



Ratlarda Amiloid Beta1-42 İle Oluşturulan Deneysel Alzheimer Modelinde Tiyol Disülfid Homeostazisi

Ayhan ÇETİNKAYA ¹

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı, amiloid beta 1-42 enjekte edilerek Alzheimer modeli oluşturulan ratlarda, oksidan ve antioksidan dengenin yeni bir oksidatif stres belirteci olan dinamik tiyol disülfid homeostazisinin, serum total tiyol, natif tiyol, ve disülfid seviyelerinin araştırılması ve disülfid/total tiyol ve disülfid/natif tiyol oranlarının değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntemler: Bu deneysel çalışma 28 rat üzerinde gerçekleştirildi. Denekler her grupta 14 adet olacak şekilde, Alzheimer ve kontrol grubu olarak ikiye ayrıldı. Amiloid beta 1-42, enjeksiyon için bir hafta inkubörde bekletilerek toksitesi artırıldı. Alzheimer grubunda yer alan hayvanlara bilateral 4 µl amiloid beta 1-42 enjekte edilerek deneysel Alzheimer modeli oluşturuldu. 10 gün beklenildikten sonra tüm hayvanlardan 90/10 mg/kg ksilazine/ketamin anestezisi altında intra kardiyak alınan kan numuneleri ile laboratuvarında TDH parametreleri çalışıldı (natif tiyol, total tiyol, disülfid, disülfid/total tiyol oranı ve disülfid/natif tiyol oranı) ve bu parametreler gruplar arasında karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, serum total tiyol düzeyleri (469,85±30,65 ve 558,00±23,46) ile serum disülfid düzeyleri (182,57±15,74 ve 224,85±11,95), alzheimer modeli oluşturulan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma görülürken (p<0,05) serum natif tiyol düzeylerinde (104,71±8,17 ve 108,28±9,71) ise anlamlı bir fark bulunamamıştır(p>0,05).

Sonuç: İlgili çalışma, deneysel olarak oluşturulan Alzheimer modellerinde serumda dinamik tiyol-disülfid homeostazisini değerlendiren ilk çalışmadır. Çalışmamızın sonuçları TDH'nin deneysel alzheimer modellerinde, oksidatif stres mekanizmalarının değerlendirilmesinde ucuz ve kolay yeni bir markerı olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Homeostaz; oksidatif stres; alzheimer hastalığı; amiloid beta-peptidler; hayvan deneyleri.

Thiol Disulphide Homeostasis in Amyloid Beta 1-42 Induced Experimental Alzheimer's Model

ABSTRACT

Aim: The aim of the present study was to investigate the dynamic thiol disulphide homeostasis as a novel oxidative stress marker of oxidant and antioxidant balance, and the serum levels of total thiol, native thiol, and disulfide as well as disulphide/total thiol and disulphide/native thiol ratios in rats with Alzheimer's model induced by amyloid beta 1-42 administration.

Material and Methods: This experimental study was carried out on 14 rats. The animals were randomly divided into two groups: Alzheimer's group (n = 14) and the control group (n = 14). The amyloid beta 1-42 was kept in the incubator for a week to increase its toxicity. Animals in the experimental groups were bilaterally administered 4 µl amyloid beta 1-42. Following 10 days of waiting, all animals were anesthetized and intra-cardiac blood samples were collected for the analyses of native thiol, total thiol, disulfide, disulphite / total thiol ratio and disulphite / native thiol ratio.

Results: We detected that serum total thiol levels were 469.85±30.65 and 558.00±23.46 (p<0.05), serum native thiol levels were 104.71±8.17 and 108.28±9.71 (p>0.05) and serum disulphide levels were 182.57±15.74 and 224.85±11.95 (p<0.05) in the study and control groups, respectively.

Conclusion: To the best of our knowledge, the current study is the first report in the literature evaluating dynamic thiol

¹ Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziyoloji AD, Bolu, Türkiye

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Ayhan ÇETİNKAYA, e-mail: cetinkayaayhan@hotmail.com
Geliş Tarihi / Received: 04.03.2020, Kabul Tarihi / Accepted: 24.06.2020

disulphide homeostasis in experimentally induced Alzheimer's model. The results of the present study suggested that thiol disulphide homeostasis can be an inexpensive, easy and novel marker for the evaluation of oxidative stress mechanisms in experimentally induced Alzheimer's model.

Keywords: Homeostasis; oxidative stress; alzheimer disease; amyloid beta-peptides; animal experimentation.

GİRİŞ

Alzheimer Hastalığı (AH) demansın en yaygın sebebi olup yaşın ilerlemesi ile prevalansı artan bir hastalıktır (1). Patofizyolojisinde genetik faktörlerin yanı sıra Nikolac Perkovic and Pivac 2019 3 (2-4), birçok mekanizmanın rolü de büyüktür. Bu yollar içerisinde en iyi bilinenleri otopsi bulguları ile ortaya çıkan amiloid beta (Ab) ve tau proteinleridir (5). Bu patofizyolojik mekanizmaların postmortem olması nedeniyle hastalığın seyrinde farklı mekanizmaların rolünün araştırılması büyük önem arz etmektedir. Birçok hastalıkta temel rol oynayan mekanizmalardan bir tanesi de reaktif oksijen türleridir (ROT) (6,7).

ROT'leri (hidroksil radikali, süperoksit anyonu, lipid peroksit, nitrik oksit, hidrojen peroksit) yaşın ilerlemesi ile beraber artış göstermektedir. Mitokondrilerde hücre oksijeninin büyük bir bölümü (%90) tüketilir. Tüketilen kısmın ROT'a dönüştüğü miktar ise %2'dir. Hem yaşlanma (8,9) burası hem de oluşan ROT hücrede bulunan birçok yapıyı (DNA, protein, lipid) zedelediği için hücre membranında hasarlanma (lipit peroksidasyonu) ve hücrenin fizyolojik çoğalmasını azaltmaktadır (10). Oksidatif stres parametrelerinin Parkinson (11), epilepsi (12), multipl skleroz (13), şizofreni (14), migren (15) gibi farklı nörodejeneratif hastalıklarda da ortak olması hücre düzeyinde yeni oksidatif stres yollarının etkinliğini araştırmaya yönlendirmektedir. Son yıllarda Erel ve arkadaşları (16) tarafından tespiti yapılan tiyol/disülfid homeostazı (TDH) yeni bir oksidatif stres parametresi olarak nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojik mekanizmalarının açıklanmasında katkı sağlayacağını düşündürmektedir (16).

Plazma albümin proteininden oluşan tiyol havuzu, sülfhidril grubu (-SH) içeren bir organik bileşik sınıftır. Bu havuz ayrıca hafif moleküler ağırlıkta olan sistein gibi tiyollerce şekillenmektedir. TDH birden fazla hücresel aktivitede önemli roller üstlenmektedir (apoptoz, detoksifikasyon, hücre büyümesi ve anti-oksidan korunma) (16,17). TDH birçok farklı klinik çalışmalarla nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde rol aldığı gösterilmiştir (18-20).

İlgili çalışma, deneysel olarak oluşturulan Alzheimer modellemelerinde serumda dinamik tiyol-disülfid homeostazını değerlendiren ilk çalışmadır. Bu nedenle, çalışmamız, amiloid beta 1-42 enjekte edilerek Alzheimer modeli oluşturulan ratlarda, oksidan ve antioksidan dengenin yeni bir oksidatif stres belirteci olan dinamik TDH'nın, serum total tiyol, natif tiyol, ve disülfid seviyelerinin araştırılması ve disülfid/total tiyol ve disülfid/natif tiyol oranlarının değerlendirilmesi amacıyla tasarlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney Hayvanları ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Yerel Etik Kurulundan etik kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı (onay tarihi ve no.su: 18.07.2018 ve 2018/24). Bu deneysel çalışma, her biri 200-250 gram Wistar albino cinsi 2-4 aylık erkek ratlar üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmada, en önemli değişkenimiz olan total tiyol seviyesi ($\mu\text{mol/L}$) göz önüne alındığında kontrol grubu; ortalama 558, standart sapma 91, uygulama grubu; ortalama 444, standart sapma 120 olduğunda tip I hata %5 seviyesinde iki grup arasındaki farkı % 80 güç ile yakalayabilmek için her bir gruptaki denek sayısı 14 olarak bulundu. Hayvanlar Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde, üntes marka ısı ve nemlendirme sisteminde 19-21°C sıcaklık, 55-70 nispi nemde ad libitum su ve yemleme ile beslendi. Çift kör randomize olarak hayvanlar 2 gruba ayrıldı: Alzheimer grubu (n=14) ve kontrol grubu (n=14). Tüm hayvanlardan alınan kan numuneleri ile laboratuvarında TDH parametreleri çalışıldı (natif tiyol, total tiyol, disülfid, disülfid/total tiyol oranı ve disülfid/natif tiyol oranı) ve bu parametreler gruplar arasında karşılaştırıldı. Ayrıca çalışma grubundaki hayvanlarda Alzheimer modeli oluşturulmasını teyit etmek amacıyla hipokampus histopatolojik olarak incelendi.

Alzheimer Modelinin Oluşturulması

A β 1-42 (Sigma) çözeltisi her bir hayvana tek enjeksiyonda 5 μl /bilateral verilecek şekilde 7 gün öncesinde 37°C'de inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda AH modeli (AHM) oluşturmak için ratlar 90/10 mg kg intramuskuler (im) ketamin/ksilazin ile anesteziye alındı. steriotaksi aleti ile fikse edilen hayvanlar bregma'nın 3,6 mm posterior, 2.4 mm sol/sağ laterali ve 2.8 mm ventrali koordinatları tespit edilerek 0.8 mm'lik çaptaki matkap ucu ile kafatası delindi. 5 μL Hamilton mikroenjektörü ile 0.5 $\mu\text{L}/\text{dk}$ hızda İntra hipokampal olarak A β ₁₋₄₂ çözeltisi 5 μl /bilateral verildi. Enjeksiyonun ardından 3/0 ipek iplik ile cilt kapatıldı. AHM oluşması için 10 gün beklenildi (21,22). AHM'nin oluştuğu tespit etmek için hematoksilen ezoin boyama ile hipokampus primidal nöran hasar skorlaması yapıldı (23,24).

Natif Tiyol/Total Tiyol/Disülfid Tayini

Alzheimer modeli oluşturulan ve kontrol grubunda bulunan hayvanlar 14 gün sonunda 90/10 mg kg intramuskuler (im) ketamin/ksilazin ile anesteziye alındı. İntrakardiyak olarak biyokimya tüplerine alınan 5 ml kan, 10 dakika 4000 rpm de santrifüj edilerek serumlar ependrof tüpünde -80°C'de saklandı. "Relassay" marka kitler ile tam otomatik biyokimya cihazı (mindray marka BS300 model) kullanılarak dinamik TDH'ını gösteren Erel ve arkadaşları (10) tarafından öne sürülen yeni bir metod ile plazma total tiyol, natif tiyol, ve disülfid seviyeleri ölçüldü. Serbest fonksiyonel tiol grupları oluşturmak için redüklenebilir disülfid bağları indirgenildi. Formaldehit ile artık olan sodyum borohidrit ve 5,5'-dithiobis-(2- nitrobenzoik asit) (DTNB) ürünleri uzaklaştırıldı. İşlemin ardından indirgenmiş natif doğal tiyol grupları belirlendi. Belirlenen formülasyon ile (Total tiyol ile natif tiyol grupları arasındaki farkın yarısı) dinamik disülfid bağların miktarı saptandı. Disülfitle beraber Total ve Natif tiyol, miktarlarının hesaplanması

ile natif tiyol/total tiyol oranları, disülfid/total tiyol, ve disülfid/natif tiyol yüzde oranları belirlendi. Disülfid seviyeleri, disülfid/natif tiyol ve disülfid/total tiyol oranları, natif tiyol/total tiyol seviyeleri Alzheimer modeli oluşturulan ratlarda ve kontrol grubunda karşılaştırıldı. Ayrıca, natif tiyol ve natif tiyol/total tiyol seviyeleri, disülfid, disülfid/natif tiyol ve disülfid/total tiyol seviyeleri arasındaki ilişki incelendi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS (IBM® SPSS® Statistics) V22.0 programı kullanıldı. Çalışmanın sonuçlarından elde edilen veriler ortalama ± standart sapma olarak sunuldu. Kolmogorov Smirnov testi ile deney gruplarından elde edilen verilerin normalliğine bakıldı ve sonrasında Independent samples t testi ile iki grup karşılaştırması yapıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

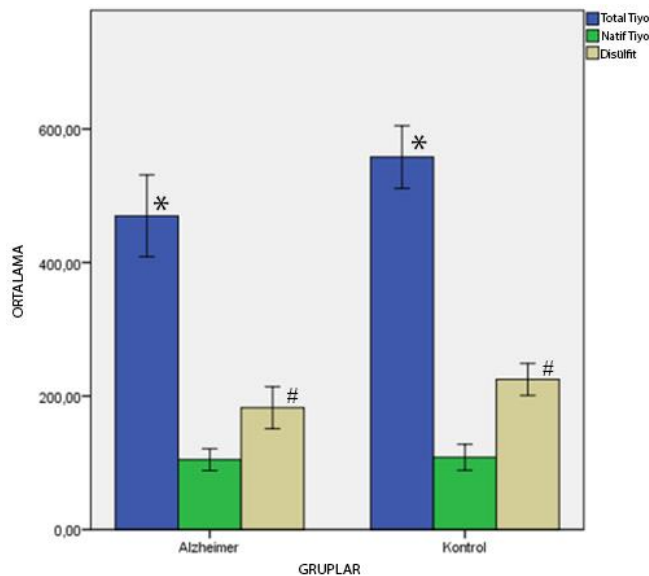
Total Tiyol Sonuçları:

Amiloid β_{1-42} enjekte edilen hayvanların serum/hipokampuslarında total tiyol aktivitesi ($469,85 \pm 30,65$), kontrol grubunda ise ($558,00 \pm 23,46$)'dir. Alzheimer modeli oluşturulan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p < 0,05$ Tablo 1 Şekil 1).

Tablo 1. Tiyol/disülfid homeostazis analizlerinde ortalama değerler açısından Alzheimer ve kontrol gruplar arası farklılıkları gösteren independent samples t testi sonuçları

Ölçülen Değerler	Ortalama Fark	Standart Hata	P	%95 Güven Aralığı	
				Alt Sınır	Üst Sınır
TTL	88,1429*	38,6015	0,031	8,79635	167,4894
NTL	3,57143	12,6972	0,781	-22,528	29,67084
Disülfid	42,2857*	19,7697	0,042	1,64849	82,92294

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır. TTL; Total tiyol seviyesi, NTL; Native tiyol seviyesi



Şekil 1. Gruplar arası tiyol/disülfid homeostazis analizlerinin sonuçları (*Total tiyol seviyeleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$). # Disülfid seviyeleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$).)

Natif Tiyol Sonuçları:

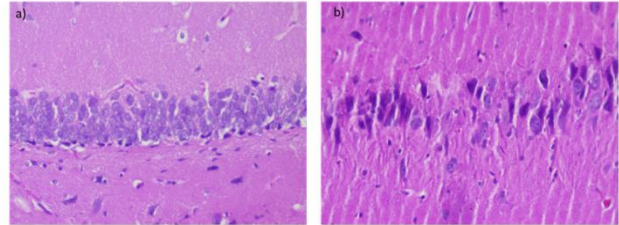
Amiloid β_{1-42} enjekte edilen hayvanların serum/hipokampuslarında natif tiyol aktivitesi ($104,71 \pm 8,17$), kontrol grubunda ise ($108,28 \pm 9,71$)'dir. Natif tiyol düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$ Tablo 1 Şekil 1).

Disülfid Sonuçları:

Amiloid β_{1-42} enjekte edilen hayvanların serum/hipokampuslarında disülfid aktivitesi ($182,57 \pm 15,74$), kontrol grubunda ise ($224,85 \pm 11,95$)'dir. Alzheimer modeli oluşturulan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p < 0,05$ Tablo 1 Şekil 1).

Histopatolojik İnceleme:

AHM'nin oluştuğunu tespit etmek için hipokampusun histopatolojik olarak incelenmesinde ise primidal nöronlarda dejeneratif hücre hasarları dikkati çekti. Bölgedeki primidal nöronların çekirdekleri küçülmüştü, çekirdekçikleri güçlkle seçiliyordu. Sitoplazmaları küçük ve büzüşmüş bir görünüm almıştı. Kromatolizise bağlı olarak daha eozinofilik bir görünümdeydi (Şekil 2).



Şekil 2a ve 2b. Gruplar arası beyin dokularının histopatolojik değerlendirilmesi (Kontrol grubunda (a) anlamlı bir histopatolojik değişiklik göstermezken, deneysel alzheimer modeli oluşturulan gruptaki (b) sıçanların piramidal nöronlarında orta ila şiddetli dejeneratif değişiklikler bulunmaktadır).

TARTIŞMA

İlgili çalışma, deneysel olarak oluşturulan Alzheimer modellerinde serumda dinamik tiyol-disülfid homeostazisini değerlendiren ilk araştırmadır. Çalışmamızın bulgularına göre, AHM oluşturulan ratlarda kontrol grubuna göre hem total tiyol hem de disülfid seviyelerinde düşüş olmasına rağmen, natif tiyol seviyesinde anlamlı bir farklılık tespit edemedik. Daha önceki çalışmalarda oksidatif stresin Alzheimer hastalığının patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (6,25). AH'da olduğu gibi klinikte postmortem kesin teşhisi konulan hastalıkların araştırmalarında deneysel modeller de büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle Erel ve arkadaşlarının bulmuş olduğu yöntem kullanılarak (10), Amiloid β_{1-42} hipokampal enjeksiyonu ile deneysel olarak oluşturulan AHM'de Tiyol/disülfid homeostazisinin rolünü araştırdık. AH, beyin dokusunda lipit, karbonhidrat, protein ve DNA'nın oksidasyonunda bir artış meydana getirebilmektedir. Bu durumda serbest radikaller birçok molekül (lipitler, proteinler, nükleik asitler) ile reaksiyona girerek yapılarını ve işlevlerini değiştirebilir (25). Tiyol disülfid dengesinde ise tiyol, sülfhidril grubunu içeren oksidatif stres durumunu engellemede kritik rolü olan organik bir bileşiktir. Hücrenin dış

yüzeyinde de bulunan tiyol, defansif protein mekanizmalı sisteinle beraber vücudun oksidatif strese karşı korunmasını sağlamaktadır (24). Yapmış olduğumuz çalışmada kontrol grubuna göre Alzheimer grubunda hem total tiyol hem de disülfid seviyelerinde azalma görülmektedir. Tiyol miktarındaki azalma tiyolün kaybına bağlı olabilir. Tiyolün disülfidlerin oksitlenme esnasında kullanımı da azalmanın diğer sebebi olabilir (16,26,27).

Oksidatif stres birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynadığı için son zamanlarda tiyol dengesi önemli bir yer bulmaktadır. Tiyol -SH grubu içeren önemli bir antioksidan moleküldür. Bu moleküller serbest radikallerin vücuda verebileceği zararı elektronları azaltarak önleyebilmektedir. Ayrıca bu reaksiyon tiyollerin disülfite dönüşümünü de gerçekleştirmektedir. İlâveten enzimatik aktivitenin düzenlenmesi, hücre büyümesi, apoptoz ve detoksifikasyon gibi farklı hücrel olaylarda da rol oynamaktadır (28). İntraselüler tiyollerin redoks seviyelerindeki farklılıklar birçok değişik sinyal iletim yollarının düzenlenmesine ve transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna sebep olur. Oksidatif stres reaksiyonları, oksidatif strese cevaben vücutta meydana gelen redoks reaksiyonlarına karşı uyarılan sinyal yollarının bilinen en çok incelenmiş örneklerinden bir kısmıdır. Birçok farklı patofizyolojik olaylarda intraselüler tiyol disülfid redoksundaki farklılıklar ROT'un sebep olduğu hücrel değişikliklere benzer şekilde redoks reaksiyonlarına duyarlı sinyal moleküllerinin kimyasal modifikasyonlarının ortaya çıkmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu sayede belirtilen bu sinyal yolağı tiyol/disülfid redoks seviyesindeki farklılıklara duyarlı olabilir (29).

Erel ve arkadaşlarının bulmuş olduğu bu yöntemle birçok nörodejeneratif hastalığın patofizyolojisinde Tiyol/disülfid dengesinin araştırıldığı görülmüştür ve bu hastalıklarda oksidatif stresin bir indikatörü olarak Tiyol/disülfid homeostazı kolay ulaşılabilir, basit ve ucuz bir yöntem olarak önerilmiştir (18-20). Erzin ve ark. tarafından bipolar hastalar üzerine yapılan klinik bir çalışmada bipolar hastalıkta total tiyol miktarında kontrol grubuna göre azalma görülmektedir (20). Farklı bir çalışmada ise şizofreni hastalarında kontrol grubuna göre yine total tiyol seviyelerinde azalma görülmektedir (19). Farklı nörodejeneratif hastalıklarda tiyol miktarlarında meydana gelen azalma nöronların tiyol yetersiz alımıyla beraber nöromelanin ve feomelanin sentezi gibi diğer sentezlerde kullanılmasından kaynaklanabilir (16,30).

Gümüşyayla ve arkadaşlarının klinikte Alzheimer hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada total tiyol ve natif tiyol seviyeleri alzheimer hastalarında kontrole göre anlamlı derecede düşüş sağlamıştır. Bunun yanı sıra disülfid seviyesinde ise gruplar arasında bir farklılık bulunmamıştır (31). Bizim yaptığımız çalışmada ise hem total tiyol hem de disülfid seviyesinde anlamlı derecede düşüş tespit edilmiştir. Alzheimer teşhisi konulan hastalarda demansa üzerinden yapılan teşhis ile tanıya gidilmektedir. Demansa sebebiyet veren birçok hastalıkta Alzheimer teşhisi konulabilmektedir. Yaptığımız çalışma total tiyol seviyesindeki azalmanın klinik AD hastalığı ile aynı doğrultuda olduğunu göstermiştir. Ancak natif tiyol ve disülfitte korelasyonun olmaması yaptığımız çalışmada ELİSA yöntemi ile ölçümün yapılması, diğer

çalışmada ise otomatik kolorimetrik yöntemin kullanılması nedeniyle olabilir. Çünkü bizim çalışmamızda kullanılan ELİSA yönteminin kolorimetrik yönetime kıyasla sensitivite ve spesifitesi daha düşük olduğu bildirilmiştir (32).

Çalışmamızın bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. Çalışmamızda rutinde Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan bir ilaç grubu ile karşılaştırmanın yapılmamasıdır. Bunun yanı sıra örneklem büyüklüğünün nispeten az olması ve deneysel olarak oluşturulan farklı Alzheimer modelleri (streptozosidin gibi) ile değerlendirilmemesi çalışmanın kısıtlı olduğu alanlardır.

SONUÇ

İlgili çalışma, deneysel olarak oluşturulan Alzheimer modellerinde serumda dinamik tiyol-disülfid homeostazını değerlendiren ilk araştırmadır. Çalışmamızın sonuçları TDH'nin deneysel alzheimer modellerinde, oksidatif stres mekanizmalarının değerlendirilmesinde ucuz, kolay ve yeni bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir. Ancak çalışmamızın sonuçlarını desteklemek ve daha kuvvetli bilimsel kanıtlar elde etmek için daha geniş örneklem büyüklüğüne sahip daha ileriki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Association AS. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2016; 12(4): 459-509.
2. Bettens K, Slegers K, Van Broeckhoven C. Current status on Alzheimer disease molecular genetics: from past, to present, to future. *Hum Mol Genet*. 2010; 19(R1): 4-11.
3. Nikolac Perkovic M, Pivac N. Genetic markers of Alzheimer's disease. *Adv Exp Med Biol*. 2019; 1192: 27-52.
4. Tiwari S, Atluri V, Kaushik A, Yndart A, Nair M. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Int J Nanomedicine*. 2019; 2019(14): 5541-54.
5. Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease. *Science*. 2006; 314(5800): 777-81.
6. Reddy VP, Zhu X, Perry G, Smith MA. Oxidative stress in diabetes and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2009; 16(4): 763-74.
7. Tobore TO. On the central role of mitochondria dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurol Sci*. 2019; 40(8): 1527-40.
8. Zhang H, Forman HJ. 4-hydroxynonenal-mediated signaling and aging. *Free Radic Biol Med*. 2017; 111: 219-25.
9. Moldogazieva NT, Mokhosoev IM, Mel'nikova TI, Porozov YB, Terentiev AA. Oxidative stress and advanced lipoxidation and glycation end products (ALEs and AGEs) in aging and age-related diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 2019: 3085756.
10. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 482(3): 419-25.
11. Puspita L, Chung SY, Shim JW. Oxidative stress and cellular pathologies in Parkinson's disease. *Mol Brain*. 2017; 10(1): 53.

12. da Fonsêca DV, da Silva Maia Bezerra Filho C, Lima TC, de Almeida RN, de Sousa DP. Anticonvulsant essential oils and their relationship with oxidative stress in epilepsy. *Biomolecules*. 2019; 9(12): 1-40.
13. Padureanu R, Albu CV, Mititelu RR, Bacanoiu MV, Docea AO, Calina D, et al. Oxidative stress and inflammation interdependence in Multiple sclerosis. *J Clin Med*. 2019; 8(11): 1-11.
14. Sawa A, Sedlak TW. Oxidative stress and inflammation in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2016; 176(1): 1-2.
15. Tripathi GM, Kalita J, Misra UK. A study of oxidative stress in migraine with special reference to prophylactic therapy. *Int J Neurosci*. 2018; 128(4): 318-24.
16. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clinical Biochemistry*. 2014; 47(18): 326-32.
17. Jones DP, Liang Y. Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. *Free Radic Biol Med*. 2009; 47(10): 1329-38.
18. Sabens EA, Distler AM, Mieyal JJ. Levodopa deactivates enzymes that regulate thiol-disulfide homeostasis and promotes neuronal cell death: Implications for therapy of parkinson's disease. *Biochemistry*. 2010; 49(12): 2715-24.
19. Topcuoglu C, Bakirhan A, Yilmaz FM, Neselioglu S, Erel O, Sahiner SY. Thiol/disulfide homeostasis in untreated schizophrenia patients. *Psychiatry Research*. 2017; 251: 212-6.
20. Erzin G, Kotan VO, Topçuoğlu C, Özkaya G, Erel Ö, Yüksel RN, et al. Thiol/disulphide homeostasis in bipolar disorder. *Psychiatry Research*. 2018; 261: 237-42.
21. Jean YY, Baleriola J, Fà M, Hengst U, Troy CM. Stereotaxic infusion of oligomeric amyloid-beta into the mouse hippocampus. *J Vis Exp*. 2015; 100: e52805.
22. Facchinetti R, Bronzuoli MR, Scuderi C. An animal model of Alzheimer disease based on the intrahippocampal injection of amyloid β -peptide (1-42). *Methods Mol Biol*. 2018; 1727: 343-52.
23. Sugawara T, Kawase M, Lewén A, Noshita N, Gasche Y, Fujimura M, et al. Effect of hypotension severity on hippocampal CA1 neurons in a rat global ischemia model. *Brain Res*. 2000; 877 (2): 281-7.
24. Lee JH, Shin HK, Park SY, Kim CD, Lee WS, Hong KW. Cilostazol preserves CA1 hippocampus and enhances generation of immature neuroblasts in dentate gyrus after transient forebrain ischemia in rats. *Exp Neurol*. 2009; 215(1): 87-94.
25. Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med*. 1997; 23(1): 134-47.
26. McBean GJ, Aslan M, Griffiths HR, Torrão RC. Thiol redox homeostasis in neurodegenerative disease. *Redox Biol*. 2015; 5: 186-94.
27. Xiao Z, La Fontaine S, Bush AI, Wedd AG. Molecular mechanisms of glutaredoxin enzymes: Versatile hubs for thiol-disulfide exchange between protein thiols and glutathione. *J Mol Biol*. 2019; 431(2): 158-77.
28. Coşkun C, Emre HÖ, Gümüş A, Uzun S, Karadağ S, Behlül A, ve ark. Diyabetik ve diyabetik olmayan kronik böbrek yetmezliğinde dinamik tiyol disülfit homeostazı ve ileri protein oksidasyon ürünleri (AOPPs). *Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 2016; 6(12): 1-9.
29. Büyükgüzel E, Akın R. Redoksa duyarlı sinyal iletiminde reaktif oksijen türlerinin (ROT) rolü. *Karaelmas Science & Engineering Journal*. 2014; 4(2); 70-81.
30. Zecca L, Zucca FA, Wilms H, Sulzer D. Neuromelanin of the substantia nigra: a neuronal black hole with protective and toxic characteristics. *Trends Neurosci*. 2003; 26(11): 578-80.
31. Gumusyayla S, Vural G, Bektas H, Deniz O, Neselioglu S, Erel O. A novel oxidative stress marker in patients with Alzheimer's disease: dynamic thiol-disulphide homeostasis. *Acta Neuropsychiatr*. 2016; 28(6): 315-20.
32. Samineni S, Parvataneni S, Kelly C, Gangur V, Karmaus W, Brooks K. Optimization, comparison, and application of colorimetric vs. chemiluminescence based indirect sandwich ELISA for measurement of human IL-23. *J Immunoassay Immunochem*. 2006; 27(2): 183-93.