

Sıçan Ependim Hücrelerinde Aquaporin 4 Kanallarının İmmünohistokimyasal Dağılımı ve Glimfatik Sisteme Etkisi

The Evaluation of Immunohistochemical Expression of Aquaporin 4 Channels of Ependymal Cells and It's Effects on Glymphatic System in the Rats

Fatih Taş¹  Ender Erdoğan² 

ÖZ

Amaç: Nörodejeneratif hastalıklar çağımızın en önemli sağlık sorunlarından biridir. Lenfatik sisteme sahip olmayan beyin gibi kritik bir organda, zaman içerisinde biriken toksik maddeleri temizleyen alternatif bir mekanizmaya ihtiyaç vardır ve buna 'glimfatik sistem' adı verilmiştir. Glimfatik sistem, beyin interstisyel sıvısında biriken atık maddelerin, beyin omurilik sıvısı ve astrositik aquaporin-4 kanalları aracılığıyla, beyin parankiminden temizlenmesidir. Glimfatik sistemin etkinliğinin korunması, nörodejeneratif hastalıkların gelişimini azaltır. Önceki çalışmalar astrositik aquaporin-4 kanallarının, glimfatik sistem üzerinde rolü olduğunu ortaya koymuştur. Aquaporin-4 kanallarının ependim hücrelerinde de gösterilmesi, glimfatik sistemin işleyişinde bu hücrelerin de rolü olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmanın amacı farklı fotoperiyotların ve melatonin alımının, ependimal aquaporin-4 kanal ekspresyonuna ve buna bağlı olarak da glimfatik sisteme olan etkisini araştırmaktır.

Araçlar ve Yöntem: Çalışma, Wistar Albino cinsi dişi sıçanlar da, üç grupta gerçekleştirildi (n=7). Gruplar sırasıyla dört hafta süreyle; kısa fotoperiyot, uzun fotoperiyot ve uzun fotoperiyot + melatonine (4 mg/kg/gün) maruz bırakıldı ve daha sonra beyin dokuları eksize edildi. III. ventrikül ve etraf beyin dokuları, immünohistokimyasal tekniklerle aquaporin-4 ve melatonin-1 reseptör antikollarıyla işaretlenip, semikuantitatif olarak skorlandı.

Bulgular: Hem kısa fotoperiyot grubunda, hem de uzun fotoperiyot + melatonin grubunda, diğer uzun fotoperiyot grubuna göre, istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde, aquaporin-4 kanalları ile melatonin-1 reseptörlerinin daha yoğun olarak işaretlendiği görüldü (p<0.05).

Sonuç: Bu çalışmada kısa fotoperiyot grubu ile uzun fotoperiyot + melatonin grubunda, ependimal aquaporin-4 kanallarıyla melatonin reseptörlerinin birlikte yoğun olarak işaretlenmesi, melatonin hormonunun da glimfatik sistemin işleyişinde düzenleyici olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aquaporin-4; astrositler; ependim hücreleri; glimfatik sistem; nörodejeneratif hastalıklar

ABSTRACT

Purpose: Neurodegenerative diseases are one of the important health problems. Brain has a distinctive mechanism, known as "glymphatic system", to clean toxic substances accumulating in time. This system removes waste material accumulated in interstitial fluid of brain, through the cerebrospinal fluid and astrocytic aquaporin-4 channels from parenchyma. Maintaining the effectiveness of glymphatic system, reduces the development of these diseases. Previous studies have demonstrated the role of astrocytic aquaporin-4 channels on glymphatic system. Aquaporin-4 channels were also shown to be present in ependymal cells, suggesting the role for these cells in glymphatic system function. The aim of this study was to evaluate the effect of different photoperiods and melatonin intake on glymphatic system via ependymal aquaporin-4 channel expression.

Materials and methods: The study was carried out in three groups of female Wistar Albino rats (n=7). The rats in groups were exposed to short photoperiod, long photoperiod and long photoperiod + melatonin (4 mg/kg/day) for four weeks and then brain tissues were removed. The 3rd ventricle and surrounding brain tissues were labeled with aquaporin-4 and melatonin-1 receptor antibodies by immunohistochemical techniques, and scored semi quantitatively.

Results: Aquaporin-4 channels and melatonin-1 receptors were marked more intensely in both short photoperiod group and long photoperiod + melatonin group compared to long photoperiod group (p<0,05).

Conclusion: In this study, intense labeling of melatonin receptors together with ependymal aquaporin-4 channels in short photoperiod and long photoperiod + melatonin group suggest that melatonin hormone is also a regulator for the glymphatic system.

Keywords: Aquaporin-4; astrocytes; ependymal cells; glymphatic system; neurodegenerative diseases

Gönderilme tarihi: 23.01.2020; Kabul edilme tarihi: 12.06.2020

¹ Siirt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Siirt, Türkiye

² Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Konya, Türkiye

Sorumlu Yazar: Dr. Öğr. Üyesi Fatih Taş, Siirt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Siirt, Türkiye. E-posta: ftas85@yahoo.com

GİRİŞ

Merkezi sinir sistemi (MSS), sinir sisteminin en büyük bölümünü teşkil eder. MSS’de bilinen herhangi bir lenfatik sistem bulunmamaktadır.¹ Halbuki nörofizyolojik işlevler sırasında biriken potansiyel toksik moleküllerin, sinir sisteminden uzaklaştırılması son derece önemlidir.² MSS’de lenfatik sistemin yerine bu işlevi gerçekleştiren alternatif bir yolun varlığı teorik olarak ve beyin görüntüleme (fonksiyonel MRI) yöntemleri ile tanımlanmış ve glimfatik sistem olarak adlandırılmıştır.³

Glimfatik sistemin işleyişi şu şekildedir: Beyin omurilik sıvısı (BOS), beyin ventrikülleri ile subaraknoid aralıktan, beyin parankimine doğru periarteriyel aralıklar boyunca girer. Daha sonra beyin parankimindeki interstisyel sıvıyla karışan BOS, interstisyel sıvıdan ekstrasellüler proteinleri alarak, beynin ihtiyaç fazlası maddelerden temizlenmesine aracılık eder. BOS aracılığıyla temizlenen bu ekstrasellüler proteinler, astrositik aquaporin-4 (AQP4) kanallarının kolaylaştırdığı bir yolla paravenöz aralığa geçiş yapar.⁴ Paravenöz aralığa geçen BOS’daki ekstrasellüler proteinler; kan dolaşımı, subaraknoid aralık veya drene olan ven duvarlarını takip ederek servikal lenfatiklere ulaşmak suretiyle ortamdan uzaklaştırılır.⁵

AQP4 beyinde en çok bulunan ve merkezi porlara sahip, hücrel transmembran protein kanallarıdır. Bu porlar, yüksek etkinlikte ve seçicilikte su geçişine imkan sağlarken; sudan daha büyük molekülleri dışarıda tutar.⁶ AQP4, suya ek olarak gliserol (aquagliseroporin) ve diğer bazı maddelerin (iyon, gaz ya da sinyal molekülleri) de geçişine izin verir.⁷ AQP4’ün, beyinde bulunduğu yerler ependimal hücrelerin bazolateral membranları ile astrosit son ayak membranlarıdır.⁸⁻⁹ Bu kanalların bulunduğu yerler dikkate alındığında (kan beyin bariyeri ile BOS ve beyin parankimini ayıran ventrikül duvarı), kompartmanlar arasındaki su ve diğer bazı moleküllerin transportuna aracılık ettiği düşünülmektedir.¹⁰ İnterstisyel sıvıda yer alan çözünen proteinler, atık ürünler ve fazla ekstrasellüler sıvının atılımı, astrositik AQP4 kanallarının kolaylaştırdığı bir yolla gerçekleştirilmektedir.¹¹

Melatonin (Mel), fotoperiyot ile ilgili bilgiyi vücudun fizyolojisine aktararak, sirkadiyen ritmin ve organizmanın fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynar. Melatonin

sekresyonunun aydınlık/karanlık siklusu ile ilişkisi bu hormonu endojen bir senkronizör olarak düşündürmektedir.¹²⁻¹³ İnsanda birçok biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal değişkenlerde olduğu gibi plazmadaki melatonin düzeyleri de 24 saatlik periyot içinde düzenli iniş çıkışlar gösterir. Bu sirkadiyen ritim hipotalamusun suprakiazmatik nükleusunda (SCN) bulunan santral pacemaker’lar tarafından kontrol edilir ve ritmin başlıca ayarlayıcısı dış ortamdaki aydınlık/karanlık siklusudur. Gece ışığa maruz kalındığında pineal fonksiyonlar hızla baskılanır.¹⁴

Glimfatik sistemde, astrositik AQP4 kanallarının rolü büyüktür. Bu çalışma ile bu konuda daha önce hiç ilişkilendirilmemiş olan ependim hücrelerinin glimfatik sistem üzerindeki rolünü, AQP4 kanalları üzerinden göstermek amaçlandı. Ayrıca uzun ve kısa fotoperiyotlara göre ependimal AQP4 kanal ekspresyonunun nasıl etkilendiği ve fotoperiyotlarla ilişkili bir dönemsel etki söz konusu ise, bu etkide melatoninin bir rolü olup olmadığı araştırıldı. Bunun için denekler uzun fotoperiyot (UF), kısa fotoperiyot (KF) ve uzun fotoperiyot + melatonin (4 mg/kg/gün) olmak üzere üç farklı grupta karşılaştırılarak incelendi. Yapılan çalışmayla günümüzün önemli sağlık sorunlarından biri olan nörodejeneratif hastalıklardan korunmaya yönelik faydalı bilgiler elde edilecektir.

ARAÇLAR ve YÖNTEM

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (SÜDAM) hayvan deneyleri etik kurulundan onay alınarak (2015/95), aynı merkezde yapılmıştır. SÜDAM’dan temin edilen 21 adet Wistar Albino cinsi erişkin dişi sıçanların kullanıldığı çalışmada gruplar üçe ayrıldı (n=7).

Grup 1, Kısa Fotoperiyot (KF) Grubu: 4 hafta süreyle, 8 saat aydınlık, 16 saat karanlık ortamda tutuldu (n=7).

Grup 2, Uzun Fotoperiyot (UF) Grubu: 4 hafta süreyle, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ortamda tutuldu (n=7).

Grup 3, Uzun Fotoperiyot (UF) + Melatonin Grubu: 4 hafta süreyle, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ortamda tutuldu ve 4 mg/kg/gün deri altı melatonin uygulandı (n=7). Melatonin (Sigma M-5250), her gün sabah saat 10.00’da, deri altı olarak enjekte edildi.

Dördüncü hafta sonunda her deney grubuna ait sıçanlar, genel anestezi (ketamine+ksilazin; sırasıyla, 50 mg/kg ve 5 mg/kg, ip) altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Beyin III. ventrikülleri ve etraf beyin dokuları bistiiri yardımıyla eksize edildi.

Histopatolojik Değerlendirme

Alınan doku parçaları immünohistokimyasal incelemeler için bekletilmeden %4'lük paraformaldehit içerisine alındı. En az 24 saatlik tespit işlemi sonrası dokular %30'luk sükröz solüsyonuna alındı. Dokuların yeterli sükröz doygunluğuna ulaştığı (dibe çökerek) kontrol edildikten sonra kriyostat cihazı (Shandon Scientific Cryotome SME) yardımıyla 5 µm kalınlığındaki kesitler poly-L-lysin kaplı lamlar üzerine alındı. Her bir preparattan birer örnek tüm gruplar için 1/100 dilüsyonda ML1 reseptör (SantaCruz sc-30017) ve aquaporin 4 (SantaCruz sc-9888) antikoları kullanılarak, aşağıda verilen işlem basamakları ile immünohistokimyasal yöntemlerle boyandı ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

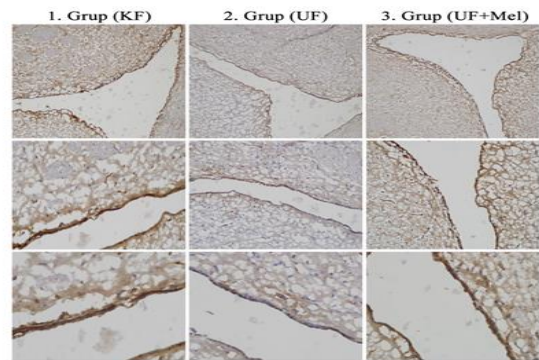
Deney gruplarından alınan kriyostat kesitleri -20 derecedeki metanolde 10 dakika bekletildi. Bir dakika suda yıkandıktan sonra antijen maskesini kaldırmak için 1/10 Dilue Citrat Buffer (AP-9003-999 Thermo Scientific) mikrodalga ile uygulandı. Distile su ile yıkama aşamasından sonra 10 dakika %3'lük hidrojen peroksit (TA-125-HP ThermoScientific) ile etkin bırakılan dokularda endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. PBS ile yıkanan kesitlerde 20 dakika protein bloke (TA-125-PBQ ThermoScientific) edildi. 60 dakika nemli ortamda primer antikolar ile inkübe edildi. Amplifier Quanto (TL-125-QPB ThermoScientific) ile 20 dakika bekletildikten sonra, HRP Polymer Quanto (TL-125-QPH ThermoScientific) ile 30 dakika bekletildi. Her aşamada PBS ile dikkatle yıkama yapıldı ve pozitif hücreleri belirleyebilmek için DAB (diaminobenzidine) ile sekonder boyama yapıldı. Zemin boyaması için bir dakika süreyle hematoxilen uygulandı ve boyanan kesitler artan alkol serilerinden geçirilerek beş dakika ksilolde bekletildi. Daha sonra entellan ile kapatılan preparatlar mikroskopta histopatolojik olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal yöntemlerle boyanan preparatalara ait görüntüler dijital olarak alındı ve kaydedildi. 40X'lık objektif büyütmesi ile elde edilen dijital fotomikrografların monitör üzerindeki immün işaretlenme yoğunluğu semikantitatif olarak skorlanıp (0, +3 arası), hesaplandı. Sonuçlar ± standart hata olarak verildi. Çıkan sonuçların istatistiksel analizleri yapıldı. İstatistiksel analiz yapılırken, gruplar arasındaki immünohistokimyasal boyanma derecelerinin gösterilmesinde Ki-kare testi kullanıldı ve p<0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

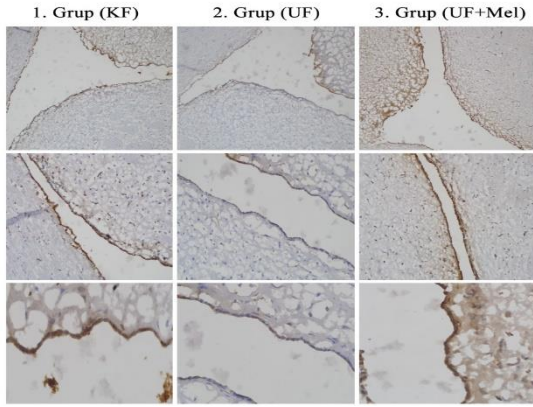
Dört haftalık takip süresi sonunda herhangi bir sıçan ölümü görülmedi ve çalışma 3 grupta 21 hayvan üzerinden tamamlandı. Farklı fotoperiyotların ve melatonin alımının, deneklerin III. ventrikülünü döşeyen endim hücrelerindeki AQP4 kanalı ile ML1 reseptör ekspresyonu üzerindeki etkisi değerlendirildi.

AQP4 antikoları bütün gruplardaki sıçanlarda immünohistokimyasal yöntemlerle işaretlendi. III. ventrikülde yer alan endim hücrelerinin bazolateral membranlarında, AQP4 antikolarının farklı derecelerde işaretlendiği görüldü (Resim 1). Gruplar karşılaştırıldığında, 1. ve 3. gruptaki AQP4 antikolarının immünohistokimyasal işaretlenme derecesinin, 2. gruba göre anlamlı düzeyde daha yoğun olduğu görüldü (sırasıyla, p<0,01 ve p<0,05; Tablo 1). 1. ve 3. gruptaki AQP4 antikolarının kendi aralarında immünohistokimyasal işaretlenme derecesinde herhangi bir anlamlı farklılık bulunmadı (p>0,05).



Resim 1: İmmünohistokimyasal yöntemlerle AQP4 antikoları ile işaretlenen farklı gruplardaki sıçanların farklı büyütmelerdeki görüntüleri (X10, X20, X40).

ML1 reseptör antikorları bütün gruplardaki sıçanlarda immünohistokimyasal yöntemlerle işaretlendi. III. ventrikülü döşeyen ependim hücrelerinde, ML1 reseptör antikorlarının farklı derecelerde işaretlendiği görüldü (Resim 2). Gruplar karşılaştırıldığında, 1. ve 3. gruptaki ML1 reseptör antikorlarının immünohistokimyasal işaretlenme derecesinin, 2. gruba göre anlamlı düzeyde daha yoğun olduğu görüldü ($p<0,01$; Tablo 2). 1. ve 3. gruptaki ML1 reseptör antikorlarının kendi aralarında immünohistokimyasal işaretlenme derecesinde herhangi bir anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$).



Resim 2: İmmünohistokimyasal yöntemlerle ML1 reseptör antikorları ile işaretlenen farklı gruplardaki sıçanların farklı büyütme derecelerindeki görüntüleri (X10, X20, X40).

Tablo 1: Aquaporin 4 antikorlarıyla işaretlenen her bir gruptaki sıçanların histomorfolojik analizine bağlı skorlanma değerleri (0-3). Uzun fotoperiyottan (UF) fark; *: $<0,05$, **: $<0,01$.

AQUAPORİN 4	1.Grup (KF)	2.Grup (UF)	1.Grup (UF+Mel)	P
1.Sıçan	2	2	2	
2.Sıçan	3	1	2	
3.Sıçan	3	2	2	
4.Sıçan	2	2	3	
5.Sıçan	3	1	3	
6.Sıçan	2	1	2	
7.Sıçan	3	2	3	
Ortalama ± Standart Hata	2,571± 0,19**	1,571± 0,20	2,429± 0,20*	0,0051

Tablo 2: ML1 reseptör antikorlarıyla işaretlenen her bir gruptaki sıçanların histomorfolojik analizine bağlı skorlanma değerleri (0-3). Uzun fotoperiyottan (UF) fark; **: $<0,01$.

ML1 Reseptör	1. Grup (KF)	2. Grup (UF)	3. Grup (UF +Mel)	P
1. Sıçan	3	1	2	
2. Sıçan	2	1	3	
3. Sıçan	2	2	3	
4. Sıçan	3	2	3	
5. Sıçan	2	1	2	
6. Sıçan	2	1	2	
7. Sıçan	3	2	3	
Ortalama±Standart Hata	2,429± 0,21**	1,429± 0,20	2,571± 0,18**	0,0015

Netice de AQP4 ve ML1 reseptör antikorlarının, kısa fotoperiyot ile uzun fotoperiyot + melatonin gruplarındaki ependim hücrelerinde anlamlı düzeyde yoğun bir immün reaksiyon gösterdiği gözlenirken ($p<0,05$), uzun fotoperiyot grubundaki ependim hücrelerinde aynı boyanma paterninin diğer iki gruba göre daha zayıf olduğu görüldü. AQP4 antikorları ile işaretlenmenin yapıldığı KF ile UF+Mel gruplarındaki boyanma yoğunluğu oranları sırasıyla %86 ve %81 olarak bulunurken, aynı oran UF grubunda % 52 olarak bulundu. Ayrıca ML1 reseptör antikorları ile işaretlenmenin yapıldığı KF ile UF+Mel gruplarındaki boyanma yoğunluğu oranları da sırasıyla %81 ve %86 olarak bulunurken, aynı oran UF grubunda % 48 olarak bulundu. KF ile UF+Mel gruplarının kendi arasında, hem AQP4 antikorlarıyla, hem de ML1 reseptörleriyle işaretlenme açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

TARTIŞMA

Sinir sisteminde homeostatik dengenin nasıl sağlandığı uzun yıllardan beri araştırılmaktadır. Beyin ödemi, epilepsi ve nörodejeneratif bozukluklar gibi birçok hastalık, sinir sistemindeki homeostatik dengenin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Bu dengenin korunması adına sinir sisteminin bir bütün olarak ele alınması önemlidir. Bunun içinde sinir sistemini oluşturan hücreler (nöronlar, nöroglialar) ve onların işlevini kontrol eden moleküler yapı birlikte değerlendirilmelidir.

Ependim hücrelerinin, BOS ile beyin parankimi arasında küçük moleküllerin taşınmasında görev aldığı önceki çalışmalarda ortaya konulmuştur.¹⁵ Ependim hücreleri, BOS ile beyin ekstrasellüler sıvısı arasında bir bariyer oluşturmadığı için, BOS'taki değişimler nöronların fonksiyonlarını etkilemektedir.¹⁶ Bu etkileşimin nasıl olduğu konusunda yeterli çalışmalar mevcut değildir. Bu çalışmada ependimal hücrelerin bazal ve lateral membranlarında yoğun bir AQP4 ekspresyonu olduğu görüldü. Dolayısıyla ependim hücrelerinin apikalindeki mikrovilluslardan emilen BOS içeriği, bu hücrelerin bazalinde yer alan AQP4 kanalları aracılığıyla beyin parankimine aktarılır. Böylece beyin parankiminde homeostazi sağlamak için gerekli olan bir kısım maddeler, ependimal AQP4 kanalları aracılığıyla, BOS'dan alınmış olur. Benzer şekilde beyin parankiminde zaman içerisinde biriken atık veya toksik moleküller de yine aynı yolla bu kez BOS'a verilerek ortamdaki uzaklaştırılır. Netice de ependimal hücrelerdeki AQP4 kanalları; beyindeki sıvı dengesinin sağlanmasında, bazı maddelerin taşınmasında ve toksik moleküllerin uzaklaştırılmasında görev alabilir.

Yapılan çalışmalarda, Alzheimer ve epilepsi gibi nörolojik hastalıklarda, astrosit son ayak membranlarındaki AQP4 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir.¹⁷⁻¹⁸ Ayrıca AQP4 içermeyen farelerde yapılan çalışmalarda, beyin interstisyel sıvısındaki çözünen maddelerin temizlenememesine bağlı olarak, nörotoksik moleküllerin biriktiği ve bunun nörodejeneratif hastalıklara yol açtığı görülmüştür. Beyin interstisyumunda biriken β amiloidlerle karakterize Alzheimer hastalığı buna örnek verilebilir.¹⁹ Beyin parankiminde biriken atık moleküllerin yaklaşık %70'i astrositler ile AQP4 kanallarının görev aldığı glimfatik sistem yoluyla temizlenir.⁵ Dolayısıyla geriye kalan %30'luk kısımda ependimal AQP4 kanallarının katkısı olduğu düşünülmektedir. Özellikle beyin ventriküllerini çevreleyen parankimal bölgelerdeki atık moleküller bu yolla temizlenebilir. Özetle glimfatik sistemin işleyişinin, sadece astrositik AQP4 kanallarıyla değil, ependimal AQP4 kanallarının da görev aldığı daha komplike bir yolla gerçekleştiği söylenebilir.

Yapılan bir çalışmada melatonin implantasyonunun, AQP4 ile AQP1 ekspresyonunu anlamlı düzeyde artırdığı görülmüştür.²⁰ Başka çalışmalarda ise sıçanlardaki

astrositik AQP4 ekspresyonu ile spinal kord ependimasındaki AQP1 ekspresyonunun melatonin tarafından düzenlendiği ifade edilmiştir.²¹⁻²² Bununla beraber melatonin ile farklı fotoperiyodik şartların, ependimal AQP4 ekspresyonu ve glimfatik sistem üzerindeki etkileri henüz bilinmemektedir.

Bu çalışmada, KF ile UF+Mel gruplarında, ependimal AQP4 ile ML1 reseptör antikollarının, UF grubuna göre daha yoğun boyandığı görüldü (AQP4 için sırasıyla %86, %81, %52; ML1 için sırasıyla %81, %86, %48). Bu durum sinir sisteminde düzenleyici bir hormon olan melatoninin, AQP4 ekspresyonunu ve işleyişini doğrudan veya dolaylı olarak etkilediğini düşündürmektedir. Çünkü kısa fotoperiyot grubu daha uzun süre karanlıkta kaldığı için, UF+Mel grubu ise dışardan melatonin verildiği için; UF grubuna göre daha fazla melatoninin etkisindedir. Bunun yanında KF ile UF+Mel gruplarının kendi aralarında herhangi bir anlamlı farklılık bulunmaması, doğal yolla melatonin salınımı ile dışardan melatonin alımı arasında fark olmadığını düşündürmektedir. Bu sonuçlar ependimal AQP4 ekspresyonu ile glimfatik sistemin işleyişinde, melatonin veya fotoperiyotun etkisi olduğu hipotezimizi desteklemektedir.

Yapılan bir çalışmada geceleri daha yüksek ışık maruziyetinin, düşük ışık maruziyetine göre melatonin seviyesini düşürdüğü ifade edilmiştir.²³ Gece vardiyasında çalışanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, üriner 6-sulfatoxymelatonin (aMT6s) seviyesi düşük çıkmıştır ve bu durum gece ışığı maruziyetinin melatonin baskılandığını desteklemektedir. Çünkü dolaşımdaki melatonin seviyeleri ile üriner aMT6s seviyesi arasında anlamlı bir ilişki vardır.²⁴ Netice de gece vardiyasında çalışanlar gibi, melatonin salınımının olumsuz etkilendiği koşullarda, AQP4 ekspresyonu da olumsuz etkileneceği için, nörotoksik maddeler beyin parankiminde birikebilir. Ayrıca yapılan çalışmalar, ileri yaşlarda melatonin salınımının azaldığını ortaya koymuştur.²⁵ Dolayısıyla nörodejeneratif hastalıkların sık görüldüğü ileri yaş grupları²⁶ ile melatonin salınımının baskılandığı gece vardiyasında çalışan kişilerde²⁴, dışardan melatonin alımının faydalı etkileri olabilir. Yapılan çalışmalarda melatonin kullanımının insanlarda toksik etki yapmadığı

gösterilmiştir. Bu durum melatoninin insanlarda güvenle kullanılabilmesini desteklemektedir.²⁷

Sonuç olarak bu çalışmada, diğer çalışmaları destekler şekilde²⁰⁻²¹, melatonin veya fotoperiyotun, AQP4 ekspresyonunu düzenleyici etkisi gösterildi. Fakat bu düzenleyici mekanizmayı açıklayabilmek için, sadece immünohistokimyasal değil, aynı zamanda dinamik görüntüleme teknikleri ve biyokimyasal verilerin de olduğu daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmaların hem nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde, hem de glimfatik sistemin daha iyi anlaşılmasında katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

ÇIKAR BEYANNAMESİ

Mevcut çalışma ile ilgili yazarların herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKÇA

1. Földi M. The brain and the lymphatic system. *Lymphology*. 1996;29(1):1-8.
2. Verkman AS, Mitra AK. Structure and function of aquaporin water channels. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000;278(1):13-28.
3. Iliff JJ, Lee H, Yu M, et al. Brain-wide pathway for waste clearance captured by contrast-enhanced MRI. *J Clin Invest*. 2013;123(3):1299-1309.
4. Nedergaard M. Garbage Truck of the Brain. *Science*. 2013;340(6140):1529-1530.
5. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med*. 2012;4(147):147ra111
6. Walz T, Fujiyoshi Y, Engel A. The AQP structure and functional implications. Beitz E, editor. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin: Springer; 2009:31-56.
7. Tani K, Mitsuma T, Hiroaki Y, et al. Mechanism of aquaporin-4's fast and highly selective water conduction and proton exclusion. *J Mol Biol*. 2009;389(4):694-706.
8. Gunnarson E, Zelenina M, Aperia A. Regulation of brain aquaporins. *Neuroscience*. 2004;129(4):945-953.
9. Venero JL, Vizuete ML, Machado A, Cano J. Aquaporins in the central nervous system. *Prog Neurobiol*. 2001;63(3):321-336.
10. McAllister JP, Miller JM. Aquaporin 4 and hydrocephalus. *J Neurosurg*. 2006;105(6):457-458.
11. Nagelhus EA, Ottersen OP. Physiological roles of aquaporin-4 in brain. *Physiol Rev*. 2013;93(4):1543-1562.
12. Arendt J, Skene DJ. Melatonin as a chronobiotic. *Sleep Med Rev*. 2005;9(1):25-39.
13. Schulz P, Steimer T. Neurobiology of circadian systems. *CNS Drugs*. 2009;23(2):3-13.
14. Liebmann PM, Wolfler A, Felsner P, Hofer D, Schauenstein K. Melatonin and the immune system. *Int Arch Allergy Immunol*. 1997;112(3):203-211.
15. Sarnat HB. Role of human fetal ependyma. *Pediatr Neurol*. 1992;8(3):163-178.
16. Öztaş B. Merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında kan-beyin bariyerinin ve beyin omurilik sıvısının klinik önemi. *Klimik Derg*. 1992;1(3):140-144.
17. Yang J, Lunde LK, Nuntagij P, et al. Loss of astrocyte polarization in the tg-ArcSwe mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2011;27(4):711-722.
18. Lee DJ, Amini M, Hamamura MJ, et al. Aquaporin-4-dependent edema clearance following status epilepticus. *Epilepsy Res*. 2012;98(2-3):264-268.
19. Weller RO, Subash M, Preston SD, Mazanti I, Carare RO. Perivascular drainage of amyloid-beta peptides from the brain and its failure in cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer's disease. *Brain Pathol*. 2008;18(2):253-266.
20. Szczepkowska A, Skowroński MT, Kowalewska M, Milewski S, Skipor J. Effect of melatonin from slow-release implants on aquaporins (AQP1 and AQP4) in the ovine choroid plexus. *Czech J Anim Sci*. 2017;63(1):32-42.
21. Kaur C, Sivakumar V, Zhang Y, Ling EA. Hypoxia-induced astrocytic reaction and increased vascular permeability in the rat cerebellum. *Glia*. 2006;54(8):826-839.
22. Nestic O, Lee J, Unabia GC, et al. Aquaporin 1—a novel player in spinal cord injury. *J Neurochem*. 2008;105(3):628-640.
23. Hunter CM, Figueiro MG. Measuring Light at Night and Melatonin Levels in Shift Workers: A Review of the Literature. *Biol Res Nurs*. 2017;19(4): 365-374.
24. Wei T, Li C, Heng Y, et al. Association between Night-Shift-Work and Level of Melatonin: Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2020;23:10:1006
25. Mollaoğlu H, Özgüner MF. Yaşlanma sürecinde melatoninin rolü. *SDÜ Tıp Fak Derg*. 2005;12(3):52-56.
26. Jenner P. Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *Ann Neurol*. 2003;53(3):26-38.
27. Wang X. The antiapoptotic activity of melatonin in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci Ther*. 2009;15(4):345-357.