

Linc00205/Mir-495-3p/Tnfsf15 Aksı Hiperbarik Oksijen Terapisi İnme Sonrası Bilişsel Bozukluk Gelişen Hastaların Tedavisinde Rol Oynamaktadır

Linc00205/Mir-495-3p/Tnfsf15 Axis is Implicated in the Treatment Effect of Hyperbaric Oxygen Therapy on Patients with Post-Stroke Cognitive Impairment

Xiaoling YANG¹, Miao CHEN², Zuoting SHEN¹, Tianyi RONG¹, Jialiang FENG¹, Min WU¹, Deyan CHEN¹, Zhenyu WEI¹

¹Nöroloji Bölümü, Shidong Hospital Affiliated to University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai, Çin

²Acil Servis, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan, Çin

ÖZ

Amaç: Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisinin PSCI üzerindeki etkileri araştırdık ve lncRNA'ların ve mRNA'ların diferansiyel farklılıklarını değerlendirdik.

Yöntem: HBO tedavisi uygulanan ve uygulanmayan PSCI hastalarında farklı enflamatuvar faktörlerin serum düzeyleri tespit edilmiştir. Farklı gruplardaki hastaların bilişsel işlevleri tedavi öncesi ve sonrası olarak değerlendirilmiştir. lncRNA'lar ve mRNA'lar üzerinde diferansiyel ekspresyon analizi gerçekleştirilmiş, ardından fonksiyonel etkileşim tahmini yapılmıştır. Seçilen adaylar Gerçek-Zamanlı Kantitatif PCR ve lusiferaz raportör tahlili ile doğrulanmıştır.

Bulgular: MMSE ve MoCA skorları, hem kontrol grubundaki (geleneksel tedavi) hem de HBO tedavisi grubundaki hastaların tedavi sonrası bilişsel skorlarının kayda değer ölçüde daha yüksek olduğu ve tedaviden sonraki 6. ayda HBO grubundaki hastaların kontrol grubundaki hastalara kıyasla

daha yüksek skorlara sahip olduğunu göstermiştir. Kan enflamatuvar faktörleri benzer sonuçlar göstermiştir; HBO grubunda kontrol grubuna göre anti-enflamatuvar IL-4 ve IL-10 faktör düzeyinin daha yüksek, pro-enflamatuvar IL-2, IL-6, TNF- α , IFN- α ve IL-17A faktör düzeyi daha düşük olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, HBO tedavisinde LINC00205-hsa-miR-495-3p-TNFSF15 kompetitif endojenöz regülatör RNA ağı tespit edilmiş olup bunların ekspresyon paternleri qRT-PCR aracılığıyla doğrulanmıştır.

Sonuç: HBO tedavisi, geleneksel tedavi planına kıyasla PSCI hastalarının bilişsel performanslarını iyileştirebilmektedir. LINC00205/miR-495-3p/TNFSF15 aksisi HBO tedavisindeki iyileştirici etkiden sorumlu olabilir.

Anahtar Sözcükler: Biyoinformatik analiz, ceRNA, hiperbarik oksijen, inme sonrası bilişsel, oksidatif stres bozukluk, TNFSF15

ABSTRACT

Introduction: We investigated the effects of hyperbaric oxygen (HBO) therapy on post-stroke cognitive impairment (PSCI) and performed the differential profiling of lncRNAs and mRNA.

Methods: The serum levels of different inflammatory factors were detected in PSCI patients with or without HBO therapy. The cognitive functions of patients in different groups were assessed before and after treatment. Differential expression analysis was performed on lncRNAs and mRNAs, followed by functional interaction prediction. The selected candidates were verified by Real-time Quantitative PCR and luciferase reporter assay.

Results: The results of MMSE and MoCA scores showed that patients in both the control (conventional treatment) group and HBO therapy group had significantly higher post-treatment cognitive scores, and in the 6th month after treatment, patients in the HBO group had higher scores than

those in the control group. Blood inflammatory factors showed similar results, with the HBO group having higher anti-inflammatory factors IL-4 and IL-10 than the control group, and lower pro-inflammatory factors IL-2, IL-6, TNF- α , IFN- α and IL-17A than the control group. We further identified a competitive endogenous RNA regulator network of LINC00205-hsa-miR-495-3p-TNFSF15 involved in the HBO treatment, and their expression patterns were verified by qRT-PCR.

Conclusion: HBO treatment can improve the cognitive performance of PSCI patients in comparison to conventional treatment scheme. LINC00205/miR-495-3p/TNFSF15 axis may be responsible for the treatment effect of HBO therapy.

Keywords: Bioinformatics analysis; ceRNA; hyperbaric oxygen; oxidative stress; Post-stroke cognitive impairment; TNFSF15

Cite this article as: Yang X, Chen M, Shen Z, Rong T, Feng J, Wu M et al. Linc00205/Mir-495-3p/Tnfsf15 Aksı Hiperbarik Oksijen Terapisi İnme Sonrası Bilişsel Bozukluk Gelişen Hastaların Tedavisinde Rol Oynamaktadır. Arch Neuropsychiatry 2025;62:11–19.

GİRİŞ

İnme dünya genelinde ikinci önde gelen ölüm nedenidir ve neden olduğu bilişsel işlev bozukluğuyla hastaların yaşam kalitesini ve güvenliğini tehlikeye atmaktadır. İnme sonrası bilişsel bozukluk (PSCI), inme

sonrasındaki altı ay içinde bilişsel bozukluğun tanı kriterlerini karşılayan bir dizi sendromu ifade etmektedir (1). Yaşlanan nüfusta PSCI yaygınlığı giderek artmaktadır. PSCI, tedaviye uyum ve öz bakım yeteneğinde

Öne Çıkan Noktalar

- Bu çalışmada hiperbarik oksijen (HBO) tedavisinin PSCI üzerindeki etkileri araştırılmıştır.
- lncRNA'ların ve mRNA'nın diferansiyel profili çıkarılmıştır.
- HBO tedavisi PSCI hastalarının bilişsel performansını iyileştirebilir.
- Bulgular, miR-495-3p'nin iskemik koşullarda koruyucu rol oynadığına işaret etmektedir.

azalmaya sebep olduğundan toplum ve aileler üzerinde önemli bir mali yük oluşturmaktadır (2). Enflamatuvar sitokinlerin artmasına bağlı gelişen nöroenflamasyon, iskemik inmede nöronal dejenerasyon önemli bir nedendir ve bilişsel işlevi olumsuz yönde etkilemektedir (3,4). PSCI gelişiminin altında yatan mekanizmaların anlaşılması, PSCI hastalarının bilişsel işlevlerini iyileştirmek için yeni müdahale stratejileri geliştirme umuduyla yoğun araştırma ilgisi toplamıştır.

İnme başlangıcı, iskemi ve hipoksiye bağlı olarak serebral dolaşım ve metabolik bozuklukların da dâhil olduğu bir dizi biyokimyasal zincirleme reaksiyonu tetiklemektedir (5). Bir oksijen takviye terapisi tekniği olan hiperbarik oksijen terapisi (HBO) ile, beyin dokularına oksijen tedarikini doğrudan ve etkili bir şekilde artırmak, serebral hipoksiyi en düşük seviyeye indirmek ve nörolojik iyileşmeyi desteklemek mümkündür (6). HBO tedavisinin nöronal sağkalımı artırdığı, kan-beyin bariyerinin işlevini koruduğu ve beyin ödemi azalttığı kanıtlanmıştır (7). Moleküler düzeyde, HBO tedavisi merkezi sinir sistemindeki metabolizmayı iyileştirmekte, süperoksit dismutaz aktivitesini artırarak ve diğer antioksidan genlerin ekspresyonunu teşvik ederek nöroenflamasyonu ve apoptozu azaltmakta, bu sayede inme sonrası nörodejenerasyonu inhibe etmektedir (8). Patojenik nörodejeneratif koşullar altında HBO'nun, hipoksiye neden olabilecek faktörler ve Akt/GSK3β/β-katenin yolu gibi farklı sinyal süreçlerini düzenleyerek nörojenez teşvik etmesi mümkündür (9,10). HBO tedavisinin ayrıca sitoprotektif ve anjiyojenik genlerinin ekspresyonunu teşvik ettiği ve kronik yara durumlarında enflamatuvar genleri baskıladığı bulunmuştur (11,12).

Uzun sarmallı protein kodlamayan RNA (lncRNA), mikro RNA (miRNA) ve mesajcı RNA'nın (mRNA), farklı RNA moleküllerinin miRNA'ya kompetitif bir şekilde bağlanarak aktivitesini etkilediği ve mRNA'nın hedeflerini düzenlediği yarışmacı endojen RNA (ceRNA) ağında işlev gördüğü öne sürülmüştür (13). ceRNA hipotezi önerisinden bu yana her geçen gün artmakta olan kanıtlar, hepatik fibroz, kanserler ve Alzheimer hastalığı da dâhil olmak üzere farklı patolojik koşulların regülasyonunda ceRNA ağlarının önemini vurgulamaktadır (14,15). HBO tedavisinin ceRNA bağlamında protein kodlamayan RNA'ların ekspresyonunu modüle edebileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Örneğin, HBO tedavisinin terapötik anjiyogenezde miRNA-92a'yı baskılamak için eksosomdaki lncRNA MALAT1 ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (16). Aynı ceRNA modülü (lncRNA MALAT1/miRNA-92a) bir fare akut miyokard enfarktüsü modelinde HBO tedavisinin terapötik etkisinde de görülmüştür (17). Nöral kök hücrelerinde HBO, lncRNA-H19/miR-423-5p/NLRP3 aksisini regüle ederek enflamatuvar piroptozu hafifletmiş ve oksijen/glikoz yoksunluğu sonrasında nörojenez iyileştirmiştir (18). Prensipite, miRNA etkileşim elementi taşıyan herhangi bir transkriptin ceRNA olarak işlev görebilme potansiyelidir ve ceRNA ağı, gen ekspresyonunun yaygın bir transkripsiyon sonrası regülasyon mekanizmasını temsil etmektedir. Ancak, regülatör ceRNA modülünün PSCI olgularının HBO tedavisinde bir rolü olup olmadığı araştırılmaya devam etmektedir.

Bu çalışmada HBO tedavisinin PSCI hastaları üzerindeki etkilerinin araştırılması ve HBO tedavisi sonrasında lncRNA'lar ve mRNA'lardaki ekspresyon değişikliklerinin profilinin çıkarılması hedeflenmiştir. Akut iskemik inme sonrası PSCI geçiren hastalar çağırılmış ve geleneksel tedavi uygulanan kontrol grubu ve HBO tedavisi uygulanan olmak üzere iki gruba ayrılmışlardır. Her grubun bilişsel iyileşme durumları, tedaviden sonra farklı zamanlarda Mini-Mental Durum Muayenesi (MMSE) ve Montreal Bilişsel Değerlendirme (MoCA) skorları ile değerlendirilmiştir. Ek olarak, lncRNA'lar ve mRNA'lar üzerinde diferansiyel ekspresyon analizi yapılmış, ardından HBO tedavisinin tedavi etkisine dâhil olan potansiyel ceRNA aksini belirlemek için fonksiyonel etkileşim tahmini yapılmıştır. Ayrıca LINC00205, hsa-miR-495-3p ve TNFSF15'in göreceli ekspresyonu qRT-PCR ile doğrulanmıştır.

YÖNTEM

Etik beyanı

Bu çalışmada yer alan hastalar Helsinki Bildirgesi'nde yer alan etik ilkeleri ve İyi Klinik Uygulamaları kılavuzu doğrultusunda çalışmaya dâhil edilmiştir. İnsanlar üzerinde yapılan deneyler, 2019-KY007 numarasıyla Şangay Bilim ve Teknoloji Üniversitesi'ne Bağlı Shidong Hastanesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Araştırma katılımcıları

Ocak 2021 ile Mart 2022 arasında Şangay Bilim ve Teknoloji Üniversitesi'ne bağlı Shidong Hastanesi Nöroloji Bölümü'ne başvuran ve akut iskemik inme ve PSCI tanısı konan toplamda 40 hasta çalışmaya dâhil edilmiştir. Yirmi PSCI hastası geleneksel yöntemle (kontrol grubu) tedavi edilirken diğer 20 PSCI hasta ise geleneksel yöntemle ek HBO tedavisiyle tedavi edilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen tüm hastaların, hastanede kaldıkları süre boyunca ve taburcu olduktan sonra 3. ve 6. aydaki fonksiyonel bilişsel performans değerlendirmesi ile tedaviye ilişkin tıbbi kayıtları eksiksizdir.

Tedavi

Kontrol grubunda yer alan hastalara (PSCI geleneksel tedavi, n=20) tansiyon ve kan şekeri kontrolü, anti-trombosit agregasyon tedavisi ve lipid düşürücü plak stabilizasyonu dâhil olmak üzere akut serebral infarksiyonun geleneksel tedavisi uygulanmış olup bilişsel işlevi iyileştirmek için donepezil verilmiştir. HBO grubuna (n=20) hastaneye yatışlarından 72 saat sonra geleneksel tedavi ile birlikte hiperbarik oksijen terapisi de verilmeye başlanmıştır. HBO tedavisi GY3200D1-C6 oksijen odasında (Hongyuan, Çin) uygulanmıştır. Hastalar 15 dakika boyunca sabit bir basınç artışıyla maske kullanılarak 2,2 ATA oksijen basıncı altında tutulmuştur. Hastalar 60 dakika boyunca sabit oksijen solunumuna tabii tutulmuş, 5 dakika ara ile dinlendirilmiş ve ardından 20 dakikalık dekompresyon uygulanmıştır. HBO tedavisinin süresi günde 100 dakika olup bir tedavi kürü boyunca ardışık toplam 10 HBO tedavisi uygulanmıştır.

Bilişsel işlev skoru

Mini-Mental Durum Muayenesi (MMSE) ve Montreal Bilişsel Değerlendirme Ölçeği (MoCA), her gruptaki PSCI hastalarının bilişsel performanslarını değerlendirmek için hastanede yatış süresince farklı vakitlerde, tedaviden sonraki 3. ve 6. ayda kullanılmıştır. MMSE altı bölümden oluşan 30 maddelik bir ölçektir: oryantasyon (zaman oryantasyonu için 3 puan, yer oryantasyonu için 5 puan), aritmetik (5 puan), bellek (anlık bellek için 3 puan, gecikmeli hatırlama için 3 puan), sözel yetenek (isimlendirme için 2 puan, tekrarlama için 3 puan, yazma için bir puan), yürütücü beceriler (4 puan) ve görsel-uzamsal beceri (1 puan). Her doğru için 1 puan verilen 30 alt madde bulunmaktadır, hatalar veya denemeler için puan verilmemektedir. Standart performansı değerlendirme eşiği okuma yazma bilmeyen grup için 17 puan, ilköğretimini tamamlamış grup için 20 puan, ortaokul ve üzeri eğitim almış bireyler içinse 26 puandır (19). MoCA puanlama sistemi sekiz maddeden oluşmaktadır: görsel-uzamsal ve yürütücü beceriler

(5 puan), isimlendirme (3 puan), bellek ve dikkat (6 puan), dil (3 puan), soyutlama (2 puan), gecikmeli hatırlama (5 puan) ve oryantasyon (6 puan). Toplam 30 puan olup, 12 yıldan az eğitim görmüş bireylerin sonuçlarına bir puan eklenmektedir. Toplam 26 puan veya üstü normal performans olarak değerlendirilmektedir. Daha yüksek skorlar daha iyi bilişsel işlevi göstermektedir (20).

Serum örneği toplanması ve enflamatuvar sitokinlerin ELISA analizi

Hastaneye yatışın ertesi sabahında, bir gece önceden itibaren aç olan bütün hastalardan 5 mL venöz kan örneği alınmıştır. Tam kan örneği 30 dakika oda sıcaklığında pıhtılaşmaya bırakıldıktan 10 dakika boyunca 3000 r/dk'da santrifüjlenmiştir. Geriye kalan süpernatant serum örneği olarak toplanmıştır. Serum örneklerinde tümör nekroz faktörü α (TNF- α), interlökin-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A ve interferon- α (IFN- α) gibi enflamatuvar belirteç düzeyleri ELISA kitleri kullanılarak üreticinin talimatları doğrultusunda belirlenmiştir.

RNA ekstraksiyonu ve sekanslamanın kalite kontrolü

Total RNA ekstraksiyonu PAXgene Kan RNA Kiti (763134, Qiagen, Almanya) kullanılarak üretici tarafından sağlanan standart prosedürlere göre gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilen total RNA, Agilent 2100 Bioanalyzer'da (Agilent technologies Santa Clara, ABD) elektroforez ile kalite kontrolünden geçirilmiştir. Ekstrakte edilen total RNA örnekleri daha sonra RNAClean XP Kit (A63987, CA, ABD) ve RNase-Free DNase Set (79254, Qiagen, GmBH, Almanya) ile saflaştırılmıştır.

Kütüphane oluşturma ve sekanslama

Beş kontrol bireyinin (standart tedavi) RNA örneği ve HBO tedavisi gören hastanın RNA örneği RNA-sek analizine tabi tutulmuştur. Seçim kriterleri, bu bireylerin tedaviden sonra klinik iyileşme gösterdiği ve HBO tedavisinin kontrol grubunun geleneksel tedavisine kıyasla daha anlamlı bir iyileşme gösterdiği gözlemine dayanmaktadır. Total RNA, PAXgene Kan RNA Kiti (763134, Qiagen, Almanya) kullanılarak plazma örneklerinden ekstrakte edilmiş ve bir spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Saflaştırılmış total RNA, tedarikçinin standart kütüphane oluşturma protokollerine göre TruSeq RNA Kütüphane Hazırlama Kiti v2 (Illumina, CA, USA) kullanılarak rRNA çıkarma, parçalama, birinci iplikçik cDNA sentezi, ikinci iplikçik cDNA sentezi, tamamlama, 3' uç adenilasyonu, endeks primer ligasyonu ve amplifikasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Elde edilen kütüphanenin jel elektroforezinde boyutu seçilip, Agilent 2100 Bioanalyzer ile kalite kontrolünden geçirilmiştir. Derin sekanslama Illumina NovaSeq6000 sekanslayıcıda PE150 modunda gerçekleştirilmiştir.

DE-mRNA'lar ve DE-IncRNA'ların taraması

Milyon eşlenmiş okuma başına transkriptin Kilobaz Başına Fragman (FPKM) değeri, R yazılımındaki Bioconductor paketi kullanılarak sekanslama örneklerinden elde edilmiştir. Diferansiyel gen ekspresyon

analizi iki örnek arasında eşleştirilmiş t testi ve çoklu karşılaştırmalarda Benjamini-Hochberg düzeltmesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. p değeri $<0,05$ ve $|\log_2$ kat değişimi (FC) >2 olan mRNA'lar ve IncRNA'lar anlamlı ölçüde farklı ekspresyona (DE) DE-mRNA ve DE-IncRNA olarak kabul edilmiştir. DE-mRNA ve DE-IncRNA'nın göreceli ekspresyon düzeylerini gösteren ısı haritaları ve volkan plotları R paketi kullanılarak oluşturulmuştur.

CeRNA ağ analizi

DE-IncRNA'ların IncRNA-miRNA etkileşimlerini yordamak için DIANA-LncBase v3 veritabanı (www.microrna.gr/LncBase) kullanılmıştır. DE-mRNA'nın mRNA-miRNA etkileşimleri miRWalk3,0'ın yordayıcı hedef modülü kullanılarak yordanmıştır (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>). DE-IncRNA, miRNA ve DE-mRNA arasındaki ceRNA etkileşimleri, DE-IncRNA'ların aşağı kısımdaki hedefleri ve DE-mRNA'ların yukarı kısımdaki regülatörleri olarak tahmin edilen paylaşılan miRNA'ların bağlanmasıyla oluşturulmuştur. Nihai liste DE-IncRNA-miRNA-DE-mRNA etkileşim aksı, Cytoscape yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur (Sürüm 3.7.2, <https://cytoscape.org/>).

Kantitatif gerçek zamanlı ters transkripsiyon PCR (qRT-PCR) testi

miRNA'ların, IncRNA'ların ve mRNA'nın göreceli ekspresyon düzeyleri, tedavi öncesi (temel) 40 PSCI hastasından, geleneksel tedavi sonrası 20 kontrol deneginden ve HBO tedavisi uygulanan 20 hastadan alınan RNA örnekleri kullanılarak qRT-PCR ile ölçülmüştür. 1 μ g total RNA, aşağıdaki reaksiyon koşulları altında RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (K1622, Thermo Fisher Scientific, CA, ABD) aracılığıyla ters transkripsiyon cDNA için kullanılmıştır: 5 dakika boyunca 65°C, ardından en az 2 dakika boyunca buz üzerinde soğutma; 10 dakika boyunca 25°C ve 1 saat boyunca 37°C. Ters transkripsiyon 10 dakika 70°C'de sonlandırılmıştır. cDNA şablonu, aşağıdaki döngü koşullarıyla SYBR premix EX TAQ II kiti (RR820A, Takara, Dalian, Çin) kullanılarak qRT-PCR analizine tabi tutulmuştur: 10 dakika boyunca 95°C, 40 döngü olmak üzere 15 saniye 95°C ve 1 dakika 60°C. Aday genlerin göreceli ekspresyonu 2^{- $\Delta\Delta$ CT} yöntemiyle hesaplanmış ve hedef gen ekspresyonunun normalizasyonu için referans olarak gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmada kullanılan primerler Tablo 1'de gösterilmiştir.

İkili lusiferaz analizi

IncRNA ve miRNA arasındaki etkileşimi veya miRNA ve mRNA arasındaki etkileşimi incelemek için, wild tip etkileşim dizilerini veya mutasyona uğramış dizileri içeren sekans PmirGLO ateş böceği lusiferaz raportörüne (Promega, WI, ABD) klonlanmıştır. Raportör, üreticinin talimatlarına göre Lipofectamine 3000 reaktifi (Invitrogen, Shanghai, Çin) kullanılarak miRNA mimik veya miR-NC ile 293T hücrelerine transfekte edilmiştir. Transfeksiyondan 48 saat sonra, göreceli lusiferaz aktiviteleri Dual-Luciferase Reporter Assay Kit (Promega, WI, ABD) kullanılarak bir lüminesans mikroploka okuyucuda ölçülmüştür.

Tablo 1. qRT-PCR primerlerinin sekansları

Gen		Primer
LINC00205	Düz	5'-TGGGGAGGGGAGACATAAGACA-3'
	Ters	5'-TTTACTGTCTCCTGTCTCTGGAGG-3'
TNFSF15	Düz	5'-GGAGAGGCCTGTGTGCAGTT-3'
	Ters	5'-TAGGAACCTCGGTGGCAGAGG-3'
GAPDH	Düz	5'-CGGAGTCAACGGATTTGGTCTGAT-3'
	Ters	5'-AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC-3'
hsa-miR-495-3p	Düz	5'-AACACGCAACAACATGGTGC-3'
	Ters	5'-CAGTGCAGGGTCCGAGGT-3'
U6	Düz	5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3'
	Ters	5'-AACGCTTACGAATTTGCGT-3'

İstatiksel analiz

İstatiksel analiz, GraphPad Prism 9,0 (GraphPad Software, La Jolla, Kaliforniya) kullanılarak iki grup arasındaki farkı karşılaştırmak için Student T testi ile gerçekleştirilmiştir. Zenginleştirme analizinde R yazılımı 3,3,1 (R Development Core Team) kullanılarak önemli Gen ontolojisi terimlerini ve yollarını filtrelemek için Fisher'in tam testi kullanılmıştır. P değeri <0,05 (çift yönlü) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Anlamlılık düzeyi *P <0,05, **P <0,01, ***P <0,001 olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Kontrol ve HBO gruplarındaki hastaların başlangıç özellikleri

PSCI tanısı konan toplam 40 hasta (21 erkek 19 kadın) araştırmaya dahil edilmiştir. Hastalar iki gruba ayrılmıştır: kontrol (geleneksel tedavi) grubu ve HBO terapisi grubu. Hastaneye yatış sırasındaki tıbbi kayıtlarına göre, iki grup arasında yaş, eğitim seviyesi, vücut kütle endeksi, alkol tüketimi

ve sigara kullanma gibi başlangıç özellikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 2).

Hiperbarik oksijen terapisi, PSCI hastalarının bilişsel performansını iyileştirmektedir

Kontrol grubu ve HBO grubuna hastaneye yatışta ve taburcudaki yapılan bilişsel performans değerlendirmeleri, iki grup arasında MMSE skorları açısından önemli bir fark olmadığını ortaya koymuştur. Ancak, HBO grubunun taburcu sırasındaki MoCA skorunda anlamlı şekilde yüksektir. Taburcu olduktan üç ve altı ay sonra, hem kontrol grubu hem de HBO grubunun bilişsel skorlarında bariz bir artış görülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte HBO grubunun MMSE skorunda bir artış gözlemlenmiştir. MoCA skorları 3. ve 6. aylarda HBO grubunda anlamlı olarak daha yüksektir. Bu da HBO tedavisinin PSCI hastalarının bilişsel performansını iyileştirmede faydalı bir etkisi olduğunu göstermektedir (Tablo 3).

Tablo 2. Başlangıçtaki hasta bilgileri

Değişken	Kontrol grubu (n=20)	HBO grubu (n=20)	t/ χ^2	P değeri
Yaş (yıl)	62,15±6,31	61,63±9,42	t=0,205	0,839
Cinsiyet, n (%)			0,784	0,376
Erkek	18(%90,00)	16(%80,00)		
Kadın	2(%10,00)	4(%20,00)		
Eğitim Düzeyi, n (%)			1,48	0,687
Okuma yazma bilmeyen	1(%5)	2(%10)		
İlkokul	5(%25)	4(%20)		
Ortaokul veya üzeri	14(%70)	13(%65)		
Diğer	0	1(%5)		
Vücut kitle endeksi (kg/m ²)	22,92±1,66	22,54±3,26	0,465	0,645
Sigara içme durumu, n (%)			0,440	0,507
Evet	8(%40)	6(%30)		
Hayır	12(%60)	14(%70)		
Alkol kullanımı, n (%)			0,902	0,342
Evet	9(%45)	12(%60)		
Hayır	11(%55)	8(%40)		
Hipertansiyon, n (%)			0,114	0,736
Evet	7(%35)	6(%30)		
Hayır	13(%65)	14(%70)		
Diyabet, n (%)			0,625	0,429
Evet	15(%75)	17(%85)		
Hayır	5(%25)	3(%15)		

a: Gruplar arasındaki farkları karşılaştırmak için t-testi kullanılmış ve P <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

b: Gruplar arasındaki farkları karşılaştırmak için ki-kare testi (χ^2) kullanılmış ve P <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

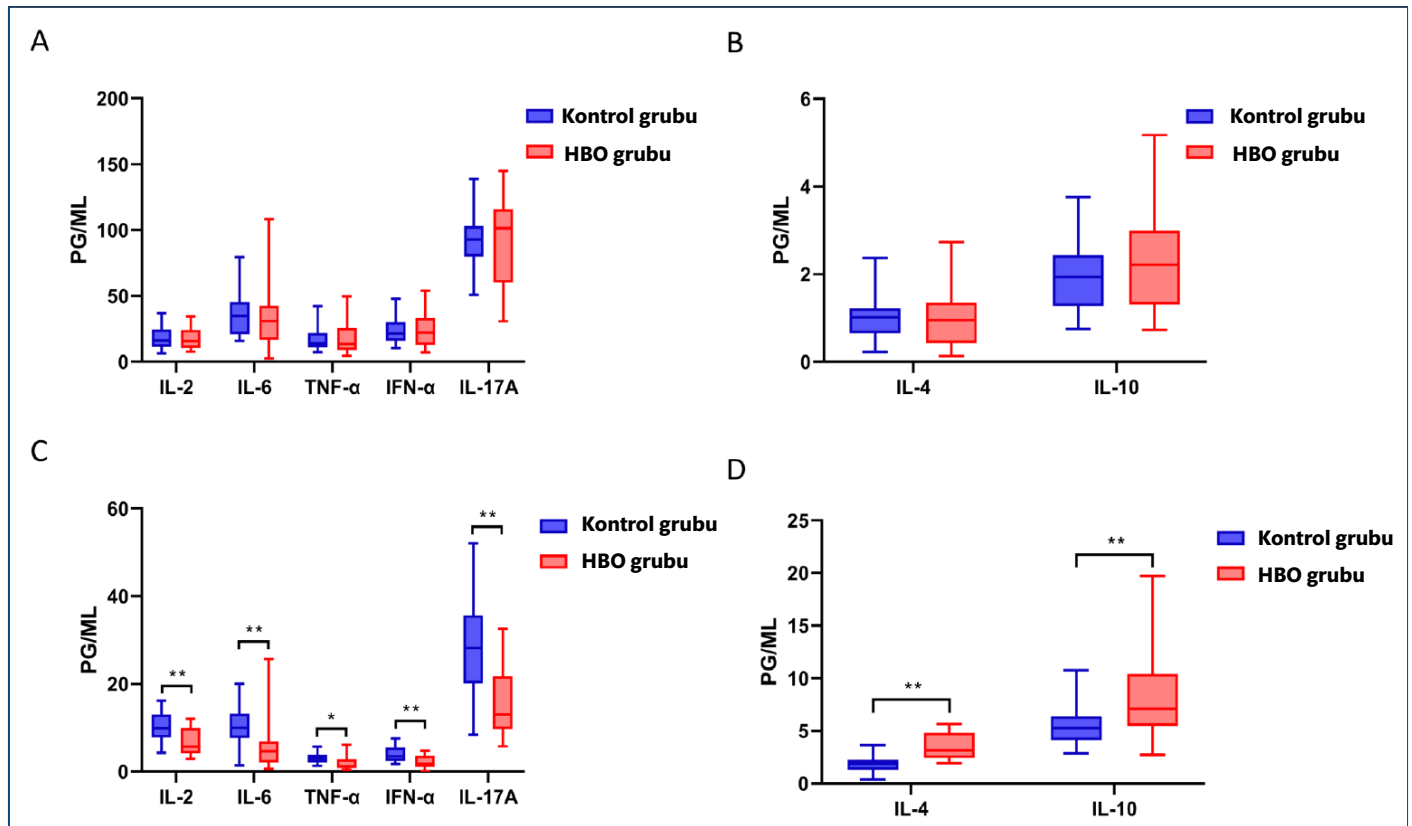
HBO: hiperbarik oksijen.

Tablo 3. Kontrol ve HBO grubundaki PSCI hastaların bilişsel performansları

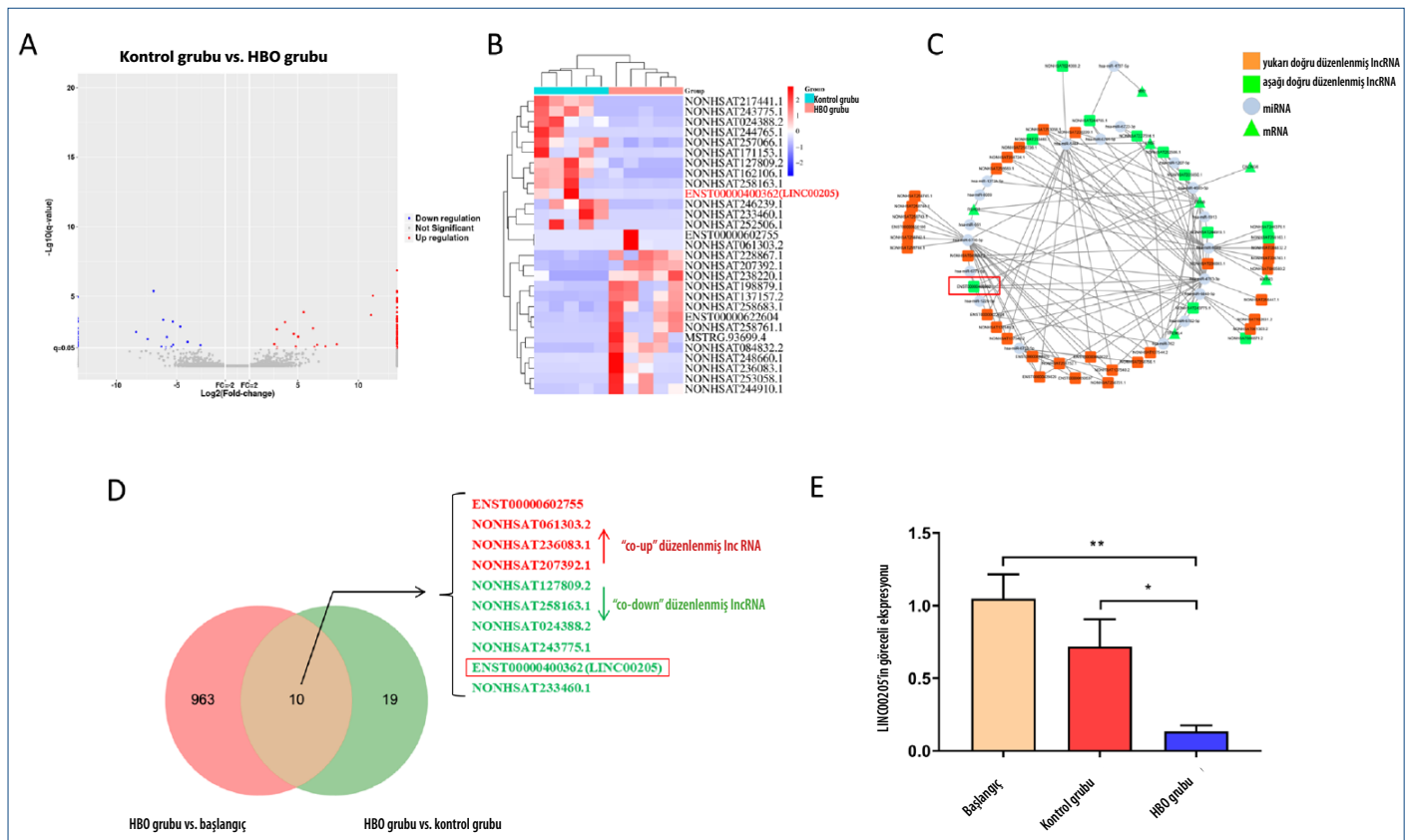
	Kontrol grubu	HBO grubu	P değeri ^c
MMSE			
Hastaneye yatış	17,6±3,05*	16,8±3,22	0,547 ^a
Taburcu	22±2,94	22,4±2,62	0,652 ^b
3 ay	23,4±2,76	24,8±2,04	0,076 ^b
6 ay	23,8±2,69*	25,2±1,96	0,15 ^a
MoCA			
Hastaneye yatış	14,6±2,28	14±2,47	0,43 ^b
Taburcu	17,4±3,23*	19,6±2,84	0,015 ^a
3 ay	19,75±2,65*	22,2±2,48	0,004 ^a
6 ay	20,4±2,52	23,0±2,20	0,001 ^b

* Normal şekilde dağılım göstermeyen, ^a Mann-Whitney U testi, ^b bağımsız örneklem t-testi, ^c Gruplar arasında.

HBO: Hiperbarik oksijen; MMSE: Mini-mental durum muayenesi; MoCA: Montreal bilişsel değerlendirme ölçeği; PSCI: İnce sonrası bilişsel bozukluk.



Şekil 1. a-d. HBO terapisi enflamasyon düzeyini azaltmaktadır. Kontrol grubundaki ve HBO grubundaki hastaların başlangıçtaki pro-enflamatuvar faktörleri (a) ve anti-enflamatuvar faktörleri (b) ELISA ile belirlenmiştir. Kontrol grubundaki ve HBO grubundaki hastaların tedaviden sonraki pro-enflamatuvar faktörleri (c) ve anti-enflamatuvar faktörleri (d) ELISA ile belirlenmiştir. (n=20).



Şekil 2. a-e. Kontrol ve HBO gruplarındaki LncRNA profillerinin ekspresyon analizleri. Kontrol ve HBO gruplarındaki diferansiyel LncRNA'ların taraması (her gruptan n=5 örnek) (a). Kontrol ve HBO grupları arasındaki DE-LncRNA'ları gösteren ısı haritaları (b). Kontrol ve HBO grupları arasındaki ceRNA ağı tahmini (c). Başlangıçtaki ile HBO tedavisi sonrası ve kontrol ile HBO grupları arasındaki DE-LncRNA'ların keşimi (d). HBO grubunda LINC00205'in anlamlı derece azalan ekspresyonunun RT-PCR doğrulaması (tedavi öncesi (başlangıçtaki) 40 PSCI hastasının örnekleri, geleneksel terapi (kontrol grubu) sonrası 20 örnek ve HBO tedavisi (HBO grubu) sonrası 20 örnek) (e).

Hiperbarik oksijen terapisi PSCI hastalarındaki enflamasyonu azaltmaktadır

Hastaneye yatışı anında kontrol grubu ve HBO grubu hastaları arasında pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar faktörler açısından anlamlı bir fark bulunmamaktaydı (Şekil 1a ve b, $p > 0,05$). Ayrıca tedaviden sonra taburcu olmadan önce alınan kan örneklerinde yapılan analizler, IL-2, IL-6, TNF- α , IFN- α ve IL-17A gibi pro-enflamatuvar faktörlerin HBO grubunda anlamlı ölçüde düşük olduğunu (Şekil 1c, $p < 0,05$), anti-enflamatuvar sitokinlerin (IL-4 ve IL-10) ise HBO grubunun kan örneklerinde kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğunu göstermiştir (Şekil 1d, $p < 0,05$).

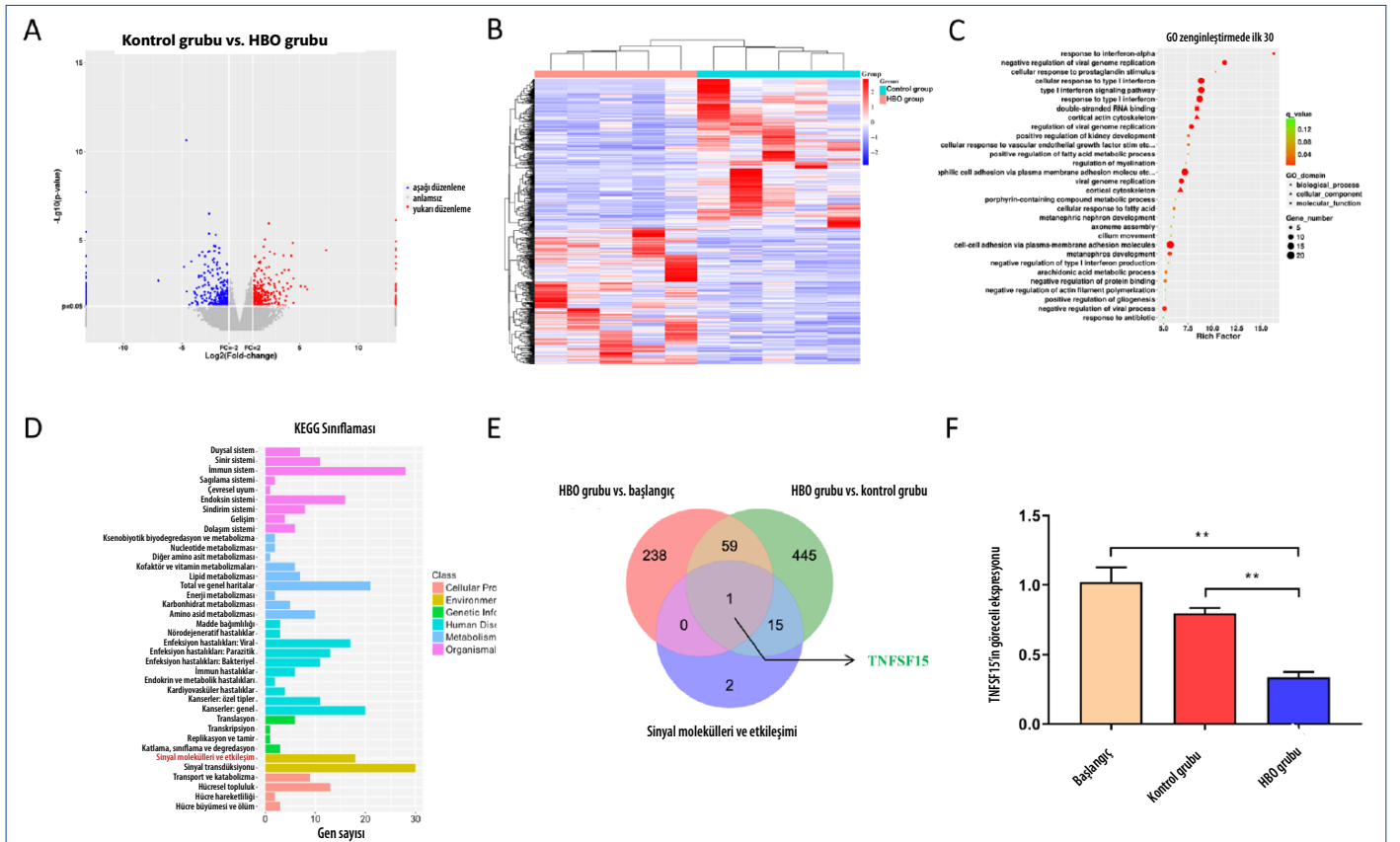
RNA-Sek, lncRNA'ların HBO tedavisinin bir parçası olduğunu göstermiştir

Giderek artan kanıtlar lncRNA'ların nörodejenerasyonun patolojik koşullarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (21). HBO terapisinin PSCI üzerindeki terapötik etkisinde lncRNA'larda meydana gelen değişikliklerin profilini çıkarmak için, tedaviden önce ve sonra her iki gruptan alınan total RNA örneklerini kullanarak yüksek çıktılı sekanslama gerçekleştirilmiştir (her gruba $n=5$). Sekanslama sonucunda tüm örneklerde 58.425 lncRNA tespit edilmiş olup bunlardan 91'i tedavi sonrasında kontrol grubuna kıyasla HBO grubunda farklı ekspresyonlara sahiptir ($\log_2FC < -1$ veya > 1 ve $p < 0,05$, 58'inin ekspresyonu artış gösterirken 33'ü azalma göstermiştir) (Şekil 2a). Aşırı düşük ekspresyona sahip 62 lncRNA (FPKM değeri 0'a yakın) hariç tutulmuş ve sonuç olarak 29 adet diferansiyel ekspresyona sahip lncRNA (DE-lncRNA'lar) elde edilmiştir (Şekil 2b). DE-lncRNA'ların ceRNA ağı veri tabanları tarafından yordanmış ve sonuçlar bu lncRNA'ların HBO tedavisinde farklı miRNA'ları ve mRNA ağını regüle etme potansiyeli olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 2c).

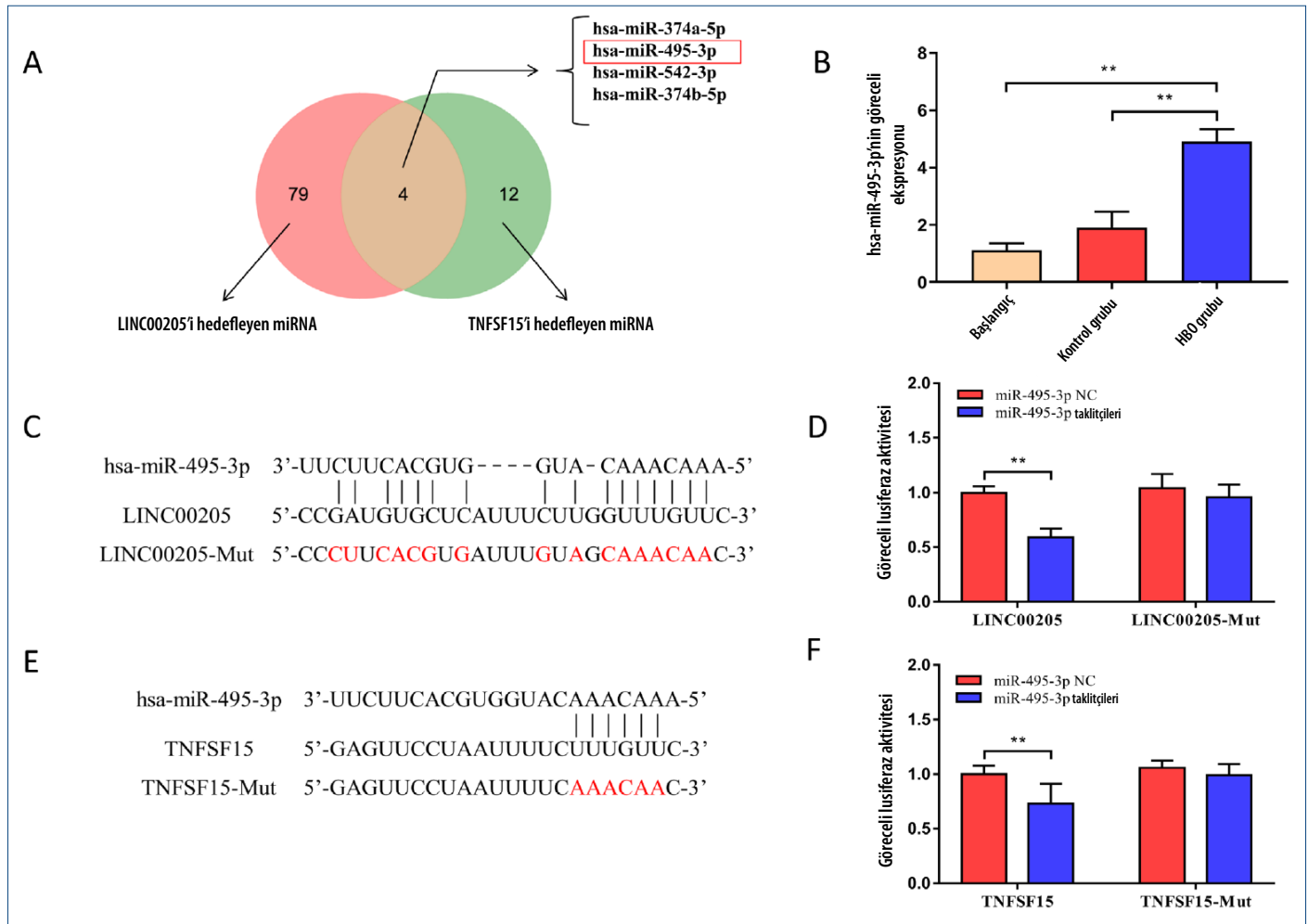
Ayrıca HBO grubundaki hastalarında HBO tedavisi öncesi (temel) ve sonrası lncRNA'larda yaşanan değişikliklerin profili çıkarılmıştır. Tanımlanan 973 DE-lncRNA'lar arasında, 10 DE-lncRNA'nın kontrol ve HBO grubu arasındaki karşılaştırmada ortak olduğu görülmüş olup (Şekil 2d) bu 10 DE-lncRNA'nın HBO tedavisinde özellikle rolü olabileceğini düşündürmektedir. HBO grubundaki en önemli ekspresyonu azaltıcı regülasyon gösteren ve bu 10 lncRNA'dan birisi olan LINC00205, araştırma için taranmıştır. qRT-PCR analizi, LINC00205 transkript miktarının HBO tedavisinden sonra başlangıça ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azaldığını doğrulamıştır (Şekil 2e).

PSCI hastalarının HBO tedavisinde rol oynayan fonksiyonel genler

HBO terapisiyle regüle edilen daha fazla fonksiyonel gen keşfetmek için yüksek çıktılı sekanslama veri transkriptomu incelenmiştir. Sonuçlar, kontrol ve HBO grubu arasında toplam 620 mRNA'da diferansiyel ekspresyon olduğunu göstermiştir. HBO grubunda 291'inin ekspresyonu artarken 329'unun ekspresyonu azalmıştır (Şekil 3a). Bu farklı ekspresyona sahip olan genlerin hiyerarşik kümeleme analizi, kontrol grubu ve HBO grubunun birlikte kümelendiğini ortaya koymuştur (Şekil 3b). Daha sonra DE-mRNA'lar hakkında daha fazla biyolojik bilgi edinmek için, gen ontolojisi (GO) ve KEGG yol zenginleştirme analizi gerçekleştirildi. Bu analizler, farklı ekspresyonlara sahip genlerin çeşitli biyolojik süreçlerde, hücresel bileşimde, moleküler işlevlerde ve sinyal yollarında zenginleştiğini ortaya koymuştur (Şekil 3c ve 3d). Bu da HBO terapisinin çok sayıda yol ve mekanizma aracılığıyla bilişsel bozukluk üzerinde terapötik etki oluşturduğunu düşündürmektedir. Araştırmamızın ana odak noktası, terapötik süreçte yer alan sinyal molekülleriydi. Sonrasında,



Şekil 3. a-f. Kontrol ve HBO gruplarındaki yer alan mRNA profili. Kontrol ve HBO gruplarındaki diferansiyel mRNA (DE-mRNA'lar) ekspresyonlarının küme analizi (b). Kontrol grubu ve HBO grubunda diferansiyel ekspresyon gösteren genlerin GO zenginleştirme (c) ve KEGG zenginleştirme (d) analizleri. Başlangıçta kıyasla HBO tedavisindeki, kontrol grubundakine kıyasla HBO grubundaki ve sinyal iletiminde yer alan DE-mRNA'ların kesişimi (e). HBO tedavisi sonrası mRNA TNFSF15'in anlamlı derecede azalan ekspresyonunun RT-PCR doğrulaması (tedavi öncesi (başlangıçta) 40 PSCI hastasının örnekleri, geleneksel terapi (kontrol grubu) sonrası 20 örnek ve HBO tedavisi (HBO grubu) sonrası 20 örnek) (f).



Şekil 4. a-f. LINC00205'in TNFSF15 ve miR-495-3P ile etkileşime girmektedir. Aday miRNA'lar, LINC00205 hedefli miRNA'lar ve TNFSF15 hedefli miRNA'ların kesişimi yoluyla tanımlanmıştır (a). Tedaviden önce (başlangıçta) 40 PSCI hasta örneğinde, geleneksel tedaviden sonra 20 örnekte (kontrol grubu) ve HBO tedavisinden sonra 20 örnekte (HPO grubu) qRT-RCR ile tespit edilen miR-495-3p ekspresyonu (b). miR-495-3p'nin LINC00205'e bağlanması için potansiyel bağlanma bölgelerinin biyoinformatik tahmini (c) ve 293T hücrelerindeki etkileşimi doğrulamak için in vitro ikili lusiferaz deneyi (d). miR-495-3p ve TNFSF15 mRNA arasındaki potansiyel bağlanma bölgelerinin biyoinformatik tahmini (e). 293T hücrelerinde miR-495-3p ve TNFSF15 mRNA arasındaki etkileşimin ikili lusiferaz deneyi ile doğrulanması (f).

HBO ile kontrol grupları karşılaştırması, HBO ve başlangıç değerleri karşılaştırması ve KEGG analizinde sinyal molekülleri ve etkileşim ile ilişkili DE-mRNA'lar arasındaki DE-mRNA'ların kesişimini bularak HBO tedavisinde özellikle rol oynayan sinyal faktörünü bulmaya çalıştık. HBO tedavisinden sonra anlamlı derecede ekspresyonu azalan fonksiyonel bir gen (TNFSF15, TNF süper ailesinin 15.si) tanımlanmıştır (Şekil 3e). TNFSF15'in NF- κ B sinyal yolunun regülasyonunda rol aldığı önceden bildirilmiş (22-24) olup TNFSF15'in NF- κ B aracılı enflamatuvar yanıt konusunda önemli bir rol oynayabileceği fikri ortaya atılmıştır. QRT-RCR ile ölçüldüğü üzere, TNFSF15 ekspresyonu HBO tedavisinden sonra anlamlı ölçüde azalmıştır (Şekil 3f).

LINC00205'in TNFSF15 ve miR-495-3P ile etkileşimleri

LINC00205 ve TNFSF15'in miRNA ile etkileşim ağını oluşturmak için 83 miRNA, LINC00205'in potansiyel hedefi olarak ve 16 miRNA TNFSF15 mRNA'nın ekspresyon artırıcı regülatörü olarak öngörülmüştür. Bu iki dizi miRNA'nın kesişimi olarak hem LINC00205'i hem de TNFSF15'i hedef alan dört miRNA belirlenmiştir (miR-374a-5p, miR-495-3p, miR-542-3p, miR-374b-5p) (Şekil 4a). qRT-RCR analizinde görüldüğü üzere, bu dört aday miRNA arasından miR-495-3p ekspresyonu, HBO tedavi grubunda en anlamlı şekilde ekspresyonu artan olmuştur (Şekil 4b). miR-495-3p ve LINC00205 arasındaki etkileşim ilişkisini doğrulamak için miR-495-3p ve LINC00205 arasındaki tahmin edilen

wild tip bağlanma bölgeleri ve mutasyona uğramış diziler bir lusiferaz raportörüne klonlanmıştır (Şekil 4c). miR-495-3P taklitçilerinin birlikte transfeksiyonu wild tip LINC00205 raportörünün aktivitesini önemli ölçüde inhibe ederken, öngörülen bağlanma bölgeleri mutasyona uğratıldığında inhibisyon ortadan kalkmıştır, bu da miR-495-3P'nin öngörülen etkileşim bölgeleri aracılığıyla LINC00205'e bağlandığını göstermektedir (Şekil 4d). Benzer şekilde, miR-495-3p ve TNFSF15 mRNA arasındaki öngörülen wild tip bağlanma bölgeleri ve mutasyona uğramış diziler lusiferaz raportörüne klonlanmıştır (Şekil 4e) ve miR-495-3P ve TNFSF15 mRNA arasındaki etkileşimin doğrulanmasına ilişkin aynı sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4f). Yukarıdaki sonuçlar, LINC00205'in miR-495-3P'yi absorbe etme işlevi görebileceğini ve bunun da TNFSF15 ekspresyonunu regüle ettiğini göstermektedir.

TARTIŞMA

Son yıllarda inme, yaşlı nüfusun en önemli sağlık sorunu hale gelmiş durumdadır. İnme, serebral kan akışının engellenmesi nedeniyle beyin dokularına oksijen ve besin sağlanamamasından kaynaklanan serebrovasküler bir hastalıktır. Bilişsel bozukluk da hastaların inme sonrası karşılaştığı yaygın komplikasyonlardan birisidir (1). Ek olarak, PSCI ölüm oranında artışa neden olabilmekte ve tedaviye uyumu etkileyebilmektedir. Bu nedenle motor ve dil fonksiyonlarının rehabilitasyonuna zarar vererek

hastaların hayat kalitelerini düşürebilmektedir (25,26). Zamanında müdahale, inme kaynaklı bilişsel bozukluk vakalarında son derece önemlidir.

Farmakolojik tedavi, rehabilitasyon ve bilişsel egzersiz PSCI hastalarında bilişsel işlevi iyileştirmek amacıyla uygulanmaktadır (27). Donepezil, inme sonrası oksidatif stresi hafifletebilen ve bilişsel işlevi iyileştirmek için asetilkolin bozulmasını azaltabilen sıkça kullanılan bir klinik asetilkolinesteraz inhibitörüdür (28). Son yıllarda, travmatik beyin hasarı ve inme sonrası bilişsel performansı iyileştirmek, nörolojik dejenerasyonu önlemek ve hayat kalitesini artırmak için HBO tedavisi uygulanmaktadır (29,30). HBO tedavisi, yaşlılarda nörodejeneratif hastalıkların tedavisi, özellikle de hafif bilişsel bozukluğa sahip hastaların biliş ve beyin metabolizmalarını iyileştirmek için yeni bir terapötik yöntem sunmaktadır. Yine de, HBO tedavisinin yararlı etkilerini mümkün kılan moleküler mekanizma halen bilinmemektedir.

Bu çalışmada yaş, cinsiyet, eğitim düzeyi ve yaşam alışkanlıkları gibi çelişki yaratabilen faktörlerin araştırmanın dışında tutulabilmesi için hastalar rastgele seçilmiş olup HBO tedavisinin PSCI hastaları üzerindeki etkileri tarafsız bir şekilde değerlendirilmiştir. HBO grubundaki PSCI hastalarının MMSE ve MoCA skorlarında geleneksel yöntemle tedavi gören kontrol grubundaki hastalara kıyasla iyileşme gözlemlenmiştir. Bu gözlem inme sonrası hastalarda yapılan önceki araştırmalarla tutarlıdır (31,32). Bu sonuçlara göre, donepezil ile birlikte uygulanan HBO tedavisi PSCI hastalarında daha yüksek bir bilişsel iyileşme ortaya koymaktadır. Nöroenflamasyon, inme sonrası nörodejenerasyonu artırıcı bir zararlı faktördür (33). Kontrol grubuyla kıyaslandığında HBO grubunun serumunda pro-enflamatuvar faktörlerin seviyesinin azalırken antienflamatuvar sitokin seviyesinin arttığı ortaya konmuştur. Sonuçlarımızla tutarlı olarak önceki çalışmalar, HBO tedavisinin oksidatif stresi, enflamasyonu ve nöronal apoptozu azaltabildiğini ve böylece inme sonrası fonksiyonel iyileşmeyi artırdığını bildirmiştir. (30,34)

lncRNA'ların disregülasyonu, klinik hastalarda ve fare modelinde iskemik inmenin ilerlemesinde rol oynamış olup (35-37) lncRNA'ların iskemik inme için yeni biyobelirteç ve terapötik hedef olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir. HBO'nun altında yatan mekanizmayı keşfetmek için, kontrol ve HBO gruplarının RNA örneklerinde yüksek kıtlıklı sekanslama analizi gerçekleştirilmiştir. LINC00205, HBO tedavisi sonrası ekspresyonu azalmış bir lncRNA olarak tanımlanmış ve qRT-PCR analiziyle doğrulanmıştır. mRNA profillemesi, TNFSF15'in HBO örneklerinde ekspresyonu azalmış kilit bir gen olduğunu ortaya koymuştur. TNFSF15, oksidatif stres regülasyonu ve enflamatuvar yanıtta rol oynamakta olup NF-κB ve MAPK sinyal yolunu aktive etmek ve endotel hücrelerde apoptozu başlatmak için tümör nekroz faktörü (TNF) ve IL-1α tarafından indüklenebilmektedir (38). Verilerimizde, TNFSF15 ekspresyonunun HBO grubunda tedavi öncesi örneklerle veya kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde daha düşük olduğu belirlenmiş olup, HBO grubundaki daha düşük pro-enflamatuvar sitokin seviyelerinin TNFSF15 ekspresyonunun azalmasına atfedilebileceğini düşündürmektedir. TNFSF15'in inme sonrası nöroenflamasyon ve bilişsel iyileşmeyi modüle etmedeki rolünü doğrulamak için ilave araştırmalar yürütülmesi gerekmektedir.

Çalışmamızın ileri sürdüğü gibi, azalmış TNFSF15 ekspresyonu HBO tedavisi sonrasında azalmış LINC00205 ekspresyonu ile korelasyon göstermiştir. Daha da önemlisi, ceRNA ağ analizi aracılığıyla miR-495-3p, LINC00205 ile TNFSF15 arasında bir bağlantı noktası olarak tanımlanmıştır. miR-495-3p'nin hem LINC00205 hem de TNFSF15 ile etkileşime girebildiği gösterilmiştir. HBO tedavisi sonrasında miR-495-3p ekspresyonu, LINC00205 ve TNFSF15'in azalan ekspresyonunun aksine büyük ölçüde artmıştır. Bu bulgular, LINC00205'in miR-495-3p'yi absorbe edecek bir sünger faktör olabileceğini göstermektedir. HBO tedavisi sonrası LINC00205'in ekspresyonunun azalması, TNFSF ekspresyonunu

baskılamak için miR-495-3p'nin aktivitesinin artmasına neden olur. İlginç bir şekilde diğer çalışmalar iskemi-reperfüzyon indüksiyonundan sonra kardiyomyositlerde miR-495-3p ekspresyonunun azaldığını göstermiştir. Bu durum da enflamatuvar hasarları şiddetlendirip kardiyomyosit hasarını ilerletebilmektedir (39,40). Bu yüzden, bu araştırmalar ve bizim bulgularımız, alta yatan mekanizmalar her dokuda aynı olmasa da, miR-495-3p'nin iskemik koşullarda koruyucu bir rolü olduğunu ileri sürmektedir.

PSCI hastalarının HBO tedavisinde LINC00205/miR-495-3p/TNFSF15 aksının olası bir işlevi ve mekanizması olduğunun ortaya konulmasına rağmen çalışmanın bazı kısıtlamaları mevcuttur. İlk olarak, miR-495-3p/LINC00205/TNFSF15 aksının inme sonrası bilişsel iyileşme ve HBO tedavisindeki işlevsel rolü hayvan deneyi üzerinde kanıtlanmalıdır. İnme sonrası bilişsel iyileşmede önemli rol oynayabilecek başka potansiyel lncRNA'lar da olabileceğinden, bunların işlevleri de gelecekte açıklığa kavuşturulmalıdır. Ayrıca, bu lncRNA'ların inme sonrası bilişsel bozukluğun teşhisinde potansiyel bir gösterge olma olasılığını değerlendirmek üzere geniş bir hasta kohortunun oluşturulması gerekmektedir.

Sonuç olarak, HBO tedavisinin PSCI hastalarının bilişsel performansını geleneksel tedavi yöntemiyle kıyaslandığında anlamlı derece iyileştirebildiği ortaya konmuştur. Ayrıca LINC00205/miR-495-3p/TNFSF15 aksının, HBO tedavisinin faydalı etkisinin altında yatan potansiyel bir regülatör ceRNA modülü olduğu öne sürülmüştür. İnme sonrası bilişsel iyileşmede LINC00205/miR-495-3p/TNFSF15 aksının işlevsel rolünü daha fazla incelemek adına gelecekte başka çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Etik Komite Onayı: İnsanlar üzerinde yapılan deneyler, 2019-KY007 numarasıyla Şangay Bilim ve Teknoloji Üniversitesi'ne Bağlı Shidong Hastanesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Hasta Onamı: Bu çalışmada yer alan hastalar Helsinki Bildirgesi'nde yer alan etik ilkeleri ve İyi Klinik Uygulamaları kılavuzu doğrultusunda çalışmaya dâhil edilmiştir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağlımsız.

Yazar Katkıları: Fikir- XY, ZW; Tasarım- XY, ZW ; Denetleme- ZW; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- TR, MW, DC; Analiz ve/veya Yorum- TR, MW, DC; Literatür Taraması- XY, ZS, JF; Yazıyı Yazan- XY, ZS, JF; Eleştirel İnceleme- XY, MC, ZS, TR, JF, MW, DC, ZW.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma Şangay Belediye Sağlık Komisyonu (No. 201940155) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Rost NS, Brodtmann A, Pase MP, Veluw SJ, Biffi A, Duering M, et al. Post-stroke cognitive impairment and dementia. *Circ Res.* 2022;130:1252-1271. [Crossref]
2. Crichton SL, Bray BD, McKevitt C, Rudd AG, Wolfe CD. Patient outcomes up to 15 years after stroke: survival, disability, quality of life, cognition and mental health. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2016;87:1091-1098. [Crossref]
3. Gold AB, Herrmann N, Swardfager W, Black SE, Aviv RI, Tennen G, et al. The relationship between indoleamine 2,3-dioxygenase activity and post-stroke cognitive impairment. *J Neuroinflammation.* 2011;8:17. [Crossref]
4. Swardfager W, Winer DA, Herrmann N, Winer S, Lanctot KL. Interleukin-17 in post-stroke neurodegeneration. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013;37:436-447. [Crossref]
5. Maas MB, Furie KL. Molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis. *Biomark Med.* 2009;3:363-383. [Crossref]
6. Ahmadi F, Khalatbary AR. A review on the neuroprotective effects of hyperbaric oxygen therapy. *Med Gas Res.* 2021;11:72-82. [Crossref]
7. Fischer I, Barak B. Molecular and therapeutic aspects of hyperbaric oxygen therapy in neurological conditions. *Biomolecules.* 2020;10(9):1247. [Crossref]
8. Gottfried I, Schottlender N, Ashery U. Hyperbaric oxygen treatment-from mechanisms to cognitive improvement. *Biomolecules.* 2021;11(10):1520. [Crossref]

9. He H, Li X, He Y. Hyperbaric oxygen therapy attenuates neuronal apoptosis induced by traumatic brain injury via Akt/GSK3 β / β -catenin pathway. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2019;15:369–374. [\[Crossref\]](#)
10. Mu J, Krafft PR, Zhang JH. Hyperbaric oxygen therapy promotes neurogenesis: where do we stand? *Med Gas Res*. 2011;1:14. [\[Crossref\]](#)
11. Kendall AC, Whatmore JL, Harries LW, Winyard PG, Smerdon GR, Eggleton P. Changes in inflammatory gene expression induced by hyperbaric oxygen treatment in human endothelial cells under chronic wound conditions. *Exp Cell Res*. 2012;318:207–216. [\[Crossref\]](#)
12. Godman CA, Chheda KP, Hightower LE, Perdrizet G, Shin DG, Giardina C. Hyperbaric oxygen induces a cytoprotective and angiogenic response in human microvascular endothelial cells. *Cell Stress Chaperones*. 2010;15:431–442. [\[Crossref\]](#)
13. Salmena L, Poliseno L, Tay Y, Kats L, Pandolfi PP. A ceRNA hypothesis: the rosetta stone of a hidden RNA language? *Cell*. 2011;146:353–358. [\[Crossref\]](#)
14. Ma N, Tie C, Yu B, Zhang W, Wan J. Identifying lncRNA-miRNA-mRNA networks to investigate Alzheimer's disease pathogenesis and therapy strategy. *Aging (Albany NY)*. 2020;12:2897–2920. [\[Crossref\]](#)
15. He Z, Yang D, Fan X, Zhang M, Li Y, et al. The Roles and mechanisms of lncRNAs in liver fibrosis. *Int J Mol Sci*. 2020;21:1482. [\[Crossref\]](#)
16. Shyu K-G, Wang B-W, Pan C-M, Fang W-J, Lin C-M. Hyperbaric oxygen boosts long noncoding RNA MALAT1 exosome secretion to suppress microRNA-92a expression in therapeutic angiogenesis. *Int J Cardiol*. 2019;274:271–278. [\[Crossref\]](#)
17. Shyu K-G, Wang B-W, Fang W-J, Pan C-M, Lin C-M. Hyperbaric oxygen-induced long non-coding RNA MALAT1 exosomes suppress MicroRNA-92a expression in a rat model of acute myocardial infarction. *J Cell Mol Med*. 2020;24(22):12945–12954. [\[Crossref\]](#)
18. Ye Y, Feng Z, Tian S, Yang Y, Jia Y, Wang G, et al. HBO alleviates neural stem cell pyroptosis via lncRNA-H19/miR-423-5p/NLRP3 axis and improves neurogenesis after oxygen glucose deprivation. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:9030771. [\[Crossref\]](#)
19. Tombaugh TN, McIntyre NJ. The mini-mental state examination: a comprehensive review. *J Am Geriatr Soc*. 1992;40:922–935. [\[Crossref\]](#)
20. Anika M, Thomas P, Knut R, Alexander M, Michael D, Amelie L. Evaluation of HepaRG cells for the assessment of indirect drug-induced hepatotoxicity using INH as a model substance. *Hum Cell*. 2017;30:267–278. [\[Crossref\]](#)
21. Riva P, Ratti A, Venturin M. The long non-coding RNAs in neurodegenerative diseases: novel mechanisms of pathogenesis. *Curr Alzheimer Res*. 2016;13:1219–1231. [\[Crossref\]](#)
22. Hedl M, Abraham C. A TNFSF15 disease-risk polymorphism increases pattern-recognition receptor-induced signaling through caspase-8-induced IL-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111:13451–13456. [\[Crossref\]](#)
23. Zhang Z, Li LY. TNFSF15 modulates neovascularization and inflammation. *Cancer Microenviron*. 2012;5:237–247. [\[Crossref\]](#)
24. Sun R, Hedl M, Abraham C. TNFSF15 promotes antimicrobial pathways in human macrophages and these are modulated by TNFSF15 disease-risk variants. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2021;11:249–272. [\[Crossref\]](#)
25. Zinn S, Dudley TK, Bosworth HB, Hoenig HM, Duncan PW, Horner RD. The effect of poststroke cognitive impairment on rehabilitation process and functional outcome. *Arch Phys Med Rehabil*. 2004;85:1084–1090. [\[Crossref\]](#)
26. Shirai C, Frey S, Barrett A. Rehabilitation of poststroke cognition. *Semin Neurol*. 2014;34:496–503. [\[Crossref\]](#)
27. Xuefang L, Guihua W, Fengru M. The effect of early cognitive training and rehabilitation for patients with cognitive dysfunction in stroke. *Int J Methods Psychiatr Res*. 2021;30:e1882. [\[Crossref\]](#)
28. Zhang X, Lian S, Zhang Y, Zhao Q. Efficacy and safety of donepezil for mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2022;213:107134. [\[Crossref\]](#)
29. Chen JW, Zhao L, Zhang F, Bian MZ, Liu YA, Meng TT, et al. Hyperbaric oxygen ameliorates cognitive impairment in patients with alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Alzheimers Dement*. 2019;15(7S_Part_31):1601. [\[Crossref\]](#)
30. Fu QY, Duan R, Sun Y, Li QF. Hyperbaric oxygen therapy for healthy aging: from mechanisms to therapeutics. *Redox Biology*. 2022;53:102352. [\[Crossref\]](#)
31. Zhang L, Sun Q, Xin Q, Qin JN, LZhang, Wu D, et al. Hyperbaric oxygen therapy mobilized circulating stem cells and improved delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning with up-regulation of brain-derived neurotrophic factor. *Am J Emerg Med*. 2021;42:95–100. [\[Crossref\]](#)
32. Chen J, Zhao F, Zhao L, Cheng C, Zhong R, Dong C, et al. Hyperbaric oxygen ameliorates cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Alzheimers Dement*. 2020;14:12030. [\[Crossref\]](#)
33. Stuckey SM, Ong LK, Collins-Praino LE, Turner RJ. Neuroinflammation as a Key Driver of Secondary Neurodegeneration Following Stroke? *Int J Mol Sci*. 2021;22. [\[Crossref\]](#)
34. Cozene B, Sadanandan N, Gonzales-Portillo B, Saft M, Cho J, Park YJ, et al. An extra breath of fresh air: hyperbaric oxygenation as a stroke therapeutic. *Biomolecules*. 2020;10:1279. [\[Crossref\]](#)
35. Akella A, Bhattarai S, Dharap A. Long noncoding RNAs in the pathophysiology of ischemic stroke. *NeuroMolecular Med*. 2019;474–483. [\[Crossref\]](#)
36. Ren W, Yang X. Pathophysiology of long non-coding RNAs in ischemic stroke. *Front Mol Neurosci*. 2018;11:96. [\[Crossref\]](#)
37. Mehta SL, Kim T, Vemuganti R. Long noncoding RNA FosDT promotes ischemic brain injury by interacting with REST-associated chromatin-modifying proteins. *J Neurosci*. 2015;35:16443–16449. [\[Crossref\]](#)
38. Xu L-X, Grimaldo S, Qi J-W, Yang G-L, Qin T-T, Xiao H-Y, et al. Death receptor 3 mediates TNFSF15- and TNF α -induced endothelial cell apoptosis. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014;55:109–118. [\[Crossref\]](#)
39. Chen Y-E, Yang H, Pang H-B, Shang F-Q. Circ-CBFB exacerbates hypoxia/reoxygenation-triggered cardiomyocyte injury via regulating miR-495-3p in a VDAC1-dependent manner. *J Biochem Mol Toxicol*. 2022;36:e23189. [\[Crossref\]](#)
40. Luo M, Sun Q, Zhao H, Tao J, Yan D. Long noncoding RNA NEAT1 sponges miR-495-3p to enhance myocardial ischemia-reperfusion injury via MAPK6 activation. *J Cell Physiol*. 2020;235:105–113. [\[Crossref\]](#)