

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BEYİN İSKEMİ-REPERFÜZYONU OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA 3',4'-DİHYDROXYFLAVONOL
UYGULAMASININ MATRİKSMETALLOPROTEİN OKLUDİN,
KLAUDİN VE BETA AKTİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

DELAL EZGİ AKINCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ

KONYA-2025

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BEYİN İSKEMİ-REPERFÜZYONU OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA 3',4'-DİHYDROXYFLAVONOL
UYGULAMASININ MATRİKSMETALLOPROTEİN OKLUDİN,
KLAUDİN VE BETA AKTİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

DELAL EZGİ AKINCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 24202046 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2025

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Delal Ezgi AKINCI tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalında Yüksek Lisans olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Ünvanı Adı SOYADI İmza
Prof. Dr. A. Kasım BALTACI

Selçuk Üniversitesi

Danışman: Ünvanı Adı SOYADI İmza
Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ

Selçuk Üniversitesi

Üye: Ünvanı Adı SOYADI İmza
Prof. Dr. Füsun SUNAR

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi

ONAY:

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

Prof. Dr. Fatma Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince, değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ'a, bilgi birikimi ve tecrübelerini cömertçe paylaşarak akademik kariyerimdeki rehberliği için teşekkür ederim. Anlayışlı yaklaşımı ve desteği, her zorlukta bana güç vermiştir.

Ayrıca, bilgi ve tecrübesiyle yolumu aydınlatan, her zaman yanımda olan ve akademik duruşuyla örnek aldığım Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI'ya;

Eğitimim boyunca değerli bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaşan Sayın Prof. Dr. Nilsel OKUDAN'a ve Sayın Prof. Dr. Muaz BELVİRANLI'ya;

Yüksek lisans sürecimde bilgi, deneyim ve destekleriyle yanımda olan Uzm. Dr. Gözde ACAR, Arş. Gör. Tuğçe ALADAĞ, Arş. Gör. Dr. Ebru K. UZDİL ve Arş. Gör. Dr. Murat HOŞGÖR'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince, TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2210-A Programı kapsamlı yüksek lisans bursu ile desteklediğim için TÜBİTAK'a teşekkür ederim. Bu burs, araştırmalarımı sürdürebilmem için gerekli finansal desteği sağlamış ve akademik hedeflerime ulaşmamda önemli bir adım atmamı sağlamıştır.

Bu akademik yolculukta bana daima destek olan, sevgileri ve sabırlarıyla güç veren aileme en içten teşekkürlerimi sunarım. Özellikle canım dedem Battal AKINCI'ya, canım babaannem Gülizar AKINCI'ya, canım babam Yusuf AKINCI'ya ve biricik kardeşlerim Zennube PEKTAŞ ve Sevim Gülten AKINCI'ya varlıklarıyla her zaman yanımda oldukları ve zorlukları aşmamda bana moral kaynağı oldukları için minnettarım.

Delal Ezgi AKINCI

Haziran 2025

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	viii
SUMMARY	ix
1.GİRİŞ	1
1.1.İskemi	1
1.1.1.İskemik Beyin Hasarının Oluşum Süreci.....	1
1.1.2.Oksidatif Stres.....	3
1.2.İskemi Sonrası Reperfüzyon	6
1.3.İskemide Kan Beyin Bariyer (KBB) Bütünlüğü	6
1.4.İskemi/reperfüzyon Hasarında Okludin, Klaudin, β -aktin ve MMP'lerin Rolü. 7	
1.4.1.MMP-3 ve MMP-9'un I/R Hasarındaki Rolü.....	7
1.4.2.Okludin ve Klaudinin I/R Hasarındaki Rolü	8
1.4.3. β -aktin	9
1.5.Sitoskeletal Koruma	11
1.6.Flavonoidler.....	12
1.6.1.Flavonoidlerin Beyne Ulaşma Aşamaları	13
1.6.2.Flavonoidler ve I/R	15
1.6.3.Flavonoidlerin I/R Hasarında MMP-3 ve MMP-9'a Etkisi	17
1.6.4.Flavonoidlerin I/R Hasarında β -aktin Üzerindeki Etkisi	21
1.6.5.Flavonoidlerin I/R Hasarında Okludin ve Klaudin Proteinlerine Etkisi....	23
1.7.Beyin I/R Hasarı Üzerinde 3',4'-Dihidroksiflavonol Etkisi	27
2.GEREÇ VE YÖNTEMLER	28
2.1.Hayvan Grupları ve Çalışma Planı	28
2.2.Hipokampus Ve Frontal Korteks Dokularından RNA İzolasyonu.....	30
2.3.cDNA'ların Elde Edilmesi	31
2.4.Genlerin İfade Düzeylerinin Belirlenmesi.....	31
2.5.İstatistik	33
3.BULGULAR	34
3.1.Frontal Korteks Dokusunun Sonuçları	34
3.2.Hipokampus Dokusunun Sonuçları	39
4.TARTIŞMA	44
5.SONUÇ ve ÖNERİLER	54
6.KAYNAKLAR	55
7.EKLER	63

EK A: Etik Onayı	63
EK B: Turnitin Raporu	64
8.ÖZGEÇMİŞ.....	65



SİMGELER VE KISALTMALAR

AMPA	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionik asit
AOM	: <i>Alpinia oxyphylla</i> Miq
AP-1	: Aktivatör protein-1
AQP4	: Aqua porin 4
ARE	: Antioksidan response element
ATP	: Adenozin trifosfat
Bax	: Bcl-2 ilişkili X Protein
BV-2	: Beyin kaynaklı mikroglial hücre hattı 2
CAR	: Kofilaktin çubukları
CG	: Kalikosin-7-O- β -D-glukozit
CP	: Seruloplazmin
CTL	: <i>Carthamus tinctorius</i> L.
DİOHF	: 3',4'-dihidroksiflavonol
EGCG	: Epigallokateşin gallat
Enos	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
FRE	: <i>Rosa laevigata</i> MICHX meyvesinden elde edilen flavonoid özellikli özüt
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSHPx	: Glutatyon peroksidaz
HDAC1	: Histon deasetilaz 1
HIF-1α	: Hipoksi indüklenbilir faktör 1-alfa
HSP	: Hesperidin
HSP60	: Isı şok proteini 60
HSYA	: Hidroksisafflor sarısı A
HT	: Hemorajik transformasyon
I/R	: İskemi reperfüzyon
ICA	: Icarin
ICS II	: Inside II
IL-10	: Interlökin-10
ISL	: Isoliquiritigenin
KBB	: Kan beyin bariyeri
LGU	: Luteolin-7-O- β -D-glukuronid
LOX-1	: Lektin benzeri oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü-1
LQ	: Liquiritin

MCAO/R	: Orta serebral arter oklüzyonu
MDA	: Melonaldehit
mito-ROS	: Mitokondriyal reaktif oksijen türleri
MMP	: Metaloproteazları
MO-A	: <i>Ophiopogon japonicus</i> 'un aktif homoizoflavonoidinin
mPTP	: Mitochondrial permeability transition pore
mRNA	: Haberci RNA
MSS	: Merkezi sinir sinyali
NADPH	: Nicotinamid adenin dinükleotit fosfat
NAR	: Naringenin
NBP	: DL-3-n-butilfatalid
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NG	: Notoginsenoside
NMDA	: İyonotropik N-metil-D-aspartat
NO	: Nitrik oksit
NOB	: Nobiletin
NOM	: Nomilin
Nrf2	: Nükleer faktör 2
p53	: Tümör baskılayıcı protein türü
PARG	: Poly(ADP-riboz) glikohidrolaz
PARP-1	: Poly(ADP-riboz) polimeraz-1
PCB	: Pinozembrin
PLP	: Polisakkarit
ROCK2	: RhoA tarafından aktive edilen kinaz 2
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rt-PA	: Rekombinant doku palzminojen aktivatörü
RWPC	: Kırmızı şarap polifenolik bileşikleri
Scu	: Scutellar
SETD3	: SET domain protein 3
SHTB	: Shouhui Tongbian Kapsülleri
SIH	: Semptomatik intraserebral hemoraji
Sirt3	: Sirtuin-3
SOD	: Süperoksit dismutaz
SSNX	: Shuangshen Ningxin

TIMP1	: Metaloproteinaz 1'in doku inhibitörü
TJ	: Sıkı bağlantılar
TLB	: Trilobatin
t-PA	: Doku plazminojen aktivatörü
Ubqln1	: İbiquilin-1
YQFM	: Geleneksel Çin tıbbındaki 3 bitkili reçete
YXQNW	: YangXueQingNaoWan
YXQNW	: YangXueQingNaoWan
ZO-1	: Zonula okludens-1



ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Beyin İskemi-Reperfüzyonu Oluşturulan Sıçanlarda 3',4'-Dihydroxyflavonol Uygulamasının Matriksmetalloprotein Okludin, Klaudin ve Beta Aktin Düzeylerine Etkisi

Delal Ezgi Akıncı

Fizyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2025

İskemi sırasında etkilenen bölgeye kan akımı ve enerji substratlarının düşüşü ve iskemi sonrası bu moleküllere ani maruz kalma reperfüzyon olarak isimlendirilir. İskemi kadar reperfüzyonun da hücre ve dokulara zararı olabilmektedir. Bu çalışmanın amacı erkek sıçanlarda beyin İ/R ve 1 haftalık süreli 3',4'-Dihydroxyflavonol tedavisinin frontal korteks ve hipokampus dokusunda matriks metalloprotein (MMP), okludin, klaudin ve β - aktin düzeylerine olan etkisini belirlemektir. 28 adet Wistar-albino tipi erkek sıçandan oluşan deney grupları şu şekilde oluşturuldu: 1-Kontrol grubu (n=6): Bu gruptaki hayvanlara herhangi bir anestezi ve cerrahi işlem yapılmadı.

2-Sham Grubu (n=6): Bu gruptaki hayvanlarda genel anestezi oluşturulduktan sonra karotid arter bölgeleri açılıp kapatıldı. Uygulama sonrası 1 hafta süreli çözücü uygulaması yapıldı (1 ml DiOHF çözünürü).

3-İskemi-Reperfüzyon Grubu (n=8): Genel anestezi altında sıçanlarda karotid arterler izole edildikten sonra 30 dakika süreyle ligate edilerek iskemi ve takiben reperfüzyon gerçekleştirildi

4-İskemi-Reperfüzyon + DiOHF Grubu (n=8): Genel anestezi altında sıçanlarda karotid arterler 30 dakika ligasyonla iskemi yapıldıktan sonra reperfüzyon ve sonrasında 1 hafta süreli DiOHF takviyesi yapıldı.

Bir haftalık tedavi sonrası genel anestezi altında hayvanlar öldürülerek frontal korteks ve hipokampus dokuları alındı. İlgili dokularda klaudin, okludin, β -aktin ile MMP-3 ve MMP-9 seviyeleri incelendi. İ/R frontal korteks ve hipokampüste klaudin ve okludin seviyelerini baskılamakta, β -aktin, MMP-3 ve MMP-9 değerlerini artırdı. 1 hafta boyunca 3',4'-Dihydroxyflavonol uygulaması İ/R ile oluşan bozulmaları düzeltti.

Çalışma sonuçları İ/R sonrası 1 hafta süreli 3',4'-Dihydroxyflavonol tedavisinin fokal beyin İ/R'nin frontal korteks ve hipokampüste oluşturduğu yapısal hasar göstergelerindeki değişimleri belirli oranda düzelttiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Sözcükler: İskemi/Reperfüzyon; 3',4'-Dihydroxyflavonol; klaudin, okludin, β -aktin, MMP-3, MMP-9 ve sıçan

SUMMARY
REPUBLIC OF TURKIYE
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Effect of 3',4'-Dihydroxy flavonol Supplementation on Matrixmetalloprotein, Claudine, Occludine and β -Actine Levels in Rats with Brain Ischemia-Reperfusion

Delal Ezgi Akıncı
Department of Physiology

MASTER'S THESIS / KONYA-2025

The reduced blood flow and energy substrates to the affected area during ischemia and sudden exposure to these molecules after ischemia is called reperfusion. Reperfusion can be as damaging to cells and tissues as ischemia. This study aims to examine the effects of brain I/R and 1-week 3',4'-Dihydroxyflavonol treatment on Matrix metalloproteins (MMP), occludin, claudin, and β -actin, levels in frontal cortex and hippocampus tissue in male rats. Experimental groups consisting of 28 Wistar-albino type male rats were formed as follows: 1-Control group (n=6): No anesthesia or surgical procedure was applied to the animals in this group. 2-Sham Group (n=6): After general anesthesia was created in the animals in this group, the carotid artery regions were opened and closed. After the application, solvent application was performed for 1 week (1 ml DiOHF solvent). 3-Ischemia-Reperfusion Group (n=8): After isolating the carotid arteries in rats under general anesthesia, they were ligated for 30 minutes and ischemia and then reperfusion was performed.

4-Ischemia-Reperfusion + DiOHF Group (n=8): After ischemia was performed by ligating the carotid arteries in rats under general anesthesia for 30 minutes, reperfusion was performed and then DiOHF supplementation was performed for 1 week.

After one week of treatment, the animals were sacrificed under general anesthesia and frontal cortex and hippocampus tissues were taken. The levels of claudin, occludin, β -actin and MMP-3 and MMP-9 were examined in the relevant tissues. While I/R suppressed the levels of claudin and occludin in the frontal cortex and hippocampus, it increased the levels of β -actin, MMP-3 and MMP-9. 3',4'-Dihydroxyflavonol supplementation for 1 week corrected the deteriorations caused by I/R.

The study results show that 1 week of 3',4'-Dihydroxyflavonol treatment after I/R corrects the changes in structural damage indicators caused by focal brain I/R in the frontal cortex and hippocampus to a certain extent.

Keywords: Ischemia/Reperfusion; 3',4'-Dihydroxyflavonol; claudin, occludin, β -actin, MMP-3, MMP-9 and rat

1. GİRİŞ

1.1. İskemi

Yerel kan akışının azalması ya da bloke edilmesiyle ortaya çıkan iskemide; beynin beslenmesini sağlayan kan akımının kısıtlanmasına sebep olan bir pıhtılaşma olayı, emboli veya hipoperfüzyon sonucu dokulara yetersiz glikoz ve oksijen ulaşır (Gonzalez ve ark 2007). Bunun sonucunda merkezi sinir sisteminde sinaptik boşluğa salınan nörotransmitter olan glutamatın anormal artışı, asidoz toksisitesi ve iyon dengesizliği, oksidatif stres, inflamasyon, apoptoz, perienfarktüs depolarizasyon gibi farklı zamanlarda gerçekleşen patofizyolojik süreçler nöronlar, glialar ve endotelial hücre hasarı veya ölümüne yol açabilmektedir (Gonzalez ve ark 2007).

İskemi ve sonrasında yeniden kan akımıyla oluşan reperfüzyonla oluşan hasar kalp, beyin, böbrekler, akciğer, iskelet kası ve karaciğer üzerinde organ tahribatıyla sonuçlanabilir (Chamoun ve ark 2000).

1.1.1. İskemik Beyin Hasarının Oluşum Süreci

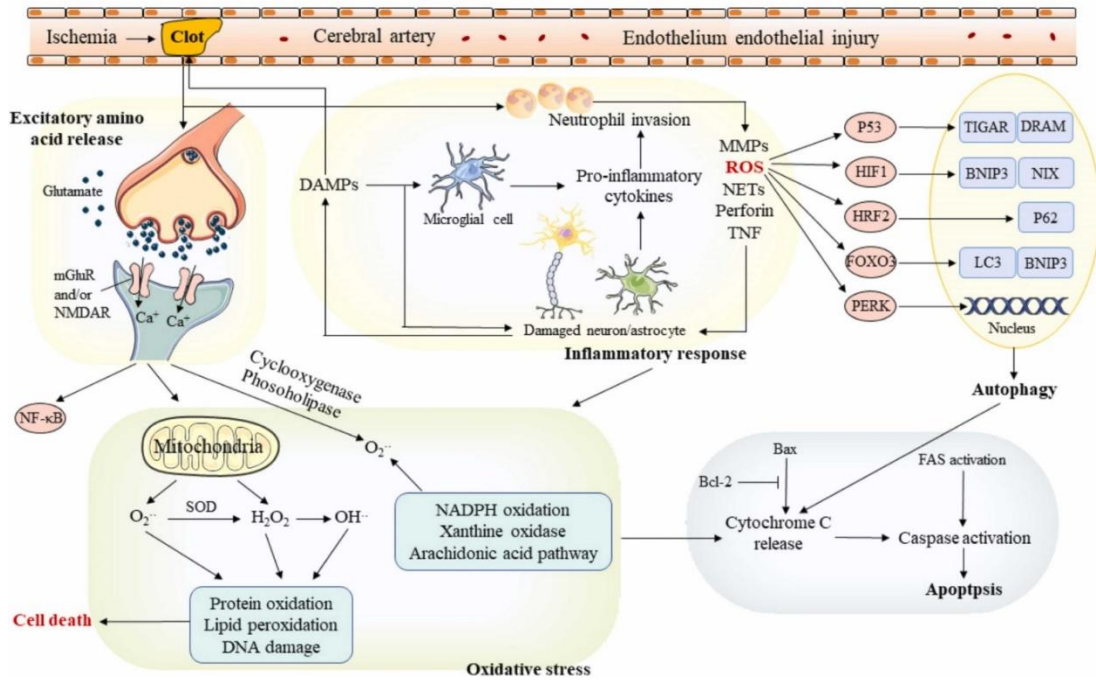
İnsanda toplam vücut kütlelerinin %2'si, tüketilen oksijen miktarına göre ise %20'lik kısmı kapsayan beyin (Edvinsson ve Krause 1993); nöron plazma membranında depolarizasyon (zarın pozitif potansiyele dönmesi), repolarizasyon (dinlenme durumuna geri dönme) ve hiperpolarizasyon (denge durumundan daha da negatifleşme) gibi potansiyellerle iyon dengesini korur. Oluşturulan aksiyon potansiyelleriyle uyarı sinir lifleri arasında elektriksel ve kimyasal sinaps olarak aktarılır.

Bu süreçte pre-sinaptik membrandaki vezikülde bulunan nörotransmitterler post-sinaptik membrandaki reseptörüne bağlanarak post-sinaptik membranda bir dizi reaksiyonun başlamasını sağlar. Tüm bu olaylar için ATP gerekmektedir. Beyin oksidatif fosforilasyonla ATP üretmek için oksijene ihtiyaç duymaktadır (Hall ve Guyton 2016).

Nöronların plazma membranında bulunan Na^+/K^+ ATPaz iyon pompası için bile beynin ürettiği enerjinin %70'i kullanılmaktadır (Edvinsson ve Krause 1993). Ayrıca ekstrasellüler sıvıdaki kalsiyum konsantrasyonu, intrasellüler sıvının

yaklaşık 10^4 katı yoğunluktadır. Nöronlarda istirahat durumunda membran zarı kalsiyuma geçirgen olmadığı için kalsiyumun zar potansiyeline bir katkısı yoktur. Ancak duysal reseptörler, dentrit, akson sonlanmalarında bulunan voltaj kapılı kalsiyum kanalları ya da post-sinaptik hücre membranındaki ligant kapılı kalsiyum kanallarının açılması depolarizasyonla sonuçlanabilir (Hall ve Guyton 2016).

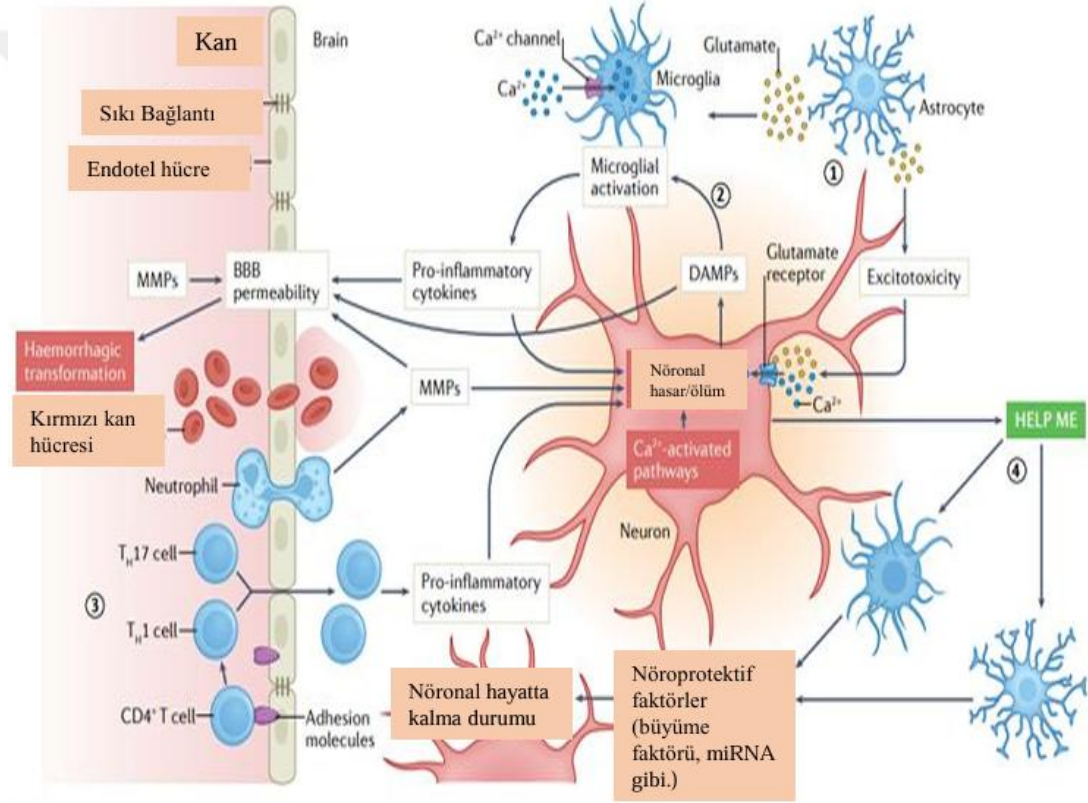
İskemi nedeniyle enerjinin yetersiz olması plazma membranında bulunan Ca^{++} ATPaz pompasının hücre içi kalsiyum dengesini korumasını engeller. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun yükselmesi kalsiyum bağımlı proteazları, lipazları ve DNAazları aktifleştirir (Edvinsson ve Krause 1993). Bu durum hücrelerin katabolizma nedeniyle ölümüyle sonuçlanır. Temel bileşenlerin yeniden sentezi için de ATP olmadığından dolayı bu yıkıcı enzimler hücrenin nekrozuna neden olur (Doyle ve ark 2008).



Şekil 1.1. İskemi sonucu beyinde oluşan glikoz-oksijen yoksunluğu sonucu Na-K pompasının işlevini gerçekleştirememesi sonucu oluşan membran depolarizasyonu; glutamatın sürekli salınımına neden olur. Hücre içi artan kalsiyum inflamasyon, otofaji ve apoptozis gibi hücre ölümüne neden olan sinyal yollarını tetikler (Zhu ve ark 2022).

Özetle; oksijen ve glikoz yokluğu astrositlerden glutamat salınımına sebep olarak nöronlarda eksitotoksik sinyalizasyon aktive olur. Bu süreç nöronal hasara

ve nöron ölümüne yol açarak mikrogliaları etkinleştirir. Hem oluşan nöronal hasar hem de periferik bağışıklık hücrelerinin MSS'ye taşınması mikrogliaların aktivasyonunu güçlendirerek daha fazla hasara sebep olur. Pro-inflamatuar sitokinlerin salınması nöron hasarını arttıran endotel aktivasyon ve kan beyin bariyerinin bozulmasıyla sonuçlanır. Lökositlerin iskemik bölgeye akın etmesi artmış sitokin salınımına ve nöroinflamasyona yol açar. Bununla birlikte nöronlardan 'Help me' sinyalleri salınır. Amaç astrositleri ve mikrogliaları koruyan faktörlerin salınımıdır. İskemik kaskad karmaşık bir dizi olaydan oluşmaktadır. Tam anlamıyla açıklamak mümkün değildir. Ancak bununla ilgili bazı modeller önerilmiştir (Fisher ve Savitz 2022).



Şekil 1.2. İskemik kaskad özeti (Fisher ve Savitz 2022).

1.1.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres beyin iskemisinde nöronlarda doku hasarı ve hücre ölümünde etkilidir. Normal şartlar altında mitokondri hücre içi artmış Ca⁺⁺, Na⁺ ve ADP düzeylerine karşı reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. Nöronlarda diğer organlara göre daha düşük seviyelerde endojen antioksidan olduğundan dolayı ROS'a karşı nispeten daha savunmasızlardır (Coyle ve Puttfarcken 1993). Bunun yanı sıra

mitokondriler ROS'a karşı hassas olup oksidatif stres mitokondriyal işlevi bozabilir (Li ve ark 2016). Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx), katalaz enzimleri üretilen ROS'ları temizler. Yapılan bir çalışmada SOD türlerinden olan konjuge SOD1 enzimi, fokal beyin iskemisi yapılan sıçanlarda infarkt hacmini azaltmada olumlu sonuç vermiştir (He ve ark 1993).

I/R'de H_2O_2 , OH^- , O_2^- gibi reaktif oksijen türleri birikmektedir. İskemi sonucu antioksidan savunmalar etkisizleştiği için OH^- radikali hızla artarak hücre membranları da dâhil olmak üzere protein yapılarına zarar verir ve dolayısıyla lipid peroksidasyonunu da aktive eder (Dorweiler ve ark 2007).

İskemi sonrası reperfüzyon mitokondride artmış ROS üretimiyle beraber endojen antioksidanların bu radikaller tarafından tüketilmesi hücre içi ROS'ta daha fazla bir artışa neden olur. Gerçekleştirilen çalışmada iskemik dokularda ROS'un lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi makromoleküllerle oksidatif hasara doğrudan katıldığı ve hücre ölümüyle sonuçlanabildiğini göstermiştir (Sugawara ve Chan 2003).

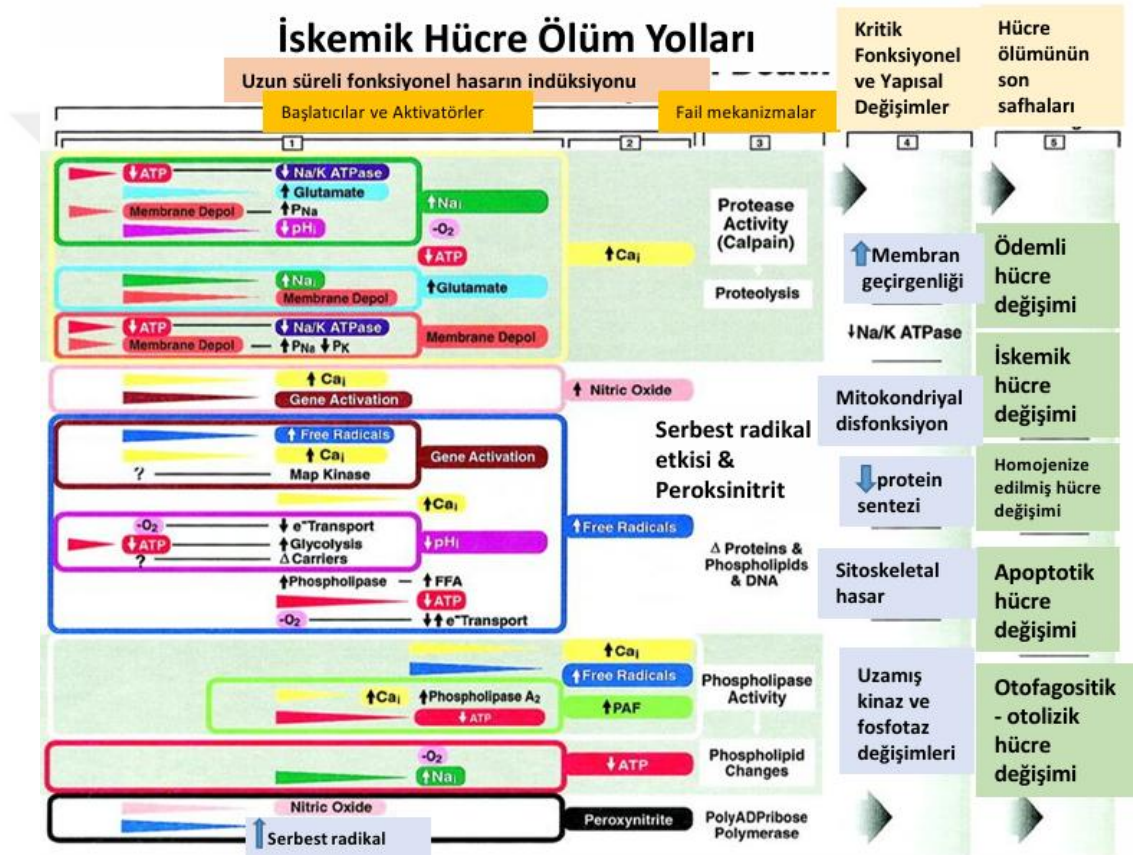
İndirgenmiş glutatyon (GSH) antioksidanları yenilemektedir (Kontos 1985). Wistar albino sıçanlarla yapılan bir çalışmada antioksidan sistemin eritrosit GSH seviyelerinin iskemi reperfüzyon grubunda baskılandığı bildirilmiştir (Dasdelen ve ark 2021).

Kan damarlarının yakınında oluşan süperoksit, NO ve peroksinitrat gibi radikallerin üretimindeki artış reperfüzyon süresince artar ve reperfüzyonun sebep olduğu hasarda önemli rol alır. Bunlar matris metaloproteazları (MMP) etkinleştirerek damar duvarının bütünlüğünü bozar, kan beyin bariyerinin geçirgenliğini artırır. Yine oksidatif stres sonucu nötrofiller ve lökositler serebrovasküler sisteme yoğun olarak toplanır bunun sonucunda damar geçirgenliğini arttıran enzimler serbest hale gelir (Crack ve Taylor 2005).

Endotelyal hücrelerde eNOS'lardan düşük konsantrasyonlarda salgılanan nitrik oksit (NO), damarlarda dilatasyon, lökosit adhezyonunu inhibe edici, hücre içi sinyal yollarında düzenleyici işlevleri vardır (Hein ve ark 2003). I/R durumunda artan süperoksit radikalleriyle NO tepkimeye girer ve toksik peroksinitrit ve nitrojen trioksit oluşumuna neden olur. Böylelikle ortamdaki

endojen NO azaldığı için NO'nun koruyucu etkileri de ortadan kalkar ve ROS oluşumu tetiklenir (Vaghasiya ve ark 2010).

Serebral iskemi ve 30 dakikalık ardışık reperfüzyon uygulanan genç ve yaşlı sıçanlarda beyin farklı kısımlarında lipid peroksidasyonunda ve ROS üretiminde belirgin bir artış, antioksidan enzim sistemlerinde azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca incelenen beyin bölgeleri arasında hipokampus en fazla şekilde etkilenen bölge olarak bildirilmiştir (Ghosh ve ark 2013).



Şekil 1.3. İskemik hücre ölüm yolları (Lipton 1999). Oksijen metabolizmasının inhibisyonuyla doğrudan bağlantılı olan iskemik hücre ölümü karmaşık bir sürecin sonucu oluşur. pH'nın düşmesi, ATP molekülünün tükenmesi ve yeniden üretilmemesi, mitokondriden salınan serbest radikaller, sodyum-potasyum pompasının ATP yokluğundan dolayı işlevini yerine getirememesi nedeniyle hücre içi sodyum konsantrasyonunun artmasıyla depolarizasyon oluşumu. Bunlar iskemi sürecinde gerçekleşir ve hasara sebep olan sürecin parçalarıdır.

1.2. İskemi Sonrası Reperfüzyon

İskemi sırasında etkilenen bölgeye kan akımı ve enerji substratlarının düşüşü ve iskemi sonrası bu moleküllere ani maruz kalma reperfüzyon olarak isimlendirilir. İskemi kadar reperfüzyonun da hücre ve dokulara zararı olabilmektedir. İskemi sonrası hücreler arası bariyerler bozulur ve inflamatuvar hücre göçünü kolaylaştıran adhezyon moleküllerinin salınımında artış olur. Reperfüzyonun yeniden sağlanmasıyla inflamatuvar hücreler hasarlı alana yapışabilirler. Böylece inflamasyona destek veren maddeler hücre bağlantıları arasında farklı hücrelere aktarılabilir (Bonventre ve Zuk 2004). Reperfüzyon sonrası ROS üretimi özellikle O_2^- üretimi oldukça hızlıdır. NO, O_2^- ile tepkime vererek nöronal ölüme sebep olabilir (Hata ve ark 2000). Reperfüzyonla oksijenin tekrar sağlanması hasarlı mitokondri, ksantiz oksidaz ve nitrik oksit sentaz enzimleri ROS üretimini aşırı artırır. Bu sistemlerin oluşturduğu hasar hücre ölümü üzerinde etkilidir (Dorweiler ve ark 2007).

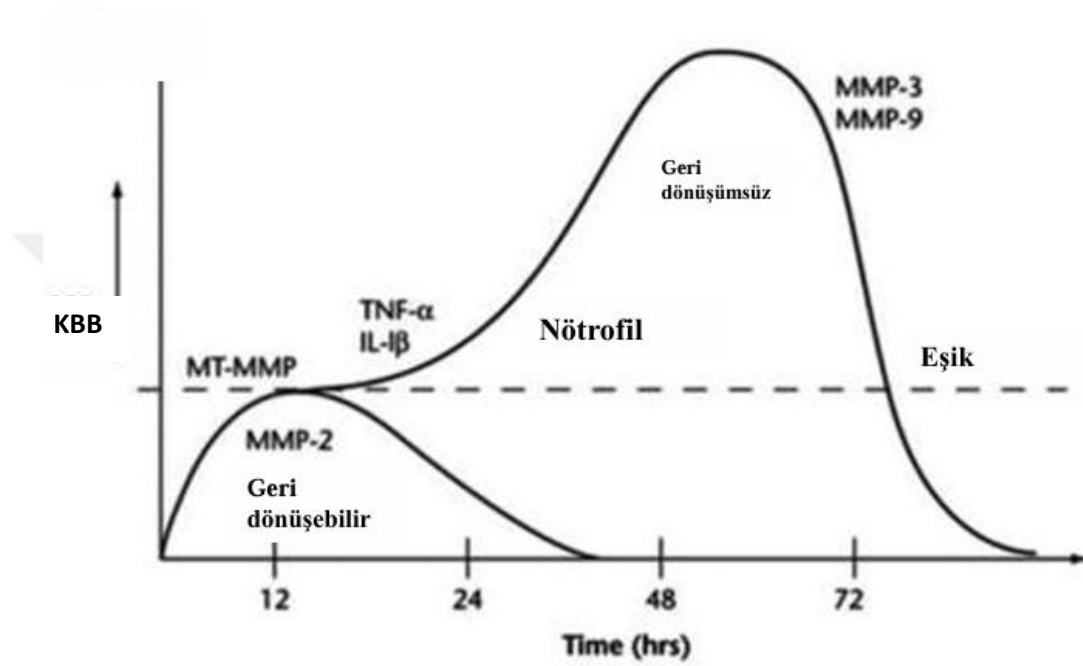
İskemik inmeli kişilerde erken reperfüzyon ve beyin dokusunun kurtarılmasıyla iskemik dokudaki nekroz boyutu azalabilir ve klinik tablo iyileşebilir (Schaller ve Graf 2004).

1.3. İskemide Kan Beyin Bariyer (KBB) Bütünlüğü

KBB, beyin homeostazının korunmasında önemli rol alır. MSS'yi kan yoluyla gelen eksojen ve endojen maddelerden korur. KBB endotel hücreler arasındaki sıkı bağlantı proteinleriyle korunur (Benz ve Liebner 2020). Okludin ve klaudinler sıkı bağlantı proteinlerinin hücre dışı bileşenini oluşturmaktadırlar ve KBB oluşumu için gereklidirler (Sonoda ve ark 1999). Klaudin-5, ZO-1 ve okludin sıkı bağlantı proteinleri arasında en önemlileridir. Çalışmalardan bazıları hipoksi durumunda KBB geçirgenliğinin genellikle bu proteinlerle ilişkili olduğunu göstermiştir (Aggarwal ve ark 2018).

Wnt/ β -katenin sinyal yolu KBB gelişimini kontrol eder ve klaudin, ZO-1 düzeyini arttırarak KBB fenotipini güçlendirir (Wang ve ark 2016). İskemide KBB bozulması oksidatif stres, inflamasyon ve MMP aktivasyonu ile ilişkilidir. Sıkı bağlantı proteinlerinin disfonksiyonu da iskemide KBB'nin bozulmasının nedenleri arasındadır (Bernardo-Castro ve ark 2020). MMP'ler sıkı bağlantı proteinlerini ve hücre dışı matris bileşenlerini parçalar (Yang ve Rosenberg 2011).

MMP-9 geri döndürülemez bir hasara yol açabilir. Beyinde öncelikli olarak aktif olan MMP'ler MMP-3 ve MMP-9'dur. Aktivatör protein-1 (AP-1) ve NF-kB transkripsiyon bölgeleri MMP-3 ve MMP-9 oluşumunda rol alır. MMP-9 aktif olan MMP-3 tarafında aktive edilir. İnflamasyon sürecinde salınan sitokinler MMP'leri etkiler. MMP'ler ve sitokinler inflamasyonda artar (Yang ve Rosenberg 2015).



Şekil 1.4. (Yang ve Rosenberg 2015). Reperfüzyon hasarı KBB'nin iki aşamalı açılmasına neden olur. Erken açılma, MMP-2'nin aktivasyonu ile reperfüzyonun başlangıcından birkaç saat sonra gerçekleşir. Bu ilk aşama geçici ve geri döndürülebilir. 24 ve 72 saat sonra inflamatuvar yanıt MMP-3 ve MMP-9 indüklenmesine neden olarak damarlarda geri dönüşsüz hasar bırakır (Yang ve ark 2011).

1.4. İskemi/reperfüzyon Hasarında Okludin, Klaudin, β-aktin ve MMP'lerin Rolü

1.4.1. MMP-3 ve MMP-9'un I/R Hasarındaki Rolü

Çinko bağlayıcı proteolitik enzim ailesinden olan MMP türlerinden MMP-9, merkezi sinir sisteminde sıkı bağlantı proteinlerini parçalayarak KBB'nin bozulmasına neden olur (Yang ve ark 2007). Serebral iskemi sonrası MMP-9 ekspresyonu artar ve KBB hasarı oluşmasında rol alır (Kamada ve ark 2007).

Pro-MMP-9 aktif forma MMP-3 varlığında döner (Yang ve Rosenberg 2015). Beyinde aktif MMP'lerden biri olan MMP-3 artışıyla KBB hasarı oluşur ve periferdeki inflamatuvar sitokinlerin beyin hücrelerine geçmesiyle bu durum nöroinflamasyon ve nöronal ölüm ile sonuçlanır (Zhao ve ark 2006).

Sıçanlarda serebrovasküler düz kas hücrelerinde I/R'den sonra MMP-9 ekspresyonunun arttığı görülmüştür (Maddahi ve ark 2009). Akut iskemik inmede artmış MMP-9 seviyelerinin mortalite ve majör sakatlık riskiyle ilişkili olduğu da düşünülmektedir (Zhong ve ark 2017). MMP-9 seviyeleri beyin ödemi ve hemorajik dönüşümle ilişkili bulunmuştur (Wang ve ark 2020). İskemi sonrası hemorajik kanama riski olan hastaları ayırt etmek için MMP-9 değerlerini test etmek yararlı olabilir (Wang ve ark 2018).

I/R sonucu salınımı artan sitokinlerden TNF- α ve IL-1'in matris metalloproteinazları tetiklediği ve seviyelerinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Kimura-Ohba ve Yang 2016, Qiu ve ark 2021).

Akut iskemide rt-PA uygulaması ve LOX-1/MMP-9 inhibisyonunun inme üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; 12 ve 24 saatlik reperfüzyon sırasında çeşitli inflamasyon belirteçlerinin arttığı ve kan bariyer bütünlüğü belirteçlerinin mRNA seviyelerinin ise azaldığı bildirilmiştir. MMP-9 seviyelerinde de artış olduğu belirtilmiştir. Beyin mikrovasküler endotel hücrelerinde LOX-1/MMP-9 inhibisyonunun MMP-9 seviyelerini, inflamasyonu ve MMP-9 aktivasyonunu azalttığını rt-PA tedavisiyle nörolojik fonksiyonda olumlu bir etki sağlayarak iskemik inmenin olumsuz etkilerini hafiflettiği gözlemlenmiştir (Arkelius ve ark 2024).

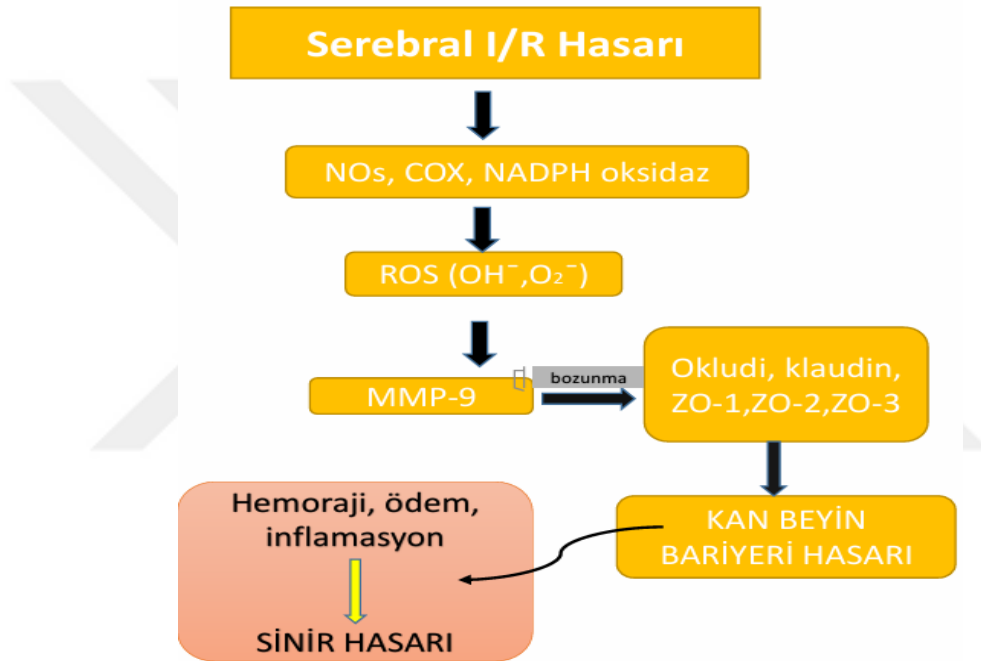
Ayrıca sıçanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada sonuçlar MMP-2 ve MMP-9 aktivitesinin I/R hasarıyla önemli bir şekilde arttığını gösterdi. İskemi ve histon deasetilaz 1 (HDAC1) ilişkisinin incelendiğinde, HDAC1 disfoksasyonunun iskemi sonrası ROS seviyelerini arttırarak MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerini daha da arttırdığı bildirilmiştir (Wang ve ark 2023).

1.4.2. Okludin ve Klaudinin I/R Hasarındaki Rolü

I/R hasarı sonucu salınan sitokinler kan beyin bariyer bütünlüğünü sağlayan okludin, klaudin ve ZO-1 gibi sıkı bağlantı proteinlerine zarar vererek geçirgenliği arttırabildiği rapor edilmiştir (Han ve ark 2019).

102 erkek Sprague Dawley sıçanı kullanılan bir çalışmada iskemik sıçanlarda toplanan beyin dokusunda ZO-1 ve okludin seviyelerinde azalma görüldü ve I/R'nin kan beyin bariyerine zarar verdiği gözlemlendi. Çalışmada amaç iskemi ve histon deasetilaz 1 (HDAC1) ilişkisinin incelenmesiydi. HDAC1 disfoksasyonunun iskemi sonrası ZO-1 ve okludin gibi sıkı bağlantı proteinlerinin yıkımıyla KBB hasarını arttırabileceği sonuçlarına ulaşılmıştır (Wang ve ark 2023).

Transmembran proteini ve ilk izole edilen zar proteini olan okludin, endotel hücre sıkı bağlantı proteinlerinin önemli bir bileşenidir. KBB geçirgenliğinin korunmasında rol alır (Feldman ve ark 2005).



Şekil 1.5. Serebral iskemide kan beyin bariyer bütünlüğünün bozulması (Liu ve ark 2021).

1.4.3. β -aktin

Hücrelerde küresel monomer yapıda ve filamentli polimerizasyon yapısında bulunan β aktin ökaryotik hücrede yaygın ve bol bulunan bir proteindir. β aktinin 2 formu vardır. G-aktin ve F-aktin. Hücre dışı formları da mevcuttur. (Hücre dışı matriste, vücut sıvısında serbest şekilde bulunma ve hücre zarının dış yüzeyiyle bağlantı kurma) (Sudakov ve ark 2017). Aktinin hücre dışı ortamlarda bulunması hücre yıkımı ya da aktif aktin üretimi nedeniyle olabilir (Kaczmarek ve ark 2013).

İnme riski belirteci olarak β aktin incelendiğinde; akut serebral enfarktüs grubunda β aktin seviyelerinin akut olmayan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Zhang ve ark 2016). β aktinin serebral iskemi sürecinde artışının nereden kaynaklandığı net değildir.

Sıçanlarda yapılan çalışmada, 2 saatlik fokal serebral iskemi izleyen 24 saatte β -aktinin parçalandığı tespit edilmiştir (Ye ve ark 2018). Hipoksik iskemi sonucu prematüre sıçanlarda beyaz cevherdeki F-aktinin membrandaki içeriği azalmış ve plazma konsantrasyonu artmıştır (Li ve ark 2007).



Şekil 1.6. İskemi sonucu oksidatif stres, kalsiyum birikimi ve aktin oksidasyonu sonucu β -aktin filamentleri bozulur. Reperfüzyon evresinde sitoskeletal çökme, mitokondri hasarı ve apoptoz meydana gelir.

Aktin bağlayıcı protein olan drebrin, eksitotoksitenin neden olduğu beyin hasarı sonucu parçalanır (Chimura ve ark 2015). Drebrin konsantrasyonu dendritik dikenlerde aktin polimerizasyonunu değiştirerek sinaptik ileti üzerinde etkin rol oynar. In vivo ve in vitro çalışmalarda serebral iskemi durumunda da drebrin parçalanması gözlemlenmiştir (Simon ve ark 1984).

İskemi ve hipoksi durumunda aktin monomer halinden polimerizasyon haline dinamik olarak geçer. F-aktin çapraz bağlı bir kasılma demetidir ve aktin kasılmasına sebep olabilen, hücre morfolojik kasılmasına ve hasarlı bağlantı oluşumuna yol açabilen stres lifleri oluşturarak endotel bariyer geçirgenliğini artırır (Dudek ve Garcia 2001). F-aktin demeti endotel hücrelerin sıklığını ve

KBB'yi korumak için önemli olan sıkı bağlantı proteinlerini stabilize etmek için hücre-hücre sınırında bulunur (Alhadidi ve ark 2016).

Dejeneratif nöronlarda F-aktin azalması ve geçici agregasyonu yaygındır. Global serebral iskemili sıçanlarda reperfüzyon sonrası hipokampal CA1 nöronlarında F/G-aktin oranı azalmıştır ve F-aktindeki azalma iskemik hasarın ilerlemesiyle bağlantılı bulunmuştur (Guo ve ark 2019).

Kofilaktin çubukları (CAR), kofilin-1 ve aktinin 1:1 agregatlarıdır. İskemik koşullara maruz kalan nöronlarda CAR oluşumu gözlenmiştir. Kofilin-1 aşırı ekspresyonu kofilin-aktin çubuk oluşumunu başlatarak sinaptik yapı ve işlevi bozabilir ve CAR oluşumunu uyarabilir (Jang ve ark 2005). Oksijen-glikoz yoksunluğu sonucu oluşan iskemide ATP tükenmesinin CAR oluşumu için gerekli olmadığı anlaşılmıştır. Oksijen-glikoz yoksunluğu sonucu oluşan CAR, hem glutamat reseptör antagonistleri hem de NADPH oksidaz inhibitörleri tarafından engellenmiştir. Bu yol oksijen-glikoz yoksunluğunda iskemide CAR oluşumunun biyokimyasal yolağını açıklar. İskemik inmede CAR'lar nörit kaybına neden olur (Mai ve ark 2024).

Hipokampal CA1 alt bölgesinde sıçanlarda iskemiden dolayı filamentöz F-aktinin azaldığı ve yine CA1 bölgesinde F-aktin/G-aktin oranında belirgin bir azalma mevcuttur. F-aktin hasarı iskeminin gelişimiyle eş zamanlı olarak ilerler (Zhang ve ark 2022).

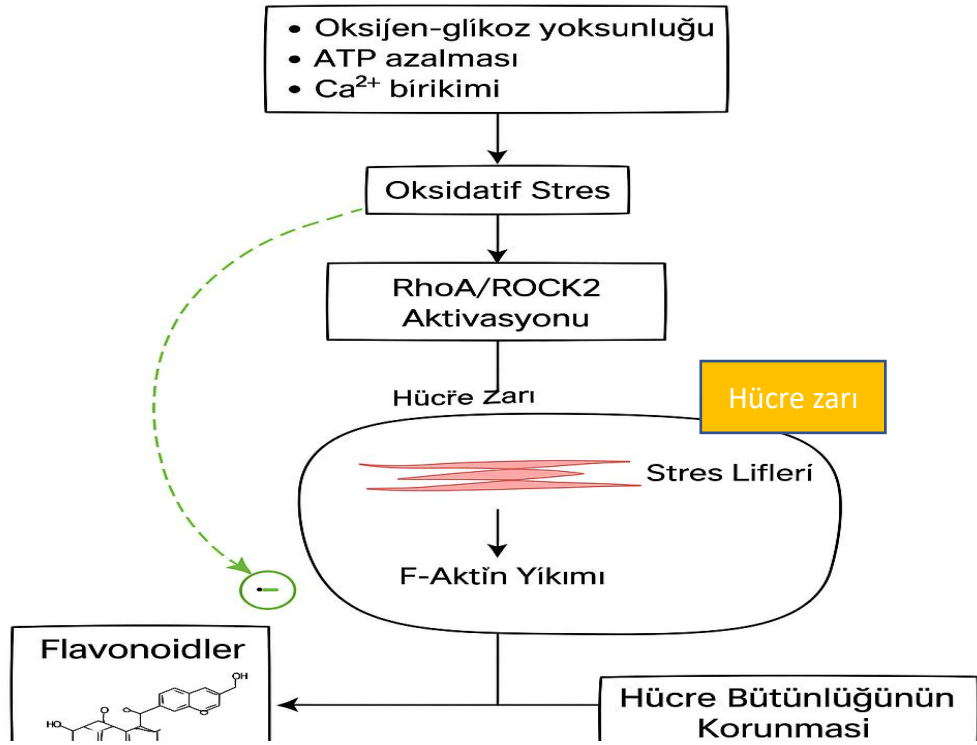
Aktin-spesifik bir metiltransferaz olan SET domain protein 3 (SETD3), serebral I/R hasarı sonucu sıçan nöronlarında azaldığı tespit edilmiştir. SETD3 baskılanması I/R kaynaklı nöronal ölümü arttırmaktadır. SETD3 düzeylerindeki düşüş ve aktin polimerizasyonunun artmasının iskemik nöronal ölüme karşı koruma sağladığı rapor edilmiştir (Xu ve ark 2021).

1.5. Sitoskeletal Koruma

İskemik koşullarda oksijen ve glikoz eksikliği nedeniyle ATP'nin azalması, hücre içi kalsiyum birikimi ve oksidatif stres gibi faktörler aktin filamentlerinin yapısal bütünlüğünü bozmakta ve bu durum hücre morfolojisinde ciddi sorunlara neden olmaktadır. Aktin hücre iskeletinin en önemli bileşenlerinden biri olup G-aktin (monomer) ve F- aktin (filamentöz) formlarda bulunur. Fizyolojik koşullarda bu ikisi arasında sürekli bir denge mevcuttur. Ancak iskemi sırasında bu denge

bozulmakta olup F-aktin miktarında azalma görülmektedir. Sonuç itibariyle endotel hücrelerde stres lifleri oluşur, hücreler arasındaki bağlantılar zayıflar ve KBB geçirgenliği artar (Dudek ve Garcia 2001, Li ve ark 2023).

Literatürde flavonoidlerin, sitoskeletal yapı üzerinde doğrudan etkileri olduğu; RhoA/ROCK2 sinyal yolunu baskılayarak aktin filamentlerinin dağılmasını engellediği ve hücre bariyer işlevini desteklediği bildirilmiştir (Ning ve ark 2024).



Şekil 1.7. Flavonoidlerin iskemide sitoskeletal koruma mekanizması. Flavonoidler RhoA/ROCK2 yolunu baskılayarak aktin filament stabilitesini korur (Ning ve ark 2024).

1.6. Flavonoidler

Fito-besin elemanları olarak tanımlanan meyve ve sebzelerde farklı renklerde bulunan 8000'den fazla çeşidi tanımlanan flavonoidler ya da diğer adıyla biyoflavonoidlerin sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. Anti-inflamatuar özellikleri sayesinde bağışıklık sisteminde antioksidan olarak fayda sağlamaktadırlar (Grimble 1994, Jeena ve ark 2013).

Antioksidan sistemler, mitokondri içinde serbestlenen ROS'lara karşı hücreyi korur. Antioksidan mekanizmanın çalışma sistemindeki bir aksaklık

dokularda dejenerasyonu arttırarak sağlığı bozan bir hasar oluşturur. Yapılan birçok çalışma flavonoidlerin antioksidan mekanizmayı desteklediğini göstermektedir. Mast hücrelerine karşı antiinflamatuvar etki eden kuarsetin (Bell ve ark 2015), kalp kası ve mitokondriyal zarlarda bulunan lipit bileşenlerini koruyan koenzim Q10, ‘evrensel antioksidan’ lipoik asit, C ve E vitaminini destekleyen ayrıca antioksidanlar içerisinde önemli bir rolü olan glutatyon flavonoidlere örnek gösterilebilir. Sinerjistik bir çalışmayla ROS etkisini bloke eden antioksidan mekanizmaya doğal besinlerde ve takviyelerde bulunan flavonoidlerin destekleyici etkisi bulunmaktadır (L.Kathleen Mahan 2019). Flavonoidlerin MSS ve MSS türev hücrelerini koruduğuna dair kanıtlar mevcuttur (Youdim ve ark 2002). İnsan beyninin endotel hücreleri, sıçan (b.END5) ve farelerin (RBE4) beyin endotel hücre bölgelerinde bazı flavonoidlerin kan beyin bariyerini geçtikleri yine flavonoidlerin endotel KBB ile pozitif etkileşime girdiği bildirilmiştir (Youdim ve ark 2003).

Narda bulunan bir flavonoid olan fisetin, hücresel mekanizma sistemi olan Nrf2-ARE yolunu etkinleştirerek ROS seviyelerini azaltıp antioksidan enzim seviyelerini arttırarak oksidatif stres üzerinde olumlu etki göstermiştir. Sıçan kullanılarak yapılan bu çalışma polifenollerin iskemi sonrası nöroplastisiteyi ve iyileşmeyi destekleyebileceği fikrini gclendirmiştir (Zheng ve ark 2008).

1.6.1. Flavonoidlerin Beyne Ulaşma Aşamaları

Bağırsak emilimi

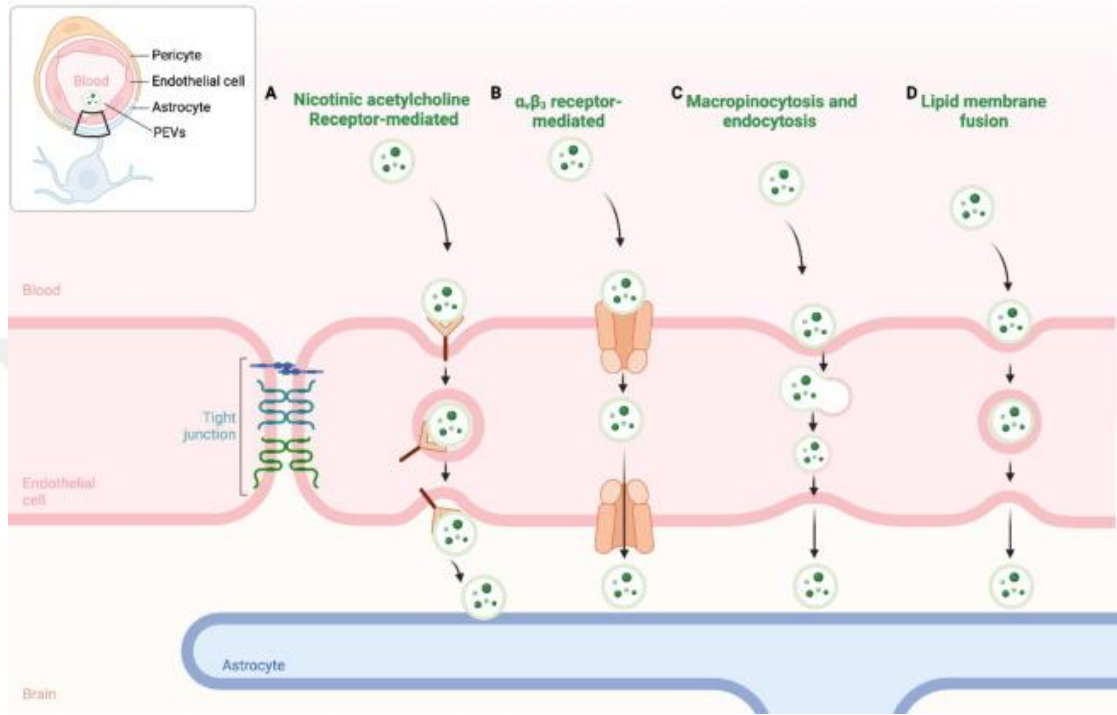
Flavonoid emiliminin ilk safhaları bağırsakta gerçekleşir. Sindirim sırasında enzimatik reaksiyonlar sonucu flavonoidler genelde glukuronidasyon, sülfatasyon veya metilasyon gibi yollarda metabolize olur (Scalbert ve Williamson 2000).

Kan dolaşımına geçiş

Flavonoidler portal dolaşıma geçerek karaciğere ulaşır. Karaciğerde suda çözünür hale gelerek metabolize edilmiş formları kan dolaşımı yoluyla taşınır (Manach ve ark 2004).

Kan beyin bariyeri

Kan beyin bariyeri her maddenin geçişine izin vermez. Flavonoidlerin bazı metabolitleri aktif taşıyıcı proteinler veya pasif difüzyon yoluyla kan beyin bariyerinden geçebilir (Youdim ve ark 2003).



Şekil 1.8. KBB'den geçen flavonoid gruplarından örnek geçiş yolları. Reseptör aracılı endositoz, lipid membran füzyonu, makropinositoz, endositoz yolları (Yu ve ark 2025).

Beyinde taşınma

Bariyeri aştıktan sonra flavonoidler genelde sinir hücreleri, astrositler ve mikroglia gibi hücreler tarafından alınır. Burada antioksidan, antiinflamatuvar ve nöroprotektif etkiler gösterirler. Aynı zamanda beyin hücrelerindeki sinyal yollarını düzenleyerek nörotransmitter üretimine katkı sağlarlar (Spencer 2009).

Nöroprotektif etkiler

Flavonoidler beyinde oksidatif stresi azaltır, inflamasyonu baskılar ve sinir hücrelerinin yaşamasını destekler. Öğrenme, hafıza ve bilişsel fonksiyonları geliştirdiği ortaya çıkan çalışmalar da mevcuttur (Williams ve Spencer 2012).

1.6.2. Flavonoidler ve I/R

Flavonoid fisetinin I/R hasarı üzerindeki etkileri incelenmek için farelerle yapılan çalışmada sonuçlar umut vericidir. Fisetin I/R sonucu oluşmuş protein hasarını hafifletmiş ve MCAO/R ve oksijen-glikoz yoksunluğunun neden olduğu ubikitinlenmiş protein agregasyonu ve nöronal ölümü önlemiştir. Ubqln1 beyin dokularında proteastazı arttırarak I/R hasarının azalmasına katkı sağlar (Gu ve ark 2024).

Bir flavonoid olan morinin fokal iskemi üzerindeki etkisini araştıran çalışmada; morin tedavisinin serebral iskemi üzerinde olumlu etkileri gözlemlendi. Antioksidan seviyelerinin yükseldiği, proinflamatuvar sitokinlerin mRNA ekspresyonunun azaldığı, apoptoz ve inflamasyonun baskılandığı bildirilmiştir. Ayrıca sıçanlarda iskemi sonrası hipokampus ve kortikal alanlarda aşırı serbest radikal oluşumundan dolayı motor aktivite ve fleksiyon testlerinde azalma görülmüştür. Morin uygulaması nörolojik hasarları hafifleterek motor aktiviteyi önemli ölçüde düzelttiği gözlemlenmiştir (Chen ve ark 2017).

Tablo 1.1. Bazı flavonoidlerin I/R hasarına etkileri.

Flavonoid	Etki Mekanizması	Hedef MMP	İskemide Etkisi	Kaynak
Quercetin	Antioksidan, NF- κ B inhibisyonu	MMP-9 ↓	Nöronal hasarı ve ödemi azaltır.	(Lee ve ark 2011).
Kaempferol	Caspase-3/9 aktivasyonu, anti-inflamatuvar	MMP-9 ↓	Apoptoz baskılanır, koruyucudur.	(Choi ve Ahn 2008).
Fisetin	ROS/MAPK yolu baskısı	MMP-3 ↓, MMP-1 ↓	UV ve inflamasyon kaynaklı hasarı azaltır.	(Jang ve ark 2023).
Sudachitin	Anti-inflamatuvar, mikrogliayı inhibe eder	Belirtilmemiş	Beyin infarktını azaltır.	(Ota-Elliott ve ark 2024).

Shuangshen Ningxin formülü geleneksel Çin tıbbında miyokardiyal I/R hasarının tedavisinde kullanılmaktadır. 45 dakikalık iskemi ve 24 saatlik reperfüzyon sağlanan sıçanlara 7 gün SSNX uygulanmıştır. SSNX'in mitokondriyal membran hasarını azaltabileceği, mitokondriyal apoptozu inhibe

ettiği, endotel fonksiyonu koruduğu ve I/R hasarını hafifletebileceği çalışmada gözlemlenen sonuçlardandır (Liu ve ark 2024). Serebral I/R'li sıçanlara kaempferol tedavisi yapılmıştır. Tedavi sonucu serebral enfarktüs hacminin azaldığı, iskemi sonrası inflamasyon ve KBB hasarının hafiflediği görülmüştür. Ayrıca transkripsiyon faktörü NF-κB, p65 fosforilasyonu ve transpozisyonunu azaltarak pro-inflamatuar proteinlerin ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Li ve ark 2019). Prosiyadin B2 serebral iskemili sıçanlarda nörolojik bozuklukları ve KBB hasarını hafifletir (Wu ve ark 2015). İzosakuranetin I/R durumunda kan beyin bariyeri hasarındaki etkisi incelendiğinde, kullanılan Evan Blue sızıntısının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Janyou ve ark 2024). Erkek Wistar sıçanlarının kullanıldığı bir çalışmada sıçanlar sham ve iskemik olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Fokal beyin iskemisi için karotis arterlerde 60 dakika boyunca kan akımı durdurulmuştur. İskemiye takiben 2 hafta boyunca sıçanlara 1-2 ml/kg dozlarında Kombucha çayı gavaj yoluyla uygulanmıştır. Kombucha çayında bulunan bitkiler fenolik bileşikler oluşturmaktadır. Çalışmanın sonucunda; beyin ödemi ve enfarktüs hacminin belirgin derece azaldığı ayrıca kan ve beyin malondialdehit (MDA) seviyelerinin de azaldığı gözlemlenmiştir. Bu uygulamanın motor engelleri iyileştirdiği, periferik kandaki nötrofil sayısının azalttığını bildirildi (Mesgari-Abbasi ve ark 2024).

İskemi sonrası 6- gingerol ile tedavi edilen sıçanlarda korteks ve hipokampüsteki enfarktüs hacminin azaldığı gözlemlenmiştir. Tedavi olmaksızın beyin iskemisi korteks ve hipokampüsün alt bölgelerinin tümünde nöronal hasara neden olmuştur (Kongsui ve Jittiwat 2023).

Seksen dört yetişkin Sprague- Dawley sıçanının kullanıldığı bu çalışmanın amacı, bir flavonoid olan quercetin günlük takviyesi ve kombine egzersiz eğitimiyle iskemik sıçan beyinlerinde fonksiyonel bir iyileşmenin sağlanıp sağlanamayacağını belirlemesiydi. Sıçanlar dinlenme kontrollü orta serebral arter oklüzyonu (MCAO), quercetin tedavili MCAO, egzersiz eğitimi MCAO ve egzersiz eğitimi ile beraber quercetin tedavili MCAO şeklinde gruplara ayrılmıştır. Egzersiz eğitimi ve quercetin ile tedavinin; oksidatif stresi ve enfarktüs hacmini önemli ölçüde azalttığı, antioksidatif ve antiapoptotik sinyalleşmeyi arttırdığı ve motor fonksiyonu iyileştirdiği bulguları elde edilmiştir. Quercetin, antioksidatif ve antiapoptotik sinyalleşmeyi arttırmak için PI3/Akt aktivitesinin yukarı regüle

olmasıyla beyin iskemisinden sonra egzersiz aracılı fonksiyonel iyileşmeyi arttırmıştır (Chang ve ark 2014).

Glycyrrhiza uralensis 'in bileşeni isoliquiritigenin (ISL) bir flavonoiddir. ISL anti-inflamatuar, antioksidan, anti-apoptik etkiler gösterir (Peng ve ark 2015). Bu etkileri göz önüne alınarak ISL'nin I/R üzerindeki etkilerin incelemek amacıyla fareler üzerinde gerçekleştirilen çalışmada; ISL oksidatif stresi azaltmış, mitokondriyal disfonksiyonu iyileştirmiştir. Nrf2 yolunun aktivasyonu ve mitokondriyal işlevin geri kazandırarak nöronal apoptozu önlediği bildirilmiştir (Lan ve ark 2024). Kuvvetli nöroprotektif etkilere sahip bir flavonoid Chrysin MCAO model sıçanlarda, serebral I/R hasarında ferroptozu, HIF-1 α /CP döngüsünü hafifletmiştir. Bu mekanizma hipoksiye bağlı faktör 1 α ve seruloplazmin (CP), oksidasyon reaksiyonları ve demirin taşınması için kritiktir. HIF-1 α ekspresyonunun artması serebral I/R hasarını ağırlaştırmaktadır (Shang ve ark 2024).

Flavonoid türü olan formononetin, I/R hasarı olan sıçanlarda beyin dokusundaki disfonksiyonu ve patolojik sorunları hafifletebileceği, apoptoz alanını azaltabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca PARP-1/PARG/Iduna sinyal yolağını düzenleyerek I/R hasarını iyileştirmiştir (Luo ve ark 2024). PARP-1'nin I/R hasarında artmış olduğu ve formononetinin bu proteini PARP1 inhibitörü ile azalttığı görülmüştür. Iduna'nın ise I/R hasarını PARP-1'den farklı olarak hafifletebileceği keşfedilmiştir (Xu ve ark 2019).

1.6.3. Flavonoidlerin I/R Hasarında MMP-3 ve MMP-9'a Etkisi

Flavonoid alt grubundan olan soya izoflavonlarının iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarının serebral korteksteki etkisinin araştırıldığı 120 fare üzerinde yapılan çalışma sonucunda iskemi nedeniyle matrix metalloprotein 9 (MMP-9) ekspresyonu artmıştır. Çalışmada soya izoflavon grubundaki nörolojik eksiklik skorunun iskemi/reperfüzyon grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür. Soya izoflavonları, MMP-9 ekspresyonunu inhibe etmiştir (Li ve ark 2023).

Flavonoid alt grubundan olan kalikozin-7-O- β -D-glukozidi (CG) izoflavon tedavisi uygulanan sıçanlarda CG, in vitro beyin mikrovasküler endotel hücreleri ve in vivo MCAO I/R sıçan modelinde enfarktüs hacmini, histolojik hasarı ve kan

beyin bariyeri geçirgenliğini önemli derecede azaltmıştır. MMP'lerin (MMP-2 ve MMP-9) ekspresyonunu ve aktivitelerini belirgin şekilde inhibe etmiştir (Fu ve ark 2014).

Carthamus tinctorius L. (CTL) olarak adlandırılan aspir bitkisinin flavonoidlerinin MCAO'lu sıçanlarda MMP'ler ve I/R'de apoptoz üzerindeki etkilerini araştıran çalışmada, TIMP1'in (metaloproteinaz 1'in doku inhibitörü) hayvan I/R modelinde azaldığı görülürken CTL bunu arttırmıştır. MMP'lerin CTL tarafından regülasyonunun, TIMP1'in aşağı regülasyonu ile negatif ilişkili olabileceği iddia edilmiştir. Sonuçlar CTL'nin MMP'leri düzenleyip apoptozu bloke ederek I/R hasarı üzerinde faydalı etkileri olabileceğini düşündürmektedir (Chang ve ark 2020).

Sprague-Dawley sıçanları üzerinde *R. Laevigata Michx* meyvesindeki flavonoid bakımından zengin ekstraktın (FRE) serebral I/R hasarına karşı koruyucu etkileri araştırıldı. FRE'nin ağız yoluyla uygulanması sonucunda hayatta kalma prevelansı artmış, I/R'nin vermiş olduğu hasar hafiflemiştir. Ayrıca hasarı destekleyen MMP-9 ve diğer etken değerleri de azalma göstermiştir (Zhang ve ark 2013).

Bir tür flavonoid olan baicalinin serebral iskemi felcinde gecikmiş t-PA (doku plazminojen aktivatörü) tedavisiyle hemorajik transformasyonu (HT) zayıflatabileceği düşünülmüş ve erkek Sprague-Dawley sıçanları üzerinde test edilmiştir. Baicalin ile ölüm oranları önemli derecede azalmış, t-PA aracılı kan beyin bariyer bozulması ve HT'nin iyileştiği görülmüştür. Bunun yanında baicalin MMP-9 ekspresyonunu ve aktivitesini inhibe etmiştir (Chen ve ark 2018).

E. breviscapus enjeksiyonunun, flavonoidlerinin ve kafeoil bileşenlerinin MCAO sıçanlar üzerinde etkisi araştırılmıştır. *E. breviscapus* enjeksiyonu, flavonoid ve kahve asidi bileşikleri içermektedir. Çalışma sonucunda iskemik beyin dokusunda MMP-9 ekspresyonunun azaldığı gözlemlendi (Liu ve ark 2021). Sprague-Dawley sıçanlarıyla yapılan bir çalışmada bir tür flavonoid olan Pinocembrin (PCB) sıçanlara ön tedavi olarak uygulanmıştır. Beyin ödemi ve enfarktüs iyi derecede azalmıştır. 6 saatlik iskemiye takiben davranış sonuçları iyileşme göstermiştir. MMP-9 ve MMP-2 aktivasyonlarını engellemiştir (Ma ve ark 2018).

Herba Epimedii'den türetilen bir flavonoid olan inside II (ICS II) tedavisi sıçanlarda, I/R sonrasında kan beyin bariyer bozulmasını önemli derecede azalttığı, MMP2/9 ekspresyonunu ve aktivitesini azaltıp TIMP1 ekspresyonunu da arttırdığı sonuçlarına ulaşılmıştır (Liu ve ark 2020). Morin'in iskemili sıçanlarda MMP-9 ekspresyonunu baskıladığı görülmüştür (Khamchai ve ark 2020). YangXueQingNaoWan (YXQNW) ilacı 11 Çin bitkisinden oluşan bir karışımdır. Farelere iskemi sonrası tPA ve YXQNW (0,72 g/kg) uygulandı. Uygulanan bu ilaçların makrofajlardan MMP-9 salınımını baskıladığı bildirilmiştir (Yao ve ark 2024).

Trilobatin (TLB), *Lithocarpus polystachyus Rehd* yapraklarından izole edilen bir flavonoid bileşiktir. Bu çalışmada TLB'nin KBB üzerindeki koruyucu etkilerinin MMP9'un aşırı ekspresyonuyla ortadan kalktığı, MMP9'un baskılanmasıyla KBB üzerindeki yararlı etkilerinin güçlendiği sonucuna ulaşılmıştır (Feng ve ark 2024).

Luteolin-7-O- β -D-glukuronid (LGU) flavonoid özellikli ana aktif monomer bileşiktir. LGU, iskemik sıçanlarda artmış MMP-9 ekspresyonunu önemli ölçüde iyileştirerek azaltmıştır (Fan ve ark 2024). *Erigeron breviscapus Hand-Mazz* bitkisinden elde edilen bir flavonoid olan Scutellar (Scu) tarafından uyarılan mitofajinin MMP kaybını ve aşırı mito-ROS üretimini sınırlayabileceği ve bunun oksidasyon/antioksidan sisteminin dengesini korumada yararlı olduğu gösterilmiştir. Scu'nun ATP üretimini ve Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesini artırma etkileri, mitofaji indüksiyonu ile ilişkili bulunmuştur (Yang ve ark 2024).

Geleneksel Çin tıbbi *epimedium*'un aktif bileşiği olan Icaritin (ICA), in vivo metabolizmaya uğrayarak Icaritin'i üretmektedir. ICT akur serebral I/R durumlarında ICA'ya göre nörolojik hasarı daha etkili azaltır (Wu ve ark 2021). Yapılan deneylerde ICT ön koruması mPTP'nin açılmasını ve I/R hasarıyla artan MMP artışını önemli oranda engeller (Zhou ve ark 2024). mPTP, iç mitokondriyel zarda bulunan ve patolojik koşullarda birikmiş ROS'u serbest bırakan voltaj bağımlı bir anyon kanalıdır (Zorov ve ark 2014).

Vitexin, alıç bitkisinin kurutulmuş yapraklarından elde edilen biyoaktif flavonoid bileşiktir. İnsan beyin mikrovasküler endotel I/R hasar modelinde

Vitexin etkileri incelendiğinde MMP ekspresyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir (Cui ve ark 2019).

İskemik inme geçiren ve rt-PA tedavisi uygulanan hastalara hesperidin etkileri incelenmiştir. Semptomatik intraserebral hemoraji (SIH) insidansının artması, rt-PA'nın etkisini önemli ölçüde engellemektedir. Hesperidinin 7 günlük tedavisiyle inme hastalarının iyileşme seviyeleri artmıştır. Hesperidin takviyesi ile SIH'yi azaltarak rt-PA tedavisinin etkinliğini arttırmıştır. Ayrıca MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinde azalmayı teşvik etmiştir (Qin ve ark 2020).

rt-PA alan inme hastalarına elma, çilek, salatalık, hurma, soğan gibi besinlerde bulunan biyoaktif flavonoid olan fisetin tedavisi sonucu MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinde belirgin olarak azalmıştır (Wang ve ark 2019). Baicalinin gecikmeli t-PA tedavisiyle iskemik beyinlerde MMP-9 ekspresyonunu ve aktivitesini engellediği gösterilmiştir (Chen ve ark 2018). Kalikozin ve glikozit formu olan kalikosin-7-O- β -D-glukozit (CG) bir izoflavondur. MCAO I/R sıçan modellerinde CG tedavisi MMP'lerin ekspresyonunu ve aktivitelerini önemli ölçüde engellemiştir (Fu ve ark 2014). Rosa laevigata MICHX meyvesinden elde edilen flavonoid özellikli özüt (FRE), serebral I/R hasarında MMP-9 ekspresyonunu azalttığı belirlenmiştir (Zhang ve ark 2013). Nobiletin antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle bilinir. Nobiletin (NOB) I/R'li sıçanlarda MMP-9 seviyelerini azaltmıştır (Zhang ve ark 2016).

Fokal iskemi uygulanan sıçanlarda quersetin tedavisi, MMP-9 aktivitesi üzerinde inhibitör etki göstermiştir böylece iskemi sırasında oluşan KBB hasarı hafiflemiştir (Lee ve ark 2011). Rutin flavonoid bir glikozittir. Rutin ile tedavi edilen iskemik sıçanlarda MMP-9 ekspresyonu iskemik kontrol grubuna göre önemli derecede azalmıştır (Jang ve ark 2014). Yeşilçay polifenolü epigallocateşin gallat (EGCG) iskemi sonrası farelere uygulanmıştır. İskemi nedeniyle ekspresyonu artan MMP-9, EGCG uygulamasıyla azalmıştır (Park ve ark 2010).

MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinin değerlendirildiği ve EGCG uygulanan tüm hastalarda hem MMP'ler hem de Ulusal Sağlık Enstitüleri inme ölçeği skorları arasında güçlü bir korelasyon bulunmuştur. Bu sonuç MMP-2 ve MMP-9'un plazma seviyelerinin azalmasına atfedilmiştir (Wang ve You 2017). Kuersetin uygulanan iskemik farelerde beyinde MMP-9'un yükselmesi azalmıştır (Cho ve ark

2006). Eş zamanlı rt-PA tedavisi ve EGCG uygulanan I/R'li sıçan modellerinde; EGCG rt-PA'nın yan etkilerini hafifletmiş ve MMP'lerin ekspresyonunu aşağı doğru düzenlemiştir (You 2016).

Polifenollerin in vivo ve in vitro post-iskemi neovaskülerizasyon üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yüksek dozda (yaklaşık 7 bardak) kırmızı şarap polifenolik bileşikleri (RWPC) ile tedavi edilen sıçanlar, sol bacakta femoral arter ligatürüne maruz kalmıştır. İki hafta sonra sıçanlarda daha düşük MMP aktivasyonu belirlenmiştir (Baron-Menguy ve ark 2007). Çin bitkisi *Ophiopogon japonicus*'un aktif homoizoflavonoidinin (MO-A) I/R üzerindeki etkileri incelenmek istenmiştir. Sıçan modelleri kullanılan çalışmada, MO-A'nın MMP-9'u baskıladığı gözlemlenmiştir (Lin ve ark 2015). Başka bir çalışmada deneysel iskemik inmede naringenin sıçanlarda MMP-9 ekspresyonunu aşağı düzenlemiştir (Bai ve ark 2014).

1.6.4. Flavonoidlerin I/R Hasarında β -aktin Üzerindeki Etkisi

ROCK2 ekspresyonundaki belirgin bir artışın, serebral iskeminin sebep olduğu nörolojik hasardaki etkisinden yola çıkılarak farelerde Huyou flavonoidlerinin etkisi primer hipokampal nöronlar üzerinde incelenmiştir. Çalışmada yüksek doz flavonoidlerin en iyi etkiyi göstermedikleri ancak yüksek ve orta dozun küçük dozlardan daha etkili olduğu fark edilmiştir. Bu durum flavonoidlerin birden fazla bileşen içermesi ve zayıf asit karakterli olmasıyla açıklanabilir. RhoA-Rock2 sinyal yolunun anormalliği F-aktin depolimerizasyonunu azaltıp hücrel hipoksi ve glikoz yoksunluğunun sebep olduğu hücre iskeleti hasarını engeller. Sonuçlar Huyou flavonoidlerinin serebral iskeminin önlenmesi ve tedavi seçeneği olabileceğine işaret etmektedir (Zheng ve ark 2023).

Oksijen-glikoz yoksunluğunda farelerin nöronlarının nöritlerinde kısılma ve kırılma olmuştur. *Citrus paradise cv. Changshan-huyou* özütlerinden elde edilen flavonoid olan TFC tedavisi, farelerde nörit hasarını tersine çevirmiştir. Ayrıca sahte operasyon grubuna göre tedavi uygulanan model grubunda (ki model grubundaki orta doz uygulanan grup, iyileşmenin en belirgin olduğu gruptur) kofilin fosforilasyonu azalmış ve G-aktin/F-aktin oranı önemli derecede artmıştır (Zheng ve ark 2023).

YQFM, geleneksel Çin tıbbında kullanılan 3 bitkiden oluşan bir reçetedir. YQFM bileşenlerinin kas dışı miyozin ağır zincir kinaz IIA'yi etkilediği bulunmuştur. Sıçan feokromositoma hücreleri nöronları taklit etmek için kullanılmıştır. İskemik farelere uygulanan YFQM kas dışı miyozin ağır zincir kinaz IIA aracılı ATG9A yolağını düzenleyerek beyin I/R hasarını hafifletmiştir (Su ve ark 2022).

Penumbra bölgesindeki apoptoz I/R hasarının erken döneminde oluşan hücre ölüm mekanizmasıdır. *Alpinia oxyphylla Miq*'in (AOM) MCAO'dan 3 gün sonra mitokondriyle ilişkili apoptozun nasıl etkilendiği araştırılmıştır. *Alpinia oxyphylla Miq* flavonoid bileşikleri içeren bir bitkidir. Sıçanlarla yapılan çalışma sonucunda peri-infarkt kortekste apoptotik hücre ölümünde önemli iyileşmeler görülmüştür. Reperfüzyondan 3 gün sonra sitokrom C'de azalma tespit edilmiştir. Katepsin B/aktin, sitokrom C/aktin, kazpaz-3/aktin, mitokondriyal p53/HSP60 ve Bax/HSP60 bölümlerinde azalma gözlemlenmiştir (Tsai ve ark 2022). *Lithocarpus polstachyus Rehd.* Bitkisinin ana bileşeni trilobatin (TLB) tedavisinin sıçanlarda MCAO kaynaklı kültür astrositlerde I/R hasarına karşı TLR4, Nrf2 ve Sirt3 yollarıyla nöroinflamatuvar ve oksidatif yanıtları düzenleyerek koruma sağladığı sonuçlarına ulaşılmıştır. Ayrıca sitoplazmik Nrf2 seviyesi sitoplazmik β -aktine normalize edilmiştir (Gao ve ark 2020). Aktif mikroglial hücreler, iskemik felçten sonra fazla miktarda inflamatuvar aracı salgılamaktadır. 108 Sprague-Dawley sıçanlarına Scutellarin enjeksiyonu sonucu I/R hasarında mikroglia aracılı nöroinflamasyonun hafiflediği gözlemlenmiştir. BV-2 mikroglia, scutellarin tedavisinden sonra ciddi morfolojik değişime uğramıştır. F-aktin etiketlemesi, aktin floresan yoğunluğunun artmasına neden olmuş ve BV-2 mikroglialının morfolojisini değiştirdiği gözlemlenmiştir (Yuan ve ark 2015).

Na-K-Cl eş taşıyıcısı (NKCC) hücrel homeostazında ve sonrasında hücre içi sıvı birikmesinde rol alan bir transmembran protein ailesidir (Haas ve Forbush III 2000). NKCC1 aktin siteskeletonu ile etkileşime girer ve NKCC1 baskılanmasıyla F-aktin de azalır (Schiapparelli ve ark 2017). Yaralı endotel hücrelerinde bulunan F-aktin stres lifleri KBB bütünlüğünün bozulmasında rol alır (Shi ve ark 2016). Hipoksik iskemik sıçanlarda vitexin kullanımının F-aktin stres lifi oluşumunda bir azalma sağladığı sonucuna varılmıştır (Luo ve ark 2018).

1.6.5. Flavonoidlerin I/R Hasarında Okludin ve Klaudin Proteinlerine Etkisi

Flavonoid alt grubundan olan soya izoflavonlarının serebral kortekste iskem/reperfüzyon (I/R) hasarı üzerindeki etkisinin araştırıldığı 120 fare üzerinde yapılan çalışma sonucunda iskemik grupta okludin ekspresyonu azalmıştır. Çalışmada soya izoflavon grubundaki nörolojik eksiklik skorunun iskem/reperfüzyon grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür. Soya izoflavonları okludin ekspresyonunu yukarı doğru regüle etmiştir. Bu sonuç soya izoflavonlarının I/R sonrasında nörolojik fonksiyonları iyileştirebileceğini düşündürmektedir (Li ve ark 2023).

Apium graveolens Linn, Çin kerevizi tohumlarından elde edilen DL-3-n-butylfitalid (NBP) bir çalışmada kronik serebral hipoperfüzyon sıçan modellerinde tedavi yöntemi olarak kullanılmıştır. Sonuçlar NBP'nin KBB hasarını doza bağlı olarak iyileştirebileceğini göstermiştir. NBP iskemik beyinde klaudin-5 ve ZO-1 ekspresyonunu arttırmıştır. Ayrıca sıkı bağlantıların (TJ) ultra yapısındaki değişikliği önlediği tespit edilmiştir (Wang ve ark 2016).

E. breviscapus enjeksiyonunun, flavonoidlerinin ve kafeoil bileşenlerinin MCAO sıçanlar üzerinde etkisi araştırılmıştır. *E. breviscapus* enjeksiyonu, flavonoid ve kahve asidi bileşikleri içermektedir. Çalışma sonucunda sıçanların iskemik beyin dokusunda klaudin-5 ekspresyonunun azaldığı gözlemlendi. Okludinin ekspresyon seviyesi de önemli derecede azalma göstermiştir. Kan beyin bariyer bütünlüğünü korumada fayda gösterdiği düşünülmektedir (Liu ve ark 2021).

Bir narenciye bitkisi olan Yuzu'nun ana bileşenlerinden olan Hesperidin (HSP), polifenollerin flavonoid grubunun bir üyesidir. Farelerle yapılan çalışmada HSP'nin antioksidan aktivitesiyle kludin-5 bozulmasını ve ZO-1 (zonula okludens-1) yeniden dağıtımını bloke ederek hipoksi sırasında kan bariyer bozukluğunu hafiflettiği sonuçlarına ulaşılmıştır (Lee ve ark 2020). Bu çalışma kan beyin bariyeri ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili tedavi yöntemlerine katkı açısından önemli çalışmalardandır.

Liquiritin (LQ) tıbbi bitki olan *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. Ex DC.'den elde edilen bir flavonoiddir. In vivo bir çalışmada LQ'nun iskemik I/R nedeniyle azalan ZO-1 ve klaudin-5 ekspresyonunu arttırabileceği ve KBB bütünlüğünü koruyabileceği yönünde olumlu izlenim uyandırmıştır (Li ve ark 2021). Coix'ten

elde edilen bir polifenolik bileşik olan *Coicis Semen* flavonoid bileşenleri de içermektedir. *Coicis Semen*'in fareler üzerinde iskemi kaynaklı potansiyel etkileri incelenmiştir. *Coicis Semen*, oksidatif stresi engelleyerek TGFβ1/ALK-1/SMAD1/5/8 sinyal yolunun aktivasyonu ile anjiogenezi tetikleyerek I/R'ye karşı koruma sağladığı gözlemlenmiştir. Bunun yanında MCAO farelerde ZO-1 ve okludin ekspresyonunu da arttırmıştır (Du ve ark 2021). Morin'in iskemili sıçanlarda sıkı bağlantı proteinlerinin (okludin, klaudin, ZO-1) degradasyonunu be KBB geçirgenliğini azalttığı görülmüştür (Khamchai ve ark 2020). Nomilin (NOM), turunçgil kaynaklı flavonoid bir limonoid bileşendir. NOM'un I/R hasarlı sıçanlardaki etkileri araştırılmıştır. NOM tedavisinin hücre ölümünü, laktat dehidrojenaz ve ROS salınımını azalttığı, MCAO sıçanlarda beyin ödemini, enfarktüs alanını ve nörolojik bozuklukları hafiflettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca NOM tedavisinin, MCAO sıçanlarda kan beyin bariyer hasarını hafifletmesi ZO-1 ve okludin-1 gibi sıkı bağlantı proteinlerinin kaybının hafiflemesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Shi ve ark 2019).

Juglanin, *Polygonum aviculare*'den elde edilen flavonoid bir glikozittir. Juglanin ile tedavi MCAO farelerinde nörolojik skoru düzelterek farelerde iskemi beyin hasarını azaltmış, ayrıca sıkı bağlantı protein transkripsiyonunda ve in vivo iskemi tarafından indüklenen ekspresyonda azalma gözlemlenmiştir (Liu ve ark 2020). Okludin ve ZO-1 ekspresyon düzeylerindeki değişiklikler kan beyin bariyer geçirgenliği için önemlidir. Bu çalışmada da flavonoid baicilinin sıkı bağlantılarda gösterdiği etkiye benzer etkiler görülmüştür (Zhu ve ark 2012). *Herba Epimedii*'den türetilen bir flavonoid olan inside II (ICS II) tedavisi sıçanlarda, I/R sonrasında kan beyin bariyer bozulmasını önemli derecede azalttığı, sıkı bağlantı proteinleri okludin ve ZO-1 ekspresyonunu da arttırdığı sonuçlarına ulaşılmıştır (Liu ve ark 2020). YangXueQingNaoWan (YXQNW) ilacı 11 Çin bitkisinden oluşan bir karışımdır. Farelere iskemi sonrası tPA ve YXQNW (0,72 g/kg) uygulandı. Uygulanan bu ilaçların sıkı bağlantı proteinlerinin (okludin, klaudin) azalmış ekspresyonunu ve dejenerasyonunu inhibe ederek KBB hasarını hafiflettiği bildirilmiştir (Yao ve ark 2024).

Sprague-Dawley sıçanlarıyla yapılan bir çalışmada bir tür flavonoid olan Pinocembrin (PCB) sıçanlara ön tedavi olarak uygulanmıştır. PCB çalışma sonucunda Okludin ve klaudin-5 bozulmalarını engellemiştir (Ma ve ark 2018).

Isorhamnetin flavonol bir aglikondur. Deneysel iskemik felç modeli farelerde isorhamnetin tedavisinin enfarktüs hacmini azalttığı, apoptozu baskıladığı ve nörolojik fonksiyon iyileşmesini desteklediği gözlemlenmiştir. Isorhamnetin tedavisi kan beyin bariyer geçirgenliğini azaltarak ödemi hafifletmiştir. Farelerde beyin iskemik hasara karşı korumuştur. Okludin, ZO-1 ve klaudin-5 dâhil sıkı bağlantı proteinlerinin gen ekspresyonunu yukarı doğru regüle etmiştir (Zhao ve ark 2016). Erkek Sprague Dawley sıçanlarına 120 dakika sutürlerle engellenen dolaşım sonrası tekrar reperfüzyon sağlanmıştır ve bu sıçanlar farklı gruplara ayrılarak *Panax Notoginseng*'den elde edilen saponin türü bir bileşik olan notoginsenoside (NG)'nin farklı dozlarda tedavisi uygulanmıştır. NG-R1(20 mg/kg) tedavisi KBB'yi için önemli sıkı bağlantı proteinlerinden olan ZO-1 ve okludinin iskemi grubundaki azalmış mRNA ekspresyonunu arttırmıştır (Zhang ve ark 2024).

Trilobatin (TLB), *Lithocarpus polystachyus Rehd* yapraklarından izole edilen bir flavonoid bileşiktir. TLB'nin sıçanlarda iskemik hasara karşı kan bariyer bütünlüğünü koruduğu, nöronal kaybı önlediği, ZO-1, okludin, klaudin 5 sıkı bağlantı proteinlerini arttırdığı yapılan çalışmada görülmüştür (Feng ve ark 2024).

Geleneksel Çin tıbbında kullanılan bitkilerden birinin monomeri olan Naringenin (NAR), beyin oksidatif hasarında koruyucu bir etkiye sahip olduğu bilinen bir bileşendir. NAR'ın KBB bütünlüğünü koruyup koruyamadığının anlaşılması için fareler üzerinde bir çalışma yapılmıştır. NAR beyin bariyeri geçirgenliğini azaltmış ve ZO-1, okludin, klaudin 5 sıkı bağlantı proteinlerini yukarı regüle ederek KBB hasarını iyileştirdiği gösterilmiştir (Yang ve ark 2025). *Pueraria lobata* Çin tıbbında kullanılan bir bitkidir. Bu bitkinin polisakkaritleri (PLP, PLP-1, PLP-3 ve PLP-7) ana aktif bileşenlerdir. Erkek fareler üzerinde yapılan çalışmada PLP-3'ün beyin-bağırsak aksında iskemik beyin hasarı üzerindeki koruyucu etkileri incelenmiştir. PLP-3 nöronal hasarı hafifletmiş, enfarktüs alanını belirgin şekilde azaltmıştır. Ayrıca PLP-3'ün, ZO-1 ve okludinin ekspresyonunu ve goblet hücre sayısını artırarak bağırsak bariyer bütünlüğünü etkili bir şekilde onardığı görülmüştür. Beyindeki apoptozis nöron sayısı azalmış, patolojik değişiklikler hafiflemiş ve kan beyin bariyeri onarılmıştır (Zhang ve ark 2025).

Luteolin-7-O- β -D-glukuronid (LGU) flavonoid özellikli ana aktif monomer bileşimidir. Sıçanlarda I/R hasarında KBB geçirgenliği üzerinde LGU etkisi incelendiğinde sonuçlar, LGU'nun I/R üzerinde koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir. LGU, iskemik sıçanlarda azalmış sıkı bağlantı proteinleri olan ZO-1 ve okludin düzeylerini iyileştirmiştir (Fan ve ark 2024).

Safflower sarısı, safflower yapraklarından elde edilen suda çözünen bir flavonoiddir. İskemik farelere uygulanan hidrokisafflor sarısı A (HSYA)'nın KBB hasarını azaltabileceği, HSYA uygulanan iskemik farelerin beyinlerindeki nöronal yapıların iyileşerek yoğun sinir yapıları olduğu ifade edilmiştir. Okludin, klaudin ve ZO-1'in ekspresyonu da artmıştır (Lv ve Fu 2018).

Geleneksel Çin tıbbında kullanılan Shouhui Tongbian Kapsülleri (SHTB), sekiz geleneksel Çin bitkisinden oluşur. Sıçanlara 5 gün boyunca SHTB ile ön tedavi uygulanan çalışmada amaç SHTB'nin MCAO/R hasarı üzerindeki koruyucu etkilerini tespit etmektir. Sonuçlara göre SHTB sıçanlarda MCAO/R hasarını önleyen ve beyin patolojisini iyileştiren bir etki göstermiştir. Lipit metabolizma bozukluklarını iyileştirdiği için oksidatif stresi azatmış ve beyin hasarını hafifletmiştir. KBB'ni koruyan ZO-1 ve okludin ekspresyonunu yukarı regüle etmiştir. SHTB yine bağırsak mikrobiyotasını düzenlediği için klaudin-5 ve ZO-1 proteinlerini arttırarak bağırsak bariyerini de iyileştirmiştir (Wei ve ark 2025).

Vitexin, alıç bitkisinin kurutulmuş yapraklarından elde edilen biyoaktif flavonoid bileşimidir. İnsan beyin mikrovasküler endotel I/R hasar modelinde Vitexin etkileri incelendiğinde; Vitexin'in inflamasyonu hafiflettiği, KBB bütünlüğünü koruyabildiği ve sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu arttırdığı belirtilmiştir (Cui ve ark 2019).

Pinocemberin, flavonoid ailesine ait bir flavanon bileşimidir. Fokal serebral iskemi oluşturulan sıçanlarda Pinocemberin'in koruyucu etkileri incelenmiştir. Sıkı bağlantı proteinlerinden okludin ve ZO-1'deki iskemik azalmalar inhibe edilmiştir (Gao ve ark 2010). Hipoksik iskemik sıçanlarda vitexin kullanımının KBB bütünlüğünü ZO-1 ekspresyonunu arttırarak iyileştirdiği sonucuna varılmıştır (Luo ve ark 2018).

Çin bitkisi *Ophiopogon japonicus*'un aktif homoizoflavonoidinin (MO-A) I/R üzerindeki etkileri incelenmek istenmiştir. Sıçan modelleri kullanılan

çalışmada, MO-A'nın klaudin-3 ve klaudin-5 ekspresyonunu geri kazandırdığı gözlemlenmiştir. Bu sayede KBB hasarını hafifletmiştir (Lin ve ark 2015). Luteolin flavonoidinin yetişkin erkek sıçanlarda iskemideki etkisini değerlendiren çalışmada luteolinin; beyni iskemik hasardan koruyarak oksidatif stresi ve apoptozu azalttığı ayrıca klaudin-5 regülasyonunu yukarı doğru çıkardığı görülmüştür (Qiao ve ark 2012).

Turunçgil polimetoksi flavonoidlerinden biri olan *Nobiletin* (NOB), sıçanlarda KBB hasarında iyileştirici etkiler göstererek iskemiye karşı koruma sağlamıştır. Ayrıca klaudin-5 ekspresyonunu da arttırmıştır (Zhang ve ark 2013). Deniz üzümü ve bazı otlarda bulunan bir flavonoid olan isorhamnetin, deneysel inmeli farelerde kan beyin bariyerini iyileştirmiştir. Okludin, klaudin-5 ve ZO-1 ekspresyonunu da arttırmıştır (Zhao ve ark 2016). Yine başka bir çalışmada deneysel iskemik inmede naringenin sıçanlarda klaudin-5 ekspresyonunu yukarı düzenlemiştir (Bai ve ark 2014). Baicalin'in iskemi durumunda KBB geçirgenliği üzerindeki etkilerini inceleyen in vitro çalışmada; baicalin sıkı bağlantı proteinlerinden klaudin-5 ve ZO-1 proteinlerinin ekspresyonunu desteklemiştir (Zhu ve ark 2012). Soya izoflavonu ile ön tedavi edilen ve sonra iskemi oluşturulan sıçanlarda, tedavi edilmeyen gruba göre azalan okludin ekspresyonu düzelmiştir (Li ve ark 2023). Naruritin (NAR) turunçgillerde bulunan bir flavonoiddir. I/R öncesi farelerde ön tedavi olarak 7 gün NAR kullanılmıştır. Farelerde I/R hasarı sonrası sıkı bağlantı protein ekspresyonu artarak KBB fonksiyonu düzenlenmiştir (Luo ve ark 2024).

1.7. Beyin I/R Hasarı Üzerinde 3',4'-Dihidroksiflavonol Etkisi

Sentetik flavonoid olan 3',4'-dihidroksiflavonol (DİOHF), I/R modelli bazı çalışmalarda etkisi incelenmek için tedavi aracı olarak kullanılmıştır. DİOHF, sıçanlarda serebral I/R hasarında artan kaspaz-3 ve AQP4 düzeylerini aşağı regüle etmiştir. Ayrıca artan IL-10 seviyelerini de iyileştirmiştir (Aladag ve ark 2024). Global serebral I/R hasarı sonucu oluşan hafıza bozukluğu DİOHF tedavisi sonucu önemli derecede iyileşme göstermiştir (Oz ve ark 2017). I/R, sıçanlarda retinada lipid peroksidasyonuna neden olarak retinanın histolojik dokusunda bozulmalar meydana getirmiştir ancak DiOHF tedavisiyle retina hasarı ve nörogenezis de olumlu değişimler olmuştur (Çetin ve ark 2025).

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. Hayvan Grupları ve Çalışma Planı

Bu araştırma, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu'nun 31.05.2024 tarihli ve 2024-32 sayılı onayı doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan hayvanlar aynı merkezden temin edilmiş olup, biyokimyasal analizler Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Fizyoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Araştırmada, her biri 10–12 haftalık, yaklaşık 300–400 gram ağırlığında, erkek Wistar-albino türünde toplam 28 sıçan kullanılmıştır. Deneysel protokol öncesinde tüm hayvanlar, standart laboratuvar koşullarında ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü) barındırılmış; standart laboratuvar diyeti ile beslenmiş ve suya ad libitum erişim sağlanmıştır.

Hayvanlar randomizasyon yöntemiyle dört deney grubuna ayrılmıştır. Deneysel prosedür kapsamında, kontrol grubu hariç diğer gruplara genel anestezi amacıyla Ketamin HCl (60 mg/kg) ve Xylazine HCl (5 mg/kg) kombinasyonu intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Anestezi sağlandıktan sonra, boyun bölgesinden ventral orta hat insizyonu ile sağ ve sol karotid arterler, vagus siniri ve ilişkili çevresel dokular dikkatli bir şekilde diseke edilerek izole edilmiştir.

- 1. Kontrol grubu (n=6):** Bu gruptaki hayvanlara herhangi bir anestezi veya cerrahi müdahale uygulanmamıştır.
- 2. Sham grubu (n=6):** Genel anestezi altında karotid arterler açılıp kapatılmış, ardından 1 hafta boyunca 1 ml DiOHF çözücüsü (1 ml-fındık yağı ve %5 DMSO) uygulanmıştır.
- 3. İskemi-Reperfüzyon (I/R) grubu (n=8):** Karotid arterler izole edilerek 30 dakika süreyle ligate edilmiş ve ardından reperfüzyon sağlanmıştır. Reperfüzyonu takiben 1 hafta boyunca 1 ml DiOHF çözücüsü (1 ml-fındık yağı ve %5 DMSO) uygulanmıştır.
- 4. I/R + DiOHF grubu (n=8):** 30 dakikalık ligasyon sonrası reperfüzyon uygulanmış, ardından 1 hafta süreyle DiOHF takviyesi (10 mg/kg) yapılmıştır.

Grup 2'de Sham operasyonu ve çözücü takviyesi (1 ml-fındık yağı ve %10 DMSO) (1 hafta), grup 3 de ise yine I/R takiben çözücü (1 ml-fındık yağı ve %10

DMSO) uygulaması yapıldı (1 hafta). Grup 3 ve 4’de karotid arterler ligate edilerek 30 dk süren fokal geçici serebral iskemi ve takiben reperfüzyon oluşturuldu. 4. Gruptaki hayvanlara reperfüzyonu takiben 1 hafta süreli 10 mg/kg dozunda DiOHF periton içi verildi.



Şekil 2.1. Sağdaki boyun bölgesinden ventral orta hat insizyonu ile sağ ve sol karotid arterler, vagus siniri ve ilişkili çevresel dokular dikkatli bir şekilde diseke edilerek izole edilen ve 30 dakika ligate edilen sıçan modeli, soldaki ise periton içi DiOHF uygulaması yapılan sıçan modeli.

Deneylerin bitiminde hayvanlar genel anestezi altında kalplerinden kan alındıktan sonra servikal dislokasyonla öldürülerek beyinde frontal korteks ve hipokampus dokularında Metalloprotein (3 ve 9), klaudin, okludin ve beta aktin seviyeleri belirlendi.



Şekil 2.2. Genel anestezi altında sıçanların çıkarılan beyininden frontal korteks ve hipokampus dokuları alındı.

Tüm cerrahi işlemler genel anestezi altında gerçekleştirilmiş ve hayvanlara etik kurallar doğrultusunda müdahalede bulunulmuştur. Çalışmada kullanılan dozlar, süreler ve uygulama protokolü daha önce yayımlanmış benzer literatürlere dayandırılmıştır.

2.2. Hipokampus Ve Frontal Korteks Dokularından RNA İzolasyonu

Real-Time PCR ile MMP-3, MMP-9, okludin, klaudin, β -aktin genlerinin ifadesinin belirlenmesi için öncelikli olarak total RNA izole edildi. Bu izolasyonun gerçekleşmesi için de hazır ticari kit (Bio Basic; Kanada) kullanıldı.

Hipokampus ve frontal korteks dokularından 25-50 mg arasında alındı ve 1 ml lizis buffer (miRNA Extractor ilave edilerek buz üzerinde homojenizatör (SONOPULSmini20, BANDELİN; Almanya) yardımıyla tamamen parçalarına ayrıldı. Homojenizasyondan sonra örneklerin gerektiği şekilde parçalandığından emin olmak için örnekler oda sıcaklığında 5-10 dakika bekletildi. Bu işlem tamamlandıktan sonra 4 °C'de 10 dakika 12.000×g'de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda örnek 3 faza ayrıldı. Örnekte RNA içeren süpernatant kısmı temiz bir 1,5 ml RNAaz içermeyen santrifüj tüpüne alındı. 1,5 hacminde %100 etanol ilavesi yapıldı ve pipet ile yukarı-aşağı hareket ettirilerek homojenizasyon sağlandı.

Oluşan çözelti kit içerisinde bulunan Spin Kolonuna alınarak 12,000×g'de 2 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu işlemle nükleik asit molakülü kolona sabitlendi. Spin Kolona 0,5 ml RPE Solüsyonu ilave edilerek 30 saniye 12,000×g'de santrifüj gerçekleşti. Birkaç kez tekrar eden bu işlemin ardından yeni bir 1,5 ml santrifüj tüpüne kolon yerleştirildi. Üzerine 50 μ l RNAaz içermeyen su eklenerek 2 dakika boyunca bekletildi. Sonra 30 saniye 12000×g'de santrifüj edildi. Oluşan RNA çözeltisi -20°C'de muhafaza edildi.

RNA'ların miktarı ve saflık durumunun tespit edilmesi amacıyla nanodrop (SMA 1000, Merinton, China) cihazından yararlanıldı. Bu safhada optik dansitelerinden hareketle (OD260/280) OD260/280 oranı hesaplanarak elde edilen verilerden 1,9 ve üstü RNA'lar çalışmada kullanıldı.

2.3. cDNA'ların Elde Edilmesi

Ulaşılan total RNA içindeki mRNA'yı cDNA'ya dönüştürmek amacıyla hazır ticari kit (OneScript Plus, ABM, Canada) kullanıldı. Her örnek için eşit miktarda RNA kullanıldı. Protokole uygun şekilde basamaklar sırasıyla yapıldı. Tablo 2.1.'deki gibi cDNA sentez karışımı hazırlandı.

Tablo 2.1. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan cDNA sentez karışımı

Bileşen	Miktar
5X RT Buffer	4 Ml
Dntp	1 Ml
Primers	1 Ml
OneScript Plus RTase	1 Ml
Nuclease free H2O	3 Ml

Sonrasında her örnek için 10 μ mevcut karışımdan alınıp RNA üzerine koyuldu. Tüm tüpler dikkatlice karıştırıldıktan sonra Thermal Cycler (Biorad, ABD) cihazıyla kitte verilen protokol ile revers transkripsiyon programı çalıştırıldı. Belirtilen program ilk önce 55°C'de 15 dakika cDNA sentezi ve sonrasında 85°C'de 5 dakika denatürasyon ve +4°'de bekleme basamağını kapsamaktadır.

Saptanan cDNA miktarı ve saflığını belirlemek için nanodrop (SMA 1000, Merinton, China) kullanıldı. qPCR gerçekleştirilene kadar -20°'de muhafaza edildi.

2.4. Genlerin İfade Düzeylerinin Belirlenmesi

Real-Time PCR reaksiyonları hazırlandığı zaman standart eğrilerin çizilebilmesi için herhangi bir prosedür uygulanmayan (Kontrol grubu) dokulardan alınan cDNA örneğinden 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 ve 1/32 oranlarında seri dilüsyonlar hazırlandı. Real-Time PCR uygulanarak eğriler çizildi ve primerin uygun sıcaklıklarda bağlanabilmesi için sıcaklık aralıkları değiştirilip denenerek standardizasyon uygulandı.

Hedef genlerin mRNA düzeyinde ekspresyon analizinde kullanılam primerler Türkiye'de faaliyet gösteren Oligomer firmasında sentezlenerek temin edildi. Referans gen olarak ise Oligomer (Türkiye) firmasında sentezlenen GAPDH kullanıldı. Çalışmada kullanılan her primer, her bir reaksiyonda takriben 200 ng şeklinde uygulandı.

Tablo 2.2. Gerçek zamanlı PCR için kullanılan primerler

Gen	Primer dizisi	Fonksiyonu
MMP-3 Geri / Reverse	CAGGGTCCAGAGTTAGATTTG	Hedef Gen
MMP-3 İleri / Forward	AGTCTACAAGTCCTCCACAGA	Hedef Gen
MMP-9 Geri / Reverse	GTCAGAACCGACCCTACAAAG	Hedef Gen
MMP-9 İleri / Forward	CCCAACCTTTACCAGCTACTC	Hedef Gen
Okludin Geri / Reverse	GAGACAGGAAACGGATGGTATT	Hedef Gen
Okludin İleri / Forward	TGCTGGAGAAGTGAGAGAGA	Hedef Gen
Klaudin Geri / Reverse	TGGTGTGGGGTAAGAGGTTG	Hedef Gen
Klaudin İleri / Forward	AGGTCTGGCGACATTAGTGG	Hedef Gen
β -aktin Geri / Reverse	TCAGTAACAGTCCGCCTAGAA	Hedef Gen
β -aktin İleri / Forward	GTGTGGATTGGTGGCTCTATC	Hedef Gen
GADPH Geri / Reverse	5'-AACCTGGTCCTCAGTGTAGC-3'	Referans Gen
GADPH İleri / Forward	5'-GGGCCAAAAGGGTCATCATC-3'	Referans Gen

PCR reaksiyonları için ticari kit olarak temin edilen BlasTaq 2X qPCR Master Mix (ABM, Kanada) kullanıldı. Her bir reaksiyon toplamda 20 μ l hacminde hazırlandı. Reaksiyon karışımı; 10 μ l Master mix (enzim, dNTP, Mg, tampon ve su içerir), 5 μ l Cdna, 1 μ l ileri primer, 1 μ l geri primer ve 3 μ l RNAaz içermeyen sudan oluşacak şekilde hazırlanmıştır. Primer optimizasyonlarının ardından PCR koşulları; enzim aktivasyonu için 95°C'de 3 dakika denatürasyon için 95°C'de 10 saniye, bağlanma ve uzama için 60°C'de 1 dakika olarak belirlenmiş ve toplamda 40 döngü çalıştırılmıştır. Tüm reaksiyonlar CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, ABD) cihazı ile gerçekleştirildi.

qPCR analizlerinin sonuçları, Livak ve Schmittgen (2001) tarafından gerçekleştirilmiş olan $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemiyle analiz edildi (Livak ve Schmittgen 2001).

2.5. İstatistik

İstatistik analiz SPSS istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak tanımlandı. Gruplararası karşılaştırma için Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı ve $p < 0,05$ seviyesi için Mann-Whitney U-testi uygulandı. $P < 0,05$ seviyesi istatistik olarak önemli kabul edildi.



3. BULGULAR

3.1. Frontal Korteks Dokusunun Sonuçları

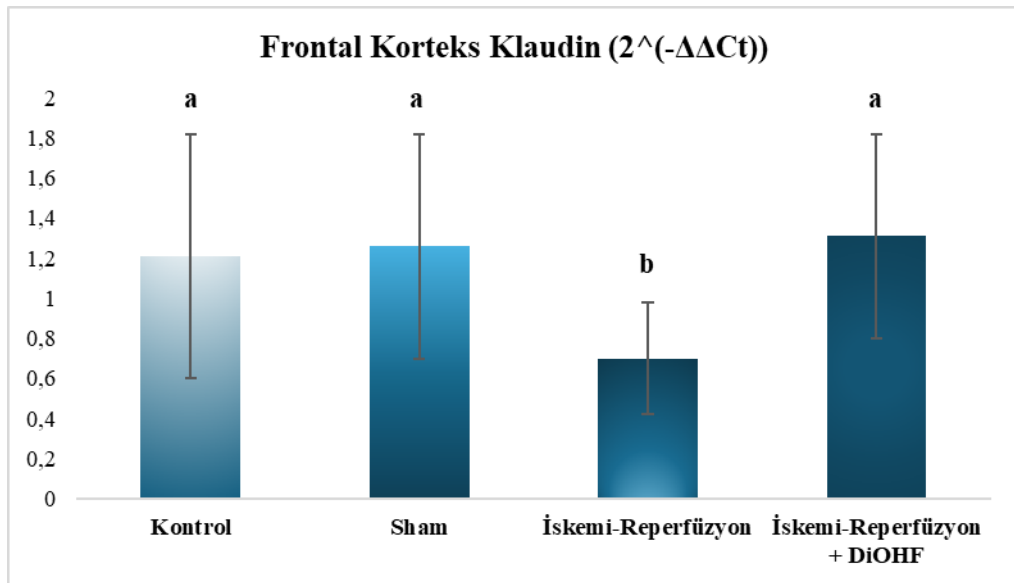
Frontal korteks bölgesindeki sıkı bağlantı proteini olan klaudin seviyeleri Tabloda 3.1. ve Grafik 3.1.'de gösterilmektedir. Gruplara arası karşılaştırma yapıldığında; kontrol, sham ve İskemi -Reperfüzyon + DiOHF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Ancak I/R gerçekleştirilen 3. grubun bu parametresi diğer gruplardan daha düşük olarak belirlendi ($p<0,01$).

I/R ile azalan klaudin değerleri DiOHF takviyesi ile düzelmiştir ($p<0,01$).

Tablo 3.1. Frontal korteks klaudin seviyeleri ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$).

Gruplar	Ortalama \pm SS
Kontrol	1,21 \pm 0,61 a
Sham	1,26 \pm 0,56 a
İskemi-Reperfüzyon	0,7 \pm 0,28 b
İskemi-Reperfüzyon + DiOHF	1,31 \pm 0,51 a

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($a>b$; $P<0,01$).



Grafik 3.1. I/R ile azalan klaudin değerleri DiOHF takviyesi ile düzelmiştir ($p<0,01$).

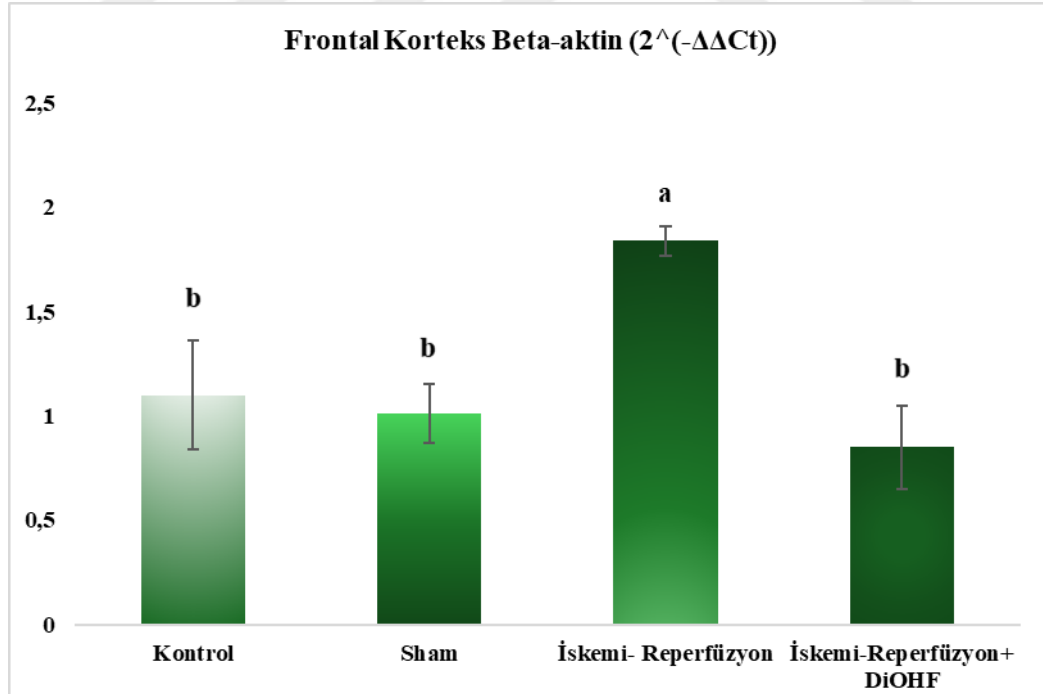
I/R ile artan β -aktin seviyeleri DiOHF takviyesi ile azaldı ($p<0,001$).

Tablo 2’de frontal kortekste ölçülen β -aktin seviyeleri gösterilmektedir. I/R grubunda diğer gruplara kıyasla daha yüksek β -aktin seviyeleri ölçüldü. Bu durum I/R grubunun β -aktin ekspresyonunu arttırdığını göstermektedir. Fakat DiOHF uygulamasıyla bu artış baskılandı ($p<0,001$). Kontrol, Sham ve I/R + DiOHF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur.

Tablo 3.2. Frontal korteks β -aktin seviyeleri.

Gruplar	Ortalama \pm SS
Kontrol	1,1 \pm 0,26 b
Sham	1,01 \pm 0,14 b
İskemi- Reperfüzyon	1,84 \pm 0,07 a
İskemi-Reperfüzyon+ DiOHF	0,85 \pm 0,2 b

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($a>b$; $P<0,001$).



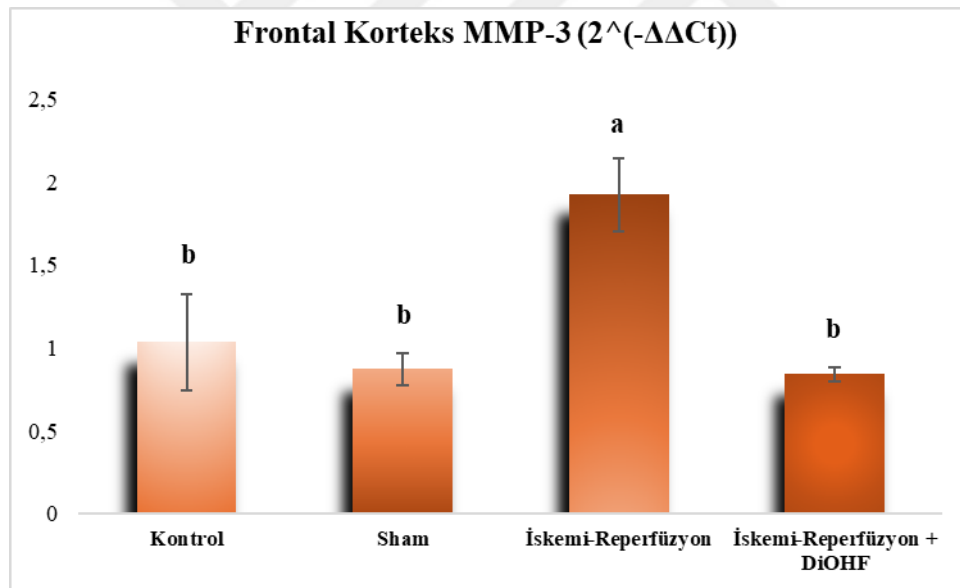
Grafik 3.2. DiOHF uygulamasıyla β -aktin artışı baskılandı ($p<0,001$).

Tablo 3.3.'de frontal kortekste ölçülen MMP ekspresyon düzeyleri verilmektedir. I/R grubunda MMP-3 ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı. Kontrol, Sham ve I/R + DiOHF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. DiOHF uygulaması I/R ile artan MMP-3 ekspresyonundaki artışı baskıladı ($p<0,01$).

Tablo 3.3. Frontal korteks MMP-3 ekspresyon düzeyleri ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$).

Gruplar	Ortalama \pm SS
Kontrol	1,03 \pm 0,29 b
Sham	0,87 \pm 0,10 b
İskemi-Reperfüzyon	1,92 \pm 0,22 a
İskemi-Reperfüzyon + DiOHF	0,84 \pm 0,04 b

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($a>b$; $P<0,01$).



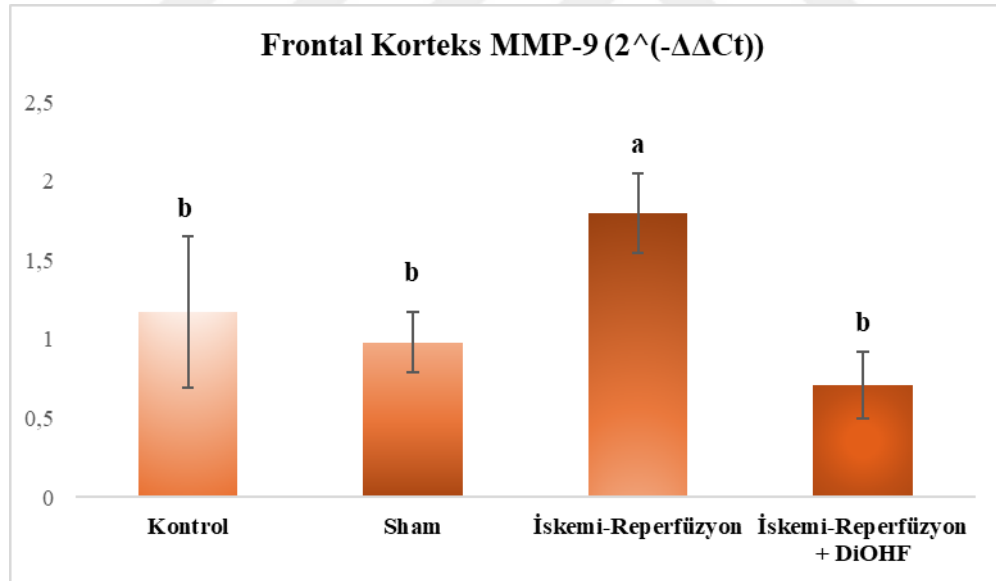
Grafik 3.3. DiOHF uygulaması I/R ile artan MMP-3 ekspresyonundaki artışı baskıladı ($p<0,01$).

I/R grubundaki MMP-9 ekspresyon seviyeleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir. Kontrol, Sham ve I/R + DiOHF grupları arasında istatistiksel olarak fark yoktur. Bu sonuçlar DiOHF uygulaması MMP-9 ekspresyonundaki artışı baskıladı ve bu enzimin düzeyini fizyolojik sınırlara geri çekti (Tablo 3.4.; $p < 0,001$).

Tablo 3.4. Frontal korteks MMP-9 ekspresyon seviyeleri ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$).

Gruplar	Ortalama \pm SS
Kontrol	1,17 \pm 0,48 b
Sham	0,98 \pm 0,19 b
İskemi-Reperfüzyon	1,8 \pm 0,25 a
İskemi-Reperfüzyon + DiOHF	0,71 \pm 0,21 b

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($a > b$; $P < 0,001$).



Grafik 3.4. DiOHF uygulaması MMP-9 ekspresyonundaki artışı baskıladı ($p < 0,001$).

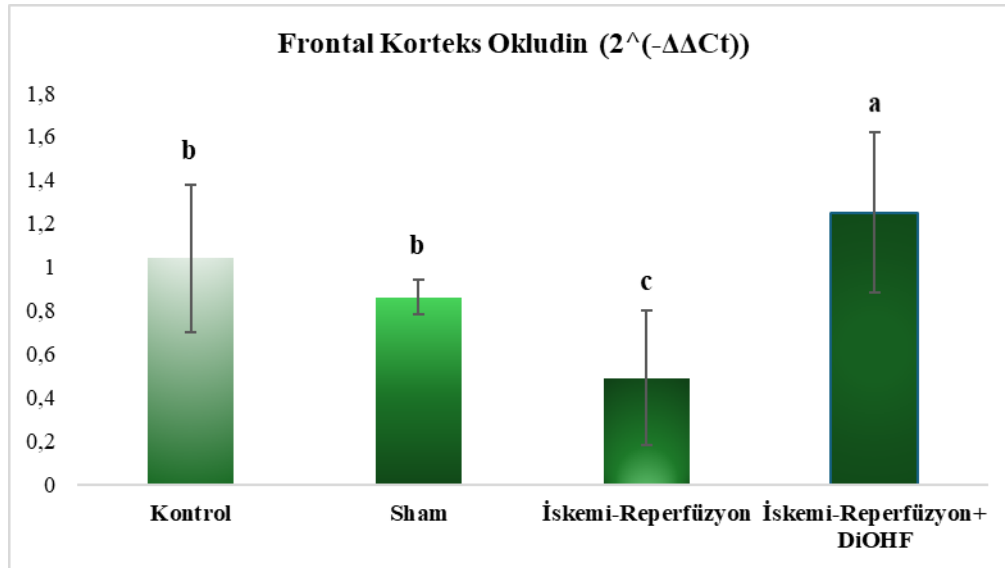
I/R grubunda frontal korteksteki okludin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma göstermiştir. Kontrol ve Sham gruplarında okludin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. I/R + DiOHF grubunda okludin düzeyleri anlamlı olarak en yüksek seviyede bulunmuş olup hatta kontrol ve sham gruplarından dahi istatistik olarak daha yüksek seviyelere ulaştı.

DiOHF uygulaması frontal korteks okludin düzeylerini arttırdı (Tablo 3.5.; $p < 0,001$).

Tablo 3.5. Frontal korteks okludin düzeyleri ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$).

Gruplar	Ortalama±SS
Kontrol	1,04±0,34 b
Sham	0,86±0,08 b
İskemi-Reperfüzyon	0,49±0,31 c
İskemi-Reperfüzyon+ DiOHF	1,25±0,37 a

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($a > b > c$; $P < 0,001$).



Grafik 3.5. DiOHF uygulaması frontal korteks okludin düzeylerini arttırdı ($p < 0,001$).

3.2. Hipokampus Dokusunun Sonuçları

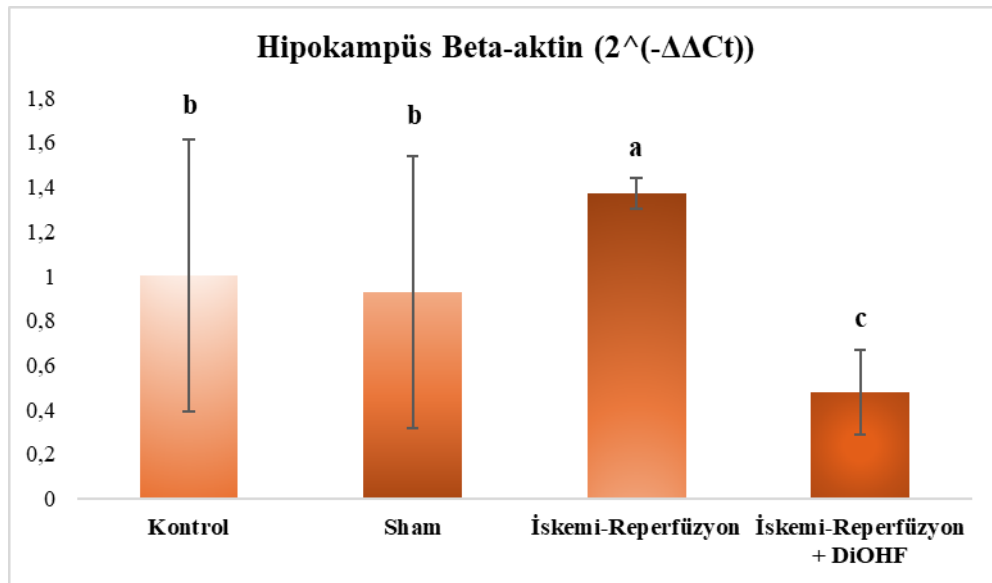
Hipokampus I/R grubunda β -aktin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı. Kontrol ve Sham gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. DiOHF grubunda β -aktin düzeyleri anlamlı derecede düşüktü.

DiOHF iskemiyle indüklenen β -aktin artışını baskıladı hatta bazal düzeyin altına düşürdü (Tablo 3.6.; $p<0,003$).

Tablo 3.6. Hipokampus Beta-aktin düzeyleri. ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$).

Gruplar	Ortalama \pm SS
Kontrol	1 \pm 0,61 b
Sham	0,93 \pm 0,61 b
İskemi-Reperfüzyon	1,37 \pm 0,07 a
İskemi-Reperfüzyon + DiOHF	0,48 \pm 0,19 c

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($a>b>c$; $p<0,003$).



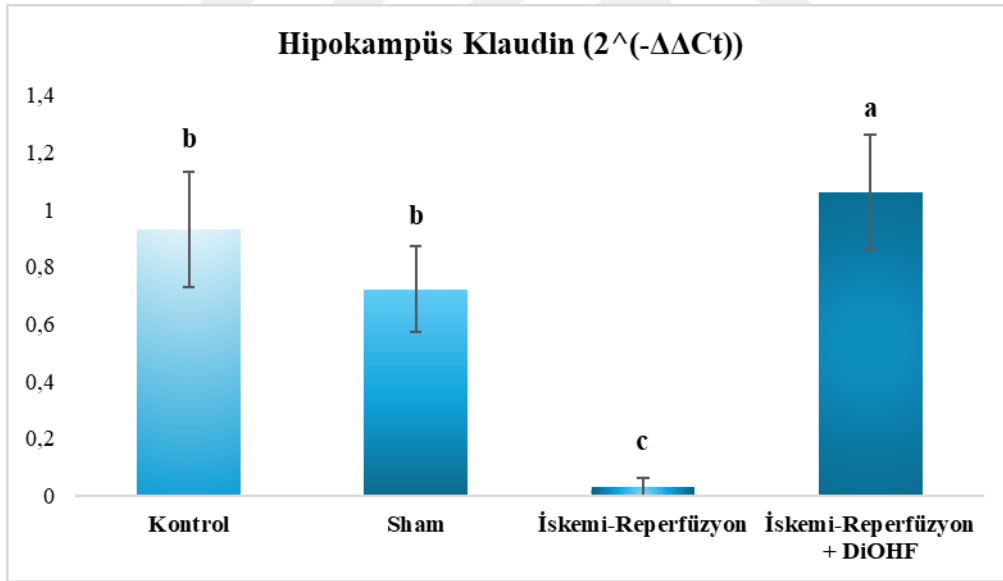
Grafik 3.6. DiOHF iskemiyle indüklenen β -aktin artışını baskıladı ($p<0,003$).

Tablo 3.7.'de gösterilen değerler farklı gruplardaki hayvanların hipokampüste ölçülen kaludin düzeyleridir. Hipokampüste I/R grubunda kaludin düzeyleri önemli derecede azaldı. Kontrol ve Sham grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. I/R + DiOHF grubunda kaludin düzeyleri korundu ve kontrol grubundaki seviyenin de üzerine çıktı ($p<0,01$).

Tablo 3.7. Hipokampus kaludin düzeyleri ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$).

Gruplar	Ortalama \pm SS
Kontrol	0,93 \pm 0,20 b
Sham	0,72 \pm 0,15 b
İskemi-Reperfüzyon	0,03 \pm 0,03 c
İskemi-Reperfüzyon + DiOHF	1,06 \pm 0,20 a

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($a>b>c$; $p<0,01$).



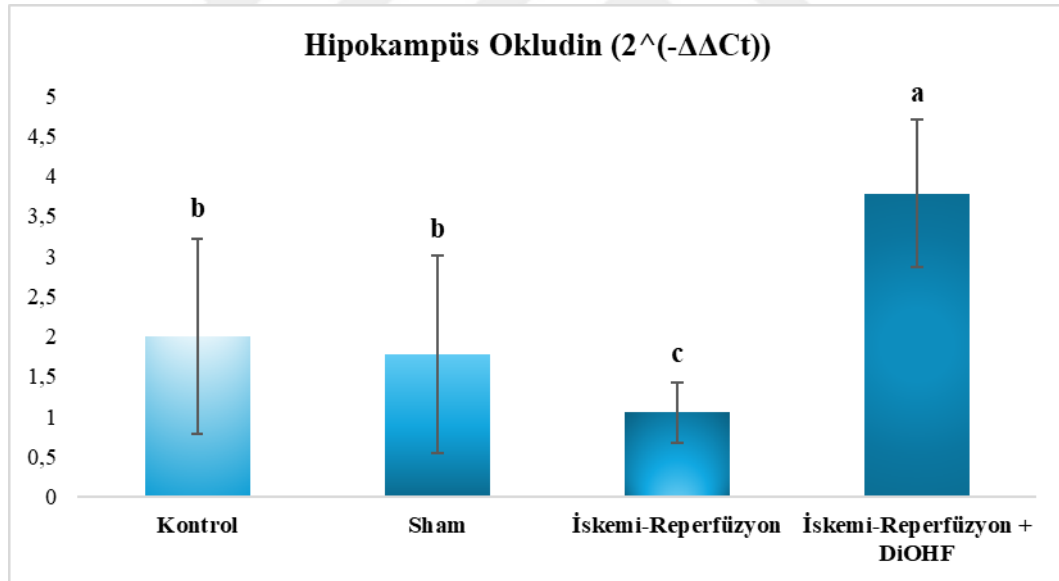
Grafik 3.7. I/R + DiOHF grubunda kaludin düzeyleri korundu ve kontrol grubundaki seviyenin de üzerine çıktı ($p<0,01$).

Hipokampus okludin düzeyleri I/R grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldı. Kontrol ve Sham grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. DiOHF uygulaması, okludin düzeylerinde iskemik hasar sonucu oluşan azalmayı düzeltilti. Ayrıca buna ek olarak okludin seviyeler kontrol grubundan dahi yüksek değerlere ulaştı (Tablo 3.8.; $p < 0,001$).

Tablo 3.8. Hipokampus okludin düzeyleri ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$).

Gruplar	Ortalama \pm SS
Kontrol	2,00 \pm 1,22 b
Sham	1,78 \pm 1,23 b
İskemi-Reperfüzyon	1,05 \pm 0,38 c
İskemi-Reperfüzyon + DiOHF	3,78 \pm 0,92 a

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($a > b > c$; $p < 0,001$).



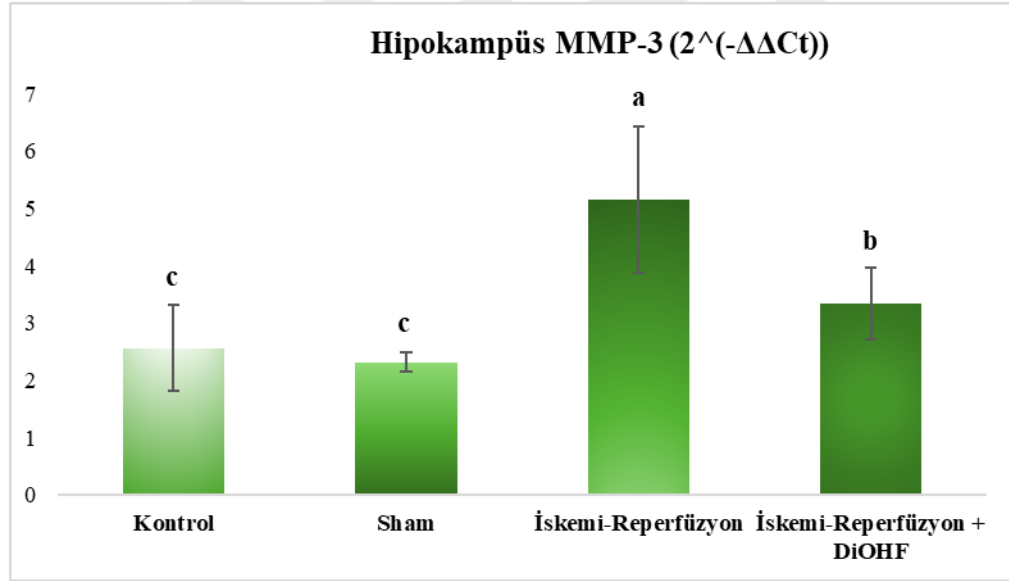
Grafik 3.8. DiOHF grubunda okludin seviyeler kontrol grubundan dahi yüksek değerlere ulaştı ($p < 0,001$).

Hipokampus I/R grubunda MMP-3 ekspresyonu diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttı. Kontrol ve Sham grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. DiOHF uygulaması MMP-3 ekspresyonunu belirgin bir şekilde düşürdü ($p<0,001$). Ancak kontrol grubundaki seviyeye kadar indiremedi (Tablo 3.9.)

Tablo 3.9. Hipokampus MMP-3 ekspresyon düzeyleri ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$).

Gruplar	Ortalama±SS
Kontrol	2,56±0,75 c
Sham	2,32±0,16 c
İskemi-Reperfüzyon	5,16±1,28 a
İskemi-Reperfüzyon + DiOHF	3,34±0,62 b

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. ($a>b>c$; $p<0,001$).



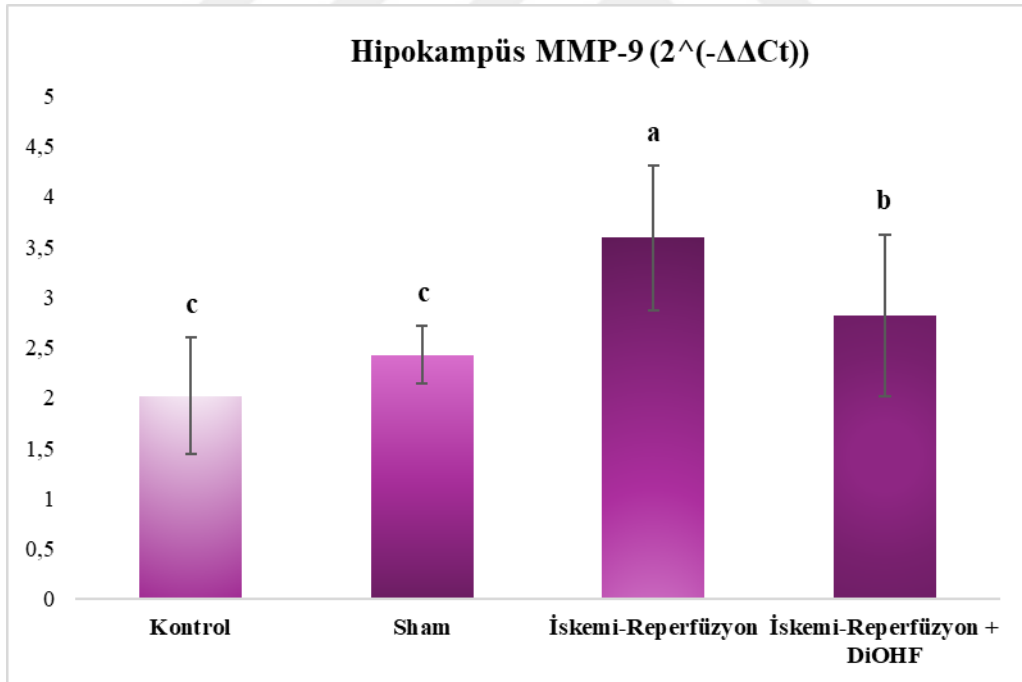
Grafik 3.9. DiOHF uygulaması MMP-3 ekspresyonunu belirgin bir şekilde düşürdü ($p<0,001$).

Hipokampus I/R grubunda MMP-9 ekspresyonu Tablo 3.10.'da da gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı. Kontrol ve Sham grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. DiOHF uygulaması MMP-9'un artmış ekspresyonunu önemli derecede azalttı ($p<0,001$). Ancak kontrol grubunun seviyelerine çekemedi.

Tablo 3.10. Hipokampus MMP-9 düzeyleri ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$).

Gruplar	Ortalama±SS
Kontrol	2,02±0,58 c
Sham	2,43±0,29 c
İskemi-Reperfüzyon	3,59±0,72 a
İskemi-Reperfüzyon + DiOHF	2,82±0,80 b

*Farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. ($a>b>c$; $p<0,001$).



Grafik 3.10. DiOHF uygulaması MMP-9'un artmış ekspresyonunu önemli derecede azalttı ($p<0,001$).

4. TARTIŞMA

Gerçekleştirilmiş olan araştırmanın bulgularına bakıldığında sıçanlarda oluşturulan deneysel fokal iskemi-reperfüzyonla birlikte hem frontal korteks hem de hipokampus dokusunda yapılan cerrahi uygulama ile kan beyin bariyeri yapısı ve fonksiyonunda önemli etkilere sahip olan moleküllerde değişikliklerin ortaya çıktığı görülmektedir. Bunlar arasında okludin ve kaludin değerleri I/R ile baskılanırken, beta-aktin ile MMP-3 ve MMP-9 değerleri artış göstermiştir. Ancak cerrahi uygulama sonrası 1 hafta boyunca periton için DiOHF uygulaması meydana gelen değişiklikleri düzeltmiştir.

Araştırmada ilk olarak değerlendirilen moleküller KBB fonksiyonunda önemli yapısal proteinler olan kludin ve okludin sıkı bağlantı proteinleridir. Yapılan değerlendirme sonucunda her iki molekülün deneysel beyin iskemi-reperfüzyonuyla birlikte çalışılmış olan beyin dokularında belirgin düzeyde azaldığı tespit edildi.

Flavonoid alt grubundan olan soya izoflavonlarının serebral iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı üzerindeki etkisinin araştırıldığı ve fareler üzerinde gerçekleştirilmiş olan bir çalışma sonucunda iskemik grupta okludin ekspresyonunun azaldığı rapor edilmiştir. Ancak bu araştırmada soya izoflavonunun I/R'ye bağlı oluşan azalmasını tedavi sonrası yukarıya doğru düzenlediği belirlenmiştir (Li ve ark 2023). Benzer şekilde yapılan bir beyin iskemi reperfüzyon çalışmasında da KBB yapısında önemli fonksiyonu olan kaludin-5 ile ZO-1 tanımlanmasının baskılandığı ancak kereviz tohumundan elde edilen bir flavonoid olan DL-3-n-butylfitalid (NBP) kronik serebral hipoperfüzyon sıçan modelinde KBB hasarını doza bağımlı olarak iyileştirmiştir (Wang ve ark 2016).

Liu ve ark. (2021) tarafından yapılan bir araştırmada da benzer şekilde beyin I/R kaludin seviyelerini baskılamak için tedavi edici ajan olarak kullanılan *E. breviscapu*'dan edilen flavonoidin orta serebral arter oklüzyonuyla oluşturulan beyin iskemi-reperfüzyonunda faydalı bir etki oluşturduğu görülmüştür. Narenciyelerde yoğun olarak bulunan ve bir flavonoid olan Hesperidin (HSP)'in farelerde beyin iskemi reperfüzyonunda azalan kludin ve ZO-1 düzeyleri üzerine olumlu etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Lee ve ark 2020).

Liquiritin (LQ) tıbbi bitki olan *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. Ex DC.'den elde edilen bir flavonoiddir. In vivo bir çalışmada LQ'nun iskemi I/R nedeniyle azalan ZO-1 ve kladin-5 ekspresyonunu arttırabileceği ve KBB bütünlüğünü koruyabileceği yönünde bulgular elde edilmiştir (Li ve ark 2021).

Yine bir flavonoid olan Morin'in iskemili sıçanlarda sıkı bağlantı proteinlerinden olan okludin, kladin, ZO-1 degradasyonunu önemli şekilde baskıladığı görülmüştür (Khamchai ve ark 2020). Nomilin (NOM), turunçgil kaynaklı flavonoid bir limonoid bileşenidir. NOM tedavisinin, MCAO sıçanlarda kan beyin bariyer hasarını hafifletmesi ZO-1 ve okludin-1 gibi sıkı bağlantı proteinlerinin kaybının hafiflemesiyle ilişkili olabileceği düşündürmüştür (Shi ve ark 2019).

Okludin ve ZO-1 ekspresyon düzeylerindeki değişiklikler kan beyin bariyer geçirgenliği için önemlidir. Daha önceden gerçekleştirilmiş olan bir araştırmada flavonoid baicilin'in sıkı bağlantı proteinleri üzerine olumlu etkilere sahip olduğu görülmüştür (Zhu ve ark 2012). *Herba Epimedii*'den türetilen bir flavonoid olan inside II (ICS II) tedavisi sıçanlarda, I/R sonrasında kan beyin bariyer bozulmasını önemli derecede azalttığı, sıkı bağlantı proteinleri okludin ve ZO-1 ekspresyonunu da arttırdığı tespit edilmiştir (Liu ve ark 2020).

Ma ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada bir flavonoid olan Pinocembrinin profilaktik tedavisinin kladin-5 düzeylerinde I/R bağlı olarak meydana gelen olumsuz değişimleri önlediği rapor edilmiştir.

Benzer bir beyin-iskemi reperfüzyon çalışmasında da okludin ile kladin-5 düzeylerinde cerrahi uygulama ile ortaya çıkan azalmaların İsorhamnetin tedavisi kan beyin bariyer geçirgenliğini azaltmak suretiyle beyinde oluşan ödemi azalttığı görülmüştür (Zhao ve ark 2016).

Erkek Sprague Dawley sıçanlar üzerinde 2 saat süreyle oluşturulan iskemi ve sonrası reperfüzyona bağlı olarak meydana gelen ZO-1 ve okludinin iskemi grubundaki azalmış mRNA ekspresyonundaki azalma *Panax Notoginseng*'den elde edilen saponin türü bir bileşik olan notoginsenoside (NG)'nin farklı dozlarda tedavisi ile düzelme göstermiştir (Zhang ve ark 2024). Trilobatin (TLB), *Lithocarpus polystachyus* Rehd yapraklarından izole edilen bir flavonoid bileşiktir. TLB'nin sıçanlarda iskemik hasara karşı kan bariyer bütünlüğünü

koruduğu, nöronal kaybı önlediği, ZO-1, okludin, klaudin 5 sıkı bağlantı proteinlerini arttırdığı yapılan çalışmada (Feng ve ark 2024) tarafından rapor edilmiştir.

Bir flavonoid olan Naringenin (NAR), KBB bütünlüğü üzerine etkisini inceleyen bir araştırmada NAR tedavisinin sıkı bağlantı proteinleri olan ZO-1, okludin, klaudin düzeylerini yukarı doğru düzenleyerek koruyucu etki sağladığı görülmüştür (Yang ve ark 2025).

Luteolin-7-O-β-D-glukuronid (LGU) flavonoid özellikli ana aktif monomer bileşiğidir. Sıçanlarda I/R hasarında KBB geçirgenliği üzerinde LGU etkisi incelendiğinde sonuçlar, LGU'nun I/R üzerinde koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir. LGU, iskemik sıçanlarda azalmış sıkı bağlantı proteinleri olan ZO-1 ve okludin düzeylerini iyileştirdi (Fan ve ark 2024).

Geleneksel Çin tıbbında kullanılan Shouhui Tongbian Kapsülleri (SHTB), sekiz geleneksel Çin bitkisinden oluşur. Sıçanlara 5 gün boyunca SHTB ile ön tedavi uygulanan çalışmada amaç SHTB'nin MCAO/R hasarı üzerindeki koruyucu etkilerini tespit etmektir. Sonuçlara göre SHTB sıçanlarda MCAO/R hasarını önleyen ve beyin patolojisini iyileştiren bir etki göstermiştir. Lipit metabolizma bozukluklarını iyileştirdiği için oksidatif stresi azatmış ve beyin hasarını hafifletmiştir. KBB'ni koruyan ZO-1 ve okludin ekspresyonunu yukarı regüle etmiştir. SHTB yine bağırsak mikrobiyotasını düzenlediği için klaudin-5 ve ZO-1 proteinlerini arttırarak bağırsak bariyerini de iyileştirmiştir (Wei ve ark 2025).

Vitexin, alı bitkisinin kurutulmuş yapraklarından elde edilen biyoaktif flavonoid bileşiğidir. İnsan beyin mikrovasküler endotel I/R hasar modelinde Vitexin etkileri incelendiğinde; Vitexin'in inflamasyonu hafiflettiği, KBB bütünlüğünü koruyabildiği ve sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu arttırdığı belirtilmiştir (Cui ve ark 2019).

Pinocemberin, flavonoid ailesine ait bir flavanon bileşiğidir. Fokal serebral iskemik oluşturulan sıçanlarda Pinocemberin'in koruyucu etkileri incelenmiştir. Sıkı bağlantı proteinlerinden okludin ve ZO-1'deki iskemik azalmalar inhibe edilmiştir (Gao ve ark 2010). Hipoksik iskemik sıçanlarda vitexin kullanımının KBB bütünlüğünü ZO-1 ekspresyonunu arttırarak iyileştirdiği sonucuna varılmıştır (Luo ve ark 2018).

Soya izoflavonu ile ön tedavi edilen ve sonra iskemi oluşturulan sıçanlarda, tedavi edilmeyen gruba göre azalan okludin ekspresyonu düzelmiştir (Li ve ark 2023). Naruritin turuncgillerde bulunan bir flavonoiddir. I/R öncesi farelerde ön tedavi olarak 7 gün NAR kullanılmıştır. Farelerde I/R hasarı sonrası sıkı bağlantı protein ekspresyonu artarak KBB fonksiyonu düzenlenmiştir (Luo ve ark 2024). Bizim gerçekleştirmiş olduğumuz araştırmada öncelikle yukarıda örnekleri verilen farklı beyin iskemi-reperfüzyonuna bağlı olarak meydana gelen ve KBB bozulmasına götüreceği olan okludin ve kludin düzeylerindeki azalmalar bahse konu araştırma bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada sentetik bir flavonoid olan ve değişik beyin iskemi reperfüzyon modellerinde etkisi araştırılan DiOHF'nin erkek Wistar-albino sıçanlarında 30 dakikalık iskemi ve sonrasında 1 hafta süreli reperfüzyonla beraber DiOHF tedavisinin etkisi incelendi. Daha önceden kullandığımız molekül olan DiOHF'nin KBB yapısı ve fonksiyonunda önemli moleküller olan kludin ve okludin tanımlanmasını artmış olduğunu belirledik. Dolayısıyla elde etmiş olduğumuz veriler bu flavonoidin tedavideki etkinliği açısından yeni bir bulgu olarak ön plana çıkmakta olup farklı flavonoidlerden elde edilmiş olan tedavi etkinliğine benzerlik sağlamaktadır.

Araştırmamızda diğer bir yapısal protein olan ve iskelet yapısında ile hücre içi iletişimde önemli bir etkinliğe sahip olan β -aktin seviyelerinin deneysel beyin I/R'da frontal korteks ile hipokampus dokusundaki değişimi de incelendi bu parametre her iki dokuda I/R sonucu önemli bir artış gösterdi. Aktinin hücre dışı ortamlarda bulunması hücre yıkımı ya da aktif aktin üretimi nedeniyle olabileceği öne sürülmüştür (Kaczmarek ve ark 2013).

İnme riski belirteci olarak β aktin incelendiğinde; akut serebral enfarktüs grubunda β aktin seviyelerinin akut olmayan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Zhang ve ark 2016). Ancak β aktinin serebral iskemi sürecinde artışının nereden kaynaklandığı konusunda net bir fikir birliği bulunmamaktadır. Sıçanlarda yapılan çalışmada, 2 saatlik fokal serebral iskemiye izleyen 24 saatte β -aktinin parçalandığı tespit edilmiştir (Ye ve ark 2018). Hipoksik iskemi sonucu prematüre sıçanlarda beyaz cevherdeki F-aktinin membrandaki içeriği azalmış ve plazma konsantrasyonu artmıştır (Li ve ark 2007). Aktin bağlayıcı protein olan drebrin, eksitotoksisitenin neden olduğu beyin hasarı sonucu

parçalanmış olduğu görülmüştür (Chimura ve ark 2015). F-aktin demeti endotel hücrelerin sıklığını ve KBB'yi korumak için önemli olan sıkı bağlantı proteinlerini stabilize etmek için hücre-hücre sınırında bulunur (Alhadidi ve ark 2016). Dejeneratif nöronlarda F-aktin azalması ve geçici agregasyonu yaygındır. Global serebral iskemili sıçanlarda reperfüzyon sonrası hipokampal CA1 nöronlarında F/G-aktin oranı azalmıştır ve F-aktindeki azalma iskemik hasarın ilerlemesiyle bağlantılı bulunmuştur (Guo ve ark 2019).

Kofilaktin çubukları (CAR), kofilin-1 ve aktinin 1:1 agregatlarıdır. İskemik koşullara maruz kalan nöronlarda CAR oluşumu gözlenmiştir. Kofilin-1 aşırı ekspresyonu kofilin-aktin çubuk oluşumunu başlatarak sinaptik yapı ve işlevi bozabilir ve CAR oluşumunu uyarabilir (Jang ve ark 2005). Oksijen-glikoz yoksunluğu sonucu oluşan iskemide ATP tükenmesinin CAR oluşumu için gerekli olmadığı anlaşılmıştır. Oksijen-glikoz yoksunluğu sonucu oluşan CAR, hem glutamat reseptör antagonistleri hem de NADPH oksidaz inhibitörleri tarafından engellenmiştir. Bu yol oksijen-glikoz yoksunluğunda iskemide CAR oluşumunun biyokimyasal yolağını açıklar. İskemik inmede CAR'lar nörit kaybına neden olur (Mai ve ark 2024). Hipokampal CA1 alt bölgesinde sıçanlarda iskemiden dolayı filamentöz F-aktinin azaldığı ve yine CA1 bölgesinde F-aktin/G-aktin oranında belirgin bir azalma mevcuttur. F-aktin hasarı iskeminin gelişimiyle eş zamanlı olarak ilerler (Zhang ve ark 2022).

RhoA-Rock2 sinyal yolunun anormalliği F-aktin depolimerizasyonunu azaltıp hücrel hipoksi ve glikoz yoksunluğunun sebep olduğu hücre iskeleti hasarını engeller. Huyou flavonoidlerinin serebral iskeminin önlenmesi ve tedavi seçeneği olabileceğine işaret etmektedir (Zheng ve ark 2023).

Aktif mikroglial hücreler, iskemik felçten sonra fazla miktarda inflamatuvar aracı salgılamaktadır. 108 Sprague-Dawley sıçanlarına Scutellarin enjeksiyonu sonucu I/R hasarında mikroglia aracılı nöroinflamasyonun hafiflediği gözlemlenmiştir. BV-2 mikroglia, scutellarin tedavisinden sonra ciddi morfolojik değişime uğramıştır. F-aktin etiketlemesi, aktin floresan yoğunluğunun artmasına neden olmuş ve BV-2 mikroglianın morfolojisini değiştirdiği gözlemlenmiştir (Yuan ve ark 2015).

Na-K-Cl eş taşıyıcısı (NKCC) hücrel iyon homeostazında ve sonrasında hücre içi sıvı birikmesinde rol alan bir transmembran protein ailesidir (Haas ve Forbush III 2000). NKCC1 aktin siteskeletonu ile etkileşime girer ve NKCC1 baskılanmasıyla F-aktin de azalır (Schiapparelli ve ark 2017). Yaralı endotel hücrelerinde bulunan F-aktin stres lifleri KBB bütünlüğünün bozulmasında rol alır (Shi ve ark 2016). Hipoksik iskemik sıçanlarda vitexin kullanımının F-aktin stres lifi oluşumunda bir azalma sağladığı sonucuna varılmıştır (Luo ve ark 2018).

Beyin iskemi-reperfüzyonunda β -aktin düzeylerindeki değişimlerin incelendiği çalışmalarda farklı veriler bulunduğu görülmektedir. Bunlardan bir kısmı beyin I/R ile β -aktin düzeylerindeki azalmayı belirtirken bazı araştırmalarda ise β -aktin düzeylerinde artışlar rapor edilmiştir. Bizim araştırmamızda deneysel beyin I/R ile hem frontal korteks hem de hipokampus dokusundaki β -aktin seviyeleri kontrol gruplarına göre önemli artış gösterirken 1 hafta süreli tedavi ile düzelme belirlenmiştir. Bazı araştırmalarda özellikle iskemi sonrasındaki özellikle reperfüzyona bağlı olarak β -aktin artışının rapor edilmesi araştırmamızı destekler niteliktedir (Zhang ve ark. 2022). Benzer şekilde, oksidatif stresin aktin filament yapısını bozarak yeniden organizasyon ihtiyacını artırdığı, bu nedenle β -aktin ekspresyonunun strese bağlı olarak yükseldiği bildirilmektedir (Dohgu ve ark 2005).

Flavonoidlerin antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle bu yanıtı baskılayarak aktin sentezini dolaylı yoldan azaltabileceği belirtmektedir (Shen ve ark 2022). Ayrıca bazı flavonoidlerin aktin polimerizasyonunu düzenleyen proteinler (kofilin gibi) üzerinden etkili olabildiği ve bu mekanizma aracılığıyla aktin dinamiklerini değiştirdiği belirlenmiştir (Zheng ve ark 2023). Zhang ve ark. (2022) çalışmasında, iskemik hasar sonrası hipokampal CA1 bölgesinde filamentöz F-aktin düzeylerinin reperfüzyon süresine bağlı olarak azaldığı ve F/G-aktin oranında belirgin bir düşüş gözlemlendiği bildirilmiştir. Ancak aynı çalışmada reperfüzyon süresindeki uzamanın aynı parametrede artışla sonuçlandığı rapor edilmiştir. Bu bulgular, iskeminin aktin iskeleti üzerindeki yıkıcı etkilerini ve nöronal yapının stabilitesine yönelik tehditleri ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, çalışmamızda da iskemi-reperfüzyon grubunda beta-aktin düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu artış, iskeminin ardından hücre iskeletinde meydana gelen yeniden yapılanmayı ve olası kompensasyon mekanizmalarını yansıtmaktadır.

DiOHF tedavisi uygulanan grupta ise beta-aktin düzeylerinde belirgin bir azalma görülmüştür. Bu bulgu, DiOHF'nin aktin iskeletinin düzenlenmesindeki potansiyel rolünü ve iskemik süreçlerdeki patolojik değişiklikleri sınırlamaya yönelik etkilerini göstermektedir. Flavonoid tedavisinin, iskemik hasar sonucu bozulmuş hücre iskeleti dinamiğini iyileştirebileceği ve nöronal stabiliteyi koruyabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda DiOHF'un uygulandığı grupta β -aktin düzeyinin kontrol grubunun da altına düşmesi, hücresel yeniden yapılanma ihtiyacının ortadan kalktığını ve DiOHF'nin aktin sitoskeletal sistemi üzerinde ilgili gen tanımlanması üzerinde baskılayıcı/dengeleyici bir etkisi olabileceğini göstermektedir.

Araştırmamızda ayrıca hücre yapısı ve KBB açısından önemli etkileri olan MMP'lerde değerlendirildi. İncelemiş olduğumuz parametreler MMP-3 ve MMP-9 idi. Her iki molekülde beyin iskemi-reperfüzyonuyla birlikte önemli bir artış gösterdi. Ancak reperfüzyonla beraber 7 günlük DiOHF uygulaması I/R'nin oluşturduğu MMP artışlarını önemli şekilde baskıladı.

Beyinde aktif MMP'lerden biri olan MMP-3 artışıyla KBB hasarı oluşur ve periferdeki inflamatuvar sitokinlerin beyin hücrelerine geçmesiyle bu durum nöroinflamasyon ve nöronal ölüm ile sonuçlandığı belirlenmiştir (Zhao ve ark 2006).

MMP-9, merkezi sinir sisteminde sıkı bağlantı proteinlerini parçalayarak KBB'nin bozulmasına neden olduğu (Yang ve ark 2007) ve serebral iskemi sonrası MMP-9 ekspresyonu artırmak suretiyle KBB hasarı oluşmasına katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Kamada ve ark 2007).

Sıçanlarda serebrovasküler düz kas hücrelerinde I/R'den sonra MMP-9 ekspresyonunun arttığı görülmüştür (Maddahi ve ark 2009). Akut iskemik inmede artmış MMP-9 seviyelerinin mortalite ve majör sakatlık riskiyle ilişkili olduğu düşünülmüştür (Zhong ve ark 2017).

Akut iskemide rt-PA uygulaması ve LOX-1/MMP-9 inhibisyonunun inme üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; 12 ve 24 saatlik reperfüzyon sırasında çeşitli inflamasyon belirteçlerinin arttığı ve kan bariyer bütünlüğü belirteçlerinin mRNA seviyelerinin ise azaldığı bildirilmiştir. MMP-9 seviyelerinde de artış olduğu belirtilmiştir. Beyin mikrovasküler endotel hücrelerinde LOX-1/MMP-9 inhibisyonunun MMP-9 seviyelerini, inflamasyonu ve MMP-9

aktivasyonunu azalttığını rt-PA tedavisiyle nörolojik fonksiyonda olumlu bir etki sağlayarak iskemik inmenin olumsuz etkilerini azalttığı gözlemlenmiştir (Arkelius ve ark 2024).

Erkek Sprague Dawley sıçanları üzerinde gerçekleştirilmiş olan bir araştırmada iskemik sıçanlarda MMP-2 ve MMP-9 aktivitesinin de I/R hasarıyla önemli bir şekilde arttığı gösterilmiştir (Wang ve ark 2023). Serebral I/R'li sıçanlara kaempferol tedavisi yapılmıştır. Tedavi sonucu serebral enfarktüs hacminin azaldığı, iskemi sonrası inflamasyon ve KBB hasarının hafiflediği görülmüştür. Ayrıca transkripsiyon faktörü NF- κ B, p65 fosforilasyonu ve transpozisyonunu azaltarak pro-inflamatuar proteinlerin ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Li ve ark 2019). İzosakuranetin I/R durumunda kan beyin bariyeri hasarındaki etkisi incelendiğinde, kullanılan Evan Blue sızıntısının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Janyou ve ark 2024).

Erkek Wistar sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada 60 dakika süreli fokal beyin iskemisinde MMP-9 ekspresyonu artmış, fakat izoflavon tedavisi I/R ile oluşan MMP-9 artışını baskılamıştır (Li ve ark 2023). Flavonoid alt grubundan olan kalikozin-7-O- β -D-glukozidi (CG) izoflavon tedavisi uygulanan sıçanlarda CG, in vivo MCAO I/R sıçan modelinde MMP'lerin (MMP-2 ve MMP-9) ekspresyonunu ve aktivitelerini belirgin şekilde baskılamıştır (Fu ve ark 2014).

Sprague-Dawley sıçanları üzerinde *R. Laevigata Michx* meyvesindeki flavonoid bakımından zengin ekstraktın (FRE) serebral I/R hasarına karşı koruyucu etkileri araştırıldığı bir çalışmada oral FRE uygulanmasının hasarı destekleyen MMP-9 düzeylerinde azalma göstermiştir (Zhang ve ark 2013).

Sprague-Dawley sıçanlarıyla yapılan bir çalışmada bir tür flavonoid olan Pinocembrin (PCB) sıçanlardaki profilaktik tedavisi MMP-9 ve MMP-2 aktivasyonlarını baskılamıştır (Ma ve ark 2018).

Trilobatin (TLB), *Lithocarpus polystachyus Rehd* yapraklarından izole edilen bir flavonoid bileşiğidir. Bu çalışmada TLB'nin KBB üzerindeki koruyucu etkilerinin MMP-9'un aşırı ekspresyonuyla ortadan kalktığı, MMP-9'un baskılanmasıyla KBB üzerindeki yararlı etkilerinin güçlendiği sonucuna ulaşılmıştır (Feng ve ark 2024).

Luteolin-7-O- β -D-glukuronid (LGU) flavonoid özellikli ana aktif monomer bileşimidir. LGU, iskemik sıçanlarda artmış MMP-9 ekspresyonunu önemli ölçüde azaltmıştır (Fan ve ark 2024). *Erigeron breviscapus* Hand-Mazz bitkisinden elde edilen bir flavonoid olan Scutellar (Scu) tarafından uyarılan mitofajinin MMP kaybını ve aşırı mito-ROS üretimini sınırlayabileceği ve bunun oksidasyon/antioksidan sisteminin dengesini korumada yararlı olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark 2024).

Icariin (ICA), in vivo metabolizmaya uğrayarak Icaritin (ICT)'i üretir. ICT akut serebral I/R durumlarında ICA'ya göre nörolojik hasarı daha etkili azaltır (Wu ve ark 2021). Yapılan deneylerde ICT ön koruması mPTP'nin açılmasını ve I/R hasarıyla artan MMP artışını önemli oranda engellemiş olduğu rapor edilmiştir (Zhou ve ark 2024).

Hesperidinin 7 günlük tedavisiyle inme hastalarının iyileşme seviyeleri artmıştır. Ayrıca MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinde azalmayı teşvik etmiştir (Qin ve ark 2020).

Rosa laevigata MICHX meyvesinden elde edilen flavonoid özellikli özütün (FRE), serebral I/R hasarında MMP-9 ekspresyonunu azalttığı belirlenmiştir (Zhang ve ark 2013). Nobiletin antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle bilinir. Nobiletin (NOB) I/R'li sıçanlarda MMP-9 seviyelerini azaltmıştır (Zhang ve ark 2016). Soya izoflavonu ile ön tedavi edilen ve sonra iskemi oluşturulan sıçanlarda, tedavi edilmeyen gruba göre MMP-9 ekspresyonunda düzelme görülmüştür (Li ve ark 2023).

Fokal iskemi uygulanan sıçanlarda quersetin tedavisi, MMP-9 aktivitesi üzerinde inhibitör etki göstermiştir böylece iskemi sırasında oluşan KBB hasarı hafiflemiştir (Lee ve ark 2011). Rutin flavonoid bir glikozittir. Rutin ile tedavi edilen iskemik sıçanlarda MMP-9 ekspresyonu iskemik kontrol grubuna göre önemli derecede azalmıştır (Jang ve ark 2014). Yeşilçay polifenolü epigallokateşin gallat (EGCG) iskemi sonrası farelere uygulanmıştır. İskemi nedeniyle ekspresyonu artan MMP-9, EGCG uygulamasıyla azalmıştır (Park ve ark 2010).

Polifenollerin in vivo ve in vitro post-iskemi neovaskülarizasyon üzerindeki etkilerinin incelendiği iskelet kası iskemisinde daha düşük MMP aktivasyonu belirlenmiştir (Baron-Menguy ve ark 2007). Çin bitkisi *Ophiopogon japonicus*'un

aktif homoizoflavonoidinin (MO-A) I/R üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde MO-A'nın MMP-9'u baskıladığı gözlemlenmiştir (Lin ve ark 2015). Başka bir çalışmada deneysel iskemik inmede naringenin sıçanlarda MMP-9 ekspresyonunu aşağı düzenlemiştir (Bai ve ark 2014).

Yukarıda farklı deneysel modeller ve iskemik inme geçiren hastalar incelendiğinde I/R sonucu matris proteinlerinden olan MMP'lerin önemli şekilde artışlar belirlenmiştir. Gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmada da erkek Wistar sıçanlarda 30 dakika süreli iskemi ve sonrasında 1 hafta reperfüzyonla birlikte çalışılmış dokular olan frontal korteks ve hipokampüste MMP-3 ve MMP-9 seviyeleri belirgin artış göstermiş olması örnekleri verilen benzer çalışmalarla uyum göstermektedir. Genel mekanizma olarak özellikle MMP-3, MMP-9'un bir aktivatörü olarak görev aldığından özellikle hipokampüste MMP-3 artışı ilgili dokudaki MMP-9 seviyelerinde daha belirgin artışlara sebep olmuştur.

Ancak yapılan tedavi ile MMP değerlerinde I/R ile oluşan artışlar önlenabilir şekilde baskılanmış olması farklı flavonoidlerden sağlanmış olan tedavi edici etkinliği desteklemektedir. Bununla beraber daha önceki çalışmalarda benzeri deneysel modellerde DiOHF kullanılmamış olması nedeniyle DiOHF'nin önemli bir etkinliği olarak ön plana çıkmaktadır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada serebral I/R hasarının frontal korteks ve hipokampus bölgelerinde sebep olduğu değişiklikler ile 3',4'-dihidroksi flavonol (DiOHF) uygulamasının etkileri belirlenmiş ve değerlendirilmiştir.

I/R; KBB yapısı ve fonksiyonunda önemli moleküller olan klaudin, okludin düzeylerini baskılayarak, beta aktin, MMP-3 ve MMP-9 seviyelerini artırmıştır.

Ancak reperfüzyonla birlikte 1 hafta süreli periton içi DiOHF uygulaması I/R ile ortaya çıkan değişimleri düzeltmiştir.

Yapılan çalışmada serebral iskemi sonucu kan beyin bariyer bütünlüğünün bozulduğunu ve matriks yıkımının ve aktin iskelet yeniden yapılanmasının aktive olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada DiOHF'un KBB bütünlüğünü sağlayan sıkı bağlantı protein düzeylerini artırma ve doku yıkımı ile ilişkili enzimlerin ekspresyonu üzerinde baskılayıcı ve hücre iskelet bütünlüğünü sağlayan parametre üzerinde düzenleyici etkileri bulunduğu tespit edilmiştir. Bunlar DiOHF'nin potansiyel terapötik etkilerini gösteren somut bulgular olarak değerlendirilebilir.

Tüm bunlar DiOHF'nin özellikle KBB bütünlüğünü koruma konusunda güçlü bir flavonoid olabileceği fikrini ortaya atmaktadır.

Ancak gelecekte yapılacak ve ilgili yolaklardaki moleküler mekanizmayı aydınlatacak daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- Aggarwal A, Singh I, Sandhir R, 2018. Protective effect of S-nitrosoglutathione administration against hyperglycemia induced disruption of blood brain barrier is mediated by modulation of tight junction proteins and cell adhesion molecules. *Neurochemistry International*, 118, 205-16.
- Aladag T, Acar G, Mogulkoc R, Baltaci AK, 2024. Improvement of neuronal and cognitive functions following treatment with 3', 4' dihydroxyflavonol in experimental focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *European Journal of Pharmacology*, 976, 176670.
- Alhadidi Q, Bin Sayeed MS, Shah ZA, 2016. Cofilin as a promising therapeutic target for ischemic and hemorrhagic stroke. *Translational stroke research*, 7, 1, 33-41.
- Arkelius K, Wendt TS, Andersson H, Arnou A, Gottschalk M, Gonzales RJ, Ansar S, 2024. LOX-1 and MMP-9 inhibition attenuates the detrimental effects of delayed rt-PA therapy and improves outcomes after acute ischemic stroke. *Circulation Research*, 134, 8, 954-69.
- 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- κ B, MMP-9 and up-regulated claudin-5 expression. *Neurochemical research*, 39, 1405-15.
- Baron-Menguy C, Bocquet A, Guihot AL, Chappard D, Amiot MJ, Andriantsitohaina R, Loufrani L, Henrion D, 2007. Effects of red wine polyphenols on postischemic neovascularization model in rats: low doses are proangiogenic, high doses anti-angiogenic. *The FASEB Journal*, 21, 13, 3511-21.
- Bell L, Oruna-Concha MJ, Wagstaff C, 2015. Identification and quantification of glucosinolate and flavonol compounds in rocket salad (*Eruca sativa*, *Eruca vesicaria* and *Diplotaxis tenuifolia*) by LC-MS: Highlighting the potential for improving nutritional value of rocket crops. *Food Chemistry*, 172, 852-61.
- Benz F, Liebner S, 2020. Structure and function of the blood-brain barrier (BBB). In: *Physiology, Pharmacology and Pathology of the Blood-Brain Barrier*. Eds: Springer, p. 3-31.
- Bernardo-Castro S, Sousa JA, Brás A, Cecília C, Rodrigues B, Almendra L, Machado C, Santo G, Silva F, Ferreira L, 2020. Pathophysiology of blood-brain barrier permeability throughout the different stages of ischemic stroke and its implication on hemorrhagic transformation and recovery. *Frontiers in neurology*, 11, 594672.
- Bonventre JV, Zuk A, 2004. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney international*, 66, 2, 480-5.
- Chamoun F, Burne M, O'Donnell M, Rabb H, 2000. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Front Biosci*, 5, 1, 103-9.
- Chang H-C, Yang Y-R, Wang PS, Wang R-Y, 2014. Quercetin enhances exercise-mediated neuroprotective effects in brain ischemic rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 46, 10, 1908-16.
- Chang L-L, Li C, Li Z-L, Wei Z-L, Jia X-B, Pang S-T, An Y-Q, Gu J-F, Feng L, 2020. *Carthamus tinctorius* L. Extract ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by regulating matrix metalloproteinases and apoptosis. *Indian Journal of Pharmacology*, 52, 2, 108-16.
- Chen H, Guan B, Chen X, Chen X, Li C, Qiu J, Yang D, Liu KJ, Qi S, Shen J, 2018. Baicalin attenuates blood-brain barrier disruption and hemorrhagic transformation and improves neurological outcome in ischemic stroke rats with delayed t-PA treatment: involvement of ONOO⁻-MMP-9 pathway. *Translational Stroke Research*, 9, 515-29.
- Chen Y, Li Y, Xu H, Li G, Ma Y, Pang YJ, 2017. Morin mitigates oxidative stress, apoptosis and inflammation in cerebral ischemic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14, 2, 348-55.
- Chimura T, Launey T, Yoshida N, 2015. Calpain-mediated degradation of drebrin by excitotoxicity in vitro and in vivo. *PLoS One*, 10, 4, e0125119.
- Cho J-Y, Kim I-S, Jang Y-H, Kim A-R, Lee S-R, 2006. Protective effect of quercetin, a natural flavonoid against neuronal damage after transient global cerebral ischemia. *Neuroscience letters*, 404, 3, 330-5.
- Choi EJ, Ahn WS, 2008. Kaempferol induced the apoptosis via cell cycle arrest in human breast cancer MDA-MB-453 cells. *Nutrition research and practice*, 2, 4, 322-5.
- Coyle JT, Puttfarcken P, 1993. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*, 262, 5134, 689-95.
- Crack PJ, Taylor JM, 2005. Reactive oxygen species and the modulation of stroke. *Free Radical Biology and Medicine*, 38, 11, 1433-44.

- Cui Y-h, Zhang X-q, Wang N-d, Zheng M-d, Yan J, 2019. Vitexin protects against ischemia/reperfusion-induced brain endothelial permeability. *European journal of pharmacology*, 853, 210-9.
- Çetin O, Aladag T, Acar G, Onal U, Baltaci SB, Mogulkoc R, Baltaci AK, 2025. 3', 4'-Dihydroxy Flavonol (DiOHF) Exerting a Positive Effect on Neurogenesis and Retinal Damage in Experimental Brain Ischemia-Reperfusion of Rats. *Current Pharmaceutical Design*.
- Dasdelen D, Solmaz M, Menevse E, Mogulkoc R, Baltaci AK, Erdogan E, 2021. Increased apoptosis, tumor necrosis factor- α , and DNA damage attenuated by 3', 4'-dihydroxyflavonol in rats with brain Ischemia-reperfusion. *Indian Journal of Pharmacology*, 53, 1, 39-49.
- Dohgu S, Takata F, Yamauchi A, Nakagawa S, Egawa T, Naito M, Tsuruo T, Sawada Y, Niwa M, Kataoka Y, 2005. Brain pericytes contribute to the induction and up-regulation of blood–brain barrier functions through transforming growth factor- β production. *Brain research*, 1038, 2, 208-15.
- Dorweiler B, Pruefer D, Andradi TB, Maksan SM, Schmiedt W, Neufang A, Vahl CF, 2007. Ischemia-reperfusion injury: pathophysiology and clinical implications. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 33, 600-12.
- Doyle KP, Simon RP, Stenzel-Poore MP, 2008. Mechanisms of ischemic brain damage. *Neuropharmacology*, 55, 3, 310-8.
- Du J, Yin G, Hu Y, Shi S, Jiang J, Song X, Zhang Z, Wei Z, Tang C, Lyu H, 2021. Coicis semen protects against focal cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting oxidative stress and promoting angiogenesis via the TGF β /ALK1/Smad1/5 signaling pathway. *Aging (Albany NY)*, 13, 1, 877.
- Dudek SM, Garcia JG, 2001. Cytoskeletal regulation of pulmonary vascular permeability. *Journal of applied physiology*, 91, 4, 1487-500.
- Edvinsson L, Krause DN, 1993. Cerebral blood flow and metabolism. (No Title).
- Fan X, Song J, Zhang S, Lu L, Lin F, Chen Y, Li S, Jin X, Wang F, 2024. Luteolin-7-O- β -d-glucuronide attenuated cerebral ischemia/reperfusion injury: involvement of the blood–brain barrier. *Biomedicines*, 12, 6, 1366.
- Feldman GJ, Mullin JM, Ryan MP, 2005. Occludin: structure, function and regulation. *Advanced drug delivery reviews*, 57, 6, 883-917.
- Feng L, Li Y, Lin M, Xie D, Luo Y, Zhang Y, He Z, Gong Q, Zhun ZY, Gao J, 2024. Trilobatin attenuates cerebral ischaemia/reperfusion-induced blood–brain barrier dysfunction by targeting matrix metalloproteinase 9: The legend of a food additive. *British Journal of Pharmacology*, 181, 7, 1005-27.
- Fisher M, Savitz SI, 2022. Pharmacological brain cytoprotection in acute ischaemic stroke—renewed hope in the reperfusion era. *Nature Reviews Neurology*, 18, 4, 193-202.
- Fu S, Gu Y, Jiang J-Q, Chen X, Xu M, Chen X, Shen J, 2014. Calycosin-7-O- β -d-glucoside regulates nitric oxide/caveolin-1/matrix metalloproteinases pathway and protects blood–brain barrier integrity in experimental cerebral ischemia–reperfusion injury. *Journal of Ethnopharmacology*, 155, 1, 692-701.
- Gao J, Chen N, Li N, Xu F, Wang W, Lei Y, Shi J, Gong Q, 2020. Neuroprotective effects of trilobatin, a novel naturally occurring Sirt3 agonist from *Lithocarpus polystachyus* Rehd., mitigate cerebral ischemia/reperfusion injury: involvement of TLR4/NF- κ B and Nrf2/Keap-1 signaling. *Antioxidants & redox signaling*, 33, 2, 117-43.
- Gao M, Zhu S-Y, Tan C-B, Xu B, Zhang W-C, Du G-H, 2010. Pinocembrin protects the neurovascular unit by reducing inflammation and extracellular proteolysis in MCAO rats. *Journal of Asian Natural Products Research*, 12, 5, 407-18.
- Ghosh A, Sarkar S, Mandal AK, Das N, 2013. Neuroprotective role of nanoencapsulated quercetin in combating ischemia-reperfusion induced neuronal damage in young and aged rats. *PloS one*, 8, 4, e57735.
- Gonzalez R, Hirsch J, Koroshetz W, Lev M, Schaefer P, 2007. Acute ischemic stroke: imaging and intervention. *American Journal of Neuroradiology*, 28, 8, 1622.
- Grimble RF, 1994. Nutritional antioxidants and the modulation of inflammation: theory and practice. *New Horizons (Baltimore, Md.)*, 2, 2, 175-85.
- Gu X, Xie Y, Cao Q, Hou Z, Zhang Y, Wang W, 2024. Fisetin alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by regulating Sirt1/Foxc1/Ubqln1 pathway-mediated proteostasis. *International Immunopharmacology*, 130, 111742.
- Guo C-Y, Xiong T-Q, Tan B-H, Gui Y, Ye N, Li S-L, Li Y-C, 2019. The temporal and spatial changes of actin cytoskeleton in the hippocampal CA1 neurons following transient global ischemia. *Brain research*, 1720, 146297.

- Haas M, Forbush III B, 2000. The Na-K-Cl cotransporter of secretory epithelia. *Annual review of physiology*, 62, 1, 515-34.
- Hall J, Guyton A, 2016. Organization of the nervous system, basic functions of synapses, and neurotransmitters. *Guyton and Hall textbook of medical physiology*, 543-58.
- Han X, Zhang E, Shi Y, Song B, Du H, Cao Z, 2019. Biomaterial–tight junction interaction and potential impacts. *Journal of Materials Chemistry B*, 7, 41, 6310-20.
- Hata R, Maeda K, Hermann D, Mies G, Hossmann K-A, 2000. Dynamics of regional brain metabolism and gene expression after middle cerebral artery occlusion in mice. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 20, 2, 306-15.
- He YY, Hsu CY, Ezrin AM, Miller MS, 1993. Polyethylene glycol-conjugated superoxide dismutase in focal cerebral ischemia-reperfusion. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 265, 1, H252-H6.
- Hein TW, Zhang C, Wang W, Chang C-I, Thengchaisri N, Kuo L, 2003. Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: counteracting role of arginase. *The FASEB Journal*, 17, 15, 2328-30.
- Jang D-H, Han J-H, Lee S-H, Lee Y-S, Park H, Lee S-H, Kim H, Kaang B-K, 2005. Cofilin expression induces cofilin-actin rod formation and disrupts synaptic structure and function in *Aplysia* synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 44, 16072-7.
- Jang H-Y, Kim G-B, Kim J-M, Kang SY, Youn H-J, Park J, Ro SY, Chung E-Y, Park K-H, Kim J-S, 2023. Fisetin inhibits UVA-induced expression of MMP-1 and MMP-3 through the NOX/ROS/MAPK pathway in human dermal fibroblasts and human epidermal keratinocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 24, 17358.
- Jang J-W, Lee J-K, Hur H, Kim T-W, Joo S-P, Piao M-S, 2014. Rutin improves functional outcome via reducing the elevated matrix metalloproteinase-9 level in a photothrombotic focal ischemic model of rats. *Journal of the neurological sciences*, 339, 1-2, 75-80.
- Janyou A, Moohammadaree A, Jumnonprakhon P, Tocharus C, Chokchaisiri R, Suksamrarn A, Tocharus J, 2024. Effects of isosakuranetin on cerebral infarction and blood brain barrier damage from cerebral ischemia/reperfusion injury in a rat model. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 42, 2, 1064-71.
- Jeena K, Liju VB, Kuttan R, 2013. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger. *Indian J Physiol Pharmacol*, 57, 1, 51-62.
- Kaczmarek A, Vandenabeele P, Krysko DV, 2013. Necroptosis: the release of damage-associated molecular patterns and its physiological relevance. *Immunity*, 38, 2, 209-23.
- Kamada H, Yu F, Nito C, Chan PH, 2007. Influence of hyperglycemia on oxidative stress and matrix metalloproteinase-9 activation after focal cerebral ischemia/reperfusion in rats: relation to blood-brain barrier dysfunction. *Stroke*, 38, 3, 1044-9.
- Khamchai S, Chumboatong W, Hata J, Tocharus C, Suksamrarn A, Tocharus J, 2020. Morin protects the blood–brain barrier integrity against cerebral ischemia reperfusion through anti-inflammatory actions in rats. *Scientific reports*, 10, 1, 13379.
- Kimura-Ohba S, Yang Y, 2016. Oxidative DNA damage mediated by intranuclear MMP activity is associated with neuronal apoptosis in ischemic stroke. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1, 6927328.
- Kongsui R, Jittiwat J, 2023. Ameliorative effects of 6-gingerol in cerebral ischemia are mediated via the activation of antioxidant and anti-inflammatory pathways. *Biomedical reports*, 18, 4, 26.
- Kontos HA, 1985. George E. Brown memorial lecture. Oxygen radicals in cerebral vascular injury. *Circulation Research*, 57, 4, 508-16.
- L.Kathleen Mahan JLR, 2019. *Krause Besin Beslenme Bakım Süreci*, Ankara Nobel Tıp Kitapevleri, p.
- Lan X, Wang Q, Liu Y, You Q, Wei W, Zhu C, Hai D, Cai Z, Yu J, Zhang J, 2024. Isoliquiritigenin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by reducing oxidative stress and ameliorating mitochondrial dysfunction via activating the Nrf2 pathway. *Redox Biology*, 77, 103406.
- Lee BK, Hyun S-W, Jung Y-S, 2020. Yuzu and hesperidin ameliorate blood-brain barrier disruption during hypoxia via antioxidant activity. *Antioxidants*, 9, 9, 843.
- Lee J-K, Kwak H-J, Piao M-S, Jang J-W, Kim S-H, Kim H-S, 2011. Quercetin reduces the elevated matrix metalloproteinases-9 level and improves functional outcome after cerebral focal ischemia in rats. *Acta neurochirurgica*, 153, 1321-9.
- Li J-H, Yao Y-J, Shi J, Li D-Y, 2007. Expression of F-actin and RhoA in experimental hypoxic-ischemic white matter damage in premature SD rats. *Zhonghua er ke za zhi= Chinese Journal of Pediatrics*, 45, 10, 769-72.

- Li J, Dai F, Kou X, Wu B, Xu J, He S, 2023. β -actin: An emerging biomarker in ischemic stroke. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 43, 2, 683-96.
- Li M, Ke J, Deng Y, Chen C, Huang Y, Bian Y, Guo S, Wu Y, Zhang H, Liu M, 2021. The protective effect of liquiritin in hypoxia/reoxygenation-induced disruption on blood brain barrier. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 671783.
- Li S, Li L, Min S, Liu S, Qin Z, Xiong Z, Xu J, Wang B, Ding D, Zhao S, 2023. Soybean isoflavones alleviate cerebral ischemia/reperfusion injury in rats by inhibiting ferroptosis and inflammatory cascade reaction. *Nan Fang yi ke da xue xue bao= Journal of Southern Medical University*, 43, 2, 323-30.
- Li W-H, Cheng X, Yang Y-L, Liu M, Zhang S-S, Wang Y-H, Du G-H, 2019. Kaempferol attenuates neuroinflammation and blood brain barrier dysfunction to improve neurological deficits in cerebral ischemia/reperfusion rats. *Brain Research*, 1722, 146361.
- Li Y, Zhou Z-H, Chen M-H, Yang J, Leng J, Cao G-S, Xin G-Z, Liu L-F, Kou J-P, Liu B-L, 2016. Inhibition of mitochondrial fission and NOX2 expression prevent NLRP3 inflammasome activation in the endothelium: the role of corosolic acid action in the amelioration of endothelial dysfunction. *Antioxidants & redox signaling*, 24, 16, 893-908.
- Lin M, Sun W, Gong W, Zhou Z, Ding Y, Hou Q, 2015. Methylophipogonanone A protects against cerebral ischemia/reperfusion injury and attenuates blood-brain barrier disruption in vitro. *PLoS One*, 10, 4, e0124558.
- Lipton P, 1999. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiological reviews*, 79, 4, 1431-568.
- Liu G, Liang Y, Xu M, Sun M, Sun W, Zhou Y, Huang X, Song W, Liang Y, Wang Z, 2021. Protective mechanism of *Erigeron breviscapus* injection on blood-brain barrier injury induced by cerebral ischemia in rats. *Scientific Reports*, 11, 1, 18451.
- Liu J, Chen L, Zhang X, Pan L, Jiang L, 2020. The protective effects of juglanin in cerebral ischemia reduce blood-brain barrier permeability via inhibition of VEGF/VEGFR2 signaling. *Drug Design, Development and Therapy*, 3165-75.
- Liu M-b, Wang W, Gao J-m, Li F, Shi J-s, Gong Q-h, 2020. Icariside II attenuates cerebral ischemia/reperfusion-induced blood-brain barrier dysfunction in rats via regulating the balance of MMP9/TIMP1. *Acta Pharmacologica Sinica*, 41, 12, 1547-56.
- Liu Z, Han X, You Y, Xin G, Li L, Gao J, Meng H, Cao C, Liu J, Zhang Y, 2024. Shuangshen ningxin formula attenuates cardiac microvascular ischemia/reperfusion injury through improving mitochondrial function. *Journal of Ethnopharmacology*, 323, 117690.
- Luo J, Cai Y, Wei D, Cao L, He Q, Wu Y, 2024. Formononetin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by targeting the PARP-1/PARG/Iduna signaling pathway. *Brain Research*, 1829, 148845.
- Luo L, Wang S, Liu W, Zhang Z, Zhao M, Liu A, 2024. Narirutin attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury by suppressing the TXNIP/NLRP3 pathway. *Neurochemical Research*, 49, 3, 692-705.
- Luo W-d, Min J-w, Huang W-X, Wang X, Peng Y-y, Han S, Yin J, Liu W-H, He X-H, Peng B-W, 2018. Vitexin reduces epilepsy after hypoxic ischemia in the neonatal brain via inhibition of NKCC1. *Journal of Neuroinflammation*, 15, 1-15.
- Lv Y, Fu L, 2018. The potential mechanism for Hydroxysafflor yellow A attenuating blood-brain barrier dysfunction via tight junction signaling pathways excavated by an integrated serial affinity chromatography and shotgun proteomics analysis approach. *Neurochemistry international*, 112, 38-48.
- Ma Y, Li L, Kong L, Zhu Z, Zhang W, Song J, Chang J, Du G, 2018. Pinocebrin protects blood-brain barrier function and expands the therapeutic time window for tissue-type plasminogen activator treatment in a rat thromboembolic stroke model. *BioMed Research International*, 2018.
- Maddahi A, Chen Q, Edvinsson L, 2009. Enhanced cerebrovascular expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 via the MEK/ERK pathway during cerebral ischemia in the rat. *BMC neuroscience*, 10, 1-12.
- Mai N, Wu L, Uruk G, Mocanu E, Swanson RA, 2024. Bioenergetic and excitotoxic determinants of cofilactin rod formation. *Journal of neurochemistry*, 168, 5, 899-909.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L, 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79, 5, 727-47.
- Mesgari-Abbasi M, Eskandari Vaezi F, Hosseinzadeh F, 2024. Chronic pretreatment of Kombucha tea attenuates post-ischemic brain edema in a transient model of global cerebral ischemia. *Nutrire*, 49, 2, 40.

- Ning Y, Zheng M, Zhang Y, Jiao Y, Wang J, Zhang S, 2024. RhoA-ROCK2 signaling possesses complex pathophysiological functions in cancer progression and shows promising therapeutic potential. *Cancer Cell International*, 24, 1, 339.
- Ota-Elliott RS, Fukui Y, Bian Y, Bian Z, Hu X, Sun H, Yu H, Morihara R, Ishiura H, Yamashita T, 2024. Neuroprotective effect of, a flavonoid, sudachitin in mice stroke model. *Brain Research*, 1827, 148745.
- Oz M, Demir EA, Caliskan M, Mogulkoc R, Baltaci AK, Nurullahoglu Atalik KE, 2017. 3', 4'-Dihydroxyflavonol attenuates spatial learning and memory impairments in global cerebral ischemia. *Nutritional neuroscience*, 20, 2, 119-26.
- Park J-W, Hong J-S, Lee K-S, Kim H-Y, Lee J-J, Lee S-R, 2010. Green tea polyphenol (–)-epigallocatechin gallate reduces matrix metalloproteinase-9 activity following transient focal cerebral ischemia. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 21, 11, 1038-44.
- Peng F, Du Q, Peng C, Wang N, Tang H, Xie X, Shen J, Chen J, 2015. A review: the pharmacology of isoliquiritigenin. *Phytotherapy Research*, 29, 7, 969-77.
- Qiao H, Dong L, Zhang X, Zhu C, Zhang X, Wang L, Liu X, Chen L, Xing Y, Wang C, 2012. Protective effect of luteolin in experimental ischemic stroke: upregulated SOD1, CAT, Bcl-2 and claudin-5, down-regulated MDA and Bax expression. *Neurochemical Research*, 37, 2014-24.
- Qin Z, Chen L, Liu M, Tan H, Zheng L, 2020. Hesperidin reduces adverse symptomatic intracerebral hemorrhage by promoting TGF- β 1 for treating ischemic stroke using tissue plasminogen activator. *Neurological Sciences*, 41, 1, 139-47.
- Qiu Y-m, Zhang C-l, Chen A-q, Wang H-l, Zhou Y-f, Li Y-n, Hu B, 2021. Immune cells in the BBB disruption after acute ischemic stroke: targets for immune therapy? *Frontiers in immunology*, 12, 678744.
- Scalbert A, Williamson G, 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130, 8, 2073S-85S.
- Schaller B, Graf R, 2004. Cerebral ischemia and reperfusion: the pathophysiologic concept as a basis for clinical therapy. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 24, 4, 351-71.
- Schiapparelli P, Guerrero-Cazares H, Magaña-Maldonado R, Hamilla SM, Ganaha S, Fernandes EGL, Huang C-H, Aranda-Espinoza H, Devreotes P, Quinones-Hinojosa A, 2017. NKCC1 regulates migration ability of glioblastoma cells by modulation of actin dynamics and interacting with cofilin. *EBioMedicine*, 21, 94-103.
- Shang J, Jiao J, Wang J, Yan M, Li Q, Shabuerjiang L, Huang G, Song Q, Wen Y, Zhang X, 2024. Chrysin inhibits ferroptosis of cerebral ischemia/reperfusion injury via regulating HIF-1 α /CP loop. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 174, 116500.
- Shen N, Wang T, Gan Q, Liu S, Wang L, Jin B, 2022. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food chemistry*, 383, 132531.
- Shi Y-S, Zhang Y, Liu B, Li C-B, Wu J, Li Y, 2019. Nomilin protects against cerebral ischemia–reperfusion induced neurological deficits and blood–brain barrier disruption via the Nrf2 pathway. *Food & function*, 10, 9, 5323-32.
- Shi Y, Zhang L, Pu H, Mao L, Hu X, Jiang X, Xu N, Stetler RA, Zhang F, Liu X, 2016. Rapid endothelial cytoskeletal reorganization enables early blood–brain barrier disruption and long-term ischaemic reperfusion brain injury. *Nature communications*, 7, 1, 10523.
- Simon R, Swan J, Griffiths T, Meldrum B, 1984. Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors may protect against ischemic damage in the brain. *Science*, 226, 4676, 850-2.
- Sonoda N, Furuse M, Sasaki H, Yonemura S, Katahira J, Horiguchi Y, Tsukita S, 1999. Clostridium perfringens enterotoxin fragment removes specific claudins from tight junction strands: Evidence for direct involvement of claudins in tight junction barrier. *The Journal of cell biology*, 147, 1, 195-204.
- Spencer JP, 2009. Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms. *Genes & nutrition*, 4, 4, 243-50.
- Su L, Liu Y, Ma H, Zheng F, Daia Y, Wang T, Wang G, Li F, Zhang Y, Yu B, 2022. YiQiFuMai lyophilized injection attenuates cerebral ischemic injury with inhibition of neuronal autophagy through intervention in the NMMHC IIA–actin–ATG9A interaction. *Phytomedicine*, 95, 153882.
- Sudakov N, Klimenkov I, Byvaltsev V, Nikiforov S, Konstantinov YM, 2017. Extracellular actin in health and disease. *Biochemistry (Moscow)*, 82, 1-12.
- Sugawara T, Chan PH, 2003. Reactive oxygen radicals and pathogenesis of neuronal death after cerebral ischemia. *Antioxidants and Redox Signaling*, 5, 5, 597-607.

- Tsai Y-T, Huang H-C, Kao S-T, Chang T-T, Cheng C-Y, 2022. Neuroprotective effects of alpinia oxyphylla Miq against mitochondria-related apoptosis by the interactions between upregulated p38 MAPK signaling and downregulated JNK signaling in the subacute phase of cerebral ischemia-reperfusion in rats. *The American Journal of Chinese Medicine*, 50, 08, 2057-83.
- Vaghasiya JD, Sheth NR, Bhalodia YS, Jivani NP, 2010. Exaggerated liver injury induced by renal ischemia reperfusion in diabetes: effect of exenatide. *Saudi Journal of Gastroenterology*, 16, 3, 174-80.
- Wang H-K, Su Y-T, Ho Y-C, Lee Y-K, Chu T-H, Chen K-T, Wu C-C, 2023. HDAC1 is Involved in Neuroinflammation and Blood-Brain Barrier Damage in Stroke Pathogenesis. *Journal of Inflammation Research*, 4103-16.
- Wang L, Cao D, Wu H, Jia H, Yang C, Zhang L, 2019. Fisetin prolongs therapy window of brain ischemic stroke using tissue plasminogen activator: a double-blind randomized placebo-controlled clinical trial. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 25, 1076029619871359.
- Wang L, Deng L, Yuan R, Liu J, Li Y, Liu M, 2020. Association of matrix metalloproteinase 9 and cellular fibronectin and outcome in acute ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Neurology*, 11, 523506.
- Wang L, Wei C, Deng L, Wang Z, Song M, Xiong Y, Liu M, 2018. The accuracy of serum matrix metalloproteinase-9 for predicting hemorrhagic transformation after acute ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 27, 6, 1653-65.
- Wang W, Li M, Wang Y, Li Q, Deng G, Wan J, Yang Q, Chen Q, Wang J, 2016. GSK-3 β inhibitor TWS119 attenuates rtPA-induced hemorrhagic transformation and activates the Wnt/ β -catenin signaling pathway after acute ischemic stroke in rats. *Molecular neurobiology*, 53, 7028-36.
- Wang X-H, You Y-P, 2017. Epigallocatechin gallate extends therapeutic window of recombinant tissue plasminogen activator treatment for brain ischemic stroke: a randomized double-blind and placebo-controlled trial. *Clinical neuropharmacology*, 40, 1, 24-8.
- Wei F, Zhou J, Pan L, Shen M, Niu D, Zeng Z, Cheng G, Yao J, Zhang G, Sun C, 2025. Integrative microbiomics, proteomics and lipidomics studies unraveled the preventive mechanism of Shouhui Tongbian Capsules on cerebral ischemic stroke injury. *Journal of Ethnopharmacology*, 337, 118874.
- Williams RJ, Spencer JP, 2012. Flavonoids, cognition, and dementia: actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 52, 1, 35-45.
- Wu C-T, Chen M-C, Liu S-H, Yang T-H, Long L-H, Guan S-S, Chen C-M, 2021. Bioactive flavonoids icaritin and icariin protect against cerebral ischemia-reperfusion-associated apoptosis and extracellular matrix accumulation in an ischemic stroke mouse model. *Biomedicines*, 9, 11, 1719.
- Wu S, Yue Y, Li J, Li Z, Li X, Niu Y, Xiang J, Ding H, 2015. Procyanidin B2 attenuates neurological deficits and blood-brain barrier disruption in a rat model of cerebral ischemia. *Molecular nutrition & food research*, 59, 10, 1930-41.
- Xu H, Li X, Wu X, Yang Y, Dai S, Lei T, Jing D, Luo P, Luo E, 2019. Iduna protects HT22 cells by inhibiting parthanatos: The role of the p53-MDM2 pathway. *Experimental Cell Research*, 384, 1, 111547.
- Xu X, Cui Y, Li C, Wang Y, Cheng J, Chen S, Sun J, Ren J, Yao X, Gao J, 2021. SETD3 downregulation mediates PTEN upregulation-induced ischemic neuronal death through suppression of actin polymerization and mitochondrial function. *Molecular Neurobiology*, 58, 10, 4906-20.
- Yang L, Liu X, Chen S, Sun J, Tao Y, Zeng Y, Luo K, Tian R, Meng X, 2024. Scutellarin ameliorates mitochondrial dysfunction and apoptosis in OGD/R-insulted HT22 cells through mitophagy induction. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 179, 117340.
- Yang Y, Estrada EY, Thompson JF, Liu W, Rosenberg GA, 2007. Matrix metalloproteinase-mediated disruption of tight junction proteins in cerebral vessels is reversed by synthetic matrix metalloproteinase inhibitor in focal ischemia in rat. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 27, 4, 697-709.
- Yang Y, Hill JW, Rosenberg GA, 2011. Multiple roles of metalloproteinases in neurological disorders. *Progress in molecular biology and translational science*, 99, 241-63.

- Yang Y, Li L, Yu L, Xia Y, Fang Z, Wang S, 2025. Naringenin Protected Against Blood Brain Barrier Breakdown after Ischemic Stroke through GSK-3 β / β -Catenin Pathway. *Neurochemical Research*, 50, 1, 17.
- Yang Y, Rosenberg GA, 2011. Blood–brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease. *Stroke*, 42, 11, 3323-8.
- Yang Y, Rosenberg GA, 2015. Matrix metalloproteinases as therapeutic targets for stroke. *Brain research*, 1623, 30-8.
- Yao S-Q, Ye Y, Li Q, Wang X-Y, Yan L, Huo X-M, Pan C-S, Fu Y, Liu J, Han J-Y, 2024. YangXueQingNaoWan attenuated blood brain barrier disruption after thrombolysis with tissue plasminogen activator in ischemia stroke. *Journal of Ethnopharmacology*, 318, 117024.
- Ye Z, Ander BP, Sharp FR, Zhan X, 2018. Cleaved β -Actin May Contribute to DNA Fragmentation Following Very Brief Focal Cerebral Ischemia. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 77, 3, 260-5.
- You Y-P, 2016. Epigallocatechin gallate extends the therapeutic window of recombinant tissue plasminogen activator treatment in ischemic rats. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 25, 4, 990-7.
- Youdim KA, Dobbie MS, Kuhnle G, Proteggente AR, Abbott NJ, Rice-Evans C, 2003. Interaction between flavonoids and the blood–brain barrier: in vitro studies. *Journal of neurochemistry*, 85, 1, 180-92.
- Youdim KA, McDonald J, Kalt W, Joseph JA, 2002. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13, 5, 282-8.
- Yu Y, Xu Z, Xu L, Lu D, Tang Y, Mai H, 2025. Plant extracellular vesicles as emerging neuroprotective agents for central nervous system disorders. *Journal of Advanced Research*.
- Yuan Y, Rangarajan P, Kan EM, Wu Y, Wu C, Ling E-A, 2015. Scutellarin regulates the Notch pathway and affects the migration and morphological transformation of activated microglia in experimentally induced cerebral ischemia in rats and in activated BV-2 microglia. *Journal of neuroinflammation*, 12, 1-21.
- Zhang L, Zhang X, Zhang C, Bai X, Zhang J, Zhao X, Chen L, Wang L, Zhu C, Cui L, 2016. Nobiletin promotes antioxidant and anti-inflammatory responses and elicits protection against ischemic stroke in vivo. *Brain research*, 1636, 130-41.
- Zhang L, Zhao H, Zhang X, Chen L, Zhao X, Bai X, Zhang J, 2013. Nobiletin protects against cerebral ischemia via activating the p-Akt, p-CREB, BDNF and Bcl-2 pathway and ameliorating BBB permeability in rat. *Brain research bulletin*, 96, 45-53.
- Zhang Q, Zhang M, Huang X, Liu X, Li W, 2016. Inhibition of cytoskeletal protein carbonylation may protect against oxidative damage in traumatic brain injury. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12, 6, 4107-12.
- Zhang S, Chen Q, Jin M, Ren J, Sun X, Zhang Z, Luo Y, Sun X, 2024. Notoginsenoside R1 alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway through microbiota-gut-brain axis. *Phytomedicine*, 128, 155530.
- Zhang S, Qi Y, Xu Y, Han X, Peng J, Liu K, Sun C, 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, Dou Z, Li S, Zhang H, Zeng S, Zuo X, Xiao Y, Zhang L, Li Z, Zhu Q, 2025. An ultrasonic degraded polysaccharide extracted from *Pueraria lobata* ameliorate ischemic brain injury in mice by regulating the gut microbiota and LPS-TLR4 pathway. *Ultrasonics Sonochemistry*, 112, 107200.
- Zhang Y, Tan B-H, Wu S, Wu C-H, Suo J-L, Gui Y, Zhou C-M, Li Y-C, 2022. Different changes in pre-and postsynaptic components in the hippocampal CA1 subfield after transient global cerebral ischemia. *Brain Structure and Function*, 1-16.
- Zhao B-Q, Wang S, Kim H-Y, Storrer H, Rosen BR, Mooney DJ, Wang X, Lo EH, 2006. Role of matrix metalloproteinases in delayed cortical responses after stroke. *Nature medicine*, 12, 4, 441-5.
- Zhao J-J, Song J-Q, Pan S-Y, Wang K, 2016. Treatment with isorhamnetin protects the brain against ischemic injury in mice. *Neurochemical research*, 41, 1939-48.
- Zheng LT, Ock J, Kwon B-M, Suk K, 2008. Suppressive effects of flavonoid fisetin on lipopolysaccharide-induced microglial activation and neurotoxicity. *International immunopharmacology*, 8, 3, 484-94.

- Zheng Y, Lin X, Ren M, Song K, Chen Y, Zeng L, Jiang J, 2023. Flavonoids from Citrus paradise cv. Changshan-huyou exerts protective effect on ischemia-induced cerebral injury in mice via inhibiting RhoA-ROCK2 signaling pathway. *Zhejiang da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Zhejiang University. Medical Sciences*, 52, 1, 77-87.
- Zhong C, Yang J, Xu T, Xu T, Peng Y, Wang A, Wang J, Peng H, Li Q, Ju Z, 2017. Serum matrix metalloproteinase-9 levels and prognosis of acute ischemic stroke. *Neurology*, 89, 8, 805-12.
- Zhou Z, Li W, Ni L, Wang T, Huang Y, Yu Y, Hu M, Liu Y, Wang Je, Huang X, 2024. Icariin improves oxidative stress injury during ischemic stroke via inhibiting mPTP opening. *Molecular Medicine*, 30, 1, 77.
- Zhu H, Wang Z, Xing Y, Gao Y, Ma T, Lou L, Lou J, Gao Y, Wang S, Wang Y, 2012. Baicalin reduces the permeability of the blood–brain barrier during hypoxia in vitro by increasing the expression of tight junction proteins in brain microvascular endothelial cells. *Journal of ethnopharmacology*, 141, 2, 714-20.
- Zhu T, Wang L, Wang L-p, Wan Q, 2022. Therapeutic targets of neuroprotection and neurorestoration in ischemic stroke: Applications for natural compounds from medicinal herbs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 148, 112719.
- Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ, 2014. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiological reviews*, 94, 3, 909-50.



7. EKLER

EK A: Etik Onayı



EK B: Turnitin Raporu

BEYIN İSKEMİ-REPERFUZYONUNDA 3',4'- DİHYDROXYFLAVONOL UYGULAMASININ MATRİKSMETALLOPROTEİN OKLUDİN, KLAUDİN VE BETA AKTİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ

ORIGINALITY REPORT

2%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

- 1 acikbilim.yok.gov.tr
Internet 83 words — 1%
- 2 9lib.net
Internet 43 words — < 1%
- 3 Gürbak, Aysegül. "Staphylococcus Aureus Klinik Susularında Virülans Faktörleri ve Quorum Sensing Genlerinin Arastirilmesi.", Necmettin Erbakan University (Turkey), 2024
ProQuest 32 words — < 1%
- 4 hdl.handle.net
Internet 21 words — < 1%
- 5 acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080
Internet 18 words — < 1%
- 6 Tugce Aladag, Gozde Acar, Rasim Mogulkoc, Abdulkerim Kasim Baltaci. "Improvement of Neuronal and Cognitive Functions Following Treatment with

8. ÖZGEÇMİŞ

