

**RATLARDA ALÜMİNYUM KAYNAKLI  
NÖROTOKSİSİTEYE KARŞI LUTEOLİN'İN  
ETKİLERİNİN P53, A $\beta$ , BDNF,  $\alpha$ -SYN VE CYP2E1  
GEN İFADE DÜZEYLERİ ÜZERİNDEN  
ARAŞTIRILMASI**

**Şeyma AYDIN**

**Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL  
İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Selçuk ÖZDEMİR**

**Doktora Tezi**

**Moleküler Biyoloji & Genetik Ana Bilim Dalı**

**2025**

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ & GENETİK ANA BİLİM DALI

**RATLARDA ALÜMİNYUM KAYNAKLI NÖROTOKSİSİTEYE KARŞI  
LUTEOLİN'İN ETKİLERİNİN P53, A $\beta$ , BDNF,  $\alpha$ -SYN VE CYP2E1 GEN İFADE  
DÜZEYLERİ ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI**

(Investigation of the Effects of Luteolin Against Aluminum-Induced Neurotoxicity in Rats  
Through Gene Expression Levels of P53, A $\beta$ , BDNF,  $\alpha$ -Syn, and CYP2E1)

DOKTORA TEZİ

Şeyma AYDIN

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL  
İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Selçuk ÖZDEMİR

Erzurum  
Kasım 2025



**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
Graduate School of Natural and  
Applied Sciences

**T.C.**  
**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ**  
**Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü**  
**TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI**

Ratlarda Alüminyum Kaynaklı Nörotoksositeye Karşı Luteolin'in Etkilerinin P53, A $\beta$ , BDNF,  $\alpha$ -syn ve CYP2E1 Gen İfade Düzeyleri Üzerinden Araştırılması

Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL danışmanlığında, Şeyma AYDIN tarafından hazırlanan bu çalışma, 06/11/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji & Genetik Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji & Genetik Bilim Dalı'nda doktora tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu** (.../...) ile kabul edilmiştir.

|                          |                                                                   |                      |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Jüri Başkanı:            | Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL<br><i>Atatürk Üniversitesi</i>           | Aslı ıslak imzalıdır |
| Jüri Üyesi:              | Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN<br><i>Atatürk Üniversitesi</i>            | Aslı ıslak imzalıdır |
| Jüri Üyesi:              | Doç. Dr. Sefa KÜÇÜKLER<br><i>Atatürk Üniversitesi</i>             | Aslı ıslak imzalıdır |
| Jüri Üyesi:              | Prof. Dr. Kenan KARAGÖZ<br><i>Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi</i> | Aslı ıslak imzalıdır |
| Jüri Üyesi:              | Doç. Dr. Burak ALAYLAR<br><i>Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi</i>  | Aslı ıslak imzalıdır |
| İkinci Tez<br>Danışmanı: | Doç. Dr. Selçuk ÖZDEMİR<br><i>Atatürk Üniversitesi</i>            | Aslı ıslak imzalıdır |

Enstitü Yönetim  
Kurulunun .../.../... tarih  
ve ..... sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

**Prof.Dr. Alper NUHOĞLU**  
**Enstitü Müdürü**

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.  
Proje No: FDK-2024-13953

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
Graduate School of Natural and  
Applied Sciences

T.C.  
**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

### ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL danışmanlığında sunulan “Ratlarda Alüminyum Kaynaklı Nörotoksositeye Karşı Luteolin'in Etkilerinin P53, A $\beta$ , BDNF,  $\alpha$ -syn ve CYP2E1 Gen İfade Düzeyleri Üzerinden Araştırılması” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

| Tez Bölümleri                   | Tezin Benzerlik Oranı (%) | Maksimum Oran (%) |
|---------------------------------|---------------------------|-------------------|
| Giriş                           | 1                         | 30                |
| Kuramsal Temeller               | 5                         | 30                |
| Materyal ve Metot               | 16                        | 35                |
| Araştırma Bulguları ve Tartışma | 18                        | 20                |
| Sonuçlar ve Öneriler            | 2                         | 20                |
| Tezin Geneli                    | 10                        | 25                |

**Not:** Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

|                             |                            |
|-----------------------------|----------------------------|
| <b>Tez Yazarı (Öğrenci)</b> | <b>Tez Danışmanı</b>       |
| Şeyma AYDIN                 | Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL   |
| 17.11.2025                  | 17.11.2025                 |
| İmza: Aslı ıslak imzalıdır  | İmza: Aslı ıslak imzalıdır |

\* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve ..... sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve ..... sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

Not: Bu form, Tezin son şekline uygun olarak bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tezin sonuna eklenmelidir.

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi, deneyim ve rehberlikleriyle yol gösteren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocalarım Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL ve Doç. Dr. Selçuk ÖZDEMİR'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora sürecim boyunca değerli katkılarını ve desteklerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarım Doç. Dr. Sefa KÜÇÜKLER ve Doç. Dr. Selim ÇOMAKLI'ya teşekkür ederim. Tez izleme komitesi üyem sayın Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN'a, tez çalışmam süresince göstermiş olduğu ilgi, yapıcı eleştirileri ve değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca, akademik yolculuğuma önemli katkılar sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmamın yürütülmesi sürecinde ilgilerini ve desteklerini her zaman hissettiren Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne ve bu çalışmayı FDK-2024-13953 numaralı proje kapsamında destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (BAP) teşekkür ederim. Ayrıca, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu – Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'na (TÜBİTAK-BİDEB), 2211-A Yurt İçi Genel Doktora Burs Programı kapsamında verdikleri destekten dolayı teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca koşulsuz sevgi, sabır ve destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ve minnettarlığımı sunarım.

Şeyma AYDIN

## ÖZET

### DOKTORA TEZİ

#### RATLARDA ALÜMİNYUM KAYNAKLI NÖROTOKSİSİTEYE KARŞI LUTEOLİN'İN ETKİLERİNİN P53, A $\beta$ , BDNF, $\alpha$ -SYN VE CYP2E1 GEN İFADE DÜZEYLERİ ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI

Şeyma AYDIN

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Selçuk ÖZDEMİR

**Amaç:** Bu tez çalışmasının amacı, alüminyum klorür (AlCl<sub>3</sub>) maruziyetinin sıçan beyin dokusunda oluşturduğu toksisiteye karşı luteolin'in (LUT) potansiyel koruyucu etkilerini incelemektir. Bu doğrultuda, oksidatif stres, apoptoz, inflamasyon ve nörodejeneratif süreçlerle ilişkili biyobelirteçler kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir.

**Materyal ve Metot:** Hayvanlar her biri yedi sıçandan oluşan beş gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna serum fizyolojik, LUT grubuna 50 mg/kg luteolin, AlCl<sub>3</sub> grubuna 4,2 mg/kg i.p. AlCl<sub>3</sub> uygulanmıştır. AlCl<sub>3</sub>+LUT25 grubuna 4,2 mg/kg AlCl<sub>3</sub>+25 mg/kg LUT, AlCl<sub>3</sub>+LUT50 grubuna 4,2 mg/kg AlCl<sub>3</sub>+50 mg/kg LUT verilmiştir. Uygulamalar 30 gün sürmüştür. Beyin dokularında AlCl<sub>3</sub> uygulamasının neden olduğu nörotoksik etkiler ve LUT'un koruyucu rolü moleküler, biyokimyasal ve histopatolojik düzeyde değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Öncelikle, AlCl<sub>3</sub> maruziyetinin beyinde oksidatif stres artışı, apoptoz, inflamasyon, protein birikimi ile nörotrofik ve kolinerjik bozukluklara yol açtığı bir kez daha ortaya konmuştur. Artan MDA düzeyi, azalan SOD, KAT ve GPx aktiviteleri ile düşen GSH seviyelerinin yanında baskılanan *Nrf2/Ho-1* yanıtı ve yükselen *Cyp2e1* ekspresyonu oksidatif hasarı yansıtmıştır. Artan *Bax*, *p53* ve *Jnk* ile azalan *Bcl-2* ekspresyonu apoptozu; yükselen IL-1 $\beta$  seviyeleri ve *Nfkb1* ekspresyonu ise inflamasyonu göstermiştir. Ayrıca  $\alpha$ -syn ve A $\beta$  seviyelerindeki değişikliklerle birlikte BDNF, c-Fos ve kolinerjik iletim parametrelerindeki bozulmalar, AlCl<sub>3</sub>'ün nöronal işlevleri olumsuz etkilediğini ortaya koymuştur. LUT tedavisinin ise bu değişiklikleri belirgin şekilde düzelttiği gözlemlenmiştir. LUT, antioksidan savunmayı güçlendirip *Nrf2/Ho-1* yolunu aktive etmiş, *Cyp2e1* ekspresyonunu baskılamıştır. Apoptoz belirteçlerini düzenleyerek hücre ölümünü azaltmış; IL-1 $\beta$  düzeylerini ve *Nfkb1* gen ekspresyonunu baskılayarak inflamasyonu sınırlamıştır. Ayrıca  $\alpha$ -syn ve A $\beta$  birikimine etki ederken BDNF ve c-Fos düzeylerini yükseltmiş, AChE aktivitesini dengeleyerek kolinerjik iletimi korumuştur.

**Sonuç:** Bulgular, LUT uygulamasının AlCl<sub>3</sub> kaynaklı nörotoksisiteyi çok yönlü mekanizmalar aracılığıyla hedef alarak belirgin nöroprotektif etkiler sağladığını ve bu tür nörotoksisiteye karşı potansiyel bir koruyucu ajan olabileceğini ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Luteolin, alüminyum klorür, nörotoksisite, apoptoz, inflamasyon, gen ifadesi

Kasım 2025, 123 sayfa

## ABSTRACT

### DOCTORAL DISSERTATION

#### INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF LUTEOLIN AGAINST ALUMINUM-INDUCED NEUROTOXICITY IN RATS THROUGH GENE EXPRESSION LEVELS OF P53, A $\beta$ , BDNF, $\alpha$ -SYN, AND CYP2E1

Şeyma AYDIN

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Co-supervisor: Assoc. Prof. Dr. Selçuk ÖZDEMİR

**Objective:** This thesis study aims to investigate the potential protective effects of luteolin (LUT) against the toxicity induced by aluminum chloride (AlCl<sub>3</sub>) in rat brain tissue. Accordingly, biomarkers associated with oxidative stress, apoptosis, inflammation, and neurodegenerative processes were comprehensively evaluated.

**Materials and Methods:** The animals were divided into five groups, each consisting of seven rats. The control group received normal saline, the LUT group administered 50 mg/kg luteolin, and the AlCl<sub>3</sub> group received 4.2 mg/kg i.p. AlCl<sub>3</sub>. The AlCl<sub>3</sub>+LUT25 group received 4.2 mg/kg AlCl<sub>3</sub>+25 mg/kg LUT, and the AlCl<sub>3</sub>+LUT50 group received 4.2 mg/kg AlCl<sub>3</sub>+50 mg/kg LUT. All treatments were conducted for 30 days. The neurotoxic effects of AlCl<sub>3</sub> and the protective role of LUT in brain tissues were evaluated at the molecular, biochemical, and histopathological levels.

**Results:** Firstly, AlCl<sub>3</sub> exposure was once again shown to cause oxidative stress, apoptosis, inflammation, protein accumulation, and neurotrophic and cholinergic impairments in the brain. Increased MDA levels, decreased SOD, KAT and GPx activities, decreased GSH levels, as well as suppressed Nrf2/Ho-1 response and increased Cyp2e1 expression reflected oxidative damage. Increased *Bax*, *p53*, and *Jnk*, along with decreased *Bcl-2* expression, indicated apoptosis, while elevated IL-1 $\beta$  levels and *Nfkb1* expression indicated inflammation. In addition, alterations in  $\alpha$ -syn and A $\beta$  levels, together with impairments in BDNF, c-Fos, and cholinergic transmission parameters, revealed that AlCl<sub>3</sub> adversely affected neuronal functions. LUT treatment was observed to markedly reverse these changes. LUT strengthened antioxidant defense and activated the *Nrf2/Ho-1* pathway, suppressed *Cyp2e1* expression, regulated apoptotic markers to reduce cell death, and limited inflammation by suppressing IL-1 $\beta$  levels and *Nfkb1* expression. Moreover, it affected  $\alpha$ -syn and A $\beta$  accumulation, increased BDNF and c-Fos levels, and maintained cholinergic transmission by balancing AChE activity.

**Conclusion:** The findings demonstrated that LUT exerts pronounced neuroprotective effects against AlCl<sub>3</sub>-induced neurotoxicity by targeting multiple mechanisms and may serve as a potential protective agent against such neurotoxic insults.

**Keywords:** Luteolin, aluminum chloride, neurotoxicity, apoptosis, inflammation, gene expression

November 2025, 123 pages

## İÇİNDEKİLER

|                                                                         |      |
|-------------------------------------------------------------------------|------|
| ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU .....                              | i    |
| TEŞEKKÜR .....                                                          | ii   |
| ÖZET .....                                                              | iii  |
| ABSTRACT .....                                                          | iv   |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                   | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                   | viii |
| KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ .....                                    | xi   |
| GİRİŞ .....                                                             | 1    |
| KURAMSAL TEMELLER .....                                                 | 4    |
| Beynin Yapısal ve Fonksiyonel Organizasyonu .....                       | 4    |
| Nöronlar ve Glia Hücreleri .....                                        | 4    |
| Beyin Üzerinde Metal Toksisitesi ve Patolojik Sonuçları .....           | 6    |
| Alüminyum ve Maruziyet Kaynakları .....                                 | 7    |
| Alüminyumun emilimi .....                                               | 9    |
| Alüminyumun dağılımı .....                                              | 11   |
| Alüminyumun atılımı .....                                               | 11   |
| Alüminyum Maruziyetinin Sağlık Üzerindeki Etkileri .....                | 11   |
| Alüminyum ve Hücre İçi Sinyal İletimi .....                             | 13   |
| Alüminyum Toksisitesinin Mekanizmaları .....                            | 14   |
| Alüminyumun nörotoksik etkilerinde oksidatif stresin rolü .....         | 15   |
| Beyinde kolinesterazların rolü ve alüminyum toksisitesi .....           | 16   |
| Sinaptik plastisite ve BDNF .....                                       | 17   |
| Beyinde alüminyum toksisitesinin p53 yolağına etkisi .....              | 18   |
| Nöroinflamasyon .....                                                   | 19   |
| Protein agregasyonları ve nörotoksite .....                             | 21   |
| Beyinde alüminyum toksisitesinin CYP2E1 üzerine etkisi .....            | 23   |
| Nörotoksite sonucu gelişen fonksiyonel ve davranışsal bozukluklar ..... | 24   |
| Luteolin .....                                                          | 25   |
| Luteolin emilimi ve biyoyararlanımı .....                               | 26   |
| Luteolin'in etki mekanizması .....                                      | 27   |
| Luteolin'in nöroprotektif etki mekanizmaları .....                      | 29   |
| MATERYAL VE METOD .....                                                 | 32   |
| Materyal .....                                                          | 32   |
| Hayvanlar ve çalışma tasarımı .....                                     | 32   |

|                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.....                                                                                                                                 | 32 |
| Analizlerde kullanılan cihaz listesi .....                                                                                                                                  | 32 |
| Metot.....                                                                                                                                                                  | 33 |
| Deneyisel protokol .....                                                                                                                                                    | 33 |
| Hayvanlarda nörodavranışsal testler .....                                                                                                                                   | 34 |
| Beyin örneklerinin alınması .....                                                                                                                                           | 37 |
| Doku örneklerinin yapılacak oksidatif stres analizleri doğrultusunda hazırlanması.....                                                                                      | 37 |
| Beyin dokusunda antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu düzeylerinin değerlendirilmesi.....                                                                  | 38 |
| Total protein tayini .....                                                                                                                                                  | 43 |
| Beyin dokularını ELISA ile değerlendirme.....                                                                                                                               | 44 |
| RT-qPCR analizleri.....                                                                                                                                                     | 45 |
| Protein izolasyonu ve Western Blot analizi.....                                                                                                                             | 50 |
| Histopatolojik işlem basamakları .....                                                                                                                                      | 52 |
| İstatistiksel analizler.....                                                                                                                                                | 53 |
| BULGULAR .....                                                                                                                                                              | 54 |
| Davranış Testi Sonuçları .....                                                                                                                                              | 54 |
| Açık Alan Testi (OFT).....                                                                                                                                                  | 54 |
| Yeni Obje Tanıma Testi (NORT).....                                                                                                                                          | 55 |
| Beyin Dokularında Oksidatif Stres Biyobelirteçleri .....                                                                                                                    | 56 |
| Beyin dokusunda MDA Düzeyleri .....                                                                                                                                         | 56 |
| Beyin Dokusunda SOD Aktiviteleri.....                                                                                                                                       | 56 |
| Beyin Dokusunda KAT Aktiviteleri .....                                                                                                                                      | 56 |
| Beyin Dokusunda GPx Aktiviteleri.....                                                                                                                                       | 56 |
| Beyin Dokusunda GSH Düzeyleri .....                                                                                                                                         | 57 |
| Nöronal Aktivite ve Nörotransmisyon ile İlişkili Biyobelirteçler .....                                                                                                      | 58 |
| Beyin dokusunda AChE aktivitesi .....                                                                                                                                       | 58 |
| Beyin dokusunda BDNF düzeyleri .....                                                                                                                                        | 58 |
| Beyin dokusunda c-Fos düzeyleri .....                                                                                                                                       | 59 |
| Beyin dokularında <i>Bax</i> , <i>Bcl-2</i> , <i>p53</i> , <i>Nfkb1</i> , <i>Jnk</i> , <i>Nrf2/Ho-1</i> , <i>App</i> , <i>Snca</i> ve <i>Bdnf</i> Ekspresyon Düzeyleri..... | 60 |
| Beyin dokularında apoptozla ilişkili genlerin ifade düzeyleri .....                                                                                                         | 60 |
| Beyin dokularında oksidatif stresle ilişkili genlerin ifade düzeyleri.....                                                                                                  | 62 |
| Beyin dokularında <i>Nfkb1</i> ekspresyonu.....                                                                                                                             | 63 |
| Beyin dokularında <i>Jnk</i> ekspresyonu.....                                                                                                                               | 63 |
| Beyin dokularında <i>Cyp2e1</i> ekspresyonu .....                                                                                                                           | 64 |
| Beyin dokularında <i>App</i> ekspresyonu.....                                                                                                                               | 65 |

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| Beyin dokularında <i>Snca</i> ekspresyonu .....                    | 66  |
| Beyin dokularında <i>Bdnf</i> ekspresyonu.....                     | 67  |
| Beyinde IL-1 $\beta$ ve $\alpha$ -syn ve A $\beta$ Düzeyleri ..... | 68  |
| Histopatolojik Değerlendirme.....                                  | 70  |
| TARTIŞMA .....                                                     | 76  |
| SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....                                          | 88  |
| KAYNAKLAR .....                                                    | 90  |
| EKLER .....                                                        | 108 |
| Ek-1. Etik Kurul Onay Formu .....                                  | 108 |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                      | 109 |



## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. Alüminyum Maruziyeti İçin Sınır Değerleri (EFSA, 2013). ....                                          | 9  |
| Tablo 2. Beyin Dokusunda MDA Düzeyinin Belirlenme Prosedürü. ....                                              | 38 |
| Tablo 3. Beyin Dokularında SOD Aktivitesi Ölçüm Prosedürü. ....                                                | 40 |
| Tablo 4. Beyin Dokularında KAT Aktivitesi Ölçüm Prosedürü. ....                                                | 41 |
| Tablo 5. Beyin Dokularında GPx Aktivitesi Ölçüm Prosedürü. ....                                                | 43 |
| Tablo 6. Beyin Dokularının Toplam Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi Yöntemi. ....                         | 44 |
| Tablo 7. Beyin Doku Homojenatlarında c-fos, AChE ve BDNF Biyobelirteçlerinin ELISA Yöntemi ile Ölçülmesi. .... | 45 |
| Tablo 8. RT-qPCR Analizi için Kullanılan Malzemeler ve Miktarları ....                                         | 47 |
| Tablo 9. RT-qPCR Analizinde Kullanılan Genlere Ait Primer Dizileri. ....                                       | 48 |
| Tablo 10. RT-qPCR Döngü Protokolü. ....                                                                        | 49 |
| Tablo 11. Kullanılan Primere Ait Bağlanma Sıcaklıkları. ....                                                   | 49 |
| Tablo 12. Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Yığılma Jelinin Bileşimi ....                                    | 51 |
| Tablo 13. Beyin Korteksi ve Hipokampal Bölgelere Ait Histopatoloji Skoru. ....                                 | 74 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Alüminyum’un beyine taşınmasındaki temel mekanizmalar. .... | 10 |
|----------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2. Alüminyum’a maruziyetin sağlık üzerine olası etkileri. ....                                                                                   | 12 |
| Şekil 3. Luteolin’in moleküler yapısı ve fonksiyonel grupların biyolojik rolü. ....                                                                    | 26 |
| Şekil 4. Luteolin’in sağlık üzerine etkileri. ....                                                                                                     | 28 |
| Şekil 5. Luteolin’in nörodejeneratif hastalıklar üzerindeki etki mekanizmaları. ....                                                                   | 29 |
| Şekil 6. Çalışmanın grafik al özeti ....                                                                                                               | 34 |
| Şekil 7. Yeni Nesne Tanıma (Novel Object Recognition, NOR) testi için kullanılan düzenek ve objeler. ....                                              | 35 |
| Şekil 8. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının OFT ile değ erlendirilen anksiyete ile ilişkili davranış lar üzerindeki etkisi. ....                 | 54 |
| Şekil 9. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının NOR testindeki tanıma hafızası üzerindeki etkisi. ....                                               | 55 |
| Şekil 10. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki MDA, GSH, SOD, GPx ve KAT düzeylerine etkisi. ....                                | 57 |
| Şekil 11. LUT ve AlCl <sub>3</sub> uygulamalarının beyin dokusundaki AChE aktivitesi üzerindeki etkisi ....                                            | 58 |
| Şekil 12. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki BDNF konsantrasyonu üzerindeki etkisi ....                                        | 59 |
| Şekil 13. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki c-Fos konsantrasyonu üzerindeki etkisi. ....                                      | 60 |
| Şekil 14. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki apoptosis ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkisi. ....               | 62 |
| Şekil 15. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki antioksidan sistem ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkisi. ....      | 62 |
| Şekil 16. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda <i>Nfkb1</i> ekspresyonu üzerindeki etkisi. ....                                    | 63 |
| Şekil 17. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda <i>Jnk</i> ekspresyonu üzerindeki etkisi ....                                       | 64 |
| Şekil 18. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda <i>Cyp2e1</i> ekspresyonu üzerindeki etkisi. ....                                   | 65 |
| Şekil 19. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda <i>App</i> ekspresyonu üzerindeki etkisi ....                                       | 66 |
| Şekil 20. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda <i>Snca</i> ekspresyonu üzerindeki etkisi. ....                                     | 67 |
| Şekil 21. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda <i>Bdnf</i> ekspresyonu üzerindeki etkisi ....                                      | 68 |
| Şekil 22. AlCl <sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda IL-1 $\beta$ , A $\beta$ ve $\alpha$ -syn protein seviyelei üzerindeki etkisi. .... | 69 |
| Şekil 23. LUT’un AlCl <sub>3</sub> ile oluşturulan nörotoksisiteye karşı serebral korteks bölgesinde gösterdiği histopatolojik etkiler. ....           | 71 |
| Şekil 24. LUT’un AlCl <sub>3</sub> ile oluşturulan nörotoksisiteye karşı hipokampal CA1 bölgesinde gösterdiği histopatolojik etkiler. ....             | 72 |
| Şekil 25. LUT’un AlCl <sub>3</sub> ile oluşturulan nörotoksisiteye karşı hipokampal CA3 bölgesinde gösterdiği histopatolojik etkiler. ....             | 73 |

|                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 26. LUT'un $AlCl_3$ ile oluşturulan nörotoksisiteye karşı hipokampal dentat girus bölgesinde gösterdiği histopatolojik etkiler..... | 74 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|



## KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

|                            |   |                                                            |
|----------------------------|---|------------------------------------------------------------|
| <b><math>\Delta</math></b> | : | Delta                                                      |
| <b>ABS</b>                 | : | Absorbans                                                  |
| <b><math>AlCl_3</math></b> | : | Alüminyum klorür                                           |
| <b>ANOVA</b>               | : | One-Way Analysis of Variance                               |
| <b>ATP</b>                 | : | Adenozin trifosfat                                         |
| <b>KBB</b>                 | : | Kan beyin bariyeri                                         |
| <b>bp</b>                  | : | Baz çifti                                                  |
| <b>cDNA</b>                | : | Tamamlayıcı DNA                                            |
| <b>dl</b>                  | : | Desilitre                                                  |
| <b>DSÖ</b>                 | : | Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ, World Health Organization [WHO]) |
| <b>Fe</b>                  | : | Demir                                                      |
| <b>GAPDH</b>               | : | Gliseraldehid-3-Fosfat Dehidrogenaz                        |
| <b>GPx</b>                 | : | Glutasyon Peroksidaz                                       |
| <b>GSH</b>                 | : | Glutasyon                                                  |
| <b><math>H_2O_2</math></b> | : | Hidrojen Peroksit                                          |
| <b>KAT</b>                 | : | Katalaz                                                    |
| <b>LOAEL</b>               | : | En düşük olumsuz etki gözlenen düzey                       |
| <b>LUT</b>                 | : | Luteolin                                                   |
| <b>MDA</b>                 | : | Malondialdehit                                             |
| <b>Mm</b>                  | : | Mili Molar                                                 |
| <b>Mol</b>                 | : | Avogadro sayısı kadar molekül içeren madde miktarı         |
| <b><math>\mu g</math></b>  | : | Mikrogram                                                  |
| <b><math>\mu L</math></b>  | : | Mikrolitre                                                 |
| <b>nm</b>                  | : | Nanometre                                                  |
| <b>NOAEL</b>               | : | Olumsuz etki gözlenmeyen düzey                             |
| <b>NORT</b>                | : | Yeni Obje Tanıma Testi                                     |
| <b>OFT</b>                 | : | Açık Alan Testi                                            |
| <b>PTWI</b>                | : | Geçici tolere edilebilir haftalık alım                     |
| <b>Red GSH</b>             | : | Redükte Glutasyon                                          |
| <b>rpm</b>                 | : | 1 dakikadaki devir sayısı                                  |
| <b>RT-PCR</b>              | : | Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu            |
| <b>SOD</b>                 | : | Süperoksit Dismutaz                                        |
| <b>TWI</b>                 | : | Geçici tolere edilebilir haftalık alım                     |

## GİRİŞ

Alüminyum (Al), yer kabuğunda en bol bulunan metallere biridir ve Dünya'nın kabuğunun yaklaşık %8'ini oluşturur (Abdel Ghfar vd., 2022). Doğal olarak toprak, su ve hava ortamlarında bulunan bu toksik metalin, özellikle son yıllarda endüstri ve sanayi faaliyetlerinde meydana gelen artış sonucunda çevrede daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu belirlenmiştir (Hızlı vd., 2023). Bu artış, insan maruziyetini kaçınılmaz hâle getirmekte ve bireylerin günlük yaşamda pek çok kaynaktan Al ile temas etmesine yol açmaktadır (Alasfar ve Isaifan, 2021). Özellikle mutfak gereçleri, içme suyu, gıda katkı maddeleri, bazı ilaçlar ve kozmetik ürünler Al'nin başlıca maruziyet kaynakları arasında yer almaktadır (Niu, 2023).

Canlıların Al'ye maruz kalmasının birçok yolu bulunmakla birlikte, vücuda en yaygın giriş yolları oral (ağız) ve inhalasyon (solunum) yoludur (Yokel ve Sjögren, 2022). Günlük ortalama 4–9 mg Al, besinler ve içme suyu aracılığıyla vücuda alınmaktadır (Yokel vd., 2008). Ancak gelişmekte olan ülkelerde kullanılan, Al'den yapılmış düşük kaliteli tencereler ve mutfak araçları porsiyon başına 125 mg'a kadar Al çözünmesine yol açabilir ki bu miktar, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önerilen günlük maksimum 20 mg sınırının oldukça üzerindedir (Weidenhamer vd., 2017). Bunun yanı sıra antiasitler gibi farmasötik ürünler de yüksek miktarda Al içerebilir ve günlük 1000 mg'a kadar çıkan maruziyet düzeylerine neden olabilir (Reinke vd., 2003).

Al'nin insan fizyolojisinde herhangi bir biyolojik görevi tanımlanmamış olmakla birlikte, vücuda alımının ardından karaciğer (Alghriany vd., 2022), böbrek (Oliveira vd., 2021) ve beyin (Cirovic vd., 2023) başta olmak üzere çeşitli dokularda birikebildiği ve toksik etkilere neden olabildiği bildirilmiştir (Niu, 2023). Al, transferrin veya sitrat gibi endojen ligandlara bağlanarak kan-beyin bariyerini (KBB) geçebilmekte; ardından nöronal ve glial hücrelerde birikerek proinflatuar sitokinlerin salınımını artırmakta, reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini tetikleyerek oksidatif stres oluşturmaktadır (Wang, 2023). Nöronların yüksek oksijen tüketimi ve sınırlı antioksidan kapasitesi nedeniyle, beyindeki hücreler Al birikiminin yol açabileceği oksidatif hasara karşı son derece duyarlıdır, bu da Al maruziyetini nörodejeneratif süreçler açısından kritik hâle getirmektedir (Cirovic vd., 2023).

Beyine ulaşan Al, yetersiz eliminasyon mekanizmaları nedeniyle dokudan uzaklaştırılamamakta; dolayısıyla yaşla birlikte birikimi artmakta ve nörodejeneratif süreçlerin başlamasına neden olabilecek düzeylere ulaşmaktadır (Inan-Eroglu ve Ayaz, 2018). Bu süreçte, nöronal gen ekspresyonunun bozulması, geri dönüşü olmayan sinir hücresi hasarı, mikrogial aktivasyon, sitokin/kemokin dengesizliği ve sinaptik ileti bozuklukları gibi çeşitli

patofizyolojik olaylar devreye girmektedir (Makhdoomi vd., 2023; Pankaj Bhargava vd., 2021). Alzheimer hastalığı (AD), Parkinson hastalığı (PD), amiyotrofik lateral skleroz (ALS), epilepsi ve otizm gibi nörolojik bozuklukların görüldüğü bireylerin beyin dokularında Al birikiminin sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Alasfar ve Isaifan, 2021; Exley ve Clarkson, 2020).

Al'nin nörotoksitesine katkıda bulunan bir diğer önemli mekanizma, hücrel DNA üzerinde oluşturduğu yapısal hasar ve buna bağlı genomik instabilitedir (Saeed vd., 2021). Fosfat gruplarına yüksek afinite gösteren Al, DNA'nın konformasyonunu bozarak genomik kararsızlığa neden olabilir (Dey ve Singh, 2022). Ayrıca Al, vücutta bulunan temel metallerin homeostazisini bozar ve çözünmeyen bileşikler oluşturarak hücrel yapıda birikime yol açar. Bu durum, nöronlar başta olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde kalıcı hasar bırakabilir (Zhang vd., 2020). Bu kadar yaygın ve sistematik bir maruziyet göz önüne alındığında, Al'nin nörotoksik mekanizmalarının ayrıntılı olarak araştırılması, nörodejeneratif süreçlerdeki rolünün aydınlatılması ve bu etkileri önlemeye yönelik etkili tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Son yıllarda, bitkisel kökenli doğal bileşiklerin metal aracılı toksik etkileri hafifletme potansiyeli üzerine yapılan araştırmalar belirgin şekilde artış göstermektedir (Abdel-Hakeem vd., 2025; Ceramella vd., 2024). Bu bileşikler, özellikle ağır metallerin neden olduğu oksidatif hasar, inflamasyon, mitokondriyal disfonksiyon ve hücrel ölüm gibi patofizyolojik süreçleri hedef alarak hücre düzeyinde koruyucu etkiler sergileyebilmektedir (Calis vd., 2020). Bu bağlamda, polifenoller ve flavonoidler, sahip oldukları güçlü antioksidan, anti-inflamatuar ve nöroprotektif özellikleri sayesinde ön plana çıkmaktadır (Jalouli vd., 2025).

Bu doğal moleküllerden biri olan luteolin (LUT), yapısal olarak bir flavon sınıfı flavonoiddir ve birçok yaygın gıdada doğal olarak bulunur. LUT; maydanoz, kereviz, havuç, limon, zeytinyağı, portakal, yeşil çay, brokoli ve biberiye gibi çeşitli meyve, sebze ve bitkisel ürünlerde bol miktarda yer alır (Huang vd., 2023; Pradhan ve Kulkarni, 2025). LUT'un kimyasal yapısındaki hidroksil grupları, serbest radikalleri doğrudan yakalayarak nötralize edebilme yeteneği kazandırır; bu da onun güçlü bir antioksidan olarak ROT detoksifikasyonuna katkı sağlamasını mümkün kılar (Fernando vd., 2024).

LUT'un biyolojik etkileri yalnızca antioksidan aktiviteyle sınırlı kalmamakta, aynı zamanda KBB'yi geçebilme yeteneği sayesinde merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde doğrudan etkiler gösterebilmektedir. Nörolojik düzeyde, LUT'un nöroinflamasyonu baskılayıcı etkiler gösterdiği, özellikle mikroglia ve astrosit gibi glial hücrelerin aşırı aktivasyonunu inhibe ederek sinir dokusunda inflamatuvar ortamın oluşmasını engelleyebildiği bildirilmektedir. Ayrıca,

proinflatuar sitokinlerin üretimini azaltabilmekte; böylece hücrel hasar ve nöronal ölümü önleyebilmektedir (Singh vd., 2025).

LUT ayrıca mitokondriyal fonksiyonları stabilize etme, lipid peroksidasyonunu azaltma, apoptozu inhibe etme ve anti-apoptotik genlerin ekspresyonunu artırma gibi çok yönlü koruyucu etkiler de sergilemektedir (Younis vd., 2024). Tüm bu mekanizmalar bir araya geldiğinde, LUT'un sadece oksidatif stresi baskılamakla kalmayıp aynı zamanda nöronal hayatta kalımı destekleyen sinyal yollarını aktive ettiğı görölmektedir (Ma vd., 2025). Bu özellikleri sayesinde, AD, PD, MS ve iskemik beyin hasarı gibi çeşitli nörodejeneratif bozuklukların hem patogeneğinde rol oynayan mekanizmaları hedef alabileceğı, hem de bu hastalıkların önlenmesi ya da ilerlemesinin yavaşlatılması açısından potansiyel bir terapötik ajan olabileceğı düşünölmektedir (Jayawickreme vd., 2024).

Bu tez çalışmasında, Al'nin neden olduğı nörotoksik etkiler ile doğal bir flavonoid olan LUT'un bu olumsuz etkilere karşı olası koruyucu rolü, deneysel bir hayvan modeli aracılığıyla incelenmiştir. Araştırma bulgularının, Al kaynaklı nörodejeneratif mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına ve bitkisel kökenli yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine bilimsel katkı sunması amaçlanmıştır.

## KURAMSAL TEMELLER

### Beyinin Yapısal ve Fonksiyonel Organizasyonu

Beyin, vücut fonksiyonlarının bütüncül olarak kontrol edildiği, yüksek organizasyon düzeyine sahip merkezi sinir sistemi (MSS) organıdır (Gluncic, 2023). Yapısal olarak ön beyin (prosensefalon), orta beyin (mezensefalon) ve arka beyinden (romensefalon) gelişen kompleks bir organizasyon gösterir (Shiraishi vd., 2015). Bu yapı daha sonra gelişimsel süreçte serebral korteks, limbik sistem, talamus, hipotalamus, serebellum ve beyin sapı gibi alt birimlere farklılaşır (Blatt vd., 2013). Bu anatomik bölümler, hafıza, öğrenme, motor kontrol, duygulanım, homeostaz ve otonomik regülasyon gibi çeşitli işlevlerin yerine getirilmesini sağlar (Schmahmann ve Pandya, 1997). Özellikle serebral korteksin frontal ve temporal lobları, yürütücü işlevler ve bilişsel süreçlerin düzenlenmesinde kritik rol oynar (Schmahmann, 2001).

### Nöronlar ve Glia Hücreleri

Beyin dokusu, MSS'nin işlevsel bütünlüğünü sağlayan iki ana hücre grubundan oluşur: nöronlar (sinir hücreleri) ve glia hücreleri (destekleyici hücreler) (von Bartheld vd., 2016). Nöronlar, beyin işlevlerinin temel yapı taşlarıdır ve duyuşsal alımdan motor çıktıya kadar pek çok süreci yönlendirir (Doetsch ve Hen, 2005). Bu hücreler, dendritler aracılığıyla aldıkları uyarıları hücre gövdesinde işler ve aksonları boyunca ilerleterek diğer nöronlara ya da hedef hücrelere iletir (Kulkarni ve Firestein, 2012). Nöronlar arasındaki iletişim sinapslar aracılığıyla gerçekleşir ve bu iletişim hem elektriksel hem de kimyasal sinyallerin iletimini içerir (Robinson vd., 2008). Bu karmaşık ağ sayesinde düşünme, öğrenme, hafıza, duygudurum ve istemli hareket gibi üst düzey beyin fonksiyonları düzenlenir (Kennedy, 2016).

Nöronların sağlıklı bir şekilde çalışabilmesi, glia hücrelerinin desteğiyle mümkündür (García-Marín vd., 2007). Glial hücreler yalnızca yapısal destek sağlamakla kalmaz; aynı zamanda iyon dengesi, metabolik destek, atık temizliği, sinaptik düzeyde nörotransmitter geri alımı ve bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesi gibi çok sayıda kritik rol üstlenir (Barber ve Raben, 2019). Glial hücreler beş ana gruba ayrılır: bunlardan astrositler, oligodendrositler ve mikroglialar, merkezi sinir sisteminde, schwann ve satellit hücreleri de çevresel sinir sisteminde bulunurlar. Her hücre tipi nöronların sağlıklı fonksiyon göstermesi için kritik fonksiyonlar gösterir. Örneğin Oligodendrositler, MSS'deki aksonları çevreleyerek miyelin kılıf oluşturan ve böylece aksoplazmik iletimi hızlandıran hücrelerdir (Simons ve Trajkovic, 2006). Miyelin kaybı, sinyal iletiminde gecikmeye ve çeşitli nörolojik bozukluklara neden olur (Chen vd., 2022). Astrositler ise beyin dokusunda en yaygın bulunan glial hücrelerdir ve beyinde birçok işlev üstlenir, bunlar arasında nöronlardaki su taşınımını ve iyon düzeylerini düzenlemek, kan-

beyin bariyerini korumak ve sinapslardan glutamati temizleyerek nörotoksisiteyi önlemek yer alır (Jäkel ve Dimou, 2017).

Mikroglialar, sinir dokusunun yerleşik bağışıklık hücreleridir ve MSS'nin bağışıklık yanıtlarını koordine ederler (Norris ve Kipnis, 2019). Normal koşullarda "istirahat halinde" olan mikroglialar, çevresel değişiklikler (enfeksiyon, toksik ajanlar, travma, hücresel hasar vb.) sonucu morfolojik ve fonksiyonel olarak aktive olur (Yanuck, 2019). Aktive mikroglialar, çeşitli pro-inflamatuar sitokinler (örneğin IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), reaktif oksijen türleri (ROT) ve nitrik oksit gibi moleküller salgılayarak inflammatuar yanıtı başlatır (Bai vd., 2018). Bu süreç, patojen temizliği ve hasarlı hücrelerin uzaklaştırılması için yararlı olsa da kronik ya da kontrolsüz aktivasyon, sağlıklı nöronlara da zarar vererek nöroinflamasyona ve nörodejeneratif süreçlere zemin hazırlar (Martínez-Hernández vd., 2023). Mikroglialar tarafından başlatılan bu inflammatuar süreçlerin, Alzheimer hastalığı (AD), Parkinson hastalığı (PD), multipl skleroz (MS) gibi birçok nörolojik hastalığın patogenezinde etkili olduğu gösterilmiştir (Gao vd., 2023).

Satellite (uydu) glial hücreler (SGC'ler) esas olarak dorsal root ve kranial sinir gangliyonları gibi duyu gangliyonlarını çevreleyen, sinir hücreleriyle sıkı temas içinde olan glial hücrelerdir; iyon (özellikle K<sup>+</sup>) tamponlama, nörotransmitter temizleme ve hücreler arası gap-junction iletim aracılığıyla çevreleyen nöronun eksitabilitesini düzenleyerek ağrı ve sensöriyel işlemenin modülasyonunda merkezi bir rol oynarlar (Andreeva vd., 2022; Qiao, 2024). Bu hücrelerin fenotipik plastisitesi ve inflammatuar sinyalleşmedeki değişimleri kronik ağrı, neuropati ve nöroinflamasyon ile ilişkilendirilmiş; dolayısıyla SGC'ler hem patofizyolojide hem de hedefe yönelik tedavi stratejilerinde dikkat çeken hedeflerdir (Hanani, 2024). Öte yandan Schwann hücreleri klasik olarak periferik sinir sisteminin (PNS) miyelinatör ve destekleyici glial hücreleri olarak tanımlanır; aksonlara metabolik destek sağlar, miyelin oluşturarak iletim hızını artırır ve sinir hasarı sonrası "onarım" programı ile dediferansiyasyon, göç ve nörotrofik faktör salgısı aracılığıyla rejenerasyonu destekler (Taveggia ve Feltri, 2022). İlginç şekilde son çalışmalar, belirli koşullar altında Schwann hücrelerinin santral sinir sistemindeki demiyelinatlı aksonları remiyelinate edebildiğini ve bu yeteneğin MS gibi demiyelinatif hastalıklarda potansiyel terapötik uygulamalar için araştırıldığını göstermiştir (Chen vd., 2021).

Nöroinflamasyon, MSS'de mikrogliaların ve astrositlerin aktivasyonu ile karakterize edilen karmaşık bir immün yanıt sürecidir. Bu süreçte çeşitli pro-inflamatuar sitokinler (örneğin IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) ve kemokinler salınarak inflammatuar sinyalleşme başlatılır (DiSabato vd., 2016). Bu moleküller nöronlar, glia hücreleri ve endotelial hücreler arasındaki iletişimi

düzenleyerek inflamatuvar yanıtın şiddetini ve süresini belirler. Bunun yanı sıra siklooksijenaz-2 (COX-2), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve nükleer faktör kappa B (NF-κB) gibi inflamasyonla ilişkili enzimler ve transkripsiyon faktörleri, oksidatif stresin artışı ve hücrel hasar ile nöroinflamatuvar süreci daha da güçlendirir (Xu vd., 2024).

Nöroinflamasyonun biyokimyasal belirteçleri arasında reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen türleri (RNS) ve lipid peroksidasyon ürünleri (örneğin malondialdehit [MDA]) öne çıkar. Bu moleküller hücre zarlarında oksidatif yıkıma neden olarak nöronal bütünlüğü bozar ve mitokondriyal fonksiyonları olumsuz etkiler (Teleanu vd., 2022). Ayrıca, antioksidan savunma sisteminde yer alan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerin düzeylerindeki azalma, oksidatif dengeyi bozar ve inflamatuvar yanıtın kronikleşmesine katkı sağlar (Jomova vd., 2024).

Kronik nöroinflamasyonun sürdürülmesinde astroglial GFAP (glial fibrillary acidic protein) ve mikrogial Iba-1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1) ekspresyonundaki artış, histolojik olarak inflamatuvar aktivitenin güvenilir göstergeleri olarak kullanılmaktadır (Noh vd., 2025). Bu belirteçler hem deneysel modellerde hem de nörodejeneratif hastalıklarda (özellikle Alzheimer, Parkinson, MS) glial aktivasyonun derecesini ve doku hasarının yaygınlığını değerlendirmede kritik öneme sahiptir (Andronie-Cioara vd., 2023).

### **Beyin Üzerinde Metal Toksisitesi ve Patolojik Sonuçları**

Beyin dokusu, yapısal karmaşıklığı, yüksek metabolik hızı ve sınırlı rejenerasyon kapasitesi nedeniyle toksik ajanlara karşı oldukça savunmasızdır (Ortega ve Carmona, 2022). Bu savunmasızlık, özellikle metal iyonlarının neden olduğu nörotoksik etkiler söz konusu olduğunda daha belirgin hale gelir (Vellingiri vd., 2022). Demir (Fe), bakır (Cu) ve çinko (Zn) gibi bazı metaller, sinaptik iletim, enerji üretimi ve antioksidan savunma gibi birçok fizyolojik süreçte esansiyel görevler üstlenir (Totten vd., 2023). Ancak bu metallerin dengesizliği veya dışarıdan alınan toksik metallerin (örneğin alüminyum (Al), kurşun (Pb), cıva (Hg) gibi) beyin dokusuna ulaşması, nöronal homeostazın bozulmasına ve çeşitli patolojik süreçlerin tetiklenmesine neden olur (Kaur vd., 2021).

Toksik metaller, genellikle kan-beyin bariyerini (KBB) geçerek MSS'ye ulaşır ve burada çeşitli yollarla hasar oluşturur (Raj vd., 2021). Öncelikle bu metaller, proteinlerin yapısını ve işlevini bozarak yanlış katlanma (misfolding) ve agregasyon (birikim) süreçlerine neden olabilir (Murumulla vd., 2024). Bu, özellikle Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların temelinde yer alan β-amiloid (Aβ) veya α-sinüklein (α-syn) gibi proteinlerin patolojik birikimiyle ilişkilidir (Roe, 2022). Ek olarak, metallerin mitokondride

birikimi, elektron taşıma zincirini bozar ve ROT üretimini artırır (Vellingiri vd., 2022). Artan ROT üretimi, antioksidan savunma sistemlerini baskılayarak oksidatif stresin kronikleşmesine ve lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein oksidasyonu gibi geri dönüşü zor hücresel tahribatlara yol açar (Fesharaki-Zadeh, 2022).

Metal toksisitesinin önemli etkilerinden biri de inflamatuvar sürecin aktivasyonudur. Mikroglial hücreler, toksik metallerin varlığında pro-inflamatuvar fenotipe geçer ve IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi sitokinleri salgılayarak nöronal hasarı artırır (Lassarén vd., 2021). Bu durum, inflamasyonun kronikleşmesine, çevre hücrelerdeki oksidatif stresin artmasına ve dolayısıyla sinaptik plastisitenin zayıflamasına neden olur (Zhou vd., 2023). Ayrıca bazı metaller, demir metabolizmasıyla etkileşime girerek, beynin çeşitli bölgelerinde demirin patolojik birikimini tetikleyebilir (Cirovic vd., 2023). Bu durum, Fenton reaksiyonu aracılığıyla hidroksil radikali oluşumunu hızlandırır ve oksidatif yükü daha da artırır (Khedr ve Talkan, 2022). Özellikle Al, bu mekanizmalarda kritik rol oynayan metallerden biridir; çünkü hem doğrudan nörotoksiktir hem de demir homeostazını bozarak dolaylı hasarlara neden olur (Shang vd., 2023).

Bu süreçler yalnızca hücresel düzeyde değil, aynı zamanda moleküler sinyal yolları aracılığıyla da şekillenir. P53, NF- $\kappa$ B, JNK ve Nrf2 gibi sinyal yolları, çevresel stres faktörlerine verilen yanıtları düzenleyerek hücre hayatta kalımı, apoptoz, inflamasyon ve antioksidan savunma gibi kritik olayların kontrolünde rol oynar (Jazvinščak Jembrek vd., 2021; Vasudevan Sajini vd., 2024). Örneğin, p53 aktivasyonu, Bax/Bcl-2 dengesini pro-apoptotik yönde değişmesine sebep olarak mitokondriyal yıkıma ve hücre ölümüne yol açabilir (Xu vd., 2024). Benzer şekilde, NF- $\kappa$ B sinyal yolu hem inflamatuvar yanıtın tetiklenmesinde hem de hücreyi stres koşullarına karşı savunmada çift yönlü bir rol oynar (Sun vd., 2022). JNK ise oksidatif stres kaynaklı apoptozun yanı sıra inflamatuvar yanıtların düzenlenmesi, hücre çoğalması, farklılaşması ve sinaptik plastisite gibi çok sayıda biyolojik sürecin kontrolünde de rol oynayan önemli bir kinazdır (Khedr ve Talkan, 2022). Bu yolların uzun süreli aktivasyonu, öğrenme, bellek, dikkat ve emosyonel yanıtlar gibi yüksek düzeyli beyin işlevlerini bozan kalıcı sinir ağı değişikliklerine neden olabilir (Sevastre-Berghian vd., 2022; Vasudevan Sajini vd., 2024).

### **Alüminyum ve Maruziyet Kaynakları**

Al, yerkabuğunda en bol bulunan metallerden biri olup, bolluk açısından yalnızca oksijen ve silikondan sonra üçüncü sırada yer alır (Bonfiglio vd., 2023). Al, doğada genellikle serbest metal formunda bulunmaz; ancak çeşitli fiziksel ve kimyasal süreçler yoluyla çevreye yayılarak ve toprak ile su kaynaklarını kontamine etme potansiyeline sahiptir (Hızlı vd., 2023).

Asidik yağmurlar, toprak çözünmesi, volkanik aktiviteler ve rüzgâr erozyonu gibi doğal çevresel olaylar, Al'nin toprak ve su kaynaklarına taşınmasına ve biyoyararlanabilir formda serbest hale geçmesine katkıda bulunur (Boopathi vd., 2024). Bu nedenle, Al çeşitli besin maddelerinde ve yer altı ya da yüzey sularında düşük seviyelerde de olsa doğal olarak bulunabilmektedir.

Ancak son yüzyılda hızla artan sanayileşme, madencilik faaliyetleri ve kentleşme, Al'nin çevredeki konsantrasyonunu önemli ölçüde artırmıştır (Grebenshchikova vd., 2021). Endüstriyel ölçekte özellikle inşaat, otomotiv, ambalaj, elektronik, tekstil, boya, kağıt, deterjan, metal işleme ve su arıtma gibi pek çok sektörde yaygın olarak kullanılmaktadır (Yokel ve Sjögren, 2022). Alüminyum-sülfat gibi Al içeren bileşikler, özellikle içme suyu arıtma tesislerinde koagülant (topaklayıcı) madde olarak kullanıldığından, şehir şebekesine verilen suda Al kalıntısı bulunabilmektedir (Singh vd., 2023).

Günümüzde Al yalnızca endüstriyel süreçlerde değil, aynı zamanda günlük yaşamda kullanılan pek çok tüketici ürününe de eklenmektedir. Özellikle işlenmiş gıdalar, beyazlatıcılar, fırın kabartma tozları, renklendiriciler, gıda katkı maddeleri (örneğin E173), bisküviler, peynirler, hazır çorbalar ve bebek mamaları, Al içeriği yönünden dikkat çekmektedir (Bobuş vd., 2022). Bunun yanında kozmetik ürünler, diş macunları, güneş kremleri, makyaj malzemeleri gibi ciltle temas eden ürünler de dermal yol ile Al maruziyetine neden olabilir (Niu, 2023). Ayrıca bazı antasitler, aşı adjuvanları ve reçeteli ilaçlar gibi tıbbi preparatlarda Al bileşenleri yer alabilmektedir (Su vd., 2024). Bu durum, sadece çevresel değil, aynı zamanda oral, dermal ve parenteral yollarla da organizmaya Al alınmasını mümkün kılar.

Genel toplum düzeyinde değerlendirildiğinde, Al maruziyetinin en yaygın ve sürekli kaynakları besinler ve içme suyudur (Yokel ve Sjögren, 2022). Günlük diyetle alınan Al miktarı; besinlerin doğal içerikleri, gıdaların işlendiği ekipmanlar, pişirme kaplarının türü, kullanılan katkı maddeleri ve ambalaj malzemelerine bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik gösterebilir (Guma ve Maikudi, 2023; Przybysz vd., 2024). Bu nedenle, yalnızca gıdanın türü değil, onun işlendiği ve muhafaza edildiği koşullar da Al birikimini doğrudan etkileyen faktörlerdendir.

Gıdaların içeriğindeki doğal Al düzeyleri ise bitkisel ve hayvansal kaynaklı ürünler arasında farklılık göstermektedir. Genel olarak bitkisel ürünler düşük düzeyde Al içerir; ancak bazı spesifik bitkiler ve türevleri yüksek Al içeriğiyle dikkat çeker. Örneğin lahanalar, ıspanak, çay yaprakları, kahve çekirdekleri ve soya bazlı ürünler, doğal olarak yüksek miktarda Al içerebilmektedir (Yokel, 2025). Bazı süt ürünlerinde, özellikle işlenmiş peynirler ve süt tozları gibi endüstriyel olarak hazırlanmış ürünlerde, izin verilen limitlerin üzerinde Al seviyeleri rapor

edilmiştir (Al-Ashmawy, 2011). Bu ürünlerdeki artış, hem üretim sürecinde kullanılan katkı maddeleri hem de paketlenme ve işleme esnasında temas edilen yüzeylerden kaynaklanabilir.

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), Al için tolere edilebilir haftalık alım düzeyini (TWI) 1 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemiştir (EFSA, 2013). Bu değer, yaklaşık 70 kg ağırlığındaki bir birey için günlük yaklaşık 10 mg Al alımına karşılık gelmektedir. Günlük toplam Al alımının, bireyin yaşına, beslenme alışkanlıklarına, sağlık durumuna ve kullandığı ürünlere bağlı olarak değişmekle birlikte, genel olarak 3–10 mg arasında olduğu bildirilmektedir (Yokel vd., 2008). Ancak gelişmekte olan ülkelerde kullanılan düşük kaliteli Al tencereler ve mutfak araçları, porsiyon başına 125 mg’a kadar Al çözünmesine yol açabilir (Weidenhamer vd., 2017). Bunun yanı sıra antiasitler gibi farmasötik ürünler de yüksek miktarda Al içerebilir ve günlük 1000 mg’a kadar çıkan maruziyet düzeylerine neden olabilir (Reinke vd., 2003). Tablo 1, EFSA tarafından belirlenen Al maruziyetine ilişkin sınır değerleri göstermektedir.

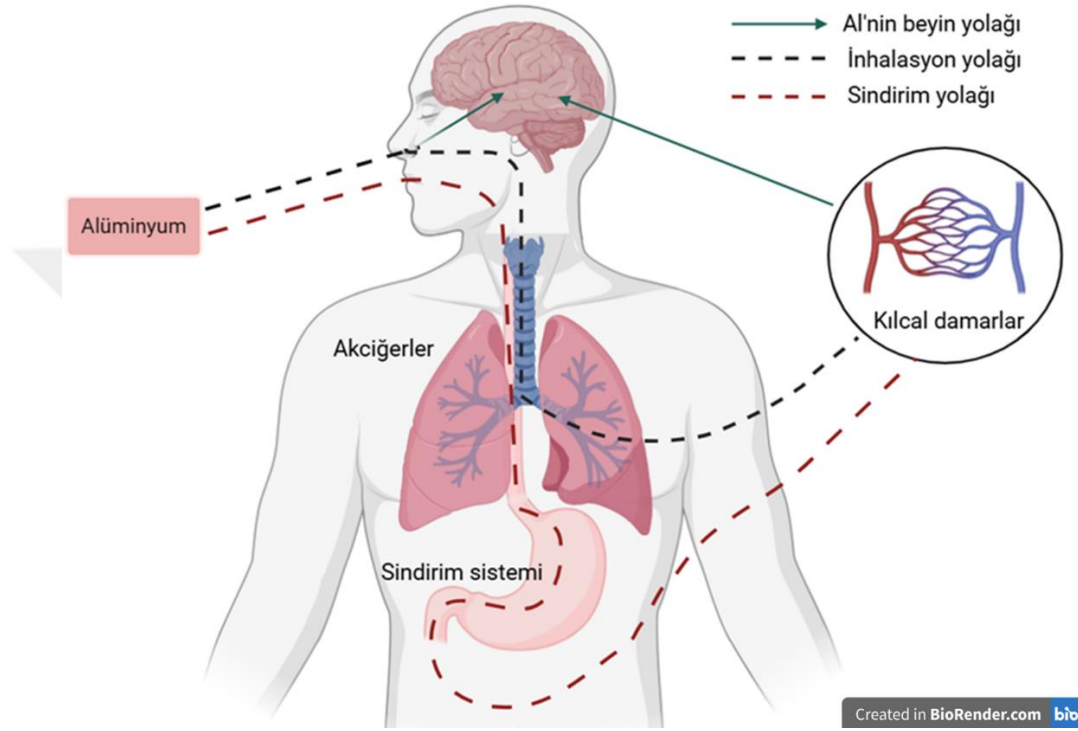
**Tablo 1.** Alüminyum Maruziyeti İçin Sınır Değerleri (EFSA, 2013).

| Alüminyuma maruziyet kaynağı | Alüminyum maruziyet limitleri                                                        |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Ağız yoluyla maruziyet       | Vücut ağırlığı başına haftada 1 mg’lık geçici tolere edilebilir alım (TWI)           |
|                              | Vücut ağırlığı başına günde 30 mg’lık etkisiz düzey (NOAEL)                          |
|                              | Vücut ağırlığı başına günde 50–75 mg’lık en düşük etkili düzey (LOAEL)               |
|                              | Vücut ağırlığı başına haftada 2 mg’lık geçici tolere edilebilir haftalık alım (PTWI) |
| İçme suyuyla maruziyet       | Küçük ölçekli su arıtma tesisleri için sınır değer: 0,2 mg/L                         |
|                              | Büyük ölçekli su arıtma tesisleri için sınır değer: 0,1 mg/L                         |

### Alüminyumun emilimi

Al, başlıca oral, inhalasyon ve dermal yollarla insan vücuduna alınmaktadır (Ergashov, 2023). Oral yolla alınan Al’nin emilimi oldukça sınırlıdır ve gastrointestinal sistemden biyoyararlanımı genellikle %0,1 civarındadır (Hao vd., 2022). Emilim oranı, Al’nin kimyasal formuna, mide asiditesine, eş zamanlı alınan besinlere ve bireyin fizyolojik durumuna bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Özellikle sitrik asit gibi organik asitlerin varlığında Al emilimi belirgin şekilde artar. Örneğin portakal suyu gibi sitrat açısından zengin içeceklerin Al

emilimini 8 ila 50 kat artırabildiği bildirilmektedir. Bu durum, Al'nin sitrat kompleksi oluşturarak çözünürlüğünü artırmasından kaynaklanmaktadır (Niu, 2023). İçme suyundan alınan Al'nin ise %0,3 gibi düşük bir oranla emildiği bildirilmektedir (Priest vd., 2021). Solunum yoluyla alınan Al ise, özellikle endüstriyel ortamlarda, alveoler membranlardan kana geçerek sistemik dolaşıma katılabilir (Skalny vd., 2021). Ayrıca, burun mukozasındaki koku epiteli üzerinden doğrudan MSS'ye ulaşabileceği de gösterilmiştir (Wang, 2023). Şekil 1, Al'nin beyin dokusuna taşınmasında rol oynayan temel mekanizmaları göstermektedir.



**Şekil 1.** Alüminyum'un beyine taşınmasındaki temel mekanizmalar.

İnorganik Al bileşiklerinin emilimi daha düşüktür; ancak Al içeren antasit gibi farmasötik ürünlerin yaygın kullanımı, günlük Al alımını 1000 mg'a kadar çıkarabilmektedir (Burgos Castillo vd., 2024). İlaçlar arasında, daha önce bahsedilen antasitlerin yanı sıra, Al aşı adjuvanı olarak da kullanılmaktadır. Bununla birlikte, aşılama sürecinin oldukça seyrek bir uygulama olduğu ve tek bir aşı dozundaki Al miktarının 1,25 mg ile sınırlı olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. En hassas grup olan bebekler başta olmak üzere genel popülasyon için Al toksisitesi riskinin, aşının sağladığı faydalarla karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu bildirilmiş ve aşılarından Al'nin uzaklaştırılmasına ilişkin nörotoksisiteye dair herhangi bir bulgunun bulunmadığı belirtilmiştir (Principi ve Esposito, 2018).

Al deodorant/ter önleyiciler, rujlar, sıvı fondötenler, diş macunları gibi binlerce farklı formülasyona sahip kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde bulunmaktadır. Deri yoluyla Al emilimine ilişkin çalışmalar oldukça sınırlıdır; bununla birlikte, Tüketici Güvenliği Bilimsel

Komitesi (SCCS), püskürtülebilir ve püskürtülemeyen Al içeren kozmetik ürünler için güvenli limitler önermiştir (Bryliński vd., 2023). Kozmetik ürünlerde yaygın kullanılan alüminyum-klorohidrat gibi bileşiklerin, uzun süreli kullanımda kümülatif maruziyete katkı sağladığı düşünülmektedir (Klotz vd., 2017).

### **Alüminyumun dağılımı**

Emilen Al, kanda başlıca transferrin (%90), sitrat (%7–8) ve daha az oranda fosfat ve hidroksit komplekslerine bağlı olarak taşınır (Rahimzadeh vd., 2022). Transferrin ile benzer taşıma mekanizmalarını paylaşması, Al'nin özellikle demir metabolizması üzerinde bozulmalara yol açabileceğini düşündürmektedir (Peng vd., 2021). Transferrin aracılığıyla taşınan Al, KBB'yi geçerek beyin dokusuna ulaşabilmektedir. Beyin, Al eliminasyonu açısından yetersiz bir yapıya sahip olduğu için burada zamanla birikim gerçekleşmektedir (Wang, 2023).

Vücutta Al en fazla kemik dokusunda (%60), ardından akciğerler (%25), kas dokusu (%10), karaciğer (%3) ve beyin dokusunda (%1) depolanmaktadır (Rahimzadeh vd., 2022). Hücre düzeyinde ise Al; nöronların lizozomlarında, karaciğerin parankim hücrelerinde, böbrek tübül hücrelerinde ve osteoblast mitokondrilerinde birikim göstermektedir (Heard, 2007).

### **Alüminyumun atılımı**

Emilen Al'nin vücuttan atılımı başlıca böbrekler yoluyla gerçekleşir. Sağlıklı bireylerde emilen Al'nin yaklaşık %95'i glomerüler filtrasyonla idrarla atılmaktadır. Bunun dışında, dışkı (özellikle emilmeyen kısmın eliminasyonu), safra, ter, saç, tırnak, süt ve semen gibi yollarla da atılım söz konusudur. Ancak yüksek maruziyet durumlarında ya da böbrek fonksiyon bozukluklarında Al atılımı yavaşlamakta, bu da sistemik birikimi ve toksik etkileri artırmaktadır (Irnidayanti vd., 2023). Özellikle diyalize giren hastalarda ya da parenteral beslenme alan bireylerde Al atılımı sınırlı olduğundan, nörotoksik komplikasyonlara yatkınlık artmaktadır (Chuang vd., 2022). Bu nedenle Al'nin biyolojik yarılanma ömrü, maruziyetin dozu, süresi ve bireyin eliminasyon kapasitesine göre birkaç saatten birkaç yıla kadar değişkenlik gösterebilir.

### **Alüminyum Maruziyetinin Sağlık Üzerindeki Etkileri**

Al'nin insan vücudunda bilinen fizyolojik bir işlevi olmamakla birlikte, özellikle uzun süreli ve yüksek düzeyde maruz kalındığında toksik etkiler gösterdiği anlaşılmıştır. Şekil 2'de, Al maruziyetinin doku, organ ve sistem düzeyinde oluşturabileceği olası etkiler yer almaktadır. Mevcut veriler, Al'nin başta MSS olmak üzere çeşitli dokularda birikim eğilimi gösterdiğini ve nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. Bu

potansiyel ilişkiyi destekleyen başlıca mekanizmalar arasında oksidatif stresin artması, hücre içi protein agregasyonlarının oluşması (örneğin A $\beta$  birikimi), mitokondriyal fonksiyonların bozulması ve inflamatuvar yanıtların uyarılması yer almaktadır. Ayrıca, nöronal hücrelerde apoptozun indüklenmesi ve nörotransmitter dengesizlikleri de Al'nin nörotoksik etkilerine katkı sağlayan diğer faktörlerdir (Makhdoomi vd., 2023).



**Şekil 2.** Alüminyum'a maruziyetin sağlık üzerine olası etkileri.

Al'nin zararlı etkileri yalnızca sinir sistemiyle sınırlı değildir; solunum sistemi de bu metalin toksisitesine karşı duyarlıdır. Özellikle endüstriyel ortamlarda, örneğin Al üretim ve işleme tesislerinde çalışan bireyler, alümina tozlarına ve dumanlarına kronik olarak maruz kalmaktadır. Bu tür maruziyetin, akciğer dokusunda kalıcı hasara neden olarak pulmoner fibrozis, kronik bronşit ve azalmış solunum kapasitesi gibi klinik tablolara yol açabileceği gösterilmiştir (Kongerud ve Søyseth, 2014). Ayrıca, çevresel Al kirliliğinin yüksek olduğu bölgelerde yaşayan bireyler de benzer risklere maruz kalabilir.

Karaciğer üzerindeki toksik etkilerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda, Al'nin, hepatositlerde enerji metabolizmasını bozarak ATP üretimini engellediği, glikoliz ve Krebs döngüsünü inhibe ettiği, protein ve lipid oksidasyonunu artırdığı raporlanmıştır (Geyikoglu vd., 2013). Ayrıca metal homeostazını bozarak demir birikimine neden olması sonucunda oksidatif

stresin daha da güçlenmesi sonucunda hücrelerde, DNA hasarına ve hücre ölümüne neden olduğu belirlenmiştir (Teschke, 2022).

Renal sistem (böbrekler), Al'nin vücuttan atılımında rol almasına rağmen, yüksek dozlarda bu metale maruz kalındığında toksik etkilerle karşı karşıya kalmaktadır. Böbrek dokusunda biriken Al, glomerüler filtrasyon hızının azalmasına, tübüler hasara ve elektrolit dengesizliklerine yol açabilir. Kronik maruziyet durumlarında bu etkiler, ilerleyici böbrek yetmezliğine kadar gidebilir (Oliveira vd., 2021).

Bunların yanında Al'nin, lenfositlerde immünsüpresyona, eritrositlerde ise apoptoza neden olabildiği raporlanmıştır (Zuo vd., 2021). Ayrıca, Al'nin kemik dokusu üzerindeki etkileri de kayda değerdir. Özellikle uzun süreli maruziyetin, kemik mineralizasyonunu olumsuz etkileyerek osteomalazi, düşük kemik yoğunluğu ve artmış kırık riski gibi durumlara neden olabileceği bildirilmiştir (Liu vd., 2016).

Bazı çalışmalar, Al maruziyetini hipertansiyon, iskemik inme ve endokrin bozukluklarla ilişkilendirmiş; Al'nin parathormon, testosteron, luteinize edici hormon, folikül uyarıcı hormon, östradiol, noradrenalin, kortizol, tiroid hormonları ve insülin salgısını etkileyebildiği rapor edilmiştir. Bunlara ek olarak, endokrin sistemin Al'den etkilenebileceği ve hormonal dengenin bozulabileceği yönünde bulgular da mevcuttur. Östrojen reseptörleri ile etkileşime girerek endokrin bozucu etki oluşturabileceği düşünülmekte ve bu mekanizma üzerinden meme kanseri gibi bazı malignitelerle ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (Correia vd., 2021).

### **Alüminyum ve Hücre İçi Sinyal İletimi**

Al'nin sinir dokusundaki hücrelerel iletişim süreçlerine etkisi sınırlı düzeyde anlaşılabilmektedir. Beyin hücrelerinde, birçok fizyolojik yanıt nörotransmitterler, nöromodülatörler ve hormonlar gibi moleküllerin reseptörlerine bağlanmasıyla aktive olan ikinci haberci sistemler aracılığıyla düzenlenir. Bu sistemlerden biri olan polifosfoinozit döngüsü, reseptör-ligand etkileşimiyle aktive edilmekte olup, Al'nin bu yola müdahale ettiği hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda gösterilmiştir (Agrahari vd., 2021).

Al'nin bu sinyal yolunu reseptörler, G proteinleri, fosfolipaz C (PI-PLC) enzimi ya da substratları üzerinden baskılayabileceği öne sürülmektedir. Ancak, yapılan erken dönem çalışmalarda, reseptörler ve G proteinleri üzerindeki etkisinin sınırlı olduğu bildirilmiştir (Mundy ve Shafer, 2001). Al'nin negatif yüklü polifosfoinozitlerle afinitesi nedeniyle, bu lipidler zar üzerinde kümelenebilir ve yük dengesi bozulabilir. Bu durum, PI-PLC'nin substratlarına bağlanmasını zorlaştırarak enzim aktivitesini düşürebilir. Öte yandan,

fosfatidilkolin gibi zitteriyonik fosfolipitler Al ile zayıf etkileşime girdiğinden, bu lipitler üzerinden belirgin bir etki oluşmaz (Verstraeten ve Oteiza, 2013).

Al'nin polifosfoinozit döngüsü gibi ikinci haberci sistemlere müdahalesi, sinir hücreleri arasındaki iletişim ağını doğrudan etkileyen önemli bir mekanizmadır. Bu döngü, nöronlar ve glial hücreler arasındaki fizyolojik yanıtların düzenlenmesinde kritik rol oynamakta olup, hafıza, öğrenme ve duygu durumunun sürdürülmesi için gereklidir (Frere vd., 2012; Raghu vd., 2019). Al'nin zar lipidleriyle etkileşerek PI-PLC enzim aktivitesini baskılaması, hücrelerin uyarılara yanıt verme kapasitesini azaltır. Özellikle oligodendrositlerde transferrin aracılığıyla birikmesi, miyelin kılıf bütünlüğünü bozarak aksiyon potansiyeli iletim hızını düşürebilir. Bu durum, uzun vadede bilişsel fonksiyonlarda bozulma, motor koordinasyon kaybı ve nörodejeneratif süreçlerin hızlanması gibi sonuçlara yol açabilir (Ahmed, 2021). Dolayısıyla, bu sinyal yolundaki bozulmalar yalnızca biyokimyasal bir değişiklik olarak değil, aynı zamanda sinir sistemi işlevlerini temelden zayıflatan bir patofizyolojik süreç olarak değerlendirilmektedir.

### **Alüminyum Toksisitesinin Mekanizmaları**

Al'nin beyinde biriktiği kesin olarak bilinmekle birlikte, beyine hangi mekanizmalarla ulaştığı tam olarak aydınlatılamamıştır. Muhtemelen, diğer esansiyel olmayan metallerde olduğu gibi, fizyolojik taşıma ve emilim mekanizmalarını kullanarak (hijack) geçiş yapmaktadır. Emilimin ardından Al'nin yaklaşık %90'ı, Fe katyonlarının taşınmasından da sorumlu olan serum transferrin (Tf) ile bağlanır. Bu protein, transferrin reseptörü (TfR)-aracılı endositoz yoluyla Al'nin KBB'ye geçişinde rol oynayabilmektedir. Kalan yaklaşık %10'luk kısmın büyük bölümü ise, beyin-omurilik sıvısında (BOS) daha yüksek oranda bulunan Al-sitrat formunda dolaşır. Bu durum, Tf'den bağımsız başka bir taşıma mekanizmasının varlığına işaret etmektedir (Bryliński vd., 2023). Ayrıca, Al'nin KBB üzerinden difüzyon hızını seçici olarak artırabildiği gösterilmiştir (Kandimalla vd., 2016). Bazı beyin damarlarının Al birikimine diğerlerinden daha yatkın olduğu bildirilmiş olup, bunlar arasında özellikle hipokampusu besleyen arka serebral arterin ve insan beyin mikrovasküler endotel hücreleriyle döşeli beyin arterlerinin öne çıktığı belirtilmiştir. Hipokampal alan dışında Al birikimi en fazla serebellum ve kortekste gözlenmektedir (Bhattacharjee vd., 2013; Duckett, 1976). Bunların yanında, Al'nin burun mukozası ve koku siniri yoluyla doğrudan beyne ulaşma ihtimali de bulunmaktadır (Exley, 2013).

Belirtilen toksisite göz önünde bulundurulduğunda, Al katyonları ve bileşikleri hücre düzeyinde kritik işlev ve süreçleri bozabilmekte; bu nedenle maruziyetin etkileri hem moleküler hem de sistemik düzeyde ortaya çıkmaktadır. Çalışmalar, kronik Al maruziyetinin beyinde

birikime yol açarak oksidatif stres, inflamasyon, mitokondriyal işlev bozukluğu, protein agregasyonu ve sinaptik iletimde aksama gibi çeşitli patofizyolojik mekanizmaları tetikleyebildiğini ortaya koymuştur. Bu süreçlerin, nöronların bütünlüğünü ve işlevini bozarak öğrenme, bellek ve davranış gibi bilişsel süreçleri olumsuz etkileyebildiği raporlanmıştır.

### **Alüminyumun nörotoksik etkilerinde oksidatif stresin rolü**

Beyin hem yapısal hem de metabolik özellikleri nedeniyle çevresel toksinlere, endojen metabolitlere ve çeşitli stres faktörlerine karşı son derece duyarlıdır (Wylie ve Short, 2023). MSS, vücuttaki toplam ağırlığın yalnızca yaklaşık %2'sini oluşturmalarına rağmen, dinlenim halindeki toplam oksijen tüketiminin %20'sini gerçekleştirmektedir (Ionescu-Tucker ve Cotman, 2021). Bu yüksek oksijen ihtiyacı, enerji gereksiniminin karşılanması için elzemdir; ancak aynı zamanda beyin dokusunu ROT üretimine ve buna bağlı olarak oksidatif hasara karşı savunmasız hale getirir (Vinokurov vd., 2021). Ek olarak, nöronal zararlar bol miktarda çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içerdiğinden, serbest radikallerle etkileşime girerek kolayca lipid peroksidasyonuna uğrayabilir (Fu vd., 2022). Bu da hücre zarının bütünlüğünü bozarak iyon dengesizliğine, mitokondriyal disfonksiyona ve sonuçta nöronal ölümle sonuçlanabilecek patolojik süreçlerin başlamasına yol açar (Angelova vd., 2021).

Oksidatif stres, hücrede prooksidan üretimi ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin bozulması durumudur (Ionescu-Tucker ve Cotman, 2021). Normal şartlarda hücre içi ROT düzeyleri, SOD, KAT ve GPx gibi endojen antioksidan enzim sistemleri tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir (Ishaq vd., 2023). Bu enzimler, süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ) gibi reaktif türleri daha az zararlı bileşiklere dönüştürerek hücre içi homeostazı sağlamakla görevlidir (Anwar, 2022). Ancak bu sistemlerin yetersizliği ya da ROT üretiminin bu sistemlerin kapasitesini aşacak şekilde artması, proteinlerin oksidatif modifikasyonuna, lipid peroksidasyonuna ve nükleik asit hasarına neden olur (Iuchi vd., 2021). Özellikle lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA gibi yan ürünler, zar yapılarında ciddi bozulmalara yol açar ve MDA düzeyleri, oksidatif hasarın biyokimyasal bir göstergesi olarak değerlendirilir (Fu vd., 2022).

Oksidatif stresin süreklilik kazanması, hücresel sinyal yollarını bozarak mitokondriyal disfonksiyon, kalsiyum homeostazının bozulması, sitokin salınımında artış ve apoptoz gibi süreçlerin aktive edilmesine yol açabilir (Anwar, 2022; Iuchi vd., 2021). Nöronlar, sınırlı rejenerasyon yetenekleri ve post-mitotik yapıları nedeniyle bu tür hasarlardan sonra kendilerini tam olarak yenileyemediklerinden oksidatif hasarın, Alzheimer, Parkinson, Huntington hastalığı gibi birçok nörodejeneratif hastalıkta erken dönemden itibaren gözlemlenen merkezi patolojik mekanizmalardan biri olarak kabul edilmektedir (Alqahtani vd., 2023).

Al'nin biyolojik sistemlerde doğrudan bir redoks aktivitesi bulunmamasına rağmen, yani kendi başına elektron alıp vererek serbest radikal üretimi gerçekleştirmemesi beklenmesine karşın, son yıllarda yapılan çok sayıda in vitro ve in vivo deneysel çalışma, yüksek konsantrasyonlardaki Al maruziyetinin hücresel düzeyde oksidatif stres oluşturduğunu ortaya koymuştur (Campos vd., 2022). Bu paradoksal durum, Al iyonlarının dolaylı yollarla ROT üretimini artırdığı ve antioksidan savunma sistemlerini baskıladığı mekanizmalarla açıklanmaktadır.

Al, hücre içi ortamlarda demir ( $Fe^{2+}$ ) ve kalsiyum ( $Ca^{2+}$ ) gibi diğer metal iyonlarının yerini alarak veya bu iyonlarla etkileşime girerek redoks dengesini bozabilmektedir (Jomova vd., 2024). Özellikle mitokondriyal fonksiyonları bozarak elektron taşıma zincirinin etkinliğini düşürdüğü, bu durumun da ROT üretiminde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Yapılan araştırmalar, Al toksisitesinin MDA düzeylerini artırarak lipid peroksidasyonunu tetiklediğini, buna karşılık SOD, GPx ve KAT gibi başlıca antioksidan enzimlerin aktivitelerini baskıladığını ortaya koymuştur (Sadek vd., 2019).

Artan oksidatif stres sonucu lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein oksidasyonu gibi moleküler düzeyde bozulmalar meydana gelir. Bu bozulmalar, hücre bütünlüğünü tehdit ederken aynı zamanda inflamasyon, apoptoz ve nörodejenerasyon gibi patolojik süreçleri de tetikleyebilir. Dolayısıyla, Al'nin redoks-inaktif bir metal olmasına rağmen, hücresel ortamdaki dengeyi bozarak oksidatif stresin temel tetikleyicilerinden biri haline gelebileceği anlaşılmaktadır. Nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde merkezi bir rol oynayan oksidatif stresin, Al'nin yüksek düzeyde biriktiği toksikasyon durumlarında da önemli bir etkene olduğuna dair çeşitli kanıtlar ortaya konmuştur (Fernandes vd., 2021).

### **Beyinde kolinesterazların rolü ve alüminyum toksisitesi**

Beyin, karmaşık bir sinaptik ağ üzerinden gerçekleşen iletişimle vücut fonksiyonlarının düzenlenmesinde merkezi rol oynar. Bu iletişim, sinaptik iletim olarak adlandırılan süreçle sağlanır. Sinaptik iletim, bir nöronun akson terminalinden salınan nörotransmitterlerin, bir başka nöronun veya hedef hücrenin reseptörleriyle etkileşmesiyle gerçekleşir. Bu iletişim şekli, öğrenme, hafıza, duygudurum, hareket, otonom işlevler ve biliş gibi çok sayıda nörofizyolojik sürecin temelini oluşturur (Wang ve Dudko, 2021).

Sinaptik iletimde en önemli nörotransmitterlerden biri asetilkolin (ACh)'dir. ACh, özellikle kolinerjik sistemin bir parçası olarak; hipokampus, bazal ön beyin, amigdala ve korteks gibi bölgelerde yaygın şekilde bulunur ve öğrenme, bellek oluşumu, dikkat ve uyanıklık gibi yüksek bilişsel işlevlerde kritik rol oynar (Huang vd., 2022). Sinaptik boşlukta görevini

yerine getirdikten sonra ACh'nin ortadan kaldırılması gerekir; aksi takdirde sürekli sinaptik uyarım meydana gelir ve bu durum hücresel düzeyde toksisiteye yol açabilir (Aroniadou-Anderjaska vd., 2023). İşte bu noktada kolinesteraz enzimleri, özellikle de asetilkolinesteraz (AChE) devreye girer.

AChE, ACh'yi hızla asetat ve koline parçalayan bir enzimdir. Bu parçalanma sayesinde sinaptik boşlukta ACh birikimi önlenir ve sinyalleme dengelenir (Muramatsu vd., 2022). Bu süreç, nöronlar arası iletişimin zamanlamasının ve hassasiyetinin korunması açısından hayati öneme sahiptir. AChE'nin yetersizliği veya inhibisyonu, sinaptik iletimin kesintiye uğramasına, nörotoksik uyarılara ve bilişsel bozukluklara neden olabilir (Karimani vd., 2021). Bu durum, AD gibi bazı nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde önemli bir yer tutar (Bekdash, 2021). Bu nedenle, AD tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar (örneğin donepezil, rivastigmin) AChE inhibitörleridir; yani sinaptik boşlukta ACh'nin süresini artırarak bilişsel fonksiyonları geçici olarak iyileştirmeyi hedefler (Vecchio vd., 2021).

Bazı nörodejeneratif hastalıkların yanında Al gibi toksik metal maruziyetinin AChE düzeylerinde gözlenen değişikliklere veya aktivite bozukluğuna sebep olduğu bilinmektedir (Ferrazza vd., 2023; Zygan-Filipiak vd., 2025). Nörotoksik maddelerin etkisiyle özellikle sinaptik iletim ciddi biçimde zarar görebilir. Bu, nörotransmitter sentezi, salınımı ve reseptör yanıtlarının bozulmasına neden olarak hem elektriksel aktivitenin hem de davranışsal yanıtların sekteye uğramasına yol açar.

### **Sinaptik plastisite ve BDNF**

Sinaptik plastisite, nöronlar arasındaki bağlantıların yapısal ve işlevsel olarak değişebilme kapasitesini ifade eder ve beyin öğrenme, hafıza oluşturma, davranışsal adaptasyon ve deneyime yanıt verme gibi yüksek bilişsel fonksiyonlarının temelini oluşturur (Taylor ve Jeans, 2021). Bu süreç; yeni sinapsların oluşumu (sinaptogenez), mevcut bağlantıların güçlenmesi (uzun süreli potansiyasyon, LTP) ya da zayıflaması (uzun süreli depresyon, LTD) gibi mekanizmalarla gerçekleştirilir (Naro ve Calabrò, 2024). Sinaptik plastisitenin sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi, yalnızca elektriksel uyarılara değil, aynı zamanda nörotrofik faktörlerin mevcudiyetine de bağlıdır.

Bu bağlamda en önemli nörotrofik moleküllerden biri beyin kaynaklı nörotrofik faktör (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)'dür. BDNF, özellikle hipokampus, prefrontal korteks ve amigdala gibi öğrenme, hafıza ve duygudurum düzenlemesinde görev alan beyin bölgelerinde yüksek düzeyde eksprese edilir (Toader vd., 2025). BDNF, sinaptik plastisiteyi

desteklemekle kalmaz; aynı zamanda nöronal farklılaşma, hayatta kalma, aksonal ve dendritik büyüme gibi süreçlerde de önemli bir rol oynar (Esvald vd., 2022).

BDNF düzeylerindeki azalma, özellikle kronik stres, oksidatif hasar, inflamasyon veya nörotoksik ajanlara maruziyet gibi patolojik durumlarda gözlenir ve bu azalma sinaptik plastisiteyi ciddi şekilde zayıflatır (Ben-Azu vd., 2022; Ramírez-Carreto vd., 2023). Bu da öğrenme bozuklukları, hafıza kaybı, motivasyon eksikliği ve duygudurum düzensizlikleri gibi nöropsikiyatrik semptomlara yol açabilir (Ramírez-Carreto vd., 2023). Pek çok çalışma, BDNF düzeyleri ile epilepsi, AD ve majör depresyon gibi nöropsikiyatrik bozukluklar arasında güçlü bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur (Gliwińska vd., 2023). Bu nedenle, BDNF yalnızca bir nörotrofik destek molekülü değil, aynı zamanda nöroplastisitenin biyokimyasal belirteci olarak da değerlendirilmektedir. Deneysel nörotoksikite modellerinde BDNF düzeyinin ölçülmesi, sinaptik bütünlüğün korunup korunmadığını anlamak ve potansiyel tedavi ajanlarının etkinliğini değerlendirmek açısından kritik öneme sahiptir.

Al toksisitesi, BDNF düzeylerini düşürerek bu yaşamsal süreçleri sekteye uğratır. Al maruziyeti sonucunda artan oksidatif stres ve nöroenflamasyon, BDNF ekspresyonunu baskılayarak nöronal sağkalımı olumsuz etkiler (Liu vd., 2022). Ayrıca, Al maruziyetinin CREB (cAMP response element-binding protein) gibi BDNF transkripsiyonunu düzenleyen faktörlerin aktivitesini bozduğu gösterilmiştir (Sun vd., 2022).

### **Beyinde alüminyum toksisitesinin p53 yolağına etkisi**

P53 sinyal yolu, hücresel streslere karşı verilen yanıtların koordinasyonunda görev alan ve hücre döngüsünün düzenlenmesi, DNA onarımı, senesens ve apoptoz gibi yaşamsal süreçleri kontrol eden çok yönlü bir transkripsiyon faktörüdür. Fizyolojik koşullarda, p53 proteini düşük düzeylerde bulunur ve Mouse Double Minute 2 homolog (MDM2) gibi negatif düzenleyici proteinler aracılığıyla proteazomal yıkıma yönlendirilir. Ancak hücre içi çevrede DNA hasarı, oksidatif stres, onkogen aktivasyonu veya toksik ajanlara maruz kalma gibi durumlar ortaya çıktığında, p53 stabilize olur ve nükleusa transloke olarak hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır (Villalón-García vd., 2023). Al maruziyeti, özellikle MSS mitokondriyal disfonksiyon, ROT üretiminde artış ve inflamatuvar yanıtların aktive olması gibi çeşitli stres kaynaklarını tetikleyerek p53 yolunu aktive eden önemli bir çevresel toksik ajandır (Renke vd., 2023).

P53'ün aktivasyonu, öncelikle hücre döngüsünün G1/S ve G2/M kontrol noktalarında durdurulmasını sağlayarak hücrenin hasarı onarma girişiminde bulunmasına olanak tanır. Bu süreçte p21 gibi siklin bağımlı kinaz inhibitörlerinin ekspresyonu artar. Ancak hasarın onarılamayacak düzeyde olması durumunda, p53 apoptozu indükleyen genlerin (örneğin *Bax*,

*Puma, Noxa*) ekspresyonunu artırırken, anti-apoptotik genlerin (örneğin *Bcl-2*) ekspresyonunu baskılayarak mitokondriyal dış membran geçirgenliğinde artışa neden olur (Bazhanova ve Kozlov, 2024). Bu değişiklikler sonucunda sitokrom c salınımı gerçekleşir, apoptosom kompleksi oluşur ve kaspaz kaskadı aktive olarak hücrenin programlı ölümü başlatılır. Böylece, p53 aracılığıyla hasarlı nöronların eliminasyonu sağlanır. Ancak, Al'ye kronik maruziyet durumunda p53'ün sürekli aktivasyonu, fizyolojik sınırların ötesine geçen apoptoz süreci ile nöronal kayıplara, sinaptik bütünlüğün bozulmasına ve nörodejeneratif süreçlerin hızlanmasına yol açar.

Ayrıca p53, yalnızca apoptoz ve hücre döngüsü üzerinde değil, aynı zamanda oksidatif stres yanıtı ve inflamasyonun düzenlenmesinde de görev alır. P53'ün bazı hedef genleri, antioksidan savunma mekanizmalarının düzenlenmesi ile ilişkilidir; ancak kronik stres altında p53 ağırlıklı olarak pro-oksidatif yanıtları destekleyebilir. Bu bağlamda, p53'ün aşırı aktivasyonu, nöronal redoks dengesinin daha da bozulmasına ve oksidatif hasarın ilerlemesine katkıda bulunabilir. Al toksisitesinde gözlenen bu çok yönlü p53 yanıtı, bilişsel bozukluklar ve AD gibi nörodejeneratif tablolarla yakından ilişkilendirilmiştir (Jazvinščak Jembrek vd., 2021).

### **Nöroinflamasyon**

Nöroinflamasyon, MSS bağışıklık hücrelerinin patolojik bir uyaran karşısında aktive olmasıyla ortaya çıkan hem savunucu hem de zararlı etkiler yaratabilen bir süreçtir (Teleanu vd., 2022). Normal koşullarda mikroglialar ve astrositler, beyin dokusunun homeostazını sürdürürken, enfeksiyon, toksin maruziyeti, travma veya protein agregatlarının birikimi gibi durumlarda proinflamatuvar fenotipe dönüşerek sitokin, kemokin ve ROT salgırlar (Gařowska-Dobrowolska vd., 2023; Pathak ve Sriram, 2023).

Kronik nöroinflamasyon yalnızca nöronları değil, aynı zamanda destek hücreleri olan oligodendrositler, astrositler ve endotel hücrelerini de olumsuz etkiler (Sun vd., 2023). Özellikle oligodendrositlerin hasar görmesi, miyelin kaybına neden olarak aksoplazmik iletimi bozar ve nöronal iletişimde ciddi aksaklıklara yol açar (Festa vd., 2025). Astrositlerdeki inflamatuvar aktivasyon ise glutamat geri alımının azalmasına ve KBB geçirgenliğinin artmasına neden olur (Gullotta vd., 2023). KBB'nin zayıflaması, periferik immün hücrelerin beyin dokusuna geçişine olanak tanıyarak inflamasyonun şiddetlenmesine neden olur (Huang vd., 2021). Endotel hücrelerinin bu süreçte sitokine yanıt vererek yapısal bütünlüğünü kaybetmesi, vasküler disfonksiyona ve beyin içi mikrodolaşımın bozulmasına yol açar (Huang vd., 2021).

Tüm bu hücrel bozulmalar sonucunda, nöral ağların mimarisi ve fonksiyonu geri dönüşü zor şekilde hasar görür. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar, uzun süreli

inflamasyonun özellikle hipokampus, prefrontal korteks ve amigdala gibi öğrenme, hafıza, emosyonel düzenleme ve karar verme süreçlerinden sorumlu beyin bölgelerinde hacimsel küçülmelere (atrofi) ve nöronal yoğunlukta azalmaya neden olduğunu göstermektedir (Ni vd., 2021). Bu durum, glial hücrelerin (özellikle astrositlerin) hasara yanıt olarak aşırı proliferasyonu sonucu skar benzeri bir yapının oluştuğu gliyozis olarak adlandırılan sürecin başlamasına neden olur (Bondy, 2010). Bu patolojik süreç, nöronal rejenerasyonu engelleyerek sinaptik plastisiteyi sınırlar ve bilişsel fonksiyonların zayıflamasına katkıda bulunur (Lecca vd., 2022).

Son yıllarda nöroenflamasyonun belirteç profili genişlemiş; geleneksel sitokinlerin yanı sıra TREM-2, YKL-40, TYRO3 ve MIF gibi moleküller de mikrogial ve astrositik tepkilerin göstergeleri olarak öne çıkmıştır. TREM-2 (Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2), özellikle mikrogial hücrelerde eksprese edilen bir reseptördür ve hem homeostatik durumlarda hem de nödejeneratif süreçlerde kritik rol oynar. TREM-2'nin membran bağlı formu kadar çözünür formu (sTREM2) da Alzheimer hastalığı bağlamında biyobelirteç olarak dikkat çekmektedir; hastalarda CSF ve plazma düzeylerinde artışlar gözlenmiştir (sTREM2 ile AD ilerlemesi arasında ilişki bulunduğu bildirilmektedir) (Zhang vd., 2025). TREM-2, mikrogial fagositozu artırarak sinaptik kalıntıların temizlenmesini destekler; ancak bazı modellerde aşırı aktivasyonun da patolojik inflamasyonu tetikleyebileceği öne sürülmektedir (Shi vd., 2025).

YKL-40 (Chitinase-3-like protein 1; CHI3L1) ise esas olarak astrosit kaynaklı bir gliyal aktivasyon göstergesidir. Nörolojik hastalıklarda artmış YKL-40 düzeyleri, astrositik yanıt ve kronik inflamasyon varlığına işaret eder; AD, MS ve diğer nörodejeneratif bozukluklarda BOS ve plazma düzeylerinde yükseklikler bildirilmiştir (Muszyński vd., 2017). YKL-40 immunoreaktivitesi, AD ve diğer tauopatilerde GFAP ile kolokalize edilen astroglial hücre alt gruplarında gözlemlenmiştir (Bieger vd., 2023).

TYRO3 (TAM reseptör ailesinin bir üyesi) ise mikrogial ve nöronal hücrelerde proinflamatuvar sinyallerin baskılanmasında önemli rol oynar. Soluble (çözünür) formu da, Alzheimer çalışmalarında sTyro3 düzeyleri ile beyin yapı ve fonksiyonel korunma arasında ilişki gösterilmiştir (Brosseron vd., 2022). Bu durum, TYRO3'ün nöroinflamasyonun düzenlenmesinde hem membran-bağlı reseptör hem de çözünür form aracılığıyla etkili olabileceğini düşündürür.

Son olarak, MIF (Macrophage Migration Inhibitory Factor), geleneksel proinflamatuvar sitokinlerden biri olarak mikrogial aktivasyonu teşvik eder ve TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 gibi sitokin üretimini indükleyebilir. MIF'in özellikle akut inflamatuvar tepkilerde merkezi bir rolü olduğu;

AD, PD ve iskemik beyin hasarı modellerinde ekspresyonunun arttığı literatürde bildirilmiştir (Zeng vd., 2024).

Bu yeni belirteçler, nöroinflamatuvar süreçlerin hücresel ve moleküler düzeyde daha derinlemesine anlaşılmasına imkân tanır; özellikle TREM-2 ve sTREM2'nin terapötik hedef potansiyeli, nörodejeneratif hastalık modellerinde giderek daha fazla ilgi çekmektedir

### **Protein agregasyonları ve nörotoksisite**

Nörotoksisite süreci yalnızca oksidatif stres, inflamasyon ve hücresel enerji bozukluklarıyla sınırlı kalmaz; aynı zamanda patolojik protein birikimleri (agregasyonları) bu sürecin önemli ve geri döndürülemez bileşenlerinden birini oluşturur (Candelise vd., 2021). Normal şartlar altında, hücre içi protein sentezi ve katlanması oldukça kontrollü bir şekilde gerçekleşir ve yanlış katlanmış proteinler hücre içi kalite kontrol mekanizmaları (örn. proteozom sistemi, otofaji) tarafından uzaklaştırılır (Panwar vd., 2024). Ancak çevresel toksinlere, ağır metallere veya genetik yatkınlıklara bağlı olarak bu sistemlerdeki aksaklıklar, protein agregatlarının birikimine neden olabilir ve bu birikim nöronal bütünlüğü tehdit eden ciddi patolojik sonuçlara yol açar (Kumar, 2025; Nabi ve Tabassum, 2022).

Örneğin, AD'ye özgü patolojik sürecin temelini oluşturan  $\beta$ -amiloid ( $A\beta$ ), amiloid prekürsör proteininin (APP) anormal proteolitik yıkımı sonucu oluşan ve özellikle düşük çözünürlüklü  $A\beta_{1-42}$  formuyla ekstrasellüler birikim eğilimi gösteren bir proteindir (Sehar vd., 2022). Bu birikim, amiloid plakları şeklinde organize olur ve nöronlar arası sinaptik iletimi bozarak hipokampal plastisiteyi olumsuz etkiler (Torres-Flores ve Peña-Ortega, 2022). Ayrıca  $A\beta$ , oksidatif stres düzeylerini yükseltir, mikroglia ve astrositleri aktive eder ve böylece nöroinflamasyonun kronikleşmesine katkıda bulunur (Tamagno vd., 2021).

Benzer şekilde,  $\alpha$ -syn adlı presinaptik protein de nörodejeneratif koşullarda anormal birikim eğilimi gösteren yapılar arasında yer alır (Krawczuk vd., 2024). Fizyolojik olarak sinaptik vezikül döngüsünü düzenleyen ve dopaminerjik nöronlarda dopamin taşınmasında rol oynayan  $\alpha$ -syn, fosforilasyon, oksidasyon veya metal iyonlarıyla etkileşim gibi post-translasyonel modifikasyonlar sonucunda yapısal bütünlüğünü kaybedebilir ve sonuçta oligomerik ya da fibriller formda agregatlar oluşturarak hücre içinde birikir (Krawczuk vd., 2024). Özellikle Lewy cisimcikleri olarak adlandırılan bu patolojik birikimler, Parkinson hastalığı başta olmak üzere birçok sinükleinopati ile ilişkilendirilmiştir (Brás ve Outeiro, 2021). Ancak  $\alpha$ -syn akümüasyonu yalnızca Parkinson ile sınırlı kalmayıp, inflamasyon ve oksidatif stresin yoğun olduğu nörotoksik beyin ortamlarında da yaygın biçimde gözlemlenmektedir (Lyra vd., 2023).

Her iki protein agregasyonu da bağışıklık sistemi tarafından “tehlike sinyali” olarak algılanmakta ve mikrogial aktivasyonu tetiklemektedir (Vida vd., 2025). Mikrogiallar, bu yanlış katlanmış proteinleri fagosit etmek amacıyla aktive olur; ancak bu aktivasyon uzun süreli ve kontrolsüz hale geldiğinde pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) aşırı salınımı başlar (Rivas vd., 2022). Bu da kronik nöroinflamasyon döngüsünü başlatarak sağlıklı nöronların da zarar görmesine, sinaptik yapıların yıkılmasına ve bilişsel işlevlerin giderek zayıflamasına yol açar (Vida vd., 2025).

### **Beyinde alüminyum toksisitesinin Beta-amiloid (A $\beta$ ) üzerine etkisi**

A $\beta$ , AD ile en çok ilişkilendirilen nörotoksik peptidlerden biridir ve normalde APP yıkımı sonucu oluşur (Orobets ve Karamyshev, 2023). A $\beta$ , fizyolojik koşullarda düşük miktarda üretilebilirken, dengesiz üretim veya yetersiz temizlenme durumunda birikir ve beyinde ekstrasellüler plaklar oluşturur. Al toksisitesinin bu sürece katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Hosney vd., 2022). Çeşitli deneysel çalışmalar, Al’nin A $\beta$  oluşumunu artırdığını, A $\beta$  fibrilasyonunu hızlandırdığını ve bu peptidin yıkımını engellediğini ortaya koymuştur (Ahmed vd., 2022). Aynı zamanda Al, A $\beta$  ile doğrudan bağlanarak amiloid agregasyonunu stabilize eder ve toksik oligomerlerin oluşumunu kolaylaştırır. Bu oligomerler, sinaptik işlevleri bozarak nöronal iletişimi engeller, oksidatif stresi artırır ve hücrel toksisiteyi tetikler (Raduan vd., 2025). Ayrıca, A $\beta$  birikimi mikrogial aktivasyonu uyarak nöroinflamasyonu artırır; bu da IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını teşvik eder ve döngüsel bir hasar mekanizmasını başlatır (Shahcheraghi vd., 2023). Al maruziyeti sonucu oluşan A $\beta$  birikimi, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve apoptoz gibi nörotoksik süreçlerle birlikte hareket ederek Alzheimer tipi nörodejeneratif süreçlerin ilerlemesini hızlandırır. Bu nedenle A $\beta$  birikimi, Al’nin beyin üzerindeki zararlı etkilerinin kritik bir bileşenidir ve AD patofizyolojisinde merkezi bir rol oynar.

Al, Alkalen Fosfataz ve AChE gibi önemli nöronal enzimlerin aktivitesini etkileyerek nörotransmisyonu azaltabilir; ayrıca hücre döngüsü için kritik olan Siklin D ve Katepsin D ekspresyonunu artırır (Akinrinade vd., 2015; Duckett, 1976). Çeşitli Al bileşikler, hipokampal hücre kültürlerinde nöronal ve glial apoptoza yol açmıştır (Platt vd., 2007). Bununla birlikte, bazı fare çalışmalarında aşırı oral Al alımı ne A $\beta$  ve tau proteini birikimini artırmış, ne de nöroenez üzerinde etkili olmuştur; mekânsal öğrenme ve hafıza ise değişmemiştir (Ribes vd., 2010).

Memeli beyinde periton içi veya oral Al uygulaması, AD’li bireylerde görülen nörofibriller yumaklara (NFT) benzer bir nörofibriller dejenerasyon paternine yol açabilmektedir (Bryliński vd., 2023). Ancak Oshima vd., kronik oral Al alımının tau

agregasyonu, apoptoz ve nörolojik disfonksiyonları yalnızca tau agregasyonu bulunan transgenik farelerde indüklediğini, vahşi tip farelerde ise bu etkilerin görülmediğini ortaya koymuştur (Oshima vd., 2013).

### **Beyinde alüminyum toksisitesinin $\alpha$ -syn üzerine etkisi**

$\alpha$ -syn, presinaptik terminallerde bol miktarda bulunan ve sinaptik vezikül dinamiğinde, dopamin salınımında ve sinaptik plastisitede görev alan küçük bir proteindir (Sharma ve Burré, 2023). Fizyolojik koşullarda çözünür ve fonksiyonel olan  $\alpha$ -syn, çeşitli stres faktörleri altında yanlış katlanarak toksik oligomer ve fibril yapılar oluşturabilir. Bu patolojik agregatlar, nöronlarda yapısal bozulmalara, sinaptik disfonksiyona ve hücre ölümüne yol açar (Surguchov ve Surguchev, 2022).

Al toksisitesi,  $\alpha$ -syn agregasyonunu tetikleyen başlıca çevresel risk faktörlerinden biridir. Al iyonlarının  $\alpha$ -syn ile doğrudan bağlandığı ve bu bağlanmanın proteinin konformasyonunu değiştirerek fibril oluşumunu hızlandığı gösterilmiştir (Zhao vd., 2022). Ayrıca, Al maruziyeti sonucu artan ROT ve nöroenflamasyon,  $\alpha$ -syn ifadesini artırabilir ve bu proteinin hücrede toksik birikimine zemin hazırlar (Saberzadeh vd., 2016). Oligomerik  $\alpha$ -syn birikimi, özellikle mikroglia aktivasyonunu tetikleyerek IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyarır ve böylece beyin dokusunda kronik inflamasyon gelişir (Lyra vd., 2023).

Bu süreçler, nörodejeneratif hastalıkların (özellikle PD) temel pato-mekanizmalarından biri olmakla birlikte, Al maruziyeti ile indüklenen bilişsel ve motor bozuklukların da altında yatan mekanizmalardan biridir (Vrbanc vd., 2024).

### **Beyinde alüminyum toksisitesinin CYP2E1 üzerine etkisi**

ROT'un başlıca kaynakları arasında mitokondriyal disfonksiyon, NADPH oksidazlar, çeşitli hücresel enzimler ve metabolik süreçlerde görev alan sitokrom P450 ailesi yer almaktadır. Bu aile içerisinde yer alan Sitokrom P450-2E1 (CYP2E1), ROT üretiminde yüksek aktivite gösteren enzimlerden biridir ve aynı zamanda inflamatuvar süreçlerde de önemli rol oynamaktadır. Özellikle alkol, asetaminofen, pestisitler ve çevresel toksinlerin mikrozomal oksidasyonunda görev alarak toksik metabolit oluşumuna aracılık eder (Yu vd., 2021).

CYP2E1, karaciğer dışında akciğer, böbrek ve beyin gibi çeşitli ekstrahepatik dokularda da anlamlı düzeylerde ifade edilmektedir. İnsan ve kemirgen beyninde özellikle hipokampus, serebellum ve beyin sapı gibi bölgelerde CYP2E1 ekspresyonu tespit edilmiştir (Atia ve Alghriany, 2021). Oksidatif stres, inflamatuvar uyarılar ve toksik metal maruziyeti gibi

durumlarda bu enzimin ekspresyonu ve aktivitesinde belirgin bir artış gözlenir. Bu artış, normal metabolik işlevlerin ötesinde ROT üretimini artırarak hücrel redoks dengesini bozar.

CYP2E1'in aşırı aktivitesi; lipid peroksidasyonu, mitokondriyal membran potansiyel kaybı, ATP üretiminde azalma ve GSH düzeylerinde düşüş gibi hücre hasarına yol açan olayları tetikler (Dai vd., 2022). Ayrıca, bu durum apoptozla ilişkili *p53* ve *Bax* gibi pro-apoptotik genlerin aktivasyonunu artırırken, *Bcl-2* gibi anti-apoptotik genlerin baskılanmasına neden olarak nöronal ölüm riskini yükseltir. Özellikle hipokampus gibi öğrenme ve hafıza işlevlerinden sorumlu bölgelerde bu etkiler, bilişsel fonksiyonlarda bozulmalara neden olabilir (Pifferi vd., 2024).

Öte yandan, CYP2E1'in inflamatuvar yanıtla ilişkili olduğu da gösterilmiştir. NF- $\kappa$ B gibi transkripsiyon faktörleriyle olan etkileşimleri aracılığıyla proinflamatuvar sitokinlerin (örneğin IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) salınımını uyararak nöroinflamatuvar süreçleri destekler (Yu vd., 2021). Bu nedenle, CYP2E1 aktivitesindeki artış, oksidatif stres ve inflamasyonun bir araya gelerek sinerjik şekilde nörodejeneratif süreci hızlandırmasına katkı sağlar.

### **Nörotoksisite sonucu gelişen fonksiyonel ve davranışsal bozukluklar**

Tüm bu patolojik olayların bir sonucu olarak, nörotoksik hasarın en belirgin yansımalarından biri davranışsal düzeyde ortaya çıkar. Nöroinflamasyon, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve nörotransmitter sistemlerindeki (özellikle dopamin, serotonin ve asetilkolin) bozulmalar, beyinde yapısal ve moleküler düzeyde hasara yol açtığında; hipokampus, amigdala, prefrontal korteks ve striatum gibi duygu durumu, davranış ve bilişsel işlevlerden sorumlu bölgeler olumsuz etkilenir (Teleanu vd., 2022). Bu durum, bireylerde veya deneysel model hayvanlarda anksiyete, depresyon benzeri semptomlar, motor koordinasyon problemleri ve bilişsel işlevlerde belirgin gerileme ile kendini gösterebilir (Hollis vd., 2022).

Deneysel nörotoksisite modellerinde bu tür davranışsal değişikliklerin gözlemlenmesi, yalnızca toksik maddenin etkisini değerlendirmek açısından değil; aynı zamanda bu etkilerin klinik nörodejeneratif hastalıklardaki (örneğin Alzheimer, Parkinson, depresyon) semptomlarla benzerlik göstermesi bakımından da önemlidir. Bu tür modeller, potansiyel nöroprotektif ajanların davranış düzeyindeki iyileştirici etkilerinin belirlenmesinde de temel bir araç olarak kullanılır (Gao vd., 2025). Böylece moleküler ve hücrel düzeydeki biyobelirteçlerle davranışsal çıktıların bütüncül bir şekilde yorumlanması sağlanabilir.

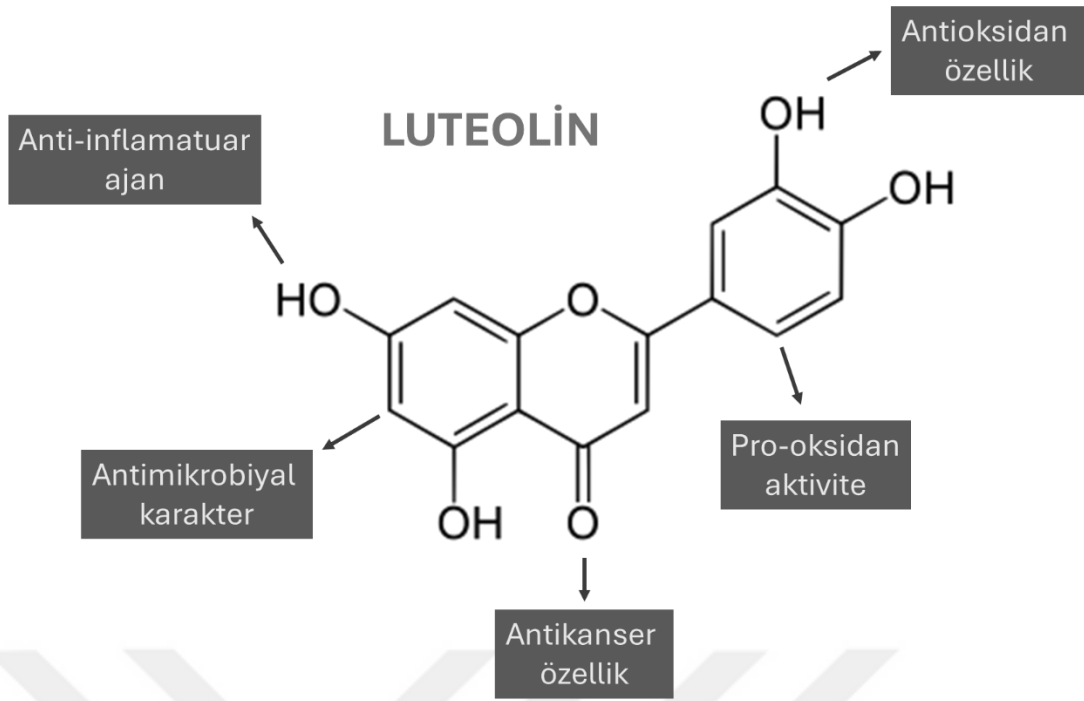
Al kaynaklı beyin toksisitesi üzerine yapılan davranış testleri, bu metalin hayvanlarda anksiyete ve depresyon benzeri davranışlara neden olduğunu, ayrıca hafıza ve öğrenme süreçlerini olumsuz etkilediğini göstermektedir (Abbas vd., 2022). Benzer şekilde, Al'ye

mesleki olarak maruz kalan insanlarda yürütülen bir araştırma da bu maruziyetin strese karşı hassasiyetin artışı ve depresyon riski ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bulgular, maruziyet düzeyi yükseldikçe strese karşı hassasiyetin arttığını, strese karşı hassasiyetin depresyon ile bağlantılı olmasının ise Al'nin depresyon için potansiyel bir risk faktörü olabileceğini düşündürdüğünü göstermektedir (Ghita vd., 2022).

### **Luteolin**

Luteolin (LUT), doğal olarak oluşan ikincil metabolitler ailesinden flavonoidler grubuna ait bir bileşiktir. Daha spesifik olarak ise flavonlar olarak sınıflandırılan flavonoid alt grubuna dâhildir. Yapısal olarak, LUT iki benzen halkası ve bir oksijen içeren halka olmak üzere tipik flavonoid iskeletine sahip 15 karbonlu bir flavondur. Tetrahidroksiflavon olması, her iki benzen halkasında ikişer hidroksil grubuna sahip olduğu anlamına gelir (Wan vd., 2025).

LUT ilk olarak 1829 yılında Fransız kimyager Michel Eugène Chevreul tarafından izole edilmiştir; ancak doğru kimyasal yapısı 1896 yılında İngiliz kimyager Arthur George Perkin tarafından önerilmiştir. LUT,  $C_{15}H_{10}O_6$  moleküler formülüne ve 286,24 moleküler ağırlığa sahip bir difenilpropan ( $C_6-C_3-C_6$ ) yapısı taşır; kimyasal yapısı Şekil 3'te gösterilmiştir. 5, 7, 3' ve 4' karbon pozisyonlarındaki hidroksil grupları ile 2 ve 3 karbonlar arasındaki çift bağ, LUT'un çeşitli farmakolojik etkilerine katkı sağlar. LUT'un güçlü antioksidan aktivitesi, yukarıda belirtilen karbon pozisyonlarındaki hidroksil gruplarına atfedilirken, 4. karbon pozisyonundaki karbonil oksijen, mikroorganizmaları etkili bir şekilde inhibe eder. Ayrıca, 2 ve 3 karbonlar arasındaki çift bağ, LUT'a biyosidal (mikroorganizmaları öldürücü) aktivite kazandırır (Lin vd., 2008).



**Şekil 3.** Luteolin'in moleküler yapısı ve fonksiyonel grupların biyolojik rolü.

LUT ilk olarak *Reseda odorata* L. adlı çiçekli bir bitkiden izole edilmiş ve Asya'nın bazı bölgelerinde geleneksel tıbbi bir iksir olarak kullanılmıştır. Günümüzde LUT; havuç (37,5 mg/kg kuru ağırlık), kurutulmuş maydanoz (100 g'da 19,75 mg), brokoli (74,5 mg/kg), yeşil biber (33,0 mg/kg), ıspanak (100 g'da 1,11 mg) ve lahana (100 g'da 0,4–0,6 mg) gibi Apiaceae (Maydanozgiller) ailesine ait sebzelerde yaygın olarak bulunur. Ayrıca, Lamiaceae (Ballıbabagiller) ailesine ait kekik (100 g'da 51 mg), taze nane (100 g'da 11,33 mg) ve *Perilla frutescens* gibi diğer bazı bitkiler de LUT açısından zengin kaynaklardır. Bunun yanı sıra, krizantem çiçekleri Doğu Asya'da bitkisel çaylar ve işlenmiş gıdalar şeklinde tüketilmekte olup, antioksidan aktivitelerinin kaynağı bu çiçeklerde bulunan LUT'dur (her 100 mg çiçekte 1 mg) (Jayawickreme vd., 2024).

#### **Luteolin emilimi ve biyoyararlanımı**

LUT, doğada aglikon ya da glikozit formunda bulunur; ancak en yaygın formu glikozillenmiş (şekerle bağlanmış) halidir. Biyoyararlanımı ise %4,1 ile %26 arasında bildirilmiştir (Daily vd., 2021). LUT aglikonu, lipofilik yapısı nedeniyle bağırsaklarda difüzyon yoluyla enterositlere (bağırsak hücrelerine) emilirken; LUT glikozitleri, önce aglikon formuna dönüştürülür. Enterositlerde ve/veya hepatositlerde (karaciğer hücrelerinde) LUT, yaygın şekilde LUT glukuronidleri ve/veya LUT sülfatları gibi metabolitlere dönüştürülür.

Sıçan ve insan plazmasında, sırasıyla luteolin-3'-O- $\beta$ -d-glukuronid ve luteolin-3'-O-sülfat en bol bulunan metabolitler olarak tanımlanmıştır. Sıçanlara oral olarak verildikten sonra

LUT ve metabolitlerinin en çok gastrointestinal sistem, karaciğer, böbrekler ve akciğerde dağıldığı; konjüge LUT'un başlıca eliminasyon yolunun ise safra ile atılım olduğu gösterilmiştir (Deng vd., 2017).

Ayrıca, farelere intraperitoneal (i.p.) yolla verilen LUT'un, KBB'yi kolaylıkla geçerek beyin dokusuna ulaştığı gösterilmiştir. LUT'un biyoyararlanımını artırmak amacıyla çeşitli taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir; bunlar arasında en çok araştırılanlar, lipid taşıyıcılar (örneğin lipozomlar) ve nanoformülasyonlar olmuştur (Taheri vd., 2021).

Kanser Araştırma Enstitüsü (ICR)'nde yapılan in vivo toksisite çalışmalarına göre, LUT'un erkek farelerinde LD<sub>50</sub> (ölümcül doz 50) değeri 460 mg/kg olarak belirlenmiştir. Ayrıca, 200 mg/kg dozunda LUT uygulanması, farelerde karaciğer ve böbrek toksisitesine yol açmıştır. Buna karşın, 100 mg/kg ve altındaki dozlarda uygulanan LUT'un anlamlı bir hepatorenal (karaciğer-böbrek) toksisiteye neden olmadığı gözlemlenmiştir (Kanai vd., 2016). Bu veriler, LUT'un genel olarak güvenli bir bileşik olduğunu ve toksik etkilerinin yüksek dozlarla sınırlı kaldığını göstermektedir.

#### **Luteolin'in etki mekanizması**

LUT, bitkisel kaynaklı doğal bir flavonoid olup, kimyasal yapısında bulunan hidroksil (OH) grupları sayesinde güçlü bir antioksidan olarak görev yapmaktadır. Hücrelerde metabolik faaliyetler ve çevresel faktörlerin etkisiyle sürekli oluşan serbest radikaller ve ROT, biyomoleküllere zarar vererek oksidatif stresi tetikler. Oksidatif stres, DNA, protein ve lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve hücre ölümüne yol açabilir. Özellikle yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer, Parkinson), kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve kronik inflamatuvar durumların gelişiminde oksidatif stresin merkezi bir rolü vardır (Deng vd., 2017). LUT, bu zararlı oksidatif süreçlere karşı hücreleri koruyan çok yönlü mekanizmalara sahiptir (Fernando vd., 2024).

Birincil olarak LUT, serbest radikallerle doğrudan reaksiyona girerek onları nötralize eder; bu süreçte hidroksil grupları elektron vererek radikal stabilizasyonu sağlar. Ayrıca LUT, metal iyonlarını şelatlayarak demir ve bakır gibi geçiş metallerinin katalizlediği Fenton reaksiyonlarını engeller. Böylece hidroksil radikal oluşumu azalır ve hücre içi oksidatif hasar minimuma iner (Jomova vd., 2022). LUT'un antioksidan etkinliği sadece doğrudan radikal temizleme ile sınırlı değildir. Hücrelerin kendi antioksidan savunma sistemlerini düzenleyen sinyal yollarını aktive ederek endojen koruyucu mekanizmaları güçlendirir. Özellikle Nrf2 yolunun aktive edilmesi LUT'un temel hücresel etkilerinden biridir (Xu vd., 2014). Nrf2, hücre çekirdeğine taşındığında antioksidan savunmadan sorumlu genlerin ekspresyonunu artırır; bu

genler arasında SOD, CAT ve HO-1 gibi antioksidan enzimleri kodlayan genler bulunur. Bu enzimler, ROT temizlenmesinde ve hücrel redoks dengesinin korunmasında kritik rol oynar (Aguilar vd., 2008).

LUT'un bu mekanizmaları, özellikle beyin gibi yüksek oksijen tüketimi ve lipid zenginliği nedeniyle oksidatif strese duyarlı organlarda büyük önem taşır. Beyin dokusundaki oksidatif hasar, sinir hücrelerinde fonksiyon kaybı, inflamasyon ve apoptotik hücre ölümüyle sonuçlanarak nörodejeneratif hastalıkların gelişimine zemin hazırlar. LUT, mikrogliya ve astrositler gibi glial hücrelerin aktivasyonunu inhibe ederek nöroinflamasyonu azaltır ve sinaptik plastisiteyi destekler. Bu sayede AD ve PD gibi hastalıklarda bilişsel fonksiyonların korunmasına yardımcı olur (Goyal vd., 2024). Kardiyovasküler sistemde ise LUT, endotelial hücrelerde nitrik oksit üretimini artırarak damar genişlemesini destekler ve oksidatif stresi azaltarak aterosklerotik plak oluşumunu engeller (Wan vd., 2025).

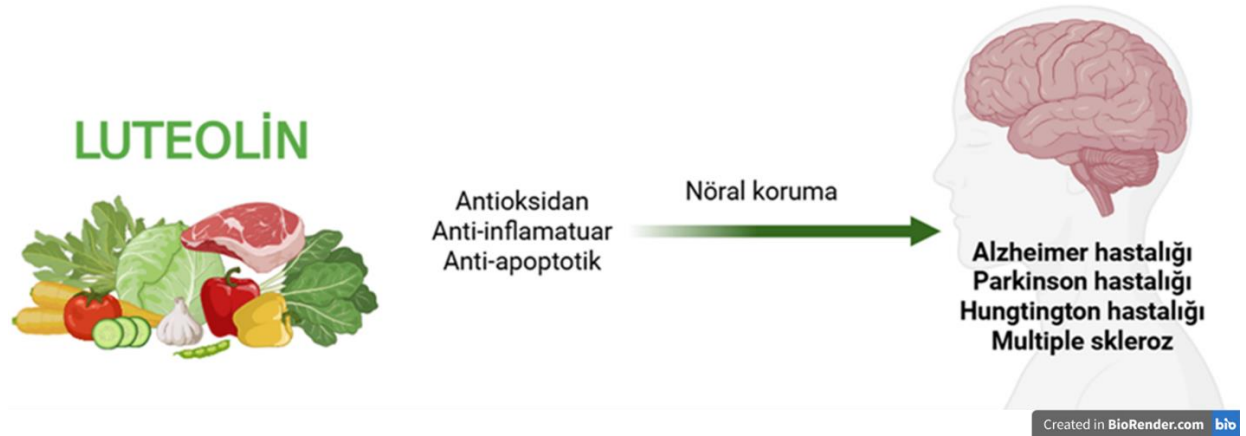
LUT'un antioksidan ve anti-inflamatuar etkileri kanser hücrelerinde de farklı mekanizmalarla işlev görür. Oksidatif DNA hasarını önleyerek mutasyon oranını düşürürken, aynı zamanda kanserli hücrelerde oksidatif stresle tetiklenen apoptotik yolları aktive ederek tümör büyümesini sınırlar. NF- $\kappa$ B ve MAP kinaz gibi pro-inflamatuar sinyal yollarını inhibe etmesi, kronik inflamasyonun ve tümör mikroçevresinin düzenlenmesine katkı sağlar (Imran vd., 2019).



Şekil 4. Luteolin'in sağlık üzerine etkileri.

### Luteolin'in nöroprotektif etki mekanizmaları

LUT, nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynayan oksidatif stres, inflamasyon ve sinir hücre ölümü süreçlerine karşı koruyucu etkileri nedeniyle son yıllarda yoğun şekilde araştırılmış doğal bir flavonoiddir. Alzheimer, Parkinson ve Huntington gibi hastalıklarda, beyin dokusunda aşırı serbest radikal üretimi, kronik nöroinflamasyon ve protein agregasyonu gibi patolojik olaylar sinir hücrelerinin işlev kaybı ve ölümüne yol açar (Ciurea vd., 2023). LUT, bu karmaşık süreçlerin birden fazlasını hedef alarak nöroprotektif etki gösterir. Öncelikle, LUT'un güçlü antioksidan özellikleri, beyin hücrelerindeki ROT ve RNS'yi etkili biçimde temizleyerek oksidatif hasarı azaltır (Devi vd., 2021). Bu sayede nöronlarda DNA, lipid ve protein hasarı önlenir, hücresel enerji metabolizması korunur. Ayrıca LUT'un, HO-1 gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırdığı ve bu etkinin nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 / antioksidan yanıt elemanı (Nrf2/ARE) kompleksinin aktivasyonu yoluyla gerçekleştiği; PD in vitro modelleri ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı toksisiteye karşı yapılan deneysel çalışmalarda ortaya konmuştur (Goyal vd., 2024).



**Şekil 5.** Luteolin'in nörodejeneratif hastalıklar üzerindeki etki mekanizmaları.

Nöroinflamasyon, nörodejeneratif hastalıkların temel ayırt edici özelliklerinden biridir. Bu nedenle, anti-inflamatuvar özelliklere sahip tedavi ajanları bu hastalıkların yönetiminde potansiyel fayda sağlayabilir. Araştırmacılar, LUT'un moleküler yapısını inceleyerek bu bileşiğin anti-inflamatuvar etkilerine ilişkin kanıtlar ortaya koymuşlardır. Flavonoid sınıfına ait olan LUT'un biyolojik etkinliği, A ve B halkalarına bağlı hidroksil gruplarının varlığı ve konumuyla ilişkilidir. Özellikle, A halkasında 5' ve 7' pozisyonlarında, B halkasında ise 3' ve 4' pozisyonlarında yer alan hidroksil gruplarının bu etkinlikte kritik rol oynadığı düşünülmektedir (Jayawickreme vd., 2024).

LUT, mikroglia ve astrositler gibi MSS'nin immün hücrelerinde oluşan kronik inflamasyonu baskılayarak anti-inflamatuar etkisini göstermektedir. Bu hücrelerin aşırı aktivasyonu, inflammatuar sitokinlerin (örneğin IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B) artmasına ve sinir dokusunda inflammatuar bir ortamın oluşmasına neden olur. LUT, bu inflammatuar sitokinlerin ekspresyonunu ve sinyal yollarını inhibe ederek nöroinflamasyonun azalmasına katkıda bulunur. Böylece, sinir hücrelerinin çevresel toksik etkilerden korunması ve fonksiyonlarının sürdürülmesi desteklenir (Tian vd., 2021).

LUT'un anti-apoptotik etkileri, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşebilir. Bunlar arasında kaspaz-3 ve -9 düzeylerinin azaltılması ve Bcl-2/Bax oranının iyileştirilmesi yer alır. Bu etkiler, nörodejeneratif hastalıkların hem in vitro hem de in vivo modellerinde rapor edilmiştir (Mahto vd., 2025). Flavonlar arasında Luteolin (LUT), en güçlü sitoprotektif aktiviteyi sergileyerek Caspase-3 ve PARP-1 aktivasyonunu baskılar; aynı zamanda katlanmamış protein yanıtı (UPR) yolunu destekleyerek endoplazmik retikulum (ER) şaperonu GRP78 ekspresyonunu artırır ve MAPK yolu aracılığıyla UPR'ye bağlı pro-apoptotik genlerin ekspresyonunu azaltır. İlave olarak, CDKN1A (p21), PUMA ve GADD45A gibi p53-bağımlı hedef genlerin ekspresyonunda anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir.

Nörodejeneratif hastalıklarda sıklıkla görülen protein anormallikleri de LUT'un hedefindedir. Parkinson hastalığında  $\alpha$ -syn proteinlerinin toksik agregatları oluşurken, Alzheimer hastalığında beta-amiloid plakları ve tau protein hiperfosforilasyonu görülür. LUT, bu patolojik protein birikimlerini azaltıcı etkiler göstererek proteostazı destekler (Goyal vd., 2024). LUT, Alzheimer hastalığına özgü A $\beta$  kaynaklı hücre ölümünü önleyerek de nöroprotektif etkiler gösterir. Bu etki, antioksidan mekanizmalar ve ER/ERK/MAPK sinyal yolunun yukarı regülasyonu ile sağlanır. Ayrıca, LUT'un N-asetil- $\alpha$ -galaktozaminil transferaz (ppGalNAc-T) izoformlarının aktivitesini selektif olarak inhibe ederek A $\beta$  plak oluşumunu doğrudan etkileyebileceğine dair kanıtlar da bulunmaktadır. In vivo AD modellerinde, LUT'un A $\beta$  fibrillerine bağlanarak, glikojen sentaz kinaz-3 alfa (GSK-3 $\alpha$ ) izoformunu inaktive ettiği, A $\beta$  birikimini baskıladığı ve tau protein agregatlarını çözündürdüğü gösterilmiştir (Ahmad vd., 2021). Bunlara ek olarak, LUT'un nöronal büyüme ve bakım üzerine olumlu etkileri de mevcuttur. Reudhabibadh ve arkadaşları yaptıkları çalışmayla, LUT'un doza bağımlı olarak, nöronların sayı ve uzunluk açısından büyümesini ve farklılaşmasını desteklediğini; bunun ERK-bağımlı yolla gerçekleştiğini ve büyümeyle ilişkili protein-43 (*GAP-43*) ekspresyonunu artırdığını göstermiştir (Reudhabibadh vd., 2021).

Bağışıklık sistemimiz tarafından oluşturulan inflammatuar yanıt, çeşitli sinyal yollarını içeren iyi koordine edilmiş bir mekanizmadır. Bu yollar arasında NF- $\kappa$ B, mitojenle aktive

edilen protein kinaz/aktivator protein-1 (MAPK/AP-1) ve Janus kinaz/sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü (JAK-STAT) yolları, LUT'un hedefleri olarak tanımlanmıştır (Lu vd., 2024).

Sinaptik plastisite ve nörolojik fonksiyonların sürdürülmesi için kritik olan beyin BDNF seviyeleri de LUT tedavisiyle artış gösterir. Bu, öğrenme, hafıza ve bilişsel işlevlerin korunmasına katkı sağlar. Klinik ve prelinik çalışmalarda, LUT tedavisinin Alzheimer hastası hayvan modellerinde bilişsel gerilemeyi yavaşlattığı, motor fonksiyonları iyileştirdiği ve beyin inflamasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Parkinson modellerinde ise dopaminerjik nöronların korunmasına destek verdiği ve hareket bozukluklarını hafiflettiği gözlemlenmiştir (Zhen vd., 2016).



## MATERYAL VE METOD

### Materyal

#### Hayvanlar ve çalışma tasarımı

Bu çalışmada 10 haftalık, 250–300 gram ağırlığında toplam 35 erkek Sprague-Dawley ırkı sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar, Tıbbi Deneyisel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (ATADEM) temin edilmiştir. Hayvanların deney ortamına alışmalarını sağlamak amacıyla, uygulamalardan önce bir hafta süreyle 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık döngüsüne sahip,  $24 \pm 1$  °C sıcaklıkta ve  $\%45 \pm 5$  bağıl neme sahip kontrollü çevre koşullarında tutulmuşlardır. Aynı çevresel koşullar, deney süresi boyunca da korunmuştur. Alıştırma süreci ve deney boyunca sıçanlara ad libitum (sınırsız) olarak musluk suyu ve standart laboratuvar yemi verilmiştir. Tüm deneysel işlemler, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) 2024-02/30 numaralı onayı doğrultusunda ve etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

#### Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Alüminyum klorür ( $\text{AlCl}_3$ ):  $\text{AlCl}_3$  anhidroz (Carlo ERBA, Saflık 98%, Almanya)

Luteolin (BLD Pharm, Saflık 98%, Çin),

Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma Kimyasal Şirketinden (St. Louis, MO, USA) temin edilmiştir.

#### Analizlerde kullanılan cihaz listesi

- Termal döngü cihazı: Qiagen Rotor Gene Q
- Manyetik karıştırıcı: Heidolph MR 3001
- Hassas ölçüm terazisi: Shimadzu ATX224
- Buzdolabı: Bosch
- Benmari: GFL-1083
- Etüv: MMM Group, Ecocell 55
- Homojenizatör: Tissuelyser II, Qiagen
- Otomatik pipetler: Brand transferpette® tek kanallı, Eppendorf Reference II tek kanallı, Eppendorf Xplorer ® multichannel pipette
- pH metre: Mettler Toledo
- Saf su cihazı: GFL 2001/2
- Soğutmalı santrifüj: Hettich Rotina 38 R
- ELISA reader: Bio-Tek

- Vorteks: Ika MS-2
- Tissue lyser II: Qiagen
- Western blot: Thermo Scientific
- Ultra derin dondurucu (-80): Thermo
- Nanodrop spektrofotometre: Biotek Epoch
- Otoanalizör: Randox Monaco

## Metot

### Deneysel protokol

Deneysel çalışmada hayvanlar rastgele seçilerek her biri yedi sıçan içeren beş farklı gruba ayrılmıştır. Alüminyum klorür ( $AlCl_3$ ) ve luteolin (LUT), çözücü olarak kullanılan serum fizyolojik içinde çözündürülerek seyreltilmiştir. Uygulanan deney protokolü aşağıda ayrıntılı olarak sunulmaktadır.

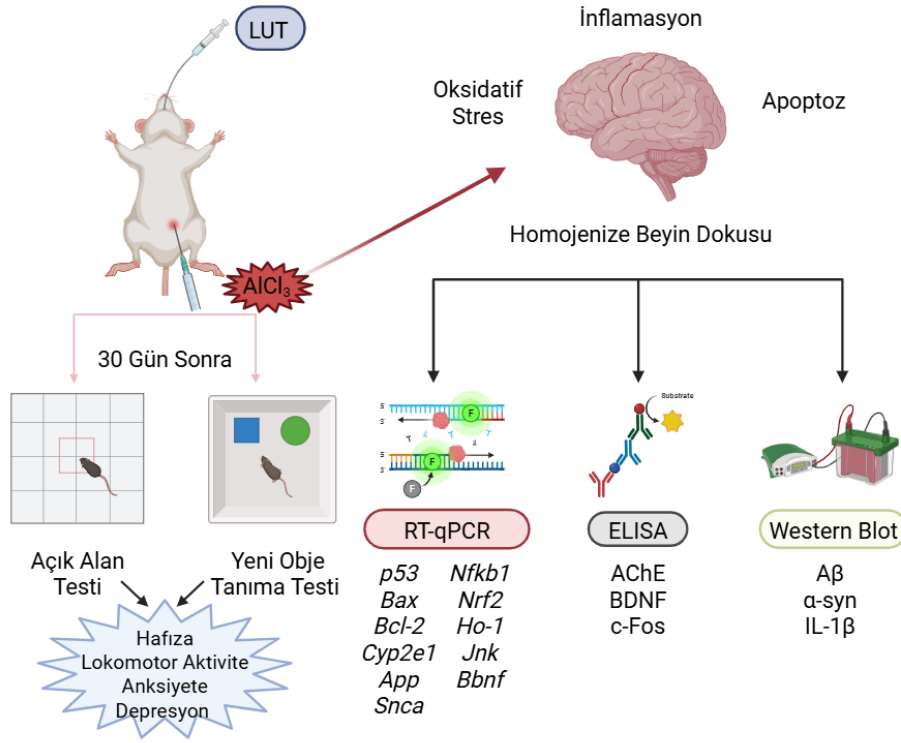
**Grup I – Kontrol Grubu:** Bu gruptaki sıçanlara 30 gün boyunca intraperitoneal (i.p.) yolla serum fizyolojik uygulanmıştır.

**Grup II – LUT Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara, Jiang ve arkadaşlarının (Jiang vd., 2022) kullandığı doz referans alınarak, 30 gün boyunca oral yolla (gavage ile) 50 mg/kg vücut ağırlığı (bw) dozunda LUT verilmiştir.

**Grup III –  $AlCl_3$  Grubu:** Turkez ve ark. (Turkez vd., 2022) tarafından nörotoksik etkileri bildirilen doz esas alınarak, sıçanlara 30 gün süreyle i.p. yolla 4,2 mg/kg bw dozunda  $AlCl_3$  uygulanmıştır.

**Grup IV –  $AlCl_3$  + LUT25 Grubu:** Bu gruptaki sıçanlara, 30 gün boyunca i.p. yolla 4,2 mg/kg bw dozunda  $AlCl_3$  ve eş zamanlı olarak oral yolla 25 mg/kg bw dozunda LUT uygulanmıştır (Jiang vd., 2022).

**Grup V –  $AlCl_3$  + LUT50 Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara, 30 gün süresince i.p. yolla 4,2 mg/kg bw  $AlCl_3$  ve eş zamanlı olarak oral yolla 50 mg/kg bw LUT birlikte verilmiştir (Jiang vd., 2022).

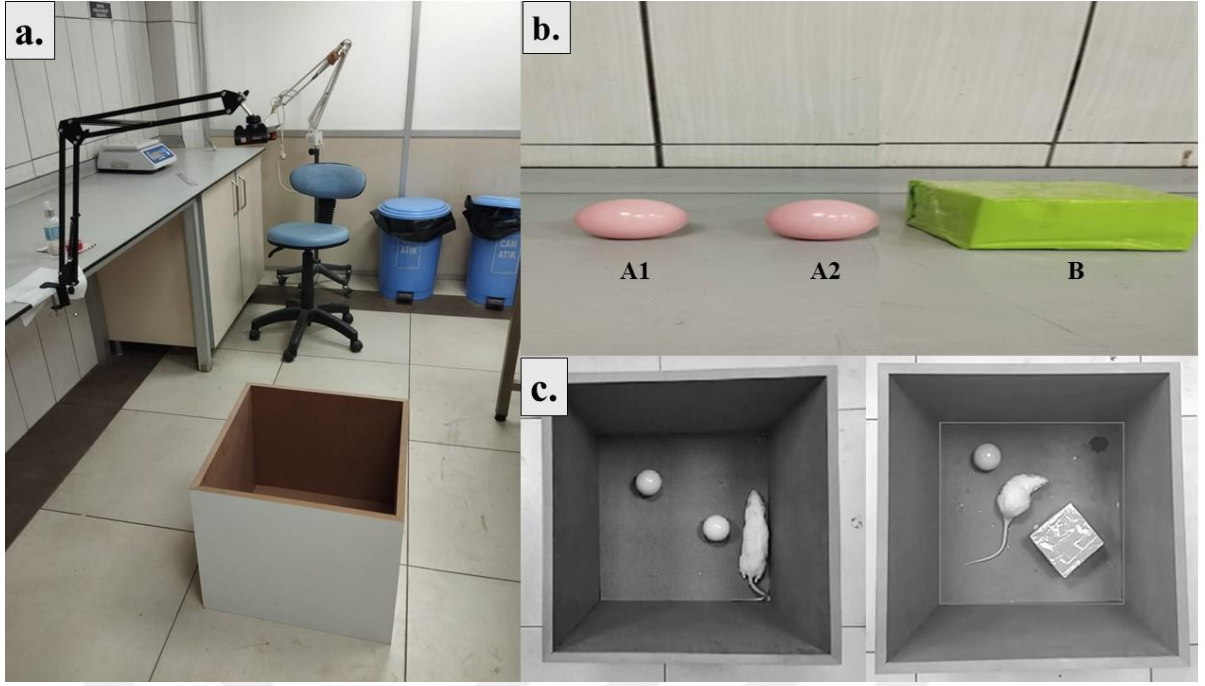


Created in BioRender.com bio

**Şekil 6.** Çalışmanın grafik özet

### Hayvanlarda nörodavranışsal testler

Deneyin 30. ve 31. günlerinde, sıçanların genel motor aktivitesi, anksiyete benzeri davranışları ile öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla Açık Alan Testi (Open Field Test, OFT) ve Yeni Nesne Tanıma Testi (Novel Object Recognition Test, NOR) uygulanmıştır. Tüm davranış testleri, sessiz ve standart ışık koşullarında, dış uyaranlardan izole edilmiş bir odada, ölçüleri 100×100×40 cm olan MDF malzemeden yapılmış bir aparatta gerçekleştirilmiştir. Hayvan davranışları, yüksek çözünürlüklü bir kamera sistemiyle kaydedilmiş ve analizler, hayvanların hareketlerini izlemeye olanak sağlayan ANY-maze video takip yazılımı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Şekil 7, davranış testleri sırasında kullanılan aparat, yerleştirilen nesneler ve alınan örnek görüntüleri göstermektedir.



**Şekil 7.**Yeni Nesne Tanıma (Novel Object Recognition, NOR) testi için kullanılan düzenek ve objeler. (a) Davranış testlerinde kullanılan açık alan düzeneği. (b) Alıştırma ve test aşamalarında kullanılan objeler. (c) NOR testinin alıştırma (sol) ve test (sağ) aşamalarında hayvanın objeleri keşfetmesini gösteren temsili görüntüler.

#### **Açık alan testi (OFT) ile anksiyete benzeri davranışların değerlendirilmesi**

Sıçanlardaki motor aktivite ve anksiyeteye bağlı davranışları değerlendirmek amacıyla açık alan testi, Abbas vd. (2022) tarafından tanımlanan protokol temel alınarak uygulanmıştır. Her bir hayvan, test alanının merkezine yerleştirilmiş ve beş dakika boyunca hareketleri kayıt altına alınmıştır. ANY-maze yazılımı kullanılarak hayvanların merkeze ait dokuz karede geçirdiği süre (daha düşük anksiyete göstergesi) ve çevresel 16 karede geçirdiği süre (daha yüksek anksiyete göstergesi) analiz edilmiştir. Lokomotor aktivite, her iki ön patiyle geçilen toplam kare sayısına göre belirlenmiştir. Ayrıca, hayvanların kat ettiği toplam mesafe de ANY-maze yazılımı aracılığıyla hesaplanmıştır. Her testin ardından olası koku etkilerini ortadan kaldırmak amacıyla test alanı %70 etanol çözeltisiyle temizlenmiştir.

#### **Yeni nesne tanıma testi (NOR)**

Yeni nesne tanıma testi, sıçanların öğrenme ve tanıma belleği kapasitelerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Bu test, hayvanların doğal merak duygusuna dayanmakta olup, genellikle yeni bir nesneyle karşılaştıklarında, tanıdık olana kıyasla daha fazla zaman geçirmeleri prensibine dayanmaktadır. Bu deney, sıçanların kısa ve uzun süreli görsel hafızalarını değerlendirmek amacıyla Salimzade vd. yöntemine göre (2017), alıştırma, tanıma ve hafıza testi olmak üzere üç aşamalı olarak tasarlanmıştır. Her aşama 5 dakika sürmüştür ve deney, açık alan testinde de kullanılan aparatta gerçekleştirilmiştir. Hayvanların nesnelere

burunlarıyla temas etmeleri keşif davranışı olarak tanımlanmış; tanıdık ve yeni nesnelere gösterdikleri ilgi süresi, ANY-maze video analiz yazılımı kullanılarak ölçülmüştür.

Tanıma ve test aşamalarında, aynı boyutta ancak farklı renklerde nesneler (A1, A2 ve B) kullanılmıştır. A1 ve A2 nesneleri aynı renk ve boyutta seçilirken; B nesnesi ise farklı renk ve şekilden tercih edilmiştir. Ağıştırma aşamasında, sıçanlar test aparatına yerleştirilerek ortama alışmaları sağlanmıştır. Bu aşama, aynı zamanda 30. günde gerçekleştirilen OFT sırasında da uygulanmıştır.

Tanıma aşamasında, aparatın karşılıklı iki köşesine ve kenarlardan 15 cm uzaklığa A1 ve A2 nesneleri (pembe plastik top) yerleştirilmiştir. Hafıza testinde A3 (aynı top) ve B (yeşil kutu) kullanılmıştır.

Nesnelerin çevresinde 3 cm'lik bir keşif alanı tanımlanmıştır ve sıçanların bu alana giriş süreleri kaydedilmiştir. Sıçanın bir nesneye 3 cm veya daha yakın mesafede bulunması, nesneyi keşfettiği anlamında değerlendirilmiştir. Ölçüm sırasında sıçanın burnu referans noktası olarak alınmıştır. Her testin başlangıcında sıçanlar, nesnelerin bulunmadığı aynı köşeden aparata bırakılmıştır.

Tanıma aşamasını takiben 4 saat sonra hafıza testi gerçekleştirilmiştir. Tanıma sürecinin sonunda sıçanların sabit nesneyle 6–8 saniye süreyle temas kurmaları sağlanmıştır. Her testin ardından, olası koku etkilerini gidermek amacıyla nesneler ve test aparatı %70'lik etil alkol ile dezenfekte edilmiştir.

Test protokolü 4 aşaması aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir:

1. Ağıştırma Aşaması: Son uygulamanın ardından hayvanlar test kutusuna yerleştirilmiş ve içinde nesne bulunmayan ortamda, yalnızca çevreyi keşfetmeleri amacıyla 5 dakika boyunca serbest bırakılmışlardır. Bu aşama aynı zamanda deneyin OFT aşamasını oluşturmaktadır.
2. Tanıma Aşaması: Ağıştırma aşamasının ardından aynı kutuya iki özdeş nesne (A ve A') yerleştirilmiştir ve sıçanların 5 dakika boyunca nesneleri keşfetmesine izin verilmiştir.
3. Bellek Değerlendirmesi: Tanıma aşamasından 4 saat sonra, test alanındaki tanıdık nesnelerden biri (A) önceki konumunda bırakılmış, diğeri ise yeni bir nesne (B) ile değiştirilmiştir. Daha sonra hayvanların nesneleri 5 dakika boyunca keşfetmelerine izin verilmiştir.

Test sonuçları, ANY-maze yazılımından elde edilen veriler kullanılarak, sıçanların nesnelerle geçirdiği süreler temel alınarak tanıma indeksi (recognition index, TI) ve ayırt etme indeksi (discrimination index, AI) hesaplanmıştır.

Tanıma İndeksi (Recognition index, Tİ):

$$Tİ = \frac{\text{Yeni nesneye harcanan süre}}{\text{Yeni} + \text{tanıdık nesneye harcanan toplam süre}}$$

Ayırma İndeksi (Discrimination index, Aİ):

$$Aİ = \frac{\text{Yeni nesneye harcanan süre} - \text{tanıdık nesneye harcanan süre}}{\text{Yeni} + \text{tanıdık nesneye harcanan toplam süre}}$$

Aİ değeri -1 ile 1 arasında değişir. -1, tanıdık nesneye güçlü bir tercihi, 0, tercih olmadığını, 1, yeni nesneye güçlü bir tercihi ifade eder.

### **Beyin örneklerinin alınması**

Davranışsal testlerin tamamlanmasının ardından, sıçanlar sevofluran anestezisi altında yeterli sedatif etki oluşturularak dekapite edilmiştir. Tüm beyin dokusu dikkatlice çıkarılarak, biyokimyasal ve moleküler analizlerde kullanılmak üzere -80 °C’de muhafaza edilmiştir. Bunun yanında, histopatolojik incelemeler için beyin örnekleri %10 tamponlanmış formaldehit çözeltisi içinde fikse edilmiştir.

### **Doku örneklerinin yapılacak oksidatif stres analizleri doğrultusunda hazırlanması**

Beyin dokuları, sıvı azot eşliğinde Qiagen Tissue Lyser II cihazında 30 Hz frekansla 30 saniye öğütülerek yaklaşık 5 mikron boyutuna kadar parçalanmış ve toz formuna getirilmiştir. Elde edilen toz halindeki dokulardan 50 mg tartılmış, %1,15 potasyum klorür (KCl) çözeltisi ile uygun seyreltme oranlarında hazırlanarak analiz için çözelti formuna getirilmiştir.

Malondialdehit (MDA), Glutatyon (GSH), Glutatyon peroksidaz (GPx), Katalaz (KAT) ve Süperoksit dismutaz (SOD) parametrelerinin analizinde kullanılmak üzere, doku örnekleri tekrar Qiagen TissueLyser II ile homojenize edilmiştir. GSH ve GPx ölçümleri için hazırlanan homojenatlar 11000 rpm’de 20 dakika; MDA tayini için ise 3500 rpm’de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Ardından oluşan süpernatantlar farklı tüplere aktarılmıştır.

SOD enzim aktivitesinin belirlenmesinde örnekler, pH 7,4 değerine sahip Tris-HCl tamponu ile seyreltildikten sonra homojenize edilmiş ve ardından 60 dakika boyunca 5000 rpm’de santrifüj edilmiştir.

KAT aktivitesinin ölçümü için ise beyin dokuları Triton-X-100 içeren çözeltiyle seyreltilmiş ve homojenizasyon sonrası 3500 rpm’de 10 dakika santrifüjlenerek analiz için gerekli sıvı faz elde edilmiştir.

## **Beyin dokusunda antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu düzeylerinin değerlendirilmesi**

Beyin homojenatlarında gerçekleştirilen biyokimyasal analizlerde; SOD enziminin aktivitesi, Sun ve arkadaşlarının geliştirdiği protokol temel alınarak belirlenmiştir (Sun vd., 1988). KAT enziminin aktivite düzeyleri ise Aebi'nin tanımladığı yöntem doğrultusunda ölçülmüştür (Aebi, 1984). GPx aktivitesi için Matkovics ve arkadaşlarının yayımladığı teknik uygulanmıştır (Matkovics, 1988). GSH miktarları, Sedlak ve Lindsay tarafından tanımlanan prosedür esas alınarak hesaplanmıştır (Sedlak ve Lindsay, 1968).

Lipid peroksidasyon düzeyleri ise MDA tayini ile değerlendirilmiş, ölçümler Placer ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntemle uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Placer vd., 1966). Ayrıca, beyin homojenatlarındaki toplam protein konsantrasyonu Lowry metoduna göre tespit edilmiştir (Lowry vd., 1951).

Bu analizlere ait tüm prosedürler aşağıda detaylı şekilde açıklanmıştır.

### **MDA düzeyleri ölçümü**

Beyin dokusu homojenatlarında lipid peroksidasyon düzeylerinin değerlendirilmesi amacıyla MDA seviyeleri ölçülerek analiz gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, tiyobarbitürik asit (TBA) ile MDA'nın asidik koşullarda ve yüksek sıcaklıkta reaksiyona girerek oluşturduğu MDA-TBA kompleksi esas alınmıştır. Bu kompleks, karakteristik olarak pembe renkli olup maksimum absorbensini 532 nm dalga boyunda vermektedir. Oluşan rengin şiddeti, örnekteki MDA miktarıyla orantılı olduğundan, absorbens değerleri kullanılarak MDA düzeyleri hesaplanmıştır.

Analizde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı:

1. **TBA (Tiyobarbitürik Asit) Çözeltisi:** 80 mL %10'luk perklorik asit içinde 0,67 g miktarında TBA çözülmüş ve ardından distile su eklenerek son hacim 100 mL'ye ayarlanmıştır.
2. **TCA (Trikloroasetik Asit) Çözeltisi:** %10'luk TCA çözeltisi hazırlamak için, 10 g TCA uygun miktarda distile su ile çözülmüş ve 100 mL'ye tamamlanmıştır.
3. **Renk Ayırıcı:** Renkli kompleksin oluşumunu sağlamak için, hazırlanmış TCA çözeltisinden 3 hacim birim ve TBA çözeltisinden 1 hacim birim alınarak karıştırılmıştır.

### **Analiz Metodu**

**Tablo 2.** Beyin Dokusunda MDA Düzeyinin Belirlenme Prosedürü.

|               | Kör (mL) | Standart (mL) | Örnek (mL) |
|---------------|----------|---------------|------------|
| Örnek         | -        | -             | 0,25       |
| %0,9'luk NaCl | 0,25     | -             | -          |
| Renk ayıracı  | 2,25     | 2,25          | 2,25       |
| Standart      | -        | 0,25          | -          |

Hazırlanan örnekler vida kapaklı cam tüplere alındıktan sonra kapakları kapatılmış ve vorteks cihazı ile iyice karıştırılmıştır. Ardından tüpler, 20 dakika boyunca 100 °C'deki kaynar su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Ardından, tüpler oda sıcaklığında soğutulmuş ve 2500 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar dikkatlice alınarak ELISA plakalarına aktarılmıştır. Absorbans ölçümleri 532 nm dalga boyuna ayarlanmış ELISA okuyucusunda gerçekleştirilmiş ve MDA düzeyleri, oluşturulan standart eğriye göre hesaplanmıştır.

#### **GSH düzeylerinin belirlenmesi**

GSH düzeylerinin tayininde, 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik) asit (DTNB) ile sülfidril gruplarının reaksiyona girmesi esas alınmıştır. Bu reaksiyon sonucunda oluşan sarı renkli kompleksin absorbansı, 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

#### **Kullanılan Reaktifler:**

1. %10'luk trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi
2. Tris (hidroksimetil) aminometan çözeltisi (48,46 g/L, pH 8,9)
3. DTNB çözeltisi (0,099 g DTNB, 25 mL metanolde çözölmüş)

#### **Uygulama Basamakları:**

1. Beyin homojenatlarından 0,5 mL alınarak deney tüplerine aktarılmıştır.
2. Üzerine 2 mL %10'luk TCA eklenmiş ve homojen karışım oluşturmak için vortekslenmiştir.
3. Karışım 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
4. 0,5 mL süpernatant örneğine, 2 mL Tris tamponu ile 0,1 mL DTNB çözeltisi ilave edilmiştir.
5. Karışım vortekslenip oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir.

6. Absorbans değerleri, 412 nm’de distile suya karşı ölçölmüş ve hesaplamalar, GSH standart eğrisi temel alınarak yapılmıştır.

### **SOD aktivitesinin belirlenmesi**

Doku homojenatlarında SOD aktivitesinin belirlenmesi yöntemi, ksantin–ksantin oksidaz sistemi tarafından üretilen süperoksit radikallerinin, nitroblue tetrazolium (NBT) ile reaksiyona girerek formazon oluşumu temeline dayanır. Oluşan formazon miktarı, 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçölür. SOD varlığı, süperoksit anyonlarının hidrojen peroksit dönüşümünü sağlayarak NBT indirgenmesini sınırlar. Böylece formazon oluşumu azalır; bu azalma enzim konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

### **Analizde Kullanılan Ayıraçlar**

#### **SOD Ölçüm Karışımı**

- 0,6 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA: 23 mg Na<sub>2</sub>EDTA, distile suda çözölerek toplam hacim 100 mL’ye tamamlanmıştır.
- 400 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: 2,54 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, distile suda çözölerek hacim 60 mL’ye ayarlanmıştır.
- 0,3 mmol/L Ksantin: 9,13 mg ksantin, distile su ile çözölerek toplam hacim 200 mL’ye tamamlanmıştır.
- 150 µmol/L NBT: 12,3 mg NBT, distile suda çözölüp hacim 100 mL’ye tamamlanmıştır.
- 1 g/L BSA: 30 mg BSA, distile suda çözölerek toplam hacim 30 mL’ye ayarlanmıştır.

#### **Diğer Reaktifler**

- Ksantin Oksidaz (167 U/L): 1 mL çözelti, 0,167 U enzim içerecek şekilde (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde hazırlanmıştır.
- 2 M Amonyum Sülfat: 2,64 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, distile suda çözölerek 10 mL’ye tamamlanmıştır.
- 0,8 mmol/L CuCl<sub>2</sub>: Distile suda 13,6 mg miktarında CuCl<sub>2</sub> çözölerek 100 mL’ye ayarlanmıştır.

### **Analiz Metodu**

**Tablo 3.** Beyin Dokularında SOD Aktivitesi Ölçüm Prosedürü.

|                            | Kör (mL) | Örnek (mL) |
|----------------------------|----------|------------|
| <b>Reaksiyon Çözeltisi</b> | 2,85     | 2,85       |
| <b>Süpernatant</b>         | -        | 0,10       |
| <b>Distile Su</b>          | 0,10     | -          |
| <b>Ksantin oksidaz</b>     | 0,05     | 0,05       |

Oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyonun ardından, reaksiyonu sonlandırmak amacıyla tüplere 1 mL CuCl<sub>2</sub> çözeltisi eklenmiştir. Numuneler plaketslere aktarılıp, 560 nm dalga boyunda absorbands ölçümü yapıldıktan sonra aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$EU_{g/protein} = \frac{\Delta A_{kör} - \Delta A_{numune}}{\Delta A_{kör}}$$

### KAT tayini

KAT ölçümünün prensibi, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'nin 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etme özelliğine dayanmaktadır.

### Deneyde Kullanılan Ayıraçlar

1. pH değeri 7,0'a ayarlanmış 50 mM Fosfat Tamponu
2. 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den 0,34 mL alınarak fosfat tamponu ile son hacim 100 mL olacak şekilde ayarlanmıştır.

### Analiz metodu

**Tablo 4.** Beyin Dokularında KAT Aktivitesi Ölçüm Prosedürü.

|                                   | Kör (mL) | Örnek (mL) |
|-----------------------------------|----------|------------|
| <b>Fosfat Tamponu</b>             | 1        | -          |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | -        | 1          |
| <b>Homojenat</b>                  | 2        | 2          |

Katalaz (KAT) aktivitesi, 240 nm dalga boyunda numunelerin kinetik ölçümü ile belirlenmiştir. Ölçüm, 0. saniyedeki (Abs<sub>1</sub>) ve 30. saniyedeki (Abs<sub>2</sub>) absorbands değerleri arasındaki farkın hesaplanmasıyla yapılmış ve aktivite hesaplaması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır:

$$k = \left(\frac{2,3}{30}\right) \times \log\left(\frac{A_1}{A_2}\right) \times \text{dilüsyon faktörü}$$

Elde edilen sonuç, doku için katal/g protein biriminde spesifik aktivite olarak ifade edilmiştir.

### **GPx tayini**

Bu yöntem, GPx enziminin kumen hidrojen peroksit (CHPO) gibi bir organik peroksiti indirgenmiş glutatyon (GSH) kullanarak nötralize etme kabiliyetine dayanır. Reaksiyon sonucu GSH, oksitlenmiş glutatyon (GSSG)'ye dönüşür.

#### **Analizde Kullanılan Ayıraçlar:**

1. **Tampon A:** 6,057 g tris(hidroksimetil)aminometan ve 0,72 g Na<sub>2</sub>EDTA tartılarak üzerine 3,90 mL HCl ilave edilmiş, ardından çözelti distile su ile 1000 mL'ye tamamlanmış ve pH değeri 7,6 olacak şekilde ayarlanmıştır. Böylece, pH 7,6 olan 50 mM Tris-HCl tamponu hazırlanmıştır.
2. **Tampon B:** 48,46 g tris(hidroksimetil)aminometan, distile su içerisinde çözündürülmüş, ardından çözelti 1000 mL'ye tamamlanarak 0,4 M konsantrasyonda hazırlanmıştır. pH değeri 8,9 değerine ayarlanarak kullanıma hazır hale getirilmiştir.
3. **TCA Çözeltisi:** 10 g triklorasetik asit (TCA) tartılarak distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.
4. **Kumen Hidrojen Peroksit (CHPO) Çözeltisi:** 5 µl CHPO'nun üzerine Tampon A eklenerek son hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.
5. **Redükte Glutatyon (Red GSH) Çözeltisi:** 6 mg redükte glutatyon tartıldıktan sonra Tampon A içerisinde çözündürülerek hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.
6. **DTNB Solüsyonu:** 0,099 g 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) tartılmış ve distile su kullanılmadan, yalnızca absolut metanol ile hacmi 25 mL'ye tamamlanarak çözelti hazırlanmıştır.

## Analiz Metodu

**Tablo 5.** Beyin Dokularında GPx Aktivitesi Ölçüm Prosedürü.

|                              | Kontrol (mL) | Örnek (mL) |
|------------------------------|--------------|------------|
| <b>Süpernatant</b>           | 0,5          | 0,5        |
| <b>Tampon</b>                | 0,3          | 0,3        |
| <b>CHPO</b>                  | -            | 0,1        |
| <b>Red GSH</b>               | 0,1          | 0,1        |
| <b>37°C’de 10 dk bekleme</b> | +            | +          |
| <b>TCA</b>                   | 1            | 1          |

Tüpler vortekslelendikten sonra 5 dakika süreyle 2500 rpm’de santrifüj edilmiştir. Santrifüjün ardından oluşan süpernatantlar, her biri 1 ml olacak şekilde temiz tüplere aktarılmıştır. Ardından, her tüpe 2 ml Tampon B ilave edilerek karışım hazırlanmıştır. Bu karışıma 100 µl DTNB eklenmiş ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından numuneler mikropalakalara yüklenmiş ve distile suya karşı 412 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir.

Beyin dokularındaki GPx aktivitesi, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{GPx Aktivitesi} = \frac{[\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}] \times 0,76989}{\text{g protein}}$$

### Total protein tayini

Bu yöntemde, alkali bakır çözeltisi peptit bağları ile kompleks oluşturur ve fenol ayırıcı eklendiğinde mor-mavi renkte bir reaksiyon gerçekleşir. Oluşan renk, 650 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri temel alınarak standart eğri yardımıyla protein miktarının hesaplanmasına olanak sağlar.

### Deneyde Kullanılan Ayıraçlar:

- Protein standardı:** 50 µl/mL konsantrasyonda Bovine Serum Albumin (BSA)
- Alkali Bakır Ayırıcı:** 0,05 g bakır sülfat, 10 g sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ve 0,1 g potasyum tartarat, hazırlanan 0,5 N NaOH içinde çözülerek toplam hacim 100 ml’ye tamamlanmıştır.
- Folin-Fenol Ayırıcı:** Toplam 67,5 ml çözelti elde etmek amacıyla 2 N Folin-Ciocalteu Fenol reaktifi’nden 3,75 ml alınarak üzerine 63,75 ml distile su ilave edilmiştir.

## Analiz Metodu

**Tablo 6.** Beyin Dokularının Toplam Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi Yöntemi.

|                           | Kör (mL) | Standart (mL) | Örnek (mL) |
|---------------------------|----------|---------------|------------|
| Alkali Bakır Ayırıcı (ml) | 1,0      | 1,0           | 1,0        |
| Protein Standartı (ml)    | -        | 1,0           | -          |
| Örnek (ml)                | -        | -             | 1,0        |
| Distile Su (ml)           | 1,0      | -             | -          |

Tüpler karıştırıldıktan sonra 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Ardından her bir tüpe 4 mL Folin-Fenol ayırıcı eklenmiş ve tüpler tekrar karıştırılmıştır. Bu işlem sonrasında tüpler, 55 °C'deki su banyosunda 5 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından tüpler oda sıcaklığında soğutulmuş ve kör kontrolüne karşı 650 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapılmıştır.

Protein konsantrasyonu aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\mu\text{g protein/mL} = \left( \frac{\text{Abs}_{\text{örnek}}}{\text{Abs}_{\text{standart}}} \right) \times \text{Standart Konsantrasyonu}$$

### Beyin dokularını ELISA ile değerlendirme

Beyin dokusunda hücrel onkogen Fos (c-Fos; katalog no: 201-11-8477; kalibrasyon aralığı: 0,3–30 ng/mL), asetilkolinesteraz (AChE; katalog no: 201-11-0725; kalibrasyon aralığı: 0,5–150 ng/mL) ve beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF; katalog no: 201-11-0477; kalibrasyon aralığı: 0,04–1 ng/mL) düzeyleri, Sunred Biological Technology (Şanghay, Çin) firması tarafından üretilen ve üretici firmanın talimatlarına uygun olarak kullanılan ticari, çift antikor temelli sandviç ELISA kitleri ile nicel olarak belirlenmiştir.

Analiz öncesinde, dondurulmuş beyin dokuları 7,4 pH değerine sahip bir fosfat tamponu içerisinde 1:20 oranında seyreltilerek mekanik olarak homojenize edilmiştir. Homojenizasyonun ardından örnekler, üretici firma tarafından sağlanan ELISA kit protokolünde belirtilen koşullara uygun şekilde, belirli bir süre ve devirde (3000 rpm'de 20 dakika) santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme sonucunda elde edilen süpernatantlar, protein düzeylerinin tayininde kullanılmak üzere analizde kullanılmıştır.

Her bir parametreye özgü monoklonal antikorlarla önceden kaplanmış mikrotitre plaka kuyucuklarına, uygun dilüsyonlarda hazırlanmış standart çözeltiler ve örnek süpernatantlar

eklenmiştir. Ardından, biotin ile konjuge edilmiş sekonder antikorlar kuyucuklara ilave edilmiş ve plaka belirli bir süre inkübasyona bırakılarak antijen-antikor komplekslerinin oluşumu sağlanmıştır. Bu komplekslerin tespiti için, streptavidin-peroksidaz (streptavidin-HRP) konjugatı eklenmiş ve bir inkübasyon süreci daha gerçekleştirilmiştir. Takiben, bağlanmamış enzim ve reaktiflerin ortamdaki uzaklaştırılması amacıyla plaka yıkama adımları uygulanmıştır.

Renk oluşumunu sağlamak amacıyla kromojen çözeltileri (substrat A ve B) kuyucuklara ilave edilmiş ve plaka karanlık ortamda yeniden inkübe edilmiştir. Enzim-substrat reaksiyonu sonucunda mavi renk gelişmiş ve bu reaksiyon, durdurucu solüsyonun eklenmesiyle sonlandırılmıştır. Reaksiyonun durdurulması ile renk maviden sarıya dönmüştür. Elde edilen sarı rengin şiddeti, mikrotitre plaka okuyucusu kullanılarak 450 nm dalga boyunda ölçülmüş ve her bir hedef proteinin konsantrasyonu, standart eğri üzerinden hesaplanmıştır. Bu yöntemle c-Fos, AChE ve BDNF proteinlerinin kantitatif düzeyleri güvenilir bir şekilde belirlenmiştir.

**Tablo 7.** Beyin Doku Homojenatlarında c-fos, AChE ve BDNF Biyoelirteçlerinin ELISA Yöntemi ile Ölçülmesi.

|                                | Kör (µL)                                          | Standart (µL) | Örnek (µL) |
|--------------------------------|---------------------------------------------------|---------------|------------|
| <b>Standart</b>                | -                                                 | 50            | -          |
| <b>Örnek</b>                   | -                                                 | -             | 40         |
| <b>Biotin İşaretli Antikor</b> | -                                                 | -             | 10         |
| <b>HRP</b>                     | -                                                 | 50            | 50         |
| <b>İnkübasyon ve Yıkama</b>    | 37°C de 1 saat inkübasyonun ardından 3 kez yıkama |               |            |
| <b>Kromojen A</b>              | 50                                                | 50            | 50         |
| <b>Kromojen B</b>              | 50                                                | 50            | 50         |
| <b>İnkübasyon</b>              | 37°C de 10 dk. inkübasyon                         |               |            |
| <b>Reaksiyon Sonlandırıcı</b>  | 50                                                | 50            | 50         |

Reaksiyonun sonlandırılmasının ardından 450 nm’de okuma yapılarak standart grafiğe göre protein seviyeleri hesaplanmıştır.

### RT-qPCR analizleri

#### Doku örneklerinin hazırlanması ve total RNA izolasyonu

Gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) analizleri için kullanılacak olan doku örneklerinin hazırlanmasında, beyin dokuları öncelikle -80 °C’de muhafaza edilmiş numunelerden seçilmiştir. Her gruptan 50 mg beyin dokusu tartılmış ve paslanmaz çelik bilyeler içeren 2 mL hacmindeki steril Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Doku örnekleri, 600 µL QIAzol Lysis Reagent (katalog no:79306; Qiagen, Almanya) eklenerek Qiagen TissueLyser II cihazı

(Almanya) ile 30 saniyelik homojenizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Ardından, homojenatlar oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresinin sonunda her tüpe 200 µL kloroform ilave edilerek 15 saniye boyunca vortekslenmiş ve sonrasında 3 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Faz ayrışmasının gerçekleşmesini sağlamak amacıyla, örnekler 4 °C’de, 12000 × g hızında, 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme sonrasında oluşan üç fazdan, RNA içeren üstteki berrak sulu faz dikkatlice aspire edilerek steril Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Bu faza 500 µL izopropanol eklenmiş ve 10 dakika süreyle oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Ardından tüpler tekrar 4 °C’de, 12000 × g hızında 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen RNA pelletinin üzerindeki süpernatant dikkatlice uzaklaştırılmış ve pelletin saflaştırılması için 1 mL %75 etanol eklenmiştir. Bu aşamada tüpler 4 °C’de, 7500 × g hızında 5 dakika santrifüj edilmiştir.

Santrifüjleme işlemi tamamlandıktan sonra etanol süpernatantı uzaklaştırılmış ve RNA pelletleri oda sıcaklığında kısa süre kurutulmuştur. Kurutulan pelletler, RNaz içermeyen su ile çözülmüş ve RNA örneklerinin konsantrasyon ve saflıkları NanoDrop spektrofotometre (BioTek Epoch, ABD) kullanılarak 260/280 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Sadece A260/A280 oranı 1,8–2,0 arasında olan yüksek saflıktaki RNA örnekleri cDNA sentezi ve qRT-PCR analizlerinde kullanılmıştır.

#### **Total RNA’lardan cDNA sentezi**

İzolasyonu başarıyla tamamlanan total RNA’lar, çift sarmallı komplementer DNA’ya (cDNA) dönüştürülmek amacıyla High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (katalog no: 4368814; Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak sentezlenmiştir. Her reaksiyon için eşit miktarda total RNA kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı aşağıdaki bileşenleri içerecek şekilde hazırlanmıştır:

- 2000 µg total RNA
- 5 µL 5× iScript Reaction Mix
- 1 µL iScript Reverse Transcriptase
- DNase ve RNase içermeyen su ile son hacim 20 µL’ye ayarlanmıştır.

Toplam 20 µL hacmindeki bu karışım, üretici firmanın önerdiği protokole uygun olarak Rotor-Gene Q (Qiagen, Almanya) cihazında şu sıcaklık döngülerine tabi tutulmuştur:

- 25 °C’de 10 dakika süreyle primerlerin bağlanması
- 37 °C’de 120 dakika boyunca ters transkripsiyon reaksiyonu
- 85 °C’de 5 dakika boyunca enzim inaktivasyonu gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyon sonrası elde edilen cDNA örneklerinin konsantrasyonları NanoDrop spektrofotometre ile ölçülmüş ve analizlerde kullanılmak üzere -20 °C’de saklanmıştır.

### Gerçek Zamanlı PCR (qRT-PCR) Analizi Aşaması

Gerçek zamanlı PCR analizleri, Rotor-Gene Q 5plex HRM Platformu (Qiagen, Almanya) ve Rotor-Gene Q Software kullanılarak, QuantiNova SYBR Green PCR Kit (katalog no: 175031764; Qiagen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır:

**Tablo 8.** RT-qPCR Analizi için Kullanılan Malzemeler ve Miktarları

| İçerik                           | Miktar                       |
|----------------------------------|------------------------------|
| Power SYBR Green Master Mix (2×) | 10 µL                        |
| İleri (forward) primer           | 50 µM                        |
| Geri (reverse) primer            | 50 µM                        |
| cDNA                             | 50 ng                        |
| DNase ve RNase içermeyen su      | Son hacim 20 µL’ye ayarlanır |

### Hedef Genler ve Ekspresyon Analizi

Beyin dokularındaki gen ekspresyon düzeylerini belirlemek üzere aşağıdaki hedef genler analiz edilmiştir:

- *Bax* (Bcl-2-associated X protein)
- *Bcl-2* (B-cell lymphoma 2)
- *p53* (Tumor protein p53)
- *Nrf2* (Nuclear factor erythroid 2–related factor 2)
- *Ho-1* (Heme oxygenase-1)
- *Nfkb1* (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)
- *Jnk* (c-Jun N-terminal kinase)
- *Cyp2e1* (Cytochrome P450 2E1)
- *App* (Amyloid precursor protein)
- *Snca* (Synuclein alpha)
- *Bdnf* (Brain-derived neurotrophic factor)

Tüm genlerin özgül primer dizileri Tablo 1’de sunulmuştur. Gen ekspresyon düzeyleri,  $\beta$ -actin referans geni kullanılarak normalize edilmiş ve bağıl gen ekspresyonları  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  yöntemi (Livak ve Schmittgen, 2001) kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen değerler, ilgili genlerin deney gruplarındaki göreceli ekspresyon farklılıklarını değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır.

**Tablo 9.** RT-qPCR Analizinde Kullanılan Genlere Ait Primer Dizileri.

| Gen                             | Erişim numarası | Nükleotit Dizilimleri (5’-3’)                                | Ürün uzunluğu (bp) |
|---------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------------------|--------------------|
| <i><math>\beta</math>-aktin</i> | NM_031144.3     | F: GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTAGC<br>R: GGCCGGACTCATCGTACTCCTGCTT | 155                |
| <i>Bax</i>                      | NM_017059.2     | F: CCAGGACGCATCCACCAAGAAGC<br>R: TGCCACACGGAAGAAGACCTCTCG    | 136                |
| <i>Bcl-2</i>                    | NM_016993.2     | F: TATATGGCCCCAGCATGCGA<br>R: GGGCAGGTTTGTCGACCTCA           | 136                |
| <i>Nrf2</i>                     | XM_063284653.1  | F: TCAGCTACTCCCAGGTTGCCCA<br>R: GGCAAGCGACTCATGGTCATCTAC     | 113                |
| <i>Ho-1</i>                     | NM_012580.2     | F: CACATCCGTGCAGAGAATTCT<br>R: TTCGCTCTATCTCCTCTTCCAG        | 130                |
| <i>Nfkb1</i>                    | NM_001415012.1  | F: CAGCACTCCTTATCAACCACC<br>R: CTCCTGAGCGTTGACTTCTG          | 125                |
| <i>P53</i>                      | NM_001429996.1  | F: GTCGGCTCCGACTATACCACTATC<br>R: CTCTCTTTGCACTCCCTGGGGG     | 247                |
| <i>Jnk</i>                      | NM_053829.2     | F: CCAGGACTGCAGGAACGAGT<br>R: CCACGTTTTCTTGTAGCCC            | 102                |
| <i>Cyp2e1</i>                   | NM_031543.2     | F: TGAGATATGGGCTCCTGATCC<br>R: CATCCATGTAGGGCATATCCAG        | 132                |
| <i>App</i>                      | XM_006248011.5  | F: TCTCTGTCCCTGCTCTACAA<br>R: AGACGTCGTCGGAGTAGTT            | 100                |
| <i>Snca</i>                     | XM_063285678.1  | F: AGTCGTTTCATGGAGTGACAAC<br>R: AGTGGCAGCAGCAATGTT           | 136                |
| <i>Bdnf</i>                     | NM_001270631.1  | F: CAGGGGCATAGACAAAAG<br>R: CTTCCCCTTTTAATGGTC               | 153                |

## RT-qPCR Reaksiyon Şartları

Gerçek zamanlı PCR protokolü kapsamında, polimeraz enziminin aktivasyonu ve DNA'nın ilk denatürasyonu 95 °C'de 30 saniye süreyle gerçekleştirilmiş ve bu adım bir döngü olarak uygulanmıştır. Ardından, 95 °C'de 5 saniyelik denatürasyon ve genlere özgü bağlanma sıcaklıklarında 30 saniyelik annealing (eşleşme) basamaklarından oluşan amplifikasyon döngüsü toplam 40 kez tekrarlanmıştır (Tablo 10). Primerlerin bağlanma sıcaklıkları ilgili genin özelliklerine göre optimize edilmiş olup, detaylar Tablo 11 üzerinde belirtilmiştir.

**Tablo 10.** RT-qPCR Döngü Protokolü.

| Adım                   | Sıcaklık (°C)                         | Süre      |
|------------------------|---------------------------------------|-----------|
| Ön denatürasyon        | 95                                    | 10 dakika |
| Denatürasyon           | 95                                    | 15 saniye |
| Primerlerin bağlanması | Primere özgü sıcaklıklarda (Tablo 11) | 30 saniye |
| Uzama                  | 72                                    | 30 saniye |

**Tablo 11.** Kullanılan Primere Ait Bağlanma Sıcaklıkları.

| Gen            | Bağlanma (Annealing) Sıcaklığı |
|----------------|--------------------------------|
| <i>β-Aktin</i> | 64°C                           |
| <i>Bax</i>     | 64°C                           |
| <i>Bcl-2</i>   | 60°C                           |
| <i>Nrf-2</i>   | 61°C                           |
| <i>Ho-1</i>    | 57°C                           |
| <i>Nfkb1</i>   | 56°C                           |
| <i>P53</i>     | 60°C                           |
| <i>Jnk</i>     | 57°C                           |
| <i>Cyp2e1</i>  | 56°C                           |
| <i>App</i>     | 55°C                           |
| <i>Snca</i>    | 56°C                           |
| <i>Bdnf</i>    | 52°C                           |

Amplifikasyon sürecinin ardından ürünlerin özgülüğünü doğrulamak amacıyla, 65 °C ile 95 °C arasında her 2–5 saniyede bir artışla melt curve (erime eğrisi) analizi gerçekleştirilmiş ve bu adım tek bir döngüde tamamlanmıştır.

### **Protein izolasyonu ve Western Blot analizi**

Western blot analizlerinin gerçekleştirilmesi amacıyla, her deney grubundan 50 mg beyin dokusu alınarak, 500 µL RIPA (Radioimmunoprecipitation Assay; radyoimmünopresipitasyon) lizis tamponu (katalog no: 24948; ChemCruz, ABD) içinde homojenize edilmiştir. RIPA tamponu, hücresel membranların etkin şekilde parçalanmasını sağlamak ve hem sitoplazmik hem de nükleer proteinleri elde etmek amacıyla kullanılmaktadır. Homojenizasyon işlemi sonrasında örnekler, proteaz ve fosfataz aktivitesini minimumda tutmak için 4 °C’de 30 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Ardından, hücresel debris ve çözünmeyen materyallerin uzaklaştırılması için homojenatlar 16000 ×g’de, 30 dakika süreyle, 4 °C’de santrifüj edilmiştir.

Santrifüjleme sonrası elde edilen berrak üst faz, total protein ekstraktı olarak dikkatlice toplanmış ve downstream analizlerde kullanılmak üzere ayrılmıştır. Protein miktarının kantitatif olarak belirlenebilmesi amacıyla, elde edilen süpernatanttan örnekler alınarak Pierce™ BCA (Bicinchoninic Acid) Protein Assay Kit (katalog no:23225; Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak total protein konsantrasyonu ölçülmüştür. Bu yöntem, proteinlerin içerdiği peptid bağlarının  $\text{Cu}^{2+}$  iyonlarını  $\text{Cu}^{+}$ ’a indirgemesi ve sonrasında BCA ile kompleks oluşturması esasına dayanmakta olup, 562 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir.

Örneklerdeki protein konsantrasyonları belirlendikten sonra, Western blot analizine uygun hale getirmek amacıyla, her örnekten alınan ve 50 µg protein içeren süpernatant, 3:1 oranında 4X konsantrasyondaki hazır NuPAGE örnek tamponu (katalog no: NP0008; Thermo Fisher Scientific, ABD) ile karıştırılarak hazırlanmıştır. NuPAGE tamponu, proteinlerin denatürasyonunu sağlayarak elektroforez koşullarına uygun hale getirmek amacıyla kullanılmıştır. Tampon içerisinde SDS, beta-merkaptetanol veya DTT, gliserol, bromofenol mavisi ve Tris-HCl gibi bileşenler bulunarak proteinlerin lineer hâle gelmesine ve elektroforezde düzgün göç etmesine olanak sağlar. Karışım, homojen bir çözelti elde edilene kadar vortekslenmiş ve daha sonra sodyum dodesil sülfat–poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) aşamasında kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

### Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1 M Tris: 121,14 g Tris, 900 mL distile su içerisinde çözölmüş, pH değeri 1 M HCl ile 6,8'e ayarlanmıştır. Ardından son hacim distile su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

10x Transfer Çözeltisi: 58 g Tris, 29 g Glisin ve 3,7 g SDS, 900 mL distile su kullanılarak çözölmüş, pH değeri 8,3'e ayarlanmıştır. Son olarak toplam hacim distile su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

1x Transfer Çözeltisi: 10x transfer tamponundan 100 mL alınarak, üzerine 700 mL distile su ve 200 mL metanol eklenmiş, toplam hacim 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

1,5 M Tris: 181,7 g Tris, 900 mL distile su içerisinde çözölmüş, pH değeri 1 M HCl ile 8,8'e ayarlanmıştır. Ardından son hacim distile su ile 1000 mL'ye ayarlanmıştır.

10x TBS: 2 g KCl, 80 g NaCl ve 30 g Tris, 900 mL distile su kullanılarak çözölmüş, pH değeri 1 M HCl ile 7,4'e ayarlanmış ve son hacim 1000 mL'ye ayarlanmıştır.

TBS-T: 10x TBS tamponundan 100 mL alınarak 900 mL distile su ile seyreltilmiş ve toplam hacimin 1000 mL'ye tamamlanmasının ardından 1 mL Tween-20 eklenmiştir.

10x TRIS-Glisin Elektroforez Çözeltisi: 30,2 g Tris, 188 g Glisin ve 100 mL %10 SDS, distile su içerisinde çözölerek toplam hacim 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

Proteinlerin ayrılması amacıyla SDS-PAGE yöntemi uygulanmıştır. Bu işlem kapsamında, ilk olarak %10'luk ayırma jeli hazırlanarak dökölmüş ve polimerizasyonun tamamlanması için yaklaşık 1 saat beklenmiştir. Ardından, üzerine %4'lük yığma jeli eklenerek jel sistemi tamamlanmıştır. Ayırma ve yığma jellerine ait bileşimler Tablo 12'de sunulmuştur.

**Tablo 12.** Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Yığma Jelinin Bileşimi

| Madde                        | Yığma Jelinin Bileşimi<br>(%4) | Ayırma jelinin bileşimi<br>(%10) |
|------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| %30'luk akrilamild (29:1)    | 0,88 mL                        | 6,7 mL                           |
| 4X Ayırma Jel Tamponu pH 8,8 | 1,66 mL                        | 5 mL                             |
| %10' luk SDS                 | 66 µL                          | 0,2 mL                           |
| Saf Su                       | 4,06 mL                        | 8 mL                             |
| Amonyum Persülfat            | 33,4 µL                        | 100 µL                           |
| TEMED                        | 3,3 µL                         | 8 µL                             |

Jeller hazırlandıktan ve polimerizasyon tamamlandıktan sonra her bir kuyucuğa 50 µg protein olacak şekilde örnekler yüklenmiş ve elektroforez, 80 mA sabit akım altında 1,5 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Elektroforezin ardından jeller çıkarılarak proteinler, poliviniliden florür (PVDF) membran üzerine blotlama yöntemiyle aktarılmıştır.

Membranların non-spesifik bağlanmalarını engellemek amacıyla, %5 yağsız süt tozu içeren TBS-T bazlı bloklama solüsyonunda oda sıcaklığında 1 saat süreyle inkübe edilerek bloklama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bloklama işleminden sonra membranlar, aşağıda belirtilen primer antikörlerle 4 °C'de 12 saat boyunca inkübe edilmiştir:

- α-syn (Santa Cruz, Katalog No: sc-69977, RRID: AB\_1118910)
- IL-1β (Santa Cruz, Katalog No: sc-52012, RRID: AB\_629741)
- Aβ (Santa Cruz, Katalog No: sc-28365)
- GAPDH (Santa Cruz, Katalog No: sc-32233, RRID: AB\_627679) – Yükleme kontrolü olarak kullanılmıştır.

İnkübasyonun ardından primer antikörler uzaklaştırılmış ve membranlar beş kez 5 mL PBS-T ile yıkanmıştır. Daha sonra 1/5000 oranında seyreltilmiş HRP konjugatlı sekonder antikör (sc-2005, Santa Cruz Biotechnology, ABD) eklenmiş ve +4 °C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda sekonder antikör uzaklaştırılmış ve membranlar tekrar beş kez 5 mL PBS-T ile yıkanmıştır.

Protein bantlarının görünür hale getirilmesi için Bio-Rad Clarity Max ECL (katalog no: 1705062; Bio-Rad, Hercules, ABD) substratı kullanılmıştır. Elde edilen bantların dansitometrik analizi ImageLab yazılımı (Bio-Rad, Hercules, ABD) ile gerçekleştirilmiştir.

### **Histopatolojik işlem basamakları**

Çalışma sonunda, tüm hayvanlardan elde edilen beyin dokuları soğuk fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandıktan sonra %10'luk formalin çözeltisinde fikse edilmiştir. Sabitleme işlemini takiben, dokular şekillendirilmiş (trimlenmiş), formaldehit kalıntıları uzaklaştırılmış ve sırasıyla %70, %80, %96 ve %100'lük etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon uygulanmıştır. Daha sonra dokular ksilen ile şeffaflaştırılmış ve parafine gömülmüştür. Paraffin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler normal mikroskop lamalarına alınmıştır.

Deparafinizasyon amacıyla, kesitler 57 °C'de 1 saat inkübe edildikten sonra ksilen banyosundan geçirilmiştir. Rehidrasyon için ise, kesitler sırayla azalan etanol konsantrasyonlarında (%100, %90, %70, %50; her biri 5 dakika) bekletilmiştir.

Rehidrasyondan sonra, kesitler 2 dakika hematoksilen ile boyanmış, ardından musluk suyu altında yıkanmış ve 1 dakika eozin ile karşı boyama uygulanmıştır.

Dehidrasyon işlemi için kesitler tekrar artan konsantrasyondaki etanol serilerinden (%50, %70, %90 ve %100; her biri 5 dakika) geçirilmiş ve ardından ksilen banyosuna alınarak lamel kaplama işlemi tamamlanmıştır.

Boyama sonrası, histopatolojik değişiklikler 10x büyütmede ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Her doku kesiti histolojik hasar derecesine göre aşağıdaki şekilde 0–3 aralığında skorlanmıştır:

- 0: Hasar yok
- 1: Hafif hasar
- 2: Orta derecede hasar
- 3: Şiddetli hasar

Gruplar arasındaki histopatolojik farklar, istatistiksel olarak önce Kruskal-Wallis testi, ardından ikili karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

### **İstatistiksel analizler**

İstatistiksel analizler GraphPad Prism yazılımının kullanımıyla gerçekleştirilmiştir. Normal dağılım gösteren veriler için gruplar arası farklar, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiş, anlamlılık bulunan durumlarda Tukey sonrası çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Verilerin normal dağılım özelliği Shapiro-Wilk testi ile, varyans homojenliği ise Brown-Forsythe testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) şeklinde sunulmuş olup, istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Şekillerde, tüm gruplar arasındaki istatistiksel farklar yıldız sembolleriyle gösterilmiştir. Buna göre:

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ ; ns = anlamsız ( $p > 0,05$ ).

## BULGULAR

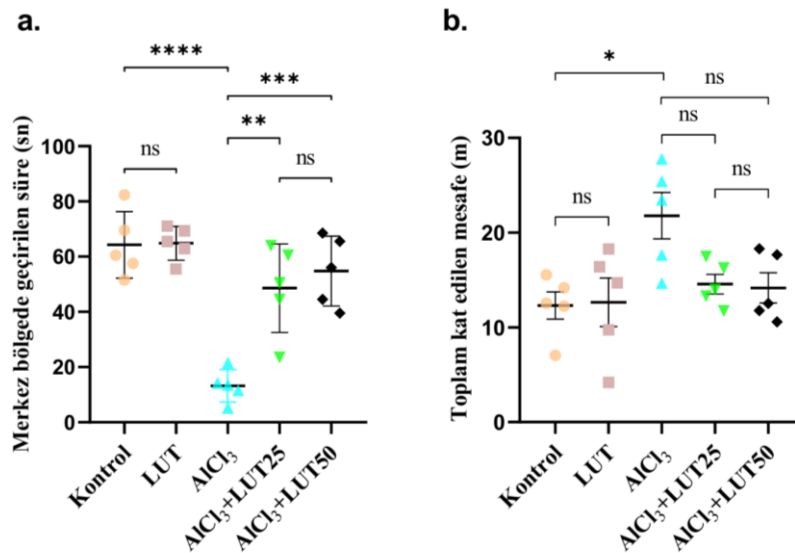
### Davranış Testi Sonuçları

#### Açık Alan Testi (OFT)

Anksiyete benzeri davranışların değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen Açık Alan Testi (Open Field Test, OFT) sırasında, hayvanların test süresi boyunca merkezi bölgede geçirdikleri süre analiz edilmiştir. Test platformu merkezi ve çevresel bölgeler olarak tanımlanmış; merkezi alanda geçirilen süre ölçülmüştür.

Tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) sonuçları, gruplar arasında merkezi bölgede geçirilen süre açısından anlamlı farklar olduğunu ortaya koymuştur. Kontrol grubuna göre  $AlCl_3$  uygulanan grupta merkezi alanda geçirilen sürede anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p < 0,0001$ ; Şekil 8a).  $AlCl_3 + LUT25$  grubunda,  $AlCl_3$  grubuna kıyasla merkezde kalma süresi anlamlı düzeyde artmıştır ( $p < 0,01$ ). Benzer şekilde,  $AlCl_3 + LUT50$  grubunda bu artış daha da belirgin düzeydedir ( $p < 0,001$ ). Her iki LUT dozunda da  $AlCl_3$  grubuna göre merkezi bölgede geçirilen sürede anlamlı bir uzama gözlenmiş olup,  $AlCl_3 + LUT25$  ve  $AlCl_3 + LUT50$  grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ( $p > 0,05$ ).

Toplam kat edilen mesafe açısından (Şekil 8b),  $AlCl_3$  maruziyeti, kontrol grubuna kıyasla lokomotor aktiviteyi anlamlı düzeyde artırmıştır ( $p < 0,05$ ). Ancak,  $AlCl_3$  ve LUT birlikte uygulanan gruplar arasında ya da iki farklı LUT dozu arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0,05$ ).



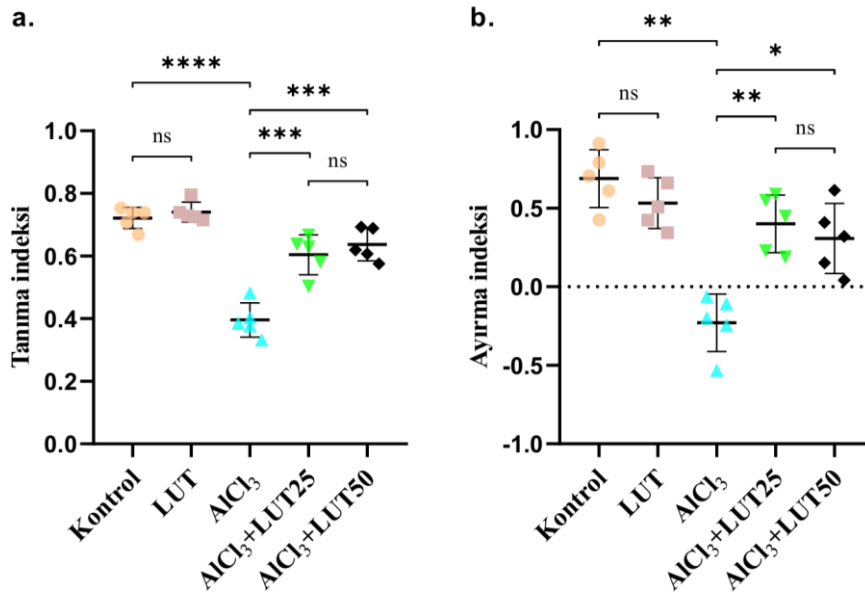
**Şekil 8.**  $AlCl_3$  ve LUT uygulamalarının OFT ile değerlendirilen anksiyete ile ilişkili davranışlar üzerindeki etkisi. (a) Merkez bölgede geçirilen süre (saniye), (b) Toplam kat edilen mesafe (m). Veriler ortalama  $\pm$  SEM ( $n$  = grup başına 5) olarak sunulmuştur. İstatistiksel anlamlılık şu şekilde belirtilmiştir: ns, anlamlı değil; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

## Yeni Obje Tanıma Testi (NORT)

Tanıma belleğini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen Yeni Nesne Tanıma Testi (Novel Object Recognition, NOR), bellek performansını ölçmek üzere uygulanmıştır. Hayvanların yeni nesneye yönelimleri, tanıma indeksi ve ayırt etme indeksi üzerinden analiz edilmiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,  $AlCl_3$  uygulanan grupta tanıma indeksi anlamlı düzeyde azalmıştır ( $p < 0,0001$ ; Şekil 9a). Ancak  $AlCl_3 + LUT25$  grubunda bu azalma,  $AlCl_3$  grubuna kıyasla anlamlı şekilde düzelmiş ( $p < 0,001$ ), benzer şekilde  $AlCl_3 + LUT50$  grubunda da anlamlı bir artış tespit edilmiştir ( $p < 0,001$ ). Her iki LUT dozunun etkisi benzer olup, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p > 0,05$ ).

Ayırtma indeksi açısından da benzer bir eğilim gözlenmiştir.  $AlCl_3$  grubunun ayırtma indeksi, kontrol grubuna kıyasla belirgin biçimde azalmıştır ( $p < 0,01$ ; Şekil 9c). Buna karşılık, hem  $AlCl_3 + LUT25$  ( $p < 0,05$ ) hem de  $AlCl_3 + LUT50$  ( $p < 0,01$ ) gruplarında ayırt etme indeksi anlamlı şekilde artış göstermiştir. İki LUT dozu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 9.**  $AlCl_3$  ve LUT uygulamalarının NOR testindeki tanıma hafızası üzerindeki etkisi. (a) TI değerleri, (b) AI skorları. Tüm veriler ortalama  $\pm$  SEM ( $n =$  grup başına 5) olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi ile gerçekleştirilmiştir. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$   $AlCl_3$  grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

## **Beyin Dokularında Oksidatif Stres Biyobelirteçleri**

Çalışmamızda, oksidatif stresin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan biyobelirteçler olan MDA, GSH düzeyleri ile GPx, SOD ve KAT enzim aktiviteleri incelenmiştir.

### **Beyin dokusunda MDA Düzeyleri**

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri,  $\text{AlCl}_3$  uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ( $p < 0,0001$ ; Şekil 10a). Bu artış, hem  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$  hem de  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT50}$  gruplarında anlamlı düzeyde azalma göstermiştir (sırasıyla  $p < 0,01$  ve  $p < 0,0001$ ). Ayrıca, yüksek doz LUT uygulanan  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT50}$  grubunda MDA düzeyleri, düşük doz grubuna ( $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$ ) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

### **Beyin Dokusunda SOD Aktiviteleri**

Antioksidan savunma sisteminin önemli bir bileşeni olan SOD enziminin aktivitesi,  $\text{AlCl}_3$  grubunda kontrol grubuna göre belirgin şekilde azalmıştır ( $p < 0,0001$ ; Şekil 10c). LUT tedavisi, her iki dozda da SOD aktivitesini anlamlı şekilde artırmıştır;  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$  grubunda artış  $p < 0,001$ ,  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT50}$  grubunda ise  $p < 0,0001$  düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Ayrıca, yüksek doz uygulanan grupta SOD aktivitesinin, düşük doz uygulanan gruba kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

### **Beyin Dokusunda KAT Aktiviteleri**

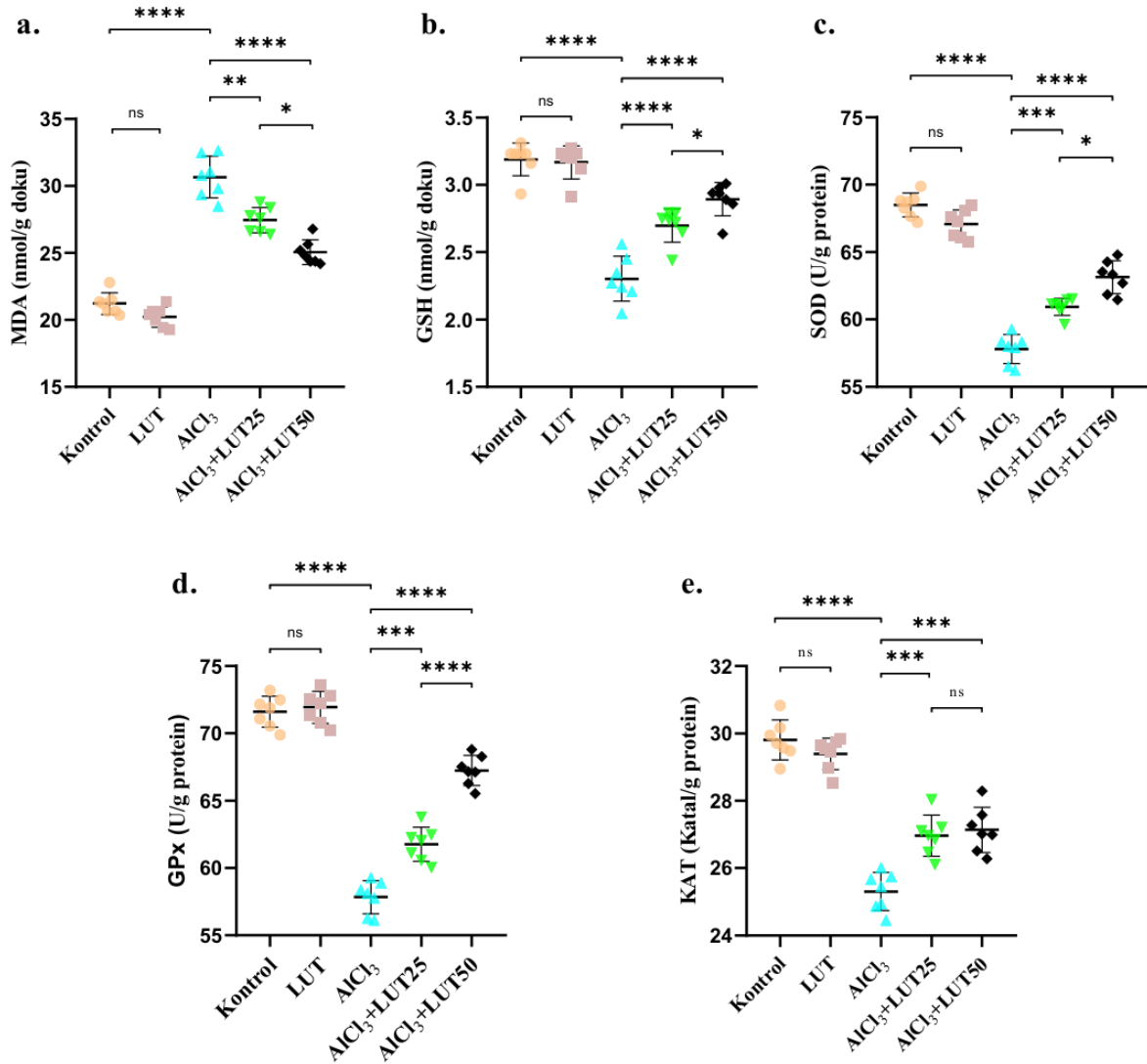
Beyin dokusundaki KAT aktiviteleri incelendiğinde,  $\text{AlCl}_3$  grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma gözlenmiştir ( $p < 0,0001$ ; Şekil 10e). Her iki tedavi grubu olan  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$  ve  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT50}$  gruplarında ise KAT aktivitesi,  $\text{AlCl}_3$  grubuna göre anlamlı derecede artış göstermiştir (her ikisi için  $p < 0,001$ ). Ancak, bu iki LUT dozu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).

### **Beyin Dokusunda GPx Aktiviteleri**

$\text{AlCl}_3$  uygulaması, GPx aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir düşüşe neden olmuştur ( $p < 0,0001$ ; Şekil 10d). LUT tedavisi ile bu düşüş anlamlı düzeyde artmıştır;  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$  grubunda  $p < 0,001$ ,  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT50}$  grubunda ise  $p < 0,0001$  düzeyinde anlamlı artış gözlenmiştir. Ayrıca, yüksek doz LUT uygulanan grupta GPx aktivitesinin, düşük doz uygulanan gruba göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,0001$ ).

## Beyin Dokusunda GSH Düzeyleri

GSH düzeyleri,  $AlCl_3$  grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p < 0,0001$ ; Şekil 10b). Tedavi gruplarına bakıldığında, hem  $AlCl_3 + LUT25$  hem de  $AlCl_3 + LUT50$  gruplarında,  $AlCl_3$  grubuna göre GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artışlar gözlenmiştir (her iki grup için  $p < 0,0001$ ). Ayrıca,  $AlCl_3 + LUT50$  grubundaki GSH düzeylerinin,  $AlCl_3 + LUT25$  grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).

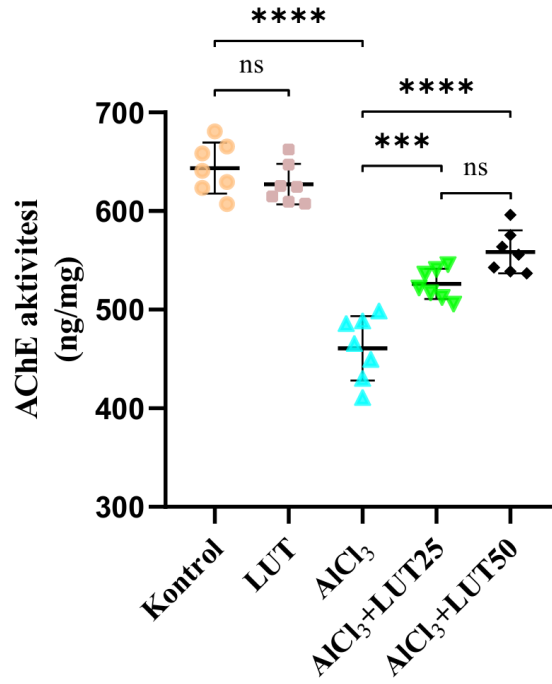


**Şekil 10.**  $AlCl_3$  ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki MDA, GSH düzeylerine ve SOD, GPx ve KAT aktivitelerine etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur ( $n =$  grup başına 7). İstatistiksel karşılaştırmalar, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi ile yapılmıştır. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$   $AlCl_3$  grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

## Nöronal Aktivite ve Nörotransmisyon ile İlişkili Biyobelirteçler

### Beyin dokusunda AChE aktivitesi

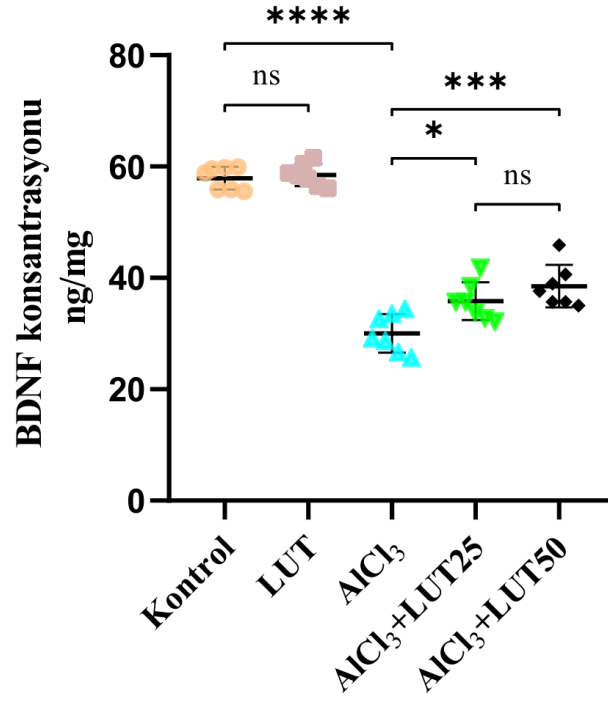
AChE aktivitesi,  $\text{AlCl}_3$  grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p < 0,0001$ ; Şekil 11).  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$  ve  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT50}$  tedavi gruplarında ise AChE aktivitesinde  $\text{AlCl}_3$  grubuna kıyasla anlamlı artışlar saptanmıştır (sırasıyla  $p < 0,001$  ve  $p < 0,0001$ ). Ancak iki LUT dozu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 11.** LUT ve  $\text{AlCl}_3$  uygulamalarının beyin dokusundaki AChE aktivitesi üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur ( $n = \text{grup başına } 7$ ). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$   $\text{AlCl}_3$  grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

### Beyin dokusunda BDNF düzeyleri

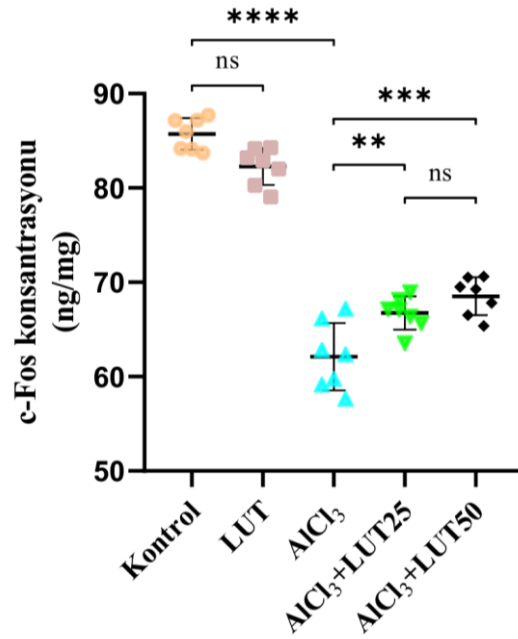
BDNF düzeyleri,  $\text{AlCl}_3$  grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır ( $p < 0,0001$ ; Şekil 12).  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$  grubunda BDNF düzeylerinde  $\text{AlCl}_3$  grubuna göre anlamlı bir artış saptanmıştır ( $p < 0,05$ ),  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT50}$  grubunda ise bu artış daha belirgin düzeyde gerçekleşmiştir ( $p < 0,001$ ). Ancak, iki farklı LUT dozu arasında BDNF düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 12.** AlCl<sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki BDNF konsantrasyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur (n = grup başına 7). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001 AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

### Beyin dokusunda c-Fos düzeyleri

c-Fos düzeyleri, AlCl<sub>3</sub> grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır (p < 0,0001; Şekil 13). AlCl<sub>3</sub> + LUT25 grubunda c-Fos düzeyleri, AlCl<sub>3</sub> grubuna göre anlamlı düzeyde artış göstermiştir (p < 0,01), AlCl<sub>3</sub> + LUT50 grubunda ise bu artış daha belirgin olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p < 0,001). Ancak iki farklı LUT dozu arasında c-Fos düzeyleri bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (p > 0,05).



**Şekil 13.** AlCl<sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki c-Fos konsantrasyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama ± standart hata (SEM) olarak sunulmuştur (n = grup başına 7). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001 AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

#### **Beyin dokularında *Bax*, *Bcl-2*, *p53*, *Nfkb1*, *Jnk*, *Nrf2/Ho-1*, *App*, *Snca* ve *Bdnf* Ekspresyon Düzeyleri**

AlCl<sub>3</sub> uygulamasının apoptotik ve stresle ilişkili sinyal yolları üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla, beyin dokusunda çeşitli genlerin mRNA düzeyleri RT-qPCR yöntemiyle analiz edilmiştir. Apoptozla ilişkili olarak pro-apoptotik (*Bax*), anti-apoptotik (*Bcl-2*) ve hücre döngüsünü düzenleyen (*p53*) genlerin ekspresyonu değerlendirilmiştir. İnflamasyon ve hücresel stres yanıtını yansıtan sinyal yolları kapsamında, pro-inflamatuar transkripsiyon faktörü olan *Nfkb1*'nin ve stresle ilişkili kinazlardan *Jnk1*'in ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Ayrıca, oksidatif stres yanıtında görev alan antioksidan savunma genlerinden *Nrf2* ve onun aşağı akım hedefi olan *Ho-1* genlerinin yanı sıra, toksik metabolitlerin üretiminde rol oynayan *Cyp2e1* geninin düzeyleri de belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, nörodejeneratif süreçlerle ilişkilendirilen *App* ve *Snca* genlerinin ekspresyon düzeyleri değerlendirilerek AlCl<sub>3</sub> maruziyetinin amiloid ve sinüklein metabolizması üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Nöronal sağkalım ve sinaptik plastisite ile ilişkili *Bdnf* geninin mRNA ekspresyon düzeyleri de analiz edilerek, luteolinin olası nörotrofik ve nöroprotektif etkileri ortaya konmuştur.

#### **Beyin dokularında apoptozla ilişkili genlerin ifade düzeyleri**

##### ***Bax* ekspresyonu**

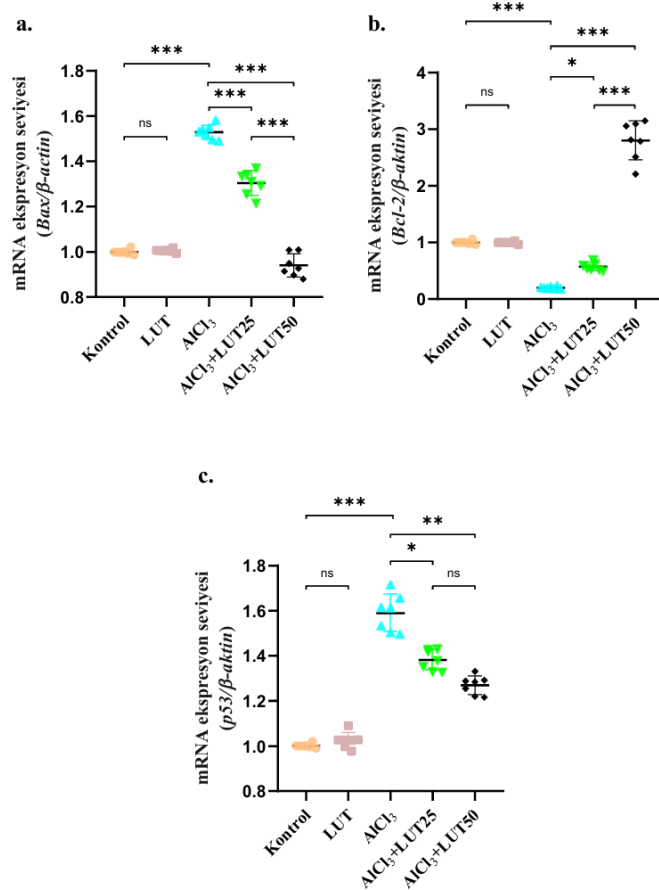
qPCR'dan elde edilen sonuçlara göre *Bax* ekspresyonu  $AlCl_3$  grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artış göstermiştir ( $p < 0,001$ ; Şekil 14a). Bu artış, hem  $AlCl_3 + LUT25$  hem de  $AlCl_3 + LUT50$  gruplarında anlamlı şekilde azalmıştır (her iki grup için  $p < 0,001$ ). Ayrıca, iki LUT dozu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p < 0,001$ ).

### ***Bcl-2* ekspresyonu**

*Bcl-2* ekspresyonu  $AlCl_3$  grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ( $p < 0,001$ ; Şekil 14b).  $AlCl_3 + LUT25$  grubunda *Bcl-2* transkript seviyeleri  $AlCl_3$  grubuna kıyasla anlamlı şekilde artmıştır ( $p < 0,05$ );  $AlCl_3 + LUT50$  grubunda ise daha belirgin bir artış gözlenmiştir ( $p < 0,001$ ). Üstelik, iki tedavi dozu arasındaki fark da anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

### ***P53* ekspresyonu**

*P53* gen ifadesi  $AlCl_3$  uygulamasıyla kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde artış göstermiştir ( $p < 0,001$ ; Şekil 14c).  $AlCl_3 + LUT25$  grubunda *p53* mRNA düzeyi  $AlCl_3$  grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır ( $p < 0,05$ ).  $AlCl_3 + LUT50$  grubunda da *p53* ekspresyonunda anlamlı düzeyde bir azalma meydana gelmiştir ( $p < 0,01$ ). Ancak, iki tedavi dozu arasında ekspresyon seviyeleri bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 14.**  $AlCl_3$  ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki apoptosis ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur ( $n$  = grup başına 7). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$   $AlCl_3$  grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

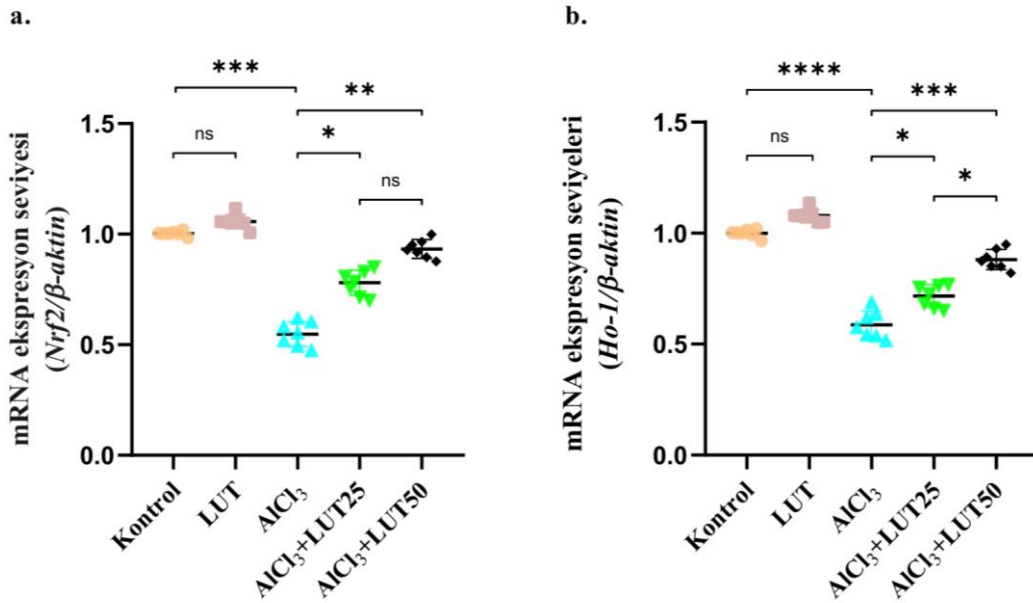
### Beyin dokularında oksidatif stresle ilişkili genlerin ifade düzeyleri

#### *Nrf2* ekspresyonu

*Nrf2* gen ifade düzeyleri  $AlCl_3$  grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalmıştır ( $p < 0,001$ ; Şekil 15a). Bu azalma,  $AlCl_3$  + LUT25 grubunda anlamlı düzeyde artış göstermiştir ( $p < 0,05$ ),  $AlCl_3$  + LUT50 grubunda ise daha belirgin bir yükselme gözlenmiştir ( $p < 0,01$ ). Ancak iki LUT dozu arasında *Nrf2* ekspresyonu açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).

#### *Ho-1* ekspresyonu

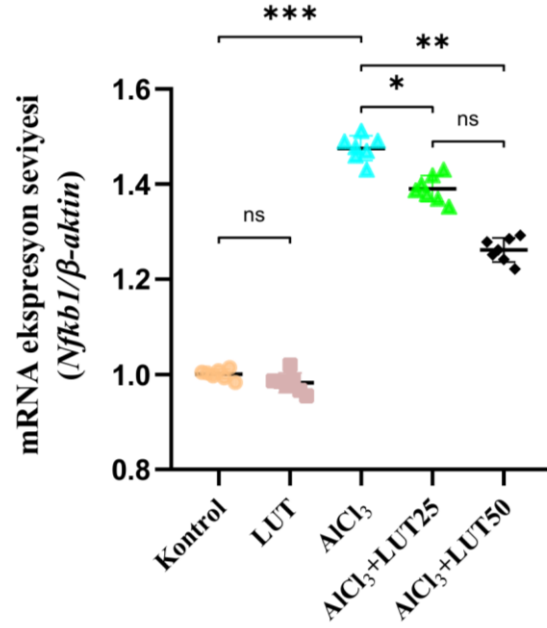
$AlCl_3$  grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p < 0,0001$ ; Şekil 15b). Bu azalma,  $AlCl_3$  + LUT25 grubunda anlamlı bir artışla düzelmiş ( $p < 0,05$ ),  $AlCl_3$  + LUT50 grubunda ise daha yüksek düzeylere ulaşmıştır ( $p < 0,001$ ). Ayrıca, yüksek doz uygulanan grupta *Ho-1* ekspresyonunun düşük doza kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 15.**  $AlCl_3$  ve LUT uygulamalarının beyin dokusundaki antioksidan sistem ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur ( $n$  = grup başına 7). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$   $AlCl_3$  grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

### Beyin dokularında *Nfkb1* ekspresyonu

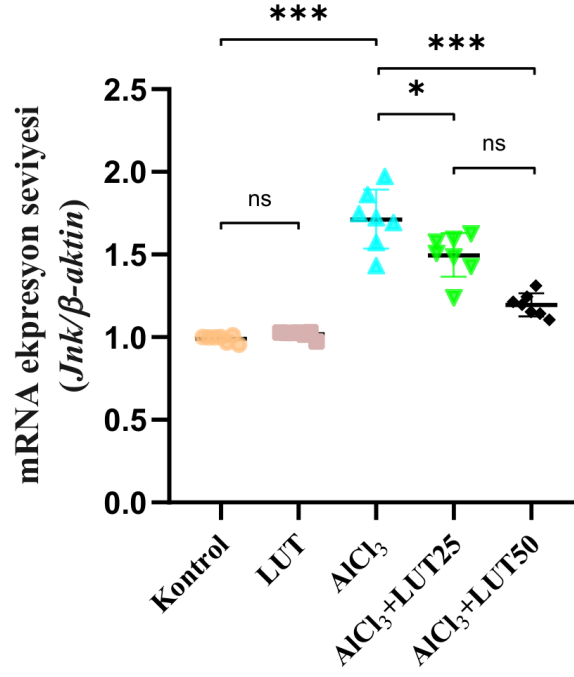
*Nfkb1*'in mRNA düzeyleri,  $\text{AlCl}_3$  grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde artış göstermiştir ( $p < 0,001$ ; Şekil 16). LUT uygulaması, her iki dozda da *Nfkb1* ekspresyonunu  $\text{AlCl}_3$  grubuna göre anlamlı düzeyde azaltmıştır;  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$  grubunda bu azalma  $p < 0,05$  düzeyinde,  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT50}$  grubunda ise  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Ancak, iki LUT dozu arasında *Nfkb1* ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 16.**  $\text{AlCl}_3$  ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda *Nfkb1* ekspresyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur ( $n = \text{grup başına } 7$ ). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$   $\text{AlCl}_3$  grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

### Beyin dokularında *Jnk* ekspresyonu

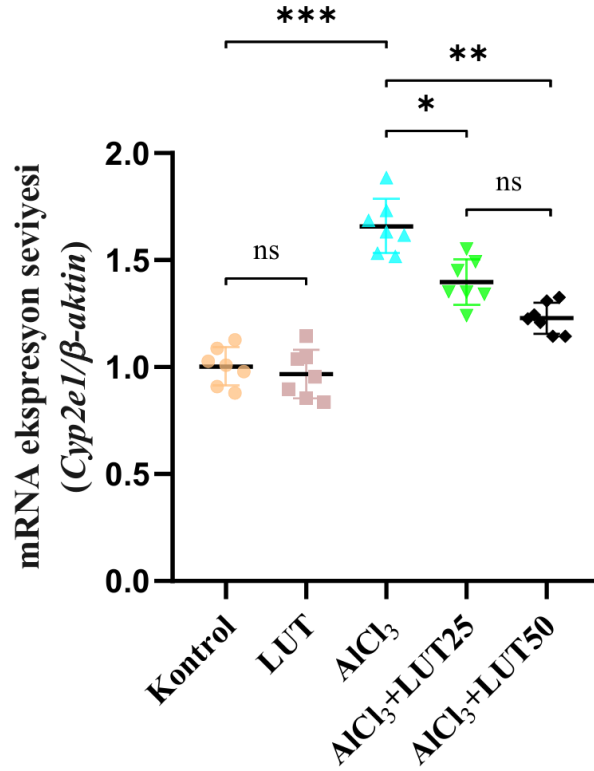
*Jnk*'nin mRNA ekspresyon düzeyleri,  $\text{AlCl}_3$  grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde artış göstermiştir ( $p < 0,001$ ; Şekil 17). LUT uygulaması,  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$  grubunda *Jnk* ekspresyonunda anlamlı bir azalmaya yol açmıştır ( $p < 0,05$ ); bu azalma  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT50}$  grubunda daha belirgin düzeydedir ( $p < 0,001$ ). Ancak iki LUT dozu arasında *Jnk* düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 17.** AlCl<sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda *Jnk* ekspresyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur (n = grup başına 7). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001 AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

#### Beyin dokularında *Cyp2e1* ekspresyonu

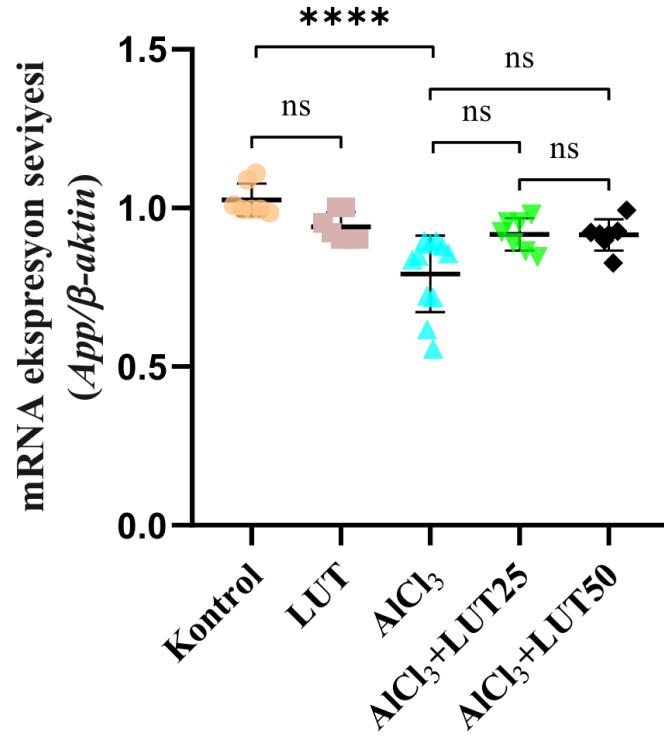
*Cyp2e1*'in mRNA ekspresyon düzeyleri, AlCl<sub>3</sub> grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde artış göstermiştir (p < 0,001; Şekil 18). LUT uygulaması, AlCl<sub>3</sub> + LUT25 grubunda *Cyp2e1* ekspresyonunda AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla anlamlı bir azalmaya yol açmıştır (p < 0,05); bu azalma AlCl<sub>3</sub> + LUT50 grubunda daha belirgin düzeydedir (p < 0,01). Ancak iki LUT dozu arasında *Cyp2e1* ekspresyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p > 0,05).



**Şekil 18.** AlCl<sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda *Cyp2e1* ekspresyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama ± standart hata (SEM) olarak sunulmuştur (n = grup başına 7). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001 AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

### Beyin dokularında *App* ekspresyonu

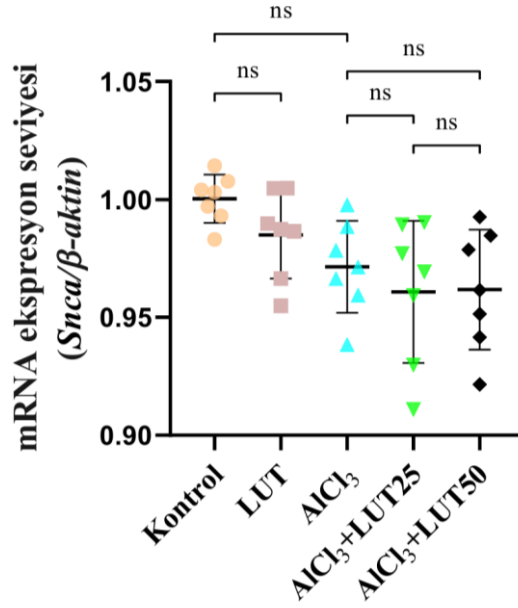
*App*'nin mRNA ekspresyon düzeyleri, AlCl<sub>3</sub> grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmıştır (p < 0,0001; Şekil 19). AlCl<sub>3</sub> + LUT25 ve AlCl<sub>3</sub> + LUT50 gruplarında *App* ekspresyon düzeylerinde artış eğilimi gözlenirse de bu farkın AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (p > 0,05). Ayrıca, iki LUT dozu arasında *App* ekspresyon düzeyleri bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (p > 0,05).



**Şekil 19.** AlCl<sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda *App* ekspresyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur (n = grup başına 7). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'in post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001 AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

#### Beyin dokularında *Snca* ekspresyonu

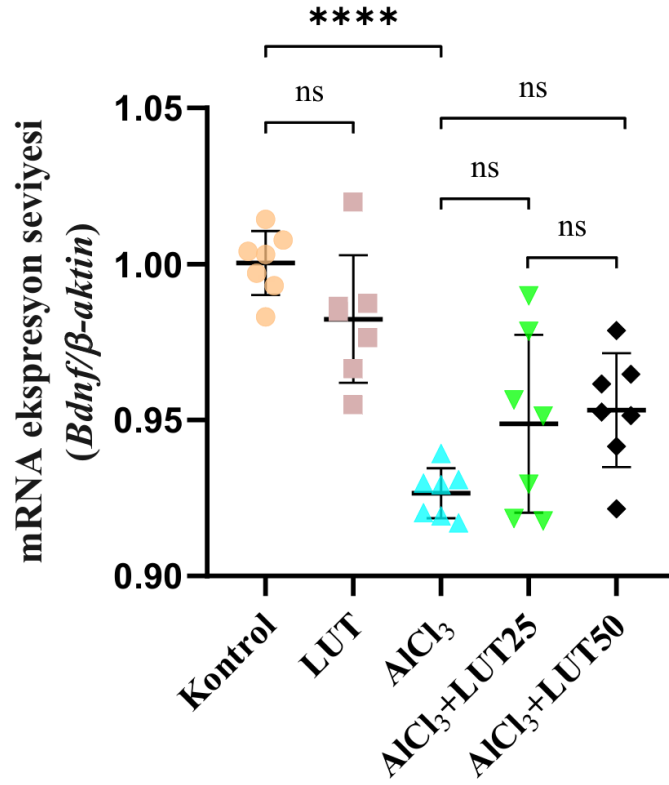
*Snca* geni için mRNA ekspresyon düzeyleri incelendiğinde, AlCl<sub>3</sub> uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla bir azalma meydana geldiği, ancak bu değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (p > 0,05; Şekil 20). AlCl<sub>3</sub> + LUT25 ve AlCl<sub>3</sub> + LUT50 gruplarında *Snca* ekspresyon düzeylerinde artış eğilimi gözlemlense de bu farkın AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (p > 0,05). Ayrıca, iki LUT dozu arasında *Snca* ekspresyon düzeyleri bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (p > 0,05).



**Şekil 20.** AlCl<sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda *Snca* ekspresyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur (n = grup başına 7). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'in post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001 AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

### Beyin dokularında *Bdnf* ekspresyonu

*Bdnf* için mRNA ekspresyon düzeyleri incelendiğinde, AlCl<sub>3</sub> uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma meydana geldiği belirlenmiştir (p < 0,0001; Şekil 21). Farklı dozlarda LUT uygulamasının etkileri değerlendirildiğinde, mRNA ekspresyon düzeylerinde artış eğilimi gözlenmiş, ancak bu değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (p > 0,05). Bununla birlikte, iki tedavi dozu arasında *Bdnf* ekspresyon düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (p > 0,05).



**Şekil 21.** AlCl<sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda *Bdnf* ekspresyonu üzerindeki etkisi. Veriler, biyolojik olarak bağımsız örneklerden elde edilen ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunulmuştur (n = grup başına 7). İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'in post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001 AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

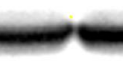
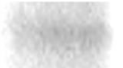
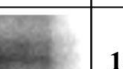
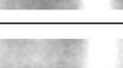
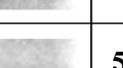
### Beyinde IL-1β ve α-syn ve Aβ Düzeyleri

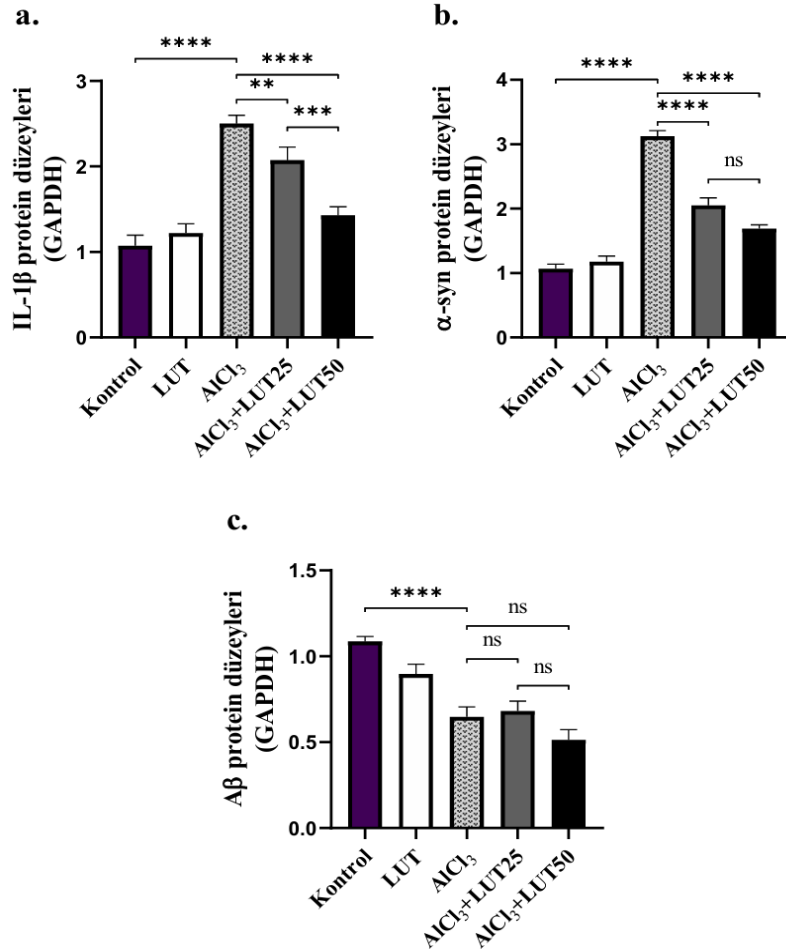
IL-1β düzeylerinin, AlCl<sub>3</sub> grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği belirlenmiştir (p < 0,0001; Şekil 22a). LUT tedavisinin ise, düşük dozunda (AlCl<sub>3</sub> + LUT25) IL-1β artışını anlamlı şekilde azalttığı görülmüştür (p < 0,01), yüksek dozunda ise (AlCl<sub>3</sub> + LUT50) daha belirgin bir düşüş meydana gelmiştir (p < 0,0001). Yüksek doz uygulanan grubun düşük doz uygulanan gruba göre IL-1β seviyelerini düşürmekte daha etkili olduğu belirlenmiştir (p < 0,001).

α-syn protein düzeyleri incelendiğinde, AlCl<sub>3</sub> grubunda kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artış meydana geldiği belirlenmiştir (p < 0,0001; Şekil 22b). LUT uygulamasının her iki dozunun da α-syn seviyelerinde anlamlı azalma sağladığı tespit edilmiştir (p < 0,0001, her iki doz için); dozlar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır (p > 0,05).

Aβ protein seviyeleri incelendiğinde AlCl<sub>3</sub> grubunda, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalma belirlenmiştir (p < 0,0001; Şekil 22c). AlCl<sub>3</sub> + LUT 25 mg/kg ve AlCl<sub>3</sub> + LUT 50 mg/kg gruplarında ise Aβ protein düzeylerinde AlCl<sub>3</sub> grubuna göre artış görülmüştür, ancak

bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ( $p > 0,05$ ). İki farklı doz arasında da anlamlı fark oluşmadığı görülmüştür ( $p > 0,05$ ).

|               | Kontrol                                                                           | LUT                                                                               | AlCl <sub>3</sub>                                                                 | AlCl <sub>3</sub> +<br>LUT25                                                       | AlCl <sub>3</sub> +<br>LUT50                                                        |            |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| GAPDH         |  |  |  |  |  | 36 kDa     |
| IL-1 $\beta$  |  |  |  |  |  | 34-43 kDa  |
| $\alpha$ -syn |  |  |  |  |  | 16 kDa     |
| A $\beta$     |  |  |  |  |  | 55-132 kDa |

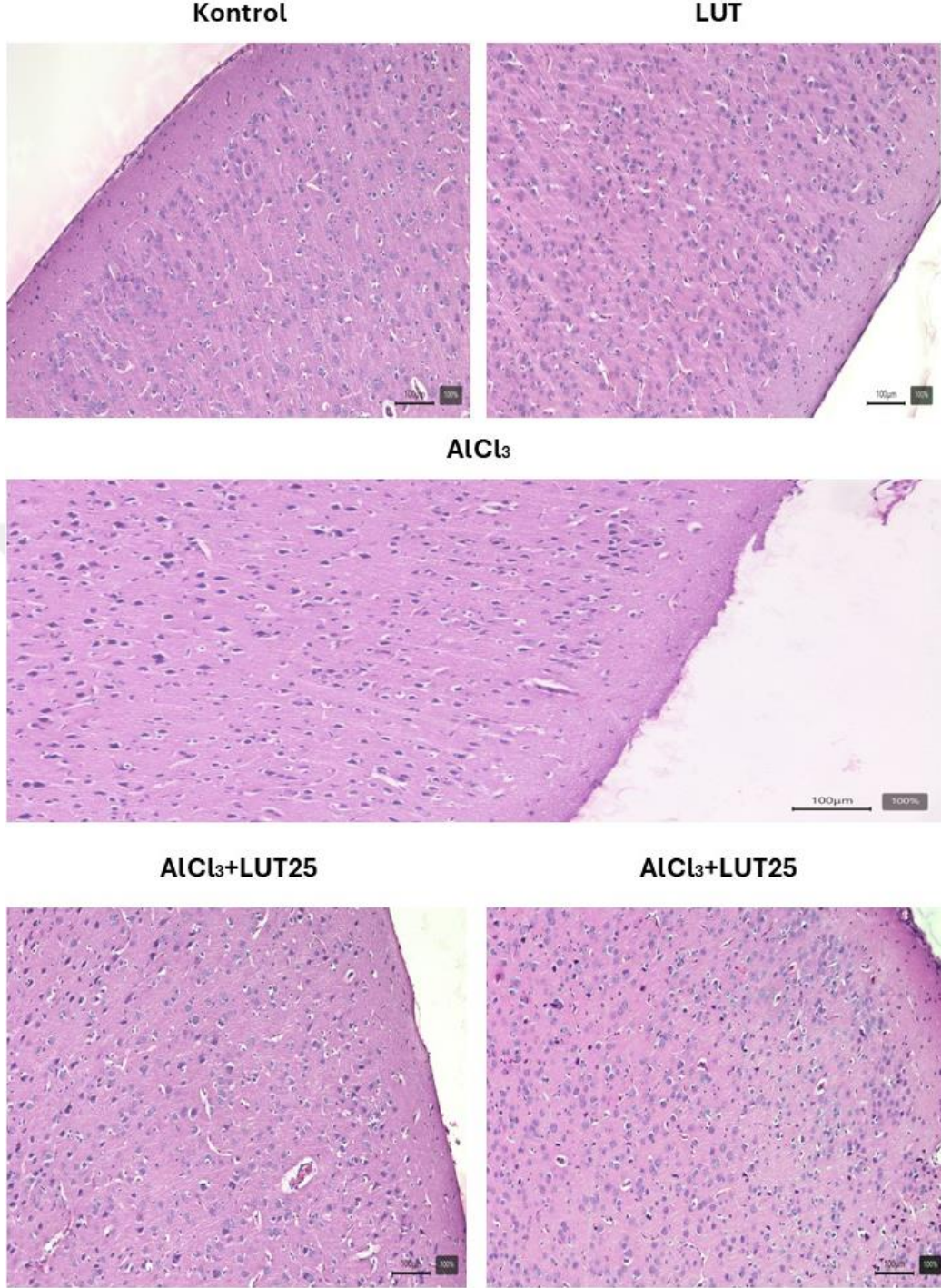


**Şekil 22.** AlCl<sub>3</sub> ve LUT uygulamalarının beyin dokusunda IL-1 $\beta$ , A $\beta$  ve  $\alpha$ -syn protein seviyeleri üzerindeki etkisi. İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$  AlCl<sub>3</sub> grubuna kıyasla; ns: anlamlı değil.

## Histopatolojik Değerlendirme

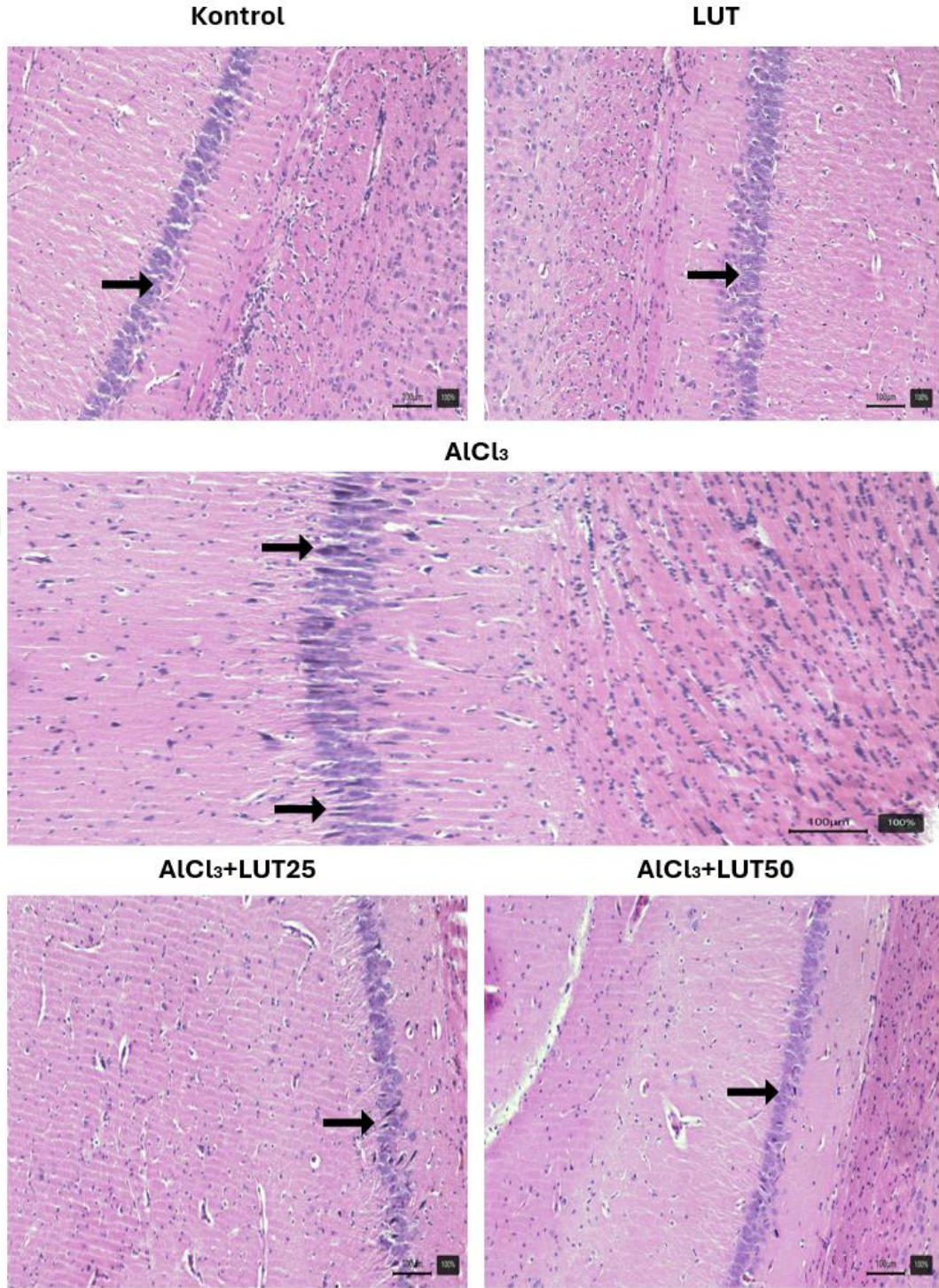
LUT'un  $\text{AlCl}_3$  ile oluşturulan nörotoksisitede farklı deney gruplarının serebral korteks (Şekil 23) ve Hipokampal Cornu Ammonis 1 (CA1) (Şekil 24), CA3 (Şekil 25) ve dentat girusta (Şekil 26) histopatolojik değişiklikleri gösteren fotomikrografiler, 100x büyütmede H&E boyama. Normal kontrol grubu ile yalnızca LUT verilen grupta, korteks ve hipokampal CA1 ve CA3 ile dentat girus bölgelerinin mikroskobik incelemesi patolojik öneme sahip herhangi bir lezyon göstermemiştir.  $\text{AlCl}_3$  uygulanan grup, kortekste nükleer membran ayırt edilemez durumda olup, nöronların sitoplazması büzülmüş ve koyu boyanmıştır.  $\text{AlCl}_3$  uygulanan grupta hipokampal CA1, CA3 ve dentat girus bölgelerinde, uzamış düzensiz koyu boyanmış çekirdek ve küçülmüş sitoplazma ile nörodejenerasyonun belirgin olduğu görülmüştür.  $\text{AlCl}_3$ +LUT25 uygulanan grupta korteks ve hipokampal CA1, CA3 ile dentat girus bölgelerinde koyu boyanmış büzüşmüş şekilli nekrotik nöron sayısı azalmıştır ( $p < 0,05$ ).  $\text{AlCl}_3$ +LUT50 uygulanan grupta korteks ve hipokampal CA1, CA3 ile dentat girus bölgelerinde nekrotik nöron sayısı  $\text{AlCl}_3$ +LUT25 uygulanan gruba göre azalmış kontrol seviyelerine yaklaşmıştır (Tablo 13,  $p < 0,05$ ).

## Beyin Korteksi



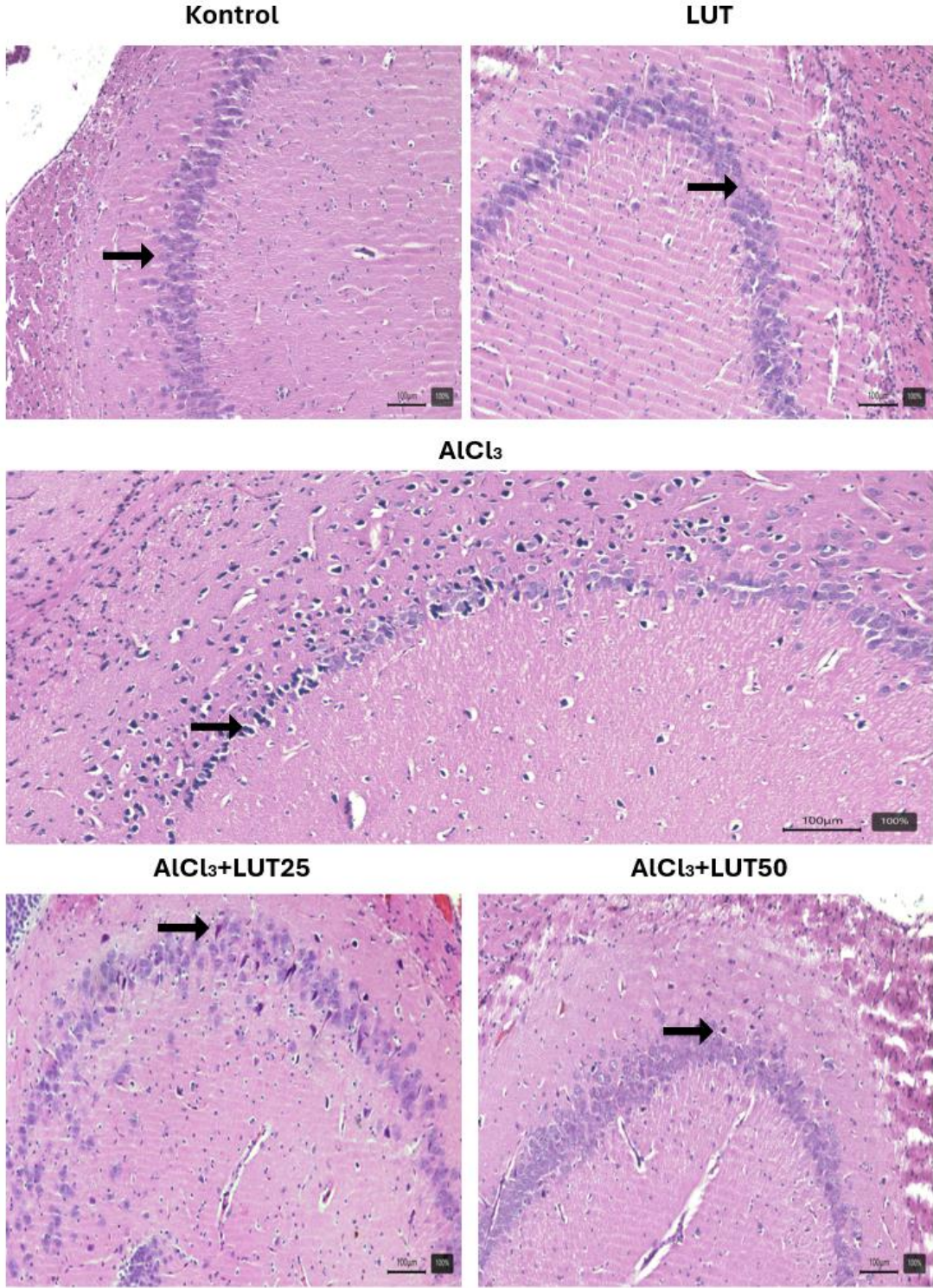
**Şekil 23.** LUT'un  $\text{AlCl}_3$  ile oluşturulan nörotoksisiteye karşı serebral korteks bölgesinde gösterdiği histopatolojik etkiler. H&E boyaması ( $\times 100$ ). Kontrol ve LUT grupları: Nöronlar düzenli ve yoğun, hücre morfolojisi normal ve nükleuslar belirgindir. Korteks yapısı korunmuş ve hücreler arası boşluklar normal seviyededir.  $\text{AlCl}_3$  grubu: Nöron yoğunluğu biraz azalmış, hücreler arası boşluklar artmış ve bazı hücreler şişkin veya morfolojik olarak bozulmuş görünmektedir; bu durum  $\text{AlCl}_3$  kaynaklı nörotoksisiteyi göstermektedir.  $\text{AlCl}_3 + \text{LUT25}$  grubu: Nöron morfolojisi kısmen korunmuş, hücre yoğunluğu artmış ve düzen  $\text{AlCl}_3$  grubuna göre iyileşmiştir; bu, LUT tedavisinin  $\text{AlCl}_3$  kaynaklı kortikal hasarı kısmen azalttığını göstermektedir.

## Hipokampal CA1



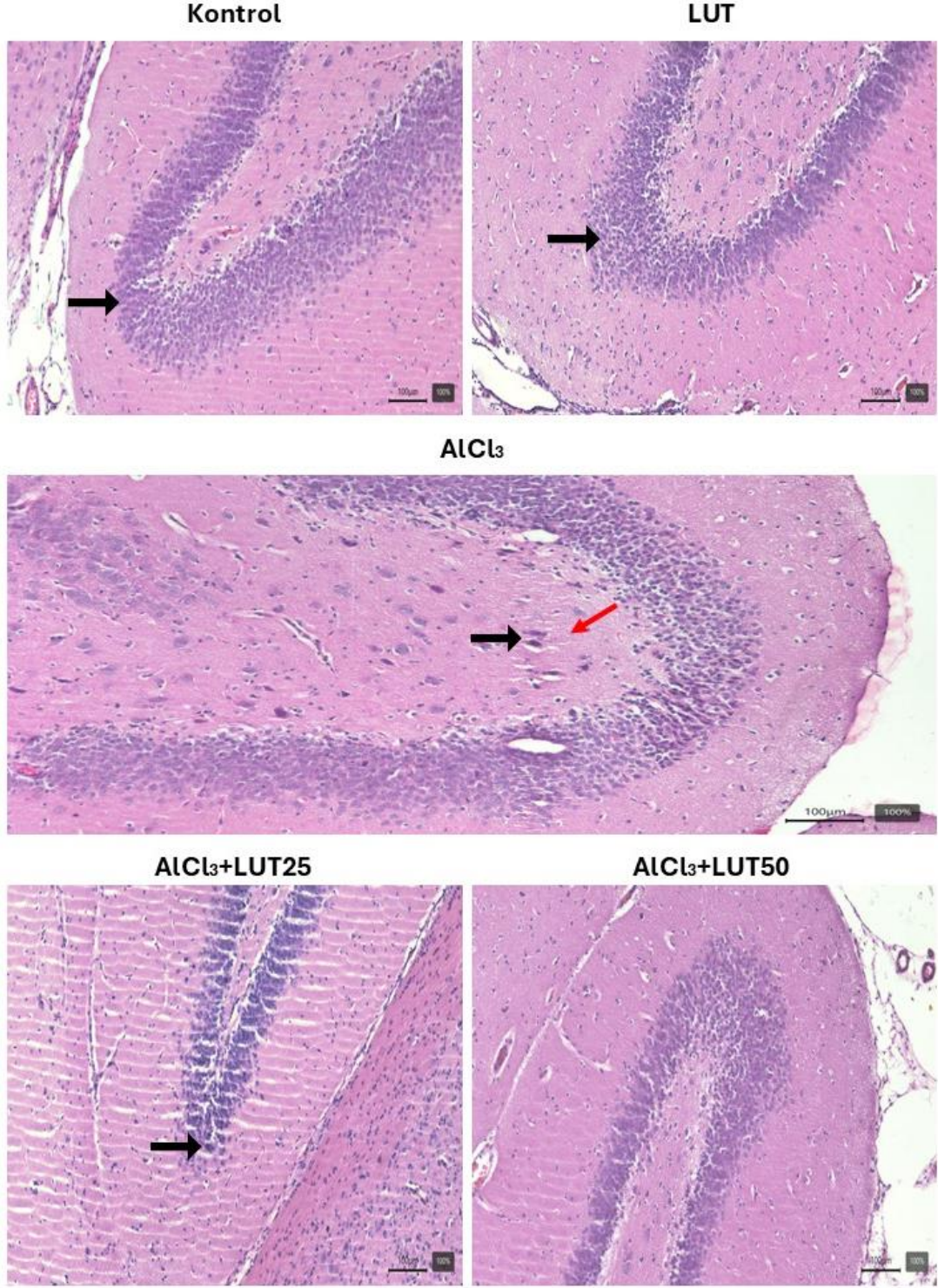
**Şekil 24.** LUT'un  $\text{AlCl}_3$  ile oluşturulan nörotoksisiteye karşı hipokampal CA1 bölgesinde gösterdiği histopatolojik etkiler. H&E boyaması ( $\times 100$ ). Kontrol ve sadece LUT uygulanan gruplarda piramidal nöron tabakasının düzenli bir şekilde korunduğu ve hücre morfolojisinin normal olduğu görülmektedir.  $\text{AlCl}_3$  grubunda okların gösterdiği bölgelerde piramidal nöronlarda dejenerasyon, hücre yoğunluğunda azalma ve piknotik nükleuslar izlenmektedir.  $\text{AlCl}_3$  ile eş zamanlı uygulanan LUT'un (25 ve 50 mg/kg) ise nöronal morfolojiyi kısmen koruduğu ve dejenerasyonu azalttığı gözlemlenmiştir. Oklar piramidal nöron tabakasını göstermektedir.

## Hipokampal CA3



**Şekil 25.** LUT'un AlCl<sub>3</sub> ile oluşturulan nörotoksositeye karşı hipokampal CA3 bölgesinde gösterdiği histopatolojik etkiler. H&E boyaması (×100). Kontrol ve sadece LUT verilen gruplarda piramidal nöron tabakası düzenli, hücre morfolojisi normaldir. AlCl<sub>3</sub> grubunda okların işaret ettiği bölgelerde piramidal nöronlarda belirgin dejenerasyon, hücre yoğunluğunda azalma ve piknotik nükleuslar gözlenmiştir. AlCl<sub>3</sub> ile eş zamanlı uygulanan LUT'un (25 ve 50 mg/kg) piramidal tabakadaki yapısal bozulmayı azalttığı ve hücre morfolojisini kısmen koruduğu görülmektedir. Oklar piramidal nöron tabakasını göstermektedir.

## Dentat girus



**Şekil 26.** LUT'un  $\text{AlCl}_3$  ile oluşturulan nörotoksisiteye karşı hipokampal dentat girus bölgesinde gösterdiği histopatolojik etkiler. H&E boyaması ( $\times 100$ ). Kontrol ve sadece LUT verilen gruplarda granül hücre tabakası düzenli ve nöron morfolojisi normaldir.  $\text{AlCl}_3$  grubunda okların işaret ettiği bölgelerde granül hücre tabakasında dejenerasyon, hücre yoğunluğunda azalma ve piknotik nükleuslar gözlenmiştir.  $\text{AlCl}_3$  ile eş zamanlı uygulanan LUT'un (25 ve 50 mg/kg) dentat girus tabakasında hücresel yapıyı kısmen koruduğu ve dejenerasyonu azalttığı görülmektedir. Görselde siyah oklar granül hücre tabakasını, kırmızı ok ise nekroza uğramış bölgeyi işaret etmektedir.

**Tablo 13.** Beyin Korteksi ve Hipokampal Bölgelere Ait Histopatoloji Skoru.

| Gruplar/Nükleer piknoz ve dejenerasyon | Korteks                    | Hipokampal bölge           |
|----------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>Kontrol</b>                         | 0,14±0,14                  | 0,00±0,00                  |
| <b>LUT</b>                             | 0,00±0,00                  | 0,00±0,00                  |
| <b>AlCl<sub>3</sub></b>                | 2,71±0,18*                 | 2,57±0,20*                 |
| <b>AlCl<sub>3</sub> + LUT25</b>        | 1,57±0,36 <sup>#</sup>     | 1,57±0,29 <sup>#</sup>     |
| <b>AlCl<sub>3</sub> + LUT50</b>        | 0,42±0,20 <sup>&amp;</sup> | 0,42±0,20 <sup>&amp;</sup> |

\*p < 0,05, kontrol grubuna göre; #p < 0,05, AlCl<sub>3</sub> grubuna göre; &p < 0,05, AlCl<sub>3</sub>+LUT25 grubuna göre farkı gösterir. (n=7). Histopatolojik skortlama, değerlendirme sürecinde çalışmadan bağımsız bir patolog tarafından kör (blinded) olarak yapılmıştır.

## TARTIŞMA

Alüminyum (Al), merkezi sinir sistemi (MSS) üzerindeki nörotoksik etkileriyle yaygın olarak bilinir ve çeşitli nörolojik hastalıkların gelişiminde potansiyel bir katkı sağlayıcı olarak öne sürülmektedir. Son birkaç on yılda, Al'ün neden olduğu nörotoksisitenin altında yatan mekanizmaların anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu mekanizmalar arasında, hücresel süreçlerin bozulması, Al'ün sinir dokularında zamanla birikmesi ve hücre içi temizleme mekanizmalarıyla yeterince uzaklaştırılamaması sonucunda oksidatif stres, apoptoz ve inflamasyon gibi patolojik süreçlerin tetiklenmesi yer almaktadır (Cirovic vd., 2023). Bu bulgular ve Al'nin doğal çevrede yaygın olarak bulunması, nöroprotektif potansiyele sahip biyolojik aktif bileşiklerin belirlenmesine yönelik bilimsel ilgiyi artırmış; ayrıca, bu bileşiklerin etkilerini hangi moleküler mekanizmalar aracılığıyla gösterdiğinin aydınlatılmasına yönelik çalışmaları teşvik etmiştir (Pankaj Bhargava vd., 2021). Bu tez çalışması, sıçanlarda alüminyum klorür ( $AlCl_3$ ) ile indüklenen beyin toksisitesine karşı luteolin'in (LUT) potansiyel koruyucu etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. LUT'un nöroprotektif etkileri; oksidatif stres, inflamasyon, apoptotik süreçler ve antioksidan savunma mekanizmaları başta olmak üzere çeşitli biyokimyasal ve moleküler parametreler üzerinden araştırılmıştır. Bu kapsamda, beyin dokusunda BDNF, p53, CYP2E1,  $\beta$ -amiloid ve  $\alpha$ -syn gibi nörodejenerasyonla ilişkili belirteçlerin düzeyleri değerlendirilmiş; LUT uygulamasının bu parametreler üzerindeki düzenleyici etkileri ortaya konmuştur.

$AlCl_3$  maruziyeti, MSS'de ciddi işlev bozukluklarına yol açmakta olup, bu durumun temel mekanizmaları arasında reaktif oksijen türleri (ROT) üretiminin artması, inflamatuvar süreçlerin tetiklenmesi ve sinaptik iletimin bozulması yer almaktadır (Fernandes vd., 2021). Beyin dokusu, yüksek oksijen tüketimi nedeniyle sürekli oksidatif stres altında olan bir organ olmasının yanı sıra, özellikle hücre zarlarında bulunan fosfolipitler gibi çoklu doymamış yağ asitleri içeren lipid yapısı nedeniyle oksidatif hasara son derece duyarlıdır (Merelli vd., 2021). Bu durum, olası bir stres durumunda nörodejeneratif süreçlerin gelişimini kolaylaştırmaktadır. Al birikimi, hücre zarındaki lipid peroksidasyonunu tetikleyerek membran bütünlüğünü zedelemekte, yapısal proteinlerin fonksiyonlarını bozmakta ve endojen antioksidan savunma sistemlerini doğrudan hedef almaktadır (Saeed vd., 2021). Lipid peroksidasyonunun önemli bir belirteci olan malondialdehit (MDA) düzeylerindeki artış, hücresel membranlarda oksidatif hasarın ilerlediğine işaret eder. MDA seviyelerinin yükselmesi, membran geçirgenliğinin değişmesi sonucu iyon dengesizliklerine ve hücre sinyallemede bozulmalara neden olur (Adetuyi vd., 2025). Bu tez çalışmasında,  $AlCl_3$  uygulanan grupta beyin dokusundaki MDA

düzeylerinin anlamlı biçimde arttığı belirlenmiş; bu artışın, lipid peroksidasyonundaki yükselişe ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Oksidatif stresin hücrelerde oluşturduğu zararlı etkileri dengelemek amacıyla organizma, başta süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon (GSH) ve glutatyon peroksidaz (GPx) olmak üzere çeşitli antioksidan sistemleri devreye sokar. Bu enzimler, reaktif oksijen türlerini (ROT) etkisiz hale getirerek hücresel yapıların hasar görmesini önlemekte ve oksidatif dengeyi sürdürmekte önemli rol oynar (Türk vd., 2021). Literatürdeki çalışmalar,  $AlCl_3$ 'ün nörotoksik etkilerinin temelinde oksidatif stresin belirleyici bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Abbas vd., 2022; Efosa vd., 2023). Bu çalışmanın bulguları,  $AlCl_3$  maruziyetinin başlıca antioksidan savunma unsurlarından olan SOD, KAT ve GPx enzimlerinin aktivitelerinde anlamlı bir azalmaya, GSH düzeyinde ise belirgin bir düşüşe yol açtığını göstermiştir. Bu değişimlerin, hücresel redoks dengesinin bozulmasına ve buna bağlı olarak oksidatif hasarın artmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (Abdelhameed vd., 2023).

Öte yandan LUT uygulaması,  $AlCl_3$  maruziyetiyle indüklenen oksidatif stres yanıtını anlamlı biçimde azaltmıştır. Deneysel gruplarda LUT tedavisi, beyindeki lipid peroksidasyon düzeyini yansıtan MDA konsantrasyonlarını belirgin biçimde düşürmüş; buna karşın, hücresel antioksidan savunma sisteminin temel bileşenleri olan SOD, KAT, GPx aktivitelerinde ve GSH düzeylerinde anlamlı artışlar meydana getirmiştir. Sonuç olarak, LUT tedavisi,  $AlCl_3$  maruziyetinin neden olduğu lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresin azaltılmasında etkili olmuş, beyin dokusunun antioksidan kapasitesini artırarak ROT kaynaklı hücresel hasarın sınırlandırılmasını sağlamıştır. Bu bulgular, LUT'un nöroprotektif etkisinin önemli bir mekanizması olarak oksidatif stresin kontrolü ve antioksidan savunma sistemlerinin güçlendirilmesini bir kez daha ortaya koymaktadır (Seydi vd., 2021). Bu nedenle, LUT,  $AlCl_3$  kaynaklı nörotoksisite ve benzeri oksidatif hasar süreçlerinde potansiyel terapötik bir ajan olarak değerlendirilebilir.

CYP2E1, sitokrom P450 ailesine ait bir enzim olup, özellikle karaciğer başta olmak üzere birçok dokuda eksprese edilir ve ROT oluşumunda önemli bir rol oynar. Beyinde de bulunan CYP2E1'in aşırı aktivasyonu, toksik metallere, özellikle Al maruziyetine bağlı olarak ortaya çıkabilir. Al maruziyetinin etkisiyle CYP2E1 aktivitesinin artması, mitokondriyal fonksiyonların bozulmasına ve hücresel oksidatif stresin yükselmesine yol açar. Bu süreç, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein oksidasyonu gibi zararlı moleküler olayların tetiklenmesine zemin hazırlayarak, nöronal hücrelerde fonksiyon kaybı ve hücre ölümü riskini artırır (Atia ve Alghriany, 2021).

Bu tez çalışmasında, subkronik  $AlCl_3$  uygulamasının sıçan beyin dokusunda *Cyp2e1* gen düzeylerinde anlamlı bir artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgu,  $AlCl_3$ 'ün neden olduğu oksidatif stresin bir yansıması olarak *Cyp2e1*'in aşırı aktive olduğunu ve böylece nörotoksitenin mekanizmalarından biri haline geldiğini göstermektedir (Yu vd., 2021). *Cyp2e1*'in artan ekspresyonu, hücre içi ROT seviyelerinin yükselmesine doğrudan katkıda bulunarak oksidatif hasarın ilerlemesine ve nöronal yapının zarar görmesine zemin hazırlamış olabilir. Öte yandan, LUT tedavisinin, *Cyp2e1* ekspresyonundaki bu artışı belirgin şekilde baskılayarak ROT üretiminin kontrol altına alınmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir. LUT'un bu etkisi, enzim ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla hücrel oksidatif stresin azaltılmasına katkıda bulunmuş ve böylece nöronal hücrelerin hasara karşı korunmasını sağlamıştır. Bu durum, LUT'un Al tarafından indüklenen nörotoksiteye karşı gösterdiği nöroprotektif etkilerde önemli bir rol oynadığını desteklemektedir.

Nrf2, hücrel redoks dengesinin korunmasında ve faz II detoksifikasyon enzimleri ile antioksidan proteinlerin transkripsiyonel kontrolünde kilit rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (Ma vd., 2023). Normal koşullarda Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) ile sitoplazmada kompleks oluşturarak inaktive halde tutulan Nrf2, oksidatif stres veya elektrofilik sinyallerle karşılaştığında Keap1'den ayrılır, nükleusa transloke olur ve antioksidan yanıt elementlerine (ARE) bağlanarak *HO-1* (heme oksijenaz-1), *NQO1* (NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1) gibi çeşitli antioksidan ve detoksifikasyon genlerinin ekspresyonunu başlatır (Cuadrado, 2022). Bu süreç, hücreyi oksidatif hasara karşı koruyan önemli bir adaptif yanıt mekanizmasıdır. *HO-1*, bu yolda Nrf2 tarafından transkripsiyonu düzenlenen başlıca hedef genlerden biridir. Hem molekülünü parçalayarak biliverdin, karbon monoksit ve serbest demir üretir; bu ürünler antioksidan, anti-inflamatuvar ve sitoprotektif etkiler gösterir. Bu nedenle Nrf2/HO-1 eksen, hücrel savunmanın sürdürülmesi açısından kritik önemdedir (Mansouri vd., 2022).

Al maruziyetine bağlı beyin toksisitesi durumlarında ve nörodejeneratif hastalıklarda, Nrf2/HO-1 sinyal yolunun baskılandığı ve buna bağlı olarak oksidatif stresin belirgin şekilde arttığı literatürde çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Bayazid ve Lim, 2022; Mansouri vd., 2022). Bu çalışmada  $AlCl_3$  maruziyeti sonrasında sıçan beyin dokusunda hem *Nrf2* hem de *Ho-1* genlerinin ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır. Bu bulgular,  $AlCl_3$ 'ün bu yolaktaki savunma mekanizmalarını baskılayarak antioksidan yanıtı zayıflattığını; bunun sonucunda hücrelerin artan ROT'a karşı savunmasız hale geldiğini ve buna bağlı olarak oksidatif hasar, inflamasyon ve hücrel ölüm süreçlerinin hızlandığını ortaya koymaktadır.

LUT tedavisi,  $AlCl_3$  maruziyetiyle baskılandığı görülen *Nrf2/Ho-1* ekspresyonunda bir artış sağlamış ve bu genlerdeki inhibisyonun kısmen geri döndürüldüğünü düşündürmüştür. Bu artış, *Nrf2*'nin antioksidan ve detoksifikasyonla ilişkili hedef genleri düzenleme kapasitesi göz önünde bulundurulduğunda, hücrel savunma yanıtının desteklenmiş olabileceğini işaret etmektedir. Ayrıca, *Ho-1* ekspresyonundaki artışın, heme metabolizmasının düzenlenmesine ek olarak metal kaynaklı oksidatif stresin hafifletilmesine katkı sağlayabileceği literatürle uyumludur (R. Liu vd., 2023). *Nrf2* aktivasyonunun inflamatuvar yanıtı sınırlandırıcı etkileri dikkate alındığında, LUT'un nöroinflamasyon üzerinde de dolaylı bir iyileştirici etki oluşturmuş olabileceği değerlendirilebilir. Sonuç olarak, bu çalışmada gözlenen *Nrf2/Ho-1* artışının,  $AlCl_3$  ile tetiklenen oksidatif stres koşullarında hücrel koruma mekanizmalarının aktive olabileceğine işaret ettiği söylenebilir. Bu bulgular, literatürde bildirilen ve oksidatif stresin rol oynadığı nörodejeneratif süreçlerde flavonoidlerin potansiyel koruyucu etkilerini destekleyen çalışmalarla uyum göstermektedir (Zahra vd., 2024).

Davranışsal değerlendirmeler,  $AlCl_3$  maruziyetinin sıçanlarda belirgin anksiyete benzeri davranışsal değişikliklere yol açtığını ortaya koymuştur. Açık alan testi (OFT) bulgularına göre,  $AlCl_3$  uygulanan hayvanlar merkez bölgesinde anlamlı derecede daha az zaman geçirmiş ve arena duvarlarına yakın hareket etme davranışı olan thigmotaksiste artış göstermiştir. Thigmotaksis, genellikle stres ve anksiyete durumlarında ortaya çıkan, hayvanların açık ve potansiyel olarak tehdit oluşturan bölgelerden kaçınarak güvenli alanlara yönelmesini sağlayan koruyucu bir davranış biçimi olarak kabul edilmektedir (Harris, 2021). Bu davranış paterninin artışı, duygusal tepkiselliğin yükseldiğini ve keşif davranışının baskılandığını göstermektedir. Söz konusu bulgular, duygudurum düzenlemesini etkileyen nörokimyasal bozukluklarla uyumlu olup, literatürde de Al maruziyetinin lokomotor aktiviteyi ve merkez bölgeye giriş sıklığını azalttığı rapor edilmiştir (Liu vd., 2022; Zghari vd., 2018). Bu durum,  $AlCl_3$ 'ün nörotoksik etkileri sonucu, özellikle anksiyete ve stresin düzenlenmesinde rol alan amigdala ve prefrontal korteks gibi beyin bölgelerinde işlevsel bozulmalar meydana geldiğini düşündürmektedir (Fernandes vd., 2020; Kazmi vd., 2024).

Buna karşılık, LUT ile tedavi edilen gruplarda merkez bölgesinde geçirilen sürenin anlamlı şekilde artması ve thigmotaksis davranışında azalma gözlenmiştir. Bu iyileşmeler, LUT'un potansiyel anksiyolitik etkiler gösterebildiğini işaret etmektedir. LUT'un antioksidan ve anti-inflamatuvar özellikleri, sinaptik plastisiteyi destekleyerek ve nörotransmitter dengesini düzenleyerek duygudurumla ilişkili nörodevrelerdeki işlev bozukluklarını hafifletebilir. Ayrıca, *Nrf2/Ho-1* ve *Nfkb1* gibi hücrel savunma yollarının modülasyonu yoluyla oksidatif stresin ve inflamasyonun azaltılması, davranışsal düzeltilmelerin moleküler düzeydeki temelini

oluşturabilir (Hassanein vd., 2024; S. Singh vd., 2021). Bu bağlamda, LUT ile elde edilen biyokimyasal ve moleküler iyileşmelerin davranışsal sonuçlara yansıdığı ve bu flavonoidin nöroprotektif etkilerini pekiştirdiği söylenebilir.

Bilişsel fonksiyonların değerlendirilmesinde kullanılan yeni nesne tanıma (Novel Object Recognition, NOR) testi,  $AlCl_3$  maruziyetinin sıçanlarda belirgin bilişsel bozukluklara yol açtığını göstermiştir. Bu test, sıçanların doğuştan gelen merak güdüsüne dayalı olarak yeni nesnelere yönelme eğiliminden faydalanarak, öğrenme ve hafızayı değerlendirmede güvenilir bir yöntemdir. Tanıma belleği özellikle hipokampus ve prefrontal korteksin sağlıklı işlevine bağlıdır; bu bölgeler ise oksidatif stres ve inflamatuvar süreçlere karşı oldukça hassastır (Wang vd., 2021).

Çalışmamızda  $AlCl_3$  uygulanan grupta tanıma ve ayırım indekslerinde anlamlı azalmalar gözlenmiş, bu da kısa ve uzun süreli bellek fonksiyonlarında bozulmayı yansıtmıştır.  $AlCl_3$ 'e maruz kalan hayvanlar, test sırasında yeni nesneye daha az ilgi göstermiş ve tanıdık nesneyi ayırt etme yeteneklerini kaybetmişlerdir. Bu durum,  $AlCl_3$ 'ün bellekle ilişkili beyin bölgelerinde yapısal ve işlevsel bozulmalara neden olabileceğini göstermektedir. Nitekim, benzer şekilde, Al maruziyeti sonrasında öğrenme ve hafıza performansında düşüş olduğunu bildiren birçok çalışma mevcuttur (Ebhadaghe ve Enogieru, 2024; Mehrbeheshti vd., 2022).

Buna karşılık, LUT ile tedavi edilen gruplarda NOR testi performansında anlamlı iyileşme gözlenmiş ve bunun bilişsel işlevlerde olası bir koruyucu etkiye işaret ettiği değerlendirilmiştir. LUT'un bu bilişsel iyileştirici potansiyeli, nöroinflamasyonun azaltılması, oksidatif stresin baskılanması ve sinaptik plastisitenin desteklenmesi gibi çoklu mekanizmalarla ilişkili olabilir (He vd., 2023; Jayawickreme vd., 2024). Bu bulgular, LUT'un nörotoksik koşullar altında bilişsel işlevlerdeki bozulmaları hafifletme kapasitesine sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Al, sinir sistemi üzerinde güçlü bir kolinotoksin etkisi gösteren ve MSS'nin işlevselliğini birden çok düzeyde olumsuz etkileyen bir metaldir. Özellikle kan-beyin bariyerini (KBB) zayıflatarak, bu bariyerin seçici geçirgenlik özelliğini bozmakta ve böylece beyin dokusuna zararlı maddelerin girişini kolaylaştırmaktadır. KBB'nin bütünlüğünün bozulması, nöroinflamasyon ve oksidatif stres gibi patolojik süreçlerin tetiklenmesine zemin hazırlamakta ve nörodejeneratif hastalıkların gelişimini hızlandırmaktadır (Bryliński vd., 2023). Ayrıca, Al'nin kolinerjik sinyalleme üzerindeki inhibe edici etkisi, nörotransmisyonun temel bileşenlerinden biri olan asetilkolinin (ACh) sinaptik boşlukta etkin kullanımını engelleyerek bilişsel işlevlerde ciddi bozulmalara neden olmaktadır (Renke vd., 2023).

Kolinerjik sinyal iletimi, öğrenme, hafıza ve dikkat gibi temel bilişsel işlevlerin sürdürülmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. Bu sistemde yer alan asetilkolinesteraz (AChE) enzimi, sinaptik boşlukta biriken asetilkolini hidrolize ederek kolinerjik sinyalin sonlanmasını sağlar. AChE'nin fizyolojik seviyelerde çalışması, sinaptik iletimin zamansal doğruluğunu ve nöronal iletişimin bütünlüğünü korumak için kritik öneme sahiptir (Karimani vd., 2021). Ancak, pek çok çalışmada rapor edildiği üzere, Al maruziyeti AChE aktivitesini belirgin şekilde baskılamakta, bunun sonucunda asetilkolin sinaptik boşlukta anormal düzeyde birikmekte ve nörotransmisyonun bozulmasına neden olmaktadır (Al-Hazmi vd., 2021; Kinawy, 2019).

Mevcut çalışmamızda,  $AlCl_3$  uygulanan gruplarda AChE aktivitesinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bu enzimatik baskılanmanın, deneysel hayvanların bilişsel performansındaki düşüşle paralel seyretmesi, kolinerjik işlevlerde bozulmaya işaret etmektedir (Kinawy, 2019). Bu bulgular, AChE aktivitesindeki azalmanın sinaptik iletimde düzensizliklere ve buna bağlı bilişsel aksamalara katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. LUT tedavisi ise bu değişimlerin kısmen iyileştiğini göstermiştir.  $AlCl_3$  ile muamele edilen ve eşzamanlı olarak LUT verilen gruplarda AChE aktivitesinde belirgin bir artış gözlenmiş olup, bu durum kolinerjik sistem işlevlerinin yeniden desteklenmiş olabileceğini düşündürmektedir.

BDNF, MSS'de en yaygın bulunan nörotrofinlerden biridir ve nöronal gelişim, hayatta kalma, farklılaşma, sinaptik plastisite ile sinaptik iletimin düzenlenmesi gibi birçok temel nörofizyolojik süreçte kritik rol oynar. Özellikle öğrenme ve hafıza mekanizmalarının merkezi olan hipokampus ve serebral korteks bölgelerinde yüksek düzeyde eksprese edilir. BDNF, sinaptik bağlantıların güçlendirilmesi ve yeni sinapsların oluşumu için elzem olup, bilişsel işlevlerin sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesinde temel bir belirleyici olarak kabul edilmektedir (Toader vd., 2025).

Nörodejeneratif hastalıklarda sıklıkla gözlenen oksidatif stres ve kronik inflamasyon, BDNF ekspresyonunun azalmasına neden olarak nöronal hayatta kalmayı tehdit eder, sinaptik fonksiyonları zayıflatır ve bilişsel gerilemeye yol açar (Wan vd., 2024). Literatürdeki çok sayıda çalışma, Al maruziyetinin MSS üzerinde toksik etkiler yarattığını ve bu etkilerin önemli ölçüde BDNF düzeylerindeki azalma ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Abbas vd., 2022; Liu vd., 2022). Bu durum, nöronal plastisiteyi ve sinaptik bütünlüğü zedeleyerek öğrenme ve hafıza süreçlerini olumsuz yönde etkileyip nörodejeneratif süreçlerin başlamasına katkıda bulunabilir.

Bu çalışmada, protein düzeyi açısından değerlendirildiğinde,  $AlCl_3$  grubunda BDNF seviyeleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azalmış, buna karşın  $AlCl_3$ +LUT25 ve  $AlCl_3$ +LUT50 tedavi gruplarında önemli derecede artış göstermiştir. Ancak, mRNA düzeyinde yapılan analizlerde  $AlCl_3$  grubunda anlamlı bir azalma gözlenmesine rağmen, tedavi

gruplarında belirgin bir artış saptanmamıştır. Bu durum, mRNA ve protein düzeyleri arasında her zaman tam bir paralellik bulunmadığını ve LUT'un BDNF ekspresyonunu daha çok translasyon sonrası veya protein stabilitesi düzeyinde etkileyebileceğini düşündürmektedir (Chang vd., 2021; Shrestha vd., 2019). Protein düzeyi üzerinden değerlendirildiğinde, BDNF seviyelerinin toksik grupta anlamlı biçimde azalması, bilişsel işlevlerin bozulmasına ve nörodejeneratif mekanizmaların tetiklenmesine yol açabilecek önemli bir biyokimyasal gösterge olarak değerlendirilmektedir. Öte yandan, LUT uygulaması, BDNF ifadesini protein düzeyinde belirgin şekilde artırarak nöronal fonksiyonların korunmasına ve sinaptik yapının iyileştirilmesine katkı sağlamış olabilir. Artan BDNF düzeylerinin, LUT ile tedavi edilen gruplarda gözlenen bilişsel ve davranışsal iyileşmelerin temelinde yatan mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir.

c-Fos, “immediate early gene” (IEG) ailesine ait başlıca transkripsiyon faktörlerinden biri olup, nöronal aktiviteye yanıt olarak hızla ve geçici olarak eksprese edilir. Hücre içi sinyal yollarının aktivasyonu ile indüklenen c-Fos, sinaptik plastisite, nöronal adaptasyon, uzun dönemli potansiyasyon (LTP) ve öğrenmeye bağlı genetik düzenlemelerde önemli rol oynar (Chen vd., 2023; Habotta vd., 2022). Bu nedenle, beyin dokusunda c-Fos düzeylerindeki azalma, nöronal aktivitenin ve sinaptik yanıtların zayıfladığını, buna bağlı olarak öğrenme, bellek konsolidasyonu ve davranışsal adaptasyon süreçlerinin aksadığını göstermektedir. Erken dönem deneysel çalışmalar, Al maruziyetinin fare beyinlerinde c-Fos gen ve protein ekspresyonunu azalttığını ve bunun öğrenme, hafıza ile duygusal düzenleme gibi bilişsel süreçlerde bozulmalarla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Liu vd., 2022; Lotfizadeh vd., 2024).

Mevcut çalışmamızda  $AlCl_3$  maruziyeti sonrası beyin dokusunda c-Fos protein düzeylerinin anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir. Bu azalma,  $AlCl_3$ 'ün nöronal uyarılabilirlik ve aktiviteyle ilişkili süreçleri olumsuz yönde etkileyebileceğine işaret etmektedir (Lotfizadeh vd., 2024). Buna karşılık, LUT tedavisi uygulanan gruplarda c-Fos düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiş olup, bu durum LUT'un nöronal aktiviteyi destekleyici yönde etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir. LUT'a bağlı c-Fos artışının, sinaptik plastisite ve öğrenme ile ilişkili gen yanıtlarının modülasyonu ile bağlantılı olabileceği değerlendirilebilir. Bu bağlamda, c-Fos ekspresyonundaki iyileşmenin, LUT'un nöroprotektif etkileriyle uyumlu bir bulgu olduğu söylenebilir.

Apoptoz, organizmanın gelişimi, doku bütünlüğünün korunması ve hasarlı ya da gereksiz hücrelerin elimine edilmesi için oldukça önemli, programlanmış bir hücre ölümü mekanizmasıdır. Bu süreç, DNA hasarının geri döndürülemez boyutlara ulaştığı veya hücrenin

fizyolojik olarak ortadan kaldırılmasının gerektiği durumlarda devreye girer. Apoptozun fizyolojik düzeyde gerçekleşmesi doku homeostazı için gereklidir; ancak sürecin aşırı veya yetersiz şekilde işlemesi, ciddi patolojik sonuçlara yol açabilir. Özellikle sinir dokusunda artmış apoptoz, nöronal kayıpları hızlandırarak nörodejeneratif hastalıkların gelişimini kolaylaştırabilirken, yetersiz apoptoz ise kontrolsüz hücre çoğalmasına bağlı olarak tümör oluşumuna zemin hazırlayabilir (Lanni vd., 2012).

Mitokondriyal yolak aracılığıyla gerçekleşen apoptozun düzenlenmesinde *Bax*, *Bcl-2* ve *p53* gibi genler merkezi bir role sahiptir. *Bax*, pro-apoptotik bir proteindir ve mitokondriyal dış zarın geçirgenliğini artırarak sitokrom c salınımını tetikler, böylece kaspaz aktivasyonunu başlatarak hücre ölümünü indükler. *Bcl-2* ise mitokondri zar bütünlüğünü koruyan anti-apoptotik bir proteindir ve apoptotik sinyallerin ilerlemesini baskılar. Bu dengenin üst düzeyde regülasyonunda yer alan *p53*, DNA hasarı ve hücrel stres karşısında aktive olan önemli bir tümör baskılayıcı proteindir. *p53*, *Bax* transkripsiyonunu artırırken *Bcl-2* ekspresyonunu baskılayarak apoptotik sürecin başlamasını kolaylaştırır. Böylece hücre, geri dönüşü olmayan hasar durumlarında programlanmış hücre ölümüne yönlendirilir. Al'nin nörotoksik etkilerini inceleyen çeşitli çalışmalar,  $AlCl_3$  maruziyetinin nöronal hücrelerde *p53* ve *Bax* ekspresyonunu artırırken *Bcl-2* ekspresyonunu düşürdüğünü göstermektedir (Atia ve Alghriany, 2021; El-Shetry vd., 2021). Bu değişiklikler, mitokondriyal yolak üzerinden apoptozun aktif hale gelmesine ve sinir hücrelerinin ölümüne neden olarak nörodejeneratif süreçleri hızlandırmaktadır.

Bu çalışmada  $AlCl_3$  uygulaması sonrası beyin dokusunda *p53* ve *Bax* ekspresyon düzeylerinin anlamlı ölçüde arttığı, buna karşın *Bcl-2* ekspresyonunda belirgin bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu apoptotik gen profilinin,  $AlCl_3$ 'ün nöronal apoptozu tetikleyebileceğine işaret ettiği değerlendirilmektedir. Söz konusu apoptozun,  $AlCl_3$ 'ün neden olduğu oksidatif stres, DNA hasarı ve inflamatuvar yanıtlarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Lu vd., 2020). LUT ile uygulanan eşzamanlı tedavi, apoptotik dengeyi düzenleyici bir etki göstermiştir. LUT uygulaması sonucunda *p53* ve *Bax* ekspresyonunda azalma, *Bcl-2* ekspresyonunda ise anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu durum, LUT tedavisinin pro-apoptotik sinyalleri baskılayarak anti-apoptotik savunma mekanizmalarını güçlendirdiğini ve nöronal hücrelerin hayatta kalımını desteklediğini göstermektedir. LUT'un bu etkisi, büyük olasılıkla oksidatif stresin azaltılması, mitokondriyal disfonksiyonun önlenmesi ve hücre içi sinyal yollarının modülasyonu ile ilişkilidir (Jayawickreme vd., 2024).

Al maruziyeti, merkezi sinir sisteminde (MSS) önemli bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa B'nin (*Nfkb1*) gen ekspresyonunda anlamlı bir artışa neden olmuştur.

*Nfkb1*, özellikle inflamatuvar yanıtların düzenlenmesi ve hücrel stres koşullarında apoptotik süreçlerin kontrolü gibi çift yönlü işlevlere sahip merkezi bir düzenleyici olarak görev yapar. Bu yolak, IL-1 $\beta$  ve TNF gibi proinflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonunu artırarak inflamatuvar süreçlerin başlamasını ve devamlılığını sağlar (Renke vd., 2023). Böylece enfeksiyonlara veya doku hasarına karşı savunma mekanizmalarının hızla devreye girmesi mümkün olur. Ancak *Nfkb1*'in kronik veya aşırı ekspresyonu, inflamatuvar yanıtın sürekli hale gelmesine neden olarak nöronal hücrelerde hasar ve dejenerasyonu tetikleyebilir (Singh vd., 2022). Literatürde çok sayıda çalışma, Al maruziyetinin *Nfkb1* ekspresyonunda anlamlı artışa yol açtığını ve proinflamatuvar sitokinlerin ifadesini artırarak nöroinflamasyonu tetiklediğini ortaya koymuştur (Dooka vd., 2025; Gravandi vd., 2024).

Bu tez çalışmasında, AlCl<sub>3</sub> uygulamasının *Nfkb1* ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir artışa yol açtığı saptanmış olup, bu artışın inflamatuvar yanıtın aktive olduğuna işaret ettiği düşünülmektedir. AlCl<sub>3</sub> maruziyetine bağlı gelişen oksidatif stres, DNA hasarı ve hücrel disfonksiyonun, *Nfkb1* ekspresyonunu tetikleyen başlıca etkenler arasında yer aldığı öngörülmektedir. Buna karşılık, LUT tedavisinin *Nfkb1* ekspresyonunu anlamlı ölçüde azalttığı ve bu yolla inflamatuvar süreci baskıladığı tespit edilmiştir.

Mikroglialar, MSS'nin yerleşik immün hücreleri olarak, homeostatik dengeyi korumanın yanı sıra patojenlere, hücrel strese veya doku hasarına yanıt olarak hızla aktive olabilen hücrelerdir. Aktive mikrogliaların, proinflamatuvar sitokinler (örneğin IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) ve çeşitli nörotoksik mediyatörler salgıladığı bilinmektedir. Bu mediyatörlerin, komşu nöronlarda inflamatuvar yanıtları tetikleyerek nöronal bütünlüğü bozabileceği, sinaptik işlevleri zayıflatabileceği ve hatta hücrel ölümü hızlandırabileceği öne sürülmektedir. Bu süreçlerin, özellikle IL-1 $\beta$  gibi kilit proinflamatuvar sitokinlerin aracılığıyla, nöroinflamasyonun sürdürülmesinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (Cojocaru vd., 2021).

Rajendran ve çalışma arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, Al maruziyetinin beyin dokusunda IL-1 $\beta$  ekspresyonunu artırdığı rapor edilmiştir (Rajendran vd., 2023). Bu tez çalışmasında da benzer şekilde, AlCl<sub>3</sub> uygulamasının IL-1 $\beta$  düzeylerinde anlamlı bir artışa neden olduğu gözlenmiş ve bu durumun, mikroglial aktivasyonun artmasıyla ilişkili olabileceği değerlendirilmiştir. IL-1 $\beta$ 'deki bu artışın, AlCl<sub>3</sub> maruziyetine bağlı gelişen nöronal stresin bir yansıması olarak nöroinflamatuvar sürecin şiddetlendiğine işaret edebileceği düşünülmektedir.

Buna karşılık, LUT ile tedavi edilen gruplarda IL-1 $\beta$  düzeylerinin belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Bu azalma, LUT'un inflamatuvar yanıtlar üzerindeki baskılayıcı etkisine işaret edebilecek nitelikte olup, özellikle mikroglial yanıtların modülasyonunda etkili

olabileceğini düşündürmektedir (Zhou vd., 2021). Böylece, LUT'un IL-1 $\beta$  üretimini sınırlayarak inflamatuvar mikroçevreyi hafiflettiği ve nöronal hasarın azaltılmasına katkı sağlayabileceği yönünde bir değerlendirme yapılabilir.

JNK (c-Jun N-terminal kinaz) sinyal yolları, MSS'de hem gelişimsel süreçlerde hem de olgun nöronların fonksiyonlarının sürdürülmesinde kritik görevler üstlenir. Beyinde JNK, nörogenez, nöron göçü, akson-dendrit morfolojisinin düzenlenmesi, sinaptik plastisite, öğrenme ve hafıza süreçleri gibi fizyolojik olaylarda yer alırken, aynı zamanda hücre içi stres yanıtlarında da önemli bir araçtır. JNK aktivasyonu genellikle oksidatif stres, proinflamatuvar uyarılar ve DNA hasarı gibi zararlı sinyallerle tetiklenir ve bu durumlarda mitokondriyal disfonksiyon, pro-apoptotik gen ekspresyonu ve sitokin salınımı gibi olayları başlatarak nöronal hasarı artırabilir (de los Reyes Corrales vd., 2021).

Bu tez çalışmasında, AlCl<sub>3</sub> maruziyetinin beyinde Jnk ekspresyonunu anlamlı şekilde artırdığı saptanmış; bu artışın, nöronal stres yanıtının devreye girdiğine ve Jnk aracılığıyla apoptoz ile inflamasyonun tetiklenmiş olabileceğine işaret ettiği düşünülmüştür (Zhang vd., 2020). Öte yandan, LUT ile yapılan tedavi bu artışı anlamlı şekilde baskılamış; böylece Jnk'nin aşırı ekspresyonunun önüne geçilerek hücrel stresin azaltıldığı değerlendirilmiştir. LUT'un antioksidan ve anti-inflamatuvar etkileri sayesinde, *Jnk* ekspresyonunu azaltarak hücrel hasarı önlediği ve nöronal hayatta kalmayı desteklediği sonucuna varılmıştır (Ahmad vd., 2021). Ayrıca, LUT'un *Jnk* ekspresyonunu düzenlemesinin, sinaptik fonksiyonların korunmasına ve nörodejeneratif süreçlerin yavaşlatılmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

$\alpha$ -sinüklein ( $\alpha$ -syn), başta Parkinson hastalığı olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalıkta toksik bir protein agregatı olarak tanımlanmakla birlikte, son yıllarda nöroinflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde de merkezi bir rol oynadığı ortaya konmuştur (Lyra vd., 2023). Fizyolojik koşullarda sinaptik vezikül dinamiğinde görev alan bu küçük presinaptik protein, aşırı ekspresyon veya yapısal bozulmaya uğradığında oligomerik ve fibriller agregatlar oluşturarak patolojik bir hale gelir (Calabresi vd., 2023). Bu toksik türler özellikle mikroglia hücrelerini aktive ederek IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımını tetikler. Süregelen mikroglial aktivasyon, inflamatuvar yanıtın kronikleşmesine, oksidatif stresin artmasına ve nöronal dejenerasyonun hızlanmasına neden olur (Bido vd., 2021). Yapılan çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar, Al maruziyetinin beyinde  $\alpha$ -syn protein düzeylerinde artışa neden olabileceğini ve bu proteinin yapısal bütünlüğünü bozarak toksik agregat oluşumunu teşvik edebileceğini ortaya koymuştur (An ve Xu, 2024; Cheng vd., 2021).

Bu tez çalışmasında, subkronik  $AlCl_3$  maruziyeti sonrasında sıçan beyin dokusunda  $\alpha$ -syn protein düzeylerinde anlamlı bir artış belirlenmiştir. Bu artışın,  $AlCl_3$  maruziyetine bağlı gelişen oksidatif stres, redoks dengesizliği ve inflamatuvar reaksiyonlarla bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (Saberzadeh vd., 2016). Çalışmamızda, LUT tedavisinin  $\alpha$ -syn protein düzeylerinde anlamlı bir düşüş sağladığı gözlemlenmiştir. Bu bulgu, LUT'un  $\alpha$ -syn birikimini sınırlandırarak inflamasyonla ilişkili zararlı etkileri hafifletebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca LUT'un antioksidan kapasitesi sayesinde,  $\alpha$ -syn'nin oksidatif modifikasyonunun ve toksik agregat oluşumunun önlenmesine katkıda bulunarak, nöronal stresin ve inflamatuvar süreçlerin azaltılmasına destek olabileceği değerlendirilmektedir (Ali vd., 2025).

Çalışmamızda ayrıca, gen düzeyinde değerlendirme sağlamak amacıyla  $\alpha$ -syn'in kodlayıcı geni olan *Snca*'nın ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Hedeflediğimiz *Snca* mRNA düzeyleri ile  $\alpha$ -syn protein ifadeleri arasındaki farklı profil, literatürde yaygın olarak rapor edilen bir fenomendir. Örneğin, sporadik PD vakalarında *SNCA* mRNA düzeyleri artmazken  $\alpha$ -syn protein birikiminin gözlemlendiği bildirilmiştir (Su vd., 2017). Bu bağlamda, mRNA düzeyinde anlamlı değişim gözlenmemesi, protein düzeyindeki değişimin biyolojik önemsiz olduğunu göstermemektedir. Çünkü translasyon, protein stabilitesi ve yıkımı gibi post-transkripsiyonel mekanizmalar sonucu protein düzeyi değişebilmektedir (Wu ve Bazzini, 2023). Bu durum, çalışmamızda gözlenen sonuçların geçerliliğini desteklemiştir.

Amyloid beta ( $A\beta$ ) proteini, Alzheimer hastalığı başta olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalıkta sinir hücreleri çevresinde birikerek toksik plakların oluşumuna yol açan önemli bir moleküldür (Sengupta ve Kayed, 2022). Son yıllarda yapılan çalışmalar, Al maruziyeti ile  $A\beta$  metabolizması arasındaki bağlantıya işaret etmektedir. In vivo ve in vitro araştırmalar, Al maruziyetinin *App* ekspresyonunu ve  $A\beta$  üretiminde görev alan sekretaz enzimlerinin aktivitesini modüle ederek  $A\beta$  birikimini artırabileceğini göstermektedir (Dey ve Singh, 2022).

Bu çalışmada, subkronik  $AlCl_3$  uygulamasının beyin dokusunda *App* mRNA ekspresyon düzeyinde ve  $A\beta$  protein seviyesinde anlamlı bir azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. *App* (Amyloid Precursor Protein),  $A\beta$  peptidinin öncül proteini olup,  $\beta$ - ve  $\gamma$ -sekretaz aracılı proteolitik kesimler sonucunda  $A\beta$  oluşumunu sağlar (Hur, 2022).  $A\beta$ 'nin sinir sistemindeki biyolojik işlevleri ve farklı izoformlarının (özellikle  $A\beta_{1-40}$  ve  $A\beta_{1-42}$ ) nörotoksite üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, bu çalışmada gözlenen *App* ekspresyonu ve  $A\beta$  düzeylerindeki değişimlerin  $AlCl_3$  maruziyetiyle ilişkili nörodinamik süreçleri yansıttığı düşünülmektedir (Sehar vd., 2022). Ayrıca,  $A\beta$ 'nin üretim, birikim ve temizlenme süreçlerinde zaman ve beyin bölgesine bağlı değişkenlikler ölçülen düzeylerin artış ya da azalış yönünü etkileyebilir

(Hampel vd., 2021). Literatürdeki bu bulgular, bu çalışmada  $AlCl_3$  maruziyeti sonrası  $A\beta$  protein seviyelerinde gözlenen azalmanın,  $A\beta$  metabolizması ve bağışıklık yanıtındaki karmaşık değişikliklerle ilişkili nörodejeneratif süreçlere katkıda bulunabileceğini desteklemektedir.  $A\beta$  protein seviyelerindeki düşüş,  $AlCl_3$  maruziyetinin sinir dokusunda başlattığı nörodejeneratif sürecin bir yansıması olarak değerlendirilebilir. LUT tedavisi,  $A\beta$  protein seviyelerindeki azalmayı tam olarak geri döndürmemekle birlikte kısmen stabilize etmiş, bu bulgu flavonoidlerin antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri aracılığıyla protein metabolizmasını düzenleyici ve nöroprotektif etkilere sahip olabileceğini ortaya koymaktadır (Ahmad vd., 2021).



## SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, alüminyum klorür ( $AlCl_3$ ) maruziyetinin sıçan beyin dokusu üzerindeki nörotoksik etkileri kapsamlı bir şekilde ortaya koyulmuş; luteolin (LUT) uygulamasının bu toksik etkiler üzerindeki koruyucu rolü hem davranışsal hem de moleküler düzeyde değerlendirilmiştir. Bulgular,  $AlCl_3$  maruziyetinin beyinde belirgin bir nörotoksisite oluşturduğunu; bu toksisite sürecinin oksidatif stres, inflamasyon, apoptoz, kolinerjik disfonksiyon, nörotrofik faktör azalması ve protein agregasyonu gibi çoklu mekanizmalarla ilişkili olduğunu göstermiştir.

Hücrese düzeydeki biyokimyasal bulgular incelendiğinde,  $AlCl_3$  maruziyeti sonucunda beyinde belirgin düzeyde oksidatif stres geliştiği görülmüştür. Bu durum, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA seviyelerindeki artış ve bununla birlikte antioksidan savunma sistemine ait SOD, KAT, GPx aktiviteleri ve GSH seviyelerindeki düşüşle desteklenmiştir. Ek olarak, gen ekspresyon analizleri birlikte ele alındığında hücrese antioksidan savunmayı düzenleyen sinyal yollarından *Nrf2* ve onun hedef geni *Ho-1*'in ekspresyonlarının baskılanması,  $AlCl_3$ 'nin endojen antioksidan sistemi zayıflattığını düşündürmüştür. Ayrıca, detoksifikasyon enzimlerinden biri olan *Cyp2e1*'in artmış gen ekspresyonu, reaktif metabolit birikimini artırarak oksidatif hasarı derinleştirmiştir. LUT tedavisi ise oksidatif stres parametreleri normalleştirilmiş; MDA düzeyleri düşerken SOD, KAT, GPx aktiviteleri artmış, GSH seviyeleri yeniden yükselmiştir. *Nrf2* ve *Ho-1* gen ekspresyonlarının artışı ile antioksidan sistem desteklenmiş; *Cyp2e1* düzeylerinin baskılanması yoluyla toksik metabolit üretimi azaltılmıştır.

Kolinerjik sistem düzeyinde yapılan değerlendirmelerde,  $AlCl_3$  uygulamasının asetilkolin yıkımından sorumlu AChE enziminin aktivitesini artırdığı saptanmış; bu durum, asetilkolin düzeylerinin azalmasına ve buna bağlı olarak bilişsel fonksiyonların zayıflamasına yol açmıştır. Bu bozulma, davranışsal düzeyde de kendini göstermiştir. Davranış testlerinde (OFT ve NORT),  $AlCl_3$ 'ye maruz kalan hayvanlarda anksiyete benzeri davranışların arttığı ve bellek performansının azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca, sinaptik plastisite ve nöronal aktivitenin belirteçleri olan BDNF ve c-Fos düzeylerinde azalma gözlenmiş, bu da nöronal iletişimin ve beyin işlevlerinin baskılandığına işaret etmiştir. LUT tedavisi, yukarıda belirtilen olumsuz etkileri önemli ölçüde tersine çevirmiştir. Kolinerjik sistem üzerinde de iyileşme sağlanmış, AChE aktivitesi normalize olmuş ve bu da bilişsel işlevlerde toparlanmayı beraberinde getirmiştir. OFT ve NOR testlerinde anksiyete düzeyleri düşmüş ve bellek performansı artmıştır. Ayrıca, BDNF ve c-Fos düzeylerinin yükselmesi sinaptik plastisitenin ve nöronal aktivitenin LUT tedavisi ile güçlendiğini düşündürmüştür.

Apoptozla ilişkili gen ekspresyon analizleri,  $AlCl_3$ 'nin programlanmış hücre ölümünü tetiklediğini ortaya koymuştur. Hücre içi hasarın göstergesi olan *p53* ve proapoptotik *Bax* genlerinin ekspresyonu artarken, antiapoptotik *Bcl-2* düzeylerinin anlamlı şekilde azalması, hücre ölüm mekanizmalarının aktif hale geldiğini göstermektedir. Apoptoz üzerindeki etkiler açısından LUT, *p53* ve *Bax* gen düzeylerini azaltmış; buna karşın *Bcl-2* ekspresyonunu artırarak hücre ölümünü önleyici bir etki göstermiştir.

İnflamasyon düzeyinde,  $AlCl_3$  uygulaması *Nfkb1* ekspresyonunun artışına neden olmuş; bu artış, IL-1 $\beta$  düzeyindeki yükselme ile inflamatuvar yanıtın aktive edildiğini göstermiştir. Bu bulgular,  $AlCl_3$ 'nin proinflamatuvar sinyalleşmeyi uyararak nöroinflamasyon süreçlerini tetiklediğini desteklemektedir. Uzun vadede bu süreçlerin, nöronal hasarı ve bilişsel fonksiyonlardaki bozulmaları daha da artırabileceği düşünülmektedir. LUT tedavisi ile inflamasyon parametreleri olumlu yönde etkilenmiş, IL-1 $\beta$  ve NF- $\kappa$ B ekspresyonları azalırken, beyindeki inflamatuvar yük hafifletilmiştir.

Protein agregasyonu değerlendirmelerinde  $\alpha$ -syn düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı belirlenmiş olup, bu durum  $AlCl_3$  maruziyetinin nörodejeneratif süreci tetikleyebileceğine işaret etmektedir. A $\beta$  düzeylerinde ise yalnızca azalma eğilimi gözlenmiş, ancak bu değişim anlamlı bulunmamıştır. LUT tedavisi,  $\alpha$ -syn birikimini azaltırken A $\beta$  düzeyleri üzerinde belirgin bir etki göstermemiştir.

Elde edilen bulgular, LUT'un  $AlCl_3$  ile indüklenen nörotoksositeye karşı belirgin bir koruyuculuk sağladığını ve bu etkinin özellikle 50 mg/kg dozunda daha belirgin olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda, LUT'nin hem deneysel nörodejeneratif modellerde hem de gelecekteki klinik çalışmalarda tamamlayıcı tedavi ajanı olarak değerlendirilmesi önerilmektedir.

Gelecekte yapılacak çalışmaların, LUT'un insanlarda güvenlilik ve etkinliğini değerlendiren kapsamlı klinik çalışmalara odaklanması büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte, LUT'un hedeflediği moleküler mekanizmaların ayrıntılı biçimde incelenmesi; özellikle NF- $\kappa$ B, Nrf-2, *p53*, CYP2E1 ve BDNF gibi sinyal yolları üzerindeki etkilerinin detaylandırılması, tedaviye yönelik farmakodinamik anlayışın derinleştirilmesini sağlayabilir. Ayrıca, davranışsal değişikliklerin altında yatan nörobiyolojik süreçlerin ileri düzey görüntüleme ve elektrofizyolojik tekniklerle araştırılması, LUT'un sinaptik düzeydeki etkilerini daha net bir biçimde ortaya koyabilir. LUT gibi doğal flavonoidlerin nörodejeneratif hastalık modellerindeki etkinliğini değerlendiren translasyonel çalışmaların artırılması, bu bileşiklerin gelecekteki tedavi protokollerine entegrasyonu açısından önemli katkılar sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Abbas, F., Eladl, M. A., El-Sherbiny, M., Abozied, N., Nabil, A., Mahmoud, S. M., ... Ibrahim, D. 2022. "Celastrol and thymoquinone alleviate aluminum chloride-induced neurotoxicity: Behavioral psychomotor performance, neurotransmitter level, oxidative-inflammatory markers, and BDNF expression in rat brain". *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 151, 113072.
- Abdel Ghfar, S. S., Ali, M. E., Momenah, M. A., Al-Saeed, F. A., Al-Doaiss, A. A., Mostafa, Y. S., ... Abdelrahman, M. 2022. "Effect of *Allium sativum* and *Nigella sativa* on alleviating aluminum toxicity state in the albino rats". *Frontiers in Veterinary Science*, 9.
- Abdel-Hakeem, M. A., Mohamed, N. G., Elsaadani, M., Abdel-Ghany, S., Afifi, A., Hisham, S., ... Sabit, H. 2025. "The role of natural products in modulating metal nanoparticle toxicity: A review of mechanisms and evidence". *Food and Chemical Toxicology*, 205, 115662.
- Abdelhameed, N. G., Ahmed, Y. H., Yasin, N. A. E., Mahmoud, M. Y., El-sakhawy, M. A. 2023. "Effects of Aluminum Oxide Nanoparticles in the Cerebrum, Hippocampus, and Cerebellum of Male Wistar Rats and Potential Ameliorative Role of Melatonin". *ACS Chemical Neuroscience*, 14(3), 359-369.
- Adetuyi, A. R., Salawu, S. O., Akinmoladun, A. C., Akindahunsi, A. A. 2025. "Protective effect of *Spondias mombin* leaf extracts against aluminum chloride-induced brain oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats". *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(1), 49.
- Aebi, H. 1984. "Catalase in vitro.". *Methods in enzymology*, 105, 121-126.
- Agrahari, R. K., Enomoto, T., Ito, H., Nakano, Y., Yanase, E., Watanabe, T., ... Kobayashi, Y. 2021. "Expression GWAS of PGIP1 Identifies STOP1-Dependent and STOP1-Independent Regulation of PGIP1 in Aluminum Stress Signaling in Arabidopsis". *Frontiers in Plant Science*, 12.
- Aguilar, F., Autrup, H., Barlow, S. 2008. "Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC)". <https://www.researchgate.net/publication/237494786>
- Ahmad, S., Jo, M. H., Ikram, M., Khan, A., Kim, M. O. 2021. "Deciphering the Potential Neuroprotective Effects of Luteolin against A $\beta$ 1–42-Induced Alzheimer's Disease". *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9583.
- Ahmed, S., Nasry, M., Mohammed, W. 2022. "Carvedilol protects against Cognitive Dysfunction Through Inhibition of Amyloid Beta (1-42) and Inflammation in Aluminum Chloride Induced Alzheimer's Disease compared to Donepezil as a Reference Drug in Wistar Rats". *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 6(3), 69-85.
- Ahmed, T. (Ed.). 2021. "Biochemical Mechanisms of Aluminium Induced Neurological Disorders". Bentham Science Publishers, 1-32.
- AI-Ashmawy, M. A. M. 2011. "Prevalence and Public Health Significance of Aluminum Residues in Milk and Some Dairy Products". *Journal of Food Science*, 76(3).
- Akinrinade, I. D., Memudu, A. E., Ogundele, O. M. 2015. "Fluoride and aluminium disturb neuronal morphology, transport functions, cholinesterase, lysosomal and cell cycle activities". *Pathophysiology*, 22(2), 105-115.
- Alasfar, R. H., Isaifan, R. J. 2021. "Aluminum environmental pollution: the silent killer". *Environmental Science and Pollution Research*, 28(33), 44587-44597.

- Alghriany, A. A. I., Omar, H. E. M., Mahmoud, A. M., Atia, M. M. 2022. "Assessment of the Toxicity of Aluminum Oxide and Its Nanoparticles in the Bone Marrow and Liver of Male Mice: Ameliorative Efficacy of Curcumin Nanoparticles". *ACS Omega*, 7(16), 13841-13852.
- Al-Hazmi, M. A., Rawi, S. M., Hamza, R. Z. 2021. "Biochemical, histological, and neuro-physiological effects of long-term aluminum chloride exposure in rats". *Metabolic Brain Disease*, 36(3), 429-436.
- Ali, S. M., Hassan, M. N., Zaidi, N., Ashraf, M. U., Akbar, M., Nazir, A., Khan, R. 2025. "An Insight into Inhibitory Role of Luteolin Against A-Synuclein Aggregation: A Multi Model Approach".
- Alqahtani, T., Deore, S. L., Kide, A. A., Shende, B. A., Sharma, R., Dadarao Chakole, R., ... Ghosh, A. 2023. "Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease, and Parkinson's disease, Huntington's disease and Amyotrophic Lateral Sclerosis -An updated review". *Mitochondrion*. Elsevier, 71: 83-92.
- An, D., Xu, Y. 2024. "Environmental risk factors provoke new thinking for prevention and treatment of dementia with Lewy bodies". *Heliyon*. Elsevier, 10.9.
- Andreeva, D., Murashova, L., Burzak, N., Dyachuk, V. 2022. "Satellite Glial Cells: Morphology, functional heterogeneity, and role in pain". *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 16.
- Andronie-Cioara, F. L., Ardelean, A. I., Nistor-Cseppento, C. D., Jurcau, A., Jurcau, M. C., Pascalau, N., Marcu, F. 2023. "Molecular Mechanisms of Neuroinflammation in Aging and Alzheimer's Disease Progression". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1869.
- Angelova, P. R., Esteras, N., Abramov, A. Y. 2021. "Mitochondria and lipid peroxidation in the mechanism of neurodegeneration: Finding ways for prevention". *Medicinal Research Reviews*. John Wiley and Sons, 41(2), 770-784.
- Anwar, M. M. 2022. "Oxidative stress-A direct bridge to central nervous system homeostatic dysfunction and Alzheimer's disease". *Cell Biochemistry and Function*. John Wiley and Sons, 40(1), 17-27.
- Aroniadou-Anderjaska, V., Figueiredo, T. H., de Araujo Furtado, M., Pidoplichko, V. I., Braga, M. F. M. 2023. "Mechanisms of Organophosphate Toxicity and the Role of Acetylcholinesterase Inhibition". *Toxics*, 11(10), 866.
- Atia, M. M., Alghriany, A. A. I. 2021. "Adipose-derived mesenchymal stem cells rescue rat hippocampal cells from aluminum oxide nanoparticle-induced apoptosis via regulation of P53, A $\beta$ , SOX2, OCT4, and CYP2E1". *Toxicology Reports*, 8, 1156-1168.
- Bai, H., Yang, B., Yu, W., Xiao, Y., Yu, D., Zhang, Q. 2018. "Cathepsin B links oxidative stress to the activation of NLRP3 inflammasome". *Experimental Cell Research*, 362(1), 180-187.
- Barber, C. N., Raben, D. M. 2019. "Lipid Metabolism Crosstalk in the Brain: Glia and Neurons". *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13.
- Bayazid, A. B., Lim, B. O. 2022. "Quercetin Is an Active Agent in Berries against Neurodegenerative Diseases Progression through Modulation of Nrf2/HO1". *Nutrients*, 14(23), 5132.
- Bazhanova, E. D., Kozlov, A. A. 2024. "Role of Apoptosis-Related Proteins P53 and Bcl-2 in the Pathogenesis of Nervous System Diseases". *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 60(4), 1475-1489.
- Bekdash, R. A. 2021. "The Cholinergic System, the Adrenergic System and the Neuropathology of Alzheimer's Disease". *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1273.
- Ben-Azu, B., Adebayo, O. G., Wopara, I., Aduema, W., Onyeleonu, I., Umoren, E. B., ... Onuoha, O. G. 2022. "Lead acetate induces hippocampal pyramidal neuron degeneration in mice via up-regulation of executioner caspase-3, oxido-inflammatory stress expression and decreased

- BDNF and cholinergic activity: Reversal effects of Gingko biloba supplement". *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 71, 126919.
- Bhattacharjee, S., Zhao, Y., Hill, J. M., Culicchia, F., Kruck, T. P. A., Percy, M. E., ... Lukiw, W. J. 2013. "Selective accumulation of aluminum in cerebral arteries in Alzheimer's disease (AD)". *Journal of Inorganic Biochemistry*, 126, 35-37.
- Bido, S., Muggeo, S., Massimino, L., Marzi, M. J., Giannelli, S. G., Melacini, E., ... Broccoli, V. 2021. "Microglia-specific overexpression of  $\alpha$ -synuclein leads to severe dopaminergic neurodegeneration by phagocytic exhaustion and oxidative toxicity". *Nature Communications*, 12(1).
- Bieger, A., Rocha, A., Bellaver, B., Machado, L., Da Ros, L., Borelli, W. V., ... Zimmer, E. R. 2023. "Neuroinflammation Biomarkers in the AT(N) Framework Across the Alzheimer's Disease Continuum". *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 10(3), 401-417.
- Blatt, G. J., Oblak, A. L., Schmahmann, J. D. 2013. "Cerebellar Connections with Limbic Circuits: Anatomy and Functional Implications". *Çinde Handbook of the Cerebellum and Cerebellar Disorders* (ss. 479-496). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Bobuş Alkaya, G., Demirci, Ç., Şevik, H. 2022. "Aluminum in Food And Potential Role on Alzheimer's Disease Of Aluminum". *Turkish Journal Of Engineering*, 6(2), 118-127.
- Bondy, S. C. 2010. "The neurotoxicity of environmental aluminum is still an issue". *NeuroToxicology*, 31(5), 575-581.
- Bonfiglio, R., Scimeca, M., Mauriello, A. 2023. "The impact of aluminum exposure on human health". *Archives of Toxicology*, 97(11), 2997-2998.
- Boopathi, S., Mendonca, E., Gandhi, A., Rady, A., Darwish, N. M., Arokiyaraj, S., ... Arockiaraj, J. 2024. "Exploring the Combined Effect of Exercise and Apigenin on Aluminium-Induced Neurotoxicity in Zebrafish". *Molecular Neurobiology*, 61(8), 5320-5336.
- Brás, I. C., Outeiro, T. F. 2021. "Alpha-Synuclein: Mechanisms of Release and Pathology Progression in Synucleinopathies". *Cells*, 10(2), 375.
- Brosseron, F., Maass, A., Kleineidam, L., Ravichandran, K. A., González, P. G., McManus, R. M., ... Heneka, M. T. 2022. "Soluble TAM receptors sAXL and sTyro3 predict structural and functional protection in Alzheimer's disease". *Neuron*, 110(6), 1009-1022.e4.
- Bryliński, Ł., Kostelecka, K., Woliński, F., Duda, P., Góra, J., Granat, M., ... Baj, J. 2023. "Aluminium in the Human Brain: Routes of Penetration, Toxicity, and Resulting Complications". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7228.
- Burgos Castillo, M. J., Cruz Palacios, M. J., Iorgatchof Xavier, K., Calafatti Carandina, S. A., Arbeláez Quintero, I., do Prado Assunção, L. 2024. "Evaluation of Aluminum and Magnesium Absorption Following the Oral Administration of an Antacid Suspension Containing Magaldrate in Healthy Women Under Fed Conditions". *Advances in Therapy*, 41(11), 4089-4097.
- Calabresi, P., Mechelli, A., Natale, G., Volpicelli-Daley, L., Di Lazzaro, G., Ghiglieri, V. 2023. "Alpha-synuclein in Parkinson's disease and other synucleinopathies: from overt neurodegeneration back to early synaptic dysfunction". *Cell Death and Disease*. Springer Nature, 14(3), 176.
- Calis, Z., Mogulkoc, R., Baltaci, A. K. 2020. "The Roles of Flavonols/Flavonoids in Neurodegeneration and Neuroinflammation". *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 20(15), 1475-1488.
- Campos, H. M., da Costa, M., da Silva Moreira, L. K., da Silva Neri, H. F., Branco da Silva, C. R., Pruccoli, L., ... Ghedini, P. C. 2022. "Protective effects of chrysin against the neurotoxicity induced by aluminium: In vitro and in vivo studies". *Toxicology*, 465, 153033.

- Candelise, N., Scaricamazza, S., Salvatori, I., Ferri, A., Valle, C., Manganelli, V., ... Misasi, R. 2021. "Protein Aggregation Landscape in Neurodegenerative Diseases: Clinical Relevance and Future Applications". *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 6016.
- Ceramella, J., De Maio, A. C., Basile, G., Facente, A., Scali, E., Andreu, I., ... Catalano, A. 2024. "Phytochemicals Involved in Mitigating Silent Toxicity Induced by Heavy Metals". *Foods*, 13(7), 978.
- Chang, S.-H., Yu, Y. H., He, A., Ou, C. Y., Shyu, B. C., Huang, A. C. W. 2021. "BDNF Protein and BDNF mRNA Expression of the Medial Prefrontal Cortex, Amygdala, and Hippocampus during Situational Reminder in the PTSD Animal Model". *Behavioural Neurology*, 2021, 1-13.
- Chen, C. Z., Neumann, B., Förster, S., Franklin, R. J. M. 2021. "Schwann cell remyelination of the central nervous system: why does it happen and what are the benefits?". *Open Biology*, 11(1).
- Chen, J. C., Baumert, B. O., Li, Y., Li, Y., Pan, S., Robinson, S., ... Chatzi, L. 2023. "Associations of per- and polyfluoroalkyl substances, polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, and polybrominated diphenyl ethers with oxidative stress markers: A systematic review and meta-analysis". *Environmental Research. Academic Press*, 239, 117308.
- Chen, J., Wang, F., Huang, N., Xiao, L., Mei, F. 2022. "Oligodendrocytes and myelin: Active players in neurodegenerative brains?". *Developmental Neurobiology*, 82(2), 160-174.
- Cheng, H., Yang, B., Ke, T., Li, S., Yang, X., Aschner, M., Chen, P. 2021. "Mechanisms of Metal-Induced Mitochondrial Dysfunction in Neurological Disorders". *Toxics*, 9(6), 142.
- Chuang, P.-H., Tsai, K.-F., Wang, I.-K., Huang, Y.-C., Huang, L.-M., Liu, S.-H., ... Yen, T.-H. 2022. "Blood Aluminum Levels in Patients with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis". *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(7), 3885.
- Cirovic, A., Cirovic, A., Orisakwe, O. E., Lima, R. R. 2023. "Local and Systemic Hypoxia as Inductors of Increased Aluminum and Iron Brain Accumulation Promoting the Onset of Alzheimer's Disease". *Biological Trace Element Research*, 201(11), 5134-5142.
- Ciurea, A. V., Mohan, A. G., Covache-Busuioc, R.-A., Costin, H.-P., Glavan, L.-A., Corlatescu, A.-D., Saceleanu, V. M. 2023. "Unraveling Molecular and Genetic Insights into Neurodegenerative Diseases: Advances in Understanding Alzheimer's, Parkinson's, and Huntington's Diseases and Amyotrophic Lateral Sclerosis". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10809.
- Cojocaru, A., Burada, E., Bălșeanu, A.-T., Deftu, A.-F., Cătălin, B., Popa-Wagner, A., Osiac, E. 2021. "Roles of Microglial Ion Channel in Neurodegenerative Diseases". *Journal of Clinical Medicine*, 10(6), 1239.
- Correia, T. G., Vieira, V. A. R. O., de Moraes Narcizo, A., Zampieri, R. A., Floeter-Winter, L. M., Moreira, R. G. 2021. "Endocrine disruption caused by the aquatic exposure to aluminum and manganese in *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae) females during the final ovarian maturation". *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 249, 109132.
- Cuadrado, A. 2022. "Brain-Protective Mechanisms of Transcription Factor NRF2: Toward a Common Strategy for Neurodegenerative Diseases". *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 62(1), 255-277.
- Dai, X.-Y., Lin, J., Zhu, S.-Y., Guo, J.-Y., Cui, J.-G., Li, J.-L. 2022. "Atrazine-induced oxidative damage via modulating xenobiotic-sensing nuclear receptors and cytochrome P450 systems in cerebrum and antagonism of lycopene". *Food and Chemical Toxicology*, 170, 113462.

- Daily, J. W., Kang, S., Park, S. 2021. "Protection against Alzheimer's disease by luteolin: Role of brain glucose regulation, anti-inflammatory activity, and the gut microbiota-liver-brain axis". *BioFactors*, 47(2), 218-231.
- de los Reyes Corrales, T., Losada-Pérez, M., Casas-Tintó, S. 2021. "JNK Pathway in CNS Pathologies". *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8), 3883.
- Deng, C., Gao, C., Tian, X., Chao, B., Wang, F., Zhang, Y., ... Liu, D. 2017. "Pharmacokinetics, tissue distribution and excretion of luteolin and its major metabolites in rats: Metabolites predominate in blood, tissues and are mainly excreted via bile". *Journal of Functional Foods*, 35, 332-340.
- Devi, S., Kumar, V., Singh, S. K., Dubey, A. K., Kim, J.-J. 2021. "Flavonoids: Potential Candidates for the Treatment of Neurodegenerative Disorders". *Biomedicines*, 9(2), 99.
- Dey, M., Singh, R. K. 2022a. "Neurotoxic effects of aluminium exposure as a potential risk factor for Alzheimer's disease". *Pharmacological Reports*, 74(3), 439-450.
- Dietary exposure to aluminium-containing food additives. 2013. EFSA Supporting Publications, 10(4).
- DiSabato, D. J., Quan, N., Godbout, J. P. 2016. "Neuroinflammation: the devil is in the details". *Journal of Neurochemistry*, 139(S2), 136-153.
- Doetsch, F., Hen, R. 2005. "Young and excitable: the function of new neurons in the adult mammalian brain". *Current Opinion in Neurobiology*, 15(1), 121-128.
- Dooka, B. D., Orish, C. N., Ezejiofor, A. N., Anyachor, C. P., Umeji, T. C., Nkpaa, K. W., ... Orisakwe, O. E. 2025. "Aluminium, lead and manganese mixture exacerbates oxidative stress, neuroinflammation and apoptosis via downregulation of Nrf-2/HO-1/BDNF signalling pathway in rats". *Biomarkers*, 1-10.
- Du, Y., Dodel, R., Hampel, H., Buerger, K., Lin, S., Eastwood, B., ... Paul, S. 2001. "Reduced levels of amyloid  $\beta$ -peptide antibody in Alzheimer disease". *Neurology*, 57(5), 801-805.
- Duckett, S. 1976. "Aluminum and Alzheimer Disease". *Archives of Neurology*, 33(10), 730-731.
- Ebhodaghe, C. I., Enogieru, A. B. 2024. "Aluminium chloride-induced cerebral toxicity in Wistar rats: anticholinesterase and antioxidant effects of ascorbic acid". *Journal of Phytomedicine and Therapeutics*, 23(2), 1548-1556.
- Efosa, J. O., Omage, K., Azeke, M. A. 2023. "Hibiscus sabdariffa calyx protect against oxidative stress and aluminium chloride-induced neurotoxicity in the brain of experimental rats". *Toxicology Reports*, 10, 469-480.
- El-Shetry, E. S., Mohamed, A. A.-R., Khater, S. I., Metwally, M. M. M., Nassan, M. A., Shalaby, S., ... M. Abdel-Ghany, H. 2021. "Synergistically enhanced apoptotic and oxidative DNA damaging pathways in the rat brain with lead and/or aluminum metals toxicity: Expression pattern of genes OGG1 and P53". *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 68, 126860.
- Ergashov, A. R. 2023. "The General Effect of Aluminum on The Body". *International Journal of Medical Sciences and Clinical Research*, 03(05), 90-95.
- Esvald, E.-E., Tuvikene, J., Moistus, A., Rannaste, K., Kõomägi, S., Timmusk, T. 2022. "Differential Regulation of the BDNF Gene in Cortical and Hippocampal Neurons". *The Journal of Neuroscience*, 42(49), 9110-9128.
- Exley, C. 2013. "Human exposure to aluminium". *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 15(10), 1807-1816.
- Exley, C., Clarkson, E. 2020. "Aluminium in human brain tissue from donors without neurodegenerative disease: A comparison with Alzheimer's disease, multiple sclerosis and autism". *Scientific Reports*, 10(1).

- Fernandes, R. M., Eiró, L. G., Chemelo, V. dos S., Alvarenga, M. O. P., Lima, R. R. 2021. "Aluminum toxicity and oxidative stress". *Içinde Toxicology* (ss. 127-135). Elsevier.
- Fernandes, R. M., Corrêa, M. G., Aragão, W. A. B., Nascimento, P. C., Cartágenes, S. C., Rodrigues, C. A., ... Lima, R. R. 2020. "Preclinical evidences of aluminum-induced neurotoxicity in hippocampus and pre-frontal cortex of rats exposed to low doses". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 206, 111139.
- Fernando, P. D. S. M., Ko, D. O., Piao, M. J., Kang, K. A., Herath, H. M. U. L., Hyun, J. W. 2024. "Protective effect of luteolin against oxidative stress-mediated cell injury via enhancing antioxidant systems". *Molecular Medicine Reports*, 30(1), 121.
- Ferrazza, M. H. S. H., Magro, D. D. D., Salamaia, E., Guareschi, T. E., Erzinger, L. F. F., Maia, T. P., ... Lima, D. D. De. 2023. "Sub-chronic administration of lead alters markers of oxidative stress, acetylcholinesterase and Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activities in rat brain". *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 83(2), 216-226.
- Fesharaki-Zadeh, A. 2022. "Oxidative Stress in Traumatic Brain Injury". *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 13000.
- Festa, L. K., Jordan-Sciutto, K. L., Grinspan, J. B. 2025. "Neuroinflammation: An Oligodendrocentric View". *Glia*, 73(6), 1113-1129.
- Frere, S. G., Chang-Ileto, B., Di Paolo, G. 2012. "Role of Phosphoinositides at the Neuronal Synapse" (ss. 131-175).
- Fu, Y. H., He, Y., Phan, K., Bhatia, S., Pickford, R., Wu, P., ... Kim, W. S. 2022. "Increased unsaturated lipids underlie lipid peroxidation in synucleinopathy brain". *Acta Neuropathologica Communications*, 10(1).
- Gao, C., Jiang, J., Tan, Y., Chen, S. 2023, Aralık 1. "Microglia in neurodegenerative diseases: mechanism and potential therapeutic targets". *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Springer Nature, 8(1), 359.
- Gao, W., Jing, S., He, C., Saberi, H., Sharma, H. S., Han, F., Chen, L. 2025. "Advancements in neurodegenerative diseases: Pathogenesis and novel neurorestorative interventions". *Journal of Neurorestoratology*, 13(2), 100176.
- García-Marín, V., García-López, P., Freire, M. 2007. "Cajal's contributions to glia research". *Trends in Neurosciences*, 30(9), 479-487.
- Gąssowska-Dobrowolska, M., Chlubek, M., Kolasa, A., Tomasiak, P., Korbecki, J., Skowrońska, K., ... Baranowska-Bosiacka, I. 2023. "Microglia and Astroglia—The Potential Role in Neuroinflammation Induced by Pre- and Neonatal Exposure to Lead (Pb)". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 9903.
- Geyikoglu, F., Türkez, H., Bakir, T. O., Cicek, M. 2013. "The genotoxic, hepatotoxic, nephrotoxic, haematotoxic and histopathological effects in rats after aluminium chronic intoxication". *Toxicology and Industrial Health*, 29(9), 780-791.
- Ghita, I., Handra, C.-M., Naghi, E., Gurzu, I.-L., Chirila, M. 2022. "Vulnerability to Stress and Depression Risk Related to Occupational Exposure to Aluminum". *Occupational Diseases and Environmental Medicine*, 10(04), 262-270.
- Gliwińska, A., Czubilińska-Łada, J., Więckiewicz, G., Świętochowska, E., Badeński, A., Dworak, M., Szczepańska, M. 2023. "The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Diagnosis and Treatment of Epilepsy, Depression, Schizophrenia, Anorexia Nervosa and Alzheimer's Disease as Highly Drug-Resistant Diseases: A Narrative Review". *Brain Sciences*, 13(2), 163.
- Gluncic, V. 2023. "Brain and Spinal Cord Function". *Içinde A. Abd-Elseyed (Ed.), Advanced Anesthesia Review* (ss. C2-C2.S1). Oxford University Press New York.

- Goyal, A., Solanki, K., Verma, A. 2024. "Luteolin: Nature's promising warrior against Alzheimer's and Parkinson's disease". *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 38(1).
- Gravandi, M. M., Hosseini, S. Z., Alavi, S. D., Noori, T., Sureda, A., Amirian, R., ... Shirooie, S. 2024. "The Protective Effects of Pistacia Atlantica Gum in a Rat Model of Aluminum Chloride-Induced Alzheimer's Disease via Affecting BDNF and NF-kB". *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 23(1).
- Grebenshchikova, V. I., Kuzmin, M. I., Rukavishnikov, V. S., Efimova, N. V., Donskikh, I. V., Doroshkov, A. A. 2021. "Chemical Contamination of Soil on Urban Territories With Aluminum Production in the Baikal Region, Russia". *Air, Soil and Water Research*, 14.
- Gullotta, G. S., Costantino, G., Sortino, M. A., Spampinato, S. F. 2023. "Microglia and the Blood–Brain Barrier: An External Player in Acute and Chronic Neuroinflammatory Conditions". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9144.
- Guma, T. N., Maikudi, M. M. 2023. "Corrosion of Aluminium Metal in Food Environments and Its Associated Health Risk Issues: A Review", 19(1), 71-84. [www.azojete.com.ng](http://www.azojete.com.ng)
- Habotta, O. A., Elbahnaswy, S., Ibrahim, I. 2022. "Neurotoxicity of singular and combined exposure of Oreochromis niloticus to methomyl and copper sulphate at environmentally relevant levels: Assessment of neurotransmitters, neural stress, oxidative injury and histopathological changes". *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 94, 103935.
- Hanani, M. 2024. "Satellite Glial Cells in Human Disease". *Cells*, 13(7), 566.
- Hampel, H., Hardy, J., Blennow, K., Chen, C., Perry, G., Kim, S. H., ... Vergallo, A. 2021. "The Amyloid- $\beta$  Pathway in Alzheimer's Disease". *Molecular Psychiatry*. Springer Nature, 26(10), 5481-5503.
- Hao, W., Hao, C., Wu, C., Xu, Y., Jin, C. 2022. "Aluminum induced intestinal dysfunction via mechanical, immune, chemical and biological barriers". *Chemosphere*, 288, 132556.
- Harris, A. C. 2021. "Magnitude of open-field thigmotaxis during mecamylamine-precipitated nicotine withdrawal in rats is influenced by mecamylamine dose, duration of nicotine infusion, number of withdrawal episodes, and age". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 205, 173185.
- Hassanein, E. H. M., Althagafy, H. S., Baraka, M. A., Abd-alhameed, E. K., Ibrahim, I. M., Abd El-Maksoud, M. S., ... Ross, S. A. 2024. "The promising antioxidant effects of lignans: Nrf2 activation comes into view". *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 397(9), 6439-6458.
- He, Z., Li, X., Wang, Z., Cao, Y., Han, S., Li, N., ... Liu, Q. 2023. "Protective effects of luteolin against amyloid beta-induced oxidative stress and mitochondrial impairments through peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ -dependent mechanism in Alzheimer's disease". *Redox Biology*, 66, 102848.
- Heard, K. 2007. "Book and media review". *Annals of Emergency Medicine*, 49(3), 387-388.
- Hızlı, S., Karaoğlu, A. G., Gören, A. Y., Kobya, M. 2023. "Identifying Geogenic and Anthropogenic Aluminum Pollution on Different Spatial Distributions and Removal of Natural Waters and Soil in Çanakkale, Turkey". *ACS Omega*, 8(9), 8557-8568.
- Hollis, F., Pope, B. S., Gorman-Sandler, E., Wood, S. K. 2022. "Neuroinflammation and Mitochondrial Dysfunction Link Social Stress to Depression" (ss. 59-93).
- Hosney, M., Sakraan, A., M., A., F., E.-D., Elzayat, E. 2022. "Therapeutic Potential of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (ADMSCs) with/without Taurine in Aluminum Chloride-Induced Alzheimer's Disease Rat Model". *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, B. Zoology*, 14(2), 211-229.

- Huang, L., Kim, M.-Y., Cho, J. Y. 2023. "Immunopharmacological Activities of Luteolin in Chronic Diseases". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2136.
- Huang, Q., Liao, C., Ge, F., Ao, J., Liu, T. 2022. "Acetylcholine bidirectionally regulates learning and memory". *Journal of Neurorestoratology*, 10(2), 100002.
- Huang, X., Hussain, B., Chang, J. 2021. "Peripheral inflammation and blood–brain barrier disruption: effects and mechanisms". *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 27(1), 36-47.
- Huang, Y., Happonen, K. E., Burrola, P. G., O'Connor, C., Hah, N., Huang, L., ... Lemke, G. 2021. "Microglia use TAM receptors to detect and engulf amyloid  $\beta$  plaques". *Nature Immunology*, 22(5), 586-594.
- Imran, M., Rauf, A., Abu-Izneid, T., Nadeem, M., Shariati, M. A., Khan, I. A., ... Mubarak, M. S. 2019. "Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review". *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108612.
- Hur, J. Y. 2022. " $\gamma$ -Secretase in Alzheimer's disease". *Experimental and Molecular Medicine*. Springer Nature.
- Inan-Eroglu, E., Ayaz, A. 2018. "Is aluminum exposure a risk factor for neurological disorders?". *Journal of Research in Medical Sciences*, 23(1), 51.
- Ionescu-Tucker, A., Cotman, C. W. 2021. "Emerging roles of oxidative stress in brain aging and Alzheimer's disease". *Neurobiology of Aging*. Elsevier, 107, 86-95.
- Irnidayanti, Y., Fatona, D., Rizkawati, V. 2023. "Histological changes in liver and kidney of male mice by age after exposure to aluminum chloride". *Toxicology and Industrial Health*, 39(8), 441-450.
- Ishaq, S., Jabeen, G., Arshad, M., Kanwal, Z., Un Nisa, F., Zahra, R., ... Manzoor, F. 2023. "Heavy metal toxicity arising from the industrial effluents repercussions on oxidative stress, liver enzymes and antioxidant activity in brain homogenates of *Oreochromis niloticus*". *Scientific Reports*, 13(1).
- Iuchi, K., Takai, T., Hisatomi, H. 2021. "Cell death via lipid peroxidation and protein aggregation diseases". *Biology*, 10(5), 399.
- Jäkel, S., Dimou, L. 2017. "Glial Cells and Their Function in the Adult Brain: A Journey through the History of Their Ablation". *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11, 235525.
- Jalouli, M., Rahman, M. A., Biswas, P., Rahman, H., Harrath, A. H., Lee, I.-S., ... Kim, B. 2025. "Targeting natural antioxidant polyphenols to protect neuroinflammation and neurodegenerative diseases: a comprehensive review". *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1492517.
- Jayawickreme, D. K., Ekwosi, C., Anand, A., Andres-Mach, M., Wlaż, P., Socala, K. 2024. "Luteolin for neurodegenerative diseases: a review". *Pharmacological Reports*, 76(4), 644-664.
- Jazvinščak Jembrek, M., Oršolić, N., Mandić, L., Sadžak, A., Šegota, S. 2021. "Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Effects of Flavonols: Targeting Nrf2, NF- $\kappa$ B and p53 Pathways in Neurodegeneration". *Antioxidants*, 10(10), 1628.
- Jiang, Y., Yang, W., Ding, J., Ji, J., Wu, L., Zheng, Y., ... Guo, C. 2022. "Luteolin Pretreatment Attenuates Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Mice by Inhibiting Inflammation, Autophagy, and Apoptosis via the ERK/PPAR $\alpha$  Pathway". *PPAR Research*, 1-15.
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., Valko, M. 2024. "Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants". *Archives of Toxicology*, 98(5), 1323-1367.

- Jomova, K., Hudecova, L., Lauro, P., Simunková, M., Barbierikova, Z., Malcek, M., ... Valko, M. 2022. "The effect of Luteolin on DNA damage mediated by a copper catalyzed Fenton reaction". *Journal of Inorganic Biochemistry*, 226, 111635.
- Kanai, K., Nagata, S., Hatta, T., Sugiura, Y., Sato, K., Yamashita, Y., ... Itoh, N. 2016. "Therapeutic anti-inflammatory effects of luteolin on endotoxin-induced uveitis in Lewis rats". *Journal of Veterinary Medical Science*, 78(8), 1381-1384.
- Kandimalla, R., Vallamkondu, J., Corgiat, E. B., Gill, K. D. 2016. "Understanding Aspects of Aluminum Exposure in Alzheimer's Disease Development". *Brain Pathology*, 26(2), 139-154.
- Karimani, A., Ramezani, N., Afkhami Goli, A., Nazem Shirazi, M. H., Nourani, H., Jafari, A. M. 2021. "Subchronic neurotoxicity of diazinon in albino mice: Impact of oxidative stress, AChE activity, and gene expression disturbances in the cerebral cortex and hippocampus on mood, spatial learning, and memory function". *Toxicology Reports*, 8, 1280-1288.
- Kaur, I., Behl, T., Aleya, L., Rahman, Md. H., Kumar, A., Arora, S., Akter, R. 2021. "Role of metallic pollutants in neurodegeneration: effects of aluminum, lead, mercury, and arsenic in mediating brain impairment events and autism spectrum disorder". *Environmental Science and Pollution Research*, 28(8), 8989-9001.
- Kazmi, I., Afzal, M., Imam, F., Alzarea, S. I., Patil, S., Mhaskar, A., ... Almalki, W. H. 2024. "Barbaloin's Chemical Intervention in Aluminum Chloride Induced Cognitive Deficits and Changes in Rats through Modulation of Oxidative Stress, Cytokines, and BDNF Expression". *ACS Omega*, 9(6), 6976-6985.
- Kennedy, M. B. 2016. "Synaptic Signaling in Learning and Memory". *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8(2), a016824.
- Khedr, N. F., Talkan, O. F. A. 2022. "New insights into arsenic, lead, and iron neurotoxicity: Activation of MAPK signaling pathway and oxidative stress". *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 36(6).
- Kinawy, A. A. 2019. "The potential roles of aluminum chloride and sodium fluoride on the neurotoxicity of the cerebral cortex, hippocampus, and hypothalamus of male rat offspring". *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 80(1), 17.
- Klotz, K., Weistenhöfer, W., Neff, F., Hartwig, A., van Thriel, C., Drexler, H. 2017. "The Health Effects of Aluminum Exposure". *Deutsches Ärzteblatt international*, 114(39), 653.
- Kongerud, J., Søyseth, V. 2014. "Respiratory Disorders in Aluminum Smelter Workers". *Journal of Occupational & Environmental Medicine*, 56(Supplement 5S), S60-S70.
- Krawczuk, D., Groblewska, M., Mroczko, J., Winkel, I., Mroczko, B. 2024. "The Role of  $\alpha$ -Synuclein in Etiology of Neurodegenerative Diseases". *International Journal of Molecular Sciences*, 25(17), 9197.
- Kulkarni, V. A., Firestein, B. L. 2012. "The dendritic tree and brain disorders". *Molecular and Cellular Neuroscience*, 50(1), 10-20.
- Kumar, P. 2025. "Intersections of heavy metal toxicity, protein misfolding, and neurodegenerative disorders in humans". *İçinde Protein Misfolding in Neurodegenerative Diseases* (ss. 413-461). Elsevier.
- Lanni, C., Racchi, M., Memo, M., Govoni, S., Uberti, D. 2012. "p53 at the crossroads between cancer and neurodegeneration". *Free Radical Biology and Medicine*, 52(9), 1727-1733.
- Lassarén, P., Lindblad, C., Frostell, A., Carpenter, K. L. H., Guilfoyle, M. R., Hutchinson, P. J. A., ... Thelin, E. P. 2021. "Systemic inflammation alters the neuroinflammatory response: a prospective clinical trial in traumatic brain injury". *Journal of Neuroinflammation*, 18(1).

- Lecca, D., Jung, Y. J., Scerba, M. T., Hwang, I., Kim, Y. K., Kim, S., ... Greig, N. H. 2022. "Role of chronic neuroinflammation in neuroplasticity and cognitive function: A hypothesis". *Alzheimer's & Dementia*, 18(11), 2327-2340.
- Lin, Y., Shi, R., Wang, X., Shen, H.-M. 2008. "Luteolin, a Flavonoid with Potential for Cancer Prevention and Therapy". *Current Cancer Drug Targets*, 8(7), 634-646.
- Liu, J., Wang, Q., Sun, X., Yang, X., Zhuang, C., Xu, F., ... Li, Y. 2016. "The Toxicity of Aluminum Chloride on Kidney of Rats". *Biological Trace Element Research*, 173(2), 339-344.
- Liu, R., Yang, J., Li, Y., Xie, J., Wang, J. 2023. "Heme oxygenase-1: The roles of both good and evil in neurodegenerative diseases". *Journal of Neurochemistry*, 167(3), 347-361.
- Liu, W., Liu, J., Gao, J., Duan, X., Zhang, L. 2022. "Effects of Subchronic Aluminum Exposure on Learning, Memory, and Neurotrophic Factors in Rats". *Neurotoxicity Research*, 40(6), 2046-2060.
- Livak, K. J., Schmittgen, T. D. 2001. "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method". *Methods*, 25(4), 402-408.
- Lotfzadeh, R., Karami, M., Jalali-Nadoushan, M. 2024. "Down regulation of the c-Fos/MAP kinase signaling pathway during learning memory processes coincides with low GnRH levels in aluminum chloride-induced Alzheimer's male rats". *Molecular Biology Reports*, 51(1), 1054.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. 1951. "Protein measurement with the Folin phenol reagent.". *The Journal of biological chemistry*, 193(1), 265-275.
- Lu, J., Huang, Q., Zhang, D., Lan, T., Zhang, Y., Tang, X., ... Wang, J. 2020. "The Protective Effect of DiDang Tang Against AlCl<sub>3</sub>-Induced Oxidative Stress and Apoptosis in PC12 Cells Through the Activation of SIRT1-Mediated Akt/Nrf2/HO-1 Pathway". *Frontiers in Pharmacology*, 11.
- Lu, Q.-Y., Guo, L., Zhang, Q.-Y., Yang, F.-M., Zhou, S.-T., Sun, Q.-Y. 2024. "Luteolin Alleviates the TNF- $\alpha$ -Induced Inflammatory Response of Human Microvascular Endothelial Cells via the Akt/MAPK/NF- $\kappa$ B Pathway". *Mediators of Inflammation*, 2024(1).
- Lyra, P., Machado, V., Rota, S., Chaudhuri, K. R., Botelho, J., Mendes, J. J. 2023a. "Revisiting Alpha-Synuclein Pathways to Inflammation". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7137.
- Lyra, P., Machado, V., Rota, S., Chaudhuri, K. R., Botelho, J., Mendes, J. J. 2023b. "Revisiting Alpha-Synuclein Pathways to Inflammation". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7137.
- Ma, H.-Y., Wang, J., Wang, J., Guo, Z., Qin, X.-Y., Lan, R., Hu, Y. 2025. "Luteolin attenuates cadmium neurotoxicity by suppressing glial inflammation and supporting neuronal survival". *International Immunopharmacology*, 152, 114406.
- Ma, J., Zheng, M., Zhang, X., Lu, J., Gu, L. 2023. "Ethanol extract of *Andrographis paniculata* alleviates aluminum-induced neurotoxicity and cognitive impairment through regulating the p62-keap1-Nrf2 pathway". *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 441.
- Mahto, K., Kuwar, O. K., Maloo, A., Kalia, N. 2025. "Therapeutic potential of luteolin in neurodegenerative disorders: targeting Nrf2, NF $\kappa$ B, MAPK, and JAK-STAT pathways to combat neuroinflammation and apoptosis". *Inflammopharmacology*, 1-11.
- Makhdoomi, S., Ariaifar, S., Mirzaei, F., Mohammadi, M. 2023. "Aluminum neurotoxicity and autophagy: a mechanistic view". *Neurological Research*, 45(3), 216-225.
- Mansouri, A., Reiner, Ž., Ruscica, M., Tedeschi-Reiner, E., Radbakhsh, S., Bagheri Ekta, M., Sahebkar, A. 2022. "Antioxidant Effects of Statins by Modulating Nrf2 and Nrf2/HO-1 Signaling in Different Diseases". *Journal of Clinical Medicine*, 11(5), 1313.

- Martínez-Hernández, M. I., Acosta-Saavedra, L. C., Hernández-Kelly, L. C., Loaeza-Loaeza, J., Ortega, A. 2023. "Microglial Activation in Metal Neurotoxicity: Impact in Neurodegenerative Diseases". *BioMed Research International*, 2023(1).
- Matkovics, B. , S. L. , & V. S. 1988. "Determination of lipid peroxidation and reduced glutathione metabolism enzymes activities in biological samples". *Laboratóriumi Diagnosztika*, 248-250.
- Mehrbeheshti, N., Esmaili, Z., Ahmadi, M., Moosavi, M. 2022. "A dose response effect of oral aluminum nanoparticle on novel object recognition memory, hippocampal caspase-3 and MAPKs signaling in mice". *Behavioural Brain Research*, 417, 113615.
- Merelli, A., Repetto, M., Lazarowski, A., Auzmendi, J. 2021. "Hypoxia, Oxidative Stress, and Inflammation: Three Faces of Neurodegenerative Diseases". *Journal of Alzheimer's Disease*, 82(s1), S109-S126.
- Mundy, W. R., Shafer, T. J. 2001. "Aluminum-Induced Alteration of Phosphoinositide and Calcium Signaling". *Içinde Aluminium and Alzheimer's Disease* (ss. 345-360). Elsevier.
- Muramatsu, I., Uwada, J., Chihara, K., Sada, K., Wang, M., Yazawa, T., ... Masuoka, T. 2022. "Evaluation of radiolabeled acetylcholine synthesis and release in rat striatum". *Journal of Neurochemistry*, 160(3), 342-355.
- Murumulla, L., Bandaru, L. J. M., Challa, S. 2024. "Heavy Metal Mediated Progressive Degeneration and Its Noxious Effects on Brain Microenvironment". *Biological Trace Element Research*. Springer, 202(4), 1411-1427.
- Muszyński, P., Groblewska, M., Kulczyńska-Przybik, A., Kułakowska, A., Mroczko, B. 2017. "YKL-40 as a Potential Biomarker and a Possible Target in Therapeutic Strategies of Alzheimer's Disease". *Current Neuropharmacology*, 15(6).
- Nabi, M., Tabassum, N. 2022. "Role of Environmental Toxicants on Neurodegenerative Disorders". *Frontiers in Toxicology*, 4.
- Naro, A., Calabrò, R. S. 2024. "Brain Injury, Neural Plasticity, and Neuromodulation". *Içinde Translational Neurorehabilitation* (ss. 5-18). Cham: Springer International Publishing.
- Ni, J., Zhao, J., Zhang, X., Reinheckel, T., Turk, V., Nakanishi, H. 2021. "Cathepsin H deficiency decreases hypoxia-ischemia-induced hippocampal atrophy in neonatal mice through attenuated TLR3/IFN- $\beta$  signaling". *Journal of Neuroinflammation*, 18(1), 176.
- Niu, Q. 2023. "Overview of the Relationship Between Aluminum Exposure and Human Health". *Içinde Neurotoxicity of Aluminum* (ss. 1-32). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Noh, M.-Y., Kwon, H. S., Kwon, M.-S., Nahm, M., Jin, H. K., Bae, J., Kim, S. H. 2025. "Biomarkers and therapeutic strategies targeting microglia in neurodegenerative diseases: current status and future directions". *Molecular Neurodegeneration*, 20(1), 82.
- Norris, G. T., Kipnis, J. 2019. "Immune cells and CNS physiology: Microglia and beyond". *Journal of Experimental Medicine*, 216(1), 60-70.
- Oliveira, R. B. de, Barreto, F. C., Nunes, L. A., Custódio, M. R. 2021. "Aluminum Intoxication in Chronic Kidney Disease". *Brazilian Journal of Nephrology*, 43(4 suppl 1), 660-664.
- Orobets, K. S., Karamyshev, A. L. 2023. "Amyloid Precursor Protein and Alzheimer's Disease". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14794.
- Ortega, R., Carmona, A. 2022. "Neurotoxicity of Environmental Metal Toxicants: Special Issue". *Toxics*, 10(7), 382.
- Oshima, E., Ishihara, T., Yokota, O., Nakashima-Yasuda, H., Nagao, S., Ikeda, C., ... Uchitomi, Y. 2013. "Accelerated Tau Aggregation, Apoptosis and Neurological Dysfunction Caused by

- Chronic Oral Administration of Aluminum in a Mouse Model of Tauopathies". *Brain Pathology*, 23(6), 633-644.
- Pankaj Bhargava, V., Kumar Netam, A., Singh, R., Sharma, P. 2021. "Aluminium and Neurodegeneration: Mechanism of pathogenesis and possible strategies for mitigation". *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care*, 13(1), 101-114.
- Panwar, S., Uniyal, P., Kukreti, N., Hashmi, A., Verma, S., Arya, A., Joshi, G. 2024. "Role of autophagy and proteostasis in neurodegenerative diseases: Exploring the therapeutic interventions". *Chemical Biology & Drug Design*, 103(4).
- Pathak, D., Sriram, K. 2023. "Molecular Mechanisms Underlying Neuroinflammation Elicited by Occupational Injuries and Toxicants". *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2272.
- Peng, Y., Chang, X., Lang, M. 2021. "Iron Homeostasis Disorder and Alzheimer's Disease". *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12442.
- Pifferi, A., Chiaino, E., Fernandez-Abascal, J., Bannon, A. C., Davey, G. P., Frosini, M., Valoti, M. 2024. "Exploring the Regulation of Cytochrome P450 in SH-SY5Y Cells: Implications for the Onset of Neurodegenerative Diseases". *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 7439.
- Placer, Z. A., Cushman, L. L., Johnson, B. C. 1966. "Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems". *Analytical biochemistry*, 16(2), 359-364.
- Platt, B., Drysdale, A. J., Nday, C., Roloff, E. v. L., Drever, B. D., Salifoglou, A. 2007. "Differential toxicity of novel aluminium compounds in hippocampal culture". *NeuroToxicology*, 28(3), 576-586.
- Pradhan, G., Kulkarni, Y. A. 2025. "Diabetes and its Complications: Role of Luteolin, A Wonder Chemical from the Natural Source". *Current Diabetes Reviews*, 21(1).
- Priest, N. D., Skybakmoen, E., Jackson, G. 2021. "The bioavailability of ingested <sup>26</sup>Al-labelled aluminium and aluminium compounds in the rat". *NeuroToxicology*, 83, 179-185.
- Principi, N., Esposito, S. 2018. "Aluminum in vaccines: Does it create a safety problem?". *Vaccine*, 36(39), 5825-5831.
- Przybysz, B., Smalira, J., Lęgas, A., Rogala, W., Pochodowicz, K., Rogowska, K., ... Mormul, A. 2024. "The impact of preparing food in aluminum cookware on human health – a literature review". *Polish Journal of Public Health*, 134, 73-76.
- Qiao, L. Y. 2024. "Satellite Glial Cells Bridge Sensory Neuron Crosstalk in Visceral Pain and Cross-Organ Sensitization". *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 390(2), 213-221.
- Raduan, S. Z., Ahmed, Q. U., Rusmili, M. R. A., Sabere, A. S. M., Haris, M. S., Shaikh, M. F., ... Mahmood, M. H. 2025. "Neurotoxicity of aluminium chloride and okadaic acid in zebrafish: Unravelling Alzheimer's disease model via learning and memory function evaluation". *Neurology Perspectives*, 5(1), 100180.
- Raghu, P., Joseph, A., Krishnan, H., Singh, P., Saha, S. 2019. "Phosphoinositides: Regulators of Nervous System Function in Health and Disease". *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12.
- Rahimzadeh, M. R., Rahimzadeh, M. R., Kazemi, S., Amiri, R. J., Pirzadeh, M., Moghadamnia, A. A. 2022. "Aluminum Poisoning with Emphasis on Its Mechanism and Treatment of Intoxication". *Emergency Medicine International*, 2022, 1-13.
- Raj, K., Kaur, P., Gupta, G. D., Singh, S. 2021. "Metals associated neurodegeneration in Parkinson's disease: Insight to physiological, pathological mechanisms and management". *Neuroscience Letters*, 753, 135873.

- Rajendran, P., Althumairy, D., Bani-Ismail, M., Bekhet, G. M., Ahmed, E. A. 2023. "Isoimperatorin therapeutic effect against aluminum induced neurotoxicity in albino mice". *Frontiers in Pharmacology*, 14.
- Ramírez-Carretero, R. J., Zaldívar-Machorro, V. J., Pérez-Ramírez, D. J., Rodríguez-López, B. E., Meza, C., García, E., ... Chavarría, A. 2023. "Oral Administration of Silybin Protects Against MPTP-Induced Neurotoxicity by Reducing Pro-inflammatory Cytokines and Preserving BDNF Levels in Mice". *Molecular Neurobiology*, 60(12), 6774-6788.
- Reinke, C. M., Breitskreutz, J., Leuenberger, H. 2003. "Aluminium in Over-the-Counter Drugs". *Drug Safety*, 26(14), 1011-1025.
- Renke, G., Almeida, V. B. P., Souza, E. A., Lessa, S., Teixeira, R. L., Rocha, L., ... Starling-Soares, B. 2023. "Clinical Outcomes of the Deleterious Effects of Aluminum on Neuro-Cognition, Inflammation, and Health: A Review". *Nutrients*, 15(9), 2221.
- Reudhabibadh, R., Binlateh, T., Chonpathompikunlert, P., Nonpanya, N., Prommeenat, P., Chanvorachote, P., Hutamekalin, P. 2021. "Suppressing Cdk5 Activity by Luteolin Inhibits MPP<sup>+</sup>-Induced Apoptotic of Neuroblastoma through Erk/Drp1 and Fak/Akt/GSK3 $\beta$  Pathways". *Molecules*, 26(5), 1307.
- Ribes, D., Colomina, M. T., Vicens, P., Domingo, J. L. 2010. "Impaired Spatial Learning and Unaltered Neurogenesis in a Transgenic Model of Alzheimers Disease After Oral Aluminum Exposure". *Current Alzheimer Research*, 7(5), 401-408.
- Rivas, F., Poblete-Aro, C., Pando, M. E., Allel, M. J., Fernandez, V., Soto, A., ... Garcia-Diaz, D. 2022. "Effects of Polyphenols in Aging and Neurodegeneration Associated with Oxidative Stress". *Current Medicinal Chemistry*, 29(6), 1045-1060.
- Robinson, D. L., Hermans, A., Seipel, A. T., Wightman, R. M. 2008. "Monitoring Rapid Chemical Communication in the Brain". *Chemical Reviews*, 108(7), 2554-2584.
- Roe, K. 2022. "An Alternative Explanation for Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease Initiation from Specific Antibiotics, Gut Microbiota Dysbiosis and Neurotoxins". *Neurochemical Research*. Springer, 47(3), 517-530.
- Saberzadeh, J., Arabsolghar, R., Takhshid, M. A. 2016. "Alpha synuclein protein is involved in Aluminum-induced cell death and oxidative stress in PC12 cells". *Brain Research*, 1635, 153-160.
- Sadek, K. M., Lebda, M. A., Abouzed, T. K. 2019. "The possible neuroprotective effects of melatonin in aluminum chloride-induced neurotoxicity via antioxidant pathway and Nrf2 signaling apart from metal chelation". *Environmental Science and Pollution Research*, 26(9), 9174-9183.
- Saeed, A., Qusti, S. Y., Almarwani, R. H., Jambi, E. J., Alshammari, E. M., Gusty, N. F., Balgoon, M. J. 2021. "Effects of aluminum chloride and coenzyme Q10 on the molecular structure of lipids and the morphology of the brain hippocampus cells". *RSC Advances*, 11(48), 29925-29933.
- Salimzade, A., Hosseini-Sharifabad, A., Rabbani, M. 2017. "Comparative effects of chronic administrations of gabapentin, pregabalin and baclofen on rat memory using object recognition test". *Research in Pharmaceutical Sciences*, 12(3), 204.
- Schmahmann, J. D. 2001. "The cerebrocerebellar system: anatomic substrates of the cerebellar contribution to cognition and emotion". *International Review of Psychiatry*, 13(4), 247-260.
- Schmahmann, J. D., Pandya, D. N. 1997. "The Cerebrocerebellar System" (ss. 31-60).
- Sedlak, J., Lindsay, R. H. 1968. "Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent". *Analytical biochemistry*, 25(1), 192-205.

- Sehar, U., Rawat, P., Reddy, A. P., Kopel, J., Reddy, P. H. 2022. "Amyloid Beta in Aging and Alzheimer's Disease". *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 12924.
- Sengupta, U., Kayed, R. 2022. "Amyloid  $\beta$ , Tau, and  $\alpha$ -Synuclein aggregates in the pathogenesis, prognosis, and therapeutics for neurodegenerative diseases". *Progress in Neurobiology*, 214, 102270.
- Sevastre-Berghian, A. C., Casandra, C., Gheban, D., Olteanu, D., Olanescu Vaida Voevod, M. C., Rogojan, L., ... Bâldea, I. 2022. "Neurotoxicity of Bisphenol A and the Impact of Melatonin Administration on Oxidative Stress, ERK/NF-kB Signaling Pathway, and Behavior in Rats". *Neurotoxicity Research*, 40(6), 1882-1894.
- Seydi, E., Mehrpouya, L., Sadeghi, H., Rahimi, S., Pourahmad, J. 2021. "Luteolin attenuates Fipronil-induced neurotoxicity through reduction of the ROS-mediated oxidative stress in rat brain mitochondria". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 173, 104785.
- Shahcheraghi, S. H., Salemi, F., Small, S., Syed, S., Salari, F., Alam, W., ... Khan, H. 2023. "Resveratrol regulates inflammation and improves oxidative stress via Nrf2 signaling pathway: Therapeutic and biotechnological prospects". *Phytotherapy Research*, 37(4), 1590-1605.
- Shang, N., Zhang, L., Gao, Q., Li, W., Wang, S., Gao, X., ... Zhang, Q. 2023. "Simultaneous effects of aluminum exposure on the homeostasis of essential metal content in rat brain and perturbation of gut microbiota". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 254, 114707.
- Sharma, M., Burré, J. 2023. " $\alpha$ -Synuclein in synaptic function and dysfunction". *Trends in Neurosciences*, 46(2), 153-166.
- Shi, Q., Gutierrez, R. A., Bhat, M. A. 2025. "Microglia, Trem2, and Neurodegeneration". *The Neuroscientist*, 31(2), 159-176.
- Shiraishi, N., Katayama, A., Nakashima, T., Yamada, S., Uwabe, C., Kose, K., Takakuwa, T. 2015. "Morphology and morphometry of the human embryonic brain: A three-dimensional analysis". *NeuroImage*, 115, 96-103.
- Shrestha, S., Phay, M., Kim, H. H., Pouladvand, P., Lee, S. J., Yoo, S. 2019. "Differential regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression in sensory neuron axons by miRNA-206". *FEBS Open Bio*, 9(2), 374-383.
- Simons, M., Trajkovic, K. 2006. "Neuron-glia communication in the control of oligodendrocyte function and myelin biogenesis". *Journal of Cell Science*, 119(21), 4381-4389.
- Singh, A., Ansari, V. A., Mahmood, T., Ahsan, F., Wasim, R. 2022. "Neurodegeneration: Microglia: Nf-Kappab Signaling Pathways". *Drug Research*, 72(09), 496-499.
- Singh, M. V., Kumar, A., Bhatt, N., Ren, J., Hou, H., Wang, Z., ... Colorado, H. A. 2023. "Impact of Contaminated Water on Plants and Animals: Utilizing Natural and Chemical Coagulants for Treating Contaminated Water". *ES Energy & Environment*, 23, 1032.
- Singh, N. K., Bhushan, B., Singh, P., Sahu, K. K. 2025. "Therapeutic Expedition of Luteolin against Brain-related Disorders: An Updated Review". *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 28(3), 371-391.
- Singh, S., Nagalakshmi, D., Sharma, K. K., Ravichandiran, V. 2021. "Natural antioxidants for neuroinflammatory disorders and possible involvement of Nrf2 pathway: A review". *Heliyon*, 7(2), e06216.
- Skalny, A. V., Aschner, M., Jiang, Y., Gluhcheva, Y. G., Tizabi, Y., Lobinski, R., Tinkov, A. A. 2021. "Molecular mechanisms of aluminum neurotoxicity: Update on adverse effects and therapeutic strategies" (ss. 1-34).

- Su, X., Fischer, D. L., Li, X., Bankiewicz, K., Sortwell, C. E., Federoff, H. J. 2017. "Alpha-Synuclein mRNA Is Not Increased in Sporadic PD and Alpha-Synuclein Accumulation Does Not Block GDNF Signaling in Parkinson's Disease and Disease Models". *Molecular Therapy*, 25(10), 2231-2235.
- Su, Z., Boucetta, H., Shao, J., Huang, J., Wang, R., Shen, A., ... Zhang, L. 2024. "Next-generation aluminum adjuvants: Immunomodulatory layered double hydroxide NanoAlum reengineered from first-line drugs". *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 14(11), 4665-4682.
- Sun, E., Motolani, A., Campos, L., Lu, T. 2022. "The Pivotal Role of NF- $\kappa$ B in the Pathogenesis and Therapeutics of Alzheimer's Disease". *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 8972.
- Sun, M., You, H., Hu, X., Luo, Y., Zhang, Z., Song, Y., ... Lu, H. 2023. "Microglia–Astrocyte Interaction in Neural Development and Neural Pathogenesis". *Cells*, 12(15), 1942.
- Sun, W., Lu, Z., Chen, X., Yang, Mei, Y., Li, X., An, L. 2022. "Aluminum Oxide Nanoparticles Impair Working Memory and Neuronal Activity through the GSK3 $\beta$ /BDNF Signaling Pathway of Prefrontal Cortex in Rats". *ACS Chemical Neuroscience*, 13(23), 3352-3361.
- Sun, Y., Oberley, L. W., Li, Y. 1988. "A simple method for clinical assay of superoxide dismutase.". *Clinical chemistry*, 34(3), 497-500.
- Surguchov, A., Surguchev, A. 2022. "Synucleins: New Data on Misfolding, Aggregation and Role in Diseases". *Biomedicines*, 10(12), 3241.
- Taheri, Y., Sharifi-Rad, J., Antika, G., Yilmaz, Y. B., Tumer, T. B., Abuhamdah, S., ... Cho, W. C. 2021. "Paving Luteolin Therapeutic Potentialities and Agro-Food-Pharma Applications: Emphasis on In Vivo Pharmacological Effects and Bioavailability Traits". *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021(1).
- Tamagno, E., Guglielmotto, M., Vasciaveo, V., Tabaton, M. 2021. "Oxidative Stress and Beta Amyloid in Alzheimer's Disease. Which Comes First: The Chicken or the Egg?". *Antioxidants*, 10(9), 1479.
- Taveggia, C., Feltri, M. L. 2022. "Beyond Wrapping: Canonical and Noncanonical Functions of Schwann Cells". *Annual Review of Neuroscience*, 45(1), 561-580.
- Taylor, H. B. C., Jeans, A. F. 2021. "Friend or Foe? The Varied Faces of Homeostatic Synaptic Plasticity in Neurodegenerative Disease". *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 15.
- Teleanu, D. M., Niculescu, A.-G., Lungu, I. I., Radu, C. I., Vladâncenco, O., Roza, E., ... Teleanu, R. I. 2022. "An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases". *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 5938.
- Teschke, R. 2022. "Aluminum, Arsenic, Beryllium, Cadmium, Chromium, Cobalt, Copper, Iron, Lead, Mercury, Molybdenum, Nickel, Platinum, Thallium, Titanium, Vanadium, and Zinc: Molecular Aspects in Experimental Liver Injury". *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12213.
- Tian, C., Liu, X., Chang, Y., Wang, R., Lv, T., Cui, C., Liu, M. 2021. "Investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin". *South African Journal of Botany*, 137, 257-264.
- Toader, C., Serban, M., Munteanu, O., Covache-Busuioac, R.-A., Enyedi, M., Ciurea, A. V., Tataru, C. P. 2025. "From Synaptic Plasticity to Neurodegeneration: BDNF as a Transformative Target in Medicine". *International Journal of Molecular Sciences*, 26(9), 4271.
- Torres-Flores, M., Peña-Ortega, F. 2022. "Amyloid Beta Alters Prefrontal-dependent Functions Along with its Excitability and Synaptic Plasticity in Male Rats". *Neuroscience*, 498, 260-279.

- Totten, M. S., Davenport, T. S., Edwards, L. F., Howell, J. M. 2023. "Trace Minerals and Anxiety: A Review of Zinc, Copper, Iron, and Selenium". *Dietetics*, 2(1), 83-103.
- Turkez, H., Yıldırım, S., Sahin, E., Arslan, M. E., Emsen, B., Tozlu, O. O., ... Mardinoglu, A. 2022. "Boron Compounds Exhibit Protective Effects against Aluminum-Induced Neurotoxicity and Genotoxicity: In Vitro and In Vivo Study". *Toxics*, 10(8), 428.
- Türk, E., Ozan Tekeli, I., Özkan, H., Uyar, A., Cellat, M., Kuzu, M., ... Güvenç, M. 2021. "The protective effect of esculetin against aluminium chloride-induced reproductive toxicity in rats". *Andrologia*, 53(2).
- Vasudevan Sajini, D., Thaggikuppe Krishnamurthy, P., Chakkittukandiyil, A., Mudavath, R. N. 2024. "Orientin Modulates Nrf2-ARE, PI3K/Akt, JNK-ERK1/2, and TLR4/NF-kB Pathways to Produce Neuroprotective Benefits in Parkinson's Disease". *Neurochemical Research*, 49(6), 1577-1587.
- Vecchio, I., Sorrentino, L., Paoletti, A., Marra, R., Arbitrio, M. 2021. "The State of The Art on Acetylcholinesterase Inhibitors in the Treatment of Alzheimer's Disease". *Journal of Central Nervous System Disease*, 13.
- Vellingiri, B., Suriyanarayanan, A., Selvaraj, P., Abraham, K. S., Pasha, M. Y., Winster, H., ... Venkatesan, D. 2022. "Role of heavy metals (copper (Cu), arsenic (As), cadmium (Cd), iron (Fe) and lithium (Li)) induced neurotoxicity". *Chemosphere*, 301.
- Verstraeten, S. V., Oteiza, P. I. 2013. "Aluminum and Phosphatidylinositol-Specific-Phospholipase C". *İçinde Encyclopedia of Metalloproteins* (ss. 24-32). New York, NY: Springer New York.
- Vida, H., Sahar, M., Nikdouz, A., Arezoo, H. 2025. "Chemokines in neurodegenerative diseases". *Immunology & Cell Biology*, 103(3), 275-292.
- Villalón-García, I., Povea-Cabello, S., Álvarez-Córdoba, M., Talaverón-Rey, M., Suárez-Rivero, J., Suárez-Carrillo, A., ... Sánchez-Alcázar, J. 2023. "Vicious cycle of lipid peroxidation and iron accumulation in neurodegeneration". *Neural Regeneration Research*, 18(6), 1196.
- Vinokurov, A. Y., Stelmashuk, O. A., Ukolova, P. A., Zhrebtssov, E. A., Abramov, A. Y. 2021. "Brain region specificity in reactive oxygen species production and maintenance of redox balance". *Free Radical Biology and Medicine*, 174, 195-201.
- von Bartheld, C. S., Bahney, J., Herculano-Houzel, S. 2016. "The search for true numbers of neurons and glial cells in the human brain: A review of 150 years of cell counting". *Journal of Comparative Neurology*, 524(18), 3865-3895.
- Vrbanc, L., Vrdoljak, E., Đerke, F. 2024. "Association of Parkinson's Disease and Exposure to Aluminium and Other Heavy Metals". *Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti. Medicinske znanosti*, 68-69, 56-63.
- Wan, C., Liang, Q., Ma, Y., Wang, Y., Sun, L., Lai, J., ... Chen, Z. 2025. "Luteolin: a natural product with multiple mechanisms for atherosclerosis". *Frontiers in Pharmacology*, 16.
- Wan, J., Ma, L., Jiao, X., Dong, W., Lin, J., Qiu, Y., ... Wu, Y. 2024. "Impaired synaptic plasticity and decreased excitability of hippocampal glutamatergic neurons mediated by <scp>BDNF</scp> downregulation contribute to cognitive dysfunction in mice induced by repeated neonatal exposure to ketamine". *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 30(2).
- Wang, B., Dudko, O. K. 2021. "A theory of synaptic transmission". *eLife*, 10, e73585.
- Wang, C., Furlong, T. M., Stratton, P. G., Lee, C. C. Y., Xu, L., Merlin, S., ... Sah, P. 2021. "Hippocampus–Prefrontal Coupling Regulates Recognition Memory for Novelty Discrimination". *The Journal of Neuroscience*, 41(46), 9617-9632.

- Wang, L. 2023. "Entry and Deposit of Aluminum in the Brain". İçinde Neurotoxicity of Aluminum (ss. 39-54). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Weidenhamer, J. D., Fitzpatrick, M. P., Biro, A. M., Kobunski, P. A., Hudson, M. R., Corbin, R. W., Gottesfeld, P. 2017. "Metal exposures from aluminum cookware: An unrecognized public health risk in developing countries". *Science of The Total Environment*, 579, 805-813.
- Wu, Q., Bazzini, A. A. 2023. "Translation and mRNA Stability Control". *Annual Review of Biochemistry*, 92(1), 227-245.
- Wylie, A. C., Short, S. J. 2023. "Environmental Toxicants and the Developing Brain". *Biological Psychiatry*, 93(10), 921-933.
- Xu, J., Wang, H., Ding, K., Zhang, L., Wang, C., Li, T., ... Lu, X. 2014. "Luteolin provides neuroprotection in models of traumatic brain injury via the Nrf2–ARE pathway". *Free Radical Biology and Medicine*, 71, 186-195.
- Xu, K., Liu, Z., Pan, S., Zhang, N., Wu, S., Yang, G., ... Tong, X. 2024. "BMSCs attenuate radiation-induced brain injury induced hippocampal neuronal apoptosis through a PI3K/Akt/Bax/Bcl-2 signaling pathway". *Brain Research*, 1829, 148795.
- Xu, Y., Jia, B., Li, J., Li, Q., Luo, C. 2024. "The Interplay between Ferroptosis and Neuroinflammation in Central Neurological Disorders". *Antioxidants*, 13(4), 395.
- Yanuck, S. F. 2019. "Microglial Phagocytosis of Neurons: Diminishing Neuronal Loss in Traumatic, Infectious, Inflammatory, and Autoimmune CNS Disorders". *Frontiers in Psychiatry*, 10.
- Yokel, R. A. 2025. "Aluminum in beverages and foods: A comprehensive compilation of regulations; concentrations in raw, prepared, and stored beverages and foods; and intake". *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 24(3).
- Yokel, R. A., Hicks, C. L., Florence, R. L. 2008. "Aluminum bioavailability from basic sodium aluminum phosphate, an approved food additive emulsifying agent, incorporated in cheese". *Food and Chemical Toxicology*, 46(6), 2261-2266.
- Yokel, R. A., Sjögren, B. 2022. "Aluminum". İçinde *Handbook on the Toxicology of Metals* (ss. 1-22). Elsevier.
- Younis, R. L., El-Gohary, R. M., Ghalwash, A. A., Hegab, I. I., Ghabrial, M. M., Aboshanady, A. M., ... Khattab, H. 2024. "Luteolin Mitigates D-Galactose-Induced Brain Ageing in Rats: SIRT1-Mediated Neuroprotection". *Neurochemical Research*, 49(10), 2803-2820.
- Yu, J., Zhu, H., Kindy, M. S., Taheri, S. 2021. "Cytochrome P450 CYP2E1 Suppression Ameliorates Cerebral Ischemia Reperfusion Injury". *Antioxidants*, 10(1), 52.
- Zahra, M., Abrahamse, H., George, B. P. 2024. "Flavonoids: Antioxidant Powerhouses and Their Role in Nanomedicine". *Antioxidants*, 13(8), 922.
- Zeng, L., Hu, P., Zhang, Y., Li, M., Zhao, Y., Li, S., Luo, A. 2024. "Macrophage migration inhibitor factor (MIF): Potential role in cognitive impairment disorders". *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 77, 67-75.
- Zghari, O., Rezqaoui, A., Ouakki, S., Lamtai, M., Chaibat, J., Mesfioui, A., ... Ouichou, A. 2018. "Effect of Chronic Aluminum Administration on Affective and Cognitive Behavior in Male and Female Rats". *Journal of Behavioral and Brain Science*, 08(04), 179-196.
- Zhang, H., Wei, M., Lu, X., Sun, Q., Wang, C., Zhang, J., Fan, H. 2020. "Aluminum trichloride caused hippocampal neural cells death and subsequent depression-like behavior in rats via the activation of IL-1 $\beta$ /JNK signaling pathway". *Science of The Total Environment*, 715, 136942.

- Zhang, J., Huang, W., Xu, F., Cao, Z., Jia, F., Li, Y. 2020. "Iron Dyshomeostasis Participated in Rat Hippocampus Toxicity Caused by Aluminum Chloride". *Biological Trace Element Research*, 197(2), 580-590.
- Zhang, L., Xiang, X., Li, Y., Bu, G., Chen, X.-F. 2025. "TREM2 and sTREM2 in Alzheimer's disease: from mechanisms to therapies". *Molecular Neurodegeneration*, 20(1), 43.
- Zhao, Y., Pogue, A. I., Alexandrov, P. N., Butler, L. G., Li, W., Jaber, V. R., Lukiw, W. J. 2022. "Alteration of Biomolecular Conformation by Aluminum-Implications for Protein Misfolding Disease". *Molecules*, 27(16), 5123.
- Zhen, J.-L., Chang, Y.-N., Qu, Z.-Z., Fu, T., Liu, J.-Q., Wang, W.-P. 2016. "Luteolin rescues pentylentetrazole-induced cognitive impairment in epileptic rats by reducing oxidative stress and activating PKA/CREB/BDNF signaling". *Epilepsy & Behavior*, 57, 177-184.
- Zhou, F., Ouyang, L., Li, Q., Yang, S., Liu, S., Yu, H., ... Fan, G. 2023. "Hippocampal LIMK1-mediated Structural Synaptic Plasticity in Neurobehavioral Deficits Induced by a Low-dose Heavy Metal Mixture". *Molecular Neurobiology*, 60(10), 6029-6042.
- Zhou, W., Hu, M., Hu, J., Du, Z., Su, Q., Xiang, Z. 2021. "Luteolin Suppresses Microglia Neuroinflammatory Responses and Relieves Inflammation-Induced Cognitive Impairments". *Neurotoxicity Research*, 39(6), 1800-1811.
- Zuo, Y., Lu, X., Wang, X., Sooranna, S. R., Tao, L., Chen, S., ... Pang, Y. 2021. "High-Dose Aluminum Exposure Further Alerts Immune Phenotype in Aplastic Anemia Patients". *Biological Trace Element Research*, 199(5), 1743-1753.
- Zygan-Filipiak, K., Adamczuk, P., Łukawski, K. 2025. "The effects of co-exposure to caffeine and heavy metals on learning and oxidative stress in mice". *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 85(1), 49-57.

## ÖZGEÇMİŞ

|                                      |             |
|--------------------------------------|-------------|
| <b>Kişisel Bilgiler</b>              |             |
| <b>Adı Soyadı:</b>                   | Şeyma AYDIN |
| <b>Doğum tarihi:</b>                 |             |
| <b>Doğum Yeri:</b>                   |             |
| <b>Uyruğu:</b>                       |             |
| <b>Adres:</b>                        |             |
| <b>Tel:</b>                          |             |
| <b>E-mail:</b>                       |             |
| <b>Eğitim</b>                        |             |
| <b>Lise:</b>                         |             |
| <b>Lisans:</b>                       |             |
| <b>Yüksek lisans:</b>                |             |
| <b>Doktora:</b>                      |             |
| <b>Yabancı Dil Bilgisi</b>           |             |
| <b>İngilizce:</b>                    |             |
| <b>Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar</b> |             |
|                                      |             |
| <b>Tezden Üretilmiş Yayınlar</b>     |             |
|                                      |             |