

## C6 Hücrelerinde Hidrojen Peroksit Aracılığıyla İndüklenen Oksidatif Stresin Neden Olduğu İnflamasyon ve Apoptoza Karşı Polidatinin Koruyucu Rolü

Ahmet Ozan Kaleci<sup>1</sup>

Serkan Kapancık<sup>2</sup>

### Özet

Gliomalar, merkezi sinir sisteminde bulunan glial hücrelerdeki DNA mutasyonları sonucu gen ifadelerindeki değişimler ile ortaya çıkan tümörlerdir. Glioma tümörlerdeki ve glial hücrelerdeki biyokimyasal mekanizmaların deneysel araştırmaları için sıçanlardan elde edilen C6 hücre hatları yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Polidatin, *Polygonum cuspidatum* adını alan bir bitkinin kök dokusundan ekstraksiyon aracılığıyla elde edilen aktif moleküldür. Polidatin farmakolojik olarak anti-inflamasyon ve anti-oksidatif özelliklere sahiptir. Metabolizmamızda serbest radikallerin oluşması ile bu radikallerin ortadan kaldırılması bir denge içerisinde. Böylelikle herhangi bir patolojik durumla karşılaşmamaktadır. Fakat, farklı nedenlerle serbest radikal hızının yüksek bir oranda artması ya da antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kalması sonucu dengenin bozulduğu bir durum ortaya çıkmakta ve kanserden nöronlardaki sinyal iletim bozukluklarına kadar birçok patolojik duruma neden olmaktadır. Çalışmamızda, C6 hücre hatlarında hidrojen peroksit aracılığıyla oksidan-antioksidan dengesinin oksidan yönüne kayması ile indüklenen oksidatif strese karşı polidatinin inflamasyonu ve apoptozu regüle etmek aracılığıyla koruyucu etkisini ortaya çıkarmayı amaçladık. Sonuç olarak, polidatin uygulamasının C6 hücrelerinde inflamasyon ve apoptoz ile ilişkili genlerin ekspresyonlarını yeniden düzenleyerek oksidatif stresin neden olduğu hücre hasara karşı koruyucu etki ortaya çıkardığını saptadık.

- 1 (Arş. Gör.Dr.) Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Sivas, TÜRKİYE (ahmetozankaleci@cumhuriyet.edu.tr) (ORCID ID: 0000-0003-4514-6209)
- 2 (Arş. Gör.Dr.) Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas, TÜRKİYE (serkankapancik@gmail.com) (ORCID ID: 0000-0003-3019-4275)

## 1.Giriş

Gliomalar, merkezi sinir sisteminde bulunan glial hücrelerdeki DNA mutasyonlarının neden olduğu gen ifadelerindeki değişimler sonucu hücrelerin çoğalmalarındaki kontrolsüzlük ile ortaya çıkan tümörlerdir. Bu tümörler en yüksek oranda tanı alan ve hastalarda en fazla ölüme neden olan beyin tümörlerindedir. Diğer kanser türlerinde olduğu gibi gliomlarda da çevre dokulara kanserli hücrelerin yayılması hastalarda kötü prognoza neden olarak sağ kalım üzerine olumsuz etki yapmaktadır. Glioma tümörlerdeki ve glial hücrelerdeki biyokimyasal mekanizmaların deneysel araştırmaları için sıçanlardan elde edilen C6 hücre hatları yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (1-4).

Polidatin ( $C_{20}H_{22}O_8$ , 3,4,5-trihidroksistilben-3-b-dglucopyranoside), Polygonum cuspidatum adını alan bir bitkinin kök dokusundan ekstraksiyon aracılığıyla elde edilen aktif moleküldür (5). Polygonum cuspidatum'un kök dokusundan elde edilen bu molekül monokristalin polifenolik ilaç olarak, özellikle bilimsel araştırmalarda birçok hastalıkta tedavi edici özelliklerinin ortaya konması aracılığıyla kullanılmaktadır. Polidatinin anti-inflamasyon ve anti-oksidatif özellikleri nedeniyle hastalıkların patofizyolojisinin önlenmesi ya da tedavisinin etkin şekilde yapılabilmesi açısından literatür çalışmaları ile hastalıklar üzerine önemli farmakolojik fonksiyonları gösterilmiştir. Bunun yanında polidatinin otofajiyi artırmak aracılığıyla miyokardiyal disfonksiyonu azalttığı ve mitokondriyal olarak biyoenerji gelişimine neden olduğu bildirilmiştir (6). Polidatin ayrıca, pıhtılaşma mekanizmasının bir parçası olan trombosit agregasyonunun engellenmesinde, kardiyovasküler hastalıklar konusunda sorumlu tutulan kan lipidlerinin düzeylerinin azaltılmasında, ve anti-inflamatuvar ve anti-oksidatif stres özellikleri aracılığıyla miyokardiyal iskemi durumunda kalp hücrelerini, travma durumlarında nöron hücrelerini apoptozdan korumak aracılığıyla hastalar üzerinde hayati bir rolü bulunmaktadır (7,8).

Organizmada serbest radikal havuzunun antioksidanlar ile dengelenebilecek seviyede olmaması sonucu oksidan-antioksidan arasındaki kritik olan denge oksidanlar tarafına doğru bozulmakta, bu durumun sonucunda oksidatif stres dediğimiz tablo ortaya çıkmaktadır. Sağlıklı bir metabolizmada serbest radikallerin oluşması ile bu radikallerin ortadan kaldırılması bir denge içerisinde. Böylelikle herhangi bir patolojik durumla karşılaşmamaktadır. Fakat serbest radikal hızının bir şekilde hızlı bir oranda artması ya da antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kalması sonucu dengesizlik ortaya çıkmakta ve kanserden nöronlardaki sinyal iletim bozukluklarına kadar birçok patolojik durum oluşmaktadır.

Özellikle nöronlarda oksidatif stresin artması bu hücrelerin hızlı bir şekilde ölmesine ve sonuç olarak organizmanın hayati riskine neden olmaktadır (9). Organizmada yaşamsal süreçler sonucunda hidrojen peroksit, süperoksit dismutasyonu aracılığıyla üretilmektedir. Bu üretim kendiliğinden meydana gelebileceği gibi süperoksit dismutaz (SOD) enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile de olabilmektedir. Normalde hidrojen peroksit molekülü serbest radikal değildir, fakat reaktif oksijen türleri içerisinde yer almaktadır. Bunun nedeni, hidrojen peroksitin süperoksit ile tepkimesi sonucu organizma için çok zararlı olan hidroksili oluşturmasıdır. Böylelikle, oksidatif strese artış ortaya çıkmaktadır. Bu durum inflamasyon ve apoptoza neden olarak hücre ölümüne aracılık etmektedir (10,11). Glial hücrelerde, polidatinin oksidatif strese karşı muhtemel koruyucu etkisi ile ilgili bir çalışma literatürde yer almamaktadır. Bizler bu çalışmamız ile birlikte, C6 hücre hatlarında hidrojen peroksit aracılığıyla indüklenen oksidatif stres sonucu oluşan hücre hasara karşı polidatinin koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

## 2. Gereç ve Yöntem

### 2.1. Hücre kültürü

Çalışmamızda, C6 hücre hatları için, % 10 fetal sıgır serum (FBS), % 1 penisilin-streptomisin ilave edilmiş DMEM besiyeri kullanıldı. Hücreler 37°C 'de, % 95 nem ve % 5 CO<sub>2</sub> 'li etüvde büyütüldü (12).

### 2.2. C6 hücre hatlarında polidatinin etkin doz düzeyinin MTT yöntemi ile belirlenmesi

C6 hücre hatlarına hidrojen peroksitin 0.5 mM etkin dozu ve polidatinin 0-200  $\mu$ M (0,50,100,150,200  $\mu$ M) arasındaki dozları uygulandıktan 24 saat sonra hidrojen peroksit kaynaklı hücre ölümlerini engelleyen polidatin dozları MTT yöntemi yardımıyla saptandı. MTT tayininde, % 10 FBS, % 1 penisilin-streptomisin ilave edilmiş DMEM besiyeri içerisindeki hücre süspansiyonlarından ( $1 \times 10^5$  /ml hücre yoğunluğuna sahip), 96 kuyucuklu plakalara 100  $\mu$ l eklendi. Ve bir gece hücreler inkübasyona bırakıldı. Ardından MTT kitinin protokolüne uygun şekilde hücre canlılık analizi yapıldı (12,13).

### 2.3. İnflamasyon ve apoptoz ile ilişkili genlerin ekspresyon profillerinin belirlenmesi

Hidrojen peroksit maruziyeti ile birlikte, polidatinin 24. saat boyunca 100  $\mu$ M etkin dozu uygulanan ve uygulanmayan C6 hücrelerindeki inflamasyon ve apoptoz ile ilişkili genlerin (IL-1B, IL-6, TNF-alfa, NF-

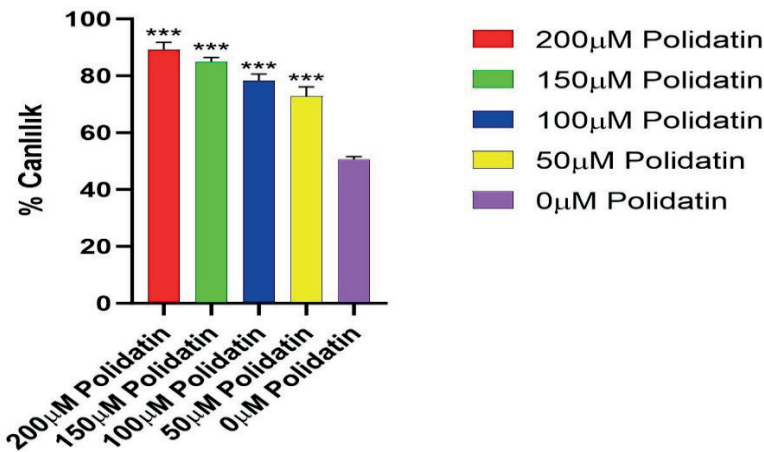
Kappa B1, COX 1, COX 2, Kaspaz 3, BCL 2, BAX) ekspresyon analizi RT-PCR cihazı yardımıyla yapıldı. GAPDH geni iç kontrol olarak kullanıldı. Elde edilen verilerin  $2^{-\Delta\Delta CT}$  metodu ile istatistiksel analizi “RT2 profiler RT-PCR Array Data Analysis version 3.5” (<https://geneglobe.qiagen.com/us/analyze>) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi (14).

### 3. Bulgular

#### 3.1. Hidrojen Peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücre hatlarında Polidatin 'in % Canlılık üzerine etkisi

24 saatlik süre boyunca 0,5mM derişiminde hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerinin % canlılık düzeylerine, polidatinin 0-200  $\mu\text{M}$  (0,50,100,150,200  $\mu\text{M}$ ) arasındaki dozlarının etkisi MTT yöntemi aracılığıyla belirlendi (Şekil 1.).

#### 0,5 mM Hidrojen Peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücreleri

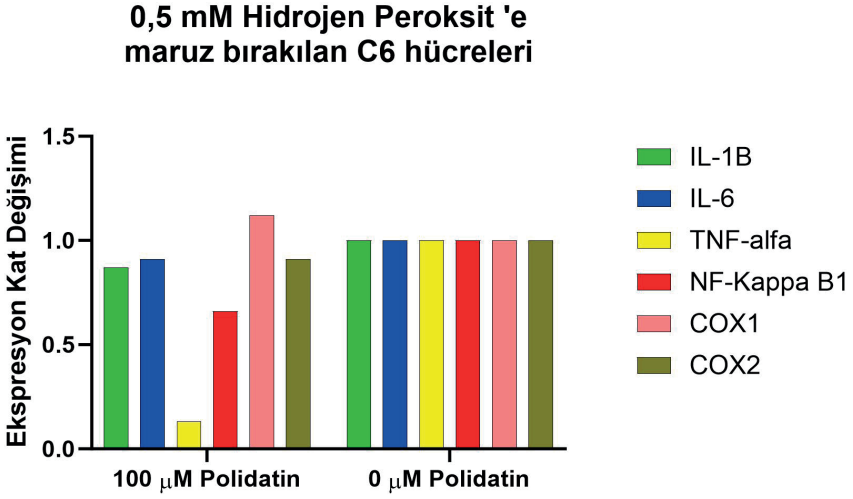


Şekil 1. 0,5mM hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerinin % canlılık düzeylerine polidatin uygulamasının etkisi (\*\*\*)  $P < 0.001$ ).

Polidatin'in doza bağımlı olarak hidrojen peroksit 'in indüklediği hücre ölümünü azalttığını saptadık. 200  $\mu\text{M}$  polidatin uygulamasının, hidrojen peroksit maruziyeti sonucu meydana gelen hücre ölüm sayısını en yüksek düzeyde azalttığını ve % canlılık oranlarını en yüksek düzeyde artırdığını belirledik.

### 3.2. Hidrojen Peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücre hatlarında Polidatin 'in inflamasyon ve apoptoz ile ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerine etkisi

24 saatlik süre boyunca 0,5mM derişiminde hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerinin inflamasyonla ilişkili gen ekspresyon düzeylerine, 100  $\mu$ M derişimindeki polidatin uygulamasının etkisi RT-PCR yöntemi aracılığıyla belirlendi (Şekil 2.).

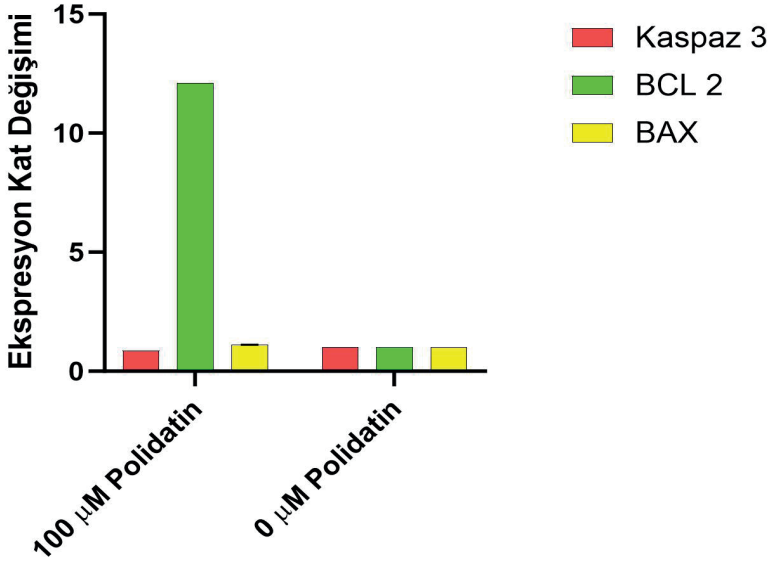


Şekil 2. 0,5mM hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerinde polidatin uygulamasının inflamasyon ile ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerine etkisi

24 saatlik sürede 0,5mM hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerine polidatinin 100  $\mu$ M dozu uygulandığında, inflamasyon ile ilişkili genlerden TNF-alfa ekspresyon düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde 7.48 kat azaldığını belirledik ( $P < 0.05$ ). Polidatin uygulamasının hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerindeki inflamasyonla ilişkili genlerden olan IL-1B, IL-6, NF-Kappa B1, COX1 ve COX2 ekspresyon düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde etkilemediğini saptadık.

24 saatlik süre boyunca 0,5mM derişiminde hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerinin apoptozla ilişkili gen ekspresyon düzeylerine, 100  $\mu$ M derişimindeki polidatin uygulamasının etkisi RT-PCR yöntemi aracılığıyla belirlendi (Şekil 3.).

## 0,5 mM Hidrojen Peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücreleri



Şekil 3. 0,5mM hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerinde polidatin uygulamasının apoptoz ile ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerine etkisi

24 saatlik sürede 0,5mM hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerine polidatinin 100  $\mu$ M dozu uygulandığında, apoptoz ile ilişkili genlerden BCL 2 ekspresyon düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde 12.10 kat artmış olduğunu saptadık ( $P < 0.05$ ). Hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerinde, polidatin uygulamasının apoptoz ile ilişkili genlerden olan Kaspaz 3 ve BAX 'ın ekspresyon düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı bir oranda değiştirmedik.

### 4.Tartışma

Polidatin 'in hidrojen peroksit ile indüklenen inflamasyon ve apoptoz 'a karşı koruyucu etkisini araştırdığımız çalışmamızda, polidatin uygulamasının hidrojen peroksit 'e maruz bırakılan C6 hücrelerinde % canlılık düzeylerini doza bağlı bir şekilde artırdığını ve bununla beraber inflamasyonla ilişkili genlerden olan TNF-alfa ekspresyonunu azaltırken, apoptoz ile ilişkili genlerden olan BCL 2 ekspresyonunu ise artırdığını saptadık.

TNF-alfa önemli bir sitokin olmakla birlikte hastalıkların tedavisi için hedef alınan proteinlerdendir. TNF-alfa sağlıklı olan bir merkezi sinir sisteminde önemli ve yararlı olan birçok role sahiptir (15-16). Özellikle sinaptik plastisitenin gerçekleştirilmesindeki önemi oldukça büyüktür (17-20). Bununla beraber, TNF-alfa öğrenmenin gerçekleşip hafızanın sağlanabilmesinde (21,22), beslenme gibi fizyolojik ihtiyaçların karşılanabilmesindeki süreçlerde rol oynamaktadır (23). Bu nedenle, varlığı merkezi sinir sisteminin sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi açısından büyük öneme sahiptir. Fakat, gelişen hastalık ilişkili bazı durumlardan dolayı merkezi sinir sistemindeki sentezi yüksek düzeyde artabilmektedir. Bu durum, TNF-alfa'nın bir inflamatuvar faktör olması nedeniyle merkezi sinir sisteminde inflamasyona neden olmaktadır. İnflamasyon düzeylerindeki artış, nörolojik hastalıkların zeminini oluşturduğu için, TNF-alfa düzeylerinin yüksek seviyede olması istenilen bir durum değildir (24-33). Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların patolojisinde inflamasyonun önemli bir yeri vardır (24,25). İnflamasyon ayrıca, iskemi (26,27) ve travmatik beyin hasarı gibi durumlarda da merkezi sinir sisteminde oluşan hasarlardan sorumlu tutulmaktadır (28,29). Parkinson (30-32) ve multipl skleroz (MS) gibi diğer nörolojik hastalıklarının da oluşumunda ve hastalığın devamı süreçlerinde inflamasyonun rolü oldukça büyüktür (33).

Hücre sel hasar meydana gelen, enfekte olan veya istenmeyen hücrelerin organizmadan uzaklaştırılabilmesi programlanmış ölüm şekli olan apoptoz ile mümkün olmaktadır. Apoptoz, organizmanın hücre sel dengesinin sağlanabilmesinde önemli rol oynamaktadır. Apoptoz düzeylerinde artış ya da azalışlar meydana geldiğinde hastalıklar ortaya çıkar. Nörodejeneratif hastalıklarda, inflamasyon ile birlikte apoptoz düzeylerinde de artış olmaktadır. Kanserde ise, apoptoz düzeylerinde meydana gelen azalış hücre proliferasyonuna aracılık ederek hastalığın oluşumunda ve devamında rol oynamaktadır (34,35). Apoptoz ile ilişkili proteinlerden olan BCL 2 apoptozun baskılanmasına aracılık eden ve proto-onkogen sınıfına dahil edilen proteinlerdendir. Kanserde apoptozu engelleyici rollerinden dolayı tümör gelişimine ve kanserin tedavisinde kullanılan kemoterapiye karşı gelişen dirence de katkıda bulunmaktadır. Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı, büyüme faktör yoksunluğu ve hücre sel stres gibi durumlarda, BCL 2 pro-apoptotik proteini aktive olmaktadır. BCL 2'nin aktive olması sonucu olarak mitokondriyal membrandaki geçirgenlikte artış meydana gelmekte, bunun sonucu diğer pro-apoptotik proteinlerinde aktive olmasıyla kaspaz 9 ve nihayetinde kaspaz 3'te de meydana gelen aktivasyon sonucu apoptoz gerçekleşmektedir (36-38). Merkezi sinir sistemi ve BCL 2 konusunda yapılan bir çalışmada, sıçanların omuriliğine uygulanan travma sonrasında,

sıçanların omuriliğinde apoptotik hücre sayılarında artış olduğu, bununla beraber BCL 2 ifade düzeylerinde apoptotik hücre sayısı ile paralel olarak artış gösterdiği belirlenmiştir (39). Yapılan başka bir çalışmada ise, travmatik beyin hasarı oluşturulan sıçanların beyininde artan apoptotik hücre sayısı ile birlikte BCL 2 'nin mRNA düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (40).

Sonuç olarak, Polidatin 'in, C6 hücrelerinde hidrojen peroksit maruziyeti ile artan oksidatif stres sonucu inflamasyon ve apoptoz düzeylerindeki artışın neden olduğu % canlılık düzeylerindeki azalmayı, inflamasyonu indükleyici olarak rol alan TNF-alfa (24) 'nin ekspresyon düzeyinde azalışa ve apoptozu baskılayıcı görevi olan BCL-2 (36) 'nin ekspresyon düzeyinde artışa aracılık ederek engelleyebilmiştir. Bu elde ettiğimiz deneysel verilerden yola çıkarak, Polidatin 'in oksidatif stres ve inflamasyon ilişkili nörodejeneratif hastalıkların ilerleyişinin durdurulabilmesine ve tedavisine olumlu bir katkı sağlayabileceğini söyleyebiliriz.



## 5. Kaynaklar

1. Modrek AS, Bayin NS, Placantonakis DG. Brain stem cells as the cell of origin in glioma. *World J Stem Cells*. 2014; 6(1): 43-52.
2. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavence WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol*. 2007; 114(2): 97-109.
3. Chen R, Smith-Cohn M, Cohen AL, Colman H. Glioma subclassifications and their clinical significance. *Neurotherapeutics*. 2017;14(2): 284-97.
4. Grobben B, De Deyn PP, Slegers H. Rat C6 glioma as experimental model system for the study of glioblastoma growth and invasion. *Cell Tissue Res*. 2002; 310(3): 257-70.
5. Chen, Sijia, et al. "Polydatin down-regulates the phosphorylation level of Creb and induces apoptosis in human breast cancer cell." *PLoS One* 12.5 (2017): e0176501.
6. Dai, Jinhua, et al. "Retraction notice for:"Polydatin protects H9c2 cells from hypoxia-induced injury via up-regulating long non-coding RNA DGC-R5"[*Braz J Med Biol Res* (2019) 52 (12): e8834]."
7. Jiang, Chang-qing, et al. "Polydatin induces apoptosis and autophagy via STAT3 signaling in human osteosarcoma MG-63 cells." *Journal of Natural Medicines* (2020): 1-12.
8. Zhang, Tao, et al. "Targeting the ROS/PI3K/AKT/HIF-1 $\alpha$ /HK2 axis of breast cancer cells: Combined administration of Polydatin and 2-Deoxy-d-glucose." *Journal of cellular and molecular medicine* 23.5 (2019): 3711-3723.
9. Çete, S., Arslan, F. ve Yasar, A., (2005). Aloe Vera ve Nerium Olfander'in Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktivitenin Araştırılması ve bu bitkilerin Siklosporinli karaciğer dokusundaki Ksantin Oksidaz Enzim Aktivitesine Etkilerinin incelenmesi. *G. Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 18, 375- 380
10. Halliwell, B., (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease, *The American journal of medicine*, 91, 14-22
11. Akkus, İ., Serbest Radikaller ve Fizyoterapik Etkileri, (1995). Mimosza Basım, Konya, 1-83
12. Sahin, B., & Ergul, M. (2022). Captopril exhibits protective effects through anti-inflammatory and anti-apoptotic pathways against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in C6 glioma cells. *Metabolic Brain Disease*, 37(4), 1221-1230.
13. Zhang, T., Zhu, X., Wu, H., Jiang, K., Zhao, G., Shaukat, A., ... & Qiu, C. (2019). Targeting the ROS/PI3K/AKT/HIF-1 $\alpha$ /HK2 axis of breast can-

- cer cells: Combined administration of Polydatin and 2-Deoxy-d-glucose. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(5), 3711-3723.
14. Riedy, M. C., Timm Jr, E. A., & Stewart, C. C. (1995). Quantitative RT-PCR for measuring gene expression. *Biotechniques*, 18(1), 70-4.
  15. Iimuro, Y., Gallucci, R. M., Luster, M. I., Kono, H., & Thurman, R. G. (1997). Antibodies to tumor necrosis factor alfa attenuate hepatic necrosis and inflammation caused by chronic exposure to ethanol in the rat. *Hepatology*, 26(6), 1530-1537.
  16. Montgomery, S. L., & Bowers, W. J. (2012). Tumor necrosis factor-alpha and the roles it plays in homeostatic and degenerative processes within the central nervous system. *Journal of neuroimmune pharmacology*, 7(1), 42-59.
  17. Levin, S. G., & Godukhin, O. V. (2017). Modulating effect of cytokines on mechanisms of synaptic plasticity in the brain. *Biochemistry (Moscow)*, 82, 264-274.
  18. Khairova, R. A., Machado-Vicira, R., Du, J., & Manji, H. K. (2009). A potential role for pro-inflammatory cytokines in regulating synaptic plasticity in major depressive disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(4), 561-578.
  19. Liu, Y., Zhou, L. J., Wang, J., Li, D., Ren, W. J., Peng, J., ... & Liu, X. G. (2017). TNF- $\alpha$  differentially regulates synaptic plasticity in the hippocampus and spinal cord by microglia-dependent mechanisms after peripheral nerve injury. *Journal of Neuroscience*, 37(4), 871-881.
  20. Albensi, B. C., & Mattson, M. P. (2000). Evidence for the involvement of TNF and NF- $\kappa$ B in hippocampal synaptic plasticity. *Synapse*, 35(2), 151-159.
  21. Beste, C., Baune, B. T., Falkenstein, M., & Konrad, C. (2010). Variations in the TNF- $\alpha$  gene (TNF- $\alpha$ -308G $\rightarrow$ A) affect attention and action selection mechanisms in a dissociated fashion. *Journal of neurophysiology*, 104(5), 2523-2531.
  22. Baune, B. T., Wiede, F., Braun, A., Golledge, J., Arolt, V., & Koerner, H. (2008). Cognitive dysfunction in mice deficient for TNF-and its receptors. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 147(7), 1056-1064.
  23. Zulet, M. A., Puchau, B., Navarro, C., Marti, A., & Martínez, J. A. (2007). Inflammatory biomarkers: the link between obesity and associated pathologies. *Nutrición hospitalaria*, 22(5), 511-527.
  24. Heppner, F. L., Ransohoff, R. M., & Becher, B. (2015). Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), 358-372.

25. Holmes, C., Cunningham, C., Zotova, E., Woolford, J., Dean, C., Kerr, S. U., ... & Perry, V. H. (2009). Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease. *Neurology*, 73(10), 768-774.
26. Huang, J., Upadhyay, U. M., & Tamargo, R. J. (2006). Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia. *Surgical neurology*, 66(3), 232-245.
27. Iadecola, C., & Alexander, M. (2001). Cerebral ischemia and inflammation. *Current opinion in neurology*, 14(1), 89-94.
28. Mannes, M., Schmidt, C. Q., Nilsson, B., Ekdahl, K. N., & Huber-Lang, M. (2021, December). Complement as driver of systemic inflammation and organ failure in trauma, burn, and sepsis. In *Seminars in immunopathology* (pp. 1-16). Springer Berlin Heidelberg.
29. Lenz, A., Franklin, G. A., & Cheadle, W. G. (2007). Systemic inflammation after trauma. *Injury*, 38(12), 1336-1345.
30. Kim, Y. S., & Joh, T. H. (2006). Microglia, major player in the brain inflammation: their roles in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Experimental & molecular medicine*, 38(4), 333-347.
31. Badanjak, K., Fixemer, S., Smajić, S., Skupin, A., & Grünewald, A. (2021). The contribution of microglia to neuroinflammation in Parkinson's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4676.
32. Tansey, M. G., Wallings, R. L., Houser, M. C., Herrick, M. K., Keating, C. E., & Joers, V. (2022). Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease. *Nature Reviews Immunology*, 22(11), 657-673.
33. Haase, S., & Linker, R. A. (2021). Inflammation in multiple sclerosis. *Therapeutic advances in neurological disorders*, 14, 17562864211007687.
34. Strasser, A., O'Connor, L., & Dixit, V. M. (2000). Apoptosis signaling. *Annual review of biochemistry*, 69(1), 217-245.
35. Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495-516.
36. Korsmeyer, S. J. (1999). BCL-2 gene family and the regulation of programmed cell death. *Cancer research*, 59(7 Suppl), 1693s-1700s.
37. Willis, S., Day, C. L., Hinds, M. G., & Huang, D. C. (2003). The Bcl-2-regulated apoptotic pathway. *Journal of cell science*, 116(20), 4053-4056.
38. Siddiqui, W. A., Ahad, A., & Ahsan, H. (2015). The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update. *Archives of toxicology*, 89, 289-317.
39. Li, G. L., Brodin, G., Farooque, M., Funayama, K., Holtz, A., Wang, W. L., & Olsson, Y. (1996). Apoptosis and expression of Bcl-2 after compression trauma to rat spinal cord. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 55(3), 280-289.

40. Wennersten, A., Holmin, S., & Mathiesen, T. (2003). Characterization of Bax and Bcl-2 in apoptosis after experimental traumatic brain injury in the rat. *Acta neuropathologica*, 105, 281-288.

### **Teşekkür:**

Bu proje, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu Tarafından T-2023-1020 Numaralı Hızlı Destek Projesi Olarak Desteklenmiştir. CÜBAP Komisyonu 'na desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.