%15

BENZERLİK ENDEKSİ

%14

İNTERNET KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%3

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

%6

2

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%3

3

tr.wikiterrence.com

İnternet Kaynağı

%1

4

Submitted to The Scientific & Technological
Research Council of Turkey (TUBITAK)

Öğrenci Ödevi

%1

5

avesis.istanbulc.edu.tr

İnternet Kaynağı

%1

6

tr.hmongwiki.com

İnternet Kaynağı

<%1

7

www.glikobiyooloji2013.ege.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

8

U.F. Magaji, O. Sacan, R. Yanardag. "Alpha
amylase, alpha glucosidase and glycation
inhibitory activity of Moringa oleifera

<%1

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.

Umar Faruk MAGAJI



KURUM İZNİ 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.

Umar Faruk MAGAJI

