



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**VALPROİK ASİT VERİLEN SIÇANLARIN DERİSİ ÜZERİNE
MORİNGA OLEİFERA EKSTRESİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

GÜLSÜM ELİK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BESLENME VE BİYOKİMYASI PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. AYŞEN YARAT

EŞ-DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ BURÇİN ALEV TÜZÜNER

İSTANBUL- 2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Gölsüm ELİK

TEŞEKKÜR

Bana bu araştırma konusunu veren, çalışmayı yöneten, deneylerimin yapılması ve tezimin yazımı sırasında her türlü desteğini ve yardımını esirgemeyen çalışmalar esnasında sabır ve anlayış gösteren beni yönlendiren ve tecrübeleriyle karşılaştığım zorlukları kolayca aşmamı sağlayan çok değerli danışman hocam **Prof Dr. Ayşen YARAT’a** sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve birikimlerinden faydalanma imkânı bulduğum değerli hocalarım **Doç. Dr. Nihal Şehkar OKTAY’a**, **Dr. Öğr. Üyesi Burçin ALEV TÜZÜNER’e**, **Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ’a** ve diğer emeği geçen tüm hocalarıma,

Çalışmamıza verdikleri maddi katkılardan dolayı **M.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne** (Proje No: **BAPKO- SAĞ-C-YL-10423**),

TÜBİTAK Bilim Adamı Yetiştirme 2210/A projesi birimine,

Deneylerim sırasında beni her koşulda destekleyen tüm arkadaşlarıma,

Son olarak, yıllardır maddi ve manevi desteklerini hep arkamda hissettiğim ve benim için birçok sıkıntıya katlanan sevgili aileme sonsuz teşekkürler.

Gülsüm ELİK

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR LİSTESİ	i
ŞEKİL LİSTESİ	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
1.ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Deri ve Yapısı	5
4.1.1. Epidermis	5
4.1.1.1. Stratum (Str.) bazale (Str. germinativum)	6
4.1.1.2. Str. spinosum.....	7
4.1.1.3. Str. granülozum	7
4.1.1.4. Str. lusidum	7
4.1.1.5. Str. korneum	7
4.1.2. Epidermis hücreleri	8
4.1.2.1. Keratinositler	8
4.1.2.2. Melanositler.....	9
4.1.2.3. Langerhans hücreleri	9
4.1.2.4. Merkel hücreleri	9
4.1.2.5. Desmozomlar	10
4.1.3. Bazal membran.....	10
4.1.4. Dermis	10
4.1.4.1. Papiller (yüzeyel) tabaka	11
4.1.4.2. Retiküler (derin) tabaka.....	12
4.1.5. Dermisin yapısal elemanları.....	12
4.1.5.1. Kollajen	12
4.1.5.2. Elastik lifler	12
4.1.5.3. Glikoz amino glikanlar (GAG);	12
4.1.6. Hipodermis.....	13
4.1.7. Deri ekleri.....	13

4.1.7.1. Kıl folikülleri	13
4.1.7.2. Yağ bezleri	13
4.1.7.3. Ter bezleri.....	14
4.1.7.4. Tırnak	14
4.1.8. Derinin damarları	15
4.1.9. Derinin sinirleri	15
4.1.10. Derinin kasları	15
4.1.11. Derinin fonksiyonu.....	15
4.2. Valproik Asit.....	16
4.2.1. VPA'nın kimyasal yapısı	16
4.2.2. VPA'nın etki mekanizmaları.....	17
4.2.3. VPA'nın farmakokinetiği.....	19
4.2.4. VPA'nın metabolizması.....	20
4.2.5. VPA'nın klinik kullanımı.....	21
4.2.6. VPA'nın kontrendikasyonları	21
4.2.7. VPA'nın deri üzerine etkileri	21
4.3. <i>Moringa oleifera</i>	24
4.3.1. <i>M. oleifera</i> 'nın taksonomik ve botanik özellikleri	24
4.3.2. <i>M. oleifera</i> 'nın kullanım alanları	25
4.3.3. <i>M. oleifera</i> 'nın kimyasal bileşimleri	26
4.3.3.1. Yağ asitleri	28
4.3.3.2. Flavonoidler.....	28
4.3.3.3. Fenolik asitler	28
4.3.3.4. Glukosinolatlar	28
4.3.3.5. Terpenler	29
4.3.3.6. Alkaloidler.....	29
4.3.3.7. Steroller	30
4.3.4. <i>M. oleifera</i> 'nın biyolojik etkileri.....	30
4.3.5. <i>M. oleifera</i> 'nın antioksidan etkisi	31
4.3.6. <i>M. oleifera</i> 'nın toksisite çalışmaları.....	31
4.3.7. <i>M. oleifera</i> yapraklarının dermatolojik etkileri.....	32
5. GEREÇ VE YÖNTEM	34
5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	34
5.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	34
5.3. Kullanılan Deney Hayvanları	34

5.4. Deney Hayvanlarının Beslenmesi.....	34
5.5. Yaprak Ekstrelerinin Hazırlanışı	35
5.6. Gruplar ve Deney Protokolü	35
5.7. Deri Homojenatının Hazırlanması	35
5.8. Deride Araştırılan Parametreler İçin Kullanılan Tayin Yöntemleri	36
5.8.1. Total protein tayini	36
5.8.2. Glutasyon tayini.....	37
5.8.3. Lipit peroksidasyonu tayini.....	38
5.8.4. Süperoksit dismutaz aktivitesi tayini	39
5.8.5. Katalaz aktivitesi tayini.....	41
5.8.6. Glutasyon-S-transferaz aktivitesi tayini	42
5.8.7. Siyalik asit tayini.....	42
5.8.8. Total nitrik oksit tayini.....	44
5.8.9. Doku faktörü aktivitesi tayini.....	45
5.8.10. Total antioksidan kapasite tayini.....	46
5.8.11. Total oksidan kapasite tayini.....	47
5.8.12. Bor tayini.....	48
5.8.13. Sodyum dodesil sülfat poliakrilamit jel elektroforezi (SDS-PAGE)	49
5.9. İstatiksel analiz	53
6. BULGULAR	54
6.1. Deride İncelenen Parametrelerin Sonuçları	54
6.1.1. Total protein sonuçları	54
6.1.2. Glutasyon sonuçları	54
6.1.3. Lipit peroksidasyon sonuçları	55
6.1.4. Süperoksit dismutaz sonuçları.....	56
6.1.5. Katalaz sonuçları.....	57
6.1.6. Glutasyon-S-transferaz sonuçları	58
6.1.7. Siyalik asit sonuçları	58
6.1.8. Nitrit oksit sonuçları.....	59
6.1.9. Doku faktörü sonuçları.....	60
6.1.10. Total antioksidan kapasite sonuçları	60
6.1.11. Total oksidan kapasite sonuçları	61
6.1.12. Bor sonuçları	62
6.1.13 SDS-poliakrilamit jel elektroforez sonuçları	62

7. TARTIŞMA ve SONUÇ	64
8. KAYNAKLAR	74

KISALTMALAR LİSTESİ

ALA	:	Alfa lipoik asit
Cys	:	Sistein
D ₃	:	D ₃ vitamini
DF	:	Doku Faktörü
DILE	:	İlaca bağlı lupus eritematozus
DOPA	:	Dopamin
DRESS	:	Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (Eozinofili ve sistemik semptomlar sendromu)
DTNB	:	5,5'-ditiyobis-2 nitrobenzoik asit
FDA	:	Gıda ve İlaç İdaresi
GAMA	:	Gamma (γ) aminobütirik asit
GAG	:	Glikoz amino glikanlar
GMG	:	Glukomoringin
GOT	:	Glutamat-oksaloasetat transaminaz
GSH	:	Glutatyon
GST	:	Glutatyon-S-transferaz
HDAC	:	Histon deasetilaz
HDAC1	:	Histon deasetilaz 1
His	:	Histamin
KAT	:	Katalaz
LA	:	Lipoik asit
LDL50	:	Letal Doz50
Leu	:	Lösın
LPO	:	Lipit peroksidasyonu
Lys	:	Lizin
MA	:	Molekül ağırlığı
MDA	:	Malondialdehit
Met	:	Metiyonin

<i>M. oleifera</i>	:	<i>Moringa oleifera</i>
<i>M. oleifera</i> Lam.	:	<i>Moringa oleifera</i> Lamarck
MSS	:	Merkezi sinir sistemi
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinökleotit fosfat hidrojen
NO	:	Nitrik oksit
ns	:	Anlamsız
OGDH	:	Oksoglutarat dehidrojenaz
Phe	:	Fenilalanin
PUFA	:	Çoklu doymamış yağ asitleri
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
SA	:	Siyalik asit
SDS PAGE	:	Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi
SJS	:	Stevens-Johnson sendromu
SOD	:	Süperoksit dismutaz
SUCL	:	Süksinat-CoA ligaz
Str	:	Stratum
TAK	:	Total antioksidan kapasite
TCA	:	Trikarboksilik asit
TEMED	:	Tetrametiletildiamin
TEN	:	Toksik epidermal nekroliz
Thr	:	Treonin
TOK	:	Total oksidan kapasite
Tyr	:	Tirozin
UV	:	Ultraviyole
UVAB	:	Ultraviyole A ve B
UVB	:	Ultraviyole B

Val : Valin

VPA : Valproik asit

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa Numarası

Şekil 1.	İnsan derisinin tabakaları ve içerdiği yapılar...	5
Şekil 2.	Epidermisin tabakaları	6
Şekil 3.	Epidermisin yapısındaki elemanlar... ..	8
Şekil 4.	Bazal membranın transmisyon elektron mikroskobu altındaki görüntüsü....	10
Şekil 5.	Deride bulunan reseptörler	11
Şekil 6.	Dermisin yapısı... ..	12
Şekil 7.	Deride bulunan ter bezleri	14
Şekil 8.	Valerik asit ve valproik asidin kimyasal yapısı... ..	17
Şekil 9.	Sodyum valproatın molekül formülü.	17
Şekil 10.	Valproik asidin GABA ile ilgili etki mekanizması	18
Şekil 11.	Valproik asidin HDAC inhibitörü görevindeki etki mekanizmaları	19
Şekil 12.	Valproik asit metabolizmasının ürünleri... ..	21
Şekil 13.	Stevens-Johnson sendromu (SJS) ve Onikomadezis.....	23
Şekil 14.	<i>M. oleifera</i> ağacı.....	24
Şekil 15.	<i>M. oleifera</i> ağacının (a), yapraklarının (b), tohumlarının (c) ve çiçeklerinin (d) görüntüleri... ..	25
Şekil 16.	Rutin (a) ve Kuersetin (b).....	28
Şekil 17.	Gallik asit... ..	28
Şekil 18.	Glukomoringin... ..	29
Şekil 19.	Lutein... ..	29
Şekil 20.	Marumosid A... ..	29
Şekil 21.	β -sitosterol... ..	30
Şekil 22.	<i>M. oleifera</i> 'nın çeşitli kısımlarının biyoaktif etkileri	30
Şekil 23.	SDS PAGE elektroforezin yapılışı... ..	53
Şekil 24.	Deri örneklerinde TP değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması	54
Şekil 25.	Deri örneklerinde GSH değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	55

Şekil 26.	Deri örneklerinde LPO değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	56
Şekil 27.	Deri örneklerinde SOD değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	57
Şekil 28.	Deri örneklerinde KAT değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	57
Şekil 29.	Deri örneklerinde GST değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması	58
Şekil 30.	Deri örneklerinde SA değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	59
Şekil 31.	Deri örneklerinde NO değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	59
Şekil 32.	Deri örneklerinde DF değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	60
Şekil 33.	Deri örneklerinde TAK değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	61
Şekil 34.	Deri örneklerinde TOK değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	61
Şekil 35.	Deri örneklerinde bor değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	62
Şekil 36.	Deri proteinlerinin SDS-PAGE bantlarına örnek (A); Image J programı ile taranmış SDS-PAGE bantlarının grafikleri (B)....	63

TABLO LİSTESİ

Sayfa Numarası

Tablo 1.	Yetişkinlerde VPA'nın farmakokinetik parametreleri ve serum referans aralıkları	20
Tablo 2.	VPA'nın dermatolojik yan etkileri.....	22
Tablo 3.	<i>M. oleifera</i> yaprağının besin bileşimi.....	26
Tablo 4.	<i>M. oleifera</i> yaprağının kimyasal bileşimleri	27
Tablo 5.	Kullanılan cihazlar ve markaları	34
Tablo 6.	Deney Grupları.....	35
Tablo 7.	Deri örneklerinde TP (mg/gD) değerleri.....	54
Tablo 8.	Deri örneklerinde GSH (µg/gD) değerleri	55
Tablo 9.	Deri örneklerinde LPO (nmol MDA/gD) değerleri... ..	55
Tablo 10.	Deri örneklerinde SOD (U/gD) değerleri.....	56
Tablo 11.	Deri örneklerinde KAT (kU/gD) değerleri.....	57
Tablo 12.	Deri örneklerinde GST (U/gD) değerleri... ..	58
Tablo 13.	Deri örneklerinde SA (mg/gD) değerleri	58
Tablo 14.	Deri örneklerinde NO (nmol/gD) değerleri.....	59
Tablo 15.	Deri örneklerinde DF (sn) değerleri	60
Tablo 16.	Deri örneklerinde TAK (µmol/g D) değerleri... ..	60
Tablo 17.	Deri örneklerinde TOK (µmol/g D) değerleri... ..	61
Tablo 18.	Deri örneklerinde bor (ppm) değerleri... ..	62

1.ÖZET

Tezin başlığı: Valproik Asit Verilen Sıçanların Derisi Üzerine Moringa Oleifera Ekstresinin Etkisinin İncelenmesi

Öğrencinin Adı Soyadı: Gülsüm Elik

Danışmanın Adı Soyadı: Prof. Dr. Ayşen YARAT

Program Adı: Beslenme ve Biyokimyası

Amaç: Derinin başlıca fonksiyonu vücudu dış etkenlerden korumak, su dengesini sağlamak, D vitamini sentezlemek ve çeşitli atık maddeleri vücuttan uzaklaştırmaktır. Tedavi amaçlı kullanılan bazı ilaçlar derinin yapısını ve fonksiyonlarını olumsuz etkilemektedir. Valproik asit bu ilaçlardan biridir. *Moringa oleifera* bitkisinin anti-inflamatuar, antioksidan, anti-kanser, hepatoprotektif, nöroprotektif etkileri olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada, *Moringa oleifera* ekstresinin valproik asit verilen sıçanlarda deri üzerine olası koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Dişi Sprague Dawley sıçanları; kontrol, kontrol + moringa, valproik asit ve valproik asit + moringa olmak üzere dört gruba ayrıldı. On altıncı günde aç bırakılan sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi. Deri örnekleri alınarak %0,9 g'lık NaCl ile homojenize edildi ve deney gününe kadar -78 °C'de saklandı. Hazırlanan deri homojenatlarında çeşitli biyokimyasal antioksidan ve oksidan parametreler tayin edildi. Ayrıca tüm örneklerde sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi uygulandı.

Bulgular: Valproik asit verilen gruplarda, glutatyon, total antioksidan kapasite ve bor değerleri kontrol grubu sıçanlarına göre anlamlı olarak azalırken; lipit peroksidasyonu, glutatyon-S-transferaz, siyalik asit, nitrik oksit, doku faktörü ve total oksidan kapasite değerleri kontrol grubu sıçanlarına göre anlamlı olarak arttı. Total protein, süperoksit dismutaz ve katalaz değerlerinde ise anlamlı değişme saptanmadı. *Moringa oleifera* ekstresinin verilmesi valproik asidin neden olduğu değişen biyokimyasal parametreleri olumlu yönde etkiledi. Elektroforez ile elde edilen protein bantlarının yoğunluğu açısından gruplar arasında çok önemli farklar bulunmadı.

Sonuç: *Moringa oleifera* ekstresi ilaçların ve antiepileptik ilaçların dermatolojik yan etkilerinin önlenmesine ve cilt sağlığı için yeni terapötik ilaçların geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Anahtar Sözcükler: *Moringa oleifera* ekstresi, valproik asit, deri, antioksidan-oksidan parametreler, elektroforez.

2. SUMMARY

Title of Thesis : Investigation of the Effect of *Moringa Oleifera* Extract on the Skin of Rats Given Valproic Acid

Student's Name, Surname: Gülsüm Elik

Supervisor Name: Prof. Dr. Aysen YARAT

Program Name: Nutrition and Biochemistry

Objective: The main function of the skin is to protect the body from external factors, to maintain water balance, to synthesize vitamin D and to remove various waste materials from the body. Some drugs used for therapeutic purposes adversely affect the structure and functions of the skin. Valproic acid is one of these drugs. It is stated that *Moringa oleifera* plant has anti-inflammatory, antioxidant, anti-cancer, hepatoprotective, neuroprotective effects. In this study, it was aimed to investigate the possible protective effect of *Moringa oleifera* extract on the skin in rats given valproic acid.

Materials and Methods: Sprague Dawley female rats were divided into four groups as control group, control + moringa group, valproic acid group and valproic acid + moringa group. On the 16th day, fasted rats were sacrificed under anesthesia. Skin samples were taken, homogenized with 0.9% NaCl and stored at -78 °C until the day of the experiment. Various biochemical antioxidant and oxidant parameters were determined in the skin homogenates. In addition, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis was applied to all samples.

Results: While glutathione, total antioxidant capacity and boron values were significantly decreased in the valproic acid-treated groups compared to the control group rats; lipid peroxidation, glutathione-S-transferase, sialic acid, nitric oxide, tissue factor and total oxidant capacity values increased significantly compared to control group rats. There was no significant change in total protein, superoxide dismutase and catalase values. Administration of *Moringa oleifera* extract positively affected the changes in the biochemical parameters caused by valproic acid. There were no significant differences between the groups in terms of the intensity of the protein bands obtained by electrophoresis.

Conclusion: *Moringa oleifera* extract may contribute to the prevention of dermatological side effects of drugs and antiepileptic drugs and to the development of new therapeutic drugs for skin health.

Keywords: *Moringa oleifera* extract, valproic acid, skin, antioxidant-oxidant parameters, electrophoresis.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Deri, 3 tabakadan oluşmaktadır. En alttaki tabaka hipodermis (subkutis), ortadaki tabaka dermis (corium) ve en üsteki tabaka epidermistir (Tuncel ve ark., 2006). Subkutis tabakası gevşek bağ dokusundan oluşması sebebiyle derinin serbest olarak hareket etmesini sağlar. Bu tabakada deri altı kasları, sinirler, deriyi besleyen ana damarlar ve yağ dokusu bulunur. Dermis damar ve sinirlerce zengin tabakadır. Dermisin birincil işlevi, epidermise besin ve mekanik destek sağlamaktır (Daly, 1982). Dermisteki yağ bezleri salgılarıyla deri yüzeyini yağlayarak vücut yüzeyini bakteri ve mantarlardan koruyucu bir bariyer oluşturur. Epidermis cildin en dış kısmında bulunması sebebiyle, fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenlere yönelik ilk önemli engeli oluşturur (Tuncel ve ark., 2006).

Valproik asit/valproat (VPA) veya diğer ismiyle 2-n-propilpentanoik asit, valerik asitten elde edilen dallı kısa zincirli bir yağ asididir. VPA, epilepsi ve çeşitli nöbet türlerinin tedavisinde sıkça kullanılan geniş spektrumlu antikonvülzan ilaçlardandır. VPA epilepsi hastalığında kullanımının yanı sıra migren, manik-depresif hastalıklar, anksiyete ve diğer psikiyatrik duyu durum bozukluklarında da oldukça etkilidir (Ghodke-Puranik ve ark., 2013). Genellikle iyi tolere edilen bir ilaç olmasına rağmen birçok yan etkisinin olduğu anlaşılmıştır (Dreifuss ve Langer, 1988; Kostrouchova ve ark., 2007). VPA'nın klinik yan etkileri hazımsızlık, kilo alma, disfori, yorgunluk, baş dönmesi, uyuşukluk, saç dökülmesi, baş ağrısı, bulantı, kusma, sedasyon ve tremordur. Deri reaksiyonları, antiepileptik ilaçların yaygın bir yan etkisidir. VPA'nın dermatolojik olumsuz etkilerinde; istenmeyen kıllanma denilen hirsutizm, saçlarda dökülmeler, uzama ve renk değişimleri, nadir olarak cilt döküntüleri görülebilir (Kayış ve ark., 2020). Stevens-Johnson sendromu ve toksik epidermal nekroliz deriyi olumsuz etkileyen, ender görülen ama yaşamı zora sokan akut allerjik hastalıklardır. VPA ile bir başka antiepileptik ilaç olan lamotrijinin birlikte kullanımının belirtilen bu riskleri arttırdığını gösteren olgular mevcuttur (Ofiaz ve ark., 2011; Öner ve ark., 2012; Özcan ve ark., 2015a). Ayrıca araştırmalarda VPA'nın uzun süreli kullanımına bağlı olarak mukokutanöz bir iltihaplanma olan Liken planus'un görüldüğü bir olgu da mevcuttur (Şimşek, 2019). VPA'nın bir diğer dermatolojik yan etkisi de tırnak anomalileridir. Onikomadezis tırnağın yatağından düşmesi veya çıkması anlamına gelmektedir. VPA'nın olumsuz etkisinin nadiren çocukluk çağında onikomadezis sebebi olabileceğini gösteren bir olgu da mevcuttur (İçağasıoğlu ve ark., 2011).

Moringa oleifera (*M. oleifera*), 13 ağaç ve çalı türünden oluşan Moringaceae familyasının en çok bilinen cinsidir. Hindistan'a özgü, kuraklığa ve dona dayanıklılık özelliği nedeniyle dünya çapında da yetiştirilen, geleneksel bitki tıbbında yaygın olarak kullanılan önemli bir bitkidir (Dhakad ve ark., 2019). *Moringa* türleri tıpta, gıdada, kozmetikte ve yağ üretiminde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Toplumda ciddi hastalıkları iyileştirmesi ve birçok rahatsızlığa iyi gelmesi sebebiyle “Mucize ağaç” olarak da isimlendirilmektedir (Razis ve ark., 2014). *M. oleifera*; içerdiği alkaloidler, flavonoidler, karotenoidler, tanenler, antrakınonlar, antosiyaninler ve proantosiyanidinler gibi fitokimyasallar sayesinde iyileştirici özelliklere sahiptir (Goyal ve ark., 2007). *M. oleifera*'nın belirli kısımları birçok farmakolojik aktivite gösterir: anti-kanser (Parvathy ve Umamaheshwari, 2007); antioksidan (Moyo ve ark., 2012b); anti-inflamatuar (Cheenpracha ve ark., 2010); immünomodülatör (Sudha ve ark., 2010); mantar önleyici (Chuang ve ark., 2007); antibakteriyel (Moyo ve ark., 2012a), antidiyabetik (Jaiswal ve ark., 2009) ve hepatoprotektif (Buraimoh ve ark., 2011).

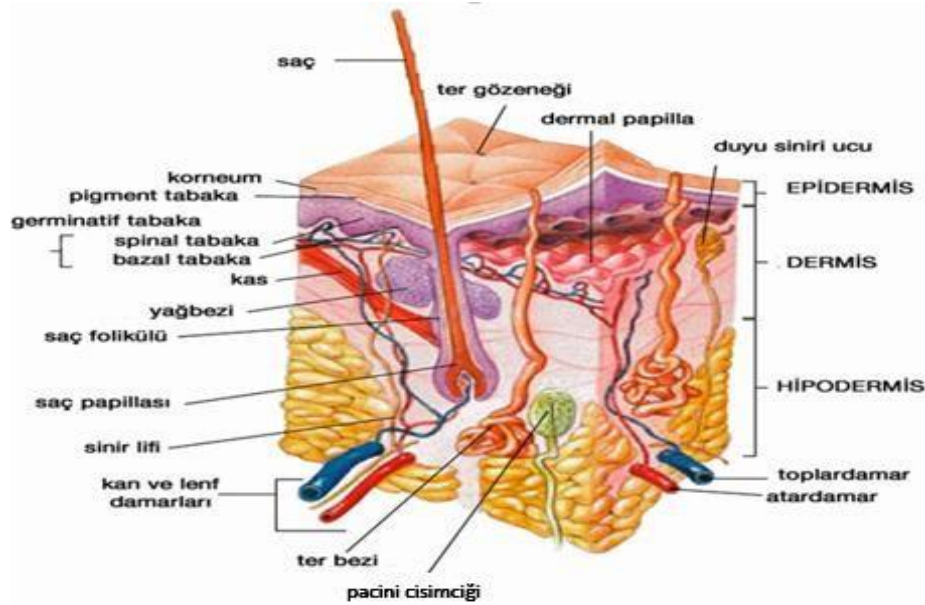
M. oleifera yaprakları protein, kalsiyum, potasyum, çinko, magnezyum, demir, bakır, polifenoller, beta-karoten, C ve E vitaminleri bakımından zengin olup iyi bir doğal antioksidan kaynağıdır (Gopalakrishnan ve ark., 2016; Leone ve ark., 2016). *M. oleifera* yapraklarının geleneksel olarak yara iyileştirmesinde kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca bunu bilimsel olarak destekleyen birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların bazılarında *M. oleifera*'nın yara iyileştirme aktivitesini desteklediğini, insan fibroblast hücrelerinde poliferasyon ve migrasyonu sağladığını ve antioksidan savunma sistemlerini güçlendirerek cilt keratinositlerini oksidatif stres hasarına karşı koruduğu belirlenmiştir (Hukkeri ve ark., 2006; Gothai ve ark., 2016; Zhou ve ark., 2018). Uzun zamandan beri *M. oleifera*'nın yaprakları, kökleri ve diğer kısımları; cilt enfeksiyonu, yüzeysel akneler ve çeşitli deri hastalıkları tedavisinde kullanılan ilaçların yapımında kullanılmaktadır. (Islam ve ark., 2005). Bitkinin tohumlarından çıkarılan yağ, saç ve vücut için nemlendirici özellikte olup cilt bakımı için kozmetik bir üründür (Paliwal ve ark., 2011).

Gıda ve ilaçlarda yaygın olarak kullanılan *Moringa* yaprağının ve diğer ürünlerinin dermatolojik olarak terapötik etkisini gösteren klinik deneylere ihtiyaç vardır. Bu çalışmada, *M. oleifera* % 70'lik etanolü yaprak ekstresinin VPA verilen sıçanlarda deri dokusu üzerine olası koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışmamız bu açıdan orijinal bir çalışmadır. Sıçanlardan alınmış derilerden hazırlanan homojenatlarda çeşitli biyokimyasal parametreler incelenmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Deri ve Yapısı

Deri; vücudu dıştan giysi gibi saran, çevre ve organizma arasındaki iletişimi sağlayan bunun yanında organizmanın su kaybını ve sıcaklık dengesini ayarlayan önemli bir organdır. Deri, organizma ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Güngör ve ark., 2011). Bu da hacim ve ağırlık bakımından vücudumuzdaki organların en büyüğü olmasını sağlar. Deride teması, ağrıyı ve ısıyı algılayan reseptörler, kıl kökleri, yağ ve ter bezleri bulunur. Bireye, bulunduğu vücut kısmına göre renk ve kalınlığının değişkenlik sergilediği karmaşık bir organdır. Derinin yapısı yüzeyden derine doğru 3 tabakadan oluşmaktadır: En dış tabaka epidermis, ortadaki tabaka dermis (corium) ve en iç tabaka hipodermis (subkutis) olarak adlandırılmaktadır (Şekil 1).



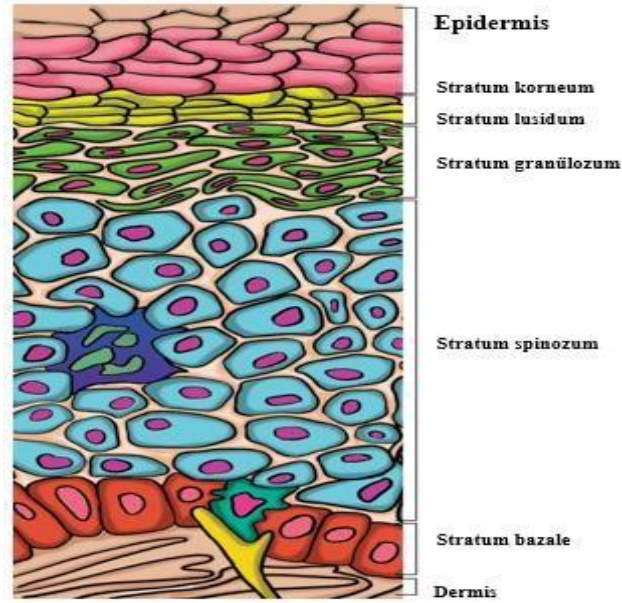
Şekil 1. İnsan derisinin tabakaları ve içerdiği yapılar (Zeybek ve ark., 2015'ten değiştirilerek kullanılmıştır).

4.1.1. Epidermis

Epidermis; cildin en dış kısmıdır ve dermis tabakasının üzerinde yer alır. Dış çevre ile vücut içinin bağlantısının, derinin epidermis tabakası aracılığıyla olması sebebiyle, fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkilere yönelik ilk önemli bariyer epidermis tarafından sağlanır. Epidermis, patojenlere ve diğer yabancı cisimlere girişi engeller, vücudu ultraviyole (UV) radyasyonunun neden olduğu DNA hasarından korur ve suyu tutar (Dehdashtian ve ark., 2018). Epidermis katmanı kökenini ektodermden almıştır. Epidermisin keratinleşmiş olan çok katlı yassı epitel

hücreleri dermis tabakasına yakın kısımlarında canlıyken, üst kısımlara doğru çıkıldığında, bu hücreler farklı şekil ve özellikler alıp giderek canlılıklarını yitirirler. Bu yüzden epidermisin en üst kısmı canlılıklarını tamamen yitirmiş hücrelerden oluşmuştur. Epidermis tabakasında kan damarı bulunmaz, bu nedenle epidermis hücreleri diffüzyonla beslenir.

Epidermis tabakasının keratinosit farklılaşma durumuna bağlı olarak dört kısmı vardır (Şekil 2). Memeli epidermisi en içten en dışa doğru stratum bazale, stratum spinozum, stratum granulozum, ve stratum korneum olmak üzere 4 ana tabakadan oluşur (Du ve ark., 2018). Bir de vücudun bazı özel kısımlarında stratum lusidum adı verilen ve stratum korneumun hemen altında saydam bir tabaka daha bulunur.



Şekil 2. Epidermisin tabakaları (<https://europepmc.org/books/NBK470464/figure/article-21212.image.f3/?report=objectonly> Erişim tarihi: Ekim 2022)

4.1.1.1. Stratum (Str.) bazale (Str. germinativum)

Bazal tabaka veya diğer adıyla hücre üreten tabaka epidermisin en derin tabakasıdır ve epidermis hücrelerinin mitotik bölünmesinden sorumludur. Bu tabaka dermisi epidermisten ayıran bazal membran ile doğrudan temas halinde olup tek sıralı küboidal hücrelerden oluşur. Bu tabakada bulunan hücrelerin sürekli olarak çoğalması sayesinde epidermis yüzeyinde dökülen ölü hücrelerin yerine yenileri gelmektedir. Hücrelerin bazal tabakadan cildin yüzeyine geçmesi genellikle 6-8 hafta sürer (Dizakar ve Sarıbaş., 2022). Bu tabakada; daha üst katmanlardaki hücrelere göre daha ökromatik çekirdeğe sahip keratinosit hücreleri, modifiye keratinositlere benzeyen Merkel hücreleri ve melanin üreterek deriye özgü renkler oluşturan melanosit hücreleri bulunmaktadır (Yousef ve ark, 2022).

4.1.1.2. Str. spinozum

Str. spinozum ya da diğerk adıyla dikensi tabaka, hücelere karakteristik dikenli bir görünüm veren dezmozomlar ve keratin filamentleri nedeniyle bu ismi almıştır. Str. spinozumun dikenli görünümü, keratinositlerini birbirine bağlayan dezmozomların yaptığı çıkıntılardan kaynaklanmaktadır. Dezmozom adındaki bu yapılar sayesinde hüceler birbirine bağlanıp kenetlenerek aralarındaki bağları güçlendirirler. Langerhans hüceleri de çoğunlukla bu katmandadır. Langerhans hüceleri veya dendritik hüceler, derinin ilk hat savunucularıdır ve antijen sunumunda önemli bir rol oynarlar. Bu sayede deri immünolojik savunmada rol alan önemli bir organ görevi görür (Güder, 2021).

4.1.1.3. Str. granülozum

Str. granülozum tabakası keratinizasyon sürecine katkıda bulunan granüller içerir. Tabakada hücre zarları kalınlaşan yaklaşık üç ila beş sıra dizimine sahip hüceler, fazla miktarda fibröz bir protein olan keratin ve granüllü bir görüntü oluşturan keratohiyalin üretirler. Bu granüllü tabakada, epitel hüceleri ölmeye başlar. Hüceler arası boşluk, hücelerin lipitten zengin salgı ürünü tarafından kapatılır ve epidermal geçirgenlik bariyerini oluşturur. Bu ölü hüceler str. korneum, str. lusidum gibi epidermis katmanlarını veya saç, tırnak gibi deri eklerini oluştururlar (Özcan, 2017).

4.1.1.4. Str. lusidum

Str. lusidumda (saydam tabaka), keratohiyalin granüllü hüceler sayesinde keratinleşme başlar. Bu tabakayı oluşturan keratinositler ölü ve basık hüceler olup kalın deriyi meydana getirir. Bu sayede su kaybı engelenir. Ayrıca bu tabakada bulunan hücelerde eleidin bulunmasından kaynaklı saydamsı bir görüntü vardır. Epiderminin ekstra bu katmanı sadece, vücudun en kalın derisine sahip yerleri olarak bilinen avuç içleri ve ayak tabanlarında bulunur (Güder, 2021).

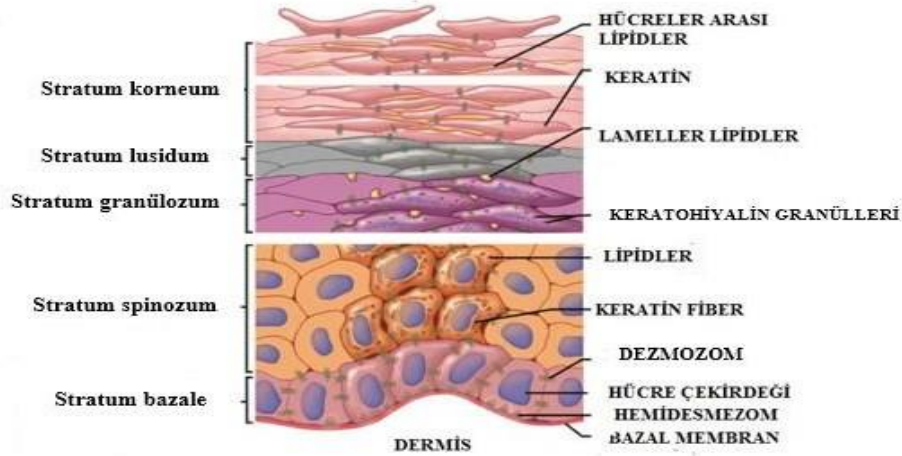
4.1.1.5. Str. korneum

Str. korneum, boynuzsu tabaka ya da kornifiye tabaka yassılaştırmış ve canlılığını kaybetmiş olan hücre kalıntılarından oluşur. Derinin ve vücudun en dış kısmında bulunan bu yapı, keratinositlerin tüm organellerini ve çekirdeklerini aniden kaybettiği epiderminin en kalın katmanıdır. Bu kısımdaki hüceler arası sıkı bağlantılar sayesinde vücutta su tutulumu sağlanmış olur. Boynuzsu tabakanın üst yüzeyi sürtünme, çarpma yaşlanma gibi çok çeşitli etkenler nedeniyle sürekli olarak dökülür. Bu tabaka içinde ölü keratinositler, ilk bağışıklık savunmamızın bir parçası olan defensinleri salgılar. Defensinler bakterileri fagosite etmeye yardımcı olan proteinlerdir. Vücudun birçok yerinde genelde ince olan deri, el ayası ve ayak

tabanı gibi yerlerde boynuzsu tabakanın çok kalınlaşması nedeniyle kalınlaşır (Yousef ve ark., 2022).

4.1.2. Epidermis hücreleri

Epidermis katmanında dört farklı hücre tipi bulunmaktadır. En yaygın olarak bulunana ise keratin üreten keratinositlerdir (Şekil 3).



Şekil 3. Epiderminin yapısındaki elemanlar

(https://www.hakanbuzoglu.com/images/dermatoloji/deri_yapisi_ve_der_i_rengi/deri-ve-derinin-yapisi/deri-07.jpg değiştirilerek kullanılmıştır. Erişim tarihi: Ocak 2022)

4.1.2.1. Keratinositler

Keratinositler, epidermisteki hücrelerin sayıca en fazlası olan ektodermal (dış hücre tabakası) kökenli hücrelerdir. Epiderminin epitelyal hücrelerinden farklılaşmışlardır. Str. bazaldaki keratinosit hücreleri daha üst katmanlardaki hücelere göre daha ökromatik çekirdeğe sahiptirler. Bu hüceler, bölünüp yukarı doğru göç ederken Str. korneum tabakasına gelinceye kadar sitoplazmalarındaki organellerini ve çekirdeklerini kaybederler, bunun yanında hücre zarları gittikçe incilir. Son katmana gelindiğinde ise Str. korneum tabakasında bulunan asit fosfotazlar nedeniyle yüzeyden kepek şeklinde dışarı atılırlar. Bu hüceler sayesinde deri keratin üreterek vücudun dış yüzeyinde koruyucu bir tabaka oluşturmuş olur. Epiderminin bu hidrofobik proteinlerle dolu olan kurumuş hüceleri, vücuttan su kaybını ve vücuda mikroorganizma girişini engeller. Keratin, birçok katı kimyasal maddenin deri katmanlarına geçişini önleyen bir bariyer görevi görür. Su, zayıf asit, bazlar ve bu çözücülerde çözünen maddeler keratin engelini aşamaz. Keratinositler cilt enfeksiyonu ve yaralanma gibi durumlarda bağışıklık sisteminde önemli görevleri olan sitokinleri (tümör nekroz faktör alfa, interlökinler, gama interferon) sentezlemeye başlar (Kazancı, 2012). Keratinositler ayrıca, D vitamini

oluşturmak için kolesterol öncüllerinin UVB ışığı ile aktivasyonu yoluyla kalsiyum emilimini düzenler (Yousef ve ark., 2022).

4.1.2.2. Melanositler

Epidermisin Str. bazale tabakasında, kıl foliküllerinde ve dermiste bulunan uzantılı hücrelerdir. Melanin pigmenti sentezleyerek deriyi UV ışınlarından korur ve deri ve saçta karakteristik rengini verir. Melanin, tirozinin tirozinaz enzimi tarafından DOPA'ya dönüştürülmesi sırasında üretilir. Melanin daha sonra melanositlerden komşu epidermal hücrelere geçer (Yousef ve ark., 2022). Bu hücrelerin gövdeleri stratum bazalede yer alırken gövdeden çıkan dendrit benzeri uzantılar sayesinde stratum spinosum'a kadar yayılım gösterirler. Bu sebeple melanositler dendritik hücreler olarak kabul edilirler. Melanin ayrıca kozmetik görünüm, detoksifikasyon ve ışıktan korunma için insan derisinde önemli rol oynar (Hearing, 2011). Melaninin D vitamini üretiminde de etkisi bulunmaktadır. Açık tenli olanlarda melanin miktarı az olduğundan dolayı güneşin UVB ışını daha fazla etki göstermektedir. Ayrıca fiziksel muayenede derinin rengi, patolojik bir durumun varlığını göstermede yardımcı olabilir (Baran, 2018).

4.1.2.3. Langerhans hücreleri

Daha çok epidermisin Str. spinosum tabakasında bulunan yıldız hücre şeklindeki bu hücreler epidermal hücrelerin yaklaşık %2-8'ini oluşturur. Langerhans hücreleri (antijen sunan dendritik hücreler) kemik iliği monositlerinden türer ve derideki mononükleer fagosit sistemini temsil eder. Langerhans hücreleri derinin makrofaj immün hücreleri olup bağışıklık sisteminde görev alırlar. Vücudun en büyük immün organında bulunan bu hücrelerin bağışıklığa dirençli yabancı maddeleri (antijenleri) yakalayıp lenf bezlerine götürerek bu antijenleri immün sisteme ilettikleri varsayılmaktadır. Bu sayede lenfositlerin aktive ederek immün yanıtın oluşmasını sağlarlar. Dendritik hücreler olarak da adlandırılan bu hücreler derinin immün organ görevi görmesinde rol oynarlar (Arda ve ark., 2014).

4.1.2.4. Merkel hücreleri

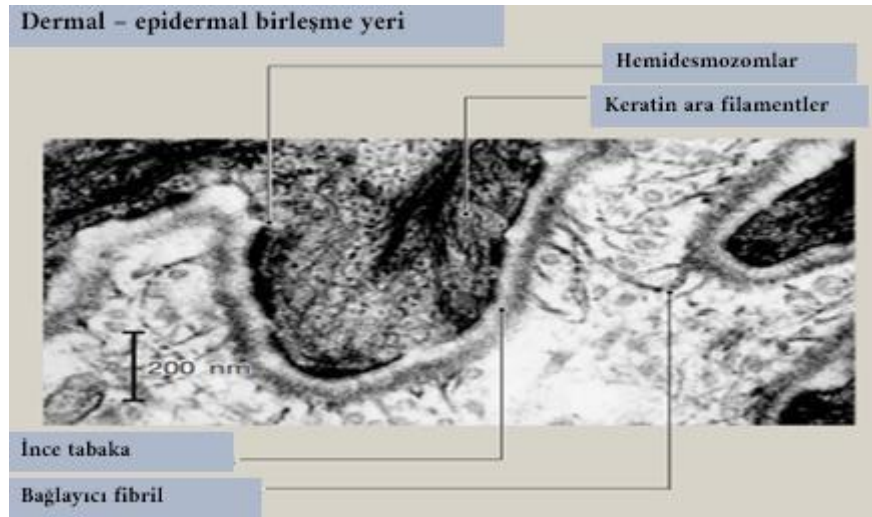
Epidermisin en alt tabakasında gömülü haldeki dendritik olmayan sayıca az keratinositik hücrelerdir. Sayıca çok olduğu yerler kalın derinin olduğu el içi ve ayak altı kısımları ile yüksek duyu özellikleri olan parmak uçlarıdır. Bir Merkel hücresi loblu bir çekirdeğe ve karakteristik granüllere sahiptir; çevresindeki keratinositlere desmozomlarla bağlanmış olup Str. bazale tabakasına gömülüdür; nörofilament protein yerine düşük moleküler ağırlıklı keratinden oluşan ara filamentler içerir. Epidermiste nöroendokrin fonksiyonuna sahiptir. Hissetme olayında görev alır. Sinir sonlanmaları ile ilişkidirler (Özcan, 2017).

4.1.2.5. Dezmozomlar

Hücreler arası yapışmayı sağlayan, epidermise yapısal bütünlük ve mekanik güç sağlayan, kalsiyum bağımlı hücre yüzeysel değişimlerdir. Epiderminin alt katmanları olan bazal ve spinozum tabakalarının keratinositleri birbirlerine dezmozomlar vasıtasıyla bağlanırlar (Kazancı, 2012) (Şekil 3).

4.1.3. Bazal membran

Epidermis ve dermisi fiziksel olarak birbirinden ayıran ve epiderminin bağlandığı hücre dışı matriks bileşenlerinden oluşan yapıya bazal membran denir (Şekil 4). Bazal membran epitel hücrelerinin bağ dokuya yapışmalarını sağlar; hücre yüzey reseptörleri ile ekstrasellüler matriks proteinlerinin etkileşimini sağlayarak hücrelerel organizasyon ve farklılaşmada rol alır ve permeabilite bariyeri fonksiyonu görür (Kaya, 2008).



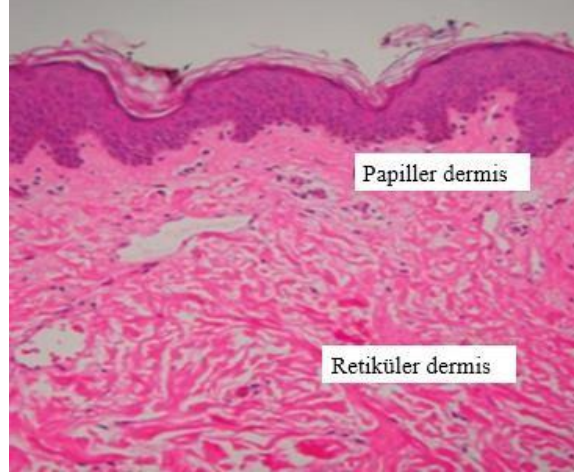
Şekil 4. Bazal membranın transmisyon elektron mikroskobu altındaki görüntüsü (Lai-Cheong ve McGrath, 2013’ ten değiştirilerek kullanılmıştır.)

4.1.4. Dermis

Dermis (Corium, Kutis), epidermis ile yakından bağlantılı ve hemen altında bulunan özel yapılar içeren sert bir destekleyici bağ dokusu matriksi olarak tanımlanır (Gawkrödger ve ark., 2016). Epidermis ve hipodermisi destekleyen bu tabaka fibröz ve elastik dokudan oluşması nedeniyle deriye esneklik ve dayanıklılık sağlar. Dermis, mezenkimal hücrelerin farklılaşmasıyla oluşan fibroblast hücrelerinden meydana gelmiştir. Fibroblast hücreleri vücuda sağlamlık ve elastikiyet özelliği kazandıran kollajen, elastin ve yapısal proteoglikanlar gibi proteinlerin sentezlenmesinden sorumludurlar. Ayrıca makrofaj, mastosit gibi bağışıklık

4.1.4.2. Retiküler (derin) tabaka

Papiller tabakayla kıyaslandığında daha kalın, hücre ve yağdan zengin yoğun bir tabakadır (Yousef ve ark., 2022). Papiller tabakanın altında bulunan retiküler tabakada kollajen lif demetleri ve geniş elastik lif demetleri bulunur. Dermisteki bu elastik yapılar derinin esnekliğinden sorumludurlar. Fiberlerin birbirine sıkıca geçerek daha yoğun bir lif örgüsüne sahip olmasından ötürü retiküler tabaka ağsı bir görüntü oluşturur (Şekil 6).



Şekil 6. Dermisin yapısı (Papiller dermis: ince gevşek kollajen şeritler, Retiküler dermis: kalın ve yoğun kollajen şeritler. Marks ve Miller, 2017 s:6’ dan değiştirilerek kullanılmıştır.)

4.1.5. Dermisin yapısal elemanları

4.1.5.1. Kollajen

Dermisin temel yapısal proteini kollajen olup derinin yaklaşık %70-80’nini oluşturur (Kazancı, 2012). Kollajenler; deriye esneklik sağlayan, derinin gerilmesinden ve desteklenmesinden sorumlu asıl yapılardır. Ek olarak, kollajen su bağlayıcı özelliği sayesinde derinin nemli tutulmasını sağlar.

4.1.5.2. Elastik lifler

Elastik lifler, fibroblastlar tarafından deride, tendonlarda ve bazı organlarda sentezlenir. Deriye elastikiyet ve hareket etme yeteneği sağlayıp yırtılmalara karşı koruyan yapısal proteinlerdir. Hormonal faktörler, yetersiz ve dengesiz besin alımı, stresli yaşam, çevre kirliliği, sigara ve alkol kullanımı veya yaşlanma gibi durumlarda deride esnekliği sağlayan yapıların sayısında azalma ve deri katman kalınlığında incelmeler görülür (Yetkin ve ark., 2009).

4.1.5.3. Glikoz amino glikanlar (GAG);

Deride çok sayıda bulunan GAG’lar kollajen ve elastinle beraber derinin fiziksel görünümünü belirler (Kazancı, 2012). GAG’lar uzun zincirli, dallanmayan, tekrarlayan disakkarit

birimlerinden oluşmuş polisakkaritlerdir. Bulunduğu ortama su çekme özelliği sayesinde derinin hidrasyonunu sağlar ve yumuşak tutar. Hiyaluronik asit, dermatan sülfat, heparan sülfat gibi GAG'lar deride yoğun miktarda su tutar.

4.1.6. Hipodermis

Hipodermis veya subkutan fasya olarak da adlandırılan bu katman derinin en derin tabakasıdır. Kıl folikülleri gibi bazı deri ekleriyle birlikte duyuşal nöronlar, kan damarları ve yağ hücrelerinden (adiposit) oluşur (Yousef ve ark., 2022). Hipodermis vücut yağının en fazla depolandığı kısım olup, mekanik bir yastık benzeri görev görerek çarpma ve vurmalarla karşı deriyi korur. Ayrıca bu subkutan yağlar vücut sıcaklığını dengeleyerek termal bir bariyer de oluşturur.

4.1.7. Deri ekleri

4.1.7.1. Kıl folikülleri

Kıllar, kıl folikü ve bu foliküllerdeki hücrelerin bölünerek deri dışına uzandığı kıl adı verilen iki kısımdan oluşur. Kılın yapısına katılan melanin pigmenti kıl/saç rengini oluştururken, düz kaslar kılların dikleşmesini sağlar. Yaşlanmayla beraber saçlarda bulunan melaninin sayıca azalması saç renginin griye dönmesine, kıl foliküllerinin sayıca azalması ve boyca kısalması; kılın yapısının incelmeye ve büyümesinin yavaşlamasına sebep olur (Kazancı, 2012). Saçlar, kemik iliğinden sonra vücutta en hızlı büyüyen ikinci dokudur (Shapiro, 2007). Saçlar, günde ortalama 0,35 mm uzayan, durmaksızın oluşturulup dökülen cansız yapılardır (Aksoy, 2014). Dolayısıyla sürekli üretim halinde olan bu folüküllerin kalori, protein, mineral ve vitamin yönünden yeterli beslenmesi gerekmektedir. Saç büyüme kalitesi ve miktarı, bireyin diyetiyle yakından ilişkilidir (Aksoy, 2014).

4.1.7.2. Yağ bezleri

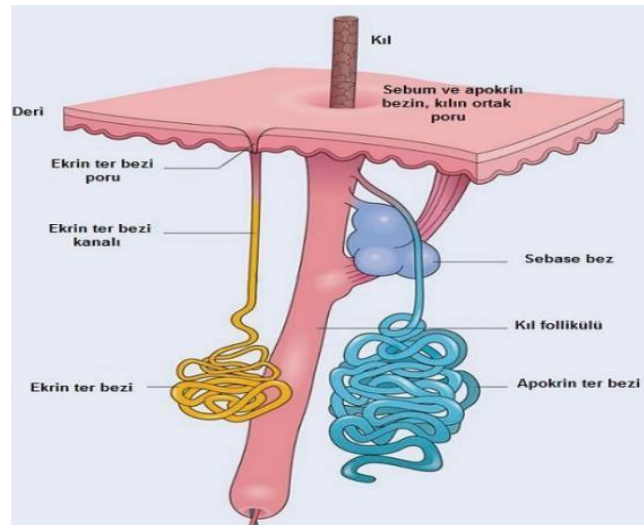
Yağ bezleri, ellerin iç kısmı ve ayakların tabanları dışında vücudun hemen her bölgesinde yaygın olarak bulunmaktadır (Şekil 7). Bu yağ bezleri sebum (yağ) salgılayan sebosit hücreleri ihtiva eder. Salgılanan bu yağ sayesinde vücut yüzeyi bakteri, mantar gibi mikroorganizmalardan korunmuş olur. Ayrıca kıl foliküllerinden de gelişerek meydana gelen yağ bezleri ürettikleri yağ ile kılların yağlanması sağlayarak derinin kurumasını önler. Bu bezlerin salgı ve işlevleri yaşa, cinsiyet hormonlarına ve sıcaklığa bağlı olarak değişebilmektedir.

4.1.7.3. Ter bezleri

Ter bezlerinin ekrin (küçük ter bezleri) ve apoekrin (büyük ter bezleri) olarak iki tipi vardır (Şekil 7).

Ekrin ter bezlerinde üretilen terin buharlaşması sayesinde vücut ısısının düşürülmesi sağlanır ve vücut ısı dengede tutulur. Kulak zarı, dudakların kenarı, tırnak yatağı, meme başı, dış genital organlar gibi vücut bölgeleri hariç diğer tüm vücut bölgelerinde yaygın olarak bulunurlar. Ayrıca el ayası ve ayak tabanındaki derinin kendine has özellikleri bulunmaktadır. Yaşam boyu kalıcı derin çizgilenmelere sahiptirler ve bu bölgelerde kıl ve yağ bezleri bulunmazken bol miktarda ter bezleri bulunmaktadır.

Apokrin ter bezleri stres ve heyecana bağlı olarak salgılar üretir. Kendine özel kokuya sahip olup koltuk altı, genital bölge, meme ucu, anüs çevresi, göbek çevresi gibi vücudun belli bölgelerinde bulunurlar. Ergenlik çağına geçişle beraber hormonların etkisiyle aktifleşirler (Kalkan, 2018). Apokrin bezler, kıl köklerini ve deriyi yağlayan sebace bezlerine yakın olup salgılarını deri yüzeyine aynı kanallardan atarlar.



Şekil 7. Deride bulunan ter bezleri (Kalkan, 2018'den değiştirilerek kullanılmıştır).

4.1.7.4. Tırnak

Tırnak, sert keratin katmanından meydana gelen epitelyal bir yapıdır. Tırnak sayesinde parmak uçları korunur. Deri yüzeyinden dışarıya uzanırlar, tutma ve tutunmada vücuda yardımcı olurlar. Tırnak plağını oluşturan özel bir grup keratinositlerden oluşan tırnak matriksi; keratinize hücrelerden (onikositler) oluşan dikdörtgen bir dışbükey bir plaka olan tırnak plağı; tırnak plağının dayandığı tırnak yatağı; tırnak plağı kenarlarındaki proksimal ve lateral tırnak kıvrımları tırnak ünitesini oluşturur (Güder, 2021).

4.1.8. Derinin damarları

Deride, kan damar ağı ve lenf damar ağı olmak üzere toplam iki çeşit damar ağı vardır. Cilde kan temini, iki pleksusun bir düzenlemesidir, ilki dermisin papiller ve retiküler tabakaları arasında, ikincisi ise dermis ve deri altı dokuları arasındadır (Yousef ve ark, 2022).

Kan damarları epidermis tabakası hariç diğer tüm tabakalarda bolca bulunur. Derinin beslenmesinden sorumludurlar. Kan damarlarının; metabolizma olayları sırasında oluşan çeşitli atıkların uzaklaştırılmasında ve vücut ısısının düzenlenmesinde yaşamsal önemleri vardır. Yenidoğan derisi, kendi metabolizmasını desteklemek amacıyla gereksiniminden yaklaşık 20 kat daha fazla sayıda kan damarı bulundurmaktadır (Kazancı, 2012). Kan dolaşımı sempatik sinir sistemi kontrolündedir.

Lenf damarları, genişlemiş ölü uçlu keseler gibi dermal papillalardan kaynaklanır. (Arda ve ark., 2014).

4.1.9. Derinin sinirleri

Deri, yapısında bulundurduğu zengin sinirler sayesinde organizma için çok değerli bir duyu organı görevi görür. Deride somatik ve otonom olmak üzere iki sinir çeşidi bulunur. Somatik duyu sistemi, Merkel diskleri, Pacinian cisimcikleri, Meissner cisimcikleri ve Ruffini cisimcikleri dahil olmak üzere özel kutanöz reseptörler/uç organlar tarafından algılanan ağrı (nosiseptörler), sıcaklık, hafif dokunma, ayırt edici dokunma, titreşim, basınç gibi duylardan ve propriyosepsiyondan sorumludur. Otonom sinirler ise damar tonusunun kontrolünden, kıl kökünde pilomotor stimülasyondan ve terlemeden sorumludur (Yousef ve ark., 2022). Dermis ve epidermisteki sinir lifleri, çoğunlukla serbest uçlu olup özelleşmemişlerdir. Serbest sinir uçları en önemli duyu reseptörleridir (Marks ve Miller, 2017).

4.1.10. Derinin kasları

Derinin düz kası olan erektör pili kası, soğuk havalarda kıllarındikleşmesine yardımcı olur ve böylece soğuğa karşı korunmak için sıcak havayı cildin yakınında hapseder (Zaidi ve Lanigan, 2010). Kaslar kasıldığında, kıl kökünü dışarı doğru çekerek kılın dikleşmesini sağlar, aynı zamanda yağ bezlerini sıkıştırarak içeriğinin salgılanmasına neden olur (Yousef ve ark., 2022).

4.1.11. Derinin fonksiyonu

Deri; dokunma, soğuk, sıcak, basınç, ağrı, yanma, karıncalanma, gıdıklanma, uyuşma ve kaşıntı gibi çevreden gelen değişik türdeki etkileri algıladığı için duyu fonksiyonuna sahiptir. Vücudu; mikroorganizma ve mantar gibi enfeksiyonlardan; darbe, çarpma ve sürtünme gibi mekanik etkilerden; ısı, ışık ve kimyasalların zararlı etkilerinden korur. Vücut sıcaklığının korunması ve

su giriş çıkış dengesinin sağlanması derinin görevleri arasındadır. Salgıladığı ter ve yağlar aracılığıyla birçok farklı atığın vücuttan atılmasını sağlayarak boşaltım sistemine yardımcı olur.

Deri ayrıca steroid yapılı bir hormon olan D vitaminin sentez edildiği organdır. İnsan derisinin tüm katmanlarında bulunan 7-dehidrokolesterolün (~295-320 nanometre dalga boyundaki UVB ışığı altında D3'e fotokimyasal ve termal dönüşümüyle sentezlenmekte olup, D3'ün enzimatik olmayan termal izomerizasyonu ile hızla aktif D3 (kolekalsiferol) sentezlenmektedir (Büyükdere ve Akyol Mutlu, 2019). Sağlık için gerekli olan D vitamini; kas, kemik yapısının ve bağışıklık sisteminin güçlenmesine destek verir, kalsiyum ve fosforun ince bağırsaklardan emilimini sağlar ve paratiroid ve insülin metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynar (Baran, 2018).

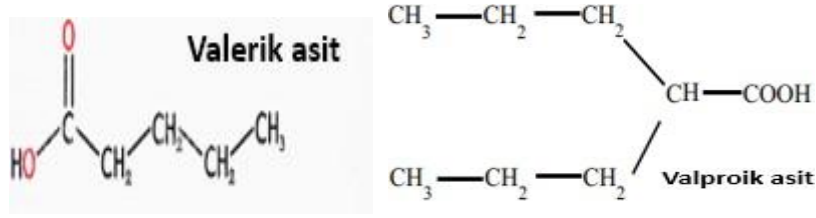
Özetle deri; proteinler, lipitler, hormonlar gibi çoğu yapısal makromoleküllerin sentezi ve salgılanmasında görev alan, vücudun yaşamsal fonksiyonlarını düzenleyen kompleks hayati bir organdır.

4.2. Valproik Asit

Valproik asit (VPA, veya 2-n-propilpentanoik asit), valerik asitten elde edilen dallı kısa zincirli bir yağ asididir. VPA, 1978'de ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından absans nöbetlerinin tedavisi için onay verilen bir antiepileptik ilaçtır (Browne, 1980). Epilepsi, beyinde bulunan nöronların ani ve kontrolsüz boşalmaları ve bunu takiben hastada istemsiz kasılmaların, duyu ve bilinç değişikliklerinin görüldüğü kronik bir hastalıktır. VPA öncelikle epilepsi hastalığı tedavisinde kullanımının yanı sıra migren, manik-depresif hastalıklar, anksiyete ve diğer psikiyatrik duyu durum bozukluklarında da oldukça etkilidir (Ghodke-Puranik ve ark., 2013). VPA günümüzde tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır.

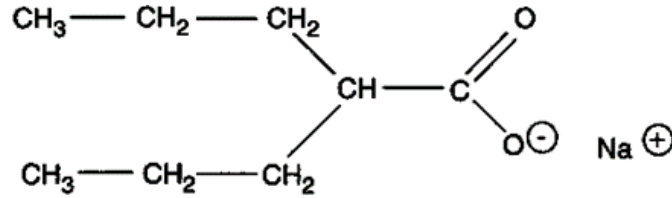
4.2.1. VPA'nın kimyasal yapısı

VPA, berrak ve renksiz yapıya sahip, doğal olarak oluşup valerik asidin bir türevidir olan sekiz karbonlu dallı ve kısa zincirli bir yağ asididir (Şekil 8). VPA ilk olarak 1882'de Burton tarafından sentezlendi (Burton, 1882). Suyu kıyasla organik çözücülerde çok daha iyi çözünür. (Saygı, 2008).



Şekil 8. Valerik asit ve valproik asidin kimyasal yapısı (Adewole ve ark., 2021’den değiştirilerek kullanılmıştır).

Sodyum valproat, VPA’nın sodyum tuzudur (Şekil 9). Sodyum valproat, sekiz karbonlu bir yağ asidi olan dipropilasetattan oluşur. Yapısal olarak beynin majör inhibitör nörotransmitteri olan GABA (γ aminobütirik asit)’ya benzer (Acar, 2013). Antiepileptik ilaçların aktif şekli valproat iyonudur.



Şekil 9. Sodyum valproatın molekül formülü (Acar, 2013’ten değiştirilerek kullanılmıştır).

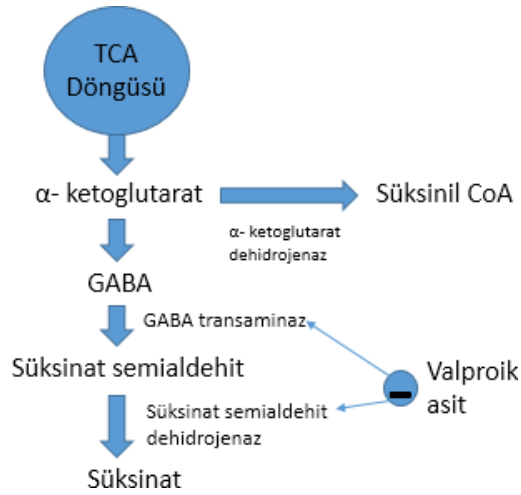
4.2.2. VPA’nın etki mekanizmaları

VPA’nın etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. VPA, inositol ve araşidonat metabolizmasına benzer şekilde rol alan Wnt/Beta-Catenin ve ERK yolları ve protein kinaz C sinyal yolları dahil olmak üzere birçok sinyal sistemlerini etkiler (Lee ve ark., 2012). Valproat kullanımı, hücre sağkalımı, transkripsiyon düzenlemesi, iyon homeostazı, sinyal iletimi ve hücre iskeleti modifikasyonlarında yer alan çoklu genlerin ekspresyonunda rol oynar. Hem ani biyokimyasal etki hem de uzun vadeli etki olarak genomik etkiler, valproik asidin yukarıda ifade edilen üç endikasyonun tedavisinde altta yatan etkisini açıklayabilir (Lee ve ark., 2012).

VPA, farmakolojik etkilerini merkezi sinir sistemindeki (MSS) GABA seviyelerini değiştirerek, voltaj kapılı iyon kanallarını bloke ederek ve histon deasetilazı inhibe ederek birkaç şekilde gösterir (Rahman ve Nguyen, 2022). VPA’nın bu 3 farklı etki mekanizmasına yakından bakacak olursak;

1. Beyindeki GABA seviyelerini artırma:

GABAerjik inhibitör aktivitenin bozulması konvülsiyonlara yol açtığından, bu metabolik yolun kontrolü antiepileptik ilaçların hedefi olmuştur (Ghodke-Puranik ve ark., 2013). VPA'nın antikonvülsan özelliği, beyindeki GABA konsantrasyonları üzerindeki etkisinden kaynaklanmaktadır (Mishra ve ark., 2022). GABA, trikarboksilik asit (TCA) döngüsü yoluyla α -ketoglutarattan sentezlenir ve süksinat semialdehide metabolize edilir ve ardından sırasıyla GABA transaminaz ve süksinat semialdehit dehidrojenaz tarafından süksinata metabolize edilir. Önceki çalışmalar VPA'nın GABA transaminazı ve süksinat semialdehit dehidrojenazı inhibe ederek GABA konsantrasyonunu arttırdığını göstermiştir (Rahman ve Nguyen, 2022) (Şekil 10).



Şekil 10. VPA'nın GABA ile ilgili etki mekanizması. VPA, GABA metabolizmasının iki katabolik enzimini inhibe eder, böylece MSS'deki GABA seviyesini artırır (Rahman ve Nguyen, 2022)

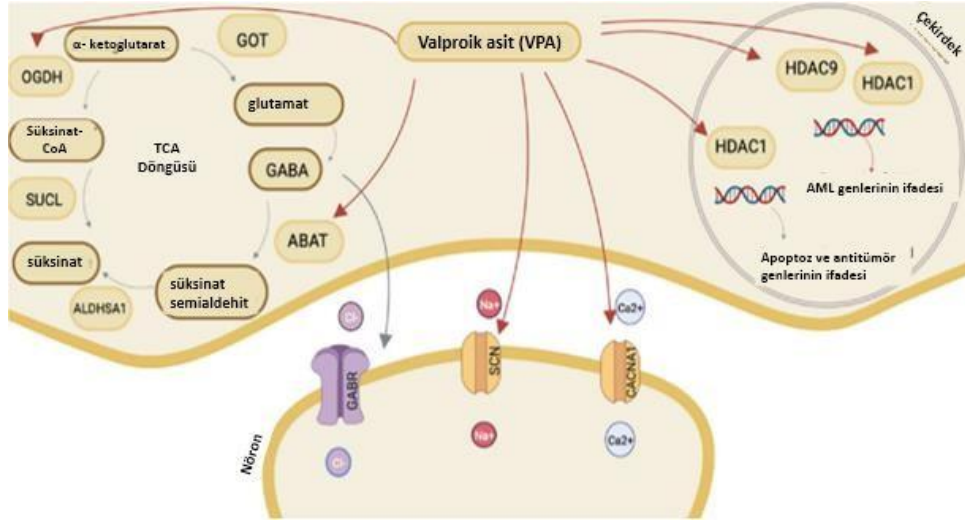
2. Voltaj kapılı iyon kanallarını bloke etme:

VPA ayrıca voltaj kapılı sodyum, potasyum ve kalsiyum kanal blokajı ile nöronların yüksek frekanslı ateşlemesini azaltarak antiepileptik etkiler gösterir (Rahman ve Nguyen, 2022). VPA'nın sodyumun nöronlara geçişini azaltarak glutamat salınımını azalttığı ve eksitator nöronların inhibe olmasını sağladığı; GABA'nın salınımını arttırarak, geri alımını azaltarak ve/veya yıkımını yavaşlatarak inhibitör etkiyi arttırdığı bilinmektedir (Apa ve ark., 2018).

3. Histon deasetilaz (HDAC) inhibitörü görevi:

VPA, çeşitli proteinlerdeki asetil gruplarının çıkarılması reaksiyonunu katalizleyen HDAC'leri hedefler ve organizma içinde çok çeşitli işlevleri düzenler. Bu enzimlerin

eksikliği, kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkilidir (Sixto-López ve ark., 2020). Son zamanlarda, VPA'nın özellikle histon deasetilaz 1'in (HDAC1) olmak üzere diğer HDAC enzimlerinin bir inhibitörü olduğu anlaşılmıştır (Rahman ve Nguyen, 2022) (Şekil 11). HDAC inhibisyonu, apoptozu ve antitümör eylemi düzenleyen genlerin ekspresyonunu potansiyel olarak artırır (Ghodke-Puranik ve ark., 2013). Çok sayıda *in vitro* ve *in vivo* klinik öncesi çalışma, VPA'nın çoklu sinyal yollarını modüle ederek kanser hücresi çoğalmasını önemli ölçüde engellediğini göstermektedir (Wawruszak ve ark., 2021). Ayrıca HDAC1'in, enfekte hücrelerde HIV'in korunmasında rol oynadığı gösterilmiştir (Chateauvieux ve ark., 2010) .



Şekil 11. Valproik asidin HDAC inhibitörü görevindeki etki mekanizması (GOT: glutamat-oksaloasetat transaminaz; GABA: gamma-aminobütirik asit; ABAT: 4-aminobütirat aminotransferaz; ALDH5A1: aldehit dehidrojenaz 1; SUCL: süksinat-CoA ligaz; OGDH: oksoglutarat dehidrojenaz; HDAC: histon deasetilaz.) (Ghodke-Puranik ve ark., 2013 değiştirilerek kullanılmıştır.)

VPA uygulanması, daha yoğun bir inflamatuvar reaksiyona, azalan anjiyogenez ve kollajen birikimine, özellikle tip I kollajene yol açabilir (Biondo-Simões ve ark., 2022).

4.2.3. VPA'nın farmakokinetiği

Terapide kullanılan VPA'nın şurup, fitil, tablet veya lokal enjeksiyon gibi birçok formu mevcuttur. Farklı formülasyonlar, molekülün biyoyararlanımını ve absorpsiyon oranını etkileyebilir (Chateauvieux, 2010). VPA, sodyum valproat ve divalproeks sodyum en çok oral

yoldan verilir. VPA, yemeklerden belirgin bir şekilde etkilenmez bu yüzden ilacın her formunun emilimi tama yakındır (>%90) (Aslan Kara ve Bozdemir, 2019) (Tablo 1). VPA, başta albumin olmak üzere plazma proteinlerine %90 oranında bağlanmakta ve beyin omurilik sıvısına %60 oranında geçmektedir (Çimen, 2018). VPA'nın klirensi 6–20 mL/kg/saattir(Ornoy ve ark., 2020).

Tablo 1. Yetişkinlerde VPA'nın farmakokinetik parametreleri ve serum referans aralıkları (Patsalos ve ark., 2008'den değiştirilerek kullanılmıştır.)

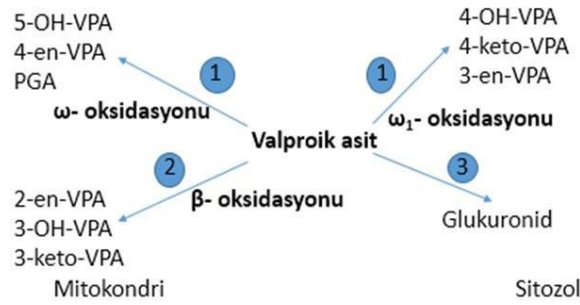
İlaç	VPA
Oral biyoyararlanım (%)	≥90
Serum protein bağlanması (%)	90 ^a
En yüksek konsantrasyona ulaşma süresi (saat)	3–6 bin
Kararlı duruma gelme süresi ^b (gün)	2–4
Etkileşimli ilaçların yokluğunda yarı ömür (saat)	11–20
Enzim indükleyicileri kullanan hastalarda yarılanma ömrü (saat)	6–12
Referans aralığı (mg/L)	50–100
Dönüşüm faktörü (F) ($\mu\text{mol/L} = F \times \text{mg/L}$)	6,93

Not: ^a serum proteinlerine bağlı fraksiyon, artan ilaç konsantrasyonu ile azalır, ^b bu değerler, etkileşen yardımcı ilaçların yokluğunda yarı ömür değerlerine dayanmaktadır.

4.2.4. VPA'nın metabolizması

VPA karaciğerde kimyasal değişimlere uğramakta ve çok miktarda metaboliti meydana gelmektedir (Doğdu, 2013) (Şekil 12). Sadece küçük bir kısmı idrarla atılır. Sitokrom P450 de oksidasyonu (1), mitokondride beta oksidasyonu (2) ve karaciğer mikrozomlarında

glukuronidasyon (Üridin 5'-difosfo-glukuronil-transferaz aracılı yol) (3) ile metabolize edilir (Ornoy ve ark., 2020).



Şekil 12. Valproik asit metabolizmasının ürünleri (Çimen, 2018)'den değiştirilerek kullanılmıştır.

4.2.5. VPA'nın klinik kullanımı

VPA'nın terapötik potansiyeli, 1962'de Carraz ve arkadaşlarının VPA'yı deneysel antikonvülsanlar için bir çözücü olarak kullandıkları ve VPA'nın kendisinin antikonvülsan aktiviteye sahip olduğunu fark ettikleri zaman tesadüfen keşfedildi (Meunier ve ark., 1963). VPA, yetişkin popülasyonda konvülsiyonları (nöbetleri), migrenleri ve bipolar bozuklukları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan antikonvülsif ve duygu durumu düzenleyici bir ilaçtır. Valproik asit, çoklu hedefleri ve kabul edilebilir güvenlik profili nedeniyle pediatrik epilepsi için yaygın olarak kullanılan bir tedavidir (Rahman ve Nguyen, 2022). VPA, 50 yılı aşkın bir süredir duygu durum bozukluklarında, çeşitli epileptik nöbet tiplerinde monoterapi ya da kombine tedavi şeklinde başarıyla kullanılmaktadır.

4.2.6. VPA'nın kontrendikasyonları

VPA ile 21'i majör, 344'ü orta ve 22'si minör derece etkileşime girentoplam 387 ilaç bulunmaktadır (<http://www.drugs.com/>). Bunun yanı sıra 8 hastalık etkileşimi (depresyon, karaciğer hastalığı, üre döngüsü bozuklukları, intihar eğilimi, HIV/CMV (Sitomegalovirüs), trombositopeni, tiroit fonksiyon testleri, idrar keton testi) ve 1 alkol/gıda etkileşimi vardır.

4.2.7. VPA'nın deri üzerine etkileri

Farmakolojik açıdan önemli birçok ilacın hücre membranından geçiş durumu farklıdır. İlaçların deride bekleme süresi deri proteinlerine bağlanma kapasitesine, derinin farklı tabakalarına dağılmasına ve hangi tabakalarda depolandığına bağlı olarak değişkenlik gösterir (Bediz-Ölçer ve Gönül, 2002). Derinin geçirgenliği fiziksel, kimyasal ve patolojik (hastalık durumu) faktörlerin varlığında artabilir (Nuriyev, 2009).

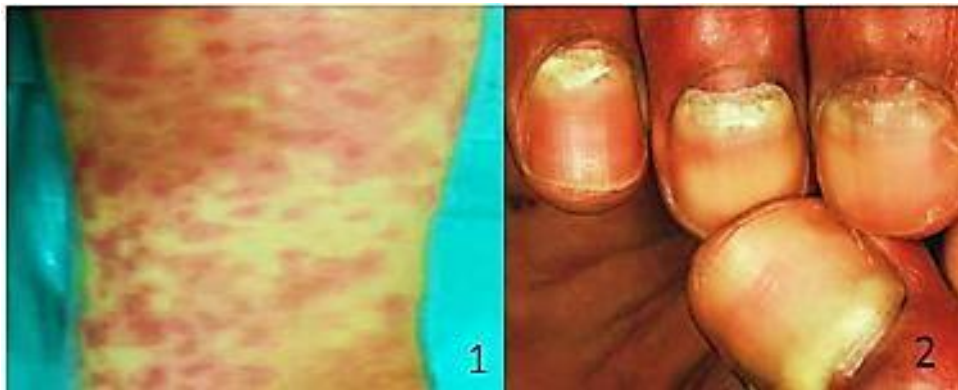
VPA genellikle iyi tolere edilen bir ilaçtır ve nispeten güvenli olduğu kanıtlanırsa da dermatolojik olarak yan etkileri olduğu anlaşılmıştır (Dreifuss ve Langer, 1988; Kostrouchova ve ark., 2007) (Tablo 2). VPA'nın diğer klinik yan etkileri hazımsızlık, kilo alma, disfori, yorgunluk, baş dönmesi, uyuşukluk, saç dökülmesi, baş ağrısı, bulantı, kusma, sedasyon ve tremordur.

Tablo 2. VPA'nın dermatolojik yan etkileri (Kaynak: <http://www.drugs.com/> Erişim tarihi: Şubat 2023)

VPA'nın Dermatolojik Yan Etkileri	
Çok yaygın (%10 veya daha fazla)	Alopesi
Yaygın (%1 ila %10)	Diskoid lupus eritematozus, cilt kuruluğu, ekimoz, fronküloz, makülopapüler döküntü, peteşi, kaşıntı, döküntü, seборе
Yaygın olmayan (%0,1 ila %1)	Anormal saç dokusu, anormal saç büyümesi, saç rengi değişiklikleri, terleme
Seyrek (%0,01 ila %0,1)	Eozinofili ve sistemik semptomlar (DRESS) sendromu, Stevens-Johnson sendromu (SJS), toksik epidermal nekroliz (TEN), eritema multiforme ile ilaç döküntüsü
Çok seyrek (%0,01'den az)	Akne, hirsutizm
Bildirilmeyen sıklık	Anjiyoödem, yaygın kaşıntı, ışığa duyarlılık
İlaç satış sonrası raporlar	Tırnak ve tırnak yatağı bozuklukları

Deri reaksiyonları, antiepileptik ilaçların yaygın bir yan etkisidir. VPA'nın dermatolojik olumsuz etkilerinde; istenmeyen kılınma denilen hirsutizm, saçlarda dökülmeler (alopesi), uzama ve renk değişimleri, nadir olarak cilt döküntüleri görülebilir (Kayış ve ark., 2020). Voltaj kapılı Na⁺ kanallarına etki eden çoğu ilaç, tedaviye yüksek dozda başlanırsa deri döküntüsü oluşturabilir, ancak mekanizma tam anlaşılmamıştır (Alarcón ve Valentín, 2012). Saçlarda dökülmeler ve değişimler genellikle devam eden tedaviye rağmen düzelir uygulanan dozun azaltılması da yardımcı olabilir (Dreifuss ve Langer, 1988). Alopesi doza bağlı değildir ve çinko ve selenyum içeren vitaminlerle tedavi edilerek önlenebilir (Chateauvieux ve ark., 2010).

Steven-Johnson Sendromu (SJS) ve Toksik Epidermal Nekroliz (TEN) deriyi olumsuz etkileyen, ender görülen ama yaşamı zora sokan akut allerjik hastalıklardır (Şekil 13). VPA ile bir başka antiepileptik ilaç olan lamotrijinin birlikte kullanımının belirtilen bu riskleri arttırdığını gösteren olgular mevcuttur (Oflaz ve ark., 2011; Öner ve ark., 2012; Özcan ve ark., 2015a). Araştırmalarda VPA'nın uzun süreli kullanımına bağlı olarak mukokutanöz bir iltihaplanma olan Liken planus'un görüldüğü bir olgu da mevcuttur (Şimşek, 2019). Ayrıca VPA birkaç ilaca bağlı lupus eritematozus (DILE) vakası ile ilişkilendirilmiştir (Papadopoulou ve ark., 2022). Chakiri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada lamotrijin-VPA kombinasyonu ile tedavi edilen çocuklarda ciddi deri ilaç reaksiyonlarının ortaya çıktığı bildirilmektedir. TEN, eritroderma, DRESS (Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms) sendromu ile birlikte deri döküntüsü, akut jeneralize ekzantematöz püstüloz ve ilaca bağlı vaskülit, ciddi morbidite ve hatta mortaliteye sahip olabilen yaygın kutanöz ilaç reaksiyonlarıdır ve antiepileptikler suçlanan ilaçlar arasındadır (Chakiri ve ark., 2022). Sağlık çalışanlarının, hastaya zarar verdiği için insidansı düşük olmasına rağmen, VPA kullanımını takiben SJS veya diğer kutanöz reaksiyonların izlenmesinin öneminin farkında olmaları önemlidir (Rashid ve ark., 2019). VPA'nın bir diğer dermatolojik yan etkisi de tırnak anomalileridir. Onikomadezis tırnağın yatağından düşmesi veya çıkması anlamına gelmektedir. VPA'nın olumsuz etkisinin nadiren çocukluk çağında onikomadezis sebebi olabileceğini gösteren bir olgu da mevcuttur (İçağasıoğlu ve ark., 2011) (Şekil 13). VPA'nın günümüzde halen en etkili antiepileptik ilaçlardan biri olmasının nedeni diğer ilaçlara göre nispeten iyi tolere edilebilmesi, farmakokinetik profili, yan etkileri ve toksisitesi iyi belgelenmiş bir ilaç olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 13. Stevens-Johnson sendromu (SJS) (1) ve Onikomadezis (2)

4.3. *Moringa oleifera*

Moringa oleifera Lamarck (*M. oleifera* Lam.) hemen her parçasının ayrı bir değeri olmasından ötürü çoğunlukla ticari olarak yetiştirilen hızlı büyüyen ve kuraklığa dayanıklı orta büyüklükte bir ağaç türüdür (Şekil 14). *M. oleifera*, Moringaceae familyasının en çok yetiştirilen ve bilinen türüdür. Yaygın olarak moringa, baget ağacı (uzun ve ince tohum kabukları için), yaban turpu ağacı (kökleri yaban turpu andıran tadı için), ben yağı ağacı (behenik asit açısından zengindir) ve mucize ağacı (tıbbi özellikleri için) gibi çeşitli isimlerle bilinir (Anzano ve ark., 2021). Halk arasında mucize ağaç olarak adlandırılan bu bitkinin tıbbi değeri çok önemlidir. Bu bitkinin yaprakları, kökleri, tohumları, kabukları, meyveleri, çiçekleri ve olgunlaşmamış kabukları gibi çeşitli kısımları, kalp ve dolaşım uyarıcı, ateş düşürücü, tümör önleyici, iltihap önleyici, epilepsi önleyici, idrar söktürücü, ülser önleyici, spazm önleyici, tansiyon düşürücü, kolesterol düşürücü, antidiyabetik, antioksidan, antibakteriyel, hepatoprotektif ve antifungal aktivitelere sahiptir ve özellikle Güney Asya'da geleneksel tıp sisteminde farklı rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Bose ve Kumar, 2022).



Şekil 14. *M. oleifera* ağacı (Bose ve Kumar, 2022'den değiştirilerek alınmıştır.)

4.3.1. *M. oleifera*'nın taksonomik ve botanik özellikleri

M. oleifera, Moringaceae familyasına, Capparidales takımına, Magnoleopsida sınıfına aittir (Milla ve ark., 2021). *M. oleifera*, sıcaklığın 25–35 °C civarında olduğu dünyanın herhangi bir tropikal ve subtropikal bölgesinde yetiştirilebilir (Gopalakrishnan ve ark., 2016). Gübreleme olmadan da yetiştirilip verim alınır (Okumuş ve Soltanbeigi, 2021). Moringa sıcaklığı ve ışığı sever, kuraklığa ve çoraklığa dayanıklıdır, su basmasını önler ve hafif düşük sıcaklıklara ve 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklara tolerans gösterebilir (Furong ve ark., 2020). İklim toleransı ve güçlü stres direnci sebebiyle farklı ekolojik koşullara adaptasyon sağlayan bir ağaçtır. Buna rağmen daha çok tropikal ve subtropikal bölgeler olan Asya, Afrika ve Güney Amerika'da

yaygın olarak yetişmektedir. Kökeni kuzey Hindistan'da Himalaya dağlarının güney eteğinde yer almaktadır. Bu yüzden yıllardır Hint geleneksel tıbbında kullanılmaktadır.

M. oleifera, sarkık dalları olan ince, yaklaşık 10 m boyunda büyüyen kısa, narin, yaprak dökken, çok yıllık bir ağaçtır; dallar ve gövde kırılğan, mantarimsı kabukludur (Anzano ve ark., 2021). Tohumlar, koyu kahverenginde yaklaşık 1 cm çapında küresel yapıdadır (Mersin ve Saltan İşcan, 2022). Çiçekler çoğunlukla beyaz ile krem rengi olup birkaç çeşidinde hafif pembemsi renkleriyle göze çarpar (Şekil 15). Bununla birlikte, çiçekler kokulu ve 2,5 cm genişliğindedir ve 10-25 cm boyundaki yardımcı salkımlarda çokça çiçek açarlar (Anzano ve ark., 2021). Yapraklar, bitkiler 1,5 ila 2,0 m büyüdükten sonra hasat edilebilir, bu genellikle 3 ila 6 ay sürer (Dhakar ve ark., 2011). Tüm *M. oleifera* bitki, çiçekleri de dahil olmak üzere yenilebilir, ancak kök ve kabukta bulunan bazı bileşikler nedeniyle tüketimi güvenli değildir. Bu nedenle yaprak tüketim açısından en güvenli kısım olarak tanımlanmıştır (Milla ve ark., 2021).



Şekil 15. *M. oleifera* ağacının (a), yapraklarının (b), tohumlarının (c) ve çiçeklerinin (d) görüntüleri (Anzano ve ark., 2021)'den değiştirilerek alınmıştır.

4.3.2. *M. oleifera*'nın kullanım alanları

M. oleifera; insan sağlığı ve beslenmesi, hayvan yemi, çeşitli sanayi, tarım gibi daha birçok alanda kullanılmakta olup bu bitkinin yararlanılmayan hiçbir kısmı yoktur (Okumuş ve Soltanbeigi, 2021). Yoksul aileler arasındaki yetersiz beslenmeyle mücadele etmek ve gıda güvensizliğini azaltmak amacıyla Güney Afrika'da ve birçok gelişmekte olan ülkede moringa ağaçları dikilmiştir (Dhakar ve ark., 2011). Moringadan, ham selüloz ve protein yönünden zengin olduğu için kaliteli bir yem kaynağı olarak da yararlanılır (Ayasan, 2015). Ağaç, çok sayıda fitokimyasalın benzersiz kombinasyonu sayesinde bir dizi hastalık ve rahatsızlığa çare sağlar (Gupta ve ark., 2018). Bir besin ve vitamin kaynağı olarak moringa yaprakları yeşillik

olarak, salatalarda, sebze k rilerinde, tur u olarak ve baharat olarak t k tilmektedir (Dhakar ve ark.,2011). Diyet takviyesi olarak yaprakları kurutulup toz halinde veya kapsül şeklinde Batı  lkelerinde piyasada satışa sunulmaktadır (Okumuş ve Soltanbeigi, 2021). Besin bileşiminin yanı sıra, moringanın toprak verimliliğini arttırdığı, tohumlarının atık su arıtımında faydalanabilece i ve yapraklarının biyogübre üretimi için bir besin maddesi olarak da kullanılabileceği bildirilmektedir. (Dhakar ve ark., 2011).

4.3.3. *M. oleifera*'nın kimyasal bileşimleri

M. oleifera ağacı, yüksek besin değerine sahiptir (Dhakar ve ark., 2011). *M. oleifera* yapraklarının kalori değeri düşüktür ve çok dengeli bir esansiyel amino asit profili ile protein açısından zengindir (Tablo 3).

Tablo 3. *M. oleifera* yaprağının besin bileşimi (Milla ve ark., 2021 kaynağından değiştirilerek alınmıştır.)

Yaprak bileşeni/100 g Kuru Ağırlık	Miktarı
Enerji (kcal)	205–295,6
Makrobesinler	
Protein (%)	19–27,1
Lipitler (%)	4,7–5
Lif (%)	7,9–19,2
Karbonhidratlar (%)	27–51,7
Mineraller	
Kalsiyum (mg)	1,875–2,076
Demir (mg)	27,8–38
Ya� asitleri	
C18:1 Oleik Asit	6,27
Diğerleri	
Askorbik Asit (C vit) (mg)	18,7–140
Klorofil (mg)	126,8

M. oleifera yaprakları protein, kalsiyum, potasyum, çinko, magnezyum, demir, bakır, polifenoller, beta-karoten, C ve E vitaminleri bakımından zengin olup iyi bir doğal antioksidan kaynağıdır (Gopalakrishnan ve ark., 2016; Leone ve ark., 2016) (Tablo 4).

Tablo 4. *M. oleifera* yaprağının kimyasal bileşimi (Milla ve ark., 2021 kaynağından değiştirilerek alınmıştır).

Mineraller (mg)	Yağ Asitleri (%)	Esansiyel Amino asitler (mg)	Vitamin (Birim)	Biyoaktif Moleküller (mg)
P (112.1)	C16:0 (23.3)	His (700–1357)	A vitamini (11,300–23,000 UI)	β -karoten (6.6–17.6)
Mg (10.6)	C16:1 (0.4)	Thr (790–2197)	C vitamini (18.7–140 mg)	α -tokoferol (74.5–122.1)
Na (224.1)	C18:0 (4.1)	Tyr (480–1880)	Riboflavin (22.6 mg)	Tiyamin (2.85)
K (2071.9)	C18:1 (6.27)	Val (1130–2758)	Niasin (8.86 mg)	Polifenoller (2.10 –12.2 mgGAE/mg)
Mn (8.37)	C18:2 (6.11)	Met + Cys (140–835)		Flavonoidler (5.1–12.2 mg/g)
Cu (0.95)	C18:3 (56.9)	Leu (1750–4289)		Mirisetin (5.8 mg/g)
S (137)	C20:0 (0.21)	Phe (890–2714)		Kuersetin (0.21–7.6 mg/g)
Cr (< 0.5)	C22:0 (0.70)	Lys (1325–1530)		Kemferol (4.6 mg/g)
Mo (0.75)				Gallik Asit (1.03–1.34)
Ni (< 0.5)				Klorojenik Asit (1.8–6.97 mg/g)
Se (2.71)				Glukozinalatlar (21.84–59.50 mg/g)
				Tanenler (132–1200)
				Oksalatlar (430–1600)
				Fitatlar (250–2100)

Yapraklar yüksek düzeyde β -karoten ihtiva eder. Ayrıca havuç ve balkabağından daha fazla A vitamini; bir portakaldan daha fazla C vitamini ve süt ürünlerinden daha fazla kalsiyum; ıspanaktan daha fazla demir ve muzdan bile daha fazla potasyum içerir (Milla ve ark., 2021).

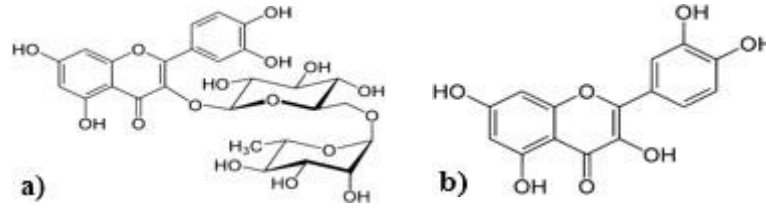
M. oleifera; içerdği alkaloidler, flavonoidler, karotenoidler, tanenler, antrakinonlar, antosiyaninler ve proantosiyanidinler gibi fitokimyasallar sayesinde iyileştirici özelliklere sahiptir (Goyal ve ark., 2007).

4.3.3.1. Yağ asitleri

M. oleifera yapraklarında en çok sırasıyla: palmitik asit (16:0), palmitoleik asit (16:1), stearik asit (18:0), oleik asit (18:1), linoleik asit (18:2), linolenik asit (18:3), araşidik asit (20:0) ve behenik asit (22:0) gibi yağ asitleri mevcuttur. Bununla birlikte, yağ, fitosteroller ve tokoferoller gibi önemli biyoaktif bileşenlere kaynak oluşturur (Saa ve ark, 2019).

4.3.3.2. Flavonoidler

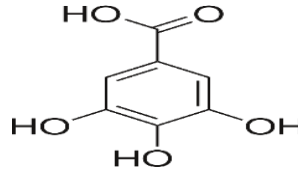
Moringa cinsi, yüksek flavonoid içeriği nedeniyle yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (Abd Rani ve ark., 2018). Bitkide bulunan en yaygın flavonoidler; rutin, kuersetin (Şekil 16), kemferol, ramnetin, apigenin ve mirisetindir (Abd Rani ve ark., 2018).



Şekil 16. Rutin (a) ve Kuersetin (b) (<https://en.wikipedia.org/>)

4.3.3.3. Fenolik asitler

M. oleifera yaprakları, başlıca fenolik asit bileşeni olarak gallik asit (Şekil 17) taşıdığı, elajik asit, salisilik asit, o- ve p-kumarik asit gibi daha birçok kimyasal bileşiği içerdği saptanmıştır (Mersin ve Saltan İşcan, 2022).

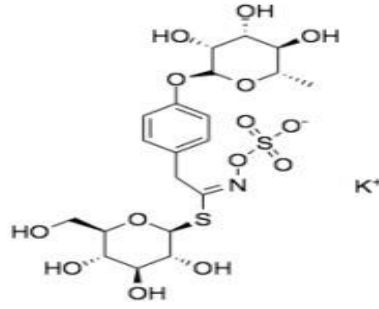


Şekil 17. Gallik asit (<https://en.wikipedia.org/>)

4.3.3.4. Glukosinolatlar

Türde en bol bulunan glukosinolat, glukomoringin (GMG)(Şekil 18) olarak da bilinen 4- O- (α- L- rhamnopyranosiloksi)-benzil glukosinolatıdır (Abd Rani ve ark., 2018). *M.*

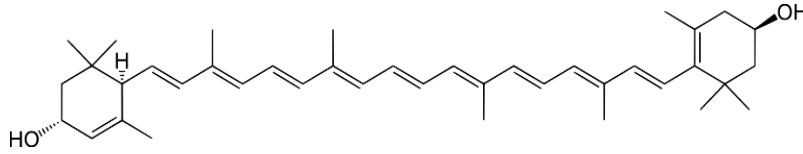
oleifera 'nın sinalbin, glukotropaeolin gibi çok sayıda aromatik glukosinolat taşıdığı tespit edilmiştir (Mersin ve Saltan İşcan, 2022).



Şekil 18. Glukomoringin (Mersin ve Saltan İşcan, 2022)

4.3.3.5. Terpenler

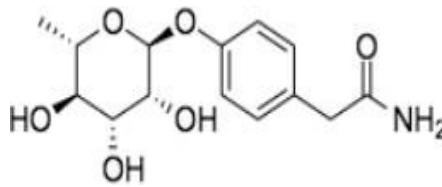
Terpenler hidrokarbonların bir sınıfıdır. Terpenler, genellikle iğne yapraklı bitkiler tarafından sentezlenen organik bileşiklerdir (Sançar ve ark., 2017). *M. oleifera* 'nın yapraklarının terpen yapısında olan lutein (Şekil 19), α - ve β - amirin ve β - karoten içerdiği saptanmıştır (Teixeira ve ark., 2014). Lutein, moringa yaprağında çokça bulunan sarı renkli organik bir renklendiricidir. Lutein antioksidan özelliğe sahip bir karotenoit vitaminidir.



Şekil 19: Lutein (<https://en.wikipedia.org/>)

4.3.3.6. Alkaloidler

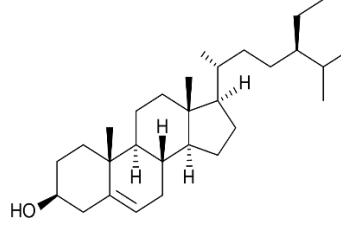
Alkaloidler nitrojen içerikli fitokimyasallardır (Sançar ve ark., 2017). *M. oleifera* yapraklarından marumosid A (Şekil 20) ve B şeklinde iki yeni pirol alkaloit glikoziti ayrıştırılmıştır (Abd Rani ve ark., 2018).



Şekil 20. Marumosid A (Mersin ve Saltan İşcan, 2022)

4.3.3.7. Steroller

M. oleifera yapraklarında ve yağında β -sitosterol (Şekil 21) olduğu saptanmıştır (Mersin ve Saltan İşcan, 2022). Yaprakları daha çok lupeol bileşiğini, yağı ise stigmasterol ve kamfesterol bileşiklerini içermektedir (Abd Rani ve ark., 2018).

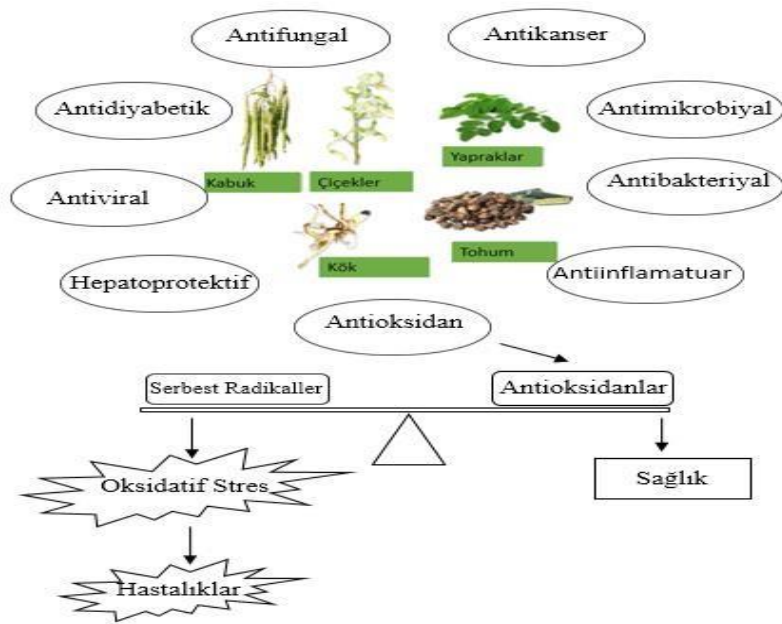


Şekil 21. β -sitosterol (<https://en.wikipedia.org/>)

Yapraklar taze olarak yenilebilir, pişirilebilir veya oda sıcaklığında aylarca kurutulmuş toz olarak saklanabilir (Verma ve ark., 2009).

4.3.4. *M. oleifera*'nın biyolojik etkileri

M. oleifera genellikle her derde deva olarak anılmakta ve 300'den fazla hastalığı tedavi etmek için kullanılmaktadır. İçeriğindeki fitokimyasallar sebebiyle iyi bir tıbbi ajandır. (Gopalakrishnan ve ark., 2016). *M. oleifera*'nın belirli kısımları birçok farmakolojik aktivite gösterir: Anti-kanser (Parvathy ve Umamaheshwari, 2007); antioksidan (Moyo ve ark., 2012b); antiinflamatuvar (Cheenpracha ve ark., 2010); immünomodülatör (Sudha ve ark., 2010); antidiyabetik (Jaiswal ve ark., 2009); mantar önleyici (Chuang ve ark., 2007); antibakteriyel (Moyo ve ve ark., 2012a) ve hepatoprotektif (Buraimoh ve ve ark., 2011) (Şekil 22).



Şekil 22. *M. oleifera*'nın çeşitli kısımlarının biyoaktif etkileri (Ercan ve ark., 2021'den değiştirilerek kullanılmış.)

4.3.5. *M. oleifera*'nın antioksidan etkisi

Moringa yaklaşık 46 antioksidan içermekte olup güçlü doğal antioksidan kaynaklarından biridir (Dhakar ve ark., 2011).

Antioksidanlar, vücutta meydana gelen serbest radikallerin önlenmesinde, nötralize edilmesinde ve temizlenmesinde görev almakta, bulaşıcı ve dejeneratif hastalıklara karşı koruma sağlamaktadır (Sreelatha ve Padma, 2009). *M. oleifera* yapraklarında yüksek oranda bulunan flavonoidler, polifenoller ve askorbik asit gibi antioksidanlar bitkiyi farmakolojik ve nutrasötik açıdan popüler kılmaktadır.

Sreelatha ve Padma (2009)'nın yaptıkları çalışmada elde edilen veriler, *M. oleifera*'nın hem olgun hem de taze yaprak özlerinin serbest radikallere karşı güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu, makro biyomoleküllerde oksidatif hasarı önlediğini ve önemli koruma sağladığını göstermektedir.

Verma ve ark. (2009) yaptıkları çalışma sonucunda *M. oleifera*'nın yapraklarının yüksek miktarda fenol içerdiğini, yaprakların önemli metal şelatlama özellikleri gösterdiğini, DNA'yı ve sıçan dokularını oksidatif strese karşı koruduğunu gösterdi.

Peñalver ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada, *M. oleifera* yapraklarındaki fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ve sahip olduğu antioksidan aktivite sebebiyle, yaprakların potansiyel bir antioksidan kaynağı olarak kabul edilebileceği gösterilmiştir. Antioksidan aktivitenin, hücre oksidasyonuna karşı korunmada önemli bir rolü olduğu için özellikle Moringa yapraklarında bulunan antioksidan bileşiklerin, uzun süre UV maruziyetine bağlı gelişen cilt kanserine karşı foto koruma için yararlı olabileceği belirtilmiştir.

Farklı bitki kısımlarından elde edilen farklı ekstraktların antioksidan aktiviteleri çalışmalarda rapor edilmiştir (Gupta ve ark., 2018). Metanol ve aseton gibi organik çözücülerdeki yaprak ekstraktlarının antioksidan aktivite sergilediği bulunmuştur (Siddhuraju ve Becker, 2003; Atawodi ve ark., 2010; Ogbunugafor ve ark., 2012; Moyo ve ark., 2012b; Vongsak ve ark., 2013; Charoensin, 2014).

4.3.6. *M. oleifera*'nın toksisite çalışmaları

M. oleifera'nın düşük toksisite gösterdiği bildirilmiştir (Mersin ve Saltan İşcan, 2022). Awodele ve arkadaşlarının, *M. oleifera* yapraklarının sulu bir ekstraktının, 6.400 mg/kg'a kadar oral yolla uygulanan dozlarda Wistar albino farelerde herhangi bir ölüme yol açmadığını bildirmiştir (Awodele ve ark., 2012). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, *M. oleifera*'nın sulu

yaprak ekstraktının oral yolla uygulandığında nispeten güvenli olduğunu göstermektedir (Awodele ve ark., 2012). Bitkinin yaprakların Letal Doz50 (LD50) değeri; 1,585 mg/kg olduğu belirtilmiştir (Mersin ve Saltan İşcan, 2022). Kısaca yenilebilir bir bitki olan *M. oleifera* bitkisinin ve konsantrasyonlarının çok az yan etkiye sebep olduğu, sağlık ve beslenme alanları için oldukça güvenli olduğu kabul edilmiştir (Wang ve ark., 2022).

Bitkinin kök ve kabuk gibi bazı kısımlarında başlıca karaciğer, böbrek, hematolojik ve diğer hastalıklarla ilişkili çeşitli toksik bileşikler bulunduğu bildirilmiştir (Milla ve ark., 2021). Yaprakların içerdiği fitat, Zn ve Mg gibi iki ve üç değerlikli metallerin biyoyararlanımını azalttığı için vejeteryanlar için potansiyel risk oluşturabilir (Canett-Romero ve ark., 2014).

4.3.7. *M. oleifera* yapraklarının dermatolojik etkileri

Cilt sağlığında diyetle alınan makro ve mikro besin bileşenlerin rolleri oldukça önemlidir. A vitamini, epidermal keratinositlerin ve dermal fibroblastların proliferasyonunu modüle eder, UV ışınlarının aracılık ettiği cilt hasarını önler. C vitamini, hücreleri oksidatif stresten koruyarak UV ışınlanması ile tetiklenen serbest radikal üretimini baskılar, kutanöz yara iyileşmesini destekler. D vitamini, doğuştan gelen bağışıklığı geliştirir, inflamasyonu, anjiyogenezi, yara iyileşmesini modüle eder. E vitamini, lipit peroksidasyonunu baskılar ve antiinflamatuvar roller sergiler. Çinko, fotohasardan korur, antimikrobiyal aktivite sergiler. Bakır bir antioksidan görevi görür, kolajen olgunlaşmasını uyarır, melanin sentezini modüle eder. (Park, 2015). *M. oleifera* bitkisi içerdiği zengin ve çeşitli besin bileşenleri sayesinde cilt sağlığı için iyi bir diyet kaynağıdır.

Ayrıca *M. oleifera* yapraklarının geleneksel olarak yara iyileştirmesinde kullanıldığı bilinmektedir. Bunu bilimsel olarak destekleyen çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların bazılarında *M. oleifera*'nın yara iyileştirme aktivitesini desteklediğini, insan fibroblast hücrelerinde poliferasyon ve migrasyonu sağladığını ve antioksidan savunma sistemlerini güçlendirerek cilt keratinositlerini oksidatif stres hasarına karşı koruduğu belirlenmiştir (Hukkeri ve ark., 2006; Gothai ve ark., 2016; Zhou ve ark., 2018). Uzun zamandan beri *M. oleifera*, cilt enfeksiyonu, yüzeysel akneler ve çeşitli deri hastalıkları tedavisinde kullanılmaktadır (Islam ve ark., 2005).

Son yıllarda gıda ve ilaç sektöründe sentetik kaynakların yenilenebilir olmaması ve zararlı etkileri nedeniyle doğal kaynakların kullanılmasına büyük önem verilmektedir (Gupta ve ark., 2018). Günümüzde kronik hastalıkların getirdiği sıkıntılar ve ekolojik yönelimler doğal yöntemlere ve fitoterapiye ilgiyi arttırmıştır (Sançar ve ark., 2017). *Moringa oleifera* Lam. farmasötikler ve nötrasötikler için mükemmel kaynaktır (Gupta ve ark., 2018). Gıda ve ilaçlarda

yaygın olarak kullanılan moringa yaprağının ve diğer ürünlerinin dermatolojik olarak terapötik etkisini gösteren klinik deneylere ihtiyaç vardır, bu çalışmaların yapılması literatüre katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada, *M. oleifera* % 70'lik etanollu yaprak ekstresinin VPA verilen sıçanlarda deri dokusu üzerine olası koruyucu etkisi araştırılmıştır. Sıçanlardan alınan derilerden hazırlanan homojenatlarda çeşitli biyokimyasal parametreler incelenmiştir.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullandığımız kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Merck, Sigma-Aldrich ve Fluka firmalarından temin edilmiştir.

5.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Tablo 5. Kullanılan cihazlar ve markaları

Spektrofotometre	RAY LEIGH UV 1800
Santrifüj	HERAEUS-SEPATECH LABOFUGE 200
Santrifüj	NÜVE NF 200
Mikro santrifüj	HEIDOLPH
Vorteks	JANKE & KUNKEL, IKA LABOR CHNIK
Manyetik karıştırıcılar	JANKE & KUNKEL, IKA RH BASIC 2
Etüv	NÜVE EN 500
Su banyosu (37° C)	BOEHRINGER - MANNHEIM
Su banyosu (100° C)	NUVE, BT 400
Elektronik terazi	SHIMADZU AUX 220
Distile-deiyonize su cihazları	PURELAB OPTION - Q
Otomatik pipetler	GILSON
pH metre	710 A pH/ISE METER
Buz yapma makinası	KİNG
Buzdolabı	ARÇELİK
Homojenizatör	JANKE & KUNKEL ULTRA TURRAXT 25

5.3. Kullanılan Deney Hayvanları

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Hayvan Etik kurulu onayı (Karar No: 77.2021mar 12.10.2021 tarihli) alınarak yapıldı. Çalışmamızda 250-300 gr ağırlığında dişi Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Deney süresince 20 °C $\pm$ 2, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortamı ayarlanmış laboratuvar koşullarında yaşayan sıçanlar 4 gruba ayrıldı.

5.4. Deney Hayvanlarının Beslenmesi

Tüm deney gruplarının beslenmeleri oral yolla gerçekleştirildi. Hayvanlar sürekli kafeslerinde tutuldular. Deney süresi boyunca beslenme su ihtiyaçları günlük olarak karşılandığı kontrollü

laboratuvar şartlarında muhafaza edildiler. Su ihtiyaçları taze çeşme suyundan karşılandı. Beslenmeleri için İstanbul Çobançeşme Yem Sanayi Fabrikalarında üretilen ve içeriği aşağıda belirtilen normal pellet tipi sıçan yemi kullanıldı.

% 24 protein, % 7 selüloz, % 8 ham kül, % 2 HCl’de çözünmeyen kül, % 1- 2,8 kalsiyum, % 0,9 fosfor, % 0,5 - 0,7 sodyum, % 1 sodyum klorür, % 0,6 metiyonin ve % 1 lizin içeren standart sıçan yemi ve içme suyu ad libitum olarak verilmiştir. Sağladığı metabolik enerji: 2650 kcal/kg

5.5. Yaprak Ekstrelerinin Hazırlanışı

Taze yapraklar, toz haline getirilmeden önce gölgede kurutuldu. Toz haline getirilen moringa yaprakları, kâğıt zarflar içinde paketlenip, nem absorpsiyonu ile kontaminasyondan kaçınmak için polietilen poşetlerde saklandı. %70’lik etanol ekstresi hazırlamak için 100 g moringa yaprağı, sokslet cihazına konuldu. Üzerine 150 mL % 70’lik etil alkol ilave edildi, en az 20 sifon gerçekleşene kadar reflüks edildi. Çözücü, evaporatörde uzaklaştırıldı. Elde edilen kalıntı tartılıp, etiketli eppendorf tüplerine transfer edildi ve kullanıma kadar -20°C’de muhafaza edildi.

5.6. Gruplar ve Deney Protokolü

Çalışmamızda her grupta 8’er hayvanın olduğu toplam 4 grup oluşturuldu (Tablo 6).

Tablo 6. Deney grupları

Deney Grupları		Hayvan sayısı
Kontrol Grubu (K)		8
VPA Grubu (V)		8
Kontrol + Moringa Grubu (KM)		8
VPA + Moringa Grubu (VM)		8
Toplam		32

5.7. Deri Homojenatının Hazırlanması

% 10 g’lık deri homojenatı hazırlamak için deri örnekleri ayrı ayrı serum fizyolojik ile yıkayıp temizlendi. Daha sonra bir süzgeç kâğıdı ile kurutularak tartıldı ve tartım kaydedildi. Keskin bir makas ve bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Gerekli miktarda serum fizyolojik ile

cam homojenizatörde doku parçası kalmayıncaya kadar homojenize edildi. Çalışma şartları kaydedildi (homojenizasyon süresi ve devir hızı). Her doku homojenatı ayrı ayrı küçük kısımlara ayrılarak eppendorf tüpleri içinde, gerekli bilgiler üzerlerine yazılarak, dondurucuda çalışılacağı güne kadar saklandı.

Deri homojenatlarında, total protein tayini (TP), glutatyon tayini (GSH), lipit peroksidasyonu (LPO), siyalik asit (SA), nitrik oksit (NO), glutatyon-S-transferaz aktivitesi (GST), katalaz aktivitesi (KAT), süperoksit dizmutaz (SOD), doku faktörü (DF), total oksidan kapasite (TAK), total oksidan kapasite (TOK) ve bor değerleri tayin edildi ve ayrıca protein elektroforezi yapıldı.

5.8. Deride Araştırılan Parametreler İçin Kullanılan Tayin Yöntemleri

5.8.1. Total protein tayini

Prensip: Bu metotta proteinler önce alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyona sokulur. Ardından fosfomolibdik-fosfotungstik asit reaktifi (Folin reaktifi) ile indirgenir. Oluşan mavi rengin şiddeti spektrofotometrik olarak değerlendirilir. Oluşan mavi rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile orantılıdır. (Lowry ve ark., 1951)

Gerekli Çözeltiler:

A **çözeltisi:** %2 g'lık sodyum karbonat çözeltisi (0,1N NaOH içerisinde): 0,4 g NaOH bir miktar suda çözülür ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır. 2 g sodyum karbonat hazırlanan 0,1N NaOH çözeltisinde çözülür ve hacmi 100 mL'ye 0,1N NaOH çözeltisi ile tamamlanır.

Bakır sülfat çözeltisi (%1 g): 1 g bakır sülfat bir miktar distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Sodyum potasyum tartarat çözeltisi (%2 g): 2 g sodyum potasyum tartarat bir miktar distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

B **çözeltisi:** %1 g'lık bakır sülfat çözeltisi ile %2 g'lık sodyum potasyum tartarat çözeltisi eşit hacimde (1/1) karıştırılarak kullanılır (taze hazırlanır).

C **çözeltisi:** 50 mL A çözeltisi ve 1 mL B çözeltisi karıştırılarak kullanılır (taze hazırlanır).

Folin çözeltisi: 100 g sodyum tungstat, 25 g sodyum molibdat.2H₂O, 50 mL %85 g'lık fosforik asit, 100 mL derişik HCl ve 700 mL distile su bir cam balona konularak 10 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Soğutulur. Üzerine 150 g LiSO₄ ilave edilip geri soğutucu altında 15 dk daha kaynatılır. Soğuduktan sonra, 5-6 damla brom katılır. (Çözelti bozursa renk siyahlaşır, bu

durumda çözelti tekrar hazırlanır. Bozuk değilse renk sarı yeşil olur.) Çözelti distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır ve kullanılır. Koyu renkli şişede saklanır, uzun süre dayanır.

Serum fizyolojik (%0,9 g'lık NaCl): 0,9 g NaCl bir miktar suda çözülür ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.

Protein stok standart çözeltisi (%100 mg'lık albumin çözeltisi): 100 mg albumin biraz serum fizyolojik de çözüldükten sonra hacmi 100 mL'ye serum fizyolojik ile tamamlanır.

Protein çalışma standart çözeltileri: Stok çözeltiliden uygun hacimler alınarak %5, 10, 15 mg albumin ihtiva edecek şekilde serum fizyolojik ile seyreltilerek hazırlanır ve kullanılır.

Deneyin Yapılışı:

%10 g'lık doku homojenatı 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant alınır. 5 deney tüpü numune (N), standart 1 (St1), standart 2 (St2), standart 3 (St3) ve kör (K) olmak üzere işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune (N)	St1 %5 mg Albumin	St2 %10 mg Albumin	St3 %15 mg Albumin	Kör (K)
Albumin (%100 mg)	-	25 µL	50 µL	75 µL	-
Süpernatant	10 µL	-	-	-	
Serum Fizyolojik	490 µL	475 µL	450 µL	425 µL	0,5 mL
Toplam Hacim	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL
Vortekste Karıştırılır					
C Çözeltisi	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL
Vortekste Karıştırılır ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilir					
Folin Ayırıcı	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL

Tüm tüpler vortekste karıştırılır, oda sıcaklığında 30 dk. bekletildikten sonra 500 nm'de köre karşı absorbanslar kaydedilir. Standart grafiği çizilir. Doku protein miktarı hesaplanır.

5.8.2. Glutasyon tayini

Prensip: Elmann ayırıcı, 5,5'-ditiyobis,2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu meydana gelen renkli ürün spektrofotometrik olarak ölçülür (Beutler, 1975).

Gerekli Çözeltiler:

Sodyum sitrat çözeltisi (%1 g): 1 g sodyum sitrat tartılır, bir miktar distile suda çözülür daha sonra hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Elmann ayıracı (%40 mg DTNB): 40 mg DTNB tartılır, bir miktar sodyum sitrat çözeltisinde (%1 g'lık) çözülür ve hacmi 100 mL'ye %1 g'lık sodyum sitrat çözeltisi ile tamamlanır.

Proteinsizleştirme çözeltisi: 1,67 g metafosforik asit, 0,2 g etilen diamin tetra asetik asit sodyum tuzu (EDTA-Na) ve 30 g sodyum klorür ayrı ayrı bir miktar distile suda çözülür. Daha sonra hepsi birleştirilerek hacim 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.

Disodyum hidrojen fosfat çözeltisi (0,3 M): 4,26 g Na_2HPO_4 veya 5,34 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bir miktar distile suda çözülür ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

Deney tüpüne %10 g'lık 0,2 mL doku homojenatı konur ve vorteks ile karıştırılır. Üzerine 0,3 mL proteinsizleştirme çözeltisi ilave edilir. Vorteksle karıştırılır. 5 dk. oda sıcaklığında bekletildikten sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir ve süpernatant elde edilir. 2 tane deney tüpü alınır, numune ve kör olarak işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Distile Su	-	0,2 mL
Süpernatant	0,2 mL	-
Na_2HPO_4	0,8 mL	0,8 mL
Elmann Ayıracı	0,1 mL	0,1 mL

Tüpler vortekste karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 5 dk bekletilir. Köre karşı 412 nm'de absorbanslar kaydedilir. Sonuçlar seyreltme faktörü ve oluşan sarı renkli ürünün 412 nm'de ekstinksiyon katsayısı ($13600/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanır.

5.8.3. Lipit peroksidasyonu tayini

Prensip: LPO ürünü olan malondialdehit (MDA) ile tiyobarbitürik asit (TBA) reaksiyonu sonucu oluşan pembemsi rengin absorbansı spektrofotometrik olarak ölçülür (Ledwozyw ve ark., 1986).

Gerekli Çözeltiler:

NaOH (1M): 4 g NaOH tartılır, bir miktar distile suda çözülür ve distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlanır.

TBA çözeltisi (0,047 M): 500 mg TBA, 6 mL 1M'lık NaOH ile karıştırılarak üzerine 69 ml distile su ilave edilir.

Triklorasetik asit (1,22 M'lık TCA) çözeltisi (0,6 M HCl içerisinde): 20 mL TCA (%100 g TCA) ile 5 mL HCl (%37 g'lık, d=1,19 g/mL'lik HCl) karıştırılır. Hacim 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.

n-Butanol: Orijinal şişesinden kullanılır.

Deneyin Yapılışı:

2 tane deney tüpü numune ve kör olmak üzere işaretlenerek aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Doku Homojenatı	0,25 mL	-
Distile Su	-	0,25 mL
TCA	1,25 mL	1,25 mL
Vortekste karıştırılır ve 15 dk bekletilir		
TBA	0,75 mL	0,75 mL
Vortekste karıştırılır ve 30 dk kaynar su banyosunda inkübe edilir		
n-Butanol	2 mL	2 mL

Vortekslenir, 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Butanol fazı alınır, 532 nm'de köre karşı absorbanslar kaydedilir. MDA için saptanmış ekstinksiyon kat sayısı ($1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılarak sonuçlar hesaplanır.

5.8.4. Süperoksit dismutaz aktivitesi tayini

Prensip: SOD'un aktivitesi, riboflavin ile duyarlandırılmış o-dianisidinin fotooksidasyon hızını arttırma yeteneği olarak ölçülür. Riboflavinin floresans ışığı etkisiyle oluşturduğu $\text{O}_2^{\cdot-}$, ortamdaki SOD'un etkisiyle H_2O_2 'ye dönüşür. H_2O_2 o-dianisidinle reaksiyona girerek renkli ürün oluşturur. SOD aktivitesi ne kadar fazla ise renkli ürün oluşumu da o kadar çok olur. Oluşan renkli ürünün absorbansı spektrofotometrik olarak 460 nm'de değerlendirilir (Mylorie ve ark., 1986).

Gerekli çözeltiler:

Fosfat tamponu (50 mM, pH 7,8): 0,697 g K_2HPO_4 ve 0,136 g KH_2PO_4 tartılır, ayrı ayrı bir miktar distile suda çözülür, birleştirilir ve distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlanır. Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan pH kontrol edilir ve pH 7,8'e ayarlanır. Buzdolabında saklanır.

Fosfat tamponu + 0,1 mM'lık Na-EDTA: 3,7 mg Na-EDTA tartılarak bir miktar 50 mM'lık fosfat tamponunda çözülür. Daha sonra aynı tampon ile hacmi 100 mL'ye tamamlanır.

Potasyum fosfat tamponu (10 mM, pH 7,5): 0,122 g K_2HPO_4 ve 0,041 g KH_2PO_4 tartılır, ayrı ayrı bir miktar distile suda çözülür, birleştirilir ve distile suyla hacmi 100 mL'ye tamamlanır. Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan pH kontrol edilir ve pH 7,5'e ayarlanır. Buzdolabında saklanır.

Riboflavin (0,2 mM): 7,5 mg riboflavin 100 mL potasyum fosfat tamponunda (10mM'lık, pH 7,5) çözülür.

o-dianisidin (6 mM): 19 mg o-dianisidin 10 mL distile suda çözülür.

SOD (120 IU/mL) stok standardı: Liyofilize SOD standardı 120 IU/mL olacak şekilde soğuk distile suda çözülür. Bu stok standarttan uygun hacimler alınarak deney ortamında 3, 6, 9,12 ünite SOD olması sağlanır.

Deneyin Yapılışı:

%10 g'lık doku homojenti 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Daha sonra süpernatant alınarak tam veya serum fizyolojik ile 1/10 oranında seyreltilerek çalışılır. Deney tüpleri numune, standart ve kör olmak üzere hazırlanır.

	Numune	Standart (3U)	Standart (6U)	Standart (9U)	Standart (12U)	Kör
Fosfat tamponu (pH 7,8)	2,6 mL	2,6 mL	2,6 mL	2,6 mL	2,6 mL	2,6 mL
o-dianisidin	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL
Distile su	-	0,075 mL	0,05 mL	0,025 mL	-	0,1 mL
Stok standardı (120 IU/mL)	-	0,025 mL	0,05 mL	0,075 mL	0,1 mL	-
Dilue süpernatant	0,1 mL	-	-	-	-	-

Her tüpe 0,2 mL riboflavin 30 sn. ara ile konulur, karıştırılır. Absorbansı 460 nm'de okunur. Ardından tüpler 20 W Floresans lamba bulunan kutu içinde oda sıcaklığında 8 dk inkübe edilir. Sonra tekrar 460 nm'de absorbanlar okunarak kaydedilir. Floresans lamba 20 dk önce açılır ve ısınması sağlanır. Standart grafiği yardımıyla yapılan seyreltmeler göz önüne alınarak süpernatantın SOD aktivitesi hesaplanır.

5.8.5. Katalaz aktivitesi tayini

Prensip: H_2O_2 'nin H_2O 'ya dönüşüm reaksiyonunu katalaz enzimi katalizler. Bu reaksiyon 240 nm'de absorbansın azalması ile takip edilebilir. 1. dk'da absorbanstaki düşüş katalaz enzim aktivitesi ile ilgilidir (Aebi, 1974).

Gerekli çözeltiler:

Fosfat tamponu (50 mM, pH 7,0): a) 6,81 g KH_2PO_4 ve b) 8,90 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$

tartılıp ayrı ayrı bir miktar distile suda çözülür. Daha sonra hacimleri distile su ile ayrı ayrı 1000 mL'ye tamamlanır. Kullanılacağı zaman a'dan 1 hacim b'den 1,5 hacim alınarak karıştırılır (pH 7,0 olmalı). Buzdolabında saklanır. (Bakteriyal kontaminasyon olmadığı sürece fosfat tamponu stabildir, kullanılabilir).

H_2O_2 çözeltisi (30 mM) + Fosfat tamponu: Yoğunluğu $d=1,11$ g/mL olan, %30 g'lık H_2O_2 çözeltisinden 0,31 mL alınır ve 100 mL'ye 50 mM'lık fosfat tamponu (pH 7,0) ile seyreltilir. Taze hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

%10 gramlık doku homojenti 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Süpernatant alınarak serum fizyolojik ile 1/10, 1/20 veya 1/50 oranında seyreltilerek çalışılır. Süpernatant uygun olarak seyreltildikten sonra mutlaka 5-10 dakika içinde çalışılmalıdır. 2 adet deney tüpü kör ve numune olarak işaretlenir, aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Fosfat tamponu	-	0,2 mL
Dilue süpernatant	0,4 mL	0,4 mL
H_2O_2 çözeltisi + Fosfat tamponu	0,2 mL	-

Karıştırılır. 1 dk sonra absorbansları 240 nm'de okunarak kaydedilir. Sonuçlar ekstinksiyon katsayısı 0,004 (0,00394) mM^{-1}/mm^{-1} göz önüne alınarak hesaplanır.

5.8.6. Glutasyon-S-transferaz aktivitesi tayini

Prensip: Bu tayin yöntemi GSH ve 1-kloro-2,4-dinitro-benzenin (CDNB) konjugasyonu ile meydana gelen ürünün, 340 nm'deki absorbansının spektrofotometrik olarak ölçülmesi temeline dayanır (Habig ve Jacoby, 1981).

Gerekli çözeltiler:

Sodyum fosfat tamponu (0,2 M, pH=6,5): 0,534g Na₂HPO₄.2H₂O ve 2,3 g KH₂PO₄ ayrı ayrı bir miktar distile suda çözülür. Daha sonra birbirine karıştırılır ve distile su ile hacim 100 mL'ye tamamlanır. Hacim 100 ml'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 6,5 olacak şekilde ayarlanır. Buzdolabında saklanır.

Glutasyon (GSH) (60 mM): 1,84 g glutasyon bir miktar distile suda çözülür. Daha sonra hacmi 100 mL'ye tamamlanır. Taze hazırlanır.

1-klor-2,4-dinitro-benzen (CDNB) (60 mM): 1,22g CDNB tartılarak bir miktar absöü etanolde çözülür. Daha sonra hacmi 100 mL'ye absöü etanol ile tamamlanır Taze hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

%10 gramlık doku homojenatı 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Süpernatant alınarak serum fizyolojik ile 1/300 oranında seyreltilerek çalışılır. 2 adet deney tüpü kör ve numune olarak işaretlenir, aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Dilue süpernatant	0,5 mL	-
Serum fizyolojik	-	0,5 mL
Fosfat tamponu	1,5 mL	1,5 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
Toplam hacim	3 mL	3 mL

Karıştırılır. Karışımın 340 nm'de (25 °C) absorbansları 3 dakika süre (0, 1, 2, 3. dakikalarda) ile izlenir ve kaydedilir. Absorbans artışı hesaplanır. CDNB ve GSH'ın konjugasyonu ile oluşan ürün için saptanmış olan ekstrinksiyon katsayısı (9,6 mM⁻¹ x cm⁻¹) kullanılarak sonuçlar hesaplanır.

5.8.7. Siyalik asit tayini

Prensip: SA, periyodik asit ile oksidayona uğrar ve β-formilpürivik asit oluşur. Bu bileşiğin TBA ile reaksiyonu sonucu 549 nm'de maksimum absorbansı veren renkli bir bileşik oluşur.

Bu ürün stabil değildir, bu nedenle siklohegzanon fazına çekilir. Oluşan rengin şiddeti 549 nm’de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Warren, 1959).

Gerekli Çözeltiler:

H₂SO₄ (0,1 N): 1 L’lik balona bir miktar distile su ilave edilerek üzerine 2,71 mL derişik sülfürik asit konur ve hacim distile su ile 1 L’ye tamamlanır.

Sodyum metaperiyodat (0,2 M;9 M fosforik asit içerisinde): 250 mL’lik balona bir miktar distile su ilave edilir. Üzerine 151,7 mL fosforik asit ilave edilir ve karıştırılır. Karışımın üzerine 10,695 g sodyum metaperiyodat ilave edildikten sonra karıştırılarak çözünmesi sağlanır. Distile su ile hacim 250 mL’ye tamamlanır.

Sodyum sülfat (0,5 M;0,1 N H₂SO₄ içerisinde): 100 mL’lik balon içerisine 7,1 g sodyum sülfat bir miktar 0,1 N sülfürik asit ile çözüldükten sonra hacim bu çözelti ile 100 mL’ye tamamlanır.

Sodyum arsenit (%10 g;0,1 M sülfürik asitte hazırlanan 0,5 M sodyum sülfat içerisinde): 10 g sodyum arsenit tartılarak bir miktar 0,5 M sodyum sülfat içerisinde çözülür. 0,5 M sodyum sülfat ile hacim 100 mL’ye tamamlanır.

TBA (%0,6 g; 0,1 N sülfürik asitte hazırlanan 0,5 M sodyum sülfat içerisinde): 0,6 g TBA tartılarak bir miktar 0,5 M sodyum sülfat içerisinde çözülür. 0,5 M sodyum sülfat ile hacim 100 mL’ye tamamlanır (taze hazırlanır).

Siklohegzanon: Orijinal şişesinden kullanılır.

Deneyin Yapılışı:

%10 gramlık doku homojenatı 4000 rpm’de 10 dk santrifüj edilir, süpernatant alınır. 180 µL 0,1 N H₂SO₄ ve 20 µL süpernatant karıştırılır. 1 saat 80°C’de etüvde hidroliz edilir. Elde edilen hidrolizat numune olarak işaretlenmiş bir deney tüpüne koyularak aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune
Hidrolizat	0,2 mL
0,2 M sodyum metaperiyodat	0,1 mL
20 dakika oda sıcaklığında beklenir.	
%10 g Sodyum Arsenit	1 mL
Meydana gelen sarı renk kayboluncaya kadar çalkalanır.	
%6 g TBA	3 mL
100 °C’lik su banyosunda 15 dakika bekletilir. Bu süre sonunda tüpler su banyosundan alınarak buzlu su içinde oda ısına soğutulur.	
Siklohegzanon	4,3 mL
Kör olarak siklohegzanon kullanılır. Organik fazın renk şiddeti 549 nm de okunur.	

Vortekslenir, 10 dk 3000 rpm’de santrifüj edilir. Siklohegzanon fazı alınır, 549 nm de köre karşı absorbanlar kaydedilir. Ekstinksiyon kat sayısı ($57000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ kullanarak sonuçlar hesaplanır.

5.8.8. Total nitrik oksit tayini

Nitrat, vanadyum (III) klorür ile nitrite indirgenir. Nitrit ile sülfanilamitin asidik ortamda N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür ile reaksiyonu sonucu kompleks diazonyum bileşiği oluşur ve bu renkli kompleks 540 nm’de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Miranda ve ark., 2001).

Gerekli çözeltiler:

NaOH çözeltisi (0,3 M): 0,6 g NaOH tartılarak bir miktar distile suda çözülür. Hacim 50 mL’ye distile su ile tamamlanır.

ZnSO₄ (%10 g): 5 g ZnSO₄ veya 8,9 g ZnSO₄.7H₂O tartılır. Bir miktar distile suda çözülerek 50 mL’ye distile su ile tamamlanır.

HCl (1 M): 50 mL distile su üzerine derişik HCl’den 4,2 mL yavaş yavaş ilave edilir, karıştırılır.

VCl₃: 0,4 g VCl₃ bir miktar 1M HCl’de çözülerek üzeri 5 mL’ye aynı çözeltiyle tamamlanır.

HCl (%5): 25 mL’ye distile su üzerine %37’lik HCl den 2,86 mL yavaş yavaş ilave edilir.

SULF (Sülfanilamit) (%2 g): 0,5 g sülfanilamis tartılarak 25 mL %5’lik HCl içerisinde çözülür.

NEDD (N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür) (%0,1): 0,025 g NEDD tartılarak bir miktar deiyonize suda çözülür. Üzeri 25 mL’ye deiyonize suyla tamamlanır.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenatı 10 dk 4000 rpm’de santrifüj edilir. 0,3 mL süpernatant alınarak üzerine 0,3 mL 0,3 M NaOH ilave edilir. Oda sıcaklığında 5 dk bekletilir. 0,3 mL %10’luk ZnSO₄ ilave edilerek vortekslenir. 5 dk +4 °C’de 14000 rpm’de santrifüj edilir. Üst faz alınarak 5 dk +4 °C’de 14000 rpm’de santrifüj edilir. 2 adet deney tüpü kör ve numune olarak işaretlenir, aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Deproteinize Sıvı	0,3 mL	-
Distile Su	-	0,6 mL
VCl ₃	0,3 mL	0,3 mL
SULF	0,15 mL	-
NEDD	0,15 mL	-
30 dk 37 °C’de etüvde inkübe edilir		

Köre karşı 540 nm’de absorbans kaydedilir. Sonuçlar 53000 M⁻¹ cm⁻¹ ekstinsiyon katsayısı kullanılarak hesaplanır.

5.8.9. Doku faktörü aktivitesi tayini

Prensip: DF aktivitesi sağlıklı kişilerden alınan plazma kullanarak Quick metoduna göre tespit edilir (Ingram ve Hills, 1976). Doku homojenatı DF kaynağı olarak kullanılır. CaCl₂ ilavesinden sonra fibrin oluşumu için geçen süre tayin edilir. Aktivite süre ile ters orantılı olarak değişir.

Gerekli çözeltiler:

Sodyum sitrat çözeltisi (%3,8 g): 3,8 g sodyum sitrat bir miktar distile su ile çözülür ve distile su ile hacmi 100 mL’ye tamamlanır.

Plazma: Sağlıklı kişiden sitratlı kan (9mL kan + 1 mL %3,8 g’lık sitrat) alınarak plazması ayrılır.

Stok kalsiyum klorür çözeltisi (0,2 M): 2,22 g CaCl₂ bir miktar distile suda çözülür ve distile su ile hacmi 100 mL’ye tamamlanır.

Seyreltik kalsiyum klorür çözeltisi (0,02 M): 1 mL stok kalsiyum klorür çözeltisinin üzerine 9 mL distile su konulur, karıştırılır. 37 °C’de tutulur (taze hazırlanır).

Deneyin Yapılışı:

37 °C’lik su banyosunda, küçük bir deney tüpünün içine:

Doku homojenatı	0,1 mL
2 dk inkübe edilir	
Plazma	0,1 mL
Karıştırılır, 30 sn inkübe edilir	
0,02 M’lık CaCl ₂ çözeltisi	0,1 mL
Karıştırılır, pıhtı oluşumu için geçen süre kronometre ile tayin edilir	

5.8.10. Total antioksidan kapasite tayini

Bu method Erel'in yöntemine göre yapılmıştır ve 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin 6-sülfonik asitin) (ABTS) karakteristik renginin ağartılmasına dayandırılmaktadır. Numunede bulunan antioksidanlar, ağartma oranını konsantrasyonlarıyla orantılı bir derecede hızlandırır. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak izlenebilir ve ağartma hızı numunenin TAK'ı ile ters orantılıdır (Erel, 2004).

Gerekli Çözeltiler:

Reaktif 1 (Asetat tamponu (0,4 M pH=5,8)): 5 g $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ve 0,188 ml CH_3COOH bir miktar distile suda çözülür. Daha sonra hacimleri distile su ile 100 mL'ye tamamlanır. Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 5,8 olacak şekilde ayarlanır.

Asetat tamponu (30 mM pH=3,6): 0,027 g $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ve 0,16 ml CH_3COOH bir miktar distile suda çözülür. Daha sonra hacimleri distile su ile 100 mL'ye tamamlanır. Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 3,6 olacak şekilde ayarlanır.

Fosfat tamponu (30 mM, pH 7,4): 0,34 g Na_2HPO_4 ve 0,091 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılır, ayrı ayrı bir miktar distile suda çözülür, birleştirilir ve distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlanır. Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan pH kontrol edilir ve pH 7,4'e ayarlanır.

H_2O_2 çözeltisi (2 mM): %30 g'lık yoğunluğu $d=1,11 \text{ g/mL}$ olan H_2O_2 çözeltisinden 0,204 mL alınarak hacim asetat tamponu (30 mM, pH 3,6) ile 1 mL'ye tamamlanır. Hazırlanan çözelti 3 defa 1/10 oranında asetat tamponu (30 mM, pH 3,6) ile seyreltilir.

Reaktif 2 (ABTS) (10 mM): 5 mg ABTS tartılarak 10 mL H_2O_2 çözeltisi (2 mM) içinde çözülür.

Stok standart (6 mM): 15 mg Trolox tartılarak 10 mL fosfat tamponunda (30 mM, pH:7,4) çözülür.

Çalışma Standartları: 6 mM'lik stok Trolox çözeltisinden fosfat tamponu ile (30 mM, pH:7,4) uygun seyreltmelerle 0,5, 1, 2 ve 3 mM'lik çalışma standartları hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

%10 g'lık doku homojenatı 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant alınır ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune körü	Numune
Reaktif 1	200 µl	200 µl
Standart / Süpernatant	5 µl	5 µl
Reaktif 2	-	20 µl
	Karıştırılır, 660 nm’de ilk absorbans okunur.	Karıştırılır, 5 dk inkübe edildikten sonra 660 nm’de son absorbans okunur.
Son okunan absorbanstan ilk okunan absorbans değeri çıkarılır. Çizilen standart grafiği yardımıyla TAK Trolox mM olarak hesaplanır.		

5.8.11. Total oksidan kapasite tayini

Prensip: Bu metod Erel’in yöntemine göre yapılmıştır. Numunede bulunan oksidanlar, ferröz iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyonuna oksitler. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bulunan gliserol molekülleri tarafından güçlendirilir. Ferrik iyonu asidik ortamda ksilenol turuncu ile renkli bir kompleks oluşturur. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan oksidan moleküllerin toplam miktarı ile ilişkilidir (Erel, 2005).

Gerekli Çözeltiler:

Gliserol çözeltisi (25 mM): %98’lik yoğunluğu 1,23 g/mL olan gliserol çözeltisinden 11,4 mL alınarak hacim distile su ile 100 mL’ye tamamlanır.

H₂SO₄ çözeltisi (25 mM): Bir miktar distile su üzerine %98’lik yoğunluğu 1,84 g/mL olan H₂SO₄ çözeltisinden 0,136 mL ilave edilir. Daha sonra hacim distile su ile 100 mL’ye tamamlanır.

Reaktif 1: 0,818 g NaCl ve 11,41 mg ksilenol turuncu ayrı ayrı bir miktar H₂SO₄ çözeltisinde (25 mM) çözülür. Daha sonra birbirine karıştırılır. %98’lik yoğunluğu 1,23 g/mL olan gliserol çözeltisinden 11,4 mL alınarak çözeltiliye eklenir ve hacim H₂SO₄ çözeltisi (25 mM) ile 100 mL’ye tamamlanır.

Çalışma Standartları: %30’luk, yoğunluğu 1,11 g/mL olan H₂O₂ çözeltisinden distile su ile uygun seyreltmelerle 12,5, 25 ve 50 µM’lık çalışma standartları hazırlanır.

Reaktif 2: 0,317 g o-dianisidin-HCL ve 0,196 g ferroz amonyum sülfat ayrı ayrı bir miktar H₂SO₄ çözeltisinde (25 mM) çözülür. Daha sonra birbirine karıştırılır ve hacim H₂SO₄ çözeltisi (25 mM) ile 100 mL’ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

%10 g’lık doku homojenatı 4000 rpm’de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant alınır ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune körü	Numune
Reaktif 1	225 µl	225 µl
Standart / Süpernatant	35 µl	35 µl
Reaktif 2	-	11 µl
	Karıştırılır, 560 nm’de ilk absorban okunur.	Karıştırılır, 3-4 dk inkübe edildikten sonra 560 nm’de son absorban okunur.
Son okunan absorbanstan ilk okunan absorban değeri çıkarılır. Çizilen standart grafiği yardımıyla TOK H ₂ O ₂ µM olarak hesaplanır.		

5.8.12. Bor tayini

Prensip: Bu yöntem sülfirik asitli ortamda, karminik asit ve borun tepkimesi ile meydana gelen renkli kompleksin spektrofotometrik olarak 585 nm’deki absorbanının değerlendirilmesi temeline dayanır. Tayin edilecek maddedeki bor konsantrasyonuna bağlı meydana gelen kompleksin rengi parlak kırmızıdan mavimsi kırmızıya veya maviye dönüşür. Çalışmamızda Hatcher ve Wilcox’un bu metodu modifiye edilerek kullanıldı (Hatcher ve Wilcox, 1950; Kuru ve ark., 2019).

Gerekli Çözeltiler:

Stok bor çözeltisi (10 ppm): 571,6 mg borik asit tartılarak bir miktar distile suda çözülür. Hacim 100 mL’ye distile su ile tamamlanır. Hazırlanan çözelti 2 defa 1/10 oranında distile su ile seyreltilir (İlk seyreltmede 100 ppm’lik, ikinci seyreltmede ise 10 ppm’lik çözelti elde edilir).

Çalışma Standartları: 10 ppm’lik stok bor çözeltisinden uygun seyreltmelerle 1, 2, 4, 8, 10 ppm’lik çalışma standartları hazırlanır.

Hidroklorik asit çözeltisi (6N): Balon jojede bir miktar distile suya yavaşça 49,6 mL derişik HCl karıştırılarak ilave edilir. Çözeltinin hacmi 100 mL’ye distile su ile tamamlanır.

Karmin reaktifi (0,4 mM): 9,2 mg karminik asit tartılarak hacmi derişik sülfat asidi ile 50 mL’ye tamamlanır. Taze hazırlanır.

Sodyum hidroksit çözeltisi (1N): 4 g NaOH tartılarak bir miktar distile suda çözülür.

Daha sonra hacim 100 mL’ye distile su ile tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

Bor tayini yapılacak örnek yüksek sıcaklığa dayanıklı porselen kroze içine alınır ve NaOH (1N) ile alkali yapıldıktan sonra etüvde 75°C’de 1 gece bekletilir. Kroze kül fırınına yerleştirilir

ve 4 saat 550°C’de yakılır. Desikatörde oda sıcaklığına gelene kadar soğuması beklenir. Distile su ile ıslatılır, her örnek için gramı başına 3 mL 6 N HCL eklenir. Distile su ile uygun hacime seyreltilir. 4000 rpm’de 10 dk santrifüj edilerek süpernatanttan 0,2 mL alınır, aşağıdaki gibi çalışılır.

			Bor Çalışma Standartları				
	Numune	Kör	1 ppm	2 ppm	4 ppm	8 ppm	10 ppm
Örnek	0,2 mL	-	-	-	-	-	-
Stok Bor Çözeltisi (10 ppm)	-	-	0,02 mL	0,04 mL	0,08 mL	0,16 mL	0,2 mL
Distile Su	-	0,2 mL	0,18 mL	0,16 mL	0,12 mL	0,04 mL	-
Konsantre HCL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL
Konsantre H ₂ SO ₄	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Karmin Reaktifi	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL

Her tüp vorteksle karıştırılır. En az 45 dk beklenir ve absorbanlar 585 nm’de köre karşı spektrofotometrede okunur. Standart grafiği yardımıyla örneklerdeki bor konsantrasyonları hesaplanır.

5.8.13. Sodyum dodesil sülfat poliakrilamit jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Prensip: Sodyum dodesil sülfat ile net yükü negatif yapılmış proteinler elektrik akımı altında akrilamit - bis akrilamit jel üzerinde hareket ederken molekül ağırlıklarına göre birbirinden ayrılırlar. Elektroforez bitiminde görünür hale getirilen protein bantları molekül ağırlıkları ve miktarları açısından değerlendirilir (Laemmli, 1970).

Gerekli Çözeltiler:

Tris çözeltisi (1,5M, pH 8,8). Tris-HCl çözeltisi (1M, pH 6,8)

SDS çözeltisi (Sodyum dodesil Sülfat) (%10 g)

Akrilamit/Bisakrilamit çözeltisi ((30g/0,8g)/dL)

Amonyum persülfat çözeltisi (%10 g, Deney anında taze hazırlanır)

TEMED (Tetrametiletilendiamin): Orijinal şişesinden kullanılır.

Gliserin: Orijinal şişesinden kullanılır.

2-Merkaptoetanol: Orijinal şişesinden kullanılır.

Bromfenol Mavisi Çözeltisi (%1 g):

Boyama Çözeltisi: 2,5 g Commasie Brilliant Blue, 454 mL distile su içinde çözöldü. Üzerine 454 mL metanol ve 92 mL asetik asit ilave edilir. İyice karıştırılır. Koyu renkli şişede ağzı sıkıca kapatılarak saklanır.

Boya Çıkarma Çözeltisi: %10'luk (v/v)

PAGE Tamponu: 3 g Tris, 15 g glisin ve 1 g SDS (veya 1 g SDS yerine %10 g lık SDS çözeltisinden 10 mL alınabilir) ayrı ayrı distile suda çözöldükten sonra karıştırılır. Hacim 1000mL'ye tamamlandı.

PAGE Yükleme Tamponu: 1 M Tris çözeltisi (pH 6,8), 1,6 mL gliserin, %10 g SDS çözeltisi 0,4 mL 2-Merkaptoetanol, 8 mL distile su karıştırılarak hazırlandı (Uzun süre dayanır).

Deneyin Yapılışı:

Jellerin Hazırlanması

ALT JEL (% 7,5 g lık)	
Distile su	14,61 mL
1,5MTris(pH=8,8)	7,5 mL
Akril/bisAkril(%30g)	7,5 mL
%10 g Amonyum persulfat	0,1 mL
%10 g SDS	0,3 mL
TEMED	0,1 mL
Toplam hacim	30,1 mL

ALT JEL (% 7,5 g lık)	
Distile su	14,61 mL
1,5 M Tris (pH=8,8)	7,5 mL
Akril/bisAkril (%30 g)	7,5 mL
%10 g Amonyum persulfat	0,1 mL
%10 g SDS	0,3 mL
TEMED	0,1 mL
Toplam hacim	30,1 mL

Sırası ile bir erlene devamlı karıştırılarak konulur. Hemen cam levhalar arasına dökölür. Polimerize olması için 20 dk beklenir.

ÜST JEL (% 4,5 g lık)	
Distile su	7,65 mL
1,5 M Tris(pH=6,8)	1,25 mL
Akrilamit/bisAkrilamit (%30g)	1,35 mL
%10 g Amonyum persülfat	0,1 mL
%10 g SDS	0,1 mL
TEMED	0,1 mL
Toplam hacim	10,55 mL

Sırası ile bir erlene devamlı karıştırılarak konulur. Hemen polimerize olmuş alt jel üzerine dökülür. Çok çabuk polimerize olduğundan işlemler çabuk yapılmalıdır.

PAGE için numunelerin hazırlanması

Total protein tayini yapılmış homojenizatların herbiri ayrı ayrı hacimce $\frac{1}{4}$ oranında PAGE yükleme tampon ile karıştırılır, 90-100°C'de 5 dakika ısıtılır. Soğuması beklenir. Bu şekilde denatüre edilen deri proteinleri karışımdan 20 µg protein içeren uygun hacimlerde (10-30µL) kuyulara tatbik edilir (kuyular en fazla 30µL alabiliyor).

PAGE için standard protein karışımının hazırlanması

Sığır albümini, yumurta albümini, tavşan kası gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz, ve sığır karbonik anhidraz'dan oluşan protein karışımı kullanıldı. Liyofilize proteinler distile su ile çözülerek 50 µL'lik kısımlar halinde derin dondurucuda saklanır. Çalışılacağı zaman 50 µL alınıp 350 µL yükleme tampon ile karıştırılır. 5 dakika 90-100 °C'de tutulur. Bu karışımdan kuyu başına 26,5 µL konulur. Standart protein karışımındaki proteinlerin molekül ağırlıkları aşağıda belirtilmiştir.

Sığır albümini: 66 kDa

Yumurta albümini: 45 kDa

Tavşan kası gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz: 36 kDa

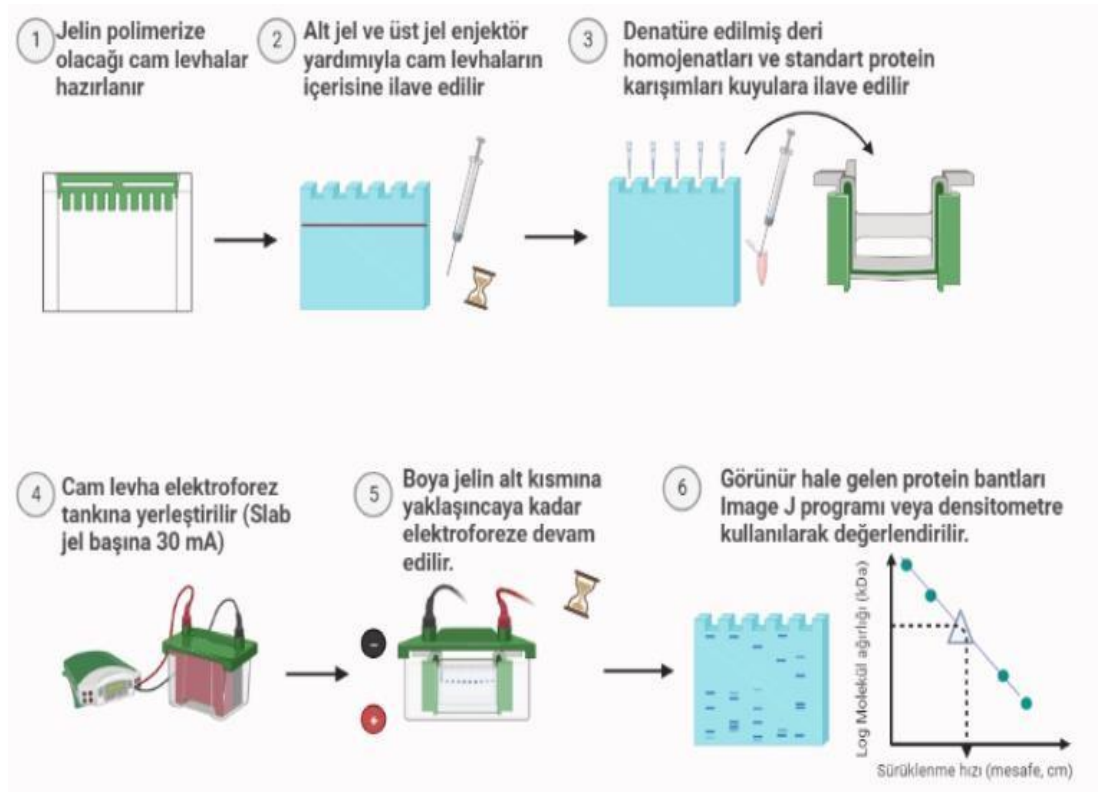
Sığır karbonik anhidraz: 29 kDa

SDS-PAGE için slab jelin hazırlanması ve elektroforezin yapılması (Şekil 23)

1. İçinde jelin polimerize olacağı kuru ve temiz iki cam levha (10 x 10 cm) 1 mm aralıkla üst üste yerleştirilir, yanları ve alt kısmı plastik bant ile kapatılır. Üst taraftan tarak konulur. Tarağın alt ucundan 1 cm'lik uzaklık cam kalemi ile işaretlenir.
2. Hazırlanan alt jel dikey olarak tutulan 2 cam levhanın arasına işaretli kısma kadar enjektör yardımıyla ilave edilir. Üzerine polimerize olup olmadığını anlamak için çok

az distile konularak alt jelin polimerize olması için yaklaşık 20 dk beklenir. Su ve jel arasında çizgi oluşunca su dökülür. Süzgeç kağıdı ile kalan su damlaları alınır. Üst jel hazırlanır hazırlanmaz yine bir enjektör yardımı ile alt jel üzerine tabakalandırılır. Üst jel çok çabuk polarize olduğundan çabuk hareket etmek gerekir. Hava kabarcığı kalmayacak şekilde üst jel içine kuyucuk oluşturmak amacıyla tarak yerleştirilir ve üst jelin polimerize olması beklenir.

3. Çalışılacağı zaman tarak üst jeli bozmayacak şekilde dikkatlice çıkarılır. Denatüre edilmiş deri homojenizatları ve standard protein karışımı hesaplanan miktarlarda kuyulara Hamilton enjektörü yardımı ile ilave edilir. Cam levhaları tutan alt bant çıkarılır. Cam levha elektroforez tankına yerleştirilir.
4. On adet kuyu ihtiva eden bir slab jel başına 30 mA'lık akım uygulanır. Boya jelin alt kısmına 0,5-1 cm yaklaşıncaya kadar elektroforeze devam edilir. Bu işlem yaklaşık 2-2,5 saat sürer. Elektroforez tamamlanınca cam levhaları tutan yandaki bantlar açılır. İçindeki jeller spatül yardımı ile alınarak boyama çözeltisi içine batırılır. 15-20 dk bu çözelti içinde tutulur. Boyanan jeller daha sonra boya çıkarma çözeltisine alınır. Bir gece veya daha fazla tutularak protein bantlarının iyice görünür hale gelmesi sağlanır.
5. Görünür hale gelen jeller densitometre veya Image J programı kullanılarak değerlendirilir. Deri örneklerindeki proteinlerin molekül ağırlıkları standart proteinlerin molekül ağırlığı yardımı ile $\ln MA$ ve rf (protein bantların orjine göre uzaklıklarının yürüme mesafesine oranı) değerleri ile oluşturulan grafikten hesaplanır.
6. Protein bantların yoğunluğuna göre çizilen grafikler veya pik alanları birbiri ile karşılaştırılarak hangi protein bandının değiştiği tespit edilir.



Şekil 23. SDS PAGE elektroforezin yapılışı

5.9. İstatiksel analiz

İstatiksel analiz Graphpad Prism 9.0 (Graphpad Yazılım, San Diego, Ca, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm veriler ortalama $\pm$ ortalama standart hata olarak ifade edilmiştir. Biyokimyasal veri grupları varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey testi kullanılarak karşılaştırılmış olup $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Deride İncelenen Parametrelerin Sonuçları

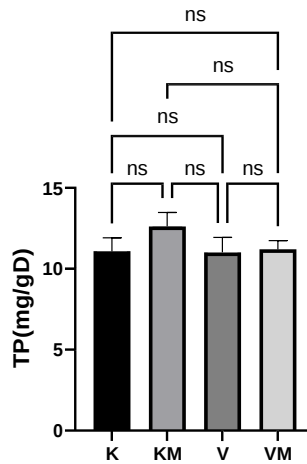
6.1.1. Total protein sonuçları

Deri homojenatlarında TP değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$, anlamsız) (Tablo 7, Şekil 24).

Tablo 7. Deri örneklerinde TP (mg/gD) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
TP (mg/gD)	Ortalama değer	11,08	12,62	11,02	11,21
	Standart hata	0,84	0,86	0,93	0,54

D: Doku, **TP:** Total protein; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 24. Deri örneklerinde TP değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

D: Doku, **TP:** Total protein; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, **ns:** Anlamsız ($p>0,05$).

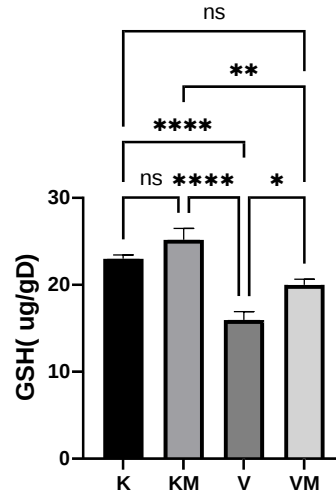
6.1.2. Glutasyon sonuçları

Deri homojenatlarında GSH değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,0001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$). KM grubunda ise K grubuna göre artış oldu ama bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$) (Tablo 8, Şekil 25).

Tablo 8. Deri örneklerinde GSH ($\mu\text{g/g D}$) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
GSH ($\mu\text{g/g D}$)	Ortalama değer	23,00	25,19	15,96	19,98
	Standart hata	0,43	1,29	0,94	0,65

D: Doku, **GSH:** Glutasyon, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 25. Deri örneklerinde GSH değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

D: Doku, **GSH:** Glutasyon, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, * $p<0,05$, ** $p<0,01$, **** $p<0,0001$, **ns:** Anlamsız ($p>0,05$).

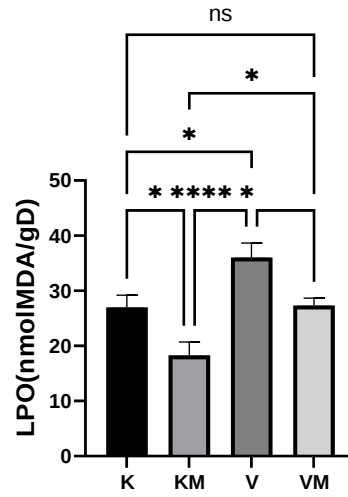
6.1.3. Lipit peroksidasyon sonuçları

Deri homojenatlarında LPO değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$; $p<0,0001$). VM grubunda V grubuna göre ve KM grubunda K grubuna göre LPO değerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$) (Tablo 9, Şekil 26).

Tablo 9. Deri örneklerinde LPO (nmol MDA/g D) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
LPO (nmol MDA/g D)	Ortalama değer	27,03	18,33	36,07	27,34
	Standart hata	2,14	2,38	2,59	1,30

D: Doku, **LPO:** Lipit peroksidasyon, **MDA:** Malondialdehit, **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 26. Deri örneklerinde LPO değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması
D: Doku, **LPO:** Lipit peroksidasyon, **MDA:** Malondialdehit; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, * $p < 0,05$, **** $p < 0,0001$, ns: Anlamsız ($p > 0,05$).

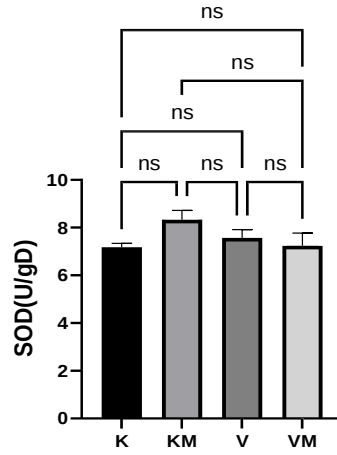
6.1.4. Süperoksit dismutaz sonuçları

Deri homojenatlarında SOD değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$, ns) (Tablo 10, Şekil 27).

Tablo 10. Deri örneklerinde SOD (U/gD) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
SOD (U/gD)	Ortalama değer	7,18	8,33	7,56	7,24
	Standart hata	0,16	0,39	0,35	0,53

D: Doku, **SOD:** Süperoksit dismutaz; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 27. Deri örneklerinde SOD değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması
D: Doku, **SOD:** Süperoksit dismutaz; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, **ns:** Anlamsız ($p>0,05$).

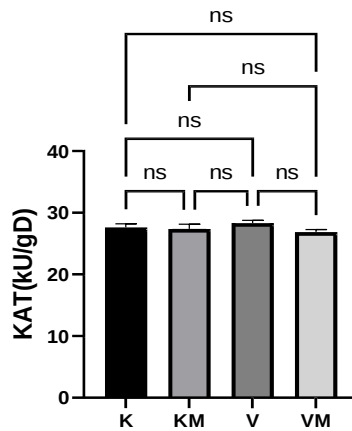
6.1.5. Katalaz sonuçları

Deri homojenatlarında KAT değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 11, Şekil 28).

Tablo 11. Deri örneklerinde KAT (kU/gD) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
KAT (kU/gD)	Ortalama değer	27,62	27,40	28,35	26,88
	Standart hata	0,58	0,75	0,43	0,40

D: Doku, **KAT:** Katalaz; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 28. Deri örneklerinde KAT değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması
D: Doku, **KAT:** Katalaz; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, **ns:** Anlamsız ($p>0,05$).

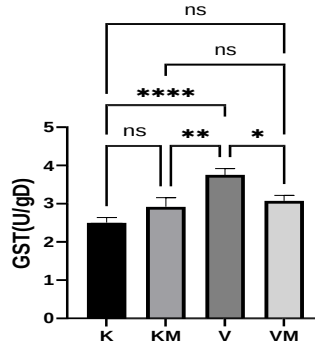
6.1.6. Glutasyon-S-transferaz sonuçları

Deri homojenatlarında GST değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak arttı ($p<0,0001$, $p<0,01$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$). KM grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim olmadı ($p>0,05$) KM ve VM rupleri arasında da anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Tablo 12, Şekil 29).

Tablo 12. Deri örneklerinde GST (U/gD) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
GST (U/gD)	Ortalama değer	2,50	2,92	3,75	3,07
	Standart hata	0,14	0,24	0,17	0,14

D: Doku, **GST:** Glutasyon-S-transferaz; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 29. Deri örneklerinde GST değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

D: Doku, **GST:** Glutasyon-S-transferaz; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,0001$, ns: Anlamsız ($p>0,05$).

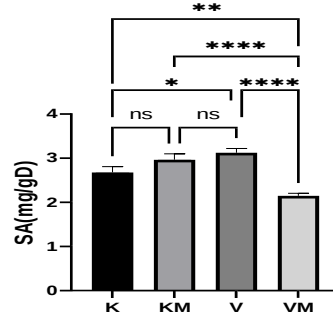
6.1.7. Siyalik asit sonuçları

Deri homojenatlarında SA değerleri V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p>0,05$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,0001$) (Tablo 13, Şekil 30).

Tablo 13. Deri örneklerinde SA (mg/gD) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
SA (mg/gD)	Ortalama değer	2,68	2,96	3,12	2,15
	Standart hata	0,13	0,13	0,10	0,06

D: Doku, **SA:** Siyalik asit; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 30. Deri örneklerinde SA değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması
D: Doku, **SA:** Siyalik asit; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$, **ns:** Anlamsız ($p > 0,05$).

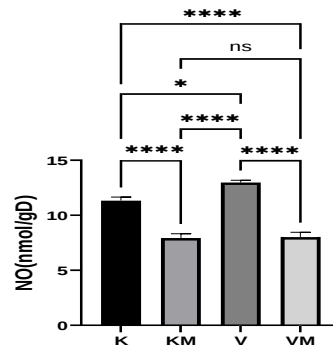
6.1.8. Nitrit oksit sonuçları

Deri homojenatlarında NO değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak arttı ($p < 0,05$, $p < 0,0001$), VM grubunda V grubuna göre ve KM grubunda K grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p < 0,0001$). KM ve VM grupları arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$) (Tablo 14, Şekil 31).

Tablo 14. Deri örneklerinde NO (nmol/gD) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
NO (nmol /g D)	Ortalama değer	11,33	7,94	12,97	8,02
	Standart hata	0,30	0,39	0,22	0,43

D: Doku, **NO:** Nitrit oksit; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 31. Deri örneklerinde NO değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması
D: Doku, **NO:** Nitrit oksit; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, * $p < 0,05$, **** $p < 0,0001$, **ns:** Anlamsız ($p > 0,05$)

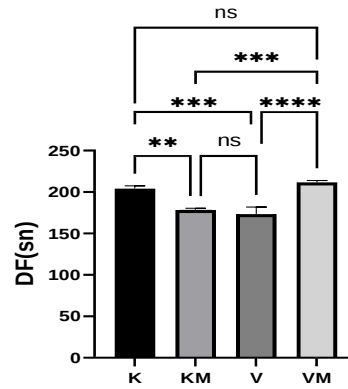
6.1.9. Doku faktörü sonuçları

Deri homojenatlarında DF değerleri V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p<0,001$), VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,0001$). Sürenin uzaması DF aktivitesinin azalması, sürenin kısılması da DF aktivitesinin arttığı anlamına gelmektedir (Tablo 15, Şekil 32).

Tablo 15. Deri örneklerinde DF (sn) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
DF (sn)	Ortalama değer	204	178	174	212
	Standart hata	3,41	1,98	8,35	2,46

D: Doku, **DF:** Doku faktörü; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 32. Deri örneklerinde DF değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

DF: Doku faktörü; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$, **ns:** Anlamsız ($p>0,05$).

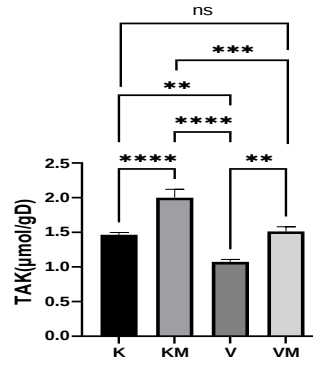
6.1.10. Total antioksidan kapasite sonuçları

Deri örneklerinde TAK değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,01$, $p<0,0001$). VM grubunda ise V grubuna göre ($p<0,01$) ve KM grubunda ise K grubuna göre ($p<0,0001$) anlamlı olarak arttı (Tablo 16, Şekil 33).

Tablo 16. Deri örneklerinde TAK ($\mu\text{mol/gD}$) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
TAK ($\mu\text{mol/gD}$)	Ortalama değer	1,47	2,00	1,07	1,51
	Standart hata	0,03	0,12	0,036	0,07

D: Doku, **TAK:** Total antioksidan kapasite; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 33. Deri örneklerinde TAK değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması
D: Doku, **TAK:** Total antioksidan kapasite; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, **p<0,01, ***p<0,001, ****p<0,0001, ns: Anlamsız (p>0,05).

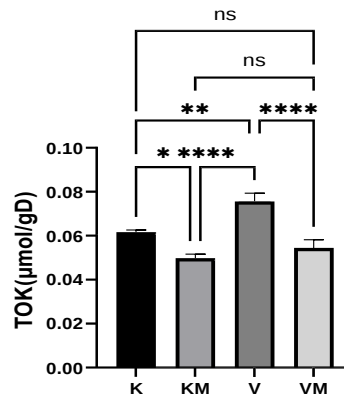
6.1.11. Total oksidan kapasite sonuçları

Deri örneklerinde TOK değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak arttı (p<0,01, p<0,0001). VM grubunda V grubuna göre (p<0,0001) ve KM grubunda K grubuna göre (p<0,05) anlamlı olarak azaldı (Tablo 17, Şekil 34).

Tablo 17. Deri örneklerinde TOK (µmol/gD) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
TOK (µmol/gD)	Ortalama değer	0,062	0,049	0,076	0,055
	Standart hata	0,001	0,002	0,004	0,004

D: Doku, **TOK:** Total oksidan kapasite; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup



Şekil 34. Deri örneklerinde TOK değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması
D: Doku, **TOK:** Total oksidan kapasite; **K:** Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, *p<0,05, **p<0,01, ****p<0,0001, ns: Anlamsız (p>0,05).

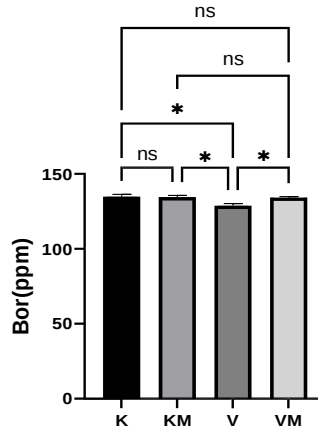
6.1.12. Bor sonuçları

Deri homojenatlarında bor değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$). VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p<0,05$) (Tablo 18, Şekil 35).

Tablo 18. Deri örneklerinde bor (ppm) değerleri

		K (n=8)	KM (n=8)	V (n=8)	VM (n=8)
BOR (ppm)	Ortalama değer	135,90	134,50	128,90	134,30
	Standart hata	1,56	1,24	1,38	0,73

K: Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup

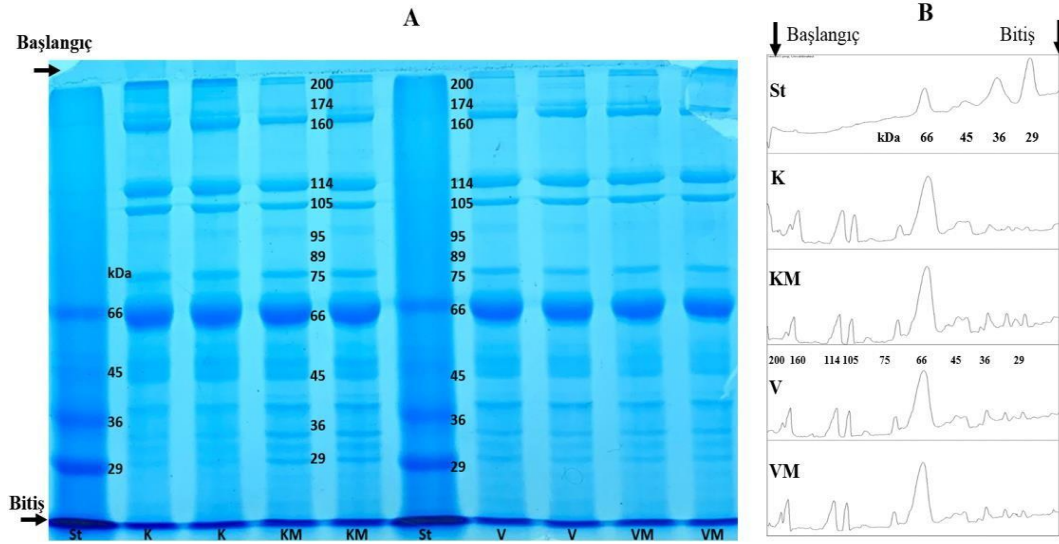


Şekil 35. Deri örneklerinde bor değerlerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

K: Kontrol grubu, **KM:** Moringa ekstresi verilen kontrol grubu, **V:** Valproik asit verilen grup, **VM:** Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup, * $p<0,05$, ns: Anlamsız ($p>0,05$).

6.1.13 SDS-poliakrilamit jel elektroforez sonuçları

SDS-PAGE ile elde edilen protein bantları, her numune için aynı pozisyondaydı ve incelenen tüm deri örneklerinde moleküler ağırlıklar 200-29 kDa arasında değişiyordu. Image J programı ile değerlendirilen protein bantlarının yoğunluğu açısından gruplar arasında önemli farklar bulunmadı. KM grubunda K grubuna göre molekül ağırlığı 200 kDa olan protein bant yoğunluğunda azalma, 75 kDa'luk proteinde ve 66 kDa'dan daha düşük molekül ağırlıklı proteinlerin bant yoğunluklarında artma görüldü. V ve VM gruplarında molekül ağırlığı 200kDa olan protein bant yoğunluğunda K grubuna göre azalma ve KM grubuna göre ise 66 kDa'dan daha düşük molekül ağırlıklı proteinlerin bant yoğunluklarında azalma gözlemlendi. V ve VM grupları arasında ise belirgin bir fark saptanmadı (Şekil 36 A ve B).



Şekil 36. Deri proteinlerinin SDS-PAGE bantlarına örnek (A); Image J programı ile taranmış SDS-PAGE bantlarının grafikleri (B)

St: Standart protein karışımı (sığır albümini: 66 kDa; yumurta albümini: 45 kDa; gliseralehit-3-fosfat dehidrogenaz: tavşan kası, 29 kDa ve sığır karbonik anhidraz: 29 kDa); MW: Moleküler ağırlık; K: Kontrol grubu; KM: Moringa ekstresi verilen kontrol grubu; V: Valproik asit grubu; VM: Valproik asit ve moringa ekstresi verilen grup

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Epilepsi, dünya çapında her yaştan yaklaşık 50 milyon insanı etkileyen, en yaygın nörolojik hastalıklardan biridir (WHO, 2019). Epilepsi krizi, beyindeki nöronların elektriksel işlevindeki kontrolsüz değişimler sonucu birden başlayıp kendiliğinden geçen ve şuur kaybına sebep olan nöbetler şeklinde seyreder. VPA, epilepsi tedavisinde genellikle iyi tolere edildiğinden ve nispeten güvenli olduğundan yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu bir ilaçtır. Günümüzde halen kompleks parsiyel/tonik-klonik, depresyon, migren gibi şiddetli baş ağrıları ve şizofreni gibi birçok nöbetin tedavisinde antikonvülsan etkisi nedeniyle kullanılmaktadır (Oztaylan ve ark., 2022).

Hem erişkinlerde hem de çocuklarda kullanılan VPA'nın, pek çok istenmeyen yan etkileri mevcuttur. VPA'nın dermatolojik yan etkilerinde; hirsutizm, saçın dökülmesi, renginin değişmesi, uzamasında değişim gibi farklı etkiler, deri döküntüleri, Liken Planus, Onikomadezis, SJS ve TEN gibi hastalıklar bildirilmiştir (Ofiaz ve ark., 2011; İçağasıoğlu ve ark., 2011; Öner ve ark., 2012; Özcan ve ark., 2015a; Şimşek, 2019; Kayış ve ark., 2020).

Hastalıklarda serbest radikallerin rolü çok açık değildir (Yılmaz ve Tan, 2006). Oksidatif stresin bir sebep mi yoksa primer hastalık sürecinin bir sonucu mu tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte enzimlerin ve yapısal proteinlerin oksidatif modifikasyonlarının hastalıkların etyolojisinde önemli rol oynayabileceği kesinlik kazanmıştır (Çakatay ve Kayalı, 2004).

Protein oksidasyonu ile ilişkilendirilmiş olan hastalıklar şunlardır: Epilepsi, Alzheimer hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz, diyabet, yenidoğan sepsisi, malnütrisyon, Duchenne ve Becker kas distrofisi, juvenil kronik ve romatoid artrit, katarakt oluşumu, koroner kalp hastalığı, kronik akciğer hastalığı, kronik böbrek yetmezliği/üremi, primer sklerozan kolanjit, alkole bağlı karaciğer hastalığı, non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, kronik hepatit C, kistik fibroz, mesane kanseri, parkinson hastalığı, polikistik over hastalığı, preeklemsi, psöriazis, sepsis, sistemik amiloidoz, varikosel, serebral iskemi, nazal polipozis, adenoid hipertrofisi ve presbiakuzi (Çakatay ve Kayalı, 2004; Yılmaz ve Tan, 2006).

Oksidatif stres, hücredeki metabolik olaylar sonucu ortaya çıkan hidroksil, süperoksit ve hidrojen peroksit radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışıyla bunların detoksifikasyonundan sorumlu antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması durumudur (Özcan ve ark., 2015b). VPA kullanımının neden olduğu olumsuz etkilerden en önemlisi organizmadaki oksidatif stres artışıdır. VPA, ROS oluşumuna neden olur ve ROS, mitokondriyal oksidasyonda üretilen hücresel metabolizmanın yan ürünleridir (Azirak

ve ark., 2022). ROS'lar hücre bileşenlerini lipitleri, proteinleri ve DNA'yı olumsuz yönde etkilerler (Su ve ark., 2019). Tedaviler için yaygın olarak kullanılsa da vücutta doku ve organ hasarına sebebiyet verecek serbest radikaller üretmesi VPA'nın göz önüne alınacak olumsuz etkilerindendir (Oztaylan ve ark., 2022).

Organizmada serbest radikallerle antioksidanlar arasında hassas bir denge mevcuttur. Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engeller veya uzaklaştırılmasını sağlar. Böylece enfeksiyonlara ve çeşitli hastalıkları önlemeye yardımcı olur (Kaminsa, 2019). Aslında vücuttaki hücrelerde üretilen KAT ve SOD gibi enzimler, GSH gibi indirgeyici moleküller sayesinde oksidatif stres dengelenir. Bunun yanında birçok besinsel kaynaktan elde edilebilen A, C ve E vitaminleri, polifenoller oksidatif strese karşı ek koruyucu bileşenlerdir. Bu antioksidanlar; DNA ve proteinlerdeki oksidatif stresi, lipid peroksidasyonunu, hücre apoptozisi ve sitotoksik hasarı inhibe ederek serbest radikallerin zararlarını ortadan kaldırır (Kopan, 2019). Bu doğal antioksidanlar aynı zamanda tıbbi amaçlar için besinsel değeri yüksek bileşiklerdir.

Bitkiler geçmişten günümüze kadar tedavi amacıyla halk arasında kullanılmaktadır. *M. oleifera* bitkisi de bu tür bitkilerden biridir. Proteinler, vitaminler, polifenoller, flavonoidler, beta-karoten ve doğal antioksidanlar dâhil olmak üzere zengin bir besin ve mineral kaynağıdır. *M. oleifera* yapraklarının özü fenolik bileşikler içerir ve bunların birincil antioksidanlar olarak hareket ettikleri bilinmektedir. Yapılan kimyasal bileşim analizleri *M. oleifera* yaprak ekstraktının alkaloidler, polifenoller, tanenler, steroller gibi daha birçok ikincil metabolitler içerdiği bildirilmiştir (Kaminsa, 2019). Yapısında bulunan tanenler, saponinler, flavonoidler ve glikozitlerin etkili antioksidanlar olduğu gösterilmiştir (Vergara Jimenez ve ark., 2017). Kumarinler ve türevlerinin de çeşitli biyolojik ve farmakolojik aktiviteler sergiledikleri bulunmuş ve insan sağlığı üzerindeki potansiyel yararlı etkileri nedeniyle büyük ilgi toplamıştır (Sokmen ve ark., 2013). Özetle *M. oleifera*'dan elde edilen ekstraktlar, antioksidan (Moyo ve ark., 2012b); antiinflamatuvar (Cheenpracha ve ark., 2010); immünomodülatör (Sudha ve ark., 2010); mantar önleyici (Chuang ve ark., 2007); antibakteriyel (Moyo ve ark., 2012a), anti-kanser (Parvathy ve Umamaheshwari, 2007); antidiyabetik (Jaiswal ve ark., 2009) ve hepatoprotektif (Buraimoh ve ark., 2011) fonksiyonlar dâhil olmak üzere çoklu nutrasötik veya farmakolojik fonksiyonlar sergilemektedir.

Literatür çalışmaları incelendiğinde; *Apium graveolens* L., *Kaempferia parviflora*, *Bacopa monniera*, yeşil çay, Kore kırmızı ginseng, *Oryza sativa*, *Ocimum sanctum*, *Withania somnifera* özleri ve diamonyum glisirizinat, sülföröfan, U vitamini, B6 vitamini, E vitamini, diallil trisülfid, kurkumin dahil bitki kaynaklı bileşiklerin, α -tokoferol, kuersetin, piperin, resveratrol,

hesperitin, timokinon, kafeik asit ve asiyaatik asit gibi maddelerin VPA kaynaklı toksisitelere karşı koruma sergilediği görülmüştür (Adewole ve ark., 2021).

Gıda ve ilaçlarda yaygın olarak kullanılan Moringa yaprağı ve diğer ürünlerin dermatolojik tedavi edici etkisini gösteren klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Literatürde VPA verilen sıçanların derisi üzerine *M. oleifera* ekstresinin etkisinin incelendiği çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada, VPA uygulanan sıçanlarda *M. oleifera* alkolik ekstraktının cilt üzerindeki olası koruyucu etkisi araştırılmıştır.

Bitki ekstraktındaki antioksidan aktivite genellikle fenolik, flavonoid ve diğer antioksidan bileşenlerin varlığından kaynaklanır. *M. oleifera*'nın yaprak özlerini standardize eden ve bu yaprakların kalite değerlendirmesi için analitik yöntemler geliştiren çalışmalar, etanolik ekstraktların en yüksek flavonoid içeriğine sahip olduğunu ve flavonoidlerin en yüksek ekstraksiyon verimine %70 etanol kullanılarak ulaşabileceğini göstermiştir (Stohs ve Hartman, 2015; Wang ve ark., 2017; Nobossé ve ark., 2018; Riskianto ve ark., 2021). Bu araştırmalardan yola çıkarak çalışmamızda, dişi Sprague Dawley sıçanlara *M. oleifera* % 70'lik etanolu yaprak ekstresi tek doz 0,3 g/kg/gün olacak şekilde verilmiştir. Asiedu-Gyekye ve arkadaşları (2014) sıçanlarda yaprak ekstraktının (40 mg/kg ila 1000 mg/kg) akut toksisite ve (5000 mg/kg) subakut toksisite çalışmalarını yapmış ve bu çalışmalarda herhangi belirgin bir ters reaksiyon gözlemlememişlerdir. Bu da *M. oleifera*'nın elemental bileşimi dikkate alındığında tüketim için güvenli olduğuna dair kanıt sağlamıştır. VPA'nın yetişkin dozu 500-3000 mg/gün olarak belirlenmiştir. (Çetinay Aydın ve ark., 2009). Literatürdeki birçok çalışmada hepatoksisite yapan ve dokularda oksidatif strese sebep olan bir değer olarak 500 mg/kg/ gün kabul edilmektedir (Tong ve ark., 2005). Çalışmamızda VPA, 15 gün boyunca oral yolla tek doz sodyum valproat (0,5 g/kg/gün) olacak şekilde verilmiştir. *M. oleifera* ve VPA için kullanılan doz ve bu çalışmada kullanılan süreler, aynı modelleri kullanan diğer çalışmalarla aynı aralık ve kapsamdadır.

Çalışmamızda deri homojenatlarına; TP, GSH, LPO, SA, NO, GST, KAT, SOD, DF, bor, TAK ve TOK değerleri tayin edilmiş ve ayrıca deri homejenatları SDS-PAGE yapılarak incelenmiştir.

GSH organizmadaki bağışıklık sisteminin en önemli antioksidanı olup normal metabolik yolla sitoplazmada bir dizi tepkimeyle üretilir (Aksoy ve Bingöl Özakpınar, 2014). Tripeptit (glutamik asit, sistein glisin) olarak sentezlenen GSH, NADPH aracılığıyla hücrelere indirgeyici fonksiyon özelliği kazandırır (Aksoy, 2002). Toksik bileşiklere, radyasyona,

oksidatif hasara karşı hücreleri korumak, bazı ilaçların etkisizleştirilmesinde görev almak, plazma membranından amino asit transportunu sağlamak, bazı önemli antioksidanları yeniden oluşturmak, C ve E vitaminlerini düzenlemek GSH'ın görevleri arasında yer alır (Karabulut ve Gülay, 2016). Literatür çalışmaları incelendiğinde VPA toksisitesinin karaciğerde (Abdel-Daeem ve ark., 2018), lenste (Oztaylan ve ark., 2022), beyinde (Turkyilmaz ve ark., 2020) akciğer ve böbrekte (Magaji, 2022), kasta (Ertik ve ark., 2022), midede (Miftari, 2021), tükürük bezlerinde (Çergel, 2023) GSH değerinin azaldığı görülmüştür. Antioksidan etkiye sahip olan *M.oleifera*'nın lens ve beyin dokularında (Oztaylan ve ark., 2022; Turkyilmaz ve ark., 2020) α -lipoik asitin (ALA) GSH değerlerini artırdığı tespit edilmiştir. Edaravone'un ciltte valproik asit kaynaklı değişikliklere karşı koruyucu rolünün araştırıldığı bir çalışmada VPA, K grubuyla karşılaştırıldığında deride GSH düzeylerini önemli ölçüde değiştirmediği saptanmıştır (Tunali Akbay ve ark., 2017). *Moringa oleifera*'nın sıçanlarda arseniğin neden olduğu toksisite üzerindeki terapötik etkileri araştırıldığı bir çalışmada arseniğe maruz kalan sıçanların kan ve karaciğer dokularında GSH seviyesinde azalma ve ROS seviyesinde artış gösterdiği; arseniğe maruz kaldıktan sonra *M. oleifera* tohum tozunun (500 mg/kg, oral, günde bir kez) uygulamasının GSH seviyesinde belirgin iyileşme sağladığı tespit edilmiştir (Gupta ve ark., 2005). Bu sonuçlar *M. oleifera*'nın tohum tozunun güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. Literatürde deri dokusunda bu antioksidan parametrenin incelendiği çalışmalar nadirdir. UV A ışığının deride oluşturduğu oksidatif strese koenzim Q10 ve ALA'nın koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada, deri GSH düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadığı, belirtilmiştir (Yüksel, 2013). Çalışmamızda da deri homojenatlarında GSH değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldığı, VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Deride GSH'ın azalması VPA'nın neden olduğu oksidatif hasardan; GSH'ın artmasının ise *M. oleifera* yapraklarının içerdiği antioksidanlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), ROS'ların etkisiyle LPO'ya uğrar. LPO, serbest radikal türlerinin lipidlerden elektronları uzaklaştırdığı ve daha fazla reaksiyona girebilen reaktif ara ürünler ürettiği bir süreçtir (Su ve ark., 2019). LPO ürünlerinin mutajenik ve kanserojen olduğu gösterilmiştir (Gallelli ve ark., 2018). PUFA peroksidasyonunun üzerinde en fazla çalışılan ana ürünü MDA'dır (Aslankoç ve ark., 2019). Çalışmamızda da deri homojenatlarında LPO'nun bir göstergesi olarak MDA düzeyi belirlendi.

Literatürde mevcut çalışmalarda VPA uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre LPO miktarlarının arttığı tespit edilmiştir (Turkyilmaz ve ark., 2020; Keshavarz- Maleki ve ark., 2021; Magaji, 2022; Ertik ve ark., 2022). Dokuda VPA'nın oksidan etkili olması LPO'nun

seviyesinde artışa sebep olmaktadır. Çalışmamızda deri homojenatlarında LPO değerleri V grubunda kontrol gruplarına göre anlamlı olarak arttığı, buna karşın VM grubunda V grubuna göre ve KM grubunda K grubuna göre LPO değerleri anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. *M. oleifera* ekstresinin kullanılması LPO seviyesini önemli ölçüde azaltmıştır. Benzer şekilde sodyum valproat verilen ve karaciğer dokusunun üzerine *M. oleifera*'nın yaprak sulu ekstratının etkisinin incelendiği bir araştırmada, VPA verilen grupta MDA seviyelerinde artış, VPA+ Moringa grubunda ise MDA seviyelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir (Abdel-Daeem ve ark., 2018). Literatürde deri üzerine yapılan diğer bir çalışmada da VPA uygulaması deride MDA'yı önemli ölçüde değiştirmezken, antioksidan olarak edaravon verilen V grubunda MDA düzeyini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (Tunali Akbay ve ark., 2017).

SOD endojen olarak üretilen, ROS ve süperoksit anyon radikallerine karşı her hücre için elzem enzimatik antioksidandır (Çaylak, 2011; Aslankoç ve ark., 2019). SOD'un antioksidan savunma sistemi, süperoksit radikalini, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene katalizlemek şeklindedir (Karabulut ve Gülay, 2016). Mitokondride oksijenin suya redüksiyonunda, mevcut oksijen tüketiminin %1-2'si, potansiyel olarak süperoksit ve hidrojen peroksiti gibi sitotoksik moleküllerinin meydana gelmesine yol açar (Aslankoç ve ark., 2019). KAT hidrojen peroksiti, peroksizomlar gibi hücrelerin alt organel fragmanları içinde suya ve oksijene dönüştürmek için işlev görür (Miftari, 2021). Çalışmamıza deri homojenatlarında TP, SOD ve KAT değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05,ns$).

Edaravone'un ciltte VPA kaynaklı değişikliklere karşı koruyucu rolünün araştırıldığı bir çalışmada sıçanlara VPA uygulanması, cilt toplam proteinini, SOD-KAT düzeylerini önemli ölçüde değiştirmede saptanmıştır (Tunali Akbay ve ark., 2017). Gupta ve arkadaşlarının 2005'te yaptığı çalışmada karaciğer, böbrek ve beyinde SOD ve KAT aktivitelerinin arsenik maruziyetinde azalma gösterdiği; arseniğe maruz kaldıktan sonra *M. oleifera* tohum tozu uygulaması ile bu enzimler üzerinde artış olduğu bildirilmiştir. Bunun *M. oleifera*'nın antioksidan özelliğine bağlı olarak arseniğin neden olduğu oksidatif stresi azalttığı sonucuna varılmıştır (Gupta ve ark., 2005). Çalışmamızda deri homojenatlarında SOD ve KAT değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı. Afshari ve arkadaşlarının sıçanlarda VPA kaynaklı hepatotoksisite üzerine yaptıkları çalışmada VPA'nın KAT ve SOD üzerinde belirgin bir azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir (Afshari ve ark., 2023). Magaji'nin 2022'de yaptığı çalışmada ise valproatın neden olduğu oksidatif stres, hem akciğer hem de böbrek doku homojenatlarında SOD ve KAT aktivitelerinde önemli artışa neden olmuş ve bu enzim aktivitelerindeki artışın moringa ekstresinin uygulanması ile azaldığı belirtilmiştir. Çalışmada moringa ekstresinin, çeşitli antioksidan özellikleri sebebiyle, SOD ve KAT aktivitelerinde

azalmaya neden olduğu şeklinde değerlendirilmiştir (Magaji, 2022). Sıçanların beyin dokusu üzerinde yapılan bir çalışmada da VPA grubunun SOD aktivite seviyelerinin kontrol grubuna göre arttığı saptanmıştır (Çimen, 2018). Testis dokusunda yapılan bir çalışmada VPA verilen sıçanlarda KAT ve SOD aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, VPA'lı gruba edaravon (antioksidan etkili bir madde) uygulanması ile enzim aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur (Çelik, 2020). Literatürde çeşitli dokular üzerinde yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar görülebilmektedir. Çalışmalardaki sonuç farklılığı dokuların farklılığı, verilen maddelerin dozlarının miktarı, veriliş şekline bağlı olarak meydana gelmiş olabilir.

GST, GSH'ın toksik metabolitlerle konjugasyonunu katalize ederek oksijen zararlarını en aza indiren ve sinyal iletimine yardımcı olan enzimatik antioksidandır. GST, GSH'ın kükürt atomuna elektrofilik, nükleofilik ve çok çeşitli hidrofobik moleküllerinin eklenme reaksiyonunu katalize eder (Özaslan, 2022). Çalışmamızda deri homojenatlarında GST değerleri V grubunda kontrol gruplarına göre anlamlı olarak arttı, VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak azaldı. Literatürde VPA verilen sıçanların çeşitli dokularının incelendiği çalışmalara bakıldığında, bizim çalışmamızın sonucuna benzer sonuçların olduğu görülmüştür. Magaji'nin VPA ile oluşturulan akciğer ve böbrek hasarına *M. oleifera*'nın etkilerini araştırdığı çalışmada hem akciğer hem de böbrek dokularının valproik asit grubunda GST enzimin aktivitesinde kontrol grubuna göre artış gösterdiği, akciğer dokusunda valproik asit+moringa grubunun GST aktivitesinde valproik asit grubuna göre bir değişim gözlenmediği ancak böbrek dokusunda bir azalma olduğu saptanmıştır (Magaji, 2022). Çalışmada moringa ekstresinin, çeşitli antioksidan özellikleri sebebiyle bu enzim aktivitesinde azalma gösterdiği şeklinde değerlendirilmiştir. Deride (Tunali Akbay ve ark., 2017) ve tükürük bezlerinde (Çergel, 2023) GST aktivitesi VPA grubunda anlamlı olarak azaldığı; antioksidan özellikte maddeler eklendiğinde GST aktivitesini önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Testis dokusunda yapılan bir çalışmada VPA verilen sıçanlarda GST aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, VPA'lı gruba edaravon uygulanması ile enzim aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur (Çelik, 2020). Beyin dokusu üzerinde yapılan bir çalışmada VPA grubu sıçanların beyin dokusu GST aktivite değerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiği, VPA + pazı grubundaysa azalış gösterdiği tespit edilmiştir (Çimen, 2018). Antioksidan etkili olmasına rağmen hem edaravon (Inokuchi ve ark., 2009) hem de pazı (Sacan ve Yanardag, 2010) *M. oleifera*'dan farklı davranış sergilemişlerdir. Bunun nedeni bu antioksidan maddelerin kimyasal yapısı, uygulama şekli, dozu ve uygulama süresindeki farklılıklar olabilir.

SA, 9 karbonlu omurgaya sahip bir monosakkarittir ve birçok nöronal süreçte önemli rol oynar (Oktay ve ark., 2017). SA'lar esas olarak hücre yüzeyi glikoproteinlerinin ve glikolipitlerin

terminal bileşenleri olarak ortaya çıkar. Glikokonjugatların kimyasal ve biyolojik çeşitliliğinde görev alır (Schauer, 1995). Normal bireyin doku SA seviyeleri sabit olup değişiklik göstermezken enfeksiyon durumlarında seviyelerinin arttığı bilinmektedir. Oksidatif stres sonucu artan siyalidaz aktivitesinin SA'ları glikoprotein ve glikolipitlerin uç kısımlarından kopardığı ve vücut sıvılarında serbest SA artışına neden olduğu bildirilmiştir (Işık, 2009). Bu nedenle artan SA seviyeleri, oksidatif stresin neden olduğu çeşitli hastalıklar için iyi bir belirteçtir. Çalışmamızda deri homojenatlarında SA değerleri V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak arttı, VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak azaldı. Literatürde deride yapılan başka bir çalışmada VPA grubunda SA seviyesinin arttığı; Edaravone uygulamasının VPA grubunda cilt SA seviyesini değiştirmedeği saptanmıştır (Tunali Akbay ve ark., 2017). Literatürde farklı dokular ile yapılan çalışmalarda da VPA'ya bağlı oksidatif stres nedeniyle akciğer, böbrek ve kas dokularında VPA grubunda SA düzeylerinin önemli ölçüde arttığı; VPA grubuna *M. oleifera* ekstresi verildiğinde bu değerlerin azaldığı gözlemlenmiştir. Bunun nedeninin *M. oleifera*'nın içerisinde barındırdığı çok sayıda bileşiklerin antioksidan aktivitesi sayesinde ROS'ların dokudan temizlenmesi olarak değerlendirilmiştir (Magaji, 2022; Ertik ve ark., 2022). Deney sonucumuz bu çalışmalarla paralellik göstermektedir.

NO, serbest radikaller arasında yer alan küçük bir moleküldür (Karakaya ve ark., 2009). Organizmada NO seviyesi oksidatif strese bağlı olarak artar (Miftari, 2021). Deri homojenatlarında NO değerleri V grubunda kontrol gruplarına göre anlamlı olarak arttı, VM grubunda ise V grubuna göre ve KM grubunda K grubuna göre anlamlı olarak azaldı. Çalışmamızın sonuçları literatürde mevcut benzer çalışmalarla paralellik göstermektedir. Mide dokusu üzerinde yapılan çalışmada VPA grubunda oluşan hasar nedeni ile NO seviyesinin arttığı, moringa verilmesi ile artmış olan NO'nun azaldığı saptanmıştır (Miftari, 2021). Abdel-Daeem ve ark. (2018) yaptığı bir çalışmada sodyum valproat uygulaması karaciğer dokusunda zamana bağlı olarak oksidatif stres parametresi NO'da önemli bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeninin VPA ilacının bir dizi adımla hepatotoksisiteyi uyardığı, ROS ve birçok toksik metabolitin oluşumuna neden olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. Beyin dokusu üzerinde yapılan çalışmada VPA grubunda oluşan hasar nedeni ile NO seviyesi arttığı, ALA uygulanması ile artmış olan NO'nun azaldığı saptanmıştır (Turkyilmaz ve ark., 2020). ALA'nın oksidatif stres ve serbest radikaller üzerindeki koruyucu ve düzenleyici etkisinin olduğu, antioksidan özellikleriyle VPA'nın sebep olduğu beyin hasarını tersine çevirdiği şeklinde değerlendirilmiştir.

DF bir hücre zarı bileşenidir ve kan pıhtılaşma sisteminin birincil hücresel başlatıcısıdır (Oktay ve ark., 2017). Yapılan araştırmalar insan dokularında DF'nin eşit şekilde dağılmadığını

göstermektedir. Deride DF'nin epidermis ve mukozal epitelde mevcut olduğu ancak dermal ve submukozal fibroblastların çoğunda olmadığı tespit edilmiştir (Drake ve ark., 1989). Sağlıklı bireylerin serum ve plazmasında inaktif halde bulunan DF, hastalık ve çeşitli etkenlere bağlı olarak miktarında değişim göstermektedir (Kılıç, 2011). Çalışmamızda deri homojenatlarında DF değerleri V grubunda K grubuna göre anlamlı olarak arttı, VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak azaldı. Deride yapılan başka bir çalışmada da VPA uygulaması, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deri DF aktivitesini önemli ölçüde artırdığı; VPA grubuna edaravone verilmesi DF aktivitesini önemli ölçüde azaltmıştır. Cilt DF aktivitesindeki artış, VPA uygulaması sonucu cilt hasarı ile ilgili olabileceği; edaravone uygulamasıyla normalize edilen DF aktivitesi, edaravone'un serbest radikal temizleyici özelliğinde olması şeklinde değerlendirilmiştir (Tunali Akbay ve ark., 2017).

Literatüre bakıldığında deney sonucumuzla benzer çalışmalar olduğu gibi farklı sonuçlar da mevcuttur. Edaravon'un pankreasta VPA'ya bağlı doku hasarına etkisinin incelendiği çalışmada, DF aktivitesinin VPA grubunda kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttığı ve VPA+edaravon grubunda VPA ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır (Oktay ve ark., 2017). Buna karşın başka bir çalışmada ise lipoik asidin (LA), VPA ile oluşturulan toksisitede VPA uygulanan grubun karaciğer DF aktivitesinde, kontrol grubuna göre anlamlı değişim yapmadığı; sıçanlara LA verilmesinin, VPA grubunda DF aktivitesinde anlamlı artışa neden olduğu saptanmıştır (Güler, 2016). *M. oleifera*'nın VPA verilen sıçanlarda tükürük bezleri üzerine olası koruyucu etkisinin incelendiği çalışmada ise DF aktivitesi açısından fark tespit edilmemiştir (Çergel, 2023). Literatürdeki bu farklı sonuçlar, doku toksisitesinde VPA'nın mekanizmasının hala tam anlaşılmadığının bir göstergesidir.

Oksidatif stres deride ve vücuttaki diğer dokularda çeşitli hasarlara sebebiyet verir. Bunun yanında aşırı ROS üretimi organizmada antioksidan sistemde değişimlere neden olur. Biyolojik numunelerdeki ve doku homojenatlarındaki TAK ve TOK seviyeleri, antioksidan durumun ve oksitleyici hasarın derecesinin belirlenmesi için sıklıkla kullanılan faydalı biyobelirteçlerdir. Oksidatif strese bağlı olarak dokularda total antioksidan miktarının azaldığı, total oksidan miktarının arttığı bilinmektedir (Miftari, 2021). Deri örneklerinde TAK değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı, VM grubunda ise V grubuna göre ve KM grubunda ise K grubuna göre anlamlı olarak arttı. Buna karşın TOK değerleri ise V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak arttı, VM grubunda ise V grubuna göre ve KM grubunda ise K grubuna göre anlamlı olarak azaldı. Çalışmamızdaki TAK ve TOK değerleri arasındaki ters orantı literatürdeki mevcut çalışmaları destekler niteliktedir. VPA verilen grupta artmış TOK ve azalmış TAK değerleri, valproatın ve metabolitlerinin neden

olduğu oksidatif stresin ve ROS detoksifikasyonuna yönelik antioksidanların aşırı kullanıldığının göstergeleridir. *M. oleifera* ekstratı verilen VM grubu bu değerleri tersine çevirmiştir. Buradan da *M. oleifera* yapraklarının içerdiği antioksidanların parametreler üzerinde olumlu etkiler gösterdiği sonucuna ulaşılmaktadır. Literatürdeki VPA uygulaması yapılan ve *M. oleifera*'nın koruyucu etkisinin incelendiği farklı doku tiplerinde de bu durum saptanmıştır. Mide dokusunda (Miftari, 2021), kasta (Ertik ve ark., 2022) ve tükürük bezlerinde (Çergel, 2023) VPA uygulanan sıçanlarda TOK miktarının arttığı, moringa ekstresi uygulanması ile artmış olan TOK miktarının azaldığı saptanmıştır. Beyin dokusu üzerinde yapılan çalışmada VPA grubunda oluşan hasar nedeni ile TAK'ın azaldığı, TOK'un arttığı; ALA uygulanması ile azalmış olan TAK'ın arttığı, artmış olan TOK'un ise azaldığı saptanmıştır (Turkyilmaz ve ark., 2020). Deri hasarına sebep olduğu bilinen ultraviole A ve B (UVAB)'nin olumsuz etkilerini gidermek için çeşitli antioksidanların uygulandığı bir çalışmada UVAB grubunun, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TAK değerinde anlamlı bir fark gözlenmediği ve TOK değerinde ise anlamlı bir artış gözlemlendiği; tedavi gruplarındaysa TAK değerinin artış gösterdiği ve TOK değerinin anlamlı derecede azaldığı gözlemlenmiştir (Yıldırımıvuran, 2019). Bunun nedeninin ALA'nın oksidatif strese karşı koruyucu bir madde olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. Çalışmamızın sonuçları bu çalışmalarla paralellik göstermektedir. Çalışmamızın bu sonuçları *M. oleifera*'nın VPA'nın deride oluşturduğu oksidatif hasara karşı düzenleyici ve koruyucu etki gösterdiğine kanıt olarak gösterilebilir.

Özellikle son senelerdeki araştırmalarla birlikte bor mineralinin adından sıkça bahsedilmektedir. Borun; insan sağlığı için mineral ve hormon metabolizmasında, kemik gelişiminde, antioksidan savunma ve bağışıklık sisteminde, yara iyileşmesinde, enerji metabolizmasında önemli görevleri olduğu bilinmektedir (Kuru ve Yarat, 2017). Bor, hücrelerde GSH'ı artırıp, oksidatif stresi ve hasarını azaltan NADPH bileşiğinin seviyelerini düzenleyen önemli bir elementtir (Uçkun, 2013). Yapılan bir çalışma borun doza bağımlı bir şekilde; sıçanların çeşitli dokularında malatyon (malathione) kaynaklı oksidatif stresi etkili bir şekilde önlediği, hücre çoğalmasını koruduğu ve sıçanlarda hasarlı doku rejenerasyonunu arttırdığı gözlenmiştir (Coban ve ark., 2015). Diyete bor takviye (100 mg/kg) edilmesiyle LPO miktarının azaldığını, antioksidan sistemin ve vitamin durumunun iyileştiğini gösteren bir çalışma da vardır (Ince ve ark., 2010). Borun yara dokusunda antioksidan veya oksidan parametreler üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada; hem lokal hem de oral olarak uygulanan borun MDA'yı önemli düzeyde düşürdüğü; GSH, SOD ve KAT düzeylerini arttırdığı tespit edilmiştir (Konca ve ark., 2018). Bu da borun güçlü bir antioksidan özelliği taşıdığını

göstermektedir. Yapılan çalışmalarla borun yararlı etkileri henüz tam anlaşılmış değildir bu yüzden daha fazla çalışmalara gereksinim vardır (Söğüt ve Acar, 2020).

Çalışmamız deride bor tayininin yapıldığı nadir çalışmalardan biridir. Deri homojenatlarında bor değerleri V grubunda kontrol gruplarına (K ve KM) göre anlamlı olarak azaldı, VM grubunda ise V grubuna göre anlamlı olarak arttı. Tükürük bezleri üzerinde yapılan bir çalışmada bor konsantrasyonunun VPA verilen grupta azaldığı; moringa ekstresi verilmesi ile bor miktarının anlamlı olarak yükseldiği saptanmıştır (Çergel, 2023). Çalışma bunun sebebini *M. oleifera*'nın içerdiği bor miktarının fazla olmasıyla açıklamıştır.

Deri proteinlerinin inceleyen çalışmalarda farklı molekül ağırlığında pek çok protein tespit edilmiştir. Derinin yapısal proteinleri başlıca kollajen (300kDa), keratin (40-67 kDa), proelastin (76 kDa), kromogranin (68 kDa), elastin ve retikülindir (Tunalı, 1996; Kanitakis, 2002). Çalışmamızda KM grubunda K grubuna göre molekül ağırlığı 200kDa olan protein band yoğunluğunda azalma, 75kDa'luk proteinde ve 66 kDa'dan daha düşük molekül ağırlıklı proteinlerin band yoğunluklarında artma görüldü. V ve VM gruplarında grubunda molekül ağırlığı 200kDa olan protein band yoğunluğunda K grubuna göre azalma ve KM grubuna göre ise 66 kDa'dan daha düşük molekül ağırlıklı proteinlerin band yoğunluklarında azalma gözlemlendi.

Yapılacak yeni çalışmalarda *M. oleifera*'nın ve VPA'nın etki mekanizmasının bu protein ile ilgisinin araştırılması etki mekanizmaları açısından yararlı olabilir. Doku toksisitesinde VPA'nın mekanizması hala karmaşık ve belirsiz bir durumdur. Ancak VPA'nın serbest radikal temizleyici enzimlerin işleyişini etkilediği konusunda genel bir kanı hâkimdir. VPA'nın neden olduğu oksidatif strese ve bunun sonucunda meydana gelen doku hasarına karşı *M. oleifera* bitkisinin yüksek koruyucu potansiyeli ve antioksidan özelliği sayesinde yeni tedavi edici yaklaşımlar kazanılabilir.

Sonuç: Çalışmamızda, moringa bitkisinin %70'lik etanollü ekstresinin, valproatın neden olduğu oksidatif strese karşı koruma sağladığı ve valproat uygulanan sıçanların derilerindeki bazı antioksidan seviyelerini arttırdığı saptanmıştır. Bu nedenle, *M. oleifera* VPA'nın derideki yan etkilerinin giderilmesinde ve/veya azaltılmasında yararlı olabilir.

Özetle *Moringa oleifera* ekstresinin verilmesi valproik asidin neden olduğu değişen biyokimyasal parametreleri olumlu yönde etkiledi. *Moringa oleifera* ekstresi ilaçların ve antiepileptik ilaçların dermatolojik yan etkilerinin önlenmesine ve cilt sağlığı için yeni terapötik ilaçların geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

8. KAYNAKLAR

- Abd Rani, N. Z., Husain, K., & Kumolosasi, E. (2018). Moringa genus: a review of phytochemistry and pharmacology. *Frontiers in pharmacology*, 9(108),1-26. doi: 10.3389/fphar.2018.00108
- Abdel-Daeem, S. M., Shehata, A. M., Foda, F. M., El-Hodairy, F., & Ibrahim, H. M. (2018). The hepatoprotective impact of *Moringa oleifera* leaves extract against sodium valproate-induced liver toxicity in adult rats. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(2), 34-51.
- Acar, S. (2013). *Yüzme egzersizinin epileptik sıçanlar üzerindeki etkileri* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Adewole, K. E., Attah, A. F., & Osawe, S. O. (2021). Exploring phytotherapeutic approach in the management of valproic acid-induced toxicity. *Advances in Traditional Medicine*, 23(2), 347-367. <https://doi.org/10.1007/s13596-021-00575-6>
- Aebi, H. (1974). Catalase in vitro Methods of Enzymatic Analysis. 2nd ed, FL, 121.
- Afshari, E., Nouri, A., & Heidarian, E. (2023). The effects of gallic acid on inflammation and oxidative stress in valproic acid-induced hepatotoxicity in rats. *Comparative Clinical Pathology*, 32, 441–449. <https://doi.org/10.1007/s00580-023-03454-5>
- Aksoy, H., & Bingöl Özakpınar, Ö. (2014). Yara iyileşmesi ve oksidatif stres. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18(3), 153-158. DOI: 10.12991/mpj.2014187243
- Aksoy, Y. (2002). Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri*, 22, 442-448.
- Alarcón, G., & Valentín, A. (Eds.). (2012). *Introduction to epilepsy*. Cambridge University Press.
- Anzano, A., Ammar, M., Papaiani, M., Grauso, L., Sabbah, M., Capparelli, R., & Lanzotti, V. (2021). *Moringa oleifera* lam.: A phytochemical and pharmacological overview. *Horticulturae*, 7(10), 409.
- Apa, F., Ateşci, F. Ç., & Varma, G. S. (2018). Valproik asit kullanımına bağlı gelişen hiperamonyemik ensefalopati: Olgu sunumu. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 21(1), 102-106.

- Arda, O., Göksüğü, N., & Tüzün, Y. (2014). Basic histological structure and functions of facial skin. *Clinics in dermatology*, 32(1), 3-13. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2013.05.021>
- Asiedu-Gyekye, I. J., Frimpong-Manso, S., Awortwe, C., Antwi, D. A., & Nyarko, A. K. (2014). Micro-and macroelemental composition and safety evaluation of the nutraceutical *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Toxicology*, vol.2014, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2014/786979>
- Aslan Kara, K., & Bozdemir, H. (2019). Kadınlarda Valproik Asit Kullanımında Güncel Gelişmeler. *Epilepsi: Journal of the Turkish Epilepsi Society*, 25(2), 45-50. DOI: 10.14744/epilepsi.2019.67209
- Aslankoç, R., Demirci, D., Ümmahan, İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., ... & Yılmaz, B., (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* , 26 (3), 362-369. doi: 10.17343/sdutfd.566969
- Atawodi, S. E., Atawodi, J. C., Idakwo, G. A., Pfundstein, B., Haubner, R., Wurtele, G., ... & Owen, R. W. (2010). Evaluation of the polyphenol content and antioxidant properties of methanol extracts of the leaves, stem, and root barks of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of medicinal food*, 13(3), 710-716. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0057>
- Awodele, O., Oreagba, I. A., Odoma, S., da Silva, J. A. T., & Osunkalu, V. O. (2012). Toxicological evaluation of the aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* Lam.(Moringaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 139(2), 330-336. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.10.008>
- Ayasan, T., (2015) Kümes hayvanları ve geviş getiren hayvanların beslenmesinde *Moringa oleifera* kullanımı. *Türk Tarım Dergisi - Gıda Bilimi ve Teknolojisi*, 3(6), 425-429.
- Azirak, S., Taştemir Korkmaz, D., Bilgiç, S., Sevimli, M., & Özer, M. K. (2022). The musculoprotective effects of thymoquinone on ameliorating soleus muscle damage induced by valproic acid in rats. *Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(3), 170-180. <https://doi.org/10.30569/adiyamansaglik.1202066>
- Baran, G., (2018). D vitamini metabolizması, ed: Haspolat YK, Aktar F, Küçüköner M, Tekin R. Çocuk ve ergenlerde kemik sağlığı, Orient Yayınları: 98; s: 65-70.

- Bediz-Ölçer, A., Gönül, N. (2002). Perkütan absorpsiyon ve perkütan absorpsiyonu etkileyen faktörler. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 31(1), 33-49.
- Beutler, E. (1975). Glutathione in red blood cell metabolism. *A manuel of biochemical methods.*, p:112-114.
- Biondo-Simões, R., Biondo-Simões, M. D. L. P., Ioshii, S. O., Robes, R. R., & Dall'Antonia, M. D. O. (2022). The effects of valproic acid on skin healing: experimental study in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 37(4),1-12: e370403 <https://doi.org/10.1590/acb370403>
- Bose, G., & Kumar, Y. (2022) *Moringa oleifera* Lam.(Drumstick)–A Multipurpose tree. Agri Meet Foundation and Hindustan Agricultural Research, 2(1),1-6.
- Browne, T.R., (1980) Valproic acid. *New England journal of Medicine*, 302(12), 661-666.
- Buraimoh, A. A., Bako, I. G., & Ibrahim, F. B. (2011). Hepatoprotective effect of ethanolic leave extract of *Moringa oleifera* on the histology of paracetamol induced liver damage in Wistar rats. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3(1), 10-13.
- Burton, B. S., (1882). On the propyl derivatives and decomposition products of ethylacetoacetate. *Am Chem J*, 3, 385-395.
- Büyükdere, Y., & Akyol Mutlu, A. (2019). D vitamini ve enfeksiyon hastalıkları. *Türkiye Klinikleri*, 5(3), 39-45..
- Canett-Romero, R., Arvayo-Mata, K. L., & Ruvalcaba-Garfias, N. V. (2014). Aspectos tóxicos más relevantes de *Moringa oleifera* y sus posibles daños. *Biotecnia*, 16(2), 36-43.
- Chakiri, R., Nainia, K., & Khabbal, Y. (2022). Lamotrigine-Valproic Acid combination leading to severe skin drug reactions in children. *Authorea Preprints*.1-8. DOI: [10.22541/au.164656199.94085618/v1](https://doi.org/10.22541/au.164656199.94085618/v1)
- Charoensin, S. (2014). Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(7), 318-325.
- Chateauvieux, S., Morceau, F., Dicato, M., & Diederich, M., (2010). Molecular and therapeutic potential and toxicity of valproic acid. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010. 1-18. <https://doi.org/10.1155/2010/479364>
- Cheenpracha, S., Park, E. J., Yoshida, W. Y., Barit, C., Wall, M., Pezzuto, J. M., & Chang, L. C. (2010). Potential anti-inflammatory phenolic glycosides from the medicinal plant

Moringa oleifera fruits. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 18(17), 6598-6602.

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.03.057>

- Chuang, P. H., Lee, C. W., Chou, J. Y., Murugan, M., Shieh, B. J., & Chen, H. M., (2007). Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. *Bioresource technology*, 98(1), 232-236.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.11.003>
- Coban, F. K., Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H. H., & Hazman, O. (2015). Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Drug and chemical Toxicology*, 38(4), 391-399.
- Çakatay, U. ve Kayalı, R. (2004). Protein oksidasyonunun klinik önemi. *Cerrahpaşa Medical Journal*, 35, 140-149.
- Çaylak, E., (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9(1), 73-83.
- Çelik, Ç., (2020). Sıçanlarda valproik asit ile oluşturulan testis hasarına Edaravonun etkileri (Yüksek Lisans Tezi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü). İstanbul Üniversitesi
- Çergel, E., (2023). *Moringa oleifera*'nın valproik asit verilen sıçanlarda tükürük bezleri üzerine olası koruyucu etkisinin incelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Marmara Üniversitesi.
- Çetinay Aydın, P., Akyalçın, S., & Mete, L. (2009). Anksiyete bozukluklarının tedavisinde antiepileptik ilaçların kullanımı. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 1(2), 80-94.
- Çimen, E.Ş., (2018). Sıçanlarda valproik asit ile oluşturulan toksisitede beyin hasarı üzerine pazının koruyucu etkileri. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü,
- Daly, C. H., (1982). Biomechanical properties of dermis. *Journal of Investigative Dermatology*, 79(1), 17-20.
- Dehdashtian, A., Stringer, T. P., Warren, A. J., Mu, E. W., Amirlak, B., & Shahabi, L., (2018). Anatomy and physiology of the skin. *Melanoma: a modern multidisciplinary approach*, 15-26.

- Dhakad, A. K., Ikram, M., Sharma, S., Khan, S., Pandey, V. V., & Singh, A., (2019). Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. *Phytotherapy Research*, 33(11), 2870-2903.
- Dhakar, R. C., Maurya, S. D., Pooniya, B. K., Bairwa, N., & Gupta, M., (2011). Moringa: The herbal gold to combat malnutrition. *Moringa: The Herbal Gold To Combat Malnutrition*. 2(3). 119-125. Doi: 10.4103/2229-5186.90887
- Dizakar, S.Ö.A., & Sarıbaş, G.S. (2022). Deri ve eklerinin embriyolojisi. *Sağlık & Bilim 2022: Genel Embriyoloji-1*, 151-166.
- Doğdu, S., (2013). Epilepsi Hastalığı ve Tedavi Yöntemleri, (Bitirme Ödevi), Ege Üniversitesi.
- Drake, T. A., Morrissey, J. H., & Edgington, T. S., (1989). Selective cellular expression of tissue factor in human tissues. Implications for disorders of hemostasis and thrombosis. *The American journal of pathology*, 134(5), 1087- 1097.
- Dreifuss, F.E & Langer, D.H., (1988). Valproatın yan etkileri. *Amerikan tıp dergisi*, 84 (1), 34-41.
- Du, H., Wang, Y., Haensel, D., Lee, B., Dai, X., & Nie, Q., (2018). Multiscale modeling of layer formation in epidermis. *PLoS computational biology*, 14(2), e1006006.
- Ercan, K., Geceseffa, O. F., Taysi, M. E., Ali Ali, O. A., & Taysi, S., (2021). *Moringa oleifera*: a review of its occurrence, pharmacological importance and oxidative stress. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 21(3), 380-396.
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, 37(4), 277-285.
- Ertik, O., Magaji, U.F., Sacan, O., Yanardag R. (2022). Effect of *Moringa oleifera* leaf extract on valproate-induced oxidative damage in muscle. *Drug and Chemical Toxicology*. 1-11.
- Furong, Y., Yaodong, Q., Haitao, L., Caixiang, X., & Jingyuan, S. (2020). Global potential suitable area and ecological characteristics of *Moringa oleifera*. *Journal of Beijing Forestry University*, 42(10), 45-54.
- Gallelli, C. A., Calcagnini, S., Romano, A., Koczwara, J. B., De Ceglia, M., Dante, D., ... & Gaetani, S. (2018). Modulation of the oxidative stress and lipid peroxidation by endocannabinoids and their lipid analogues. *Antioxidants*, 7(7), 93.
- Gawkrodger, D. (2016). *Dermatology: An Illustrated Colour Text*. Elsevier Health Sciences.

- Ghodke-Puranik, Y., Thorn, C. F., Lamba, J. K., Leeder, J. S., Song, W., Birnbaum, A. K., ... & Klein, T. E. (2013). Valproic acid pathway: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenetics and genomics*, 23(4), 236-241.
- 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.
- Gothai, S., Arulselvan, P., Tan, W. S., & Fakurazi, S. (2016). Wound healing properties of ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* in normal human dermal fibroblasts. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 5(1), 1-6.
- Goyal, B. R., Agrawal, B. B., Goyal, R. K., & Mehta, A. A. (2007). Phyto-pharmacology of *Moringa oleifera* Lam.—an overview. 6(4),347-353
- Gupta, R., Kannan, G. M., Sharma, M., & Flora, S. J. (2005). Therapeutic effects of *Moringa oleifera* on arsenic-induced toxicity in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 20(3), 456-464.
- Gupta, S. Jain, R., Kachhwaha, S., & Kothari, S. L. (2018). Nutritional and medicinal applications of *Moringa oleifera* Lam.—Review of current status and future possibilities. *Journal of Herbal Medicine*, 11, 1-11.
- Güder, H. (2021). Derinin yapısı ve fonksiyonları. Ed: Güder H, Ünal ÖK, Güder S, Hamidi AA, Karadeniz A. Deri ve Travma. Livre de Lyon, s:1-17.
- Güler, S. (2016). Lipoik asidin, valproik asit ile oluşturulan toksisitede, karaciğerde bazı antioksidan ve oksidan parametreler üzerine etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi
- Güngör, S., Erdal, M. S., & Özdin, D. (2011). Derinin yapısının aydınlatılması ve geçirgenliğinin değerlendirilmesinde kullanılan biyofiziksel yöntemler. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi*, 21, 25-39.
- Gür Aksoy, G. (2014). Diffüz saç dökülmeleri; besinsel eksikler ve destekler. *Archives of the Turkish Dermatology & Venerology/Turkderm*, 48, 45-47. 10.4274/turkderm.48.s10
- Habig, W. H., & Jakoby, W. B. (1981). Assays for differentiation of glutathione S-Transferases. In *Methods in enzymology*. 77, 398-405. Academic press.
- Hatcher, J. T., & Wilcox, L. V. (1950). Colorimetric determination of boron using carmine. *Analytical chemistry*, 22(4), 567-569.
- Hearing, V. J. (2011). Determination of melanin synthetic pathways. *The Journal of investigative dermatology*, 131(E1), E8.

- Hukkeri, V. I., Nagathan, C. V., Karadi, R. V., & Patil, B. S. (2006). Antipyretic and wound healing activities of *Moringa oleifera* Lam. in rats. *Indian journal of pharmaceutical sciences*.68(1), 124.
- Ince, S., Kucukkurt, I., Cigerci, I. H., Fidan, A. F., & Eryavuz, A. (2010). The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(3), 161-164.
- Ingram, G. C., & Hills, M. (1976). Reference method for the one-stage prothrombin time test on human blood. *Thrombosis and haemostasis*, 36(04), 237-238.
- Inokuchi, Y., Imai, S., Nakajima, Y., Shimazawa, M., Aihara, M., Araie, M., & Hara, H. (2009). Edaravone, a free radical scavenger, protects against retinal damage in vitro and in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 329(2), 687-698.
- Islam, S., Jahan, M. A. A., & Khatun, R. (2005). In vitro regeneration and multiplication of year-round fruit-bearing *Moringa oleifera* L. *Journal of Biological Sciences*. 5(2),145-148.
- İçağasioğlu, D., Ayvaz, A., & Akyol, M. (2011). Onychomadesis: a new side effect of sodium valproate therapy in children?. *Archives of Neuropsychiatry/Noropsikiatri Arsivi*, 48(1), 79-81.
- Jaiswal, D., Rai, P. K., Kumar, A., Mehta, S., & Watal, G. (2009). Effect of *Moringa oleifera* Lam. leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 123(3), 392-396.
- Kalkan, M. T. (2018). Isı, sıcaklık, ter, terleme. *Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi*, 1(1), 109-130.
- Kaminsa, C. (2019). *Moringa oleifera* bitki özütlerinin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi.Yüksek Lisans Tezi. Gaziantep Üniversitesi.
- Kanitakis, J. (2002). Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *European journal of dermatology*, 12(4), 390-401.
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Veteriner Fakültesi Dergisi*,1(1),65-76.
- Karakaya, D., Barış, S., & Tür, A. (2010). Nitrik oksit. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 17(3).
- Kayış, E., Yılmaz, R. ve Karaaslan, E. (2020). Çocukluk çağı epilepsisi ve valproik asit ve karbamazepin tedavisi: Çocukluk çağı epilepsisi. *Hassas Tıbbi Araştırmacıların Günlükleri*, 1 (1), 34-44.
- Kazancı, A., (2012). Yaşlanmayla deride meydana gelen değişimlerin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi.

- Keshavarz-Maleki, R., Shalmani, A. A., Gholami, M., Sabzevari, S., Rahimzadegan, M., Jeivad, F., & Sabzevari, O. (2021). The ameliorative effect of monomethyl fumarate and silymarin against valproic acid induced hepatotoxicity in rats. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 55, 240-245.
- Kılıç, NB., (2011). Deneysel hiperlipidemide kan doku faktörü, lipid peroksidasyon ürünleri ve sialik asit ilişkisinin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi.
- Konca, M.,(2018). Ratlarda oral ve lokal olarak uygulanan borun yara iyileşmesi ve oksidatif stres üzerine etkisinin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi.
- Kopan, DT., (2019). Epilepsi hastalığı olan çocuklarda oksidatif ve nitrosatif stres ile antioksidan kapasitenin değerlendirilmesi, Tıpta Uzmanlık Tezi. Gaziantep Üniversitesi.
- Kostrouchova, M., Kostrouch, Z., & Kostrouchova, M. (2007). Valproik asit, çoklu düzenleyici yollara yol açan bir moleküler. *Folia Biologica-PRAHA-* , 53 (2), 37.
- Rüya, K., & Yarat, A. (2017). Bor ve sağlığımıza olan etkilerine güncel bir bakış. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 7(3), 107-114.
- Kuru, R., Yilmaz, S., Tasli, P. N., Yarat, A., & Sahin, F. (2019). Boron content of some foods consumed in Istanbul, Turkey. *Biological trace element research*, 187, 1-8.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-5.
- Lai-Cheong, J. E., & McGrath, J. A. (2013). Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine*, 41(6), 317-320.
- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepień, A., & Kadziolka, A. (1986). The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 155(3), 275-283.
- Lee, S. H., Zahoor, M., Hwang, J. K., Min, D. S., & Choi, K. Y. (2012). Valproic acid induces cutaneous wound healing in vivo and enhances keratinocyte motility. *PLoS One*, 7(11), e48791.
- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2016). *Moringa oleifera* seeds and oil: Characteristics and uses for human health. *International journal of molecular sciences*, 17(12), 2141.
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. L., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193(1), 265-275.

- Magaji, UF., (2022). Sıçanlarda valproik asit ile oluşturulan akciğer ve böbrek hasarına *Moringa oleifera*'nın etkileri. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi -Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Marks, J. G., & Miller, J. J. (2017). Lookingbill and Marks' Principles of Dermatology E-Book. Elsevier Health Sciences.
- Mersin, B., & İşcan, G. S. (2022). *Moringa oleifera*'nın etkinlik ve güvenliği. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 46(2), 487-504.
- Meunier, H. (1963). Proprietes pharmacodynamiques de l'acide n-dipropylacetique ler memoire: proprietes antiepileptiques. *Therapie*, 18, 435-438.
- Miftari, S. (2021). Sıçanlarda valproik asit ile oluşturulan mide hasarına karşı *Moringa oleifera*'nın etkisi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Milla, P. G., Peñalver, R., & Nieto, G. (2021). Health benefits of uses and applications of *Moringa oleifera* in bakery products. *Plants*, 10(2), 318.
- Miranda, K. M., Espey, M. G., & Wink, D. A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric oxide*, 5(1), 62-71.
- Mishra, M. K., Kukal, S., Paul, P. R., Bora, S., Singh, A., Kukreti, S., ... & Kukreti, R. (2021). Insights into structural modifications of valproic acid and their pharmacological profile. *Molecules*, 27(1), 104.
- Moyo, B., Masika, P. J., & Muchenje, V. (2012a). Antimicrobial activities of *Moringa oleifera* Lam leaf extracts. *African Journal of Biotechnology*, 11(11), 2797-2802.
- Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P. J., & Muchenje, V. (2012b). Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat science*, 91(4), 441-447.
- Myloie, A. A., Collins, H., Umbles, C., & Kyle, J. (1986). Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicology and applied pharmacology*, 82(3), 512-520.
- Nobossé, P., Fombang, E. N., & Mbofung, C. M. (2018). Effects of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves. *Food science & nutrition*, 6(8), 2188-2198.
- Nuriyev, M., (2009), Tiyaprofenik asidin sıçan derisinden penetrasyonunun *ex vivo* ve *in vivo* incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Oflaz, S., Kalkan, H. S., Gokce, E., Karsidag, C., & Gurel, M. S. (2011). Stevens Johnson Syndrome—Toxic Epidermal Necrolysis induced by a combination of lamotrigine and

- Valproic Acid: A case report. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni-Bulletin of Clinical Psychopharmacology*, 21(2), 150-153.
- Ogbunugafor, H., Igwo-Ezikpe, M., & Igwilo, I. (2012). In vitro and in vivo evaluation of antioxidant properties of *Moringa Oleifera* ethanolic leaves extract and effect on serum lipid indices in rat. *Macedonian Journal of Medical Sciences (Archived)*, 5(4), 397-403.
- Oktay, S., Alev-Tüzüner, B., Tunalı, S., Ak, E., Emekli-Alturfan, E., Tunalı-Akbay, T., ... & Yarat, A. (2017). Investigation of the effects of edaravone on valproic acid induced tissue damage in pancreas. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(3), 570-577.
- Okumuş, N. ve Soltanbeigi, A. (2021). Moringa ağacı (*Moringa oleifera* Lam.): Biyolojik özellikleri, kültürü ve tıbbi Faydaları. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 8 (2), 56-75.
- Ornoy, A., Becker, M., Weinstein-Fudim, L., & Ergaz, Z. (2020). S-adenosine methionine (SAME) and valproic acid (VPA) as epigenetic modulators: Special emphasis on their interactions affecting nervous tissue during pregnancy. *International journal of molecular sciences*, 21(10), 3721.
- Oztaylan, Y., Turkyilmaz, İ. B., & Yanardag, R. (2022). The effects of alpha lipoic acid on lens injury in rats administered with valproic acid. *Journal of Istanbul Faculty of Medicine*, 85(4), 557-563.
- Öner, U., Güler, J., & Yılmaz, E. (2012). Stevens Johnson Syndrome induced by a combination of lamotrigine and valproic acid in a patient with bipolar disorder: A Case Report. *Bulletin of Clinical Psychopharmacology*, 22(1), S81.
- Özaslan, M. S. (2022). Bazı Fenolik Bileşiklerin Glutatyon S-Transferaz Enzim İnhibitörleri Olarak Değerlendirilmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(2), 882-889.
- Özcan, H., Cenk, H., & Cumurcu, B. (2015a). Lamotrijin ve valproik asidin birlikte kullanımı sonucunda gelişen toksik epidermal nekroliz olgusu. *Türkderm: Türk Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi*, 49(2), 169.
- Özcan, O. Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015b). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
- Özcan, O. (2017). Mersin bitkisinin (*Myrtus communis* subsp. *communis*) termal deri yanığı üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Paliwal, R., Sharma, V., & Pracheta, J. (2011). A review on horse radish tree (*Moringa oleifera*): A multipurpose tree with high economic and commercial importance. *Asian Journal of Biotechnology*, 3(4), 317-328.

- Papadopoulou, E., Saroglou, M., Ismailos, G., Fletsios, D., Tsavlis, D., & Tryfon, S. (2022). Pearls for the diagnosis and possible pathophysiological mechanisms of valproic acid-induced lupus erythematosus: A literature review. *Lupus*, 31(6), 650-658.
- Park, K. (2015). Role of micronutrients in skin health and function. *Biomolecules & therapeutics*, 23(3), 207.
- Parvathy, M. V. S., & Umamaheshwari, A. (2007). Cytotoxic effect of *Moringa oleifera* leaf extracts on human multiple myeloma cell lines. *Trends in Medical Research*, 2(1), 44-50.
- Patsalos, P. N., Berry, D. J., Bourgeois, B. F., Cloyd, J. C., Glauser, T. A., Johannessen, S. I., ... & Perucca, E. (2008). Antiepileptic drugs—best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: a position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*, 49(7), 1239-1276.
- Peñalver, R., Martínez-Zamora, L., Lorenzo, J. M., Ros, G., & Nieto, G. (2022). Nutritional and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaves in functional foods. *Foods*, 11(8), 1107.
- Rahman, M., & Nguyen, H. (2020). Valproic acid. [Updated 2022 Jul 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559112/>
- Rashid, M., Kashyap, A., & Undela, K. (2019). Valproic acid and Stevens – Johnson syndrome: a systematic review of descriptive studies. *International Journal of Dermatology*, 58(9), 1014-1022.
- Razis, A. A., Ibrahim, M. D., & Kntayya, S. B. (2014). Health benefits of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(20), 8571-8576.
- Saa, R. W., Fombang, E. N., Ndjantou, E. B., & Njintang, N. Y. (2019). Treatments and uses of *Moringa oleifera* seeds in human nutrition: A review. *Food science & nutrition*, 7(6), 1911-1919.
- Sacan, O., & Yanardag, R. (2010). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*). *Food and chemical toxicology*, 48(5), 1275-1280.
- Sançar, B., Canbulat, Ş., & İlhan, S. E. (2017). Yara bakımında kullanılan bitkisel yöntemler ve hemşirelik. *Türkiye Klinikleri Internal Medicine Nursing-Special Topics*, 3(2), 116-124.
- Saygı, M. (2008). Antiepileptik tedavi (valproik asit) alan çocuklarda kilo alımı ve meydana gelen endokrinolojik-metabolik değişikliklerin prospektif incelenmesi. Uzmanlık Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi.

- Schauer, R., Kelm, S., Reuter, G., Roggentin, P., & Shaw, L. (1995). Biochemistry and role of sialic acids (pp. 7-67). Springer US.
- Shapiro, J. (2007). Hair loss in women. *New England Journal of Medicine*, 357(16), 1620-1630.
- Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(8), 2144-2155.
- Sixto-López, Y., Bello, M., & Correa-Basurto, J. (2020). Exploring the inhibitory activity of valproic acid against the HDAC family using an MMGBSA approach. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 34, 857-878.
- Sokmen, B. B., Aydin, G., Gumus, A., Karadeniz, S., Ugras, H. I., Yanardag, R., & Cakır, U. (2013). Synthesis, antielastase, antioxidant and radical scavenging activities of 4-(aza substituted) methylene substituted dihydroxy coumarines. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28(4), 870-875.
- Söğüt, Ö., & Acar, O. (2020). Bor ve sağlık. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 9(1), 11-7.
- Sreelatha, S., & Padma, P. R. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. *Plant foods for human nutrition*, 64, 303-311.
- Stohs, S. J., & Hartman, M. J. (2015). Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera*. *Phytotherapy Research*, 29(6), 796-804.
- Su, L. J., Zhang, J. H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D., ... & Peng, Z. Y. (2019). Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- Sudha, P., Asdaq, S. M., Dhamingi, S. S., & Chandrakala, G. K. (2010). Immunomodulatory activity of methanolic leaf extract of *Moringa oleifera* in animals. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 54(2), 133-140.
- Şimşek, F. (2019). Valproik asit kullanımına bağlı Liken Planus olgusu. *Sakarya Tıp Dergisi*, 9(2), 352-355.
- Teixeira, E. M. B., Carvalho, M. R. B., Neves, V. A., Silva, M. A., & Arantes-Pereira, L. (2014). Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Food chemistry*, 147, 51-54.
- Tong, V., Teng, X. W., Chang, T. K., & Abbott, F. S. (2005). Valproic acid I: time course of lipid peroxidation biomarkers, liver toxicity, and valproic acid metabolite levels in rats. *Toxicological Sciences*, 86(2), 427-435.

- Tunalı, T. (1996). Deneysel diyabette deri proteinlerinin ve antioksidan sistem elemanlarının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi.
- Tunali Akbay, T., Alev, B., Tunali, S., Oktay, S., Emekli-Alturfan, E., Ipekci, H., ... & Yarat, A. (2017). Protective role of Edaravone against valproic acid induced changes in skin. *Indian Journal of Experimental Biology*, 55, 286-291
- Tuncel, N., Aydın, S., Zeytinoğlu M., (2006), Vücudumuzu saran örtü: Deri. İçinde: Aydın S. ed. İnsan Anatomisi ve Fizyolojisi. 5. Baskı, Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Web-Ofset tesisleri, 69-81.
- Turkyilmaz, I. B., Bilgin Sokmen, B., & Yanardag, R. (2020). Alpha – lipoic acid prevents brain injury in rats administered with valproic acid. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34(11), e22580.
- Uçkun, Z., (2013). Esansiyel bir komponent: bor-borun günlük alımı ve fizyolojik etkileri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 119-123.
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M., & Fernandez, M. L. (2017). Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*, 6(4), 91.
- Verma, A. R., Vijayakumar, M., Mathela, C. S., & Rao, C. V. (2009). In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9), 2196-2201.
- Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., & Gritsanapan, W. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial crops and products*, 44, 566-571.
- Wang, F., Bao, Y., Zhang, C., Zhan, L., Khan, W., Siddiqua, S., ... & Xiao, J. (2022). Bioactive components and anti-diabetic properties of *Moringa oleifera* Lam. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(14), 3873-3897.
- Wang, Y., Gao, Y., Ding, H., Liu, S., Han, X., Gui, J., & Liu, D. (2017). Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity. *Food chemistry*, 218, 152-158.
- Warren, L. (1959). The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *Journal of Biological Chemistry*, 234(8), 1971-1975.
- Wawruszak, A., Halasa, M., Okon, E., Kukula-Koch, W., & Stepulak, A. (2021). Valproic acid and breast cancer: State of the art in 2021. *Cancers*, 13(14), 3409.
- World Health Organization. (2019). Epilepsy: a public health imperative: summary. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/325440> . License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO Elde edilme tarihi: Mayıs 2023.

- Yetkin, H., Ceyhan, A. M., & Yıldırım, M. (2009). Deri yaşılanması ve tedavisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 16(2), 32-38.
- Yıldırımvaran, D., (2019). Sıçanlarda ultraviyole A ve B ile indüklenmiş deneysel deri hasarı modelinde curcumin ve alfa lipoik asitin antiapoptotik, antioksidan ve doku koruyucu etkilerinin, moleküler stereolojik ve biyokimyasal yöntemlerle değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yılmaz, N., & Tan, H. (2006). Valproik aside bağlı dış eti hiperplazisinin etyopatogenezinde total antioksidan kapasitenin ve bazı sitokinlerin rolünün araştırılması. Uzmanlık Tezi. Atatürk Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı,
- Yousef, H., Alhajj, M., & Sharma, S. (2017). Anatomy, skin (integument), epidermis. 2022 Nov 14. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 29262154.
- Yüksel, M., (2013). Ultraviyole A ışığının oluşturduğu oksidatif strese koenzim Q10 ve alfa lipoik asitin koruyucu etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Zaidi, Z., & Lanigan, S. W. (2010). Dermatology in clinical practice. Springer Science & Business Media.
- Zeybek, B., Hasırcı, N., Kımız, I., & Ürkmez, Ş. A. (2015). Doku mühendisliği yöntemi ile kollajen ve nacmc kullanılarak çift katmanlı deri modeli oluşturulması. . TÜBİTAK 1002, Proje No: 213M651, 1-63.
- Zhou, Y., Yang, W., Li, Z., Luo, D., Li, W., Zhang, Y., ... & Jin, X. (2018). *Moringa oleifera* stem extract protect skin keratinocytes against oxidative stress injury by enhancement of antioxidant defense systems and activation of PPAR α . *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 44-53.