



**Oxyresveratrolün, Deneysel Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonunda Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkisi**  
Protective Effect of Oxyresveratrol Against Oxidative Stress in Experimental Age-Related Macula Degeneration  
**Cansu KARA ÖZTABAĞ**<sup>1\*</sup>, **Akif Hakan KURT**<sup>2</sup>, **Lokman AYAZ**<sup>3</sup>, **Mehmet Ali SUNGUR**<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Disiplinlerarası Sınır Bilimleri Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

<sup>2</sup>Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

<sup>3</sup>Trakya Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

<sup>4</sup>Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim, Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye

**Geliş Tarihi (Received):** 04.12.2022

**Kabul Tarihi (Accepted):** 16.12.2022

**Yayın Tarihi (Published):** 30.12.2022

**Öz**

**Amaç:** Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD), retina pigment epitel kompleksinin nörodejenerasyonunun neden olduğu görme kaybı ile karakterize kronik bir hastalıktır. Fazla oluşan reaktif oksijen türleri (ROS), makula dejenerasyonu başta olmak üzere retina hastalıklarının gelişmesinde önemli rol oynar. Başlıca ROS'lar ise; peroksinitritler, süperoksit radikaller ve hidrojen peroksitlerdir. Çalışmamızda hücre kültürü ortamında hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile oluşturulan oksidatif hasar öncesi oksiresveratrolün koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** İnsan retina pigment epitel (ARPE-19) hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oksidatif stres oluşturuldu. Oksidatif hasar öncesi oksiresveratrol 7 farklı konsantrasyonda uygulandı. Koruyucu etkiler, XTT hücre proliferasyonu testi ile hücre canlılığındaki değişiklik izlenerek araştırıldı. Oksiresveratrolün koruyucu etkisini moleküler düzeyde araştırmak için kaspaz-3 ve hücre ölüm tespit kiti kullanıldı.

**Bulgular:** Çalışmamızda ARPE-19 hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşturulan oksidatif hasar öncesi oksiresveratrol uygulaması hücre canlılığını artırarak hücrede oksidatif hasara karşı koruyucu etkinlik göstermiştir. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgulara; oksiresveratrol ARPE-19 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşturulan oksidatif hasar oluşum öncesi uygulandığında 100 µM konsantrasyonda hücre hasarını yaklaşık %15 oranında azaltmıştır, buna ek olarak, hücre ölüm tespiti ve kaspaz-3 sonuçlarına göre, oksiresveratrolün oksidatif hasara karşı apoptotik hücre ölümünü azaltarak koruyucu etkinlik göstermektedir.

**Sonuç:** Bu in vitro çalışma oksiresveratrolün koruyucu etkisinin geliştirilmesi için ön çalışma niteliğindedir. Oksiresveratrol, deney hayvanları ve klinik çalışmalar sonrasında, başta YBMD olmak üzere retina hastalıklarının önlenmesinde etkin bir terapötik ajan olarak geliştirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** ARPE-19, Oksiresveratrol, Oksidatif Stres, Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu

**&**

**Abstract**

**Objective:** Age-related-macular-degeneration (AMD) is a chronic disease characterized by vision loss caused by neurodegeneration of the retinal pigment epithelial complex. Excess reactive oxygen species(ROS) play an important role in the development of retinal diseases, especially macular degeneration. The main ROS are; peroxynitrides, superoxide radicals and hydrogen peroxides. In our study, we aimed to investigate the protective effect of before oxidative damage induced by hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) in cell culture.

**Materials and Methods:** Oxidative stress was induced with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in human retinal pigment epithelial(ARPE-19) cells. Oxyresveratrol was applied at 7 different concentrations before oxidative damage. Protective effects were investigated by monitoring the change in cell viability with the XTT cell proliferation assay. Caspase-3 and cell-death-detection kit were used to investigate the protective effect of oxyresveratrol and its molecular mechanism.

**Results:** In our study, oxyresveratrol application before oxidative damage induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in ARPE-19 cell line increased cell viability and showed protective activity against oxidative damage in the cell. In the findings we obtained as a result of our study; When oxyresveratrol was applied to ARPE-19 cells before the oxidative damage induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, it reduced cell damage by about 15% at 100 µM concentration. In addition, according to cell death detection and caspase-3 results, oxyresveratrol showed protective activity against oxidative damage by reducing apoptotic cell death.

**Conclusion:** This in vitro study is a preliminary study for the development of the protective effect of oxyresveratrol. Oxyresveratrol can be developed as an effective therapeutic agent in the prevention of retinal diseases, especially AMD, after experimental animals and clinical studies.

**Keywords:** ARPE-19, Oxyresveratrol, Oxidative Stress, Age-Related Macular Degeneration

**Atıf/Cite as:** Kara Öztabağ C. , Kurt A. H. , Ayaz L. , Sungur M. A. Oxyresveratrolün, Deneysel Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonunda Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkisi. Abant Med J. 2022; 11(3): 320-327, doi:10.47493/abantmedj.1213603

**Copyright** © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

\*Sorumlu Yazar (Corresponding Author): Dr. Cansu Kara Öztabağ, e-mail: cnskr\_90@hotmail.com

## Giriş

Yaş bağlı makula dejenerasyonu (YBMD), fotoreseptör RPE kompleksinin nörodejenerasyonunun neden olduğu görme kaybı ile karakterize kronik bir hastalıktır. Dünya çapında yaklaşık 200 milyon insanı etkiler, katarakt ve glokomdan sonra üçüncü sırada yer alan körlük nedenidir. Daha da önemlisi, YBMD prevalansı son yıllarda önemli ölçüde artış göstermektedir. 2040 yılında 288 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (1).

Yaş, YBMD gelişimi için ana risk faktörüdür; ancak sigara kullanımı, güneş ışığına maruz kalma, alkol tüketimi, artmış vücut kitle indeksi, hiperlipidemi, hipertansiyon, iris pigmentasyonu, geçirilmiş katarakt cerrahisi, lipid profil bozukluğu genetik faktörler ve oksidatif stres başlıca risk faktörleridir (2).

Retina beyne açılan bir penceredir (3). Merkezi sinir sisteminin bir parçası olan retina, biyoenerjetik (ATP üretimi), ışık algısı ve görsel işleme için büyük miktarda glikoz ve oksijen tüketir (4). Retina ayrıca sıkı kan retina bariyerlerine (KRB) sahiptir ve nöroretini dolaşımdaki bağışıklık hücrelerinden ve plazma bileşenlerinden korur (5). Retina pigment epiteli (RPE), fenestre koriocapillaris'i nöroretinadan ayırır, çubuk ve koni fotoreseptörlerinden oluşan retina dış segmentlerine glikoz, oksijen ve besinleri taşıma işlevini yerine getirir (6, 7). RPE disfonksiyonunun bozulması YBMD ile ilişkiliyken, RPE ve fotoreseptördeki gen mutasyonu retinitis pigmentosa (RP) dahil fotoreseptör dejenerasyonuna ve körlüğe neden olur (8-11).

YBMD gelişimindeki moleküler mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Fakat, oksidatif stres Bruch membranının geçirgenliğini etkileyerek, koroidal neovasküler membran (KNV) gelişimine sebep olmaktadır (2). Bunun sonucunda da oksidatif hasar, lipofuksin birikimi, kronik inflamasyon ve apoptozis ile ilişkili mekanizmalardaki mutasyonlar YBMD patogenezinde rol oynayan biyolojik yollardır (12).

YBMD, erken, orta ve geç tip YBMD olarak sınıflandırılır. Geç tip YBMD hastalarının % 10'unda ıslak tip, % 90'ında ise kuru tip, YBMD görülür (13).

Kuru (atrofik) tip YBMD genellikle yavaş ve ağrısız seyrederek. Düz çizgilerin yamuk görülmesi, görme alanında bulanık bir nokta görme bir veya iki gözde merkezi ve renkli görmede azalma, kuru tip YBMD'nin semptomları arasında yer alır (14, 15).

Islak (neovasküler, eksüdatif) tip YBMD, makula bölgesinin altında gelişen anormal kan damarları ile karakterizedir (16). Kötü şekilde biçimlenmiş bu damarlar doku içinde fazla sıvı sızıntısına neden olarak vasküler bütünlüğü bozar (13, 16). YBMD'nin tedavisi semptomatik tedavilerle sınırlıdır (17). Son yıllarda YBMD'den sorumlu genlerinin tanımlanması, hastalık patogenezinde inflamasyon ve oksidatif stresin rolünün anlaşılması ile koruyucu terapötik yaklaşımların geliştirilmesi için altta yatan mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmaktadır (1). Islak YBMD tedavileri, göz enfeksiyonu, retina dekolmanı, yapısal göz hasarı, daha hızlı katarakt başlangıcı ve şiddetli görme kaybı da dahil olmak üzere komplikasyon riskleri taşımaktadır. Bu nedenle koruyucu tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır (18).

Oksidatif stres, serbest radikallerin oluşumu ile bunların ortadan kaldırılmasından sorumlu endojen antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik sonucunda ortaya çıkar (19). Bu serbest radikaller, DNA, lipidler, proteinler ve nükleik asitlerin, oksijen veya azot türlerinden zarar görmesine neden olur. Yaşlanmanın altında yatan kesin hücrel mekanizmalar hala belirsizdir, ancak oksidatif hasarın, organların, dokuların ve hücrelerin işlev kaybına neden olduğu bilinmektedir (19). Oksidatif stres, glokom, diyabetik retinopati, retinal ven tıkanıklığı ve YBMD gibi retina hastalıklarının gelişmesinde ve hızlanmasında da kritik öneme sahiptir. Başlıca serbest radikaller; süperoksit radikaller, peroksinitritler ve hidrojen peroksitlerdir (20-22).

Stilbenler, bir etanol veya etilen molekülü ile birleştirilmiş iki benzen halkası içerirler, doğal olarak oluşan fitoaleksinlerdir ve fenilpropanoid yolu ile sentezlenirler (23). Stilbenler, trans stereoizomerler olarak bulunan çok çeşitli bitki kaynaklarından elde edilebilirler. Yer fıstığı (*Arachis hypogaea*), üzüm asması

(*Vitis vinifera*), çam türleri (*Pinustürleri*) ve dutlarda bulunurlar (*Morus Alba*). Antioksidan özellik başta olmak üzere, antiinflamatuvar, vazoprotektif, antikanser antimikrobiyal gibi önemli biyolojik özelliklere sahiptir (23).

Oksiresveratrol (2,3',4,5'-tetrahidroksistilben), kimyasal yapıya sahip  $C_{14}H_{12}O_4$ ; moleküler ağırlığı 244,24 g/mol olan doğal bir stilbendir (24). Oksiresveratrol hem serbest hem de glikozidik formlarda meydana gelir ve dört OH grubuna sahiptir (24).

Oksiresveratrol, *Morus Alba*'nın (beyaz dut) kökünde bulunan bir bileşik olan Mulberroside A'nın hidrolitik aktivasyonu ile sentezlenen bir stilben ve fitoöstrojendir. Antioksidasyon, antiinflamatuvar, antiviral, serbest radikal temizleme faaliyetleri tirozinaz inhibitör ve nöroprotektif, aktiviteleri bulunmaktadır (24-28). Bununla birlikte, güncel çalışmalar arasında ARPE-19 hücrelerinde oksiresveratrolün oksidatif stresi önleyici etkisinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız bu çalışma ile oksiresveratrolün retina pigment epitel hücrelerinde hidrojen peroksit ile oluşturulan oksidatif hasara karşı koruyucu etkisini tespit etmenin yanı sıra bu etkinin moleküler mekanizmasını da araştırmayı amaçladık.

## Gereç ve Yöntemler

### Çalışma Hücre Kültürü Uygulamaları

İnsan retina pigment epitel (ARPE-19) hücre hattı, Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonundan (ATCC, Manassas, VA, ABD) alındı. Hücre hattı 100 µ/ml penisilin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ve %10 Fetal Bovine Serum (FBS; Gibco/BRL, Gaithersburg, MD, ABD) ile desteklenmiş Dulbecco Modified Eagle Medium/F12 (DMEM/F12) içerisinde 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'lik varlığında kültürlendi. Hücreler 2-3 günde bir invert mikroskop ile muayene edildi ve %75-80 yoğunluğa ulaştıklarında seyreltilerek pasajlar yapıldı.

### ARPE-19 Hücrelerinde Oksidatif Hasar Oluşum Öncesi Oksiresveratrolün Etkisinin Değerlendirilmesi

Oksidatif hasar oluşumu öncesi oksiresveratrol uygulaması için etkinliğinin belirlenmesi amacıyla 96 kuyucuklu platelere eşit sayıda ekildi %5 CO<sub>2</sub> ve %95 hava içeren etüv içerisinde, 37 °C' de 48 saat boyunca inkübe edildi. Ardından kontrol, çözücü kontrol ve oksiresveratrol (Sigma-Aldrich, Chemie GmbH Eschenstrasse, Taufkirchen) farklı konsantrasyonlarda (100, 10, 1, 0,1, 0,01, 0,001 ve 0,0001 µM) 100 µl uygulanarak, 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda üzerine 400 µM konsantrasyonda 100µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) uygulandı 20 saat inkübe edildi. Sonrasında XTT solüsyonu hazırlanarak hücre canlılığı değerlendirildi.

### Hücre Proliferasyon Canlılık Testi II (XTT)

Bu çalışmada, ARPE-19, Hücre hücre proliferasyonu değerlendirmek amacı ile XTT (2,3-bis [2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil]-2H-tetrazolyum-5- karboksianilid tuzu) yöntemi kullanılmıştır (29). XTT (Cell Proliferation Kit II (XTT) çözeltisi eklenip 4 saat bekletildi sonrasında, absorbans değerleri mikropate okuyucu ile saptandı.

Yüzde Canlılık = [Örnek ABS ortalama / Kontrol ABS ortalama] x 100

### Biyokimyasal Analizler

#### Hücre Ölüm Tespiti

Çalışmamızda kullandığımız Hücre Ölümü Tespiti Kiti ELISA (Cell Death Detection ELISA Roche 11 544 675 001), apoptoz geçiren hücrelerin sitoplazmasında mevcut olduğu bilinen histonla ilişkili DNA fragmanlarını (mono ve oligonükleozomlar) analiz etmek için kullanıldı. ARPE-19 hücreleri 6 kuyucuklu platelere ekildi, bir gece inkübe edildikten sonra oksiresveratrol ve hidrojen peroksit uygulamaları yapıldı 20 saatlik inkübasyon süresini tamamlamak üzere 37°C inkübatörde bekletildi. Hücre ölümü tespiti kiti protokolü uygulandı. Elisa plaka okuyucu ile birincil dalga uzunluğu olarak 450 nm spektrofotometrede her mikro kuyunun absorbansını okundu.

### Kaspaz-3

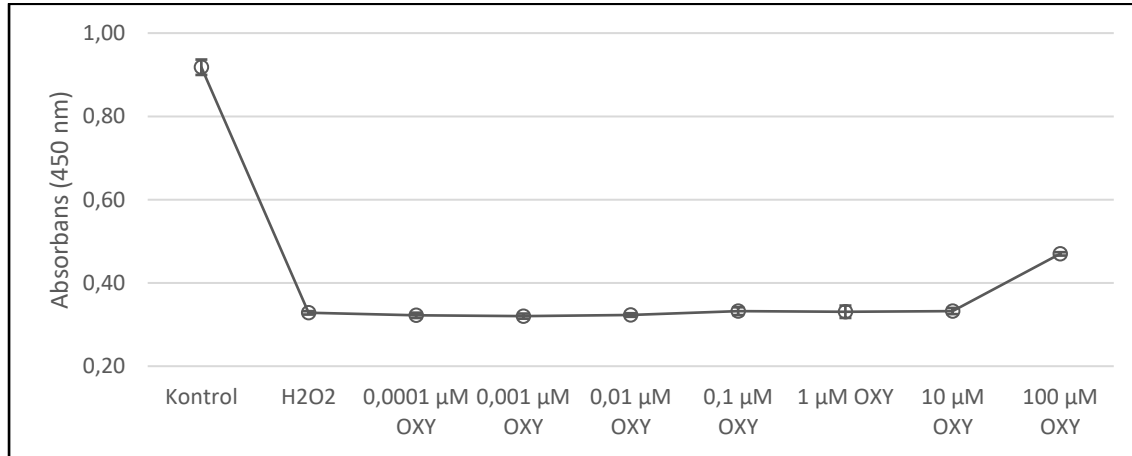
Kaspaz-3'ün kantitatif tespiti için Human Caspase-3 Instant ELISA Kiti kullanılmıştır. ARPE-19 hücreleri 6 kuyucuklu platalere ekildi, bir gece inkübe edildikten sonra oksiresveratrol ve hidrojen peroksit uygulamaları yapıldı 20 saatlik inkübasyon süresini tamamlamak üzere 37°C inkübatörde bekletildi. Human Caspase-3 Instant ELISA Kiti protokolü uygulandı. Elisa plaka okuyucu ile birincil dalga uzunluğu olarak 450 nm spektrofotometrede her mikro kuyunun absorbansını okundu.

### İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde normal dağılım önşartı Shapiro-Wilk testiyle analiz edilmiş, basıklık ve çarpıklık katsayıları da incelenmiştir. Grupların karşılaştırılmasında One-Way ANOVA testi kullanılmış, çoklu karşılaştırmalar için Fisher's LSD post hoc test ve uygulamaların kontrol grubu ile kontrolün hidrojen peroksit grubu ile karşılaştırılması için Dunnet post hoc testi kullanılmıştır. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri ortalama ve standart sapma ile tablo halinde verilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS v.22 paket programı aracılığı ile yapılmış ve anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edilmiştir.

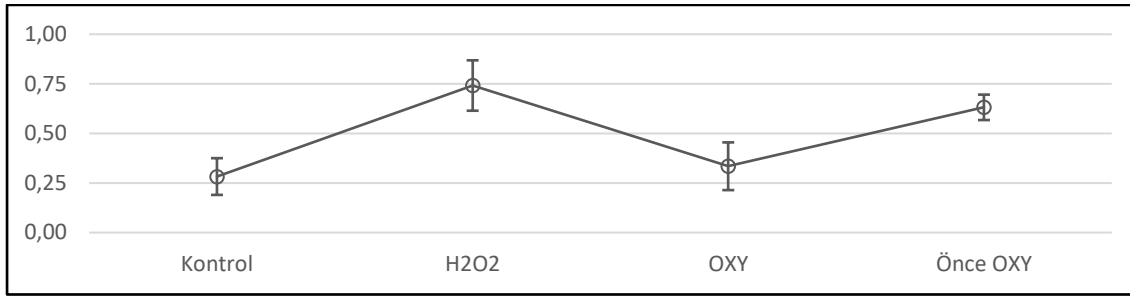
### Bulgular

Hücre kültürü ortamında YBMD modelinde, koruyucu ajan olarak kullanılan oksiresveratrol, ARPE-19 hücrelerinde 400 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşturulan oksidatif hasar öncesi farklı konsantrasyonlarda uygulandığında, 100 µM oksiresveratrol konsantrasyonunda hidrojen peroksitin oluşturduğu hücre hasarını yaklaşık %15 oranında azaltarak istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmuştur (p<0,001; Şekil 1).

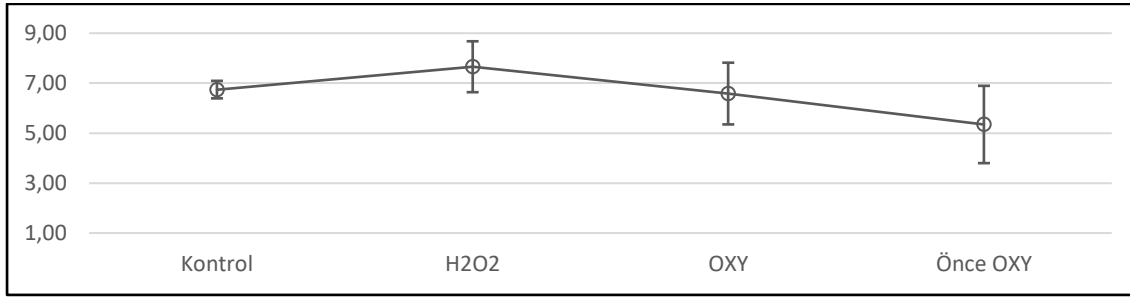


**Şekil 1.** ARPE-19 hücrelerinde oksidatif hasar oluşum öncesi oksiresveratrolün (OXY) hücre canlılığına etkisi

Nöroprotektif ajan olarak kullanılan oksiresveratrol, ARPE-19 hücrelerinde 400 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşturulan oksidatif hasar öncesinde 100 µM uygulandı, hücre ölümü H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> grubuna kıyasla tüm çalışma gruplarında azalmıştır. Önce oksiresveratrol grubunda da azalma görülmesine karşın H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> grubu ile istatistiksel olarak benzerlik göstermektedir. Oksiresveratrolün oksidatif stres altında ARPE-19 hücrelerinde apoptozu baskıladığı görülmektedir (p<0,001; Şekil 2). Kaspaz-3 aktivitesi ise, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> grubuna kıyasla tüm çalışma gruplarında azalmıştır. Önce oksiresveratrol grubu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> arasında istatistiksel anlamlı bir şekilde hücre ölümünde azalma görülmektedir (p<0,001; Şekil 3). Oksiresveratrolün oksidatif stres altında ARPE-19 hücrelerinde mitokondri aracılı apoptozu baskıladığını göstermektedir (p<0,001; Şekil 3).



**Şekil 2.** ARPE-19 hücrelerinde oksidatif hasar oluşum öncesinde oksiresveratrol (OXY) uygulamasında hücre ölümünün değerlendirilmesi



**Şekil 3.** ARPE-19 hücrelerinde oksidatif hasar oluşum öncesinde oksiresveratrol (OXY) uygulamasında kaspaz-3 aktivitesinin değerlendirilmesi

## Tartışma

Yaşlılık döneminde birçok dejeneratif hastalıkla karşılaşabilmektedir. YBMD de bunlar arasında yer alır. YBMD'nin prevalansı gün geçtikçe artış göstermektedir (1). Mevcut farmakoterapi ise semptomatik tedaviler ile sınırlı olası alternatif tedavi arayışlarını arttırmıştır (30). Son dönemde, sorumlu genlerinin tanımlanması, inflamasyon ve oksidatif hasarın rolünün anlaşılması ile yeni terapötik yaklaşımlar geliştirilmeye çalışılmaktadır (1). Hiperlipidemi, hipertansiyon, iris pigmentasyonu, geçirilmiş katarakt cerrahisi, lipid profil bozukluğu ve genetik olarak risk gurubunda olan bireylerde YBMD gelişmesinin önlenmesi hedeflenmektedir. Bu hasarların önlenmesi ve serbest radikallerin temizlenmesi için çeşitli fitoöstrojenlerin ve antioksidanların etkin olacağı düşünülmektedir (1, 31). Güçlü antioksidan özelliğe sahip olan oksiresveratrolün oksidatif strese karşı doğrudan ROS süpürme ve apoptotik yollar üzerinden nöroprotektif etki gösterdiği bilinmektedir (26-28, 32).

Çalışmamızda oksiresveratrolün hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif hasarda koruyucu etkilerini hücre kültürü ortamında araştırılmasını hedefledik. Çalışmamız, ARPE-19 hücre hattında oksidatif stresin oluşturduğu hasarda oksiresveratrolün koruyucu rolünün araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgularda; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile ARPE-19 hücrelerinde oluşturulan oksidatif hasar oluşum öncesi oksiresveratrol uygulandığında 100 µM konsantrasyonda hücre hasarını yaklaşık %15 oranında azalttığı, görüldü.

Hu ve Ark., insan mercek epitel hücre (HLEC)'lerinde yaptıkları çalışmada H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşturulan oksidatif hasarda. HLEC hücreleri oksidatif stres öncesi 1 saat boyunca oksiresveratrol (0, 1, 5, 10 veya 20 µM) ile inkübe edilmiştir. Hücre canlılığı tespiti için 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi kullanılmış ve oksiresveratrolün doza bağlı bir şekilde koruyucu etki gösterdiği sonucuna varılmıştır (33). Lorenz ve Ark., yaptığı çalışmada ise, sıçan astroglial hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşturulan oksidatif stresten 30 dakika önce 100 µM oksiresveratrol uygulaması yapılmış ve diklorofloresine (DCF) ile ölçüm yapılmıştır. Oksiresveratrol uygulaması güçlü bir koruma sağlamıştır (34). Yaptığımız çalışmada da

nöroprotektif etkisini deneğimiz oksiresveratrolün H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı oksidatif hasara karşı koruyucu etkileri, bulgularımızın literatürlerle uyum içinde olduğunu göstermektedir.

Oksidatif stres sırasında artan aşırı ROS üretimi voltaja duyarlı kalsiyum kanalları ve birçok iyon kanalını uyararak sitozole kalsiyum geçişine bağlı olarak serbest radikallerin üretimini de arttırmaktadır. Bu kısır döngü lipid peroksidasyonunu arttırarak apoptozu indüklemektedir (35). Sıçan kortikal nöronlarında N-metil-D-aspartat (NMDA) ile indüklenen nöronal hücre hasarında oksiresveratrolün hücre içi Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonundaki artışı baskılayarak, sıçan kortikal nöronlarını indüklenen apoptotik hücre ölümüne karşı koruduğu sonucuna varılmıştır (36). Chao ve Ark. oksiresveratrolün parkinson hastalığındaki nöroprotektif etkilerini araştırmak amacı ile yaptıkları çalışmada, nöroblastoma (SH-SY5Y) hücrelerinde 6-hidroksidopamin (6-OHDA) nörotoksitesi oluşturulmuştur. SH-SY5Y hücreleri 30 dakika boyunca 25 µM oksiresveratrol veya resveratrol ile inkübe edilmiştir, ardından 2 veya 6 saat boyunca 25 µM 6-OHDA inkübe edilmiştir. Nörotoksite öncesi oksiresveratrol uygulanan gruplarda, oksiresveratrol kaspaz-3 aktivitesini yaklaşık %50 oranında baskılayarak nöroprotektif etki göstermiştir. Resveratrol ile karşılaştırıldığında, oksiresveratrolün nöroproteksiyonda daha etkili olduğu bildirilmiştir (37). Çalışmamızda ise; hücre ölümü tespiti ve kaspaz-3 sonuçlarına göre oksiresveratrol, ARPE-19 hücre hattında hidrojen peroksit ile indüklenen hücre hasarına karşı apoptotik hücre ölümünü azaltarak koruyucu etkinlik göstermektedir.

Çalışmamızda antioksidan etkinliğe sahip olduğu bilinen oksiresveratrolün ARPE-19 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşturulan oksidatif hasara karşı koruyucu etkileri ortaya konmuş. Bu in vitro çalışma koruyucu etkinin geliştirilmesi için ön çalışma niteliğindedir. Oksidatif stres kaynaklı ilerleyici dejenerasyon, diyabetik retinopati ve YBMD'nin önlenmesinde deney hayvan ve klinik çalışmalar sonrasında koruyucu bir terapötik ajan olarak geliştirilebilir.

**Etik Kurul Onamı:** Hazır hücre hattı kullanılması nedeniyle etik kurul onayı alınmamıştır.

**Bilgilendirilmiş Onam:** Çalışmada insan gönüllüler kullanılmamıştır.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje numarası: 2020.08.36.1477) tarafından desteklenmiştir.

## Kaynakça

1. Wang WL, Su X, Li X, Cheung CMG, Klein R, Cheng CY, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2014; 2(2): e106-16.
2. Ferris FL, Fine SL, Hyman L. Age-related macular degeneration and blindness due to neovascular maculopathy. *Arch Ophthalmol*. 1984; 102:1640-1642.
3. Chiquita S, Rodrigues-Neves AC, Baptista FI, Carecho R, Moreira PI, Castelo-Branco M, et al. The Retina as a Window or Mirror of the Brain Changes Detected in Alzheimer's Disease: Critical Aspects to Unravel. *Mol Neurobiol*. 2019;56(8):5416-5435.
4. Country MW. Retinal metabolism: a comparative look at energetics in the retina. *Brain Res*. 2017; 1672:50-57.
5. Cunha-Vaz J, Bernardes R, Lobo C. Blood-retinal barrier. *European Journal of Ophthalmology*. 2011;21(6):S3-S9.
6. Campbell MI, Humphries P. The blood-retina barrier: tight junctions and barrier modulation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2012; 763:70-84.
7. Ivanova E, Alam NM, Prusky GT, Sagdullaev BT. Blood-retina barrier failure and vision loss in neuron specific degeneration. *JCI Insight*. 2019; 5:126747.

8. Handa JH, Rickman CB, Dick AD, Gorin MB, Miller JW, Toth CA, et al. A systems biology approach towards understanding and treating non-neovascular age-related macular degeneration. *Nat. Commun.* 2019; 10:3347.
9. Jun S, Datta S, Wang L, Pegany R, Cano M, Handa JT. The impact of lipids, lipid oxidation, and inflammation on AMD, and the potential role of miRNAs on lipid metabolism in the RPE. *Exp. Eye Res.* 2019; 181:346–355.
10. Dias MF, Joo K, Kemp JA, Fialho SL, Cunha AS, Woo SJ, et al. Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: basic research and clinical perspectives. *Prog Retin Eye Res.* 2018; 63:107-131.
11. Shu W, Dunaief JL. Potential treatment of retinal diseases with iron chelators. *Pharmaceuticals.* 2018;11:E112.
12. Zarbin MA. Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol.* 2004;122(4):598-614.
13. Klein R, Klein BE, Jensen SC, Meuer SM. The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology.* 1997;104(1):7-21.
14. Abdelsalam A, Priore LD, Zarbin MA. Drusen in age-related macular degeneration: pathogenesis, natural course, and laser photocoagulation-induced regression. *Surv Ophthalmol.* 1999;44(1):1-29.
15. Parment S, Lynn C, Glass RM. Age-related macular degeneration. *JAMA.* 2006;295(20):2438.
16. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Evolution of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. *Eye.* 1988;2(5):552–577.
17. Al-Zamil WM, Yassin SA. Recent developments in age-related macular degeneration: a review. *Clinical interventions in aging.* 2017; 12:1313.
18. Karaçorlu SA, Karaçorlu M. Makula hastalıkları. In O'Dwyer PA AY, editor. *Temel Göz Hastalıkları: Güneş Tıp Kitabevleri*; 2010. p.559-573.
19. Li J, Wuliji O, Li W, Jiang ZG, Ghanbari HA. Oxidative stress and neurodegenerative disorders. *International Journal of Molecular Sciences.* 2013;14(12):24438–24475.
20. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* 2008;4(2):89-96.
21. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem.* 2004;266(1-2):37-56.
22. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* 1990; 280:1-8.
23. Dutta S, Parames SM. Phytoestrogens as Novel Therapeutic Molecules Against Breast Cancer. *Natural Product Drug Discovery.* 2021;197-229.
24. Likhitwitayawuid K, Sornsute A, Sritularak B, Ploypradith P. Chemical transformations of oxyresveratrol (trans -2,4,3 ,5 -tetrahydroxystilbene) into a potent tyrosinase inhibitor and a strong cytotoxic agent. *Bioorg Med Chem Lett.* 2006; 16:5650–5653.
25. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling—concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *Behalf of an International forum on cardiac remodeling.* *J Am Coll Cardiol.* 2000;35(3):569-82.
26. Chung, KO., Kim, BY., Lee, MH., Kim, YR., Chung, HY., Park, JH., Moon, JO. In-vitro and in-vivo anti-inflammatory effect of oxyresveratrol from *Morus alba* L. *J Pharm Pharmacol.* 2003;55(55):1695-700.
27. Andrabi SA, Spina MG, Lorenz P, Ebmeyer U, Wolf G, Horn TF. Oxyresveratrol (trans-2,3, 4 ,5tetrahydroxystilbene) is neuroprotective and inhibits the apoptotic cell death in transient cerebral ischemia. *Brain Res.* 2004; 13:98-107.
28. Lipipun V, Sasvimolphan P, Yoshida Y, Daikoku T, Sritularak B, Ritthidej G, et al. Topical cream-based oxyresveratrol in the treatment of cutaneous HSV-1 infection in mice. *Antiviral Research.* 91(2):154–160.
29. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ. Cell Viability Assays. In: Markossian S GE. *Assay Guidance Manual [Internet].*: Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2016.

30. Gordoıs A, Cutler H, Pezzullo L. An estimation of the worldwide economic and health burden of visual impairment. *Global Public Health*. 2012;7(5):465–481.
31. Stahl A. The diagnosis and treatment of age-related macular degeneration. *Dtsch Arztebl Int*. 2020; 117:513-9.
32. Likhitwitayawuid KB, Sritularak K, Benchanak V, Lipipun J, Schinazi RF. Phenolics with antiviral activity from *Millettia erythrocalyx* and *Artocarpus lakoocha*. *Natural Product Research*. 2005;19(2):177–182.
33. Hu X, Liang Y, Zhao B, Wang Y. Oxyresveratrol protects human lens epithelial cells against hydrogen peroxide-induced oxidative stress and apoptosis by activation of Akt/HO-1 pathway. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2019;166-173.
34. Lorenz P, Roychowdhury S, Engelmann M, Wolf G, Horn TFW. Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: Effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells. *Nitric Oxide*. 2003; 9:64–76.
35. Crompton M. Mitochondria and aging: a role for the permeability transition? *Aging Cell*. 2004; 3:3-6.
36. Ban JY, Cho SO, Choi SH, Yeon HSJ, Bae KH, Song KS, et al. Neuroprotective Effect of *Smilacis chinae* Rhizome on NMDA-Induced. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2007; 106:68-77.
37. Chao J, Yu MS, Ho YS, Wang M, Chang RCC. Dietary oxyresveratrol prevents parkinsonian mimetic. *Free Radical Biology & Medicine*. 2008; 45:1019–1026.