T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA 2 HAFTALIK NARİNGENİN UYGULAMASININ BEYİN İSKEMİ REPERFÜZYONUNDA AQP4, IL-2 VE DNA HASARINA ETKİSİ

Merve SOMUNCU

Yüksek Lisans Tezi

TIP FAKÜLTESİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ

KONYA-2021

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA 2 HAFTALIK NARİNGENİN UYGULAMASININ BEYİN İSKEMİ REPERFÜZYONUNDA AQP4, IL-2 VE DNA HASARINA ETKİSİ

Merve SOMUNCU

Yüksek Lisans Tezi

TIP FAKÜLTESİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 20202001 nolu proje ile desteklenmiştir

KONYA-2021

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Merve SOMUNCU tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof.Dr.Abdülkerim Kasım BALTACI
Selçuk Üniversitesi

Danışman: Prof.Dr.Rasim MOĞULKOÇ
Selçuk Üniversitesi

Üye: Doç.Dr.Füsun SUNAR
KTO Karatay Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili 2,5cm maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu …… tarih ve .....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fatma Hümeyra YERLİKAYA AYDEMİR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasındaki amaç iki hafta süreli ve iki farklı dozda profilaktik Naringenin uygulamasının sıçanlarda AQP4, IL-2 ve 8-Hidroksideoksiguanosin (8-OHdG) düzeylerine olan etkisini belirlemekti.

Tez çalışmalarım boyunca tecrübelerini, bilgisini ve görüşlerini benimle paylaşan; desteği ve ilgisiyle yanımda olan; anlayışlı yaklaşımıyla bu süreci kolaylaştıran çok değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ'a

Yüksek Lisans eğitimim süresince bana emeği geçen ve her koşulda desteğini gördüğüm Fizyoji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI'ya

Çalışmanın gerçekleştirilmesi sırasında deneysel uygulamalar ve analizlerde özverili destekte bulunan Doç.Dr. Esma MENEVŞE ve Arş. Gör. Dr. Derviş DAŞDELEN'e; yüksek lisans eğitimim boyunca birçok konuda bana yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Tuğba SEZER'e; Arş. Gör. Saltuk Buğra BALTACI'ya

Hayatımın her aşamasında sevgiyle yanımda olan; bugünlere gelmemde maddi, manevi desteklerini ve emeklerini esirgemeyen anneme, babama, kardeşlerime ve sevgili dostlarıma

Ayrıca tez çalışmamızı maddi anlamda destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR iv
ÖZET vi
SUMMARY vii
1. GİRİŞ 1
1.1. Beyin İskemi Reperfüzyonu 1
1.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı 2
1.3. Antioksidanlar 4
1.4. Flavonoidler ve Naringenin 4
1.5. Aquaporin 4 (AQP4) 9
1.6. Sitokinler ve IL-2 16
1.6.1. Beyin İskemisi ve Sitokinler 18
1.7. DNA Hasarı 19
1.7.1. Beyin İskemisi ve 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) 22
2. GEREÇ VE YÖNTEM 23
2.1. ELISA Analizleri 24
2.1.1. AQP-4 (Aquaporin 4) Analizi 24
2.1.2. Sıçan IL-2 (Interleukin 2) Analizi 25
2.1.3. 8-OHdG (8-Hidroksideoksiguanosin) Analizi 26
2.2. İstatistiksel analizler 27
3. BULGULAR 28
4. TARTIŞMA 31
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 37
6. KAYNAKLAR 38
7. EKLER 49
Ek A: Etik Onay 49
Ek B: Turnitin Raporu 50
8. ÖZGEÇMİŞ 51

SİMGELER VE KISALTMALAR

4-HNE: 4-hidroksi-2-nonenal

8-OHdG: 8-Hidroksideoksiguanozin

ALDH2: Aldehit dehidrogenaz 2

APE1: DNA onarım enzimi

AQP: Aquaporin

BOS: Kan beyin omurilik sıvısı

Ca+2: Kalsiyum

DNA: Deoksiribonükleik asit

HFD: Yüksek yağlı diyet

HO-1: Heme oksijenaz-1

HRP: Avidin-Horseradish Peroxidase

IL: İnterlökin

IL-2R: IL-2 reseptörü

İ/R: İskemi/reperfüzyon

MALAT1: Metastazla İlişkili Akciğer Adenokarsinomu Transkript 1

MCAO: Orta serebral arter oklüzyonu

MLKL sinyal yolu: Mixed lineage kinase domain-like sinyal yolu

MMP: Matris metaloproteinaz

mRNA: Messenger ribo nükleik asit

Na+-K+ ATPaz: Sodyum-potasyum-adenozintrifosfataz

NAR: Naringenin

NF-ĸB: Nükleer faktör kappa B

NLRP3: NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3)

Nrf2: Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2

OD: Optik yoğunluk

pMCAO: Orta serebral arter tıkanması

PPAR: Peroksizom proliferatör ile aktive olmuş reseptör

RIP: Reseptörle etkileşen protein

RIPC: Uzaktan iskemik ön koşullandırma

RIPK: Reseptörle etkileşen protein kinaz

RNA (lncRNA) : Long noncoding RNA

ROS: Reaktif oksijen türleri

ROT: Reaktif oksijen türevleri

shRNA: Short hairpin RNA

SOR: Serbest oksijen radikalleri

sTNF-R1 ve sTNF-R2: Çözünür tümör nekroz faktörü (TNF) reseptörleri

TCH: Troxerutin ve cerebroprotein hidrolizat enjeksiyonları

TLR4: Toll-like reseptör 4

Tmcao: Geçici orta serebral arter tıkanıklığı

TNF: Tümör nekrozis faktör

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sıçanlarda 2 Haftalık Naringenin Uygulamasının Beyin İskemi Reperfüzyonunda AQP4, IL2 ve DNA Hasarına Etkisi

Merve SOMUNCU

Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi / KONYA-2021

Bu çalışmanın amacı sıçanlarda 2 hafta süreli farklı dozlarda naringenin (NAR) uygulamasının, beyin iskemi-reperfüzyonunda, beyin dokusunda; AQP4, IL-2 ve 8-OHdG düzeylerine olan etkisini belirlemekti.

Deney grupları şu şekilde oluşturuldu; 1-Kontrol; 2-Sham Kontrol; 3-İskemi/Reperfüzyon (İ/R); 4-Naringenin (Naringenin 50) + İ/R; 5-Naringenin (naringenin 100) + İ/R. İ/R karotid arterlerin 1 saat oklüzyon (iskemi) ve takiben 1 saat reperfüzyonu şeklinde gerçekleştirildi. Deney süresi sonunda anestezi altında öldürülen hayvanlardan alınan beyin frontal korteks dokusunda AQP4, IL-2 ve 8-OHdG seviyeleri belirlendi.

İ/R grubunda AQP4, IL-2 ve 8-OHdG belirgin şekilde artış gösterdi. Ancak hem 50 mg/kg hem de 100 mg/kg iki hafta süreli naringenin uygulaması, artan bu parametreleri belirgin şekilde azaltttı ($P<0.001$).

Çalışmanın sonuçları sıçanlarda iki hafta süreli intraperitoneal naringenin uygulamasının beyin iskemi reperfüzyonunda oluşan hasarı önleyebildiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: AQP4, Beyin iskemi-reperfüzyonu, IL-2, Sıçan, 8-OHdG

SUMMARY

REPUBLIC OF TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Effect of 2-Weeks Naringenin Administration on AQP4, IL2 and DNA Damage in Brain Ischemia Reperfusion in Rats

Merve SOMUNCU

Department of Physiology (Medicine)

MASTER THESIS / KONYA-2021

The aim of this study was to determine the effect of different doses of naringenin (NAR) administration for 2 weeks in rats on brain AQP4, IL-2 and 8-OHdG levels in brain ischemia-reperfusion.

Experimental groups were formed as follows; 1-Control; 2-Sham Control; 3-Ischemia/Reperfusion (I/R); 4-Naringenin (Naringenin 50) + I/R; 5-Naringenin (naringenin 100) + I/R. I/R was performed as 1 hour occlusion of the carotid arteries (ischemia) followed by 1 hour reperfusion. At the end of the experiment, AQP4, IL-2 and 8-OHdG levels were determined in the brain frontal cortex tissue taken from animals killed under anesthesia.

AQP4, IL-2 and 8-OHdG increased significantly in the I/R group. However, both 50 mg / kg and 100 mg / kg two-weeks administration of naringenin significantly decreased these increased parameters ($P < 0.001$).

The results of the study show that intraperitoneal administration of naringenin for two weeks in rats may be prevent the damage caused by brain ischaemi-reperfusion.

Key Words: AQP4**,** Brain ischaemia-reperfusion, IL-2, Rat, 8-OHdG

1. GİRİŞ

1.1. Beyin İskemi Reperfüzyonu

Organ veya dokulara taşınan kanın herhangi bir nedenle belirgin şekilde azalması veya tamamen kesilmesi nedeniyle perfüzyonunun bozulması iskemi olarak tanımlanır. İskemi nedeniyle belirli bir süre oksijensiz kalan dokuda hasar veya nekroz görülür. Kan akımının iskeminin ardından yeniden başlaması ise reperfüzyon olarak isimlendirilir ve bu da iskeminin oluşturduğu hasarın daha da artmasına neden olur. Bu durum genel olarak iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı olarak isimlendirilir ve yol açtığı lokal ve sistemik etkilerin organ transplantasyonu, serebrovasküler hastalıklar, miyokard infarktüsü, trombolitik tedavi, majör cerrahi girişimler, resüsitasyon ve hemorojik şok gibi klinikte görülen birçok hastalıkta ortaya çıkan yüksek morbidite ve mortaliteye neden olduğu düşünülmektedir (Jaeschke 2003, Douzinas ve ark 2012). En temel düzeyde inme, hemorajik ve iskemik inmeler olarak ikiye ayrılır. Görülen inmelerin çoğu (yaklaşık %80'i) iskemiktir. Hemorajik inmeler birincil olarak intraparankimal veya subaraknoid olabilir. İskemik inme ayrıca etiyolojik alt tipler olarak adlandırılan veya inmenin nedenlerini temsil ettiği düşünülen kategorilere ayrılabilir. Bunlar kardiyoembolik, aterosklerotik, laküner, diğer spesifik nedenlerdir (diseksiyonlar, vaskülit, spesifik genetik bozukluklar ve diğerleri) (Boehme ve ark 2017). İskemik inme ile ilgili yapılan araştırmalarda son yıllarda genetik, moleküler, biyokimyasal ve klinik açıdan önemli gelişmeler elde edilmiştir. İskemik inmede, serebral kan akımının azalmasıyla birlikte immünolojik ve biyokimyasal birçok reaksiyon açığa çıkmaktadır (Bielewicz ve ark 2011). Akut iskemik inmenin fizyopatolojisinde rol alan reaksiyonlar serbest radikaller, eksitotoksisite, nitrik oksit hasarı, iyon değişiklikleri ve post-iskemik inflamatuar reaksiyonlardır (Bielewicz ve ark 2011). Günümüzde iskemik inme yüksek morbidite ve mortalite nedeni ile hala önemli bir sağlık sorunudur. Serebral iskemi beyin kan akımında görülen azalma ile birlikte enerji açığının tetiklediği moleküler reaksiyonları başlatmaktadır. Glukoz metabolizmasında farklılıklar oluşur, fosfokreatin ve ATP gibi enerji metabolitlerinin düzeyinde düşüş görülür, laktat düzeyleri ise çoğalır. Bu olaylar sonucunda metabolik dengesizlik açığa çıkar. ATP'deki azalma membran geçirgenliğinde ve depolarizasyonunda bozulmaya neden olarak hücre dışında potasyum; hücre içinde ise

kalsiyum, sodyum, klor seviyelerinde artışa yol açar (Chan 2001, Castellanos ve ark 2007).

1.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemi reperfüzyon hasarı birçok cerrahi işlem sonrasında görülebilen ve dokularda yıkımlara neden olan ciddi bir durumdur (Grace 1994). İskemi/reperfüzyonda gerçekleşen hasardan temelde sorumlu olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ksantin oksidaz, mitokondriyal elektron transport zinciri, nitrik oksit sentaz ve fagositik hücre aracılı olmak üzere birbirine bağlı 4 ana biyokimyasal mekanizma ile gerçekleşir. Dokuda ortaya çıkan hasarın şiddeti, iskeminin süresinden başka doku ve organların biyokimyasal ve yapısal metabolizma bakımından spesifik farklılıkları ile de yakından ilişkilidir (Dokuyucu ve ark 2014, Gupta ve ark 2014). Beyine tekrar kan akımının gerçekleşmesi şimdilik birincil tedavi hedefidir ve bir süre için iskemiye uğramış beyin dokusunun yeniden kanlanması (reperfüzyon) ve aniden hızlıca artan oksijen düzeyleri dokuları hasara uğratır (Lin ve ark 2016). Bu hasar çoğu kez iskeminin yarattığı zararlı etkilere eklenerek iskemi/reperfüzyon hasarı olarak isimlendirilir. Reperfüzyon hasarının hücresel ve moleküler mekanizmalarının çok sayıdaki deneysel çalışmalardan elde edilen nedenleri; oksidatif stres, lökosit infiltrasyonu, trombosit yapışması ve agregasyonu, kompleman aktivasyonu, mitokondriyal aracılı mekanizmalar ve kan-beyin bariyeri bozulması ve sonrasında oluşan hemorajik ödemdir (Lin ve ark 2016). Bunun sonucunda nöron kaybı artar ve nörolojik yetersizlikler ortaya çıkar. İskemi-reperfüzyon hasarına karşı potansiyel terapötik stratejiler, bu mekanizmaları hedef alarak geliştirilebilir (Lin ve ark 2016). Dokularda iskemi reperfüzyonu esnasında; hücresel boyutta oksidatif fosforilasyon durur ve hücresel enerji gerektiren Na+-K+ ATPaz pompası da inhibe olur. Hücre içindeki Ca^{+2} miktarı yükselir ki bu durum hücre için sitotoksiktir (Jennings ve ark 1991, Orrenius ve ark 1992). Membran fosfolipitleri ve hücre iskeletinin bozulmasına neden olan proteaz ve fosfatazların aktifleşmesi sonucunda SOR'lar oluşur. SOR'lar I/R hasarının gerçekleşmesinde ve oksidatif stresin oluşumunda önemli rol oynarlar (Bonventre ve Weinberg 2003, Şener ve Yeğen 2009). İskeminin ortadan kalkması için kanlanmanın yeniden başlaması gerekecektir ve reperfüzyon başladığında ise doku daha çok zarar görür. Bunun sebebi iskemik dokuya reperfüzyonla birlikte çok fazla oksijen gelmesi ve hızlıca oluşan

SOR'ların lipid peroksidasyonuyla birlikte hasarı artırmasıdır (Zimmerman ve Granger 1992). Doku hasarının bir diğer önemli nedeni ise iskemi sırasında ve sonrasında oluşan inflamatuar yanıttır (Özden ve ark 1998). İnflamatuvar yanıt ve oksidatif stres iskemi/reperfüzyon hasarını takiben organda kalıcı hasar oluşturabilmektedir (Kohansal ve ark 2019). İskemi reperfüzyon sırasında lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu gerçekleşir. Polimorf nüveli lökositler; SOR salınımı, mikrovasküler oklüzyon, sitokin salınımı ve vasküler permeabilite artışına neden olmak suretiyle hasar oluşturur (Lopez-Neblina ve ark 1996, Frangogiannis 2007). Bu konudaki çalışmalar reperfüzyon esnasındaki nekroz ile nötrofil infiltrasyonu ve aktivasyon derecesinin uyumlu olduğunu göstermiştir (Thrane ve ark 2007).

Serebral kan dolaşımının kesintiye uğraması, nöronal disfonksiyon veya yıkımın bir sonucu olarak yüksek nörolojik defisitler ile karakterize olan inmeye neden olabilir. Heparin, serebral iskemi/reperfüzyon hasarına karşı nöroprotektif bir etki uygulayabilir. Gerbil beyninde oluşan hasar heparin ön tedavisi ile nöronal hücre apoptozunun iyileştirilmesi ve TNF-α ve IL-1β ekspresyonu yoluyla azalmış olup bu bulguların serebral iskeminin çalışma ve tedavisinde yeni bir atılım sağlaması beklenmektedir (Ye ve ark 2019).

Akut iskemik inme genellikle nörolojik disfonksiyona neden olur ve halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturur. Gerçekleştirilen bir çalışmada Emodin ve ginsenoside Rb1 kombinasyonu, I/R'den sonra AQP4 ve connexin 43'ü düzenleyerek sinerjik olarak nöroprotektif işlevler gösterdiği rapor edilmiştir (Li ve ark 2018c). İskemik inme, dünya çapında hastalarda ikinci ölüm nedeni olarak sıralanmıştır. Serebral iskemi/ reperfüzyon (I/R) sırasında aktive olan enflamasyon, beyin hasarına yol açan önemli bir mekanizmadır. Flurbiprofen axetil inflamasyonu ve beyin ödemini azaltarak beyni serebral I/R hasarından korumuştur (Wu ve ark 2018). Tüm bu bulgular, troxerutin and cerebroprotein hydrolysate injections (TCH) koruyucu bir rol oynadığını gösterdi ve bu anti-inflamasyon, antiapoptoz ve kan-beyin bariyerinin korunmasında önemli olduğu ve neurovascular yapının ideal bir hedef olduğu ve TCH'nin serebral I/R yaralanmalarına karşı nöroprotektif bir ajan olarak davrandığı belirlenmiştir (Zhao ve ark 2018). Yapılan bir başka çalışmada ise Taurine-up-regulated-gene 1 shRNA, in vivo olarak I/R fare beyinlerinde enfarktüs alanını ve

hücre apoptozunu azaltmıştır. lncRNA taurine up regulated gene 1'in miR-145 için hücre hasarını indüklemek için rakip bir endojen RNA olarak işlev görebileceğini ve muhtemelen serebral iskemi/reperfüzyon hasarında yeni bir terapötik hedef sağladığı ileri sürülmüştür (Shan ve ark 2020).

1.3. Antioksidanlar

Profilaktik özelliği olan antioksidan yapılar insan vücudunda doğal olarak var olan veya dışarıdan hazır alınan SOR'ları vücudumuzdan atan yapılardır. Antioksidanlar, SOR'lara elektron sunarak etkileşim kurarlar, etkisiz hale getirebilmek için SOR'ların zincir yapılarını kırarlar. Hücresel yapıların korunarak, faaliyetlerine düzenli olarak devam edebilmesi ve canlılığın sürdürülebilmesi için antioksidanlar önemli görevler üstlenirler (Şener ve Yeğen 2009). Antioksidan maddeler oksidasyonu geciktirebilir veya durdurabilirler (Ozougwu 2016). Vücudumuzda oksidan maddelerin etkileri çeşitli antioksidanlarla dengelenir ve antioksidan maddeler insan vücudunda serbest radikallerin yarattığı yıkımların onarılmasını sağlarlar (Birben ve ark 2012, Alam ve Bristi 2013). Bu antioksidanlar eksojen ve endojen kaynaklı olabilmektedir (Birben ve ark 2012, Karabulut ve Gülay 2016). Endojen kaynaklı antioksidanlar nonenzimatik ve enzimatik olarak iki alt grupta sınıflandırılabilir. Eksojen kaynaklı antioksidanlar ise üç gruba ayrılmaktadır: doğal, ilaç ve vitamin yapısında olanlar (Karabulut ve Gülay 2016). Nötrofillerin farklı faktörler tarafından uyarılması, oksidatif aktivitelerini artırır ve üretilen serbest radikaller aktivasyon derecesini bildirebilir. DNA'daki iplik kopmalarıyla aktive edilen nükleer bir enzim olan poli (adenosin 5'-difosfat riboz) polimeraz-1, iskemi-reperfüzyon hasarı ve enflamasyonla ilişkili doku hasarında önemli bir rol oynar. 5-aminoizokinolin-1-on, sıçanlarda in vitro ve in vivo Poli (adenosin 5'-difosfat riboz) polimeraz-1 aktivitesinin güçlü bir inhibitör olarak görev yapmıştır (Hendryk ve ark 2008).

1.4. Flavonoidler ve Naringenin

Naringenin (4′,5,7-trihidroksiflavon), doğal olarak oluşan, meyve ve sebzelerde bulunan bir flavonoiddir. Özellikle greyfurt ve portakal gibi narenciye çeşitlerinde bulunur. Naringenin iskemik hücre hasarına karşı antioksidan koruma sağlayarak, miyokard iskemisi-reperfüzyon modelinde iskemik hasarını azaltmıştır

(Benavente-Garcia ve ark 1997). Naringenin (NAR), turunçgillerde bulunur ve antioksidan, anti-mutajenik ve anti-kanserojen etkileri vardır (Erlund 2004). NAR'ın kolorektal kanser ve skuamöz hücreli karsinom hücrelerin çoğalmasını inhibe edebileceği gösterilmiştir (Maggioni ve ark 2014, Song 2015). Araştırmacılar NAR'ın reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunu azaltabildiğini, mitokondriyal membran potansiyelini arttırdığı, kaspaz 3/7 ile birlikte hareketsizliği sağladığı ve DNA hasarını sınırladığını rapor etmişlerdir (Youdim ve ark 2004, Prasain ve ark 2010). Naringeninin antidiyabetik, antideprasan, antiaterojenik, immünomodülatör, antiinflamatuar, antitümör, DNA koruyucu, antioksidan, hipolipidemik ve hafıza geliştirme gibi birçok biyolojik etkisi olduğu da kanıtlanmıştır. Ayrıca naringeninin, nitrik oksit ve yüksek lipit peroksit tüketerek ve glutatyon düzeyini artırarak sıçanlarda oksidatif stresi düşürdüğü bulunmuştur (Venkateswara Rao ve ark 2017). Yapılan çalışmalarda NAR'ın kortikal nöron hücrelerinin çoğalmasını sağladığı ve apoptozu inhibe ettiği, serebral ödemi azalttığı ve nörolojik kusurları iyileştirdiği belirlenmiş olup serebrovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılması gerektiği de ileri sürülmüştür (Wang ve ark 2017a). Naringenin, turunçgillerde bulunan en bol flavanondur ve umut verici nöroprotektif, antienflamatuar ve antioksidan etkilere sahiptir (Oliveira ve ark 2020). Nöronal apoptoz ve oksidatif stres birçok iskemik serebrovasküler hastalığın gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkili ana faktörler olarak kabul edilir. Bu nedenle, anti-oksidan tedavi ve bununla ilgili sinyal yolu üzerinde etkilidir ve anti-apoptotik ajanlar için yeni tedaviler ortaya çıkabilir. NAR beyin iskemisi sonrası görülen, beyin ödemini azaltabilir, iyileştirebilir. Nörolojik defektleri, apoptozu ve oksidatif stresi de azaltır (Wang ve ark 2017a).

Naringenin tedavisi, antioksidan durumunu başarılı bir şekilde yükseltir, enfarktüs boyutunu azaltır ve miyeloperoksidaz, nitrik oksit ve sitokinlerin seviyelerini düşürür, ayrıca fonksiyonel geri kazanım sağlamaya yardımcı olur. Naringenin tedavisinin glial aktivasyonu sınırladığını ve NF-KB ekspresyon seviyesini ve hedef genlerini düşürdüğü gösterilmiştir. Bu sonuçlar, naringenin ile yapılan profilaktik tedavinin fonksiyonel sonuçları iyileştirdiğini ve NF-KB aracılı nöroinflamasyonu baskılayarak iskemik beyin hasarını ortadan kaldırdığını ortaya koymuştur (Raza ve ark 2013). Ayrıca naringenin, peroksizom proliferatör ile aktive olmuş reseptör (PPAR)-α ve PPAR gama sinyalini etkiler ve insülinle uyarılmış tirozin fosforilasyonu ve insülin doku duyarlılığını arttırır (Kuiper ve ark 1998, Goldwasser

ve ark 2010, Kannappan ve Anuradha 2010). Narenciye meyvelerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunan naringeninin, enflamatuar işlemlerin, anti-enflamatuar takviyeler ile zayıflatıldığı literatürle uyumlu olan bu proinflamatuar sitokinlerin seviyesini etkin bir şekilde azalttığını göstermektedir (Khan ve ark 2009).

Naringenin tarafından sunulan nöroproteksiyonu açıklayıcı mekanizmalar olarak birçok yol önerilmiştir (Chao ve ark 2010), naringenin makrofaj ve mikroglia'da lipopolisakkarid kaynaklı inflamasyon üzerindeki inhibe edici etkilerini göstermiş olup, naringeninin kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklarda olası bir yararlı etkisi olduğu gösterilmiştir (Kuiper ve ark 1998). Östrojen reseptörleri ile naringenin etkileşimi, nöroproteksiyondan ve serbest radikal oluşumunun azaltılmasından sorumlu olabilir. Ayrıca naringenin, PPAR alfa ve PPAR gama sinyalini etkiler ve insülinle uyarılmış tirozin fosforilasyonunu ve insülin doku duyarlılığını arttırır (Goldwasser ve ark 2010, Kannappan ve Anuradha 2010). Naringenin MCAO modelinde, özellikle endojen antioksidan seviyesinin yükseltilmesi ve glial hücrelerin ve NF-KB'nin aktivasyonunun inhibe edilmesinin ve böylece proinflamatuar sinyallerin inhibe edilmesiyle faydalı etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Saponara ve ark 2006).

Burun içinden uygulanan NRG-NE-jel + %0.50 CS, beyindeki naringenin biyoyararlanımını artırmak suretiyle serebral iskemik sıçanlarda, nörodavranışsal aktiviteyi (lokomotor ve kavrama kuvveti), ardından antioksidan aktiviteyi ve enfarktüs hacmini önemli ölçüde geliştirdiği belirlenmiştir (Ahmad ve ark 2020). Hipoksiye ve ardından reoksijenasyona maruz kalan karışık nöronal kültürde, naringenin'in 2.5 μmol/L'lik bir konsantrasyonda hücre ölümüne karşı önemli nöroproteksiyon sağladığı gösterilmiştir (Saleh ve ark 2017). Apoptoz ve oksidatif stres, birçok iskemik serebrovasküler hastalığın gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkili ana faktörler olarak kabul edilir.

NAR'ın, kortikal nöron hücre proliferasyonunu teşvik ederek, apoptozu ve oksidatif stresi inhibe ettiği ve Nrf2 proteininin lokalizasyonunu düzenlediği gösterilmiştir. Ayrıca, Nrf2'nin bastırılması ve aşırı ekspresyonu, kortikal nöron hücre proliferasyonunu ve apoptozu etkilemiştir (Wang ve ark 2017a). In vivo, NAR serebral ödemi hafifletebilir, nörolojik kusurları iyileştirebilir ve apoptozu ve oksidatif stresi azaltabilir. NAR, iskemik inme vakalarında anti-apoptotik ve antioksidan etkileri

nedeniyle sağlığı geliştirici özelliklere sahiptir (Wang ve ark 2017a). Enflamatuar hasar, serebral iskemik patogenezde çok önemli ve esas olarak zararlı bir rol oynar ve tedavi için umut verici bir hedef olabilir. Naringenin, anti-enflamatuar özelliği sayesinde faydalı biyolojik etkilerinden dolayı artan bir takdir kazanmıştır. NAR'ın nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2, RIP2, NF-KB ve MMP-9'un ekspresyonunu önemli ölçüde aşağı regüle (down regulation) ettiğini ve claudin-5 ekspresyonunu yukarı regüle (up regulation) ettiği gösterilmiştir (Bai ve ar 2014).

Oksidatif stres ve enflamasyon, nöronların ve bunların destekleyici yapılarının ölümüyle sonuçlanan bir dizi olaya yol açan serebral iskeminin patogenezinde ayrılmaz bir rol oynar. Bu olayları birbirine bağlayan sinyalleme yolları tam olarak anlaşılmamıştır. Yakın zamanda yapılan araştırmalar, nükleer faktör-KB (NF-KB) sinyal yolu ile serebral iskemi/reperfüzyon (I/R) ile indüklenen inflamasyon arasında yakın bir bağlantı olduğunu göstermiştir. Naringenin ile profilaktik tedavinin fonksiyonel sonuçları iyileştirdiğini ve NF-KB aracılı nöroinflamasyonu baskılayarak iskemik beyin hasarını ortadan kaldırdığını göstermektedir (Raza ve ark 2013).

Sistemik inflamasyon, dolaşımdaki immün hücre aktivasyonu ile endotelyal hücre hasarı ve vasküler patogenezde kritik bir rol oynar. Flavonoidler, anti-enflamatuar etkilere sahiptir. Flavonoidler, kimyasal yapılarında bulunan aglikonlar ve glukozitler arasındaki farklardan dolayı farklı etkiler gösterir. Bununla birlikte quercetin, naringenin, naringin ve diosmetin'in kardiyovasküler hastalığın enflamatuar sürecinde potansiyel bir terapötik etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir (Zaragoza ve ark 2020).

Gerçekleştirilen bir araştırmda, dejenere insan Nucleus pulposus hücrelerinde Naringenin ve Naringin'nin anti-enflamatuar ve rejeneratif etkinliklerini değerlendirilmiştir. Moleküler kenetlenme (in silico) çalışmaları, bu doğal ligandların (Nar ve NG) güçlü inflamasyon inhibitörleri olarak tanımlanan genlerle etkili bir şekilde bağlandığı için doğal flavonoidler bel ağrısı ve siyatik tedavisinde anti-enflamatuar ajanlar olarak değerlendirilebileceği önerilmiştir (Devraj ve ark 2019).

Naringenin'in, RIP1-RIP3-MLKL sinyal yolunun regülasyonu ile ilgili olabilecek anti-inflamasyon ve anti-oksidatif stres yoluyla balon ile indüklenen

vasküler neointimal hiperplaziyi baskılayabildiğini ileri sürülmüştür (Huang ve ark 2019). Naringenin ile inkübe edilen dokularda, TNF-α üretimi daha düşüktü ve interlökin (IL) -10 ve 206 mRNA ekspresyonu naringenin olmadan inkübe edilen dokulardakinden daha yüksekti. Bu nedenle naringenin takviyesi kolitli farelerde kolon hasarından kurtulmaya katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Chaen ve ark 2019).

Naringenin (NAR) antioksidan, antinitratif, antiinflamatuar ve anti-apoptotik etkilere sahiptir. NAR'ın oksidatif stresi, nitrozatif stresi, inflamasyonu ve apoptozu azaltarak erkek sıçanlarda Cisplatin ve Doxorubicin'in gonadotoksisitesini engellediği belirlenmiştir (Fouad ve ark 2019). Naringenin ayrıca "sosyal yenilgi stresi"ne maruz kalan farelerin beyinlerinde antioksidan enzimleri yükseltip acetylcholinesterase aktivitesini düşürmüştür (Umukoro ve ark 2018). Naringenin'in, radyasyonla birlikte enflamatuar faktörlerin homeostazını sürdürmek için yeni bir tamamlayıcı stratejinin torasik radyoterapinin etkinliğini artırabileceği de önerilmiştir (Zhang ve ark 2018). NAR, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2'nin (Nrf2) güçlü bir indükleyicisidir ve hem antioksidan hem de anti-enflamatuar etkiler sergileyen bir enzim olan hem oksijenaz-1 (HO-1) ekspresyonunu yukarı düzenler. Bu NAR, Paraquat ile tedavi edilen hücrelerde Nrf2/HO-1 sinyal yolu ile bağlantılı bir mekanizma ile anti-enflamatuar etkiler oluşturduğu rapor edilmiştir (de Oliveira ve ark 2018).

Profilaktik naringenin tedavisinin hayatta kalma oranını önemli ölçüde artırdığını, histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiğini, pulmoner ödem ve akciğer vasküler sızıntısını azalttığını, ROS düzeylerini düşürdüğünü ve nötrofil infiltrasyonunun yanı sıra serum ve bronchoalveolar lavage fluid'deki inflamatuar sitokin düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (Zhao ve ark 2017). Yine aynı çalışmada naringenin, phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase ve AKT'nin toplam ve fosforile protein seviyelerini düşürmüştür. Naringenin, tedavinin 7. gününde artan proinflamatuvar belirteçleri önemli ölçüde inhibe etmiştir (Al-Roujayee 2017). Tekrarlayan naringenin (100 mg/kg) uygulamasının, muhtemelen nöroinflamasyonu inhibe ederek, sıçanlarda omurilik hasarında koruyucu etki sağlayabileceğini düşündürmektedir (Shi ve ark 2016). Profilaktik NAR tedavisinin (100 mg/kg) oksidatif yükün azaltığı, mitokondriyal işlevi sürdürdüğü ve uyarılmış nöronal hücre ölümünü önleyerek sonuçta bilişsel bozukluğu iyileştirdiği rapor edilmiştir (Krishna Chandran ve ark 2019). Benzer şekilde profilaktik naringenin tedavisinin, lipid

peroksidasyonu ve apoptozun hafifletilmesi yoluyla Beta-amyloid'in neden olduğu öğrenme ve hafıza bozukluğunu hafiflettiğini ve yararlı etkisinin bir şekilde östrojenik yolla aracılık edildiğini göstermektedir (Ghofrani ve ark 2015). Doğal olarak oluşan polifenoller, çeşitli patofizyolojik koşullarda oksidatif hasarı önleme potansiyeline sahiptir. Bu veriler, mezensefalik dopamin nöronlarının apoptotik hasarını hafifletebilen flavonoidlerin nöroprotektif yeteneklerini göstermektedir. Bu dopamin nöronları parkinsonizmde oksidatif stres altında olduğundan, flavonoidlerin Parkinson'daki diğer antioksidan tedavilerle birlikte fayda sağlayabileceğini düşündürmektedir (Mercer ve ark 2005).

Naringenin (NAR), uygulaması (50 mg kg-1) 90 gün boyunca hiperkolestremik diyet sıçanlarında böbrek belirteçlerinde bir iyileşme ile gösterdiği gibi böbrek yetmezliğini önemli ölçüde önlemiştir. Dahası, NAR (50 mg kg-1) hiperkolestremik diyet sıçanlarının böbreklerinde lipid profilini önemli ölçüde düşürmüş ve pro-oksidan ve inflamasyon belirteç seviyelerini önemli şekilde baskılamıştır (Chtourou ve ark 2016). Gentamisin, serum kreatinin ve böbrek dokusunda malondialdehit, nitrik oksit ve interlökin-8 seviyelerinde önemli artışlara ve böbrek glutatyon peroksidaz aktivitesinde önemli bir azalmaya neden olmuştur. Naringenin tedavisi, gentamisin uygulamasından kaynaklanan ölçülen biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikleri önemli ölçüde iyileştirdiğinden, naringeninin, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle gentamisin nefrotoksisitesine karşı koruma sağlamak için terapötik bir seçenek oluşturabileceği sonucuna varılmıştır (Fouad ve ark 2014).

1.5. Aquaporin 4 (AQP4)

Memeli akuaporinleri (AQP'ler) vücuttaki çok çeşitli hücrelerde ve dokularda eksprese edilen transmembran kanallardır. Su kanalları olarak bilinirler, ancak aynı zamanda küçük çözünen maddelerin, gazların ve tek değerlikli katyonların taşınmasını da kolaylaştırırlar. Bugüne kadar, AQP0-AQP12 genleri tarafından kodlanan 13 farklı AQP böbrek, beyin, akciğer, sindirim sistemi, göz ve derideki çeşitli önemli biyolojik fonksiyonları düzenleyen memelilerde tespit edilmiştir. AQP'lerin disfonksiyonu çok çeşitli bozukluklarda rol oynar (Verkerk ve ark 2019).

Aquaporin-4 (AQP-4), kan-beyin bariyeri yoluyla beyinde su ve su birikimini düzenleyen bir su kanalı proteinidir (Yao ve ark 2015). Aynı zamanda, reseptör 4

(TLR4) ve nükleer faktör kappa B (NF-KB) ile birlikte beyin hasarı ve çok sayıda iltihaplanma ile ilişkilendirilir (Lan ve ark 2013). Hücre membranında, AQP4 formları ortogonal partikülleri olarak bilinen düzenli kare formdaki yapılardır (Yang ve Verkman 1997, Rash ve ark 1998). Bunlar özellikle astrosit son ayakları ile beyindeki kapillerler etrafında daha yaygındır (Rash ve ark 1998). Bunların fonksiyonu tam olarak bilinmemesine rağmen su geçişini artırdıkları konusunda spekülasyonlar olup (Silberstein ve ark 2004, Fenton ve ark 2010), AQP4'ün astrosit son ayakları (Amiry-Moghaddam ve ark 2004) ve hücre adezyonuna polarizasyonu vardır (Hiroaki ve ark 2006). Aquaporin için (OAP)-formasyonu neuromiyelitis optika-immunoglobulin G ile neuromiyelitis optika patogezinde de önemli olup, antikorlar OAP'den ziyade AQP4'e daha yüksek duyarlılığa sahiptir (Crane ve ark 2011, Phuan ve ark 2012). AQP4 primat ve rodentlerin beyninde bulunmuş olup, başlıca perivasküler astrosit son ayaklarında yerleşim gösterir (Gonen ve Walz 2006). Yalnızca su geçişine katılmaz, aynı zamanda AQP4 hücre adezyonu (Hiroaki 2006) ve göçü (Saadoun 2005) ile ilgili olup AQP4 fonksiyonu altındaki mekanizma kompleks olup bazı noktalarda zıtlıklar içerir (Saadoun 2009).

İskemik inme, bir arterin serebral dolaşımdan embolik veya trombotik obliterasyonu yoluyla meydana gelir ve tüm inme vakalarının %80'inden fazlasını temsil eder. İnme sonrası en şiddetli komplikasyonlardan biri, kan damarı duvarları etrafındaki dengesiz su difüzyonundan kaynaklanan ödemdir. Kan damarı duvarlarının etrafındaki su difüzyonu fizyolojik olarak esas iki proteinden oluşturulmuş gözenek yoluyla gerçekleşir, bunlar 1 ve 4. Aquaporinlerdir. AQP4'ün özellikle kortekste ve organize skar alanlarında AQP1'den daha bol olduğu gösterilmiştir. Her ikisi de astrosit membranlarında bulunan iki markörün kolokalizasyonu yüksekti, ancak skar peri-iskemik bölgelerde kolokalizasyon derecesi düşüktü. Analiz edilen beyin bölgelerinde temel membranlarla kolokalizasyon da AQP4'e kıyasla AQP1 için daha düşüktü (Roşu ve ark 2019).

Akuaporinler (AQP'ler) çeşitli doku türlerinde yaygın olarak eksprese edilir, aralarında AQP1, AQP4 ve AQP9, çeşitli beyin bölgelerinde nispeten özel dağılım özellikleriyle ağırlıklı olarak eksprese edilir. Beyin AQP1, AQP4 ve AQP9 tanımlanmasının çeşitli fare enfeksiyonu modellerinde anormal bir şekilde arttığına dair sağlam kanıtlar önerilmektedir. Beyin dokularında biriken AQP'ler ile artan PrP

Sc arasındaki yakın anatomik ilişki, anormal şekilde artmış su kanalı proteinlerinin prion hastalıklarının patogenezine katıldığını gösterir (Shi ve ark 2019).

Astrosit AQP4'nün değişiminin beyin yaralanması sırasında nöroinflamasyon ve beyin ödemi oluşumda kritik bir rol oynadığı belirlenmiştir (Tourdias-2011, Wolburg ve Buchholz 2009, Badaut 2011a, Badaut 2011b). Travmatik beyin yaralanması, inme, beyin tümörleri ve inflamasyon gibi çoğu beyin hastalıkları serebral ödemle, beyin ozmotik homeostazisinin disfonksiyonu nedeniyle aşırı sıvı birikimi ile sonuçlanır (Badaut ve ark 2014). Bu olaylar beyinde iskemi ve ölüme neden olan intrakraniyel basınçtaki önemli artışla birliktedir (Papadopoulos ve Verkman 2007). Serebral ödemin geleneksel olarak iki sınıfı olup bunlar: sitotoksik, intakt kan-beyin bariyerinde intrasellüler su birikimi ile birliktedir ve vasojenik olanı ise kan-beyin bariyeri bozulmasıyla birliktedir (Badaut ve ark 2011a). AQP4-null farelerde yapılan çalışmalarda ilk deliller AQP4'ün beyin ödemi oluşumuna önemli şekilde katıldığını göstermektedir (Manley 2000). Sitotoksik ödemin erken döneminde AQP4 ödem sıvısı oluşumunu hızlandırır, ancak vasojenik beyin ödeminde sıvı eliminasyonu AQP4 tarafından artırılır (Papadopoulos ve Verkman 2007). Beyin yaralanmasında ödem oluşumunu sınırlandıran veya önleyen etkili bir mekanizma olmadığı için, AQP4'ün bu olaya iştirak ettiğinin belirlenmesi bu konuda etkili yeni ilaçların geliştirilmesi için faydalı olacaktır.

Aquaporinler (AOP'ler) beyin ödeminin patogenezinde önemli rol oynarlar. Su kanalı protein ailesinin üyeleri olarak beyin dokusunda, özellikle astrositik uç ayaklarda yüksek oranda eksprese edilirler. Merkezi sinir sisteminde, su kanalı proteini esas olarak astrositik ayaklarda, KBB ve subpial bölgelerde eksprese edilir (Ikeshima-Kataoka ve ark 2015). Sitotoksik ve vazojenik gelişimi sırasında su hemostazı ve ayrıca ödem için önemli bir faktördür. AQP'lerin artmış ekspresyonu, nöral inflamasyon ve iskemi gibi nörolojik hastalıkların patofizyolojisinde önemlidir (Kozlu ve ark 2014). AQP4'ün, serebral iskemi/reperfüzyon hasarında KBB'nin geçirgenleşmesiyle bağlantılı olabileceği bilinmektedir (Xu ve ark 2014). Birçok literatür AQP4'ün iskemiye bağlı beyin ödeminde önemli bir rol oynadığını belirtmiştir (Zhu ve ark 2014). Ayrıca, AQP4, KBB boyunca yaralı astrositlere su hareketini kolaylaştırır. Önceki çalışmalar, serebral iskemiden sonra AQP4 nakavt farelerde karşılaşılan gelişmiş nörolojik sonuçla birlikte azalmış sitotoksik beyin ödemini

göstermiştir (Akdemir ve ark 2014). AQP4 aşırı ekspresyonundan kaynaklanan serebral ödem, serebral iskemi sırasında progresif nöronal hasarın başlıca belirleyicilerinden biri olarak kabul edilir. Bu nedenle AQP4'ün aşırı varlığı-tanımlanması, iskemik patoloji sırasında beyindeki su dengesizliğinin başlıca nedenlerinden birisidir (Bhattacharya ve ark 2013). Bununla birlikte, iskemik beyinde, AQP4'ün remote ischemic preconditioning müdahalesinde rolü bilinmemektedir (Li ve ark 2015a). Aquaporin-4 (AQP4) beyin yapısında en fazla bulunan moleküllerden biridir, ayrıca kan-beyin omurilik sıvısı (BOS) bariyerinde ve kan beyin bariyerindeki astrosit membranlarında bolca bulunur. İnterstisyel sıvıda yer alarak çözünen atık ürünler, proteinler ve fazla ekstrasellüler sıvının dışa atılımı astrositik AQP4 kanalları aracılığıyla gerçekleştirilir (Nagelhus ve Ottersen 2013). Beyindeki ventriküllerin duvarını örten ependim hücrelerinin bazolateral membranlarının yapısında AQP4 kanallarının bulunması (Skjolding ve ark 2010), bu hücrelerin de aynı astrositler gibi beyindeki toksik moleküllerin taşınmasında görevli olduğunu düşündürmektedir. AQP4, bez epitelinde, glial hücrelerde, akciğerlerde, çizgili kas sarkolemmasında, retinada, midede, venöz ve kapiller damarların duvarlarında, subaraknoid astroglial hücrelerin içinde ve ayrıca vasopressin salgılayan nöronların çevresindeki glial lamelae'nin içinde yer alır. Beynin yapısındaki gliyal hücrelerde var olmasına rağmen, nöronlarda bulunmamaktadır. Suyun kan beyin bariyerini AQP4 sayesinde aştığı düşünülmektedir (Agre ve Kozono 2003). AQP4, BOS kompartmanları ile beyin parankimi arasındaki su taşınmasında önemli görev alan serebral ventriküldeki ependimal hücrelerin bazolateral membranında görülmektedir. Bunun haricinde serebral kan damarları ile doğrudan temas halinde olan astrosit son ayaklarında da bulunur (Zador ve ark 2007).

Önceleri civa-duyarsız su kanalı olarak isimlendirilen ve daha sonra adı AQP4 olarak belirlenen bu aquaporin, beyinde astrositler ile ependimositlere immünlokalizedir (Hasegawa ve ark 1994, Frigeri ve ark 1995). AQP4 pek çok fizyopatolojik sürecin içindedir. Son zamanlardaki çalışmalar AQP4'ün potasyum (K) tamponlanması, ekstrasellüler sıvı hacminin düzenlenmesi, serebro-spinal sıvı döngüsü, atıkların uzaklaştırılması, interstisyel sıvı emilimi, nöroinflamasyon, ozmotik duyarlılık, Ca+2 haberleşmesi ve hücre göçü gibi birçok farklı alanda görev aldığını ortaya koymuştur (Nagelhus ve Ottersen 2013).

AQP4, aquaporin alt gruplarından suya seçici geçirgen olan gruba aittir (King ve ark 2004). AQP4'ün yapısında bulunan porlar, yüksek seçicilikte ve etkinlikte su geçişine olanak yaratırken; sudan büyük olan molekülleri ise dışarıda tutar (Wspalz ve ark 2009). AQP4, suya ilave olarak gliserol (aquagliseroporin) ve başka bazı maddelerinde (gaz, iyon ya da sinyal molekülleri) geçişine olanak sağlar (Tani ve ark 2009). Gaz, sinyal ya da iyon moleküllerinin porlar boyunca taşınması, kan beyin bariyeri ve lokal kan akımını arasındaki substrat değişimini dolaylı veya direkt olarak etkiler (Nagelhus ve Ottersen 2013).

Beyin fonksiyonları, ekstrasellüler hacmin etkin kontrolünde gerçekleşir. AQP4 kanallarının beyin parankiminde bol miktarda bulunması, beyin interstisyumundan makromoleküllerin uzaklaştırılması ve bu bölgedeki ekstrasellüler sıvının emilimi gibi iki hayati fonksiyonun gerçekleştirilmesi açısından son derece önem arz eder (Haj-Yasein ve ark 2011). Özellikle epilepsi ve alzheimer gibi nörolojik hastalıklarda, AQP4 ekspresyonu miktarı astrosit son ayak membranlarında düşmüştür. Bunun sonucunda bazı nörolojik hastalıkların açığa çıkmasında bu kanalların işlevsel olduğu düşünülmektedir (Yang ve ark 2011, Lee ve ark 2012). Beyinde AQP4'ün görevlerini anlamak için yapılan çalışmalardaki sonuçlar, parankimal BOS emilim yolunun, oldukça yüksek bir şekilde AQP4'e bağlı olduğunu açıklamaktadır (Tourdias ve ark 2009).

AQP4 merkezi porlara sahip ve beyinde en fazla bulunan, hücresel transmembran protein kanallarıdır. Beyinde bulunduğu yerler astrosit son ayak membranları (Venero ve ark 2001) ile ependimal hücrelerin bazolateral membranlarıdır (Gunnarson ve ark 2004). AQP4'ün bulunduğu yerlere bağlı olarak (BOS ve beyin parankimini ayıran ventrikül duvarı ile kan beyin bariyeri), kompartmanlar arasında görülen ozmotik gradient farkından dolayı su ve diğer bazı moleküllerin taşınmasına aracılık ettiği düşünülmektedir (McAllister ve Miller 2006).

Araştırmacılar beyin dokusunda üç tip AQP (1, 4, ve 9) tespit etmiştir. AQP-1 ventriküler sistemi kaplayan koroid hücrelerinin içinde yer alır ve beyin omurilik sıvısı üretiminde önemli bir görev aldığı düşünülür (Macaulay ve Zeuthen 2010). AQP-9'un beyindeki enerji metabolizmasında rol aldığına inanılıyor. Özellikle astrositlerde ve ventrikül duvarını kaplayan hücrelerde görülmektedir. Hidrosefalide rol oynadığı düşünülmektedir (Gunnarson ve ark 2004). Önceki çalışmalar, aquaporin-4'ün

(AQP4) beyin suyu taşınmasını modüle ettiğini ve endotelin-1'in serebral ödem oluşturduğunu göstermiştir. İnflamazom NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3) inflamazomdur ve yangısal süreçte önemlidir. MCC950 ise NLRP3'ü baskılayarak beyin iskemi reperfüzyonunda hasarı ve yangısal süreci baskılar (Wang ve ark 2020a). Kan-beyin bariyerinin bozulması ve ardından ödem, mevcut klinik tedavinin tatmin edilmediği iskemik inmede patogenezin başlıca nedenleridir. Tetramethylpyrazine-2-O-sodium ferulate, tight junction proteinleri, MMP-9 ve AQP4 ekspresyonunun düzenlenmesi ile ilişkili olan kan-beyin bariyeri geçirgenliğini ve beyin ödemini önemli ölçüde azaltmıştır. Bu bulgular, iskemik inme tedavisine yeni bir yaklaşım sağlar (Xu ve ark 2017). Beyin ödeminin, astrosit son ayaklarında bulunan su-protein kanalları olan aquaporin-4 (AQP4) kullanılarak oluştuğu ve temizlendiği düşünülmektedir. AQP4, astrosit ile ECS ve mikrodamarlar arasında suyun hareketine izin verir. AQP4'ün varlığının, beyin dokusu hücre dışı basıncında bir azalma ile gösterilen vazojenik ödemin azaltılmasına yardımcı olabileceği bulunmuştur. Ancak, astrosit basıncı bu azalmayı telafi etmek için artacaktır. Bu da sitotoksik ödemlere neden olabilir. Şişme aynı zamanda astrosit ve hücre dışı boşluktaki iyonik konsantrasyonlara da bağlı olacaktır ve bunlar iskemik inmeden sonra değişebilir. AQP4'ün ödemdeki rolünün anlaşılması, iskemi-reperfüzyon sonrası beyin şişmesini azaltmada bir tedavi planının geliştirilmesine yardımcı olabilir (Mokhtarudin ve Payne 2017). Lactuside B'nin sıçanlarda serebral I/R hasarını takiben hipokampüs ve striatumda AQP4 ve kaspaz-3 mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde aşağı regüle edebildiğini göstermektedir (Li ve ark 2014).

Serebral iskemi ve ardından beyin ödemi yaşamı tehdit edebilir. Matriks metaloproteinaz-9 (MMP-9) ve akuaporin-4'ün (AQP4) beyin ödeminin gelişiminde önemli rolleri olduğu yaygın olarak bildirilmiştir (Li ve ark 2020). NLRP3 inflammasomu, iskemik inmeden sonra enflamatuar hasarı destekler. Bu nedenle NLRP3 enflammasomunun, serebral iskemi-reperfüzyonda beyin ödeminin tedavisi için önemli bir hedef olduğu düşünülmektedir ve MCC950, iskemik felç tedavisi için potansiyel değere sahiptir (Wang ve ark 2020a).

Gerçekleştirilen bir çalışmada, uzun kodlamayan RNA (lncRNA) MALAT1'in iskemi-reperfüzyon hasarının neden olduğu beyin dokusu hasarına dahil olup olmadığını doğrulamayı ve MALAT1'in akuaporin 4'ü (AQP4) düzenlediği

mekanizmayı belirlemek amaç edinilmiştir. MALAT1'in AQP4 ekspresyonunu rekabetçi şekilde bağlanan miR-145 yoluyla etkileyerek serebral iskemi-reperfüzyon hasarını teşvik ettiğini doğruladı, bu da MALAT1'in serebral iskemik inme tedavisi için yeni bir terapötik hedef olabileceğini gösterdi (Wang ve ark 2020b).

İskemik inme, beyin hasarının ana nedenidir ve yüksek oranda morbidite, sakatlık ve mortalite ile sonuçlanır. Bu bulgular, miR-29a'nın AQP4'ü inhibe ederek in vitro astrosit hasarını önlediğini göstermiştir. Bu nedenle miR-29a, AQP4'ü hedefleyerek oksijen-glikoz yoksunluğu ile indüklenen yaralanmadan sonra birincil kültürlenmiş astrositleri koruyabilir ve astrositlerin iskemik hasarı için potansiyel bir terapötik hedef olabilir (Zheng ve ark 2019).

Aldehit dehidrogenaz 2 (ALDH2), merkezi sinir sisteminde yeni bir terapötik hedeftir. Bununla birlikte, ALDH2 ile iskemik inmeyi takiben beyin ödemi arasındaki ilişki net değildir. ALDH2'nin etkileri daha sonra reperfüzyondan 24 saat sonra nörolojik fonksiyon, enfarktüs boyutları, beyin ödemi hacimleri, 4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE) seviyeleri ve akuaporin 4 (AQP4) protein ekspresyonu değerlendirilerek araştırılmıştır. ALDH2 aktivitesinin artması beyin ödemini, enfarktüs hacimlerini iyileştirebildiğini ve bir sıçan iskemik inme modelinde nörolojik bozukluğu azaltabileceğini göstermiş olup, ALDH2'nin terapötik faydalarının, 4-HNE klirensi ve AQP4 down regulasyonuyla ilgili olabileceği önerilmiştir (Li ve ark 2018b).

Orientin'in, antioksidan, antiinflamatuar, antitromboz, antiapoptoz ve benzerlerinin kapsamlı farmasötik etkilerine sahip olduğu bildirilmiştir. Orientin, I/R hasarını takiben sıçanlarda AQP-4 ve enflamatuar faktör ekspresyonunu büyük ölçüde aşağı regüle etti ve hücre morfolojisini ve yapısını iyileştirdi. Orientin, oksidatif stresin ve amino asitlerin nörotoksisitesinin zayıflatılması ve AQP-4 ve inflamatuar sitokinlerin yukarı regülasyonunu inhibe ederek serebral I/R hasarına karşı fark edilir korumaya aracılık edebileceği önerilmiştir (Wang ve ark 2017b). Bir flavonoid olan resveratrolün de enfarktüs hacmini ve beyin ödemi insidansını azalttığını ve nörolojik açıkları azalttığını gösterdiği belirlenmiştir (Li ve ark 2015b).

Mısır, soya fasulyesi, ıspanak yaprağı ve domates akuaporinlerinin beyin astrositik ayak ayakları tarafından bol miktarda ifade edilen insan akuaporin-4 ile homolojiyi paylaştığı gösterilmiştir. Diyetteki akuaporinlere karşı antikor reaktivitesi

olan hastalar, nörolojik doku hasarını önlemek için akuaporin içeren yiyeceklerden uzak durmayı düşünebilirler (Lambert ve ark 2019).

Hidrosefali, subaraknoid kanamanın yaygın bir komplikasyonudur. Transmembran su kanalları olarak, akuaporinler 1 ve 4 (AQP1 ve AQP4) hidrosefali patogenezinde rol oynar. AQP1 ve AQP4, subaraknoid kanama tarafından indüklenen hidrosefali şiddeti ile önemli ölçüde ilişkilidir. AQP1 ve AQP4, hidrosefali için terapötik stratejiler geliştirmek için potansiyel ilaç hedefleridir (Long ve ark 2019).

Aquaporin-4 (AQP4), kan-beyin bariyeri ve beyin-beyin omurilik sıvısı arayüzü boyunca su değişimini düzenlemede önemli bir rol oynar. AQP-4 devre dışı bırakılmış fareler üzerinde yapılan çalışmalar, akut su zehirlenmesi ve iskemik inmenin neden olduğu beyin ödeminden önemli ölçüde koruma bildirmiş ve AQP4'ü terapötik müdahaleler için potansiyel bir hedef olarak tanımlamıştır (Zhang ve ark 2019b).

Hipogliseminin beynin su difüzyonunu önemli ölçüde etkilediğini ortaya çıkarmıştır. AQP4'ün azalması, akut hipoglisemide sitotoksik ödem oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. Hipoglisemi esas olarak serebral kortekse, hipokampusa ve hipotalamusa zarar verme eğilimindedir ve beyinde kalıcı hasara neden olabilir (Tong ve ark 2019). Hafif hipotermi, kardiyopulmoner resüsitasyon sıçanlarının beyin dokusunda p38 mitojenle protein kinaz sinyal yolu aracılığıyla AQP4 ekspresyonunu düzenleyebilir ve beyin ödemini azaltarak beyin koruması sağlayabilir (Zhang ve ark 2019a).

1.6. Sitokinler ve IL-2

Sitokinler uyarılmış makrofajlar, lenfositler ve monositler ile diğer bazı somatik hücreler tarafından sentezlenirler ve 20–30 kD ağırlığında oldukça düşük ağırlıklı maddelerdir. Sitokinler, hücre iyileşmesi, hücre büyümesi, enflamasyon ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan enflamatuar olayları ve bağışıklığı düzenlerler. Bu bakımdan hormon yapılara benzerler fakat hormon değildirler. Parakrin, otokrin ve endokrin etkilere sahiptirler (Noronha 1995). Sitokinler, immün hücreler tarafından üretilen, immün aktif moleküllerdir. Homeostazisi sağlamak için görevli immün sistemin modülatörleridir ve diğer biyolojik sistemlerle ilişkiyi sağlarlar (Doksat 2003). İnterlökinler (IL), transforming growth faktörler, tümör

nekrozis faktörler (TNF) ve kemokinler sitokin ailesine dahil olan moleküllerdir. IFN-γ, TNF-α, IL-1β, IL-6 ve IL-2 proinflamatuvar, IL-10, IL-4, IL-13 ve IL-12 antiinflamatuvar, IL-8 ise hem antiinflamatuvar hem de proinflamatuvar sitokinler grubu içerisinde yer alır (Kalelioğlu ve ark 2017). Çözünebilir (soluble) sitokin reseptörleri ise sitokin sinyal akışını azaltan veya artıran inflamasyon ve immün cevabın önemli düzenleyicileridir (Levine 2004). Anti-inflamatuar sitokinler, hücresel aktivasyona karşı koyarak, bağışıklık tepkisinin azalmasını sağlarlar. Pro-inflamatuar sitokinler ya doğrudan ya da dolaylı olarak inflamatuar süreçlerine katılırlar (Keen 2002). Mikroglia ve bağışıklık hücrelerinden köken alan sitokinlerin, SSS üzerinde güçlü etkileri olduğunu gösteren kanıtlar gittikçe artmaktadır (Sadock ve ark 2014). Sitokinlerin metabolizmadaki rolü inflamatuvar sistemin çok daha ötesindedir ve ayrıca nöroendokrin sistem, nörogenezis ve nörotransmitter metabolizmasını da önemli ölçüde etkiler (Haroon ve ark 2012). Sitokinler; immünolojik, nöroendokrin, nörokimyasal ve davranışsal etkinlikler gibi birçok beyin işlevleri ile ilişkilendirilmiştir (Tuğlu ve SH 2003).

IL-2, inflamatuvar yanıtların başlatılmasında ve sonlandırılmasında merkezi görevi olan bir sitokindir. Efektör T hücrelerinin aktivasyonunda ve yayılmasında görev alır (Wieck ve ark 2014). İnterlökin-2 (IL-2), son 35 yıldır üzerinde çalışılan çok iyi bilinen bir sitokindir. NK ve T hücreleri gibi birçok bağışıklık hücresinin büyümesinde ve çoğalmasında önemli bir rol oynar. Kanser dahil çeşitli hastalıkların tedavisinde önemli bir immünoterapi sitokinidir. IL-2'nin sistemik verilmesi, renal hücreli karsinom ve melanom hastalarında klinik fayda göstermiştir (Dhupkar ve Gordon 2017)

Moleküler olarak klonlanan ilk sitokin olan interlökin-2'nin (IL-2), T hücrelerinin proliferasyonu ile efektör ve bellek hücrelerinin üretimi için gerekli olan bir T hücresi büyüme faktörü olduğu gösterilmiştir (Abbas ve ark 2018).

IL-2, multimerik IL-2 reseptörüne (IL-2R) bağlanarak ve böylece lenfosit sağkalımını, proliferasyonunu ve fonksiyonunu modüle eden birkaç hücre içi sinyal yoluna girerek lenfositler üzerinde etki eder (Boyman ve Sprent 2012 ; Carrette ve Surh 2012 ; Liao ve ark 2013 ; Rosenberg 2014 ; Sim ve Radvanyi 2014 ; Pulliam ve ark 2016).

Artan C-reaktif protein ve lökosit sayısı, akut inmenin seyri ile ilgili daha kötü prognoz ile ilişkilidir. İnmenin akut fazında pro-enflamatuar ajanların ve kan-beyin bariyeri hasarının belirteçlerinin ekspresyonu, klinik ateroskleroz özelliği olmayan hastalara göre semptomatik aterosklerozlu hastalarda daha belirgin görünmektedir (Lasek-Bal ve ark 2019).

Beyaz cevher hasarının en önemli patolojik değişikliklerinden biri olan demiyelinizasyon, T hücresi aracılı immün yanıtlarla yakından ilişkilidir. CD8+ T hücrelerinin aktivasyonu ve beyin infiltrasyonu, felç sonrası demiyelinizasyon için zararlıdır ve felç sonrası beyaz madde bütünlüğünün korunmasında IL-2 monoklonal antikoru sonrası tedavinin ana hedefi olabilir (Zhou ve ark 2019).

1.6.1. Beyin İskemisi ve Sitokinler

İnme hem beyin iltihabına hem de bağışıklık baskılanmasına neden olur. Hafif-orta dereceli hipoterminin beyin iltihabını hafiflettiği bilinmektedir, ancak periferik bağışıklık sisteminin inme kaynaklı bağışıklığı bastırmasındaki (SIID) rolü bilinmemektedir. Kısa intra-iskemik hipotermi, periferik kan ve dalakta belirli lökositlerin korunmasına yardımcı oldu ve in vitro T hücre proliferasyonunu artırdığı ve in vivo gecikmiş tip aşırı duyarlılığı hipoterminin inme kaynaklı bağışıklığı bastırmasını azalttığını düşündürmüştür. Aksine, beyinde kısa intra-iskemik hipotermi, anti-inflamatuar sitokin IL-10 ve proinflamatuar aracılar INF-γ, TNF-α, IL-2, IL-1β ve MIP-2'nin m RNA ekspresyonunu inhibe ederek inme kaynaklı bağışıklığı bastırmasını zayıflatmış ve akut beyin iltihabına karşı korumuştur (Gu ve ark 2014).

Enflamatuar sitokinler, akut iskemik inmede enfarkt progresyonunun potansiyel modülatörleridir ve bu nedenle gelecekteki tedavi stratejileri için olası hedeflerdir. Köpeklerde gerçekleştirilen bir araştırmada spontan iskemik inmeden 72 saat sonra alınan kan ve beyin omurilik sıvısı örneklerinde tümör nekroz faktörü ve IL-2 gibi diğer sitokinlerin konsantrasyonları değişmemiştir (Gredal ve ark 2017). İnme hastalarında kontrollere kıyasla interlökin 6 sinyal dönüştürücü (sIL-6Rβ/gp130), matriks metalloproteinaz-2, osteopontin, sTNF-R1 ve sTNF-R2 plazma seviyeleri anlamlı derecede yüksekti. İnterferon-β, interlökin-28, ve timik stromal lenfopoietin inme hastalarında azalmıştır (Augello ve ark 2018).

Genç gerbillerde IL-2, 2Rβ, IL-4 ve IL-13 immünoreaktivitesinin erişkinlerdekine benzer veya düşük olduğunu ve erişkinlerde iskemiden 4 gün sonra azaldığını göstermektedir; ancak bu zamanda, gençlerde daha belirgin olarak rapor edilmiştir (Yan ve ark 2012).

Ölümcül olmayan geçici serebral iskeminin neden olduğu iskemik ön koşullandırma , sonraki ölümcül geçici serebral iskemiyi takiben nöronal hasarı/ölümü azaltabilir. Bu çalışma, anti-inflamatuar sitokinlerin iskemik ön koşullandırma ile önemli ölçüde arttığını ve daha uzun süre korunduğunu ve bunun ölümcül geçici serebral iskemiden sonra nöroproteksiyon ile yakından ilişkili olabileceğini göstermektedir (Kim ve ark 2015). Gerçekleştirilen bir araştırmada geçici serebral iskemi sonrası gerbil hipokampal CA1 bölgesinde normal diyet ve yüksek yağlı diyetin (HFD) gecikmiş nöronal ölüm üzerindeki etkileri incelenmiştir. İnterlökin-2 ve IL-4'ü içeren sitokinler, iskemi-reperfüzyondan sonra HFD ile beslenen gerbillerin hipokampal CA1 bölgesinde daha duyarlıydı. Ayrıca, iskemi-reperfüzyondan sonra HFD ile beslenen gerbillerin hipokampal CA1 bölgesinde 4-HNE ve süperoksit dismutaz immünoreaktivitesinin ve protein seviyelerinin azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, HFD'nin, iskemi-reperfüzyondan sonra hipokampal CA1 bölgesinde iskeminin neden olduğu nöronal ölüm üzerinde şiddetlenen etkilere yol açabileceğini göstermektedir. HFD'nin bu etkileri, glial hücrelerin daha hızlı aktivasyonları ve geçici serebral iskemiden sonra pro- ve anti-inflamatuar sitokinlerin ve/veya antioksidanların dengesizliği ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Yan ve ark 2014).

1.7. DNA Hasarı

Vücudumuzdaki hücreler devamlı olarak eksojen ve endojen kaynaklardan gelen genotoksik ve sitotoksik ajanlara maruz kalır. Bunun sonuçlarından birisi de hasar görmüş ve tamir edilmemiş DNA'nın birikimi olup bu da nöronal bozukluklara neden olmaktadır (Harman 1991). Beyindeki hücreler, diğer hücrelere kıyasla oksidatif hasar karşısında daha savunmasız olup hücresel fonksiyon bozukluğu ve mutagenez gibi patolojilere neden olabilir (Subba Rao 2007). DNA'da eksojen veya endojen sebeplerle oluşan değişikliklere "DNA hasarı" denir. DNA hasarı sonucunda DNA zincirinde kırılma, nükleotidlerde bulunan organik bazlarda çok değişik modifikasyonlar ve nükleotid kaybı ortaya çıkabilir (Halliwell 2011).

İnsan vücudunda bulunan her hücrede günde yaklaşık 20000 civarında DNA hasarına yol açan reaksiyon açığa çıkmaktadır (Foray ve ark 2003, Barzilai ve Yamamoto 2004). Meydana gelen bu hasarın çoğu reaktif oksijen türevleri (ROT) tarafından oluşturulmaktadır (Foray ve ark 2003). Vücutta üretilen serbest radikallerin açığa çıkma hızı ve yok olma hızı arasındaki denge bozulduğunda veya antioksidanların azalması oksidanların artması durumunda oksidatif stres açığa çıkar ve hayati öneme sahip olan doku ve organlarda hasara neden olur (Freeman ve Crapo 1982, Valko ve ark 2007). DNA'da hasar meydana geldiğinde onarım mekanizmaları tarafından önce hasar tanınır, sonra DNA'daki hasarlı kısım uzaklaştırılır ve son olarak da uzaklaştırılan hasarlı kısmın yeri doldurulur (Broedbaek ve ark 2011). Progresif nörolojik bozulma, iskemik inme ile alzheimer ve parkinson gibi nörodejeneratif hastalığı olan yaşlanan nüfus üzerinde muazzam bir yük oluşturmaktadır. Son kanıtlar yaşlanmaya bağlı oksidatif stres, birikmiş DNA hasarı ve bozulmuş DNA onarım kapasitelerinin sadece nöronlarda değil, genom bütünlüğünü de tehlikeye attığını göstermektedir. Aynı zamanda endotelyal hücreler, astrositler ve perisitler gibi nörovasküler ünitenin diğer hücre tiplerinde de oluşabilir (Li ve ark 2019).

Serebral felç, dünya çapında önde gelen ölüm ve kalıcı sakatlık nedenlerinden biridir. Toll-like reseptör 4 (TLR4) ve nükleer faktör-kappa B (NF-KB) p65, iskemi kaynaklı felçten sonra beyin hasarında kritik bir rol oynar. Lizozomla ilişkili küçük bir Rab GTPaz olan Rab7b, TLR4 regülasyonunda yer almıştır. Fonksiyonel olarak, DNA transfeksiyonu ile beyinde Rab7b'nin aşırı ekspresyonu, serebral enfarktüsü azaltarak ve tMCAO'nun ardından gelişen nörolojik sonucun, Rab7b ile azaldığı belirlenmiştir. Bu mekanizma da Rab7b aşırı ekspresyonunun, TLR4 ve NF-KB p65'in ekspresyonunu bastırması ve NF-KB p65'in aktivasyonunun inhibe edilmesi önemli basamaklardır. Ayrıca, Rab7b aşırı ekspresyonu, tMCAO'nun ardından beyinde TNF-α, IFN-γ, IL-1β ve IL-6 dahil olmak üzere proinflamatuar mediyatörlerin üretimini baskılamıştır (Qi ve ark 2019). Yakın zamanda yapılan araştırmalar, insan göbek kordonu kanından elde edilen mezenkimal kök hücreler ile tedavinin sağkalımı iyileştirdiğini, beyin hasarını azalttığını, apoptozu engellediğini, inflamatuar tepkileri bastırdığını, DNA hasarına neden olan genleri düşürdüğünü, DNA onarımını artırdığını gösterdi, genler ve felç kaynaklı hayvanlarda nörolojik iyileşmeyi kolaylaştırdı. Standart kültür koşulları altında insan göbek kordonu kanından elde edilen mezenkimal kök hücrelerden salgılanan eksozomlarla tedavi, iskemik beyin

hasarını azaltır ancak inme sonrası nörolojik sonucu iyileştirmez (Nalamolu ve ark 2019). Hipoksik-iskemik beyin hasarı olan neonatal sıçanlarda serebral kortekste, mtDNA'da (mitokondriyal DNA'daki) 5-hidroksimetilsitozinin modifikasyonu için anahtar bir enzim olan DNA Methyltransferase 1 seviyesinin artmasının hipoksik-iskemik beyin hasarının düzenlenmesiyle ilişkili olabileceği de öne sürülmüştür (Peng ve ark 2019). Serebral doku iskemisi için kan biyobelirteçleri eksiktir. Ortak gen ekspresyon profili beyinde ve kanda tanımlanabilir ve iskemiyi iskemik olmayan koşullardan açıkça ayırır. Bu nedenle, spesifik kan transkriptomik imzası, beyin iskemik gen ekspresyonu için bir tanımlayıcı olabilir (Ramsay ve ark 2019). Farmakolojik çalışmalar dolaylı olarak nekroptozun iskemik nöronal ölüme katıldığını göstermiştir. TNF-α ile tetiklenen RIPK1 kinaz aktivasyonu, kaspaz-8'in inhibisyonu altında RIPK3/MLKL aracılı nekroptozu başlatabilir. Bu sonuçlar, fosforile edilmiş RIPK1'in (Ser 166), kemirgen beynindeki iskemik felç patogenezinde RIPK3/MLKL'ye bağlı nekroptozun başlamasında önemli bir rol oynadığına dair doğrudan in vivo kanıt sağlar (Deng ve ark 2019). Serbest radikaller protein disfonksiyonuna, DNA hasarına ve lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre ölümüne neden olur. Daha iyi bir klinik prognoz elde etmek için, giderek daha fazla çalışma, serbest radikal hasarına karşı farmasötik ve farmasötik olmayan nöroprotektif tedavilere odaklanmaktadır (Sun ve ark 2018). DNA hasarı ve onarımının, nörojenez, beyaz cevher iyileşmesi ve nörovasküler ünite yeniden şekillenmesi gibi inme iyileşmesinin temel yönlerinde kritik roller oynadığı bilinmektedir. Nörojenez için Polβ ve NEIL3, beyaz cevher onarımı için APE1, aksonal rejenerasyon için Gadd45b ve nörovasküler yeniden modelleme için DNA-dependent protein kinase'ler dahil olmak üzere inme sonrası kapsamlı nöral onarım mekanizmaları için birkaç DNA onarım enzimi gereklidir (Li ve ark 2018a). İnflamasyon ve inme arasındaki etkileşim çok yönlü olsa da tüm aşamalarda proinflamatuar durumun arkasındaki mekanizmaların daha iyi anlaşılması, iskemik inmeye maruz kalanların mortalitesini ve fonksiyonel sonucunu iyileştirmek için yeni immünomodülatör yaklaşımların geliştirilmesine yardımcı olacağı ifade edilmektedir (Shekhar ve ark 2018).

Serebral iskemi, ölüm ve sakatlığın önde gelen nedenidir. Önceki bir çalışma, serebral iskeminin tedavisinde uzaktan iskemik koşullandırmanın (RIP) iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarını azalttığını göstermiştir. Endotel hücre kaynaklı eksozomlar kısmen I/R ile indüklenen hücre döngüsünü durdurarak apoptozu

bastırdığı ve SH-SY5Y sinir hücrelerinde hücre proliferasyonunu, göçünü ve istilasını inhibe ettiğini belirlemişlerdir (Xiao ve ark 2017). Araştırmalar sitoplazmik TDP-43 seviyesinin yaşla birlikte arttığını ve inmeden sonra iltihaplanma ve nöronal hasarın yaşa bağlı bir aracı olarak hareket edebileceğini göstermektedir. Bu nedenle, sitoplazmik TDP-43'ün hedeflenmesi, felçten sonra terapötik bir potansiyele sahip olabildiği belirtilmiştir (Thammisetty ve ark 2018). İskemi/reperfüzyonu takiben artmış matris metaloproteinaz (MMP) aktivitesi ile hücre dışı matrisin ve kan-beyin bariyerinin bozulması sonucu nöronal ölümle ilişkilendirilmektedir. Belirlenen hücre dışı rollerinin aksine daha önce yüksek intranükleer matriks metalloproteinaz-2 ve -9 (jelatinaz) aktivitesinin, nükleer DNA onarım proteinlerini bozduğunu ve iskemik inmeden sonra 3 saatlik reperfüzyonda sıçan beynindeki nöronlarda oksidatif DNA hasarının birikmesini teşvik ettiği bildirilmiştir. Sonuçlar, bir hayvan inme modelinde gözlemlenen jelatinazların ve nükleer substratlarının nükleer lokalizasyonunu doğrulayarak, akut inme yaralanması sırasında nöronlarda intrinsik apoptotik bir yolda intranükleer jelatinaz aktivitesi için yeni bir rolü desteklemektedir (Hill ve ark 2012).

1.7.1. Beyin İskemisi ve 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)

8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), oksidatif metabolizma esnasında üretilir ve hemen ardından reaktif oksijen türevleri (ROT) tarafından DNA'da şekillenir. DNA'da ROT'lar tarafından yapılan ve en sık karşılaşılan oksidatif baz hasar ürünüdür (Yokuş ve Çakır 2002). Karsinogenez ve oksidatif stres için yaygın olarak kullanılır (Valavanidis ve ark 2009). Mutajenik potansiyeli sebebi ile en çok çalışılan oksidasyon lezyonudur (Harri ve ark 2007). Ayrıca DNA, lipid ve protein peroksidasyonları ile ilgili yapılan araştırmalarda da yine oksidatif stres ve DNA hasar belirteci olarak tercih edilir (Harri ve ark 2007). Oksidatif DNA hasarını belirlemek için 8-OHdG ölçümü, en çok kullanılan yöntemdir (Yokuş ve Çakır 2002). Çalışmalarda diyet, oksidatif stres, yaşlanma ve kanser sıklığı ile ilişkili olarak lökosit DNA'sında, organlarda ve idrarda araştırılmıştır (Valavanidis ve ark 2009). Artan kanıtlara göre 8-OHdG'nin risk faktörü olabileceği hastalıklar arasında ateroskleroz, kanser, diyabet gibi hastalıklar da vardır (Wu ve ark 2004).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen 8-12 haftalık Wistar tipi erkek toplam 38 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma aynı merkezden alınan Etik Kurul Onayı ile gerçekleştirildi (2019/67). Hayvanlar uygun laboratuvar ortamında tutularak (12 /12 saat aydınlık karanlık döngüsünde ortalama 22 ± 2°C sıcaklıkta) standart bir diyetle beslendi ve istenildiği kadar su verildi.

Deneysel beyin iskemisi oluşturmak için tercih ettiğimiz yöntem iki damar oklüzyon modelidir. Daha önce yapılmış olan bir çalışmada izlenen cerrahi yol (Caliskan ve ark 2016) küçük değişiklikler yapılarak tekrar uygulandı, bilateral karotid arterler izole edildi ve ardından ligate edildi.

Çalışmada deney grupları aşağıda belirtildiği şekilde oluşturuldu.

1-Kontrol grubu (n=6): Kontrol grubundaki hayvanlarda herhangi bir işlem yapılmadan genel anestezi altında karotid arter bölgesi açılıp kapatıldı, öldürüldükten sonra ise beyin dokusu örnekleri (frontal korteks) alındı.

2-Sham Kontrol grubu (n=8): Naringenin çözücüsünün (serum fizyolojik 1 ml) 2 haftalık uygulaması bitiminde genel anestezi altında karotid arter bölgesi açılıp kapatıldı ve sonrasında öldürülerek beyin dokusu örnekleri (frontal korteks) alındı.

3-İskemi/Reperfüzyon grubu (n=8): Bu grupta hayvanların karotid arter bölgesi genel anestezi altında açılıp arterlerin izolasyonu sonrası 1 saat oklüzyon (iskemi) ve takiben 1 saat reperfüzyon gerçekleştirildi. Daha sonra hayvanlar genel anestezi altında öldürülerek beyin dokusu örnekleri (frontal korteks) alındı.

4-Naringenin (50 mg/kg/gün) (n=8): 2 haftalık Naringenin (50 mg/kg/gün) uygulaması bitiminde hayvanlar genel anestezi altında öncelikle karotid arterleri bağlanarak 1 saat iskemi ve 1 saat reperfüzyona tabi tutulduktan sonra genel anestezi altında öldürülerek beyin dokusu örnekleri (frontal korteks) alındı.

5-Naringenin (100 mg/kg/gün) (n=8): 2 haftalık Naringenin (100 mg/kg/gün) uygulaması bitiminde hayvanlar genel anestezi altında, karotid arterleri bağlanarak

izole edilip 1 saat iskemi ve 1 saat reperfüzyona tabi tutuldu, sonrasında ise genel anestezi altında öldürülen hayvanların beyin dokuları (frontal korteks) alındı.

Alınmış olan beyin dokusu (frontal korteks) örneklerinde AQP4, IL-2 ve DNA hasar göstergesi olarak 8-hidroksideoksiguanosin seviyeleri ELİSA kitleri ile belirlendi.

2.1. ELISA Analizleri

2.1.1. AQP-4 (Aquaporin 4) Analizi

Bu ELISA kiti, serum, plazma ve diğer biyolojik sıvılardaki Rat AQP-4 konsantrasyonlarının in vitro kantitatif tayini için geçerlidir.

Test prensibi

Bu ELISA kiti, Sandwich-ELISA prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, Rat AQP-4'e özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Mikro ELISA plaka oyuklarına standartlar veya numuneler eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra, sıçan AQP-4 ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü biyotinlenmiş bir saptama antikoru, her bir mikro plaka kuyucuğuna art arda ilave edilir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat solüsyonu her kuyuya eklenir. Yalnızca Rat AQP-4, biyotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk sarıya döner. Optik yoğunluk (OD), 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri, Sıçan AQP-4'ün konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğri ile karşılaştırarak numunelerdeki Rat AQP-4 konsantrasyonu hesaplanır.

1. Kuyucuklara 100µL standart veya numune eklendi. 37°C'de 90 dakika inkübe edildi.

2. Sıvı atıldıktan sonra hemen her kuyuya 100µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu eklendi ve 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildi.

3. Plakayı 3 kez aspire edildi ve yıkandı.

4. 100µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklenerek 37° C'de 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra plaka 5 kez aspire edilerek yıkandı.

5. 90µL Substrat Reaktifi eklenerek 37 °C'de 15 dakika inkübe edildi.

6. 50µL Durdurma Çözeltisi eklendi.

7. Plaka hemen 450 nm'de okunarak sonuçlar hesaplandı. Değerler ng/mL olarak verildi.

2.1.2. Sıçan IL-2 (Interleukin 2) Analizi

Bu ELISA kiti, serum, plazma ve diğer biyolojik sıvılardaki Rat IL-2 konsantrasyonlarının in vitro kantitatif tayini için geçerlidir.

Test prensibi

Bu ELISA kiti, Sandwich-ELISA prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, Rat IL-2'ye özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Mikro ELISA plaka oyuklarına standartlar veya numuneler eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra, sıçan IL-2 ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü biyotinlenmiş bir saptama antikoru, her bir mikro plakaya arka arkaya ilave edilir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat solüsyonu her kuyuya eklenir. Yalnızca Rat IL-2, biyotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sona erdirilir ve renk sarıya döner. Optik yoğunluk (OD), 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri, Sıçan IL-2'nin konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğri ile karşılaştırarak numunelerdeki sıçan IL-2 konsantrasyonu hesaplanır.

1. Kuyucuklara 100µL standart veya numune eklenerek 37 ° C'de 90 dakika inkübe edildi.

2. Sıvı atılarak, hemen her kuyuya 100µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu eklendi ve 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildi.

3. Plaka 3 kez aspire edilerek yıkandı.

4. 100µL HRP konjugat çalışma solüsyonuna eklenerek 37 ° C'de 30 dakika inkübe edildi. Takiben Plaka 5 kez aspire edildi ve yıkandı.

5. 90µL Substrat Reaktifi eklenerek 37 ° C'de 15 dakika inkübe edildi.

6. 50µL Durdurma Çözeltisi eklendi.

7. Plaka hemen 450 nm'de okundu ve sonuçlar hesaplandı. Değerler pg/mL olarak verildi.

2.1.3. 8-OHdG (8-Hidroksideoksiguanosin) Analizi

Bu ELISA kiti serum, plazma ve diğer biyolojik sıvılardaki 8-OHdG konsantrasyonlarının in vitro kantitatif tayini için geçerlidir.

Test prensibi

Bu ELISA kiti, Rekabetçi-ELISA ilkesini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, 8-OHdG ile önceden kaplanmıştır. Reaksiyon sırasında, numunedeki veya standarttaki 8-OHdG, 8-OHdG'ye özgü Biyotinlenmiş Saptama Ab üzerindeki yerler için katı faz destekçisi üzerinde sabit miktarda 8-OHdG ile rekabet eder. Fazla konjugat ve bağlanmamış numune veya standart plakadan yıkanır ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjuge edilmiş, her mikroplaka kuyusuna eklenir ve inkübe edilir. Daha sonra her kuyuya bir TMB substrat solüsyonu eklenir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sona erdirilir ve renk değişikliği, 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Numunelerdeki 8-OHdG konsantrasyonu daha sonra numunelerin OD'si standart eğri ile karşılaştırılarak belirlenir.

1. Kuyucuklara 50µL standart veya numune eklendikten sonra hemen her kuyucuğa 50µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu eklenerek 37 °C'de 45 dakika inkübe edildi.

2. Plaka aspire edildi ve 3 kez yıkandı.

3. 100µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklenerek 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra ise plaka 5 kez aspire edilerek yıkandı.

4. 90µL Substrat Reaktifi eklendi ve 37 °C'de 15 dakika inkübe edildi.

5. 50µL Durdurma Çözeltisi eklendi.

6. Plaka hemen 450 nm'de okundu ve sonuçlar hesaplandı. Değerler ng/mL olarak verildi.

2.2. İstatistiksel analizler

İstatistik analiz SPSS istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama ± standard sapma olarak tanımlandı. Gruplar arası karşılaştırma için Kruskal-Wallis variyans analizi kullanıldı ve $p<0.05$ seviyesi için Mann-Whitney U testi uygulandı. $p<0.05$ seviyesi istatistik olarak önemli kabul edildi.

3. BULGULAR

Deney gruplarına ait doku Q-AQP4 düzeyleri çizelge 1'de verilmektedir. Grupların AQP4 seviyeleri karşılaştırıldığında iskemi-reperfüzyon grubunun en yüksek değerlere sahip olduğu belirlendi ($P<0.001$). 100 mg/kg naringenin uygulaması yapılan grup en düşük değerlere sahip olmasına rağmen istatistik olarak sadece İ/R grubuna göre önemli azalma gösterdiği belirlendi. Benzer azalma 4. gruptada belirlendi.

Çizelge 1: AQP4 Düzeyleri

Gruplar	Q-AQP4 (ng/mL)
1-Kontrol grubu (n=6)	1.65 ± 0.74 B
2-Sham Kontrol grubu (n=8)	1.36 ± 0.86 B
3-İskemi/Reperfüzyon (İ/R) grubu (n=8)	3.17 ± 0.98 **A**
4-Naringenin (50 mg/kg/gün) + İ/R (n=8)	1.82 ± 0.63 B
5-Naringenin (100 mg/kg/gün) + İ/R (n=8)	1.03 ± 0.54 B

*Aynı sütündaki farklı harfler istatistik olarak önemlidir ($P<0.001$; A>B). I/R AQP4 seviyelerini önemli şekilde artırdı, naringenin uygulaması ise artan AQP4 seviyelerini baskıladı.

Çalışma gruplarının frontal korteks dokusu 8-OHdG değerleri çizelge 2'de verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmada en yüksek değerlerin iskemi-reperfüzyon grubunda olduğu tespit edildi (P<0.001). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmedi. Naringenin uygulaması yapılan gruplarda (grup 4 ve 5) artan DNA hasarı önemli şekilde baskıladı (P<0.001)

Çizelge 2: Frontal Korteks 8-OHdG Düzeyleri

Gruplar	8-OHdG (ng/mL)
1-Kontrol grubu (n=6)	1.65 ± 0.74 B
2-Sham Kontrol grubu (n=8)	1.36 ± 0.86 B
3-İskemi/Reperfüzyon (İ/R) grubu (n=8)	3.17 ± 0.98 **A**
4-Naringenin (50 mg/kg/gün) + İ/R (n=8)	1.82 ± 0.63 B
5-Naringenin (100 mg/kg/gün) + İ/R (n=8)	1.03 ± 0.54 B

*Aynı sütündaki farklı harfler istatistik olarak önemlidir (P<0.001; A>B). I/R 8-OHdG seviyelerini önemli şekilde artırırken, naringenin uygulaması artan 8-OHdG düzeylerini baskıladı.

Araştırmamızda doku IL-2 seviyeleri çizelge 3'de sunulmuştur. Grupların istatistik olarak değerlendirilmesinde I/R oluşturulmasıyla IL-2 seviyelerinin belirgin oranda arttığı görülmüştür (P<0.001). Ancak İskemi-reperfüzyon öncesi farklı dozlarda (50 ve 100 mg/kg/gün) 2 hafta süreli naringenin uygulaması iskemi-reperfüzyonun oluşturduğu yangısal cevabı büyük ölçüde baskılayarak IL-2 seviyelerini belirgin şekilde azaltmıştır (P<0.001).

Çizelge 3: Deney Gruplarının IL-2 Seviyeleri

Gruplar	IL-2 (pg/mL)
1-Kontrol grubu (n=6)	94.69 ± 15.42 B
2-Sham Kontrol grubu (n=8)	100.27 ± 10.83 B
3-İskemi/Reperfüzyon (İ/R) grubu (n=8)	150.94 ± 27.20 A
4-Naringenin (50 mg/kg/gün) + İ/R (n=8)	96.51 ± 11.48 B
5-Naringenin (100 mg/kg/gün) + İ/R (n=8)	97.42 ± 36.41 B

*Aynı sütündaki farklı harfler istatistik olarak önemlidir (P<0.001; A>B). IL-2 seviyeleri I/R ile artarken, naringenin uygulamasıyla baskılandı.

4. TARTIŞMA

Çalışmamızda öncelikli olarak 2 hafta süreli naringenin uygulamasının beyin iskemi repürfüzyonunda frontal korteks dokusundaki AQP4, 8-OHdG ve IL-2 seviyelerine olan etkisi incelendi. Çalışılan parametrelerin tamamı iskemi repefüzyona bağlı olarak artarken, naringenin uygulaması artış gösteren bu parametreleri takviyeyle birlikte önemli şekilde azaltmıştır.

İskemi-reperfüzyon vücuttaki tüm doku ve sistemlerde potansiyel olarak önemli şekilde hasar ve akabinde önemli fonkiyon kaybına yol açar. Vücutta oksijensizlik sonucu hasara en duyarlı doku olan beyinde iskemi-reperfüzyon süresine bağlı olmak üzere farklı düzeyde hasar meydana gelebilir. Nitekim daha önceden gerçekleştirilmiş olan beyin iskemi-reperfüzyon çalışmalarında oluşan hasarlar çok sayıdaki çalışmalarda belirlenmiştir (Jaeschke 2003, Douzinas ve ark 2012). İskemi/reperfüzyon modelleri de çalışma amacına uygun olarak farklı şekillerde tasarlanabilir. Biz de araştırmamızda sıçanlarda 1 saat iskemi ile takiben 1 saat süreli reperfüzyonun beyin frontal korteks dokusunda oluşturabileceği hasarın değerlendirilmesinde özellikle beyin ödemine yol açabilen AQP4, inflamasyon göstergelerinden olan IL-2 ve DNA hasar göstergesi alarak da 8OHdG'nın değişimini incelemek ve profilaktik olarak iki farklı dozda (50 ve 100 mg/kg) intraperitoneal naringenin takviyesinin çalışılan parametrelerle olan etkileşimini değerlendirmeyi amaçladık.

İncelenen parametrelerden birisi AQP4'dü. AQP4 kan-beyin bariyeri (KBB) yoluyla beyinde su ve su birikimini düzenleyen bir su kanalı proteinidir (Yao ve ark 2015). AQP4 primat ve rodentlerin beyninde bulunmuş olup, başlıca perivasküler astrosit son ayaklarında yerleşim gösterir (Gonen ve Walz 2006). Yalnızca su geçişine katılmaz, aynı zamanda AQP4 hücre adezyonu (Hiroaki 2006) ve göçü (Saadoun 2005) ile ilgili olup AQP4 fonksiyonu altındaki mekanizma kompleks olup bazı noktalarda zıtlıklar içerir (Saadoun 2009). Travmatik beyin yaralanması, inme, beyin tümörleri ve inflamasyon gibi çoğu beyin hastalıkları serebral ödemle sonuçlanarak, beyin ozmotik homeostazisinin disfonksiyonu nedeniyle aşırı sıvı birikimi ile sonuçlanır (Badaut ve ark 2014).

AOP'lerin artmış ekspresyonu, nöral inflamasyon ve iskemi gibi nörolojik hastalıkların patofizyolojisinde önemlidir (Kozlu ve ark 2014). AOP4'ün, serebral iskemi/reperfüzyon hasarında KBB'nin geçirgenleşmesiyle bağlantılı olabileceği bilinmektedir (Xu ve ark 2014). AOP4'ün iskemiye bağlı beyin ödeminde önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir (Zhu ve ark 2014). Ayrıca, AOP4, KBB boyunca yaralı astrositlere su hareketini kolaylaştırır. Önceki çalışmalar, serebral iskemiden sonra AOP4 nakavt farelerde karşılaşılan gelişmiş nörolojik sonuçla birlikte azalmış sitotoksik beyin ödemini göstermiştir (Akdemir ve ark 2014). AOP4 aşırı ekspresyonundan kaynaklanan serebral ödem, serebral iskemi sırasında progresif nöronal hasarın başlıca belirleyicilerinden biri olarak kabul edilir. Hipogliseminin de beynin su difüzyonunu önemli ölçüde etkilediğini ortaya çıkarmıştır. AQP4'ün azalması, akut hipoglisemide sitotoksik ödem oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. Hipoglisemi esas olarak serebral kortekse, hipokampusa ve hipotalamusa zarar verme eğilimindedir ve beyinde kalıcı hasara neden olabilir (Tong ve ark 2019). Hafif hipotermi, kardiyopulmoner resüsitasyon sıçanlarının beyin dokusunda p38 mitojenle protein kinaz sinyal yolu aracılığıyla AQP4 ekspresyonunu düzenleyebilir ve beyin ödemini azaltarak beyin koruması sağlayabilir (Zhang ve ark 2019a).

Yukarıda belirtilen çalışmalarda olduğu gibi genel olarak AQP4 düzeylerindeki artış beyinde su geçişine neden olmak suretiyle potansiyel olarak ciddi bir hasara yol açabilir. Daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda farklı flavonoid türlerinin AQP4 seviyelerine olan etkisi incelenmiştir. Wang ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada orientinin I/R hasarında beyindeki AQP4 seviyelerini down regüle ettiği rapor edilmiştir. Başka bir flavonoid olan resveratrolün enfarktüs hacmini ve beyin ödemi insidansını azalttığını ve nörolojik açıkları azalttığı belirlenmiştir (Li ve ark 2015b). AQP-4 devre dışı bırakılmış fareler üzerinde yapılan çalışmalar, akut su zehirlenmesi ve iskemik inmenin neden olduğu beyin ödeminden önemli ölçüde koruma bildirmiş ve AQP4'ü terapötik müdahaleler için potansiyel bir hedef olarak tanımlamıştır (Zhang ve ark 2019b).

Profilaktik naringenin tedavisinin hayatta kalma oranını önemli ölçüde artırdığı, histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiği, pulmoner ödem ve akciğer vasküler sızıntısını azalttığı, ROS düzeylerini düşürdüğü ve nötrofil infiltrasyonunun yanı sıra serum ve bronchoalveolar lavaj sıvısındaki inflamatuar sitokin düzeylerini azalttığı

gösterilmiştir (Zhao ve ark 2017). Yine aynı çalışmada naringenin, phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase ve AKT'nin toplam ve fosforile protein seviyelerini düşürmüştür. Naringenin, tedavinin 7. gününde artan proinflamatuvar belirteçleri önemli ölçüde inhibe etmiştir (Al-Roujayee 2017). Oral yoldan tekrarlayan naringenin (100 mg/kg) uygulamasının, muhtemelen nöroinflamasyonu inhibe ederek, sıçanlarda omurilik hasarının koruyucu etki sağlayabileceğini düşündürmüştür (Shi ve ark 2016).

Hipobarik oksijenin in vitro şartlarda AQP4 seviyelerini artırarak hasara yol açtığı, ancak bir flavon türü olan puerarin ile AQP4 aktivasyonunun engellediği rapor edilmiştir (Wang ve ark 2016 ve 2018). Kumar ve ark. tarafından (2014) yapılan bir çalışmada bir flavonol olan quersetinin 25 ve 50 mg/kg dozda 6 ay süreli oral uygulamasının diabetik sıçanlarda AQP4 ekspressiyonunu baskıladığı rapor edilmiştir. Mevcut medline taramalarında beyin İ/R'de naringenin takviyesinin AQP4 seviyelerine etkisini araştıran bir çalışma ile karşılaşılmadı. Bizim araştırmamızda ise bir flavonoid türü olan Naringenin iki farklı dozda (50 ve 100 mg/kg) intraperitoneal olarak iki hafta süreli uygulandı. Çalışmamızda bu takviye ile sıçanlarda beyin İ/R'ye bağlı artmış AQP4 seviyeleri her iki dozdaki naringenin uygulaması ile önemli şekilde baskılanmıştır.

Araştırmamızda İ/R'da proinflamatuvar sitokin IL-2 seviyelerinin değişimi de incelendi. Sitokinler, immün hücreler tarafından üretilen aktif moleküller olup, homeostazisi sağlamakla görevli immün sistemin modülatörlerdir ve diğer biyolojik sistemlerle ilişkiyi sağlarlar (Doksat 2003). İnterlökinler (IL), transforming growth faktörler, tümör nekrozis faktörler (TNF) ve kemokinler sitokin ailesine dahil olan moleküllerdir. IL-2 proinflamatuvar sitokinler grubu içerisinde yer alır (Kalelioğlu ve ark 2017). IL-2, inflamatuvar yanıtların başlatılmasında ve sonlandırılmasında merkezi görevi olan bir sitokindir. Efektör T hücrelerinin aktivasyonunda ve yayılmasında görev alır (Wieck ve ark 2014). İnterlökin-2 (IL-2), son 35 yıldır üzerinde çalışılan çok iyi bilinen bir sitokindir. NK ve T hücreleri gibi birçok bağışıklık hücresinin büyümesinde ve çoğalmasında önemli bir rol oynar. IL-2, multimerik IL-2 reseptörüne (IL-2R) bağlanarak ve böylece lenfosit sağkalımını, proliferasyonunu ve fonksiyonunu düzenleyen birkaç hücre içi sinyal yoluna girerek lenfositler üzerinde etki eder (Boyman ve Sprent 2012 ; Carrette ve Surh 2012 ; Liao

ve ark 2013 ; Rosenberg 2014 ; Sim ve Radvanyi 2014 ; Pulliam ve ark 2016). Beyaz cevher hasarının en önemli patolojik değişikliklerinden biri olan demiyelinizasyon, T hücresi aracılı immün yanıtlarla yakından ilişkilidir. CD8+ T hücrelerinin aktivasyonu ve beyin infiltrasyonu, felç sonrası demiyelinizasyon için zararlıdır ve felç sonrası beyaz madde bütünlüğünün korunmasında IL-2 monoklonal antikoru sonrası tedavinin ana hedefi olabilir (Zhou ve ark 2019). Enflamatuar sitokinler, akut iskemik inmede enfarkt progresyonunun potansiyel modülatörleridir ve bu nedenle gelecekteki tedavi stratejileri için olası hedeflerdir. Gerçekleştirilen iskemi-reperfüzyon çalışmalarında IL-2'nin farklı şekillerde etkilendiği görülmektedir. Nitekim köpeklerde yapılan bir araştırmada spontan iskemik inmede tümör nekroz faktörü ve IL-2 gibi sitokinlerin konsantrasyonlarının değişmediği belirlenmiştir (Gredal ve ark 2017). İnme hastalarında kontrollere kıyasla interlökin 6 sinyal dönüştürücü (sIL-6Rβ/gp130), matriks metalloproteinaz-2, osteopontin, sTNF-R1 ve sTNF-R2 plazma seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulunurken interferon-β, interlökin-28, ve timik stromal lenfopoietin inme hastalarından alınan plazmada azalmıştır (Augello ve ark 2018). Genç gerbillerde IL-2, 2Rβ, IL-4 ve IL-13 immünoreaktivitesinin erişkinlerdekine benzer veya düşük olduğunu ve erişkinlerde iskemiden 4 gün sonra azaldığını ancak gençlerde bu azalmanın daha belirgin olduğu tespit edilmiştir (Yan ve ark 2012). Gerçekleştirilen bir araştırmada geçici serebral iskemi sonrası gerbil hipokampal CA1 bölgesinde normal diyet ve yüksek yağlı diyetin (HFD) gecikmiş nöronal ölüm üzerindeki etkileri incelenmiştir. İnterlökin-2 ve -4'ü içeren sitokinler, iskemi-reperfüzyondan sonra HFD ile beslenen gerbillerin hipokampal CA1 bölgesinde daha duyarlıydı. HFD'nin bu etkileri, glial hücrelerin daha hızlı aktivasyonları ve geçici serebral iskemiden sonra pro- ve anti-inflamatuar sitokinlerin ve/veya antioksidanların dengesizliği ile ilişkili olabilir (Yan ve ark 2014). Antunes ve ark (2020) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada 50 mg/kg dozda 4 hafta süreli oral hesperidin tedavisinin proinflamatuvar sitokin olan IL-2 seviyelerini önemli şekilde baskıladığı belirlenmiştir. Araştırmamızda naringeninin proflaktik olarak iki hafta süreli uygulanmasının IL-2 düzeylerini önemli şekilde baskıladığı belirledik. Literatürde naringenin takviyesinin beyin İ/R'da sitokinlere olan etkisini araştıran herhangi bir çalışma ile karşılaşılmadı. Bu nedenle elde ettiğimiz bulgu yeni bir veri olup, inflamasyonu engellemede naringenin kullanımının önemini vurgulamak açısından kayda değer bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

Çalışmamızda değerlendirilen parametrelerden bir diğeri ise DNA hasar göstergesi olarak 8-OHdG seviyeleridir. 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), oksidatif metabolizma esnasında üretilir ve hemen ardından reaktif oksijen türevleri (ROT) tarafından DNA'da şekillenir. DNA hasarı sonucunda DNA zincirinde kırılma, nükleotidlerde bulunan organik bazlarda çok değişik modifikasyonlar ve nükleotid kaybı ortaya çıkabilir. Sağlıklı hücrelerde DNA'daki hasarlar ve modifikasyonlar hücrelerde bulunan onarım mekanizmaları aracılığıyla onarılır (Halliwell 2011). DNA'da ROT'lar tarafından yapılan ve en sık karşılaşılan oksidatif baz hasar ürünüdür (Yokuş ve Çakır 2002). Mutajenik potansiyeli sebebi ile en çok çalışılan oksidasyon lezyonudur (Harri ve ark 2007). Ayrıca DNA, lipid ve protein peroksidasyonları ile ilgili yapılan araştırmalarda da yine oksidatif stres belirteci olarak tercih edilir (Harri ve ark 2007). Serbest radikaller protein disfonksiyonuna, DNA hasarına ve lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre ölümüne neden olur. Daha iyi bir klinik prognoz elde etmek için serbest radikal hasarına karşı farmasötik ve farmasötik olmayan nöroprotektif tedavilere odaklanmaktadır (Sun ve ark 2018). DNA hasarı ve onarımının, nörojenez, beyaz cevher iyileşmesi ve nörovasküler ünitenin yeniden şekillenmesi gibi inme iyileşmesinin temel yönlerinde kritik roller oynadığı artık bilinmektedir. İskemi/ reperfüzyonu takiben artmış matris metaloproteinaz (MMP) aktivitesi ile hücre dışı matrisin bozulması, kan-beyin bariyerinin bozulması ve nöronal ölümle ilişkilendirilir. Belirlenen hücre dışı rollerinin aksine yüksek intranükleer matriks metalloproteinaz-2 ve -9 (jelatinaz) aktivitesinin, nükleer DNA onarım proteinlerini bozduğunu ve iskemik inmeden sonra 3 saatlik reperfüzyonda sıçan beynindeki nöronlarda oksidatif DNA hasarını artırdığı bildirilmiştir (Hill ve ark 2012). Oksidatif DNA hasarını belirlemek için 8-OHdG ölçümü, en çok kullanılan yöntemdir (Yokuş ve Çakır 2002). Çalışmalarda diyet, oksidatif stres, yaşlanma ve kanser sıklığı ile ilişkili olarak lökosit DNA'sında, organlarda ve idrarda araştırılmıştır (Valavanidis ve ark 2009). Zhang ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada quersetin, kaempferide-3-O-glucoside, quercetin-3-rhamnoside, rutin gibi on farklı flavonoid içeren bir karışımın oral yoldan uygulamasının iskemik-inme'de oluşan hasarı antioxidant, anti-apoptosis ve anti-inflammatory özelliklerini ortaya koymak suretiyle tedavi ettiği rapor edilmiştir. Scutellarin (Scu), Erigeron breviscapus isimli bitkiden elde edilen flavonoid yönünden aktif bir madde olup 2 saat iskemi ve 22 saat reperfüzyonda 50-75 mg/kg intragastrik uygulamasının DNA kırıklarını önlediği

belirlenmiştir (Zhang ve ark. 2009). Wang ve ark. (2009) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada ise iskemiden 4 gün önce ve 4 gün sonra yapılan üzüm polifenol ekstratının DNA kırılmalarını azalttığı ancak İ/R sonrası uygulamanın daha etkin olduğu belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise yüksek dozda (50 mg/kg) üzüm tozunun iki ay süreli uygulamasının glial hücre aktivasyonunu baskılamak suretiyle DNA hasarı ve apoptozise karşı koruyucu etki göstrediği rapor edilmiştir (Wang ve ark. 2009). Ghofrani ve ark. (2015)'nın bir çalışmasında deneysel Alzhemier modeli oluşturulan sıçanlarda naringenin takviyesinin apoptozisi önlediği rapor edilmiştir. Yukarıdaki çalışmalara bakıldığında farklı flavonoid türleriyle yapılan değişik deneysel modellerde DNA hasarı üzerine koruyucu etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Bizim araştırmamızda ise beyin İ/R öncesi 2 hafta süreli 50 ve 100 mg/kg dozda intraperitoneal Naringenin takviyesinin iskemi-reperfüzyona bağlı oluşan DNA hasarını önemli şekilde baskıladığı belirlendi. Benzer çalışmalar incelendiğinde doğrudan naringenin uygulamasının beyin İ/R'da DNA hasarına olan etkisi incelenmemiştir. Ancak araştırmamızda kullanmış olduğumuz naringeninde bir flavonoid türüdür ve bahsedilen çalışmalara benzer şekilde DNA hasarı üzerine koruyucu etkisi ortaya konulmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mevcut araştırmanın sonuçları profilaktik olarak iki farklı dozda peritoniçi naringenin takviyesinin sıçanlarda beyin iskemi-reperfüzyonuna bağlı oluşan AQP4 artışı ile DNA hasarı oluşumunu ve proinflamasyonu baskıladığını göstermektedir. Gelecekte yapılacak olan çalışmalarda İR sonrası da bu maddenin uygulaması ve özellikle beyinde ödem oluşumundaki değişimlerin belirlenmesi, bunun yanısıra apoptozise götüren yolların daha detaylı bir şekilde ortaya konulması mekanizmaların tam olarak açığa çıkarılması açısından önemli olabilecektir.

6. KAYNAKLAR

Abbas AK, Trotta E, D RS, Marson A, Bluestone JA, 2018. Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects. Science immunology, 3, 25.

Agre P, Kozono D, 2003. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. FEBS letters, 555, 1, 72-8.

Ahmad N, Ahmad R, Ahmad FJ, Ahmad W, Alam MA, Amir M, Ali A, 2020. Poloxamer-chitosan-based Naringenin nanoformulation used in brain targeting for the treatment of cerebral ischemia. Saudi journal of biological sciences, 27, 1, 500-17.

Akdemir G, Kaymaz F, Gursoy-Özdemir Y, Akalan N, Akdemir ES, 2016. The time course changes in expression of aquaporin 4 and aquaporin 1 following global cerebral ischemic edema in rat. Surgical neurology international, 7, 4.

Akdemir G, Ratelade J, Asavapanumas N, Verkman A, 2014. Neuroprotective effect of aquaporin-4 deficiency in a mouse model of severe global cerebral ischemia produced by transient 4-vessel occlusion. Neuroscience letters, 574, 70-5.

Al-Roujayee AS, 2017. Naringenin improves the healing process of thermally-induced skin damage in rats. The Journal of international medical research, 45, 2, 570-82.

Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M, 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi pharmaceutical journal, 21, 2, 143-52.

Amiry-Moghaddam M, Frydenlund DS, Ottersen OP, 2004. Anchoring of aquaporin-4 in brain: molecular mechanisms and implications for the physiology and pathophysiology of water transport. Neuroscience, 129, 4, 999-1010.

Antunes MS, Cattelan Souza L, Ladd FVL, Ladd A, Moreira AL, Bortolotto VC, Silva MRP, Araújo SM, Prigol M, Nogueira CW, Boeira SP, 2020. Hesperidin Ameliorates Anxiety-Depressive-Like Behavior in 6-OHDA Model of Parkinson's Disease by Regulating Striatal Cytokine and Neurotrophic Factors Levels and Dopaminergic Innervation Loss in the Striatum of Mice. Molecular neurobiology, 57, 7, 3027-41.

Augello CJ, Noll JM, Distel TJ, Wainright JD, Stout CE, Ford BD, 2018. Identification of novel blood biomarker panels to detect ischemic stroke in patients and their responsiveness to therapeutic intervention. Brain research, 1698, 161-9.

Badaut J, Ashwal S, Adami A, Tone B, Recker R, Spagnoli D, Ternon B, Obenaus A, 2011a. Brain water mobility decreases after astrocytic aquaporin-4 inhibition using RNA interference. Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 31, 3, 819-31.

Badaut J, Ashwal S, Obenaus A, 2011b. Aquaporins in cerebrovascular disease: a target for treatment of brain edema. Cerebrovascular Diseases, 31, 6, 521-31.

Badaut J, Fukuda AM, Jullienne A, Petry KG, 2014. Aquaporin and brain diseases. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1840, 5, 1554-65.

Bai X, Zhang X, Chen L, Zhang J, Zhang L, Zhao X, Zhao T, Zhao Y, 2014. Protective effect of naringenin in experimental ischemic stroke: down-regulated NOD2, RIP2, NF-κB, MMP-9 and up-regulated claudin-5 expression. Neurochemical research, 39, 8, 1405-15.

Barzilai A, Yamamoto K, 2004. DNA damage responses to oxidative stress. DNA repair, 3, 8-9, 1109-15.

Benavente-Garcia O, Castillo J, Marin FR, Ortuño A, Del Río JA, 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. Journal of agricultural and food chemistry, 45, 12, 4505-15.

Bhattacharya P, Pandey AK, Paul S, Patnaik R, Yavagal DR, 2013. Aquaporin-4 inhibition mediates piroxicam-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rodents. PloS one, 8, 9, e73481.

Bielewicz J, Kurzepa J, Czekajska-Chehab E, Stelmasiak Z, Bartosik-Psujek H, 2011. Does serum Tau protein predict the outcome of patients with ischemic stroke? Journal of molecular neuroscience : MN, 43, 3, 241-5.

Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O, 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. The World Allergy Organization journal, 5, 1, 9-19.

Boehme AK, Esenwa C, Elkind MS, 2017. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. Circulation research, 120, 3, 472-95.

Bonventre JV, Weinberg JM, 2003. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 14, 8, 2199-210.

Boyman O, Sprent J, 2012. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. Nature reviews. Immunology, 12, 3, 180-90.

Broedbaek K, Siersma V, Henriksen T, Weimann A, Petersen M, Andersen JT, Jimenez-Solem E, Stovgaard ES, Hansen LJ, Henriksen JE, 2011. Urinary markers of nucleic acid oxidation and long-term mortality of newly diagnosed type 2 diabetic patients. Diabetes care, 34, 12, 2594-6.

Caliskan M, Mogulkoc R, Baltaci AK, Menevse E, 2016. The Effect of 3',4'-Dihydroxyflavonol on Lipid Peroxidation in Rats with Cerebral Ischemia Reperfusion Injury. Neurochemical research, 41, 7, 1732-40.

Carrette F, Surh CD, 2012. IL-7 signaling and CD127 receptor regulation in the control of T cell homeostasis. Seminars in immunology, 24, 3, 209-17.

Castellanos M, Serena J, 2007. Applicability of biomarkers in ischemic stroke. Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland), 24 Suppl 1, 7-15.

Chaen Y, Yamamoto Y, Suzuki T, 2019. Naringenin promotes recovery from colonic damage through suppression of epithelial tumor necrosis factor-α production and induction of M2-type macrophages in colitic mice. Nutrition research (New York, N.Y.), 64, 82-92.

Chan PH, 2001. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. Journal of cerebral blood flow and metabolism, 21, 1, 2-14.

Chao CL, Weng CS, Chang NC, Lin JS, Kao ST, Ho FM, 2010. Naringenin more effectively inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression in macrophages than in microglia. Nutrition research (New York, N.Y.), 30, 12, 858-64.

Chtourou Y, Kamoun Z, Zarrouk W, Kebieche M, Kallel C, Gdoura R, Fetoui H, 2016. Naringenin ameliorates renal and platelet purinergic signalling alterations in high-cholesterol fed rats through the suppression of ROS and NF-κB signaling pathways. Food & function, 7, 1, 183-93.

Crane JM, Lam C, Rossi A, Gupta T, Bennett JL, Verkman AS, 2011. Binding affinity and specificity of neuromyelitis optica autoantibodies to aquaporin-4 M1/M23 isoforms and orthogonal arrays. The Journal of biological chemistry, 286, 18, 16516-24.

de Oliveira MR, Andrade CMB, Fürstenau CR, 2018. Naringenin Exerts Anti-inflammatory Effects in Paraquat-Treated SH-SY5Y Cells Through a Mechanism Associated with the Nrf2/HO-1 Axis. Neurochemical research, 43, 4, 894-903.

Deng XX, Li SS, Sun FY, 2019. Necrostatin-1 Prevents Necroptosis in Brains after Ischemic Stroke via Inhibition of RIPK1-Mediated RIPK3/MLKL Signaling. Aging and disease, 10, 4, 807-17.

Devraj VM, Vemuri SK, Banala RR, Gunda SK, Av GR, Gpv S, 2019. Evaluation of Anti-inflammatory and Regenerative Efficiency of Naringin and Naringenin in Degenerated Human Nucleus Pulposus Cells: Biological and Molecular Modeling Studies. Asian spine journal, 13, 6, 875-89.

Dhupkar P, Gordon N, 2017. Interleukin-2: Old and New Approaches to Enhance Immune-Therapeutic Efficacy. Advances in experimental medicine and biology, 995, 33-51.

Doksat MK, 2003. Evrimsel perspektiften depresyon ve sitokinler. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni, 13, 97-108.

Dokuyucu R, Karateke A, Gokce H, Kurt RK, Ozcan O, Ozturk S, Tas ZA, Karateke F, Duru M, 2014. Antioxidant effect of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology, 183, 23-7.

Douzinas EE, Livaditi O, Tasoulis MK, Prigouris P, Bakos D, Goutas N, Vlachodimitropoulos D, Andrianakis I, Betrosian A, Tsoukalas GD, 2012. Nitrosative and oxidative stresses contribute to post-ischemic liver injury following severe hemorrhagic shock: the role of hypoxemic resuscitation. PloS one, 7, 3, e32968.

Erlund I, 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. Nutrition research, 24, 10, 851-74.

Fenton RA, Moeller HB, Zelenina M, Snaebjornsson MT, Holen T, MacAulay N, 2010. Differential water permeability and regulation of three aquaporin 4 isoforms. Cellular and molecular life sciences, 67, 5, 829-40.

Foray N, Marot D, Gabriel A, Randrianarison V, Carr AM, Perricaudet M, Ashworth A, Jeggo P, 2003. A subset of ATM-and ATR-dependent phosphorylation events requires the BRCA1 protein. The EMBO journal, 22, 11, 2860-71.

Fouad AA, Albuali WH, Zahran A, Gomaa W, 2014. Protective effect of naringenin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Environmental toxicology and pharmacology, 38, 2, 420-9.

Fouad AA, Refaie MMM, Abdelghany MI, 2019. Naringenin palliates cisplatin and doxorubicin gonadal toxicity in male rats. Toxicology mechanisms and methods, 29, 1, 67-73.

Frangogiannis NG, 2007. Chemokines in ischemia and reperfusion. Thrombosis and haemostasis, 97, 5, 738-47.

Freeman BA, Crapo JD, 1982. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology, 47, 5, 412-26.

Frigeri A, 1995. Frigeri A, Gropper MA, Umenishi F, Kawashima M, Brown D, Verkman ASLocalization of MIWC and GLIP water channel homologs in neuromuscular, epithelial and glandular tissues. J Cell S. Journal of cell science, 108, 2993-3002.

Ghofrani S, Joghataei MT, Mohseni S, Baluchnejadmojarad T, Bagheri M, Khamse S, Roghani M, 2015. Naringenin improves learning and memory in an Alzheimer's disease rat model: Insights into the underlying mechanisms. European journal of pharmacology, 764, 195-201.

Goldwasser J, Cohen PY, Yang E, Balaguer P, Yarmush ML, Nahmias Y, 2010. Transcriptional regulation of human and rat hepatic lipid metabolism by the grapefruit flavonoid naringenin: role of PPARα, PPARγ and LXRα. PloS one, 5, 8, e12399.

Gonen T, Walz T, 2006. The structure of aquaporins. Quarterly reviews of biophysics, 39, 4, 361-96.

Grace PA, 1994. Ischaemia-reperfusion injury. The British journal of surgery, 81, 5, 637-47.

Gredal H, Thomsen BB, Boza-Serrano A, Garosi L, Rusbridge C, Anthony D, Møller A, Finsen B, Deierborg T, Lambertsen KL, Berendt M, 2017. Interleukin-6 is increased in plasma and cerebrospinal fluid of community-dwelling domestic dogs with acute ischaemic stroke. Neuroreport, 28, 3, 134-40.

Gu LJ, Xiong XX, Ito T, Lee J, Xu BH, Krams S, Steinberg GK, Zhao H, 2014. Moderate hypothermia inhibits brain inflammation and attenuates stroke-induced immunodepression in rats. CNS neuroscience & therapeutics, 20, 1, 67-75.

Gunnarson E, Zelenina M, Aperia A, 2004. Regulation of brain aquaporins. Neuroscience, 129, 4, 947-55.

Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, Gupta PK, Pakuwal U, 2014. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. Asian Pacific journal of cancer prevention, 15, 11, 4405-9.

Haj-Yasein NN, Vindedal GF, Eilert-Olsen M, Gundersen GA, Skare Ø, Laake P, Klungland A, Thorén AE, Burkhardt JM, Ottersen OP, 2011. Glial-conditional deletion of aquaporin-4 (Aqp4) reduces blood–brain water uptake and confers barrier function on perivascular astrocyte endfeet. Proceedings of the National Academy of Sciences, 108, 43, 17815-20.

Halliwell B, 2011. Free radicals and antioxidants - quo vadis? Trends in pharmacological sciences, 32, 3, 125-30.

Harman D, 1991. The aging process: major risk factor for disease and death. Proceedings of the National Academy of Sciences, 88, 12, 5360-3.

Haroon E, Raison CL, Miller AH, 2012. Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of inflammation on behavior. Neuropsychopharmacology, 37, 1, 137-62.

Harri M, Kasai H, Mori T, Tornaeus J, Savela K, Peltonen K, 2007. Analysis of 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine in urine using high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography B, 853, 1-2, 242-6.

Hasegawa H, Ma T, Skach W, Matthay MA, Verkman AS, 1994. Molecular cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water-transporting tissues. The Journal of biological chemistry, 269, 8, 5497-500.

Hendryk S, Czuba ZP, Jedrzejowska-Szypulka H, Szliszka E, Phillips VA, Threadgill MD, Krol W, 2008. Influence of 5-aminoisoquinolin-1-one (5-AIQ) on neutrophil chemiluminescence in rats with transient and prolonged focal cerebral ischemia and after reperfusion. Journal of physiology and pharmacology, 59, 4, 811-22.

Hew-Butler T, Smith-Hale V, Pollard-McGrandy A, VanSumeren M, 2019. Of Mice and Men-The Physiology, Psychology, and Pathology of Overhydration. Nutrients, 11, 7.

Hill JW, Poddar R, Thompson JF, Rosenberg GA, Yang Y, 2012. Intranuclear matrix metalloproteinases promote DNA damage and apoptosis induced by oxygen-glucose deprivation in neurons. Neuroscience, 220, 277-90.

Hiroaki Y, Tani K, Kamegawa A, Gyobu N, Nishikawa K, Suzuki H, Walz T, Sasaki S, Mitsuoka K, Kimura K, Mizoguchi A, Fujiyoshi Y, 2006. Implications of the aquaporin-4 structure on array formation and cell adhesion. Journal of molecular biology, 355, 4, 628-39.

Huang B, Hu P, Hu A, Li Y, Shi W, Huang J, Jiang Q, Xu S, Li L, Wu Q, 2019. Naringenin attenuates carotid restenosis in rats after balloon injury through its anti-inflammation and anti-oxidative effects via the RIP1-RIP3-MLKL signaling pathway. European journal of pharmacology, 855, 167-74.

Ikeshima-Kataoka H, Abe Y, Yasui M, 2015. Aquaporin 4-Dependent expression of glial fibrillary acidic protein and tenascin-C in activated astrocytes in stab wound mouse brain and in primary culture. Journal of neuroscience research, 93, 1, 121-9.

Jaeschke H, 2003. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology, 284, 1, G15-26.

Jennings RB, Reimer KA, 1991. The cell biology of acute myocardial ischemia. Annual review of medicine, 42, 225-46.

Kalelioğlu T, Genç A, Karamustafalıoğlu N, 2017. İki Uçlu Bozukluk ve İnflamasyon. Journal of Mood Disorders, 7, 1.

Kannappan S, Anuradha CV, 2010. Naringenin enhances insulin-stimulated tyrosine phosphorylation and improves the cellular actions of insulin in a dietary model of metabolic syndrome. European journal of nutrition, 49, 2, 101-9.

Karabulut H, Gülay MŞ, 2016. Serbest radikaller. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4, 1.

Keen LJ, 2002. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism. Transplant immunology, 10, 2-3, 143-6.

Khan MM, Ahmad A, Ishrat T, Khuwaja G, Srivastawa P, Khan MB, Raza SS, Javed H, Vaibhav K, Khan A, Islam F, 2009. Rutin protects the neural damage induced by transient focal ischemia in rats. Brain research, 1292, 123-35.

Kim DW, Lee JC, Cho JH, Park JH, Ahn JH, Chen BH, Shin BN, Tae HJ, Seo JY, Cho JH, Kang IJ, Hong S, Kim YM, Won MH, Kim IH, 2015. Neuroprotection of Ischemic Preconditioning is Mediated by Anti-inflammatory, Not Pro-inflammatory, Cytokines in the Gerbil Hippocampus

Induced by a Subsequent Lethal Transient Cerebral Ischemia. Neurochemical research, 40, 9, 1984-95.

King LS, Kozono D, Agre P, 2004. From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology. Nature reviews. Molecular cell biology, 5, 9, 687-98.

Kohansal P, Rajai N, Dehpour AR, Rashidian A, Shafaroodi H, 2019. The protective effect of acute pantoprazole pretreatment on renal ischemia/reperfusion injury in rats. Fundamental & clinical pharmacology, 33, 4, 405-11.

Kozlu S, Caban S, Yerlikaya F, Fernandez-Megia E, Novoa-Carballal R, Riguera R, Yemisci M, Gursoy-Ozdemir Y, Dalkara T, Couvreur P, Capan Y, 2014. An aquaporin 4 antisense oligonucleotide loaded, brain targeted nanoparticulate system design. Die Pharmazie, 69, 5, 340-5.

Krishna Chandran AM, Christina H, Das S, Mumbrekar KD, Satish Rao BS, 2019. Neuroprotective role of naringenin against methylmercury induced cognitive impairment and mitochondrial damage in a mouse model. Environmental toxicology and pharmacology, 71, 103224.

Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA, 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. Endocrinology, 139, 10, 4252-63.

Kumar B, Gupta SK, Nag TC, Srivastava S, Saxena R, Jha KA, Srinivasan BP, 2014. Retinal neuroprotective effects of quercetin in streptozotocin-induced diabetic rats. Experimental eye research, 125, 193-202.

Lambert J, Mejia S, Vojdani A, 2019. Plant and human aquaporins: pathogenesis from gut to brain. Immunologic research, 67, 1, 12-20.

Lan L, Tao J, Chen A, Xie G, Huang J, Lin J, Peng J, Chen L, 2013. Electroacupuncture exerts anti-inflammatory effects in cerebral ischemia-reperfusion injured rats via suppression of the TLR4/NF-κB pathway. International journal of molecular medicine, 31, 1, 75-80.

Lasek-Bal A, Jedrzejowska-Szypulka H, Student S, Warsz-Wianecka A, Zareba K, Puz P, Bal W, Pawletko K, Lewin-Kowalik J, 2019. The importance of selected markers of inflammation and blood-brain barrier damage for short-term ischemic stroke prognosis. Journal of physiology and pharmacology, 70, 2.

Lee DJ, Amini M, Hamamura MJ, Hsu MS, Seldin MM, Nalcioglu O, Binder DK, 2012. Aquaporin-4-dependent edema clearance following status epilepticus. Epilepsy research, 98, 2-3, 264-8.

Levine SJ, 2004. Mechanisms of soluble cytokine receptor generation. The Journal of Immunology, 173, 9, 5343-8.

Li P, Stetler RA, Leak RK, Shi Y, Li Y, Yu W, Bennett MVL, Chen J, 2018a. Oxidative stress and DNA damage after cerebral ischemia: Potential therapeutic targets to repair the genome and improve stroke recovery. Neuropharmacology, 134, Pt B, 208-17.

Li PF, Zhan HQ, Li SY, Liu RL, Yan FL, Cui TZ, Yang YP, Li P, Wang XY, 2014. Lactuside B decreases aquaporin-4 and caspase-3 mRNA expression in the hippocampus and striatum following cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats. Experimental and therapeutic medicine, 7, 3, 675-80.

Li S, Hu X, Zhang M, Zhou F, Lin N, Xia Q, Zhou Y, Qi W, Zong Y, Yang H, Wang T, 2015a. Remote ischemic post-conditioning improves neurological function by AQP4 down-regulation in astrocytes. Behavioural brain research, 289, 1-8.

Li S, Li Y, Huang S, Fan B, Wei J, Ouyang L, Chen Z, Jiang B, 2020. Silencing matrix metalloproteinase 9 exerts a protective effect on astrocytes after oxygen-glucose deprivation and is correlated with suppression of aquaporin-4. Neuroscience letters, 731, 135047.

Li W, Tan C, Liu Y, Liu X, Wang X, Gui Y, Qin L, Deng F, Yu Z, Hu C, Chen L, 2015b. Resveratrol ameliorates oxidative stress and inhibits aquaporin 4 expression following rat cerebral ischemia-reperfusion injury. Molecular medicine reports, 12, 5, 7756-62.

Li Y, Liu SL, Qi SH, 2018b. ALDH2 Protects Against Ischemic Stroke in Rats by Facilitating 4-HNE Clearance and AQP4 Down-Regulation. Neurochemical research, 43, 7, 1339-47.

Li Y, Xu QQ, Shan CS, Shi YH, Wang Y, Zheng GQ, 2018c. Combined Use of Emodin and Ginsenoside Rb1 Exerts Synergistic Neuroprotection in Cerebral Ischemia/Reperfusion Rats. Frontiers in pharmacology, 9, 943.

Liao W, Lin JX, Leonard WJ, 2013. Interleukin-2 at the crossroads of effector responses, tolerance, and immunotherapy. Immunity, 38, 1, 13-25.

Lin L, Wang X, Yu Z, 2016. Ischemia-reperfusion injury in the brain: mechanisms and potential therapeutic strategies. Biochemistry & pharmacology: open access, 5, 4.

Long CY, Huang GQ, Du Q, Zhou LQ, Zhou JH, 2019. The dynamic expression of aquaporins 1 and 4 in rats with hydrocephalus induced by subarachnoid haemorrhage. Folia neuropathologica, 57, 2, 182-95.

López-Neblina F, Páez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH, 1996. Mechanism of protection of verapamil by preventing neutrophil infiltration in the ischemic rat kidney. The Journal of surgical research, 61, 2, 469-72.

MacAulay N, Zeuthen T, 2010. Water transport between CNS compartments: contributions of aquaporins and cotransporters. Neuroscience, 168, 4, 941-56.

Maggioni D, Nicolini G, Rigolio R, Biffi L, Pignataro L, Gaini R, Garavello W, 2014. Myricetin and naringenin inhibit human squamous cell carcinoma proliferation and migration in vitro. Nutrition and cancer, 66, 7, 1257-67.

Manley GT, Fujimura M, Ma T, Noshita N, Filiz F, Bollen AW, Chan P, Verkman AS, 2000. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. Nature medicine, 6, 2, 159-63.

McAllister JP, 2nd, Miller JM, 2006. Aquaporin 4 and hydrocephalus. Journal of neurosurgery, 105, 6 Suppl, 457-8; discussion 8.

Mercer LD, Kelly BL, Horne MK, Beart PM, 2005. Dietary polyphenols protect dopamine neurons from oxidative insults and apoptosis: investigations in primary rat mesencephalic cultures. Biochemical pharmacology, 69, 2, 339-45.

Mokhtarudin MJ, Payne SJ, 2017. The study of the function of AQP4 in cerebral ischaemia-reperfusion injury using poroelastic theory. International journal for numerical methods in biomedical engineering, 33, 1.

Nagelhus EA, Ottersen OP, 2013. Physiological roles of aquaporin-4 in brain. Physiological reviews, 93, 4, 1543-62.

Nalamolu KR, Venkatesh I, Mohandass A, Klopfenstein JD, Pinson DM, Wang DZ, Veeravalli KK, 2019. Exosomes Treatment Mitigates Ischemic Brain Damage but Does Not Improve Post-Stroke Neurological Outcome. Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology, 52, 6, 1280-91.

Noronha I, Niemir Z, Stein H, Waldherr R, 1995. Cytokines and growth factors in renal disease. Nephrology Dialysis Transplantation, 10, 6, 775-86.

Oliveira MA, Heimfarth L, Passos FRS, Miguel-Dos-Santos R, Mingori MR, Moreira JCF, Lauton SS, Barreto RSS, Araújo AAS, Oliveira AP, Oliveira JT, Baptista AF, Martinez AMB, Quintans-Júnior LJ, Quintans JSS, 2020. Naringenin complexed with hydroxypropyl-β-cyclodextrin improves the sciatic nerve regeneration through inhibition of p75(NTR) and JNK pathway. Life sciences, 241, 117102.

Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P, 1992. Calcium ions and oxidative cell injury. Annals of neurology, 32 Suppl, S33-42.

Orrock JE, Panchapakesan K, Vezina G, Chang T, Harris K, Wang Y, Knoblach S, Massaro AN, 2016. Association of brain injury and neonatal cytokine response during therapeutic hypothermia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. Pediatric research, 79, 5, 742-7.

Ozden A, Aybek Z, Saydam N, Calli N, Saydam O, Düzcan E, Güner G, 1998. Cytoprotective effect of trimetazidine on 75 min warm renal ischemia-reperfusion injury in rats. European surgical research. Europaische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales europeennes, 30, 4, 227-34.

Ozougwu JC, 2016. The role of reactive oxygen species and antioxidants in oxidative stress. International Journal of Research, 1.

Papadopoulos MC, Verkman AS, 2007. Aquaporin-4 and brain edema. Pediatric nephrology, 22, 6, 778-84.

Peng H, Chen MW, Lin YY, Zhao F, Zhou YX, Wang GX, 2019. [Mitochondrial DNA hydroxymethylation level in the cerebral cortex of neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage]. Zhongguo dang dai er ke za zhi = Chinese journal of contemporary pediatrics, 21, 3, 300-4.

Phuan PW, Ratelade J, Rossi A, Tradtrantip L, Verkman AS, 2012. Complement-dependent cytotoxicity in neuromyelitis optica requires aquaporin-4 protein assembly in orthogonal arrays. The Journal of biological chemistry, 287, 17, 13829-39.

Prasain J, Carlson S, Wyss J, 2010. Flavonoids and age-related disease: risk, benefits and critical windows. Maturitas, 66, 2, 163-71.

Pulliam SR, Uzhachenko RV, Adunyah SE, Shanker A, 2016. Common gamma chain cytokines in combinatorial immune strategies against cancer. Immunology letters, 169, 61-72.

Qi J, Rong Y, Wang L, Xu J, Zhao K, 2019. Rab7b Overexpression-Ameliorated Ischemic Brain Damage Following tMCAO Involves Suppression of TLR4 and NF-κB p65. Journal of molecular neuroscience : MN, 68, 2, 163-70.

Ramsay L, Quillé ML, Orset C, de la Grange P, Rousselet E, Férec C, Le Gac G, Génin E, Timsit S, 2019. Blood transcriptomic biomarker as a surrogate of ischemic brain gene expression. Annals of clinical and translational neurology, 6, 9, 1681-95.

Rash JE, Yasumura T, Hudson CS, Agre P, Nielsen S, 1998. Direct immunogold labeling of aquaporin-4 in square arrays of astrocyte and ependymocyte plasma membranes in rat brain and spinal cord. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 95, 20, 11981-6.

Raza S, Khan M, Ahmad A, Ashafaq M, Islam F, Wagner A, Safhi M, 2013. Neuroprotective effect of naringenin is mediated through suppression of NF-κB signaling pathway in experimental stroke. Neuroscience, 230, 157-71.

Rosenberg SA, 2014. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 192, 12, 5451-8.

Roşu GC, Pirici I, Istrate-Ofiţeru AM, Iovan L, Tudorică V, Mogoantă L, Gîlceavă IC, Pirici D, 2019. Expression patterns of aquaporins 1 and 4 in stroke. Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie, 60, 3, 823-30.

Saadoun S, Papadopoulos MC, Watanabe H, Yan D, Manley GT, Verkman AS, 2005. Involvement of aquaporin-4 in astroglial cell migration and glial scar formation. Journal of cell science, 118, Pt 24, 5691-8.

Saadoun S, Tait MJ, Reza A, Davies DC, Bell BA, Verkman AS, Papadopoulos MC, 2009. AQP4 gene deletion in mice does not alter blood-brain barrier integrity or brain morphology. Neuroscience, 161, 3, 764-72.

Sadock B, Sadock V, Ruiz P, 2014. Kaplan HI. Synopsis of psychiatry: behavioral sciences/clinical psychiatry. 11th ed. Philadelphia: Copyright Â.

Saleh TM, Saleh MC, Connell BJ, Song YH, 2017. A co-drug conjugate of naringenin and lipoic acid mediates neuroprotection in a rat model of oxidative stress. Clinical and experimental pharmacology & physiology, 44, 10, 1008-16.

Saponara S, Testai L, Iozzi D, Martinotti E, Martelli A, Chericoni S, Sgaragli G, Fusi F, Calderone V, 2006. (+/−)-Naringenin as large conductance Ca2+-activated K+ (BKCa) channel opener in vascular smooth muscle cells. British journal of pharmacology, 149, 8, 1013-21.

Shan W, Chen W, Zhao X, Pei A, Chen M, Yu Y, Zheng Y, Zhu S, 2020. Long noncoding RNA TUG1 contributes to cerebral ischaemia/reperfusion injury by sponging mir-145 to up-regulate AQP4 expression. Journal of cellular and molecular medicine, 24, 1, 250-9.

Shekhar S, Cunningham MW, Pabbidi MR, Wang S, Booz GW, Fan F, 2018. Targeting vascular inflammation in ischemic stroke: Recent developments on novel immunomodulatory approaches. European journal of pharmacology, 833, 531-44.

Shi LB, Tang PF, Zhang W, Zhao YP, Zhang LC, Zhang H, 2016. Naringenin inhibits spinal cord injury-induced activation of neutrophils through miR-223. Gene, 592, 1, 128-33.

Shi Q, Wu YZ, Yang X, Xiao K, Maimaitiming A, Gao LP, Chen C, Gao C, Guo Y, Dong XP, 2019. Significant enhanced expressions of aquaporin-1, -4 and -9 in the brains of various prion diseases. Prion, 13, 1, 173-84.

Silberstein C, Bouley R, Huang Y, Fang P, Pastor-Soler N, Brown D, Van Hoek AN, 2004. Membrane organization and function of M1 and M23 isoforms of aquaporin-4 in epithelial cells. American journal of physiology. Renal physiology, 287, 3, F501-11.

Sim GC, Radvanyi L, 2014. The IL-2 cytokine family in cancer immunotherapy. Cytokine & growth factor reviews, 25, 4, 377-90.

Skjolding AD, Rowland IJ, Søgaard LV, Praetorius J, Penkowa M, Juhler M, 2010. Hydrocephalus induces dynamic spatiotemporal regulation of aquaporin-4 expression in the rat brain. Cerebrospinal fluid research, 7, 1, 1-13.

Song HM, Park GH, Eo HJ, Lee JW, Kim MK, Lee JR, Lee MH, Koo JS, Jeong JB, 2015. Anti-proliferative effect of naringenin through p38-dependent downregulation of cyclin D1 in human colorectal cancer cells. Biomolecules & therapeutics, 23, 4, 339.

Subba Rao K, 2007. Mechanisms of disease: DNA repair defects and neurological disease. Nature clinical practice. Neurology, 3, 3, 162-72.

Sun MS, Jin H, Sun X, Huang S, Zhang FL, Guo ZN, Yang Y, 2018. Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy. Oxidative medicine and cellular longevity, 2018, 3804979.

Şener G, Yeğen BÇ, 2009. İskemi reperfüzyon hasarı. Klinik Gelişim Derg, 22, 3, 5-14.

Tani K, Mitsuma T, Hiroaki Y, Kamegawa A, Nishikawa K, Tanimura Y, Fujiyoshi Y, 2009. Mechanism of aquaporin-4's fast and highly selective water conduction and proton exclusion. Journal of molecular biology, 389, 4, 694-706.

Thammisetty SS, Pedragosa J, Weng YC, Calon F, Planas A, Kriz J, 2018. Age-related deregulation of TDP-43 after stroke enhances NF-κB-mediated inflammation and neuronal damage. Journal of neuroinflammation, 15, 1, 312.

Thrane A, Skehan J, Thrane P, 2007. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. Medical hypotheses, 68, 6, 1363-70.

Tong F, Zou Y, Liang Y, Lei H, Lopsong T, Liu Y, Le Grange JM, He G, Zhou Y, 2019. The Water Diffusion of Brain Following Hypoglycemia in Rats - A Study with Diffusion Weighted Imaging and Neuropathologic Analysis. Neuroscience, 409, 58-68.

Tourdias T, Dragonu I, Fushimi Y, Deloire MS, Boiziau C, Brochet B, Moonen C, Petry KG, Dousset V, 2009. Aquaporin 4 correlates with apparent diffusion coefficient and hydrocephalus severity in the rat brain: a combined MRI–histological study. Neuroimage, 47, 2, 659-66.

Tourdias T, Mori N, Dragonu I, Cassagno N, Boiziau C, Aussudre J, Brochet B, Moonen C, Petry KG, Dousset V, 2011. Differential aquaporin 4 expression during edema build-up and resolution phases of brain inflammation. Journal of neuroinflammation, 8, 1, 143.

Tuğlu C, SH K, 2003. Depresyon, sitokinler ve bağışıklık sistemi. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni, 13, 142-50.

Umukoro S, Kalejaye HA, Ben-Azu B, Ajayi AM, 2018. Naringenin attenuates behavioral derangements induced by social defeat stress in mice via inhibition of acetylcholinesterase activity, oxidative stress and release of pro-inflammatory cytokines. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 105, 714-23.

Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C, 2009. 8-hydroxy-2' -deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. Journal of environmental science and health. Part C, Environmental carcinogenesis & ecotoxicology reviews, 27, 2, 120-39.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J, 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The international journal of biochemistry & cell biology, 39, 1, 44-84.

Venero JL, Vizuete ML, Machado A, Cano J, 2001. Aquaporins in the central nervous system. Progress in neurobiology, 63, 3, 321-36.

Venkateswara Rao P, Kiran S, Rohini P, Bhagyasree P, 2017. Flavonoid: a review on naringenin. J. Pharmacogn. Phytochem, 6, 2778-83.

Verkerk AO, Lodder EM, Wilders R, 2019. Aquaporin Channels in the Heart-Physiology and Pathophysiology. International journal of molecular sciences, 20, 8.

Wang C, Yan M, Jiang H, Wang Q, Guan X, Chen J, Wang C, 2016. Protective effects of puerarin on acute lung and cerebrum injury induced by hypobaric hypoxia via the regulation of aquaporin (AQP) via NF-κB signaling pathway. International immunopharmacology, 40, 300-9.

Wang C, Yan M, Jiang H, Wang Q, He S, Chen J, Wang C, 2018. Mechanism of aquaporin 4 (AQP 4) up-regulation in rat cerebral edema under hypobaric hypoxia and the preventative effect of puerarin. Life sciences, 193, 270-81.

Wang H, Chen H, Jin J, Liu Q, Zhong D, Li G, 2020a. Inhibition of the NLRP3 inflammasome reduces brain edema and regulates the distribution of aquaporin-4 after cerebral ischaemia-reperfusion. Life sciences, 251, 117638.

Wang H, Zheng X, Jin J, Zheng L, Guan T, Huo Y, Xie S, Wu Y, Chen W, 2020b. LncRNA MALAT1 silencing protects against cerebral ischemia-reperfusion injury through miR-145 to regulate AQP4. Journal of biomedical science, 27, 1, 40.

Wang K, Chen Z, Huang J, Huang L, Luo N, Liang X, Liang M, Xie W, 2017a. Naringenin prevents ischaemic stroke damage via anti-apoptotic and anti-oxidant effects. Clinical and experimental pharmacology & physiology, 44, 8, 862-71.

Wang Q, Simonyi A, Li W, Sisk BA, Miller RL, Macdonald RS, Lubahn DE, Sun GY, Sun AY, 2005. Dietary grape supplement ameliorates cerebral ischemia-induced neuronal death in gerbils. Molecular nutrition & food research, 49, 5, 443-51.

Wang Q, Sun AY, Simonyi A, Miller DK, Smith RE, Luchtefeld RG, Korthuis RJ, Sun GY, 2009. Oral administration of grape polyphenol extract ameliorates cerebral ischemia/reperfusion-induced neuronal damage and behavioral deficits in gerbils: comparison of pre- and post-ischemic administration. The Journal of nutritional biochemistry, 20, 5, 369-77.

Wang X, An F, Wang S, An Z, Wang S, 2017b. Orientin Attenuates Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Model through the AQP-4 and TLR4/NF-κB/TNF-α Signaling Pathway. Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association, 26, 10, 2199-214.

Wieck A, Grassi-Oliveira R, do Prado CH, Rizzo LB, de Oliveira AS, Kommers-Molina J, Viola TW, Vieira ÉLM, Teixeira AL, Bauer ME, 2014. Pro-inflammatory cytokines and soluble receptors in response to acute psychosocial stress: differential reactivity in bipolar disorder. Neuroscience letters, 580, 17-21.

Wolburg-Buchholz K, Mack AF, Steiner E, Pfeiffer F, Engelhardt B, Wolburg H, 2009. Loss of astrocyte polarity marks blood–brain barrier impairment during experimental autoimmune encephalomyelitis. Acta neuropathologica, 118, 2, 219-33.

Wspalz T, Fujiyoshi Y, Engel A, 2009. The AQP structure and functional implications. In: Aquaporins. Eds: Springer, p. 31-56.

Wu H, Tang C, Tai LW, Yao W, Guo P, Hong J, Yang X, Li X, Jin Z, Ke J, Wang Y, 2018. Flurbiprofen axetil attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury by reducing inflammation in a rat model of transient global cerebral ischemia/reperfusion. Bioscience reports, 38, 4.

Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT, 2004. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry, 339, 1-2, 1-9.

Xiao B, Chai Y, Lv S, Ye M, Wu M, Xie L, Fan Y, Zhu X, Gao Z, 2017. Endothelial cell-derived exosomes protect SH-SY5Y nerve cells against ischemia/reperfusion injury. International journal of molecular medicine, 40, 4, 1201-9.

Xu H, Zhang Y, Sun H, Chen S, Wang F, 2014. Effects of acupuncture at GV20 and ST36 on the expression of matrix metalloproteinase 2, aquaporin 4, and aquaporin 9 in rats subjected to cerebral ischemia/reperfusion injury. PloS one, 9, 5, e97488.

Xu SH, Yin MS, Liu B, Chen ML, He GW, Zhou PP, Cui YJ, Yang D, Wu YL, 2017. Tetramethylpyrazine-2'-O-sodium ferulate attenuates blood-brain barrier disruption and brain oedema after cerebral ischemia/reperfusion. Human & experimental toxicology, 36, 7, 670-80.

Yan BC, Kim SK, Park JH, Ahn JH, Lee CH, Yoo KY, Choi JH, Lee DS, Kim MJ, Kim YM, Won MH, 2012. Comparison of inflammatory cytokines changes in the hippocampal CA1 region between the young and adult gerbil after transient cerebral ischemia. Brain research, 1461, 64-75.

Yan BC, Park JH, Ahn JH, Kim IH, Lee JC, Yoo KY, Choi JH, Hwang IK, Cho JH, Kwon YG, Kim YM, Lee CH, Won MH, 2014. Effects of high-fat diet on neuronal damage, gliosis, inflammatory process and oxidative stress in the hippocampus induced by transient cerebral ischemia. Neurochemical research, 39, 12, 2465-78.

Yang B, Verkman AS, 1997. Water and glycerol permeabilities of aquaporins 1-5 and MIP determined quantitatively by expression of epitope-tagged constructs in Xenopus oocytes. The Journal of biological chemistry, 272, 26, 16140-6.

Yang J, Lunde LK, Nuntagij P, Oguchi T, Camassa L, Nilsson LN, Lannfelt L, Xu Y, Amiry-Moghaddam M, Ottersen OP, 2011. Loss of astrocyte polarization in the tg-ArcSwe mouse model of Alzheimer's disease. Journal of Alzheimer's Disease, 27, 4, 711-22.

Yao X, Derugin N, Manley GT, Verkman AS, 2015. Reduced brain edema and infarct volume in aquaporin-4 deficient mice after transient focal cerebral ischemia. Neuroscience letters, 584, 368-72.

Ye Q, Hai K, Liu W, Wang Y, Zhou X, Ye Z, Liu X, 2019. Investigation of the protective effect of heparin pre-treatment on cerebral ischaemia in gerbils. Pharmaceutical biology, 57, 1, 519-28.

Yokuş B, Çakır DÜ, 2002. İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkerı; 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 22, 5, 535-43.

Youdim KA, Qaiser MZ, Begley DJ, Rice-Evans CA, Abbott NJ, 2004. Flavonoid permeability across an in situ model of the blood–brain barrier. Free Radical Biology and Medicine, 36, 5, 592-604.

Zador Z, Bloch O, Yao X, Manley GT, 2007. Aquaporins: role in cerebral edema and brain water balance. Progress in brain research, 161, 185-94.

Zaragozá C, Villaescusa L, Monserrat J, Zaragozá F, Álvarez-Mon M, 2020. Potential Therapeutic Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Effects of Dihydroflavones, Flavones, and Flavonols. Molecules (Basel, Switzerland), 25, 4.

Zhang C, Lyu Z, Wang Y, Zhang C, 2019a. [Mild hypothermia regulates aquaporin 4 expression in brain tissue of rats with cardiopulmonary resuscitation and reduces brain edema through p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway]. Zhonghua wei zhong bing ji jiu yi xue, 31, 4, 480-3.

Zhang C, Zeng W, Yao Y, Xu B, Wei X, Wang L, Yin X, Barman AK, Zhang F, Zhang C, Song Q, Liang W, 2018. Naringenin Ameliorates Radiation-Induced Lung Injury by Lowering IL-1β Level. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 366, 2, 341-8.

Zhang HF, Hu XM, Wang LX, Xu SQ, Zeng FD, 2009. Protective effects of scutellarin against cerebral ischemia in rats: evidence for inhibition of the apoptosis-inducing factor pathway. Planta medica, 75, 2, 121-6.

Zhang S, Qi Y, Xu Y, Han X, Peng J, Liu K, Sun CK, 2013. Protective effect of flavonoid-rich extract from Rosa laevigata Michx on cerebral ischemia-reperfusion injury through suppression of apoptosis and inflammation. Neurochemistry international, 63, 5, 522-32.

Zhang Y, Xu K, Liu Y, Erokwu BO, Zhao P, Flask CA, Ramos-Estebanez C, Farr GW, LaManna JC, Boron WF, Yu X, 2019b. Increased cerebral vascularization and decreased water exchange across the blood-brain barrier in aquaporin-4 knockout mice. PloS one, 14, 6, e0218415.

Zhào H, Liu Y, Zeng J, Li D, Zhang W, Huang Y, 2018. Troxerutin and Cerebroprotein Hydrolysate Injection Protects Neurovascular Units from Oxygen-Glucose Deprivation and Reoxygenation-Induced Injury In Vitro. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM, 2018, 9859672.

Zhao M, Li C, Shen F, Wang M, Jia N, Wang C, 2017. Naringenin ameliorates LPS-induced acute lung injury through its anti-oxidative and anti-inflammatory activity and by inhibition of the PI3K/AKT pathway. Experimental and therapeutic medicine, 14, 3, 2228-34.

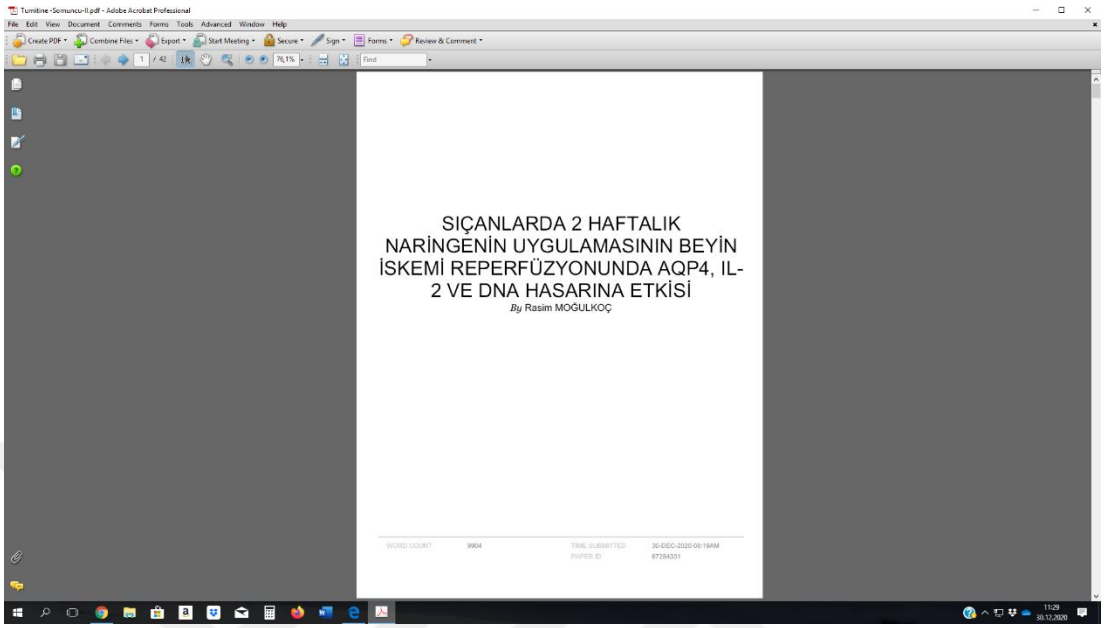
Zheng Y, Pan C, Chen M, Pei A, Xie L, Zhu S, 2019. miR-29a ameliorates ischemic injury of astrocytes in vitro by targeting the water channel protein aquaporin 4. Oncology reports, 41, 3, 1707-17.

Zhou YX, Wang X, Tang D, Li Y, Jiao YF, Gan Y, Hu XM, Yang LQ, Yu WF, Stetler RA, Li PY, Wen DX, 2019. IL-2mAb reduces demyelination after focal cerebral ischemia by suppressing CD8(+) T cells. CNS neuroscience & therapeutics, 25, 4, 532-43.

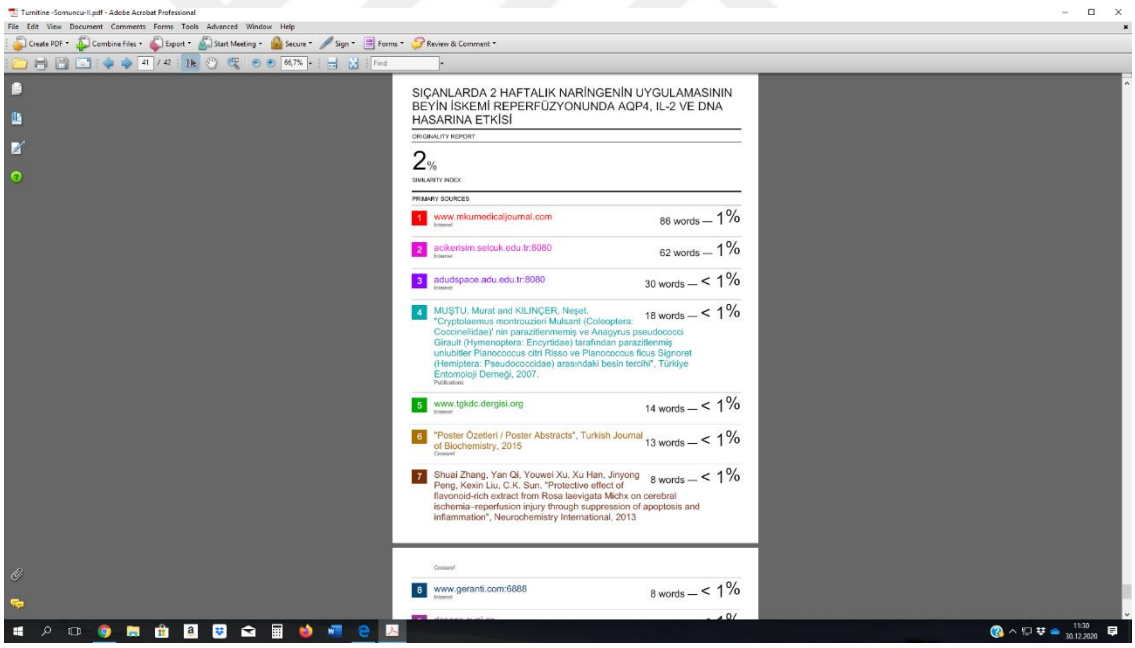
Zhu MX, Lu C, Xia CM, Qiao ZW, Zhu DN, 2014. Simvastatin pretreatment protects cerebrum from neuronal injury by decreasing the expressions of phosphor-CaMK II and AQP4 in ischemic stroke rats. Journal of molecular neuroscience : MN, 54, 4, 591-601.

Zimmerman BJ, Granger DN, 1992. Reperfusion injury. The surgical clinics of North America, 72, 1, 65-83.

Ek B: Turnitin Raporu


SIÇANLARDA 2 HAFTALIK NARİNGENİN UYGULAMASININ BEYİN İSKEMİ REPERFÜZYONUNDA AQP4, IL-2 VE DNA HASARINA ETKİSİ

By Rasim MOĞULKOÇ


SIÇANLARDA 2 HAFTALIK NARİNGENİN UYGULAMASININ BEYİN İSKEMİ REPERFÜZYONUNDA AQP4, IL-2 VE DNA HASARINA ETKİSİ

ORIGINALITY REPORT

2%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	www.mkumedicaljournal.com	86 words — 1%
2	acikerisim.selcuk.edu.tr:8080	62 words — 1%
3	adudspace.adu.edu.tr:8080	30 words — < 1%
4	MUŞTU, Murat and KILINÇER, Neşet. "Cryptolaemus montrouzieri Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae)' nin parazitlenmemiş ve Anagyrus pseudococci Girault (Hymenoptera: Encyrtidae) tarafından parazitlenmiş unlubitler Planococcus citri Risso ve Planococcus ficus Signoret (Hemiptera: Pseudococcidae) arasındaki besin tercihi", Türkiye Entomoloji Derneği, 2007. Publications	18 words — < 1%
5	www.tgkdc.dergisi.org	14 words — < 1%
6	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015	13 words — < 1%
7	Shuai Zhang, Yan Qi, Youwei Xu, Xu Han, Jinyong Peng, Kexin Liu, C.K. Sun. "Protective effect of flavonoid-rich extract from Rosa laevigata Michx on cerebral ischemia-reperfusion injury through suppression of apoptosis and inflammation", Neurochemistry International, 2013	8 words — < 1%
8	www.geranti.com:6888	8 words — < 1%