



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg.
2018; 32 (2): 71 - 75
http://www.fusabil.org

Hatice AKKAYA

Yeditepe Üniversitesi,
Tıp Fakültesi
Deneysel Araştırma
Merkezi,
İstanbul, TÜRKİYE

ORCID: 0000-0001-7276-6919

Geçici Serebral İskemi Fare Modelinde Kisspeptin-10'un Böbrekteki Oksidan ve Antioksidan Aktiviteye Etkisi*

Amaç: Oksidatif stres üzerinde, geçici karotid arter oklüzyonu sonrası iskeminin ve kisspeptinin ayrı ayrı etkileri bilinmemekteyken, kisspeptinin, karotid arter iskemisi (KAİ) sonrası periferik dokulardaki oksidatif strese etkisi üzerine bir araştırmaya literatürlerde rastlanmamıştır. Bu çalışmada, iskemi uygulaması öncesinde verilen kisspeptinin, iskemi sonrası böbreklerde oluşabilecek oksidatif değişimlere olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Erişkin C57/BL6 ırkı fareler 1-Sham, 2-Kisspeptin, 3-İskemi ve 4-İskemi+Kisspeptin olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır (n=5). Sham ve İskemi gruplarına, operasyondan (sham) 40 dakika önce intraperitoneal olarak sadece serum fizyolojik, Kisspeptin ve İskemi+Kisspeptin gruplarına 20 nmol dozunda kisspeptin uygulanmıştır. Sonrasında iskemi grupları 15 dakika KAİ'ye maruz bırakılarak, iki saat boyunca reperfüzyona tabi tutulmuştur. Toplamda 175 dakikalık deney periyodundan sonra hayvanlar dekapite edilerek böbrekler alınmış, total oksidan ve antioksidan seviyesi (TOS ve TAS) değerleri belirlenmiştir.

Bulgular: Karotid Arter İskemisi, TOS ve TAS parametrelerinde herhangi bir değişime sebep olmamıştır. İskemi grubuna kisspeptin uygulamasının, TOS değerine herhangi bir etkisi gözlemlenmezken, TAS değerinde anlamlı olmayan bir yükselmeye sebep olmuştur (P=0,41). Sham operasyona maruz kalan gruba kisspeptin uygulamasının TOS değerinde anlamlı olmayan bir düşüşe sebep olduğu gözlemlenirken (P=0,18). TAS değerinde herhangi bir etkisi görülmemiştir. İskemi+Kisspeptin grubunda ise TAS, Kisspeptin grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (P=0,031).

Sonuç: Karotid Arter İskemisi (KAİ) sonrasında TAS ve TOS değerlerinde bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak, kisspeptin uygulamasının antioksidan durumunu artırması, kisspeptinin böbreklerdeki antioksidan aktiviteyi artırdığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Geçici serebral iskemi, kisspeptin, böbrek, oksidatif stres

The Role of Kisspeptin-10 on Oxidant and Antioxidant Activity in the Kidney in the Mice Model of Transient Cerebral Ischemia

Objective: While the individual effects of ischemia after carotid artery occlusion and kisspeptin on the oxidative stress are known, there is no research in the literature on the effect of kisspeptin on oxidative stress in peripheral tissues after carotid artery ischemia (CAI). In this study, it was aimed to investigate the effect of kisspeptin given before ischemia on oxidative alterations in kidneys after ischemia.

Materials and Methods: Adult C57/BL6 mice were divided into 4 groups as 1-Sham, 2-Kisspeptin, 3-Ischemia and 4-Ischemia+Kisspeptin (n=5). Groups were administered only saline physiologic (Sham and Ischemia groups) and kisspeptin (Kisspeptin and Ischemia+Kisspeptin groups) intraperitoneally 40 minutes before ischemia and the operation (sham). Subsequently, the Ischemia groups were exposed to CAI for 15 minutes and reperused for two hours. After the 175 min experimental period, animals were decapitated, and kidneys were removed, total oxidant and antioxidant status (TOS and TAS, respectively) were determined.

Results: Carotid artery ischemia did not cause any changes in TOS and TAS parameters. The kisspeptin administration to ischemic group caused an insignificant increase in TAS levels (P=0.41), while no effect was observed on TOS levels. There was no effect on TAS levels, while TOS levels were insignificantly reduced in the Ischemia+Kisspeptin group compared to sham operation (P=0.18). TAS was significantly higher in the Ischemia+Kisspeptin group compared to Kisspeptin group (P=0.032).

Conclusion: There was no change in TAS and TOS levels after CAI. However, the increase in total antioxidant status upon kisspeptin administration without causing any change in the total oxidative status suggests that kisspeptin increases antioxidant activity in the kidneys.

Key words: Transient cerebral ischemia, kisspeptin, kidney, oxidative stress

Geliş Tarihi : 03.05.2018
Kabul Tarihi : 10.09.2018

Yazışma Adresi Correspondence

Hatice AKKAYA
Yeditepe Üniversitesi,
Tıp Fakültesi
Deneysel Araştırma
Merkezi,
İstanbul - TÜRKİYE

hatice.akkaya@yeditepe.edu.tr

* 2. Uluslararası Multidisipliner Çalışmaları Kongresi, 4-5 Mayıs 2018, Adana/TÜRKİYE.

Giriş

Serebral iskemide (inme) beyin dokusunun bir kısmında, bir damarın oklüzyonu ile kan akımının azalmasıdır (1). Yetişkinlerde, iskemik inme, ikinci en sık görülen ölüm nedenidir (2). Global ve geçici serebral iskemide, çoğunlukla insanlardaki kardiyak arrestten kaynaklanır ve yüksek işlev, baş dönmesi ve baş ağrısı gibi duyu ve bilinç bozukluklarına neden olur (3, 4).

Serebral iskemide reperfüzyon hasarı, kan akışını iskemik beyin dokusuna geri getirmenin bilinen bir komplikasyonudur (5). Kan akımı geri döndüğünde, oksijen ve beyaz kan hücreleri yaralanma alanına tekrar girer ve proteazların ve serbest radikallerin salınmasını sağlar. Proteazlar ve serbest radikaller, iskemik hasarın çoğalmasındaki esas faktörlerdir ve bunlar çok karmaşık reaksiyonlar oluştururlar (6). Beyin felci olan hastalarda, kan akışının tekrar sağlanmasından sonra serebral iskemide-reperfüzyon (I/R) yaralanması sıklıkla ortaya çıkmakta ve daha ciddi nörolojik yetersizliklere neden olmaktadır (7). Bu nedenle, I/R yaralanması, önemli patojenik mekanizma olarak düşünülmüştür.

Kisspeptin reseptörü olan GPR54, hipokampus ve korteks gibi ekstra-hipotalamik beyin bölgelerinde ifade edilmiş (8-11) ve ilk olarak kiss1 geninin metastaz baskılayıcı ürünü metastaz olarak tanımlanmıştır (12). Kisspeptinin hipotalamik-hipofiz gonadal eksenini stimüle ettiği ve oksidatif hasara karşı antioksidan enzimin ekspresyonunu değiştirdiği ortaya çıkmıştır (13). Aydın ve ark. (14) yaptıkları çalışmada kisspeptin uygulamasının karaciğer dokusunda oksidatif ve antioksidatif sistemlere olumlu etkileri olduğunu göstermişlerdir. Ciddi beyin travması geçiren hastalarda oluşan akut böbrek yetmezliği, klinikte gözlemlenen bir durumdur. Bunun nedenleri olarak önerilen mekanizmaların başında nöroinflamasyon, artan viseral nöronal sempatik aktivitede artma ve vazopresin etkisiyle hipotalamo-hipofiz-adrenal aks üzerinden oluşan renal sodyum düzenlenmesindeki değişiklikler gelmektedir (15). Beyin hasarı yoğunluğu, birincil yaralanma derecesini ve ikincil hasara bağlı olan bir inflamatuvar yanıtı aktive eder (16). Beyin hasarı sonrası oluşan inflamatuvar olayların karmaşık kaskadına, komplemanların, sitokinlerin, adezyon moleküllerinin ve diğer çok fonksiyonlu peptitlerin üretimi ve aktivasyonu aracılık eder. Merkezi sinir sistemi hücrelerinin bol miktarda inflamatuvar kaynağı vardır (17, 18) ve proinflamatuvar sitokinlerin ve kompleman bileşenlerinin merkezi sinir sistemi ekspresyonu, kan-beyin bariyeri (BBB) boyunca nötrofiller ve monositlerin (makrofajlar) alınmasına ve nöro-inflamasyonun geliştirilmesine yol açmaktadır (19). Nöro-inflamasyonun sistemik etkileri, hipotalamik - hipofiz - adrenal aksı ve otonom sinir sistemi gibi nöroendokrin yolları tarafından da aracılık edilmektedir (20, 21). Bu farklı mekanizmaların genel etkisi, bağışıklık sisteminin depresyonu (20) ve hücre kaynaklı immünitenin baskılanmasıdır (22). Enfeksiyon bu nedenle önemli bir komplikasyondur ve alt solunum yollarında meydana gelen enfeksiyonların neredeyse yarısına sahip olan beyin hasarlı hastaların % 50-65'inde görülmektedir (22, 23). Akut beyin hasarı genellikle sempatik sinir sistemi aktivitesini ve sistolik

hipertansiyona neden olan plazma katekolaminlerini arttırmaktadır. Artmış viseral sempatik sinir sistemi aktivasyonu, renal sodyum reabsorpsiyonunun artmasıyla birlikte azalmış renal glomerüler perfüzyon ile sonuçlanmaktadır (24). Ayrıca akut serebral yaralanma, hem vazopresin sekresyonundaki değişikliklere hem de serebral sodyum atımına bağlı olarak renal sodyum tutulumundaki akut değişikliklere yol açabilmektedir (25). Tüm bu komplikasyonlar göz önüne alındığında kisspeptinin, karotid arter iskemisi (KAİ) sonrası periferik dokularda oluşan oksidatif değişikliklere etkisi sorgulanmış ve böbreklerdeki etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

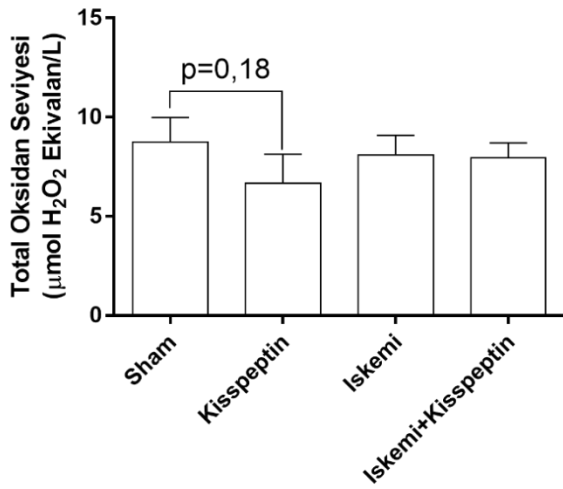
Deneyel prosedürler için etik kurul onayı Yeditepe Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, Türkiye 20.04.2018 ve 667a). Deney süresi boyunca kafeslerin bulunacağı ortam, 21 ± 1 °C sıcaklık ve 12 saat aydınlık/karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu amaçla, erişkin C57/BL6 ırkı fareler beşerli olarak rastgele belirtilen dört gruba ayrılmıştır: 1-Sham grubu, 2-Kisspeptin grubu, 3-İskemi grubu 4-İskemi+Kisspeptin grubu. Sham ve İskemi gruplarına, operasyondan (sham) 40 dakika önce intraperitoneal olarak sadece serum fizyolojik, Kisspeptin ve İskemi+Kisspeptin gruplarına 20 nmol (M2816 Metastin (45-54) amide, human) dozunda kisspeptin uygulanmıştır. Sonrasında İskemi grupları 15 dakika her iki karotid arter anevrizma klipsi ile sıkıştırılarak iskemide maruz bırakılmış ve iki saat boyunca reperfüzyona tabi tutulmuştur. Toplamda 175 dakikalık deney periyodundan sonra hayvanlar dekapite edilerek böbrekler alınmış ve doku homojenati hazırlanarak (DPBS & Protease inhibitör kokteyli (cOComplete Protease Inhibitor Cocktail, Sigma) total oksidatif (Rel Assay Diagnostics Total Oxidant Status Assay Kit RL), total antioksidatif seviyeleri (Rel Assay Diagnostics Total Antioxidant Status Assay Kit) (TOS ve TAS) belirlenmiştir (26, 27).

İstatistiksel analizler GraphPad Prism kullanılarak yapılmıştır. Verilerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk normal dağılım testi ile test edilmiştir. Ancak gruplardaki örneklem sayısı düşük olduğundan istatistiksel analizler Mann-Whitney H (Nonparametrik Tek Yönlü Varyans Analizi) testi ve Dunn'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. 0.05'ten küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

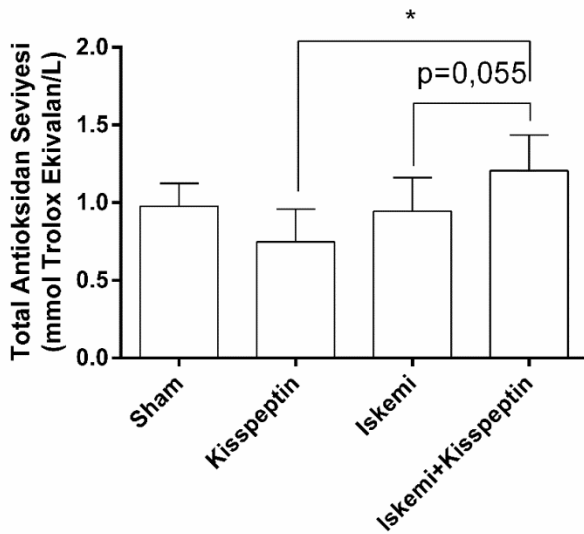
Bulgular

Karotid Arter İskemisi (KAİ) sonrasında, Sham grubuna kıyasla TOS değerlerinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Bununla birlikte, İskemi grubu ile İskemi+Kisspeptin gruplarının TOS değerleri arasında da bir farklılık bulunamamıştır (Şekil 1). Ancak, Sham grubuna kisspeptin uygulanması TOS Ancak, Sham grubuna kisspeptin uygulanması TOS değerlerinde azalmaya sebep olmuştur ancak bu azalma anlamlı değildir (Sham grubu= 8.73 ± 1.24 mmol H₂O₂ Ekvivalan/L, Kisspeptin grubu = 6.66 ± 1.45 mmol H₂O₂ Ekvivalan/L; P=0.18).

Benzer şekilde, Sham grubu ile İskemi grubunun TAS değerleri arasında herhangi bir fark gözlemlenmemiş olup etkisi gözlemlenmemişken, İskemi grubuna kıyasla, İskemi+Kisspeptin grubunda TAS değerlerinde bir artışa sebep olsa da bu artış anlamlı bulunmamıştır (İskemi grubu= 0.94 ± 0.21 mmol Trolox Ekvivalan/L, İskemi+Kisspeptin grubu= 1.20 ± 0.22 mmol Trolox Ekvivalan/L; $P=0.44$; Şekil 2). Ancak İskemi+Kisspeptin grubunun TAS değerleri, Kisspeptin grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($P=0.032$). Kisspeptin uygulamasının total oksidatif durumda (TOS değerleri) herhangi bir değişiklik oluşturmadan total antioksidan durumunu (TAS değerleri) artırması, kisspeptinin böbreklerdeki antioksidan aktiviteyi olumlu yönde etkilediğini öne sürmektedir.



Şekil 1. Total Oksidan Seviyesi. İstatistik analizler için Mann-Whitney test kullanılmıştır (n=5)



Şekil 2. Total Antioksidan Seviyesi. İstatistik analizler için Mann-Whitney test kullanılmıştır (* $P=0.032$; n=5)

Tartışma

Kisspeptin uygulamasının ve I/R hasarının ayrı ayrı oksidatif strese olan etkileri bilinmektedir, ancak KAI'nin perifer dokularda oluşan oksidatif değişikliklere olan etkisi üzerine çalışmalar kısıtlıdır (15). Yapılan bu çalışmada, Kisspeptin-10'un KAI sonrası böbrekte meydana getirdiği oksidatif değişikliklere olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Serebral kan akımı, normal insan beyinde yaklaşık 55 mL/100g/dakika olarak otoregüle edilmektedir. Bu durum, beyne enerji sağlanması için glukozun ve oksijenin sürekliliğini sağlayıp, hücre membran potansiyeli, nörotransmitter paketlenmesi, salınımı ve hücre yapısının desteklenmesini sağlamaktadır (28-30). Bu değer 20 mL'nin altına düşerse oksijen ekstraksiyon fraksiyonu maksimum seviyeye ulaşır ve oksijenin serebral metabolik hızı düşer ve bunun sonucunda da iskemik görülür (31). İnme sonrası gelişen beyin hasarı birden fazla yolağın etkileşimi ile sonuçlanır: iyonik dengesizlik, asidotoksisite, eksitotoksisite, peri-enfarktüsten depolarizasyon, infalamsiyon, apoptozis, oksidatif ve nitrosatif stres bu kısımda sıralanabilir (32).

Kisspeptin, insan metastatik melanoma kanser hücreleri ile yapılan çalışmada metastaz baskılayıcı gen olarak ifade edilmiş, daha sonraları bu peptidin gonadotropin salıcı hormon (GnRH) nöronlarının primer uyarıcısı olduğu tespit edilmiştir (33). Bununla birlikte, klinik çalışmalarda sağlıklı erkek ve kadınlarda luteinleştirici hormon ve folikül stimulan hormon salgılanmasının, farklı kisspeptin izoformları uygulanması sonrasında arttığı gözlemlenmiştir (34). Böylece kisspeptin ile ilgili araştırmalar önce üreme fizyolojisi üzerine yoğunlaşmış, fakat farklı veriler gün geçtikçe artmıştır. Ayrıca kisspeptin uygulamasının oksidatif strese karşı etkili olduğu da çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmalardan ilkinde beyin dokusunda metiyoninle indüklemiş hiperhomosisteinemiye kisspeptininin etkisi araştırılmıştır (35). Bulunan sonuçlarda, kisspeptin uygulanması sonucunda beyinde oluşan apoptotik hücre ölümünün kisspeptin uygulaması sonucunda azaldığı, oksidatif stres belirteçlerinden olan malondialdehit (MDA) seviyesindeki artışın bir miktar azaldığı, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmadığı, metiyonin uygulanması sonrası oluşan glutatyon (GSH) seviyesindeki azalmanın kisspeptin uygulaması sonrasında bir miktar arttığı gözlemlenmiştir (35). Bir diğer çalışmada ise metiyoninle indüklenmiş hiperhomosisteinemiye kisspeptininin spermatogenetik hücrelerde oluşan hasara etkisi incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, metiyonin uygulanması sonucunda ortaya çıkan antioksidan enzimlerde meydana gelen etkilerin, kisspeptin uygulanmasıyla normale döndüğü (36), metiyonin uygulanması sonrasında meydana gelen tübül yapısındaki bozukluklarda kisspeptin uygulaması sonrasında kısmi düzelmeye meydana geldiği, apoptotik hücre sayısının kisspeptin uygulanması sonucunda daha az bulunduğu ifade edilmiştir (36). Aslan ve ark. (37), sıçan over ve uterus dokusunda I/R sonrasında oksitosin ve kisspeptinin etkisini incelemiş, kisspeptin

uygulanmasının, I/R sebebiyle uterusta gerçekleşen histolojik bozulmalarda iyileşmeye sebep olduğu, ancak overlerde bir etkisinin görülmediği gözlenmiştir. Ancak, hem uterusta hem de overde, oksitosinle birlikte uygulandığında histolojik açıdan iyileşmeye yol açmıştır. Bununla birlikte, her iki dokuda, kisspeptin uygulaması, I/R sonrası ortaya çıkan oksidatif stres parametrelerindeki bozulmalarda iyileşme meydana getirirken, oksitosinle birlikte uygulandığında, bu parametrelerde normalleşmeyi sağladığı gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada, Kisspeptin-10'un KAİ sonrasında böbrekte meydana gelen oksidatif değişikliklere olan etkisi incelenmiş ve sonuç olarak, KAİ sonrasında total

oksidatif stres seviyesinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak, kisspeptin uygulamasının total oksidatif durumda herhangi bir değişiklik oluşturmadan total antioksidan durumunu arttırması, kisspeptinin böbreklerdeki antioksidan aktiviteyi arttırdığını göstermektedir. Bunun yanında, total antioksidan aktivite ve total oksidan aktivite ölçümleri pratik ve hızlı yöntemler olsa da (26, 27), kisspeptin uygulamasının, KAİ sonrasında böbreklerde oluşturduğu oksidatif etki hakkında daha fazla bilgi elde etmek için spesifik oksidatif stres belirteçlerinin aktivitelindeki değişimi incelemek daha sağlıklı bir oksidan/antioksidan aktivite profili elde etme açısından yararlı olacaktır.

Kaynaklar

- Cimarosti H, Henley JM. Investigating the mechanisms underlying neuronal death in ischemia using in vitro oxygen-glucose deprivation: Potential involvement of protein. SUMOylation. *Neuroscientist* 2008; 14: 626-636.
- Murray CJ, Lopez AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349: 1269-1276.
- Kirino T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res* 1982; 239: 57-69.
- Pulsinelli WA. Pathophysiology of acute ischemic stroke. *Lancet* 1992; 339: 533-536.
- Hallenbeck JM, Dutka AJ. Background review and current concepts of reperfusion injury. *Arch Neurol* 1990; 47: 1245-1254.
- Jian Liu K, Rosenberg GA. Matrix metalloproteinases and free radicals in cerebral ischemia. *Free Radic Biol Med* 2005; 39: 71-80.
- Pan J, Konstas AA, Bateman B, et al. Reperfusion injury following cerebral ischemia: Pathophysiology, MR imaging, and potential therapies *Neuroradiology* 2007; 49: 93-102.
- Oakley AE, Clifton KD, Steiner AS. Kisspeptin Signaling in the Brain *Endocrine Reviews* 2009; 30: 713-743.
- Mikkelsen JD, Simonneaux V. The neuroanatomy of the kisspeptin system in the mammalian brain. *Peptides* 2009; 30: 26-33.
- Arai AC. The role of kisspeptin and GPR54 in the hippocampus. *Peptides* 2009; 30: 16-25.
- Cravo RM, Margatho LO, Osborne-Lawrence S, et al. Characterization of Kiss1 neurons using transgenic mouse models. *Neuroscience* 2011; 173: 37-56.
- Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst.* 1996; 88: 1731-7.
- Milton NGN. Kisspeptin prevention of amyloid- β peptide neurotoxicity in vitro. *ACS Chem Neuroscince* 2012; 3: 706-719.
- Aydin M, Oktar S, Yonden Z, Ozturk O.H, Yilmaz B. Direct and indirect effects of kisspeptin on liver oxidant and antioxidant systems in young male rats. *Cell Biochem Funct* 2010; 28: 293-299.
- Kulkarni DK. Brain injury and the kidney. *J Neuroanaesthesiol Crit Care* 2016;3, Suppl S1: 16-19.
- Schmidt OI, Heyde CE, Ertel W, Stahel PF. Closed head injury – An inflammatory disease? *Brain Res Brain Res Rev* 2005; 48: 388-399.
- Barnum SR. Complement in central nervous system inflammation. *Immunol Res* 2002; 26: 7-13.
- Ransohoff RM. Chemokines in neurological trauma models. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 961: 346-349.
- Clark RS, Schiding JK, Kaczorowski SL, Marion DW, Kochanek PM. Neutrophil accumulation after traumatic brain injury in rats: Comparison of weight drop and controlled cortical impact models. *J Neurotrauma* 1994; 11: 499-506.
- Ott L, McClain CJ, Gillespie M, Young B. Cytokines and metabolic dysfunction after severe head injury. *J Neurotrauma* 1994; 11: 447-472.
- Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, et al. Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury. *Nat Med* 1998; 4: 808-813
- Quattrocchi KB, Issel BW, Miller CH, Frank EH, Wagner FC Jr. Impairment of helper T-cell function following severe head injury. *J Neurotrauma* 1992; 9: 1-9.
- Hoyt DB, Ozkan AN, Hansbrough JF, Marshall L, vanBerkum-Clark M. Head injury: An immunologic deficit in T-cell activation. *J Trauma* 1990; 30: 759-766.
- Chen S, Li Q, Wu H, Krafft PR, Wang Z, Zhang JH. The harmful effects of subarachnoid hemorrhage on extracerebral organs. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 858496.
- John CA, Day MW. Central neurogenic diabetes insipidus, syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone, and cerebral salt-wasting syndrome in traumatic brain injury. *Crit Care Nurse* 2012; 32: e1-7
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total antioxidant response against potent free radical reactions status. *Clin Biochem* 2004; 37: 112-119.
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103-1111.

28. Navarro RCE, Velez AH, Rojas MW. 'Metabolismo cerebral en isquemia'. Fundamentos de medicina. Neurología. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia 1991.
29. Buchan A. Advances in cerebral ischemia: Experimental Approaches. *Neurol Clinics* 1992; 10: 49-61.
30. López-Hernández E.M, Solís H. Cerebral ischemia: Some secondary alterations and animal models. *Arch Neurocién (Mex)*, 2005; 10:160-1167.
31. Pendlebury ST, Giles MF, Rothwell PM. *Transient Ischemic Attack and Stroke In: Pathophysiology of acute cerebral ischemia*. Cambridge University Press, 2009; 49-54.
32. Doyle KP, Simon RP, Stenzel-Poore MP. Mechanisms of ischemic brain damage. *Neuropharmacology*. 2008; 55: 310-318.
33. Stephens SBZ, Rouse ML, Tolson KP, et al. Effects of Selective Deletion of Tyrosine Hydroxylase from Kisspeptin Cells on Puberty and Reproduction in Male and Female Mice. *eNeuro* 2017; 4: 1-12.
34. Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Hum Reprod Update* 2014; 20: 485-500.
35. Akkaya H, Kilic E, Dinc SE, et al. Postacute effects of Kisspeptin-10 on neuronal injury induced by L-Methionine in rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2014; 28: 373-377.
36. Akkaya H, Eyuboglu S, Erkanlı GS, Yilmaz B. Investigation of the effects of kisspeptin-10 in methionine induced lipid peroxidation in testicle tissue of young rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2017; 31 1-7.
37. Aslan M, Erkanlı SG, Akkaya H, et al. The effect of oxytocin and Kisspeptin-10 in ovary and uterus of ischemia-reperfusion injured rats. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology* 2017; 56: 456-462.