T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN MİDE HASARINA KARŞI *Moringa oleifera*'nın ETKİSİ

Syhejla MIFTARI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

İSTANBUL-2021

Bu çalışma, [19.10.2021] tarihinde aşağıdaki jüri tarafından [Kimya Anabilim Dalı, Biyoloji Programı]nda [Yüksek Lisans tezi] olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

[Prof. Dr.] [Refiye YANARDAĞ](Danışman)
[İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi]

[Prof. Dr.] [Özlem SAÇAN]
[İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa]
[Mühendislik Fakültesi]

[Prof. Dr.] [Ayşegül PEKSEL]
[Yıldız Üniversitesi]
[Fen-Edebiyat Fakültesi]

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa'nın abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2021-35638 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim, deneysel çalışmalarım boyunca, yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve birikimi ile her zaman bana yol gösteren, desteğini tez süresi boyunca benden esirgemeyen, iyi niyetiyle beni hep destekleyen değerli danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince bana desteklerini sunan tecrübelerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez süresince yardımlarını esirgemeyen, Sayın Prof. Dr. Sevim TUNALI'ya teşekkür ederim. Çalışmaları boyunca ilgi ve desteklerini gördüğüm Sayın Doktor Öğretim Görevlisi Bertan Boran BAYRAK'a ve Doktor Öğretim Görevlisi İsmet Burcu TÜRKYILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım boyunca güler yüzleriyle, iyi niyetleriyle beni hep destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Onur ERTİK ve Arş. Gör. Eda DAĞSUYU'na teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmam boyunca bana yardımlarını sunan ve destekleyen Doktora öğrencisi Umar Faruk MAGAJİ ve Yüksek Lisans öğrencisi Dastagul MAHMARZAYEVA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca maddi manevi her alanda beni destekleyen, arkamda duran canım aileme, bu günlere gelmemi sağlayan yurtdışı öğretim süresince benden desteğini esirgemeyen babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim süresince beni cesaretlendiren, hep destekleyen, hoşgören nişanlıma sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmamlarımın deneysel kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Ekim 2021 Syhejla MIFTARI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **vii**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **ix**
ÖZET ..... **xi**
SUMMARY ..... **xii**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL KISIMLAR **4**
2.1. MİDE 4
2.1.1. Midenin Anatomisi 4
2.1.2. Midenin Histolojisi 5
2.1.2.1. Tunika Seroza 6
2.1.2.2. Tunika Muskularis 7
2.1.2.3. Tunika Submukoza 8
2.1.2.4. Tunika Mukoza 9
2.1.3. Midenin Fizyolojisi 10
2.1.3.1. Gastrik Sekresyonlar 10
2.1.3.2. Mukus Sekresyonu 11
2.1.3.3. Pepsinojen Sekresyonu 11
2.2. VALPROİK ASİT 11
2.2.1. Valproik Asidin Yan Etkileri 12
2.3. OKSİDATİF STRES 13
2.4. SERBEST RADİKALLER 15
2.5. ANTİOKSİDANLAR 16
2.6. MORİNGA OLEİFERA 19
3. MALZEME VE YÖNTEM **23**
3.1. ÇALIŞMAMIZDA KULLANILAN CİHAZLAR VE ALETLER 23
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER 23
3.3. DENEY HAYVANLARI 26

3.4. DENEYLERDE KULLANILAN ETİL ALKOLLÜ MORİNGA EKSTRESİNİN HAZIRLANMASI 27
3.5. DENEY HAYVANLARINDA MİDE HASARININ OLUŞTURULMASI 27
3.6. MİDE DOKUSU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI 28
3.7. MİDE DOKUSU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI 28
3.8. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTAR TAYİNİ 28
3.9. MİDE DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU MİKTAR TAYİNİ 31
3.10. MİDE DOKUSUNDA KATALAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 33
3.11. MİDE DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 34
3.12. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 36
3.13. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 38
3.14. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 40
3.15. MİDE DOKUSUNDA LAKTAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 41
3.16. MİDE DOKUSUNDA REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ MİKTAR TAYİNİ 42
3.17. MİDE DOKUSUNDA TOTAL OKSİDAN MİKTAR TAYİNİ 44
3.18. MİDE DOKUSUNDA PROTEİN KARBONİL MİKTAR TAYİNİ 45
3.19. MİDE DOKUSUNDA MİYELOPEROKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 47
3.20. MİDE DOKUSUNDA KSANTİN OKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 49
3.21. MİDE DOKUSUNDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 50
3.22. MİDE DOKUSUNDA SODYUM POTASYUM ATP_{AZ} AKTİVİTESİ TAYİNİ 51
3.23. MİDE DOKUSUNDA ARİLESTERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 55
3.24. MİDE DOKUSUNDA ARGİNAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 56
3.25. MİDE DOKUSUNDA TOTAL NİTRİK OKSİT MİKTAR TAYİNİ 59
3.26. MİDE DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN MİKTAR TAYİNİ 61
3.27. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 62
4. BULGULAR 63
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 77
KAYNAKLAR 84
ÖZGEÇMİŞ 97

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Midenin anatomisi (https://www.anatomi.gen.tr). 5

Şekil 2.2: Midenin histolojik tabakaları (Pirie, 2021). 6

Şekil 2.3: Midenin tunika seroza tabakası (Pirie, 2021). 7

Şekil 2.4: Midenin tunika muskularis tabakası (Pirie, 2021). 8

Şekil 2.5: Midenin tunika submukoza tabakası (Pirie, 2021). 9

Şekil 2.6: Midenin tunika mukoza tabakası (Pirie, 2021). 10

Şekil 2.7: Valproik asit (www.sigmaaldrich.com). 11

Şekil 2.8: Oksidatif stres (www.shutterstock.com/tr). 14

Şekil 2.9: Serbest radikal ve antioksidan (www.medicalnewstoday.com). 15

Şekil 2.10: Glutatyon (http://what-when-how.com). 17

Şekil 2.11: *Moringa oleifera* ağacı (https://tribune.com). 19

Şekil 4.1: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu GSH değerleri. 63

Şekil 4.2: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu LPO değerleri. 64

Şekil 4.3: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu CAT aktivite değerleri. 64

Şekil 4.4: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu SOD aktivite değerleri. 65

Şekil 4.5: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu GPx aktivite değerleri. 66

Şekil 4.6: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu GR aktivite değerleri. 67

Şekil 4.7: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu GST aktivite değerleri. 68

Şekil 4.8: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu LDH aktivite değerleri. 69

Şekil 4.9: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu ROS değerleri. 69

Şekil 4.10: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu TOS değerleri. 70

Şekil 4.11: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu PC değerleri. 71

Şekil 4.12: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu MPO aktivite değerleri. 72

Şekil 4.13: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu XO aktivite değerleri..... 72

Şekil 4.14: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu PON aktivite değerleri. 73

Şekil 4.15: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu Na^+/K^+-ATPaz aktivite değerleri. 74

Şekil 4.16: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu ARE aktivite değerleri. 75

Şekil 4.17: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu arginaz aktivite değerleri..... 76

Şekil 4.18: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu NO değerleri..... 76

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
Dk	**:** Dakika
µL	**:** Mikrolitre
µM	**:** Mikromolar
mg	**:** Miligram
mL	**:** Mililitre
mM	**:** Milimolar
nm	**:** Nanometre

Kısaltmalar	Açıklama
4-AAP	**:** 4-Aminoantipirin
ANSA	**:** 1-Amino-2-naftol-4-sülfonik asit
ARE	**:** Arilesteraz
CAT	**:** Katalaz
CDNB	**:** 1-Kloro-2,4-dinitrobenzen
DCF	**:** 2',7'-Diklorofloresan-diasetat
DMSO	**:** Dimetil sülfoksid
DNPH	**:** 2,4-Dinitrofenil hidrazin
DTNB	**:** 5,5′-Ditiobis-2-nitrobenzoik asit
EDTA	**:** Etilendiamintetra asetik asit
GABA	**:** Gama amino bütirik asit
GPx	**:** Glutatyon peroksidaz
GR	**:** Glutatyon redüktaz
GSH	**:** Glutatyon
GST	**:** Glutatyon-S-transferaz
HEPES	**:** (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansülofnik asit
HETAB	**:** Heksadesiltrimetil amonyum bromür
LDH	**:** Laktat dehidrojenaz
LPO	**:** Lipid peroksidasyonu
M	**:** *Moringa oleifera*

MPO : Miyeloperoksidaz

Na^+/K^+-ATPaz : Sodyum-Potasyum ATPaz

NADH : İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit

NADPH : İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NEDD : N-(1-naftil)-etilendiamindihidroklorür

NO : Nitrik oksit

PC : Protein karbonil

PON : Paraoksonaz

ROS : Reaktif oksijen türleri

SOD : Süperoksit dismutaz

TBA : Tiyobarbitürik asit

TCA : Triklorasetik asit

TOS : Total oksidan miktarı

TP : Total protein

Tris : Hidroksimetil aminometan

VPA : Valproik asit

XO : Ksantin oksidaz

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN MİDE HASARINA KARŞI *Moringa oleifera*'nın ETKİSİ

Syhejla MIFTARI

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Valproik asit (VPA, 2-propil pentanoik asit) geniş spektrumlu antiepileptik bir ilaçtır. Uzun süreli kullanımı ve alınan doza bağlı olarak gastrointestinal sistemde mide bulantısı, iştahsızlık, anoreksi, karın ağrısı, kusma ve diyare gibi bozukluklara neden olur. Ayrıca VPA kullanan kişilerde kansızlık, titreme, kilo alımı, saç dökülmesi, pankreatit, karaciğer toksisitesi, hipotermi gibi yan etkiler ortaya çıkmaktadır. VPA serbest radikal üretimini arttırarak doku ve organlarda hasara neden olmaktadır. *Moringa oleifera* Lam., çok amaçlı kullanımı olan Moringaceae familyasına ait bir bitkidir. Afrika ve Asya'da yaygın olarak gıda, gıda takviyesi, halk ilacı ve barınak kaynağı olarak kullanılır. Bu bitki yara iyileştirici, iltihap ve ülser, astım, diyabet, sıtma, karaciğer ve böbrek komplikasyonları tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada sıçanlarda VPA ile oluşturulan mide hasarına karşı moringa yaprak ekstresinin koruyucu etkileri incelenmiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre moringa yaprak ekstresinin VPA ile oluşturulan mide hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Ekim 2021, 109 sayfa.

Anahtar kelimeler: Valproik Asit, *Moringa oleifera*, Mide

SUMMARY

M.Sc. THESIS

EFFECTS OF *Moringa oleifera* AGAINST VALPROIC ACID-INDUCED GASTRIC DAMAGE IN RATS

Syhejla MIFARI

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Refiye YANARDAG

Valproic acid (VPA, 2-propyl pentanoic acid) is a broad-spectrum antiepileptic drug. Depending on its long-term use and the dose taken, it causes disorders in the gastrointestinal tract such as nausea, loss of appetite, anorexia, abdominal pain, vomiting and diarrhea. In addition, side effects such as anemia, chills, weight gain, hair loss, pancreatitis, liver toxicity, hypothermia occur in people using VPA. VPA increases the production of free radicals, causing damage to tissues and organs. *Moringa oleifera* Lam., it is a plant belonging to the family of Moringaceae with multipurpose use. It is widely used in Africa and Asia as a source of food, food supplements, folk remedies and shelter. This plant is used as a wound healer, in the treatment of inflammation and ulcers, asthma, diabetes, malaria, liver and kidney complications. In this study, the protective effects of moringa leaf extract against stomach damage caused by VPA in rats were investigated. According to the results obtained from our study, it was concluded that moringa leaf extract has a protective effect against stomach damage caused by VPA.

October 2021, 109 pages.

Keywords: Valproic Acid, *Moringa oleifera*, Stomach

1. GİRİŞ

Epilepsi en sık görülen nörolojik hastalıklardan biridir ve her yaştan, ırktan, sosyal sınıftan ve coğrafi konumdan insanları etkiler. Epilepsi, nöbet oluşumuna kalıcı bir yatkınlık ve nöbet nükslerinin nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçları ile karakterize bir beyin hastalığıdır. Epileptik nöbetler, hastalığın altında yatan nöral mekanizmaları yansıtan davranış değişiklikleri ile karakterize edilen ve tekrarlanan paroksismal nöbetlerdir (Beghi, 2020). Epilepsi tedavisinde fenitoin, fenobarbiton, valproik asit gibi ilaçlar kullanılmaktadır.

Valproik asit (VPA: 2-propilvalerik asit, 2-propilpentanoik asit), kısa dallı karboksilik bir asit olup epilepsi, bipolar bozukluk ve migren profilaksisi tedavisi için en eski ve en sık kullanılan ilaçlardan biridir. Genel olarak, hemen hemen tüm antiepileptik ilaçlar potansiyel olarak teratojenlerdir. VPA'nın birçok yan etkisi vardır; nöral tüp ve yarık dudak kusurları da dahil olmak üzere teratojenik etkileri en şiddetlileri olarak kabul edilir. VPA'ya doğum öncesi maruz kalmanın, çocukların merkezi sinir sisteminde gelişimsel nörotoksisiteye neden olduğu iyi bilinmektedir (Taleb ve diğ., 2021).

VPA bipolar bozukluklar, şizoaffektif bozukluklar, sosyal fobiler ve nöropatik ağrı gibi diğer nöropsikiyatrik problemler, alkol ve diğer sedatif-hipnotik sendromları için benzodiazepinlere yardımcı bir tedavi olarak kullanılır. Geniş terapötik kullanımlarına rağmen, Tip I ve Tip II olarak sınıflandırılan hepatotoksisite de dahil olmak üzere hayatı tehdit eden bir dizi toksisiteyle ilişkilendirilmiştir. Tip I VPA aracılı hepatotoksisite, karaciğer enzimlerinin serum seviyelerinde ve düşük plazma fibrinojen seviyelerinde doza bağlı değişikliklerle ilişkilidir ve bu da VPA kullanımı durdurulduğunda düzeltilebilir. Tip II VPA aracılı hepatotoksisite nadirdir, ancak sıklıkla ölümcül olarak kabul edilir. Nekrozun eşlik edebileceği mikroveziküler steatoz ile karakterize geri dönüşümsüz kendine özgü bir reaksiyon olarak ortaya çıkar. VPA'nın hepatotoksisiteye neden olabileceği mekanizmalar arasında hepatosit mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu (LPO) bulunur. Ayrıca, enflamasyon, artmış hepatik nükleer faktörler-KB (NF-KB), interlökin (IL-1) β ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) gen ekspresyonu nedeniyle VPA'ya bağlı hepatotoksisite için önemli bir mekanizma olabilir (Adikwu ve Liverpool, 2021).

VPA'nın gastrointestinal sistem üzerinde yan etkileri en sık görülen etkilerdir. Bulantı, kusma, diare, pankreatit, iştah kaybı, hazımsızlık ve midede yanma hissi bu etkilerdendir. Çalışmalarda VPA'nın oluşturduğu yan etkilerinin oksidatif stres kaynaklı olduğu belirtilmektedir (Spiller ve diğ., 2000).

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronları içeren atom, molekül veya iyon türleridir. Eşleşmemiş elektronlar, serbest radikallerin elektronları diğer bileşiklerden soyutlamasına ve yüksek reaktiviteye sahip olmalarına izin verir. Canlı organizmada, serbest radikaller zararlı türler olarak kabul edilmiştir. Serbest radikaller hem endojen hem de eksojen kaynaklardan üretilebilir (Wang ve diğ., 2021).

Oksidatif stres, pro-oksidan ve antioksidan türler arasındaki hücresel dengenin olmamasından kaynaklanır. Yetersiz antioksidan savunması veya hücrelerin tamponlama sisteminin redoks dengesini koruyamaması ile doğrulanan reaktif oksijenli türlerin (ROS) aşırı bir artışı, oksidatif stresi karakterize eder ve sonuçta hastalık durumunu tanımlayan biyomoleküllerde çeşitli değişikliklere yol açar. ROS vücutta sınırlı miktarlarda üretilir ve hücre homeostazını korumak, sinyal iletimi, gen ekspresyonu, reseptör aktivasyonu, patojen tanıma, hücre canlılığını, çoğalmasını, göçünü, farklılaşmasını sağlamak için gereklidir (Pisoschi ve diğ., 2021).

Antioksidanlar serbest radikaller ile reaksiyona girerek radikal metabolitlerinin üretilmesini önleyen ve bu radikallerden kaynaklanan hücre hasarının onarılmasını sağlayan maddelerdir. Bitkiler yapılarında antioksidan özellik gösteren maddeleri içerirler. Bitkiler yapılarındaki biyoaktif bileşikler sayesinde serbest radikalleri ortadan kaldırılır. Bu radikallerin üretimleri baskılanmaktadır. Bu bileşikler endojen antioksidan bileşiklerin üretimlerinin uyarılmasında görev alırlar. Yapılan çalışmalarda bu bitkilerin antioksidan özellikleri sayesinde çeşitli hastalıklarda alternatif tedavi yöntemi olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Ozsoy ve diğ., 2008; Ozsoy ve diğ., 2009; Peksel ve diğ., 2010; Sacan ve Yanardag, 2010;).

Moringa oleifera (M. Oleifera) birçok tropik ülkede yetiştirilen, hayat ağacı olarak bilinen bir bitki türüdür. *M. oleifera* ağacının hemen hemen her kısmı gıda takviyeleri, geleneksel tıp ve endüstriyel amaçlar için kullanılır. Hindistan'da tıbbi olarak kullanıldığında 300'den fazla hastalığı önlediğine inanılmaktadır (Ganguly, 2013). Bu bitkinin geniş kullanımı, flavonoidler, askorbik asit, karotenoidler ve fenolik bileşikler dahil olmak üzere çeşitli antioksidan türlerinin yanı sıra vitaminler, amino asitler, mineraller ve yağ asitleri de dahil olmak üzere oldukça

zengin besin içeriğinden kaynaklanmaktadır. Yapraklarının, çoğu sebzeye kıyasla nispeten düşük nem içeriğine sahip olması nedeni ile besin içeriği yüksektir. *M. oleifera* yaprakları, diüretik, antifungal, antibakteriyel, anti-inflamatuar, hipolipidemik, antioksidan, hipokolesterolemik, hipotensif (Mehta ve diğ., 2003), anti-diyabetik, antikanser (Khor ve diğ., 2018) ve kemoprotektif (hepatik, kardiyak, renal ve sinirsel) aktiviteler gibi farklı terapötik etkilere sahiptir (Abdel-Daim ve diğ., 2020; Magaji ve diğ., 2020).

Bu çalışmada, sıçanlarda valproik asit ile oluşturulan mide hasarı üzerine, *M. oleifera* etanollu ekstresinin koruyucu etkisi araştırılacaktır. Epilepsi tedavisinde kullanılan VPA'nın oluşturduğu mide hasarında moringa ekstresinin koruyucu etkisinin gösterilmesi epilepsi tedavisine katkı sağlayacaktır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. MİDE

Mide, yetişkinlerde 1000-1500 mL kapasiteye sahip gastrointestinal sistemin en geniş kısmıdır. Özofagusun sonu ile ince bağırsağın başlangıcı olan duodenum arasında yer alır. Karnın epigastrik, umbilikal ve sol hipokondriyal bölgelerinde bulunur ve üst karın iç organları, ön karın duvarı ve diyafram ile sınırlandırılmış bir girinti kaplar. Gastrik motilite hem sinir hem de endokrin sistem tarafından sinyallerle kontrol edilir (Daniels ve Allum, 2005).

Midenin başlıca işlevleri şunlardır. Alınan yiyecekler için hazne görevi görmek ve yiyecekleri küçük ve fizyolojik olarak uygun miktarlarda duodenuma bırakmak, protein sindirimini başlatan ve alınan gıdalardaki birçok zararlı bakteriyi nötralize eden hidroklorik asit (HCl) ve proteolitik enzimleri salgılamak ve yutulan yiyecekleri karıştırarak kimus adı verilen sıvılaştırılmış bir karışım elde etmek için mide özsuyu ile yumuşatmaktır. Midenin diğer fonksiyonu ise B_{12} vitamininin emilimi için gerekli olan intrinsik faktörün salgılanmasını sağlamaktır (Daniels ve Allum, 2005).

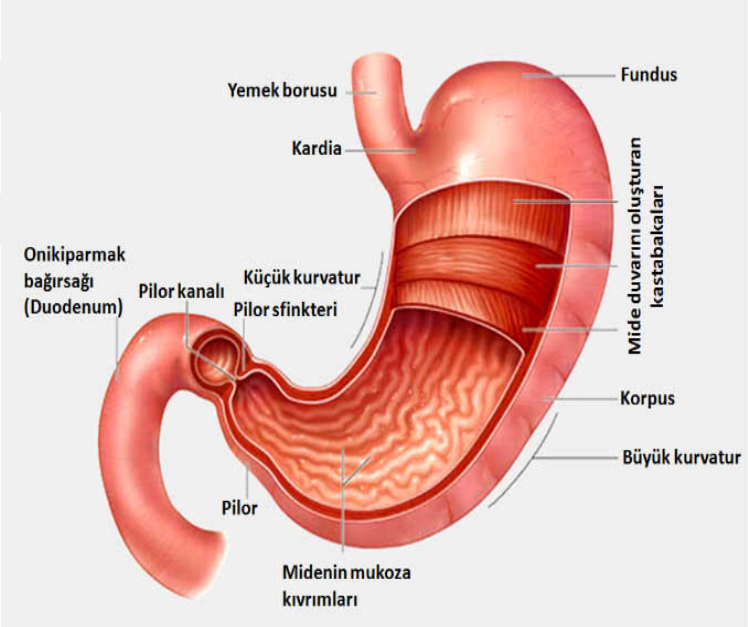
2.1.1. Midenin Anatomisi

Mide, mekanik ve kimyasal sindirimde, kısmen sindirilmiş gıdaların depolanmasında, sıklıkla kimus olarak adlandırılan ve kimus'un ince bağırsağa kontrollü olarak verilmesinde işlev görür. Makroskopik düzeyde, mide dört anatomik bölgeye ayrılabilir: kardiya, fundus, korpus (gövde) ve pilor. Özofagus midenin kardiyak bölgesine açılırken, pilorik bölge ince bağırsağa açılır (Şekil 2.1).

İşlevsel olarak, proksimal ve distal bölgeler farklı roller oynar. Proksimal bölge özofagustan gelen besini depolar. Bu nedenle bu bölgedeki kasılma aktivitesi minimaldir ve kapasite 20 kata kadar artar. Besin bu bölgede bir saatten fazla saklanabilir ve amilazın mevcut nişastanın bir kısmını sindirmeye devam etmesine izin verir. Distal bölge hareketlilik açısından daha aktiftir. Oruç tutulduğunda mide nispeten inaktif olmasına rağmen, yiyeceklerin varlığı, yiyecekleri öğüten ve sindirime yardımcı olmak için midenin salgılarıyla karıştıran kasılmaları tetikler. Bu kasılmalar genellikle midenin ortasında tetiklenir ve ince bağırsak ile birleşime doğru distal yönde akar.

Pilor sfinkterinin kapanması, kimusun midenin vücuduna geri itilmesine neden olur ve besinlerin mide özsuyu ile karıştırılmasını tetikler. Bu kasılma dalgaları, kimusun daha sıvı kısmını pilora doğru daha fazla iterken, daha katı kısmını da mideye doğru geri iter. Bu, sıvıların kısmen açılmış bir pilor sfinkterinden önce ince bağırsağa, genellikle bir seferde birkaç mililitre boşaltılacağı anlamına gelir.

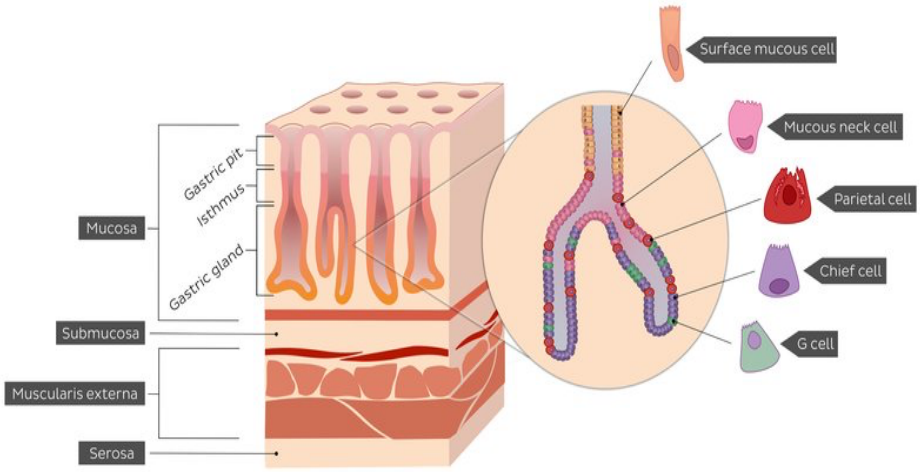
Bu düzenlemede hem sinirsel hem de hormonal mekanizmalar yer alır ve kolesistokinin önemli bir inhibitör rol oynar. Alınan besinlerin bileşimi, boşaltma hızında da rol oynayabilir, karbohidratlar en hızlı atılma süresine sahiptir ve lipidlerin atılımı ise daha uzun sürer. Besinlerin, mideden obezite, diyabet, stres, hamilelik ve opioid analjezikler gibi bazı ilaçlar da boşalmasını yavaşlatabilir (McQuilken, 2021).



Şekil 2.1: Midenin anatomisi (https://www.anatomi.gen.tr).

2.1.2. Midenin Histolojisi

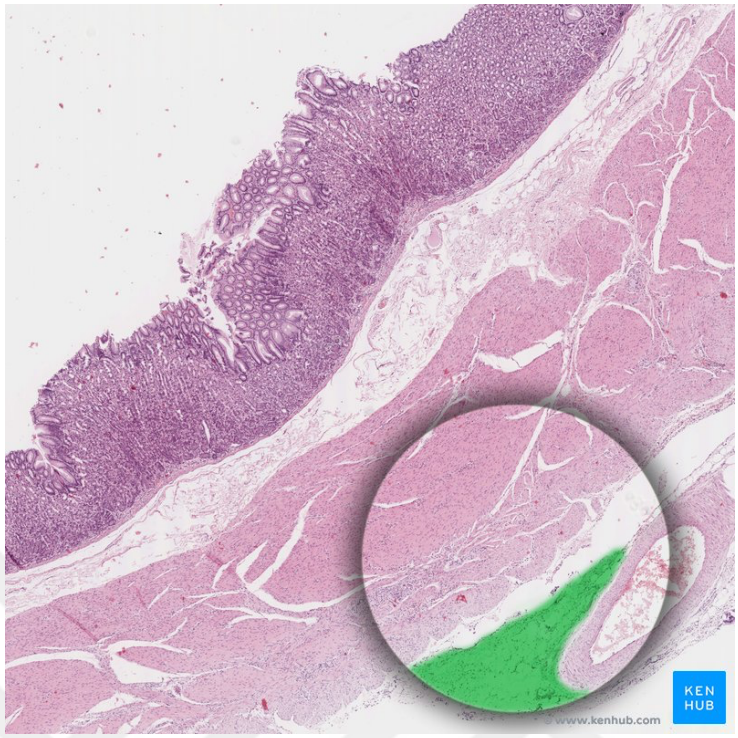
Mide duvarı 4 ayrı dokudan oluşur. Dıştan içe bunlar tunika seroza, tunika muskularis, tunika submukoza, tunika mukoza'dır. Bu katmanlı düzenleme, midenin tüm bölgelerinde ve tüm gastrointestinal sistem boyunca aynı histolojik yapıya sahiptir. Mide duvarının dış tabakası pürüzsüzdür, parietal periton ile kaplıdır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Midenin histolojik tabakaları (Pirie, 2021).

2.1.2.1. Tunika Seroza

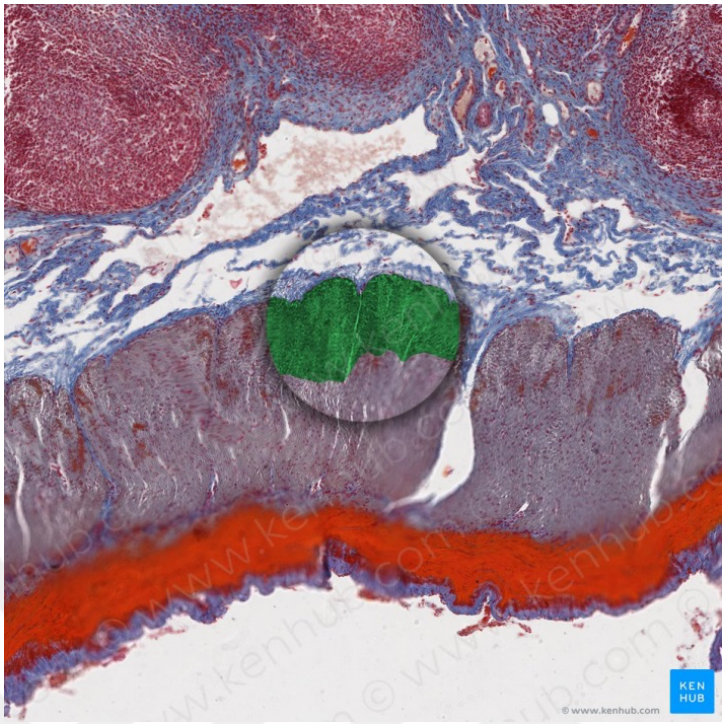
Mide duvarının en dış tabakasıdır. Mezotel olarak bilinen basit bir yassı epitel tabakası ve altta yatan bağ dokusunun ince bir tabakasından oluşur. Mezotel, midenin dış duvarını kayganlaştıran ve karın boşluğunda düzgün hareketini sağlayan seröz sıvı üretir. Seroza parietal periton ile devam eder (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Midenin tunika seroza tabakası (Pirie, 2021).

2.1.2.2. Tunika Muskularis

Submukozanın derinliklerinde bulunan düz kastır. Tunika muskularis tabakası, mekanik sindirim için gerekli karıştırma hareketlerinin yapılmasını sağlayan tabakadır. Tunika muskularis tabakası üç tabakadan oluşur. Bu tabakalar büzüldüğünde, mukozayı ve submukozayı katmanlara atarlar. Tunika muscularis düzenlemesi farklı mide bölgeleri arasında değişiklik gösterir. Kardiyada katmanlar iyi gelişmiştir ve asit reflüsünü mideden yemek borusuna önlemek için bir sfinkter oluşturur. Fundus bölgesinde kas zayıf gelişmiştir çünkü bu bölgede çok daha az karıştırma meydana gelir. Gövde, uzunlamasına kas tabakasının büyük ölçüde bulunmadığı midenin ön ve arka kısımları hariç, üç kas tabakasının hepsinden oluşur. Pilorik bölgede tunika muskularis, kimusu duodenuma itmek için iyi gelişmiştir, kalınlaşmış tabakası ise pilor sfinkterini oluşturur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Midenin tunika muskularis tabakası (Pirie, 2021).

2.1.2.3. Tunika Submukoza

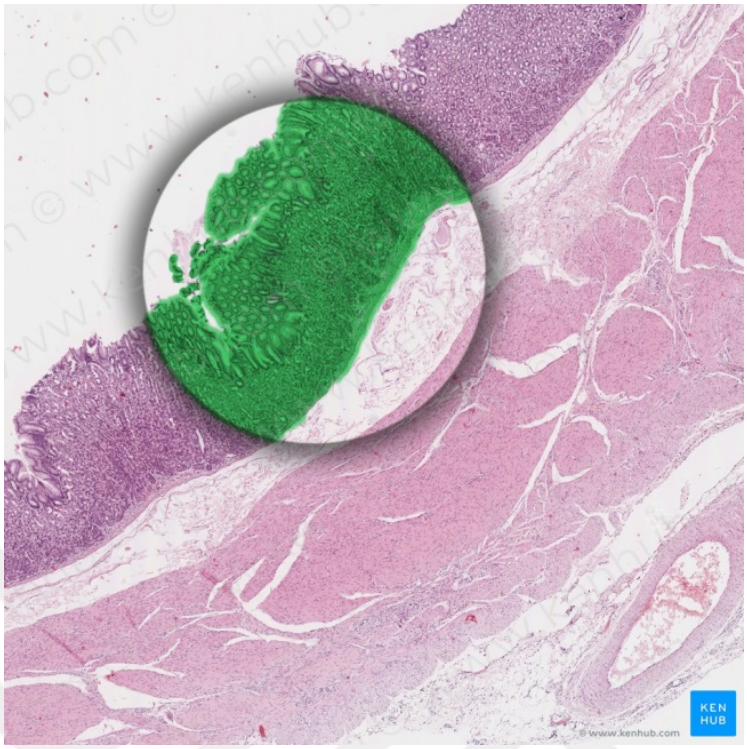
Mukozanın derinliklerinde gastrik submukoza olarak bilinen kalın bir bağ dokusu tabakasıdır. Düzenlemesi, dayanıklı, ancak esnek ve hareketli olduğu anlamına gelir. Zengin vaskülatör ve lenfatiklerin yanı sıra, bu tabaka submukozal pleksusu da tutar. Bu pleksusun sinir lifleri, mide duvarının kan damarlarına ve düz kaslarına parasempatik inervasyon taşır. Parasempatik stimülasyon 'dinlenme ve sindirim' fonksiyonları ile ilişkilidir ve bu nedenle sindirimi uyarır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Midenin tunika submukoza tabakası (Pirie, 2021).

2.1.2.4. Tunika Mukoza

Mide duvarının en iç tabakası tunika mukozadır. Bir yüzey epitel tabakası ve altta yatan bir lamina propria ve muskularis mukozasından oluşur. Yüzey epiteli basit bir silindirik epiteldir (Pirie, 2021) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Midenin tunika mukoza tabakası (Pirie, 2021).

2.1.3. Midenin Fizyolojisi

Sindirim süreci, besin maddelerinin emilimi için çok sayıda mekanik ve enzimatik işlemle sistematik olarak parçalanan besinin yutulması ile başlar (Liu ve diğ., 2019). Midenin ana işlevi, yutulan yiyeceklerin bir rezervuarı olarak hareket etmek ve içeriğin kontrollü bir şekilde duodenuma verilen kimusun mekanik ve kimyasal olarak çözünmesini gerçekleştirmektir. İnce bağırsakta besin kimyası, sindirim enzimleri tarafından bağırsak duvarından emilebilen moleküler bileşenlere hidrolize edilir (Bornhorst ve Singh, 2014). Sindirilmemiş besin kalıntıları kalın bağırsağa gider, burada su emilir ve çeşitli sindirilmemiş besin kalıntıları bakteriler tarafından parçalanır, metabolitler üretilir ve atılmak için gaita oluşturulur (Somaratne ve diğ., 2020).

2.1.3.1. Gastrik Sekresyonlar

Mide bezlerinin hücreleri günde yaklaşık 2500 mL mide suyu salgılar. Gastrik sekresyonların rolü yutulan bakterileri öldürmek, protein sindirimine yardımcı olmak, pankreatik sindirim sıvılarının akışını uyarmak ve pepsinin protein parçalanmasını başlatması için gerekli pH'ı sağlayarak çeşitli maddelerin ve mide enzimleri içeriğini sağlamaktır (Daniels ve Allum, 2005).

2.1.3.2. Mukus Sekresyonu

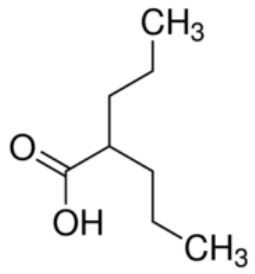
Mide mukus tabakasının, mide lümeni ile mukoza arasında koruyucu bir bariyer sağladığı, mukozayı asit ve sindirim enzimlerinden koruduğu ve mide epitelinin otosindirimini önlediği genel olarak kabul edilmektedir. Mide mukusunun mukoza zarının korunmasındaki rolünün en doğrudan kanıtı, mukus tabakası boyunca büyük bir pH gradyanının varlığıdır (Schubert, 2004). Lümen sürekli olarak asidik bir ortamdır ve genellikle 2 veya daha düşük bir pH sergiler (Bahari ve diğ., 1982). Onlarca yıl önce, lümendeki pH'ın oldukça asidik olmasına rağmen, epitele yakın olan mukus tabakasının tabanındaki ortam pH'ının neredeyse nötr olduğu gösterilmiştir (William ve Turnberg, 1981; Bahari ve diğ., 1982). Mukus tabakasının kalınlığı genellikle yüzlerce mikron olduğundan, bu ölçümlerle proton konsantrasyon gradyanının muazzam olduğu sonucuna varılır (Lewis ve diğ., 2017).

2.1.3.3. Pepsinojen Sekresyonu

Midedeki düşük pH gastrik bezdeki zimojenik hücrelerin proteolitik enzim olan pepsinin öncü formunun pepsinojen olarak aktivasyonunu sağlar. Pepsinin kendisi ayrıca pepsinojenin aktif formuna dönüşümünü katalize edebilir. Pepsinojenin salgılanmasına, sindirimin sefalik ve gastrik fazları sırasında tetiklenen vagal stimülasyon aracılık eder (Farrell, 2004; Fonslow ve Yates, 2012; Blanchard ve Czinn, 2021).

2.2. VALPROİK ASİT

Valproik asit (VPA) (2-propilpentanoik asit), sekiz karbonlu dallı zincirli bir yağ asididir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7: Valproik asit (www.sigmaaldrich.com).

VPA, valerik asidin 1882 yılında Beverly S. Burton tarafından çözücü olarak kullanılmak üzere sentezlenen sekiz karbonlu doymuş bir yağ asididir (Burton, 1882). VPA'nın antiepileptik etkisi 1962'de Pierre Eymard tarafından keşfedilmiştir (Chateauvieux ve diğ., 2010). Bu madde 1967'de, Fransa'da antiepileptik bir ajan olarak resmen onaylanmıştır (Levy ve diğ., 2002).

İnsan beyninde VPA, bir nörotransmitter olan gama amino bütirik asit (GABA)'in inhibitör aktivitesine, GABA bozulmasının inhibisyonuna, GABA trans aminobütiratının inhibisyonuna, artmış GABA sentezi dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalara etki eder (Mesdjian ve diğ., 1982). Ayrıca, VPA N-metil-D-aspartat aracılı uyarımı zayıflatır (Zeise ve diğ., 1991; Gean ve diğ., 1994), Na^+ kanallarını, Ca^{2+} kanallarını ve voltajlı K^+ kanallarını bloke eder (VanDongen ve diğ., 1986).

VPA, tümör hücrelerinde farkılaşmayı indüklediği ve yapılan hayvan deneylerinde tümörlerin büyümesini ve metastazı bastırdığı görülmüştür (Činčárová ve diğ., 2013). Bu konuda çok sayıda çalışma yapılmış ve VPA'nın, proglamlanmış hücre ölümü olan apoptosisi, mikroglial hücrelerde (Dragunow ve diğ., 2004), meme kanser hücrelerinde (Ma ve diğ., 2017), akciğer kanser hücrelerinde (Platta ve diğ., 2008) ve tiroid kanser hücrelerinde (Greenblatt ve diğ., 2008) tetiklediği görülmüştür. Son yıllarda VPA, nöropatik ağrının kontrolünde migren baş ağrısının önlenmesinde ve sonlandırılmasında kullanılmaktadır (Hardy ve diğ., 2001).

2.2.1. Valproik Asidin Yan Etkileri

Tıbbı olarak antiepileptik ilaç olarak kullanılmasına rağmen VPA kullanımından sonra hepatotoksisite dahil birçok ciddi komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır. VPA metabolizması yoluyla karaciğer toksisitesinden sorumlu olabilecek birçok metabolit üretilmektedir. VPA tarafından oluşan hepatoksisite mekanizması hala tam olarak aydınlatılmamıştır. Protein, lipid ve nükleik asit gibi makromoleküllerin oksidatif değişimleri aracılığıyla reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine bağlı oksidatif stres ve dengesiz antioksidan sisteminde bir rol oynamaktadır (Abdelkader ve diğ., 2020).

Tüm antiepileptik ilaçlar potansiyel olarak teratojenlerdir. VPA'nın birçok yan etkisi vardır. Nöral tüp ve yarık dudak kusurları dahil olmak üzere teratojenik etkiler en ağır etkiler olarak kabul edilir. Doğum öncesi VPA'ya maruz kalan bebeklerde merkezi sinir sistemlerinde

gelişimsel nörotoksisite meydana gelir. Çeşitli çalışmalar ile gebelik döneminde VPA'ya maruz kalan annelerin bebekleri önemli dismorfik özellik anormallikleri ile intrauterin gelişimin azalmasında yaklaşık olarak üç kat daha fazla risk oranı olduğu gösterilmiştir. Uterus içinde VPA'ya maruz kalan yeni doğmuş bebeklerde valproat fetopati adı verilen bir sendrom meydana gelebilir. Bu sendrom, zihinsel engelliği malformasyonlarla ilişkilendirilir. Ayrıca artan otizm hastalığı riski VPA ile ilişkilidir (Taleb ve diğ., 2021).

VPA sıklıkla kullanılan bir antiepileptik ilaçtır. Fakat bu ilaç fetal malformasyon (Baker ve diğ., 2015), otizm spektrum bozuklukları (Christensen ve diğ., 2013), bilişsel bozukluk (Jentink ve diğ., 2010) riskini arttırır.

VPA epilepsi gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmasına rağmen bazı yan etkileri vardır. Bu yan etkiler, sıçanlarda yağlı karaciğer hastalığı (Lewis ve diğ., 1982), hepatik karbohidrat ve lipid metabolizması üzerinde olumsuz etki (Becker ve Harris, 1983), karaciğer toksisitesi, nöral tüp defektleri ve teratojenitedir (Nau ve diğ., 1991; Bialer ve Yagen, 2007).

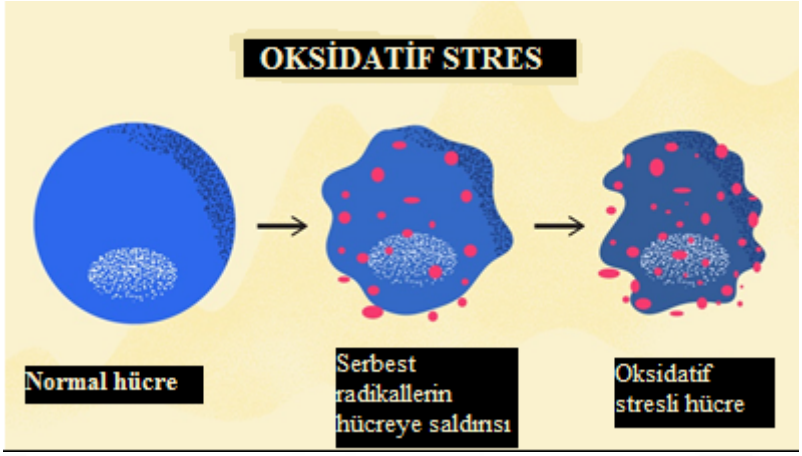
VPA kullanan kişilerde ölümcül ciddi komplikasyonlar oluşur. Bu komplikasyonlar hepatotoksisite, polikistik over ve sperm fonksiyonunda bozulma, kanamalar, kilo ve saç değişimleri, pankreatit, hiperosmolarite, hipokalsemi, solunum yetmezliği, hipotermi, akut böbrek yetmezliği, taşikardidir.

En sık görülen yan etkiler gastrointestinal sistem üzerindedir, bu oran %8.9'dur. Bulantı, kusma, diyare, pankreatit, iştah kaybı, hazımsızlık, midede yanma hissi bunlar arasındadır (Sztajnkrycer, 2002; Lackmann, 2004; Sikma ve diğ., 2008).

2.3. OKSİDATİF STRES

Antioksidanlarla karşılaştırıldığında reaktif oksijen türlerinin (ROS) nispi fazlalığı olarak tanımlanan oksidatif stres, nörodejeneratif hastalık, kardiyovasküler hastalık, diabetes mellitus ve diğer birçok patolojik hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Hayes ve diğ., 2020).

Oksidatif stres, ROS üretimi ile vücudun reaktif ara maddeleri detoksifiye etme kapasitesi arasındaki eşitsizlik olarak tanımlanır. ROS hücre apoptozunda önemli bir rol oynar (Taleb ve diğ., 2021) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Oksidatif stres (www.shutterstock.com/tr).

ROS, çeşitli fizyolojik koşullarda ve hastalıkların gelişiminde önemli rol oynayan hücresel bileşenlerdir. ROS, organizma için hem yararlı hem de toksik olan ikili bir rol oynar. Orta veya düşük seviyelerde, ROS'un yararlı etkileri vardır ve bağışıklık sistemi gibi, bazı hücre içi yolaklarda ve redoks regülasyonunda olduğu gibi çeşitli fizyolojik sistemler üzerinde etkili olurlar. Yüksek ROS konsantrasyonları, nötralize edilmeyen, toksik etkiye sahip olan ve hücre zarlarının ve organik makromoleküller gibi diğer yapıların bütünlüğünü değiştiren serbest radikallerin aşırı yüklenmesi ile karakterize patolojik bir durum olan oksidatif stresi indükler. Oksidatif stres, kanser, otoimmün bozukluklar, romatoid artrit, yaşlanma, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok kronik ve dejeneratif hastalıktan sorumludur (Cammisotto ve diğ., 2021).

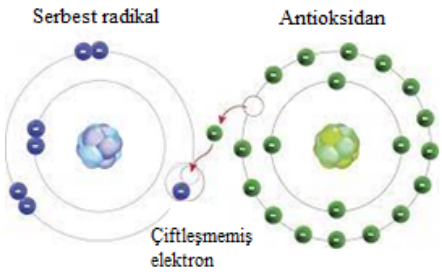
Yüksek oksijen tüketimi ve zayıf bir antioksidan sistem nedeniyle mide, hücre ölümüyle sonuçlanan oksidatif hasara maruz kalabilir (Abdulqader ve diğ., 2021).

Oksidatif stresin, oksidanların hücresel hasara katkıda bulunduğu çoklu mekanizmaları ortaya çıkaran ateroskleroz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, Alzheimer hastalığı ve kanser gibi çok çeşitli hastalıkları meydana getirdiği gösterilmiştir (Forman ve Zhang, 2021). Oksidatif stres, oksijen ve azottan türetilen reaktif türlerin reaksiyonlarının kimyasını içerir. Bu türlerden hangisinin makromoleküllere zarar verdiğini anlamak, antioksidan savunmaya yönelik terapötik yaklaşımları geliştirmek için bir gerekçe sağlamaya yardımcı olur.

Oksidatif stresin hastalığa katkıda bulunduğu iki ana mekanizma vardır. Birincisi, oksidatif stres sırasında, özellikle $^{\cdot}OH$, $ONOO^-$ ve HOCl gibi kimyasal yapıların membran lipidleri, yapısal proteinler, enzimler ve nükleik asitler dahil olmak üzere makromolekülleri doğrudan oksitleyen ve anormal hücre fonksiyonuna ve ölümüne yol açan reaktif türlerin üretimini içerir. Oksidatif stresin ikinci mekanizması anormal redoks sinyallemesidir. Oksidanlar, özellikle fizyolojik stimülasyon üzerine hücreler tarafından üretilen H_2O_2, ikinci haberciler olarak işlev görebilir. Oksidatif streste, fizyolojik olmayan H_2O_2 üretimi redoks sinyalinin ters gitmesine neden olabilir. Her iki tip oksidatif stres mekanizması, hem ileri glikasyon ürünlerinin biriktiği hem de stres sinyal yollarının anormal aktivasyonunun diyabetik komplikasyonlara yol açtığı diyabet gibi tek bir hastalıkta ortaya çıkabilir. Ayrıca, H_2O_2 üretimindeki artış ve O_2 ve $ONOO^-$ tarafından oksidatif stresteki proteinlerden demir salınımı, lipid peroksidasyonunun üretiminde belirgin bir artışa neden olur (Forman ve Zhang, 2021).

2.4. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren ve genellikle dikkate değer bir reaktivite gösteren kimyasal türlerdir (atomlar, moleküller veya iyonlar). Elektrokimyasal stabilitelerini elde etmek için diğer atomlardan bir elektron yakalamaya çalışırlar. Serbest radikal, stabilize etmesi gereken elektronu çıkarmayı başardıktan sonra, onu kaybeden kararlı molekül sırayla bir serbest radikal haline gelir (eşleştirilmemiş bir elektronla bırakılır), böylece bir zincir reaksiyonu başlatır (Stephenie ve diğ., 2020) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9: Serbest radikal ve antioksidan (www.medicalnewstoday.com).

Hücrelerde, serbest radikaller, enzimatik katılımı olan veya olmayan elektron transfer reaksiyonları yoluyla üretilir. Metabolizmanın bir ürünü olarak, farklı serbest radikal türleri üretilir:

- Reaktif Oksijen Türleri (ROS) örnekleri: süperoksit anyonu, peroksit anyonu, perhidroksil radikali, hidroksil radikali.

- Reaktif Azot Türleri (RNS): nitrik oksit, peroksinitrit.

İnsan vücudundaki reaktif türlerin ana kaynakları mitokondri, lizozomlar, peroksizomların yanı sıra nükleer, sitoplazmik ve endoplazmik retikulum membranlarıdır. Serbest radikaller, çevre kirliliği, iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma, tütün tüketimi, işlenmiş gıdalardaki kimyasal katkı maddeleri ve böcek ilaçları, herbisitler ve mantar öldürücüler gibi bazı ksenobiyotikler gibi çeşitli dış faktörler tarafından üretilir.

Süperoksit anyonu ($O_2^{-\cdot}$) üretilen ilk serbest radikaldir. ROS, vasküler endotelde hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi diğer reaktif türlerin oluşumunu indüklemiştir. Süperoksit, mitokondriyal elektron taşıma zinciri (ETZ) tarafından moleküler oksijenin kısmen indirgenmesinin yanı sıra NADPH oksidazlar, ayrılmamış endotel nitrik oksit sentaz (ENOS) ve ksantin oksidaz ile üretilir. İlk reaksiyonda serbest radikal oluşturulduktan sonra, elektronu, vücut dokularına zarar verecek şekilde yükseltilebilen zincir yayılma reaksiyonunu oluşturan yeni radikalleri ortaya çıkaran başka herhangi bir bileşiğe bırakma yeteneğine sahiptir (Ceballos ve diğ., 2021).

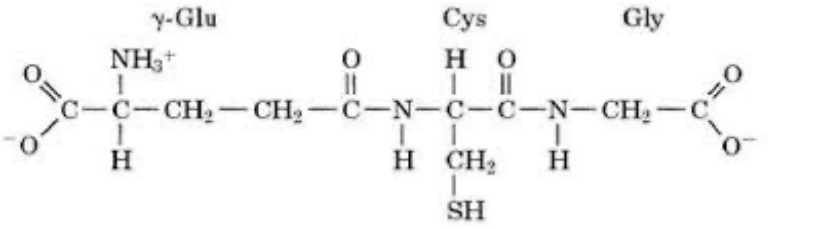
2.5. ANTİOKSİDANLAR

Oksidatif yaralanmaya karşı savunma yapmak için organizmalar öncelikle antioksidan enzimlere, substratlarının tedarikine ve yaralanmanın onarımına bağlı savunmalar geliştirmiştir. Oksidanlara ve diğer elektrofil maddelere yanıt olarak, bu savunmalar artar ve böylece oksidanları veya elektrofilleri detoksifiye etme ve oksidatif hasarı onarma kapasitesini arttırır (Forman ve Zhang, 2021).

Epilepsi nöbeti gibi bazı nöbetlerin artması serbest radikallerin artmasına neden olur ve antioksidan savunma mekanizmasının aktivitesini azaltır (Abdulqader ve diğ., 2021). Oksidatif stres üzerinden aşırı serbest radikal üretimini dengelemek için redoks homeostazını arttırma mekanizmaları muhafaza edilmelidir. Hücre fonksiyonlarını sürdürmek için bu mekanizmalar arasında polifenoller etkili antioksidan özellikleri için çok araştırılmıştır. Diyet polifenoller genellikle meyvelerde, sebzelerde, çay ve kakao ürünlerinde bulunur. Polifenoller genellikle fenolik asitlerden izole edilir. Oksidatif strese ve dejeneratif bozukluklara karşı birçok biyolojik fonksiyon gösterirler (Abdelkader ve diğ., 2020).

Hücre içi ve hücre dışı ROS konsantrasyonlarında dengeyi korumak önemlidir. Üretilen ve elimine edilen ROS miktarı, hücresel ortamdaki çeşitli faktörler tarafından kontrol edilir. Bu faktörler antioksidanlar ve antioksidan enzimler olarak bilinir. Normal molekül veya bileşik, bir elektronu kaybettikten sonra kararsız hale gelir ve bu da serbest elektronların tekrar kararlı hale gelmesini sağlar. Normal moleküllerin aksine, antioksidanlar birbirleriyle bağ kurarak yapılarında denge kaybetmeden elektron bağışlama eğilimindedirler. Memelilerde bulunan doğal antioksidanlar arasında bilirubin, glutatyon (GSH) gibi tiyoller, diyet polifenollerinden bazı vitamin ve mineraller vb. bulunur. Hücresel ortamdaki antioksidanlar, ROS'un hücresel yapılardan elektron almasını önler. Bu nedenle, ROS konsantrasyon dengesini korumak için hücreler içinde yeterli konsantrasyonda antioksidanlara ihtiyaç vardır. Antioksidanlar serbest radikallerin atılmasına yardımcı olsalar da, elektron verme işlemi ileri bir reaksiyon olarak devam ederse hücre içi antioksidanların konsantrasyonu değer kaybedecektir.

Glutatyon: GSH, GST tarafından konjugasyon yoluyla katalize edilen elektrofilik metabolitleri uzaklaştırmak için ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda daha da önemlisi sayısız metabolik süreçte yer alan bir tripeptit biyomoleküldür (Şekil 2.10).



Şekil 2.10: Glutatyon (http://what-when-how.com).

Önemli bir hücre içi antioksidan olarak, hücreleri lipit peroksitlerin, reaktif oksijen ve azot türlerinin ve ksenobiyotiklerin neden olduğu hasarlardan koruyan hücresel redoks durumunun düzenleyicisi olarak işlev görür. GSH antioksidan sistemindeki moleküler değişiklikler ve GSH homeostazındaki bozukluklar, tümörün başlatılması, ilerlemesi ve tedaviye yanıtında rol oynamıştır (Kennedy ve diğ., 2020).

Antioksidan enzimler, serbest radikalleri temizlemede antioksidanları düzenlemek için hücresel ortamda bulunan protein kümeleridir. Antioksidan enzimlerin temel işlevi, antioksidanların elektron bağış mekanizmasını kolaylaştırmak ve oksitlenmiş antioksidanları ters reaksiyonda olduğu gibi indirgenmiş formuna geri dönüştürmektir. Biyolojik sistemde az sayıda antioksidan enzim vardır ve serbest radikalleri temizlemede önemli rolleri olan yaygın enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT)'dır. Toplu olarak bu üç enzim, hücreleri oksidatif strese karşı savunmak için birlikte çalışır.

Katalaz (CAT): CAT, hidrojen peroksiti (H_2O_2), peroksizomlar gibi hücrelerin alt organel fragmanları içinde suya (H_2O) ve oksijene (O_2) dönüştürmek için işlev görür.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$$

Glutatyon Peroksidaz (GPx): GPx, ROS'u özellikle lipit peroksitleri ve H_2O_2'yi, GSH'ın oksidasyonu ile birleştirilmiş bir reaksiyonda indirgeyerek atma eğilimindedir.

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + 2H_2O$$

Süperoksit Dismutaz (SOD): Hücrelerin mitokondrisindeki SOD, süperoksit anyonlarını H_2O_2 ve O_2'e dönüştürerek ortadan kaldırmak için işlev görür. Süperoksit iyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri, tüm organizmaların başa çıkabileceği en yaygın ROS'dur.

$$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

CAT ve GPx, hücrelerin sitoplazmasında ve mitokondriyal matriksinde yaygın olarak bulunur.

Düşük H_2O_2 konsantrasyonu, farklı biyotik ve abiyotik strese karşı savunmak için biyolojik süreçleri işaret ederken, yüksek H_2O_2 konsantrasyonu programlanmış hücre ölümüne neden olur (Stephenie ve diğ., 2020).

2.6. MORİNGA OLEİFERA

Moringa oleifera Lam., Moringaceae familyasından olan moringa cinsinin en bilinen ve yaygın olarak yetiştirilen çeşididir.

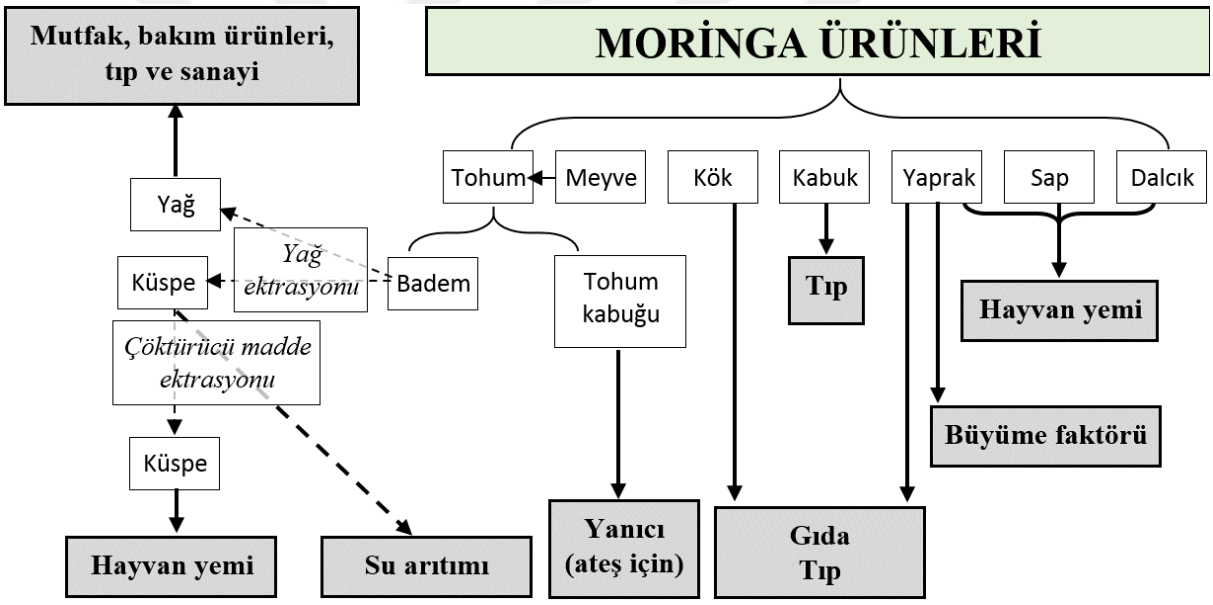
Moringa oleifera Lam., (*M. oleifera)* , batı ve alt Himalaya bölgesi, Hindistan, Pakistan, Asya, Afrika, Filipinler, Tayland, Bangladeş ve Afganistan gibi dünyada yaygın olarak yetişmektedir (Şekil 2.11).



Şekil 2.11: *Moringa oleifera* ağacı (https://tribune.com).

M. oleifera, çeşitli dillerde farklı şekilde adlandırılan bir bitkidir. Yaygın isimler arasında moringa, baget ağacı, yaban turpu ağacı, ben ağacı veya benzolive ağacı bulunmaktadır. Moringa, mucize ağaç olarak ya da hayat ağacı olarak da adlandırılır (Onu ve Aniebo, 2011). Mucize olarak adlandırılmasının sebebi tohumundan köküne, sapına kadar bitkinin her parçasından yararlanılması ve her parçanın ayrı bir besin değerinin olmasıdır (Abe ve Ohtani, 2013; Bakre ve diğ., 2013). Moringa ağacı, sebze (yaprakları, çiçekleri, kavrulmuş tohumları), baharat (esas olarak kökler), yemek ve kozmetik yağı (tohumlar) ve tıbbî bitki (tüm bitki organları) olarak yetiştirilir ve kullanılır. *M. oleifera,* tıp, insan besini, hayvan yemi, yağ,

selüloz kaynağı, su arıtma sistemleri gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. *M. oleifera,* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve sapları farklı alanlarda kullanılmaktadır (Şekil 2.12). Bitkinin önemli tıbbi özellikleri arasında antipiretik (Toma ve Deyno, 2014), antiepileptik, anti-inflamatuar, anti-ülseratif (Prabu ve diğ., 2019), anti-hipertansif, kolesterol düşürücü, anti-oksidan, anti-diyabetik, antikanser (Gopalakrishnan ve diğ., 2016), hepatoprotektif, anti-bakteriyel ve anti-fungal etkiler bulunmaktadır (Rehman ve diğ., 2020; Abdu ve Garba, 2021). Anti-helmintik, antibiyotik, detoksifiye edici, bağışıklık yapıcı özelliğinin olduğu bilinmektedir ve sıtmayı tedavi etmek için kullanılmıştır, ayrıca ağır metallerin uzaklaştırılması için biyo emici olarak da kullanılabilir (Gupta ve diğ., 2005). *Moringa oleifera,* hepatorenal, kardiyovasküler, hematolojik ve gastrointestinal bozukluklar gibi çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek amacıyla da yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Ahmed ve diğ., 2020).



Şekil 2.12: *Moringa oleifera*'nın kullanım alanı (Foidl ve diğ., 2002; Swaran ve Vidhu, 2011; Agoyi ve diğ., 2014).

M. oleifera,, tropik ve subtropik olan birçok ülkede yetiştirilen çok değerli bir bitkidir. Besin değeri yüksek, geniş tıbbi kullanım yelpazesine sahiptir. Bu bitkinin farklı kısımları önemli mineraller içerir ve iyi bir protein, vitamin, karoten, amino asit ve fenolik kaynağıdır. Moringa bitkisi, zeatin, alkoloidler, saponinler, flavonoidler, kuersetin, kaempferol, luteolin ve diğer birçok fitokimyasalın zengin ve nadir kombinasyonunu sağlar (Omotoso ve diğ., 2018).

Fitokimyasallar, çiçekler, tomurcuklar, yapraklar, meyveler, kökler ve kabuklar gibi bitki kısımlarında doğal olarak bulunan besin dışı biyoaktif bileşikler grubudur. Bitkiler için hastalıklara ve birçok dış saldırıya karşı savunma mekanizması olarak diğer bitki bileşenleriyle birlikte çalışır. Fitokimyasallar ayrıca bitkilerde karakteristik renk, aroma ve lezzet sağlar, bitki metabolitleridirler. İnsanlarda, birçok fitokimyasalın yaşlanma, koroner kalp hastalığı, Alzheimer hastalığı, nöro-dejeneratif bozukluklar, ateroskleroz katarakt ve iltihaplanma gibi birçok dejeneratif hastalığa ve patolojik sürece karşı koruyucu ve önleyici olduğu bulunmuştur (Fernando ve diğ., 2017). Hem epidemiyolojik hem de klinik çalışmalar, bu fitokimyasalların çoğunun antioksidan aktiviteleri ile koruyucu ve hastalık önleyici işlevlerini sergilediğine dair kanıtlar sağlamıştır. Antioksidan aktiviteye sahip fitokimyasal bileşikler arasında fenoller, fenolik asitler ve türevleri, askorbik asit, flavonoidler, fitik asit gibi birçok sterol bulunur. Antioksidanlar olarak, bu türler serbest radikalleri azaltabilir, metal katalizörleri kelatlayabilir, antioksidan enzimleri aktive edebilir ve oksidazları inhibe edebilir (Oluduro, 2012). *M. Oleifera* yaprakları (Şekil 2.13) havuçtan daha fazla A vitamini, sütten daha fazla kalsiyum, ıspanaktan daha fazla demir, portakaldan daha fazla C vitamini ve muzdan daha fazla potasyum içerir ve protein kalitesi süt ve yumurtadan daha fazladır.



Şekil 2.13: *Moringa oleifera* yaprağı (www.shutterstock.com).

Yapraklar, emziren annelerde emzirme döneminde anne sütünün arttırılmasında faydalıdır. Tohumların, içme suyunun arıtılmasında, bitkisel yağın temizlenmesinde, mineral parçacıklarını ve organik maddeleri çökelten toksik olmayan bir doğal polipeptit içerdiği bulunmuştur. Meyve suyu ve bira endüstrilerinde lifleri çökeltmek için de kullanılır.

Moringa yaprakları, özellikle bebekler ve emziren anneler arasında yetersiz beslenmeyle mücadele etmek ve hamile kadınlarda çocuk doğumu sırasında uterus kasılmasını hızlandırmak için kullanılmıştır (Oluduro, 2012).

Yapraklar yenilebilir ve genellikle ıspanak gibi pişirilir ve yenir veya çorba ve salata yapmak için kullanılır. Yaprak proteinindeki amino asitlerin bileşimi iyi dengelenmiştir (Ogbe ve Afikku, 2011).

Yaprakları, geleneksel tıpta şifacılar tarafından ülser, ishal, dizanteri gibi çeşitli mide rahatsızlıkları ve cilt enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmıştır (Ijioma ve diğ., 2018). Bazı diyabet vakalarında, Moringa şeker seviyelerini ve arteriyel gerginliği stabilize etmek için de kullanılabilir (Anwer ve diğ., 2021).

Çalışmada, halk arasında çeşitli alanlarda kullanılan *Moringa oleifera* yaprak ekstresinin VPA ile oluşturulan mide doku hasarı üzerine etkileri incelenmiştir

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMAMIZDA KULLANILAN CİHAZLAR VE ALETLER

Buzdolabı: Arçelik

Derin Dondurucu: Beko -20 °C, New-Brunswick Scientific -76 °C

Distile Su Cihazı: Brand MonoDest 3000

Isıtıcı: Memmert UNB 500

pH Metre: Hanna pH/ORPvMeter HI 2211

Santrifüj Cihazı: Denley BS400

Soğutmalı Santrifüj Cihazı: Sigma Laboratory Centrifuges 3K30

Ultrasonik Su Banyosu: Bandelin Sonorex

Spektrofotometre: Shimadzu UV-Visible Mini UV-1240, Shimadzu UV-1700 UV-Visible Spectrophotometer

Spektroflurometre: Biotek Flx 800

Su Banyosu: Memmert WB 14

Terazi: Radwag XA 60/220/X Hassas Terazi, Radwag XA AS 220/C/2 Hassas Terazi

UV Lambası: DESAGA MinUVIS Abnehmbar removable UV 254/366 nm

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Glutatyon (GSH) Tayininde - Çöktürme çözeltisi için metafosforik asit (HPO_3, Carlo Erba 407465), etilendiamin tetraasetik asit (EDTA, Merck 8421) ve sodyum klorür (NaCl, Merck 106404), deneyin uygulanmasında ise 5,5'-ditiyobis-2nitrobenzoik asit (DTNB, Sigma D8130), disodyum fosfat (Na_2HPO_4, Fluka 71642) ve redükte glutatyon (GSH, Fluka 49750) kullanıldı**.**

Lipid peroksidasyonu (LPO) Tayininde - Triklorasetik asit (TCA; Cl_3COOH, Merck 100807), hidroklorik asit (HCl, Merck 100314), sodyum hidroksit (NaOH, Fluka 71691), tiyobarbitürik asit (TBA; $C_4H_4N_2O_2S$, Fluka 88481), n-bütanol ($C_4H_{10}O$, Merck 100988) ve 1,1,3,3tetraetoksipropan (TEP, Aldrich T9889) kullanıldı.

Katalaz (CAT) Aktivitesi Tayininde - Hidrojen peroksit (H_2O_2, Merck 108600) ve tampon için disodyum fosfat (Na_2HPO_4, Fluka 71642) ve monopotasyum fosfat (KH_2PO_4, Riedel de Häen 04243) kullanıldı.

Süperoksid dismutaz (SOD) Aktivitesi Tayininde - Disodyum fosfat (Na_2HPO_4, Fluka 71642) ve monopotasyum fosfat (KH_2PO_4, Riedel de Häen 04243) ve etilendiamin tetraasetik asit (EDTA, Merck 8421) tampon hazırlamada kullanılmış olup deneyin uygulanmasında ise riboflavin ($C_{17}H_{20}N_4O_6$, Sigma 47861) ve o-dianisidin hidroklorür ($C_{14}H_{16}N_2O_2 \cdot 2HCl$, Fluka 33430) kullanıldı.

Glutatyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesi Tayininde - Glutatyon (GSH; $C_{10}H_{17}N_3O_6S$, Fluka 49750), indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH, Sigma N1630), glutatyon redüktaz (GR, Sigma G3664), hidrojen peroksit (H_2O_2, Merck 108600), fosfat tamponunda ise disodyum fosfat (Na_2HPO_4, Fluka 71642), monopotasyum fosfat (KH_2PO_4, Riedel de Häen 04243), etilendiamin tetraasetik asit (EDTA, Merck 8421) ve sodyum azit (NaN_3, Fluka 71289) kullanıldı.

Glutatyon Redüktaz (GR) Aktivitesi Tayininde - İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH, Sigma N1630), yükseltgenmiş glutatyon (GSSG, Sigma G4376), tampon olarak ise tris (Hidroksimetil) aminometan (Tris; $C_{14}H_{11}NO_3$, Merck 108382), hidroklorik asit (HCl, Merck 100314) ile etilendiamin tetraasetik asit (EDTA, Merck 8421) kullanıldı.

Glutatyon-S-Transferaz (GST) Aktivitesi Tayininde - Glutatyon (GSH, Fluka 49750), 1kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB; $C_6H_3ClN_2O_4$, Fluka 24440), etanol (C_2H_5OH, Riedel de Häen 32221) ve tampon çözeltisi için ise disodyum fosfat (Na_2HPO_4, Fluka 71642) ve monopotasyum fosfat (KH_2PO_4, Riedel de Häen 04243) kullanıldı.

Laktat Dehidrojenaz (LDH) Aktivitesi Tayininde - İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit (NADH, Fluka 43420), sodyum pirüvat ($C_3H_3O_3Na$, Merck 6619) tampon olarak ise tris

(Hidroksimetil) aminometan (Tris; $C_{14}H_{11}NO_3$, Merck 108382), hidroklorik asit (HCl, Merck 100314) ile etilendiamin tetraasetik asit (EDTA, Merck 8421) kullanıldı.

Reaktif Oksijen Türleri (ROS) Miktar Tayininde – HEPES (Sigma-H-3375), NaCl (Merck 1,06400), KCl (Merck Art-4935). NaOH (Merck 1,06482), DMSO (Merck 8,0291), DCF (D6883 Sigma). $MgCl_2xH_2O$ (Fluka 63065).

Total Oksidan Türleri (TOS) Miktar Tayininde – Xyelenol Orange (Merck 108677), NaCl (Merck 106400), H_2SO_4 (Merck 100317), gliserol ($C_3H_8O_3$ Merck Art-4091), o-dianisidin ($C_{14}H_{16}N_2O_2 \cdot 2HCl$-Sigma D3252), ferröz iyonu (ferröz amonyum sülfat Fluka), H_2O_2 (Merck 108600).

Protein Karbonil (PC) Miktar Tayininde - 2,4-dinitrofenil hidrazin (DNPH; Merck 3081), hidroklorik asid (HCl; Merck 100314), triklorasetik asid (TCA; Riedel de Häen 27242), guanidin hidroklorür (Fluka 50940), etanol (Riedel de Häen 32221), etilasetat (Merck 822277) kullanıldı.

Miyeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi Tayininde - 4-aminoantipirin (4-AAP; Sigma 4382), fenol (Merck 5559), hekzadesiltrimetil amonyum bromür (HDTMAB; Merck 814119), H_2O_2 (Merck1080600) kullanıldı. Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4; Merck A116773847) ve potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4; Merck 105101) fosfat tamponu hazırlanmasında kullanıldı.

Ksantin Oksidaz (XO) Aktivitesi Tayininde - Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4; Merck A116773847), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4; Merck 105101) kullanıldı. Etilendiamintetraasetik asid sodyum tuzu (EDTA $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8.2H_2O$; Merck 2604134), ksantin (Sigma XO626) kullanıldı.

Paraoksonaz (PON) Aktivitesi Tayininde - Paraoksan etil (Riedel de Häen 36186), tris (hidroksimetil aminometan; Merck 108387), hidroklorik asid (HCl; Merck 100314), kalsiyum klorür ($CaCl_2$; Merck 2386), sodyum klorür (NaCl; Merck 6400) kullanıldı.

Sodyum-Potasyum ATPaz (Na^+/K^+-ATPaz) Aktivitesi Tayininde - Sodyum klorür (NaCl, Merck 106404), potasyum klorür (KCl, Riedel de Häen 12636), magnezyum klorür ($MgCl_2$, Fluka 63065), etilendiamin tetraasetik asit (EDTA, Merck 8421), ouabain ($C_{29}H_{44}O_{12}$, Sigma

03125), adenozin 5'-trifosfat (ATP, Sigma A26209), triklorasetik asit (TCA; $C_2HCl_3O_2$, Merck 100807), sülfürik asit (H_2SO_4, Merck 100748), amonyum molibdat ($(NH_4)_2MoO_4$, Merck 1181), sodyum disülfit ($Na_2S_2O_5$, Merck 6357), sodyum sülfit (Na_2SO_3, Merck 6652), 1-amino-2-naftol-4-sülfonik asit (ANSA; $C_{10}H_9NO_4S$, Fluka 08751), monopotasyum fosfat (KH_2PO_4, Riedel de Häen 04243) ve tris (Hidroksimetil) aminometan (Tris; $C_{14}H_{11}NO_3$, Merck 108382) kullanıldı.

Aril Esteraz (ARE) Aktivitesi Tayininde: Fenil asetat (Fluka 46040), $CaCl_2$ (Fluka 21085), tris (Merck 108382), HCl (Merck 100317) kullanıldı.

Arginaz Aktivitesi Tayininde - Tiyosemikarbazid (Merck 108156), diasetilmonoksim (Merck 2918), demir-3-klorür ($FeCl_3.6H_2O$; Merck 3946), fosforik asid (H_3PO_4; Merck 4967293), sülfirik asid (H_2SO_4; Merck 100713), mangan-2-klorür ($MnCl_2.4H_2O$; Riedel de Häen 13216), L-arginin monohidroklorür (Merck 101543), üre (Riedel de Häen 15604), benzoik asid (Fluka G145) kullanıldı. Tampon için sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$; Fluka 71628), sodyum karbonat (Na_2CO_3; Riedel de Häen 13418) kullanıldı.

Nitrik Oksit (NO) Miktar Tayininde: VCl_3 (Merck 112393), NEDD (Fluka 70720), sülfanilamid (Fluka 86060), HCl (Merck 100317), $ZnSO_4$ (Merck 8881), NaOH (Merck 106482) kullanıldı.

Total Protein (TP) Miktar Tayininde - Sodyum hidroksit (NaOH, Fluka 71691), sodyum karbonat (Na_2CO_3, Analar 10240), bakır sülfat ($CuSO_4$, Panreac), dipotasyum tartarat ($C_4H_4K_2O_6$, Merck 5160), sodyum tungstat (Na_2WO_4, Merck 6672), sodyum molibat (Na_2MoO_4), hidroklorik asit (HCl, Merck 100314), brom (Br_2), sodyum klorür (NaCl, Merck 106404), fosforik asit (H_3PO_4, Merck 100563) ve lityum sülfat ($LiSO_4$, Riedel de Häen 13029) kullanıldı.

3.3. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun 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.

1.Grup: Kontrol Sıçanlar (n=8)

2.Grup: Kontrol+ Moringa Verilen Sıçanlar (n=8)

3.Grup: Valproik Asit Verilen Sıçanlar (n=15)

4.Grup: Valproik Asit ve Moringa Verilen Sıçanlar (n=15)

3.4. DENEYLERDE KULLANILAN ETİL ALKOLLÜ MORİNGA EKSTRESİNİN HAZIRLANMASI

Taze Moringa yaprakları Nijerya'nın Sokoto eyaletinin Sokoto şehrindeki çiftliklerden toplandı. Bitkinin tür teşhisi Usmanu Dandfodiyo Üniversite'sinin Biyolojik Bilimler Departmanı Botanik Birimi'nde Umar Abdullahi (PhD) isimli taksonomist tarafından yapıldı. Moringa yaprakları distile su ile yıkanarak gölgede kurutuldu. Toz haline getirildi. Kağıt zarflar içinde paketlendi ve nem absorbsiyonu ile kontaminasyondan kaçınmak için polietilen poşetlerde saklandı. %70'lik etanol ekstresi hazırlamak için 100g bitki yaprakları, sokslet cihazına konuldu. Üzerine 150 mL %70 etil alkol ilave edildi, en az 20 sifon gerçekleşene kadar reflüks edildi. Çözücü, evaporatörde uzaklaştırıldı. Elde edilen kalıntı tartıldı, etiketli ependorf tüplerine transfer edildi ve kullanıma kadar -20 ^{o}C'de muhafaza edildi.

3.5. DENEY HAYVANLARINDA MİDE HASARININ OLUŞTURULMASI

Yapılan çalışmada mide hasarı oluşturmak için sodyum valproat kullanıldı. %70'lik moringa alkollü ekstre ise sıçanlara koruyucu madde olarak verildi. Moringa alkollü ekstre ve sodyum valproat gavaj yolu ile verildi.

1. Grup (kontrol grubu) sıçanlara günde bir kez 1 mL serum fizyolojik 15 gün süre boyunca verildi. 2. Grup sıçanlara günde 300 mg/kg moringa ekstresi 15 gün süre ile verildi. 3. Grup sıçanlara günde 500 mg/kg sodyum valproat 15 gün süre ile verildi. 4. Grup sıçanlara 15 gün süre ile günde 300 mg/kg moringa ekstresi ve 500 mg/kg sodyum valproat verildi.

3.6. MİDE DOKUSU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Bir gece öncesinden aç bırakılan sıçanlar deneyin 16 ıncı gününde anestezi altında kesildiler. Sıçanlardan mide dokusu örnekleri alındı. Alınan mide dokuları %0.9'luk NaCl ile yıkandıktan sonra deney gününde kullanılmak üzere %0.9'luk NaCl içinde -76ºC'de saklandı.

3.7. MİDE DOKUSU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI

Mide homojenizatları hazırlanırken mide makasla ufak parçalara ayrıldı ve tartıldı. Tartılan dokular %0.9'luk NaCl çözeltisi ile cam homojenizatörde homojenize edilerek %10'luk (w/v) mide dokusu homojenizatları hazırlandı. Hazırlanan örnekler +4ºC'de 10 dakika 10.000 rpm'de santrifüje edildi. Santrifüjden sonra mide dokularının süpernantları ependorflara konularak numaralandırıldı ve deney günü kullanılmak için -78°C'lik derin dondurucuya konuldu.

Mide Dokusu Homojenizatlarında Yapılan Deneyler – Mide dokusundan elde edilen homojenizatlarda, GSH, LPO, CAT, SOD, GPx, GR, GST, LDH, ROS, TOS, PC, MPO, XO, PON, Na^+/K^+ ATPaz, ARE, arginaz, NO ve TP tayinleri yapıldı.

3.8. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTAR TAYİNİ

Mide dokusunda glutatyon (GSH) miktar tayini için Ellman metodu kullanıldı. Ellman ayıracı, 5,5'-ditiyobis-(2-nitro benozik asit) ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan ürünün renk şiddeti 412 nm'de spektrofotometre ölçüldü (Beutler, 1975).

Kullanılan Çözeltiler

Çöktürme Çözeltisi

1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTA ve 30 g sodyum klorür (NaCl) tartılıp distile suda ayrı ayrı çözüldü. Daha sonra çözeltiler karıştırılarak toplam hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti +4 °C'de 3 hafta dayanıklıdır.

Sodyum Sitrat Çözeltisi (%1)

Sodyum sitratdan 1 g tartıldı. Az miktarda distile suda çözülerek hacmi 100mL'ye tamamlandı. Bu çözelti DTNB'nin (belirtme reaktifi) hazırlanmasında kullanıldı.

Belirtme Reaktifi (%40 DTNB, Ellman Ayıracı)

10 mg 5,5'-ditiyobis-2nitrobenzoik asit (DTNB) tartıldı, % 1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü ve hacmi 25 mL'ye %1'lik sodyum sitrat çözeltisi ile tamamlandı. Bu çözelti koyu renkli şişede ve +4 °C'de saklandı.

Sekonder Sodyum Fosfat (Na_2HPO_4) Çözeltisi (0.3 M)

Na_2HPO_4 dan 10.65 g tartıldı az suda çözülerek hacmi 250 mL'ye distile su ile tamamlandı.

GSH Stok Standart Çözeltisi (%100 mg)

10 mg GSH tartıldı az miktarda distile suda çözüldü. Hacmi distile su ile 10 mL'ye tamamlandı. Çözelti günlük hazırlanmalıdır.

GSH Standart Çözeltisi

Glutatyon standart eğrisini çizmek için %100 mg'lık GSH standart çözeltisi kullanıldı. %2, 4, 6, 8, 10 mg'lık glutatyon standart çözeltisi hazırlanmak üzere distile su ile seyreltmeler yapıldı.

Deneyin Yapılışı

Bir santrifüj tüpüne 0.5 mL mide dokusu homojenizatı ve 0.75 mL çöktürme reaktifi ilave edildi. Bu çözelti 5 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüje edildi. Süpernatantlar alındı ve aşağıda tabloda belirtilen şekilde ve miktarlarda işlemlere devam edildi.

Çözeltiler	Kör	Standart	Numune
Süpernatant	--	--	0.5 mL
Distile Su	0.5 mL	--	--
Çalışma Standart Çözeltisi	--	0.5 mL	--
Sekonder Sodyum Fosfat Çözeltisi	2 mL	2 mL	2 mL
Belirtme Reaktifi (DTNB)	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL

Yukarıda tabloya göre hazırlanan örnekler vorteks ile karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü.

Mide dokusundaki glutatyon miktarı hesaplandı.

Glutatyon miktarı (nmolGSH/mgProtein) = (N_{abs}/St_{abs}) x (Ax2.5/307.3) x 10^6/P

N_{abs}: Numunenin absorbans değeri

Std_{abs}: Standardın absorbans değeri

A: Standart konsantrasyonu (% mg)

P: Doku % mg protein miktarı

307.3 : Glutatyon'un molekül ağırlığı

3.9. MİDE DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU MİKTAR TAYİNİ

Lipid peroksidasyonu (LPO) miktar tayininde Ledwozyw metodu kullanıldı. Kullanılan yöntemde tiyobarbütirik asit (TBA) ve LPO ürünleri arasındaki reaksiyon sonucu oluşan rengin absorbansı spektrofotometre cihazında 532 nm dalga boyunda ölçüldü (Ledwozyw ve diğ., 1986).

Kullanılan Çözeltiler

HCl Çözeltisi (0.6 M)

0.6 N HCl hazırlamak için az miktarda distile suyun üzerine 12.43 mL derişik HCl ilave edildi. Son hacmi 250 mL'ye distile su ile tamamlandı. Bu çözelti TCA çözeltisinin hazırlanmasında kullanıldı.

Triklorasetik Asit (TCA) Çözeltisi (1.22 M)

49.83 g TCA tartıldı ve HCl (0.6 N) içinde çözüldü, 0.6 N HCl ile hacmi 250 mL'ye tamamlandı.

NaOH Çözeltisi (1 M)

4 g NaOH tartıldı. Hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı. Bu çözelti TBA çözeltisinin hazırlanılmasında kullanıldı.

Tiyobarbitürik Asit (TBA) Çözeltisi (0.047 M)

500 mg TBA tartıldı. 1N NaOH çözeltisi (6mL) ve distile su (69mL) ile çözüldü.

Standart Çözelti (4.4 nmol/mL 1,1,3,3-tetra etoksi propan (TEP)

0.1 mL 1,1,3,3-tetraetoksipropan biraz distile suda çözülüp son hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti stok standart olarak kullanıldı.

Çalışma standardı hazırlamak için stok standardından 0.1 mL alınıp hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

n-Bütil Alkol

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizatları ve standart örnekleri tabloda belirtildiği şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	Kör	Standart	Numune
Doku Homojenizatı	--	--	0.5 mL
TCA Çözeltisi	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL

Hazırlanan kör, numune ve standart örnekleri vortekslenip oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi.

Standart Çözeltisi	--	0.5 mL	--
Distile Su	0.5 mL	--	--
TBA Çözeltisi	0.75 mL	0.75 mL	0.75 mL

Hazırlanan örnekler iyi bir şekilde vortekslendikten sonra ağızları kapatıldı ve 30 dakika su banyosunda bekletildi. Tüpler soğutuldu ve n- bütil alkol ilave edildi.

n-Bütil Alkol	2 mL	2 mL	2 mL

Tüpler iyi bir şekilde vorteks ile karıştırıldıktan sonra 10 dakika 4000 rpm'de santrifüje edildi.

Bütanol fazı alındı ve 532 nm'lik dalga boyunda spektrofotometrede absorbans değeri ölçüldü.

LPO miktarı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

LPO Miktarı (nmol MDA/mg protein) $= (N_{abs}/St_{abs})$ x (4.4/protein) x 100

4.4: Standart çözeltisi (nmol/mL TEP)

P: Doku protein miktarı (% mg)

N_{abs}: Numunenin absorbans değeri

Std_{abs}: Standardın absorbans değeri

3.10. MİDE DOKUSUNDA KATALAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Mide dokusunda katalaz (CAT) aktivitesinin tayini Aebi yöntemine göre belirlendi. Bu yöntemde H_2O_2'nin CAT enzimi sayesinde H_2O'ya dönüşümü gerçekleşir. Bu dönüşüm esnasında spektrofotometrede absorbans değerinin azalması 240 nm'de ölçüldü (Aebi, 1984).

Kullanılan Çözeltiler

Fosfat Tamponu (50 mM, pH 7.0)

0.708 g Na_2HPO_4 ve 0.680 g KH_2HPO_4 tartıldı ve distile suda çözüldü. Ayrı ayrı 100 mL'ye tamamlandı. 9 hacim Na_2HPO_4 ve 1 hacim KH_2HPO_4 olacak şekilde karıştırıldı ve hazırlanan çözeltinin pH'ı pH metre ile 7.0'ye ayarlandı. Bu tampon çözeltisi H_2O_2 çözeltisini hazırlamak için kullanıldı. Çözelti +4°C'de buzdolabında muhafaza edildi.

H_2O_2 Çözeltisi (3 mM)

30 mM'lık bu çözeltiyi hazırlamak için %35'lik H_2O_2'den 258 µL alındı ve hacmi 100 mL'ye 50 mM'lık fosfat tamponu ile tamamlandı.

Serum Fizyolojik Çözeltisi (%0.9 NaCl)

9 g NaCl distile suda çözüldü. Hacmi 1 L'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizatları aşağıda verildiği şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	Kör	Numune
Doku Homojenizatı	--	0.5 mL
Serum Fizyolojik Çözeltisi	0.5 mL	--
H_2O_2 Çözeltisi	2 mL	2 mL

Numunenin 0. ve 1. dakikada 240 nm'de spektrofotometrede absorbans değerleri köre karşı ölçüldü.

Mide dokusundaki CAT aktivitesi belirtilen formül yardımıyla hesaplandı.

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

V_T: Toplam çözelti hacmi

V_N: Numune hacmi

f: Seyreltme miktarı

P: mg/mL cinsinden doku protein miktarı

ΔOD: 0. ve 1. dakika arasındaki absorbans farkı

3.11. MİDE DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Mide dokusundaki süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesi tayini Mylorie ve diğ., yöntemine göre yapıldı (Mylorie ve diğ., 1986).

Kullanılan Çözeltiler

Fosfat Tampon Çözeltisi (50 mM, pH 7.8)

0.7098 g Na_2HPO_4 ve 0.6804 g KH_2HPO_4 tartıldı. Az miktarda suda çözüldü. Son hacimler ayrı ayrı 100 mL'ye tamamlandı. 9 hacim Na_2HPO_4 ve 1 hacim KH_2HPO_4 olacak şekilde karıştırıldı ve hazırlanan çözeltinin pH'ı pH metre ile 7.0'ye ayarlandı.

Etilendiamintetraasetik Asit Çözeltisi (EDTA) (0.1 mM)

0.0037 g Na_2EDTA tartıldı. 50 mM fosfat tamponunda (pH=7.8) çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

Fosfat Tampon Çözeltisi (10 mM, pH 7.5)

0.142 g Na_2HPO_4 ve 0.136 g KH_2HPO_4 tartıldı ayrı ayrı distile suda çözüldü. 9 hacim Na_2HPO_4 ve 1 hacim KH_2HPO_4 olacak şekilde karıştırıldı ve hazırlanan çözeltinin pH'ı pH metre ile 7.5'e ayarlandı.

o-Dianisidin-Hidroklorür Çözeltisi (6 mM)

1.8 mg o-dianisidin-HCl tartıldı ve distile su ile hacmi 10 mL'ye tamamlandı.

Riboflavin Çözeltisi (0.2 mM)

1.8 mg riboflavin tartılarak fosfat tampon (pH 7.5) ile 25 mL'ye tamamlandı.

SOD Stok Standardı (120 IU/mL)

SOD standardı 120 IU/mL olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan bu standarttan seyreltmeler yapılarak 2- 10 IU/mL olan çalışma standart çözeltileri hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Mide doku homojenizatlarında SOD aktivitesi tabloda belirtildiği şekilde tayin edildi.

Çözeltiler	Kör	Standart	Numune
Fosfat Tampon Çözeltisi	2.7 mL	2.6 mL	2.6 mL
o-Dianisin-HCl Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Standart Çözeltisi	--	0.1 mL	--
Doku Homojenizatı	--	--	0.1 mL
Riboflavin Çözeltisi	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL

Spektrofotometrede 460 nm' de ilk absorbans değeri okundu. Kör, numune ve standart örnek tüpleri floresans ışıkta 8 dakika bekletildi. Absorbans değerleri tekrar 460 nm'de okundu.

Standart grafik yardımı ile U/mg protein dk cinsinden SOD aktivite değerleri hesaplandı

3.12. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Çalışmada, mide dokusundaki glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesinin tayini Wendel yöntemine göre yapıldı. GPx enzimi H_2O_2 varlığında redükte GSH'ın okside GSSG yükseltgenmesini katalizler. Bu dönüşüm esnasında meydana gelen absorbans değeri 366 nm'de spektrofotometrede okunur (Wendel, 1981).

Kullanılan Çözeltiler

Potasyum Fosfat Tampon Çözeltisi (0.25 M, pH 7.0)

4.35 g K_2HPO_4 ve 3.4 **g** KH_2PO_4 tartıldı ve distile suda çözüldü. 6 hacim K_2HPO_4 ve 4 hacim KH_2PO_4 alınarak pH 7.0 olan çözelti hazırlandı. pH 7.0 olan bu çözeltiye 0.093 g (2.5 mM) EDTA ve 0.0162 g (2.5 mM) NaN_3 ilave edildi.

GSH Çözeltisi (10 mM)

0.03 g GSH tartılarak distile suda ile hacmi 10 mL'ye tamamlandı. Taze hazırlandı.

NADPH Çözeltisi (2.5 mM)

0.02 g NADPH tartılarak hacmi 10 mL'ye distile su ile tamamlandı. Çözelti günlük hazırlandı.

Glutatyon Redüktaz Çözeltisi (6 U/mL)

0.89 µL glutatyon redüktaz 6 U/mL 1 mL 0.25 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.0) içinde çözüldü. Çözelti günlük hazırlandı.

H_2O_2 Çözeltisi (12 mM)

10 µL %35'lik H_2O_2 çözeltisi 10 mL'ye distile su ile tamamlandı. Çözelti günlük hazırlandı.

Çözeltiler	Kör	Numune
Fosfat Tampon Çözeltisi	0.6 mL	0.4 mL
Doku Homojenizatı	--	0.2 mL
GSH Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL
NADPH Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL
Glutatyon Redüktaz Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL
H_2O_2 Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL

366 nm'de 5 dakika boyunca absorbans değerleri kaydedildi.

Belirtilen formül yardımıyla GPx aktivitesi hesaplandı.

GPx Aktivitesi (U/mg proteini) = (ΔOD/6.22) x 1000 x $(V_T/V_Ö)$ x f/mg protein

$V_Ö$: Örnek hacmi

V_T: Toplam çözelti hacmi

F: Seyreltme faktörü

ΔOD: 0 ve 5 inci dakika arasındaki absorbans farkı

3.13. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Mide dokusundaki glutatyon redüktaz (GR) aktivitesinin tayini için Beutler metodu kullandı. Okside glutatyonun GR ile indirgenmesi esnasında yükseltgenen NADH miktarının hesaplanması ile GR aktivitesi tayin edildi (Beutler, 1971).

Kullanılan Çözeltiler

Tris Çözeltisi (50 mM)

0.61 g Tris (hidroksi metil aminometan) tartılarak hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

EDTA (1 mM) Tris-HCl Tampon Çözeltisi

0.0037 g EDTA, Tris-HCl tamponunda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

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

50 mM Tris çözeltisinden 29 mL alındı, üzerine 50 mL 50mM HCl çözeltisinden ilave edildi. pH 8'e ayarlandıktan sonra hacmi EDTA tamponu ile 100 mL'ye tamamlandı.

NADPH Çözeltisi (2 mM)

1.6 mg NADPH 1 mL Tris-HCl tamponunda çözüldü. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

GSSG Çözeltisi (20 mM)

12.4 mg GSSG tartıldı. 1 mL Tris-HCl tampon ile çözüldü. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizatları aşağıda verildiği şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	Kör	Numune
Tris-HCl Tampon Çözeltisi	0.9 mL	0.87 mL
NADPH Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
GSSG Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
Doku Homojenizatı	--	0.03 mL

5 Dakika boyunca spektrofotometrede 340 nm'de absorbans değerleri ölçüldü.

Belirtilen formül yardımıyla GR aktivitesi hesaplandı.

GR aktivitesi (U/g protein) = (ΔOD / (dakika x 6.22)) x (VT / VN) x f / g protein

VT: Toplam çözelti hacmi

VN: Örnek hacmi

f: Seyreltme faktörü

ΔOD: Absorbans farkı (0. ve 5. dakika)

3.14. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

GSH ve 1-kloro-2,4-dinitrobenzenin (CDNB) konjugasyonu ile oluşan ürünün, 340 nm'deki absorbansının spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanılarak Habig ve Jakoby metoduna göre glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesi tayin edildi (Habig ve Jakoby, 1981).

Kullanılan Çözeltiler

Potasyum Fosfat Tampon Çözeltisi (0.2 M, pH 6.5)

K_2HPO_4 ve KH_2PO_4 0.2 M olacak şekilde tartılıp distile suda çözüldü. pH 6.5'e ayarlandı.

GSH Çözeltisi (60 mM)

1.84 g GSH tartılarak distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Çözelti günlük taze olarak hazırlandı.

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

1.22 g CDNB tartıldı. Susuz etanolde çözüldü. Hacmi etanol ile 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizatları aşağıda verildiği şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	Kör	Numune
Fosfat Tampon Çözeltisi	2 mL	1.5 mL
Doku Homojenizatı	--	0.5 mL
GSH Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
CDNB Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
Distile Su	0.9 mL	0.9 mL

3 dakika boyunca absorbans değeri 340 nm'de sektrofotometrede okundu.

Belirtilen formül yardımıyla GST aktivitesi hesaplandı.

GST aktivitesi (U/mg protein) = (ΔOD/dakika) x 0.625 x f / mg protein

ΔOD: 0 ve 3 üncü dak absorbans farkı

f: Seyreltme miktarı

3.15. MİDE DOKUSUNDA LAKTAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Mide dokusunda laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin belirlenmesi için Bais ve Philcox yöntemi kullanıldı. LDH, NADH varlığında pirüvatın laktata dönüşümünü katalizler. NADH'ın NAD^+'ye oksidasyonu 339 nm'de absorbans değerinin azalmasının ölçümü ile LDH aktivitesi hesaplandı (Bais ve Philcox,1994).

Kullanılan Çözeltiler

Tris-HCl+EDTA Tampon Çözeltisi (56 mM Tris-HCl+5.6 mM EDTA, pH 7.4)

0.680 g Tris tartıldı. Hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı. 56 mM'lık HCl çözeltisi hazırlandı. Bu çözelti ile Tris çözeltisinin pH'ı 7.4'e ayarlandı. 5.6 mM 0.2084 g EDTA tartıldı. Hazırlanan tampon çözelti içinde çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

NADH Çözeltisi (170 µM)

12.4 mg NADH tartıldı. Tris-HCl tamponunda çözüldü. Hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Çözelti taze olarak hazırlanıp kullanıldı.

Pirüvat Çözeltisi (14 mM)

37.25 mg sodyum pirüvat tartıldı. Distile su ile hacmi 25 mL'ye tamamlandı. Çözelti 37°C'de bekletildi.

Deneyin Yapılışı

Mide doku homojenizatlarında LDH aktivitesi tayini tabloda belirtildiği şekilde yapıldı.

Çözeltiler	Kör	Numune
NADH Çözeltisi	2 mL	2 mL
Doku Homojenizatı	--	0.05 mL

Tüpler 37ºC'de 5 dakika inkübe edildi.

Pirüvat Çözeltisi	0.25 mL	0.2 mL

Tüpler 37ºC'de 1 dakika inkübe edildi.

339 nm'de 3 dakika boyunca spektrofotometrede absorbans değerleri okundu.

Belirtilen formül yardımıyla LDH aktivitesi hesaplandı.

LDH aktivitesi (U/mg protein) = (ΔOD/dk) x (7143) / mg protein

ΔOD: Absorbans farkı

3.16. MİDE DOKUSUNDA REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ MİKTAR TAYİNİ

Mide dokusunda reaktif oksijen türleri (ROS) miktar tayininde Zhang ve diğ., metodu kullanıldı (Zhang ve diğ., 2018).

Kullanılan Çözeltiler

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

119.15 mg HEPES (20 mM), 192.85 mg NaCl (132 mM), 6.52 mg KCl (3.5 mM), 2.77 mg $CaCl_2$ (1 mM) ve 7.62 mg $MgCl_2$ (1.5 mM) tartıldı ve distile suda çözüldü. Çözeltinin pH'ı 2 M NaOH ile 7.25'e ayarlandı. Distile su ile çözeltinin hacmi 25 mL'ye tamamlandı.

2',7'-Diklorofloresan-diasetat (DCF) Çözeltisi (2000 µM)

0.97 mg DCF tartıldı ve 1 mL DMSO'da çözüldü. Bu stok çözelti olarak kullanıldı. (2000 µM) ve DMSO ile deneyde kullanılmak üzere seyreltildi (20 µM). Karanlıkta muhafaza edildi ve deneyden önce hazırlandı.

Dimetil sülfoksid (DMSO)

Orjinal şişesinden kullanıldı.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizatları tabloda verildiği şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	Kör	Numune
Doku Komojenizatı	--	5µL
DMSO	5 µL	--
HEPES-Na^+ Tampon Çözeltisi	55 µL	55 µL
2',7'-Diklorofloresan-diasetat (DCF) Çözeltisi	90 µL	90 µL

Numuneler siyah pleyte konuldu. 0. Dakikada spektrofluorometre floresans şiddetleri ölçüldü. Pleyt 37°C'de 30 dakika karanlıkta inkübe edildi. 30. dakikada spektrofluorometrede ölçüm yapıldı.

Flurometrede absorbans değerleri okundu.

Eksitayon: 480 nm

Emisyon: 535 nm

ROS miktarı = ΔOD/mg protein

ΔOD- 30. dk. floresans değeri, 0. dk. floresans değeri.

3.17. MİDE DOKUSUNDA TOTAL OKSİDAN MİKTAR TAYİNİ

Mide dokusunda total oksidan (TOS) miktar tayininde Erel'in metodu kullanıldı (Erel 2005).

Kullanılan Çözeltiler

Reaktif 1 Çözeltisi (pH 1.75)

11.4 mg Xylenol orange (150 mM) ve 0.818 g sodyum klorür (NaCl) (100 mM) tartıldı ve 90 mL'lik H_2SO_4 (25 mM) ile çözüldü. 100 mL'ye gliserol (1.35 M) ile tamamlandı. Bu karışımın pH'ı 1.75'e ayarlandı.

Reaktif 2 Çözeltisi

Ferröz iyonu (ferro amonyum sülfat) (5 mM) ve o-dianisidin-dihidroklorür (10 mM), H_2SO_4 (25 mM) ile içerisinde çözüldü.

Standart Çözeltisi

Bu çözelti H_2O_2 (200 mM) stoktan yapıldı. Standart çözelti 12.5, 25, 50, 100 ve 200 µM olacak şekilde distile su ile seyreltildi. Standart eğri grafiği hazırlandı..

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizatları ve standartlar tabloda verildiği şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	Kör	Standart	Numune
Reaktif 1 Çözeltisi	225 µL	225 µL	225 µL
Distile Su	35 µL	--	--
Standart Çözeltisi	--	35 µL	--
Doku Homojenizatı	--	--	35 µL
Reaktif 2 Çözeltisi	11 µL	11 µL	11 µL

10 dakika 37ºC'de inkübe edildi.

Spektrofotometrede 630 nm'de havaya karşı absorbans değeri ölçüldü. Kör absorbansı 0 µM olarak kabul edildi. Standart eğri yardımıyla numunenin mg/mL protein cinsinden miktarı hesaplandı. Doku protein miktarına bölünerek sonuç µmol H_2O_2/L protein cinsinden hesaplandı.

3.18. MİDE DOKUSUNDA PROTEİN KARBONİL MİKTAR TAYİNİ

Mide dokusunda protein karbonil (PC) miktarı Levine ve diğ. (1990) metoduna göre yapıldı. Doku PC miktarı 2,4-dinitrofenilhidrazinin karbonil grubu ile reaksiyona girerek oluşturduğu 2,4-dinitrofenilhidrazin miktarının oluşturmasına bağlı olarak belirlendi (Levine ve diğ., 1990).

Kullanılan Çözeltiler

DNPH (2,4-Dinitrofenil hidrazin) Çözeltisi (10 mM)

0.1981 g DNPH tartılarak 2.5 M HCl de çözülerek 100 mL'ye hacmi tamamlandı.

HCl Çözeltisi (2.5 M)

51.8 mL derişik HCl distile su ile 250 mL'ye tamamlandı.

TCA (Triklorasetik asid) Çözeltisi (%20)

20 g TCA tartıldı. Hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

Guanidin Hidroklorür Çözeltisi (6 M)

57.318 g guanidin hidroklorür distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Etanol-Etilasetat (1:1)

%96'lık etil alkol dan 1 hacim, etil asetattan 1 hacim alınarak karıştırıldı.

Deneyin Yapılışı

Mide doku homojenizatlarında PC miktarı tabloya göre tayin edildi.

Çözeltiler	Kör	Numune
Doku Homojenizatı	0.5 mL	0.5 mL
DNPH Çözeltisi	--	2 mL
2.5M HCl Çözeltisi	2 mL	--

Kör ve numune tüpleri 1 saat karanlıkta oda temperatüründe bekletildi. Her 15 dakikada bir vortekslendi.

TCA Çözeltisi	2.5 mL	2.5 mL

TCA buz içinde ilave edildi. 10 dakika buzda bekletildi. Tüpler 10 dakika santrifüje edildi. Üstteki kısım, dekante edildi ve çökelti 3 defasında 2 mL'lik etil alkol ve etil asetat çözeltisi ile karıştırıldı ve yıkandı.

Guanidin-HCl Çözeltisi	1 mL	1 mL

Tüplerdeki çökelti tamamen çözülünceye kadar vortekslendi. 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. 370 nm'de absorbans değerleri spektrofotometrede okundu. PC miktarı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

PC (nmol karbonil/ mg protein) = Abs×90.9/ mg protein

3.19. MİDE DOKUSUNDA MİYELOPEROKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Mide dokusunda miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi tayini Wei ve Frenkel yöntemine göre yapıldı. Bu metotta MPO aktivitesi MPO aracılı H_2O_2 ile yapılan oksidasyon için substrat olarak 4-aminoantipirin fenol çözeltisi kullanılarak tayin edildi (Wei ve Frenkel, 1991).

Kullanılan Çözeltiler

4-Aminoantipirin Çözeltisi (4-AAP) (25 mM)

0.25 g 4-aminoantipirin tartılarak hacmi 50 mL'ye distile su ile tamamlandı.

Fenol Çözeltisi (20 mM)

0.09 g fenol tartılarak distile su ile hacmi 50 mL'ye tamamlandı.

Potasyum Fosfat Tampon Çözeltisi (50 mM pH 6.0)

K_2HPO_4 ve KH_2PO_4 50 mM olacak şekilde tartılıp distile su ile çözüldü pH, 6.0 olarak ayarlandı.

Heksadesiltrimetil Amonyum Bromür (%0.5) (HETAB)

Heksadesiltrimetil amonyum bromür tartılarak %5'lik olacak şekilde 50 mM pH 6.0 potasyum-fosfat tamponu ile çözüldü.

H_2O_2 Çözeltisi (1.7 mM)

%35'lik H_2O_2'den 36 µL alındı. Distile su ile hacmi 250 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı

%0.5'lik HETAB ile dokular homojenize edildi. Homojenize edildikten sonra 3500 rpm'de +4 °C'de 35 dakika boyunca santrifüje edildi.

Mide doku homojenizatlarında MPO aktivitesi tabloda belirtilen şekilde yapıldı.

Çözeltiler	Kör	Numune
AAP Çözeltisi	0.26 mL	0.26 mL
Fenol Çözeltisi	0.26 mL	0.26 mL

Tüpler karıştırıldı.

H_2O_2 Çözeltisi	0.3 mL	0.3 Ml

Tüpler 3-4 dakika boyunca karıştırıldı.

Distile Su	0.06 mL	--
Doku Homojenizatı	--	0.06 mL

Tüpler karıştırıldı (alt üst olacak şekilde)

510 nm'de 5 dakika boyunca absorbans değerleri okundu. MPO aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

MPO aktivitesi (U/g doku) = (ΔOD/dk)/g doku

ΔOD: Absorbans farkı

3.20. MİDE DOKUSUNDA KSANTİN OKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Mide dokusundaki ksantin oksidaz (XO) aktivitesi Corte ve Stirpe'nin geliştirdiği metoda göre tayin edildi. XO, ksantinin ürik aside dönüşümünü sağlayan enzimdir. Reaksiyon sonunda oluşan ürik asidin absorbansı spektrofotometrede ölçülür (Corte ve Stirpe, 1968).

Kullanılan Çözeltiler

Potasyum Fosfat Tampon Çözeltisi (50 mM pH 7.4)

0.87 g K_2HPO_4 ve 0.6804 g KH_2PO_4 tartılıp 50 mM olacak şekilde distile suda çözüldü. pH, 7.4'te ayarlandı.

Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA) (3 mM)

5.5 mg EDTA tartıldı. 5 mL distile su ile çözüldü.

Ksantin Çözeltisi (2 mM)

1.52 mg ksantin tartıldı. Potasyum-fosfat tampon ile çözüldü. Çözelti günlük hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Mide dokusunda XO tayini aşağıda tabloda belirtilen şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	Kör	Numune
Doku Homojenizatı	--	10 µL
Potasyum-Fosfat Tamponu	0.88 mL	0.87 mL
EDTA Çözeltisi	33 µL	33 µL
Ksantin Çözeltisi	33 µL	33 µL

Tüplerin absorbansı 0. dakika spektrofotometrede okundu. Tüpler 10 dakika 24 ºC'de su banyosunda bekletildi. Tekrar 286 nm'de absorbans değerleri okundu.

Belirtilen formül yardımıyla XO aktivitesi hesaplandı.

XO (U/mg protein) = (ΔOD/dk)/mg protein

ΔOD: Absorbans farkı

3.21. MİDE DOKUSUNDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Paraoksonaz (PON) aktivitesi Furlong ve diğ., geliştirdiği yöntemine göre tayin edildi. Bu yöntem paraoksonaz tarafından paraoksonun hidrolizi sonucu meydana gelen p-nitrofenol miktarının 450 nm'de spektrofotometre absorbansının ölçülmesidir (Furlong ve diğ., 1988).

Kullanılan Çözeltiler

Tris-HCl Çözeltisi (pH 8.5)

1.599 g Tris tartıldı bir miktar distile suda çözüldü, hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı. 0.132 M HCl ile pH 8.5'e ayarlandı. Bu çözeltiye 1.32 mM $CaCl_2$ ve 2.63 mM NaCl ilave edildi.

Paraokson Etil Çözeltisi (120 mM)

0.016512 g paraokson 0.5 mL asetonda çözüldü. 1/20 oranında Tris-HCl pH 8.5 tamponu ile seyreltilerek kullanıldı. Çözelti günlük hazırlandı.

Aseton

Orjinal şişesinden alınarak kullanıldı.

Deneyin Yapılışı

Mide dokusunda PON aktivitesi aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde tayin edildi.

Çözeltiler	Kör	Numune
Tris-HCl Çözeltisi	0.8 mL	0.76 mL
Doku Homojenizatı	--	0.04 mL
Paraokson Substratı	0.2 mL	0.2 mL

37ºC'de 5 dakika inkübe edildi. Tüplerin absorbansı 405 nm'de spektrofotometrede okundu. PON aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

PON Aktivitesi (U/mL) = A/dk×$1.36.10^3$

PON Spesifik Aktivitesi (U/mg protein) = PON aktivitesi/ mg protein

3.22. MİDE DOKUSUNDA SODYUM POTASYUM ATP_{AZ} AKTİVİTESİ TAYİNİ

Mide dokusunda sodyum-potasyumATPaz aktivitesi tayininde Ridderstap ve Bonting yöntemi kullanıldı. Bu yöntemin esası homonejizatın ATP ile inkübasyonu sırasında ATP'nin hidrolizi sonucu inorganik fosfat tayinine dayanır. Bunun için önce total ATPaz tayin edilir. Daha sonra ouabain varlığında Mg^{2+} ATPaz tayin edilir. Aradaki farkı Na^+/K^+-ATPaz aktivite miktarını vermektedir (Ridderstap ve Bonting, 1969).

Kullanılan Çözeltiler

Tris-HCl Tamponu (30 mM, pH 7.4)

Tris ve HCl distile su ile 30 mM olarak hazırlandı ve pH, 7.4'te ayarlandı.

A Çözeltisi

100 mM NaCl, 5 mM KCl, 6 mM $MgCl_2$, 0.1 mM EDTA tartılıp pH, 7.4 olan Tris-HCl tamponunda çözüldü ve son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

B Çözeltisi (6 mM $MgCl_2$)

30.4 mg $MgCl_2$ tartıldı. Distile suda çözülerek hacmi 25 mL'ye getirildi. Çözelti günlük olarak hazırlandı.

Quabain Çözeltisi (1 mM)

44.8 mg ouabain tartıldı. 4 mL distile suda çözüldü. Günlük olarak hazırlanır.

ATP Çözeltisi (11 mM)

0.2442 g ATP tartıldı. 11 mL distile suda çözüldü. Çözelti günlük olarak hazırlandı.

TCA çözeltisi (%100 ve %5)

%100'lük TCA çözeltisi hazırlamak için 10 g tartıldı. 10 mL'ye distile su ile tamamlandı. Bundan seyreltme yapılarak %5'lik TCA çözeltisi hazırlandı.

H_2SO_4 Çözeltisi (5 N)

27.2 mL derişik H_2SO_4 çözeltisi alındı. Hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

Molibdat Reaktifi

6.25 mg amonyum molibdat tartılıp distile suyla 5 mL'ye tamamlandı. Üzerine 7.5 mL 5N H_2SO_4 eklendi ve hacmi distile suyla 25 mL'ye tamamlandı.

Sodyum-Disülfit Çözeltisi (%15)

7.5 g sodyum-disülfit tartıldı. Hacmi 50 mL'ye distile su ile tamamlandı.

Sodyum-Sülfit Çözeltisi (%20)

2 g sodyum-sülfit tartıldı. 10 mL distile suda çözüldü.

Fiske-Subarrow Çözeltisi (ANSA; 1-Amino-2-naftol-4-sülfonik asit)

25 mg ANSA tartıldı. 9.75 mL Na-disülfit ve 0.25 mL Na-sülfit çözeltisi ilave edilerek hazırlandı.

Stok Standart Çözeltisi (%8 Fosfor)

8.78 mg KH_2PO_4 tartıldı 0.25 mL 5N H_2SO_4 çözeltisi ilave edildi hacim 25 mL'ye distile suyla tamamlandı.

Çalışma Standart Çözeltisi (%0.2, %0.4, %0.6, %0.8)

Stok standart çözeltisinden %0.2, %0.4, %0.6 ve %0.8'lik çalışma standartları hazırlandı. Seyreltmeler %5'lik TCA çözeltisi ile yapıldı.

Deneyin Yapılışı

Mide doku homojenizatları ve standartları tabloda verilen miktarlara göre yapıldı.

Çözeltiler	Numune Körü	Total ATPaz	Mg^{2+} ATPaz
A Çözeltisi	0.3 mL	0.3 mL	--
B Çözeltisi	--	--	0.3 mL
Quabain Çözeltisi	--	--	0.2 mL
Distile Su	0.24 mL	0.2 mL	--
ATP Çözeltisi	0.22 mL	0.22 mL	0.22 mL

Tüpler 37ºC'de 5 dakika inkübe edildi.

Doku Homojenizatı	--	0.04 mL	0.04 mL

Tüpler 37ºC'de 30 dakika inkübe edildi.

TCA (%100) Çözeltisi	0.04 mL	0.04 mL	0.04 mL

Tüpler buz içine konuldu ve TCA ilave edildi. 10 dakika buz içinde tüpler bekletildi.

Buzdan çıkarıldıktan sonra tüpler 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi.

Çözeltiler	Std. Körü	Standart	Numune Körü	Total ATPaz	Mg^{2+} ATPaz
%5 TCA Çözeltisi	0.5 mL	--	--	--	--
Çalışma Std.	--	0.5 mL	--	--	--
Üst Faz	--	--	0.35 mL	0.35 mL	0.35 mL
Amonyum molibdat Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL	0.07 mL	0.07 mL	0.07 mL
Fiske-Subarrow Çözeltisi	0.04 mL	0.04 mL	0.028 mL	0.028 mL	0.028 mL
Distile Su	0.36 mL	0.36 mL	0.252 mL	0.252 mL	0.252 mL

Tüpler 37ºC'de 10 dakika inkübe edildi. 680 nm'de absorbans değerleri okundu. Standart eğri grafiğinden yararlanarak numunenin içindeki fosfor miktarı üzerinden enzim aktivitesi hesaplandı.

Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi (µmol Pi/(mg protein x h)) = (645 x A) / (% mg protein x 60)

A: Numunenin içerdiği % mg fosfor miktarı

3.23. MİDE DOKUSUNDA ARİLESTERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Mide dokusundaki arilesteraz (ARE) aktivitesinin tayini Gan ve diğ., tarafından geliştirilen metoda göre tayin edildi. Yöntemin esası fenil asetatın ARE ile hidrolizi sonucu oluşan fenol miktarının ölçülmesine dayanmaktadır (Gan ve diğ., 1991).

Kullanılan Çözeltiler

Tris-HCl Tampon Çözeltisi (20 mM, pH 8.0)

20 mM'lık Tris ve HCl çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiler kullanılarak çözeltinin pH'ı 8.0'ayarlandı.

Çalışma Ayıracı (0.9 mM $CaCl_2$ ve 1 mM Fenilasetat)

13 mg $CaCl_2$ H_2O bir miktar Tris-HCl tamponu ile çözüldü. Üzerine 12.6 µL fenilasetat ilave edilerek son hacmi tampon ile 100 mL'ye tamamlandı. 30 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Çözelti günlük hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizatları aşağıda verildiği şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	Kör	Numune
Distile Su	10 µL	--
Doku Homojenizatı	--	10 µL
Çalışma Ayıracı	1.5 mL	1.5 mL

Örneklerin 270 nm'de 0. ve 10. dakikasında spektrofotometrede absorbans değerleri okundu. ARE aktivitesi belirtilen formül yardımıyla hesaplandı.

ARE aktivitesi (U/L)/ mg protein = (ΔOD x V_{top} x f x 1000)/(1.31 x $V_{örn}$)

V_{top}: Örneklerin toplam hacmi

$V_{örn}$: Örneğin hacmi

f: Seyreltme miktarı

3.24. MİDE DOKUSUNDA ARGİNAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Mide dokusunda arginaz aktivitesi tayininde Geyer ve Dabich'in geliştirdiği yöntem kullanıldı. Diasetilmonksim, üre ile direkt reaksiyona girmez ısı etkisi altında asitli bir ortamda hidroksilamine ve diasetile hidroliz olur. Meydana gelen ürünün absorbansı spektrofotometrede 520 nm'de okunur (Geyer ve Dabich, 1971).

Kullanılan Çözeltiler

Renk Ayıracı

0.0617 M 0.62 g diasetilmonoksim ve 0.0036 M 32.8 mg tiyosemikarbazid tartıldı ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

Asid Ayıracı

3.24 g $FeCl_3$ tartıldı ve az miktarda distile su ile çözüldü. Üzerine 66.7 mL %85'lik H_3PO_4 asidi eklendi ve son hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. Deney aşamasında bu çözeltiden 0.1 mL alındı hacmi % 20 (v/v)'lik H_2SO_4 ile tamamlandı.

$MnCl_2$ Çözeltisi (5 mM)

0.0988 g $MnCl_2.4H_20$ tartıldı ve hacmi distile sui le 100 mL'ye tamamlandı.

Substrat Çözeltisi (Arginin Çözeltisi)

2.26 g L-arginin 100 mL distile suda çözüldü ve 1 NaOH ile pH'ı 10.1'e ayarlandı. Distile su ile hacmi 200 mL'ye tamamlandı.

Karbonat Tampon Çözeltisi (150 mM) (pH 10.1)

1.26 g $NaHCO_3$ ve 1.59 g Na_2CO_3 tartılıp tartılıp distile suda ayrı ayrı çözüldü. Hacimleri 100 mL'ye tamamlandı. 4 hacim $NaHCO_3$ ve 6 hacim Na_2CO_3 çözeltisi karıştırılarak pH'ı 10.1 olan karbonat tampon çözeltisi hazırlandı.

Benzoik Asit Çözeltisi (1.6 mM)

19.5 mg benzoik asit tartılarak hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

Üre Stok Standardı (0.5 µmol üre/mL)

3 mg üre 1.6mM benzoik asitte çözüldü. Hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Üre Çalışma Standardı (0.1 µmol üre/mL)

Üre stok standardı 1/5 oranında distile su ile seyreltildi.

Deneyin Yapılışı

Mide doku homojenizatları 5 mM $MnCl_2$ ile 1/600 oranında seyreltildi. Seyreltilen homojenizatlar 20 dakika 65ºC'de bekletildi. Doku homojenizatları ve standart örnekleri aşağıda verildiği şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	Kör	Standart	Sıfırıncı Zaman	İnkübasyon
Distile Su	0.25 mL	--	--	--
Çalışma Standardı	--	0.25 mL	--	--
Doku Homojenizatı	--	--	0.075 mL	0.075 mL
Karbonat Tampon Çözeltisi	--	--	0.1 mL	0.1 mL
L-Arginin Çözeltisi	--	--	0.075 mL	0.075 mL

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

Asid Ayıracı	0.75 mL	0.75 mL	0.75 mL	0.75 mL
Renk Ayıracı	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL

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

Belirtilen formül yardımıyla arginaz aktivitesi hesaplandı.

Arginaz Aktivitesi (µmol üre/mg protein) = Faktör x ΔOD/mg protein

Faktör = (Std_{kons} x (Sulandırma oranı x 6 x 3.33)) /Std_{abs}

ΔOD= Absorbans farkı

3.33: 1mM'lık inkübasyon ortamındaki enzim kaynağının seyreltilme oranı

6: 10 dakika inkübasyonun bir saatteki değeri

0.38: 0.1µmol üre/mL içeren standart absorbansı

Std_{abs}: Standart absorbansı

3.25. MİDE DOKUSUNDA TOTAL NİTRİK OKSİT MİKTAR TAYİNİ

Nitrat, vanadyum varlığında klorür (III) ile nitrite indirgenir. Nitritle sülfanilamidin asidik ortamda naftil etilendiamin dihidroklorür ile reaksiyonu sonucu kompleks diazonyum bileşiği oluşur. Oluşan bu renkli kompleks 540 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek nitrik oksid (NO) miktarı tayin edildi (Miranda ve diğ., 2001).

Kullanılan Çözeltiler

Çinko-Sülfat Çözeltisi ($ZnSO_4$) (%10)

5 g $ZnSO_4$ tartıldı ve hacmi 50 mL'ye distile su ile tamamlandı.

Vanadyum Klorür Çözeltisi (VCl_3)

0.4 g VCl_3 tartıldı ve 1 M HCl ile çözüldü. Hacmi 50 mL'ye tamamlandı. Çözelti günlük hazırlandı.

HCl Çözeltisi (%5) (w/v)

2.86 mL %37'lik HCl'den alındı. Distile su ile hacmi 25 mL'ye tamamlandı.

Sülfanilamid Çözeltisi (%2)

0.5 g sülfanilamid tartıldı. 25 mL'ye %5'lik HCl içerisinde çözüldü.

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

0.025 g NEDD tartıldı. Hacmi 25 mL'ye distile su ile tamamlandı.

NaOH Çözeltisi (0.3 M)

0.6 g NaOH tartılarak distile su ile hacmi 50 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizatlarından 0.45 mL alındı ve üzerine 0.45 mL 0.3 M NaOH ilave edildi. Karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi. Üzerine 0.45 mL %10'luk $ZnSO_4$ çözeltisi ilave edildi. Karıştırıldı ve +4ºC'de 14000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Bu işlem çözeltide tortu kalmayana kadar tekrarlandı.

Doku homojenizatları ve standartları tabloda belirtilen şekilde çalışıldı.

Çözeltiler	**Kör**	**Numune**
Süpernatant	--	0.3 mL
Distile Su	0.6 mL	--
VCl_3 Çözeltisi	0.3 mL	0.3 mL
Sülfanilamid Çözeltisi	--	0.15 mL
NEDD Çözeltisi	--	0.15 mL

Tüpler 37ºC'de 30 dakika inkübe edildi. 540nm'de absorbans değerleri okundu.

NO miktarı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

NO miktarı (µmol/mg protein) = (abs x 169.8)/P

P: Dokudaki protein miktarı

3.26. MİDE DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN MİKTAR TAYİNİ

Mide dokusunda total protein miktar tayinin Lowry metodu kullanıldı. Proteinlerin yapısında bulunan aromatik halka içeren amino asitler Folin reaktifi ile mavi renk verirler. Oluşan rengin verdiği absorbans şiddetli protein kosantrasyonu ile doğru orantalıdır (Lowry ve diğ.,1951).

Kullanılan Çözeltiler

A Reaktifi

0.4 g NaOH tartılarak distile suda çözüldü. 2 g Na_2CO_3 tartılarak NaOH çözeltisinde (0.1 N) hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

B Reaktifi (%0.5 $CuSO_4.5H_2O$, %1 dipotasyum tartarat içinde)

1 g dipotasyum tartarat distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 0.05 g $CuSO_4.5H_2O$ tartılarak dipotasyum tartarat çözeltisinde (%1'lik) çözüldü. Hacmi 10 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti günlük hazırlandı.

C Reaktifi

50 mL A reaktifi ve 1 mL B reaktifi karıştırılarak hazırlandı. Çözelti günlük hazırlandı.

E Reaktifi

100 g sodyum tungstat, 25 g sodyum molibdat, 700 mL distile su, 50 mL fosfat asidi (%85'lik) ve 100 mL HCl bir balona konuldu. Geri soğutucu altında 10 saat kaynatıldı. Üzerine 150 g $LiSO_4$ ilave edildi. Bir iki damla brom damlatıldı. 15 dakika kaynatılarak bromun fazlası uzaklaştırıldı, soğutuldu ve hacmi distile su ile 1 L'ye tamamlandı. (Bu stok Folin çözeltisidir, deneyde kullanılırken 1:2 oranında distile su ile seyreltilerek kullanılır).

Protein Standart Çözeltisi (%100 mg Albumin)

Total protein tayini için %100 mg albumin içeren stok çözelti hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiden serum fizyolojik ile seyreltmeler yapılarak %2, 4, 6, 8 ve 10 mg albumin çalışma standartları hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Mide doku homojenizatlarındaki protein miktar tayini aşağıdaki tablda belirtildiği gibi yapıldı.

Çözeltiler	Kör	Standart	Numune
Serum Fizyolojik	0.5 mL	--	--
Standart Çözeltisi	--	0.5 mL	--
Doku Homojenizatı	--	--	0.5 mL
C Reaktifi	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL

Tüpler karıştırılıp 10 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildi.

E Reaktifi	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL

Tüpler vortekste karıştırıldı.

Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Absorbans değerleri 500 nm'de okundu. Standart eğri yardımıyla numunenin % mg protein miktarı hesaplandı.

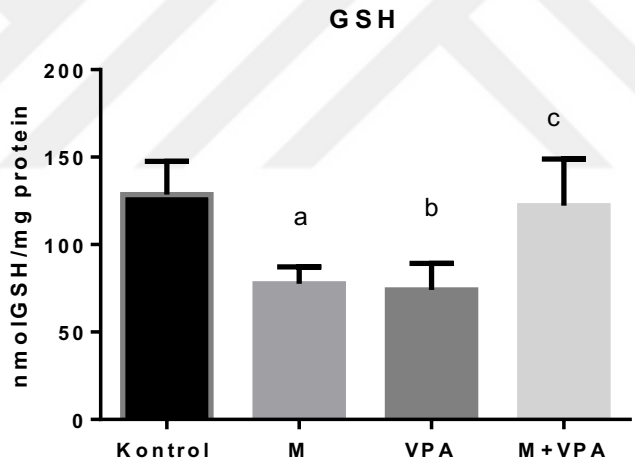
3.27. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Istatiksel analiz için tüm veriler, GraphPad 6.0 Prism istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında Turkey's Testi uygulandı ve ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. $P<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda valproik asit ile oluşturulan mide hasarında moringa ekstresinin sıçan mide dokusu üzerinde olan etkilerini incelemek amacıyla sıçanların mide doku örnekleri alındı. Bu örneklerde enzim aktiviteleri ve bazı biyokimyasal miktar tayinleri yapıldı. Sonuçlar Şekil 4.1-4.18'de gösterildi.

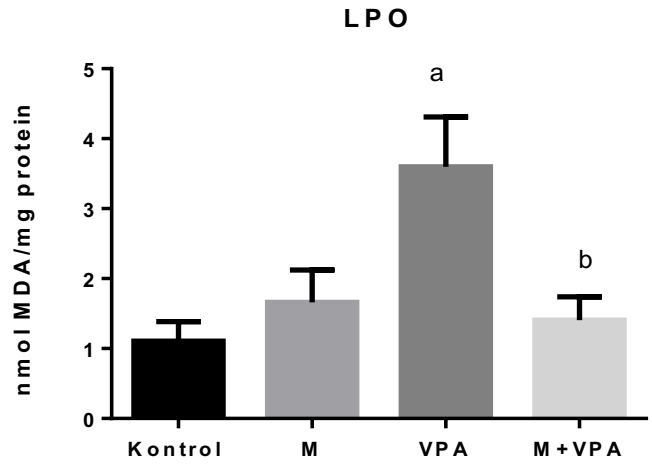
Mide dokusundaki GSH değerleri Şekil 4.1'de verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların GSH değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında farklılıklar görüldü (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun kontrol grubuna göre GSH değerlerinin anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (P<0.001). M+VPA grubunun VPA grubuna göre GSH değerlerinin anlamlı bir şekilde arttığı görüldü (P<0.001). Moringa ekstresi verilen grubun kontrol grubuna göre GSH değerlerinin anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (P<0.01) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu GSH değerleri.

[a]P<0.01 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.001 Kontrol grubuna göre
[c]P<0.001 VPA grubuna göre

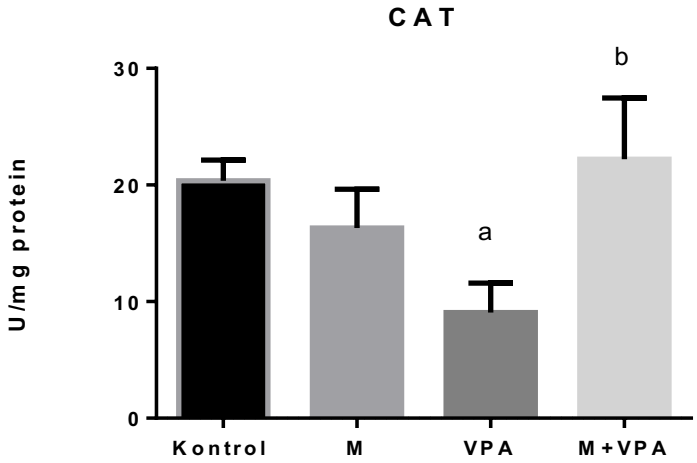
Şekil 4.2'de LPO değerleri verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların LPO değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun LPO aktivitesi değerleri kontrol grubuna göre arttı (P<0.0001). M+VPA grubunun VPA uygulanan gruba göre LPO değerleri azaldı (P<0.0001) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu LPO değerleri.

[a]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.0001 VPA grubuna göre

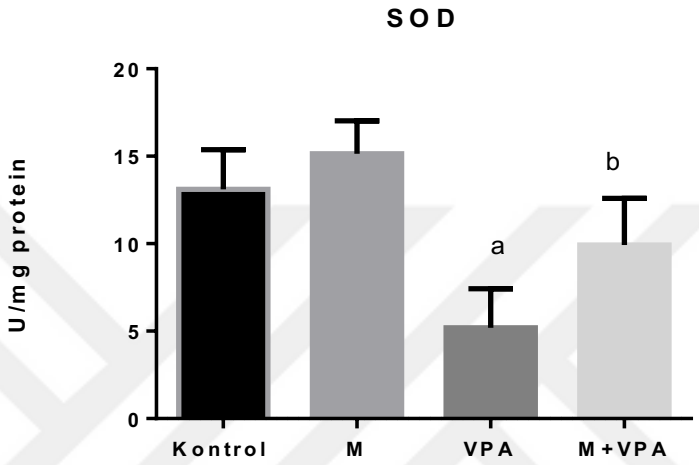
Mide dokusundaki CAT aktivite değerleri Şekil 4.3'te verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların CAT aktivite değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı değişiklikler saptandı (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun CAT aktivite değerleri kontrol grubuna göre azaldı (P<0.0001). M+VPA grubunun VPA grubuna göre CAT aktivite değerleri arttı (P<0.0001) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu CAT aktivite değerleri.

[a]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.0001 VPA grubuna göre

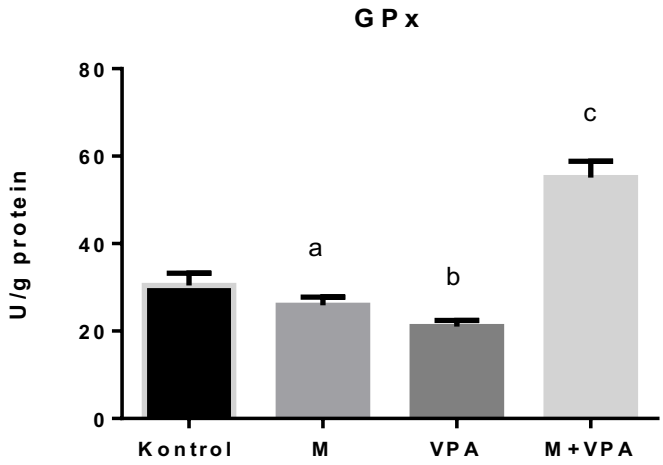
Mide dokusundaki SOD aktivite değerleri Şekil 4.4'te verildi. Elde edilen sonuçlara göre dört grubun SOD aktivite değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasındaki değişikliklerin anlamlı olduğu saptandı (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan sıçanların SOD aktivite değerleri kontrol grubuna göre azaldı (P<0.0001). M+VPA uygulanan grubunun SOD aktivite değerleri VPA grubuna göre artış gösterdi (P<0.0001) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu SOD aktivite değerleri.

[a]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[b]p<0.0001 VPA grubuna göre

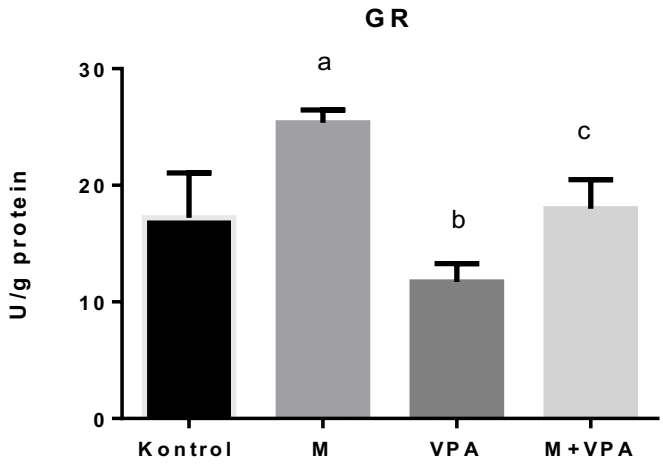
Mide dokusundaki GPx aktivite değerleri Şekil 4.5'te verildi. Elde edilen sonuçlara göre dört grubun GPx aktivite değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı değişiklikler olduğu saptandı (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan sıçanların GPx aktivite değerleri kontrol grubu sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir tarzda azaldı (P<0.0001). M+VPA uygulanan grubun VPA grubuna göre GPx aktivite değerleri anlamlı bir tarzda arttı (P<0.0001). Moringa ekstresi verilen grubun GPx aktivite değerleri kontrol grubuna göre azaldı (P<0.05) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu GPx aktivite değerleri.

[a]P<0.05 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[c]P<0.0001 VPA grubuna göre

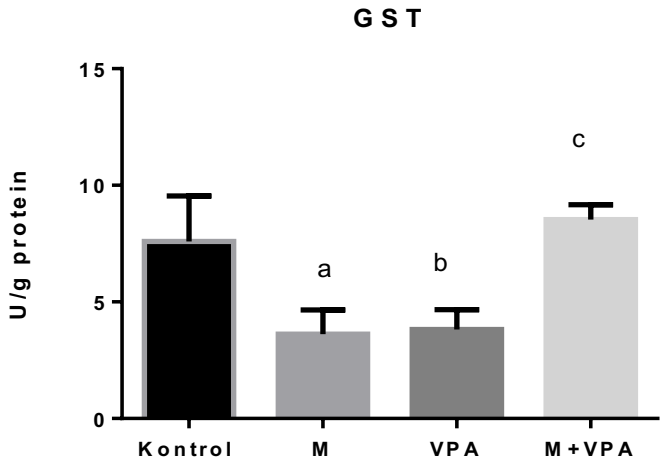
Mide dokusundaki GR aktivite değerleri Şekil 4.6'da verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların GR aktivite değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında değişikliklerin anlamlı şekilde olduğu görüldü (P_{ANOVA} = 0.0001). Sıçanlara VPA uygulandığı zaman GR aktivite değerleri kontrol grubuna göre azaldı (P<0.05). M+VPA grubunun VPA grubu sıçanlara göre GR aktivite değerlerinin arttığı görüldü (P<0.01). Kontrol grubuna göre moringa ekstresi uygulanan grubun GR aktivite değerlerinin arttığı görüldü (P<0.01) (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu GR aktivite değerleri.

[a]P<0.01 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.05 Kontrol grubuna göre
[c]P<0.01 VPA grubuna göre

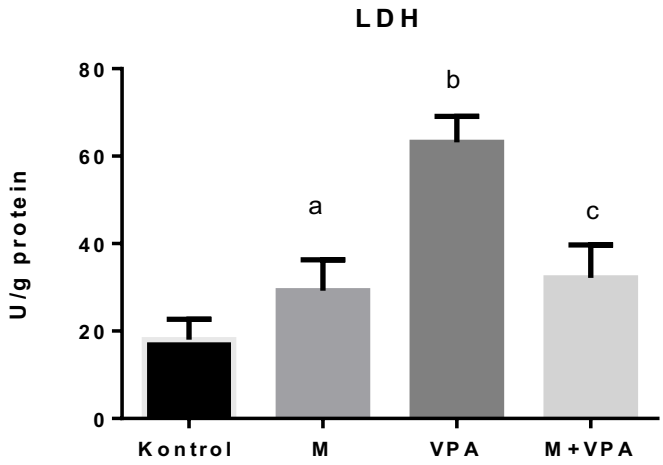
Mide dokusundaki GST aktivite değerleri Şekil 4.7'de verildi. Tüm grupların GST aktivite değerlerindeki değerler anlamlı olarak farklı idi (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun GST aktivite değerleri kontrol grubuna göre azaldı (P<0.001). M+VPA uygulanan grubunun GST aktivite değerleri VPA uygulanan grubuna göre arttı (P<0.001). Moringa ekstresi verilen grubun GST aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı saptandı (P<0.001) (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu GST aktivite değerleri.

[a]P<0.001 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.001 Kontrol grubuna göre
[c]P<0.001 VPA grubuna göre

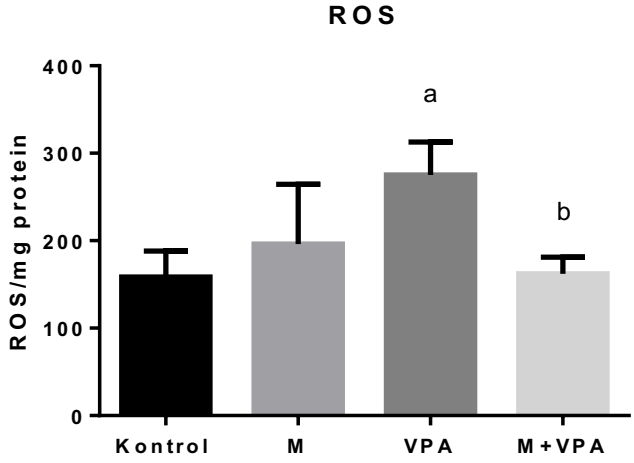
Mide dokusundaki LDH aktivite değerleri Şekil 4.8'de verildi. Tüm grupların LDH aktivite değerlerindeki farklılıklar anlamlı idi (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun LDH aktivite değerleri kontrol grubuna göre arttı (P<0.0001). M+VPA uygulanan grubunun VPA grubuna göre LDH aktivite değerleri azaldı (P<0.0001). Moringa ekstresi uygulanan grubun kontrol grubuna göre LDH aktivite değerlerindeki farklılıklar anlamlı idi (P<0.05) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu LDH aktivite değerleri.

[a]P<0.05 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[c]P<0.0001 VPA grubuna göre

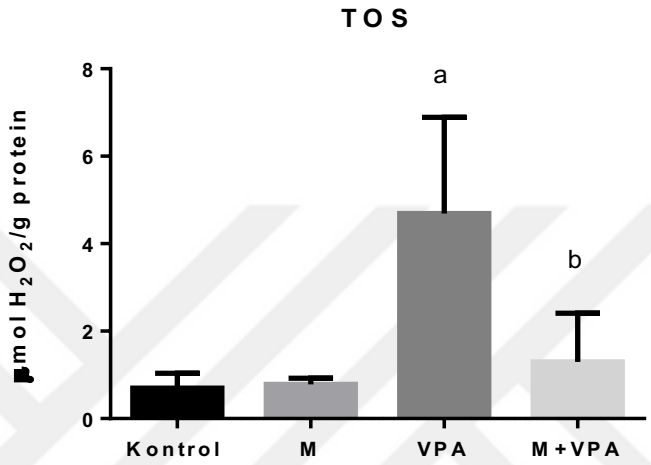
Mide dokusundaki ROS değerleri Şekil 4.9'da verildi. Elde edilen sonuçlara göre dört grubun ROS değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında farklılıklar anlamlı bir değişiklik gösterdi (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun ROS değerleri kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik gösterdi (P<0.0001). M+VPA grubunun VPA grubuna göre ROS değerleri azaldı (P<0.0001) (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu ROS değerleri.

[a]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.0001 VPA grubuna göre

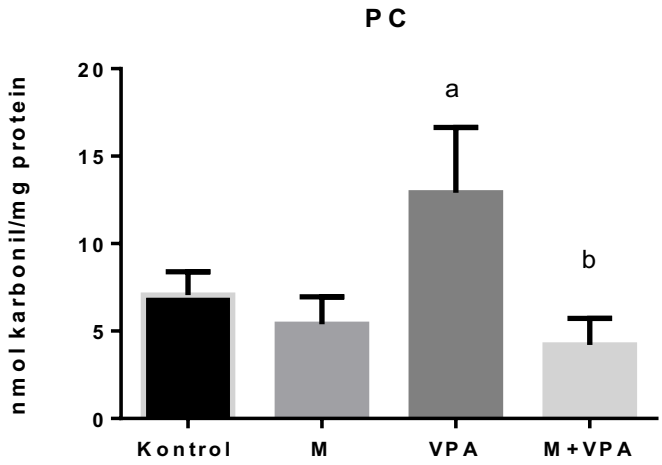
Mide dokusundaki TOS değerleri Şekil 4.10'da verildi. Elde edilen sonuçlara göre dört grubun TOS değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı idi (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan sıçanların TOS değerleri kontrol grubuna göre arttı (P<0.0001). M+VPA grubunun VPA uygulanan gruba göre TOS değerleri anlamlı bir şekilde azaldı (P<0.0001) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu TOS değerleri.

[a]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.0001 VPA grubuna göre

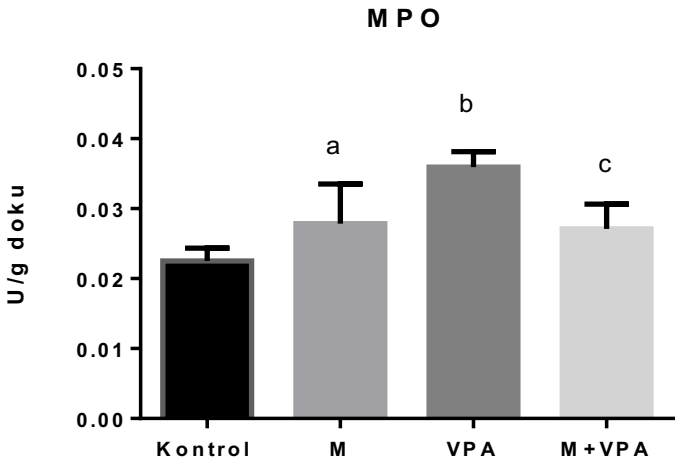
Mide dokusundaki PC değerleri Şekil 4.11'de verildi. Elde edilen sonuçlara göre dört grubun PC değerlerindeki farklılıklar anlamlı idi (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun kontrol grubuna göre PC değerleri arttı (P<0.0001). M+VPA grubunun VPA grubuna göre PC değerleri azaldı (P<0.0001) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu PC değerleri.

[a]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[b]p<0.0001 VPA grubuna göre

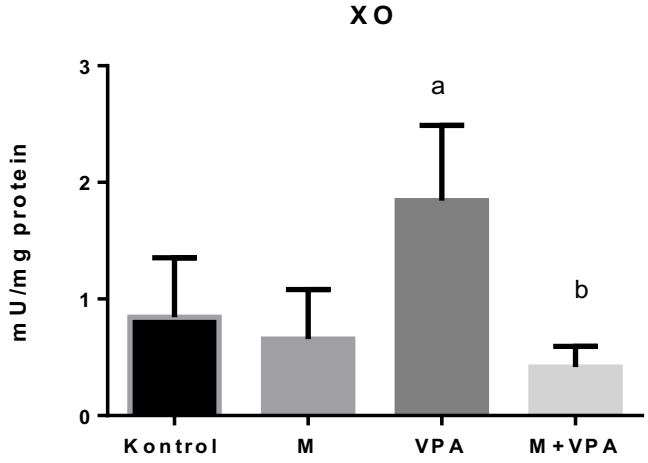
Mide dokusundaki MPO aktivite değerleri Şekil 4.12'de verildi. Elde edilen sonuçlara göre dört grubun MPO aktivite değerleri arasındaki değişiklikler anlamlı bir şekilde farklılık gösterdi (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun MPO aktivite değerleri kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık gösterdi (P<0.0001). M+VPA grubunun MPO aktivite değerleri VPA grubuna göre azaldı (P<0.0001). Moringa ekstresi uygulanan grubun MPO aktivite değerleri kontrol grubuna göre arttı (P<0.05) (Şekil 4.12).



Şekil 4.12: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu MPO aktivite değerleri.

[a]P<0.05 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[c]P<0.0001 VPA grubuna göre

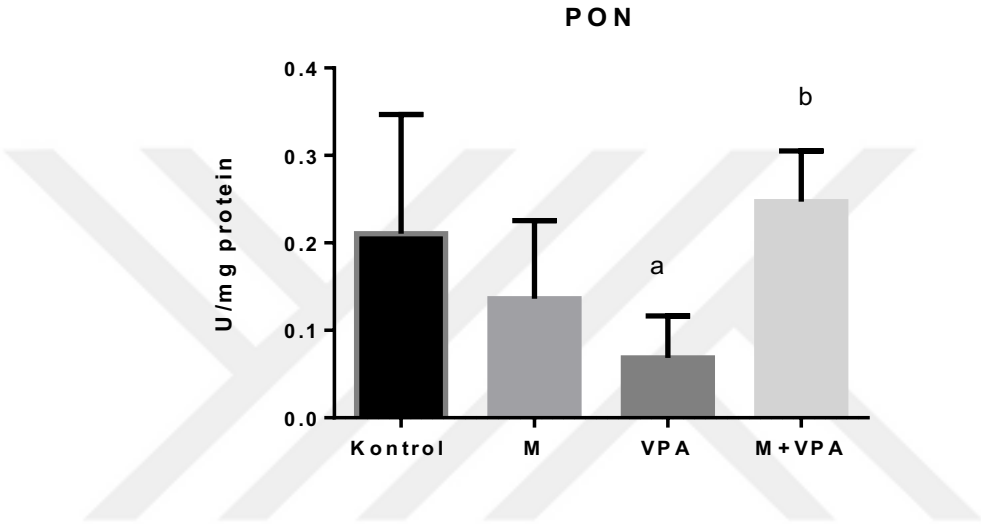
Mide dokusundaki XO aktivite değerleri Şekil 4.13'te verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların XO aktivite değerleri gruplar arasında farklılık gösterdi (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun XO aktivite değerleri kontrol grubuna göre arttı (P<0.001). M+VPA grubunun VPA uygulanan gruba göre XO aktivite değerleri istatistiksel olarak azaldı (P<0.0001) (Şekil 4.13).



Şekil 4.13: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu XO aktivite değerleri.

[a]P<0.001 Kontrol grubuna göre
[b]p<0.0001 VPA grubuna göre

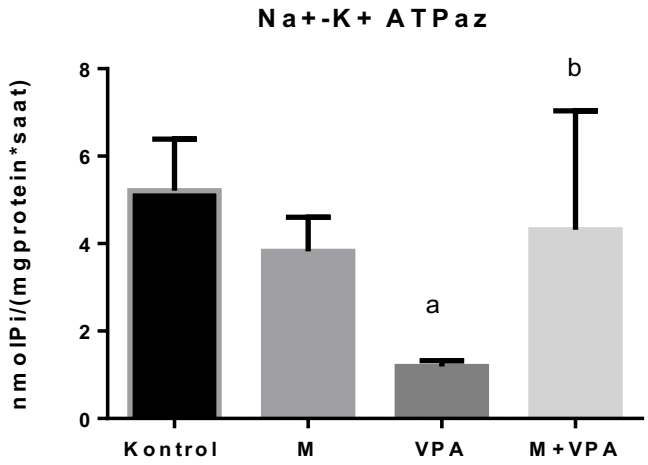
Mide dokusundaki deney ve kontrol gruplarının PON aktivite değerleri Şekil 4.14'te verildi. Elde edilen tüm sonuçlar birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında farklılıklar anlamlı idi ($P_{ANOVA} = 0.0057$). VPA uygulanan grubun kontrol grubuna göre PON aktivite değerleri kontrol grubuna göre azaldı ($P<0.05$). M+VPA grubu ile VPA uygulanan grup birbiri ile karşılaştırıldığında, VPA grubunda PON aktivitesi değerlerinin arttığı saptandı ($P<0.01$) (Şekil 4.14).



Şekil 4.14: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu PON aktivite değerleri.

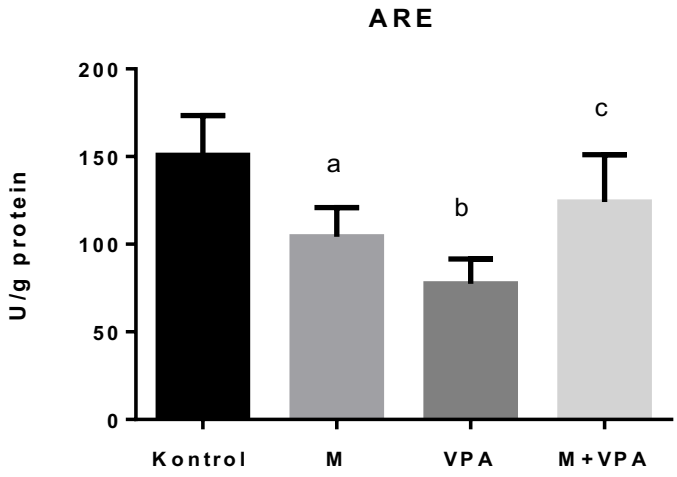
[a]$P<0.05$ Kontrol grubuna göre
[b]$P<0.01$ VPA grubuna göre

Mide dokusundaki Na^+/K^+-ATPaz aktivite değerlerine ait sonuçlar Şekil 4.15'te verildi. Elde edilen tüm sonuçların Na^+/K^+-ATPaz aktivite değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0004$). VPA uygulanan grubun Na^+/K^+-ATPaz aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı saptandı ($P<0.001$). M+VPA grubunun VPA uygulanan gruba göre Na^+/K^+-ATPaz aktivite değerlerinin arttığı saptandı ($P<0.05$) (Şekil 4.15).



Şekil 4.15: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu Na^+/K^+-ATPaz aktivite değerleri.
[a]P<0.001 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.05 VPA grubuna göre

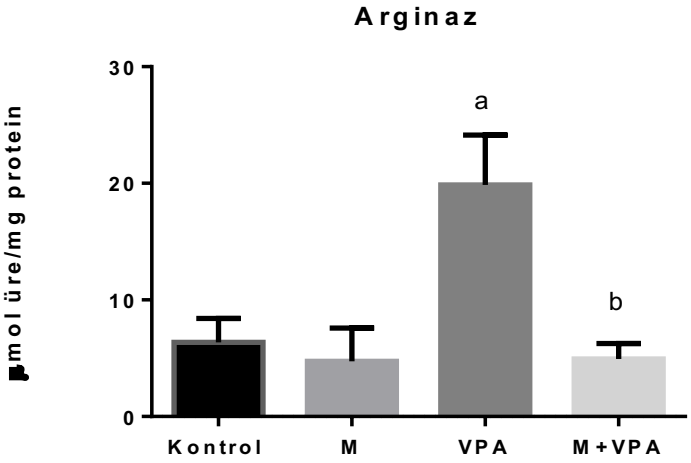
Mide dokusundaki dört grubun ARE aktivite değerleri sonuçları Şekil 4.16'da verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların ARE aktivite değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında farklılıklar anlamlı idi (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun ARE aktivite değerleri kontrol grubuna göre azaldı (P<0.0001). M+VPA grubunun VPA grubuna göre ARE aktivite değerlerinin arttığı görüldü (P<0.0001). Moringa ekstresi uygulanan grubun ARE aktivite değerleri kontrol grubuna göre azaldı (P<0.001) (Şekil 4.16).



Şekil 4.16: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu ARE aktivite değerleri.

[a]P<0.001 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[c]P<0.0001 VPA grubuna göre

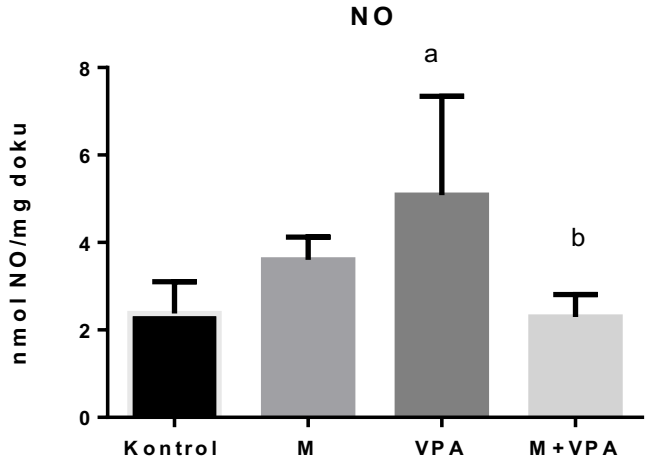
Mide dokusundaki tüm grupların arginaz aktivite değerleri Şekil 4.17'de verildi. Elde edilen sonuçlara göre dört grubun arginaz aktivite değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında farklılıklar anlamlı idi (P_{ANOVA} = 0.0001). VPA uygulanan grubun arginaz aktivite değerleri kontrol grubuna göre arttı (P<0.0001). M+VPA grubunun VPA uygulanan gruba göre arginaz aktivite değerlerinin anlamlı bir tarzda azaldığı görüldü (P<0.0001) (Şekil 4.17).



Şekil 4.17: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu arginaz aktivite değerleri.

[a]P<0.0001 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.0001 VPA grubuna göre

Mide dokusundaki tüm grupların NO değerleri Şekil 4.18'de verildi. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların NO değerleri birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı idi (P_{ANOVA} = 0.0014). VPA uygulanan grubun kontrol grubuna göre NO değerleri arttı (P<0.01). M+VPA grubunun VPA uygulanan gruba göre NO değerleri azaldı (P<0.01) (Şekil 4.18).



Şekil 4.18: Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokusu NO değerleri.

[a]P<0.01 Kontrol grubuna göre
[b]P<0.01 VPA grubuna göre

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Epilepsi dünyada en çok görülen kronik nörolojik bir beyin hastalığıdır. Beyinde bulunan çeşitli sinir hücrelerinin çesitli nedenlerden dolayı uyarımının artmasından kaynaklanan epizoik serebral bir bozukluktur (Ethemoğlu, 2006).

Halk arasında bu hastalığa sara hastalığı da denir hastalık çocukluk, ergenlik çağında görülür ve her yaş grubunda görülmesine rağmen en genç ve en yaşlı kişilerde daha fazla miktarda görülmektedir. Bu hastalık genelde doğumsal olmasına rağmen bazı kişilerde daha sonraki yıllarda kazalar sonrasında gelişebilir. Bu hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlar hastanın yaşına, nöbet tipine ve hastanın fiziksel durumuna göre uzman doktor tarafından verilmelidir. Düşük sosyo-ekonomik düzey, sağlık bakımından sınırlı yararlanma ve nörosistiserkoz gibi çevresel faktörler ile ilişkili bir hastalık olup yaşam kalitesini olumsuz yönden etkiler (Uysal ve Ercan, 2005; Banerjee ve diğ., 2009). Bu hastalık genellikle yaşam kalitesi düşük olan kişilerde fazla miktarda görülmektedir (Ünal ve Saygı, 2005).

Epilepsi hastalığının tedavisinde çeşitli antiepileptik ilaçlar kullanılır. Bu ilaçlar valproik asit, fenobarbitol, karbamazepin, fenitoin, klorazepam, vigabatrin, topiramat gibi ilaçlar olup, bu ilaçları uzun süre kullanan kişilerde yan etkiler meydana gelmektedir. Bu ilacı kullanan kişilerin akut döneminde aşırı duyarlılık meydana gelir. Kronik dönemde ise çok çeşitli yan etkiler görülmektedir (Ünal ve Saygı, 2005). En sık görülen yan etkiler gastrointestinal sistem ile ilgili belirtilerdir ve %8.9 oranında görülür (McElroy ve Kech, 1989).

Antiepileptik ilaçlar yüksek dozda vücuda alındıklarında reaktif oksijen türlerinin üretimine ve antioksidan sistemin tetiklenmesine yol açarlar. Böyle organizmada bazı durumlarda ciddi komplikasyonlar meydana gelir. VPA kullanan kişilerde gastrointestinal sistemde çeşitli yan etkiler meydana gelir. Kusma, iştahsızlık, hazımsızlık, anoreksi, karın ağrısı ve diyare meydana gelmektedir. Alınan ilaç dozuna göre karaciğer enzimleri olan alanin ve aspartat transaminaz aktiviteleri yükselir ve hepatoksite oluşur (Guo ve diğ., 2019; Haznedar ve diğ., 2019).

VPA kullanımı bazı durumda ciddi komplikasyonlara neden olmaktadır. Çeşitli çalışmalarda oluşan komplikasyonların, oksidatif kaynaklı olduğunu göstermektedir. VPA'nın yüksek dozda alınması koma ve ölüm ile sonuçlanmaktadır (Spiller ve diğ., 2000).

VPA'nın kullanımına bağlı olarak hepatotoksisite, teratojenite, pankreatit, aşırı kıllanma, saç dökülmesi ve saç renginin değişmesi, hormonal değişim (tiroid fonksiyon bozukluğu, menstrüel düzensizlik), hipotansiyon, taşikardi, solunum yetmezliği, lipid, karbohidrat ve üre siklusunda bozukluk, serum karnitin düzeyinde azalma, kanama gibi yan etkiler görülmektedir (Golberg-Stern ve diğ., 2014).

VPA kullanan hastalarda mide-bağırsak sisteminde yan etkilerin oluşması ile mide dokusunda hasar meydana gelmektedir. Yan etkiye bağlı oluşan hasar önlenmezse midede hasara bağlı harabiyet meydana gelmektedir. Oluşan hasarın önlenmesi için organizmaya koruyucu özelliği olan ilaç veya antioksidan maddelerin alınması gereklidir.

Valproik asidin vücutta oluşturduğu hasarı önlemek için çeşitli bitkisel kaynaklı ve antioksidan maddelerin koruyucu özellikleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda karnitin, sodyum butirat, agmatin, obetilikolik asit, çinko ve selenyum, edaravon, B_6, U ve E vitaminleri, folik asit ve pantonenik asit, kuersetin, resveratrol, pazı, doymamış yağ asitleri, melatonin gibi koruyucu maddeler verilmektedir (Dawson ve diğ., 2006; Lheureux ve Hantson, 2009; Sokmen ve diğ., 2012; Tunalı, 2014; Chaudhary ve diğ., 2015; Emekli-Alturfan ve diğ., 2015; Oktay ve diğ., 2015; Tunalı ve diğ., 2015; Gezginci-Oktayoğlu ve diğ., 2016; Oktay ve diğ., 2016; Qurique ve diğ., 2016 (a); Qurique ve diğ., 2016 (b); Üstündağ ve diğ., 2016; Ahangar ve diğ., 2017; Zhou ve diğ., 2017; Ahmed ve diğ., 2018; Li ve diğ., 2018; Gai ve diğ., 2020; Oztay ve diğ., 2020; Oztopuz ve diğ., 2020; Pirozzi ve diğ., 2020; Tunali ve diğ., 2020; Bayrak ve diğ., 2021; Conei ve diğ., 2021; Turkyilmaz ve diğ., 2021).

Çalışmamızda, sıçanlarda VPA ile oluşturulan toksisitede mide hasarı üzerine moringa ekstresinin koruyucu etkileri incelenmiştir. Literatürde VPA ile oluşturulan mide hasarına karşı moringa ekstresinin koruyucu etkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır.

GSH başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan bir tripeptittir (Anderson ve Meister, 1989). Organizmada yapısında tiyol grubu bulunan amino asidi içermesi nedeni ile antioksidan özellik gösterir (Ali ve diğ., 2014).

GSH'ın organizmada önemli görevleri bulunmaktadır. GSH'a bağlı enzimler antioksidan ve detoksifikasyon özellikleri göstererek oluşan hasarları önlemede biyomarkır olarak görev yaparlar (Ketterer, 1988).

VPA uygulanan sıçanlarda karaciğerde, pankreasta, beyinde, akciğerde, böbrekte, lenste glutatyon değerinin azaldığı ve koruyucu madde verildiğinde bu değerlerin arttığı görülmüştür (Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2016 ; Oztay ve diğ., 2020; Tunali ve diğ., 2020; Bayrak ve diğ., 2021; Turkyilmaz ve diğ., 2021).

Çalışmamızda VPA ile oluşturulan mide hasarında GSH değerinin azaldığı saptandı (Şekil 4.1). Afrikadaki ülkelerde ve Hindistan'da moringa gıda maddesi olarak tüketilmektedir. Bu ülkedeki insanlar kurutulmuş moringa yapraklarını gıda maddelerine ilave etmektedirler. Çalışmamızda hazırladığımız etanollü moringa ekstresi mide dokusunda VPA'nın oluşturduğu hasara bağlı GSH değerini arttırmıştır. Moringa bitkisi antioksidan ve antihepatotoksite gibi özellikler göstermektedir (Sokmen ve diğ., 2012; Magaji ve diğ., 2020). Moringanın yapısında bulunan flavonoid, saponin, antosiyanin gibi bileşikler koruyucu özellik göstererek midede oluşan hasarı önlemiştir. Moringa bitkisinin yaprakları metionin ve sistein gibi kükürtlü amino asidlerin kaynağıdır (Makkar ve Becker, 1996; Aja ve diğ., 2014). Moringanın yapısında bulunan kükürtlü amino asidler ve antioksidan maddelerin koruyucu özellik göstererek GSH değerlerinin artmasına neden olmuştur.

Ayrıca bitki yapraklarının yapısında kuarsetin, gallik asit, rutin, kafeik asit gibi flavonoid bileşikleri bulunmaktadır (Siddhuraju ve Becker, 2003; Sultana ve Anwar, 2008).

Moringa bitkisinin yara iyileştirici, iltihap kurutucu ve ülser tedavisinde kullanıldığı Pal ve diğ., 1995 tarafından belirtilmiştir (Pal ve diğ., 1995).

Halk arasında moringa ülser tedavisinde kullanılmaktadır. Ülser tedavisinde kullanılan bu bitkinin midede VPA ile oluşturulan hasarı da önlediği görülmüştür.

LPO düzeyinin artması oksidatif stresin bir göstergesidir (Dabrowska ve diğ., 2019). VPA uygulanan sıçanlarda mide ve diğer dokularda oksidatif stres nedeni ile hasar meydana gelmektedir. VPA verilen sıçanlarda LPO değerinin artması oksidatif stresin dokularda hasar oluşturduğunu bize göstermektedir. Çalışmamızda da VPA uyguladığımız sıçanlarda mide LPO değeri artmış, moringa ekstresi ile mide hasarının önlendiği ve LPO değerinin azaldığı görülmüştür. Azalmış GSH, artmış LPO düzeyinin ise moringa ekstresi verilmesi ile tersine çevrildiği Najafi ve diğ., tarafından belirtilmiştir (Najafi ve diğ., 2017).

Oksidatif stres organizmadaki dokularda çeşitli hasarlar meydana getirmektedir. Aşırı ROS üretimi organizmada mide dokusunda ve diğer dokularda antioksidan sistemin değişimine neden olur. VPA uygulanan sıçanlarda mide dokusundaki tüm antioksidan enzimler azalmıştır.

VPA ile oluşturulan karaciğer, böbrek, lens, akciğer hasarında doku LPO düzeylerinin arttığı, yapısında tiol grubu bulunan U vitamini verilmesi ile oluşan bu hasarların önlediği bulunmuştur (Sokmen ve diğ., 2012; Tunali ve diğ., 2015; Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2016; Oztay ve diğ., 2020; Celik ve diğ., 2021).

Moringa tıp, insan besini, hayvan yemi, yağ, selüloz kaynağı, su arıtma sistemler gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. VPA uygulanan sıçanlarda çeşitli dokularda antioksidan enzimlerin aktiviteleri azalmıştır. VPA uygulanan sıçanlarda karaciğer (Celik ve diğ., 2021), akciğer (Oztay ve diğ., 2020), böbrek (Gezginci–Oktayoglu ve diğ., 2016), beyin (Turkyilmaz ve diğ., 2021), pankreas (Oktay ve diğ., 2017) dokularında antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığı çeşitli araştırıcılar tarafından bildirilmiştir. Azalmış olan antioksidan enzim aktiviteleri koruyucu maddeler verildiğinde artmıştır. Çalışmamızda antioksidan enzimler olan CAT, SOD, GPx, GR aktivitelerinin azaldığı saptandı. Azalmış olan bu antioksidan enzimler moringa ekstresi verilmesi ile artış göstermiştir. CAT, SOD, GPx, GR enzim aktivetelerindeki artış mide dokusunda oluşan hasarın bize önlediğini göstermektedir.

LDH, dokulardaki hasarın göstergesi olan enzimlerden biridir. Çalışmamızda VPA uygulanan sıçanların mide dokusunda LDH enzim aktivitesinin arttığı, moringa ekstresi verilmesi ile azaldığı saptanmıştır. Moringa bitkisinin yapısında bulunan antioksidan maddelerin oluşan mide hasarının önlendiğini bize göstermektedir.

Çalışmamızda VPA uygulanan sıçanlarda ROS miktarının arttığı görülmektedir. ROS miktarının artışı mide dokusunda oksidatif stresin bize arttığını ve midede hasar oluşturduğunu göstermektedir. ROS miktarı moringa ekstresi verilmesi ile azalmıştır.

Oksidatif strese bağlı olarak dokularda total antioksidan miktarının azaldığı, total oksidan miktarının arttığı bilinmektedir. Çalışmamızda VPA uygulanan sıçanlarda TOS miktarının arttığı bulunmuştur. Moringa ekstresi uygulanması ile artmış olan TOS miktarının azaldığı saptanmıştır.

Proteinler oksidatif hasardan etkilenen biyomoleküllerdir. ROS ile proteinlerin reaksiyonu sonucunda organizmada protein oksidasyonu oluşmaktadır. PC, protein oksidasyonunun en önemli belirtecidir (Gulbahar, 2007).

VPA ile oluşturulan doku hasarında PC miktarının arttığı çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Tunali ve diğ., 2020; Turkyilmaz ve diğ., 2020; Bayrak ve diğ., 2021). Çalışmamızda VPA uyguladığımız sıçanların doku PC miktarlarının artışı mide proteinlerin hasara uğradığını bize göstermektedir. Moringa ekstresinin uygulanması ile PC miktarında azalma görülmüştür. PC miktarının azalması protein ve lipidlerin oksidatif hasarının önlendiğini göstermektedir.

MPO nötrofillerin granüllerinde bulunan ve ROS türlerinin önemli kaynağı olan enzimlerden biridir. MPO aktivitesi çeşitli kastalıklarda ve toksite durumunda artar (Tunali ve diğ., 2020). Bu hastalıklar koroner kalp hastalığı, diyabet, iskemi-reperfüzyon, sepsis, ülseratif kolit, kanser, hepatit C, yağlı karaciğerdir (Jornayvaz ve diğ., 2009; Rensen ve diğ., 2009).

Ayrıca VPA ile oluşturulan toksite durumunda kalp ve karaciğer gibi dokularda MPO aktivitesinin arttığı saptanmıştır (Emekli-Alturfan ve diğ., 2015; Tunali-Akbay ve diğ., 2017). Çalışmamızda VPA grubunda mide dokusu MPO aktivitesinin arttığı görülmüştür. Moringa ekstresi verdiğimiz dokularda ise doku MPO aktivitesinin anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Ekstre verilmesi ile serbest radikal oluşumunda azalma meydana gelmiştir. Bu sonuç bize, moringa ekstresinin VPA ile oluşturulan toksisiteyi azalttığını göstermektedir. Moringa bitkisinde bulunan antioksidan bileşkler bu toksiteyi azaltmaktadır.

XO, molibdan içeren oksido redüktaz sınıfına ait olan bir enzimdir. Purin metabolizmasının anahtar bir enzimidir (Harrison, 2002; Bayrak ve diğ., 2021). Çeşitli hastalıklarda ve toksite durumlarında XO enzim aktivitesi artar (Sokmen ve diğ., 2012; Turkyilmaz ve diğ., 2021). Çalışmamızda VPA uygulanan sıçanlarda mide dokusu XO enzim aktiviteleri anlamlı olarak artmıştır. Moringa ekstresi uygulanan sıçanlarda mide doku XO aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Purin metabolizmasının önemli enzimlerinden olan XO aktivitesinin azalması bize purin metabolizmasındaki hasarın ve mide hasarının önlendiği göstermektedir.

PON organizmada karaciğer, böbrek, akciğer gibi dokularda bulunan bir enzimdir. PON aktivitesi dokudaki hasara bağlı olarak azalır. Kanserli kişilerde (Elkiran ve diğ., 2007), hepatit C hastası olan kişilerde PON aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (Ali ve diğ., 2009). Çalışmamızda VPA uyguladığımız sıçanların mide doku örneklerinde PON aktivitesi anlamlı

olarak azaldı. VPA verilen sıçanlara moringa ekstresi verilmesi ile mide dokusundaki PON aktivitesinde artış olduğu gözlendi. Moringa ekstresinin VPA ile oluşturulan mide hasarını önlediğini göstermektedir.

Çeşitli patolojik durumlarda membrana bağlı olan enzimler membranda meydana gelen hasar nedeni ile aktivitelerinde farklılık göstermektedir (Suhail ve Rizvi, 1989).

Na^+/K^+-ATPaz enzimi hücredeki iyonik gradiyentin ve transport olaylarının gerçekleştirilmesinde rol oynar. Na^+/K^+-ATPaz enziminin diyabette ve yaşlanmada azaldığı saptanmıştır (Koçak ve Öner, 1999; Topcu ve diğ., 2009). Çalışmada VPA uygulanan sıçanlarda mide dokusunda Na^+/K^+-ATPaz enziminin azaldığı saptandı. VPA uygulanan sıçanlara moringa ekstresi uygulandığında Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin arttığı görüldü. VPA uygulanan sıçanlarda mide dokusundaki Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin azalması hücre membranında hasar oluştuğunu bize göstermektedir. Moringa ekstresinin yapısında bulunan antioksidan ve tiyol grubu içeren amino asidlerin bulunması bu enzim aktivitesinde artmaya neden olmuş ve hücre membranındaki hasarın bize önlendiğini göstermiştir.

Arginaz, hidrolaz sınıfı bir enzim olup arginini üre ve ornitine parçalayan azot metabolizmasının markır enzimidir. Enzim, başta karaciğer olmak üzere böbrekte, meme bezlerinde, testiste, midede bulunmaktadır. Arginaz enziminin karaciğer hasarında (Abdel-Azem ve diğ., 2013; Hacihasanoglu-Cakmak ve Yanardag, 2015), böbrek hasarında (Aydoğdu ve diğ., 2006), VPA toksisitesinde (Hacihasanoglu-Cakmak ve Yanardag, 2015), kanserde, ülseratif kolitte, Crohn hastalığında (Horowitz ve diğ., 2007) arttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmamızda VPA verilen sıçanlarda mide dokusu arginaz aktivitesi arttı. Arginaz enziminin aktivitesinin artması bize mide hasarının olduğunu göstermektedir. Antioksidan aktiviteye sahip olan moringa ekstresinin VPA uygulanan sıçanlarda uygulanması ile arginaz aktivitesi anlamlı derecede azaldı. Bu sonuçlar bize moringa ekstresinin mide hasarında oksidatif stresi baskıladığını göstermektedir.

ARE enzimi antioksidan özellikte bir enzim olup hasarlı dokularda enzim aktivitesinde azalma meydana gelmektedir (Sutherland ve diğ., 2004). Bu enzim PON ile birlikte düşük dansiteli lipoproteinleri oksidasyondan korur. Çalışmamızda uygulanan VPA'nın mide dokusundaki ARE aktivitesini azalttığı bulundu. VPA+moringa ekstresi uygulanan sıçanlarda azalmış olan aktivitenin arttığı görüldü. VPA uygulanan sıçanlarda ARE aktivitesinin azalması VPA'nın

toksik etki göstererek antioksidan sistemi azalttığını göstermektedir. Moringa ekstresi verilmesi ile midede azalmış olan ARE aktivitesinin arttığı görülmektedir.

Organizmada NO seviyesi oksidatif strese bağlı olarak artar. Çalışmamızda VPA grubunda oluşan hasar nedeni ile NO seviyesi arttı. Moringa verilmesi ile artmış olan NO'nun azaldığı saptandı.

Halk arasında gıda maddeleri olarak kullanılan ve çeşitli hastalıkların tedavisinde yardımcı olarak kullanılabileceği belirtilen *Moringa oleifera* yaprak ekstresinin VPA ile oluşturulan mide hasarına karşı antioksidan özellik göstererek oksidatif hasara karşı iyileştirici etkilerinin olduğu öne sürülebilir.

KAYNAKLAR

Abdel-Azeem, A.S., Hegazy, A.M., Ibrahim, K.S., Farrag, A.R., El-Sayed, E.M., 2013, Hepatoprotective, antioxidant and ameliorative effects of ginger (Zingiber officianale Roscoe) and vitamin E in acetaminophen treated rats, *Journal of Dietary Supplementation,* 10, 195-209.

Abdel-Daim, M.M., Khalil, S.R., Awad, A., Abu, Zeid., Zeid E.H.A., El-Aziz, R.A., El-Serehy H.A., 2020, Ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves influences NF-κB signaling pathway to restore kidney tissue from cobalt-mediated oxidative injury and inflammation in rats, *Nutrients*, 12(4), 1031.

Abdelkader,N.F., Elyamany, M., Gad, A.M., Assaf, N., Fawzy, H.M., Elesawy, W.H., 2020, Ellagic acid attenuates liver toxicity induced by valproic acid in rats, *Journal of Pharmacological Sciences,* 143(1), 23-29.

Abdu, H., Garba, A.A., 2021, Proximate analysis and anti-ulcer activity of methanolic of *Moringa oleifera*, *African Scholar Publications and Research International,* 20(1), 188-200.

Abdulqader, Y.A.Y., Kawy, H.S.A., Alkreathy, H.M., Rajeh, N.A., 2021, The potential antieoileptic activity of astaxanthin in epileptic rats reated with valproic acid, *Saudi Pharmaceutical Journal,* 29(5), 418-426.

Abe, R., Ohtani, K., 2013, An ethnobotanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines, *Journal of Ethnopharmacology,* 145(2), 554-565.

Adikwu, E., Liverpool, E., 2021, Valproic acid-induced hepatotoxicity in rats: Protective effect of selenium, *Journal of Nature of Science and Medicine*, 4, 118-123.

Aebi, H., 1984, Catalase in vitro, *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.

Agoyi, E.E., Assogbadjo, A.E., Gouwakinnou, G., Okou., F.A.Y., Sinsin, B., 2014, Ethnobotanical assessment of *Moringa olerifera* Lam., in Southern Benin (West Africa), *Ethnobotany Research and Application,* 551-560.

Ahangar, N., Naderi, M., Noroozi, A., Ghasemi, M., Zamani, E., Shaki, F., 2017, Zinc deficiency and oxidative stress involved in valproic acid induced hepatotoxicity: Protection by zinc and selenium supplementation, *Biological Trace Element Research*, 179, 102-109.

Ahmed, N., Aljuhani, N., Al-Hujaili, H.S., Al-Hujaili, M.A., Elkablawy, M.A., Noah, M.M., Abo-Haded, H., El-Agamy, D.S., 2018, Agmatine protects against sodium valproate induced hepatic injury in mice via modulation of nuclear factor-KB/inducible nitric oxide synthetase pathway, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32, e22227.

Ahmed, N.F., Sadek, K.M., Soliman, M.K., Khalil, R.H., Khafag, A.F., Ajarem, J.S., Maodaa, S.N., Allam, A.A., 2020, Moringa oleifera leaf extract repairs the oxidative misbalance

followinh sub-chronic exposure to sodium fluoride in Nile Tilapia Oreochromis Niloticus, *Animals,* 10(4), 626.

Aja, P.M., Nwachukwu, N., Ibiam, U.A., Igwenyi, I.O., Offor, C.E., Orji, U.O., 2014, Chemical continuents of *Moringa oleifera* leaves and seeds from Abakaliki, Nigeria, *American Jornual of Phytomedicine and Clinical Therapeutics,* 2, 310-321.

Ali, E.M., Shehata, H.H., Ali-Labib, R., Esmail Zahra, L.M., 2009, Oxidant and antioxidant of arylesterase and paraoxonase as biomarkers in patients with hepatitis C virus, *Clinical Biochemistry,* 42, 1394-1400.

Ali, N., Rashid, S., Nafees, S., Hasan, S. K., Sultana, S., 2014, Beneficial effects of chrysin against methotrexate-induced hepatotoxicity via attenuation of oxidative stress and apoptosis, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 385, 215-223.

Anderson, M.E., Meister, A., 1989, Glutathione monoesters, *Analytical Biochemistry*, 183 (1), 16-20.

Anwer, T., Safhi, M.M., Makeen, H.A., Alshahrani, S., Siddiqui, R., Sivakumar, S.M., Shaheen, E.S., Alam, M.F., 2021, Antidiabetic potential of *Moringa oleifera* Lam. leaf extract in type 2 diabetic rats, and its mechanism of action, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research,* 20(1), 95-103.

Aydoğdu, N., Erbas, H., Atmaca, G., Erten, O., Kaymak, K., 2006, Melatonin reduces nitric oxide via increasing arginase in rhabdomolysis-induced acute renal failure in rats, *Renal Failure,* 28, 435-440.

Bahari, H.M., Ross, I.N., Turnberg, L.A., 1982, Demonstration of a pH gradient across the mucus layer on the surface of human gastric mucosa in vitro, *Gut,* 23, 513-516.

Bais, R., Philcox, M., 1994, Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase (I-Lactate: NAD^+Oxidoreductase, EC 1.1.1.27). International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 32, 639-655.

Baker, G.A., Bromley, R.L., Briggs, M., Cheyne, C.P., Cohen, M.J., Garcia-Finana, M., Gummery, A., Kneen, R., Loring, A.W., Mawer, G., Meador, K.J., Shallcross, R., Clayton-Smith, J., 2015, IQ at 6 years after in utero exposure to antiepileptic drugs, *Neurology,* 84(4), 382-390.

Bakre, A.G., Aderibigbe, A.O., Ademowo, O.G., 2013, Studies on neuropharmacological profile of ethanol of *Moringa oleifera* leaves in mice, *Journal of Ethnopharmacology,* 149(3), 783-789.

Banerjee, P.N., Filippi, D., Hauser, W.A., 2009, The descriptive epidemiology of epilepsy: A review, *Epilepsy Research*, 85(1), 31-45.

Bayrak, B.B., Yilmaz, S., Hacihasanoglu-Cakmak, 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,*35(9), e22847.

Becker, C.M., Harris, R.A., 1983, Influence of valproic acid on hepatic carbohydrate and lipid metabolism, *Archives of Biochemistry and Biophysics,* 223, 381–392.

Beghi, E., 2020, The epidemiology of epilepsy, *Neuroepidemiology*, 54, 185-191.

Beutler, E., 1971, Red cell metabolism, *A manuel of biochemical methods, 12th 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, USA, 112-114.

Bialer, M., Yagen, B., 2007, Valproic acid: Second generation, *Neurotherapeutics,* 4(1), 130-137.

Blanchard, S.S., Czinn, S.J., 2021, Developmental anatomy and physiology of the stomach, *Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease (Sixth Edition)*, p 246-252.

Bornhorst, G.O., Singh, R.P., 2014, Gastric digestion in vivo and in vitro: How the structural aspects of food influence the digestion process, *Annual Review of Food Science and Technology,* 5, 111-132.

Burton, B.S., 1882, In the propyl derivatives and decomposition products of ethylacetoacetate, Journal of American Chemical Society, 3, 385-395.

Cammisotto, V., Nocella, C., Bartimoccia, S., Sanguigni, V., Francomano, D., Sciarretta, S., Pastori, D., Peruzzi, M., Cavarretta, E., D'Amico, A., Castellani, V., Frati, G., Carnevale, R., Group, S., 2021, The role of antioxidants supplementation in clinical practice: Focus on cardiovascular risk factors, *Antioxidants (Basel)*, 10, 146.

Ceballos, G., Meaney, E., Ortiz-Flores, M., Nayelli, N., 2021, Free radicals, oxidative stress and the Pandora box, *Cardiovascular and Metabolic Science*, 32, S164-S167.

Celik, E., Tunali, 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.

Chateauvieux, S., Morceau, F., Dicato, M., Diederich, M., 2010, Molecular and therapeutic potential and toxicity of valproic acid, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 479364.

Chaudhary, S., Ganjoo, P., Raiusddin, S., Parvez, S., 2015, Nephroprotective activities of quercetin with potential relevance to oxidative stress induced by valproic acid, *Protoplasma*, 252, 209-217.

Chistensen, J., Grønborg, T.K., Sørensen, M.J., Schendel, D., Parner, E.T., Pedersen, L.H., Vestergaard, M., 2013, Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism, *Journal of the American Medical Association*, 309(16), 1696-1703.

Činčárová, L., Zdráhal, Z., Fajkus, J., 2013, New perspective of valproic acid in clinical practice, *Expert Opinion on Investigational Drugs,* 22(12), 1535-1547.

Conei, D., Rojas, M., Santamaria, L., Risopatron, J., 2021, Protective role of vitamin E in testicular development of mice exposed to valproic acid, *Andrologia,* 53(8), e14140.

Corte, D.E., Stirpe, F., 1968, Regulation of xanthine oxidase in rat liver: Modifications of the enzyme activity of rat liver supernatant on storage at -20^{o}C, *Biochemistry Journal*, 108, 349-350.

Dabrowska, Z., Dąbrowska, E., Onopiuk, B., Onopiuk, P., Orywal, K., Mroczko, B., Pietruska, M., 2019, The protective impact of black chokeberry fruit extract (Aronia melanocarpa L.) on the oxidoreductive system of the parotid gland of rats exposed to cadmium, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity,* 2019, 1-11.

Daniels, I.R., Allum, W.H., 2005, The anatomy and physiology of the stomach, *Upper Gastrointestinal Surgery. Springer Specialist Surgery Series,* 17-37.

Dawson, J.E., Raymond, A.M., Winn, L.M., 2006, Folic acid and pantothenic acid protection against valproic acid-induced neural tube defects in CD-1 mice, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 211, 124-132.

Dragunow, M., Greenwood, J.M., Cameron, R.E., Narayan, P.J., O'Caroll, S.J., Pearson, A.G., Gıbbons, H.M., 2004, Valproic acid induces caspace 3-mediated apoptosis in microglial cells, *Neuroscience,* 140, 1149 –1156.

Elkiran, E.T., Mar, N., Aygen, B., Gursu, F., Karaoglu, A., Koca, S., 2007, Serum paraoxonase and arylestrease activities in patients with lung cancer in a Turkish population, *BMC Cancer* 7*,* 48, https://doi.org/10.1186/1471-2407-7-48.

Emekli-Alturfan, E., Alev, B., Tunali, S., Oktay, S., Tunali-Akbay, T., Ozturk, L.K., Yanardag, R., Yarat, A., 2015, Effects of edaravone on cardiac damage in valproic acid induced toxicity, *Annals of Clinical Laboratory Science*, 45, 166-172.

Erel, Ö., 2005, A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status, *Clinical Biochemistry*, 38, 1103-1111.

Ethemoğlu, Ö., 2006, *Selektif amigdalohipokampektomi operasyonu geçiren mesial temporal lob epilepsili hastaların klinik-patolojik özellikleri ile hipokampal sklerozda p-glikoprotein ekspresyonu ilişkisi*, Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 3, Nöroloji Kliniği, Uzmanlık Tezi.

Farrell, J.J., 2004, Digestion overview, *Encyclopedia of Gastroenterology*, 624-629.

Fernando, W., Somaratne, G., Gooze, K.G., Williams, S., Singh, H., Martins, R.N., 2017, Diabetes an Alzheimer's disease: can tea phytochemicals play role in prevention, *Journal of Alzheimer's Disease,* 59(2), 481-501.

Foidl, N., Makkar, H.P.S., Backer, K., 2002, Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie, *Potentiel de developpement des produits du Moringa,* International Workshop on Development Potential for Moringa Products, 29 October 2 November 2001 Dar es Salaam, Tanzanie,

Fonslow, B.R., Yates, J.R., 2012, Proteolytic digestion methods for shotgun proteomics, *Analytical Techniques for Scientists*, 3, 261-276.

Forman, H.J., Zhang, H., 2021, Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy, *Nature Review Drug Discovery*, 20, 689-709.

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.

Gai, Z., Krajnc, Evelin., Samodelov, S.L., Visentin, M., Kullak-Ublick, G.A., 2020, Obeticholic acid ameiorates valproic acid-induces hepatic steatosis and oxidative stress, *Molecular Pharmacology,* 97(5), 314-323.

Gan, K.N., Smolen, A., Eckerson, H.W., La Du, B.N., 1991, Purification of human serum paraoxonase/arylesterase, evidence for one esterase catalyzing both activities, *Drug Metabolism and Disposition,* 19(1), 100-106.

Ganguly, S., 2013, Indian ayurvedic and traditional medicinal implications of indigenously avaliable plants, herbs and fruits: a review, *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy,* 4(4), 623-625.

Gean, P.W., Huang, C.C., Hung, C.R., Tsai, J.J., 1994, Valproic acid suppresses the synaptic response mediated by the NDMA receptors in rat amygdalar slices, *Brain Research Bulletin,* 33(3), 333-336.

Geyer, J.W., Dabich, D., 1971, Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates, *Analytical Biochemistry*, 39, 412-417.

Gezginci-Oktayoglu, S., Turkyilmaz, I.B., Ercin, M., Yanardag, R., Bolkent, S., 2016, 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, 127-135.

Goldberg-Stern, H., Yaacobi, E., Philip, M., Vries, L., 2014, Endocrine effects of valproic acid therapy in girls with epilepsy: A prospective study, *European Journal of Pediatric Neurology,* 18(6), 759-765.

Gopalakrishnan, L., Doriya, K., Kumar, D.S., 2016, *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application, *Food Science and Human Wellness,* 5(2), 49-56.

Greenblatt, D.Y., Cayo, M.A., Adler, J.T., Ning, L., Haymart, M.R., Kunnimalaiyaan, M., Chen, H., 2008, Valproic acid activates notch1 signaling and induces apoptosis in medullary thyroid cancer cells, *Annals of Surgery*, 247(6), 1036-1040.

Gulbahar, Ö., 2007, Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi, *Turkish Journal Geriatri,* 10, 43-48.

Guo, H.L., Xia, J., Jie-Hu, S., Ya-Hui, H., Ze-Jun, X., Ming-Ming, Ni, Feng, C., Xiao-Peng, L., Jin-Chun, Q., Tengfei, W., 2019, Valproic acid and the liver injury in patients with epilepsy: An update, *Current Pharmaceutical Design,* 25(3), 343-351.

Gupta, R., Kannan, G.M., Sharma, M., Flora, S.J.S., 2005, Therapeutic effects of *Moringa oleifera* on arsenic-induced toxicity in rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology,* 20(3), 456-464.

Habig, W.H., Jakoby, W.B., 1981, Assay of differentation on glutathione-S-transferase, *Methods in Enzymology*, 77, 398-405.

Hacihasanoglu-Cakmak, N., Yanardag, R., 2015, Edaravone a free radical scavenger protects liver against valproic acid induced toxicity, *Journal of the Serbian Society,* 80(5), 627-637.

Hardy, J.R., Rees, E.A.J., Gwilliam, B., Ling, J., Broadley, K., A'Hern, R., 2001, A phase II study to establish the efficacy and toxicity of sodium valproate in patients with cancerrelated neuropathic pain, *Journal of Pain and Symptom Management*, 21(3), 204-209.

Harrison, R., 2002, Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now?, *Free Radical Biology and Medicine,* 33, 774-797.

Hayes, J.D., Dinkova-Kostova, A.T., Tew, K.D., 2020, Oxidative stress in cancer, *Cancer Cell*, 38, 167-197.

Haznedar, P., Doğan, Ö., Albayrak, P., Tunçer, G.Ö., Teber, S., Deda, G., Eminoglu, F.T., 2019, Effects of levetiracetam and valproic acid treatment on liver function tests, plasma free carnitine and lipid peroxidation in childhood epilepsies, *Epilepsy Research,* 153, 7-13.

Horowitz, S., Binion, D.G., Nelson, V.M., Kanaa, Y., Lazarova, Z., Andrekopoulos, C., Kalyanamaran, B., Otterson, M.F., Rafiee, P., 2007, Increased arginase activity and endothelial disfunction in human inflammatory bowel disease, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology,* 292, 1323-1336.

Ijioma, S.N., Nwaogazi, E.N., Nwankwo, A.A., Oshilonya, H., Ekemele, C.M., Oshilonya, L.U., 2018, Histological exhibition of gastroprotective of *Moringa oleifera* leaf extract, *Comparative Clinical Pathology,* 27, 327-332.

Jentink, J., Loane, M.A., Dolk, H., Barisic, I., Garne, E., Morris, J.K., Jong-van den Berg, L.T., 2010, Valproic acid monotherapy in pregnancy and major congenital malformations, *New England Journal of Medicine*, 362(23), 2185-2193.

Jornayvaz, F.R., Brulhart-Meynet, M.C., James, R.W., 2009, Myeloperoxidase and paraoxonase-1 in type 2 diabetic patients, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases,* 19, 613-619.

Kennedy, L., Sandhu, J.K., Harper, M.E., Cuperlovic-Culf, M., 2020, Role of glutathione in cancer: From mechanisms to therapies, *Biomolecules*, 10, 1429.

Ketterer, B., 1988, Protective role of glutathione and glutathione transferases in mutagenesis and carcinogenesis, *Mutation Research*, 202, 343-361.

Khor, K.Z., Lim, V., Moses, E.J., Samad, N.A., 2018, The *in vitro* and *in vivo* anticancer properties of *Moringa oleifera, Hindawi, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,* 2018, 14.

Koçak, H., Öner, P., 1999, Sağlıklı insanlarda eritrosit membranı Na^+/K^+-ATPaz ve Ca^{2+} ATPaz aktivitelerine ve sialik asid düzeylerine yaşlanmanın etkisi, *İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi,* 62, 129-133.

Lackmann, G.M., 2004, Valproic acid induced thrombocytopenia and hepatotoxicity: Discontinuation of treatment, *Pharmacology,* 70, 57-58.

Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepien, A., Kadziolka, A., 1986, The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atheroschlerosis*, Clinica Chimica Acta*, 155, 275-283.

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.

Levy, R.H.M.R., Meldrum, B.S., Perrucca, E., 2002, *Antiepileptic Drugs* (fifth ed), Lippincott Williams Wilkins, Philadelphia.

Lewis, J.H., Zimmerman, H.J., Garrett, C.T., Rosenberg, E., 1982, Valproate-induced hepatic steatogenesis in rats, *Hepatology* 2, 870–873.

Lewis, O.L., Keener, J.P., Fogelson, A.L., 2017, A physics-based model for maintenance of the pH gradient in the gastric mucus layer, *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 313, 599 –612.

Lheureux, P.E.R., Hantson, P., 2009, Carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity, *Clinical Toxicology*, 47,101-111.

Li, K., Li, J., Gu, J., Guo, X., Gao, T., Li, D., 2018, The protective effect of polyunsaturated fatty acid intake during pregnancy against embryotoxicity of sodium valproate in mice, *Food Function*, 9, 2634-2643.

Liu, W., Liu, J., Salt, L.J., Ridout, M.J., Han, J., Wilde, P.J., 2019, Structural stability of liposome-stabilized oil-in-water pickering emulsion and their fate durin in vitro digestion, *Food and Function* 10 (11), 7262-74.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.

Ma, X-J., Wang, Y-S., Gu, W-P., Zhao, X., 2017, The role and possible molecular mechanism of valproic acid in the growth of MCF-7 breast cancer cells, *Croatian Medical Journal*, 58, 349-357.

Magaji, U.F., Sacan, O., Yanardag, R., 2020, Alpha glucosidase and glycation inhibitory activity of *Moringa oleifera* extracts, *South African Journal of Botany,* 128, 225-230.

Makkar, H.P.S., Becker, C., 1996, Nutritional value and antinutrional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves, *Animal Feed Science annd Technology,* 63, 221-228.

McElroy, S.L., Keck, P.E., 1989, Valproate in psychiatric disorders: Literature review and clinic guidelines, *Journal of Clinical Psychiatry*, 50, 23-29.

McQuilken, S.A., 2021, The mouth, stomach and intestine, *Anaesthesia and Intensive Care Medicine,* 22(5), 330-335.

Mehta, L.K., Balaraman, R., min, A.H., Bafna, P.A., Gulati, O.D., 2003, Effects of fruits of *Moringa oleifera* on the lipid profile of normal and hypercholesterolaemic rabbits, *Journal of Ethnopharmacology,* 86(2-3), 191-195.

Mesdjian, E., Ciesielski, L., Valli, M., Bruguerolle, B., Jadot, G., Bouyard, P., Mandel, P., 1982, Sodium valproate: kinetic profile and effects on GABA levels in various brain areas of the rat, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 6(3), 223-233.

Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A., 2001, A rapid simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite, *Nitric Oxide*, 5, 62-71.

Mylorie, A.A., Collins, H., Umbles, C. Kyle, J., 1986, Erythrocyte SOD activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 82, 512-520.

Najafi, N., Heidari, R., Jamshidzadeh, A., Fallahzadeh, H., Omidi, 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, 63-70.

Nau, H., Hauck, R.S., Ehlers, K., 1991, Valproic acid-induced neural tube defects in mouse and human: Aspects of chilarity, alternative drug development, pharmacokinetics and possible mechanism, *Pharmacology and Toxicology*, 69(5), 310-321.

Ogbe, A.O., Affiku, J.P., 2011, Proximate study, mineral and antinutrient composition of *Moringa oleifera* leaves harvested from Lafia, Nigeria: Potential benefits in poultry nutrition and health, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*, 1(3), 296- 308.

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, 654-661.

Oktay, S., 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, 232-240.

Oktay, S., Alev-Tüzüner, B., Tunalı, S., Ak, E., Emekli-Alturfan, E., Tunalı-Akbay, T., Koç-Öztürk, L., Çetinel, Ş., 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.

Oluduro, A.O., 2012, Evaluation of antimicrobial properties and nutritional potentials of *Moringa oleifera* Lam. leaf in south-western Nigeria, *Malasyian Journal of Microbiology,* 8(2), 59-67.

Omotoso, G.O., Gbadamosi, I.T., Olajide, O.J., Dada-Habeeb, S.O., Arogundade, T.T., Yawson, E.O., 2018, *Moringa oleifera* phytochemicals protect the brain against nicotine-induced neurobehavioral disturbances and cerebellar degeneration, *Pathophysiology,* 25(1), 57-62.

Onu, P.N., Aniebo, A.O., 2011, Influence of *Moringa oleifera* leaf meal on the performance and blood chemistry of starter broilers, *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences,* 1(1), 38-44.

Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., Akev, N., 2008, Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L., leaf extracts, *Food Chemistry,* 110(3), 571-583.

Ozsoy, N., Yilmaz, T., Kurt, O., Can, A., Yanardag, R., 2009, *In vitro* antioxidant activity of *Amaranthus lividus* L., *Food Chemistry,* 116(4), 867-872.

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*, 34, e22602.

Oztopuz, O., Turkon, H., Buyuk, B., Coskun, O., Sehitoglu, M.H., Ovali, M.A., Uzun, M., 2020, Melatonin ameliorates sodium valproate-induced hepatotoxicity in rats, *Molecular Biology Reports*, 47, 317-325.

Pal, S.K., Nukherjee, 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.

Peksel, A., Arisan-Atac, I., Yanardag, R., 2010, Evaluation of antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the extracts of *Pistacia atlantica* desf. leaves, *Journal of Food Biochemistry,* 34(3), 451-476.

Pirozzi, C., Lama, A., Annunziata, C., Cavaliere, G., De Caro, C., Citraro, R., Russo, E., Tarrarico, M., Iannone, M., Ferrante, M.C., Mollica, M.P., Raso, G.M., De Sarro, G.,

Calignano, A., Meli, R., 2020, Butyrate prevents valproate-induced liver injury: In vitro and in vivo evidence, *FASEB Journal*, 34, 676-690.

Pisoschi, A.M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., Serban, A.I., 2021, Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891.

Platta, C.S., Greenbalt, D.Y., Kunnimalaiyaan, M., Chen, H., 2008, Valproic acid induced notch1 signaling in small cell lung cancer cells, *Journal of Surgical Research,*148(1), 31-37.

Prabu, S.L., Umamaheswari, A., Puratchikody, A., 2019, Phytopharmacological potential of the natural gift *Moringa oleifera* Lam and its therapeutic application: An overview, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine,* 12(11), 485-498.

Qurique, G.M., Pês, T.S., Saccol E.M., Finamor I.A., Glanzner, W.G., Baldisserotto, B., Pavanato, M.A., Gonçalves, P.B., Barreto, K.P., 2016 (a), Resveratrol prevents oxidative damage and loss on sperm motility induced by long-term treatment with valproic acid in Wistar rats, *Experimental Toxicologic Pathology*, 68, 435-443.

Qurique, G.M., Saccol, E.M., Pês, T.S., Glanzner, W.G., Schiefelbein, S.H., Woehl, V.M., Baldisserotto, B., Pavanato, M.A., Gonçalves, P.B., Barreto, K.P., 2016 (b), Protective effect of vitamin E on sperm motility and oxidative stress in valproic acid treated rats, *Food and Chemical Toxicology*, 95, 159-167.

Rehman, K., Hamayun, M., Khan, S.A., Khan, S.S., Wali, S., 2020, Competence of benzoil tree (*Moringa oleifera* L.) as antibacterial and antifungal agent, *Advancements in Life Sciences-International Quarterly Journal of Biological Sciences,* 7(3), 135-139.

Rensen, S.S., Slaats, Y., Nihjuis, J., Jans, A., Driessen, A., Malle, E., Greve, J.W., Buurman, W.A., 2009, Increased hepatic myeloperoxidase activity in obese subjects with nonalcoholic steatohepatitis, *American Journal of Pathology,* 175, 1473-1482.

Ridderstap, A.S., Bonting, S.L., 1969, Na^+-K^+-activated ATPase and exocrine pancreatic secretion in vitro, *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 217, 1721-1727.

Sacan, O., Yanardag, R., 2010, Antioxidant and acetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris* L. var. cicla), *Food and Chemical Toxicology,* 48(5), 1275-1280.

Schubert, M.L., 2004, Gastric secretion, *Current Opininon in Gastroenterology,* 20(6), 519-525.

Siddhuraju, P., Becker, K., 2003, Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolis constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 51(8), 2144-2155.

Sikma, M., Mier, J.C., Meulenbelt, J., 2008, Massive valproic acid overdose, a misleading case, *American Journal of Emerency Medicine,* 26(1), 110.

Sokmen, B.B., Tunali, S., Yanardag, R., 2012, Effects of vitamin U (S-methyl methionine sulphonium chloride) on valproic acid induced liver injury in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 3562-3566.

Somaratne, G., Ferrua, M.J., Ye, A., Nau, F., Floury, J., Dupont, D., Singh, J., 2020, Food material properties as determining factors in nutrient release during human gastric digestion: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition,* 60(22), 1-17.

Spiller, H.A., Krenzelok, E.P., Klein-Schwartz, W., Winter, M.L., Weber, J.A., Sollee, D.R., Bangh, S.A., Griffith J.R., 2000, Multicenter case series of valproic acid ingestion: serum concentrations and toxicity, *Journal of Toxicology, Clinical Toxicology*, 38 (7), 755-760.

Stephenie, S., Chang, Y.P., Gnanasekaran, A., Esa, N.M., Gnanaraj, C., 2020, An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement, *Journal of Functional Foods*, 68, 103917.

Suahil, M., Rizvi, S.I., 1989, Erythrocyte membrane acetylcholinesterase in type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus, *The Biochemical Journal,* 259(3), 897-899.

Sultana, B., Anwar, F., 2008, Flavonols (kaempeferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants, *Food Chemistry,*108, 879-884.

Sutherland, W.H., De Jong, S.A., Wlaker, R.J., 2004, Hypochlorus acid and low serum paraoxonase activity in heamodialysis patients: An in vitro study, *Nephrology Dialysis Transplantation,* 19, 75-82.

Swaran, F.J.S., Vidhu, P., 2001 Moringa (*Moringa oleifera)* seed extract the prevention stress, *Nuts and Seeds in Health Disease Prevention,* 92, 775-785.

Sztazjnkrycer, M.D., 2002, Valproic acid toxicity: overview and management, *Journal of Toxicology, Clinical Toxicology,* 40(6), 789-801.

Taleb, A., Lin, W., Xu, X., Zhang, G., Zhou, Q.G., Naveed, M., Meng, F., Fukunaga, K., Han, F., 2021, Emerging mechanisms of valproic acid-induced neurotoxic events in autism and its implications for pharmacological treatment, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 137, 111322.

Toma, A., Deyno, S., 2014, Phytochemistry and pharmacological activities of *Moringa oleifera, International Journal of Pharmacology,* 1(4), 222-231.

Topcu, C., Gürbilek, M., Aköz, M., Çora, T., 2009, Tip 2 diyabetik nöropatili hastalarda eritrosit zarı Na^+/K^+-ATPaz enzim aktivitesi, ATP1A1 gen polimorfizmi ile C-peptid arasında ilişkisinin araştırılması, *Turkish Journal of Biochemistry,* 34, 154-159.

Tunali, S., 2014, The effects of vitamin B6 on lens antioxidant system in valproic acid administered rats, *Human and Experimental Toxicology*, 33, 623-628.

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, 904-910.

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, e13382.

Tunali-Akbay, T., Alve, B., Tunali, S., Oktay, S., Emekli-Alturfan, E., Ipekci, H., Koc Ozturk, L., 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., Sokmen, B.B., Yanardag, R., 2020, Alpha-lipoic acid prevents brain injury in rats administered with valproic acid, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34, e22580.

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, e22855.

Ustundag, U.V., Tunali, S., Alev, B., Ipekci, H., Emekli-Alturfan, E., Tunali Akbay, 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, 132-139.

Uysal S., Ercan T., 2005, Epilepsi, spor, psikososyal yaşam, *Türk Pediatri Arşivi*, 40, 68-71.

Ünal, A., Saygı S., 2005, Epilepsi hastalarında görülen psikiyatrik bozukluklar, *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Science*, 1, 40-45.

VanDongen, A.M.J., VanErp, M.G., Voskuyl, R.A., 1986, Valproate reduces excitability by blockage of sodium an potassium conductance, *Epilepsia,* 27(3), 177-182.

Veeramani, C., Al-Numair, K., Alsaif, M.A., Chandramohan, G., Al-Numair, N.S., Pugalendi, K.V., 2012 Protective effect of *Cardiospremum halicacabum* leaf extract on glycoprotein components on STZ- induced hyperglycemic rats, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine,* 5, 939-944.

Wang, X.Q., Wang, W., Peng, M., Zhang, X.Z., 2021, Free radicals for cancer theranostics, *Biomaterials*, 266, 120474.

Wei, H., Frenkel, K., 1991, In vivo formation of oxidized DNA bases in tumor promoter-treated mouse skin, *Cancer Research*, 51, 4443-4449.

Wendel, A., 1981, Glutathione peroxidase, *Methods in Enzymology*, 77, 325-333.

William, S.E., Turnberg, L.A., 1981, Demonstration of a pH gradient across mucus adherent to rabbit gastric mucosa: evidence for a mucus-bicarbonate barrier, *Gut* 22, 94-96.

Zeise, M.L., Kasparow, S., Zieglgänsberger, W., 1991, Valproate suppresses N-methyl-D-aspartate-evoked, transient depolarizations in the rat neocortex in vitro, *Brain Research*, 544(2), 345-348.

Zhang, Y., Chen, J., Ji, H., Zhang-Gang, X., Shen, P., Xu, L., 2018. Protective effect of Danshen injection against erectile disfunction via: Suppression of endoplasmic reticulum stress

activation in streptozotocin induced diabetic rat model, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 343.

Zhou, H., Wang, N., Xu, L., Huang, H.L., Yu, C.Y., 2017, Clinical study on anti-epileptic drug with B vitamins for the treatment of epilepsy after stroke, *European Review for Medicinal and Pharmacological Sciences*, 21, 3327-3331.

http://what-when-how.com/molecular-biology/glutathione-molecular-biology/

https://tribune.com.pk/story/2238577/1-moringa-tree-nutritional-medicinal-miracle

https://www.anatomi.gen.tr/mide-anatomi.html

https://www.medicalnewstoday.com/articles/318652#Antioxidants-and-free-radicals

https://www.shutterstock.com/search/moringa+oleifera

https://www.shutterstock.com/tr/image-vector/oxidative-stress-diagram-free-radicals-attacking-1190628985

https://www.sigmaaldrich.com/TR/en/product/sial/phr1061