



**BEYİN NÖROİNFLAMASYON MODELİNDE  
RESVERATROLÜN OKSİDATİF VE  
HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER İLE SIRT1 GENİ  
İFADESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Selahattin TUNÇ**

**TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ**

**Yüksek Lisans Tezi – 2019**

**T.C**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BEYİN NÖROİNFLAMASYON MODELİNDE RESVERATROLÜN  
OKSİDATİF VE HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER İLE *SIRT1* GENİ  
İFADESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Selahattin TUNÇ**

**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi

Tarafından TYL/2018-1232 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA**

**2019**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Selahattin Tunç'un " Beyin Nöroinflamasyon Modelinde Resveratrolün Oksidatif ve Histopatolojik Değişiklikler ile SIRT1 Geni İfadesi Üzerine Etkileri "** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/07/2019

Prof.Dr.Yılmaz ÇİĞREMİŞ  
İnönü Üniversitesi  
Danışman  
Jüri Başkanı

Prof.Dr.Elif YEŞİLADA  
İnönü Üniversitesi

Üye

Prof.Dr.Engin ŞAHNA  
Fırat Üniversitesi  
Üye

### ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../2019 tarih ve 2019/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
TABLolar DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Nöroinflamasyon .....	3
2.1.1. Nöroinflamasyona Neden Olan Faktörler .....	5
2.1.2. Nöroinflamasyon Aracılı Nörodejenerasyon .....	6
2.2. Lipopolisakkarit (LPS) .....	8
2.3. Resveratrol .....	9
2.4. Sirtuinler ve SIRT1 .....	13
2.4.1. SIRT1'in Özellikleri .....	14
2.4.2. Resveratrol ve SIRT1 .....	15
2.5. 6-kloro 2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid (EX-527) .....	21
3. MATERYAL VE METOT .....	22
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler .....	22
3.2. Kullanılan Alet ve Gereçler .....	23
3.3. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar .....	23
3.3.1. LPS Hazırlanışı .....	23
3.3.2. Resveratrol Hazırlanışı .....	23
3.3.3. EX-527 Hazırlanışı .....	23
3.3.4. RNA Saklama Çözeltisi .....	23
3.3.5. 10X TBE (Tris-Borat-EDTA) Çözeltisinin Hazırlanışı .....	23

3.3.6. Lizis Solüsyonu Hazırlanışı .....	24
3.4. Sıçanların Temini ve Bakımı.....	24
3.5. Grupların Oluşturulması.....	24
3.6. Morris Su Labirenti Testi (Morris Water Maze-MWM).....	26
3.7. Histopatolojik Analizler .....	28
3.8. Biyokimyasal Analizler.....	28
3.8.1. Malondialdehit (MDA) Analizi.....	28
3.8.2. Glutasyon (GSH) Analizi .....	29
3.8.3. Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz (CuZn-SOD) Analizi .....	29
3.8.4. Protein Tayini.....	30
3.9. Moleküler Genetik Analizler.....	30
3.9.1. Dokudan RNA Saflaştırılması.....	30
3.9.2. cDNA Sentezi.....	30
3.9.3. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Tepkimesi .....	31
3.10. İstatiksel Analizler .....	31
4. BULGULAR.....	33
4.1. Morris Su Labirenti Testi Bulguları .....	33
4.2. Beyin MDA Seviyesi .....	35
4.3. Beyin GSH Seviyesi.....	36
4.4. Beyin CuZn-SOD Aktivitesi .....	37
4.5. Beyin Katalaz Aktivitesi .....	38
4.6. Moleküler Genetik Bulgular .....	39
4.7. Histopatolojik Bulgular .....	44
5. TARTIŞMA .....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR.....	56
EKLER .....	77

EK.1. ÖZGEÇMİŞ .....	78
EK.2. ETİK KURUL ONAYI.....	77
EK.3. <i><math>\beta</math>-Aktin</i> GEN DİZİLİMİ .....	79
EK.4. <i>SIRT1</i> GEN DİZİLİMİ.....	81



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca katkıları bulunan tüm hocalarıma,

Histopatolojik analizlerin yapılmasında katkısı bulunan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Nigar VARDI'ya ve Arş. Gör. Azibe YILDIZ'a

Bugüne kadar bana daima cesaret veren, sevgi ve desteklerini esirgemeyen aileme,

TYL-2018-1232 nolu yüksek lisans tez araştırma projeme maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne

Sonsuz saygı ve sevgilerimi sunar, teşekkür ederim.

**Selahattin TUNÇ**

## ÖZET

### **Beyin Nöroinflamasyon Modelinde Resveratrolün Oksidatif ve Histopatolojik Değişiklikler ile SIRT1 Geni İfadesi Üzerine Etkileri**

**Amaç:** Bu çalışmada sıçanlarda LPS-indüklü nöroinflamasyon modeli ile oluşturulan nörodejenerasyonda, resveratrolün ve EX-527'nin beyinde moleküler genetik, biyokimyasal, bilişsel ve histopatolojik parametreler üzerinden var ise nöroprotektif etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Araştırmamızda 55 adet *Wistar Albino* cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanların beyin dokusundan; *SIRT1* geninin ifadesi, biyokimyasal analizler ve histopatolojik incelemeler yapıldı. Sıçanların bilişsel incelemeleri Morris su labirenti deneyi ile yapıldı.

**Bulgular:** Araştırmamızda; Res ve Res+LPS grubundaki beyin MDA seviyelerinin, K, LPS ve EX-527+LPS grubuna göre arttığı tespit edildi ( $p<0.05$ ). EX-527+LPS grubu beyin SOD aktivitesindeki artış, K ve LPS grubuna göre anlamlıyken ( $p<0.05$ ), Res ve Res+LPS grubu SOD aktivitelerindeki azalma K grubuna göre anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). EX-527+LPS grubu beyin *SIRT1* gen ifadesindeki azalma diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Res+LPS grubunun *SIRT1* gen ifadesi K grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi ( $p<0.05$ ). Histopatolojik veriler incelendiğinde; K ve Res gruplarının beyin kesitlerinin normal morfolojik özellik gösterdiği, LPS grubunda, nöronların dejeneratif değişiklik gösterdiği, Res+LPS grubundaki dejenerasyon nöron yoğunluğunun, LPS grubuna göre belirgin şekilde azaldığı, EX-527+LPS grubunda gözlenen nöron dejenerasyonunun, K ve Res gruplarından anlamlı derecede yüksek iken LPS grubundan ise daha hafif düzeyde dejenerasyon yoğunluğuna sahip olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Resveratrol ile *SIRT1* gen ifadesinin artırılmasının, LPS indüklü nörodejenerasyonu önleyebileceği kanaatini taşımaktayız.

**Anahtar Kelimeler:** *SIRT1*, nöroinflamasyon, nörodejenerasyon resveratrol, LPS, EX-527, sıçan



## ABSTRACT

### **Effects of Resveratrol on Oxidative and Histopathological Changes with SIRT1 Gene Expression in Brain Neuroinflammation Model**

**Aim:** The aim of this study is investigating the effects of resveratrol and EX-527 on LPS-induced neuroinflammation rat model brain as molecular genetic, biochemical, cognitive and histopathological and whether there is any neuroprotective activity.

**Material and Method:** This study was carried out with 55 Wistar albino male rats. SIRT1 gene expression, biochemical analyses and histopathological examination were made in rat brain tissue. Analysis of cognitive effects of disease model was practiced by Morris water maze.

**Results:** In this study, MDA levels of brain tissues in Res and Res+LPS groups were found statistically higher than K, LPS and EX-527+LPS groups ( $p < 0.05$ ). SOD activities in brain tissues of EX-527+LPS were increased in comparison with K and LPS groups statistically ( $p < 0.05$ ) while decreased in Res and Res+LPS groups was significantly compared to K group ( $p < 0.05$ ). Expression of *SIRT1* brain gene in EX-527+LPS group was relevantly lower than other groups ( $p < 0.05$ ). There was a considerable rise in *SIRT1* gene expression of Res+LPS group in comparison with K group ( $p < 0.05$ ). Histopathologically, brain sections of K and Res groups had normal morphological characteristics and neurons in LPS group showed degenerative alterations as there were a few degeneration in Res+LPS groups. Degenerative neuron density in Res+LPS group decreased compared to LPS group prominently and neuron degeneration was more elevated in EX-527+LPS group than K and Res groups ( $p < 0.05$ ), and had more less neuron degeneration density than LPS group ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** It has been concluded that LPS-induced neurodegeneration can be prevented by enhancing *SIRT1* gene expression with Resveratrol.

**Key Words:** *SIRT1*, neuroinflammation, neurodegeneration, resveratrol, LPS, EX-527, rat

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>A<math>\beta</math></b>	: Amiloid $\beta$
<b>ADRP</b>	: Adenozin difosfat riboz
<b>APOE</b>	: Apolipoprotein E
<b>BDNF</b>	: Beyin-türevli nörotrofik faktör
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	: Kalsiyum iyonu
<b>cDNA</b>	: Komplementer deoksiribonükleik asit
<b>COX-2</b>	: Siklooksijenaz-2
<b>CREB</b>	: Siklik AMP-yanıt elementi bağlayan protein
<b>CuZn-SOD</b>	: Bakır-Çinko Süperoksit dismutaz
<b>DMSO</b>	: Di-metil sülfoksit
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>EX-527</b>	: 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid
<b>GDNF</b>	: Glia kökenli nörotrofik faktör
<b>GPx</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>i.p</b>	: İntraperitonal
<b>iNOS</b>	: Nitrik oksit sentaz
<b>KBB</b>	: Kan-beyin bariyeri
<b>K<sub>m</sub></b>	: Michaelis sabiti
<b>LDL</b>	: Düşük dansiteli lipoprotein
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>MAPK</b>	: Mitojen-aktive protein kinaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehit

<b>MMP3</b>	: Matriks metalloproteinaz-3
<b><math>\mu</math>L</b>	: Mikrolitre
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>mRNA</b>	: Mesajcı ribonükleik asit
<b>MSS</b>	: Merkezi sinir sistemi
<b>MWM</b>	: Morris su labirenti (Morris Water Maze)
<b>Na<sup>+</sup></b>	: Sodyum
<b>NAD<sup>+</sup></b>	: Nikotinamid adenin dinükleotit
<b>NF<math>\kappa</math>B</b>	: Nükleer faktör kappa B
<b>nNOS</b>	: Nöronal nitrik oksit sentaz
<b>NO</b>	: Nitrikoksit
<b>PGC-1<math>\alpha</math></b>	: Proliferator activated receptor gamma 1- $\alpha$
<b>PGE2</b>	: Prostaglandin E2
<b>PZT</b>	: Polimeraz zincir tepkimesi (PCR)
<b>Res</b>	: Resveratrol
<b>ROT</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>STZ</b>	: Streptozotosin
<b>TBE</b>	: Tris borat etilendiamintetraasetikasit
<b>TGF</b>	: Dönüştürücü büyüme faktörü
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör- $\alpha$

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.1.</b> Beyindeki nöroinflamasyon aracılı nörodejenerasyonu gösteren şematik diyagram.....	7
<b>Şekil 2.2.</b> LPS temel yapısı .....	8
<b>Şekil 2.3.</b> Resveratrolün oluşumu ve kimyasal yapısı .....	10
<b>Şekil 2.4.</b> Sirtuin ailesinin moleküler karşılaştırması .....	13
<b>Şekil 2.5.</b> Resveratrolün, SIRT1 aktivasyonu ile oksidatif stresi inhibe edebildiğini gösteren diyagram .....	17
<b>Şekil 2.6.</b> Resveratrolün, SIRT1 ve BDNF ile sinaptik plastisite ve bilişi geliştirdiğini gösteren diyagram .....	20
<b>Şekil 2.7.</b> EX-527'nin kimyasal yapısı .....	21
<b>Şekil 3.1</b> Gruplar ve uygulanacak kimyasallar.....	25
<b>Şekil 3.2.</b> Çalışmanın zaman çizelgesi. ....	25
<b>Şekil 3.3.</b> Kullanılan kimyasallar ve sıçan beyninin bir bütün elde edilmesi. a) Deneklere uygulanan kimyasal malzemeler; EX-527, LPS, Resveratrol b) Beyni kafatasından çıkarılma işlemi, c) Tüm beyin dokusu, d) Beyin dokusunun RNA saklama sıvısına aktarımı. ....	26
<b>Şekil 3.4.</b> Morris su labirenti yüzdürme alanı. ....	27
<b>Şekil 4.1.</b> Gruplarda analiz edilen MWM parametreleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS). ....	34
<b>Şekil 4.2.</b> Gruplarda ölçülen MDA seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).....	35
<b>Şekil 4.3.</b> Gruplarda ölçülen GSH seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).....	36
<b>Şekil 4.4.</b> Gruplarda ölçülen SOD aktiviteleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).....	37

<b>Şekil 4.5.</b> Gruplarda ölçülen CAT seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).....	38
<b>Şekil 4.6.</b> Her bir grupta saflaştırılan toplam RNA agaroz jel görüntüsü. ....	39
<b>Şekil 4.7.</b> “Hydrolysis Probe” kimyası kullanılarak <i>SIRT1</i> ve $\beta$ - <i>aktin</i> mRNA’larından sentezlenen cDNA’ların gerçek zamanlı PZT ile çoğaltım eğrisi. ....	41
<b>Şekil 4.8.</b> <i>SIRT1</i> ve $\beta$ - <i>aktin</i> cDNA’larının PZT’deki çoğalımının agaroz jel (%1.5) elektroforezi görüntüsü. <i>SIRT1</i> ve $\beta$ - <i>aktin</i> cDNA’larının PZT’deki çoğalımının agaroz jel (%1.5) elektroforezi görüntüsü. Kullanılan DNA Markeri 50 bp plus DNA Ladder’dır (Bioron, 50 bp, catalog no: 304007)...	42
<b>Şekil 4.9.</b> Gruplarda ölçülen <i>SIRT1</i> / $\beta$ - <i>Aktin</i> mRNA seviyelerinin oranı. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS). ....	43
<b>Şekil 4.10.</b> K grubunun histopatolojik görüntüleri. Normal morfolojik özellikleri ile dikkat çeken nöronlar (ok başları). H-E boyama, A; x4, B; x40.....	44
<b>Şekil 4.11</b> Res grubunun histopatolojik görüntüleri. Kontrol grubuna benzer şekilde normal morfolojik özellikleri ile dikkat çeken nöronlar (ok başları). H-E boyama, A; x4, B; x40. ....	44
<b>Şekil 4.12.</b> LPS grubunun histopatolojik görüntüleri. Kontrol grubuna göre büzülmüş sitoplazma ve piknotik nükleusları ile ayırt edilen dejenere nöronların (oklar) yoğunluğundaki artış dikkati çekmekte. H-E boyama, A; x4, B; x40.....	45
<b>Şekil 4.13.</b> Res+LPS grubunun histopatolojik görüntüleri. Dejenere nöron yoğunluğunun LPS grubuna göre azaldığı izlenmekte (oklar). H-E boyama, A; x4, B; x40. ....	45
<b>Şekil 4.14.</b> EX527+LPS grubunun histopatolojik görüntüleri. Kontrol grubuna göre dejenere nöronların (oklar) yoğunluğundaki artış dikkati çekmekte. H-E boyama, A; x4, B; x40. ....	46

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 3.1.</b> Primer dizilimleri .....	31
<b>Tablo 4.1.</b> Gruplarda analiz edilen MWM parametreleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).....	33
<b>Tablo 4.2.</b> Gruplarda ölçülen MDA seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS). .....	35
<b>Tablo 4.3.</b> Gruplarda ölçülen GSH seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS). .....	36
<b>Tablo 4.4.</b> Gruplarda ölçülen SOD aktiviteleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS). .....	37
<b>Tablo 4.5.</b> Gruplarda ölçülen CAT aktiviteleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS). .....	38
<b>Tablo 4.6.</b> Gruplarda ölçülen beyin dokusu RNA spektrometrik absorbans değeri ve RNA miktarları. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro 2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS). .....	40
<b>Tablo 4.7.</b> Gruplarda ölçülen <i>SIRT1/β-Aktin</i> mRNA seviyelerinin oranı. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro - 2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS). .....	43
<b>Tablo 4.8.</b> Tüm grupların dejenere nöron yoğunluğu. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).....	46
<b>Tablo 4.9.</b> Tüm grupların "p" değerleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS). .....	47

# 1. GİRİŞ

Dünyada 2050 yılında 60 yaş üstü nüfusun 2,1 milyar kişiye çıkacağı tahmin edilmektedir (1). Bu durumun yaşa bağlı hastalıklarında artışını beraberinde getirmesine ve yaşlıların sonraki yıllarının büyük kısmını sağlıksız bir şekilde geçirmesine neden olabileceği tahmin edilmektedir (2). Yaşlılarda yetenek kaybının temel nedenlerinden biri olan demans (bunama), şu anda dünya genelinde 44 milyon insanı etkilemektedir. Bu rakamın 2050 yılında 135 milyon üzerine ulaşması beklenmektedir. Bunama hastalığının bakımının yıllık maliyetinin önümüzdeki 15 yılda 600 milyar dolardan 1 trilyon dolara yükselmesi beklendiğinden, hastalığın ilerlemesini önlemenin bir yolunu bulmak önem arz etmektedir (3). Nöroinflamasyonun (nöro yangı), bunama ve nörodejenerasyonun oluşmasında çok önemli etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (4). Nöroinflamasyon basit bir şekilde; beyin ve omurilikte yangısal bir cevap olarak tanımlanmaktadır. Bu cevap, sitokinlerin, kemokinlerin, reaktif oksijen türlerinin (ROT) ve ikincil habercilerin üretilmesine aracılık etmektedir. Nöroinflamatuvar yanıtın, immün, fizyolojik, biyokimyasal ve psikolojik sonuçları olduğu belirtilmiştir (5). Nöroinflamasyonun Merkezi Sinir Sistemi (MSS) hasarlarının temelinde rol oynayan faktörlerden biri olduğu belirtilmektedir (6). Nöroinflamasyon yalnızca Alzheimer (AH), Parkinson (PH) ve Multiple Skleroz (MS) gibi kronik nörodejeneratif hastalıklarda değil, inme, travma ve infeksiyon gibi akut nörolojik olaylarda da rol oynamaktadır. Nöroinflamasyon sürecinde daha önceleri immün yanıtın yoksun sanılan beyin hücrelerinin aktif rol oynadığı tespit edilmiştir. Araştırmalar, beyin hücrelerinin stres ve akut olaylar karşısında nöroinflamasyonu tetiklediğini, inflamasyon (yangı) yanıtını daha da alevlendirdiğini böylelikle hücrelerin hasarına, hatta ölümüne neden olduğunu göstermektedir. Bunun sonucunda fonksiyonel yetersizlikler, davranışsal bozukluklar ve otonomik dengesizliklerin ortaya çıktığı görülmektedir. Bu doğrultuda, günümüzde birçok nöro koruyucu tedavi, bu nöroinflamasyon yollarını hedef alan ajanları içermektedir (7-9).

Gram-negatif bakterilerin dış membranında yer alan, bir endotoksin olan lipopolisakkarit (LPS), reaktif oksijen ve nitrojen türleri, tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin (IL)-1 $\beta$ , IL-6 dahil olmak üzere pro-inflamatuvar sitokinlerin hızlı transkripsiyonuna ve salgılanmasına neden olan güçlü bir uyarıcı olarak tanımlanmıştır (10). Kemirgen modellerinde, sistemik olarak enjekte edilen tek doz LPS beyinde önemli

bir immünolojik tepkiye neden olurken, doza ve zamana bağlı olarak çok çeşitli merkezi etkilere neden olabilmektedir (11).

Organizmaya herhangi bir şekilde LPS girişi beyinde sitokinlerin mikroglia aktivasyonu ile hızlıca çözünmesine ve sentezlenmesine neden olarak “hastalık davranış sendromuna” sebep olabilmektedirler. Bu sendrom; besin ve kilo alımının azalması, ruh hali değişikliği, azalan lokomotor aktivite, sosyal keşif ve ateş ile karakterizedir (12). Ayrıca, gereken miktarda tek bir periferik LPS dozu nöron kaybına ve kalıcı davranışsal ve bilişsel eksikliklere neden olabilmektedir (13, 14).

Doğal bir polifenol olan resveratrolün düşük yoğunluklu lipoproteinleri oksidasyona karşı koruyabilen, kanserde önleyici etkiye sahip olabilen, trigliserit ve kolesterolün hepatik sentezini düzenleyebilen ve trombosit pıhtılaşmasını önleyebilen etkilere sahip olduğu belirtilmektedir (15). Son zamanlarda resveratrolün nöron korunmasında önemli bir rol oynadığı da keşfedilmiştir (16). Resveratrolün bu nöro koruyucu etkisini hücrel düzenlemeyle ilişkili proteinleri deasetile eden SIRT1 proteini aktivasyonu ile gösterdiği öne sürülmüştür (17). Histon deasetilaz sınıf III protein ailesinin bir üyesi olan SIRT1, NAD<sup>+</sup> bağımlı bir histon protein deasetilaz olarak tanımlanmaktadır (18). SIRT1 protein aktivasyonu nöronları apoptoz, inflamasyon ve oksidatif strese karşı koruyabilmektedir. Ayrıca bu proteinin inme, Alzheimer ve Parkinson gibi nörolojik hastalıkların tedavisinde yeni bir hedef olabileceği de öne sürülmüştür (19). SIRT1’in bilişsel bozuklukların iyileştirilmesinde rolü olabileceği de bildirilmiştir (20).

EX-527 oldukça etkili ve seçici bir SIRT1 inhibitörü olup, deneysel modellemelerde hastalık ve bozukluk seyrine farklı etkiler gösterdiği belirtilmektedir (21).

Bu araştırmada; sıçanlarda LPS indüklü nöroinflamasyon modeli ile oluşturulan nörodejenerasyonda, resveratrolün ve EX-527’nin beyinde moleküler genetik, biyokimyasal, bilişsel ve histopatolojik parametreler üzerinden var ise nöro koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Nöroinflamasyon

İnflamasyon (yangı); hücrelerin veya dokuların uğradığı yaralanma, enfeksiyon ve travmaya cevap olarak verilen önemli bir biyolojik süreç olarak belirtilmektedir. Başarılı bir enflamatuar yanıt mekanizması istilacı patojenleri ortadan kaldırmakta ve yara iyileşmesini ve anjiyogenez başlatmaktadır (22). Nöroinflamasyon; nöronlar, makroglia ve mikroglia dahil olmak üzere MSS içerisinde bulunan tüm hücreleri de içeren bir cevap olarak tanımlanmaktadır. Çevresel etmenler, yaşlanma, genetik altyapı ve geçmiş hastalık öyküsü nöroinflamasyonda önemli rol oynayabilmektedir (23, 24). Nöroinflamasyonda enflamatuar cevap, şematik olarak iki adımda gerçekleşen dinamik ve organize bir süreç olarak belirtilmiştir;

- (i) İlk adım, tehlike sinyallerinin mikroglia tarafından tanınmasıyla başlatılır, amacı tetikleyici ajanı ortadan kaldırmaktır. Sınıf II MHC antijen sunan moleküller, Kostimülator moleküller (CD80, CD86), Proinflamatuvar Sitokinler (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12...), Kemokinler (CCL2, CCL5...), Nitrik Oksit (NO) ve ROT üretimi ile karakterize edilmektedir. Hepsinin de agresif ajanları yok etmek için gerekli olduğu düşünülmektedir.
- (ii) İkinci adımda, anti-inflamatuar moleküllerin salgılanması ve doku onarım faktörleri ile karakterize edilen enflamasyonun ayrıştırma fazı gelmektedir. Bu faz, akut adımın durdurulması, yaralanan dokunun iyileşmesi ve homeostaza geri dönülmesine imkan sağlamaktadır. Mikroglia aracılı bu ayrıştırma fazının, sistemik inflamasyon yanıtından büyük bir farkı nöro korumayı ve nöro onarımı desteklemesidir. Bir taraftan; İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 (IGF1), Glia kökenli Nörotrofik Faktör (GDNF) ve Beyin-Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) gibi nörotrofik faktörlerin senteziyle nöro korumaya aracılık etmektedir. Diğer taraftan mikroglia ve plastisite tarafından nörojenez'in uyarılmasıyla sinir onarımına aracılık etmektedir (6).

LPS, toll like reseptörleri (TLR) sinyali yoluyla sistemik bir şekilde enflamatuar bir yanıt indükleyebilmektedir (25). LPS'nin Mikroglia yüzeyindeki TLR4'e bağlanmasıyla mTOR, MAPK ve PI3K/AKT dahil olmak üzere birçok sinyal iletim yolu aktive olabilmektedir. Tüm bunların sonucunda NF-kB aktivasyonu oluşabilmektedir. NF-kB'nin, pro-inflamatuar sitokinler, kemokinler ve indüklenebilir enzimlerin (iNOS

ve COX-2) aktivasyonu sağlayarak nöroinflamasyona neden olabileceği belirtilmektedir (26, 27).

MSS, insan vücudundaki en kompleks ve en az anlaşılabilir yapı olup, nöroinflamatuvar hastalıklarda yapısı bozulabilmektedir (28). Enflamatuar yanıt; T hücreleri, nötrofiller, makrofajlar, mikroglia ve mast hücreleri dahil olmak üzere çeşitli immün ve enflamatuar hücreler tarafından gerçekleştirilmektedir. Nöroinflamasyon beyinde yer alan makrofaj, astrositler, nöronlar, T hücreleri, nötrofiller, mast hücreleri ve nöroinflamatuvar araçları salgılayan bu hücrelerle yani mikroglialarla yönetilmektedir (29). Diğer hücrelerin aksine nöronlar hasar gördüklerinde yeniden üretilmediği ve onarılamadığı bildirilmektedir (30). Nöroinflamasyon başlangıçta beyinde koruyucu bir cevaptır ancak aşırı inflamatuvar cevaplar nöronal iyileşmeyi engellemekte ve zararlı olabilmektedir (31). Kronik nöroinflamasyon, AH, PH ve MS gibi nörodejeneratif hastalıkların başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır (32). MSS nöronlarının neden hasardan sonra yenilenemedikleri henüz net olarak bilinmemektedir. Şu ana kadar, beyindeki hasar görmüş veya etkilenmiş bölgelerde nöronal onarımı uyuracak hiçbir terapötik ajan tam olarak öne sürülmemiştir. Bu nedenle, nörodejeneratif hastalıkları etkin bir şekilde tedavi edecek bir ilaç yoktur, ancak ilaçların nanoteknolojik gelişimleri, birkaç yeni tanı, ilaç verme prosedürü ve genetik yaklaşımlar son on yılda yoğun bir şekilde denenmiştir (33-35). Tedavide, çok hedefli terapi ve eksitotoksisitenin durdurulması, Ca<sup>+</sup> aşırı yüklenmesi, oksidatif stres, apoptoz ve endoplazmik retikulum stresi gibi diğer seçenekler önerilmiş bu sayede ilaçların etkinliği artırılıp nörodejeneratif hastalıkların tedavi edilmesi amaçlanmıştır (36-38). Ayrıca Adeno-ilişkili virüsler aracılığı ile yapılan gen terapisi tedavileri nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde başarısız olmuşlardır (38). Nörodejeneratif hastalık koşulları beyindeki nöronları ve glial hücreleri etkilemekte ve onların yapısını bozmaktadır. Bu durum hastalığın spesifik bulgularını göstermektedir (39). Parkinson Hastaları bradikinezi, kas sertliği ve istirahat tremoru gibi motor semptomlar göstermektedir. Bu hastalarda motor dışı semptomlar arasında koku disfonksiyonları, bilişsel bozukluklar, psikiyatrik semptomlar ve otonomik disfonksiyon bulunmaktadır. Histolojik olarak, Parkinson Hastalarında substantia nigra daki dopaminerjik nöronlar tahrip olmaktadır (30). Alzheimer Hastalarında önce temporal loblarda (kısa süreli hafızayı saklamaktadır) ve sonra parietal loblarda (uzun süreli hafızayı saklamaktadır) nörodejenerasyon oluşmaktadır. Alzheimer hastaları bilişsel ve psikiyatrik bozukluklar içeren semptomlar göstermektedir. Protein agregasyonları

(nörofibril oluşumlar) nöronlarda gelişmektedir. AH, PH ve MS hastalarında halen hasar görmüş nöronları onarmak ya da daha fazla nörodejenerasyonu önlemek için spesifik bir ilaç sürülmemiştir. Mevcut ilaçlar bu hastalarda sadece neuroinflamasyonun derecesini sınırlamada ve semptomların şiddetini azaltmada etkili olmuşlardır. Bu ilaçlar zarar görmüş nöronları onaramaz veya yenileyemezler de, azalmış semptomlarla ve bu hastaların yaşam süreleriyle yaşam kalitesini arttırmada çok faydalı olmaktadır (26).

### **2.1.1. Nöroinflamasyona Neden Olan Faktörler**

Normal yaşlanma süreci, demans, travma, inme, hipertansiyon, depresyon, diyabet, tümörler, enfeksiyonlar, toksinler ve ilaçlar gibi faktörler MSS'de nöroinflamasyonu başlatabilmektedir (40). Bu faktörler oluşturdukları inflamasyon ile azalan nörojenez, sinaptik hasarlar, yüksek metabolik stres, bilişsel gerileme ve nöro-davranışsal eksikliklere de neden olmaktadır. Özellikle normal yaşlanma süreci; bozulmuş glial hücre sinyalleşmesi, MSS hücrelerinde kronik proinflamatuvar reaksiyonlar, artmış sistemik inflamasyon ve KBB geçirgenliğine neden olabilmektedir (41). Mikroglial hücreler, MSS ve immün hücreler arasındaki iletişime aracılık etmektedirler. Bu iletişim kronik inflamasyona yatkın yaşlılarda ve nörodejeneratif hastalık başlangıcında bozulabilmektedir (42).

Nöroinflamasyon ve sistemik inflamasyon, MS hastalarında oligodendrosit ölümüne ve miyelinli nöronların dejenerasyonuna yol açmaktadır. Yaşlanma ve kronik hastalıkların varlığı insan vücudunda depresyona neden olabilmektedir. Depresif durum, inflamatuvar hücrelerden salınan proinflamatuvar aracılı arttırarak nöroinflamasyonu başlatabilmektedir (43). Obezite de nöroinflamasyonun başlaması için bir risk faktörü olarak görülmektedir. Obez bir kişinin adipoz dokusunda enflamatuvar reaksiyonlar sürekli olarak mevcut olabilmektedir. Adipositlerden salgılanan adipokinler birçok proinflamatuvar aracı salgılamaktadırlar. Bu nedenle, obezitenin nöroinflamasyon ve nörodejeneratif hastalıklara yatkınlık olabileceği öne sürülmüştür (44). Virüsler ve bakteriler gibi enfektif ajanlar beyine, yapısı bozulmuş kan beyi bariyer (KBB) hattından girebilmekte ve nöronal, glial fonksiyon bozuklukları nedeni ile ölüme sebep olabilmektedirler. Bunlara ek olarak demansın oluşmasına ve MSS de fonksiyonel anomalilere de neden olmaktadır. LPS, viral enfektifler ve toksinler gibi ajanlar beyindeki glial hücreleri, immün ve inflamatuvar hücreleri aktive edebilirler. Bundan dolayı proinflamatuvar aracılı salınımı arttırmaya ve MSS de nörodejenerasyon ve nöronal ölüm oluşabilmektedir. Nöroprotektif mekanizmalar glial hücreleri bu

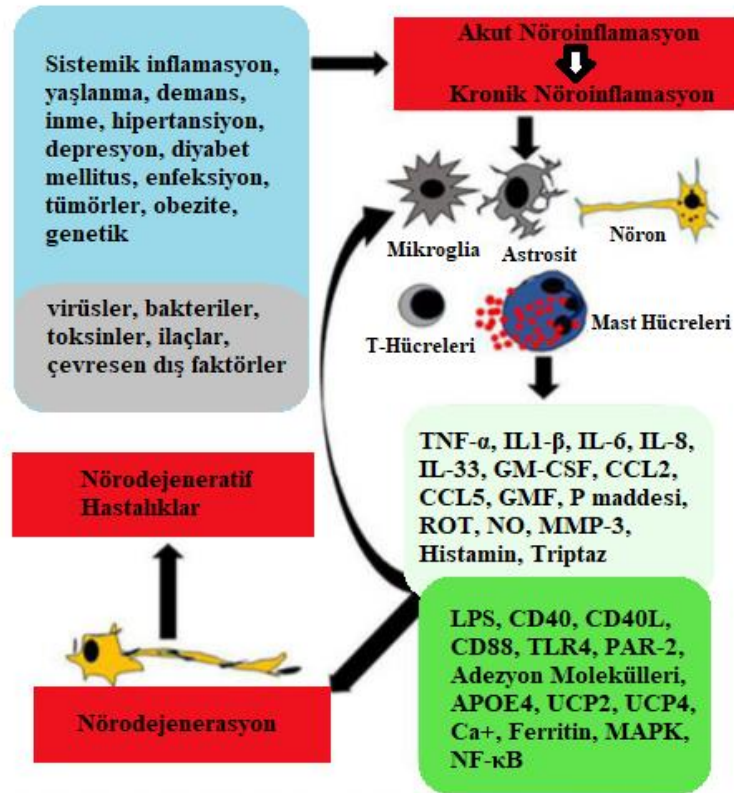
hasarlardan korumaya çalışır ancak aşırı nöroimmün tepkiler nöroinflamasyona, nöronal fonksiyon bozukluğuna, nöronal yaralanmaya ve hatta nöronal ölüme bile yol açabilmektedir (45).

### **2.1.2. Nöroinflamasyon Aracılı Nörodejenerasyon**

Beyin önceden sınırlı bağışıklık yanıtları olan immünolojik olarak ayrıcalıklı bir bölge olarak kabul edilmiştir (45). Dahası periferik immün mekanizmalar ve beyin arasında iki yönlü iletişim olmadığı da düşünülmüştür. Ancak günümüzde açıkça bilinmektedir ki periferik immün sistem ve beyin iki yönlü olarak fizyo-patolojik şartlarda birbirilerini etkilemektedir (46-48). Akut düşük seviyedeki enflamatuar yanıtlar; enfektif ajanlardan, toksinlerden ve dokudaki hasarlardan korunmak için önem arz etmektedir (31, 49). Vücudun normal fizyolojik işlevlerini gerçekleştirebilmesi için TNF- $\alpha$  ve kemokin (C-C motif) ligand 2 gibi sitokinlerin ve kemokinlerin bazal salınımının gerekli olduğu belirtilmiştir (50-52). Proteazlar, sitokinler ve kemokinler ve büyüme faktörleri gibi mast hücre aracılığı; doku iyileşmesi, anjiyogenez, doğal bağışıklık ve normal nöronal büyüme fonksiyonları için gereklidir (53). TNF- $\alpha$  astrositlerde BDNF ifadesini düzenlemekte ve beyindeki nörotropik/nöroprotektif aktiviteye aracılık etmektedir (54). Bununla birlikte uzun süreli ve artan enflamatuar reaksiyonlar nörodejeneratif hastalıkların başlamasına ön ayak olmaktadır (55). Artan periferik immün ve enflamatuar aktiviteler; KBB'de fonksiyon bozukluklarına ve immün ve enflamatuar hücrelerin beyine sızmasına neden olmaktadır. T-hücreleri, mast hücreleri ve periferdeki enflamatuar araçlar hasarlı KBB'yi geçerek beyine nüfus ederler ve bu durum nörodejenerasyonun artmasına neden olmaktadır (45, 49). TNF- $\alpha$  üretimi ile sistemik inflamasyonun varlığı artmış bilişsel gerileme, glial hücre aktivasyonu ve nöroinflamasyon ile ilişkilendirilmektedir (56). Nöroinflamasyonun artış ve aktivasyonu nörodejenerasyona sebep olan birçok mediatör, reseptör protein ve yolak olduğu belirtilmektedir. Proteazla-aktive olan reseptör (PAR-2), enflamatuar hücrelerden proteazların G-protein eşli reseptörü olarak belirtilmektedir (57). Mast hücreleri, glial hücreler ve nöronlardan ifade edilen PAR-2 nöroinflamasyonda önemli bir rol oynamaktadır (58, 59). Çalışmalar mast hücrelerinin; T hücreleri, glial hücreler, nöronlar ile iletişim halinde olup nöroinflamasyon mediatörleri veya doğrudan hücreden hücreye temas ile aracılık yaptığını göstermiştir (53, 60-63). Glial hücrelerin aktivasyonu sadece proinflamatuvar mediatörler üretmekle kalmaz, aynı zamanda BDNF gibi birkaç anti-enflamatuar ve nöroprotektif faktöründe salınmasını sağlayabilmektedir. Ancak,

nöroinflamatuvar mediatörlerin aktivitesi, nöroprotektif mediatörlerin aktivitelerinden daha yüksek ise enflamasyon, koruma yerine dokulara zarar vermektedir (64).

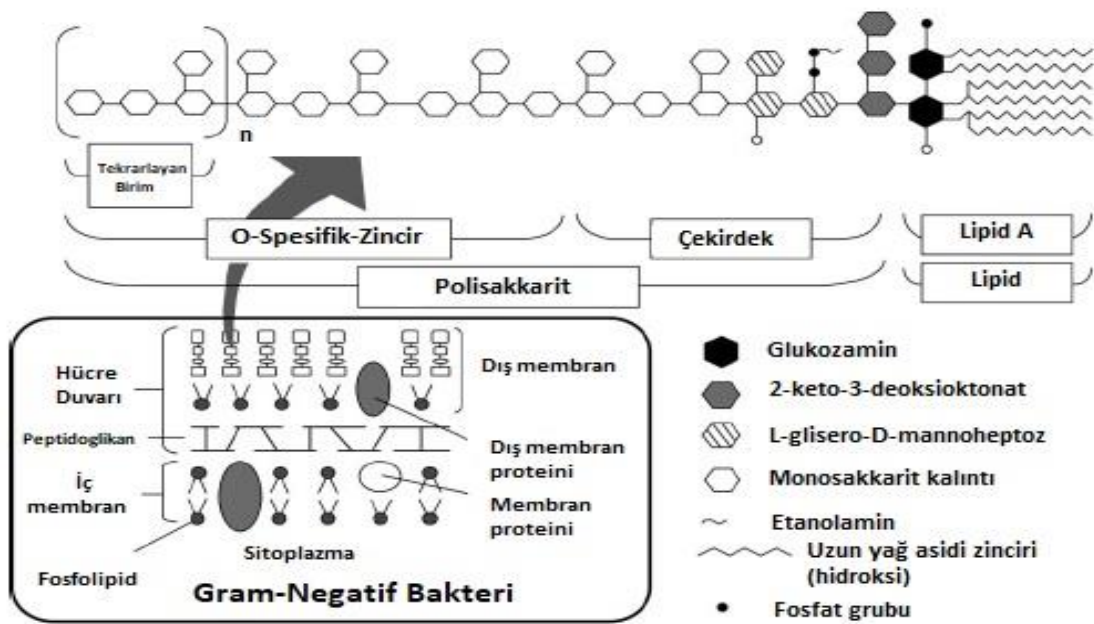
Nöroinflamasyonun uyardığı hastalıklarda, nörodejenerasyon ve nöronal ölüm temel olarak; TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-33, CCL2, CCL5, matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3), sinir büyüme faktörü (NGF), P maddesi (substance P), siklooksijenaz-2 (COX-2), prostaglandin E2 (PGE2), ROT, PAR-2, CD40, CD40L, CD88, hücreler arası adezyon molekülü 1 (ICAM-1) ve mast hücrelerinden meydana gelen histamin ile triptaz gibi proinflamatuvar ve nörotoksik mediatör seviyelerinin artmasından kaynaklanmaktadır (29, 65-68). Bu araçlar doğrudan veya dolaylı olarak glia hücrelere ve enflamatuar hücrelere etki etmektedirler. Neticesinde nöronal sağ kalım etkilenmiş ve nörodejenerasyon uyarılmış olmaktadır (69) (Şekil2.1).



**Şekil 2.1.** Beyindeki nöroinflamasyon aracılı nörodejenerasyonu gösteren şematik diyagram (69).

## 2.2. Lipopolisakkarit (LPS)

LPS, gram negatif bakterilerde dış zarda temel bileşen olup, hidrofilik polisakkarit ve hidrofobik lipit kısımları nedeniyle amfifilik (iki özelliğide taşıyan kimyasal bileşik) özellikleri taşımaktadır. Temel yapısı üç bölümden oluşmaktadır; (I) Lipit A, (II) Çekirdek yapısındaki şeker, (III) O antijeni (O-polisakkarit). Lipid A iki glukozamine bağlı 4 ile 7 yağ asidi zincirinden ve 8 karbon şeker parçasından oluşan bir çekirdekte meydana gelmiştir. Lipid A, membranın adeta bir çapası gibidir ve endotoksin etkisinde rol almaktadır (70) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. LPS temel yapısı (70).

LPS hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak nöroinflamasyon modellerinde kullanılmaktadır (71). LPS kaynaklı sistemik inflamasyon AH, PH, ve MS gibi birçok hastalıkta rol oynamaktadır (72-76). LPS güçlü bir endotoksin olup memeli enzimleri tarafından bozunmaya karşı dirençlidir bu sayede proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyaran kalıcı bir enflamasyona neden olmaktadır (77). Bu proinflamatuvar sitokinler hem nöroimmün hem de nöroendokrin sistemleri aktive etmektedirler (78). LPS, 'hastalık davranışları' adı verilen davranışsal bir etki meydana getirmektedir. Bu davranışlar; aktivite azalması, keşif azalması, sosyal etkileşimin azalması, yiyecek ve içecek

tüketiminde azalma, ateş, hipersomnia, hipotalamik-pitüiter-adrenal (HPA) ekseninin aktivasyonu ve sempatik aktivasyonun artmasına neden olmaktadır (79-81).

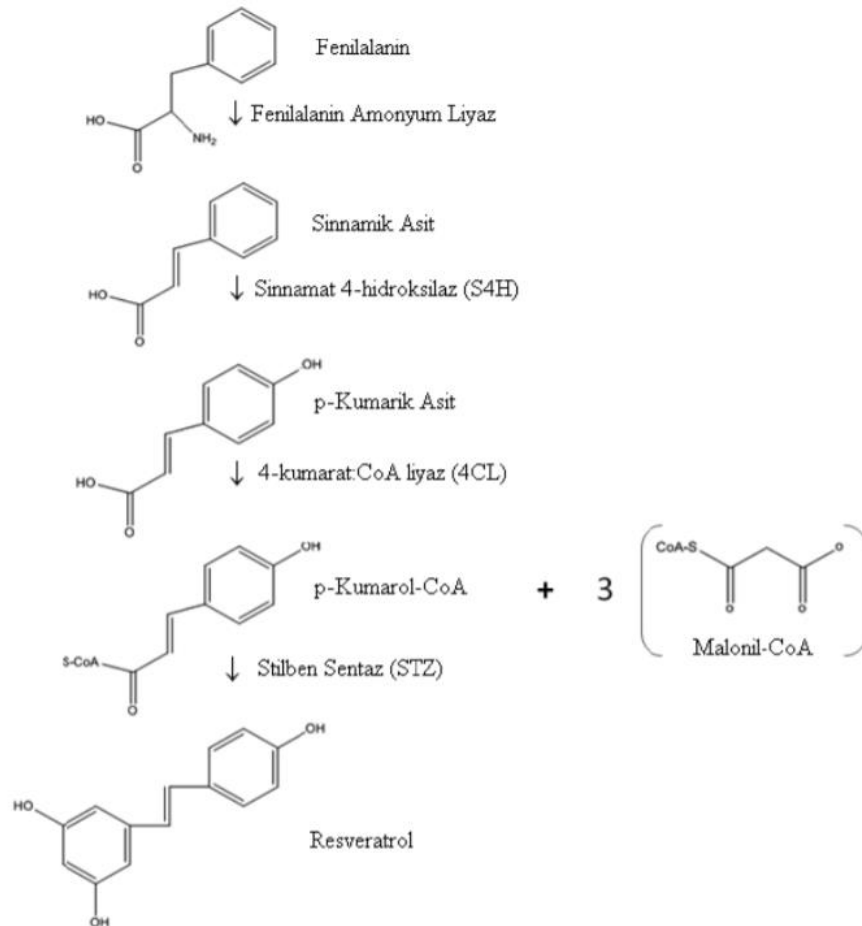
LPS'nin beyine doğrudan periferik sinir transdüksiyonu, çevresel organlar, postrema bölgesi ve hatta hipotalamus seviyesinde ulaşması mümkün olmaktadır (82-86). LPS mikroglia membran üzerindeki CD14'e bağlanarak LPS-CD14 kompleksini oluşturmaktadır (87, 88). Bu kompleks daha sonra TLR-4 ile etkileşime girmektedir. TLR-4 sırasıyla, hızlı transkripsiyona yol açan sinyal transdüksiyon kaskatlarını uyaran mikroglia'yı aktive etmekte ve IL-1, IL-6, IL-12, IL-17A, IL-18, p40 dahil indüklenebilen nitrik oksit sentaz (iNOS) ve tümör nekrozis faktörü alfanın; CCL2, CCL5 ve CXCL8 gibi kemokinlerin; C3, C3A ve C5A reseptörleri gibi tamamlayıcı sistem proteinlerinin ve IL-10 gibi anti-enflamatuar sitokinler ile dönüştürücü büyüme faktörü-beta'nın (TGF- $\beta$ ) salınımını gerçekleştirmektedir (14, 89-92). Üç günlük LPS uygulamasından sonra bile Hipokampüste TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6'nın ekspresyon seviyesinin kontrol grubuna kıyasla arttığı gösterilmiştir (93). NF- $\kappa$ B önemli bir transkripsiyon faktörü olup, NF- $\kappa$ B ifadesinde meydana gelen düzensizlikler inflamatuvar hastalıklarda önemli rol oynayabilmektedir (94). NF- $\kappa$ B; TNF- $\alpha$ , interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), lipopolisakkarit ve serbest oksijen radikalleri gibi çeşitli uyaranlar ile indüklenebilmektedir (95).

### **2.3. Resveratrol**

Resveratrol (3,5,4-trihidroksistilben) üzüm, çam ve fıstık gibi baklagillerde üretilen bir polifenolik fitoaleksindir (96, 97). Resveratrol zayıf emilir ve arttırılmış absorpsiyonu sadece metillenmiş analoglar ve karabiber özütü takviyeleri ile sağlanmaktadır. Resveratrol 25mg'lık bir dozda uygulandığında, serbest durumdaki plazma konsantrasyonunda 1-5 ng/mL arasında değişmekte iken daha yüksek dozlarda (5 gr kadar) uygulanması 530 ng/mL'ye kadar serbest resveratrol değerine yol açmaktadır. Azami doz konsantrasyonuna düşük doz alımından sonraki ilk 30 dakikada ulaşılmıştır (98). Resveratrolün MSS'deki nöroprotektif etkileri KBB'yi geçtiğini göstermektedir (99). İnsanlarda kronik alımında hiçbir toksisite bildirilmemiş ve çok güvenli olduğu kabul edilmiştir. Ayrıca sıçanlarda da günlük uygulanan 700-1000 mg/kg dozajlarda bile herhangi bir toksikolojik etki gözlemlenmemiştir (100). Bununla birlikte daha yüksek dozlar (günde 2.5 gr veya 5 gr) gastrointestinal rahatsızlık/diyare oluşturabilmektedir (101, 102). Resveratrol, ilk ve en çok çalışılan SIRT1 aktivatörü olarak belirtilmiştir. Uyarıcı etkisi birçok çalışma tarafından güçlü bir şekilde desteklenirken, altta yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Resveratrolün, SIRT1'i aktive etmekten başka

bazı biyolojik fonksiyonlara (anti-oksaditif, anti-inflamatuar, bilişsel geliştirici gibi) sahip olduğu belirtilmektedir (103).

Resveratrol iki izoformda bulunmaktadır; *trans*-Resveratrol (daha stabil) ve *cis*-izomer formu. Her ikisi de fenilpropanoid yoldan üretilmektedir (104). Üzüm kabuğunda ya da suyunda *cis*-resveratrol tespit edilmediğinden, *trans* resveratrolün izomerizasyonu ya da kabuk fermantasyonu boyunca *trans*-resveratrol polimerlerinin (viniferin) kırılmasıyla oluştuğu düşünülmektedir (105). *Trans*-resveratrol sentezini stilben sentaz enzimi başarmaktadır. *Trans*-resveratrol bitkiler tarafından zorlu koşullara yanıt olarak az miktarda üretilmektedir. *Trans*-resveratrolün; p-kumarol-CoA'nın p-kumarol kısmı ile malonil-CoA'dan 3 adet C-2 alt ünitesinin dekarboksilasyonunun kondensasyonu sonucu oluşmaktadır. İleri reaksiyonlarda *trans*-resveratrolün bifenolik halkasının 3. pozisyonunda glikozil ya da sülfat kalıntıları konjuge olmaktadır (106) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Resveratrolün oluşumu ve kimyasal yapısı (105).



Resveratrolün, antioksidan aktivitesinden kaynaklanan nöroprotektif etkileri yaygın olarak bildirilmiştir. Örneğin, resveratrol tedavisi, *in vivo* ve *in vitro* hipoksi iskemide yüksek düzeyde serbest radikal oluşumuna sahip oksidatif hasar belirteçlerini azaltmıştır. Resveratrol, kültüre edilmiş nöronları oksidatif hasara karşı savunmasızlıklarına ve amiloid beta oksidatif hasarına karşı korumuştur (107, 108). Resveratrol süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve hem-oksijenaz-1 gibi antioksidan enzimlerin aktivitesine de etki ederek antioksidan özellik gösterebilmektedir (109, 110). Resveratrolün redoks yollarıyla ilgili genleri modüle ettiğine dair çalışmalarda mevcuttur. Resveratrol Parkinson hastalığı fare modelinde oksidatif stres ve mitokondriyal metabolizmanın ana düzenleyicisi olan PGC-1 $\alpha$ 'yı indüklemiş, yapılan bir sıçan iskemide ise nükleer faktör eritroit 2 (Nrf2) ifadesini düzenlemiştir (111, 112). Nrf2-sinyalleşme yolu, oksidatif strese karşı koruma için çok önemli olan birçok genin transkripsiyonunu aktive etmektedir. Resveratrol uygulaması, dopaminerjik hücrelerde, transkripsiyon faktörlerinin (FOXO3a) ifadesini ve nükleer translokasyonunu arttırmıştır (113). FOXO genleri oksidatif strese karşı ilk savunma hattının oluşmasına aracılık etmektedirler. Resveratrol oksidatif strese karşı nöroproteksiyonda, kısmende olsa SIRT1 yolağının aktivasyonu ile sağlamaktadır. Mitokondriyal bozukluklardan kaynaklanan hücre oksidatif stresin, nörodejeneratif hastalıkların merkezinde olduğu gözlenmiştir. Oksidatif stres ayrıca, ilerleyen yaşta daha sık görülen ve demans riskini artıran felçlerde ve serebrovasküler durumlarda da ortaya çıkmaktadır. Resveratrol, nörodejenerasyona yol açan oksidatif stresini hafifletmektedir (114).

Otofaji, protein ve organellerin lizozomal yolla yıkımı ile ilgili hücre içi katabolik bir süreç olarak tanımlanmıştır (115). Hayvanlarda otofaji; aşırı miktarda oluşan protein ve organellerin hücre kontrolde ortadan kaldırılmasıyla gerçekleşmektedir. Çeşitli nedenler ile meydana gelen otofajik bozukluklar nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi ortaya çıkan birçok hastalığın patogenezi arttırmaktadır. Otofajik lizozomal sistemin işlevsel etkinliği, yaşlandıkça ciddi şekilde azalmaktadır bu nedenle, yaşlanmaya özgü bazı proteinopatiler ve nörodejenerasyon ortaya çıkmaktadır (116).

Yapılan çalışmalarda SIRT1 proteininde otofajinin düzenlenmesinde rol aldığı ortaya konmuştur (117, 118). Çalışmalar, resveratrol uygulamasının otofajide bazı yararları olabileceğini göstermektedir. Bu, SIRT1'in mTOR'daki negatif regülasyonu ile ilişkili olarak gösterilmiştir (119). Resveratrol, mTOR'un aktivitesini SIRT1'e bağlı bir

şekilde azaltmaktadır (120). SIRT1, pro-otofajik proteinler Atg5, Atg7 ve Atg8 ile etkileşime girip deasetile etmektedir (118). Ayrıca, SIRT1'in, LKB1'i deasetile ettiğini, böylece AMPK'nin aktivitesini ve kapasitesini arttırdığı gösterilmiştir (120). Bu nedenle, SIRT1/LKB1/AMPK yolu otofajinin düzenlenmesinde rol oynayabilmektedir. SIRT1'in aktive edilmesine ek olarak, resveratrolün p70 S6 kinazı inhibe ettiği ve böylece otofajiyi baskıladığı gösterilmiştir (121).

Resveratrolün TNF-a, siklooksijenaz-2 (COX-2), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve interleokinler gibi çeşitli inflamatuvar biyobelirteçlerin aşağı regülasyonuna aracılık ettiği gösterilmiştir (122-125). Bu aktivite, resveratrolün hidroksil gruplarının sayısı ve konumuna, ayrıca SIRT1 üzerindeki etkisine bağlı gibi görünmektedir. Resveratrolün, bir aril hidrokarbon reseptörü antagonisti ve doğrudan inhibitör olarak görev yapan COX-2 üzerinde inhibe edici bir etkisi gösterilmiştir. Resveratrol ayrıca NO oluşumunu, sitozolik iNOS protein seviyelerini ve LPS ile aktive edilen makrofajları inhibe etmektedir (126).

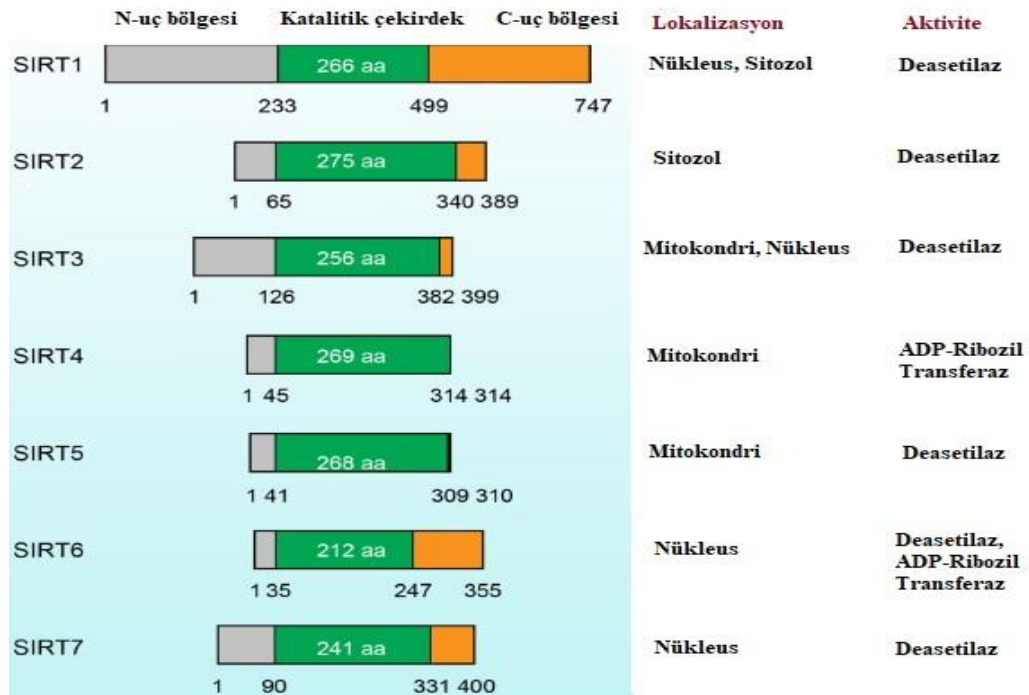
Resveratrolün etkileri hem *in vitro* hem de *in vivo* birçok nöroinflamasyon modelde çalışılmıştır. Örneğin resveratrol, nöronların toksik ajanlara maruz kaldığı çeşitli hayvan modellerinde nöronal kaybı önlemektedir. Streptozotosinin (STZ) neden olduğu bilişsel kaybı olan sıçanlar, resveratrol verildikten sonra hafızayı ve öğrenmeyi (labirent bulma ve ayak şoklarından kaçınma yoluyla test edilmiştir) geliştirmiştir (127). Kolşisin (mikrotübülleri parçalar, aksonal ve dendritik taşınmaya müdahale eder) verilen sıçanlarda resveratrolün bilişsel işlev gerilemesini hafiflettiği tespit edilmiştir (128). Resveratrol uygulaması travmatik beyin hasarı sonrası nöronal kaybı azaltmaktadır (129). Polifenollerin nöroprotektif rolü, mikroglial fonksiyonun inhibisyonu ile de sağlanmıştır. Örneğin resveratrol, NFκB ve Aktivatör Protein-1 (AP-1) gibi farklı proinflamatuvar sitokinleri ve anahtar sinyal moleküllerini inhibe ederek, mikroglia ve astrositlerde anti-inflamatuvar etkiler sergilemiştir (130, 131).

Resveratrol veya türevlerinin nöroinflamasyon ve nörodenejatif hastalıklara karşı tek başına yada diğer maddelerle kombinasyon halinde kullanımı birçok klinik çalışmada halen devam etmektedir (132).

## 2.4. Sirtuinler ve SIRT1

Sirtuinlerin, protein deasetilaz ve adenosin difosfat (ADP)-ribozil transferaz protein ailelerinden olduğu bilinmektedir (133). Klar ve ark. *Saccharomyces cerevisiae*'da ilk olarak bu geni tanımlamışlardır (134). Roy Frye ise 1999 yılında Sirtuin adını kullanmıştır. Sirtuin genleri bakteriler, solucanlar, sinekler, bitkiler ve memelilerde gözlemlenmiştir (135).

Memelilerde yedi tane Sirtuin çeşidi tanımlanmıştır (SIRT 1-7). SIRT1, SIRT6 ve SIRT7 ağırlıklı olarak çekirdek, SIRT2 sitoplazma, SIRT3, SIRT4 ve SIRT5 ise çoğunlukla mitokondride olmaktadır. Çekirdek içerisinde, SIRT1 ökromatin ile bağlantılıyken, SIRT6 heterokromatin ile bağlantılı bulunmaktadır. SIRT1-7 arasında SIRT1 en dayanıklı deasetilaz faaliyetini göstermektedir. SIRT5'in zayıf bir deasetilaz faaliyeti bulunmakta olup, SIRT 2 ve SIRT 3 mono-ADP-ribosiltransferaz faaliyeti ile birlikte deasetilaza özelliği göstermektedirler (136). SIRT4 ve 6; mono-ADP ribosil transferaz olarak karşımıza çıkmaktadır. SIRT7'nin yapı ve işlevi hakkında kısıtlı bilgiler bulunmaktadır (Şekil 2.4). Metabolizma, yaşlanma, kanser, inflamasyon gibi birçok fizyolojik olayda memeli sirtuinleri etkilenebilmektedir (137, 138).



Şekil 2.4. Sirtuin ailesinin moleküler karşılaştırması (103).

### 2.4.1. SIRT1'in Özellikleri

Yedi memeli sirtuininden en kapsamlı çalışılan *SIRT1* olmuştur. *SIRT1*'in kodlayıcı geni, 10q21.3 kromozomu üzerinde bulunmakta ve genomik sekansı, tek bir genom lokusu ile 33.660 bp'lik bir bölgeye yayılmaktadır. 9 ekzon tarafından kodlanan *SIRT1*, 747 amino asit içermekte ve 81.7 kDa bir molekül ağırlığına sahip olduğu tahmin edilmektedir. Bu enzim beynin yanı sıra; böbrek, kalp, karaciğer, iskelet kası, dalak, pankreas ve beyaz yağ dokusunda yüksek oranda ifade edilmektedir (139, 140).

1999'da Kaeberlein ve ark. ilk olarak Sir2'nin maya ömrünü arttırdığı, çünkü Sir2'nin ikinci bir kopyasının yabancı tipteki türüne entegrasyonunun yaşam ömrünü %30 oranında uzattığını gözlemlemişlerdir. Buna karşılık, Sir2 mutant farelerin ömrü ise %50 azalmıştır ve bu düşüş, rDNA rekombinasyonu ve replikasyonundaki bir blok ile ilişkilendirilmiştir (141). *SIRT1* homologunun o zamandan beri hücrel yaşam uzatma, enerji ve metabolik düzenleme, epigenetik susturma ve homolog rekombinasyon yoluyla DNA onarımında rol oynadığı bildirilmiştir (142-144).

Her ne kadar *SIRT1* en çok beyin bölgesinde ifade edilsede, esas olarak hipokampus, talamus ve soliter sistemin, nöronlarının çekirdeğinde daha çok belirgin olduğu gözlemlenmiştir (143, 145). Nöronal yaşlanma, yüksek yağlı beslenme ve çeşitli nöropatolojik durumlar beyindeki *SIRT1* seviyelerini azaltabilmekte ve bu etki kalorik kısıtlama, terapötik ajanlar ve fiziksel egzersiz ile tersine çevrilebilmektedir. *SIRT1* aynı zamanda birbirine bağlı, çok yönlü düzenleyici ağların çok önemli bir bileşenidir ve bu nedenle nöronal plastisite ve bilişsel gelişim için önemli olan dendrit ve aksonların büyümesini düzenlemekte ve onları strese karşı korumaktadır. *SIRT1* knockout fareler çok normal şekilde beyin anatomisi sergilerken dendritik gelişim ve sinaptik plastisitede kusurlar göstermişlerdir (143). *SIRT1*'in aşırı ekspresyonu, muhtemelen NF- $\kappa$ B sinyal inhibisyonu yoluyla mikroglia bağımlı amiloid- $\beta$  toksisitesini bloke edebilmektedir (146).

Resveratrol en etkili sirtuin aktivite edici bileşiklerden biri olarak belirtilmiştir ve asetillenmiş substrat için  $K_m$  değerini azaltması yoluyla *SIRT1*'in aktivitesini sekiz kat kadar arttırabilmektedir (147, 148). Asetil peptid sekansı, *SIRT1* aktivasyonu için gerekli olmamasına rağmen, *SIRT1*'i aktive eden resveratrol için kovalent olarak eklenmiş bir florofofor gerekli olmuştur. Resveratrol varlığı, bir p53-AMC peptidinin (florofofor 7-amino-4-metilkumarine bağlı p53) *SIRT1* ile etkileşime girip girmeyeceğini belirlemektedir

(147). Bununla birlikte, SIRT1'in doğrudan bir aktivatörü olarak resveratrolün etkinliği, *in vitro* deneylerde florojenik substratların kullanımıyla ilgili potansiyel sorunlar göz önüne alındığında sorgulanmaya devam etmektedir (149).

2015 yılında Cao ve ark. Resveratrol ve bir 7-amino-4 metilkumarin (AMC) içeren peptid ile kompleks halinde SIRT1 yapılarının kapsamlı bir analizini yapmış ve tam uzunluktaki SIRT1 enziminin üç önemli fonksiyonel alan içerdiğini bulmuştur: N terminal alanı (NTD), C-terminal alanı (CTD) ve korunmuş katalitik alan (CD). İki fonksiyonel resveratrol molekülü, AMC-peptidi ve SIRT1'in NTD'si arasındaki etkileşime aracılık ederek, SIRT1 aktivasyonunu teşvik etmektedir (19). Daha önceki bir çalışmayla uyumlu olarak, resveratrolün aktif hale getirdiği SIRT1'in flüorofor bağımlı olduğu ve resveratrolün SIRT1'in doğrudan bir aktivatörü olarak tanımlanmıştır (20).

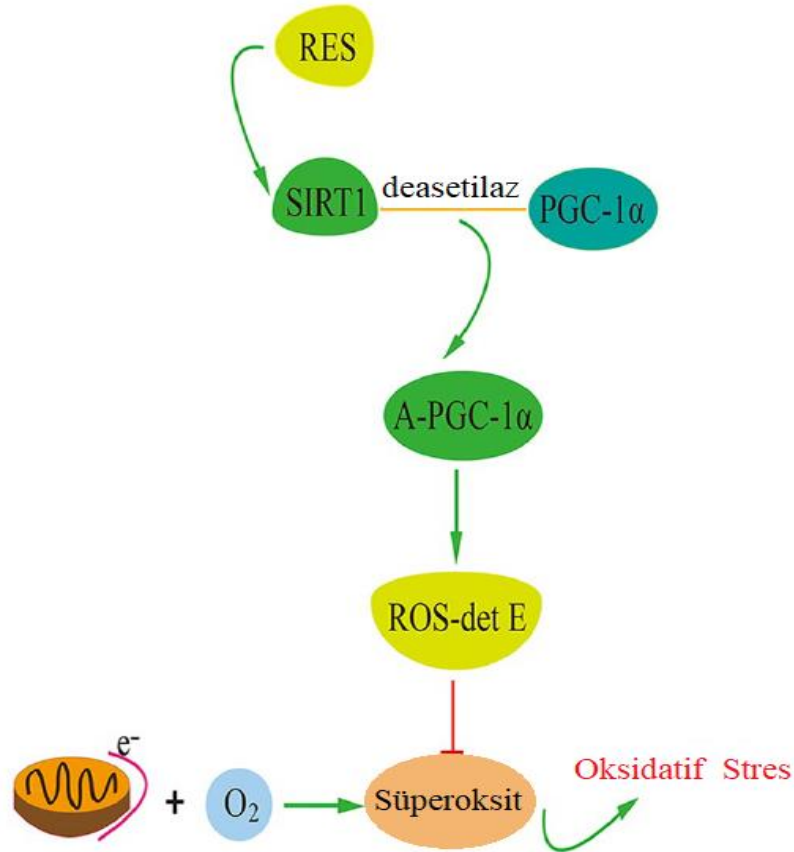
#### **2.4.2. Resveratrol ve SIRT1**

Çeşitli hayvan modellerinde yapılan araştırmalar, resveratrolün SIRT1 ekspresyonunu teşvik ederek bilişsel düşüğe karşı koruduğunu göstermektedir (150-152). Hayvan modellerinde hem diabetes mellitus hem de AH'yı indüklemek için yaygın olarak kullanılan bir molekül olan STZ, insülin direncini tetiklemekte ve beyindeki glikoz metabolizmasını bozmaktadır. Du ve ark. intraserebroventriküler enjeksiyon yoluyla sıçanlara STZ uygulamışlardır ve fosforlu tau ve fosforile edilmiş hücre dışı sinyal düzenlenmiş kinazlar 1 ve 2'nin hipokampal seviyelerinin (ERK 1/2) önemli ölçüde arttığını, mekansal hafıza kapasitesinin ve SIRT1 aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını bulmuşlardır. Bu etkiler resveratrol tedavisi ile tersine çevrilmiştir (30 mg/kg, 8 hafta boyunca günde bir kez, i.p.). Morris su labirentinde, resveratrol uygulanmış sıçanlar, SIRT1 aktivasyonunun bilişsel bozulmayı önleyebileceğini belirten daha kısa bir gecikme süresi ve daha fazla platform kadran geçiş zamanları sergilemiştir (150). İzofluran kaynaklı bilişsel bozulmanın başka bir hayvan modelinde, resveratrol ile ön muamele (100 mg/kg, art arda 7 gün boyunca günde bir kez, i.p.), anti-enflamatuar ve anti-apoptotik etkilerin aracılık ettiği bir süreçte, hipokampal SIRT1 ekspresyonunu arttırmış ve korku koşullandırma testinde donma süresini de uzatmıştır (153). Çocukluk çağında kurşuna maruz kalma beyinde aşırı "Pb" birikimine ve bilişsel düşüklere neden olmaktadır. Son araştırmalar, kronik resveratrol tedavisinin (48 hafta boyunca her gün 50 mg/kg) Pb'ye maruz bırakılmış farelerde uzamsal öğrenme ve hafıza eksikliklerini iyileştirdiğini göstermiştir. Pb grubunda fosforillenmiş SIRT1'in aşağı doğru regülasyonu belirtilirken, resveratrolün varlığı SIRT1'in yukarı regülasyonunu uyaramaktadır.

İlginç bir şekilde, çekirdekdeki SIRT1 seviyesi Pb grubunda anlamlı derecede azalmıştır. Resveratrol bu etkileri önlemiş ve hipokampal SIRT1'in nükleer lokalizasyonu ve fosforilasyonunun, resveratrolün Pb maruziyetinde bilişsel performansı sürdürmesi için önemli olduğunu belirtilmiştir (151). Zhao ve ark. İntraserebroventriküler resveratrolün (her bir lateral ventrikül'e 2.5µ) yaşlı farelerde (8-9 aylık fareler) 1 hafta boyunca enjekte edilmesinin SIRT1 aktivasyonunu arttırdığını ve hipokampal üzerinde uzun süreli hafıza ve uzun süreli güçlenme (LTP) oluşumunu belirgin şekilde iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Bu etkilere, mikro RNA (miR-134 ve miR-124) ifadelerindeki düşüşler aracılık etmektedir, bu da cAMP yanıt elemanı bağlayıcı proteinin (CREB) ekspresyonunu ve beyinden türetilmiş nörotrofik faktör (BDNF) sentezini düzenlemektedir. Bu geliştirmeler *SIRT1* mutant farelerde belirgin şekilde bloke edilmiştir (152).

Oksidatif stresin, ROT birikmesinden kaynaklandığı ve nörodejeneratif değişikliklere neden olduğu düşünülmektedir. İnsan vücudunda mitokondriyal elektron taşıma zincirinden eşleştirilmemiş elektronlar kaçtıklarında ve moleküler oksijen ile reaksiyona girdiklerinde üretilen süperoksitler ana ROT kaynakları olarak belirtilmektedir. Süperoksitler; DNA, proteinler ve lipitler ile reaksiyona girebilmekte ve birçok fizyolojik ve patofizyolojik süreçte önemli rol oynamaktadırlar. Süperoksit üretiminde uzun süreli bir artış; DNA ve biyolojik membran hasarına yol açabilmekte, enflamatuvar tepkilere ve zararlı etkilere neden olabilmektedir (154). Beynin vücuttaki herhangi bir organa göre daha fazla O<sub>2</sub> tüketmesi ve ROT oluşturmaya rağmen, antioksidan savunma kapasitesinin daha düşük olduğu belirtilmiştir (155). Buna göre, yaşlanmaya ve nöroinflamasyona bağlı olarak antioksidan savunma yeteneğinin azalması bilişsel işlev kaybına neden olabilmektedir (109). Peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör gama koaktivatörü 1 alfa (PPAR-γ koaktivatörü 1α, PGC-1α), bir transkripsiyonel koaktivatör ve mitokondriyal biyogenezin ana regülatörü olarak bilinmektedir. PGC-1α, mitokondriyal biyogenez ve solunum sistemini uyarır ve nükleer reseptör PPAR-γ ile etkileşime girerek, bu proteinin çoklu transkripsiyon faktörleri ile etkileşimine izin vermektedir. PGC-1α'nın, mitokondriyal ROT'un hücresel detoksifikasyonunu pozitif olarak düzenlediği, böylece oksidatif strese yanıt olarak endotel disfonksiyonu ve apoptotik hücre ölümünü önlediği gösterilmiştir (156). PGC-1α'sı RNAi aracılığıyla yıkılmış veya olmayan fareler; hem oksidatif strese hemde 1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridin (MPTP) ve kainik asit indüklü nörodejenerasyonun etkilerine karşı çok daha hassas olmuştur. Bunun aksine PGC-1α seviyesinin artması,

ROT-detoksifiye edici enzimlerin indüksiyonu yoluyla oksidatif stres kaynaklı ölüme karşı kültür edilmiş sinir hücreleri için olağanüstü koruma sağlamıştır (154). PGC-1 $\alpha$ , SIRT1'in bir hedefi olduğu için resveratrol, SIRT1 aracılı deasetilasyon yoluyla dolaylı olarak PGC-1 $\alpha$  'ya etki edebilir ve böylece oksidatif strese direnç göstererek bilişsel bozulmayı ve nöroinflamasyonu iyileştirebilmektedir (7) (Şekil 2.5). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, resveratrolün orta serebral arter tıkanıklığı ile oluşturulan, iskemi-reperfüzyon hayvan modeli üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar resveratrolün sıçan hipokampusünde; ROT üretimini ve apoptotik hücrelerin sayısını azalttığını, SIRT1'in ise ekspresyonunu arttırdığını böylelikle beyin iskemisine karşı nöroprotektif ve antioksidan etkilerine potansiyel yararlar sağladığını göstermiştir (157). Başka bir çalışmada, radyasyona mazruz kalmanın sıçan hipokampusünde ROT üretiminin artmasına yol açtığını, 21 günlük bir resveratrol tedavisinin (oral olarak 5 veya 10 mg/kg içme suyunda) SIRT1'in ekspresyonunu ve aktivitesini arttırdığını ve hipokampüste apoptozun inhibe edildiğini göstermiştir (158).



**Şekil 2.5.** Resveratrolün, SIRT1 aktivasyonu ile oksidatif stresi inhibe edebildiğini gösteren diyagram (20).

SIRT1, histonları ve bazı anahtar transkripsiyon faktörlerini etkisiz hale getirmekte ve enflamasyonla ilişkili çeşitli genlerin transkripsiyonel inhibisyonunu indüklemektedir. Bundan dolayı enflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde hayati bir rol oynamaktadır (159). İzofluran anestezisine tabi tutulan yaşlı farelerde nöroinflamasyon, apoptoz ve bilişsel bozukluk, resveratrol uygulamasıyla SIRT1 seviyesini arttırmış ve TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , NLRP3, Kaspaz-3, Bax, Bcl-2, I $\kappa$ B $\alpha$  gibi çeşitli enflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu düzenlemiştir (160). Mikroglial aktivasyonun aracılık ettiği nöroinflamasyonun, doğrudan bilişsel işlev bozukluğu ile ilişkili olduğu açıkça anlaşılmaktadır. Bir mutant insan amiloid öncü proteini (APP) ve mutant insan presenilin-1 (PS1) eksprese eden çift-transgenik farelerin oluşturduğu hayvan modelinde, mikroglial aktivasyon ve enflamatuvar sitokin salgılanmasını inhibe etmek için minosiklin kullanılmıştır. Bu tedavi, hipokampusa bağlı öğrenme görevinde hipokampal nörojenezde ve davranış performansında iyileşme sağlamıştır (161, 162).

Mikroglia, gelişmekte olan ve sağlıklı olgun beyindeki sinaptik budama, yeniden şekillenme ve plastisite için çok önemli görülmektedir. Bu hücreler, mikroglia spesifik kompleman reseptörü 3 (CR3) ve kemokin reseptörü Cx3cr1'in (fraktalkinin) ekspresyonuna göre sinapsları çekmekte ve ortadan kaldırmaktadır (162, 163). Enflamatuvar nöropatolojiler uzun süreli sinaptik depresyonu tetikleyebilmekte ve bilişsel düşüğe neden olabilmektedir (164).

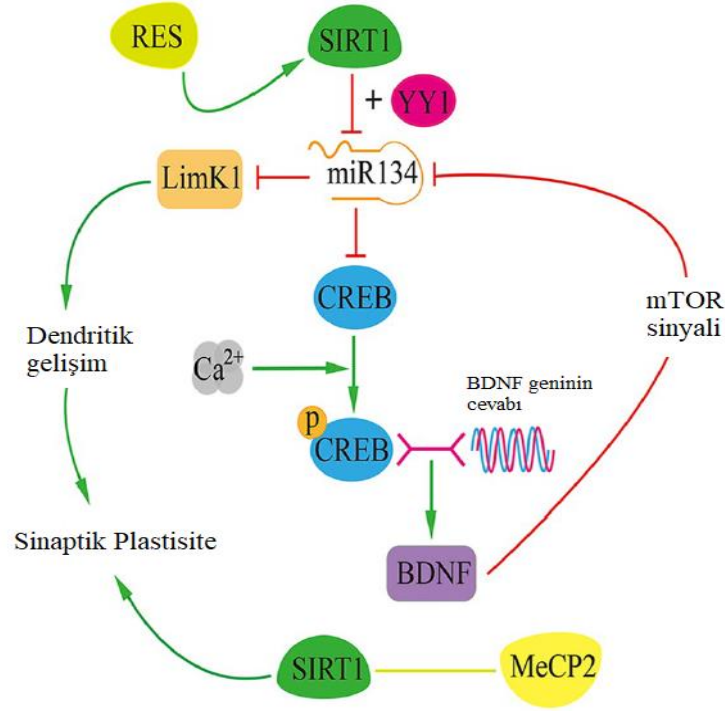
Resveratrolün, miRNA'lar aracılığıyla farelerin mikroglial hücre hatları N9 ve BV-2'deki SIRT1 ve nöroinflamasyonu düzenlediği bulunmuştur. (159). AH'nın işaretlerinden biri olan  $\beta$ -amiloid (A $\beta$ ) plaklarının birikmesi, mikroglial aktivasyona, artan iNOS ekspresyonuna, nöronal apoptoza ve nöronal dejenerasyona yol açabilmektedir. A $\beta$ , nükleer faktör kappa B'nin (NF- $\kappa$ B) aktivasyonunu içeren bir işlem vasıtasıyla mikroglial aktivasyonu uyarmaktadır. RelA / p65 alt ünitesinin geri dönüşümlü asetilasyonu veya deasetilasyonu, Lys310'un asetilasyonunun aracılık ettiği işlem yoluyla NF- $\kappa$ B sinyal yolağına post-translasyonel modifikasyonlara katılmaktadır. SIRT1'in aşırı ekspresyonu, Lys310'un deasetilasyonuna ve NF- $\kappa$ B sinyal yolunun inhibisyonuna yol açabilmektedir. Birlikte ele alındığında, bu sonuçlar aynı zamanda bilişsel düşüşün gelişmesine de katkıda bulunabilmektedir (146).

Resveratrole cevap olarak SIRT1, eNOS'un kalmodulin bağlanma alanındaki lizinleri olan 496 ve 506'yı deasetile edebilmektedir. Bunun sonucunda NO üretimi



artmaktadır. Artan NO; kan damarı genişlemesi, lökosit adhezyonu, trombosit yığı ve apoptoz inhibisyonuna neden olmaktadır. Sonuç olarak resveratrol, bilişsel ve enflamatuvar ilişkili SIRT1/eNOS/NO eksenini aktive ederek serebral kan akışını artırmaktadır (165, 166).

Bilişsel gerileme; odaklanma, problem çözme, öğrenme ve hafıza ile ilgili yeteneklerin azalması ve unutkanlık olarak tanımlanmaktadır. Sinaptik plastisitenin hem yapısal hem de fonksiyonel işlevleri, öğrenme ve hafıza oluşumunun moleküler temeli olarak karşımıza çıkmaktadır. (167). Bir bilişsel kapasite eksikliği, sinaptik fonksiyonun bozulmasıyla ilişkili olmaktadır. Bununla birlikte, çalışmalar resveratrolün SIRT1 aktivitesiyle bilişi geliştirebilecek potansiyel bir hipokampal plastisite artırıcı olarak göstermiştir. (168). SIRT1, bir mikroRNA-aracılı mekanizma yoluyla BDNF ifadesini düzenlemektedir. SIRT1, CREB-BDNF eksenini etkileyen ve BDNF transkripsiyonunu destekleyen miR-134 ekspresyonunu sınırlandırmak için YY1 kompleksi transkripsiyon faktörüne bağlanmaktadır. Sıralı olarak, BDNF salınımı rapamisin (mTOR) sinyal yolunun memeli/mekanistik hedefini aktive edebilir ve protein kinaz 1 (Limk1) translasyonunu içeren ve dendritik gelişmeyi teşvik ederken Lim-domeni'ni baskılayarak miR-134 aktivitesini negatif olarak düzenleyebilmektedir. Hipokampal nöronda SIRT1'in aşırı ekspresyonu ayrıca metil-CpG bağlayıcı protein 2'yi (MeCP2) deasetile etmekte ve böylece BDNF transkripsiyonunu teşvik edebilmektedir. Tüm bu yollar resveratrol aktivitesinde SIRT1 üzerinden BDNF seviyelerini yükseltmektedir. Birlikte ele alındığında, bu bulgular resveratrolün SIRT1 aracılığıyla; BDNF ekspresyonunu etkileyebileceğini, sinaptik plastisiteyi modüle edebileceğini ve bilişsel performansı iyileştirebileceğini göstermektedir (143, 167, 169) (Şekil 2.6).

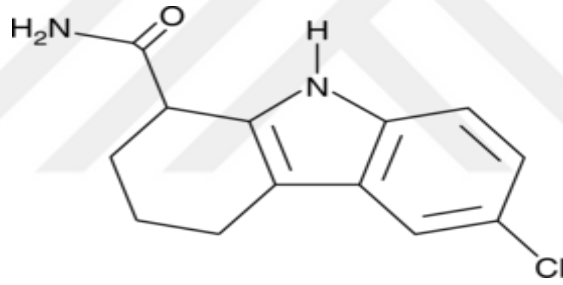


**Şekil 2.6.** Resveratrolün, SIRT1 ve BDNF ile sinaptik plastisite ve bilişi geliştirdiğini gösteren diyagram (20).

Kapsamlı çalışmalar, otofajinin akut beyin hasarında, nöroinflamasyonda ve bazı nörodejeneratif hastalıklarda nöroprotektif rol oynadığını göstermiştir. Resveratrol SIRT1 aracılığıyla otofajik yolları düzenleyerek nöroprotektif etkilere sahip olabilmektedir. Ancak bu konudaki sonuçların çelişkili olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada travmatik beyin hasarı (TBI) ile indüklenen sıçan modelinde, resveratrol uygulaması (100 mg/kg, i.p), beyin ödemi azaltıp, bilişsel fonksiyonları geliştirirken, hipokampüsteki nöronal otofajiyi basklamıştır (170). Bu çalışmaya benzer şekilde bir başka çalışmada resveratrol uygulaması; glikojen sentaz kinaz-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) kaynaklı otofaji ve apoptozis inhibe edilerek, glutamat muamele edilmiş astrositlerin canlılığını arttırmıştır (171). Ancak, farklı sonuçların elde edildiği çalışmalarda mevcuttur. resveratrol, NOD benzeri reseptör ailesini, pirin domeni içeren 3 (NLRP3) inflamatuvar aktivasyonunu otofaji arttırması yoluyla baskılayarak serebral iskem /reperfüzyon (I/R) hasarına karşı korumaktadır (172). Bir rotenon kaynaklı PD hücresel modelinde, resveratrol, AMPK/SIRT1 yolağının aktivasyonu ile otofaji başlamasını düzenleyerek apoptoza karşı korumuştur (173).

### 2.5. 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid (EX-527)

EX-527, birçok fizyolojik çalışmada kullanılan yüksek potansiyeli önemli izoform seçiciliği ile birleştiren ve moleküler mekanizması aydınlatılmış bir SIRT1 inhibitörü olarak belirtilmiştir (174, 175) (Şekil 2.7). EX-527'nin SIRT1 üzerine olan inhibisyonu SIRT2 ve SIRT3 e göre yaklaşık 100 kat daha fazla olup SIRT5'in ise deasetilasyonu üzerine bir etkisi olmadığı belirtilmiştir. Kinetik veriler, EX-527'nin, katalizi bloke etmeden önce alkilimidat oluşumuna ve nikotinamid salımına izin verdiğini göstermektedir (176, 177). EX-527, *in vivo* ve *in vitro* deneysel çalışmalarda kullanılabilir. Yapılan kristal yapı analizinde bu inhibitörün, SIRT1 inhibisyonunu nikotinamid bölgesiyle etkileşime girerek yaptığını göstermektedir (178). Hücre analizlerinde, EX-527, SIRT1'in substratlarından biri olan p53'ün asetilasyonunu indüklemesine rağmen, DNA hasarından sonra hücrenin hayatta kalmasına etkisi olmamıştır (179).



Şekil 2.7. EX-527'nin kimyasal yapısı (175).

### 3. MATERYAL VE METOT

Çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nde (İNÜTF-DEHÜM) gerçekleştirildi. Araştırma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanan 18.01.2018 tarihli ve 2018/A-05 protokol no'lu karar ile etik kurul protokolüne uygun şekilde yapıldı.

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

EX-527 (MedChem Express), lipopolisakkarit (Sigma-Aldrich), resveratrol (Carl Roth), dimetil sülfoksit (Sigma-Aldrich), sodyum karboksil metil seluloz (CMC- Sigma), Tween-80 (Merck), Nitroblue tetrazolium (Sigma), Glutasyon (GSH, Sigma-Aldrich), 5,5'-ditiyobis-2 nitrobenzoik asit (DTNB, Sigma-Aldrich), 2-tiyobarbutirik asit (TBA, Sigma-Aldrich), Sığır serum albümin, sodyum klorür (NaCl, Merck), potasyum klorür (KCl, Merck), kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , Sigma-Aldrich), sodyum dihidrojen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , Riedel-de-Haen), disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , Riedel-de-Haen), (1,1,3,3, tetramethoksiopropan, Sigma-Aldrich), magnezyum klorür ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Sigma-Aldrich), n-butanol (Fluka), triklor asetik asit (TCA, Sigma-Aldrich), sodyum hidroksit (NaOH, Sigma-Aldrich), tri sodyum sitrat (Sigma-Aldrich), fosforik asit ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ , %85'lik, Riedel-de-Haen), potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , Sigma-Aldrich), etilen diamin tetra asetik asit (EDTA, Sigma-Aldrich), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , Sigma-Aldrich) Na-K-tartarat (Sigma-Aldrich), bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4$ , Sigma-Aldrich), dipotasyum hidrojen fosfat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , Sigma-Aldrich), Etidyum bromid (EtBr, Fisher Scientific), Sodyum sitrat tri bazik dihidrat (Sigma-Aldrich), Sodyum asetat (Sigma-Aldrich), Agaroz (Sigma-Aldrich), Guanidin Tiyosiyanat (Sigma-Aldrich), Hidroklorik asit (HCl, Sigma-Aldrich), araştırma mikroskobu (Leica DFC-280), analiz sistemi (Leica Q Win Image), PZR için primerler, RNA saflaştırma kiti, Gerçek zamanlı PZT reaksiyonu için master mix, cDNA sentez kiti Roche firmasından, Hayvanların anestezisinde kullanılan ksilazin ve ketamin HCl ise Alfasan firmasından tedarigi sağlanmıştır.

### 3.2. Kullanılan Alet ve Gereçler

Çalışmada; millipore marka saf su ünitesi, Biorad-MyCycler marka PZT cihazı, Roche marka LC96 model gerçek zamanlı PZT cihazı, Denver marka terazi, Ohaus marka hassas terazi, Biorad marka elektroforez güç kaynağı, Retsch marka MM400 model bilyeli parçalama sistemi, Mettler Toledo marka EL20 model pH metre, Hettich-zentrifugen marka 200 model masaüstü santrifüj cihazı, Hermle marka Z216MK model mikro santrifüj, EpochBiotek marka spektrofotometre cihazı, Heidolph marka vorteks, Heidolph marka manyetik karıştırıcı, bazı kimyasal reaksiyonlar için Memmert marka su banyosu kullanıldı.

### 3.3. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar

#### 3.3.1. LPS Hazırlanışı

Sigma-Aldrich firmasının “086M4159V” lot numaralı *Escherichia Coli* (O55:B5 suşundan) elde edilmiş kimyasalının prospektüsüne uygun bir şekilde %10'luk DMSO süspansiyonunda günlük çözülerek LPS, LPS+Res ve EX-527+LPS gruplarına enjekte edilecek çözelti hazırlandı.

#### 3.3.2. Resveratrol Hazırlanışı

Carl Roth firmasının “N811.2” CAS No. (501-36-0) numaralı kimyasalı kullanıldı. Prospektüsüne uygun bir şekilde %10'luk DMSO süspansiyonunda günlük çözülerek Res, Res+LPS gruplarına enjekte edilecek çözelti hazırlandı.

#### 3.3.3. EX-527 Hazırlanışı

MedChem firmasının “HY-154522ICS-0960 katalog nolu kimyasalı kullanıldı. Prospektüsüne uygun bir şekilde %10'luk DMSO süspansiyonunda günlük çözülerek EX-527+LPS grubuna enjekte edilecek çözelti hazırlandı.

#### 3.3.4. RNA Saklama Çözeltisi

100 ml dietilpirokarbonat (DEPC)'li suda 70 gr Amonyum Sülfat çözüldü. 10 mM EDTA (pH=8) ve 25 mM Sodyum Sitrat (pH=5.2) eklenerek saf su ile (DEPC'li) 150 ml'ye tamamlandı (pH 5.2).

#### 3.3.5. 10X TBE (Tris-Borat-EDTA) Çözeltisinin Hazırlanışı

900 ml saf su içerisine 55 gr Borik Asit, 108 gr TRIS base ve 40 ml 0.5 M EDTA çözeltisi eklendi (pH=8). Toplam hacmi 1000 ml'ye tamamlandı, otoklavda 121 °C' de 20 dakika otoklavlandı.

### 3.3.6. Lizis Solüsyonu Hazırlanışı

Lizis karışımı 4 M Guanidin izotiyosiyanat, 25 mM sodyum sitrat (pH:7) ve % 0.5 sarkosil (N-Lauroylsarcosine) eklenerek hazırlandı. %1'i  $\beta$ -Merkaptoetanol eklenerek homojenizasyonda kullanıldı.

### 3.4. Sıçanların Temini ve Bakımı

Araştırmada 200-250 gram *Wistar Albino* cinsi toplam 55 adet erkek sıçan kullanıldı. Deney süresince hayvanlar sıcaklığın 21 °C ve nemin %55-60 olduğu, 12 saat ışık ve 12 saat karanlık döngüsü uygulanan odalarda tutuldular. Standart sıçan yemiyle beslendiler.

### 3.5. Grupların Oluşturulması

Deneye başlamadan önce hayvanlar ağırlıklarına göre eş dağılım olacak şekilde aşağıdaki gibi 5 gruba ayrıldı. Yapılan güç analizinde  $\alpha=0,05$  ve  $1-\beta$  (güç)=0,80 alındığında, gruplar arasındaki en yüksek GSH farkı 1,94 unit/L olduğu için her bir grupta en az 11'er denek olmak üzere toplamda 55 hayvan alınması gerektiği hesaplanmıştır (180).

**Kontrol Grubu (K, n=11):** Bu gruba 13 gün boyunca çözücü olarak kullanılan %10 DMSO, intraperitoneal enjeksiyon yapıldı. Son 6 gün Morris su tankı (MWM) testine katıldı.

**Resveratrol Grubu (Res, n=11):** Bu gruba 13 gün boyunca 10mg/kg vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal enjeksiyon yapıldı. Son 6 gün MWM testine katıldı (181).

**Lipopolisakkarit Grubu (LPS, n=11):** Bu gruba 13 gün boyunca 1mg/kg vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal enjeksiyon yapıldı. Son 6 gün MWM testine katıldı (182).

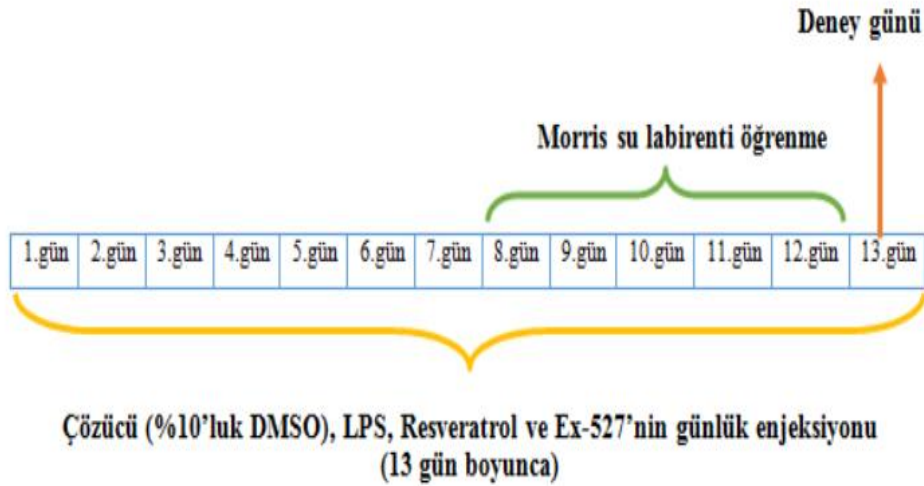
**Resveratrol + Lipopolisakkarit Grubu (Res+LPS, n=11):** Bu gruba 13 gün boyunca önce 10mg/kg vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal Res ve yarım saat sonrasında 1mg/kg vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal LPS enjeksiyonu yapıldı. Son 6 gün MWM testine katıldı (183).

**EX-527 + Lipopolisakkarit Grubu (EX-527+LPS, n=11):** Bu gruba 13 gün boyunca önce 1mg/kg vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal EX-527 ve bir saat sonrasında ise 1mg/kg vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal LPS enjeksiyonu yapıldı. Son 6 gün MWM testine katıldı (184, 185) (Şekil 3.1).

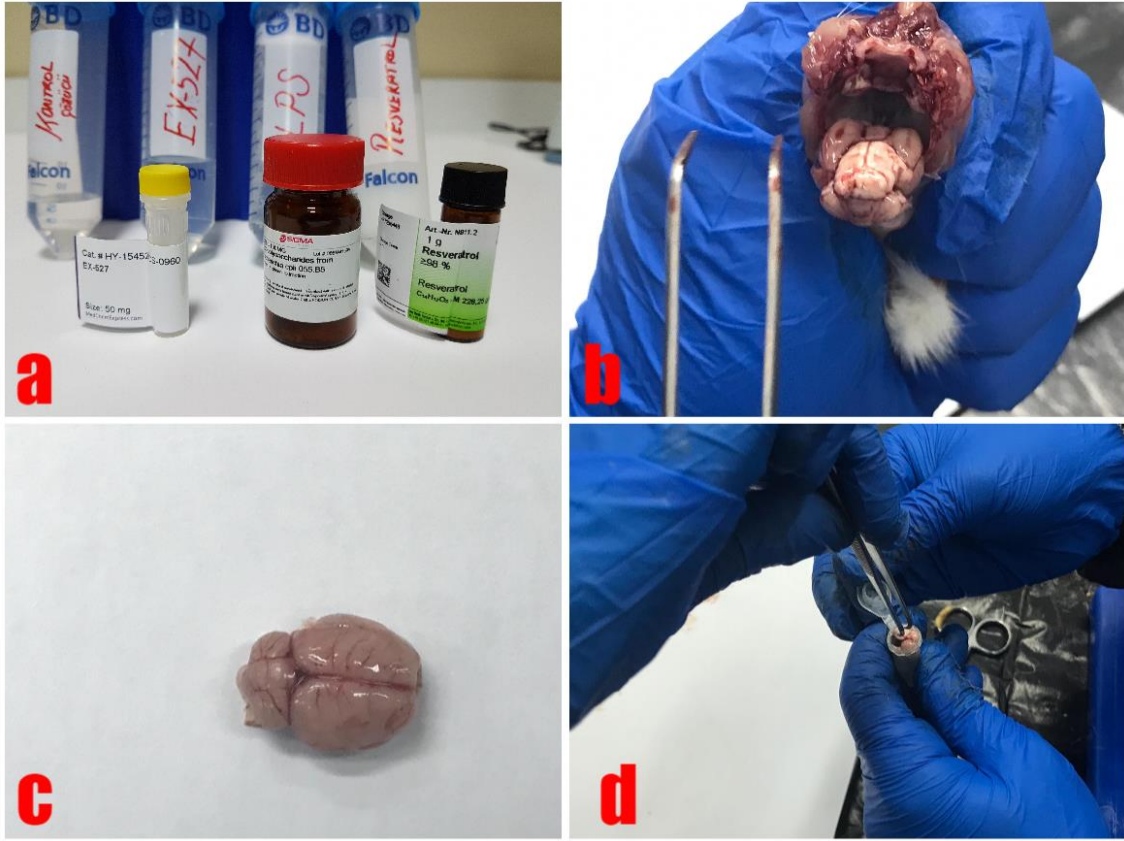
KONTROL	RESVERATROL	LPS	RESVERATROL + LPS	EX-527 + LPS
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Çözücü (%10 DMSO)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Resveratrol (10mg/kg)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• LPS (1mg/kg)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Resveratrol (10mg/kg)</li> <li>• LPS (1mg/kg)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EX-527 (1mg/kg)</li> <li>• LPS (1mg/kg)</li> </ul>

**Şekil 3.1** Gruplar ve uygulanacak kimyasallar.

Çalışma öncesinde tüm bu uygulamaların planlaması için bir çizelge hazırlandı. 13 gün boyunca gruplardaki tüm hayvanlara gerekli enjeksiyonları yapıldı ve son 6 gün Morris su tankı (MWM) testine tabi tutuldu. MWM testinin yapıldığı 6 gün ayrıca enjeksiyonlar testten 2 saat önce gerçekleştirildi (183). MWM testi 5 gün alıştırma ve son gün prob (deney) günü şeklinde yapıldı. Sonrasında anesteziye maruz bırakılan hayvanların beyin dokuları alındı (Şekil 3.2, Şekil 3.3).



**Şekil 3.2.** Çalışmanın zaman çizelgesi.



**Şekil 3.3.** Kullanılan kimyasallar ve sıçan beyninin bir bütün elde edilmesi. a) Deneklere uygulanan kimyasal malzemeler; EX-527, LPS, Resveratrol b) Beyni kafatasından çıkarılma işlemi, c) Tüm beyin dokusu, d) Beyin dokusunun RNA saklama sıvısına aktarımı.

### 3.6. Morris Su Labirenti Testi (Morris Water Maze-MWM)

MWM kemirgenlerin uzamsal hafıza ve öğrenme becerilerini görüntülemekte kullanılan bir davranış deneyi sistemidir (186). 150 cm çapında ve 60 cm yüksekliğinde dairesel bir tankın su ile doldurulup tank üzerindeki kamera yardımıyla monitöre aktarılan görüntü ve videolar aracılığıyla ölçümler yapılmaktadır. Tank deney sisteminin yazılımı aracılığıyla (Noldus EthoVision XT10, Noldus Information Technology, ABD) dairenin merkezi çevresinde 4 farklı kadrana (kuzeybatı, kuzeydoğu, güneybatı, güneydoğu) ayrılmaktadır. Uygulama öncesi hayvanların rengine zıt olarak su rengi ayarlandı (187). Bu çalışmada *albino* ratlar kullanıldığından tanktaki su gıda boyasıyla siyaha boyandı. Her kadranın ortası çeşitli renk ve şekildeki göstergelerle işaretlendi ve hayvanların görebileceği şekilde tankın etrafına sabitlendi (Şekil 3.4). MWM su tankı deneyinde su seviyesinin 3-4 cm altında kalacak şekilde gizli bir platform yerleştirilerek hayvanlara platformun yeri öğretildi. Bu çalışmada platform kuzeydoğu kadrınının ortasında olacak



şekilde ayarlandı ve hayvanlar her dört kadranda da suya bırakılarak yön tayini ve hafıza durumları izlendi. Tüm yüzdürme seanslarında her hayvan dört yönden de toplamda 60 saniye olacak şekilde yüzmeye bırakıldı. Süre sonunda platformu bulamayan hayvanlara ilk 5 gün boyunca platformun üstüne bırakılıp 20 saniye gözlem yapması için zaman tanındı. 5 gün yapılan öğrenme yüzme seansından sonra altıncı gün (deney günü) yüzdürme seansında platform sudan çıkartıldı. Hayvanların kadrandan geçme sıklığı, hedef kadranda geçirdikleri toplam süre ve yüzme hız verileri kaydedildi (183) (Şekil 3.4).



**Şekil 3.4.** Morris su labirenti yüzdürme alanı.

### 3.7. Histopatolojik Analizler

Beyin dokuları %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Tespit sonunda dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler hematoksilin-eozin (H-E) boyama metodu ile boyandılar.

H-E boyama metodu uygulanan her kesit hipokampusün nöronal dejenerasyon varlığına göre değerlendirildi. CA1 bölgesinde x40'lık büyütme kullanılarak rastgele seçilen 5 alandaki nöronlar, normal ve dejenere olarak değerlendirildi ve sayıldı (188). Dejenere nöron yoğunluğu dejenere nöron sayısı/100/toplam nöron sayısı formülü kullanılarak yüzde olarak hesaplandı. Büyük, ökromatik nükleuslara sahip nöronlar normal olarak değerlendirilirken, piknotik nükleuslara sahip, büzüşmüş nöronlar ise dejenere olarak kabul edildi.

Kesitlerin analizleri, Leica DFC-280 araştırma mikroskopu ile Leica Q Win Image Analiz Sistemi (Leica Micros Imaging Solutions Ltd., Cambridge, UK) kullanılarak değerlendirildi.

### 3.8. Biyokimyasal Analizler

#### 3.8.1. Malondialdehit (MDA) Analizi

MDA analizi Uchiyama ve Mihara'nın metoduna göre yapıldı (189). Sıçan beyin numunesi, %10'luk homojenat elde edilecek şekilde, 15000 devir/dakikada buz üzerinde homojenize edildi. Bu homojenat MDA analizinde kullanıldı.

Analizin yapılışı:

	Numune
Homojenat	250 µl
Fosforik asit (%1)	1500 µl
TBA (%0.6)	1500 µl

Çözeltiler deney tüplerine eklendi, karıştırıldı kaynar suda 1 saat bekletildi. Daha sonra 2 ml n-butanol eklendi, 5 dakika boyunca vortekslendi. Örnekler 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Spektrofotometrede 535 nm numunelerin absorbanları okundu. Sonuçlar nmol/gram yağ doku (gr.y.d) olarak verildi.

### 3.8.2. Glutasyon (GSH) Analizi

Beyin doku indirgenmiş GSH seviyesi Ellman'ın (190) yöntemine göre ölçüldü. Numuneler 1-2 dakika 15000 devir/dakikada, %10'luk homojenat elde edilecek şekilde buz üzerinde homojenize edildi. Homojenat 3000 devir/dakikada, +4 derecede, 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanta Tri klor asetik asit çözeltisi ilave edildi ve bu numuneden GSH analizi yapıldı.

Analizin yapılışı:

	Numune	Kör
Homojenat (%10)	500 µl	---
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (0,3 M)	4 ml	4 ml
DTNB	500 µl	500 µl
Distile su	-----	500 µl

Tüplere alınan numuneler karıştırıldı ve 5 dakika sonra oluşan renk spektrofotometrede 410 nm'de okundu. Sonuçlar nmol /gr.y.d olarak verildi.

### 3.8.3. Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz (CuZn-SOD) Analizi

SOD aktivitesi Sun ve ark. (191) metoduna göre analiz edildi. Doku %10'luk homojenat olacak şekilde buz üzerinde homojenize edildi. Homojenat santrifüj edildi. Supernatan üzerine kloroform/etanol karışımı (3 birim kloroform/5 birim etanol) eklendi. Örnekler 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant CuZn-SOD analizinde kullanıldı.

Analizin yapılışı:

	Kör	Numune
Assay reaktifi (0,3 mM/L ksantin, 0,6 mM/L Na <sub>2</sub> EDTA, 150µmol/L NBT, 400 mmol/L Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 1gr/L BSA)	2,45	2,45
Süpernatant	----	0,5
Bidistile su	0,5	-----
Ksantin oksidaz (167 Ü/L)	0,05	0,05

Numuneler oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. 1 ml CuCl<sub>2</sub> (0,8 mmol/L) ilave edildi. Spektrofotometrede 560 nm de absorbanslar alındı. Enzim aktivitesi U/gr protein olarak verildi.

### 3.8.4. Protein Tayini

Protein tayini, albuminin standart olarak kullanıldığı Biüret metodu ile yapıldı (192).

## 3.9. Moleküler Genetik Analizler

### 3.9.1. Dokudan RNA Saflaştırılması

*β-Aktin* ve *SIRT1* mRNA seviyelerinin tespitinde dokulardan Roche firmasının “High Pure RNA Tissue Kit” (Lot no:16529600 ve referans no:12033674001) saflaştırma kiti kullanılarak toplam RNA saflaştırılması yapıldı. 30 mg doku üzerine 600 µl “Lysis Buffer” eklendi. Dokular homojenize edildi. Homojenata hacminin yarısı kadar etanol eklendi, 13,000xg’de 10 dakika santrifüj yapıldı. Numuneler saflaştırma kolonuna alındı, kolona 100 µl DNaz enzimi eklenerek 15 dakika oda ısısında bekletildi. Numunelere 500 µl Wash buffer-I eklendi, 8000x g de 1 dakika santrifüj edildi. Numunelere tekrar 500 µl Wash buffer-II eklendi, 8000x g de 1 dakika santrifüj edildi. 300µl Wash buffer-II eklendikten sonra 13000xg’de 2 dakika santrifüj yapıldı. Kolona 100 µl “Elüsyon buffer” eklendi, 8000xg’de 1 dakika santrifüj edildi. Saflaştırılan toplam RNA % 1 agaroz jelinde elektroforez işlemine tabi tutuldu. Ayrıca RNA örneklerinin spektrofotometrik analizleri 260 ve 280 nm UV spektrumda ölçüldü. RNA miktarı ng/µL cinsinden hesaplandı ve 260/280 oranları yaklaşık 2 olan saf RNA örnekleri cDNA sentezinde kullanıldı (Tablo 4.6).

### 3.9.2. cDNA Sentezi

cDNA sentezinde Roche firmasının “Evoscript Universal cDNA Master Kit”i (Lot no:21703900, Ref no:07912439001) kullanıldı. 100 µl’lik PZR tüpüne 1000 ng toplam RNA, 4 µl ‘5x Master Reaction Mix’ ve toplam hacim 18 µl olacak şekilde saf su eklendi. 5 dakika buz üzerinde inkübe edildi. 2 µl ‘10x Enzyme Mix’ eklendi. Karıştırılan numuneler PZT makinesinde 42 °C’de 15 dakika, 85 °C’de 5 dakika ve 65 °C’de 15 dakika ısıtıldı.

### 3.9.3. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Tepkimesi

Analizde Roche Light Cycler 96 gerçek zamanlı PZT cihazı, Roche firmasının ürettiği “Fast Start Essential DNA Probes Master kit (Lot no:25106100, Ref no: 06402682001)” ve “Real Time Ready Assay  $\beta$ -Actin” (lot no: 0000052091, config no:100129896); *SIRT1* (lot no:0000077813, config no:100138797), hidroliz problu primerler kullanılarak yapıldı. Reaksiyonlar 10  $\mu$ l toplam hacimde hazırlandı. Bunun için 5  $\mu$ l master mix, 0,5  $\mu$ l real time ready mix, 2  $\mu$ l PCR kalitesinde su ve 2,5  $\mu$ l cDNA olacak şekilde hazırlandı. Çalışmada her örnek için 3 tekrar yapıldı. PZT şartları firmanın önerdiği şekilde yapıldı; ilk denaturasyon 95  $^{\circ}$ C’de 10 dakika, ikinci denaturasyon 95  $^{\circ}$ C’de 10 saniye, bağlanma 60  $^{\circ}$ C’de 30 saniye ve polimerizasyon 72  $^{\circ}$ C’de 1 saniye olarak oluşturuldu ve 55 döngü tekrarlandı. Tablo 3.1’de dizilimleri ve büyüklükleri verilen primerler gen ifadelerinde analizinde kullanıldı.

**Tablo 3.1.** Primer dizilimleri (EK-3 ve EK-4).

Gen adı	İleri Dizi	Geri Dizi	Ürün Boyutu(bç)
<i>B-aktin</i>	CTGGCTCCTAGCACCATGA	TAGAGCCACCAATCCACACA	76
<i>SIRT1</i>	GACACTGTGGCAGATTGTTA	ATTGAAGATGCTGTGAAGTT	94

Her bir örnekten saflaştırılan RNA’lardan elde edilen cDNA’lar, *SIRT1* ve  *$\beta$ -aktin* genlerine özgü primerler kullanılarak gerçek zamanlı PZT ile çoğaltıldı ve gen ifadesindeki değişimler  *$\beta$ -aktin* genine oranla belirlendi.

### 3.10. İstatiksel Analizler

Verilerin istatistiki analizinde MedCalc® (11.4.2.0) ve SPSS for Windows 21 programı kullanıldı. Yapılan güç analizinde  $\alpha=0,05$  ve  $1-\beta$  (güç)=0,80 alındığında, gruplar arasındaki en yüksek GSH farkı 1,94 unit/L olduğu için her bir grupta en az 11’er denek olmak üzere toplamda 55 hayvan alınması gerektiği hesaplanmıştır. Normal dağılıma sahip olan gruplarda veriler aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma (ss) olarak gösterilirken normal dağılıma sahip olmayan gruplarda veriler ortanca (minimum-maksimum) olarak gösterildi. Grupların normal dağılıma sahip olup olmadıkları Shapiro-Wilk testi yapılarak belirlendi. Bu teste göre hayvanların water maze verileri, MDA, CAT ve GSH seviyeleri normal dağılım gösterirken ( $p>0.05$ ), histopatoloji, SOD aktivitesi ve *SIRT1* gen ifade değerleri normal olmayan dağılım gösterdi ( $p<0.05$ ). Biyokimyasal

çalışmalardan MDA için, varyans homojenlik testi yapıldığında varyansların homojen dağılım göstermediği tespit edildi ( $p < 0.05$ ). ANOVA testi sonrası gruplar arası karşılaştırma Tamhane T2 testi ile yapıldı. Water maze verileri, CAT ve GSH seviyelerinin analizi ANOVA testi sonrası gruplar arası karşılaştırma Tukey testi ile yapıldı. Histopatolojik bulgular, SOD aktivitesi ve *SIRT1* gen ifadesi verileri Kruskal Wallis H testi ile değerlendirildi ve gruplar arasındaki çoklu karşılaştırma Conover testi ile yapıldı. Histopatolojik bulguların istatistikî verileri Kruskal-Wallis H testi ile yapıldı ve  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak verildi. Karşılaştırmalarda “p” değerinin 0.05 den küçük bulunduğu değerler istatistikî olarak anlamlı kabul edildi.



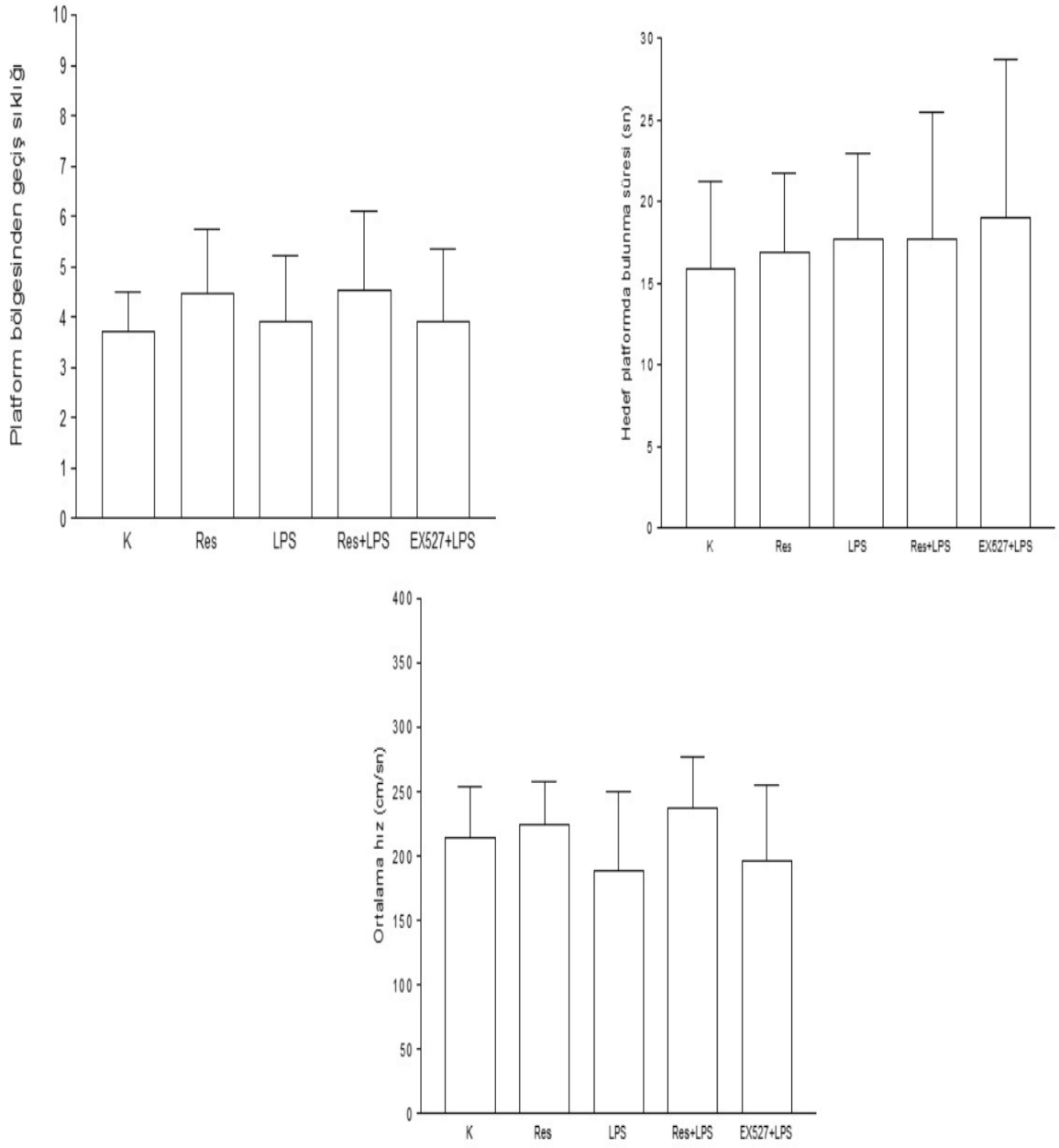
## 4. BULGULAR

### 4.1. Morris Su Labirenti Testi Bulguları

Sıçanların bilişsel davranışları MWM deneyi ile test edildi. Deney parametrelerinden; Platform bölgesinden geçiş sıklığı (adet), Hedef platformda bulunma süresi (sn), Ortalama hız (cm/sn), parametreleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

**Tablo 4.1.** Gruplarda analiz edilen MWM parametreleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS)

MWM Parametreleri	Gruplar (n=11)	Ort. $\pm$ ss
Platform bölgesinden geçiş sıklığı (adet)	K	3.73 $\pm$ 0.8
	Res	4.50 $\pm$ 1.3
	LPS	3.91 $\pm$ 1.3
	Res+LPS	4.60 $\pm$ 1.6
	EX-527+ LPS	3.91 $\pm$ 1.5
Hedef platformda bulunma süresi (sn)	K	15.94 $\pm$ 5.3
	Res	16.94 $\pm$ 4.8
	LPS	17.70 $\pm$ 5.3
	Res+LPS	17.70 $\pm$ 7.8
	EX-527+ LPS	19.01 $\pm$ 9.7
Ortalama hız (cm/sn)	K	214.61 $\pm$ 39.5
	Res	224.14 $\pm$ 33.7
	LPS	188.70 $\pm$ 61.0
	Res+LPS	236.94 $\pm$ 39.5
	EX-527+ LPS	195.82 $\pm$ 58.7



**Şekil 4.1.** Graplarda analiz edilen MWM parametreleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).



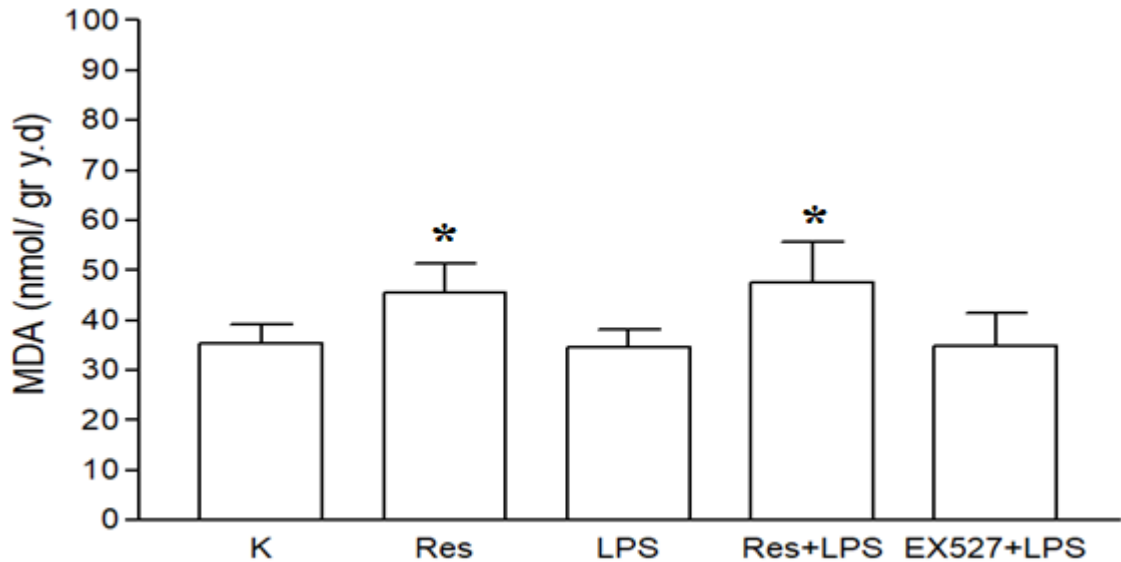
## 4.2. Beyin MDA Seviyesi

Resveratrol ve Resveratrol+LPS grubundaki hayvanların beyin MDA seviyelerinin K, LPS ve EX-527+LPS grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir artış gösterdiği tespit edildi ( $p<0.05$ ); (Tablo 4.2, Şekil 4.2).

**Tablo 4.2.** Gruplarda ölçülen MDA seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

N=11	MDA (nmol/gr yaş doku)
	Ort. $\pm$ ss
K	35.31 $\pm$ 3.8
Res	45.58 $\pm$ 5.9*
LPS	34.67 $\pm$ 3.6
Res+LPS	47.50 $\pm$ 8.2*
EX-527+LPS	34.86 $\pm$ 6.5

\*Kontrol, LPS ve EX-527+LPS grubuna göre istatistiki olarak anlamlı artış ( $p<0.05$ )



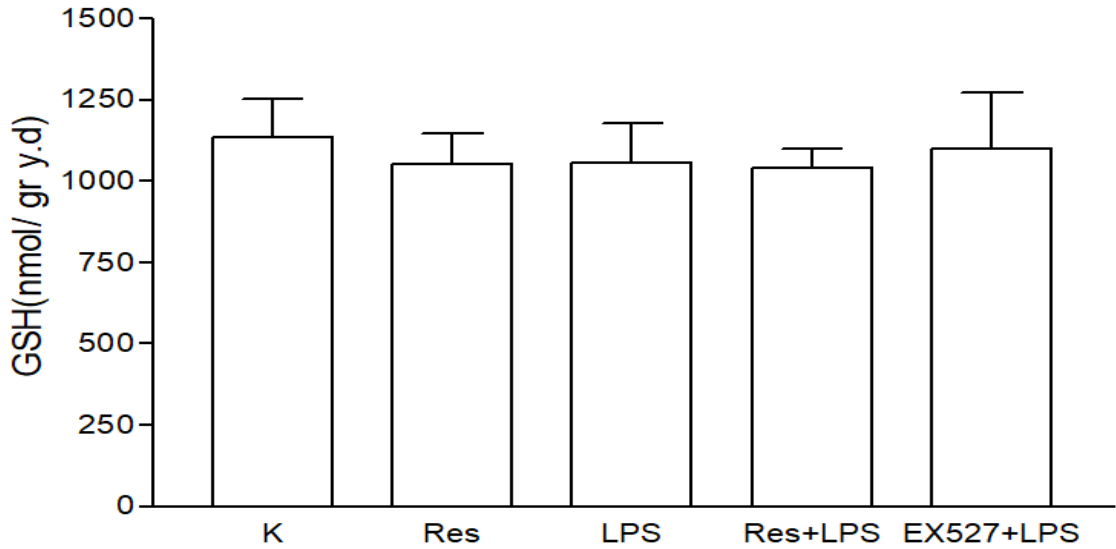
**Şekil 4.2.** Gruplarda ölçülen MDA seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

### 4.3. Beyin GSH Seviyesi

Gruplar arasında GSH seviyeleri bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

**Tablo 4.3.** Gruplarda ölçülen GSH seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

N=11	GSH (nmol/gr yaş doku)
	Ort. $\pm$ ss
<b>K</b>	1135.6145 $\pm$ 118.46211
<b>Res</b>	1052.9027 $\pm$ 92.69048
<b>LPS</b>	1057.3745 $\pm$ 122.18390
<b>Res+LPS</b>	1040.2355 $\pm$ 61.49905
<b>EX-527+LPS</b>	1099.8464 $\pm$ 171.88944



**Şekil 4.3.** Gruplarda ölçülen GSH seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

#### 4.4. Beyin CuZn-SOD Aktivitesi

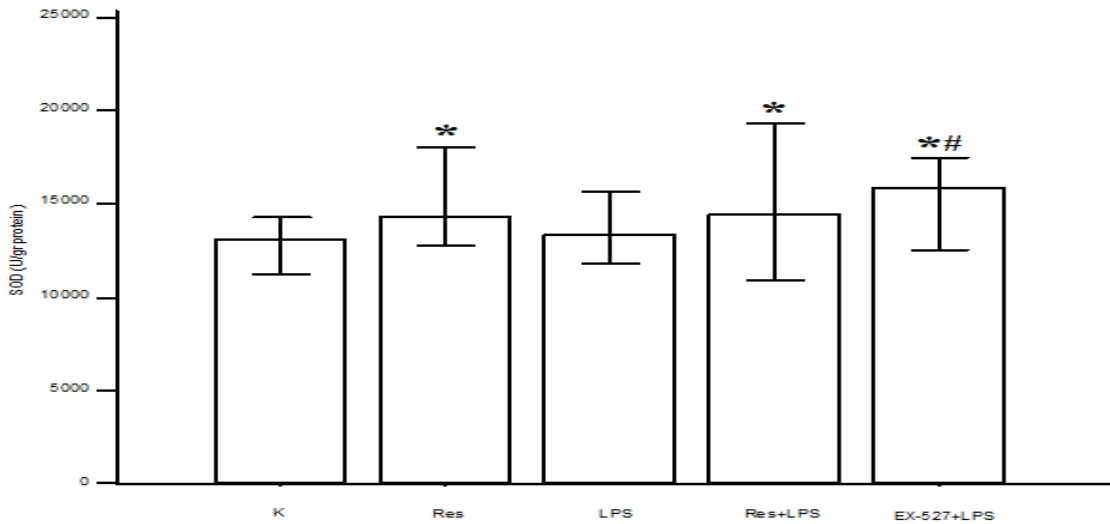
Kontrol grubu SOD aktivitesine göre; Res, Res+LPS ve EX-527+LPS grubu hayvanların beyin SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği tespit edildi ( $p<0.05$ ) Ayrıca EX-527+LPS grubunda LPS grubundan istatistiksel olarak anlamlı artışı tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.4, Şekil 4.4).

**Tablo 4.4.** Gruplarda ölçülen SOD aktiviteleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

N=11	SOD (U/gr protein) Ortanca (Min-Maks)
<b>Kontrol</b>	13121.24 (11245.5-14283.9)
<b>Res</b>	14280.87 (12779.4-18058.9)*
<b>LPS</b>	13364.44 (11802.3-15627.6)
<b>Res+LPS</b>	14428.04 (10946.7-19317.6)*
<b>EX-527+ LPS</b>	15884.72 (12562.8-17507.7)*#

\*K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış ( $p<0.05$ )

#LPS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış ( $p<0.05$ )



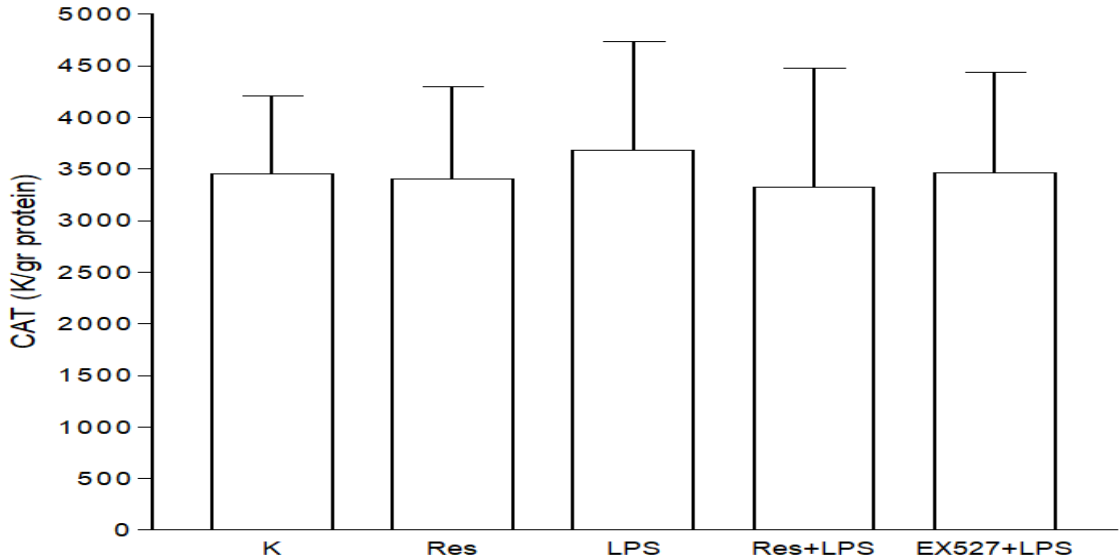
**Şekil 4.4.** Gruplarda ölçülen SOD aktiviteleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

#### 4.5. Beyin Katalaz Aktivitesi

Gruplar arasında CAT aktiviteleri bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.5, Şekil 4.5).

**Tablo 4.5.** Gruplarda ölçülen CAT aktiviteleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

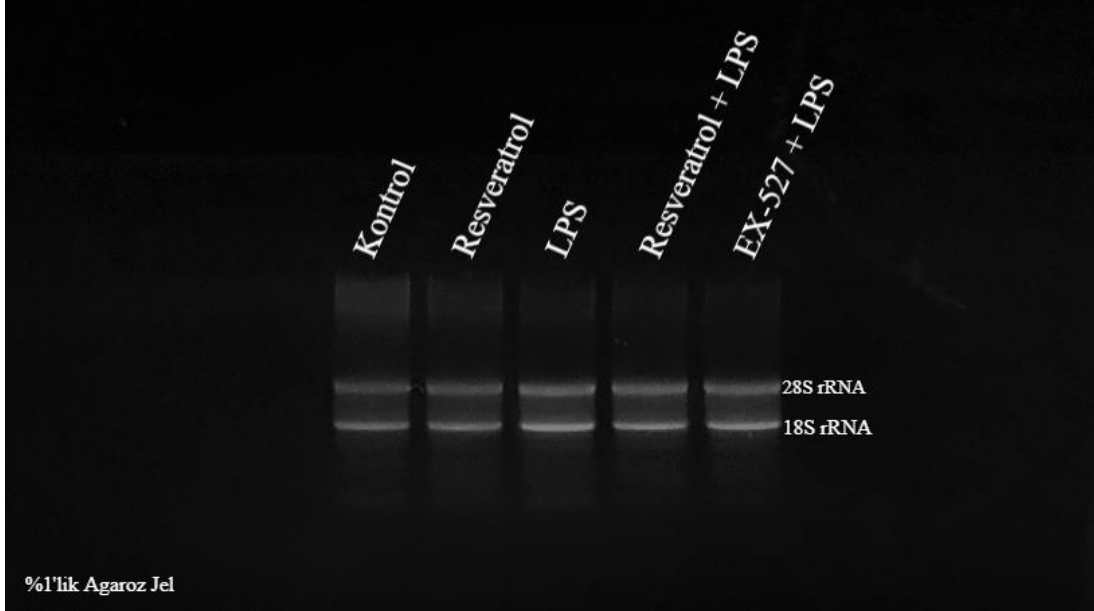
N=11	CAT (K/gr protein)
	Ort. $\pm$ ss
K	3455.4971 $\pm$ 751.67203
Res	3403.1614 $\pm$ 898.26690
LPS	3684.7003 $\pm$ 1053.86746
Res+LPS	3324.9859 $\pm$ 1152.54153
EX-527+LPS	3465.3748 $\pm$ 970.45098



**Şekil 4.5.** Gruplarda ölçülen CAT seviyeleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

#### 4.6. Moleküler Genetik Bulgular

Safılaştırılan RNA'larda 28S ve 18S ribozomal bantlarının varlığı ve herhangi bir yıkılım olmadığı görüldü (Şekil 4.6).

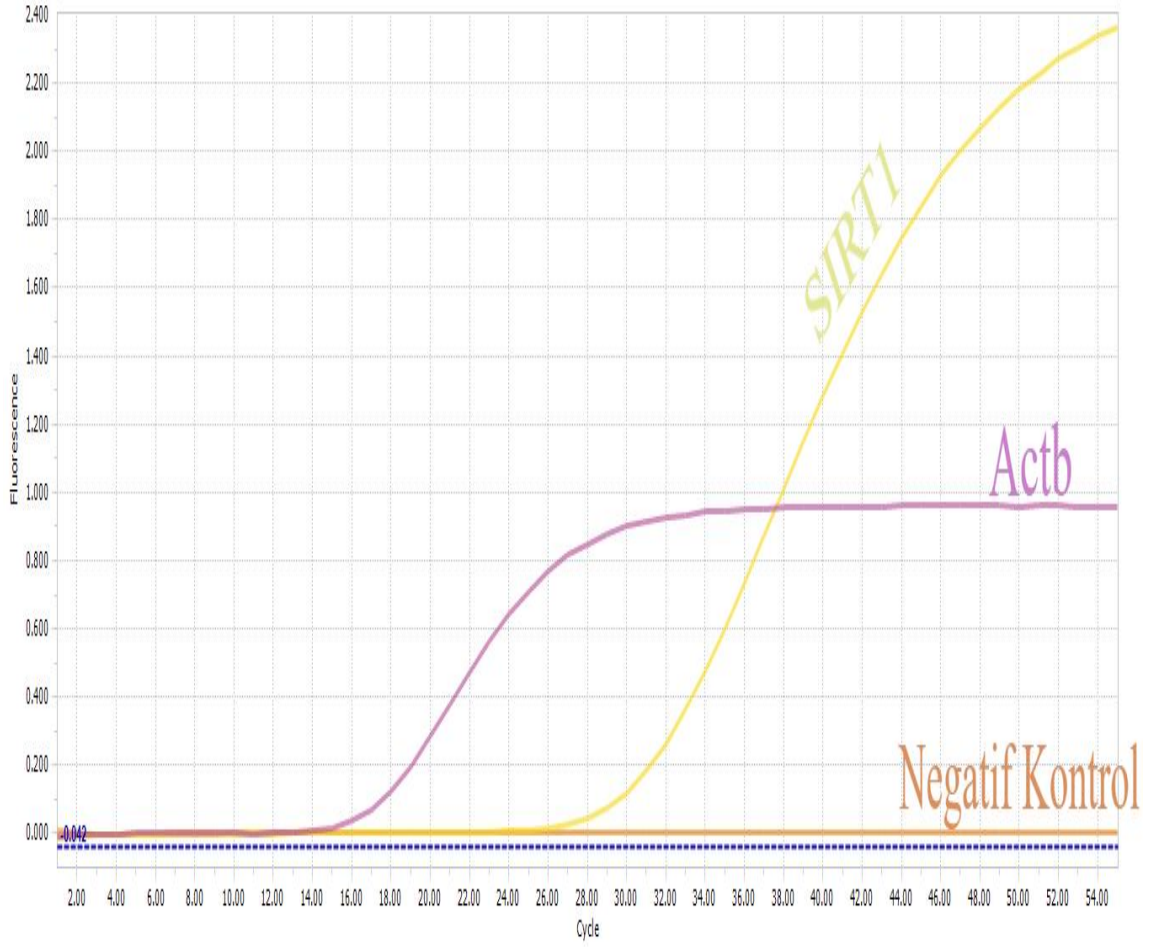


Şekil 4.6. Her bir grupta safılaştırılan toplam RNA agaroz jel görüntüsü.

Örneklerin RNA'ları miktar ve saflık tayini için "Biotek" marka spektrofotometre cihazı ile "Gen5" programları kullanılarak 260 ve 280 nm UV spektrumunda ölçüldü. RNA miktarı ng/ $\mu$ L cinsinden hesaplandı (Tablo 4.6).

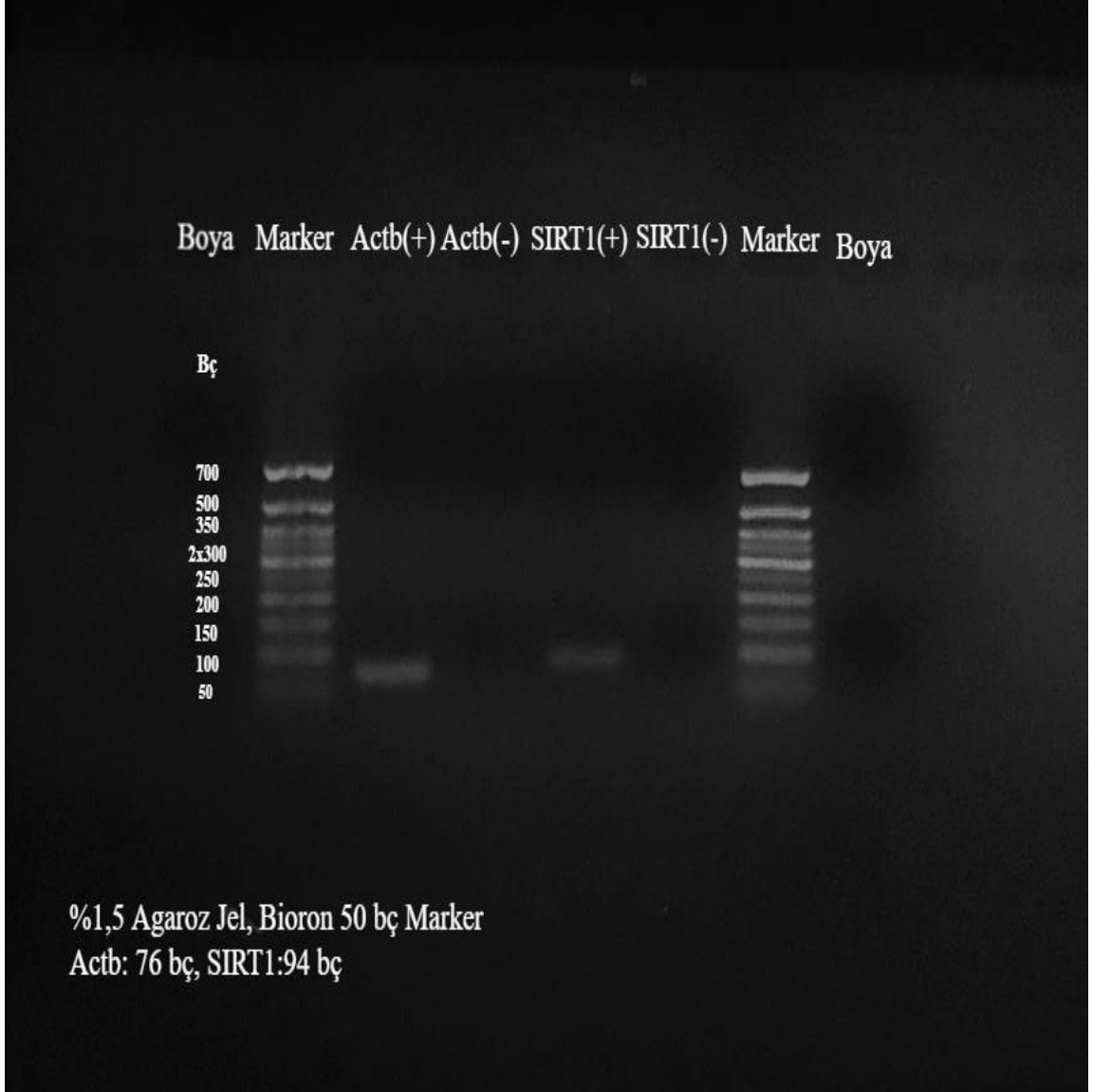
**Tablo 4.6.** Gruplarda ölçülen beyin dokusu RNA spektrometrik absorbands değeri ve RNA miktarları. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro 2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

Grup Adı	Numune No	Ortalama RNA (ng/μl)	Ortalama Absorbans (260/280)
K	1	334.21	2.0
	2	311.28	2.0
	3	170.79	2.0
	4	223.57	2.0
	5	253.99	2.0
	6	337.39	2.0
	7	595.84	2.0
	8	424.24	2.0
	9	394.88	2.0
	10	72.77	2.0
	11	525.46	2.0
Res	12	388.18	2.0
	13	377.84	2.0
	14	256.81	2.0
	15	386.28	2.0
	16	429.38	2.0
	17	409.60	2.0
	18	409.66	2.0
	19	413.00	2.0
	20	346.64	2.0
	21	266.46	2.0
	22	434.11	2.0
LPS	23	398.92	2.0
	24	345.04	2.0
	25	332.41	2.0
	26	228.09	2.0
	27	404.80	2.0
	28	460.01	2.0
	29	358.95	2.0
	30	363.95	2.0
	31	387.51	2.0
	32	135.16	2.0
	33	346.73	2.0
Resv+LPS	34	304.35	2.0
	35	263.99	2.0
	36	258.35	2.0
	37	344.62	2.0
	38	346.90	2.0
	39	193.37	2.0
	40	305.28	2.0
	41	393.44	2.0
	42	413.80	2.0
	43	462.60	2.0
	44	349.84	2.0
EX527+LPS	45	384.36	2.0
	46	395.27	2.0
	47	261.58	2.0
	48	432.36	2.0
	49	393.62	2.0
	50	409.71	2.0
	51	411.79	2.0
	52	464.47	2.0
	53	425.17	2.0
	54	493.84	2.0
	55	594.14	2.0



**Şekil 4.7.** “Hydrolysis Probe” kimyası kullanılarak *SIRT1* ve  $\beta$ -*aktin* mRNA’larından sentezlenen cDNA’ların gerçek zamanlı PZT ile çoğaltım eğrisi.

*SIRT1* ve  $\beta$ -*aktin* cDNA’ları kullanılarak yapılan gerçek zamanlı PZT sonrası agaroz jelinde örnekler koşturuldu ve primer bağlanmasının özgüllüğü kontrol edildi. Her iki gen için de tek ve istenilen boyda bir DNA bandı oluştuğu görüldü (Şekil 4.8).



**Şekil 4.8.** *SIRT1* ve  $\beta$ -*aktin* cDNA'larının PZT'deki çoğalımının agaroz jel (%1.5) elektroforezi görüntüsü. *SIRT1* ve  $\beta$ -*aktin* cDNA'larının PZT'deki çoğalımının agaroz jel (%1.5) elektroforezi görüntüsü. Kullanılan DNA Markeri 50 bp plus DNA Ladder'dır (Bioron, 50 bp, catalog no: 304007).

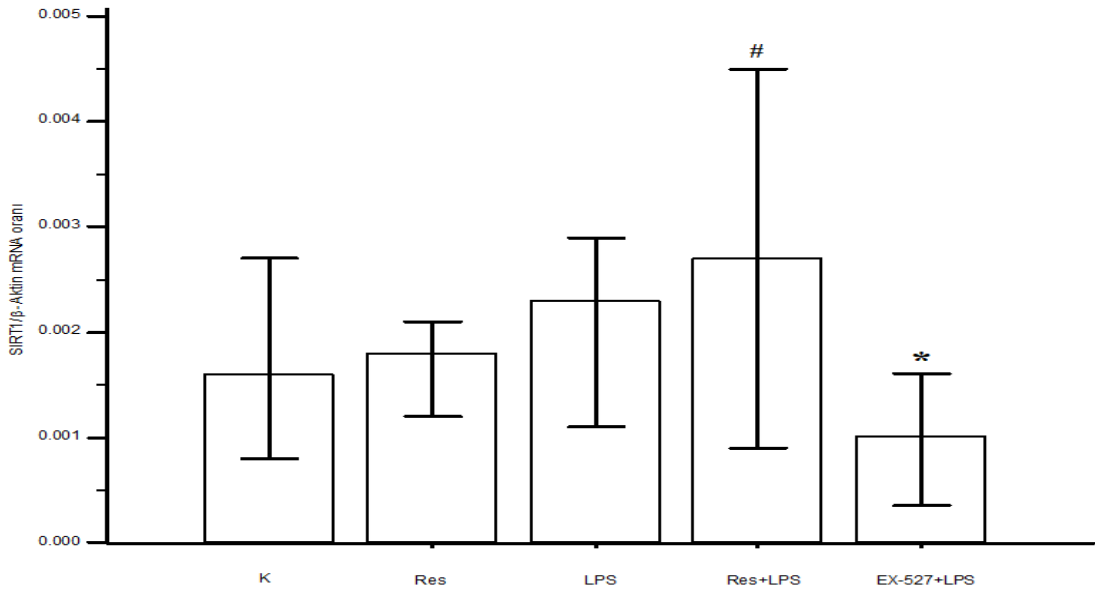
EX-527+LPS grubu sıçan beyinleri *SIRT1*/ $\beta$ -*Actin* mRNA seviyesi diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Ayrıca Res+LPS grubunun sıçan beyin dokularındaki *SIRT1*/ $\beta$ -*Actin* mRNA seviyesinin K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışı tespit edildi ( $p < 0.05$ ) (Tablo 4.7, Şekil 4.9)



**Tablo 4.7.** Gruplarda ölçülen *SIRT1/β-Aktin* mRNA seviyelerinin oranı. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

N=11	<i>SIRT1/β-Aktin</i> mRNA seviyelerinin oranı
	Ortanca (Min-Maks)
K	0.00160 (0.000800-0.00270)
Res	0.00180 (0.00120-0.00210)
LPS	0.00230 (0.00110-0.00290)
Res+LPS	0.00270 (0.000900-0.00450) #
EX-527+LPS	0.00102 (0.000357-0.00161) *

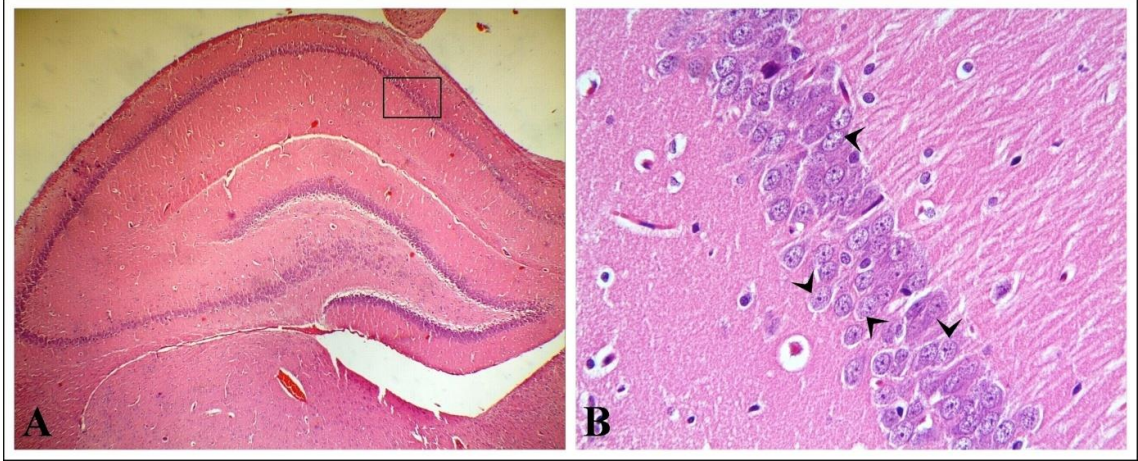
\*K, Res, LPS, Res+LPS gruplarına göre istatistiki olarak anlamlı azalış (p<0.05)  
#K grubuna göre istatistiki olarak anlamlı artış (p<0.05)



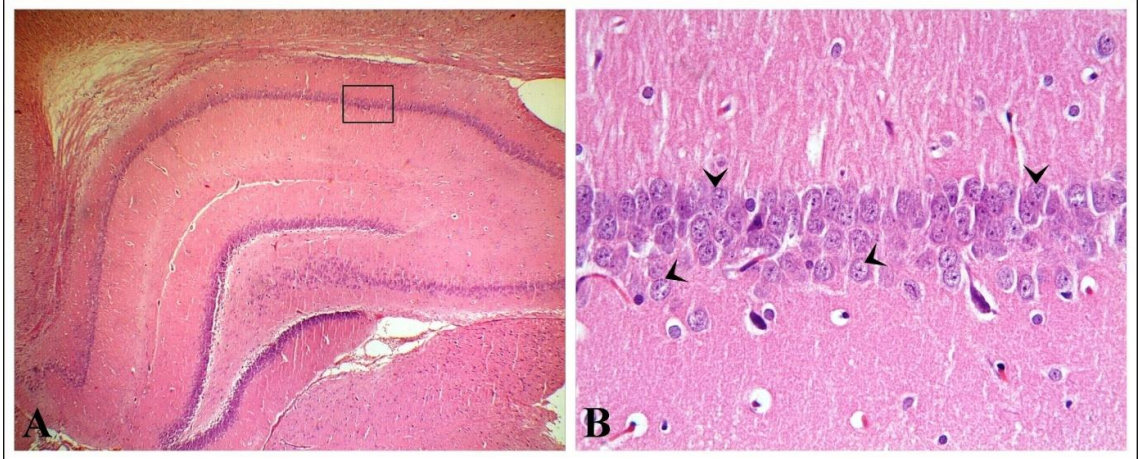
**Şekil 4.9.** Gruplarda ölçülen *SIRT1/β-Aktin* mRNA seviyelerinin oranı. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

#### 4.7. Histopatolojik Bulgular

K ve Res gruplarına ait kesitlerde, piramidal tabakada yer alan nöronların az sayıdaki dejenere nöron dışında (sırasıyla,  $2.67 \pm 2.26$  ve  $2.92 \pm 2.36$ ), normal morfolojik özelliklere sahip olduğu izlendi. Büyük, yuvarlağımsı ve ökromatik nükleusları ile dikkat çeken bu nöronların, sitoplazmik sınırları tam olarak ayırt edilemedi (Şekil 4.10 A, B; Şekil 4.11 A, B).



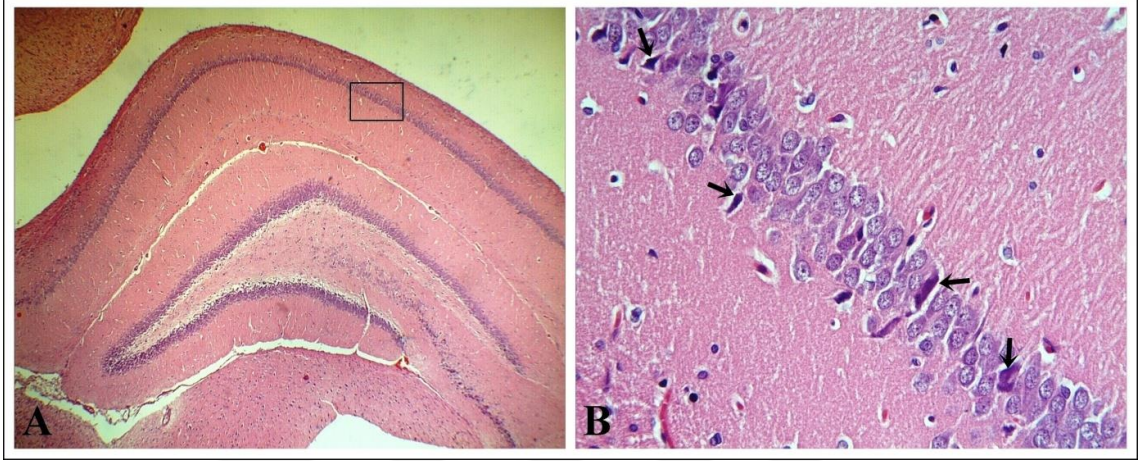
Şekil 4.10. K grubunun histopatolojik görüntüleri. Normal morfolojik özellikleri ile dikkat çeken nöronlar (ok başları). H-E boyama, A; x4, B; x40.



Şekil 4.11 Res grubunun histopatolojik görüntüleri. Kontrol grubuna benzer şekilde normal morfolojik özellikleri ile dikkat çeken nöronlar (ok başları). H-E boyama, A; x4, B; x40.

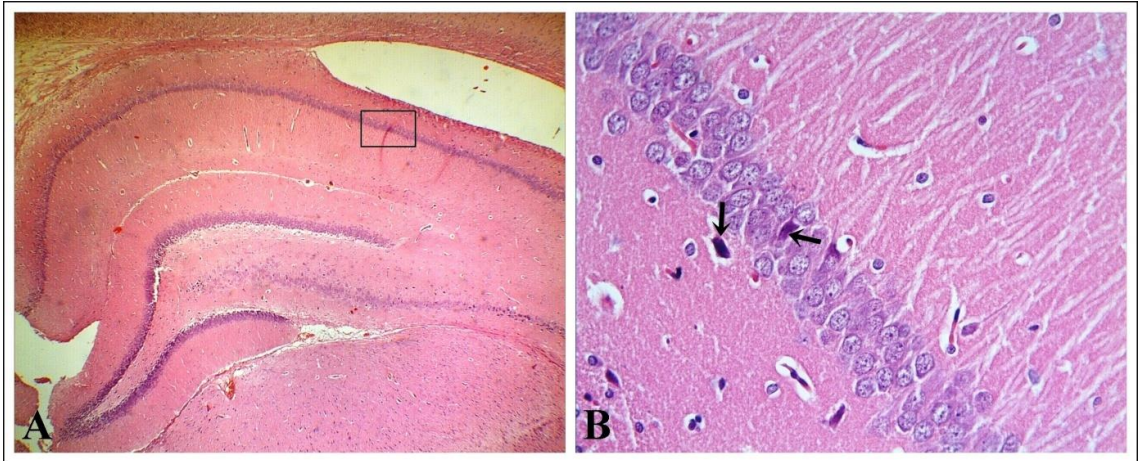


Diğer yandan, LPS grubunda, nöronların %  $6.73 \pm 3.36$ 'sının dejeneratif değişikliklere sahip olduğu tespit edildi. Dejenere nöronlar, büzülmüş ve asidofilitesi artmış sitoplazmaları; küçülmüş ve koyu renkli görünüm almış piknotik nükleusları ile dikkat çekti (Şekil 4.12 A, B). Bu gruptaki dejenere nöron yoğunluğundaki artışın, kontrol ve resveratrol grupları ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ( $p < 0.05$ ).



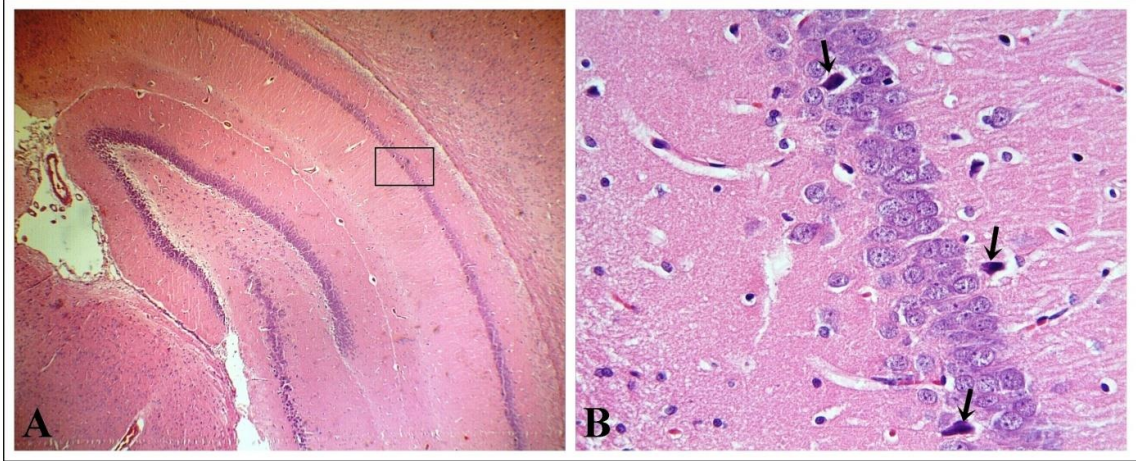
**Şekil 4.12.** LPS grubunun histopatolojik görüntüleri. Kontrol grubuna göre büzülmüş sitoplazma ve piknotik nükleusları ile ayırt edilen dejenere nöronların (oklar) yoğunluğundaki artış dikkati çekmekte. H-E boyama, A; x4, B; x40.

Res+LPS grubunda yer yer dejenere nöronlara rastlandı (Şekil 4.13 A, B). Bununla beraber, Res+LPS grubundaki dejenere nöron yoğunluğunun ( $3.97 \pm 2.97$ ), LPS grubuna göre belirgin şekilde azaldığı saptandı ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4.13.** Res+LPS grubunun histopatolojik görüntüleri. Dejenere nöron yoğunluğunun LPS grubuna göre azaldığı izlenmekte (oklar). H-E boyama, A; x4, B; x40.

EX527+LPS grubunda izlenen nöron dejenerasyonunun ( $4.46\pm 3.28$ ), kontrol ve resveratrol gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ( $p<0.05$ ); LPS grubundan ise daha hafif düzeyde dejenerasyon nöron yoğunluğuna sahip olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). (Şekil 4.14 A, B).



**Şekil 4.14.** EX527+LPS grubunun histopatolojik görüntüleri. Kontrol grubuna göre dejenerasyon nöronların (oklar) yoğunluğundaki artış dikkati çekmekte. H-E boyama, A; x4, B; x40.

Grupların dejenerasyon nöron yoğunluğu Tablo 4.8’de, gruplar arası p değerleri ise Tablo 4.9’de verildi.

**Tablo 4.8.** Tüm grupların dejenerasyon nöron yoğunluğu. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

Gruplar	Dejenerasyon nöron yoğunluğu (%)
K	$2.67\pm 2.26$
Res	$2.27\pm 2.23$
LPS	$6.73\pm 3.36^*$
Res+LPS	$3.97\pm 2.97^\#$
EX-527+LPS	$4.46\pm 3.28^{*,\#}$

\* Kontrol ve resveratrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış ( $p<0.05$ ).

# LPS grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma ( $p<0.05$ ).

**Tablo 4.9.** Tüm grupların "p" değerleri. Kontrol (K), Resveratrol (Res), Resveratrol+Lipopolisakkarit (Res+LPS), 6-kloro-2,3,4,9-tetrahidro-1H-karbazol-1-karboksamid+ Lipopolisakkarit (EX-527+LPS).

<b>Gruplar</b>	<b>Dejenere nöron yoğunluğu (%)</b>
<b>LPS-Kontrol</b>	<0.0001
<b>LPS-Res</b>	<0.0001
<b>LPS- Res+LPS</b>	<0.0001
<b>LPS-EX-527+LPS</b>	<0.0001
<b>EX-527+LPS-Kontrol</b>	0.022
<b>EX-527+LPS-Res</b>	0.041

## 5. TARTIŞMA

Araştırmamızda; Res ve Res+LPS grubundaki hayvanların artan beyin MDA seviyelerinin, K, LPS ve EX-527+LPS grubuna göre istatistiki olarak anlamlı olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). EX-527+LPS grubu hayvanların beyin SOD aktivitesindeki artış, K ve LPS grubu beyin SOD aktivitesine göre istatiki olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ). Res ve Res+LPS grubu SOD aktivitelerindeki azalma K grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). GSH ve CAT seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). EX-527+LPS grubu beyin *SIRT1* gen ifadesindeki düşüş diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ). Res+LPS grubunun *SIRT1* gen ifadesi K grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir artış göstermişti ( $p<0.05$ )

Yapılan çalışmalar sonucunda ortaya çıkan verilerde; akut ve kronik inflamasyonda SIRT genlerinin birçok etkisi olduğu anlaşılmıştır. Sınıf III protein deasetilaz olan SIRT1, oksidatif stres ve inflamasyon ile mücadelede rol oynayan önemli bir hücrel enzim olarak belirtilmiştir (193). SIRT1 çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda koruyucu rol oynamaktadır. SIRT1 ayrıca NF $\kappa$ B gibi birçok transkripsiyonel regülatörün lizin kalıntılarının deasetilasyonu yolu ile anti-enflamatuar etkiler uygulamaktadır (194, 195). SIRT1'in inflamasyon üzerindeki etkisi, SIRT1'in seviyelerine bağlı olarak değişebilmektedir. İnflamasyon da düşük SIRT1 seviyeleri, NF $\kappa$ B RelA / p65 aktivitesini artırarak akut inflamasyonla ilişkili toksisiteyi hafifletirken SIRT1'in uzun süreli artışı, immün basıklanmasına neden olabilmekte ve mortaliteyi arttırabilmektedir (196). Yapılan çalışmalar artan ROT seviyesinin SIRT enziminin aktivitesini hem doğrudan hem de dolaylı olarak kontrol edebileceğini göstermiştir. ROT, NF $\kappa$ B sinyalizasyonunu ve enflamatuar tepkileri uyandırarak SIRT1 aktivitesini inhibe edebilmektedir (194). Ayrıca SIRT1'in apoptoz, otofaji, kalori kısıtlaması gibi birçok hücrel olaylarda rol aldığı gösterilmiştir (103).

Tüm bu veriler SIRT1 sirtuinlerinin aktivasyonunun nöronları; apoptoz, inflamasyon ve oksidatif strese karşı koruyabileceği ve bu enzimlerin inme, Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörolojik rahatsızlıkların tedavisinde yeni hedefler olabileceğini düşündürmektedir (197).



LPS tarafından indüklenen inflamasyonun; pro-inflamatuar sitokinlerin salınmasına ve oksijen türlerinin üretimine neden olduğu belirtilmiştir. Hatta bu yolla öğrenme ve hafıza bozukluğuna neden olduğu da eklenmiştir (198, 199).

Hichem ve ark. Tarafından yapılan bir çalışmada sıçanlar LPS ile indüklenmiş ve resveratrol uygulamasına tabii tutulmuşlardır. Beyin oksidatif stres seviyelerinde resveratrolün beyin MDA'sını önemli ölçüde azalttığını ancak LPS'nin arttırdığını, SOD ve CAT aktivitelerini resveratrolün anlamlı şekilde arttırırken LPS'nin anlamlı şekilde düşürdüğü rapor edilmiştir (200). Bruna ve ark. Yaptığı bir çalışmada ise resveratrolün GSH seviyesinde anlamlı bir artış sağladığı görülürken, LPS uygulanan grupta anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (201).

Kheir-Eldin ve arkadaşları, bizim araştırmamız ile aynı LPS serotipini (E. coli'den 055: B5) 2 mg/kg kullanarak, LPS uygulamasından 2 saat sonra sıçan beyinde SOD aktivitesini analiz etmişler ve LPS uygulamasının SOD aktivitesi üzerinde hiçbir etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar LPS uygulaması ile deney hayvanlarının beyin MDA seviyesinde hızlı bir artış olduğunu da göstermişlerdir (202). Bunun tersine bir bulgu olarak LPS uygulamasının sığır makrofaj ve endotel pulmoner hücrelerinde SOD aktivitesini uyardığı tespit edilmiştir (203, 204). Bir başka çalışmada Hichem ve ark. LPS'nin uygulamasının doza bağlı olarak MDA seviyesini 12 ila 24 saatte doruk noktasına çıkarıp 48 saat sonra MDA seviyesinin tekrar kontrol seviyesine kadar düştüğünü bildirmişlerdir (200).

C.Alarkon ve ark. Resveratrolün hücre için redoks durumu üzerinde ilginç bilgiler sağlamışlardır. Her anti-oksidan'ın aslında bir redoks (redüksiyon-oksidasyon) oksidan ajanı, olarak tanımlayan araştırmacılar, resveratrolün hem anti-oksidan hem de pro-oksidan aktivitelerini derlemişlerdir (205).

Martins ve ark. Resveratrolün konsantrasyon ve zaman değişimlerinde farklı biyolojik etkilerle sonuçlanabileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar resveratrolün hücrelerde pro-oksidatif etki gösterebileceği dozajlarda kullanımının; kısa sürelerde oksidatif stres'e yol açarken uzun sürelerde maruz kalmanın daha az sitotoksisteye neden olduğunu bulmuşlardır. Bunun resveratrolün neden olduğu hasarlara karşı hücrelerin daha dirençli hale gelerek sağladıklarını belirtmişlerdir (206). Bunlara ilaveten bir başka çalışmada düşük resveratrol dozlarının (0.1-1.0 µg/mL) hücre çoğalmasını arttırırken,

yüksek dozlarının (10.0–100.0 µg/mL) apoptozu indüklediğini ve insan tümör ve endotel hücrelerinde mitotik aktiviteyi azalttığı belirtilmektedir (207).

Araştırmamızda resveratrol uygulanan gruplarda MDA seviyeleri yüksek çıkmıştır. Gadacha ve ark. Yaptıkları çalışmada, resveratrol uyguladıkları sıçanların kalp, karaciğer ve böbreklerdeki, 12 saatlik bir karanlık-aydınlık döngüsünde lipid peroksidasyon seviyelerinin değişimini incelemişlerdir. Resveratrolün karanlık döngüde bir anti-oksidan, aydınlık döngüde ise pro-oksidan olarak davrandığı belirtilmiştir (208). Resveratrolün araştırmamızda gözlediğimiz MDA'yı yükseltici etkisi pro-oksidan özelliğinden kaynaklanmış olabilir.

Araştırmamızda EX-527+LPS grubu sıçan beyin dokusu *SIRT1* gen ifadesinde diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında istatiki olarak anlamlı bir düşüş tespit edildi ( $p<0.05$ ). Ayrıca Resveratrol+LPS grubunun sıçan beyin dokularındaki *SIRT1* gen ifadesinde Kontrol grubuna göre istatiki olarak anlamlı bir artış mevcuttu ( $p<0.05$ ).

*SIRT1* aktivatörü olarak tanımlandırılan resveratrolün *SIRT1* üzerinde yapılan birçok çalışmada güçlü ve uyarıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (103). EX-527'nin ise *SIRT1*'i etkin bir biçimde inhibe ettiğine dair bulgulara mevcuttur (209).

Ke Tao ve ark. yapmış oldukları *in vitro* bir çalışma bizim çalışmamız ile büyük oranda paralellik göstermektedir. Araştırmacılar; deney düzeneklerini Kontrol, Resveratrol, *SIRT1* inhibitör, LPS, LPS+Resveratrol ve LPS+Resveratrol+*SIRT1* inhibitör olmak üzere 6 grup olarak dizayn etmişlerdir. Araştırmada gruplar arası *SIRT1* mRNA seviyesi karşılaştırıldığında *SIRT1* gen ifadesinin Resveratrol ve LPS+Resveratrol grubunda, Kontrol, LPS ve inhibitör uygulanan gruplara göre arttığı belirtilmiştir. Ayrıca araştırmacılar çalışmanın devamında resveratrol ile aktive edilen *SIRT1*'in inflamasyon sonucu oluşan hastalıklarda hayatta kalma oranını arttırabileceğini de belirtmişlerdir (210).

Bir başka araştırmada Tongxun Li ve ark. farelere 15-30 mg/kg resveratrol ve 10 mg/kg LPS i.p olarak uygulamışlardır. Hayvanların akciğerlerinden alınan örneklerde Resveratrol15+LPS ve Resveratrol30+LPS gruplarının Kontrol, LPS ve LPS+Saline grubuna göre *SIRT1/β-Actin* mRNA seviyesinin arttırdığını saptamışlardır (211).

Araştırmamızla benzerlik gösteren bir başka çalışmada Hualei ve ark. Resveratrol ve oksitlenmiş düşük dansiteli lipoprotein (ox-LDL) uygulanan grubun Resveratrol+ox-



LDL, inhibitöründe eklendiği Resveratrol+ox-LDL+EX-527 grubuna göre *SIRT1/β-Actin* mRNA seviyesinin anlamlı bir şekilde yükselttiğini bulmuşlardır (212).

Haosen ve ark. Sıçanlarda 100 mg/kg, i.p, olarak resveratrol uyguladıkları gruptaki *SIRT1/β-Actin* mRNA seviyesinin, Kontrol ve Sham gruplarına göre anlamlı derecede arttığını bulmuşlardır (213).

Bir başka araştırmada Cuiping Fu ve ark. EX-527 inhibitörü uygulamasının anlamlı derecede *SIRT1* gen ifadesini düşürdüğünü bildirmişlerdir (214).

Araştırmamızın histopatolojik bulgularına göre Res+LPS grubu beyin dokularında yer yer dejenere nöronlara rastlandı. Res+LPS grubundaki dejenere nöron yoğunluğu LPS grubuna göre belirgin şekilde azalmıştı ( $p<0.05$ ). EX-527+LPS grubunda izlenen nöron dejenerasyonunun, K ve Res gruplarından istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ( $p<0.05$ ); LPS grubunda ise daha hafif düzeyde dejenere nöron yoğunluğu olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ).

Zhenyu Peng ve ark. Melatoninin SIRT1 aktivitesine olan etkilerini inceledileri araştırmalarında, KOAH hastalığı üzerinde çalışmışlardır. Araştırmada grupların akciğer dokuları hematoksilin ve eozin boyamalarla boyandıktan sonra histopatolojik olarak incelenmiştir. Akciğer dokusunun histopatolojik bulgularını değerlendirdiklerinde KOAH grubunun Kontrol grubuna göre akciğer parankimal yıkımın ve hava sahasında genişleme meydana geldiğini bulmuşlardır. Ancak melatonin uygulanan grupta bu dejenereasyonların bastırıldığını belirtilmiştir. Ayrıca SIRT1 inhibitörü olan EX-527'nin uygulandığı grubun Melatoninin bu koruyucu etkilerini kaldırdığını saptamışlardır. Sonuçlar melatoninin SIRT1 yolu ile KOAH üzerinde koruyucu bir etkisi olabileceğini göstermiştir (215).

Bir diğer araştırmada Qiaoqing Ning ve ark. farelere 10mg/kg, i.p, LPS uygulamışlardır. Uygulamadan 8 saat sonra alınan beyin dokularından hematoksilin ve eozin boyamalarla histopatolojik bulgular araştırılmıştır. LPS uygulaması yapılan grubun serebral korteks ve hipokampusündeki nöronlarda dejeneratif bozukluklar meydana geldiği belirtilmiştir (216).

Aluminyum klorür ( $AlCl_3$ ) ve Sodyum Florür (NaF) uygulamasıyla oluşturulan nörodejenerasyonda modelinde Reddy Nalagoni ve ark. Resveratrolün nöron koruyucu etkisini incelemişlerdir. Hematoksilin ve eozin boyamalarla histopatolojik olarak

incelenen beyin dokularında; AICI<sub>3</sub>+NaF uygulanan grupta nörodejenatif bozukluklara rastlanırken AICI<sub>3</sub>+NaF+Resveratrol grubunda hasarlı nöronların oranının anlamlı bir şekilde düştüğü belirtilmiştir. Ayrıca Kontrol ve Resveratrol grupları arasında da herhangi bir anlamlı fark oluşmamıştır. Araştırmacılar resveratrolün nöron koruyucu etkisine dikkat çekmişlerdir (217). Çalışmamız genel manasıyla histopatolojik bulguları bakımından literatür bilgileriyle uyumluluk göstermektedir.

Jay ve Li-Huei beyindeki işlevsellik ve bozukluklarda Lizin asetilasyonu ve deasetilasyonuna dikkat çektikleri çalışmalarında ilginç bir şekilde, Histon lizin asetilazlar (HAT) ile katalize edilen lizin asetilasyonunun genellikle bilişsel performansı arttırırken, histon lizin deasetilazlar (HDAC) ile katalize edilen lizin deasetilasyonunun birçok beyin bölgesinde bilişsel düzenlemeyi negatif olarak düzenlediklerini belirtmişlerdir (218).

Bir başka çalışmada Karen ve Patrizia geniş spektrumlu HDAC inhibitörlerinin tedaviye verdikleri tepkinin heterojen olduğunu, bazı durumlarda koruyucu iken bazı durumlarda zararlı olduğunu belirtmektedir. Örneğin; bu geniş spektrumlu farmakolojik inhibisyonun, çekirdek veya sitozolda, farklı histon dışı substratları hedefleye bildiklerini söylemişlerdir (219).

Literatür taramasında araştırmalar çarpıcı bir şekilde HDAC inhibisyonunun, LPS uygulamalarında, pro-inflamatuvar salınımları hem azalttığı hem de güçlendirdiği belirtilmektedir (220, 221).

Bor Lue'nin resveratol ve SIRT1 etkileşiminde nöron koruyucu etkisine dair yaptığı bir çalışmada, resveratrolün nöron koruyucu etkilerini gösteren çok sayıda çalışma olduğunun bildirilmesine rağmen son zamanlarda yapılan çalışmalarda SIRT1 inhibisyonunun nöronal sağ kalımı sağladığını dolayısıyla bu çelişkili verilerin bilim dünyasını uzlaşmaz bir paradoksa süreklediğini belirtmiştir (222).

Resveratrol ve SIRT1 proteini aracılığı ile ilgili enflamatuvar düzlemde uyuşmayan çalışmalara bakıldığında ise araştırmacılar, resveratrolün hücrede SIRT1 ile ilişkili olmayan bazı enzimatik aktiviteleri etkilediğini dolayısıyla *in vivo* etkilerinin yorumlanmasının zorlaştırdığını belirtmişlerdir (223).

Resveratrol ve SIRT1 aktivatörlüğü konusundaki en çarpıcı çalışmalardan biri Michelle ve ark.'nın biyokimyasal analizler kullanarak SIRT1 aktivatörlerini inceledikleri çalışmadır. Çalışmalarında bilinen SIRT1 aktivatörlerinden SRT1720,

SRT2183, SRT1460 ve resveratrolün SIRT1'in doğal peptit veya tam uzunluktaki protein substratları ile aktivasyonu sağlanmaz iken SIRT1'in kovalent olarak bağlı bir florofor içeren peptit substratları ile aktivasyon sağladığını öne sürmüşlerdir. Sonuç olarak SRT1720, SRT2183, SRT1460 ve resveratrolün SIRT1'in doğrudan aktivatörleri olmadığı sonucuna varmışlardır (224). Dirk ve ark. yaptığı ve biyokimyasal analizlerin kullanıldığı bir başka çalışmada bunu destekler nitelikte olup araştırmacılar resveratrolün SIRT1'in farmakolojik bir araç olarak doğrudan etkisinden uzak olduğunu belirtmişlerdir (225).

LPS'nin nöroinflamasyondaki rolüne dair tutarsız bilgilere dair yapılan bir çalışmada; LPS'nin zayıf beyin penetrasyonuna rağmen nöroinflamasyonu tetiklemede ve nörodejenaratif hastalıkların patogeneğinde rol alma da etkili oldukları belirtilmiştir. Ancak ilginç olan düşük seviyelerdeki bir LPS uygulamasının oluşturduğu hafif pro-inflamatuar yanıtın, beyni olası olumsuz koşullara karşı dirençli hale getirdiği gözlemlenmiştir. Dolayısıyla LPS'nin özellikle henüz tam olarak kesinleşmeyen dozaj miktarı ve süresinin, beyinde ve nörodejenaratif hastalıklarda faydalı veya zararlı rolleri olup olmadığına dair şüpheler taşımaktadır (226).

Hosein Farzei ve ark. yapmış oldukları çalışmada resveratrolün bilişsel ve bellek üzerine etkilerinin değerlendirildiği, randomize klinik çalışmalardan elde edilen 225 kişinin verilerini derlemişlerdir. Bu meta-analiz sonuçları, işitsel sözel öğrenme testleri (AVLT) uygulanan bireyler arasında bellek ve bilişsel performansı arasında anlamlı bir fark bulunmadığı yönündedir (227).

Bizim araştırmamızda da sıçan bilişselliğini değerlendirilmesi için MWM testi yapılmış ve sonuçları istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tezden elde edilen veriler ışığı altında LPS uygulaması ile nöroinflamasyonun tetiklendiği ve akabinde nörodejenasyonun meydana geldiği ek olarak elde edilen bulgulara göre LPS indüklü nörojenerasyonda;

Tüm deney gruplarında yapılan Morris su labirenti bilişsellik testi sonucunda; Platform bölgesinden geçiş sıklığı (adet), Hedef platformda bulunma süresi (sn), Ortalama hız (cm/sn), parametreleri istatistiksel olarak değerlendirildi ve anlamlı bir fark olmadığı ( $p>0.05$ ), LPS ve/veya resveratrol uygulamasının bilişsel veya hafıza fonksiyonlarında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı,

Biyokimyasal analizler sonucunda; GSH seviyesi ve CAT aktivitesinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadığı ( $p>0.05$ ), MDA seviyeleri incelendiğinde Res ve Res+LPS grubundaki hayvanların artan beyin MDA seviyelerinin, K, LPS ve EX-527+LPS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p<0.05$ ), EX-527+LPS grubu hayvanların beyin SOD aktivitesindeki artışın, K ve LPS grubu beyin SOD aktivitesine göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p<0.05$ ), Res ve Res+LPS grubu SOD aktivitelerindeki azalmanın K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p<0.05$ ),

Moleküler genetik bulgulara bakıldığında EX-527+LPS grubu beyin *SIRT1* gen ifadesindeki düşüş diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p<0.05$ ), Res+LPS grubunun *SIRT1* gen ifadesinin K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği ( $p<0.05$ ),

Histopatolojik veriler incelendiğinde; K ve Res gruplarına ait kesitlerde, piramidal tabakada yer alan nöronların az sayıdaki dejenere nöron dışında normal morfolojik özelliklere sahip olduğu, LPS grubunda, nöronların dejeneratif değişikliklere sahip olduğu, Res+LPS grubunda yer yer dejenere nöronlara rastlandığı, bununla beraber, Res+LPS grubundaki dejenere nöron yoğunluğunun, LPS grubuna göre belirgin şekilde azaldığı, EX-527+LPS grubunda izlenen nöron dejenerasyonunun, K ve Res gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ( $p<0.05$ ); LPS grubundan ise daha hafif düzeyde dejenere nöron yoğunluğuna sahip olduğu ( $p<0.05$ ), tespit edilmiştir.

Çalışmamız verilerinden yola çıkarak; resveratrol ile *SIRT1* gen ifadesinin arttırılmasının, LPS indüklü nörodejenerasyonu önleyebileceği kanaatini taşımaktayız.



## KAYNAKLAR

1. Wyss-Coray T. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature* 2016, 539(7628): 180.
2. Westendorp RG. What is healthy aging in the 21st century? *The American journal of clinical nutrition* 2006, 83(2): 404S-9S.
3. Prince MJ. *World Alzheimer Report 2014: dementia and risk reduction: an analysis of protective and modifiable factors*, Alzheimer's Disease International 2014.
4. McManus RM, Heneka MT. Role of neuroinflammation in neurodegeneration: new insights. *Alzheimer's research & therapy* 2017, 9(1): 14.
5. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem* 2016, 139 Suppl 2136-53.
6. Heneka MT, Kummer MP, Latz E. Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nat Rev Immunol* 2014, 14(7): 463-77.
7. Griffin WS, Sheng JG, Royston MC, Gentleman SM, McKenzie JE, Graham DI, Roberts GW, Mrak RE. Glial-neuronal interactions in Alzheimer's disease: the potential role of a 'cytokine cycle' in disease progression. *Brain Pathol* 1998, 8(1): 65-72.
8. Şentürk E, Esen F. Sepsiste immunoglobülin tedavisi ile kompleman inhibisyonu ve nöroproteksiyon. *Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Dergisi* 2012, 40(4): 184-92.
9. Heneka MT, Kummer MP, Latz E. Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nature Reviews Immunology* 2014, 14(7): 463.
10. Bryant CE, Spring DR, Gangloff M, Gay NJ. The molecular basis of the host response to lipopolysaccharide. *Nature Reviews Microbiology* 2010, 8(1): 8.
11. Godbout J, Chen J, Abraham J, Richwine A, Berg B, Kelley K, Johnson RW. Exaggerated neuroinflammation and sickness behavior in aged mice following activation of the peripheral innate immune system. *The FASEB journal* 2005, 19(10): 1329-31.
12. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature reviews neuroscience* 2008, 9(1): 46.

13. Qin L, Wu X, Block ML, Liu Y, Breese GR, Hong JS, Knapp DJ, Crews FT. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia* 2007, 55(5): 453-62.
14. Bossù P, Cutuli D, Palladino I, Caporali P, Angelucci F, Laricchiuta D, Gelfo F, De Bartolo P, Caltagirone C, Petrosini L. A single intraperitoneal injection of endotoxin in rats induces long-lasting modifications in behavior and brain protein levels of TNF- $\alpha$  and IL-18. *Journal of neuroinflammation* 2012, 9(1): 101.
15. Vastano BC, Chen Y, Zhu N, Ho C-T, Zhou Z, Rosen RT. Isolation and Identification of Stilbenes in Two Varieties of *Polygonum cuspidatum*. *Journal of agricultural and food chemistry* 2000, 48(2): 253-6.
16. Albani D, Polito L, Signorini A, Forloni G. Neuroprotective properties of resveratrol in different neurodegenerative disorders. *Biofactors* 2010, 36(5): 370-6.
17. Bastianetto S, Ménard C, Quirion R. Neuroprotective action of resveratrol. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2015, 1852(6): 1195-201.
18. Martin A, Tegla CA, Cudrici CD, Kruszewski AM, Azimzadeh P, Boodhoo D, Mekala AP, Rus V, Rus H. Role of SIRT1 in autoimmune demyelination and neurodegeneration. *Immunol Res* 2015, 61(3): 187-97.
19. Albani D, Polito L, Forloni G. Sirtuins as novel targets for Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders: experimental and genetic evidence. *Journal of Alzheimer's Disease* 2010, 19(1): 11-26.
20. Cao W, Dou Y, Li A. Resveratrol boosts cognitive function by targeting sirt1. *Neurochemical research* 2018, 43(9): 1705-13.
21. Nikseresht S, Khodaghali F, Ahmadiani A. Protective effects of ex-527 on cerebral ischemia-reperfusion injury through necroptosis signaling pathway attenuation. *J Cell Physiol* 2019, 234(2): 1816-26.
22. Carson MJ, Thrash JC, Walter B. The cellular response in neuroinflammation: The role of leukocytes, microglia and astrocytes in neuronal death and survival. *Clinical neuroscience research* 2006, 6(5): 237-45.
23. Carson MJ, Doose JM, Melchior B, Schmid CD, Ploix CC. CNS immune privilege: hiding in plain sight. *Immunological reviews* 2006, 213(1): 48-65.
24. Sättler MB, Bähr M. Future neuroprotective strategies. *Experimental neurology* 2010, 225(1): 40-7.

25. Lyman M, Lloyd DG, Ji X, Vizcaychipi MP, Ma D. Neuroinflammation: the role and consequences. *Neuroscience research* 2014, 791-12.
26. Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell* 2010, 140(6): 918-34.
27. Park S, Sapkota K, Kim S, Kim H, Kim S. Kaempferol acts through mitogen-activated protein kinases and protein kinase B/AKT to elicit protection in a model of neuroinflammation in BV2 microglial cells. *British journal of pharmacology* 2011, 164(3): 1008-25.
28. Busche MA, Konnerth A. Impairments of neural circuit function in Alzheimer's disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 2016, 371(1700): 20150429.
29. Shabab T, Khanabdali R, Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Mohan G. Neuroinflammation pathways: a general review. *International Journal of Neuroscience* 2017, 127(7): 624-33.
30. Ransohoff RM. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science* 2016, 353(6301): 777-83.
31. Russo MV, McGavern DB. Inflammatory neuroprotection following traumatic brain injury. *Science* 2016, 353(6301): 783-5.
32. Chen WW, Zhang X, Huang WJ. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Molecular medicine reports* 2016, 13(4): 3391-6.
33. Gao L-B, Yu X-F, Chen Q, Zhou D. Alzheimer's Disease therapeutics: current and future therapies. *Minerva medica* 2016, 107(2): 108-13.
34. Bastias-Candia S, Garrido A, M Zolezzi J, C Inestrosa N. Recent advances in neuroinflammation therapeutics: PPARs/LXR as neuroinflammatory modulators. *Current pharmaceutical design* 2016, 22(10): 1312-23.
35. Soursou G, Alexiou A, Md Ashraf G, Ali Siyal A, Mushtaq G, A Kamal M. Applications of Nanotechnology in Diagnostics and Therapeutics of Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Current drug metabolism* 2015, 16(8): 705-12.
36. Bawa P, Pradeep P, Kumar P, Choonara YE, Modi G, Pillay V. Multi-target therapeutics for neuropsychiatric and neurodegenerative disorders. *Drug discovery today* 2016, 21(12): 1886-914.



37. Prentice H, Modi JP, Wu J-Y. Mechanisms of neuronal protection against excitotoxicity, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial dysfunction in stroke and neurodegenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2015, 2015.
38. Oertel W, Schulz JB. Current and experimental treatments of Parkinson disease: a guide for neuroscientists. *Journal of neurochemistry* 2016, 139325-37.
39. Jin H, Kanthasamy A, Harischandra DS, Anantharam V, Rana A, Kanthasamy A. Targeted toxicants to dopaminergic neuronal cell death. *Neuronal Cell Death: Springer*; 2015. p. 239-52.
40. Barrientos R, Kitt M, Watkins L, Maier S. Neuroinflammation in the normal aging hippocampus. *Neuroscience* 2015, 30984-99.
41. Von Bernhardi R, Eugénin-von Bernhardi L, Eugénin J. Microglial cell dysregulation in brain aging and neurodegeneration. *Frontiers in aging neuroscience* 2015, 7124.
42. Zilka N, Kazmerova Z, Jadhav S, Neradil P, Madari A, Obetkova D, Bugos O, Novak M. Who fans the flames of Alzheimer's disease brains? Misfolded tau on the crossroad of neurodegenerative and inflammatory pathways. *Journal of neuroinflammation* 2012, 9(1): 47.
43. Mendiola-Precoma J, Berumen L, Padilla K, Garcia-Alcocer G. Therapies for prevention and treatment of Alzheimer's disease. *BioMed research international* 2016, 2016.
44. Aguilar-Valles A, Inoue W, Rummel C, Luheshi GN. Obesity, adipokines and neuroinflammation. *Neuropharmacology* 2015, 96124-34.
45. Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: current evidence and future directions. *Alzheimer's & Dementia* 2016, 12(6): 719-32.
46. Hernández-Romero MC, Delgado-Cortés MJ, Sarmiento M, de Pablos RM, Espinosa-Oliva AM, Argüelles S, Báñez MJ, Villarán RF, Mauriño R, Santiago M. Peripheral inflammation increases the deleterious effect of CNS inflammation on the nigrostriatal dopaminergic system. *Neurotoxicology* 2012, 33(3): 347-60.
47. Butchart J, Brook L, Hopkins V, Teeling J, Püntener U, Culliford D, Sharples R, Sharif S, McFarlane B, Raybould R. Etanercept in Alzheimer disease: a randomized, placebo-controlled, double-blind, phase 2 trial. *Neurology* 2015, 84(21): 2161-8.

48. Hoogland IC, Houbolt C, van Westerloo DJ, van Gool WA, van de Beek D. Systemic inflammation and microglial activation: systematic review of animal experiments. *Journal of neuroinflammation* 2015, 12(1): 114.
49. Russo MV, McGavern DB. Immune surveillance of the CNS following infection and injury. *Trends in immunology* 2015, 36(10): 637-50.
50. O'Connor T, Borsig L, Heikenwalder M. CCL2-CCR2 signaling in disease pathogenesis. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)* 2015, 15(2): 105-18.
51. Mehta AK, Gracias DT, Croft M. TNF activity and T cells. *Cytokine* 2018, 10114-8.
52. Wang J, Asensio V, Campbell I. Cytokines and chemokines as mediators of protection and injury in the central nervous system assessed in transgenic mice. *Protective and Pathological Immune Responses in the CNS: Springer; 2002. p. 23-48.*
53. Theoharides TC, Alysandratos K-D, Angelidou A, Delivanis D-A, Sismanopoulos N, Zhang B, Asadi S, Vasiadi M, Weng Z, Miniati A. Mast cells and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2012, 1822(1): 21-33.
54. Saha RN, Liu X, Pahan K. Up-regulation of BDNF in astrocytes by TNF- $\alpha$ : a case for the neuroprotective role of cytokine. *Journal of Neuroimmune Pharmacology* 2006, 1(3): 212-22.
55. Li Z, Zheng Z, Ruan J, Li Z, Tzeng C-M. Chronic inflammation links cancer and Parkinson's disease. *Frontiers in aging neuroscience* 2016, 8126.
56. Walker ME, Hatfield JK, Brown MA. New insights into the role of mast cells in autoimmunity: evidence for a common mechanism of action? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2012, 1822(1): 57-65.
57. Cottrell GS, Amadesi S, Schmidlin F, Bunnett N. *Protease-activated receptor 2: activation, signalling and function.* Portland Press Limited; 2003.
58. Noorbakhsh F, Tsutsui S, Vergnolle N, Boven LA, Shariat N, Vodjgani M, Warren KG, Andrade-Gordon P, Hollenberg MD, Power C. Proteinase-activated receptor 2 modulates neuroinflammation in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Journal of Experimental Medicine* 2006, 203(2): 425-35.

59. Liu X, Wang J, Zhang H, Zhan M, Chen H, Fang Z, Xu C, Chen H, He S. Induction of mast cell accumulation by tryptase via a protease activated receptor-2 and ICAM-1 dependent mechanism. *Mediators of inflammation* 2016, 2016.
60. Frieri M, Kumar K, Boutin A. Role of mast cells in trauma and neuroinflammation in allergy immunology. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2015, 115(3): 172-7.
61. McKittrick CM, Lawrence CE, Carswell HV. Mast cells promote blood brain barrier breakdown and neutrophil infiltration in a mouse model of focal cerebral ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 2015, 35(4): 638-47.
62. Theoharides TC, Asadi S, Patel AB. Focal brain inflammation and autism. *Journal of neuroinflammation* 2013, 10(1): 815.
63. Dong H, Zhang W, Zeng X, Hu G, Zhang H, He S, Zhang S. Histamine induces upregulated expression of histamine receptors and increases release of inflammatory mediators from microglia. *Molecular neurobiology* 2014, 49(3): 1487-500.
64. Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *British journal of pharmacology* 2016, 173(4): 649-65.
65. Kempuraj D, Thangavel R, Yang E, Pattani S, Zaheer S, Santillan DA, Santillan MK, Zaheer A. Dopaminergic toxin 1-methyl-4-phenylpyridinium, proteins  $\alpha$ -synuclein and glia maturation factor activate mast cells and release inflammatory mediators. *PLoS One* 2015, 10(8): e0135776.
66. D Skaper S, Facci L, Giusti P. Neuroinflammation, microglia and mast cells in the pathophysiology of neurocognitive disorders: a review. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)* 2014, 13(10): 1654-66.
67. Kempuraj D, Khan MM, Thangavel R, Xiong Z, Yang E, Zaheer A. Glia maturation factor induces interleukin-33 release from astrocytes: implications for neurodegenerative diseases. *Journal of Neuroimmune Pharmacology* 2013, 8(3): 643-50.
68. Frohman EM, Frohman TC, Gupta S, de Fougères A, van den Noort S. Expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) in Alzheimer's disease. *Journal of the neurological sciences* 1991, 106(1): 105-11.

69. Kempuraj D, Thangavel R, Natteru P, Selvakumar G, Saeed D, Zahoor H, Zaheer S, Iyer S, Zaheer A. Neuroinflammation induces neurodegeneration. *Journal of neurology, neurosurgery and spine* 2016, 1(1).
70. Inagawa H, Kohchi C, Soma G-I. Oral administration of lipopolysaccharides for the prevention of various diseases: benefit and usefulness. *Anticancer research* 2011, 31(7): 2431-6.
71. Miklossy J. Chronic Inflammation and Amyloidogenesis in Alzheimer's Disease-- Role of Spirochetes 1. *Journal of Alzheimer's disease* 2008, 13(4): 381-91.
72. Anaeigoudari A, Soukhtanloo M, Reisi P, Beheshti F, Hosseini M. Inducible nitric oxide inhibitor aminoguanidine, ameliorates deleterious effects of lipopolysaccharide on memory and long term potentiation in rat. *Life sciences* 2016, 15822-30.
73. Sheng JG, Bora SH, Xu G, Borchelt DR, Price DL, Koliatsos VE. Lipopolysaccharide-induced-neuroinflammation increases intracellular accumulation of amyloid precursor protein and amyloid  $\beta$  peptide in APPswe transgenic mice. *Neurobiology of disease* 2003, 14(1): 133-45.
74. Whitton P. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease. *British journal of pharmacology* 2007, 150(8): 963-76.
75. Zhao W, Xie W, Le W, Beers DR, He Y, Henkel JS, Simpson EP, Yen AA, Xiao Q, Appel SH. Activated microglia initiate motor neuron injury by a nitric oxide and glutamate-mediated mechanism. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 2004, 63(9): 964-77.
76. Walter S, Doering A, Letiembre M, Liu Y, Hao W, Diem R, Bernreuther C, Glatzel M, Engelhardt B, Fassbender K. The LPS receptor, CD14 in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Cellular physiology and biochemistry* 2006, 17(3-4): 167-72.
77. Ohanian SH, Schwab JH. Persistence of group a streptococcal cell walls related to chronic inflammation of rabbit dermal connective tissue. *Journal of Experimental Medicine* 1967, 125(6): 1137-48.
78. Maitra U, Deng H, Glaros T, Baker B, Capelluto DG, Li Z, Li L. Molecular mechanisms responsible for the selective and low-grade induction of proinflammatory mediators in murine macrophages by lipopolysaccharide. *The Journal of Immunology* 2012, 189(2): 1014-23.

79. Hart BL. Biological basis of the behavior of sick animals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 1988, 12(2): 123-37.
80. Kent S, Bluthé R-M, Kelley KW, Dantzer R. Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends in pharmacological sciences* 1992, 1324-8.
81. Pugh CR, Kumagawa K, Fleshner M, Watkins LR, Maier SF, Rudy JW. Selective effects of peripheral lipopolysaccharide administration on contextual and auditory-cue fear conditioning. *Brain, behavior, and immunity* 1998, 12(3): 212-29.
82. Hansen MK, Nguyen KT, Fleshner M, Goehler LE, Gaykema RP, Maier SF, Watkins LR. Effects of vagotomy on serum endotoxin, cytokines, and corticosterone after intraperitoneal lipopolysaccharide. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2000, 278(2): R331-R6.
83. Blatteis CM. Role of the OVLT in the febrile response to circulating pyrogens. *Progress in brain research*. 91: Elsevier; 1992. p. 409-12.
84. Ericsson A, Kovacs KJ, Sawchenko PE. A functional anatomical analysis of central pathways subserving the effects of interleukin-1 on stress-related neuroendocrine neurons. *Journal of Neuroscience* 1994, 14(2): 897-913.
85. YASUDA N, GREER MA. Evidence that the hypothalamus mediates endotoxin stimulation of adrenocorticotrophic hormone secretion. *Endocrinology* 1978, 102(3): 947-53.
86. Zhang Y-H, Lu J, Elmquist JK, Saper CB. Lipopolysaccharide activates specific populations of hypothalamic and brainstem neurons that project to the spinal cord. *Journal of Neuroscience* 2000, 20(17): 6578-86.
87. Hailman E, Lichenstein HS, Wurfel MM, Miller DS, Johnson DA, Kelley M, Busse LA, Zukowski MM, Wright SD. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein accelerates the binding of LPS to CD14. *Journal of Experimental Medicine* 1994, 179(1): 269-77.
88. Lehnardt S, Massillon L, Follett P, Jensen FE, Ratan R, Rosenberg PA, Volpe JJ, Vartanian T. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2003, 100(14): 8514-9.
89. Rivest S. Regulation of innate immune responses in the brain. *Nature Reviews Immunology* 2009, 9(6): 429.

90. Sun J, Zhang S, Zhang X, Zhang X, Dong H, Qian Y. IL-17A is implicated in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and cognitive impairment in aged rats via microglial activation. *Journal of neuroinflammation* 2015, 12(1): 165.
91. Mizuno T, Sawada M, Marunouchi T, Suzumura A. Production of interleukin-10 by mouse glial cells in culture. *Biochemical and biophysical research communications* 1994, 205(3): 1907-15.
92. Welser-Alves JV, Milner R. Microglia are the major source of TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ 1 in postnatal glial cultures; regulation by cytokines, lipopolysaccharide, and vitronectin. *Neurochemistry international* 2013, 63(1): 47-53.
93. Daulatzai MA. Fundamental role of pan-inflammation and oxidative-nitrosative pathways in neuropathogenesis of Alzheimer's disease. *American journal of neurodegenerative disease* 2016, 5(1): 1.
94. Chen F, Castranova V, Shi X, Demers LM. New insights into the role of nuclear factor- $\kappa$ B, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases. *Clinical chemistry* 1999, 45(1): 7-17.
95. Munhoz CD, Lepsch LB, Kawamoto EM, Malta MB, de Sá Lima L, Avellar MCW, Sapolsky RM, Scavone C. Chronic unpredictable stress exacerbates lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor- $\kappa$ B in the frontal cortex and hippocampus via glucocorticoid secretion. *Journal of Neuroscience* 2006, 26(14): 3813-20.
96. Burns J, Yokota T, Ashihara H, Lean ME, Crozier A. Plant foods and herbal sources of resveratrol. *Journal of agricultural and food chemistry* 2002, 50(11): 3337-40.
97. Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? *Clinical biochemistry* 1997, 30(2): 91-113.
98. Cottart CH, Nivet- Antoine V, Beaudoux JL. Review of recent data on the metabolism, biological effects, and toxicity of resveratrol in humans. *Molecular nutrition & food research* 2014, 58(1): 7-21.
99. Dong W, Gao D, Lin H, Zhang X, Li N, Li F. New insights into mechanism for the effect of resveratrol preconditioning against cerebral ischemic stroke: Possible role of matrix metalloproteinase-9. *Medical hypotheses* 2008, 70(1): 52-5.
100. Vang O, Ahmad N, Baile CA, Baur JA, Brown K, Csiszar A, Das DK, Delmas D, Gottfried C, Lin H-Y. What is new for an old molecule? Systematic review and recommendations on the use of resveratrol. *PloS one* 2011, 6(6): e19881.

101. Yiu EM, Tai G, Peverill RE, Lee KJ, Croft KD, Mori TA, Scheiber-Mojdehkar B, Sturm B, Prashberger M, Vogel AP. An open-label trial in Friedreich ataxia suggests clinical benefit with high-dose resveratrol, without effect on frataxin levels. *Journal of neurology* 2015, 262(5): 1344-53.
102. Venigalla M, Sonogo S, Gyengesi E, Sharman MJ, Münch G. Novel promising therapeutics against chronic neuroinflammation and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochemistry international* 2016, 9563-74.
103. Zhang F, Wang S, Gan L, Vosler PS, Gao Y, Zigmond MJ, Chen J. Protective effects and mechanisms of sirtuins in the nervous system. *Progress in neurobiology* 2011, 95(3): 373-95.
104. Sparvoli F, Martin C, Scienza A, Gavazzi G, Tonelli C. Cloning and molecular analysis of structural genes involved in flavonoid and stilbene biosynthesis in grape (*Vitis vinifera* L.). *Plant molecular biology* 1994, 24(5): 743-55.
105. Soleas GJ, Goldberg DM, Ng E, Karumanchiri A, Tsang E, Diamandis EP. Comparative evaluation of four methods for assay of cis- and trans-resveratrol. *American journal of enology and viticulture* 1997, 48(2): 169-76.
106. Çaylak BA, Çetinkaya N, Yücel U. Bağcılık-Bitki Koruma Uygulamaları ve Farklı Bölge Kökenli Cabernet Sauvignon, Merlot Üzüm Çeşitlerinden Üretilen Şarapların Resveratrol Düzeyleri Üzerinde Araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2008, 45(3): 175-84.
107. Cristòfol R, Porquet D, Corpas R, Coto- Montes A, Serret J, Camins A, Pallàs M, Sanfeliu C. Neurons from senescence- accelerated SAMP8 mice are protected against frailty by the sirtuin 1 promoting agents melatonin and resveratrol. *Journal of pineal research* 2012, 52(3): 271-81.
108. Sun AY, Draczynska-Lusiak B, Sun GY. Oxidized lipoproteins, beta amyloid peptides and Alzheimer's disease. *Neurotoxicity research* 2001, 3(2): 167-78.
109. Liu G-S, Zhang Z-S, Yang B, He W. Resveratrol attenuates oxidative damage and ameliorates cognitive impairment in the brain of senescence-accelerated mice. *Life sciences* 2012, 91(17-18): 872-7.
110. Huang T-C, Lu K-T, Wo Y-YP, Wu Y-J, Yang Y-L. Resveratrol protects rats from A $\beta$ -induced neurotoxicity by the reduction of iNOS expression and lipid peroxidation. *PloS one* 2011, 6(12): e29102.

111. Mudo G, Makela J, Di Liberto V, Tselykh TV, Olivieri M, Piepponen P, Eriksson O, Malkia A, Bonomo A, Kairisalo M, Aguirre JA, Korhonen L, Belluardo N, Lindholm D. Transgenic expression and activation of PGC-1alpha protect dopaminergic neurons in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Cell Mol Life Sci* 2012, 69(7): 1153-65.
112. Ren J, Fan C, Chen N, Huang J, Yang Q. Resveratrol pretreatment attenuates cerebral ischemic injury by upregulating expression of transcription factor Nrf2 and HO-1 in rats. *Neurochem Res* 2011, 36(12): 2352-62.
113. Wu P-F, Xie N, Zhang J-J, Guan X-L, Zhou J, Long L-H, Li Y-L, Xiong Q-J, Zeng J-H, Wang F. Resveratrol preconditioning increases methionine sulfoxide reductases A expression and enhances resistance of human neuroblastoma cells to neurotoxins. *The Journal of nutritional biochemistry* 2013, 24(6): 1070-7.
114. Pallàs M, Porquet D, Vicente A, Sanfeliu C. Resveratrol: new avenues for a natural compound in neuroprotection. *Current pharmaceutical design* 2013, 19(38): 6726-31.
115. Salminen A, Kaarniranta K. SIRT1: regulation of longevity via autophagy. *Cellular signalling* 2009, 21(9): 1356-60.
116. Rezzani R, Stacchiotti A, Rodella LF. Morphological and biochemical studies on aging and autophagy. *Ageing research reviews* 2012, 11(1): 10-31.
117. Timmers S, Auwerx J, Schrauwen P. The journey of resveratrol from yeast to human. *Aging (Albany NY)* 2012, 4(3): 146.
118. Lee IH, Cao L, Mostoslavsky R, Lombard DB, Liu J, Bruns NE, Tsokos M, Alt FW, Finkel T. A role for the NAD-dependent deacetylase Sirt1 in the regulation of autophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008, 105(9): 3374-9.
119. Ghosh HS, McBurney M, Robbins PD. SIRT1 negatively regulates the mammalian target of rapamycin. *PloS one* 2010, 5(2): e9199.
120. Lan F, Cacicedo JM, Ruderman N, Ido Y. SIRT1 modulation of the acetylation status, cytosolic localization, and activity of LKB1 possible role in AMP-activated protein kinase activation. *Journal of Biological Chemistry* 2008, 283(41): 27628-35.
121. Armour SM, Baur JA, Hsieh SN, Land-Bracha A, Thomas SM, Sinclair DA. Inhibition of mammalian S6 kinase by resveratrol suppresses autophagy. *Aging (Albany NY)* 2009, 1(6): 515-28.



122. Elmali N, Baysal O, Harma A, Esenkaya I, Mizrak B. Effects of resveratrol in inflammatory arthritis. *Inflammation* 2007, 30(1-2): 1-6.
123. Centeno-Baez C, Dallaire P, Marette A. Resveratrol inhibition of inducible nitric oxide synthase in skeletal muscle involves AMPK but not SIRT1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011, 301(5): E922-30.
124. Chung EY, Kim BH, Hong JT, Lee CK, Ahn B, Nam SY, Han SB, Kim Y. Resveratrol down-regulates interferon-gamma-inducible inflammatory genes in macrophages: molecular mechanism via decreased STAT-1 activation. *J Nutr Biochem* 2011, 22(10): 902-9.
125. Annabi B, Lord-Dufour S, Vezina A, Beliveau R. Resveratrol Targeting of Carcinogen-Induced Brain Endothelial Cell Inflammation Biomarkers MMP-9 and COX-2 is Sirt1-Independent. *Drug Target Insights* 2012, 61-11.
126. Gentili M, Mazoit JX, Bouaziz H, Fletcher D, Casper RF, Benhamou D, Savouret JF. Resveratrol decreases hyperalgesia induced by carrageenan in the rat hind paw. *Life Sci* 2001, 68(11): 1317-21.
127. Sharma M, Gupta YK. Chronic treatment with trans resveratrol prevents intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. *Life Sci* 2002, 71(21): 2489-98.
128. Kumar A, Naidu PS, Seghal N, Padi SS. Neuroprotective effects of resveratrol against intracerebroventricular colchicine-induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. *Pharmacology* 2007, 79(1): 17-26.
129. Lopez MS, Dempsey RJ, Vemuganti R. Resveratrol neuroprotection in stroke and traumatic CNS injury. *Neurochem Int* 2015, 8975-82.
130. Lu X, Ma L, Ruan L, Kong Y, Mou H, Zhang Z, Wang Z, Wang JM, Le Y. Resveratrol differentially modulates inflammatory responses of microglia and astrocytes. *J Neuroinflammation* 2010, 746.
131. Son YH, Jeong YT, Lee KA, Choi KH, Kim SM, Rhim BY, Kim K. Roles of MAPK and NF-kappaB in interleukin-6 induction by lipopolysaccharide in vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008, 51(1): 71-7.
132. Pallas M, Porquet D, Vicente A, Sanfeliu C. Resveratrol: new avenues for a natural compound in neuroprotection. *Curr Pharm Des* 2013, 19(38): 6726-31.
133. Bitterman KJ, Anderson RM, Cohen HY, Latorre-Esteves M, Sinclair DA. Inhibition of silencing and accelerated aging by nicotinamide, a putative negative regulator of yeast sir2 and human SIRT1. *J Biol Chem* 2002, 277(47): 45099-107.

134. Klar AJ, Fogel S, Macleod K. MAR1-a Regulator of the HMa and HMalpha Loci in SACCHAROMYCES CEREVISIAE. *Genetics* 1979, 93(1): 37-50.
135. Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochem J* 2007, 404(1): 1-13.
136. North BJ, Marshall BL, Borra MT, Denu JM, Verdin E. The human Sir2 ortholog, SIRT2, is an NAD<sup>+</sup>-dependent tubulin deacetylase. *Mol Cell* 2003, 11(2): 437-44.
137. Haigis MC, Mostoslavsky R, Haigis KM, Fahie K, Christodoulou DC, Murphy AJ, Valenzuela DM, Yancopoulos GD, Karow M, Blander G, Wolberger C, Prolla TA, Weindruch R, Alt FW, Guarente L. SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic beta cells. *Cell* 2006, 126(5): 941-54.
138. Shi T, Wang F, Stieren E, Tong Q. SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes. *J Biol Chem* 2005, 280(14): 13560-7.
139. Kelly G. A review of the sirtuin system, its clinical implications, and the potential role of dietary activators like resveratrol: part 1. *Altern Med Rev* 2010, 15(3): 245-63.
140. Voelter-Mahlknecht S, Mahlknecht U. Cloning, chromosomal characterization and mapping of the NAD-dependent histone deacetylases gene sirtuin 1. *Int J Mol Med* 2006, 17(1): 59-67.
141. Kaeberlein M, McVey M, Guarente L. The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes Dev* 1999, 13(19): 2570-80.
142. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisielewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 2003, 425(6954): 191-6.
143. Ng F, Wijaya L, Tang BL. SIRT1 in the brain-connections with aging-associated disorders and lifespan. *Front Cell Neurosci* 2015, 964.
144. Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado De Oliveira R, Leid M, McBurney MW, Guarente L. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature* 2004, 429(6993): 771-6.

145. Ramadori G, Lee CE, Bookout AL, Lee S, Williams KW, Anderson J, Elmquist JK, Coppari R. Brain SIRT1: anatomical distribution and regulation by energy availability. *J Neurosci* 2008, 28(40): 9989-96.
146. Chen J, Zhou Y, Mueller-Steiner S, Chen LF, Kwon H, Yi S, Mucke L, Gan L. SIRT1 protects against microglia-dependent amyloid-beta toxicity through inhibiting NF-kappaB signaling. *J Biol Chem* 2005, 280(48): 40364-74.
147. Borra MT, Smith BC, Denu JM. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol. *Journal of Biological Chemistry* 2005, 280(17): 17187-95.
148. Hubbard BP, Sinclair DA. Small molecule SIRT1 activators for the treatment of aging and age-related diseases. *Trends in pharmacological sciences* 2014, 35(3): 146-54.
149. Lakshminarasimhan M, Rauh D, Schutkowski M, Steegborn C. Sirt1 activation by resveratrol is substrate sequence-selective. *Aging (Albany NY)* 2013, 5(3): 151.
150. Du L-L, Xie J-Z, Cheng X-S, Li X-H, Kong F-L, Jiang X, Ma Z-W, Wang J-Z, Chen C, Zhou X-W. Activation of sirtuin 1 attenuates cerebral ventricular streptozotocin-induced tau hyperphosphorylation and cognitive injuries in rat hippocampi. *Age* 2014, 36(2): 613-23.
151. Zhang L, Tu R, Wang Y, Hu Y, Li X, Cheng X, Yin Y, Li W, Huang H. Early-life exposure to lead induces cognitive impairment in elder mice targeting SIRT1 phosphorylation and oxidative alterations. *Frontiers in physiology* 2017, 8446.
152. Zhao Y-N, Li W-F, Li F, Zhang Z, Dai Y-D, Xu A-L, Qi C, Gao J-M, Gao J. Resveratrol improves learning and memory in normally aged mice through microRNA-CREB pathway. *Biochemical and biophysical research communications* 2013, 435(4): 597-602.
153. Li X-m, Zhou M-t, Wang X-m, Ji M-h, Zhou Z-q, Yang J-j. Resveratrol pretreatment attenuates the isoflurane-induced cognitive impairment through its anti-inflammation and-apoptosis actions in aged mice. *Journal of Molecular Neuroscience* 2014, 52(2): 286-93.
154. St-Pierre J, Drori S, Uldry M, Silvaggi JM, Rhee J, Jäger S, Handschin C, Zheng K, Lin J, Yang W. Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. *Cell* 2006, 127(2): 397-408.
155. Braidy N, Jayasena T, Poljak A, Sachdev PS. Sirtuins in cognitive ageing and Alzheimer's disease. *Current opinion in psychiatry* 2012, 25(3): 226-30.

156. Valle I, Álvarez-Barrientos A, Arza E, Lamas S, Monsalve M. PGC-1 $\alpha$  regulates the mitochondrial antioxidant defense system in vascular endothelial cells. *Cardiovascular research* 2005, 66(3): 562-73.
157. Meng Z, Li J, Zhao H, Liu H, Zhang G, Wang L, Hu H, Li D, Liu M, Bi F. Resveratrol relieves ischemia- induced oxidative stress in the hippocampus by activating SIRT1. *Experimental and therapeutic medicine* 2015, 10(2): 525-30.
158. Li J, Feng L, Xing Y, Wang Y, Du L, Xu C, Cao J, Wang Q, Fan S, Liu Q, Fan F. Radioprotective and antioxidant effect of resveratrol in hippocampus by activating Sirt1. *Int J Mol Sci* 2014, 15(4): 5928-39.
159. Li L, Sun Q, Li Y, Yang Y, Yang Y, Chang T, Man M, Zheng L. Overexpression of SIRT1 Induced by Resveratrol and Inhibitor of miR-204 Suppresses Activation and Proliferation of Microglia. *J Mol Neurosci* 2015, 56(4): 858-67.
160. Choi GY, Kim HB, Hwang ES, Lee S, Kim MJ, Choi JY, Lee SO, Kim SS, Park JH. Curcumin Alters Neural Plasticity and Viability of Intact Hippocampal Circuits and Attenuates Behavioral Despair and COX-2 Expression in Chronically Stressed Rats. *Mediators Inflamm* 2017, 20176280925.
161. Biscaro B, Lindvall O, Tesco G, Ekdahl CT, Nitsch RM. Inhibition of microglial activation protects hippocampal neurogenesis and improves cognitive deficits in a transgenic mouse model for Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis* 2012, 9(4): 187-98.
162. Skaper SD, Facci L, Giusti P. Neuroinflammation, microglia and mast cells in the pathophysiology of neurocognitive disorders: a review. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2014, 13(10): 1654-66.
163. Paolicelli RC, Bolasco G, Pagani F, Maggi L, Scianni M, Panzanelli P, Giustetto M, Ferreira TA, Guiducci E, Dumas L, Ragozzino D, Gross CT. Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. *Science* 2011, 333(6048): 1456-8.
164. Zhang J, Malik A, Choi HB, Ko RW, Dissing-Olesen L, MacVicar BA. Microglial CR3 activation triggers long-term synaptic depression in the hippocampus via NADPH oxidase. *Neuron* 2014, 82(1): 195-207.
165. Ota H, Eto M, Ogawa S, Iijima K, Akishita M, Ouchi Y. SIRT1/eNOS axis as a potential target against vascular senescence, dysfunction and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2010, 17(5): 431-5.

166. Goodwin BL, Solomonson LP, Eichler DC. Argininosuccinate synthase expression is required to maintain nitric oxide production and cell viability in aortic endothelial cells. *J Biol Chem* 2004, 279(18): 18353-60.
167. Leal G, Afonso PM, Salazar IL, Duarte CB. Regulation of hippocampal synaptic plasticity by BDNF. *Brain Res* 2015, 162182-101.
168. Dias GP, Cocks G, do Nascimento Bevilaqua MC, Nardi AE, Thuret S. Resveratrol: A Potential Hippocampal Plasticity Enhancer. *Oxid Med Cell Longev* 2016, 20169651236.
169. Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB, Shaywitz AJ, Greenberg ME. Ca<sup>2+</sup> influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron* 1998, 20(4): 709-26.
170. Feng Y, Cui Y, Gao JL, Li R, Jiang XH, Tian YX, Wang KJ, Li MH, Zhang HA, Cui JZ. Neuroprotective effects of resveratrol against traumatic brain injury in rats: Involvement of synaptic proteins and neuronal autophagy. *Mol Med Rep* 2016, 13(6): 5248-54.
171. Lin CJ, Chen TH, Yang LY, Shih CM. Resveratrol protects astrocytes against traumatic brain injury through inhibiting apoptotic and autophagic cell death. *Cell Death Dis* 2014, 5e1147.
172. He Q, Li Z, Wang Y, Hou Y, Li L, Zhao J. Resveratrol alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats by inhibiting NLRP3 inflammasome activation through Sirt1-dependent autophagy induction. *Int Immunopharmacol* 2017, 50208-15.
173. Wu Y, Li X, Zhu JX, Xie W, Le W, Fan Z, Jankovic J, Pan T. Resveratrol-activated AMPK/SIRT1/autophagy in cellular models of Parkinson's disease. *Neurosignals* 2011, 19(3): 163-74.
174. Cen Y. Sirtuins inhibitors: the approach to affinity and selectivity. *Biochim Biophys Acta* 2010, 1804(8): 1635-44.
175. Chen L. Medicinal chemistry of sirtuin inhibitors. *Curr Med Chem* 2011, 18(13): 1936-46.
176. Napper AD, Hixon J, McDonagh T, Keavey K, Pons JF, Barker J, Yau WT, Amouzegh P, Flegg A, Hamelin E, Thomas RJ, Kates M, Jones S, Navia MA, Saunders JO, DiStefano PS, Curtis R. Discovery of indoles as potent and selective inhibitors of the deacetylase SIRT1. *J Med Chem* 2005, 48(25): 8045-54.

177. Solomon JM, Pasupuleti R, Xu L, McDonagh T, Curtis R, DiStefano PS, Huber LJ. Inhibition of SIRT1 catalytic activity increases p53 acetylation but does not alter cell survival following DNA damage. *Mol Cell Biol* 2006, 26(1): 28-38.
178. Huang J, Tian R, Yang Y, Jiang R, Dai J, Tang L, Zhang L. The SIRT1 inhibitor EX-527 suppresses mTOR activation and alleviates acute lung injury in mice with endotoxiemia. *Innate Immun* 2017, 23(8): 678-86.
179. Itoh Y, Suzuki T, Miyata N. Isoform-selective histone deacetylase inhibitors. *Curr Pharm Des* 2008, 14(6): 529-44.
180. Ahmad MP, Hussain A, Siddiqui HH, Wahab S, Adak M. Effect of methanolic extract of *Asparagus racemosus* Willd. on lipopolysaccharide induced-oxidative stress in rats. *Pak J Pharm Sci* 2015, 28(2): 509-13.
181. Kumar A, Kaundal RK, Iyer S, Sharma SS. Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy. *Life Sci* 2007, 80(13): 1236-44.
182. Sah SP, Tirkey N, Kuhad A, Chopra K. Effect of quercetin on lipopolysaccharide induced-sickness behavior and oxidative stress in rats. *Indian J Pharmacol* 2011, 43(2): 192-6.
183. Abareshi A, Anaeigoudari A, Norouzi F, Shafei MN, Boskabady MH, Khazaei M, Hosseini M. Lipopolysaccharide-Induced Spatial Memory and Synaptic Plasticity Impairment Is Preventable by Captopril. *Adv Med* 2016, 20167676512.
184. Kemelo MK, Wojnarova L, Kutinova Canova N, Farghali H. D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity downregulates sirtuin 1 in rat liver: role of sirtuin 1 modulation in hepatoprotection. *Physiol Res* 2014, 63(5): 615-23.
185. Yang X, Wei J, He Y, Jing T, Li Y, Xiao Y, Wang B, Wang W, Zhang J, Lin R. SIRT1 inhibition promotes atherosclerosis through impaired autophagy. *Oncotarget* 2017, 8(31): 51447-61.
186. Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc* 2006, 1(2): 848-58.
187. Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 1982, 297(5868): 681-3.
188. Mohamed SK, Ahmed AAE, El Morsy EM, Nofal S. The protective effect of zeranol in cerebral ischemia reperfusion via p-CREB overexpression. *Life Sci* 2019, 217212-21.

189. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978, 86(1): 271-8.
190. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959, 82(1): 70-7.
191. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988, 34(3): 497-500.
192. Hiller A, Greif RL, Beckman WW. Determination of protein in urine by the biuret method. *J Biol Chem* 1948, 176(3): 1421-9.
193. Priyanka S, Das SS, Thushara A, Rauf AA, Indira M. All Trans Retinoic Acid Attenuates Markers of Neuroinflammation in Rat Brain by Modulation of SIRT1 and NFκB. *Neurochemical research* 2018, 43(9): 1791-801.
194. Tao Y, Huang C, Huang Y, Hong L, Wang H, Zhou Z, Qiu Y. SIRT4 suppresses inflammatory responses in human umbilical vein endothelial cells. *Cardiovascular toxicology* 2015, 15(3): 217-23.
195. Du J, Zhou Y, Su X, Yu JJ, Khan S, Jiang H, Kim J, Woo J, Kim JH, Choi BH. Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demalonylase and desuccinylase. *Science* 2011, 334(6057): 806-9.
196. Liu TF, Brown CM, El Gazzar M, McPhail L, Millet P, Rao A, Vachharajani VT, Yoza BK, McCall CE. Fueling the flame: bioenergy couples metabolism and inflammation. *Journal of leukocyte biology* 2012, 92(3): 499-507.
197. Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochemical Journal* 2007, 404(1): 1-13.
198. Valero J, Mastrella G, Neiva I, Sanchez S, Malva JO. Long-term effects of an acute and systemic administration of LPS on adult neurogenesis and spatial memory. *Front Neurosci* 2014, 883.
199. Song X, Zhou B, Zhang P, Lei D, Wang Y, Yao G, Hayashi T, Xia M, Tashiro S, Onodera S, Ikejima T. Protective Effect of Silibinin on Learning and Memory Impairment in LPS-Treated Rats via ROS-BDNF-TrkB Pathway. *Neurochem Res* 2016, 41(7): 1662-72.
200. Sebai H, Gadacha W, Sani M, Aouani E, Ghanem-Boughanmi N, Ben-Attia M. Protective effect of resveratrol against lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat brain. *Brain Inj* 2009, 23(13-14): 1089-94.

- 201.** Bellaver B, Souza DG, Bobermin LD, Souza DO, Goncalves CA, Quincozes-Santos A. Resveratrol Protects Hippocampal Astrocytes Against LPS-Induced Neurotoxicity Through HO-1, p38 and ERK Pathways. *Neurochem Res* 2015, 40(8): 1600-8.
- 202.** Kheir-Eldin AA, Motawi TK, Gad MZ, Abd-ElGawad HM. Protective effect of vitamin E, beta-carotene and N-acetylcysteine from the brain oxidative stress induced in rats by lipopolysaccharide. *Int J Biochem Cell Biol* 2001, 33(5): 475-82.
- 203.** Shiki Y, Meyrick BO, Brigham KL, Burr IM. Endotoxin increases superoxide dismutase in cultured bovine pulmonary endothelial cells. *Am J Physiol* 1987, 252(4 Pt 1): C436-40.
- 204.** Rakkola R, Matikainen S, Nyman TA. Proteome analysis of human macrophages reveals the upregulation of manganese-containing superoxide dismutase after toll-like receptor activation. *Proteomics* 2007, 7(3): 378-84.
- 205.** de la Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem Soc Trans* 2007, 35(Pt 5): 1156-60.
- 206.** Martins LA, Coelho BP, Behr G, Pettenuzzo LF, Souza IC, Moreira JC, Borojevic R, Gottfried C, Guma FC. Resveratrol induces pro-oxidant effects and time-dependent resistance to cytotoxicity in activated hepatic stellate cells. *Cell Biochem Biophys* 2014, 68(2): 247-57.
- 207.** Szende B, Tyihak E, Kiraly-Veghely Z. Dose-dependent effect of resveratrol on proliferation and apoptosis in endothelial and tumor cell cultures. *Exp Mol Med* 2000, 32(2): 88-92.
- 208.** Gadacha W, Ben-Attia M, Bonnefont-Rousselot D, Aouani E, Ghanem-Boughanmi N, Touitou Y. Resveratrol opposite effects on rat tissue lipoperoxidation: pro-oxidant during day-time and antioxidant at night. *Redox Rep* 2009, 14(4): 154-8.
- 209.** Bai X, Yao L, Ma X, Xu X. Small Molecules as SIRT Modulators. *Mini Rev Med Chem* 2018, 18(13): 1151-7.
- 210.** Tao K, Bai X, Jia W, Liu Y, Zhu X, Han J, Dong M, Li J, Chen D, Hu D. Effects of resveratrol on the treatment of inflammatory response induced by severe burn. *Inflammation* 2015, 38(3): 1273-80.



211. Li T, Zhang J, Feng J, Li Q, Wu L, Ye Q, Sun J, Lin Y, Zhang M, Huang R, Cheng J, Cao Y, Xiang G, Zhang J, Wu Q. Resveratrol reduces acute lung injury in a LPS-induced sepsis mouse model via activation of Sirt1. *Mol Med Rep* 2013, 7(6): 1889-95.
212. Guo H, Chen Y, Liao L, Wu W. Resveratrol protects HUVECs from oxidized-LDL induced oxidative damage by autophagy upregulation via the AMPK/SIRT1 pathway. *Cardiovasc Drugs Ther* 2013, 27(3): 189-98.
213. Zhao H, Chen S, Gao K, Zhou Z, Wang C, Shen Z, Guo Y, Li Z, Wan Z, Liu C, Mei X. Resveratrol protects against spinal cord injury by activating autophagy and inhibiting apoptosis mediated by the SIRT1/AMPK signaling pathway. *Neuroscience* 2017, 348241-51.
214. Fu C, Hao S, Xu X, Zhou J, Liu Z, Lu H, Wang L, Jin W, Li S. Activation of SIRT1 ameliorates LPS-induced lung injury in mice via decreasing endothelial tight junction permeability. *Acta Pharmacol Sin* 2019, 40(5): 630-41.
215. Peng Z, Zhang W, Qiao J, He B. Melatonin attenuates airway inflammation via SIRT1 dependent inhibition of NLRP3 inflammasome and IL-1beta in rats with COPD. *Int Immunopharmacol* 2018, 6223-8.
216. Ning Q, Liu Z, Wang X, Zhang R, Zhang J, Yang M, Sun H, Han F, Zhao W, Zhang X. Neurodegenerative changes and neuroapoptosis induced by systemic lipopolysaccharide administration are reversed by dexmedetomidine treatment in mice. *Neurol Res* 2017, 39(4): 357-66.
217. Nalagani CSR, Karnati PR. Protective effect of resveratrol against neuronal damage through oxidative stress in cerebral hemisphere of aluminum and fluoride treated rats. *Interdiscip Toxicol* 2016, 9(2): 78-82.
218. Penney J, Tsai LH. Histone deacetylases in memory and cognition. *Sci Signal* 2014, 7(355): re12.
219. Dietz KC, Casaccia P. HDAC inhibitors and neurodegeneration: at the edge between protection and damage. *Pharmacol Res* 2010, 62(1): 11-7.
220. Faraco G, Pittelli M, Cavone L, Fossati S, Porcu M, Mascagni P, Fossati G, Moroni F, Chiarugi A. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors reduce the glial inflammatory response in vitro and in vivo. *Neurobiol Dis* 2009, 36(2): 269-79.
221. Suuronen T, Huuskonen J, Pihlaja R, Kyrylenko S, Salminen A. Regulation of microglial inflammatory response by histone deacetylase inhibitors. *J Neurochem* 2003, 87(2): 407-16.

222. Tang BL. Resveratrol is neuroprotective because it is not a direct activator of Sirt1-A hypothesis. *Brain Res Bull* 2010, 81(4-5): 359-61.
223. Mader I, Wabitsch M, Debatin KM, Fischer-Posovszky P, Fulda S. Identification of a novel proapoptotic function of resveratrol in fat cells: SIRT1-independent sensitization to TRAIL-induced apoptosis. *Faseb j* 2010, 24(6): 1997-2009.
224. Pacholec M, Bleasdale JE, Chrunyk B, Cunningham D, Flynn D, Garofalo RS, Griffith D, Griffor M, Loulakis P, Pabst B, Qiu X, Stockman B, Thanabal V, Varghese A, Ward J, Withka J, Ahn K. SRT1720, SRT2183, SRT1460, and resveratrol are not direct activators of SIRT1. *J Biol Chem* 2010, 285(11): 8340-51.
225. Beher D, Wu J, Cumine S, Kim KW, Lu SC, Atangan L, Wang M. Resveratrol is not a direct activator of SIRT1 enzyme activity. *Chem Biol Drug Des* 2009, 74(6): 619-24.
226. Pardon MC. Lipopolysaccharide hyporesponsiveness: protective or damaging response to the brain? *Rom J Morphol Embryol* 2015, 56(3): 903-13.
227. Farzaei MH, Rahimi R, Nikfar S, Abdollahi M. Effect of resveratrol on cognitive and memory performance and mood: A meta-analysis of 225 patients. *Pharmacol Res* 2018, 128338-44.

## **EKLER**

### **EK.1. ÖZGEÇMİŞ**

#### **Kişisel Bilgiler**

Ad Soyad: Selahattin TUNÇ

Doğum Tarihi: 11.06.1989

Doğum Yeri: Malatya

Email: selahattintunc23@gmail.com

#### **Eğitim Bilgileri**

- Lisans: Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2009-2014)
- Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik bölümü (2016-halen devam ediyor)

#### **Burs ve Kurslar**

- Tübitak 1001 projesi: 114Z983, Delesyonu Mayada Yaşam Süresini Uzatan Mitokondriyel Metabolizma Genlerinden Ppa2, Afg3 ve Dss1'e Ait Maya Mutantlarının Karakterizasyonu, 1001 - Araştırma, Burslu, Sonuçlandı, KBAG - Kimya Biyoloji Araştırma Destek Grubu, ARDEB, 05.09.2014, 21.11.2016 - 01.05.2017, 01.05.2015 - 01.05.2017.
- Tübitak 1001 projesi: 116S744, İntraserebroventriküler MOTS-c İnfüzyonunun Beslenme Davranışı Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması, 1001 - Araştırma, Burslu, Yürürlükte, SBAG - Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu, ARDEB, 15.04.2017 - 15.10.2019.
- İnönü Üniversitesi, Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (B), Sertifika No: 776 (2017)
- Tübitak 2229-2237 Bilimsel Etkinlikleri Destekleme Programı (2017-2019) 11 etkinlikte yardımcı personel
- Sisplatin'e Bağlı Akut Kardiyotoksistide Timokinon'un Etkisinin Araştırılması, 24. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Poster Sunumu (2017)
- The Effect of Resveratrol on Brain Molecular Genetics, Biochemical and Histopathological Parameters In Lps-Induced Rat Neuroinflammation Model, International Multidisciplinary Symposium on Drug Research & Development (Drd 2019), Poster Sunumu (2019)

#### **Yabancı Dil**

İngilizce, iyi seviyede

#### **Referanslar**

İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ

İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD, Doç. Dr. Suat TEKİN

## EK.2. ETİK KURUL ONAYI




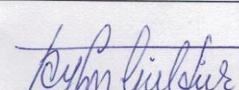
### İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

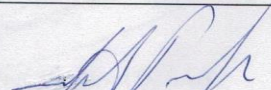
Toplantı Tarihi : 11.07.2019  
Toplantı Yeri : Tip. Fak. Toplantı Salonu-Malatya  
Araştırma Protokol no.su : 2018/A-03  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : *Rat*  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyu : *Wistar*  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 55 Adet  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 10-12 haftalık/ 220 ±20g

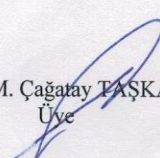
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ'in yürütücüsü olduğu; "**Beyin Nöroinflamasyon Modelinde Resveratrolün Oksidatif ve Histopatolojik Değişiklikler ile SIRT1 Geni İfadesi Üzerine Etkileri**" isimli 2018/A-03 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

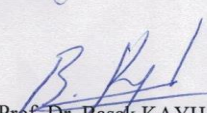
Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmesi şartıyla çalışmanın yapılmasının uygun olduğuna; **oy birliği ile karar verildi.**

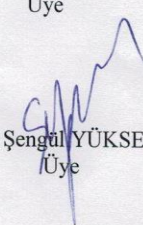
  
Prof. Dr. Davut ÖZBAĞ  
Başkan

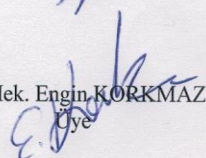
  
Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR  
Başkan Yardımcısı

  
Prof. Dr. Metin ATAMBAY  
Üye

  
Prof. Dr. M. Çağatay TAŞKAPAN  
Üye

  
Prof. Dr. Başak KAYHAN  
Üye

  
Doç. Dr. Şengül YÜKSEL  
Üye

  
Vet.Hek. Engin KORKMAZ  
Üye

Akın ÖZ  
Sivil Üye  
KATILMADI

Av. M. Umut YALÇIN  
Sivil Üye  
KATILMADI





