



**PROTOKATEŞİK ASİTİN LPS İLE İNDÜKLENEN
SİSTEMİK İNFLAMASYONDA İN VİVO
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Simge YILDIRIM

Eskişehir 2024

PROTOKATEŞİK ASİTİN LPS İLE İNDÜKLENEN SİSTEMİK
İNFLAMASYONDA İN VİVO ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Simge YILDIRIM

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Farmakoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN
(İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Dilara NEMUTLU SAMUR)

Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Bilimleri Enstitüsü
Haziran 2024

*Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen BAP-2211S190 (PROJE ID:
1932) no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.*

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Simge Yıldırım'ın "Protokateşik Asitin LPS ile İndüklenen Sistemik İnflamasyonda İn Vivo Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 21/09/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Rana ARSLAN
Üye	: Prof. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN
Üye	: Prof. Dr. Bilgin KAYGISIZ

Prof. Dr. Saime ÖNCE
Enstitü Müdürü

ÖZET

PROTOKATEŞİK ASİTİN LPS İLE İNDÜKLENEN SİSTEMİK İNFLAMASYONDA İN VİVO ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Simge YILDIRIM

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2024

Danışman: Prof. Dr. Rana Arslan

(İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Dilara NEMUTLU SAMUR)

Birçok tıbbi bitkide yer alan protokateşik asit antiinflamatuvar, analjezik, antioksidan ve nöroprotektif aktiviteleriyle bilinen fenolik bir bileşiktir. Tez kapsamında, LPS ile indüklenen inflamasyon sonucu farelerde oluşmasını beklediğimiz anksiyete ve depresyon benzeri davranışlara protokateşik asitin nöroprotektif aktivitesini gösteren etki mekanizmaları aydınlatılmaya çalışılmıştır. Farelerde LPS ile indüklenen duygu durum bozukluklarını değerlendirmek amacıyla kuyruk süspansiyon testi (depresyon), aydınlık-karanlık testi (anksiyete) ve açık alan testi (lokomotor aktivite) kullanılmıştır. LPS uygulanan farelerde IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeylerinde meydana gelen değişiklikler ile protokateşik asit uygulamasının bu sitokin seviyelerine olan etkileri incelenmiştir. TLR-4/NF κ B yolağı üzerinden protokateşik asitin LPS ile indüklenen sistemik inflamasyon üzerindeki olası etkilerinin aydınlatılması amacıyla TLR4 ve NF κ B'nin mRNA düzeyindeki ekspresyonları incelenmiştir. Bu çalışmada, protokateşik asitin depresyon ve anksiyete parametreleri üzerindeki olası yararlı etkileri ilk defa inflamatuvar bir hastalık modeli kullanılarak nöroimmün yaklaşım odaklı olarak değerlendirildi. Ayrıca çalışmamızla birlikte protokateşik asitin olası nöroprotektif etkilerinde TLR-4/NF κ B yolağı'nın rolü ilk kez *in vivo* olarak incelendi.

Anahtar Kelimeler: Protokateşik asit, LPS, İnflamasyon, TLR4, Anksiyete.

ABSTRACT

LPS-INDUCED SYSTEMIC ACID OF PROTOCATHIC ACID INVESTIGATION OF VIVO EFFECTS ON INFLAMMATION

Simge YILDIRIM

Department of Pharmacology

Anadolu University, Graduate Education Institute, June 2024

Supervisor: Prof. Dr. Rana Arslan

(Co-Supervisor: Asst. Prof. Dilara NEMUTLU SAMUR)

Protocatechuic acid, found in many medicinal plants, is a phenolic humectant known for its anti-inflammatory, analgesic, antioxidant and neuroprotective activities. Within the scope of the thesis, the aim is to elucidate the effect package that shows the neuroprotective breakdown of protocatechuic acid into the anxiety and reproducible examples of behaviors in which we expect cuts in wages as a result of LPS-induced results. Tail tuning test (depression), text-darkness test (anxiety) and open field test (locomotor activity) were used to score LPS-induced mood scores in mice. The changes in IL-1 β , IL-6 and TNF- α levels in mice administered LPS are different from the effects of protocatechuic acids on these cytokine levels. In order to elucidate the possible consequences of LPS-induced systemic treatment of protocatechuic acid via the TLR-4/NF κ B pathway, the expressions of TLR4 and NF κ B at the mRNA level are determined. In this study, the presence of protocatechuic acids and their possible beneficial effects on anxiety disorders were evaluated for the first time in an inflammatory disease model, focusing on neuroimmune therapy. In addition, with our study, the role of the TLR-4/NF κ B pathway in the possible neuroprotective effects of protocatechuic acid was examined in vivo for the first time.

Keywords: Protocatechuic acid, LPS, Inflammation, TLR4, Anxiety.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitiminin her aşamasında bilgi birikimi ve deneyimleriyle meslek hayatıma yol gösteren tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Rana ARSLAN'a teşekkür ederim.

Güler yüzü, bilgisi, güveni ve tam desteğiyle bu tez yolculuğumda her zaman bana ışık tutan ikinci danışmanım, değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Dilara NEMUTLU SAMUR'a teşekkür ederim.

Başta değerli hocam Prof. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN olmak üzere laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen güzel meslektaşlarım Ecz. Cansu Bölükbaş, Ecz. İrem Molla İsa, Ecz. Enas Karamohammed, Ecz. Shaima Mujahed Hamood Al-Arifi ve Ecz. Fatma Gümüş Sablak'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında bana duydukları sonsuz güven ve destekleriyle beni motive edip cesaretlendiren annem Hamiyet Yıldırım, babam Şevket Yıldırım ve abim Serkan Yıldırım'a teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programıyla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Simge YILDIRIM

İÇİNDEKİLER

Sayfa

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	3
2.1. İnflamasyon.....	3
2.1.1. Akut inflamasyon	4
2.1.1.1. Akut inflamasyon patofizyolojisi.....	5
2.1.1.1.1. Vasküler değişiklikler	6
2.1.1.1.2. Lökositlerin hücresel hareketleri	6
2.1.1.2. Sistemik etkileri.....	7
2.1.2. Kronik inflamasyon.....	8
2.2. İnflamasyon Mediyatörleri	8
2.2.1. Proinflamatuvar sitokinler	8
2.2.1.1. Tümör nekroz faktör (TNF).....	9
2.2.1.2. İnterlökin-1 (IL-1).....	9
2.2.1.3. İnterlökin-6 (IL-6).....	9
2.3. Nöroinflamasyon.....	10
2.3.1. Kimyasal mediyatörlerin doku konsantrasyonlarının artışı.....	10
2.3.2. Mikroglia ve astrositlerin aktivasyonu ve proliferasyonu	10
2.3.3. Periferik bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonu	10
2.3.4. Nöronal hücre ölümü	11

2.3.5. Nöroinflamasyonun hücrel ve moleküler belirteçleri	11
2.3.6. Patern tanıma reseptörleri	14
2.3.6.1. Toll-benzeri reseptör sinyal yolağı	15
2.4. Lipopolisakkaritin Yapısı, Özellikleri, Kullanımı	19
2.4.1 LPS ile indüklenen hastalık modeli	20
2.5. Antiinflamatuvar Terapötikler	22
2.5.1. Protokateşik asit	23
2.5.1.1. Protokateşik asitin farmakolojik etkileri	24
2.5.1.2. Protokateşik asitin antinflamatuvar etkisi	25
2.5.1.3. Protokateşik asitin anksiyolitik etkisi	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM	28
3.1. Kullanılan Kimyasallar	28
3.2. Kullanılan Cihazlar	28
3.3. Deney Hayvanları	28
3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları	28
3.5. Deneysel Yöntemler	29
3.5.1. Kuyruk süspansiyon testi	29
3.5.2 Açık alan (Open field) testi	29
3.5.3. Aydınlik-karanlık (Light-dark box) testi	30
3.5.4 Lokomotor aktivite testi	30
3.5.5. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time qPCR) analizleri	31
3.5.5.1. RNA izolasyonu	31
3.5.5.2 cDNA (Komplementer Zincir) sentezi	31
3.5.6. Beyin dokusunda TLR-4 ve NF-κB'nin mRNA ekspresyonlarının belirlenmesi	31
3.5.7. Beyin dokusunda TNF-α, IL-1β ve IL-6 seviyelerinin enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) ile belirlenmesi	33
3.6. Veri Analizi	33
4. BULGULAR ve YORUM	34
4.1. Davranış Deneyleri	34
4.1.1. Aydınlik karanlık kutusu	34
4.1.2. Kafa daldırma testi	34
4.1.3. Kuyruk asma testi	35
4.1.4. Açık alan testi	36
4.1.5. Aktivite kafesi	36

4.2. Biyokimyasal analizler	37
4.2.1. Protokateşik asit uygulamasının total beyin dokusunda proinflamatuvar sitokin düzeyleri üzerine etkisi.....	37
4.3. Gen Ekspresyonu Analizleri.....	38
4.3.1. Protokateşik asit uygulamasının total beyin dokusunda TLR-4 ve NFKB mRNA düzeyleri üzerine etkisi	38
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ	43
KAYNAKÇA.....	45
EKLER	



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. RT-qPCR miks içeriği..... 32

Tablo 2. RT-qRT-PCR analizlerinde kullanılan primer dizileri..... 33



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. İnflamasyonun belirtileri: ağrı (dolor), kızarıklık (rubor), ısı (calor), şişkinlik (tumor), işlev kaybı (functio laesa)	3
Şekil 2.2. İnflamasyonun Sınıflandırılması	4
Şekil 2.3. Akut İnflamasyon Süreci	5
Şekil 2.4. Nöroinflamasyonu etkileyen faktörler	11
Şekil 2.5. Sağlıklı ve nöroinflamasyonlu beyinde kimyasal mediatörler ile mikroglia-astrosit etkileşimi	14
Şekil 2.6. TLR'lerin yapısı	15
Şekil 2.7. TLR sinyali	16
Şekil 2.8. Lipopolisakkarit Genel Yapısı	19
Şekil 2.9. İnflamasyonun öğrenme/hafıza ilişkisi	21
Şekil 2.10. NSAID Yarar-Zarar İlişkisi	22
Şekil 2.11. Protokateşik asitin kimyasal yapısı	24
Şekil 4.1. PCA uygulamasının aydınlık-karanlık kutusu testinde aydınlık alanda geçen süre (sn) üzerine etkisi	34
Şekil 4.2. PCA uygulamasının kafa daldırma testinde kafa daldırma sayısı üzerine etkisi.	35
Şekil 4.3. PCA uygulamasının kuyruk asma testinde hareketsiz kalma süresi (sn) üzerine etkisi	35
Şekil 4.4. PCA uygulamasının açık alan testinde periferde ve merkezde geçen süre(sn) üzerine etkisi.	36
Şekil 4.5. PCA uygulamasının aktivite kafesinde dikey ve yatay hareket üzerine etkisi.	37
Şekil 4.6. PCA uygulamasının total beyin dokusunda proinflamatuvar sitokin düzeyleri üzerine etkisi	38
Şekil 4.7. PCA uygulamasının total beyin dokusunda TLR-4 ve NFKB mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkisi	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACTB	: Aktin Beta
APP	: Akut Faz Proteini
AP-1	: Aktifleştirici Protein-1
ATP	: Adenozin Tri Fosfat
BALB/c	: İmmun Kompetan
BDNF	: Beyin-kaynaklı nörotrofik faktör
CD14	: Başkalaşım Kümesi
cDNA	: Komplementer DNA
CLR	: C Tipi Lektin Reseptörleri
COX	: Siklooksijenaz
CRP	: C-reaktif Protein
DAMP	: Hasarla İlişkili Moleküler Motif
E. coli	: <i>Escherichia coli</i> Bakterisi
IFN	: İnterferon
IKKi	: IKK ile İndüklenebilir Kinaz
IL	: İnterlökin
IR	: İnfrared (Kızılötesi)
IRAK	: İnterlökin-1 Reseptörle İlişkili Kinaz
IRF	: İnterferon Düzenleyici Faktör
KBB	: Kan Beyin Bariyeri
kDa	: Kilodalton
LBP	: Lipopolisakkarit Bağlayıcı Protein
LPS	: Lipopolisakkarit
LRR	: Lösin Zengin Tekrarlar
MAMP	: Mikropla İlişkili Moleküler Motif
MAPK	: Mitojenle Etkileşen Protein Kinaz

MMP	: Matris Metalloproteinaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
mRNA	: Messenger RNA (Mesajcı RNA)
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NaCl	: Sodyum Klorür
NK	: Natural Killer
NF-κB	: Nükleer Faktör-κB
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NSAID	: Steroid Olmayan Antiinflamatuvar İlaç
PAMP	: Patojenle İlişkili Moleküler Motif
PCA	: Protokateşik Asit
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PGE2	: Prostaglandin E2
PRR	: Patern Tanıma Reseptörleri
PRR	: Patern Tanıma Reseptörleri
RIG-I	: Retinoik Asitle İndüklenebilir Gen-I
RIP-1	: Reseptör Etkileşimli Serin/treonin-protein Kinaz
RLR	: Retinoik Asitle İndüklenebilir Gen Benzeri Reseptörler
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RT-qPC	: Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAA	: Serum Amiloid A
SMC	: S-metil Sistein
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TAB	: TAK-1 Bağlayıcı protein
TAK-1	: TGF-β ile Aktifleştirilmiş Kinaz
TBK-1	: Serin/treonin-protein TANK Bağlayıcı Kinaz

TGF- β	: Transforme Edici Büyüme Faktör
TIR	: Toll Benzeri İnterlökin Reseptör
TIRAP	: Toll/İnterlökin Reseptör Bölgesi İçeren Adaptör Protein
TLR	: Toll Benzeri Reseptör
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
TRAF-6	: TNF-reseptörü İlişkili Faktör-6
TRAM	: TRIF İlişkili Adaptör Molekül
TRIF	: TIR Bölgesi İçeren İnterferon- β Salıverilmesini İndükleyen



1. GİRİŞ

Bir fenolik asit olan protokateşik asit (PCA, 3,4-dihidroksibenzoik asit), polifenoller açısından zengin olan sebze ve meyvelerin tüketimi ile doğru orantılı olarak sağlığı olumlu yönde etkilediği için değeri günden güne artan ve araştırma konusu olan önemli bir bileşiktir (Masella et al., 2012). Yıldız anason (*Illicium verum*), melisa (*Melissa officinalis L.*), biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*), tarçın (*Cinnamomum aromaticum*) ve afrika bamyası (*Hibiscus sabdariffa*) gibi birçok bitkide bulunmaktadır. Bu biyoaktif bileşik antioksidan, antibakteriyel, antikanser, antiülser, antihiperglisemik, yaşlanma önleyici, antifibrotik, antiviral, antienflamatuvar, analjezik, antiaterosklerotik, nöroprotektif etki gibi farmakolojik aktivitelere sahiptir (Khan et al., 2015).

Nöroinflamasyon; mikroglia, astrositler ile kan beyin bariyerine katılan endotel hücrelerinin aktivasyonunu, plazma proteinlerinin, immün sistem hücrelerinin beyin dokusuna infiltrasyonunu ve inflamasyonla ilişkili mediatörlerin beyin dokusunda meydana getirdiği hasarı içeren kompleks bir olaydır (Dey, Kang, Qiu, Du, & Jiang, 2016). Beyin dokusunda hasara neden olan fizyolojik olaylar, inflamasyon sürecini tetikleyebilir. Sistemik inflamasyon, astrositler, mikroglia ve kan-beyin bariyerindeki endotel hücreleriyle etkileşime girerek kan-beyin bariyerinin bozulmasına ve nöroinflamasyonun başlamasına yol açabilir (Dey et al., 2016; Vezzani, Aronica, Mazarati, & Pittman, 2013). Beyin hücrelerinde meydana gelen akut bir hasar, nöroinflamasyonu tetikleyerek hücre hasarına ve ölümüne, dolayısıyla bilişsel ve davranışsal bozuklukların oluşmasına neden olabilir (Sözeri V. G, 2014). Nöroinflamatuvar hipoteze göre, depresyon patogeneğinde pro-inflamatuvar sitokinlerin veya immün sistemin rolü olabileceği öne sürülmektedir (Dinan, 2009; Krishnadas & Cavanagh, 2012).

Deneysel inflamasyon modellerinde sıklıkla kullanılan lipopolisakkarit (LPS), gram negatif bakterilerin patojenik potansiyellerine katkıda bulunan bir endotoksin olup inflamatuvar sitokinlerin üretimini tetikler. LPS, genellikle konakçı akut faz proteini LPS bağlayıcı proteine (LBP) bağlanır, CD14'e bağlanır, burada lipid A, konak örüntü tanıma reseptörü Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) tarafından tanınır. Oluşan bu kompleks, tümör nekroz faktörü (TNF), kemokinler dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunu başlatmak için nükleer faktör kappa B (NF- κ B)'yi aktive eder (Bennett ve ark., 2020).

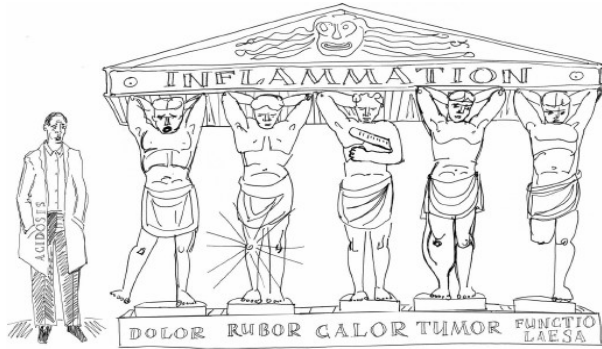
Tüm bu veriler ışığında, bu tez çalışması, antiinflamatuvar etkilere sahip olduğu düşünülen PCA'nın, LPS ile indüklenen inflamasyon modelinde TLR4/NFκB yolağı üzerinden, hayvanlarda oluşan depresyon ve anksiyete-benzeri duygudurum bozukluklarını azaltabileceği hipotezi üzerine kurulmuştur. Bu amaçla, farelerde LPS uygulaması ile indüklenmiş sistemik inflamasyon modelinde, PCA'nın depresyon (kuyruk süspansiyon testi), anksiyete (aydınlık-karanlık testi) ve lokomotor aktivite (açık alan testi) parametreleri üzerindeki nöroprotektif etkileri ve bu etkilerinde TLR4/NFκB yolağının rolü aydınlatılmıştır. Bu çalışma ile LPS ile indüklenen hastalık modelinde PCA'nın depresyon ve anksiyete-benzeri davranışlar üzerindeki etkileri ilk kez *in vivo* olarak araştırılmış ve PCA'nın, antiinflamatuvar terapötik potansiyeli ile ilgili önemli prelinik veriler literatüre kazandırılmıştır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

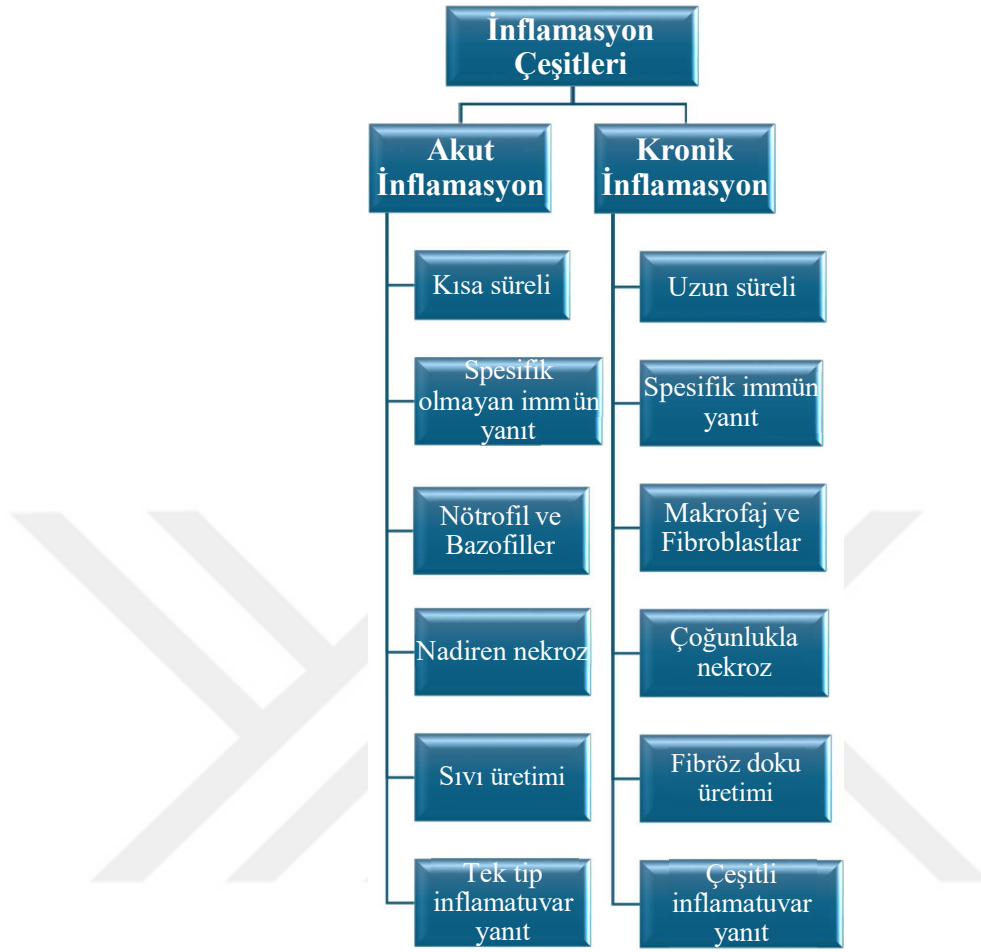
2.1. İnflamasyon

İnflamasyon; organizmanın parazit, bakteri, virüs gibi patojen etmenlere karşı gösterdiği savunma mekanizmalarının tümünü kapsamaktadır (Alessandri et al., 2013). Diğer bir ifadeyle inflamasyon, doku homeostazisini tehdit eden patojen etmenlerin organizmadan uzaklaştırılması ile bu patojenlerin neden olduğu hasarlı dokuların onarım sürecini kapsamaktadır (Maskrey, Megson, Whitfield, & Rossi, 2011). Homeostazın sürdürülebilmesi amacıyla hücre ve araçlarının, bu patojen uyarınları ortadan kaldırabilmesi ya da nötralize edebilmesi için bir araya gelerek oluşturduğu hücresel iş birliği inflamatuvar yanıt olarak isimlendirilmektedir (Alessandri et al., 2013).

Antik çağlardan beri bilinen inflamasyonun ana belirtileri; artan kan akışına bağlı olarak *rubor* (kızarıklık), lokal reaksiyonlar sonucu *calor* (sıcaklık) ve *tumor* (şişkinlik), sinir uçlarındaki değişikliklere bağlı olarak *dolor* (ağrı) isimleriyle Celcius tarafından ifade edilmiştir (Kuprash & Nedospasov, 2016). Daha sonra Romalı Doktor Galen tarafından bu belirtilere ilgili organda meydana gelen işlev bozukluğu olarak adlandırılan *functio laesa* (işlev kaybı) eklenmiştir (Netea et al., 2017). 19. yüzyılın sonlarında, modern immünolojinin kurucusu Elie Metchnikoff, protozoaların partikül maddeleri ve lökositlerinin yabancı cisimleri yutmasını gözlemleyerek, doğuştan gelen bağışıklığın temel bir unsuru olan fagositoz kavramını ortaya koymuştur (Libby, 2007).



Şekil 2.1. İnflamasyonun belirtileri: ağrı (*dolor*), kızarıklık (*rubor*), ısı (*calor*), şişkinlik (*tumor*), işlev kaybı (*functio laesa*) (Kuprash & Nedospasov, 2016).

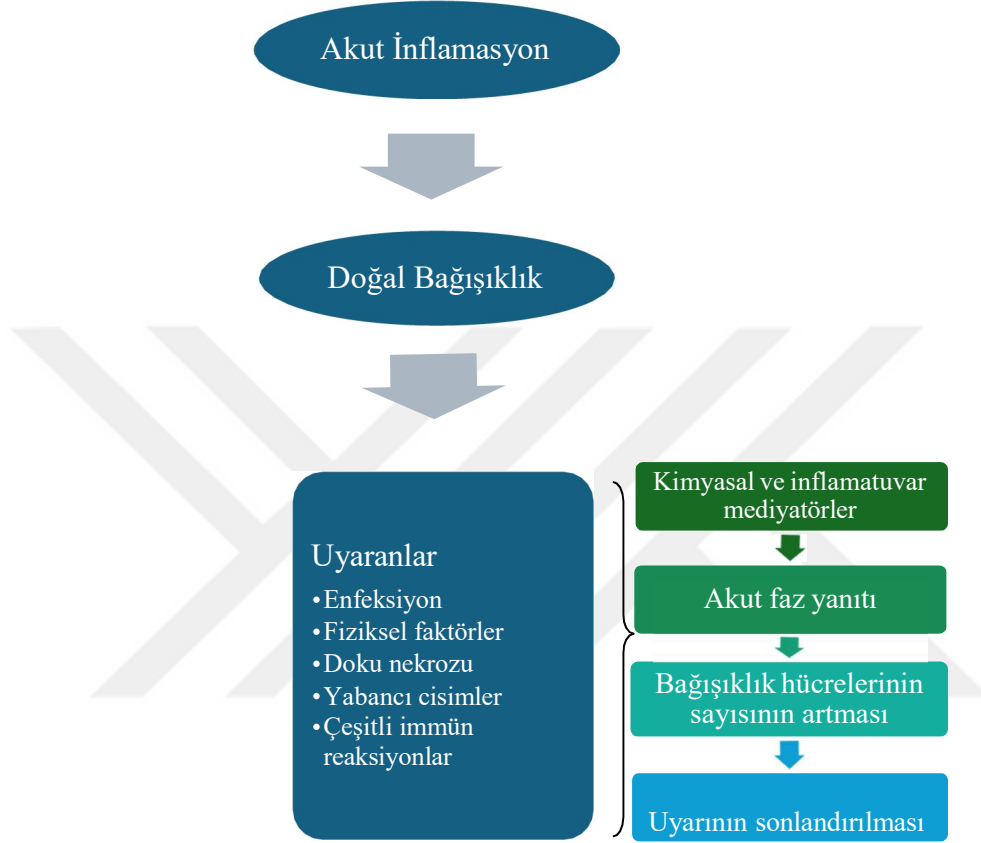


Şekil 2.2. İnflamasyonun sınıflandırılması (Arulselvan et al., 2016)

2.1.1. Akut inflamasyon

Akut inflamasyon, inflamatuvar hasara karşı oluşan en erken yanıt olup süresi birkaç gün ile hafta arasında değişebilir (Arulselvan et al., 2016; Markiewski & Lambris, 2007). Akut inflamatuvar süreç, granülositlerin (nötrofil, eozinofil ve bazofiller) hasarlı bölgeye hızlı bir şekilde toplanmasıyla karakterize olup, bu hücre tiplerinin katkısı söz konusu hasarlı bölgenin konumuna bağlıdır (Maskrey et al., 2011). Granülositler viral, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı savunmada anahtar role sahip olup bu hücrelerin hasarlı bölgeye göçü, patojen ajanların nötralizasyonu ve uzaklaştırılması için akut inflamatuvar süreçte önemli bir gerekliliktir (Maskrey et al., 2011) (Serhan et al., 2007).

Granüositlerin hasarlı bölgeden uzaklaştırılması ve mononükleer hücre (lenfosit ve makrofajlar) sayısının normal seviyelere dönmesiyle inflamasyonun düzeldiği sonucuna ulaşılır (Maskrey et al., 2011).



Şekil 2.3. Akut inflamasyon süreci (Arulselvan et al., 2016)

2.1.1.1. Akut inflamasyon patofizyolojisi

Akut inflamasyon dakikalardan birkaç güne kadar sürebilen farklı hücre ve mediyatörlerin aracılık ettiği kısa bir inflamasyon türüdür (Arulselvan et al., 2016). İlk olarak Aulus Cornelius Celsus tarafından ifade edilen ve sonraları Rudolph Virchow tarafından güncellenen *rubor* (kızarıklık), *calor* (sıcaklık), *tumor* (şişkinlik), *dolor* (ağrı) ve *functio laesa* (işlev kaybı) akut inflamasyonda görülen temel klinik belirtilerdir (Markiewski & Lambris, 2007). Doku hasarı, kapiler dilatasyonu uyaran histamin salımına neden olur ve bu da fagositlerin göçüne ve plazma sızıntısına (kızarıklık, ısı ve şişlik) izin veren vasküler stazla sonuçlanır. Bradikinin salımı, sinir uçlarının bulunduğu dokularda ağrı duyarlılığını

arttırır. İşlev kaybı, ağrıya yanıt olarak nörolojik bir refleks olarak kabul edilir (Bennett,Reeves, Billman, & Sturmberg, 2018). Akut inflamasyonun vasküler değişiklikler ve lökositlerin hücrenel hareketleri olmak üzere 2 temel komponenti bulunmaktadır:

2.1.1.1.1. Vasküler değişiklikler

İnflamasyon sırasında meydana gelen ilk değişiklikler, vasküler geçirgenlikte ve damar çapında görülür (Markiewski & Lambris, 2007). Histamin, bradikinin gibi lökosit kaynaklı mediyatörlerin etkisiyle damar düz kasında vazodilatasyon gerçekleşir (Poher & Sessa, 2014). İlk olarak arteriyollerde görülen vazodilatasyon, inflamasyon bölgesinde yeni kapiler yataklarının oluşmasına sebep olur (Arulselvan et al., 2016). İnflamasyon bölgesinde gerçekleşen kan akımı artışı ile *calor* (ısı artışı) ve *rubor* (kızarıklık) belirtileri gözlemlenir (Poher & Sessa, 2014).

İntravasküler alandan interstisyuma (ekstravasküler doku) protein ve sıvıların geçişini engelleyen bir bariyer olarak görev alan endotel hücrelerin hasar görmesi sonucu, vasküler geçirgenliğin artmasıyla proteince zengin sıvının (eksuda) ekstravasküler alana geçişi hızlanır.

2.1.1.1.2. Lökositlerin hücrenel hareketleri

Lökositler, granülositler (nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller), monositler ve T ve B lenfositleri dahil olmak üzere farklı hücre popülasyonlarından oluşan ve her biri farklı immünolojik işlevleri yerine getiren patojen ajanlara karşı organizmayı savunmada doğal bağışıklığın en önemli hücrelerinden biridir (Margraf, Lowell, & Zarbock, 2021; Rossaint & Zarbock, 2013). İnflamasyon etkenini ortadan kaldırmak ve doku onarımına katkıda bulunmak amacıyla dolaşımdaki lökositlerin hasar bölgesine göç etmesi gerekir (Nourshargh & Alon, 2014).

Lökositlerin bu göç hareketi birkaç aşamadan oluşur:

1. Marjinasyon

Staz geliştikten sonra, lökositler vasküler endotel boyunca periferik olarak konumlanır. Lökositlerin vasküler alandan kan damarlarının lümeninde bulunan endotelial hücre tabakasına doğru başlayan bu göç hareketine marjinasyon adı verilir (Nourshargh, Hordijk, & Sixt, 2010).

Düşük afiniteli ve geri dönüşümlü adezyon molekülleri ile integrin bağımlı sıkı adezyon molekülleri, endotel boyunca gerçekleşen lökositlerin yuvarlanma hareketlerini düzenler (Langer & Chavakis, 2009).

2. Diapedez (Emigrasyon)

Lökositler, mikrodolaşımdan ayrılarak yaralanma bölgesinde birikirler. Bu hareket, damar dışına çıkma anlamına gelen diapedez olarak bilinir (Elgazzar & Elmonayeri, 2015).

3. Kemotaksis

Kan damarı dışına çıktıktan sonra, lökositler interstisyel dokuda farklı hızlarda inflamatuvar odaktaki kemotaktik bir uyarana doğru hareket ederler. Hücreler, plazma zarlarında bulunan kemoreseptörler aracılığıyla, kemotaktik faktörlerin en yüksek konsantrasyonlarının bulunduğu yerleri tespit eder ve bu yönde hareket ederler. Granülositler (eozinofiller, bazofiller) ve bazı lenfositler, bu uyarıcılara yanıt vererek inflamasyon bölgesinde toplanırlar (Elgazzar & Elmonayeri, 2015).

4. Fagositoz

Fagositoz, inflamatuvar yolağın aktivasyonunu takiben hücrelerin patojenleri ve hücre artıklarını uzaklaştırdığı karmaşık bir süreçtir (Hortová-Kohoutková et al., 2020). Bu savunma mekanizması, özellikle bakteriyel enfeksiyonlarda önemlidir (Elgazzar & Elmonayeri, 2015).

2.1.1.2. Sistemik etkileri

Akut inflamasyon sürecinde görülen plazma konsantrasyonundaki değişikliklerden en bilineni akut faz proteinleridir (APP). C-reaktif protein (CRP), 1930 yılında ilk defa pnömokok enfeksiyonu akut fazı sırasında hastaların plazmasında keşfedilmiştir. Bazı patolojik durumlarda CRP düzeyi 1000 kattan fazla artabilmektedir (Korn, Bettelli, Oukka, & Kuchroo, 2009).

APP'nin organizmaya olan etkileri aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Ateşi, iştahsızlık, uykuya eğilim, kortizol ve katekolamin seviyesindeki artış gibi nöroendokrin etkiler
- Artan protein katabolizması, hepatik lipogenez, glukoneogenez, yağ dokusu lipolizi, kemik kütlelerinde azalma gibi metabolik değişiklikler

- Anemi (genellikle kronik inflamasyonda) lökositoz, trombositoz gibi kan hücrelerindeki değişiklikler (Korn et al., 2009).

2.1.2. Kronik inflamasyon

Akut inflamatuvar reaksiyon kontrol altına alındığında, enfeksiyöz patojenler ortadan kaldırılır ve ardından bir onarım aşaması gelir (Bansal, Verma, Singh Tamber, & Sharma, 2023). Ancak kontrol altına alınmayan akut inflamasyon kronikleşebilir ve çeşitli ciddi kronik hastalıkların (tümörler, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, multipl skleroz, lateral skleroz, otoimmün hastalıklar, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, fibrozis vb. gibi çeşitli nörojeneratif hastalıklar) temelini oluşturabilir (L. Kiss, 2022).

Kronik inflamasyon, aylarca veya yıllarca sürebilen yavaş ve uzun vadeli inflamasyon olarak adlandırılır. Kronik inflamasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu (örn. monosit ve lenfositler), fibroblast proliferasyonu, kollajen lifleri ve bağ dokusu oluşumu ile ayırt edilir (Elgazzar & Elmonayeri, 2015).

2.2. İnflamasyon Mediyatörleri

Akut ve kronik inflamatuvar süreçlere eşlik eden inflamasyon mediyatörleri çözünebilir sitokinler olarak da bilinirler. Hücrel infiltrasyonun ve inflamasyona karşı sistemik yanıtların ana belirleyicileridir (Brenner et al., 2014). Sinerjistik ve antagonistik kapsamlı etkileşimler kurarak hedef hücreler üzerinde hem pozitif hem de negatif etkiye sahiptirler (Brenner et al., 2014; Dinarello, 2000). Başta makrofaj ve T lenfositleri (T hücreleri) olmak üzere çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen proinflamatuvar (iltihabı teşvik eden) (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ) ve antiinflamatuvar (iltihap baskılayıcı) (IL-4, IL-5, IL-10, TGF- β) aktiviteye sahiptirler (Dinarello, 2000).

2.2.1. Proinflamatuvar sitokinler

Sitokinler, enfeksiyon veya inflamasyona karşı bağışıklık homeostazisini düzenleyen, 30 kDa (kilodalton) büyüklüğünde düşük moleküler ağırlıklı glikoproteinlerdir (Megha, Joseph, Akhil, & Mohanan, 2021). İnflamasyon durumunda yükselen sitokin seviyesinin, ilgili yolakların aktivasyonu ile bağlantılı olduğu, Dinarello tarafından ifade edilmiştir (Dinarello, 2000).

Sitokinler, Alzheimer ve majör depresyondan çeşitli malignitelere kadar birçok hastalık durumuyla ilişkilidir. Ayrıca otoimmün hastalıklarında plazmadaki çeşitli düzeylerdeki sitokinlerin, inflamatuvar süreçlere eşlik ettiği bilinmektedir (Miller, Maletic, & Raison, 2009).

2.2.1.1. Tümör nekroz faktör (TNF)

Başlıca makrofajlar, mast hücreleri, lenfoid hücreler ve fibroblastlar tarafından salgılanan inflamasyon, hücrel farklılaşma ve apoptozis için sinyal yollarını aktive eden çok işlevli bir proinflamatuvar sitokindir (Kawasaki & Taira, 2002). TNF'nin interlökin-1 (IL-1) ile doğrudan veya dolaylı etkileşiminin inflamasyon belirtilerinden ateşli yanıtı neden olabileceği bildirilmiştir (Megha et al., 2021).

2.2.1.2. İnterlökin-1 (IL-1)

İnterlökin-1 monositler, fibroblastlar, doku makrofajları ve dendritik hücreler tarafından salgılanır. Nadiren B lenfositleri, NK (natural killer) hücreleri ve epitel hücreleri tarafından da ifade edilir. IL-1, fagosit ve lenfositlerin enfeksiyon bölgesine doğru göçü için endotelial adhezyon moleküllerinin uyarılmasını ve ekspresyon seviyelerinin artırılmasını kolaylaştırır (Megha et al., 2021). Ayrıca endojen bir pirojen olarak bilinen IL-1, hipotalamustaki termoregülasyon merkezi üzerine doğrudan etki ederek vücut sıcaklığının yükselmesine sebep olan ateşli inflamatuvar yanıtları aktive eder (Simi, Tsakiri, Wang, & Rothwell, 2007)

2.2.1.3. İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6, inflamasyonun başlangıç aşamasında lokal hasarın olduğu yerde sentezlenir ve kan dolaşımı yoluyla karaciğere doğru hareket eder ve C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A (SAA), fibrinojen gibi çeşitli akut faz proteinlerinin hızla indüklenmesine sebep olur (Tanaka, Narazaki, & Kishimoto, 2014). Akut faz protein seviyeleri, eritrosit ve trombosit sayılarındaki bu değişiklikler, rutin klinik laboratuvar incelemelerinde inflamasyon şiddetinin değerlendirilmesinde büyük öneme sahiptir (Korn et al., 2009).

2.3. Nöroinflamasyon

Nöroinflamasyon, beyin veya omurilik içindeki inflamasyon yanıtı olarak tanımlanır (DiSabato, Quan, & Godbout, 2016). Diğer bir ifadeyle nöroinflamasyon nöron, mikroglia gibi merkezi sinir sisteminde görev alan tüm hücreler tarafından hasara karşı verilen güçlü bir yanıttır (Bradl & Hohlfeld, 2003; Carson, Doose, Melchior, Schmid, & Ploix, 2006). Hücrelerin olası bir enfeksiyon, yaralanma, metabolik stres ya da otoimmün yanıt gibi durumlarla karşı karşıya gelmesi halinde hasarın önüne geçilmesi hedeflenir (Mockenhaupt, Gonsiewski, & Kordula, 2021).

Nöroinflamasyon genellikle dört kategoride yer alan stereotipik mekanizmaları içerir:

2.3.1. Kimyasal mediatörlerin doku konsantrasyonlarının artışı

Nöroinflamasyonun ilk aşamalarında, sitotoksik moleküller ve diğer kimyasal mediatörlerin doku konsantrasyonları artar. Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi sitotoksik moleküller, hücre hasarına yol açar (Chitnis & Weiner, 2017). Ayrıca, proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1 β , IL-6) ve antiinflamatuvar sitokinler (IL-4, IL-10, TGF- β) arasındaki denge, inflamatuvar yanıtın şiddetini ve süresini belirler. Kemokinler, ATP ve matris metalloproteinazlar (MMP2, MMP9) da bu süreçte önemli rol oynar (Moyses et al., 2022).

2.3.2. Mikroglia ve astrositlerin aktivasyonu ve proliferasyonu

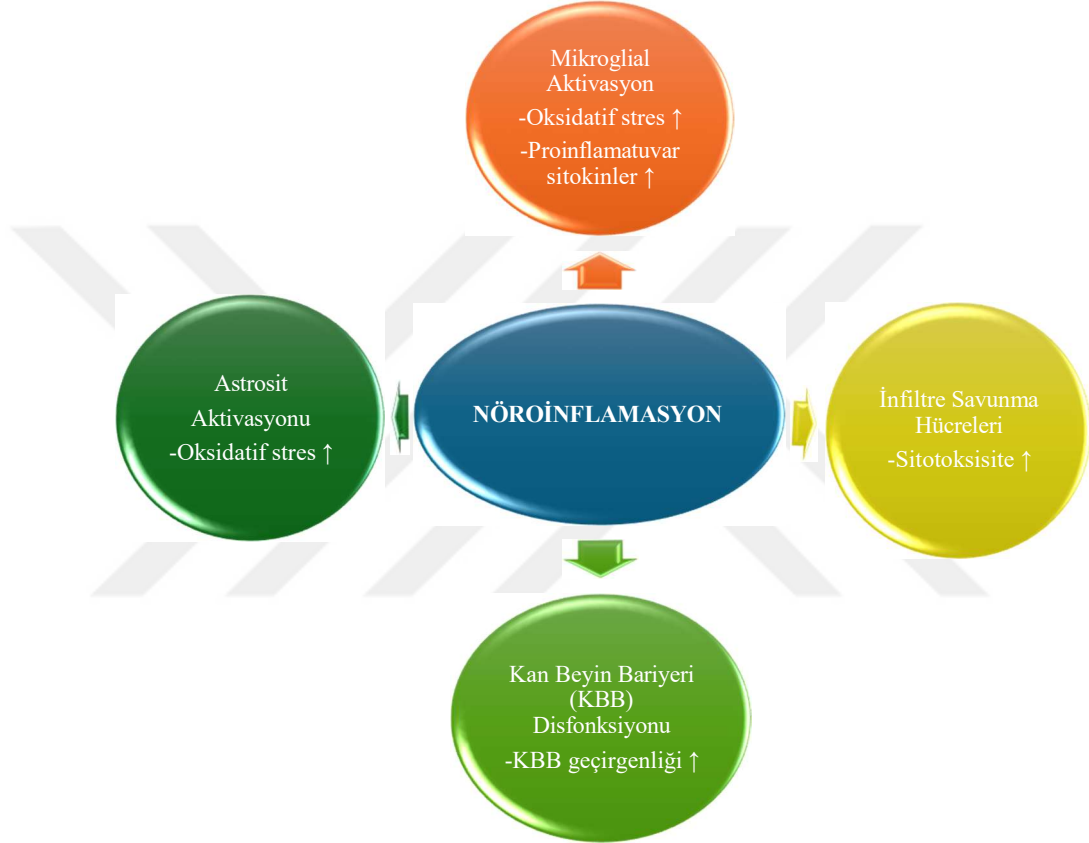
Mikroglia ve astrositler, SSS'deki patolojik bölgelerde aktifleşir ve çoğalır. Mikroglia, SSS'nin yerleşik makrofajlarıdır ve inflamasyon sırasında fagositoz yaparak patojenleri ve hasarlı hücreleri temizler. Astrositler ise kan-beyin bariyeri (KBB)'nin bütünlüğünü korumaya ve nörotransmitterleri düzenlemeye yardımcı olur (Radenovic et al., 2020).

2.3.3. Periferik bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonu

Sistemik dolaşımdan gelen monosit-makrofajlar ve T-lenfositler, kan-beyin bariyerinin geçirgenliğinin artmasıyla SSS'ye infiltre olur. Bu hücreler, inflamatuvar yanıtı güçlendirir ve patojenlere karşı savunmayı sağlar (Dansokho et al., 2016). KBB'nin geçirgenliğinin artması, inflamatuvar mediatörlerin SSS'ye girişini kolaylaştırır (Estes & McAllister, 2014).

2.3.4. Nöronal hücre ölümü

Nöroinflamasyonun sonucunda oluşan nörotoksik ortam, nöronal hücre ölümüne yol açar. Bu süreç, nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesinde kritik bir rol oynar. Nöronal hücre ölümü, SSS'deki hasarın boyutunu artırarak fonksiyon kaybına neden olur (Skaper, Facci, Zusso, & Giusti, 2018).



Şekil 2.4. Nöroinflamasyonu etkileyen faktörler (Chung et al., 2010)

2.3.5. Nöroinflamasyonun hücresel ve moleküler belirteçleri

KBB, SSS'yi periferik dokulardan ayıran, oldukça sıkı bağlantılarla düzenlenmiş, beyin homeostazisinde kritik role sahip önemli bir yapıdır (Malkiewicz et al., 2019; Puech et al., 2023). Bu kısıtlayıcı bariyer, dolaşım ile SSS arasında iyon, molekül ve hücre hareketlerinin kontrollü bir şekilde düzenlenmesine olanak sağlar (Daneman & Prat, 2015). SSS'ye yönelik yeni ilaç geliştirilmesini sınırlandıran en önemli faktörlerden biri KBB'nin sıkı bağlantılı endotel hücreleridir (Pardridge, 2007). Küçük moleküllü ilaçların %98'i, büyük moleküllü ilaçların ise tamamına yakını, KBB'den SSS'ye geçemez (Brandl & Reindl, 2023; Pardridge, 2007).

İnflamasyon, travma, hipoksi, çevresel toksinler, diyet bileşenleri, genetik gibi birçok faktör, KBB bütünlüğünün bozulmasına yol açabilir (Shlosberg, Benifla, Kaufer, & Friedman, 2010). Sepsis, akut ve sistemik enfeksiyonlar, menenjit, ensefalit gibi yüksek dereceli inflamatuvar hastalıkların, KBB geçirgenliğindeki artış ile bağlantılı olduğu bilinmektedir (Malkiewicz et al., 2019). SSS'nin en önemli savunma merkezi olan KBB'nin yapı ve görevinde meydana gelen değişiklikler, lenfosit, nötrofil, makrofaj gibi periferik dokulardaki bağışıklık hücrelerinin beyne geçişini kolaylaştırır (Xu, Jia, Li, Li, & Luo, 2024). Endojen sinir hücrelerinin hasar görmesi, ekzojen toksin ve enfeksiyöz maddelerin MSS'ye geçişi, nöroinflamasyon sürecini başlatır (Xu et al., 2024). Bu sürece beyinde bulunan astrosit ve mikroglia hücreleri eşlik eder (Y. Liu et al., 2023).

Sağlıklı yetişkin bir insan beyinde dinlenme halinde bulunan mikroglialar, küçük hücre gövdelerinden oluşan dallanmış bir yapıyla karakterizedir (Chung et al., 2010). Mikroglialar, çeşitli uyaranların etkisiyle ameboid ve fagositik yapıya dönüşerek aktifleşirler (Chung et al., 2010; Lier, Streit, & Bechmann, 2021). Patolojik koşullarda aktive olan mikroglia hücrelerinin, mikroçevredeki nöroinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , TNF- α , IL-6), ROS'un ve glutamatın düzeyini arttırdığı, adaptif immün yanıtı ve hücre kemotaksisini tetiklediği, yalnızca hasarlı hücre artıklarını değil, sağlam hücreleri de fagosite edebilme yeteneği kazandığı bilinmektedir (Ghavami et al., 2014).

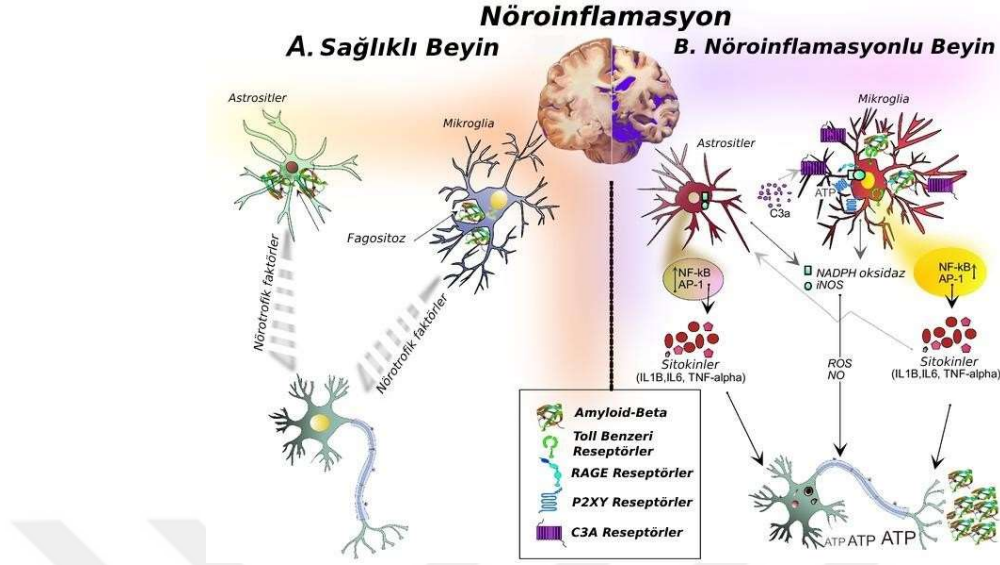
Mikrogliaların iki farklı aktif fenotipi vardır: M1 (proinflamatuvar) ve M2 (antiinflamatuvar) fenotipleri. LPS/IFN- γ gibi tedavilerin M1 aktivasyonunu indüklediği, IL-4/IL-13 gibi tedavilerin M2 aktivasyonunu indüklediği bilinmektedir. M1 aktivasyonu sonucu TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinler ve çeşitli serbest radikaller salıverilir. Bu proinflamatuvar mediyatörler astrositleri aktive ederek proinflamatuvar faktörlerin artışına ve dopaminerjik nöronların dejenerasyonuna yol açar (Q. Wang, Liu, & Zhou, 2015).

Mikroglialar gibi astrosit hücreleri de SSS'nin stabil yapısının korunmasında etkin rol oynar. KBB'nin bütünlüğünün korunması, sitotoksik inflamasyonun yayılımının önlenmesi ve nöroendotelial geçirgenliğin düzenlenmesi gibi önemli görevleri bulunmaktadır (Masrori, Beckers, Gossye, & Van Damme, 2022). İsimlerini yıldız şeklindeki morfolojik yapılarından almışlardır (Brandl & Reindl, 2023).

Beyin hacminin %20-50'sini oluşturan astrositler, SSS'nin temel glial hücrelerinden biridir (Chung et al., 2010). Beyinde en fazla miktarda bulunan hücre türü olan astrositler, serebral kan damarlarını kaplayan mikrovasküler endotelial hücreler ve nöronlarla çift yönlü temas halindedir (Sofroniew & Vinters, 2010). Astrositler, nitrik oksit ve araziidonik asit gibi vazodilatörleri serbest bırakarak kan akışının artmasına sebep olurlar. Böylece lokal kan akışını düzenleyerek aktif nöronlar için besin desteği sağlarlar (Lawrence, Schardien, Wigdahl, & Nonnemacher, 2023).

Alzheimer, Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynayan nöroinflamasyon söz konusu olduğunda astrositler, reaktif türevlerine dönüşürler (Singh, 2022). Reaktif astrositlerin akut MSS hasarı, LPS kaynaklı nöroinflamasyon ve nörodejeneratif hastalıklara patolojik bir tepki olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (Liddelow et al., 2017). Reaktif astrositlerin, nöroinflamasyonun sebep olduğu MSS hasarı sonrası nöronları koruma, onarma gibi temel görevleri olduğu bilirse de spesifik koşullarda nöroinflamasyonu ve hasarı şiddetlendirebileceği bilinmektedir (Catorce & Gevorkian, 2016).

A1 ve A2 olarak sınıflandırılan iki farklı fenotipe sahip reaktif astrosit türevinin nöroinflamasyon ile tetiklendiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda reaktif A1 fenotipinin, akut MSS hasarından hemen sonra hızla oluştuğu ve birçok nörodejeneratif hastalıkta yüksek oranda bulunduğu gösterilmiştir (Diaz-Castro, Bernstein, Coppola, Sofroniew, & Khakh, 2021). A2 fenotipinin ise MSS onarımını sağladığı için koruyucu rolü üstlendiği düşünülmektedir (Liddelow et al., 2017).



2.3.6. Patern tanıma reseptörleri

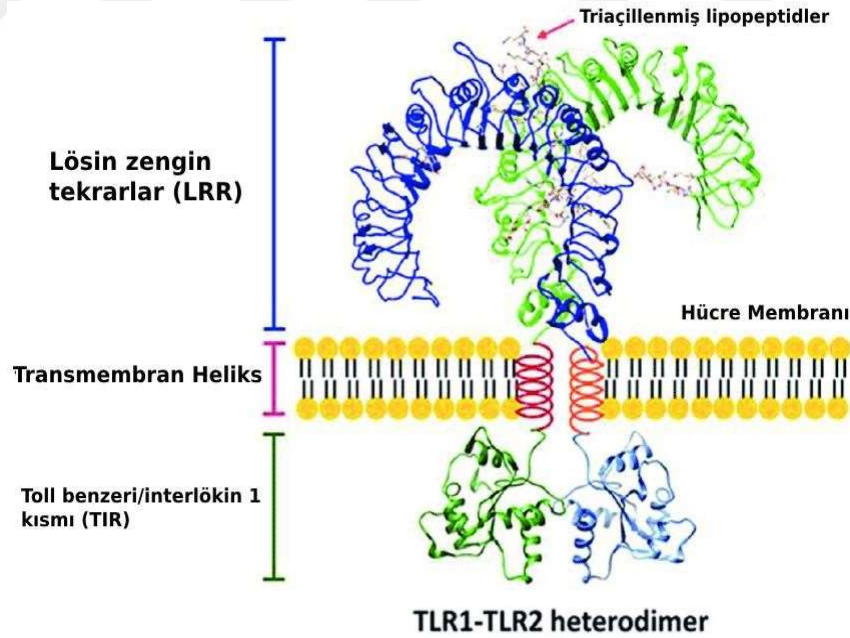
Doğuştan gelen bağışıklık, organizmayı patojen ajanlara karşı savunmanın önemli ilk basamağını oluşturur (J. Liu, Qian, & Cao, 2016). Patojen ajanların sebep olduğu enfeksiyonların organizmada oluşturduğu klinik semptomları, her ne kadar mikroorganizmadan kaynaklansa da çoğunlukla gösterilen bağışık yanıt belirler (Fitzgerald & Kagan, 2020). Bu bağışık yanıt, patojenle ilişkili moleküler kalıplar (*Pathogen Associated Molecular Patterns*, PAMP) ya da mikropla ilişkili moleküler kalıpların (*Microbe Associated Molecular Patterns*, MAMP) tanınmasıyla sağlanır. Ayrıca savunma hücreleri, proinflamatuvar sitokin salınımına sebep olan hasar ile ilişkili moleküler kalıpları (*Damage Associated Molecular Patterns*, DAMP) da tanır (V. Kumar, 2020).

PAMP/MAMP ya da DAMP'lar, bağışıklık sistemi hücrelerinin patern tanıma reseptörleri (PRR'ler) tarafından tespit edilir. PRR'ler NOD benzeri reseptörler (NLR'ler), Toll benzeri reseptörler (TLR'ler), retinoik asitle indüklenebilir gen-I (RIG-I) benzeri reseptörler (RLR'ler) ve C tipi lektin reseptörleri (CLR'ler) olmak üzere dört farklı grupta incelenebilir (V. Kumar, 2020; Riley & Tait, 2020). Bunlardan en dikkat çekici grup Toll benzeri reseptörler (TLR'ler) olmuştur (Gay & Gangloff, 2007).

2.3.6.1. Toll-benzeri reseptör sinyal yolağı

TLR reseptörleri ilk defa *Drosophila melanogaster*'daki toll geninin ve proteininin tanımlanması ile keşfedilmiştir (Sameer & Nissar, 2021). Günümüze kadar TLR ailesinin insanlarda 10 (TLR1-10), kemirgenlerde ise en az 13 üyesinin (TLR1-13) olduğu bilinmektedir (Thakur et al., 2015). Nükleik asitleri algılayan TLR'ler (TLR3, TLR7, TLR8 ve TLR9) endozomlarda bulunurken, diğerleri (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6) plazma membranında yer alırlar (Heidari, Yazdanpanah, & Rezaei, 2022).

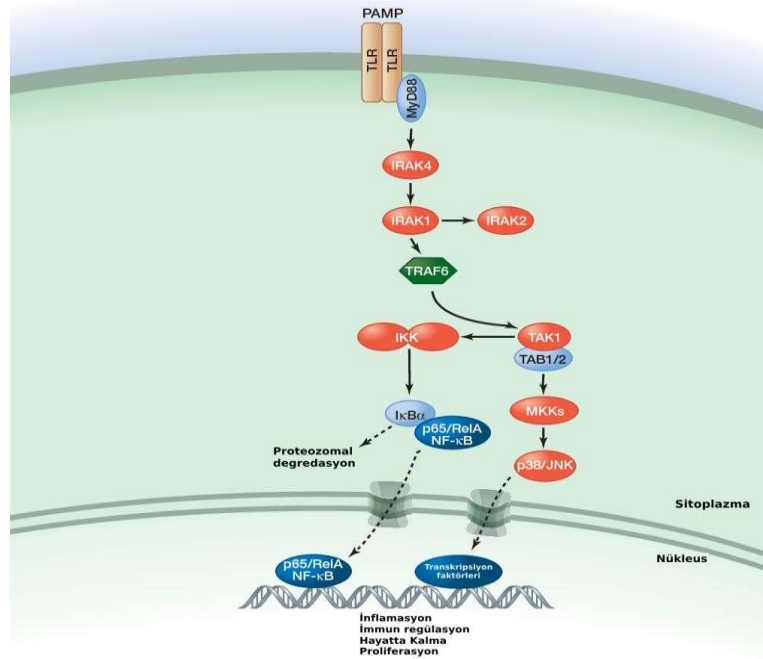
TLR'ler, PAMP/DAMP'ın tanınması için lösün bakımından zengin tekrar bölümü (LRR), transmembran alanları ve sinyal iletim yollarının aktivasyonunu sağlayan sitoplazmik toll benzeri-interlökin 1 (IL-1) reseptör (TIR) bölümü olmak üzere 3 bölümden oluşur (El-Zayat, Sibaii, & Mannaa, 2019).



Şekil 2.6. TLR'lerin yapısı (El-Zayat et al., 2019)

TLR'ler, PAMP/DAMP dahil olmak üzere çeşitli uyaranları tanıyabilen ve doğal bağışık yanıtı tetikleyebilen membran proteinleridir (Botos, Segal, & Davies, 2011). TLR'ler, DAMP/PAMP'leri tanıdıklarında, hasarı düzeltmek ya da patojeni ortadan kaldırmak için bağışıklık hücrelerinin aktive olmasıyla sinyalleme kaskadını tetikler. Böylece hem proinflamatuvar sitokin üretimi ile fagositozun başlaması gibi doğal bağışıklığın spesifik olmayan yanıtında hem de B ve T lenfositlerinin aracılık ettiği patojene özel bir yanıtın oluşmasını sağlayan kazanılmış bağışıklığın aktivasyonunda rol oynarlar (Kouli, Horne, & Williams-Gray, 2019).

Çeşitli nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesine sebep olan nöroinflamasyon, MSS hasarlarında TLR'lerin önemli bir rol oynadığı ve diğer TLR'lerin yanı sıra TLR4'ün nöron ölümü, KBB hasarı, ödem ve iskemik beyin hasarına sıklıkla katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Azam et al., 2019). Nöroinflamatuvar reseptör olarak da bilinen TLR4, beyindeki mikroglialar, astrositler, nöronlar üzerinde eksprese edilir ve eksojen ve endojen ligandları tanıyarak nöroinflamasyonda anahtar rol oynar.



Şekil 2.7. TLR sinyali (Lim & Staudt, 2013)

Ligandların TLR'ye bağlanması, spesifik hücre içi sinyal basamaklarını uyarak konakçı savunma reaksiyonlarını başlatır ve böylece interferon, proinflamatuvar sitokin gibi inflamasyon belirteçlerinin üretimi artar (Heidari et al., 2022; Y. Wang, Song, Bai, & Vanhoutte, 2016). Hücre içi sinyal basamağı, TLR ile etkileşime giren ligandın tipine ve sinyal yoluna bağlanan adaptör molekülüne bağlıdır (Sameer & Nissar, 2021).

Bu adaptör moleküllerinden en bilineni MyD88 (*Myeloid differentiation primary response 88*, Miyeloid farklılaşma primer yanıt proteini 88)'dir. Bunun dışında TIRAP (*Toll/interleukin-1 receptor domain-containing adapter protein*, Toll/interlökin-1 reseptör bölgesi içeren adaptör protein), TRIF (*TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β* , TIR bölgesi içeren interferon- β salıverilimini indükleyen adaptör, TICAM-1), TRAM (*TRIF related adaptor molecule*, TRIF ilişkili adaptör molekül, TICAM-2) gibi adaptör molekülleri de bulunmaktadır (Yamamoto & Takeda, 2010). MyD88'e bağımlı yol, TLR3 hariç tüm TLR'ler tarafından kullanılır (El-Zayat et al., 2019). TLR4 ise diğer TLR'lerden farklı olarak hem MyD88 hem de TRIF yoluyla sinyal verebilir (Deguine & Barton, 2014). MyD88'e bağımlı yol boyunca, aktifleştirilmiş TLR, MyD88'in TIR alanı ile kompleks oluşturur. Ardından IRAK1, IRAK2 ve IRAK4 dahil olmak üzere serin-treonin kinaz interlökin-1 reseptörle ilişkili kinaz (IRAK) ailesinin üç üyesi ile *midozom* olarak da isimlendirilen kompleks yapı oluşturur (Heidari et al., 2022).

Sinyal kaskadının önemli molekülleri olan MyD88 ve IRAK-4'ün kalıtsal defektlerden kaynaklanan eksiklikleri, erken çocukluk döneminden itibaren ciddi piyojenik bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık geliştirir (Aluri, Cooper, & Schuettpelez, 2021). IRAK'lar fosforilasyondan sonra MyD88'den ayrılır ve TRAF-6 (TNF receptor associated factor-6, TNF-reseptörü ile ilişkili faktör-6) ile etkileşime girer. TRAF-6 daha sonra TAK-1 (TGF- β ile aktifleştirilmiş kinaz-1) ile TAB-2/TAB-3 (TAK1 bağlayıcı proteinler)'ün aktivasyonunu indükler ve böylece aktive eder (Zheng, Chen, Chu, Zhu, & Jin, 2019).

TLR3 ve TLR4'ler ise TRIF'ye bağlı sinyal yolağını uyarır. MyD88 bağımsız yolak ya da TRIF-TRAM yolağı olarak bilinir. TRIF, TBK1 (serin/treonin-protein TANK bağlayıcı kinaz 1)'i ve IKKi (IKK ile indüklenebilir kinazı) daha da aktive eden TRAF3 (TNF reseptörüyle ilişkili faktör 3)'ü görevlendirir (De Nardo, 2015). IRF3 ve IRF7 (İnterferon düzenleyici faktörler 3 ve 7)'nin fosforilasyonunu uyarırlar ve daha sonra IRF3/7 dimerize olur böylece tip I interferonların üretimini indüklerler (Owen, Fults, Patil, Hernandez, & Bohannon, 2020). Ayrıca, endozomal TLR4 ile oluşturulan TRAM-TRIF kompleksi, reseptör etkileşimli serin/treonin-protein kinaz 1 (RIP1 ayrıca RIPK1 olarak da adlandırılır) yoluyla TRAF6 ile etkileşime girebilir ve NF-κB ve AP-1'in aktivasyonuna yol açan bir yolu tetikleyebilir (Skrzypczak-Wiercioch & Salat, 2022).

LPS'nin lipit A olarak bilinen kısmı, LPS bağlayıcı protein (LBP), CD14 ve Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) dahil olmak üzere, doğuştan gelen bağışıklığın hücreleri tarafından tanınır (Norris, Somprasong, Schweizer, & Tuanyok, 2018). Fagositoza, bakteriyel lizise ve adaptif bağışıklık aktivasyonu gibi inflamatuvar süreçleri hızlı bir şekilde aktive eder (Barrio, Saez de Guinoa, & Carrasco, 2013).

LPS kaynaklı inflamasyon ile nöroinflamasyon arasındaki bağlantıyı TLR4 sinyal yolağıyla anlamak mümkündür (Skrzypczak-Wiercioch & Salat, 2022). LPS'nin uygulanması TLR4'ün aracılık ettiği inflamatuvar yanıtta, mikrogliyal reaktivasyona ve nöroinflamasyona neden olur böylece nörodejenerasyon, sinaptik kayıp, nöronal hücre ölümü gerçekleşir (Yang et al., 2020).

2.4.1 LPS ile indüklenen hastalık modeli

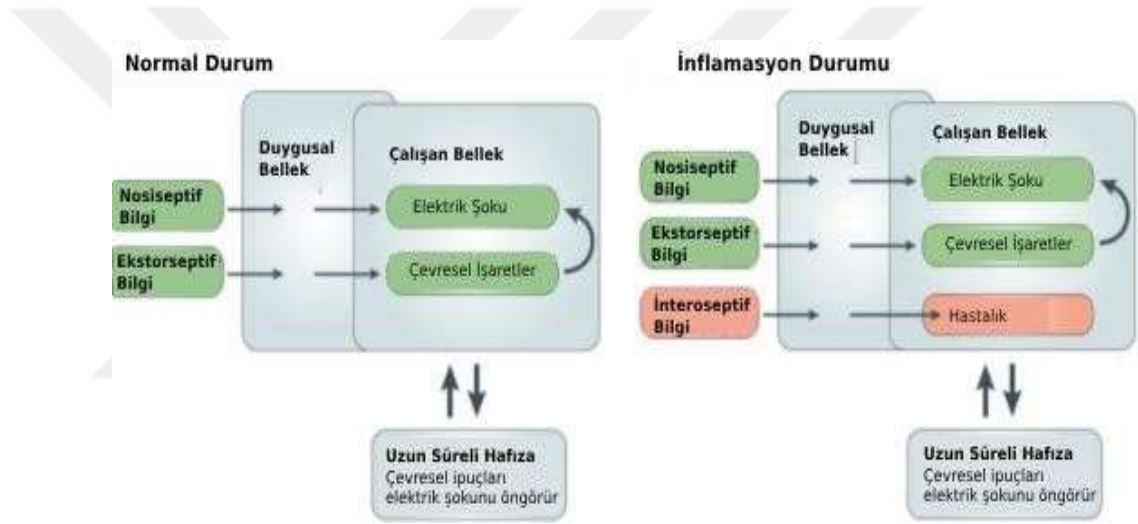
Son yıllarda yapılan çalışmalar, oldukça yaygın bir şekilde görülen depresif bozuklukların patofizyolojisinde inflamasyonun önemli bir faktör olabileceği gösterilmiştir. Antidepresan kullanan veya depresyon nedeniyle hastaneye yatırılan bireylerin yaklaşık %30'unda, C-reaktif protein (CRP) ve sistemik proinflamatuvar sitokin düzeylerinde artış görülmüştür (Dowlati et al., 2010). Bu durum depresif bozuklukların inflamasyonla yakından ilgisi olabileceğini ve tedavide sadece antidepresan kullanımının yeterli olmayacağını bizlere göstermektedir.

Anksiyete ve depresyon ile inflamasyon ilişkisi, potansiyel bir tedavi stratejisi olarak inflamasyonun blokajı üzerine araştırmaları teşvik etmiştir (Felger, 2018). Bu nedenle, duygu durum bozukluklarına yönelik tedavi denemelerinde antinflamatuarların etkisini incelemek üzere inflamatuvar belirteçlerinden yararlanılmıştır (Miller, Haroon, & Felger, 2017). Majör depresif hastalarda sitokin konsantrasyonunu ölçen bir meta-analiz çalışmasında, majör depresif hastası bireylerde, kontrol grubu bireylere kıyasla proinflamatuvar sitokinlerden TNF-alfa ve IL-6'nın önemli ölçüde daha yüksek konsantrasyonda oldukları rapor edilmiştir (Dowlati et al., 2010).

Anksiyete ile ilişkili duygu durum bozukluklarında artan inflamasyonun sonuçlarının araştırılması için korku, anksiyete ve tehdit algılamayla ilgili beyin bölgeleri (*amigdala, insula, medial prefrontal korteks ve anterior singulat korteks*) üzerindeki inflamatuvar sitokinlerin etkileri incelenmiştir (R. Dantzer, J. C. O'Connor, G. G. Freund, R. W. Johnson, & K. W. Kelley, 2008).

Bu durum davranışsal semptomların da gözlemlendiği inflamatuvar sitokin veya sitokin indükleyicileri uygulamalarını ön plana çıkarmıştır (Felger, 2018) (R. Dantzer et al., 2008).

Farmakolojik deneyler, IL-1 β veya TNF- α 'nın doza ve zamana bağlı olarak fare ve ratlara uygulanmasının davranışlara olan etkileri incelendiğinde, ev kafeslerinin bir köşesinde kambur bir duruşla kaldıkları, uyarılmadıkları sürece fiziksel ve sosyal çevrelerine çok az ilgi gösterdikleri veya hiç ilgi göstermedikleri gözlemlenmiştir. Spesifik olarak motor aktivitede azalma, sosyal geri çekilme, yiyecek ve su alımında azalma, yavaş dalga uykusunda artış ve öğrenme-hafıza gibi bilişsel faaliyetlerde değişiklik gösterirler (R. Dantzer et al., 2008).



Şekil 2.9. İnflamasyonun öğrenme/hafıza ilişkisi (R. Dantzer et al., 2008)

LPS'nin intraperitoneal yoldan uygulanması, nöroinflamasyonu oluşturmanın en basit yöntemlerinden biridir (Skrzypczak-Wiercioch & Salat, 2022). LPS ile indüklenen nöroinflamasyon modellerinden elde edilen bilgiler doğrultusunda; yüksek LPS konsantrasyonlarının KBB'yi bozarak dolaşımdan beyne inflamatuvar hücrelerle beraber daha fazla miktarda LPS'nin geçmesine sebep olması ve bu durumun nöroinflamasyonu daha da şiddetlendirebileceği düşünülmektedir (Banks et al., 2015; Peng, Luo, He, Zhang, & Li, 2021). Nöroinflamasyon, nörodejeneratif hastalıkların patogenezi ve ilerlemesinde önemli bir bileşendir ve hem hastalarda hem de deney hayvan modellerinde nöron kaybı, sinaptik işlev bozuklukları, motor becerilerde gerileme ile öğrenme-hafıza bozuklukları gibi klasik semptomlar sıklıkla gözlemlenir (Kalyan et al., 2022).

2.5. Antiinflamatuvar Terapötikler

MÖ 500 civarında Hipokrat, söğüt kabuğu ve yapraklarının ağrı ve ateşi iyileştirmedeki potansiyelini keşfetmiştir (Tsutsumi et al., 2004). 1830'larda söğüt kabuğundan salisilatın izole edilmesinin ardından 1897'de Bayer firmasından Felix Hoffman'ın aspirini (asetil salisilat) keşfetmesinden günümüze kadar NSAİİ'ler (steroidal olmayan antiinflamatuvar ilaçlar) dünya çapında en popüler reçetesiz satılan ilaçlar arasındadır ve tüm reçeteli ilaçların %5'ini oluşturmaktadır (Montinari, Minelli, & De Caterina, 2019; Tsutsumi et al., 2004). Aspirin, siklooksijenaz (COX) enzimleri olan COX-1 ve COX-2'yi inhibe ederek prostaglandin ve tromboksanların sentezini engeller (Dinarello, 2010). NSAİİ'lerin zamanla yapı ve mekanizmalarının anlaşılmasıyla yeni ilaçlar keşfedilmiştir (Bindu, Mazumder, & Bandyopadhyay, 2020). Analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar aktiviteleri sebebiyle osteoartrit, romatizmal bozukluklar, ağrı, ateş ve inflamasyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılırlar (Cooper et al., 2019).



Şekil 2.10. NSAID Yarar-Zarar İlişkisi (Bindu et al., 2020)

NSAİİ'lerin antiinflamatuvar, antipiretik ve analjezik etkinliklerin yanı sıra, kanser, miyokard infarktüsü de dahil olmak üzere çeşitli kritik hastalıklara karşı koruma sağladığı da bilinmektedir. Bununla beraber, çok sayıda plasebo kontrollü araştırma ve meta-analiz çalışmalarından elde edilen veriler, NSAİİ'lerin gastrointestinal, kardiyovasküler, hepatik, renal, serebral ve pulmoner komplikasyonlardaki olumsuz etkilerini göstermektedir (Bindu et al., 2020).

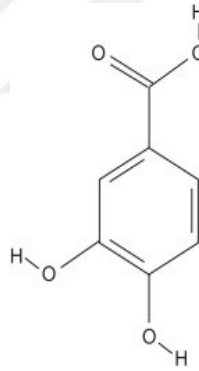
İnflamasyonu azaltmak için yüksek terapötik etkiye sahip ilaçlar geliştirilmesine rağmen, bunların yıkıcı yan etki ve yüksek maliyet profilleri tedavi etkinliklerini sınırlamaktadır (Megha et al., 2021). Dolayısıyla, antiinflamatuvar tedavilerde yeni ve etkili bileşiklerin keşfi, mevcut tedavi seçeneklerinin sınırlamaları ve yan etkileri nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Özellikle doğal kaynaklı biyoaktif bileşikler, düşük yan etki profilleri ve geniş terapötik uygulamaları nedeniyle araştırma alanında dikkat çekmektedir.

Bitkilerden elde edilen ikincil metabolitler, inflamasyonun ilerlemesini önlemek ve oluşan hasarı ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilen alternatif tedavi yöntemlerinin başında gelir (Megha et al., 2021; Ziegler & Facchini, 2008). Çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip bir alkaloid olan *Cryptolepis sanguinolenta*'dan türetilen kriptolepinin, LPS'nin indüklediği mikroglia hücrelerinde IL-1 β , TNF-a, IL-6, PGE2 ekspresyonunu önemli düzeyde inhibe ettiği görülmüştür (Olajide, Bhatia, de Oliveira, Wright, & Fiebich, 2013). Fenolik asit ve flavonoidlerin yüksek polifenol seviyeleri dolayısıyla antiinflamatuvar, antioksidan, immünomodülatör aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir. MAPK inhibisyonu, NF- κ B ve AP-1'in baskılanması, polifenollerin antiinflamatuvar aktivitelerini açıklayan moleküler mekanizmalarıdır (Orsolice & Jazvinscak Jembrek, 2022). Rutin, kuersetin, kaempferol gibi önemli antiinflamatuvar aktiviteler gösteren flavonoid sınıfında yer alan ramnetin ile yapılan bir çalışmada, LPS kaynaklı TNF-alfa ve nitrik oksit salınımını azalttığı görülmüştür (Lutz, Carter, Fields, Barron, & Littleton, 2015). Güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip çok yönlü bir terapötik ajan olan kuersetinin, inflamatuvar sitokin ve enzimlerin inhibisyonu yoluyla kanıtlanmış antiinflamatuvar özellikleri, astım, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve artrit tedavisinde yer alabileceğini kanıtlar niteliktedir (Aghababaei & Hadidi, 2023).

2.5.1. Protokatesik asit

Polifenoller, bitkisel ürünlerde bol miktarda bulunan insan sağlığı üzerinde faydalı etkilere sahip doğal bileşiklerdir (Zhang et al., 2021). Polifenoller fenolik asit, flavonoit, lignan ve stilbenler olarak sınıflandırılabilirler (Kakkar & Bais, 2014) .

Fenolik asitler antinflamatuar, antikanser, antialerjik, antimikrobiyal, antiviral, antitrombotik, hepatoprotektif gibi birden çok farmakolojik ve biyolojik özelliklere sahip güçlü ve doğal antioksidanlar olarak bilinmektedirler (N. Kumar & Goel, 2019). Fenolik asitler; ferulik asit, kafeik asit, p-kumarik asit gibi çeşitlere sahip hidroksisinasimik asitler ile vanilik asit, gallik asit, p-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit (PCA) gibi örnekleri bulunan hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki farklı grupta sınıflandırılabilirler (Shahidi & Yeo, 2018). Bir fenolik asit türevidir olan PCA (3,4-dihidroksibenzoik asit, Şekil 1), polifenoller yönünden zengin sebze ve meyvelerin tüketimiyle doğru orantılı olarak sağlığı olumlu yönde etkilediği dolayısıyla önemi her geçen gün artan ve bilimsel araştırmalara konu olan değerli bir bileşiktir (Masella et al., 2012). PCA, yıldız anason (*Illicium verum*), melisa (*Melissa officinalis* L.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve tarçın (*Cinnamomum aromaticum*) gibi birçok tıbbi bitkinin içeriğinde ve kepek, tahıl, soğan gibi besinlerle beraber erik, üzüm, fındık gibi birçok meyvede de yaygın olarak yer almaktadır (Khan et al., 2015).



Şekil 2.11. Protokateşik asitin kimyasal yapısı (Khan et al., 2015)

2.5.1.1. Protokateşik asitin farmakolojik etkileri

Protokateşik asitle ilgili yapılan ve sayısı her geçen gün artan bilimsel araştırmalar, bu bileşiğin farklı moleküler hedefler üzerine etki ederek çeşitli biyolojik aktiviteler gösterebileceğini kanıtlamaktadır (Masella et al., 2012). Bu biyoaktif bileşik (PCA), antibakteriyel, antioksidan, antiülser, antikanser, antidiyabetik, yaşlanma karşıtı, antifibrotik, analjezik, antiviral, antinflamatuar, antiaterosklerotik, kardiyak, hepatoprotektif, nöroprotektif, nefroprotektif gibi farmakolojik aktivitelere sahiptir (Kakkar & Bais, 2014; Khan et al., 2015).

Protokateşik asidin serbest radikallerin oluşumunu inhibe etmesi, antioksidan aktivitesiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir. İn vitro kimyasal karsinogenezi inhibe etmesi ile farklı dokularda proapoptotik ve antiproliferatif etkiler göstermesi, PCA'nın kanser profilaksisinde potansiyel bir biyoaktif bileşik olarak faydalı olabileceğini öne sürmektedir (Kakkar & Bais, 2014). Alzheimer, Parkinson gibi ilerleyici nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol oynayan mitokondriyal disfonksiyon, nöroinflamasyon ve oksidatif hasar risklerini azaltmak ya da önlemek amacıyla protokateşik asit, nöroprotektif özellikleri dolayısıyla bu hastalıkların tedavisinde umut vaat etmektedir (Zhang et al., 2021). Benzer şekilde, siklofosamid ile indüklenen konfüzyon ve bilişsel bozukluklar üzerinde iyileşme sağlayarak nöronlar meydana gelen dejenerasyon üzerinde yararlı etkiler gösterebileceği gözlemlenmiştir (A. Salama, Elgohary, Amin, & Elwahab, 2022). Dolayısıyla, PCA'nın antioksidan, antinflamatuar, nöroprotektif ve immunomodülatör etki gibi çok yönlü biyolojik aktivitelere sahip olduğunu söylemek mümkündür.

2.5.1.2. Protokateşik asitin antinflamatuar etkisi

Sentetik ilaçların bilinmeyen bazı yan etkilere sahip olması, yeni ve güvenilir antinflamatuar ajanlara olan ihtiyacı destekler niteliktedir. Fenolik bileşikleri içeren çeşitli fitokimyasallar ile yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar, bu bileşiklerin antinflamatuar aktivite gösterdiklerini ortaya koymuştur. Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalardan elde edilen veriler, polifenollerin sinyal transdüksiyon yolları üzerinde düzenleyici olarak yararlı etkilere sahip olabileceklerini göstermektedir (Masella et al., 2012). Polifenoller, esas olarak nükleer faktör-kappa B (NF-κB) ve mitojenle etkileşen protein kinaz (MAPK) aracılığıyla antinflamatuar aktivitesini gösterirler. Bunların yanı sıra lipoksijenaz, siklooksijenaz, nitrik oksit sentaz ve önemli sitokinler gibi proinflamatuar gen ekspresyonunun modülasyonu, antinflamatuar etki göstermelerine katkı sağlar (Santangelo et al., 2007).

PCA'nın antinflamatuar etkisini test edebilmek için çeşitli deneysel hayvan modelleri geliştirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, Protokateşik asit ile ön tedavinin, karregenana ile oluşturulan pençe ödemi hacmini azaltmasının yanı sıra tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) gibi proinflamatuar sitokinlerin ve aracılarının seviyelerini düşürmede faydalı olduğu görülmüştür (Albarakati, 2022).

Yine karragenan ile indüklenen başka bir fare inflamasyon modeliyle, aktif metabolitleri siyanidin ve PCA olan siyah pirincin (*Oryza sativa L.*) antinflamatuar etkisi, LPS ile indüklenen hücre kültürü çalışmalarında incelenmiştir. Siyah pirincin ana bileşeni siyanidin-3-O-β-D-glikozit ve metabolitleri olan siyanidin ile PCA'nın TNF-α, IL-1β gibi proinflamatuvar sitokinleri; nitrik oksit (NO), prostaglandin E2 (PGE2) gibi inflamatuvar mediyatörleriyle beraber nitrik oksit sentaz (NOS) ve siklooksijenaz-2 (COX-2)'nin gen ekspresyonlarını baskıladığı gözlemlenmiştir (Min, Ryu, & Kim, 2010). Romatoid artrit hastalarında, PCA ile ön tedavinin fibroblast benzeri sinoviyositlerdeki TNF-α, IL-1β ve IL-6 seviyelerinde belirgin bir şekilde düşüşe sebep olduğu gösterilmiştir. Ayrıca inflamasyonda önemli bir sinyal yolağı olan nükleer faktör-kappa B (NF-κB) üzerindeki inhibe edici etkisi, PCA'nın antinflamatuar etkisini güçlendirmektedir (Wu et al., 2020). Benzer şekilde, LPS ile indüklenen septik akciğer hasarı üzerinde PCA ön tedavisinin, LPS'nin sebep olduğu akut akciğer hasarını önemli boyutta azalttığı, proinflamatuvar sitokinler, nükleer faktör-kappa B (NF-κB p65) gibi inflamasyon belirteçlerinin seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Alsharif et al., 2021). Yapılan başka bir çalışmada, PCA ile S-metil sistein (SMC) kombinasyonunun, etil alkol tüketimiyle beraber salınımları artan IL-6, IL-1β, TNF-α, PGE2 seviyelerini düşürdüğü görülmüştür. Yine etil alkol tüketimi ile gelişen inflamasyonun göstergeleri olan siklooksijenaz-2 (COX-2) ve miyeloperoksidaz (MPO) düzeylerinin bu kombinasyonla azaldığını söylemek mümkündür. PCA ve SMC kombinasyon tedavisinin, tek başına PCA veya SMC tedavisine göre bahsi geçen inflamasyon belirteçlerini baskılama hususunda daha etkili olduğu deney sonuçlarında gözlemlenmiştir (Lin, Yang, Chen, & Yin, 2021).

2.5.1.3. Protokatesik asitin anksiyolitik etkisi

Depresyon ve anksiyete çoğunlukla bir arada görülürler ve tıbbi rahatsızlıkların başında gelirler. Eşlik ettikleri birçok tıbbi rahatsızlığın seyrini ve tedavi yanıtını olumsuz yönde etkilerler (Karamustafaloğlu ve Yumrukçal, 2011). Örneğin; solunum yolunun kronik bir rahatsızlığı olan astıma eşlik eden depresyon ve anksiyetenin, astım kontrolünü kötü yönde etkilediği görülmüştür (Cooley vd., 2022).

Astımda önemli rol oynayan proinflamatuvar sitokin seviyelerinin anksiyeteli bireylerde daha fazla yükseldiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Jiang vd., 2014; Cooley vd., 2022).

Depresif bozuklukların patogenezinde oksidatif stresin rol alması ve PCA'nın antioksidan, nöroprotektif etkilere sahip olması, deneysel çalışmalar için umut vaat etmektedir. Yapılan bir çalışmada PCA'nın hipokampus ve serebral kortekste oksidatif hasarı baskılayarak antioksidan savunma sistemini düzenlemesinin, antidepresan benzeri aktivite göstermesiyle yakından ilişkili olabileceğini göstermektedir (Thakare vd., 2017).

Depresyon, anksiyete ve kaygı bozukluğu ile karakterize ciddi bir psikiyatrik rahatsızlık olan travma sonrası stres bozukluğuna, hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenin düzensizliği, monoamin dengesizliği gibi faktörlerin sebep olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, uzun süreli strese maruz bırakılan erkek ratlara 14 gün boyunca günde bir kez 100-200 mg/kg PCA uygulanmış ve sonuç olarak PCA'nın travma sonrası stres bozukluğuna aracılık eden kaygı, anksiyete ve depresyon gibi duygu durum bozukluklarını önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Bununla birlikte PCA'nın, ratlarda depresif bozuklukların göstergesi olan donma davranışını iyileştirdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca PCA'nın antidepresan ve anksiyolitik etkilerini, monoaminlerin ve serotonerjik sinir sisteminin modülasyonu yoluyla gösterdiği düşünülmüştür. Tüm sonuçlar PCA'nın travma sonrası stres bozukluğunu önlemede faydalı bir molekül olabileceğini göstermektedir (Sur vd., 2022).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Protokateşik Asit (Sigma, St. Louis, MO, USA), LPS (serotip 055: B5), Çözücü (Salin), Ketamin/Ksilazin (Sigma, St. Louis, MO, USA).

3.2. Kullanılan Cihazlar

Light-dark cihazı, Hole board cihazı, Activity cage cihazı (Ugo Basile 47420), Hassas Terazi (Ohaus, E12140, İsviçre).

3.3. Deney Hayvanları

Deneyde, yetişkin erkek BALB/c fareler (30-35 g) kullanıldı. Hayvanlar, Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Birimi'nden elde edildi ve deneyden önce kontrollü ortam (Sıcaklık-22 ± 1°C ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüleri) altında iki hafta boyunca barındırılarak ortama alıştırdı ve deney boyunca aynı koşullar sürdürüldü. Standart laboratuvar hayvan yemi ve su, serbest olarak sağlandı. Tüm deneylerde, hayvanlar rastgele gruplandırıldı, protokole uygun olarak 10.00 ile 17.00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Deney protokolü için Eskişehir Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alındı (Karar No: 2022-30).

3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları

İnflamasyon modeli için farelere LPS enjeksiyonundan 7 gün önce çözücü (salin), protokateşik asit (75mg/kg, i.p.) uygulandı. 7. günde, ilaç uygulamalarından 30 dakika sonra, LPS grubundaki farelere, E. coli'den izole edilen endotoksin (LPS; serotip 055: B5), steril % 0,9 NaCl içinde çözülerek 0,83 mg/kg (i.p.) dozunda uygulandı (Jiang ve ark., 2017).

Enjeksiyonlar tamamlandıktan 1 saat sonra aydınlık-karanlık, açık alan (open-field), kuyruk süspansiyon ve lokomotor aktivite testleri gerçekleştirildi. Davranış deneyleri tamamlandıktan sonra ketamin/ksilazin anestezisi (90-100 mg ketamin ve 10 mg ksilazin/kg; i.p.) altında fareler sakrifiye edildi ve beyin dokuları izole edildi.

Gruplar:

1. Kontrol (Çözücü) (n: 10)
2. LPS (n: 10)
3. PCA (75 mg/kg) (n: 10)
4. LPS + 75 mg/kg PCA (n: 10)

3.5. Deneysel Yöntemler

3.5.1. Kuyruk süspansiyon testi

Kuyruk süspansiyon testi, potansiyel antidepresan ilaçların taranmasında ve depresyonla ilgili davranışları etkilemesi beklenen diğer manipülasyonların değerlendirilmesinde yararlı olan bir fare davranış testidir. Fareler, kaçamayacakları veya yakındaki yüzeylere tutunamayacakları bir konumda bantla kuyruklarından asıldı. Hem akustik hem de görsel olarak izole edilmiş fareler, kuyruklarının ucundan yaklaşık 1 cm uzağa yerleştirilen yapışkan bant ile zeminden 50 cm yukarıya asıldı. Hareketsizlik süresi 6 dakikalık bir süre boyunca kaydedildi. Tamamen hareketsiz bir şekilde kaldıkları davranışlar ölçüldü (Brod ve ark., 2016).

3.5.2 Açık alan (Open field) testi

Açık alan testi, kemirgenlerdeki keşif ve lokomotor aktivitesinin kalitatif ve kantitatif bir ölçümünü sağlamak için kullanılır (Valvassori ve ark., 2017). Antrasit pleksiglastan yapılmış (44x44x30cm) bir cihazdır. Test sırasında hayvan merkez bölgeye bırakılarak, açık alanda 5 dakika süresince gözlemlendi ve kamera ile kaydedildi. Bu süre içerisinde hayvanın çeşitli hareketleri sayısı ile tespit edildi.

Aparatın orta dört karesinde bulunan tüm ön ayaklar tarafından tanımlanan açık alan merkezi bölgesinde geçirilen süre, horizontal düzlemdeki davranışların geçirilen karelerin sayısı (yani, yatay aktivite), vertikal düzlemdeki davranışlarının sayısı (yani, arka bacaklarda dengeleme yaparken her iki ön ayağın zeminden yukarı kaldırılması olarak tanımlanan dikey aktivite) ve kaşınma ve temizlenme sayısı tespit edildi (Papageorgoulis ve ark., 2020). Çalışma süresince her bir hayvandan sonra, düzenekteki idrar ve dışkı kalıntıları %70'lik etanol ile temizlendi. Ayrıca test uygulanırken hayvanın keşif ve anksiyeteyi işaret eden davranışları gözleme esnasında herhangi bir parametrenin gözden kaçabilme ihtimaline karşın deneyler manuel ölçümler ile eş zamanlı olarak kamera ile de kayıt altına alındı.

3.5.3. Aydınlık-karanlık (Light–dark box) testi

Test düzeneği, aydınlık ve karanlık bölgeler olmak üzere iki kompartmandan oluşmaktadır. Burada güvenilir bölge karanlık bölüm, sakınılan bölge ise aydınlatılmış bölümdür. Fareler ayrı ayrı kapıya bakan karanlık bölmenin ortasına yerleştirildi ve aktivite 5 dakika süreyle kaydedildi. Aydınlık bölmeye ilk geçiş zamanı (yani, sıçanın karanlık bölmeye ilk olarak yerleştirilmesinden tamamen aydınlık bölmesine geçmesine kadar geçen süre), aydınlık bölmede kalma zamanı ile aydınlık ve karanlık bölmelere toplam geçiş sayıları gözlemlendi (Rodríguez-Landa ve ark., 2019; Mi ve ark. 2005). Düzenekteki idrar ve dışkı kalıntıları %70'lik etanol ile temizlendi.

Ayrıca test uygulanırken hayvanın keşif ve anksiyeteyi işaret eden davranışları gözleme esnasında herhangi bir parametrenin gözden kaçabilme ihtimaline karşın deneyler manuel ölçümler ile eş zamanlı olarak kamera ile de kayıt altına alındı.

3.5.4 Lokomotor aktivite testi

Spontan lokomotor aktiviteyi değerlendirmek için, pleksiglas, kafes şeklinde olan aktivite kafesi (Ugo Basile 47420) cihazı kullanıldı. Cihazın karşılıklı iki dikey kenarında bulunan parçalar kızıl ötesi (Infrared, IR) ışınları üretmekte ve hayvan yatay ve dikey yönlerdeki hareketleri bu ışınları kesintiye uğratmakta ve bu şekilde fotosel yardımıyla kaydedilmektedir.

Cihazın elektronik düzeneği ölçülen veriyi önceden belirlenmiş olan aralıklarla kaydetmekte ve yazdırmaktadır. İlaçların injeksiyonundan 35 dk. sonra aktivite kafesine alındı ve 10 dk. süresince hayvanların lokomotor aktiviteleri ölçüldü.

3.5.5. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time qPCR) analizleri

3.5.5.1. RNA izolasyonu

LPS'nin ve tedavi gruplarının, mRNA ekspresyon değişiklikleri üzerindeki etkisini belirlemek için beyin dokusu örnekleri, RT-qPCR kullanılarak analiz edildi. (Heisler ve O'Connor, 2015). Bu amaçla, beyin örneklerinden öncelikle total RNA elde edildi. Total RNA, satın alınan RNA izolasyon kitinin protokolü takip edilerek spin kolon yöntemi ile izole edildi. Örneklerdeki RNA miktarı, BioTek Synergy (H1, BioTek ELx50) ile ölçüldü (ng/μl) ve OD 260/280 oranı 1,7-2,0 aralığında olan örneklerin saflığı yüksek kabul edilip cDNA (komplementer DNA) sentezinde kullanıldı.

3.5.5.2 cDNA (Komplementer Zincir) sentezi

Kalıp RNA'dan cDNA sentezi, bir ters transkripsiyon (reverse transcription) kiti kullanılarak gerçekleştirildi. İşlem, kit üreticisi firmanın kullanım kılavuzunda gösterdiği basamaklar takip edilerek uygulandı. Hazırlanan örnekler "Thermal cycler (Applied biosystems SimpliAmp)" cihazında, üretici firma tarafından farklı bir protokol belirtilmediği sürece 42°C'de 15 dakika ve 95°C'da 3 dakika inkübe edildi ve cDNA sentezi tamamlandı. Sentezlenen cDNA'lar bir sonraki aşamaya kadar -80°C'de muhafaza edildi.

3.5.6. Beyin dokusunda TLR-4 ve NF-κB'nin mRNA ekspresyonlarının belirlenmesi

Beyin dokusunda TLR-4 ve NF-κB'nin mRNA düzeyinde ekspresyon seviyeleri Light Cycler 96 Probes Master qPCR Sistemi (Roche Applied Science) kullanılarak değerlendirildi. Boya olarak, çift iplikli DNA'ya bağlanabilen SYBR Green kullanıldı.

Reaksiyon final konsantrasyonu, üretici firmanın belirttiği protokole uygun olarak hazırlandı ve reaksiyon, steril 8'li PCR stripleri içinde gerçekleştirildi. Reaksiyonun sıcaklık profile üretici firma tarafından farklı bir protokol belirtilmediği sürece +95°C 15 dakika, takiben 40 siklus 95°C 15 saniye, 60°C 20 saniye, 72°C 20 saniye olacak şekilde çalışıldı. Daha sonra 60°C'den 95°C'ye 0.5°C artışla kademeli olarak ısıtma işlemi gerçekleştirildi ve sıcaklıktaki her 0.5°C artışta optik ölçümler yapılarak erime eğrisi (melting curve) analizi ile erime eğrisi grafiği oluşturuldu. qPCR'da optik analiz sonucu elde edilen veriler (Ct) olarak kaydedildi ve hedef proteinlerin ekspresyon seviyeleri house keeping gen olarak belirlenen β -actin (ACTB) ile normalize edildi.

Gen ekspresyonu;

$$\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{hedef gen}} - Ct_{\text{betaactin}})_{\text{tedavigrubu}} - (Ct_{\text{hedef gen}} - Ct_{\text{beta actin}})_{\text{kontrolgrubu}}$$

Formülü kullanılarak 2- $\Delta\Delta Ct$ metodu ile mRNA ekspresyon düzeyi misli olarak azalma ya da artış şeklinde hesaplandı (Pfaffl, 2001). Çalışmada kullanılan RT-qPCR miks içeriği **Tablo 1'de**, primer dizileri **Tablo 2'de** verilmiştir.

Tablo 1. RT-qPCR miks içeriği

Bileşenler	Hacim
2X Master Mix	10 μ l
Özgül Primer (Forward)	0,8 μ l
Özgül Primer (Reverse)	0,8 μ l
cDNA	1 μ l
Nükleaz free su	7,4 μ l
Toplam	20 μ l

Tablo 2. RT-qRT-PCR analizlerinde kullanılan primer dizileri

Gen	Primer Dizisi
TLR4	F: ATGGCATGGCTTACACCACC R: GAGGCCAATTTTGTCTCCACA
NFκB	F: GCCAGACACAGATGATCGCC R: GTTTCGGGTAGGCACAGCAA
B-actin	F: GTGCTATGTTGCTCTAGACTTCG R: ATGCCACAGGATTCCATACC

3.5.7. Beyin dokusunda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerinin enzime bağılı immünosorbent testi (ELISA) ile belirlenmesi

TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyeleri ELISA kitleri kullanılarak, üretici firmanın talimatlarına göre hesaplandı. Kısaca, protein standartları ve numuneler tespit edilecek sitokine özgü antikorla kaplı 96 kuyucuklu ELISA plakalarına eklendi. Daha sonra biyotinlenmiş tespit antikor ve avidin-yaban turpu peroksidaz (HRP)-konjuge kompleksi ilave edilerek inkübasyona bırakıldı. Serbest bileşenler yıkandı ve substrat çözeltisi ile yeniden inkübe edildi. İnkübasyondan sonra reaksiyon durdurma solüsyonu ile durduruldu ve her kuyucuğun optik yoğunluğu mikropłaka okuyucu kullanılarak 450 nm'de okundu ve sonuçlar pg/mg protein olarak ifade edildi.

3.6. Veri Analizi

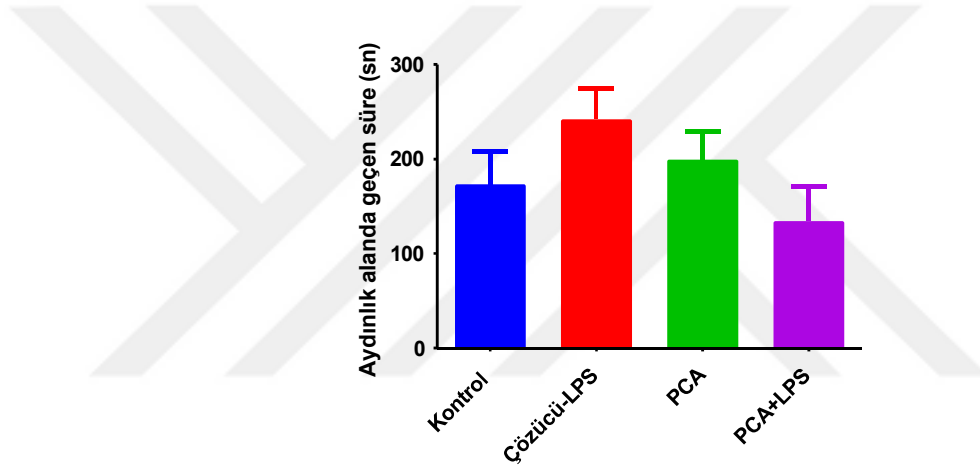
İstatiksel analizler GraphpadPrism 8.0 yazılımı kullanılarak yapıldı ve sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verildi. Normal dağılıma uyan değerlerin analizinde tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırma post-hoc testi kullanıldı. Kolmogorov-Smirnov testinde normal dağılıma uymayan değerlerin analizinde ise Kruskal-Wallis ve ardından Dunn's çoklu karşılaştırma post-hoc testi kullanıldı. p değerinin < 0.05 olduğu değerler anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR ve YORUM

4.1. Davranış Deneyleri

4.1.1. Aydınlık karanlık kutusu

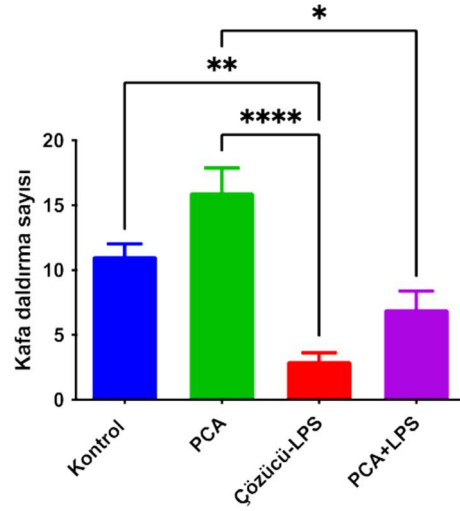
Çalışma gruplarına ait farelerin aydınlık-karanlık alan testi sonuçları **Şekil 4.1**'de gösterilmiştir. Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapılan analizler, Kontrol, PCA, ÇÖZ+LPS ve PCA+LPS gruplarında yer alan fareler için aydınlık alanda geçirilen toplam süre karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını gösterdi.



Şekil 4.1. PCA uygulamasının aydınlık-karanlık kutusu testinde aydınlık alanda geçen süre (sn) üzerine etkisi. Veriler ortalama \pm SEM olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, LPS: Lipopolisakkarit, PCA: Protokateşik asit.

4.1.2. Kafa daldırma testi

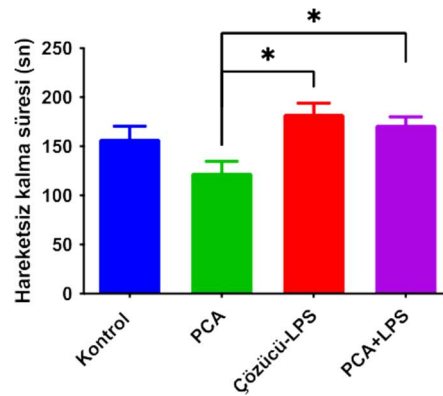
Çalışma gruplarına ait farelerin kafa daldırma testi sonuçları **Şekil 4.2**'de gösterilmiştir. Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapılan analizler, Kontrol, PCA, ÇÖZ+LPS ve PCA+LPS gruplarında yer alan fareler için kafa daldırma sayıları karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu gösterdi. Post hoc analizler, LPS uygulaması ile farelerin kafa daldırma sayısının kontrol ($p < 0.01$) ve PCA ($p < 0.0001$) gruplarına kıyasla anlamlı olarak azaldığını gösterdi. PCA uygulamasıyla birlikte kafa daldırma sayısında artış görülmesine rağmen bu artışın anlamlı olmadığı belirlendi ($p > 0.05$).



Şekil 4.2. PCA uygulamasının kafa daldırma testinde kafa daldırma sayısı üzerine etkisi. Veriler ortalama \pm SEM olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, LPS: Lipopolisakkarit, PCA: Protokateşik asit.

4.1.3. Kuyruk asma testi

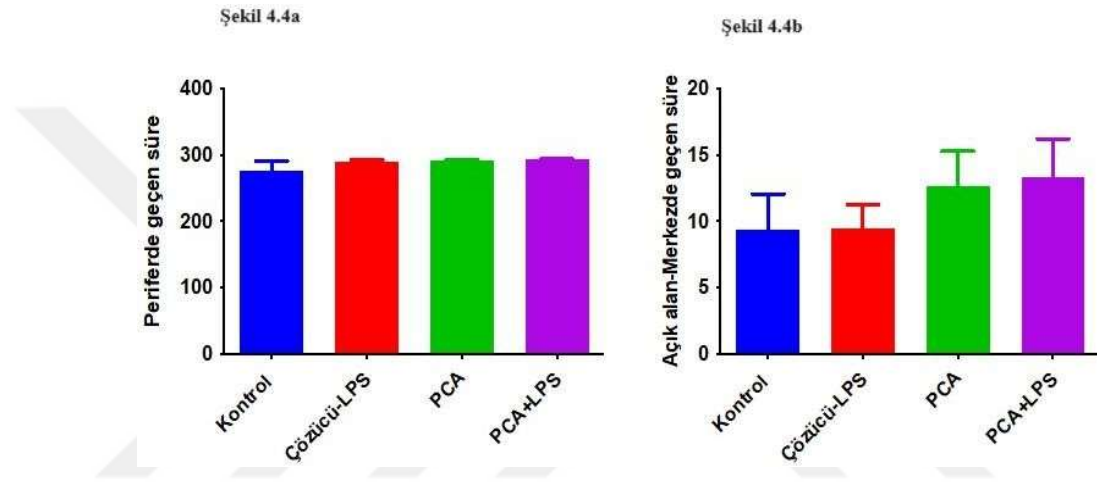
Çalışma gruplarına ait farelerin kuyruk asma testi sonuçları **Şekil 4.3**'te gösterilmiştir. Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapılan analizler, Kontrol, PCA, ÇÖZ+LPS ve PCA+LPS gruplarında yer alan fareler için hareketsiz kalma süreleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu gösterdi. Post hoc analizler, LPS uygulaması ile farelerin hareketsiz kalma sürelerinin PCA gruplarına kıyasla anlamlı bir şekilde ($p < 0.05$) artış gösterdiğini ortaya koydu. Ancak bu artış PCA+LPS kombinasyonu ile anlamlı bir değişiklik göstermedi.



Şekil 4.3. PCA uygulamasının kuyruk asma testinde hareketsiz kalma süresi (sn) üzerine etkisi. Veriler ortalama \pm SEM olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, LPS: Lipopolisakkarit, PCA: Protokateşik asit.

4.1.4. Açık alan testi

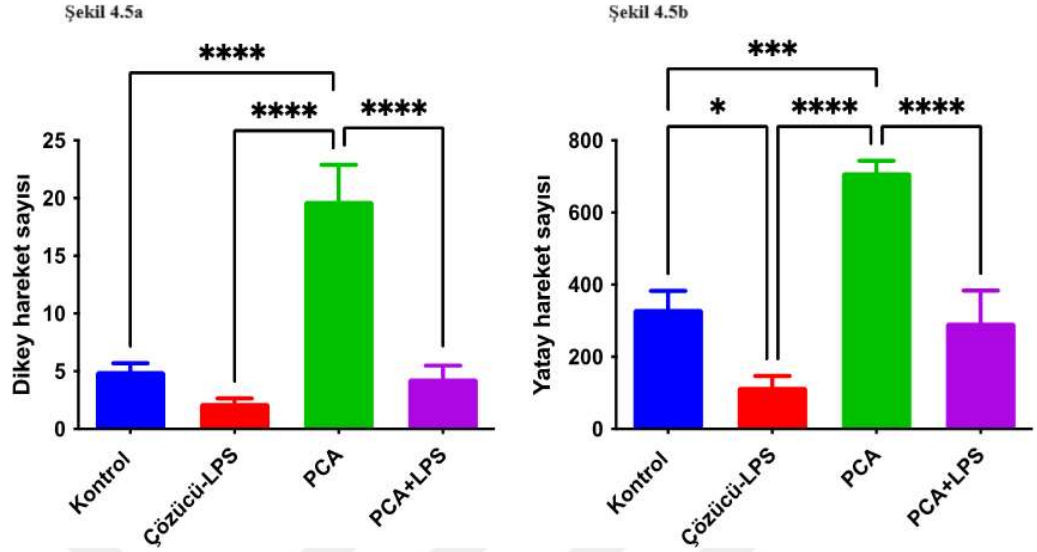
Çalışma gruplarına ait farelerin açık alan testi sonuçları Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Tek yönlü ANOVA kullanılarak yapılan analizler, Kontrol, PCA, ÇÖZ+LPS ve PCA+LPS gruplarında yer alan fareler için periferde (Şekil 4.4a) ve merkezde (Şekil 4.4b) geçirilen toplam süre karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını gösterdi.



Şekil 4.4. PCA uygulamasının açık alan testinde periferde ve merkezde geçen süre(sn) üzerine etkisi. Veriler ortalama \pm SEM olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, LPS: Lipopolisakkarit, PCA: Protokateşik asit

4.1.5. Aktivite kafesi

Çalışma gruplarına ait farelerin aktivite kafesi sonuçları Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Tek yönlü ANOVA kullanılarak yapılan analizler, Kontrol, PCA, ÇÖZ+LPS ve PCA+LPS gruplarında yer alan fareler için dikey (Şekil 4.5a) ve yatay (Şekil 4.5b) hareket sayısı değerlendirildiğinde LPS uygulaması ile dikey ve yatay hareket sayısının azaldığı, tek başına PCA uygulamasıyla bu hareketlerin kontrol ve LPS gruplarına göre anlamlı olarak arttığı, ancak PCA+LPS gruplarında bir artış görülmesine rağmen bu artışın LPS grubuna göre anlamlı olmadığı gösterilmiştir.



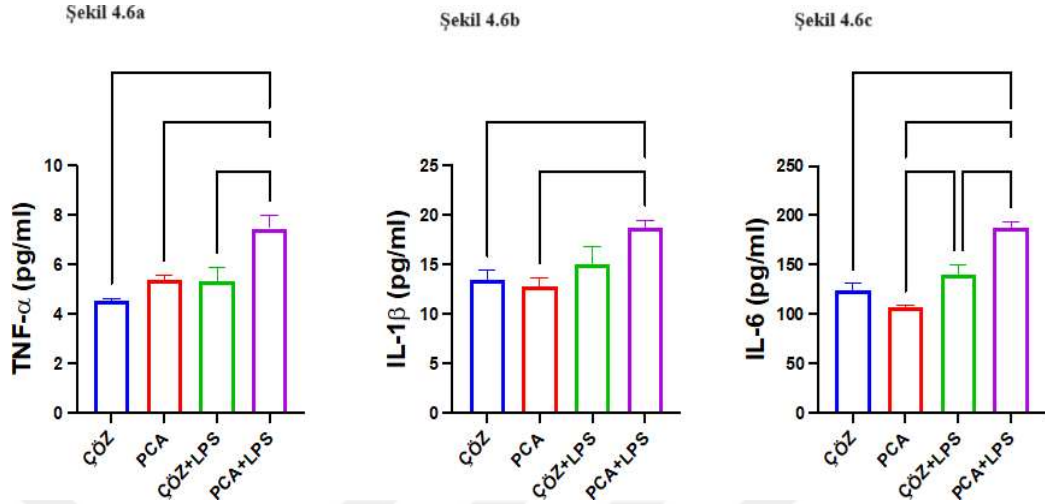
Şekil 4.5. PCA uygulamasının aktivite kafesinde dikey ve yatay hareket üzerine etkisi. Veriler ortalama \pm SEM olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, LPS: Lipopolisakkarit, PCA: Protokateşik asit

4.2. Biyokimyasal analizler

4.2.1. Protokateşik asit uygulamasının total beyin dokusunda proinflamatuvar sitokin düzeyleri üzerine etkisi

Çalışma gruplarına ait total beyin dokularında proinflamatuvar sitokin seviyelerinde meydana gelen değişimler sırasıyla Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Tek yönlü ANOVA kullanılarak yapılan analizler ÇÖZ, PCA, ÇÖZ+LPS ve PCA+LPS gruplarında yer alan fareler için beyin dokusunda TNF- α (Şekil 4.6a), IL-1 β (Şekil 4.6b) ve IL-6 (Şekil 4.6c) seviyeleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu gösterdi. Post hoc analizler, TNF- α ve IL-1 β seviyelerinin özellikle LPS ile kombine edilen PCA gruplarında en yüksek olduğunu gösterdi ($p < 0.05$).

IL-6 seviyeleri ise hem ÇÖZ+LPS hem de PCA+LPS gruplarında PCA gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0.05$ ve $p < 0.0001$; sırasıyla).



Şekil 4.6. PCA uygulamasının total beyin dokusunda proinflatuar sitokin düzeyleri üzerine etkisi. Veriler ortalama \pm SEM olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, LPS: Lipopolisakkarit, PCA: Protokateşik asit, TLR-4: Toll-benzeri reseptör-4.

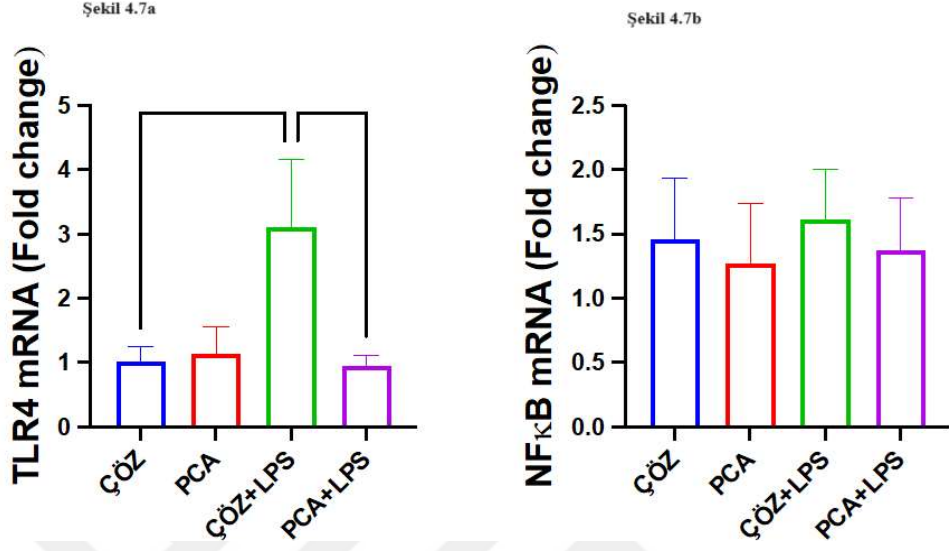
4.3. Gen Ekspresyonu Analizleri

4.3.1. Protokateşik asit uygulamasının total beyin dokusunda TLR-4 ve NFKB mRNA düzeyleri üzerine etkisi

Çalışma gruplarında yer alan farelerin total beyin dokularında TLR-4 reseptörünün ve NFKB'nin mRNA düzeyinde ekspresyonu analiz edilerek gruplar arası farklılıklar değerlendirilmiştir (Şekil 4.7).

Kontrol, PCA, ÇÖZ+LPS ve PCA+LPS gruplarında yer alan farelerin TLR-4 ekspresyonları karşılaştırıldığında (Şekil 4.7a), gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görüldü. Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılan post-hoc analizlerde, LPS uygulaması yapılan farelerde TLR-4 mRNA ekspresyon düzeyleri, kontrol (ÇÖZ) grubuna kıyasla anlamlı bir artış gösterdi ($p < 0.05$). PCA uygulamasıyla birlikte, PCA+LPS grubunda, beyin dokusundaki TLR-4 mRNA ekspresyon düzeyleri LPS grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldı ($p < 0.05$). ÇÖZ grubu ile PCA arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı.

NFKB mRNA ekspresyonlarının ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi (Şekil 4.7b).



Şekil 4.7. PCA uygulamasının total beyin dokusunda TLR-4 ve NFκB mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkisi. Veriler ortalama \pm SEM olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, LPS: Lipopolisakkarit, PCA: Protokateşik asit, TLR-4: Toll-benzeri reseptör-4.

5. TARTIŞMA

PCA, geniş yelpazede biyolojik aktivitelere sahip olan bir fenolik bileşiktir. Yapılan araştırmalar, PCA'nın çeşitli farmakolojik etkiler gösterdiğini ve farklı moleküler hedefler üzerinde etkin olduğunu ortaya koymaktadır. Bu çalışmada, PCA'nın LPS ile indüklenen sistemik inflamasyon modelinde antiinflamatuvar, anksiyolitik ve antidepresan etkilerini ve bu etkilerin moleküler mekanizmalarını incelemek amacıyla planlanmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler, PCA'nın LPS ile indüklenen inflamasyon modelinde TLR-4 ekspresyon seviyeleri üzerinde inhibitör etkileri olduğunu ve nöroinflamasyon süreçlerini modüle etme potansiyeli olduğunu ortaya koymaktadır.

Gram-negatif bakterilerin dış membranlarında bulunan güçlü bir endotoksin olan LPS, sistemik uygulandığında proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6 gibi) hızla salınımını indükleyerek, akut inflamatuvar yanıtları ve sepsis benzeri durumları taklit eder (Alexander & Rietschel, 2001). Bu özellikleri nedeniyle LPS, inflamasyon ve inflamatuvar hastalıkların patofizyolojisini incelemek için yaygın olarak kullanılan bir modeldir. LPS, beyinde mikroglia aktivasyonunu ve proinflamatuvar sitokin salınımını artırarak nöroinflamasyonu indükler, bu da nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynar (Qin et al., 2007). Son yıllarda yapılan araştırmalar, depresyon ve anksiyete gibi nöropsikiyatrik bozuklukların patogenezinde inflamasyonun önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Depresyon ve anksiyete, geleneksel olarak nörotransmitter dengesizlikleri ile ilişkilendirilse de inflamatuvar süreçlerin bu bozuklukların gelişiminde ve sürdürülmesinde önemli bir rol oynadığı anlaşılmaktadır (Robert Dantzer, Jason C. O'Connor, Gregory G. Freund, Rodney W. Johnson, & Keith W. Kelley, 2008).

Posttravmatik stres bozukluğu modeli (Sur, Kwon, Hahm, & Lee, 2022) veya kronik öngörülemez hafif stres modeli (Vishnu N. Thakare et al., 2021) gibi farklı modellerde PCA'nın anksiyolitik etkisi gösterilmiş olmasına rağmen bizim çalışmamızda anksiyete benzeri davranışları değerlendirmek için kullanılan aydınlık-karanlık kutusu testinde, PCA ve LPS gruplarında aydınlık alanda geçirilen süreler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Ayrıca çalışmamızda, LPS uygulaması ile farelerin kafa daldırma sayısı anlamlı olarak azalmış ve bu etki PCA tarafından kısmen önlenebilmiştir. Ancak, bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmaması PCA'nın anksiyete benzeri davranışlar üzerindeki koruyucu etkisinin, LPS'nin yoğun inflamatuvar uyarıcı etkisi karşısında yetersiz kalabileceğini düşündürmektedir. Açık alan testinde PCA'nın kontrol grubuna göre dikey ve yatay hareket sayısını artırması, PCA'nın farelerde anksiyete seviyelerini azaltarak daha fazla keşif davranışını teşvik ettiğini işaret etmesine rağmen, PCA'nın anksiyete benzeri davranışlar üzerindeki etkilerinin sınırlı olduğunu veya uygulanan doz ve sürenin bu etkileri ortaya çıkarmaya yeterli olmadığı düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalar, PCA'nın beyin-kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) düzeyinin korunması ve oksidatif stres yanıtının, sitokin sistemlerinin ve antioksidan savunma sisteminin modülasyonu yoluyla antidepresan potansiyeli olduğunu göstermektedir (Vishnu N Thakare, Dhakane, & Patel, 2017; Vishnu N. Thakare et al., 2021). Bizim çalışmamızda, LPS, beyinde güçlü bir inflamatuvar yanıt oluşturarak, nöroinflamasyon yoluyla depresif benzeri davranışları tetiklemiş ve farelerin hareketsiz kalma sürelerini artırmıştır, ancak PCA bu etkileri tamamen ortadan kaldıramamıştır. Proinflamatuvar sitokinlerin, depresyon ve anksiyete semptomlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi sitokinlerin seviyelerinin depresyon ve anksiyete hastalarında arttığı bildirilmiştir (Raison, Capuron, & Miller, 2006). Yapılan önceki çalışmalarda, PCA'nın IL-1 β -ile indüklenen inflamasyon modelinde Akt/eNOS yolağı aracılı antiinflamatuvar etkiler göstererek vasküler endotelial fonksiyonu koruduğu (Chook et al., 2023), siklofosamid ile indüklenen pulmoner hasarı, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler göstererek azalttığı (Abeer Salama, Elgohary, Amin, & Elwahab, 2023) gösterilmiştir. Benzer şekilde, iskemi reperfüzyon hasarına bağlı böbrek hasarı (Yüksel et al., 2017), ateroskleroz (Ding et al., 2024) miyokard infarktüsü (Li et al., 2023), romatoid artrit (Wu et al., 2020) ve oksidatif stres gibi farklı hastalık modellerinde (Adeyanju et al., 2022)

PCA'nın dokularda antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteler yoluyla toksisiteye karşı koruma sağladığı gösterilmiştir. Diyetle alınan PCA'nın, LPS'ye maruz kalmış domuz yavrularında bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek ve IL-6, IL-2 ve TNF- α gibi proinflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonunu azaltarak inflamasyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (Hu et al., 2020). LPS kullanılarak yapılan *in vitro* (González de Llano, Roldán, Parro, Bartolomé, & Moreno-Arribas, 2023; Kaewmool, Kongtawelert, Phitak, Pothacharoen, & Udomruk, 2020; H. Y. Wang et al., 2015) ve mastit (Zhao, Jin, & Yang, 2023), akut akciğer hasarı (Alsharif et al., 2021; Wei et al., 2012) ve sepsis gibi *in vivo* inflamatuvar modellerde (Yan et al., 2004) PCA'nın farklı proinflamatuvar sinyal yollarını hedef alarak inflamasyon belirteçlerini azalttığı ve hastalıkları hafiflettiği bildirilmiştir.

LPS, konakçı immün sistemi tarafından Toll-benzeri reseptör 4 (TLR4) aracılığıyla tanınır ve bu etkileşim inflamatuvar yanıtların başlatılmasında kritik bir rol oynar. TLR4, LPS ile bağlandığında, hücre içi sinyal yollarını aktive ederek proinflamatuvar sitokinlerin (örneğin, TNF- α , IL-1 β ve IL-6) salınımını tetikler. Bu yanıt, enfeksiyonlara karşı hızlı ve etkili bir savunma mekanizması sağlar. Ancak, aşırı TLR4 aktivasyonu, sepsis ve kronik inflamatuvar hastalıklar gibi patolojik durumlara yol açabilir (Beutler & Rietschel, 2003; Medzhitov, 2001). LPS'nin TLR4 ile etkileşimi, NF- κ B ve MAPK gibi anahtar transkripsiyon faktörlerini aktive eder, bu da inflamatuvar genlerin ekspresyonunu artırır. Bu süreç, patojenlere karşı immün yanıtın etkinliğini artırırken, kontrolsüz inflamatuvar yanıtların gelişmesine de zemin hazırlayabilir. Bu nedenle, TLR4 sinyal yolunun düzenlenmesi, inflamatuvar hastalıkların tedavisinde önemli bir hedef olarak kabul edilir (O'Neill, Golenbock, & Bowie, 2013).

Yapılan çalışmalar, PCA'nın farklı koşullar altında immün cevabı farklı şekilde modüle edebileceğini göstermektedir. Örneğin Ronning ve ark., PCA ve metabolitlerinin LPS ile indüklenen NF- κ B aktivitesini azalttığını ancak IL-6 and TNF- α sitokin sekresyonunu etkilemediğini *in vitro* çalışmalarla göstermiştir (Rønning, Voldvik, Bergum, Aaby, & Borge, 2020). Ayrıca, Scazzocchio ve ark., gestasyonel diyabet ve normal glukoz toleransına sahip hamile kadınlardan elde edilen visseral adipöz doku üzerinde yaptıkları çalışmada PCA'nın bazı inflamatuvar mediyatörlerin seviyelerini düzenlediğini, ancak IL6 ve TNF α üzerinde etkisi olmadığını bildirmişlerdir (Scazzocchio et al., 2021).

Çalışmamızda, PCA'nın TLR4 ekspresyonunu azaltmasına rağmen, sitokin seviyelerini tamamen düşürememesi ve LPS'nin etkilerini tam olarak geri döndürememesi, PCA'nın bu koşullar altında sınırlı bir nöroprotektif etkisi olduğunu göstermektedir. PCA'nın TLR4 sinyalini baskılama yeteneği, sistemik inflamatuvar yanıtı tamamen engelleyemeyebilir ve MAPK gibi diğer inflamatuvar yolların aktive olmasına izin verebilir. Bu aktivasyon, proinflamatuvar sitokinlerin salımına yol açabilir. Dolayısıyla PCA'nın farklı koşullarda immün yanıtları nasıl modüle edebileceğinin daha iyi anlaşılması için ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ

Akut inflamasyon, pek çok hastalığın patogeneğinde yer alan önemli bir faktördür. TLR4 aracılığıyla başlatılan nöroinflamasyon süreçleri pek çok nörodejeneratif hastalığın yanı sıra depresyon ve anksiyete gibi nöropsikiyatrik bozuklukların da gelişiminde kritik bir rol oynar. TLR4, LPS gibi PAMP moleküllerini tanıyarak inflamatuvar yanıtları başlatır. LPS ile indüklenen inflamasyon modelleri, inflamatuvar süreçlerin ve potansiyel tedavi yaklaşımlarının araştırılmasında yaygın olarak kullanılır.

Pek çok nörodejeneratif hastalığın patogeneğinde anahtar mekanizma olan nöroinflamasyon, özellikle TLR4 aracılı sinyal yollarının aktivasyonu ile tetiklenir. Mikroglia ve astrositlerin TLR4 aracılığıyla aktif hale gelmesi, beyin hücrelerinde proinflamatuvar sitokinlerin salınımına yol açar ve bu da beyin dokusunda hasara neden olur. Dolayısıyla, nöroinflamasyonun modülasyonu, santral sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde potansiyel bir hedef olarak büyük ilgi görmektedir.

Doğal bileşikler, geniş biyolojik aktiviteleri ve genellikle düşük yan etki profilleri nedeniyle araştırma alanında büyük ilgi görmektedir. Polifenolik bileşikler, antioksidan, antiinflamatuvar ve nöroprotektif özellikleri ile dikkat çeker. PCA gibi doğal bileşikler, inflamasyon ve nöroinflamasyon süreçlerini modüle edebilir, bu da akut ve kronik inflamatuvar hastalıkların tedavisinde potansiyel terapötik ajan olarak değerlendirilmesine olanak tanır. PCA, çeşitli biyolojik aktiviteleri ile dikkat çeken bir fenolik bileşiktir ve antiinflamatuvar, nöroprotektif, anksiyolitik ve antidepresan etkiler göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, PCA'nın inflamasyon ve nöroinflamasyon üzerindeki potansiyel faydalarını ortaya koymakla birlikte PCA'nın etkilerini daha iyi anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. İleri çalışmalar, PCA'nın optimal dozajı, uygulama süresi ve moleküler mekanizmalarının daha detaylı incelenmesi ile bu bileşimin terapötik potansiyelini daha net bir şekilde ortaya koyabilir.



KAYNAKÇA

- Adeyanju, A. A., Asejeje, F. O., Molehin, O. R., Owoeye, O., Olatoye, E. O., & Ekpo, E. N. (2022). Protective role of protocatechuic acid in carbon tetrachloride-induced oxidative stress via modulation of proinflammatory cytokines levels in brain and liver of Wistar rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 33(2), 143-154. doi:doi:10.1515/jbcpp-2020-0202
- Aghababaei, F., & Hadidi, M. (2023). Recent Advances in Potential Health Benefits of Quercetin. *Pharmaceuticals (Basel)*, 16(7). doi:10.3390/ph16071020
- Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124(4), 783-801.
- Albarakati, A. J. A. (2022). Protocatechuic acid counteracts oxidative stress and inflammation in carrageenan-induced paw edema in mice. *Environ Sci Pollut Res Int*, 29(37), 56393-56402. doi:10.1007/s11356-022-19688-9
- Alessandri, A. L., Sousa, L. P., Lucas, C. D., Rossi, A. G., Pinho, V., & Teixeira, M. M. (2013). Resolution of inflammation: mechanisms and opportunity for drug development. *Pharmacol Ther*, 139(2), 189-212. doi:10.1016/j.pharmthera.2013.04.006
- Alexander, C., & Rietschel, E. T. (2001). Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J Endotoxin Res*, 7(3), 167-202.
- Alsharif, K. F., Almalki, A. A., Alsanie, W. F., Alzahrani, K. J., Kabrah, S. M., Elshopakey, G. E., Salem, F. E. H. (2021). Protocatechuic acid attenuates lipopolysaccharide-induced septic lung injury in mice: The possible role through suppressing oxidative stress, inflammation and apoptosis. *J Food Biochem*, 45(10), e13915. doi:10.1111/jfbc.13915
- Aluri, J., Cooper, M. A., & Schuettpelz, L. G. (2021). Toll-Like Receptor Signaling in the Establishment and Function of the Immune System. *Cells*, 10(6). doi:10.3390/cells10061374
- Ansar, W., & Ghosh, S. (2016). Inflammation and Inflammatory Diseases, Markers, and Mediators: Role of CRP in Some Inflammatory Diseases. *Biology of C Reactive Protein in Health and Disease*, 67-107. doi:10.1007/978-81-322-2680-2_4
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 5276130. doi:10.1155/2016/5276130
- Azam, S., Jakaria, M., Kim, I. S., Kim, J., Haque, M. E., & Choi, D. K. (2019). Regulation of Toll-Like Receptor (TLR) Signaling Pathway by Polyphenols in the Treatment of Age-Linked Neurodegenerative Diseases: Focus on TLR4 Signaling. *Front Immunol*, 10, 1000. doi:10.3389/fimmu.2019.01000

- Banks, W. A., Gray, A. M., Erickson, M. A., Salameh, T. S., Damodarasamy, M., Sheibani, N., . . . Reed, M. J. (2015). Lipopolysaccharide-induced blood-brain barrier disruption: roles of cyclooxygenase, oxidative stress, neuroinflammation, and elements of the neurovascular unit. *J Neuroinflammation*, *12*, 223. doi:10.1186/s12974-015-0434-1
- Bansal, P., Verma, D., Singh Tamber, S., & Sharma, R. (2023). An update on pathogenesis of inflammatory disorders with its management. *RPS Pharmacy and Pharmacology Reports*, *2*(2). doi:10.1093/rpsppr/rqad011
- Barrio, L., Saez de Guinoa, J., & Carrasco, Y. R. (2013). TLR4 signaling shapes B cell dynamics via MyD88-dependent pathways and Rac GTPases. *J Immunol*, *191*(7), 3867-3875. doi:10.4049/jimmunol.1301623
- Bennett, J. M., Reeves, G., Billman, G. E., & Sturmberg, J. P. (2018). Inflammation—Nature's Way to Efficiently Respond to All Types of Challenges: Implications for Understanding and Managing “the Epidemic” of Chronic Diseases. *Frontiers in Medicine*, *5*. doi:10.3389/fmed.2018.00316
- Bertani, B., & Ruiz, N. (2018). Function and Biogenesis of Lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*, *8*(1). doi:10.1128/ecosalplus.ESP-0001-2018
- Beutler, B., & Rietschel, E. T. (2003). Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. *Nature Reviews Immunology*, *3*(2), 169-176. doi:10.1038/nri1004
- Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochem Pharmacol*, *180*, 114147. doi:10.1016/j.bcp.2020.114147
- Botos, I., Segal, D. M., & Davies, D. R. (2011). The structural biology of Toll-like receptors. *Structure*, *19*(4), 447-459. doi:10.1016/j.str.2011.02.004
- Bradl, M., & Hohlfeld, R. (2003). Molecular pathogenesis of neuroinflammation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *74*(10), 1364-1370. doi:10.1136/jnnp.74.10.1364
- Brandl, S., & Reindl, M. (2023). Blood-Brain Barrier Breakdown in Neuroinflammation: Current In Vitro Models. *Int J Mol Sci*, *24*(16). doi:10.3390/ijms241612699
- Brenner, D. R., Scherer, D., Muir, K., Schildkraut, J., Boffetta, P., Spitz, M. R., . . . Hung, R. J. (2014). A review of the application of inflammatory biomarkers in epidemiologic cancer research. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *23*(9), 1729-1751. doi:10.1158/1055-9965.EPI-14-0064
- Carson, M. J., Doose, J. M., Melchior, B., Schmid, C. D., & Ploix, C. C. (2006). CNS immune privilege: hiding in plain sight. *Immunol Rev*, *213*, 48-65. doi:10.1111/j.1600-065X.2006.00441.x
- Catorce, M. N., & Gevorkian, G. (2016). LPS-induced Murine Neuroinflammation Model: Main Features and Suitability for Pre-clinical Assessment of Nutraceuticals. *Curr Neuropharmacol*, *14*(2), 155-164. doi:10.2174/1570159x14666151204122017

- Chitnis, T., & Weiner, H. L. (2017). CNS inflammation and neurodegeneration. *The Journal of clinical investigation*, 127(10), 3577-3587.
- Chook, C. Y. B., Cheung, Y. M., Ma, K. Y., Leung, F. P., Zhu, H., Niu, Q. J., . . . Chen, Z.-Y. (2023). Physiological concentration of protocatechuic acid directly protects vascular endothelial function against inflammation in diabetes through Akt/eNOS pathway. *Frontiers in Nutrition*, 10. doi:10.3389/fnut.2023.1060226
- Chung, Y. C., Ko, H. W., Bok, E., Park, E. S., Huh, S. H., Nam, J. H., & Jin, B. K. (2010). The role of neuroinflammation on the pathogenesis of Parkinson's disease. *BMB Rep*, 43(4), 225-232. doi:10.5483/bmbrep.2010.43.4.225
- Cooper, C., Chapurlat, R., Al-Daghri, N., Herrero-Beaumont, G., Bruyere, O., Rannou, F., . . . Reginster, J. Y. (2019). Safety of Oral Non-Selective Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Osteoarthritis: What Does the Literature Say? *Drugs Aging*, 36(Suppl 1), 15-24. doi:10.1007/s40266-019-00660-1
- Daneman, R., & Prat, A. (2015). The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 7(1), a020412. doi:10.1101/cshperspect.a020412
- Dansokho, C., Ait Ahmed, D., Aid, S., Toly-Ndour, C., Chaigneau, T., Calle, V., . . . Aucouturier, P. (2016). Regulatory T cells delay disease progression in Alzheimer-like pathology. *Brain*, 139(4), 1237-1251.
- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*, 9(1), 46-56. doi:10.1038/nrn2297
- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 46-56. doi:10.1038/nrn2297
- De Nardo, D. (2015). Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation. *Cytokine*, 74(2), 181-189. doi:10.1016/j.cyto.2015.02.025
- Deguine, J., & Barton, G. M. (2014). MyD88: a central player in innate immune signaling. *F1000Prime Rep*, 6, 97. doi:10.12703/P6-97
- Dey, A., Kang, X., Qiu, J., Du, Y., & Jiang, J. (2016). Anti-Inflammatory Small Molecules To Treat Seizures and Epilepsy: From Bench to Bedside. *Trends Pharmacol Sci*, 37(6), 463-484. doi:10.1016/j.tips.2016.03.001
- Diaz-Castro, B., Bernstein, A. M., Coppola, G., Sofroniew, M. V., & Khakh, B. S. (2021). Molecular and functional properties of cortical astrocytes during peripherally induced neuroinflammation. *Cell Rep*, 36(6), 109508. doi:10.1016/j.celrep.2021.109508
- Dinan, T. G. (2009). Inflammatory markers in depression. *Curr Opin Psychiatry*, 22(1), 32-36. doi:10.1097/YCO.0b013e328315a561

- Dinarello, C. A. (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118(2), 503-508. doi:10.1378/chest.118.2.503
- Dinarello, C. A. (2010). Anti-inflammatory Agents: Present and Future. *Cell*, 140(6), 935-950. doi:10.1016/j.cell.2010.02.043
- Ding, H., Liu, J., Chen, Z., Huang, S., Yan, C., Kwek, E., . . . Chen, Z.-Y. (2024). Protocatechuic acid alleviates TMAO-aggravated atherosclerosis via mitigating inflammation, regulating lipid metabolism, and reshaping gut microbiota. *Food & function*.
- DiSabato, D. J., Quan, N., & Godbout, J. P. (2016). Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem*, 139 Suppl 2(Suppl 2), 136-153. doi:10.1111/jnc.13607
- Dowlati, Y., Herrmann, N., Swardfager, W., Liu, H., Sham, L., Reim, E. K., & Lanctot, K. L. (2010). A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry*, 67(5), 446-457. doi:10.1016/j.biopsych.2009.09.033
- El-Zayat, S. R., Sibaii, H., & Mannaa, F. A. (2019). Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 187. doi:10.1186/s42269-019-0227-2
- Elgazzar, A. H., & Elmonayeri, M. (2015). Inflammation. In A. H. Elgazzar (Ed.), *The Pathophysiologic Basis of Nuclear Medicine* (pp. 69-98). Cham: Springer International Publishing.
- Estes, M. L., & McAllister, A. K. (2014). Alterations in immune cells and mediators in the brain: it's not always neuroinflammation! *Brain Pathology*, 24(6), 623-630.
- Felger, J. C. (2018). Imaging the Role of Inflammation in Mood and Anxiety-related Disorders. *Curr Neuropharmacol*, 16(5), 533-558. doi:10.2174/1570159X15666171123201142
- Fitzgerald, K. A., & Kagan, J. C. (2020). Toll-like Receptors and the Control of Immunity. *Cell*, 180(6), 1044-1066. doi:10.1016/j.cell.2020.02.041
- Garcia-Vello, P., Di Lorenzo, F., Zucchetta, D., Zamyatina, A., De Castro, C., & Molinaro, A. (2022). Lipopolysaccharide lipid A: A promising molecule for new immunity-based therapies and antibiotics. *Pharmacol Ther*, 230, 107970. doi:10.1016/j.pharmthera.2021.107970
- Gay, N. J., & Gangloff, M. (2007). Structure and function of Toll receptors and their ligands. *Annu Rev Biochem*, 76, 141-165. doi:10.1146/annurev.biochem.76.060305.151318
- Ghavami, S., Shojaei, S., Yeganeh, B., Ande, S. R., Jangamreddy, J. R., Mehrpour, M., . . . Los, M. J. (2014). Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog Neurobiol*, 112, 24-49. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.10.004
- González de Llano, D., Roldán, M., Parro, L., Bartolomé, B., & Moreno-Arribas, M. V. (2023). Activity of Microbial-Derived Phenolic Acids and Their Conjugates against

LPS-Induced Damage in Neuroblastoma Cells and Macrophages. *Metabolites*, 13(1). doi:10.3390/metabo13010108

- Heidari, A., Yazdanpanah, N., & Rezaei, N. (2022). The role of Toll-like receptors and neuroinflammation in Parkinson's disease. *J Neuroinflammation*, 19(1), 135. doi:10.1186/s12974-022-02496-w
- Hortová-Kohoutková, M., Tidu, F., De Zuani, M., Šrámek, V., Helán, M., & Frič, J. (2020). Phagocytosis-Inflammation Crosstalk in Sepsis: New Avenues for Therapeutic Intervention. *Shock*, 54(5), 606-614. doi:10.1097/shk.0000000000001541
- Hu, R., He, Z., Liu, M., Tan, J., Zhang, H., Hou, D.-X., . . . Wu, S. (2020). Dietary protocatechuic acid ameliorates inflammation and up-regulates intestinal tight junction proteins by modulating gut microbiota in LPS-challenged piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11(1), 92. doi:10.1186/s40104-020-00492-9
- Iwasaki, A., & Medzhitov, R. (2004). Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nature immunology*, 5(10), 987-995.
- Kaewmool, C., Kongtawelert, P., Phitak, T., Pothacharoen, P., & Udomruk, S. (2020). Protocatechuic acid inhibits inflammatory responses in LPS-activated BV2 microglia via regulating SIRT1/NF- κ B pathway contributed to the suppression of microglial activation-induced PC12 cell apoptosis. *J Neuroimmunol*, 341, 577164. doi:10.1016/j.jneuroim.2020.577164
- Kakkar, S., & Bais, S. (2014). A review on protocatechuic Acid and its pharmacological potential. *ISRN Pharmacol*, 2014, 952943. doi:10.1155/2014/952943
- Kalyan, M., Tousif, A. H., Sonali, S., Vichitra, C., Sunanda, T., Praveenraj, S. S., . . . Chidambaram, S. B. (2022). Role of Endogenous Lipopolysaccharides in Neurological Disorders. *Cells*, 11(24). doi:10.3390/cells11244038
- Kawasaki, H., & Taira, K. (2002). A functional gene discovery in the Fas-mediated pathway to apoptosis by analysis of transiently expressed randomized hybrid-ribozyme libraries. *Nucleic Acids Res*, 30(16), 3609-3614. doi:10.1093/nar/gkf476
- Khan, A. K., Rashid, R., Fatima, N., Mahmood, S., Mir, S., Khan, S., . . . Murtaza, G. (2015). Pharmacological Activities of Protocatechuic Acid. *Acta Pol Pharm*, 72(4), 643-650. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26647619>
- Knirel, Y. A., Anisimov, A. P., Kislichkina, A. A., Kondakova, A. N., Bystrova, O. V., Vagaiskaya, A. S., . . . Dentovskaya, S. V. (2021). Lipopolysaccharide of the *Yersinia pseudotuberculosis* Complex. *Biomolecules*, 11(10). doi:10.3390/biom11101410
- Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., & Kuchroo, V. K. (2009). IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol*, 27, 485-517. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132710
- Kouli, A., Horne, C. B., & Williams-Gray, C. H. (2019). Toll-like receptors and their therapeutic potential in Parkinson's disease and alpha-synucleinopathies. *Brain Behav Immun*, 81, 41-51. doi:10.1016/j.bbi.2019.06.042

- Krishnadas, R., & Cavanagh, J. (2012). Depression: an inflammatory illness? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *83*(5), 495-502. doi:10.1136/jnnp-2011-301779
- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol Rep (Amst)*, *24*, e00370. doi:10.1016/j.btre.2019.e00370
- Kumar, V. (2020). Pulmonary Innate Immune Response Determines the Outcome of Inflammation During Pneumonia and Sepsis-Associated Acute Lung Injury. *Front Immunol*, *11*, 1722. doi:10.3389/fimmu.2020.01722
- Kuprash, D. V., & Nedospasov, S. A. (2016). Molecular and Cellular Mechanisms of Inflammation. *Biochemistry (Mosc)*, *81*(11), 1237-1239. doi:10.1134/S0006297916110018
- L. Kiss, A. (2022). Inflammation in Focus: The Beginning and the End. *Pathology and Oncology Research*, *27*. doi:10.3389/pore.2021.1610136
- Langer, H. F., & Chavakis, T. (2009). Leukocyte-endothelial interactions in inflammation. *J Cell Mol Med*, *13*(7), 1211-1220. doi:10.1111/j.1582-4934.2009.00811.x
- Lawrence, J. M., Schardien, K., Wigdahl, B., & Nonnemacher, M. R. (2023). Roles of neuropathology-associated reactive astrocytes: a systematic review. *Acta Neuropathol Commun*, *11*(1), 42. doi:10.1186/s40478-023-01526-9
- Li, L., Ma, H., Zhang, Y., Jiang, H., Xia, B., Sberi, H. A., . . . Kassab, R. B. (2023). Protocatechuic acid reverses myocardial infarction mediated by β -adrenergic agonist via regulation of Nrf2/HO-1 pathway, inflammatory, apoptotic, and fibrotic events. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, *37*(3), e23270. doi:<https://doi.org/10.1002/jbt.23270>
- Libby, P. (2007). Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev*, *65*(12 Pt 2), S140-146. doi:10.1111/j.1753-4887.2007.tb00352.x
- Liddelow, S. A., Guttenplan, K. A., Clarke, L. E., Bennett, F. C., Bohlen, C. J., Schirmer, L., Barres, B. A. (2017). Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature*, *541*(7638), 481-487. doi:10.1038/nature21029
- Lier, J., Streit, W. J., & Bechmann, I. (2021). Beyond Activation: Characterizing Microglial Functional Phenotypes. *Cells*, *10*(9). doi:10.3390/cells10092236
- Lim, K. H., & Staudt, L. M. (2013). Toll-like receptor signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, *5*(1), a011247. doi:10.1101/cshperspect.a011247
- Lin, C. C., Yang, Y. C., Chen, C. Y., & Yin, M. C. (2021). Combination of s-methyl cysteine and protocatechuic acid provided greater lipid-lowering and anti-inflammatory effects in mice liver against chronic alcohol consumption. *Iran J Basic Med Sci*, *24*(8), 1146-1152. doi:10.22038/ijbms.2021.56705.12660
- Liu, J., Qian, C., & Cao, X. (2016). Post-Translational Modification Control of Innate Immunity. *Immunity*, *45*(1), 15-30. doi:10.1016/j.immuni.2016.06.020

- Liu, Y., Yang, W., Xue, J., Chen, J., Liu, S., Zhang, S., . . . Qiu, P. (2023). Neuroinflammation: The central enabler of postoperative cognitive dysfunction. *Biomed Pharmacother*, *167*, 115582. doi:10.1016/j.biopha.2023.115582
- Lutz, J. A., Carter, M., Fields, L., Barron, S., & Littleton, J. M. (2015). The Dietary Flavonoid Rhamnetin Inhibits Both Inflammation and Excitotoxicity During Ethanol Withdrawal in Rat Organotypic Hippocampal Slice Cultures. *Alcohol Clin Exp Res*, *39*(12), 2345-2353. doi:10.1111/acer.12896
- Malkiewicz, M. A., Szarmach, A., Sabisz, A., Cubala, W. J., Szurowska, E., & Winkiewski, P. J. (2019). Blood-brain barrier permeability and physical exercise. *J Neuroinflammation*, *16*(1), 15. doi:10.1186/s12974-019-1403-x
- Margraf, A., Lowell, C., & Zarbock, A. (2021). Neutrophils in acute inflammation - current concepts and translational implications. *Blood*, *139*. doi:10.1182/blood.2021012295
- Markiewski, M. M., & Lambris, J. D. (2007). The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight. *Am J Pathol*, *171*(3), 715-727. doi:10.2353/ajpath.2007.070166
- Masella, R., Santangelo, C., D'Archivio, M., Li Volti, G., Giovannini, C., & Galvano, F. (2012). Protocatechuic acid and human disease prevention: biological activities and molecular mechanisms. *Curr Med Chem*, *19*(18), 2901-2917. doi:10.2174/092986712800672102
- Maskrey, B. H., Megson, I. L., Whitfield, P. D., & Rossi, A. G. (2011). Mechanisms of resolution of inflammation: a focus on cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, *31*(5), 1001-1006. doi:10.1161/ATVBAHA.110.213850
- Masrori, P., Beckers, J., Gossye, H., & Van Damme, P. (2022). The role of inflammation in neurodegeneration: novel insights into the role of the immune system in C9orf72 HRE-mediated ALS/FTD. *Mol Neurodegener*, *17*(1), 22. doi:10.1186/s13024-022-00525-z
- Medzhitov, R. (2001). Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, *1*(2), 135-145. doi:10.1038/35100529
- Megha, K. B., Joseph, X., Akhil, V., & Mohanan, P. V. (2021). Cascade of immune mechanism and consequences of inflammatory disorders. *Phytomedicine*, *91*, 153712. doi:10.1016/j.phymed.2021.153712
- Miller, A. H., Haroon, E., & Felger, J. C. (2017). Therapeutic Implications of Brain-Immune Interactions: Treatment in Translation. *Neuropsychopharmacology*, *42*(1), 334-359. doi:10.1038/npp.2016.167
- Miller, A. H., Maletic, V., & Raison, C. L. (2009). Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry*, *65*(9), 732-741. doi:10.1016/j.biopsych.2008.11.029

- Min, S. W., Ryu, S. N., & Kim, D. H. (2010). Anti-inflammatory effects of black rice, cyanidin-3-O-beta-D-glycoside, and its metabolites, cyanidin and protocatechuic acid. *Int Immunopharmacol*, *10*(8), 959-966. doi:10.1016/j.intimp.2010.05.009
- Mockenhaupt, K., Gonsiewski, A., & Kordula, T. (2021). RelB and Neuroinflammation. *Cells*, *10*(7). doi:10.3390/cells10071609
- Montinari, M. R., Minelli, S., & De Caterina, R. (2019). The first 3500 years of aspirin history from its roots - A concise summary. *Vascul Pharmacol*, *113*, 1-8. doi:10.1016/j.vph.2018.10.008
- Moyse, E., Krantic, S., Djellouli, N., Roger, S., Angoulvant, D., Debaq, C., . . . Aidoud, A. (2022). Neuroinflammation: A Possible Link Between Chronic Vascular Disorders and Neurodegenerative Diseases. *Front Aging Neurosci*, *14*, 827263. doi:10.3389/fnagi.2022.827263
- Netea, M. G., Balkwill, F., Chonchol, M., Cominelli, F., Donath, M. Y., Giamarellos-Bourboulis, E. J., . . . Dinarello, C. A. (2017). A guiding map for inflammation. *Nat Immunol*, *18*(8), 826-831. doi:10.1038/ni.3790
- Norris, M. H., Somprasong, N., Schweizer, H. P., & Tuanyok, A. (2018). Lipid A Remodeling Is a Pathoadaptive Mechanism That Impacts Lipopolysaccharide Recognition and Intracellular Survival of *Burkholderia pseudomallei*. *Infect Immun*, *86*(10). doi:10.1128/IAI.00360-18
- Nourshargh, S., & Alon, R. (2014). Leukocyte migration into inflamed tissues. *Immunity*, *41*(5), 694-707. doi:10.1016/j.immuni.2014.10.008
- Nourshargh, S., Hordijk, P. L., & Sixt, M. (2010). Breaching multiple barriers: leukocyte motility through venular walls and the interstitium. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *11*(5), 366-378. doi:10.1038/nrm2889
- O'Neill, L. A. J., Golenbock, D., & Bowie, A. G. (2013). The history of Toll-like receptors — redefining innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, *13*(6), 453-460. doi:10.1038/nri3446
- Olajide, O. A., Bhatia, H. S., de Oliveira, A. C., Wright, C. W., & Fiebich, B. L. (2013). Anti-neuroinflammatory properties of synthetic cryptolepine in human neuroblastoma cells: possible involvement of NF-kappaB and p38 MAPK inhibition. *Eur J Med Chem*, *63*, 333-339. doi:10.1016/j.ejmech.2013.02.004
- Orsolic, N., & Jazvinscak Jembrek, M. (2022). Molecular and Cellular Mechanisms of Propolis and Its Polyphenolic Compounds against Cancer. *Int J Mol Sci*, *23*(18). doi:10.3390/ijms231810479
- Owen, A. M., Fults, J. B., Patil, N. K., Hernandez, A., & Bohannon, J. K. (2020). TLR Agonists as Mediators of Trained Immunity: Mechanistic Insight and Immunotherapeutic Potential to Combat Infection. *Front Immunol*, *11*, 622614. doi:10.3389/fimmu.2020.622614

- Pardridge, W. M. (2007). Blood-brain barrier delivery. *Drug Discov Today*, 12(1-2), 54-61. doi:10.1016/j.drudis.2006.10.013
- Peng, X., Luo, Z., He, S., Zhang, L., & Li, Y. (2021). Blood-Brain Barrier Disruption by Lipopolysaccharide and Sepsis-Associated Encephalopathy. *Front Cell Infect Microbiol*, 11, 768108. doi:10.3389/fcimb.2021.768108
- Pober, J. S., & Sessa, W. C. (2014). Inflammation and the blood microvascular system. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 7(1), a016345. doi:10.1101/cshperspect.a016345
- Puech, C., Badran, M., Runion, A. R., Barrow, M. B., Cataldo, K., & Gozal, D. (2023). Cognitive Impairments, Neuroinflammation and Blood-Brain Barrier Permeability in Mice Exposed to Chronic Sleep Fragmentation during the Daylight Period. *Int J Mol Sci*, 24(12). doi:10.3390/ijms24129880
- Qin, L., Wu, X., Block, M. L., Liu, Y., Breese, G. R., Hong, J. S., . . . Crews, F. T. (2007). Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia*, 55(5), 453-462. doi:10.1002/glia.20467
- Radenovic, L., Nenadic, M., Ułamek-Kozioł, M., Januszewski, S., Czuczwar, S. J., Andjus, P. R., & Pluta, R. (2020). Heterogeneity in brain distribution of activated microglia and astrocytes in a rat ischemic model of Alzheimer's disease after 2 years of survival. *Aging (albany NY)*, 12(12), 12251.
- Raison, C. L., Capuron, L., & Miller, A. H. (2006). Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol*, 27(1), 24-31. doi:10.1016/j.it.2005.11.006
- Riley, J. S., & Tait, S. W. (2020). Mitochondrial DNA in inflammation and immunity. *EMBO Rep*, 21(4), e49799. doi:10.15252/embr.201949799
- Rønning, S. B., Voldvik, V., Bergum, S. K., Aaby, K., & Borge, G. I. A. (2020). Ellagic acid and urolithin A modulate the immune response in LPS-stimulated U937 monocytic cells and THP-1 differentiated macrophages. *Food Funct*, 11(9), 7946-7959. doi:10.1039/c9fo03008e
- Rossaint, J., & Zarbock, A. (2013). Tissue-specific neutrophil recruitment into the lung, liver, and kidney. *J Innate Immun*, 5(4), 348-357. doi:10.1159/000345943
- Salama, A., Elgohary, R., Amin, M., & Elwahab, S. (2023). Impact of protocatechuic acid on alleviation of pulmonary damage induced by cyclophosphamide targeting peroxisome proliferator activator receptor, silent information regulator type-1, and fork head box protein in rats. *Inflammopharmacology*, 31, 1-12. doi:10.1007/s10787-023-01156-6
- Salama, A., Elgohary, R., Amin, M. M., & Elwahab, S. A. (2022). Immunomodulatory effect of protocatechuic acid on cyclophosphamide induced brain injury in rat: Modulation of inflammasomes NLRP3 and SIRT1. *Eur J Pharmacol*, 932, 175217. doi:10.1016/j.ejphar.2022.175217

- Sameer, A. S., & Nissar, S. (2021). Toll-Like Receptors (TLRs): Structure, Functions, Signaling, and Role of Their Polymorphisms in Colorectal Cancer Susceptibility. *Biomed Res Int*, 2021, 1157023. doi:10.1155/2021/1157023
- Santangelo, C., Vari, R., Scazzocchio, B., Di Benedetto, R., Filesi, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita*, 43(4), 394-405. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18209273>
- Scazzocchio, B., Filardi, T., Vari, R., Brunelli, R., Galoppi, P., Morano, S., . . . Santangelo, C. (2021). Protocatechuic acid influences immune-metabolic changes in the adipose tissue of pregnant women with gestational diabetes mellitus. *Food Funct*, 12(16), 7490-7500. doi:10.1039/d1fo00267h
- Serhan, C. N., Brain, S. D., Buckley, C. D., Gilroy, D. W., Haslett, C., O'Neill, L. A., . . . Wallace, J. L. (2007). Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *FASEB J*, 21(2), 325-332. doi:10.1096/fj.06-7227rev
- Shahidi, F., & Yeo, J. (2018). Bioactivities of Phenolics by Focusing on Suppression of Chronic Diseases: A Review. *Int J Mol Sci*, 19(6). doi:10.3390/ijms19061573
- Shlosberg, D., Benifla, M., Kaufer, D., & Friedman, A. (2010). Blood-brain barrier breakdown as a therapeutic target in traumatic brain injury. *Nat Rev Neurol*, 6(7), 393-403. doi:10.1038/nrneurol.2010.74
- Simi, A., Tsakiri, N., Wang, P., & Rothwell, N. J. (2007). Interleukin-1 and inflammatory neurodegeneration. *Biochem Soc Trans*, 35(Pt 5), 1122-1126. doi:10.1042/BST0351122
- Singh, D. (2022). Astrocytic and microglial cells as the modulators of neuroinflammation in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation*, 19(1), 206. doi:10.1186/s12974-022-02565-0
- Skaper, S. D., Facci, L., Zusso, M., & Giusti, P. (2018). An inflammation-centric view of neurological disease: beyond the neuron. *Frontiers in cellular neuroscience*, 12, 72.
- Skrzypczak-Wiercioch, A., & Salat, K. (2022). Lipopolysaccharide-Induced Model of Neuroinflammation: Mechanisms of Action, Research Application and Future Directions for Its Use. *Molecules*, 27(17). doi:10.3390/molecules27175481
- Sofroniew, M. V., & Vinters, H. V. (2010). Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*, 119(1), 7-35. doi:10.1007/s00401-009-0619-8
- Sur, B., Kwon, S., Hahm, D. H., & Lee, B. (2022). The Anxiolytic-Like Effects of Protocatechuic Acid in an Animal Model of Post-Traumatic Stress Disorder. *J Med Food*, 25(5), 495-502. doi:10.1089/jmf.2021.K.0172
- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 6(10), a016295. doi:10.1101/cshperspect.a016295

- Thakare, V. N., Dhakane, V. D., & Patel, B. M. (2017). Attenuation of acute restraint stress-induced depressive like behavior and hippocampal alterations with protocatechuic acid treatment in mice. *Metabolic brain disease*, 32, 401-413.
- Thakare, V. N., Lakade, S. H., Mahajan, M. P., Kulkarni, Y. P., Dhakane, V. D., Harde, M. T., & Patel, B. M. (2021). Protocatechuic acid attenuates chronic unpredictable mild stress induced-behavioral and biochemical alterations in mice. *European Journal of Pharmacology*, 898, 173992. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.173992>
- Thakur, K. K., Bolshette, N. B., Trandafir, C., Jamdade, V. S., Istrate, A., Gogoi, R., & Cucuianu, A. (2015). Role of toll-like receptors in multiple myeloma and recent advances. *Exp Hematol*, 43(3), 158-167. doi:10.1016/j.expphem.2014.11.003
- Tsutsumi, S., Gotoh, T., Tomisato, W., Mima, S., Hoshino, T., Hwang, H. J., . . . Mizushima, T. (2004). Endoplasmic reticulum stress response is involved in nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis. *Cell Death Differ*, 11(9), 1009-1016. doi:10.1038/sj.cdd.4401436
- Vezzani, A., Aronica, E., Mazarati, A., & Pittman, Q. J. (2013). Epilepsy and brain inflammation. *Exp Neurol*, 244, 11-21. doi:10.1016/j.expneurol.2011.09.033
- Wang, H. Y., Wang, H., Wang, J. H., Wang, Q., Ma, Q. F., & Chen, Y. Y. (2015). Protocatechuic Acid Inhibits Inflammatory Responses in LPS-Stimulated BV2 Microglia via NF- κ B and MAPKs Signaling Pathways. *Neurochem Res*, 40(8), 1655-1660. doi:10.1007/s11064-015-1646-6
- Wang, Q., Liu, Y., & Zhou, J. (2015). Neuroinflammation in Parkinson's disease and its potential as therapeutic target. *Transl Neurodegener*, 4, 19. doi:10.1186/s40035-015-0042-0
- Wang, Y., Song, E., Bai, B., & Vanhoutte, P. M. (2016). Toll-like receptors mediating vascular malfunction: Lessons from receptor subtypes. *Pharmacol Ther*, 158, 91-100. doi:10.1016/j.pharmthera.2015.12.005
- Wei, M., Chu, X., Jiang, L., Yang, X., Cai, Q., Zheng, C., . . . Deng, X. (2012). Protocatechuic acid attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Inflammation*, 35(3), 1169-1178. doi:10.1007/s10753-011-9425-2
- Wu, H., Wang, J., Zhao, Q., Ding, Y., Zhang, B., & Kong, L. (2020). Protocatechuic acid inhibits proliferation, migration and inflammatory response in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 48(1), 969-976. doi:10.1080/21691401.2020.1776307
- Xu, Y., Jia, B., Li, J., Li, Q., & Luo, C. (2024). The Interplay between Ferroptosis and Neuroinflammation in Central Neurological Disorders. *Antioxidants (Basel)*, 13(4). doi:10.3390/antiox13040395
- Yamamoto, M., & Takeda, K. (2010). Current views of toll-like receptor signaling pathways. *Gastroenterol Res Pract*, 2010, 240365. doi:10.1155/2010/240365

- Yan, J. J., Jung, J. S., Hong, Y. J., Moon, Y. S., Suh, H. W., Kim, Y. H., . . . Song, D. K. (2004). Protective effect of protocatechuic acid isopropyl ester against murine models of sepsis: inhibition of TNF-alpha and nitric oxide production and augmentation of IL-10. *Biol Pharm Bull*, 27(12), 2024-2027. doi:10.1248/bpb.27.2024
- Yang, L., Zhou, R., Tong, Y., Chen, P., Shen, Y., Miao, S., & Liu, X. (2020). Neuroprotection by dihydrotestosterone in LPS-induced neuroinflammation. *Neurobiol Dis*, 140, 104814. doi:10.1016/j.nbd.2020.104814
- Yüksel, M., Yıldar, M., Başbuğ, M., Çavdar, F., Çıkman, Ö., Akşit, H., . . . Akşit, D. (2017). Does protocatechuic acid, a natural antioxidant, reduce renal ischemia reperfusion injury in rats? *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 23(1), 1-6. doi:10.5505/tjtes.2016.20165
- Zhang, S., Gai, Z., Gui, T., Chen, J., Chen, Q., & Li, Y. (2021). Antioxidant Effects of Protocatechuic Acid and Protocatechuic Aldehyde: Old Wine in a New Bottle. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 6139308. doi:10.1155/2021/6139308
- Zhao, L., Jin, L., & Yang, B. (2023). Protocatechuic acid inhibits LPS-induced mastitis in mice through activating the pregnane X receptor. *J Cell Mol Med*, 27(16), 2321-2327. doi:10.1111/jcmm.17812
- Zheng, C., Chen, J., Chu, F., Zhu, J., & Jin, T. (2019). Inflammatory Role of TLR-MyD88 Signaling in Multiple Sclerosis. *Front Mol Neurosci*, 12, 314. doi:10.3389/fnmol.2019.00314
- Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008). Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annu Rev Plant Biol*, 59, 735-769. doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092730



T.C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

Toplantı No: 7 Dosya Kayıt No: 22-25 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	"Protokatesik Asit Yüklü Nano Yapılı Lipit Taşıyıcı (NLC) Sistemin LPS ile İndüklenen Sistemik İnflamasyonda İn vivo Etkilerinin İncelenmesi"
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Prof. Dr. Rana ARSLAN Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Doç.Dr.Evrin YENİLMEZ, Doç.Dr.Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN,Dr.Öğr.Üy.Dilara NEMUTLU SAMUR
	Hayvan Türü ve Sayısı	Balb/c/(Erkek) 50

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	Var
-----------------------	----------------------------------	-----

KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. RANA ARSLAN'ın araştırma yürütücüsü olduğu 22-25 dosya kayıt no'lu ve "Protokatesik Asit Yüklü Nano Yapılı Lipit Taşıyıcı (NLC) Sistemin LPS ile İndüklenen Sistemik İnflamasyonda İn vivo Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı etik kurul başvurusu; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.	
	KARAR NO: 2022-25	KARAR TARİHİ: 21.09.2022

ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVANI / ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	SİRLERİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Simge Yıldırım

Yabancı Dil : İngilizce/Almanca

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- Lisans: 2014-2019, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi.
- Yüksek Lisans: 2021-2024, Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı.
- 2022-2024, Mesul Müdür, Bursa Eczacılar Kooperatifi (BEK) Antalya Şube.
- 2021-2022, Mesul Müdür, Bursa Eczacılar Kooperatifi (BEK) Konya Şube.
- 2019-2021, Yardımcı ve İkinci Eczacı, Barış Eczanesi, Manavgat/Antalya.