

In Vitro Parkinson Modelinde Melatonin Metabolitlerinden 6- Hidroksi Melatoninin Koruyucu ve Tedavi Edici Etkisinin Araştırılması*

Yusuf Emre YILMAZ¹, Cansu KARA ÖZTABAĞ², Uygur Zarif SEVİNÇ²,
İrem KALFA², Enes KARABACAK², Akif Hakan KURT²

ÖZ

Amaç: Parkinson hastalığı (PH) beyindeki substantia nigra bölgesinde dopaminerjik nöronların kaybıyla birlikte bradikinezi, kas sertliği, bozulmuş duruş-yürüyüş, hipokinetik hareket bozukluğu ve istirahat tremoru ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. PH tedavisi, motor semptomları hafifletmeyi amaçlayan ancak zamanla önemli yan etkilere yol açan semptomatik tedavilerle sınırlıdır. Bu nedenle, semptomatik tedavilere alternatif olarak yeni tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Melatonin, geniş kapsamlı düzenleyici özelliklerinin yanı sıra nöroprotektif rolü sayesinde, geleneksel tedavi yöntemlerine ek olarak PH tedavisinde umut verici bir alternatif oluşturmaktadır. Bu çalışmada, bir melatonin metaboliti olan 6-hidroksi melatonin'in (6-OHM) *in vitro* Parkinson modelinde koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Glioblastoma (U-118MG) hücre hattında 6-hidroksi dopamin (6-OHDA) ile *in vitro* PH modeli oluşturulmuştur. 6-OHM'nin koruyucu etkilerini araştırmak için 50 µM konsantrasyonda 6-OHDA uygulanmasından 4 saat önce ve 6-OHM'nin tedavi edici etkilerini araştırmak için ise 6-OHDA uygulanmasından 4 saat sonra 3 farklı konsantrasyonlarda (7nM, 8nM, 9nM) 6-OHM uygulanmıştır. Hücre canlılığı XTT (2,3-bis [2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil] 2H-tetrazolyum-5-karboksianilid tuzu) testi kullanılarak ölçülmüştür.

Bulgular: 6-OHM, tek başına uygulandığında hücre hattında toksik bir etki göstermemiştir. 6-OHM, U-118 MG hücre hattında 6-OHDA ile oluşturulan *in vitro* PH modelinde hem koruyucu hem de tedavi edici etki göstermiştir. Bulgularımıza göre 7 nM, 8 nM ve 9 nM konsantrasyonları sırasıyla hücre canlılığını sırasıyla %18,2, %17,8, %17,3 artırarak koruyucu etki, sırasıyla %6,7, %6,2 ve %5 artırarak tedavi edici etki göstermiştir.

Sonuç: Bu deneysel çalışma 6-OHM'nin tek başına veya güncel olarak kullanılan Parkinson ilaçlarıyla birlikte, deney hayvanları ve klinik çalışmalar sonrasında PH'ye karşı koruyucu ve terapötik bir ajan olarak geliştirilebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Parkinson hastalığı; oksidatif stres; melatonin; nörodejeneratif hastalıklar.

Investigation of Protective and Therapeutic Effects of 6-Hydroxy Melatonin, a Melatonin Metabolite, in an *In Vitro* Parkinson's Model

ABSTRACT

Aim: Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder characterized by loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra, presenting with bradykinesia, muscle rigidity, impaired posture-gait, hypokinetic movement disorders, and resting tremor. PD treatment is limited to symptomatic therapies that alleviate motor symptoms but cause significant side effects over time. Therefore, new therapeutic approaches are needed as alternatives to symptomatic treatments. Melatonin, with its broad regulatory properties and neuroprotective role, offers a promising alternative in PD treatment alongside conventional methods. This study aimed to investigate the protective and therapeutic effects of 6-hydroxymelatonin (6-OHM), a melatonin metabolite, in an *in vitro* Parkinson's model.

Material and methods: An *in vitro* PD model was established using 6-hydroxydopamine (6-OHDA) in glioblastoma (U-118MG) cell line. To investigate 6-OHM's protective effects, 6-OHM was applied at three concentrations (7 nM, 8 nM, 9 nM) 4 hours before 50 µM 6-OHDA treatment. For therapeutic effects, 6-OHM was applied 4 hours after 6-OHDA treatment. Cell viability was measured using XTT assay.

Results: 6-OHM showed no toxic effects when applied alone. 6-OHM demonstrated both protective and therapeutic effects in the 6-OHDA-induced *in vitro* PD model. The 7 nM, 8 nM, and 9 nM concentrations increased cell viability by 18.2%, 17.8%, and 17.3% respectively for protective effects, and by 6.7%, 6.2%, and 5% respectively for therapeutic effects.

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

2 Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

Sorumlu Yazar / Corresponding Author Akif Hakan KURT, e-mail: hakankurt@ibu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 24.11.2024, Kabul Tarihi / Accepted: 13.06.2025

*Bu çalışma Yusuf Emre YILMAZ'ın 2209-A TÜBİTAK (1919B012309524) projesinden üretilmiştir.



Conclusion: This experimental study demonstrates that 6-OHM could be developed as a protective and therapeutic agent against PD, either alone or combined with current Parkinson's medications, following animal and clinical studies.

Keywords: Parkinson's disease; oxidative stress; melatonin; neurodegenerative diseases.

GİRİŞ

Parkinson hastalığı (PH), Alzheimer hastalığından (AH) sonra gelen ikinci nörodejeneratif hastalıktır (1). Dünya'da 10 milyondan fazla insanın PH'ye sahip olması ve sadece ABD'de bir yılda yaklaşık 52 milyar doların PH tedavisi için harcandığı göz önüne alındığında; daha ucuz ve etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (2). PH'nin etiolojisinde risk faktörleri kesin olarak belirlenememiş olsa da genetik, ileri yaş ve çevresel faktörler büyük rol oynamaktadır. Bununla beraber, en büyük risk faktörünün yaş olması da geriatric dönemde bu hastalığın daha sık görülmesine sebep olmaktadır. Özellikle 60 yaşından sonra, ortalama 1000 kişide 1-2 kişi PH'ye yakalanırken bu oran 65 yaş ve üstü kişilerde 100 kişide 1'e yükselmektedir. İstirahat tremoru, bradikinezi, rijidite, postüral instabilite ve yürüme bozukluğu PH'de görülen tipik klinik özelliklerdendir (1).

Bu hastalığın etyopatogenezinde nöro-inflamasyon, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres gibi moleküler mekanizmalar görülmektedir. Orta beyinde yer alan substantia nigra ve corpus striatumda ilerleyen seviyelerde dopamin kaybı oluşmakta ve çoğu hastada ilk belirtiler ortaya çıkmadan önce PH meydana gelmektedir (3). Modern tıpta PH tedavisi için asıl amaç, motor semptomları giderip hastanın günlük yaşantısını kolaylaştırmaya çalışmaktır (4). Ancak zamanla önemli yan etkilerle yol açmaları kullanımlarını sınırlamaktadır. Bu nedenle, yeni tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Kan-beyin bariyerini kolayca geçebilme özelliğine sahip olması nedeniyle melatonin ve metabolitleri de umut vadetmektedir.

PH'nin moleküler ve hücresel mekanizmalarını araştırmak için kullanılan deneysel modeller arasında 6-Hidroksidopamin (6-OHDA), 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+), Rotenone, N,N'-dimethyl-4,4'-dipyridylum dichloride (Paraquat), Lactacystin ve Maneb örnek verilebilir (5-12). Dopaminin sentetik bir analogu olan 6-OHDA, 1960'lardan bu yana nörodejeneratif süreçleri incelemek için yaygın olarak kullanılan bir nörotoksindir (5,6). Bu bileşik, dopaminerjik ve noradrenerjik nöronlara seçici olarak hasar vererek, PH'nin karakteristik özelliği olan substantia nigra pars compacta (SNpc) nöron kaybını başarıyla modellemektedir (7). 6-OHDA'nın hem *in vitro* hem de *in vivo* uygulamaları, dopaminerjik nöron dejenerasyonunun altında yatan mekanizmaların aydınlatılmasına ve potansiyel tedavi stratejilerinin geliştirilmesine önemli katkılar sağlamıştır (13).

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin), temel olarak epifiz bezinden salgılanan bir hormondur. Deri, beyincik, böbrekler, karaciğer, pankreas ve yumurtalıklar da dahil olmak üzere çok sayıda organda da sentez edilebilmektedir (14). Amfifilik yapıya sahip olması; fizyolojik bariyerleri aşması ve lokal olarak üretilen antioksidanlara karşı biyomolekülleri yerinde korumasını sağlamaktadır (15).

Melatonin ve birincil hepatik metaboliti olan 6-hidroksimelatonin (6-OHM) serbest radikalleri yok etme özellikleri ve kan-beyin bariyerini kolayca geçebilme kapasitesi, onun nöroprotektif bir etkiye sahip olabileceğine işaret etmektedir (16,17). Melatoninin en önemli özelliğinden biri düşük toksisiteye sahip olmasıdır. Yapılan çalışmalar, günlük 1 grama kadar melatonin alımının toksik olmadığını göstermiştir (18). Nörodejeneratif hastalıklar açısından melatonin, PH'da çoklu mekanizmalar üzerinden nöroprotektif etkiler göstermektedir; bu mekanizmalar dendritik yoğunluğun artırılması, sinaptik plastisitenin restorasyonu, alfa-sinüklein agregasyonunun ve toksisitesinin inhibisyonu, oksidatif stresin ve nöroinflamasyonun azaltılması ile mitokondriyal fonksiyonların iyileştirilmesini içermektedir (19,20). Ayrıca melatonin, uyku ritmini, vücut bağışıklığını ve beyin homeostazını düzenlemektedir (20). Bununla birlikte antioksidan, anti-inflamatuar, anti-hipertansif, antiplatelet ve anti-trombotik etkilere de sahiptir (21-24). Ayrıca vücuttaki hücreleri yenilemede ve yaşlanmayı geciktirmede rol oynamaktadır (17). Melatoninin direkt veya dolaylı yoldan antioksidan özelliği hücrelerde koruyucu bir etki sağlamaktadır. Bu koruyucu etki, PH ve AH gibi nörolojik hastalıkların patogenezi önleyebilmektedir (25).

Melatonin başlıca karaciğerde ikincil olarak böbrekte hızlıca metabolize edilmektedir. Melatonin'in iki adet metaboliti vardır: birincisi 6-OHM diğeri ise 6-sülfattoksi-melatonin (6-SM). Melatonin, karaciğerde CYP1A2 enzimi aracılığıyla 6-OHM'e hidroksillenir, ardından %10 glukuronik asit ve %90 sülfirik asit ile konjuge olup idrardan atılır. 6-SM ise inaktiftir ve idrar atılımı, melatonin plazma konsantrasyonlarını yansıtmaktadır (26).

Yapılan çalışmalara bakıldığında, melatoninin PH gibi nörodejeneratif hastalıklar üzerinde nöroprotektif etkilerinin olduğu bilinirken 6-OHM'nin PH modeli oluşturularak yapılan *in vitro* çalışmalarında koruyucu ve tedavi edici etkisi üzerinde bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Dolayısıyla bu çalışmada, kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilen bir melatonin metaboliti olan 6-OHM'nin, *in vitro* PH modelinde koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

U-118 MG hücre hattı, American Type Tissue Culture Collection (ATCC) firmasından temin edildi. Hücreler %1 Penisilin-Streptomisin, %1 L-glutamin ve %10 Fetal Bovine Serum (FBS) ile desteklenmiş Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM) besiyerinde kültüre alınarak ve 37°C'de %5 CO₂ varlığında çoğaltıldı. Hücrelerin kontrolleri her gün ters ışık mikroskobu aracılığıyla yapıldı ve hücreler yaklaşık %70-80 konfluente ulaştıklarında pasajlanarak çoğaltıldı.

Hücre Proliferasyonun Canlılık Testi

Hücre canlılığını proliferasyonu değerlendirmek amacı ile günümüzde en yaygın olarak kullanılan XTT (2,3-bis [2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil] 2H-tetrazolyum-5-karboksianilid tuzu) yöntemi kullanıldı (27). U-118MG hücre hattı 96-kuyucuklu platelere her bir kuyucukta 1x10⁴ hücre olacak şekilde DMEM besiyeri ortamında ekildi. 24 saat sonra platelerin içindeki besiyeri uzaklaştırıldı ve kuyucuklara fenol red içermeyen DMEM içerisinde 50 µM

konsantrasyonda 6-OHDA (Sigma-Aldrich) ile *in vitro* PH modeli oluşturuldu. 6-OHM (Sigma-Aldrich)'nin koruyucu etkilerini araştırmak için 50 µM konsantrasyonda 6-OHDA uygulanmasından 4 saat önce ve 6-OHM'nin tedavi edici etkilerini araştırmak için 6-OHDA uygulanmasından 4 saat sonra 3 farklı konsantrasyonda (7 nM, 8 nM, 9 nM) 6-OHM uygulanarak 20 saat boyunca inkübe edildi. Kültür süresinin dolmasıyla hücrelere XTT (Cell Proliferation Kit II (XTT)) çözeltisi eklenip 4 saat inkübe edildi ve süre sonunda 450 nm dalga boyundaki absorbans değerleri mikropilaka okuyucu ile saptandı. Bu projede 6-OHDA ve 6-OHM'nin kullanım konsantrasyonu belirlenirken daha önce farklı çalışmalarda ve kendi çalışmalarımızda etkinliklerini test ettiğimiz konsantrasyonlar seçilmiştir (28).

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

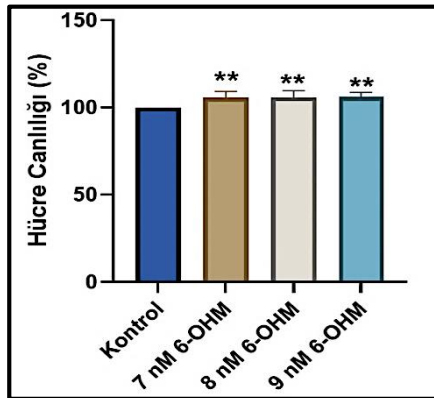
İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi ve gösteriminde ortalama±standart sapma kullanıldı. Varyansların homojen dağılımı varsayımı Levene testi ile bakıldı. Varsayım sağlanmadığından gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis analizi kullanıldı. Post-hoc değerlendirmeler Dunn testi ile yapıldı. Anlamlılık düzeyleri $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler GraphPad Prism 10.4.0.621 (Windows, GraphPad Software, Boston, Massachusetts USA, www.graphpad.com) ve Jamovi 2.4.8 (Windows, The jamovi project, Sydney, Australia, https://www.jamovi.org) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

U-118 MG hücrelerinde 6-OHM etkisinin değerlendirilmesi

Terapötik bir ajan olarak kullanılan 6-OHM, U-118 MG hücrelerinde farklı konsantrasyonlarda (7 nM, 8 nM ve 9 nM) tek başına uygulandığında herhangi bir hücre hasarına neden olmamakla birlikte kontrol ile karşılaştırıldığında uygulanan tüm konsantrasyonlarda sırasıyla %5,7, %5,8 ve %6,1 oranla hücre canlılığında artışa sebep olmuştur (n=8; 7 nM, $p = 0,006$; 8 nM, $p = 0,005$; 9 nM, $p = 0,001$; Şekil 1).



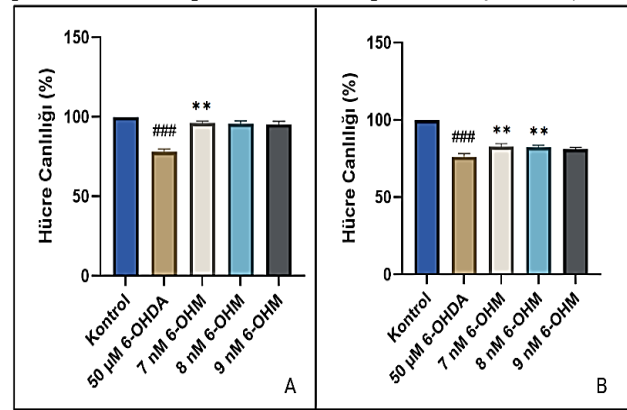
Şekil 1. Glioblastoma (U-118 MG) hücrelerinde 6-Hidroksimelatonin'in (6-OHM) hücre canlılığı üzerine etkisi (%). Veriler yüzde ortalamaları ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir (n=8; **: $p < 0,01$; 7 nM, $p = 0,006$; 8 nM, $p = 0,005$; 9 nM, $p = 0,001$).

In vitro PH modelinde 6-OHM'nin koruyucu etkisinin değerlendirilmesi

In vitro PH modelinde, koruyucu ve tedavi edici ajan olarak kullanılan 6-OHM, U-118 MG hücrelerinde 50 µM 6-OHDA ile oluşturulan hasar öncesi farklı konsantrasyonlarda uygulandığında, uygulanan tüm konsantrasyonlarda (7 nM, 8 nM ve 9 nM) 6-OHDA'nın oluşturduğu hücre hasarı sırasıyla %18,2, %17,8, %17,3 oranında azaltmıştır, 7 nM konsantrasyonda istatistiksel olarak anlamlı etki görülmüştür (n=8; 7 nM, $p = 0,021$; 8 nM, $p = 0,062$; 9 nM, $p = 0,148$; Şekil 2A).

In vitro PH modelinde 6-OHM'nin tedavi edici etkisinin değerlendirilmesi

U-118 MG hücrelerinde 50 µM 6-OHDA ile hasar oluşumundan sonra farklı konsantrasyonlarda 6-OHM uygulandığında, uygulanan tüm konsantrasyonlarda (7 nM, 8 nM ve 9 nM) 6-OHDA'nın oluşturduğu hücre hasarını sırasıyla %6,7, %6,2, %5 azaltmıştır, bu etki 7 nM ve 8 nM konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bulunurken 9 nM konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da hücre canlılığını artırmıştır (n=8; 7 nM, $p = 0,011$; 8 nM, $p = 0,029$; 9 nM, $p = 0,458$; Şekil 2B).



Şekil 2. A) Glioblastoma (U-118 MG) hücrelerinde 6-Hidroksidopamin (6-OHDA) ile hasar oluşturmada önce 6-Hidroksimelatonin'in (6-OHM) uygulamasının hücre canlılığı üzerine koruyucu etkisi (%) (Kontrol ile karşılaştırıldığında, ###: $p < 0,001$; 50 µM 6-OHDA grubu ile karşılaştırıldığında, **: $p < 0,01$), B) U-118 MG hücrelerinde 6-OHDA ile hasar oluşturduktan sonra 6-OHM uygulamasının hücre canlılığı üzerine tedavi edici etkisi (%). Veriler yüzde ortalamaları ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir (n=8; Kontrol ile karşılaştırıldığında, ###: $p < 0,001$; 50 µM 6-OHDA grubu ile karşılaştırıldığında **: $p < 0,01$).

TARTIŞMA

Bu çalışmamızda U118-MG hücre hattında, 6-OHDA ile oluşturulan PH modelinde 6-OHM'nin koruyucu ve tedavi edici etkilerini tespit etmeyi amaçladık. Çalışmamızın bulgularına göre, 6-OHM'nin uygulanan tüm konsantrasyonlarında hücre canlılığı artış göstererek, 6-OHM'nin hücreler üzerinde koruyucu ve tedavi edici etkilerinin olduğu gösterilmiştir. PH modelini oluşturmak amacıyla kullanılan 6-OHDA konsantrasyonları, önceden yaptığımız doz-cevap uygulamaları sonucunda belirlenmiştir. Yedi farklı konsantrasyonda U-118 MG hücre hattı üzerine uygulanmış ve en uygun konsantrasyon 50 µM olarak belirlenmiştir.

Nörodejeneratif hastalıkların günümüz tıp bilimindeki karmaşık ve çok boyutlu doğası, insan nörolojik sistemlerinin yapısal ve işlevsel dinamiklerini derinden etkilemektedir (29). Bunların arasında en yaygın olanlardan birisi de PH'dır. Sebepleri henüz tam olarak açığa çıkartılamamış olsa da çeşitli mekanizmalar üzerinden hastalığın semptomatik tedavileri devam etmektedir. PH'nda önemli tedavi potansiyellerinden biri melatonindir (30). Yapılan çalışmalarda, melatonin sadece PH değil birçok nörodejeneratif hastalıklar üzerinde de tedavi edici ve önleyici etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (30,31). Jimenez-Delgado ve ark. (32), yaptığı plasebo kontrollü, randomize, çift kör klinik çalışmada, Hoehn ve Yahr ölçeğine göre 1-3 arasındaki Parkinson hastalarına 3 ay boyunca her gün 50 mg melatonin vermiştir. Serbest radikallerin sebep olmasıyla oluşan Lipoperoksitler, bir tahlil kiti (FR12) kullanılarak kolorimetrik bir yöntemle ölçülmüştür. Üç aylık melatonin tedavisinin ardından lipoperoksitlerin plazma seviyeleri Parkinson hastalarında plasebo grubuna göre daha düşük olduğu ve istatistiksel olarak sağlıklı kontrollerin seviyesine yakın olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Muhammad ve ark. (33), çalışmalarında, HT22 (fare hipokampal nöronal hücre hattı) hücre hattında skopolamin (3 mM) kullanarak oksidatif stres oluşturmuş, 100 ve 200 µM konsantrasyonlarda melatonin uygulayarak bu konsantrasyonlardaki melatonin uygulamasının nöroprotektif ve hafıza fonksiyonlarında iyileştirici etkilerinin olduğunu rapor etmişlerdir. Lin ve ark., (34) 10 mg/kg dozunda melatonin, rotenon ile indüklenen PH sıçan modelinde striatumda α-sinüklein seviyelerini düşüğünü ortaya koymuştur. Bir diğer çalışmada, SH-SY5Y hücrelerinde Calyculin A uygulamasının nöronal yapısal proteinlerin fosforilasyon düzeylerini anlamlı ölçüde azalttığı, ancak 50 µM melatonin uygulamasıyla bu değişikliklerin kısmen düzeltildiği ve melatoninin nöroprotektif etkiler sergilediği bildirilmiştir (35). Ayrıca, maneb ve paraquatla birlikte indüklenen fare PH modelinde, melatoninin dopaminerjik nöronları koruyarak oksidatif stresi ve apoptozu engellediği bildirilmiştir (36). MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) ile oluşturulan fare PH modelinde, melatoninin mitokondriyal disfonksiyonu ve nörodavranışsal bozuklukları hafiflettiği bildirilmiştir (37). Maharaj ve arkadaşlarının (38), yaptığı *in vivo* çalışmada, sıçan hipokampusunda demir ile indüklenen lipid peroksidasyonunun ve nekrotik hücre hasarının azalmasında, 6-OHM uygulamasının etkili olduğu bulunmuştur. Yaptığımız bu çalışmada ise, melatonin metabolitlerinden 6-OHM'nin, 6-OHDA ile oksidatif stres oluşturulan *in vitro* PH modelinde koruyucu ve tedavi edici etkisine ulaşılmıştır. Bulgularımız literatürle paralellik göstermektedir. 6-OHM'nin Parkinson tedavisinde etkili bir ilaç olarak kullanılabilmesi için hayvan ve klinik çalışmalarıyla desteklenmesiyle ileride potansiyel bir Parkinson ilacı olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

SONUÇ

Hücre kültürü ortamında oluşturulan *in vitro* PH modelinde, koruyucu ve tedavi edici etkiyi tespit edebilmek için 6-OHM kullanılmıştır. U-118MG hücre hattında 6-OHDA ile oksidatif stres oluşturulup *in vitro*

PH modeli yapılmıştır. Tek başına 6-OHM'nin, koruyucu etkilerine bakmak için öncesi uygulaması, tedavi edici etkisine bakmak için ise sonrası uygulamaları 7nM, 8nM ve 9nM konsantrasyonlarda uygulanmıştır. Deneyler sonucunda 6-OHM'nin, U-118 MG hücre hattında anlamlı derecede tedavi edici ve koruyucu etkisi bulunmuştur.

Yazarların Katkıları: Fikir/Kavram: A.H.K.; Tasarım: A.H.K., C.K.Ö.; Veri Toplama ve/veya İşleme: Y.E.Y., C.K.Ö.; Analiz ve/veya Yorum: A.H.K., U.Z.S., E.K. İ.K.; Literatür Taraması: U.Z.S., Y.E.Y., E.K., İ.K. C.K.Ö.; Makale Yazımı: A.H.K., U.Z.S., Y.E.Y., C.K.Ö., İ.K. E.K.; Eleştirel İnceleme: A.H.K.

KAYNAKLAR

- Özsoy Ö. Deneysel Parkinson modeline glutatyon izopropil esterinin etkisi ve mekanizması [Doktora tezi]. Antalya: Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü;2012.
- Marras C, Beck JC, Bower JH, Roberts E, Ritz B, Ross GW, et al. Prevalence of Parkinson's disease across North America. *Npj Parkinson's Disease*. 2018;4:21.
- Mayo JC, Sainz RM, Tan DX, Antolin I, Rodriguez C, Reiter RJ. Melatonin and Parkinson's disease. *Endocrine*. 2007;27(2):169-78.
- Gergin S. Parkinson olgusu yaratılan sıçanlarda düzenli uygulanacak yüzme egzersizi ve Melatonin'in striatum'daki nöronlar üzerindeki etkisi [Doktora tezi]. İstanbul: Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2021.
- Thoenen H, Otten U, Haefely W, Stahli C. Diminished effect of sympathetic nerve stimulation in cats pretreated with 5-hydroxydopa; formation and liberation of false adrenergic transmitters. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol Exp Pathol* 1967;259:17-33.
- Richards JG, Tranzer JP. Electron microscopic localization of 5-hydroxydopamine, a 'false' adrenergic neurotransmitter, in the autonomic nerve endings of the rat pineal gland. *Experientia* 1969;25(1):53-4.
- Tranzer JP, Thoenen H. An electron microscopic study of selective, acute degeneration of sympathetic nerve terminals after administration of 6-hydroxydopamine. *Experientia* 1968;24(2):155-6.
- Noonong K, Sobhon P, Sroyraya M, Chaithirayanon K. Neuroprotective and neurorestorative effects of *Holothuria scabra* extract in the MPTP/MPP+-induced mouse and cellular models of Parkinson's Disease. *Front Neurosci*. 2020;14:575459.
- Zhang M, He Q, Chen G, Li PA. Suppression of NLRP3 inflammasome, pyroptosis, and cell death by NIM811 in rotenone-exposed cells as an *in vitro* model of Parkinson's disease. *Neurodegener Dis*. 2020;20(2-3):73-83.
- Menchinskaya E, Chingizova E, Pisyagin E, Likhatskaya G, Sabutski Y, Pelageev D, et al. Neuroprotective effect of 1,4-Naphthoquinones in an *in vitro* model of paraquat and 6-OHDA-induced neurotoxicity. *Int J Mol Sci*. 2021;22(18):9933.
- Lewis FW, Fairouz S, Elson JL, Hubscher-Bruder V, Brandel J, Soundararajan M, et al. Novel 1-hydroxypyridin-2-one metal chelators prevent and rescue ubiquitin proteasomal-related neuronal injury in

- an *in vitro* model of Parkinson's disease. Arch Toxicol. 2020;94(3):813-31.
12. Liu C, Liu Z, Fang Y, Liao Z, Zhang Z, Yuan X, et al. Exposure to dithiocarbamate fungicide maneb *in vitro* and *in vivo*: neuronal apoptosis and underlying mechanisms. Environ Int. 2023;171:107696.
 13. Blum D, Torch S, Lambeng N, Nissou MF, Benabid AL, Sadoul R, et al. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. Prog Neurobiol. 2001;65(2):135-72.
 14. Galano A, Reiter RJ. Melatonin and its metabolites vs oxidative stress: from individual actions to collective protection. J Pineal Res. 2018;65(1):e12514.
 15. Majidinia M, Sadeghpour A, Mehrzadi S, Reiter RJ, Khatami N, Yousefi B. Melatonin: a pleiotropic molecule that modulates DNA damage response and repair pathways. J Pineal Res. 2017;63(1):e12416.
 16. Reiter RJ, Tan DX, Qi W, Manchester LC, Karbownik M, Calvo JR. Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress *in vivo*. Biol Signals Recept. 2000;9(3-4):160-71.
 17. Antolin I, Mayo JC, Sainz RM, del Brio M de los A, Herrera F, Martin V, et al. Protective effect of melatonin in a chronic experimental model of Parkinson's disease. Brain Res. 2002;943(2):163-73.
 18. Andersen LP, Gögenur I, Rosenberg J, Reiter RJ. The safety of melatonin in humans. Clin Drug Investig. 2016;36(3):169-75.
 19. Guo YL, Wei XJ, Zhang T, Sun T. Molecular mechanisms of melatonin-induced alleviation of synaptic dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease: a review. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2023;27(11):5070-82.
 20. Yoo YM, Joo SS. Melatonin can modulate neurodegenerative diseases by regulating endoplasmic reticulum stress. Int J Mol Sci. 2023;24(3):2381.
 21. Tahan G, Gramignoli R, Marongiu F, Aktolga S, Cetinkaya A, Tahan V, Dorko K. Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats. Dig Dis Sci. 2011;56(3):715-20.
 22. Simko F, Paulis L. Melatonin as a potential antihypertensive treatment. J Pineal Res. 2007;42(4):319-22.
 23. Hosseinzadeh A, Bagherifard A, Koosha F, Amiri S, Karimi-Behnagh A, Reiter RJ, Mehrzadi S. Melatonin effect on platelets and coagulation: implications for a prophylactic indication in COVID-19. Life Sci. 2022;307:120866.
 24. Böhm A, Lauko V, Dostalova K, Balanova I, Varga I, Bezak B, et al. In-vitro antiplatelet effect of melatonin in healthy individuals and patients with type 2 diabetes mellitus. J Endocrinol Invest. 2023;46(12):2493-500.
 25. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. J Pineal Res. 2016;61(3):253-78.
 26. Arendt J, Aulinas A. Physiology of the Pineal Gland and Melatonin. In: Feingold KR, Ahmed SF, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, et al., editors. Endotext. South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc.; 2022.
 27. Dinç E, Ayaz L, Kurt AH. Protective effect of combined caffeic acid phenethyl ester and bevacizumab against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in human RPE cells. Curr Eye Res. 2017;42(12):1659-66.
 28. Uras E, Kilicaslan D, Kurt AH, Alli B, Doğaner A. Melatonin metabolites protect human retinal pigment epithelial cells from death caused by oxidative stress. Pharm Chem J. 2021;55(8):762-768.
 29. Auso E, Gomez-Vicente V, Esquivia G. Biomarkers for Alzheimer's disease early diagnosis. J Pers Med. 2020;10(3):114.
 30. Cardinali DP. Melatonin: clinical perspectives in neurodegeneration. Front Endocrinol (Lausanne). 2019;10:480.
 31. Chen D, Zhang T, Lee TH. Cellular mechanisms of melatonin: insight from neurodegenerative diseases. Biomolecules. 2020;10(8):1158.
 32. Jimenez-Delgado A, Ortiz GG, Delgado-Lara DL, Fregoso-Aguilar T, Vazquez-Valls E, Ramos-Marquez ME, et al. Effect of melatonin administration on mitochondrial activity and oxidative stress markers in patients with Parkinson's disease. Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:5577541.
 33. Muhammad T, Ali T, Ikram M, Khan A, Alam SI, Kim MO. Melatonin rescue oxidative stress-mediated neuroinflammation/neurodegeneration and memory impairment in scopolamine-induced amnesia mice model. J Neuroimmune Pharmacol. 2019;14:278-94.
 34. Lin CH, Huang JY, Ching CH, Chuang JI. Melatonin reduces the neuronal loss, downregulation of dopamine transporter, and upregulation of D2 receptor in rotenone-induced Parkinsonian rats. J Pineal Res. 2008;44(2):205-13.
 35. Li SP, Deng YQ, Wang XC, Wang YP, Wang JZ. Melatonin protects SH-SY5Y neuroblastoma cells from calyculin A-induced neurofilament impairment and neurotoxicity. J Pineal Res. 2004;36(3):186-91.
 36. Singhal NK, Srivastava G, Patel DK, Jain SK, Singh MP. Melatonin or silymarin reduces maneb- and paraquat-induced Parkinson's disease phenotype in the mouse. J Pineal Res. 2011;50(2):97-109.
 37. Patki G, Lau YS. Melatonin protects against neurobehavioral and mitochondrial deficits in a chronic mouse model of Parkinson's disease. Pharmacol Biochem Behav. 2011;99(4):704-11.
 38. Maharaj DS, Maharaj H, Daya S, Glass BD. Melatonin and 6-hydroxymelatonin protect against iron-induced neurotoxicity. J Neurochem. 2006;96(1):78-81.