

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA DOXORUBİCİN İLE OLUŞTURULAN
DENEYSEL KARDİYOMİYOPATİDE QUERCETİN VE
RESVERATROL'ÜN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMALI
OLARAK İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Tamer ÖZDOĞAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER

ANKARA
NİSAN 2024

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA DOXORUBİCİN İLE OLUŞTURULAN
DENEYSEL KARDİYOMİYOPATİDE QUERCETİN VE
RESVERATROL'ÜN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMALI
OLARAK İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Tamer ÖZDOĞAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER

ANKARA
NİSAN 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Tıpta Uzmanlık Öğrencileri Tez Yazım Kılavuzu'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Dr. Tamer ÖZDOĞAN 01/04/2024

KABUL ve ONAY

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Tamer ÖZDOĞAN
Baba Adı	
Doğum Yeri/Tarihi	
Diploma Tarihi / Diploma No	
Mezun Olduğu Fakülte	Meram Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Anatomi Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 3 Ay: 10
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Sıçanlarda doxorubicin ile oluşturulan deneysel kardiyomyopatide quercetin ve resveratrol'ün etkilerinin karşılaştırılması olarak incelenmesi

JÜRİ KARARI: Anatomi Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.
Tez Savunma Tarihi: 01/04/2024

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN
Prof. Dr. Meltem BAĞCELİOĞLU

ÜYE

Prof. Dr. Tunçay Veysel PEKER

ÜYE

Prof. Dr. Rabet GÖZİL

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca neredeyse hergün kapısını çaldığım, bir kez olsun beni geri çevirmeyen, akademik olarak en büyük katkıyı gördüğüm Sayın Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER'e,

Histolojik araştırmalar ve çalışmalar konusunda yol gösteren, bütün eksikliklere rağmen her konuda yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU'na

Eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Tezimi en az benim kadar sahiplenen, deneyin planlanmasından tezin yazımına kadar her aşamada yanımda olan, kendisinden çok şey öğrendiğim Araş. Gör. Müşerref Şeyma CEYHAN'a,

Asistanlık süreci boyunca anatomiye daha iyi öğrenmemi sağlayan arkadaşlarım, Dr. Şükrü Ahmet AYYILDIZ, Dr. Aynur ÇOBAN, Dr. Burcu GÖZÜKARA ERİŞ, Dr. Ali TUTKUN ve Araş. Gör. Birce ERÇELEN ÖZÖZTÜRK'e

Anatomi ile tanışma sürecime tanıklık eden Dr. Öğr. Üyesi Kaan NEDER'e,

Tezin her aşamasında bilgisini ve desteğini esirgemeyen Dr. Muhammet KÜÇÜKBARDASLI'ya

Bütün yönetmelikleri ezbere bilen, bütün sorulara aynı motivasyonla cevap veren Öğr. Gör. Dr. Burak KAYABAŞI'na,

Malzeme temini için yardımcı olan Sadettin AKÇA'ya,

Görüntüleme için zamanını ve bilgisini paylaşan Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Arda İNAN'a,

Bilime bakış açısı kazanmamı sağlayan Lütfiye OLCA ve Aydın AKBAŞ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Hazırlık için gerekli zamanı bana hazırlayan ailem, kıymetli eşim, çocuklarım Yiğit Aslan ve Kaan Han'a şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2022-8208 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Dr. Tamer Özdoğan

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	i
KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1 Kalp	6
2.1.1 Kalbin Embriyolojisi	6
2.1.2 Kalbin Histolojisi	6
2.1.3 Kalbin Anatomisi.....	12
2.2. Kardiyomiyopati.....	39
2.2.1 Tanım ve etyoloji.....	39
2.2.2 Kardiyomiyopati'lerin sınıflandırılması.....	40
2.2.3 Kardiyomiyopati'lerin fizyopatolojisi.....	44

2.2.4 Kardiyomiyopati tedavi protokolleri	45
2.3 Doksorubisin	46
2.3.1 Doksorubisin Yapısı ve Genel Özellikleri	46
2.3.2 Doksorubisin'in Etki Mekanizması.....	47
2.3.3 Doksorubisin'in Kalp Üzerine Olan Etkileri.....	50
2.4 Kersetin	55
2.4.1 Kersetin'in yapısı ve genel özellikleri.....	55
2.4.2 Kersetin'in antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri.....	55
2.5 Resveratrol.....	58
2.5.1 Resveratrol'ün Yapısı ve Genel Özellikleri.....	58
2.5.2 Resveratrol'ün Kardiyovasküler Etkileri.....	59
3. GEREÇ VE YÖNTEM	62
3.1 Deney Hayvanlarının Seçilmesi	62
3.2 Deney Hayvanlarının Bakımı.....	62
3.3 Deney Gruplarının Belirlenmesi	62
3.4 Kullanılan Gereçler	62
3.4.1 İlaçlar.....	62
3.4.2 Alet ve Cihazlar	63
3.5 Kardiyomiyopati Modelinin Oluşturulması	63
3.6 Ekokardiyografi.....	64

3.7 Deneyin Sonlandırılması	65
3.8 Kanların Toplanması	65
3.9 Dokuların Alınması	66
3.10 Histolojik İncelemeler	66
4. BULGULAR	77
4.1 Hayvan Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	77
4.2 Işık Mikroskop Bulguları	79
4.3 Ekokardiyografik Bulgular	102
4.4 Biyokimyasal Bulgular	107
5. TARTIŞMA	112
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	128
7. KAYNAKÇA	129
8. ÖZET	140
9. SUMMARY	142
10. EKLER	144
EK-1: Etik Kurul Onayı	144
EK-2 Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası	146

SİMGELER VE KISALTMALAR

Çalışmada kullanılan simgeler ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda belirtilmiştir.

Simgeler	Açıklamalar
µm	Mikrometre
gr	Gram
kg	Kilogram
Kısaltmalar	Açıklamalar
BNP	Brain natriüretik peptid
KMP	Kardiyomiyopati
DKMP	Dilate kardiyomiyopati
K⁺	Potasyum
CK	Kreatin kinaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
AST	Aspartat aminotransferaz
ALT	Alanin aminotransferaz
ARVC	Aritmojenik (sağ ventriküler) kardiyomiyopati
PPCM	Peripartum kardiyomiyopati
RCM	Restriktif kardiyomiyopati
KY	Kalp Yetmezliği
EKG	Elektrokardiyografi
EF	Ejeksiyon Fraksiyonu
AMPK	Adenozin monofosfat ile aktifleşen kinaz
NOS	Nitrik oksit sentaz
ER	Endoplazmik retikulum
I.P	İntraperitoneal
EDV	Diyastol sonu volüm
SV	Stroke volüm

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Deneyde kullanılan ELISA kitleri	66
Tablo 2. Sıçan ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırma sonuçları.....	77
Tablo 3. Kalp Ağırlıklarının Değerlendirilmesi.....	80
Tablo 4. Picosirius (Alan/Çap) değerinin gruplar arası karşılaştırma sonuçları ..	92
Tablo 5. Fibrozis değerinin gruplar arası karşılaştırma sonuçları	94
Tablo 6. Caspase 3 immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırma sonuçları.....	101
Tablo 7. TNF- α immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırma sonuçları.....	100
Tablo 8. Ekokardiyografi parametrelerinin deney öncesi ve deney sonrası ölçümleri.....	105
Tablo 9. Biyokimyasal değerlerin gruplar arası karşılaştırma sonuçları	107

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kardiyomiyopati türlerinin yıllara göre mortalite grafiği	43
Şekil 2. Doksorubisin'in kimyasal yapısı	47
Şekil 3. Kersetin'in kimyasal yapısı	58
Şekil 4. Resveratol trans (a) ve cis (b) yapısı	61
Şekil 5. Sıçanların canlı ağırlık grafiği.....	80
Şekil 6. Sıçanların Kalp Ağırlıkları Grafiği.....	81
Şekil 7. Picrosirius boyama yöntemi fibrozis alanı/çap grafiği (ortalama \pm standart sapma).....	94
Şekil 8. Fibrozis alan ölçümü (ortalama \pm standart sapma)	95
Şekil 9. Caspase 3 immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırma sonuçları (ortalama \pm standart sapma).....	102
Şekil 10. TNF- α immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırma sonuçları.....	101
Şekil 11. Kontrol grubuna ait ekokardiyografi görüntüsü.....	106
Şekil 12. Doksorubisin grubuna ait ekokardiyografi görüntüsü.....	106

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kalp duvarının histolojik yapısı	10
Resim 2. Anatomik pozisyonda kalbin görünümü.....	12
Resim 3. Kalbin önden görünümü.....	13
Resim 4. Kalbin arterleri	26
Resim 5. Kalbin sol-ön yüzden görünümü.....	36
Resim 6. Doksorubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan grupta kontrol ve diğer gruplara göre kas dokusu ve damar yapısındaki bozulma dikkati çekmekte.	80
Resim 7. Kontrol grubu oval şekilli nukleusları ortada yerleşmiş, uzun silindirik şekilli kalp kası lifleri	82
Resim 8. Doksorubisin grubunda kas liflerinin bütünlüğünde ve düzenleniminde bozulma, hücrelerde dejenerasyon, multifokal özellikte sitoplazmaları daha yoğun eosinofilik boyanan nekrotik hücreleri.....	82
Resim 9. Doksorubisin grubunda damar bütünlüğünde bozulma	83
Resim 10. Doksorubisin grubunda damar entotel hücrelerinin yassı şekillerini kaybederek damar lümenine dik olarak uzanan çekirdekleri sahip olduğu görülmekte.....	83
Resim 11. Doksorubisin grubunda kas lifleri arasında hücre infiltrasyonu (ok) görülmekte (H&E, X400).....	84
Resim 12. Doksorubisin + kersetin grubunda, doksorubisin grubuna göre dejeneratif ve nekrotik hücre	84

Resim 13. Doksorubisin + kersetin grubunda, doksorubisin grubuna göre daha sınırlı olmak üzere hücre infiltrasyonu.....	85
Resim 14. Doksorubisin + kersetin grubunda kas lifleri düzenlenimi ile sınırlı alanlarda hücre infiltrasyonu görülmekte (H&E, 400X).....	85
Resim 15. Doksorubisin + Resveratrol grubunda normale yakın kas lifleri (ince ok) düzenlenimi ve yan dallanmalar görülürken, dejenerasyon ve nekroza giden hücre (kalın ok) sayısında azalma görülmekte (H&E, X400).....	86
Resim 16. Doksorubisin + Resveratrol grubunda kas liflerinin ve damar endotel hücrelerinin (ok) görünümü (H&E, X200).....	86
Resim 17. Doksorubisin + Kersetin + Resvetarol Grubunda kas liflerinin düzenlenimi, dejenerasyon ve nekroza giden hücre sayısında azalma, kas lifleri arasındaki hücre infiltrasyonunda azalma görülmekte (H&E X400).....	87
Resim 18. Kontrol grubunda picrosirius red boyama yöntemi ile perivasküler (ok) ve interstisyel alandaki kollajen lif (Çift ok) dağılımı	91
Resim 19. Doksorubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan grupta picrosirius red boyama yöntemi ile perivasküler (kalın ok) ve interstisyel alanda belirgin fibrozis (ince ok) görülmekte (X400).....	91
Resim 20. Doksorubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan grupta picrosirius red boyama yöntemi ile perivasküler (kalın ok) ve interstisyel alanda belirgin fibrozis (ince ok) görülmekte (X400).....	90
Resim 21. Kardiyomiyopati + Kersetin grubunda picrosirius red boyama yöntemi ile kardiyomiyopati grubuna göre perivasküler (kalın ok) ve interstisyel (ince ok) alandaki fibrozis yoğunluğunun azaldığı görülmekte (X400).....	90

Resim 22. Kardiyomiyopati + Resveratrol grubunda picrosirius red boyama yöntemi ile kardiyomiyopati grubuna göre perivasküler (kalın ok) ve interstisyel (ince ok) alandaki fibrozis yoğunluğunun azalmış olduğu dikkati çekmekte (X400)	91
Resim 23. Kardiyomiyopati + Kersetin + Resveratrol grubunda perivasküler (kalın ok) ve interstisyel (ince ok) alandaki lif kalınlığının ve lif çaplarının kardiyomiyopati grubuna göre belirgin azalmış olduğu gözlenmekte (X400).....	91
Resim 24. Doksorubisin grubunda kas lifleri arasında artan fibrozis (ok) görülmekte	94
Resim 25. Doksorubisin grubunda kas lifleri arasında azalan glikojen (ok) varlığı görülmekte	96
Resim 26. N-cadherin immunoreaktivitesi.....	97
Resim 27. Kontrol ve deney gruplarında caspase 3 immunreaktivitesi görülmekte	100
Resim 28. Kontrol ve deney gruplarında TNF- α immunreaktivitesi görülmekte	100

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyomiyopatiler, genetik defektler, miyosit hasarı ve miyokardiyal dokuların infiltrasyonu gibi hasarlardan kaynaklanan kalp kası hastalıklarıdır. Bu nedenle başta miyosit olmak üzere kalbin hücresel bileşenlerinden veya hücre dışı matrikste anormal madde birikimi gibi hücre dışı süreçlerden kaynaklanırlar. Kardiyomiyopatiler geleneksel olarak yapısal ve işlevsel özelliklerine göre tanımlanmışlardır. Dilate kardiyomiyopati fenotipi sıklıkla pek çok kardiyak hasarın son ortak yolu olarak değerlendirilir ve en sık görülen kardiyomiyopati tipidir [1].

Dilate kardiyomiyopati (DKMP) anormal yüklenme durumlarının (hipertansiyon, primer kapak hastalığı, iskemik kalp hastalığı) yokluğunda sol ventriküler veya biventriküler dilatasyon ile karakterize sistolik fonksiyon bozukluğu olarak tanımlanır. Dilate kardiyomiyopati'nin nedenleri genetik veya edinsel olabilir. Hücre iskeleti, sarkomer ve nükleer zarf proteinlerini kodlayan genleri içeren genetik mutasyonlar olguların % 35'ini oluşturur [2].

Edinsel nedenler arasında; enfeksiyon, gebelik, aritmi, otoimmün durumlar, toksinler ve kanser tedavisi gösterilebilir [3]. Dilate kardiyomiyopati hastaların %50'ye yakın kısmında görüntüleme, genetik ve biyopsi değerlendirmelerine rağmen herhangi bir neden bulunamayabilir [4].

Dilate kardiyomiyopati hastalar genellikle sistolik kalp yetmezliği semptomları gösterirler. Hastalığın ilerlemesiyle birlikte diyastolik fonksiyon

bozukluğu da görülebilir. Altta yatan etyolojiye bağlı olarak DKMP'li hastalarda aritmiler, tromboembolik olaylar veya kardiyojenik Çok görülebilir. Hastalığın prognozu çoğunlukla altta yatan etiyoloji ve kalpteki ters yeniden Őekillenme ile ilgilidir. En kötü prognoz, ejeksiyon fraksiyonu en düşük olan veya ciddi diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda görülür [5]. Dilate kardiyomiyopati kötü bir prognoz göstererek konjestif kalp yetmezliğine ilerleyebilir [6].

DKMP, kalp transplantasyonunun en sık, kalp yetmezliğinin üçüncü en sık sebebidir [1]. Ölüm oranı 10 yılda yaklaşık %40'tır [4]. Tedavi semptomların yönetimine, hastalığın ilerlemesinin engellenmesine, yapısal ve elektriksel komplikasyonlarının iyileŐtirilmesine yöneliktir [4]. DKMP tedavisi, kalp yetmezliği tedavisi prosedürü ile benzerdir. Tedavi anjiyotensin dönüŐtürücü enzim inhibitörlerini ve β blokerleri içerir [2]. Temel amaç vücudun sıvı dengesini sağlamak ve hastalığın ilerleyişini durdurmaktır [1]. Kalp yetmezliği ilaçları ve cihaz tedavisi, hastaneye baŐvuru sıklığını ve mortaliteyi azaltır [5].

Doksorubisin, *Streptomyces peucetius* türünden izole edilen bir antrasiklin türevi antibiyotiktir ve çeşitli kanserlerin tedavisinde etkin bir Şekilde kullanılmaktadır. Hem yetişkin hem de çocukluk ağı kanserlerini tedavi eden, solid tümörleri ve hematolojik maligniteleri kapsayan geniş bir kullanım alanına sahiptir. Genellikle akut lösemi, meme kanseri, çocukluk ağı solid tümörleri, Hodgkin olmayan lenfomalar, Hodgkin lenfomalar ve yumuŐak doku sarkomlarını tedavi etmek için kullanılır. Doksorubisin oldukça etkili olmasına rağmen, kanser hücrelerine karşı seçici değildir. Toksisitesi nedeniyle kullanımı önemli ölçüde sınırlıdır. Bu toksisite sıklıkla kalbi, beyni, karaciğeri ve böbrekleri

etkiler ve toksisite sonuçlarının ortaya çıkması uzun yıllar alabilir. Kardiyotoksisite en belirgin yan etkisidir ve en önemli doz sınırlayıcı faktördür. Bu akut veya kronik bir etki olabilir. İlerleyen dönemlerde doksorubisin tedavisinin kesilmesinden yıllar sonra da ortaya çıkabilir. Bu durumun reaktif oksijen ürünlerinin oluşumu ve demir oksidasyonu tarafından indüklendiği düşünülmektedir [7].

Bitkilerde bulunan bir flavonol bileşiği olan kersetin (Quercetin), çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Güçlü oksidatif özellikleri ve biyolojik aktiviteleriyle doğada yaygın olarak bulunur [8].

Kersetin, yüksek antioksidan etkiye sahiptir. Vücuttaki antioksidan düzeyin korunmasını sağlar. Üzüm, elma, çay ve soğanda bol miktarda bulunur. Lipit peroksidasyonunu ve reaktif oksijen ürünlerini azaltarak kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucudur. Kersetin, miyokard hasarını ve kardiyak hipertrofiyi engeller. Vasküler fonksiyonu koruyarak tansiyonu düzenler. Kersetin, endotel fonksiyonunu iyileştirir. Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini düzenler [9].

Çok sayıda çalışma kersetin'in nöroprotektif, antialerjik, antioksidan, antiinflamatuvar, immunomodülatör ve antikanserojen etkileri olduğunu göstermiştir. Ayrıca egzersiz sonrası kas hasarı ve inflamasyonunu da hafifletir [10].

Resveratrol ise flavonoid olmayan bir polifenoldür. Üzüm, çilek, erik ve yer fıstığında bol miktarda bulunur. Cis- ve trans- resveratrol olmak üzere iki

farklı formu vardır. Antioksidan, antiinflamatuvar, antitrombotik ve antiaterosklerotik etkilidir. Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığıyla vazodilatasyon sağlar. Vasküler düz kas proliferasyonunu ve trombosit agregasyonunu inhibe eder [11].

Son yıllarda, başlıca antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteleri, trombosit agregasyonunu önleyici etkisi, antiaterojenik özelliği, östrojen benzeri büyümeyi teşvik eden biyolojik özelliklerini araştıran çok sayıda in vitro ve in vivo çalışmanın odak noktası olmuştur. Tümör başlangıcı ve ilerlemesini çeşitli aşamalarda bloke ettiği de gösterilmiştir [12].

Resveratrol etkilerinin bir kısmını Sirtuin1 üzerinden gösterir. Sirtuin1, Sirtuin ailesinden sınıf III histon deasetilazdır. Resveratrol, Sirtuin1 üzerinden FOXO1, FOXO3a ve FOXO4 proteinlerine bağlanarak asetil gruplarını ayırır ve FOXO proteinlerinin DNA'ya bağlanma yeteneğini artırır. Bu sebeple resveratrol insülin direnci ve diyabete karşı da koruyucu etki gösterir.

Ayrıca resveratrol, vasküler düz kas hücresi proliferasyonunu baskılar, otofajiyi destekler ve vasküler yaşlanmayı geciktirir. Hipertansif hastalarda sistolik kan basıncını düzenler ve diyabetli hastalarda kan şekerini azaltır [8].

Literatürde kersetin ve resveratrolün antioksidan ve kalp koruyucu etkileri mevcuttur. Ancak dilate kardiyomiyopati üzerine olan etkileri ile ilgili çok az sayıda çalışma vardır. Mevcut çalışmalar da olası mekanizmaları açıklamakta yetersizdir. Çalışmamızda kersetin ve resveratrolün, doksorubisin modelinde iyileştirici etkisini karşılaştırmanın yanında olası iyileştirme mekanizmalarını da

inceleyeceğiz. Literatür bilgileri ışığında dilate kardiyomiyopati modeli oluşturulan sıçanlarda kersetin ve resveratrol'ün iyileştirici etkileri; ekokardiyografi, immunohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak araştırılacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kalp

2.1.1 Kalbin Embriyolojisi

Kardiyovasküler sistem embriyoda çalışmaya başlayan ilk sistemdir [13]. Kalp gelişimin ilk belirtisi 3. haftada endoteliyal kordon çiftinin belirmesidir [14]. Anterior endoderm, kalbin oluşmasını uyarır [14]. Kalp 22-23. gün çalışmaya başlar. Primitif kalp tüpünden ilk önce bulbus cordis oluşur. Daha sonra truncus arteriosus, primordium ventriculare, primordium atriale ve sinus venosus oluşur. Bulbus cordis ve truncus arteriosus bir septum ile ikiye bölünür. Birisi aorta ascendes'i diğeri truncus pulmonalis'i oluşturur [13].

Dört haftalık bir embriyoda 6 tane ven, tubuler yapıdaki kalbe drene olur. Öte yandan, vitellin venler, vitellus kesesinden oksijen oranı düşük kanı kalbe getirirler. Umbilikal venler, embriyonik plasentanın koryon villuslarından oksijen oranı yüksek kan taşırlar. Venae cardinales communis, embriyonun gövdesinden oksijen oranı düşük kanı getirir [14].

2.1.2 Kalbin Histolojisi

Kalp, kanın tek yönlü akışını sağlayan, kaslardan oluşan dört boşluklu bir pompadır. Kanın ters yönde hareketini engelleyen ve boşlukların çıkışını kapatan kapaklar vardır. Ritmik olarak kasılır ve dolaşım sistemine sürekli kan pompalar. [15] Her iki atrium, septum interatriale ile her iki ventrikül de septum interventriculare aracılığıyla birbirinden ayrılmıştır. Vücutta kullanılan ve oksijen

oranı düşen kan, vena cava superior ve vena cava inferior ile atrium dextrum'a gelir. Atrium dextrum'a gelen kan, atrium dextrum'dan ventriculus dexter'e ve daha sonra truncus pulmonalis aracılığıyla oksijenlendirilmek üzere akciğere pompalanır. Akciğerden dönen oksijen oranı yüksek kan, venae pulmonales'ler aracılığıyla atrium sinistrum'a gelir. Atrium sinistrum'a gelen kan, atrium sinistrum'dan ventriculus sinister'e ve aorta ile sistemik dolaşıma pompalanır.

Kalp, kalp kası ve fibröz iskeletten oluşur. Kalp kası kanın kalp içine doğru yönde hareketini sağlar. Dört kapağı çevreleyen dört fibröz halka, halkaları birbirine bağlayan trigonum fibrosum dextrum, trigonum fibrosum sinistrum, septum interatriale ve septum interventriculare'nin pars membranacea bölümleri kalbin fibröz iskeletini oluşturur.

Fibröz halkalar irregüler sıkı bağ dokudan ve farklı yönlerde uzanan kalın kollajen liflerden oluşur [15]. Fibröz halkalar, kanın sadece tek yönlü akışına izin veren dört kapağın valvulları için tutunma yeridir. Septum interventriculare'nin pars membranacea'sı kalp kası içermez ve sıkı bağ dokudan oluşur.

Fibröz iskelet kalp kası için hem origo hem de insertio noktasıdır [15]. Fibröz iskeletin, atrium ve ventrikül kası için oluşturduğu tutunma noktaları birbirinden bağımsızdır. Bu durum atrium ve ventriküllerin birbirinden bağımsız kasılabilmesine olanak sağlar. Fibröz iskelet, elektriksel iletinin atrium ve ventriküller arasında bağımsız hareketini engellemek için bir yalıtım görevi de görür. İleti sisteminin görevi kalp kasının kasılması için elektriksel iletilerin başlatılması ve iletilmesidir. Bu sistem yüksek oranda özelleşmiş kalp kası

hücrelerinden oluşur [16]. Bütün miyokardiuma yayılan ritmik uyarıları oluşturan özelleşmiş bir sistemdir. Bu sistem atriumda lokalize olan iki düğümçük (nodus sinuatrialis ve nodus atrioventricularis) ve fasciculus atrioventricularis'i içerir. Fasciculus atrioventricularis, nodus atrioventricularis'ten orijin alır. Her iki ventriküle de dal verir. Bu ileti sisteminin hücreleri gap junction aracılığı ile birbirlerine bağlantılıdır. Nodus sinuatrialis, kas hücrelerinden daha küçük yapıda fuziform şekilli modifiye kalp kası hücre kitlesidir. Düşük oranda miyofibril bulundurur. Nodus atrioventricularis hücreleri, nodus sinuatrialis'e benzer. Fakat sitoplazmik uzantıları bağlantı oluşturacak şekilde çeşitli yönlere dallar verir. Fasciculus atrioventricularis, nodus atrioventricularis'e benzer hücrelerden oluşur. Ancak distalde bu hücreler orijinal kalp kası hücrelerinden daha büyük hale gelerek diğerlerinden ayırt edilebilir. Aynı zamanda purkinje olarak adlandırılan bu hücreler bir yada iki santral nucleus içerir. Sitoplazmaları mitokondri ve glikojenden zengindir. Miyofibriller seyrek ve sitoplazmanın periferi ile sınırlıdır. Subendokardial katmanda ilerledikten sonra ventrikülleri delerek miyocardiumun içine girerler. Bu düzenleme ventriküler kasın en iç katmanına kadar iletinin gitmesine izin verdiği için önemlidir. Hem parasempatik hem de simpatik sistem basis cordis'te pleksuslar oluşturarak kalbin innervasyonuna katılır. Ganglionik sinir hücreleri ve sinir lifleri nodus sinuatrialis ve nodus atrioventricularis'e yakın bölgelerde bulunur. Bu sinirler kalp hızının oluşumunu etkilememesine rağmen, kalp ritmini etkilerler. Parasempatik sistemin uyarılması kalbi yavaşlatırken simpatik sistemin uyarılması kalbi hızlandırır. Miyocardium'un musküler lifleri arasında birçok afferent serbest sinir sonlanmaları bulunur. Bunlar ağrı ve duyu ile

ilişkilidir. Koroner arterlerin parsiyel tıkanıklığı miyocardium'a oksijen sunumunu azaltır ve ağrıya (anjina pectoris) sebep olur. Aynı sensöryal innervasyon miyokard enfarktüsü sırasında da gerçekleşir. Düşük oksijen seviyesinden dolayı birçok kas lif ölür. Bu yüzden oldukça ağrılıdır [15].

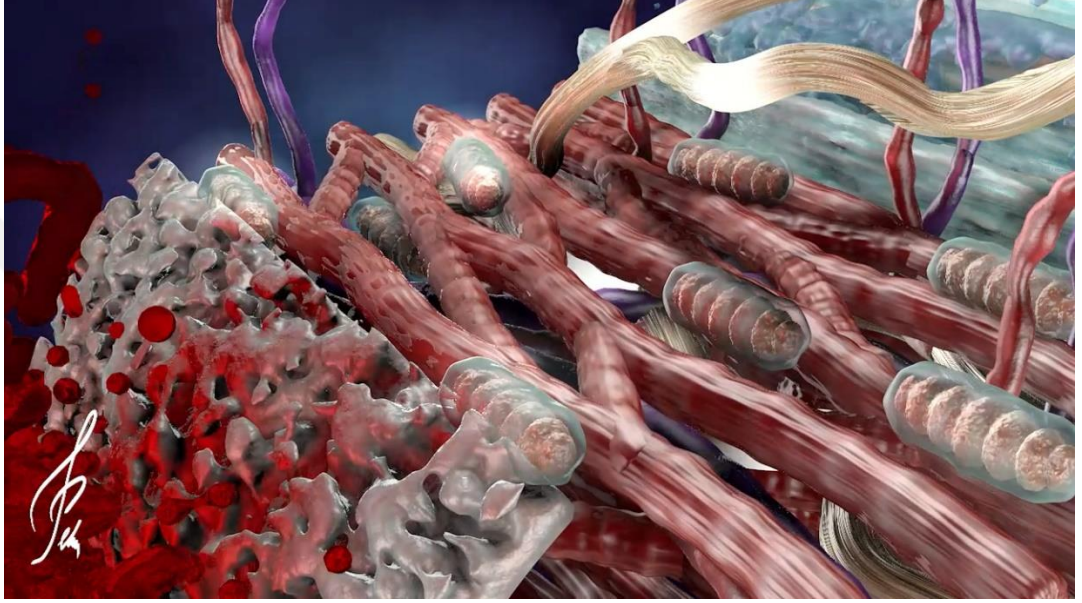
Kalp duvarları histolojik olarak 3 bölümde incelenir (Resim 1). Bunlar,

Epicardium: Kalbin dış yüzünde bulunur. Basit skuamöz epitel ve tek katlı mezotelyal hücre katmanından oluşur [16]. İnce bağ dokusu ile de desteklenir. Gevşek bağ dokunun subepikardiyal katmanı; venleri, sinirleri ve sinir ganglionlarını içerir. Kalbi çevreleyen yağ dokusu bu katmanda birikir. Epicardium, pericardium serosum'un lamina visceralis'ine karşılık gelir. Lamina visceralis (epicardium) ve lamina parietalis arasında kalbin hareketini kolaylaştıran az miktarda sıvı bulunur [15].

Myocardium: Kalbin esas yapısını oluşturur. En kalın katmandır. Kalp boşluklarını çevreleyen kompleks spiral yapıdaki kalp kası hücrelerinden oluşur. Bu hücrelerin kompleks yapısı sıklıkla varyasyon gösterir. Histolojik kesitlerde değişik yönlerde uzanan liflerdir. Bu katmanlar da tıpkı kalp kapakları gibi kalbin fibröz iskeletine tutunur. Ventrikül yapısında bulunan miyocardium, yüksek oranda kalp kası içerdiği için atrium yapısında bulunan miyocardium'dan daha kalındır.

Endocardium: Kan damarlarında bulunan tunica intima katmanının eşdeğeridir. Endotelium'un iç kısmını, subendotelyal bağ dokusunu, düz kas hücrelerini, bağ dokunun orta katmanını ve bağ dokunun derin katmanını

(subendokardiyal katman) içerir. Subendokardiyal katman, miyocardiumun bağ dokusuyla bağlantılıdır. Kalbin ileti sistemine ait Pukinje hücreleri, subendokardiyal tabakada bulunur.



Resim 1. Kalp duvarının histolojik yapısı

Ventriculus dexter ve ventriculus sinister arasında septum interventriculare bulunur. Pars membranacea hariç kas yapısındadır. Septum interventriculare'nin her iki yüzeyini endocardium kaplar. Atrium dextrum ve atrium sinistrum arasında bulunan septum interatriale genel olarak septum interventriculare'den çok daha incedir. Septum interatriale'nin her iki yüzeyini endocardium kaplar.

Kalp kapakları sıkı düzensiz karmaşık bir bağ dokusu yapısına tutunur. Bu bağ dokusu, kapakların etrafındaki açıklıkları çevreleyen fibröz halkaları oluşturur. Fibröz halkalara kapakların tabanı tutunur [15].

Her kapak üç tabakadan oluşur. Bunlar;

Fibroza, kapağın merkezini oluşturur. Sıkı düzensiz bağ dokunun fibröz uzantısıdır.

Spongioza, her kapağın atriuma, aorta'ya veya truncus pulmonalis'e bakan kısmında yer alan gevşek bağ dokusudur.

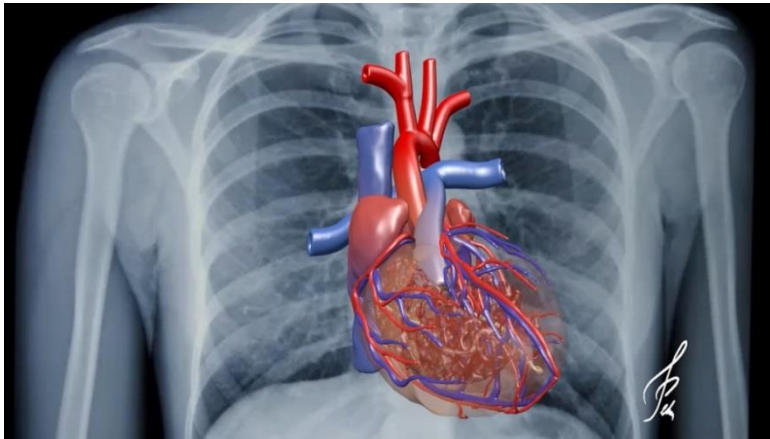
Ventricularis, ventriküler veya atrial yüze en yakın olan kısımdır. Endotelle kaplıdır. Birçok elastik lif katmanıyla birlikte sıkı bağ dokusu içerir. Valva atrioventricularis dextra ve valva atrioventricularis sinistra içinde, endotelle kaplı fibröz yapıdaki chordae tendineae'lara doğru devam eder [17].

Chordae tendineae: Valva atrioventricularis dextra ve valva atrioventricularis sinistra'nın serbest kısımlarından ventrikül duvarındaki musküler çıkıntılara (m. papillaris) uzanır. Küspisler normalde avaskülerdir. Küçük kan damarları ve düz kaslar küspislerin sadece tabanında bulunabilir. Kapakların yüzeyleri kan ile temas halindedir ve küspisler kandan besinlerin ve oksijenin dağılmasına imkan sağlayacak kadar incedir. Kalp kapakları iki yüzeyinden endotelyal katmanlarla döşeli santral sıkı fibröz bağ dokusu içerir [15]. Bu bağ dokusu hem kollajen, hem de elastik lifler içerir [15]. Bazı hastalıklar kapakları etkileyerek dejenerasyon, kalsifikasyon veya fibrozis oluşumuna sebep olabilir. Kapak açıklıklarında meydana gelen fonksiyon bozukluğu, kalpte de fonksiyon bozukluğuna yol açar. Bu durumlar, topluca kalp kapak hastalıkları olarak bilinir. Bu hastalıklardan bazıları romatizmal kalp hastalığı, vejetatif endokardit, dejeneratif kalsifik aortik kapak stenozu, mitral

anular kalsifikasyon'dur. Örneğin; romatizmal ateş, kalp kapaklarının inflamasyonuna (valvulit) sebep olur. İnflamasyon kapakta anjiogenezi uyarır. Normalde avasküler katmanlardan oluşan kapağın vaskülarize olmasına sebep olur. Bu değişiklikler en yaygın olarak valva atrioventricularis sinistra'yı (%65-70) ve valva aortae'yı (%20-25) etkiler. Bu inflamasyon elastik dokunun düzensiz kollajen lif yapısıyla ilerleyici olarak yer değiştirmesine sebep olur ve kapak kalınlaşır. Kapaklar sertlik ve elastikiyetini kaybeder. Bu durum kapakların açılma ve kapanma yeteneğini etkiler. [16]

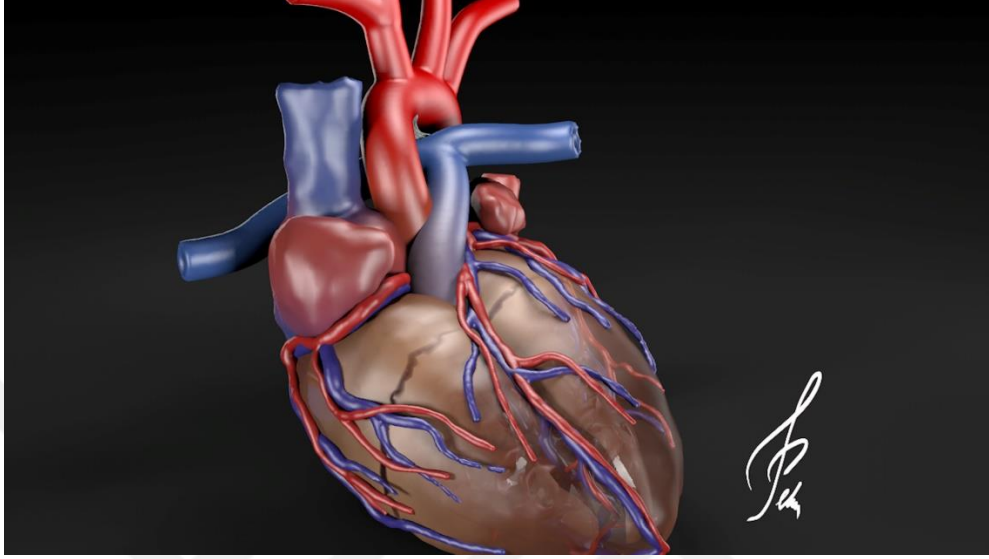
2.1.3 Kalbin Anatomisi

Dolaşım sisteminin esas organı olan kalp ortalama 9 cm genişliğinde 12 cm uzunluğunda ve 6 cm derinliğinde ve ortalama 250-300 gram ağırlığındadır. Mediastinum medium'da, tepesi aşağıda tabanı yukarıda olacak şekilde konumlanır. Kalbin 1/3'ü orta hattın sağında 2/3'ü orta hattın solunda yer alır (Resim 2) [13].



Resim 2. Anatomik pozisyonda kalbin görünümü

Kalbin dört yüzü, dört kenarı, bir tabanı ve bir tepesi vardır (Resim 3). Bunlar:



Resim 3. Kalbin önden görünümü

Facies sternocostalis: Büyük bölümü ventriculus dexter ve atrium dextrum, küçük bir bölümü ventriculus sinister tarafından oluşturulur.

Facies diaphragmatica: Büyük bölümü ventriculus sinister, küçük bir bölümü ventriculus dexter tarafından oluşturulur.

Facies pulmonalis dexter: Atrium dextrum tarafından oluşturulur.

Facies pulmonalis sinister: Atrium sinistrum ve auricula sinistra tarafından oluşturulur.

Margo dexter: Atrium dextrum tarafından oluşturulur. Vena cava superior ile vena cava inferior arasında ve bu yapılara dik olarak uzanır.

Margo sinister: Büyük bölümü ventriculus sinister, küçük bir bölümü auricula sinistra tarafından oluşturulur. Apex cordis ile auricula sinistra arasında uzanır.

Margo superior: Atrium sinistrum tarafından oluşturulur.

Margo inferior: Ventriculus dexter'in, facies diaphragmatica ve facies sternocostalis'inin birleşim yerinde oluşur. Küçük bir bölümünü ventriculus sinister oluşturur.

Basis cordis: Atrium sinistrum'un tamamı ve atrium dextrum'un bir kısmı tarafından oluşturulur. Mediastinum posterius'ta bulunan oesophagus, n. vagus, v. azygos, v. hemiazygos, aorta thoracica ve ductus thoracicus ile komşudur.

Apex cordis: Ventriculus sinister tarafından oluşturulur. Linea medioclavicularis hizasında 5. interkostal aralıkta bulunur [18].

Kalp İskeleti

Kalp delikleri etrafında bulunan 4 adet anulus fibrosus ile bunların arasında bulunan trigonum fibrosum dextrum ve trigonum fibrosum sinistrum tarafından oluşturulur.

Kaslar için hem origo hem de insertio görevi yapar. Atrium ve ventrikül kaslarını birbirinden ayırır. Atrium ve ventrikül kaslarının aralarında kalbin fibröz iskeleti bulunur. Bu iskelet, ileti sistemi haricinde atrium ve ventrikül arasında elektrofizyolojik yalıtım sağlar. Ayrıca kapaklar için tutunma yeri oluşturur.

Pericardium içerisinde kalbin pozisyonunda tutulmasına katkıda bulunur.

Fibröz halkaların birbiri ile karşılaştıkları yerde üçgen şekilli fibröz yapılar oluşur. Bunlar:

Anulus fibrosus sinister: Ostium atrioventriculare sinistrum'u kuşatır.

Anulus fibrosus dexter: Ostium atrioventriculare dextrum'u kuşatır.

Trigonum fibrosum dextrum: Ostium atrioventriculare dextrum, ostium atrioventriculare sinistrum ve ostium aortae arasında bulunur. Fasciculus atrioventricularis tarafından delinir.

Trigonum fibrosum sinistrum: Ostium atrioventriculare sinistrum ile ostium aortae arasında bulunur [13].

Kalbin Duvarı

Endocardium, myocardium ve epicardium olmak üzere üç tabakadan oluşur.

Epicardium'un yüzeysel tabakası, pericardium serosum'un lamina visceralis'i tarafından oluşturulur. Koroner arterler ve dalları epicardium altındaki yağ dokuda bulunur.

Myocardium: Atrium dextrum ve atrium sinistrum'u saran kasların yüzeysel ve derin tabakası birbiri ile devam etmez. Ventriculus dexter ve ventriculus sinister'i oluşturan kas tabakalarındaki lifler birbirinin devamı

şeklindedir. Bu yüzden kalp kası lifleri; atriumları saran lifler, ventrikülleri saran lifler ve fasciculus atrioventricularis olarak 3 bölümde incelenir [19].

Atriumları saran lifler, ventriküllere göre daha incedir. Yüzeyel tabakadaki lifler her iki atriumu da sarar. Derin tabakadaki lifler ise sadece ilgili atriumu sarar. Yüzeyel tabakadaki lifler kalp iskeletinin ön bölümünden başlar. Yukarı doğru yükselerek atriumların tabanını örter ve arka yüzde aşağı doğru yönelerek kalp iskeletinin arka bölümünde sonlanır. Derin tabakadaki lifler ise halka veya spiral şeklindedir. Spiral şekilli olan lifler ilgili ostium atrioventriculare'nin ön ve arka kısımları arasında uzanır. Halka şekilli lifler ise ostium vena cava superior'u, ostium vena cava inferior'u, fossa ovalis'i ve her iki auricula'yı kuşatır. Bu iki farklı tabakadaki lifler birbiri ile devamlı değildir.

Ventrikülleri saran lifler ise atriumlara göre daha kalın ve karmaşık yapıdadır. Ventriculus sinister, ventriculus dexter'in 3 katı kalınlıktadır. Her biri farklı yönde seyreden ancak birbirinin devamı olan 3 katmandan oluşur. Kalp iskeletinden başlayan subepicardiyal (yüzeyel) lifler longitudinal olarak dış tabakada tepeye doğru uzanır. Subepicardiyal lifler, ventrikülleri saran lifler içerisinde en ince olanlardır. Farklı noktalarda yön değiştirerek sirküler şekilde seyreder ve orta tabakayı oluşturur. Orta tabaka lifler, ventrikülleri saran lifler içerisinde en kalın olanlardır. Daha sonra subendocardiyal (iç) tabakayı oluşturan lifler longitudinal olarak yukarı doğru uzanır ve kalp iskeletinde sonlanır.

Yüzeyel tabakada bulunan lifler, apex cordis'te vortex cordis'i oluşturur ve m. papillaris'lerde sonlanır.

Orta ve iç tabaka lifler, septum interventriculare'yi oluşturur. Ancak diğer ventriküle geçemezler. İç tabakadaki liflerin bazıları trabeculae carnae ve m. papillaris'leri oluştururlar.

Kalbin fibröz iskeleti, atriumları ve ventrikülleri saran kas tabakalarını birbirinden ayırır. Bu durum atrium ve ventriküllerin bağımsız çalışabilmesini sağlar. Myocardium ve endocardium arasında Purkinje liflerini içeren subendokardiyal bir tabaka bulunur.

Endocardium: Kalp boşluklarının iç yüzlerini ve içindeki yapıları örter. Kalp kapakçıkları, mm. pectinati, mm. papillares, trabeculae carnae'lar ve chorda tendinea'lar endocardium ile sarılıdır. Damarların tunica intima bölümüne karşılık gelir.

İç tabakası, tek katlı endotel hücreler tarafından oluşturulur. Dış tabakası ise miyocardium'a yapışıktır. Kollajen lifler birbiri ile çaprazlaşmıştır. Sistol sırasında dalgalı, diyastol sırasında düzgün yapıda bulunurlar. Diyastol sırasında düzleşmeleri kalbin aşırı gerilmesini önler [19].

Atrium dextrum

Atrium dextrum; atrium sinistrum'un sağında, önünde ve altında bulunur. Dış yüzü; pleura mediastinalis, n. phrenicus dexter ve a. pericardiophrenica ile komşudur. Arka yüzü, v. pulmonalis dextra, iç yüzde aorta ascendens ve bifurcatio trunci pulmonalis ile komşudur. Üst bölümüne vena cava superior, arka-alt bölümüne vena cava inferior açılır [20]. Ostium vena cava superior ve ostium

vena cava inferior'un sağ bölümleri arasında dış yüzde uzanan oluğa sulcus terminalis, iç yüzde uzanan kabartıya crista terminalis adı verilir [13].

Crista terminalis'in arkasında bulunan düz atrium bölümü, embriyolojik olarak sinus venosus'tan gelişir. Crista terminalis'in önünde bulunan atrium bölümü atrium proper'den gelişir [21]. Crista terminalis'ten auricula'ya uzanan mm. pectinati isimli kas lifleri nedeniyle trabeküllü bir yapıya sahiptir [20]. Crista terminalis'in arka bölümünde bulunan vena cava superior ve vena cava inferior'un açıldığı düz alana sinus venarum cavarum adı verilir [13].

Vena cava superior ve vena cava inferior'un ostiumları arasında, arka duvarda bulunan kabartıya tuberculum intervenosum (Lower tüberkülü) denir [19]. Tuberculum intervenosum, vena cava superior'dan gelen kanı ventriculus dexter'e doğru yönlendirir [13].

Ostium vena cava superioris; baş, boyun, ekstremiteler, toraks duvarı ve özofagus'tan aldığı venöz kanı toplar ve sağ atrium'un üst bölümüne açılır [20]. Ostium vena cava inferioris; temel olarak abdomen, sindirim sistemi ve geri kalan vücut bölümlerinden gelen venöz kanı toplar ve sağ atrium'un alt bölümüne açılır. Vena cava superior'dan daha büyüktür [20]. Valvula vena cava inferioris (Eustachian kapağı) isimli rudimenter bir kapağı vardır. Bu kapağın görevi intrauterin hayatta plasentadan gelen oksijen oranı yüksek kanı foramen ovale'ye yönlendirmektir [13].

Atrium dextrum'a açılan bir başka venöz yapı ise sinus coronarius'tur. Sinus coronarius, kardiyak venlerin çoğunu toplar ve atrium dextrum'a açılır.

Venae cardiacae (cordis) minimae, v. cardiaca anterior ve v. marginalis dextra (bazen) doğrudan atrium dextrum'a açılır [20]. Ostium vena cava inferior ile ostium atrioventriculare dextrum arasında ostium sinus coronari bulunur [13]. Ostium sinus coronari üzerinde yarımay şeklinde valvula sinus coronarii (Thebesian) isimli bir kapak bulunur [20].

Atrium dextrum ile atrium sinistrum arasında septum interatriale bulunur. Septum interatriale üzerinde; ostium venae cavae inferioris'in üst-sol bölümünde fossa ovalis bulunur. Fossa ovalis, intrauterin hayatta kanın atrium dextrum'dan atrium sinistrum'a geçişine olanak sağlayan foramen ovale'nin kapanması ile oluşur. Atrium dextrum'un ön-alt bölümünde trigonum nodi atrioventricularis (Koch Üçgeni) bulunur [20].

Trigonum nodi atrioventricularis'in kenarlarını; valvula atrioventricularis dextra'nın cuspis septalis'i, ostium sinus coronarii'nin ön-iç kenarı ve tendo valvula vena cava inferioris (Todaro) oluşturur. Tendo valvula vena cava inferioris, valvula venae cavae inferioris ile trigonum fibrosum dextrum arasında uzanır. Trigonum nodi atrioventricularis; nodus atrioventricularis ve bağlantılarının yerinin belirlenmesi için cerrahi açıdan önemlidir [13].

Ostium atrioventriculare dextrum, atrium dextrum'un sol alt bölümünde atrium dextrum ve ventriculus dexter arasında bulunur. Etrafı kalbin fibröz iskeletinin bir bölümü olan anulus fibrosus dexter ile kuşatılmıştır. Açıklık ise valva atrioventricularis dextra ile sistol sırasında kapalıdır. Valva atrioventricularis

dextra (valva tricuspidalis), cuspis anterior, cuspis posterior ve cuspis septalis'ten oluşur [18].

Cuspis'ler, endokardiyum tarafından sarılır. Orta bölümlerinde kapakçıkları güçlendiren fibröz bağ dokusu bulunur. Bu durum cuspis'lerin merkezinin daha kalın olmasına sebep olur. Cuspis'ler lateralde anulus fibrosus dexter'e tutunur. Cuspis'lerin serbest yüzleri ise ventriculus dexter'e doğru uzanır. Cuspis'lerin ventriculus dexter'e bakan yüzlerinde chorda tendinea isimli fibröz çıkıntılar bulunur [19].

Cuspis'ler ile m. papillaris'ler arasında uzananlara chordae tendineae spuriae denir. Musculus papillaris ve ventrikül duvarı arasında veya m. papillaris'ler arasında uzananlara chorda tendinea falsae denir [13].

Cuspis anterior; ostium atrioventriculare dextrum'un ön bölümünde bulunur. Cuspis posterior; ostium atrioventriculare dextrum'un alt-arka bölümünde yerleşir. Cuspis septalis; septum interventriculare'ye yakın olarak anulus fibrosus'a tutunur [18].

Ventriculus dexter

Konveks ön duvarı, kalbin facies sternocostalis'inin büyük bölümünü oluşturur. Ventriculus sinister'in önünde yer alır [19].

Atrium dextrum'dan apex cordis yakınına kadar uzanır [20]. Alt yüzü daha düzdür ve diaphragma ile komşudur. Sol-arka duvarını ise septum interventriculare oluşturur [19].

Ventriculus dexter; ostium atrioventriculare dextra aracılığıyla atrium dextrum ile ostium trunci pulmonalis aracılığıyla truncus pulmonalis ile bağlantılıdır [21].

Ventriculus dexter'in sol üst bölümünde ostium trunci pulmonalis'in altında bulunan düz bölüme conus arteriosus (infundibulum) denir [21]. Conus arteriosus, diyastol anında valva trunci pulmonalis'in cuspis'lerini destekler [13].

Ventriculus dexter içerisinde; truncus arteriosus'tan gelişen düz alan (conus arteriosus) ve primitif ventrikülden gelişen pürüzlü alan arasındaki sınırı crista supraventricularis oluşturur [18]. Crista supraventricularis aynı zamanda ostium trunci pulmonalis ile ostium atrioventriculare dextrum'u birbirinden ayırır [19].

Septum interventriculare ile m. papillaris anterior arasında trabeculae septomarginalis (Moderatör bant) uzanır [13]. İçerisinden ileti sisteminin bir bölümü olan crus dextrum'un terminal dallarından en kalın olanı geçer [19].

Ventriculus dexter'in duvarları, atrium dextrum'un duvarlarından daha kalındır. Duvarları da trabeculae carneae yapısı sebebiyle pürüzlü bir yapıdadır [21]. Trabeculae carneae'lar kalınlaşarak m. papillaris'leri oluşturur [13].

Musculus papillaris anterior: Ventriculus dexter'in anterolateral duvarından başlar. Papiller kasların en büyüğüdür.

Musculus papillaris posterior: Ventriculus dexter'in alt duvarından başlar.

Musculus papillaris septalis: Septum interventriculare'den başlar [20].

Septum interventriculare'nin büyük bölümü ventriculus dexter ve ventriculus sinister arasında, küçük bir bölümü ventriculus sinister ile atrium dextrum arasında bulunur. Septum interventriculare pars muscularis ve pars membranacea isimli iki parçadan oluşur. Ventriculus sinister, ventriculus dexter'den daha uzun; atrium dextrum da atrium sinistrum'dan daha büyük olduğu için pars membranacea'nın bir bölümü ventriculus sinister ile atrium dextrum arasında bulunur. Pars membranacea'nın geriye kalan bölümü ventriculus dexter ile ventriculus sinister arasında bulunur [13].

Conus arteriosus'un ve ostium atrioventriculare dextrum'un yukarısında bulunur. Valva trunci pulmonalis ile kapatılmıştır. Valva trunci pulmonalis; valva semilunaris anterior, valva semilunaris sinistra ve valva semilunaris dextra isimli üç kapakçıktan oluşur. Kapakçıkların serbest uçları lümene doğru yönelmiştir [19]. Valva trunci pulmonalis, diyastol sırasında kapanır ve kanın ventriculus dexter'e geri dönmesini engeller [18]. Valva trunci pulmonalis'in cuspis'lerine, chorda tendinea tutunmaz. Cuspis'lerin kenarları kalp iskeletine tutunarak diyastol sırasında prolabe olmasını engeller [21].

Cuspis'lerin serbest kenarları ve bazisleri arasında sinus pulmonalis isimli boşluk bulunur. Diyastol sırasında kan, sinus pulmonalis'lere girerek cuspis'lerin damar duvarına yapışmasını engeller [13].

Cuspislerin serbest kenarlarının ortasında noduli valvularum semilunarium (Corpora arantii) adlı bir yapı bulunur [19]. Nodulun her iki tarafında kalan

bölüme ise lunulae valvularum semilunarium denir.

Atrium sinistrum

Atrium sinistrum, atrium dextrum'dan daha küçüktür, ancak duvarı daha kalındır. Küboid şekillidir ve atrium dextrum'dan eğik konumlu septum interatriale ile ayrılır. Atrium sinistrum, atrium dextrum'un arkasındadır [20]. Üst-sol ve ön bölümünde auricula sinistra yer alır [13]. Basis cordis'in büyük bölümünü oluşturur. Arkasında, sinus obliquus pericardii vardır. Atrium sinistrum ile özofagus arasında pericardium serosum bulunur [21].

Dört adet v. pulmonalis, üst arka-dış bölümüne açılır. Ostia venarum pulmonalium oval ve pürüzsüzdür [20]. Kapak içermezler [19].

Septum interatriale üzerinde, fossa ovalis izdüşümünde yarımay şekilli, içbükeyliği yukarı bakan falx septi isimli çukur görülür [19].

Atrium sinistrum'da toplanan oksijen oranı yüksek kanın ventriculus sinister'e geçişini sağlayan aşağı ve öne doğru yönelmiş bir açıklıktır [18]. Ostium atrioventriculare dextrum'un arka-dış bölümünde bulunur [13].

Ostium atriventriculare sinistrum, sistol sırasında valva atrioventricularis sinistra (Valva mitralis) isimli kapak ile kapalıdır. Valva atrioventricularis sinistra (valva mitralis), cuspis anterior ve cuspis posterior isimli iki kapaktan oluşur. Cuspis anterior biraz daha büyük olup, ostium aortae ile ostium atrioventricularis sinistra arasında bulunur. Cuspis'ler, anulus fibrosus sinister'e tutunur [21].

Ventriculus sinister

Yarım elipsoid veya koni şeklindedir. Ventriculus dexter'den daha dardır ve apex cordis'e kadar uzanır. Tam ortadan alınan transvers kesitte neredeyse dairesel bir boşluk şeklinde görülür. Facies sternocostalis ve facies diaphragmatica'nın yapısına katılır [20].

Ostium atrioventriculare sinistrum ile atrium sinistrum'a, ostium aortae ile aorta'ya açılır. Duvar kalınlığı ventriculus dexter'den 3 kat, iç basıncı 6 kat daha yüksektir. Yüksek basınçtan dolayı septum interventriculare, ventriculus dexter'e doğru bombeleşir [21]. Trabeculae carnea yapısı, ventriculus dexter'e göre daha iyi gelişmiştir [13].

Valva aortae'nın hemen altında bulunan, cuspis anterior ile septum interventriculare'nin membranöz parçası arasındaki bölüme vestibulum aortae denir [13].

Ventriculus sinister'de m. papillaris anterior ve m. papillaris posterior isimli iki adet papiller kas bulunur. Papiller kaslardan çıkan chordae tendineae'lar iki cuspis'e de tutunabilir [19].

Ostium trunci pulmonalis'in sağ-alt bölümünde bulunur. Diyastol sırasında valva aortae isimli kapak ile kapalıdır. Valva trunci pulmonalis'ten daha büyük, daha kalın ve daha sağlamdır [19]. Valva aortae; valvula semilunaris dextra, valvula semilunaris sinistra ve valvula semilunaris posterior isimli üç kapakçıktan oluşur [13]. Kapakçıkların üzerinde bulunan aorta ascendens

bölümünde üç adet genişleme bulunur. Bu genişlemelere sinus aortae (Valsalva sinusleri) denir [18].

Valvula semilunaris dextra'nın karşılığında a. coronaria dextra bulunduğu için, valvula coronaria dextra da denir.

Valvula semilunaris sinistra'nın karşılığında a. coronaria sinistra bulunduğu için valvula coronaria sinistra da denir.

Valvula semilunaris posterior'un karşılığında, herhangi bir arter bulunmadığı için valvula non coronaria da denir [13].

Sistol sırasında aort duvarı ile cuspis'ler arasında bir miktar kan kalır ve kapakların yapışması engellenir [19].

Septum interventriculare

Ventriculus dexter ve ventriculus sinister'i birbirinden ayırır. Arkadan öne ve sağdan sola doğru uzanır. Ventriculus sinister'in basıncı daha fazla olduğu için ventriculus dexter'e doğru bombeleşmiştir. Kalpten alınan transvers kesitlerde ventriculus dexter yarımay şeklinde, ventriculus sinister ise oval şekilde görülür.

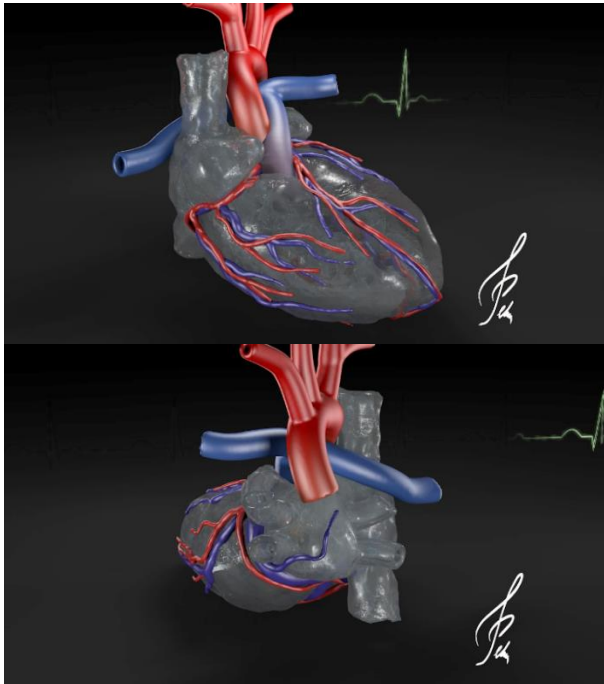
Pars membranacea: Septum interventriculare'nin küçük olan bölümünü oluşturur [19]. Septum interatriale'nin alt parçasıyla komşudur [13]. Valva atrioventricularis sinistra'nın cuspis septalis'i ile pars atrioventricularis ve pars interventricularis isimli iki parçaya ayrılır.

Pars muscularis: Septum interventriculare'nin büyük kısmını oluşturur ve daha kalındır.

Ventriculus sinister, ventriculus dexter'den daha uzundur. Atrium dextrum da atrium sinistrum'dan daha büyüktür. Bu yüzden pars membranacea'nın bir bölümü ventriculus sinister ile atrium dextrum arasında kalır. Bu bölüm pars atrioventricularis olarak adlandırılır. Geriye kalan bölümü ise pars interventricularis olarak adlandırılır [13].

Kalbin Arterleri

Kalbi besleyen iki koroner arter vardır. Arteria coronaria dextra ve a. coronaria sinistra aorta ascendens'ten ayrılan ilk dallardır (Resim 4). Koroner arterler ve ana dalları subepicardiyal tabakada bulunur.



Resim 4. Kalbin arterleri

Arteria coronaria dextra

Valvula coronaria dextra'nın hemen üzerinde aorta ascendens'in sağ-ön bölümünden ayrılır. Truncus pulmonalis ile auricula dextra arasından geçerek sulcus interventricularis posterior'a doğru yönelir. Sulcus atrioventricularis'ten aşağı doğru iner [22]. Arteria coronaria sinistra'nın r. circumflexus dalı ile anastomoz yapar [20]. Arteria coronaria dextra'nın dalları temel olarak atrium dextrum'u, ventriculus dexter'i, septum interventriculare'nin bir kısmını, kalbin ileti sistemini ve atrium sinistrum'un küçük bir bölümünü besler.

Ramus conii arteriosi: Conus arteriosus'u ve ventriculus dexter'in küçük bir kısmını besler. Arteria coronaria dextra'dan gelen aynı isimli dal ile birleşerek Vieussens halkasını oluşturur [20].

Ramus nodi sinuatrialis (Ramus sinuatrialis): Auricula dextra ile aorta arasında uzanır. Vena cava superior'un tabanında dallanır. Nodus sinuatrialis'i besler [20].

Rami atriales: Atrium dextrum'u ve atrium sinistrum'un küçük bir bölümünü besler [22].

Ramus marginalis dexter: Ventriculus dexter'i besler. Ventriculus dexter'in sağ-alt bölümünde uzanır. Apex cordis'e kadar uzanabilir [20].

Ramus interventricularis posterior: Sulcus interventricularis posterior'da uzanır [20]. Septum interventriculare'nin arka 1/3 bölümünü besler. Ventriculus dexter ve ventriculus sinister'e dallar verir [22].

A. coronaria dextra'nın; ramus nodi atrioventriculares, rr. ventriculares anteriores, rr. ventriculares posteriores ve r. atrialis intermedius isimli küçük dalları da vardır [13].

Arteria coronaria sinistra

Valvula coronaria sinistra'nın hemen üzerinde aorta ascendens'in solundan ayrılır [20]. Truncus pulmonalis ile atrium sinistrum'un arasından geçer [22]. Arteria coronaria dextra'dan daha kalındır. Ventriculus sinister ve atrium sinistrum'un tamamına yakın bölümünü, septum interventriculare'nin 2/3 ön parçasını, ventriculus dexter'in küçük bir bölümünü besler [20].

Ramus interventricularis anterior ve r. circumflexus isimli iki dala ayrılır [20].

Ramus interventricularis anterior: Sulcus interventricularis anterior'da apex cordis'e kadar uzanır. Ventriculus dexter ve ventriculus sinister'e dallar verir. Incisura apicis cordis üzerinde r. interventricularis posterior ile anastomoz yapar [20].

Rami interventriculares septales: Septum interventriculare'nin 2/3 ön bölümünü besler [19].

Ramus coni arteriosi: Arteria coronaria dextra'dan ayrılan r. coni arteriosi ile anastomoz (Vieussens halkası) yapar. Conus arteriosus'u besler [22].

Ramus lateralis: Ramus interventricularis'in proximal bölümünden ayrılır. Ventriculus sinister'in arka-dış bölümünü besler [22]. Bazen a. coronaria

sinistra'nın dallanma noktasından çıkabilir. Bu durumda a. coronaria sinistra 3 dala ayrılır. (Trifurkasyon) [13].

Ramus circumflexus: Arteria coronaria sinistra'dan ayrılır. Sulcus coronarius'ta seyreder. Kalbin arkasına doğru yönelir. Sulcus interventricularis posterior'un başlangıcına kadar uzanır. Atrium sinistrum ve ventriculus sinister'in küçük bir bölümünü besler [22].

Ramus atrialis anastomoticus: (Kugel'in anastomotik arteri) Septum interatriale'de, atrium dextrum'a yakın seviyede a. coronaria dextra'nın dalları ile anastomoz yapar.

Rami atrioventriculares: Atrium sinistrum ve ventriculus sinister'in bir bölümünü besler.

Ramus marginalis sinister: Kalbin son kenarı üzerinde apex cordis'e kadar uzanır.

Ramus atrialis intermedius: Atrium sinistrum'un arka yüzünü besler.

Ramus posterior ventriculi sinistri: Ventriculus sinister'in arka yüzünü besler.

Rami atriales: Atrium sinistrum'un ön-yan-arka bölümünü besler [19].

Kalbin Venleri

Sinus coronarius

Sulcus coronarius'un arka kısmında bulunur. Atrium sinistrum'a ait kas lifleri ile desteklenir. Ostium sinus coronarii adıyla atrium dextrum'a açılır. Açıldığı yerde valvula sinus coronarii (Thebesius) isimli yarımay şeklinde kapakçık bulunur [19]. Kalbin venöz kanı büyük oranda sinus coronarius'a dökülür. Sinus coronarius, ventriculus dexter'in ön bölgesi, atrium dextrum ve atrium sinistrum'un küçük bir bölümü hariç kalbin venöz kanını toplar [20].

Venae cardiae (cordis) anteriores, v. cardiaca minima ve bazen de v. marginalis dexter doğrudan atrium dextrum'a açılır [13].

Vena cardiaca (cordis) magna (v. interventricularis anterior): Apex cordis'e yakın bölümden başlar. Sulcus interventricularis anterior'da yukarı doğru seyreder [13]. Sulcus coronarius'un sol yarısında uzanır. Sinus coronarius'un sol ucu ile birleşir [19]. Sinus coronarius'a açılan en büyük kalp venidir [13]. Seyri boyunca r. interventricularis anterior ve r. circumflexus'a eşlik eder [13]. Venae atriales sinistralae ve v. marginalis sinistra, v. cardiaca magna'ya dökülür [22].

Vena cardiaca (cordis) parva (v. coronaria dextra): Atrium dextrum ile ventriculus dexter arasında sulcus coronarius'un arka bölümünde a. coronaria dextra ile birlikte seyreder [13]. Venae atriales dextrae ve ventriculus dexter'den çok sayıda ince ven alır [19]. Bazen v. marginalis dexter, v. cardiaca parva'ya açılır [19]. Bazen de v. cardiaca parva, v. marginalis dexter'in devamı şeklinde olabilir [22]. Sinus coronarius'a sağ ucundan açılır [19].

Vena cardiaca (cordis) media (v. interventricularis posterior): Apex cordis ile sulcus coronarius arasında, sulcus interventricularis posterior'da uzanır [19].

Ramus interventricularis posterior'a eşlik eder. Sinus coronarius'un sağ bölümüne açılır [13]. Ventriculus dexter ve ventriculus sinister'den ince dallar alır [19].

Venae ventriculi sinistri posteriores: Facies diaphragmatica üzerinde ventriculus sinister'in arkasında seyreder [13]. Genellikle sinus coronarius'a, bazen de v. coronaria sinistra'ya açılır [19].

Venae ventriculi dextri anteriores: Ventriculus dexter'in ön bölümünden ince dallar alır [19].

Vena obliqua atrii sinistri (Marshall veni): Atrium sinistrum'un arka yüzünde uzanır. Sinus coronarius'un sol ucuna açılır [19]. Vena obliqua atrii sinistri'nin yukarı doğru devamı olan lig. vena cava sinistra, v. cardinalis communis sinistra'nın kalıntısıdır [13]. Bu ligament, plica venae cavae sinistrae isimli katlantı şeklinde uzanır [19].

Venae cardiaca minimae (Thebesius): Miyocardium'daki kapiller bölümden başlar [13]. Sinus coronarius'a açılmazlar. En fazla atrium dextrum olmak üzere bütün kalp boşluklarına açılabilirler [19]. Sayı ve kalınlıkları çok fazla varyasyon gösterir [19].

Kalbin Lenf Drenajı

Myocardium ve subendocardial alanda bulunan lenf damarları tarafından oluşturulur. Subepicardial plexustan çıkan damarlar solda nodi tracheobronchiales inferiores'e, sağda nodi brachiocephalici'ye dökülür [13].

Pericardium

Kalbi ve büyük damarların kalbe yakın olan kısımlarını sarar. Pericardium fibrosum ve pericardium serosum isimli iki tabakadan oluşur. Kalınlığı 1-2 mm arasında değişir. Mikroskopik olarak kalbin transvers kesitlerinde daha iyi mikroanatomik görünüm sergiler [20].

Pericardium fibrosum

Sert bağ dokusundan oluşan bir kesedir. Sert ve sıkı kollajenöz yapıdadır. Kalbi pelerin gibi sarar [20]. Kalbe tutunmaz ancak kalbi tamamen çevreler. Pericardium fibrosum'un lateral duvarları pleura parietalis ile kaplıdır. Pericardium fibrosum, vena cava superior hariç kalp ile ilişkili bütün damarları örter [13]. Üç kollajen katmanından oluşur. Birbirleriyle neredeyse 120 derecelik açı yapan üç tabakadan oluşur. Üç katmanlı yapısı sayesinde pericardium'u sağlam ve güvenli bir şekilde sabitler. Bu durum gerilmeyi sınırlandırır ve fiziksel bariyer görevi görür. Kalbin, intratorasik stabilizasyonunda; negatif basınç, kalbe giren-çıkan damarlar, lig. sternopericardiaca superior, lig. sternopericardiaca inferior ve pericardium fibrosum'un diaphragma'nın centrum tendinum'u ile olan birleşmesinin rolü vardır [20].

Pericardium serosum

Lamina visceralis (epicardium) ve lamina parietalis adı verilen iki tabakadan oluşur. Lamina visceralis kalbe yapışıktır. Lamina parietalis ise pericardium fibrosum'un iç katmanına yapışıktır. Her iki lamina içi sıvı dolu potansiyel bir aralık ile birbirinden ayrılmıştır. Her iki lamina arasında bulunan

potansiyel aralığa, *cavitas pericardiaca*; bu aralığı dolduran sıvıya ise *liquor pericardii* adı verilir [20]. *Cavitas pericardiaca* ve *liquor pericardii*, kalbin bağımsız kasılma hareketini kolaylaştırır. Kalp ve mediastinal yapılar arasındaki sürtünmeyi azaltır. Kardiyak genişlemeyi sınırlandırır. Hidrostatik basıncın kalp etrafında eşit dağılmasını sağlar. Böylece kanın ventrikülden atrium'a geri kaçışını önler. Atriumların dolmasını kolaylaştırır. Ayrıca enfeksiyonların yayılımını önleyen fiziksel bir bariyer görevi görür [20].

Lamina visceralis, kalbi ve büyük damarları sardıktan sonra *lamina parietalis* olarak *pericardium fibrosum*'un iç yüzüne atlar. *Aorta ascendens* ile *truncus pulmonalis*'i saran kılıfa *vagina serosum arteriosum*, *vena cava superior*, *vena cava inferior* ve *vv. pulmonales*'leri saran kılıfa ise *vagina serosum venosum* adı verilir. *Atrium sinistrum*'un arkasında *sinus obliquus pericardii* adlı bir çıkmaz oluşturur. *Sinus obliquus pericardii*'nin ön duvarını *atrium sinistrum*'un *v. pulmonalis dextra* ve *v. pulmonalis sinistra* arasında kalan bölümü oluşturur. Arka duvarını ise özofagus ile kalp arasında bulunan *pericardium fibrosum* oluşturur. İki kılıf arasında *sinus transversus pericardii* adlı bir geçit bulunur. *Sinus transversus pericardii*'nin önünde *aorta ascendens* ve *truncus pulmonalis*, arkasında; *vena cava superior*, *atrium dextrum*, *atrium sinistrum* ve *vv. pulmonales* bulunur [13].

Pericardium'un damar ve sinirleri:

Pericardium serosum'un *lamina parietalis*'ini ve *pericardium fibrosum*'u, a. *thoracica interna*'nın dalı olan a. *musculophrenica* ve a. *pericardiacophrenica*

besler. Bunlara ek olarak aorta thoracica'dan ayrılan rr. pericardiaci, rr. bronchiales, aa. phrenica superiores ve aa. oesophageales de beslenmeye katılır.

Pericardium serosum'un lamina visceralis'i ise a. coronaria dextra ve a. coronaria sinistra'dan ayrılan ince dallar tarafından beslenir.

Pericardium serosum'un lamina parietalis'i ve pericardium fibrosum'un venleri; v. thoracica interna ve v. azygos'a dökülür. Pericardium serosum'un lamina visceralis'inin venöz drenajı ise kalbin venlerine doğrudur.

Pericardium serosum'un lamina parietalis'i ve pericardium fibrosum'un duysusu, n. phrenicus tarafından alınır. Pericardium serosum'un lamina visceralis'inin duysusu ise kalbin otonom sinirleri tarafından alınır [13].

Kalbin İleti Sistemi (complexus stimulans cordis-systema conducente cordis)

İstirahat halindeki yetişkin bir insanda kalp ortalama dakikada 70-90 kez kasılır. Ritmik kasılma işlevi ileti sisteminde kendiliğinden oluşur. Bu sistem içerisinde sinir dokusu bulunmaz [19]. Özelleşmiş kalp kası hücreleri sayesinde kalp içerisinde sinyal üreten ve ileten bir sistem bulunur [21]. Bu sistemin kontrolü otonom sinir sistemi tarafından düzenlenir [19].

Nodus sinuatrialis: 10-20 mm uzunluğunda ve eliptik yapıdadır. Subepicardiyal bölgede bulunur [20]. Crista terminalis'in üst ucunda, ostium venae cavae superioris'e yakın bir konumdadır [13]. Kalbin ritmik kasılmasını sağlayan uyarıları oluşturduğu için kalbin pacemaker'i olarak bilinir [13]. Nodus sinuatrialis'ten çıkan uyarılar atrium duvarındaki yoğunlaşmış kas lifleri ile

yayılarak nodus atrioventricularis'e ulaşır. Nodus sinuatrialis'in çalışmadığı durumlarda bu görevi nodus atrioventricularis üstlenir [22].

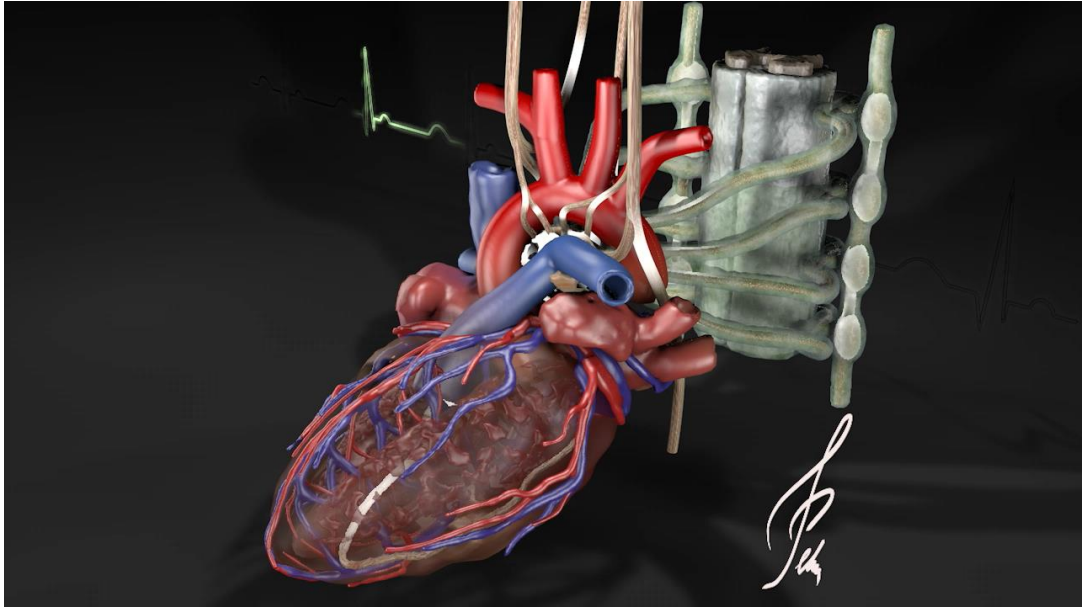
Nodus atrioventricularis: Septum interatriale'de trigonum nodi atrioventricularis (Koch üçgeni) üzerinde bulunur. Kalpte iletinin en yavaş olduğu yerdir [13]. Nodus sinuatrialis'ten gelen uyarılar yavaşlatılarak fasciculus atrioventricularis'e yönlendirilir. Dakikada 40-60 kez uyarı üretebilir [22].

Fasciculus atrioventricularis (His Demeti): Atriumlar ile ventriküller arasında bulunan tek fizyolojik bağlantı yoludur [13]. Nodus atrioventricularis'ten başlar. Septum interventriculare'nin pars membranacea'sında uzanır [19]. Trigonum fibrosum dextrum'u deler [13]. Pars membranacea'nın ortalarında crus dextrum ve crus sinistrum olarak ikiye ayrılır (Resim 5) [19]. Crus dextrum, trabecula septomarginalis içerisinde ventriculus dexter'in ön duvarına kadar uzanır. Subendocardiyal bölgede plexus subendocardiyalis'i (Purkinje lifleri) oluşturur. Kalpte iletinin en hızlı olduğu yer plexus subendocardiyalis'tir [13]. Crus sinistrum, papiller kaslara kadar uzanır.

Crus dextrum ve crus sinistrum dallarını önce m. papillaris'lere verir. Bu durum m. papillaris'lerin ventrikül duvarından önce kasılmasını sağlar. Musculus papillaris'lerin kasılması chorda tendineaları gererek sistol sırasında valva atrioventricularis dextra ve valva atrioventricularis sinistra'nın atrium'a doğru esnemesini önler [13].

Kalbin Sinirleri

Kalp arcus aorta'nın altında bulunan plexus cardiacus'lar ile innerve edilir. Plexus cardiacus içerisinde otonom sinir sistemine ait simpatik ve parasimpatik lifler bulunur. Simpatik lifler, truncus sympathicus'tan; parasimpatik lifler ise n. vagus'tan gelir [21]. Postganglionik simpatik ve parasimpatik lifler nodus sinuatrialis, nodus atrioventricularis, myocardium ve koroner arterler üzerinde sonlanır. Simpatik sistemin baskın duruma gelmesi kalbin kasılma gücünde artmaya ve koroner arterlerde dilatasyona sebep olur. Parasimpatik sistemin baskın duruma gelmesi ise kalbin kasılma gücünde azalmaya ve koroner arterlerde daralmaya neden olur [21]. Plexus cardiacus yüzeysel ve derin olmak üzere iki bölümde incelenir (Resim 5).



Resim 5. Kalbin sol-ön yüzden görünümü

Plexus cardiacus superficialis: Truncus pulmonalis'in çatalının önünde ve arcus aorta'nın altında bulunur.

Plexus cardiacus profundus: Bifurcatio trachea'nın önünde ve arcus aorta'nın arkasında bulunur [22].

Kalbin parasempatik innervasyonu medulla oblongata'da bulunan nucleus dorsalis nervi vagi'den başlar. Nervus vagus'un preganglionik parasempatik lifleri ile plexus cardiacus'a gelir. Sağ n. vagus nodus sinuatrialis'e, sol n. vagus nodus atrioventricularis'e gider. Bazı lifler her iki atriuma da gidebilir. Ancak ventrikülleri innerve etmezler [22].

Kalbin simpatik innervasyonu medulla spinalis'in T1-T5 segmentlerinden bilateral olarak gelir [13]. T1-T2 segmentlerinden başlayan servikal bölüm ganglion cervicale superius, ganglion cervicale medius ve ganglion cervicale inferius'ta sinaps yapar. Torakal bölüm ise T1-T4 segmentlerinden başlar. Sinapstan sonra oluşan postganglionik simpatik lifler, bilateral olarak plexus cardiacus aracılığıyla nodus sinuatrialis'e, nodus atrioventricularis'e, atriumlara ve ventriküllere ulaşır [22].

Kalbin Thorax Duvarındaki İzdüşümü

Sırtüstü yatan bir kişide kalp kapaklarının izdüşümleri birleştirildiğinde yamuk şekline benzer [22].

İkisi sternum'un sağında ikisi sternum'un solunda 4 nokta işaretlenir. Bu noktaların birleştirilmesiyle kalbin thorax ön duvarındaki izdüşüm alanı belirlenebilir.

I. nokta: Sağ 3. cartilago costalis üst kenarı üzerinde orta hattın 2 cm uzakta

II. nokta: Sağda 6. cartilago costalis'in sternum'a tutunduğu yer

III. nokta: Orta hattın 3 cm solunda 2. cartilago costalis'in alt kenarı hizasında

IV. nokta: Sol 5. intercostal aralıkta orta hattın 8-10 cm solunda [22].

Bu 4 nokta birleştirildiğinde kalbin göğüs ön duvarındaki izdüşümü belirlenir. Bu alana kalbin izafi (rölatif) matite sahası denir [19]. Canlıda kalbin facies sternocostalis'i akciğerler ile örtülüdür. Yani kalbin facies sternocostalis'inin sadece orta kısmı göğüs ön duvarı ile komşudur. Kalbin facies sternocostalis'inin göğüs ön duvarı ile komşuluk yapan bölümünün izdüşümüne mutlak matite alanı denir [19].

Kalbin Perküsyonu

3. ve 5. intercostal aralıkta linea axillaris anterior'ların arasında yapılır [13].

Kalp Kapaklarının Projeksiyonu

Valva trunci pulmonalis: Sol 3. cartilago costalis'in üst kenarının sternumla birleştiği yerin arkasında bulunur.

Valva aorta: Sol 3. intercostal aralığın medial kısmının arkasında bulunur.

Valva atrioventricularis sinistrum: Sol 4. cartilago costalis seviyesinde sternumun sol yarımının arkasında bulunur.

Valva atrioventricularis dextrum: Sağ 4. intercostal aralıkta sternum yarımının arkasında bulunur [13].

Kalp Kapaklarının Dinleme Odakları

Valva trunci pulmonalis: Sol 2. intercostal aralık ile sternumun birleştiği alanda dinlenir.

Valva aorta: Sağ 2. intercostal aralık ile sternumun birleştiği alanda dinlenir.

Valva atrioventricularis sinistra: Sol 5. intercostal aralıkta orta hattın 8-10 cm solunda dinlenir.

Valva atrioventricularis dextra: 5. intercostal aralıkta sternum alt ucunun orta bölümünde dinlenir [19].

2.2. Kardiyomiyopati

2.2.1 Tanım ve etyoloji

Kardiyomiyopati, kalıtsal veya edinsel olarak görülen, bazen kalp kasının performansını etkileyebilen bir kalp kası hastalığı grubudur. İlerleyen dönemde tüm kardiyomiyopatiler kalbin şeklinde ve boyutunda değişikliğe neden olabilir [1].

Ekokardiyografi ile tespit edilen sistolik ve diyastolik fonksiyonda meydana gelen ilerleyici azalma zamanla sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun azalmasına neden olur. Uzun dönemde ise sol ventrikül diyastol sonu basıncında ciddi artış görülür [23].

Sol ventrikül disfonksiyonu oluşan hastalarda pulmoner konjesyon ve pulmoner ödem görülür. Sağ ventrikül disfonksiyonu oluşan hastalarda ise periferik ödem, asit, plevral ve perikardiyal efüzyon görülür. Atriyal dilatasyon ve kan akışındaki yavaşlama trombüs oluşumuna ve tromboembolik komplikasyonlara zemin hazırlar. Sonuç olarak doğal seyrine bırakılan tüm kardiyomiyopatilerin akibeti kalp yetmezliğidir. Son dönem kalp yetmezliği olan hastaların çoğunda hem sağ hem de sol kalp yetmezliği bulguları birlikte izlenir [1].

Kardiyomiyopatinin erken tespiti büyük önem taşır. Klinik olarak belirgin kalp hasarını belirlemek için kullanılan teknikler arasında çok kanallı radyonüklid (MUGA) taramaları, ekokardiyografi, çeşitli kardiyak spesifik biyokimyasal belirteçlerin (örneğin, kardiyak troponin T) tanımlanması, natriüretik peptitler ve miyokardiyal doku biyopsisi yer alır [24].

2.2.2 Kardiyomiyopati'lerin sınıflandırılması

Hipertrofik kardiyomiyopati

Hipertrofik kardiyomiyopati, 1/500 prevalansı ile en sık görülen kalıtsal kardiyomiyopati türüdür. Genç sporcularda ani kardiyak ölümün en sık nedenidir

[25]. Vakaların %90'ı kalıtsaldır. Çoğunlukla otozomal dominant kalıtım özelliği gösterir. Penetrans tam değildir, ancak yaşla birlikte artar [26].

Peripartum kardiyomiyopati (PPCM)

Hamileliğin son ayı ile postpartum 5. ay arasında ortaya çıkabilen, başka bir neden olmaksızın sol ventrikül sistolik işlevinin bozulduğu kalp yetmezliği olarak tanımlanır. Ancak son yayınlar zaman aralığını daha geniş bir şekilde belirlemektedir. Peripartum kardiyomiyopati bir dışlama tanısıdır [26]. Peripartum kardiyomiyopati kadınlarda tromboembolik olaylara yatkınlık gösterirler [27].

Aritmojenik (sağ ventriküler) kardiyomiyopati (ARVC)

Aritmojenik kardiyomiyopati (Aritmojenik sağ ventrikül displazisi) sıklıkla ventriculus dexter'i, bazen de ventriculus sinister'i etkileyen bir miyokard hastalığıdır.

Gençlerde önemli bir ani ölüm nedenidir. İlerleyici miyosit kaybı ile karakterizedir. Normal miyokardın yanında lifli ve yağlı dokuların bir arada bulunması, aritmi ve ani ölüme yatkınlık sağlar.

Tüm vakaların yaklaşık %33 - %50'si aileseldir. Otozomal dominant kalıtım özelliği gösterir. Ancak bazı otozomal resesif formları da tanımlanmıştır.

Doğrudan hastalığın etiolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. Miyokardit, fenotipik ekspresyonun tetikleyicisi veya miyosit nekrozunun bir nedeni olarak gösterilmiştir. Bu duruma sebep olan farklı kardiyotropik virüsler tanımlanmıştır.

Restriktif kardiyomiyopati (RCM)

Tanı konulan tüm kardiyomiyopatilerin %2-5'ini oluşturur. Restriktif kardiyomiyopati gelişimi sarkomer, hücre iskeleti ve Z disklerini kodlayan genler ile ilişkilidir [28].

Kalıtsal kardiyomiyopatiler arasında en az görülenidir. Sarkomerik gen (örneğin troponin I) mutasyonları ile ilişkisi gösterilmiştir. Histolojik olarak primer idiyopatik RCM yalnızca miyokardiyal interstisyel fibrozisi gösterir. Genellikle otozomal dominant kalıtım özelliğine sahiptir. İskelet miyopatisi ile birlikte görülebilir. İnflamatuvar türleri arasında endomiyokardiyal fibrozis ve Loeffler endokarditi bulunur. Her ikisi de parazit enfeksiyonu veya kandaki hipereozinofilik durumlarla ilişkilidir [26].

Dilate Kardiyomiyopati (DKMP)

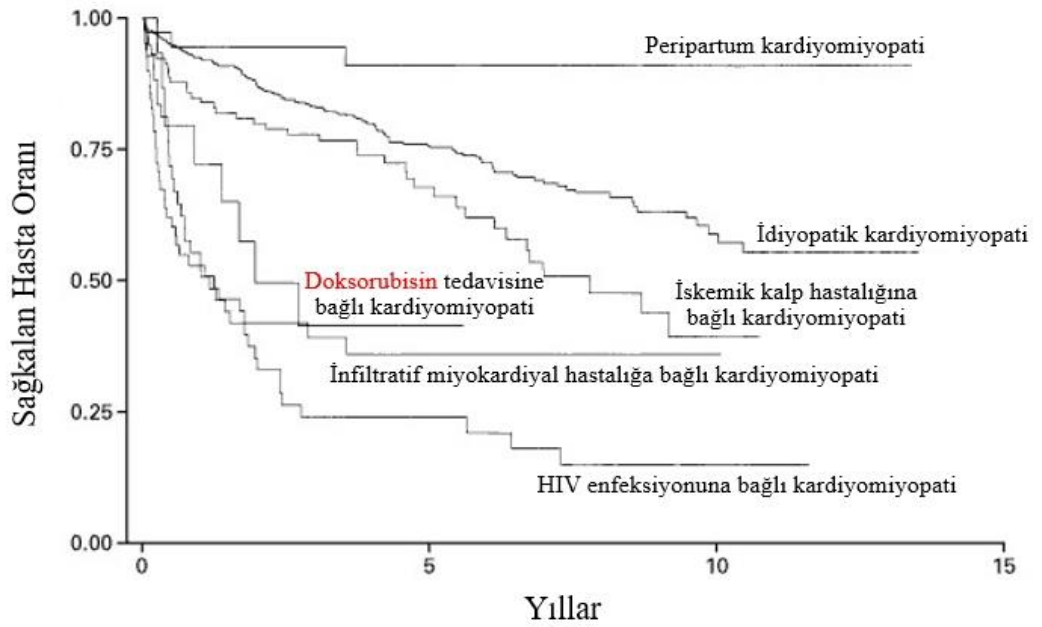
En sık görülen kardiyomiyopati tipidir. Kalp transplantasyonunun en sık, kalp yetmezliğinin üçüncü en sık sebebidir. Sistolik disfonksiyona ek olarak bir veya iki ventrikülün genişlemesi ile karakterizedir. İleti sistemi anormallikleri, aritmi, ani kardiyak ölüm ve kalp yetmezliğine bağlı ölüme sebep olabilir. Dilate kardiyomiyopati tanısı ekokardiyografi ile konur.

Elektrokardiyografik olarak T dalgasının düzleşmesi, Q-T aralığının uzaması ve R dalgasının amplitüdünün azalması dahil olmak üzere çeşitli bulgular görülebilir [23].

Dilate kardiyomiyopati, idiyopatik veya sekonder olabilir. Miyokardit, alkol, toksinler, endokrin ve otoimmün bozukluklar DKMP'ye neden olabilir.

Dilate kardiyomiyopati'nin idiyopatik formu hastaların yaklaşık 1/3'ünde kalıtsaldır. Vakaların çoğu otozomal dominant kalıtım özelliği gösterir. Nadiren otozomal resesif veya X'e bağlı formları da olabilir.

Dilate kardiyomiyopati hastalarının yarısından fazlasında etyolojik neden belirlenemez. Bu durumda hasta idiyopatik DKMP tanısı alır. Dilate kardiyomiyopati'nin doğal seyri tam aydınlatılmamıştır. Hastalar asemptomatik olabilir veya sol ventrikül disfonksiyonuna bağlı kalp yetmezliği şikayetleri ile başvurabilirler. Dilate kardiyomiyopati en sık orta yaş erkek hastalarda görülür. Yıllık mortalite %10 ile %50 arasındadır [1].



Şekil 1. Kardiyomiyopati türlerinin yıllara göre mortalite grafiği [1]

2.2.3 Kardiyomiyopati'lerin fizyopatolojisi

Kardiyomiyopatilerin patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Genetik mutasyon ve çevresel etkenler arasındaki etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir [29].

Bu durum, miyofibrillerin kaybı, sarkoplazmik retikulumun genişlemesi ve sitoplazmanın vakuolizasyonu ile ilişkilidir. Histolojik olarak miyosit hipertrofisi ve interstisyel fibrozis görülür. Subendokardiyal alan, miyokard interstisyumu veya perivasküler alanda fibrozis görülür [1].

Fibrozis kardiyomiyopati patogenezinde ortak bir sonuçtur. Bu sonuç düzensiz hücre dışı matriksin yeniden yapılanmasıyla bağlantılı olabilir. Kardiyomiyositler, kardiyak fibroblastlar ve endotel hücreleri arasındaki etkileşim için interstisyum ile hücre dışı matriks arasında iyi düzenlemiş bir ilişki gereklidir. Hücre dışı matriks esas olarak kardiyak fibroblastlar tarafından sentezlenir [30].

Doksozobisin kaynaklı kardiyomiyopatide, ilaç kardiyomiyositlerde aktif olarak birikir. Bunun sonucunda aşırı miktarda reaktif oksijen ürünü üretilir. Reaktif oksijen ürünleri inflamatuvar süreçleri başlatır. Oksidatif stres aynı zamanda mitokondri ve sarkoplazmik retikulum işleyişini, demir ve kalsiyum iyonlarının dengesini bozar. Bu durum topoizomeraz II'nin çalışmasını olumsuz etkiler. Sonuç olarak kardiyomiyositler ölür ve kalpte disfonksiyon gelişir [31].

2.2.4 Kardiyomiyopati tedavi protokolleri

Antrasikline bağlı kardiyotoksisite, diğer nedenlerden kaynaklanan kalp yetmezliğiyle hemen hemen aynı şekilde tedavi edilir. Tedavinin temelini anjiyotensin dnüşürücü enzim (ACE) inhibitörleri, beta blokerler ve diüretikler oluşturur [24].

Kalp yetmezliği (KY) için kullanılan esas ilaçlar beta reseptör blokerleri, anjiyotensin dnüşürücü enzim inhibitörleri ve angiotensin II reseptör antagonistleridir. Kalp yetmezliği, reaktif oksijen ürünlerinin neden olduğu kardiyak hipertrofi ve oksidatif stres ile ilişkilidir. Kersetin, hidrojen peroksit'i bloke ederek mitokondriyal homeostazisi düzenler ve böylece miyokard hipertrofisini azaltır [32].

Dilate kardiyomiyopati tedavisi de kalp yetmezliği tedavi prosedürü ile benzerdir. Temel amaç hastalığın ilerleyişini durdurmak ve sıvı dengesini sağlamaktır. Seçilmiş hastalarda kalp pili ve kardiyak defibrilatör kullanılabilir. Uygun hastalarda kalp nakli son seçenektir. Kardiyak yenilenme için kök hücre ve gen tedavileri klinik çalışma aşamasındadır [1].

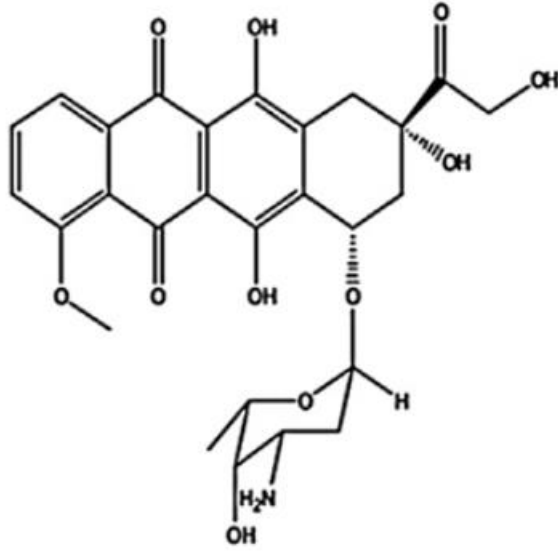
2.3 Doksorubisin

2.3.1 Doksorubisin Yapısı ve Genel Özellikleri

Daunorubisin, kırmızı pigment üreten bir bakteri türü olan *streptomyces peucetius*'tan 1950'li yıllarda izole edildi. Lenfoma ve lösemi tedavisi için faydalı bulundu ve uzun süre kullanıldı. 1967 yılında kalp üzerine olan ölümcül etkileri keşfedildi. Daha sonra *streptomyces peucetius* üzerinde genetik değişiklikler yapılarak doksorubisin elde edildi. Doksorubisin'in terapötik indeksi daha geniştir. Ancak daunorubisin gibi doksorubisin de kardiyotoksik etkilidir. Epirubisin ve idarubisin gibi ikinci nesil analoglar daha geniş terapötik indeks sağlamakla birlikte kardiyotoksik etkileri devam etmektedir [33].

Mesane, meme, mide, akciğer, over, tiroid, lenf kanseri ve multipl myelom tedavisinde aktif olarak kullanılmaktadır [34].

İlk dozdan itibaren ilerleyici ve geri dönüşü olmayan kümülatif doza bağlı kardiyotoksik yan etkiler nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Hasar gören miyositler onarılamaz ve sonuç olarak antrasiklinlerin neden olduğu kalp hasarı geri döndürülemez [24].



Şekil 2. Doksorubisin'in kimyasal yapısı [35]

2.3.2 Doksorubisin'in Etki Mekanizması

Doksorubisin'in kalp ve karaciğer mikrozomal membranları tarafından in vitro metabolizmasında ilk adım, ana kinonun karşılık gelen semikinon serbest radikale tek değerlikli indirgenmesidir. Bu son derece kararsız ara ürün için üç alternatif yolak vardır.

- 1) Karşılık gelen hidrokinona daha fazla indirgenme
- 2) DNA veya proteinlere kovalent bağlanması
- 3) Eşleşmemiş elektronun, ikincil ve daha kararlı bir serbest radikal oluşturmak için daha uygun bir elektron alıcısına aktarılması.

İkincil elektron alıcıları arasında glutatyon, hem proteinleri, alfa-tokoferol, askorbik asit ve moleküler oksijen bulunur. Eşleşmemiş elektronun doksorubisin

serbest radikal ara ürününden ikincil bir elektron alıcıya transferini sağlar. Doksorubisin, reaktif serbest radikal ara ürünleri oluşturmak için eşleşmemiş elektronları; elektron vericilerinden, ikincil elektron alıcılara taşır.

Yüksek derecede reaktif serbest radikal ürünlerinin redoks döngüsü sonucu serbest kalması, doksorubisin ve ilgili antrakinonlarla gözlemlenen birçok toksisitenin altında yatan en önemli mekanizmadır. Birincil serbest radikal reaksiyonları, DNA çoğalmasının durdurulması, nükleik asitlerin, lipidlerin ve proteinlerin oksidatif modifikasyona uğramasıdır.

Yapısal olarak ilişkili antrasiklinlerin tek değerlikli redoks potansiyeli ile bunların serbest radikal oluşumu ve kardiyotoksisite oranları arasında güçlü bir korelasyon vardır. Hız sınırlayıcı mekanizma, semikinon serbest radikal ara ürününe tek değerlikli indirgenmesidir.

Bol miktarda oksijen veya alternatif elektron alıcısı varlığında, doksorubisin molekülünde net bir azalma olmaz. Bu nedenle, doksorubisin metabolitlerinin DNA ve membran proteinlerine kovalent bağlanması in vitro olarak gösterilmiş olsa da, bu sadece oksijenin sınırlı olduğu koşullar altında geçerlidir. Fizyolojik koşullarda oksijen nadiren sınırlayıcıdır. Asıl reaksiyon, ilgili reaktif moleküler oksijen türlerini serbest bırakmak için olan doksorubisin redoks döngüsüdür. Bu nedenle, ilaca bağlı doku hasarının türü ve kapsamı, büyük ölçüde, bu ilk reaksiyon adımını katalize edebilen enzimlerin dokuya özgü dağılımı ile belirlenir [23].

Doksorubisin'in etki mekanizması hala tam olarak aydınlatılamamıştır. İnterkalasyon yoluyla DNA ile etkileşime girerek makromoleküler biyosentezi inhibe eder. Topoizomeraz II enziminin ilerlemesini engeller. Replikasyon için DNA zinciri kırıldıktan sonra topoizomeraz II enzimini stabilize eder. Böylece DNA çift sarmalının tekrar kapatılmasını önler ve replikasyonu durdurur. Bir başka mekanizma ise serbest radikaller üzerinden DNA ve hücre hasarı oluşturan etkisidir [34].

Doksorubisin, antineoplastik etkilerini DNA ile doğrudan etkileşime girme yoluyla oluşturan güçlü ve geniş spektrumlu bir kemoterapötik ajandır.

Doksorubisin spesifik olarak:

- 1) DNA'ya interkalasyon yaparak makromoleküler biyosentezi inhibe eder.
- 2) Topoizomeraz II ile etkileşir ve DNA replikasyonunun önler.
- 3) DNA helikazı inhibe eder.
- 4) DNA çözülmesinin destekler ve üretim yoluyla tümör hücresi proliferasyonunu inhibe eder.

Serbest radikallerin yok edilmesi, DNA ve hücrel membranların hasar görmesini engeller [36]. Doksorubisin kaynaklı kardiyomiyopati'de kalsiyum bloke edici bir ajan olan verapamil'in etkisi gösterilmiştir. Bunun üzerine alternatif bir mekanizma üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu alternatif mekanizma, doksorubisin'in kalsiyum homeostazisi üzerine olan etkileri ile ilgilidir. Oluşan oksidatif stres, mitokondriyal kalsiyumun taşınmasını değiştirerek mitokondriyal

geçirgenliği artırabilir. Böylece kalsiyum taşınmasındaki değişiklikler doku hasarına, hücre ölümüne ve kalp kasılmasındaki bozukluklara neden olabilir.

Verapamil, hücre içi aşırı kalsiyum miktarını azaltarak, doksorubisin'in mitokondri üzerine olan etkisini bloke eder. Ancak doksorubisin ile birlikte verilen verapamil, kardiyotoksisite riskini artırır. Bu durum için de farklı alternatif mekanizmalar öne sürölmektedir. Bunlardan biri verapamil'in p-glikoprotein fonksiyonunu inhibe etmesi ve doksorubisin'in hücre içi konsantrasyonundaki artış ile ilgilidir [37].

2.3.3 Doksorubisin'in Kalp Üzerine Olan Etkileri

Doksorubisin'in hedeflenmeyen dokulara hasar vermesi, ilacın terapötik aralığını sınırlar. Tedavi sırasında ve sonrasında hastaların yaşam kalitesini bozar. Doksorubisin; kalp, beyin, böbrek ve karaciğer üzerine de toksik etkilidir [38]. Doksorubisin'in en önemli doz kısıtlayıcı etkisi ise kardiyotoksisitedir [37].

Doksorubisin, çok çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılan oldukça etkili bir antitümör ajan olmakla birlikte hedef dışı dokularda birikmesi nedeniyle sitotoksik yan etkilere neden olmaktadır. Doksorubisin'in neden olduğu hücre sel toksisite, artan oksidatif hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkar ve hücre ölümüyle sonuçlanır [36].

Doksorubisin'e bağlı akut toksisite nadirdir. İnfüzyon sırasında veya ilk 24 saat içerisinde oluşur. Tedavinin kesilmesi ile birlikte geriler [37]. Akut dönemde; doksorubisin'in neden olduğu kardiyotoksisiteden etkilenen hastalar, EKG değişiklikleri, ejeksiyon fraksiyonunda azalma ve ritm bozuklukları ile doktora

başvururlar. Akut dönemde oluşan bu semptomlar genellikle ilk 24 saat içerisinde başlar ve genellikle geri dönüşümlüdür. Kardiyotoksisite kronik dönemde ise kardiyomiyopati ile sonuçlanır [34].

Doksorubisin'in kronik etkileri, kardiyomiyopati oluşturana kadar ilerleyebilen kalp anormallikleri ile başlar. Kronik etkiler tedavinin kesilmesinden sonra da devam eder. Klinik semptomlar, EKG değişiklikleri, sol ventrikül disfonksiyonu, egzersiz performansında değişiklikler ve konjestif kalp yetmezliği belirtileri gibi kardiyomiyopatinin tüm belirtilerini içerebilir. Kümülatif doz, yaş, radyoterapi alma öyküsü, diğer kemoterapötiklerin eş zamanlı uygulanması ve ek kalp hastalığı varlığı kardiyotoksisite için risk faktörüdür [37].

Doksorubisin'in farklı hayvan türlerinde miyokard içerisinde antioksidan enzimlerin azalmasına sebep olduğu gösterilmiştir. Antioksidan enzim aktivitesindeki değişikliklerin transkripsiyon ve translasyon düzeyinde gen ekspresyonunu değiştirdiği düşünülmektedir [39].

Doksorubisin'in klinik kullanımını sınırlayan en önemli faktörlerden birisi kardiyotoksisitedir. Doksorubisin'in tekrarlayan uygulaması, kardiyomiyopati ve kalp yetmezliğinin doza bağlı gelişimi ile ilişkilidir. Doksorubisin'in kalp üzerindeki etkileri hastalar arasında farklılıklar göstermektedir. Bu etkiler hem akut hem de kronik kardiyovasküler durumlara neden olabilir. Doksorubisin'in akut etkileri, uygulamadan sonraki ilk 24 saat içinde gelişir. Hipotansiyon, sol ventrikül disfonksiyonu, taşikardi ve göğüs ağrısı olarak ortaya çıkabilir. Bu ani değişikliklerin mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak akut etkiler

sıklıkla geri dönüşümlüdür. Dokсорubisin'in kalp üzerindeki akut etkilerinin, geri dönüşümlü miyokard ödeminin bir sonucu olarak oluştuğu düşünölmektedir. Dokсорubisin tedavisi alan hastaların yaklaşık %11'inde akut semptomlar ortaya çıkmaktadır. Dokсорubisin'in neden olduğu toksisiteyi düzeltmek için klinik olarak onaylanmış herhangi bir terapötik ilaç yoktur[36].

Dokсорubisin kardiyotoksitesinin kesin mekanizması tartışmalıdır. Bu konuda iki ana teori vardır.

1) Demirle ilişkili serbest radikaller ve dokсорubisinol metabolitinin oluşumu

2) Mitokondriyal bozulma

Demir hipotezini destekleyen en güçlü kanıtlardan biri, demir şelatörü deksrazoksanın in vivo dokсорubisin kaynaklı toksisiteye karşı koruyucu etkili olmasıdır. Kardiyotoksisiteye karşı deksrazoksan korumasının etki mekanizması, serbest radikal oluşumunu önleyen demir seviyesinin düzenlenmesi ile oluşur. Deksrazoksan, dokсорubisin ile birlikte verildiğinde toksisiteyi azaltır ancak etkinlik de azalır. Dolayısıyla bu kombinasyon yalnızca kümülatif doz eşiğine ulaşıldıktan sonra kullanılabilir.

Bununla birlikte, deferasiroks gibi diğer demir şelatörleri deksrazoksanın koruyucu etkilerini göstermede başarısız olduğundan alternatif bir mekanizma, dokсорubisin'in DNA hasarını indüklemesini önleyen DNA topoizomeraz II ile olan etkileşimdir.

Doksorubisinol; doksorubisin'in bir metabolitidir. Demir, kalsiyum ve proton pompası üzerinde değişiklik yapabilir. Demir üzerindeki değişiklikleri Aco1 aracılığıyla, kalsiyum üzerindeki değişiklikleri ise kalsiyum pompası ve Na⁺/K⁺ pompası ile gerçekleştirir.

Diğer antrasiklinler, daunorubisin, epirubisin ve idarubisin de değişen derecelerde kardiyotoksisiteye neden olur. Daunorubisin de doksorubisin gibi kardiyotoksik olarak değerlendirilmektedir. Hayvan modellerinde epirubisin doksorubisinden daha az toksiktir ve bazı in vivo veriler de epirubisin için daha az kardiyotoksisite gosterdiği yonundedir.

Bununla birlikte, doksorubisinin lipozomal formları, yetişkinlerde tvmor uzerine benzer terapötik etkinliğe sahiptir. Ancak doksorubisin'den daha az kardiyotoksiktir. İdarubisin de hayvan modellerinde daha az kardiyotoksiktir. Ancak in vivo karşılaştırmayı destekleyecek yeterli sayıda randomize kontrollü çalışma yoktur.

Mitokondriyal bozulma hipotezini destekleyen en güçlü kanıt ise, farmakogenetik çalışmalarda mitokondriyal NADPH oksidaz kompleksinin çeşitli bileşen genlerindeki genetik varyantların doksorubisin kardiyotoksisitesi ile ilişkilendirilmesidir. Mitokondri içindeki doksorubisin metabolizması, apoptozu başlatan sitokrom C salınımına yol açar [40].

Doksorubisin, hücreye girdikten sonra doğrudan moleküller ve organellerle etkileşime girer. Topoizomeraz II ile etkileşimi DNA hasarına yol açar. Nitrik oksit sentaz (NOS), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat-oksidad

(NOX) ve Fe²⁺ ile etkileşimi, reaktif oksijen ürünlerini artırarak daha fazla DNA hasarına, proteinlerin oksidasyonuna, nitrosilasyonuna ve peroksidasyonuna neden olur.

Doksorubisin, mitokondriyal DNA'ya bağlanır ve elektron taşıma zincirini bozarak reaktif oksijen ürünleri üretimine ve adenosin trifosfat'ın azalmasına neden olur. Doksorubisin ve Fe²⁺ kompleksi, lipid peroksidasyonuna neden olur. Bu durum mitokondri ve endoplazmik retikulum için toksiktir.

P53, Bax ve Bad gibi Bcl-2 ailesinin proapoptotik üyelerinin ekspresyonunu artırır. Reaktif oksijen ürünlerinin seviyelerindeki artma ve buna bağlı oluşan DNA hasarı, antiapoptotik ve antiotofaji başlatma proteini Bcl-2'nin ekspresyonunu azaltır. P53 ayrıca, mTOR sinyalinin aktivitesini de inhibe edebilir. Böylece otofajinin başlatılmasını engeller.

Bazı çalışmalar doksorubisin'in, adenosin monofosfat ile aktifleşen kinaz (AMPK) aktivasyonunu ortaya çıkarabildiğini göstermiştir. Azalan adenosin trifosfat seviyeleri AMPK'nin aktive olmasını sağlar. Bu durum mTOR sinyalini etkisiz hale getirebilir ve otofajiyi başlatabilir. Reaktif oksijen ve azot ürünlerinin üretimi, mitokondri ve ER hasarı, DNA ve gen ekspresyonu üzerindeki değişiklikler, apoptotik ve nekrotik hücre ölümüne neden olur. Sonuç olarak doksorubisin otofaji - mitofaji süreçlerini bozarak hücre ölümüne neden olur [41].

2.4 Kersetin

2.4.1 Kersetin'in yapısı ve genel özellikleri

Kersetin kimyasal olarak 3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon yapısındadır. Latince 'Quercetum' kökeninden gelir. İnsan vücudunda üretilemeyen bir flavonoiddir [42]. Flavonoidler, merkezi aromatik halkada bulunan çift bağ sebebiyle düzlemsel bir yapıda tanımlanır. En iyi tanımlanan flavonoidlerden birisi kersetindir [43]. Yeşil yapraklı sebzeler, fındık, kiraz, çilek, zeytinyağı, elma, soğan, brokoli ve yeşil çayda bol miktarda bulunur [42].

Oral alım sonrası ince bağırsaklar tarafından emilir. Serum albuminine bağlanır. Karaciğerde metabolize edilir. Vücutta metil, sülfat veya glukronik asit ile bağlanarak metabolitler üretir. Yarı ömrü 28 saattir. Antioksidan etkisini özellikle reaktif oksijen ürünlerini temizleyerek ve metal iyonları ile şelat yaparak gerçekleştirir. In vivo ve in vitro olarak hidroksil radikallerini, hidrojen peroksiti ve süperoksit anyonlarını ortamdaki uzaklaştırır [32].

2.4.2 Kersetin'in antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri

Kardiyovasküler koruma, antikanser, antitümör, antiviral, antiinflamatuvar, antialerji, antiülser, antihipertansif ve immunomodülatör etki gösterir. İnflamatuvar enzimler olan siklooksijenaz (COX) ve lipooksijenazı inhibe eder. Prostaglandin ve lökotrienleri azaltır. Trombosit agregasyonunu engeller. Endotel bozulmasını yavaşlatır. LDL'ye bağlı mortaliteyi azaltır. Yağ hücrelerinde apoptozu tetikleyerek yağ birikimini engeller. Nöron hasarını engeller ve nöron işlevlerini

düzenler. Yaşa bağlı oluşan nörodejenerasyonu önler. Nöroinflamasyonu engelleyerek hafızayı ve bilişsel işlevleri olumlu yönde etkiler. Serebrovasküler kan akışında değişikliklere yol açarak angiogenezi düzenler. Askorbik asitle birlikte kullanımı lenfositler ve ciltteki nörovasküler yapılarda oksidatif hasarı azaltır. Apoptozu indükleyerek başta kolon, beyin, karaciğer ve prostat kanseri olmak üzere tümörün büyümesini ve yayılmasını engeller. Serbest radikalleri temizler. Gastrik mukus üretimini artırarak antiülser etki gösterir. Mast hücrelerinden histamin salınımını engeller. Özellikle astım üzerinde antialerjik etki gösterir [42].

Hipoglisemik, hipolipidemik ve hepatoprotektif etkileri de vardır.

Kersetinin antikanser etkileri birçok farklı yolak üzerinden gerçekleşir. Siklinleri, fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K/Akt) ve mitojenle aktifleşen protein kinaz (MAPK) moleküler yollarını modifiye ederek proliferasyonu azaltır. Apoptozu indükler. Hücre döngüsünü durdurarak mitotik süreçleri inhibe eder [44].

Kersetin, diyabetik farelerde antiapoptotik belirteçlerin (Bcl-2) düzeyini artırırken, proapoptotik belirteçlerin (caspase-3, caspase-9 ve Bax) düzeyini azaltır. 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA (HMGCoA) redüktaz aktivitesini inhibe ederek HDL düzeyini artırır. Ayrıca plazma kolesterolünü düşürür ve kardiyak hipertrofiyi engeller. Non alkolik steatohepatit'e (NASH) karşı inflamatuvar belirteçler olan TNF- α , miyeloperoksidaz (MPO) ve IL-6 düzeylerini azaltır [45]. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz aktivitesini düzenleyerek iskemi reperfüzyon

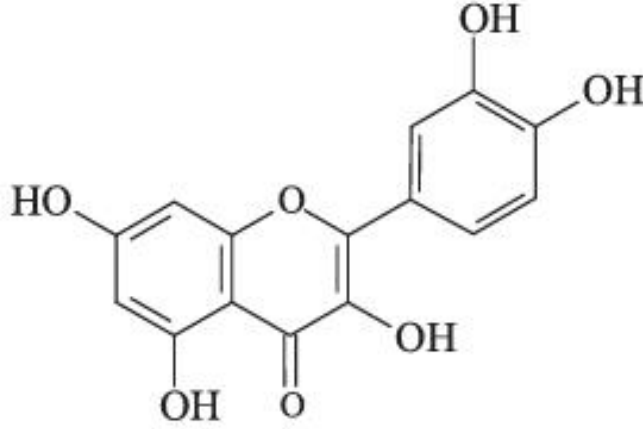
hasarını azaltır [43]. Ayrıca antioksidan bir enzim olan heme oksijenaz-1 üretimini arttırabilir. Kardiyak fibroblastlardaki reaktif oksijen ürünlerini temizler. Hücre proliferasyonunu inhibe eder. Reaktif oksijen ürünlerinin üretimini azaltmak için fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K)/proteinkinaz κ B yolu (Akt- κ B) tarafından düzenlenen caspase-3 ve nükleer faktörü (NF) aktive eder. Ateroskleroz gelişimini bu mekanizma ile engeller.

Kersetin, akut miyokard enfarktüsü geçiren sıçanlarda süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz dahil olmak üzere antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak miyokard hasarını hafifletir.

Kersetin, hipoksik farelerde malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit sentaz (NOS) gibi oksidatif stres biyobelirteçlerinin düzeylerini önemli ölçüde azaltır. Vücuttaki demir ve bakırın kararlı durumdaki yıkımı da vücutta serbest radikallerin artmasının nedenlerinden biridir. Kersetin, metal iyonlarını şelatlayarak Fenton reaksiyonunu ve reaktif oksijen ürünlerinin üretimini bloke eder.

Ateroskleroz, LDL'ye bağlı kronik vasküler inflamatuvar bir hastalıktır. Tunica intima tabakasındaki lipitlerin birikmesi ile damar endotel hücreleri hasar görür ve fonksiyon bozuklukları ortaya çıkar. Kersetin, esas olarak interlökin IL-6, IL-1, monosit kemotaktik protein 1 (MCP-1) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi inflamatuvar faktörleri inhibe eden güçlü bir antiinflamatuvar etkiye sahiptir.

Kersetin, caspase-3 ve NFK- β faktörünün gen ekspresyonunu aktive ederek ateroskleroz gelişimini engeller. Ayrıca makrofajlardaki inflamatuvar faktörlerin salınımını da engeller.



Şekil 3. Kersetin'in kimyasal yapısı [46]

2.5 Resveratrol

2.5.1 Resveratrol'ün Yapısı ve Genel Özellikleri

Resveratrol ile ilgili ilk bilgiler yaklaşık 4500 yıl önce Hindistan'da bulunan 'Ayurveda' isimli bir sağlık kitabında yer alır. Hintliler 'darakchasava' adını verdikleri üzüm suyunu kalp performansını artırmak amacıyla kullanmışlardır [47].

Resveratrol ilk olarak 1939'da 'white hellebore' bitkisinin köklerinden ekstrakte edilmiştir [48]. Öte yandan *polygonaum cuspidatum*, bol miktarda resveratrol içeren bir bitkidir [49]. Resveratrol bir fitoaleksindir. Bitkilerde enfeksiyon veya kimyasal maddelere karşı oluşan stres durumlarında savunma

mekanizması olarak üretilir. Bu durum olgunlaşan üzümlerin botrytiscinerea enfeksiyonuna karşı duyarlı hale gelmesini açıklar. Çünkü olgunlaşan üzümlerde resveratrol sentezi düzenli olarak azalır [50].

Resveratrol; yaban mersini, böğürtlen, yer fıstığı, üzüm, fıstık ve çilekte bulunur [51] [50]. Resveratrol kimyasal olarak 3,5,4'-trihidroksistilben yapısında cis- ve trans- konfigürasyonundadır [52]. Trans- ve cis- izomeri bitkilerde genellikle bir arada bulunur. Trans- izomeri daha baskın ve kararlı formdadır. Güneş, yapay ışık veya UV ışınına maruz kalması sonucu oluşabilir [50].

Kırmızı şarap içerisinde, kalp koruyucu özellikleri olan birçok polifenol bulunur. Bunlar arasında ferulik ait, gentisik ait ve vanilik asit gibi fenolik asitler, resveratrol ve polidatin gibi trihidroksi stilbenler ve kersetin gibi flavonoidler bulunur [53].

2.5.2 Resveratrol'ün Kardiyovasküler Etkileri

Resveratrol; antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser ve yaşlanma karşıtı özellikleri olan bir polifenoldür [54]. İnflamasyonu ve oksidatif stresi azaltır, apoptozu artırır [48]. Nöroprotektif ve antiviral özellikler gösterir [55]. Nötrofillerde lökotrien sentezini inhibe eder [53].

Diyetteki resveratrol, in vivo oksidatif DNA hasarını ve glikooksidatif stresi baskılar [56]. İskemi reperfüzyon sırasında miyocard hasarında azalma, vasküler hücre fonksiyonlarının modülasyonu, LDL oksidasyonunun inhibisyonu ve trombosit agregasyonunun baskılanması gibi etkileri de vardır [57].

Diyette bulunan resveratrolün nitrik oksit üretimini ve yüksek yoğunluklu lipoproteini artırabileceği; buna karşılık trombosit agregasyonunu inhibe edebileceği de öne sürülmüştür [55].

Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu LDL kolesterol düzeyinde oluşan değişiklikler ateroskleroza yol açar. Resveratrol, hiperlipidemi oluşturan diyetle beslenen sıçanlarda kolesterol'ün karaciğerde birikimini engeller [58].

Resveratrol uzun vadede anjiyotensin-II ve epidermal büyüme faktörünün de düzeylerini değiştirir [59].

Oksidatif kardiyovasküler patofizyolojiye karşı koruma sağladığı gösterilmiştir. Bu koruma faktörleri arasında; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon S-transferaz yer alır [60].

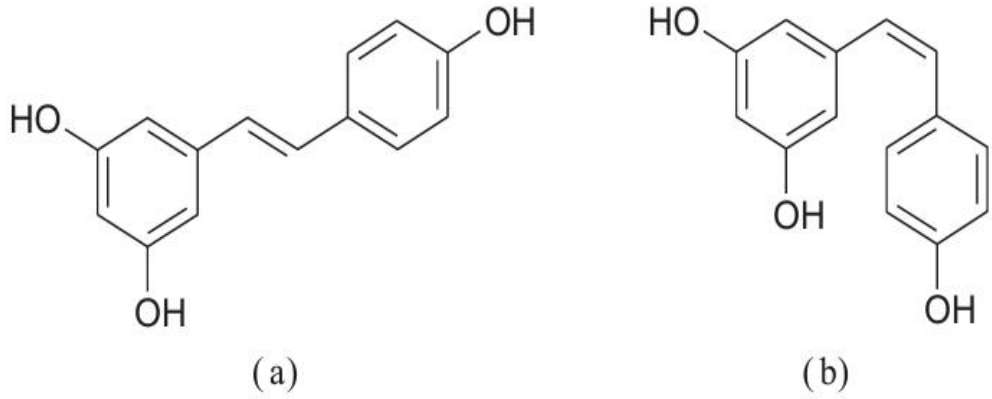
Resveratrol bu etkilerini farklı moleküller ve yollar üzerinden gerçekleştirir [48]. Resveratrol, siklooksijenaz (COX) inhibitörü, peroksizom proliferatörüyle aktifleşen reseptör (PPAR) aktivatörü, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) indükleyicisi ve SIRT1 aktivatörü olarak görev alır [61].

Karsinogenez üzerinde baskılayıcı etkiye sahiptir. Tümörün oluşmasını, ilerlemesini inhibe eder. Bu etkilerini başta epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve nükleer faktör kapp B (NFkB) sinyal yolları üzerinden olmak üzere multifaktöriyel olarak gerçekleştirir. NFkB, birçok genin ekspresyonunu

düzenleyen bir proinflamatuvar transkripsiyon faktörüdür. Hücre çoğalması ve metastazında ayrıca hücre transformasyonunda rol oynar. Resveratrol, NFKB aktivasyonunu inhibe ederek tümör oluşumunu yavaşlatır [62].

Resveratrol menopoz sonrası meydana gelen osteoporozu iyileştiren doğal bir polifenolik bileşiktir. Osteositlerin oksidatif stresini azaltır. Osteosit apoptozunu inhibe eder. Osteositlerin otofajisini yeniden düzenleyerek AMPK/JNK1 aktivasyonu ile apoptozu hafifletir. Dolayısıyla Bcl-2'yi Beclin-1'den ayırarak otofajiyi düzenler [51].

Sonuç olarak resveratrol kritik antioksidan enzimlerin aktivitelerini koruyarak oksidatif strese bağlı hasarı önler [63].



Şekil 4. Resveratrol trans (a) ve cis (b) yapısı [64]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deney planı, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan G.Ü.ET-22.075 karar numaralı etik kurul onayı ile yapılmıştır.

3.1 Deney Hayvanlarının Seçilmesi

Çalışmada 42 günlük 46 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanılmıştır.

3.2 Deney Hayvanlarının Bakımı

Sıçanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, 22-23 °C sıcaklık ve %45-55 nem ortamında standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslenmiştir. Sıçanlar deney süreci boyunca GÜDAM'da bulunan hayvan bakım odalarında tutulmuştur.

3.3 Deney Gruplarının Belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen sıçanlar rastgele 5 farklı gruba ayrılmıştır. Deney başlamadan önce bütün hayvanların genel durum muayeneleri veteriner kontrolünde yapılmıştır. Bütün hayvanların ağırlıkları hassas tartı ile ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

3.4 Kullanılan Gereçler

3.4.1 İlaçlar

Doksorubisin (Adrimisin L01DB01, Saba İlaç Sanayi, İstanbul)

Kersetin (Cat no: Q4951 Sigma Aldrich, ABD)

Resveratrol (Cat no: A109052, Nativital, İstanbul)

%0.9 İzotonik Sodyum Klorür (Polifarma, İstanbul)

Ketamin (Ketasol, 10.06.243, İnterhas, Ankara)

Ksilazin (IPM Ksilazin, IPM İlaç, İstanbul)

3.4.2 Alet ve Cihazlar

Hassas terazi

Enjektör

Steril örtü

Tıraş makinesi

GE S8 marka doppler ultrasonografi (100820190936, General Electric, Korea 2018)

4-12 mhz multifrekans özelliğine sahip prob (General Electric, Korea 2018)

3.5 Kardiyomiyopati Modelinin Oluşturulması

Grup 1: Kontrol grubu olarak belirlenmiş ve 6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg dozunda intraperitoneal serum fizyolojik uygulanmıştır. Kontrol grubundaki hayvanlarda ölüm riski bulunmadığı için sayı 6 olarak belirlenmiştir (n=6).

Grup 2: Doksorubisin grubu olarak belirlenmiş ve 6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg dozunda intraperitoneal doksorubisin uygulanmıştır. Literatürde ölüm riski %22 olarak gözlendiği için [65] bu gruptaki hayvan sayısı 10 olarak

belirlenmiştir (n=10).

Grup 3: Doksorubicin + Kersetin grubu olarak belirlenmiş ve 6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg dozunda intraperitoneal doksorubisin ve ilk günden başlayarak her gün 20 mg/kg dozunda kersetin gavaj yöntemiyle uygulanmıştır [66] (n=10).

Grup 4: Doksorubisin + Resveratrol grubu olarak belirlenmiş ve 6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg dozunda intraperitoneal doksorubisin ve ilk günden başlayarak her gün 50 mg/kg dozunda resveratrol gavaj yöntemiyle uygulanmıştır [67] (n=10).

Grup 5: Doksorubisin + Kersetin + Resveratrol grubu olarak belirlenmiş ve 6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg dozunda intraperitoneal doksorubisin, ilk günden başlayarak her gün 20 mg/kg dozunda kersetin ve ilk günden başlayarak 50 mg/kg dozunda resveratrol gavaj yöntemiyle uygulanmıştır (n=10).

Deney sonunda bütün hayvanların canlı ağırlıkları ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

3.6 Ekokardiyografi

Bütün hayvanlara deneyin 0. ve 42. günü ketamin + ksilazin ile oluşturulan kombine anestezi altında ventro dorsal yatar pozisyonda kardiyak morfoloji ve işlevi değerlendirmek amacıyla transtorasik ekokardiyografi yapıldı. Değerlendirme öncesi bütün hayvanların genel durum muayenesi veteriner hekim tarafından yapıldı. İşlem öncesi hayvanların göğüs ön bölümü hassas bir makine

ile tıraş edildi. Değerlendirmeler deney modelini bilmeyen bir araştırmacı tarafından GE S8 marka doppler ultrasonografi ve 4-12 mhz multifrekans özelliğine sahip bir proba yapıldı. Değerlendirme esnasında kalbin sağ parasternal kısa eksen görüntüsü elde edildi. Sağ parasternal kısa eksen kesitinden sol ventrikülün kapak seviyesinin gerisinde m. papillaris'i ortalayacak şekilde M mod görüntüleme yapıldı. M mod görüntüleme ile sistol ve diyastol sonunda septum interventriculare kalınlığı (IVS), ventriculus sinister'in sistol ve diyastol sonu genişlikleri, sistol ve diyastol sonunda ventriculus sinister'in serbest duvar kalınlığı (LVPW), sistol ve diyastol sonu genişliği (EDV-ESV) ardışık üç kalp döngüsü boyunca ölçüldü. Ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalma Teichholz yöntemi ile hesaplandı.

3.7 Deneyin Sonlandırılması

Deney sonunda bütün hayvanlara 10 mg/kg ksilazin ve 90 mg/kg ketamin intraperitoneal uygulanarak derin anestezi oluşturulmuştur. Derin anestezi altındaki hayvanlardan intrakardiyak kan alınarak ötenazi uygulanmıştır.

3.8 Kanların Toplanması

Araştırmada yüksek hassasiyetli 'rat hs-c ELISA kitleri' (Bostonchem) kullanılarak, serum IL-10, IL-12, IL-17, BNP, hs-cTnl düzeyleri incelenmiştir. Ratlar sakrifiye edilmeden hemen önce kardiyak kanları toplanarak santrifüj (1000 x g, 20 dk) edilmiş ve serumları elde edilmiştir. Elde edilen serumlar deney gününe kadar -80 °C soğutucu dolapta saklanmıştır. ELISA deney gününde ELISA rat kitleri, diğer reaktifler ve serumlar oda ısısına getirilmiştir. Tüm kitler

üretici firmanın talimatlarına göre kullanılmıştır. Standartlar talimatlara uygun şekilde seyreltilmiştir. Standart ve örnekler çift tekrar olarak çalışılmıştır. Yıkama işlemlerinde Combiwash Human marka ELISA plate yıkayıcı kullanılmıştır. Stop solüsyonu eklendikten sonra sarı renk reaksiyonu gözlemlenmiş ve Chromate marka okuyucu kullanılarak 450 nm de OD (optical density) değerleri ölçülmüştür. Her kit için standart grafik oluşturulmuş ve ölçülen OD değerleri bu grafiğe göre hesaplanmıştır. Ayrıca rutin biyokimya ölçümleri olan potasyum (K^+), üre, keratinin, AST, ALT, LDH, CK, CK-MB ölçümleri yapılmıştır.

Deneyde kullanılan ELISA kitleri

1	Rat Interleukin 10 ELISA Kit, BT LAB (E0108Ra)
2	Rat IL 12 ELISA Kit, Bostonchem (BLS-9251 Ra)
3	Rat IL 17 ELISA Kit, Bostonchem (BLS-2558Ra)
4	Rat BNP (Brain Natriuretic Peptide) ELISA Kit, Bostonchem (BLS-5457Ra)
5	Rat hs-cTnl (High Sensitivity Cardiac Troponin I) ELISA Kit, Bostonchem (BLS-9212Ra)

Tablo 1. Deneyde kullanılan ELISA kitleri

3.9 Dokuların Alınması

Ötenazi uygulanan hayvanların kalpleri çıkarılarak ağırlıkları ölçülmüş ve kayıt altına alınmıştır. Çıkarılan kalpler %10'luk nötral formaldehit içerisinde konulmuştur.

3.10 Histolojik İncelemeler

Dokular %10 nötral formaldehit içerisinde 48 saat tespit edildikten sonra 1 saat akan çeşme suyunda yıkandı. Yıkama sonrasında 2 kez 1'er saat %75 etil

alkol içerisinde tutuldu. Daha sonra 1 saat %96 etil alkolde bekletildikten sonra %96'lık etil alkol tazelandı ve gece boyu oda sıcaklığında tutuldu. Sonrasında 2 kez 1'er saat boyunca %100 etil alkol içinde bekletildi. Bu işlemin sonunda 45 dakika ksilolde şeffaflandırılan dokular, 4 saat 58 °C etüvde parafin içerisinde bekletildi. Takip işlemi biten dokular parafine gömüldü. 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Tüm kesitlerin incelemeleri her dokunun sol ventrikül serbest duvarında rastgele 6 alan seçilerek yapıldı [68].

Hematoksilen-eozin boyama yöntemi

5 µm kalınlığındaki kalp kesitleri 58 °C sıcaklığındaki etüvde, gece boyunca deparafinizasyon için bekletildi.

Etüvden çıkarılan kesitler oda sıcaklığında bulunan ksilol içerisinde 45 dk bekletildi. Ksilolden alınan kesitler sırasıyla %100, %96 ve %75'lik alkol serisinden geçirildi. Kesitler her bir alkol serisinde 10 dakika bekletildi.

Azalan etil alkol serilerinden geçirilen kesitler daha sonra 10 dk akan musluk suyunda yıkandı.

Örnekler hematoksilin solüsyonu (Bes lab cat no: BS-013) içerisinde 12 dk bekletildi.

10 dakika akan musluk suyunda yıkandı.

Kesitler glasiyel asetik asit ve alkol karışımına 2 kez batırılıp çıkarıldı.

10 dakika akan musluk suyunda yıkandı.

Yıkama sonrasında kesitler eozin solüsyonu (Bes lab cat no: BS-013) içerisinde 12 dk bekletildi.

3 kez değiştirilerek çeşme suyu ile yıkandı.

Dehidratasyon için %75, %96, %100 artan etil alkol serilerinden geçirildi.

45 dakika boyunca ksilol içerisinde bekletildi.

Kesitler entellan ile kapatıldı.

Periyodik Asit shiff (PAS) boyama yöntemi

5 µm kalınlığındaki kalp kesitleri 58 °C sıcaklığındaki etüvde, gece boyunca deparafinizasyon için bekletildi.

Etüvden çıkarılan kesitler 45 dk ksilol içerisinde bekletildi.

Kesitler %100, %96 ve %75 azalan etil alkol serilerinde 10 dakika bekletildi.

10 dk distile su ile yıkandı ve PAS kiti (BesLab, cat no: BS-346) ile dokuların boyamasına geçildi.

5 dk 'Periodic Acid Solüsyonu'nda bekletildi. Ardından distile su ile yıkandı.

20 dk 'Schiff Reagent Solüsyonu'nda bekletildi. Ardından distile su ile yıkandı.

5 dk 50 °C distile su ile yıkandı.

4 dk 'Harris Hematoksilen Solüsyonu'nda bekletildi. Ardından distile su ile yıkandı.

2 dk 'Bluing Solüsyonu'nda bekletildi. Ardından 2 dk akan suda yıkandı.

Dehidratasyon için %90, %96, %100 artan etil alkol serilerinden geçirildi.

Bu işlemin sonunda 45 dakika boyunca ksilol içerisinde bekletildi.

Kesitler entellan ile kapatıldı.

Masson Trichrome boyama yöntemi

5 µm kalınlığındaki kalp kesitleri 58 °C sıcaklığındaki etüvde, 4 saat boyunca deparafinizasyon için bekletildi.

Etüvden çıkarılan kesitler gece boyunca ksilol içerisinde bekletildi.

Kesitler %100, %96 ve %75 azalan etil alkol serilerinde 10 dakika bekletildi.

10 dk distile su ile yıkandı ve masson trichrome kiti (BesLab, cat no: BS-336) ile dokuların boyamasına geçildi.

Weigert Iron Hematoxylin – A ve B solüsyonları karıştırılarak içerisinde 10 dk bekletildi.

Kesitler distile sudan geçirildi.

Picric Acid Alcoholic solüsyonu içerisinde 4 dk bekletildi.

Distile su ile 3 dk boyunca yıkandı.

Ponceau Acid Fuchsin solüsyonu içerisinde 15 dk bekletildi.

Distile su ile 3 dk boyunca yıkandı.

Phosphomolybdic Acid solüsyonu içerisinde 5 dk bekletildi. Daha sonra

Phosphomolybdic Acid solüsyonu içerisinden çıkarıldı.

Yıkanmadan kesitlerin üzerine Masson Aniline Blue solüsyonu damlatıldı.

8 dk boyunca bekletildi. Ardından distile sudan geçirildi.

Kesitler önce %96 etil alkol ardından %99 etil alkol içerisine batırılıp çıkarıldı.

45 dakika boyunca ksilol içerisinde bekletildi.

Kesitler entellan ile kapatıldı.

Işık mikroskobunda (Leica DM 4000B, Germany) Leica LAS V4.9 programı ile kesitlerin fotoğrafları her preparattan rastgele 6 alan olacak şekilde 20X büyültmede çekildi.

Fotoğraflar image J yazılımı ile değerlendirildi [69].

Orcein-Picroindigocarmine boyama yöntemi

5 µm kalınlığındaki kalp kesitleri 58 °C sıcaklığındaki etüvde gece boyunca bekletildi.

Etüvden çıkarılan kesitler gece boyunca ksilol içerisinde bekletildi.

Kesitler %100, %96 ve %75 azalan etil alkol serilerinde 10 dakika bekletildi.

10 dk distile su ile yıkandı.

Orcein solüsyonu hazırlanması:

1 gr orcein (Merck, Darmstad, Germany) %70'lik etil alkol içerisinde eritildi.

Ardından 1 ml HCl solüsyonu eklendi.

Kesitler 43 dk boyunca orcein solüsyonu içerisinde tutuldu.

1 dk boyunca distile su ile yıkandı.

%96 etil alkol içerisinde 2 dk bekletildi.

Picroindigocarmine solüsyonu hazırlanması:

0.25 gr indigocarmine (Merck, Darmstad, Germany) 70 ml sature picric acid içerisinde 5 dk boyunca çözüldü.

Kesitler hazırlanan picroindigocarmin solüsyonu içerisinde 24 dk bekletildi.

Dehidratasyon için %90 ve %96 artan etil alkol serilerinden geçirildi.

18 saat boyunca ksilol içerisinde bekletildi.

Kesitler entellan ile kapatıldı.

Picrosirus Red boyama yöntemi

Sirius Red solüsyonu hazırlanması:

0.5 gr direct red (Sigma cat no: 365548-5G) 500 ml doymuş picric acid çözeltisi içerisinde karıştırıldı.

%0.5 asitli su hazırlanması:

5 ml asetik asit üzerine 995 ml distile su eklenerek asitli su çözeltisi hazırlandı.

Weigert Hematoksilen boyasının hazırlanması:

1 gr hematoksilen, 100 ml %95 etil alkol ile karıştırıldı.

95 ml distile su, 4 ml %29'luk FeCl₃ solüsyonu ve 1 ml konsantre HCl ile karıştırıldı.

Hazırlanan iki solüsyondan eşit hacimde olacak miktarlar alınarak boyama öncesi karıştırıldı.

Kesitler 58 °C sıcaklığındaki etüvde bir gece boyunca bekletildi.

Etüvden çıkarılan kesitler gece boyunca ksilol içerisinde bekletildi.

Kesitler %100, %96 ve %75 azalan etil alkol serilerinde 10 dakika bekletildi.

10 dk distile su ile yıkandı.

8 dk Weigert hematoksilen içerisinde bekletildi.

10 dk akan suda yıkandı.

1 saat picrosirius red solüsyonu içerisinde bekletildi.

2 kez asitli su ile yıkandı.

3 kez %100 alkol ile yıkandı.

45 dakika boyunca ksilol içerisinde bekletildi.

Kesitler entellan ile kapatıldı.

Immunohistokimya yöntemi

Doku örneklerinde apoptoz, enflamasyon ve hücreler arası bağlantı birimlerini incelemek amacı ile

Caspase-3, TNF- α ve n-kadherin antikorları kullanılarak

immunohistokimyasal boyama yapıldı.

Kesitlerin deparafinizasyonu amacıyla 56 °C sıcaklıktaki etüvde gece boyunca bekletildi.

Etüvden çıkarılan kesitler 45 dk boyunca ksilol içerisinde bekletildi.

Azalan etil alkol serilerinde (%100, %96, %75) 10'ar dakika boyunca bekletildi.

Daha sonra 2 defa 5 dakika boyunca distile su içerisinde bekletildi.

Isı ile indüklenmiş epitop retrieval işlemi için 120 dk boyunca 85 °C su banyosunda tutuldu. Bu işlem için pH: 6,0 olan sitrat tamponu (Cat: AP-9005-999, ThermoScientific, Fremont, USA) kullanıldı.

Daha sonra kesitler oda sıcaklığında 20 dakika soğutuldu.

Kesitlerde bulunan sitrat tamponunu uzaklaştırmak için 2 kez 5 dakika boyunca distile su ile yıkandı.

Kesitler PAP-pen ile sınırlandırıldı.

3 kez 5 dakika süresince pH: 7,4 olan Phosphate Buffer Saline (PBS) ile yıkandı.

Kesitler %3'lük hidrojen peroksit (Cat: TA-125-H2O2Q, ThermoScientific, Fremont, USA) ile inkübe edildi.

Lamlar PBS ile 3 kez 5 dakika süresince yıkandı.

Antikora özgün olmayan bağlanmaları ayrıştırmak için 30 dakika UltraV block (Cat: TA-060-UB, Thermo Scientific, Fremont, USA) uygulandı.

Daha sonra dokular yıkanmadan 1/100 dilüsyon ile hazırlanan TNF- α (Bioss, bs-2081R), 1/200 dilüsyon ile hazırlanan Caspase-3 (Bioss, bs-0081R) ve 1/400 dilüsyon ile hazırlanan n-cadherin (Bioss, bs-1172R) primer antikoru ile 4 °C'de bir gece boyunca inkübe edildi.

Lamlar 3 kez 5 dakika boyunca PBS ile yıkandı.

2 saat boyunca biotinli sekonder antikor (Cat:TP-060-BN, Thermo Scientific) uygulandı.

Lamlar 3 kez 5 dakika boyunca PBS ile yıkandı.

Kesitler 30 dakika streptavidin peroksidaz enzimi (Cat:TS-060-HR, Thermo Scientific) ile inkübe edildi.

Lamlar 3 kez 5 dakika boyunca PBS ile yıkandı.

Diaminobenzedin (DAB) (Cat: TA-125-HDX, Thermo Scientific) solüsyonu ile 5-10 dakika inkübe edildi.

İmmün reaksiyon varlığı görüldü ve reaksiyon durduruldu.

Zemin boyası olarak Mayer'in hematoksilin'i kullanıldı.

Lamlar azalan etil alkol serilerinden geçirildi.

Ksilol içerisinde 45 dakika boyunca bekletildi.

Dokular entellan ile kapatıldı.

Işık mikroskopunda (Leica DM 4000B, Germany) Leica LAS V4.9 programı ile kesitlerin fotoğrafları her preparatta sol ventrikül serbest duvarından rastgele altı alan olacak şekilde 20X büyültmede çekildi. Fotoğraflar image J yazılımı ile değerlendirildi [70].

İstatistiksel Analiz

Çalışmanın örnek büyüklüğünü hesaplamada, her değişken için Power (Testin Gücü) en az %80 ve Tip-1 hata %5 alınarak belirlenmiştir. Çalışmadaki sürekli ölçümlerin normal dağılıp dağılmadığına Shapiro-Wilk testi ile bakılmış ve ölçümler normal dağılmadığından dolayı nonparametrik testler uygulanmıştır.

Çalışmadaki sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama (mean), standart sapma (SD), median, range, minimum ve maksimum olarak ifade edilmiştir. Sürekli ölçümlerin, gruplara göre karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis H testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testini takiben, birbirinden farklı grupları belirlemede Bonferroni düzeltmeli Post-Hoc Testi kullanılmıştır. Gruplarda ayrı olmak üzere deney öncesi ve deney sonrası ölçümlerin karşılaştırılmasında ise Wilcoxon testi kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alınmış ve analizler için SPSS (IBM SPSS for Windows, ver.26) istatistik paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Hayvan Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Deney öncesinde, deney sırasında ve deneyin sonunda tüm hayvanların canlı vücut ağırlıkları tartılarak kayıt edildi. Doksorubisin uygulanan hayvanların hiçbirinde %20'den fazla kilo kaybı görülmedi. Deney sonunda sakrifikasyon öncesi bütün hayvanların ağırlıkları tartılarak kayıt edildi.

Bütün sıçanlara anestezi için ksilazin (10 mg/kg) + ketamin (90 mg/kg) intraperitoneal (I.P.) uygulandı. Sıçanlar derin anestezi altında intrakardiyak kan alımı ile sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrası kalpleri çıkartılarak tartıldı ve kayıt edildi.

Tablo 2. Sıçan ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırma sonuçları

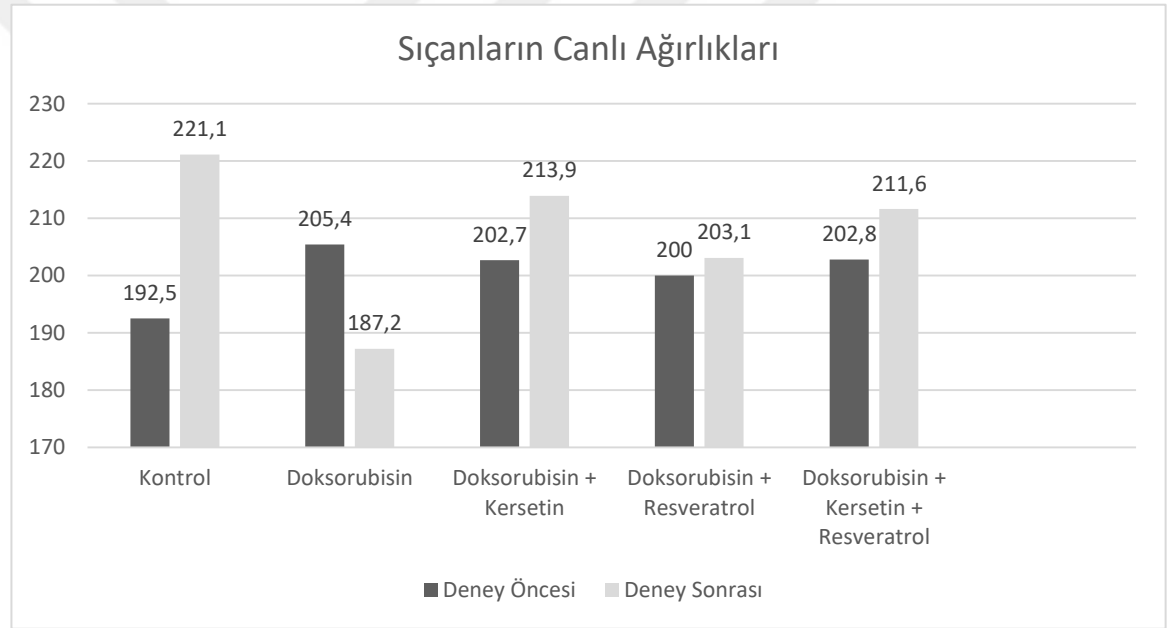
	Grup	Mean	Std. Dev.	Median	Min.	Max.	*p.
İlk Tartı	Kontrol	192,500	20,724	189,500	168,000	224,000	,731
	Doksohubisin	205,400	15,349	205,500	182,000	231,000	
	Doksohubisin+Kersetin	202,700	18,595	201,500	168,000	232,000	
	Doksohubisin+Resveratrol	200,000	20,033	202,000	175,000	225,000	
	Doksohubisin+Kersetin+Resveratrol	202,800	18,238	204,500	178,000	235,000	
Son Tartı	Kontrol	221,167 a	22,373	216,000	194,000	250,000	,003
	Doksohubisin	187,200 b	16,178	187,000	164,000	211,000	
	Doksohubisin+Kersetin	213,900 a	13,666	212,000	196,000	240,000	
	Doksohubisin+Resveratrol	203,100 b	15,007	206,500	182,000	225,000	
	Doksohubisin+Kersetin+Resveratrol	211,600 a	20,956	214,000	179,000	234,000	

* *Kruskal-Wallis H testine göre gruplar arası anlamlılık düzeyi; a,b: Bonferroni Post-Hoc testine göre gruplar arası farkı gösterir.*

İlk tartı değerinde gruplar arasında istatistik olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Son tartı değerinde doksorubisin ve doksorubisin + resveratrol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p=0,003$).

Doksorubisin ve doksorubisin + resveratrol grubunda doksorubisin'in sitotoksik etkileri daha çok açığa çıkmıştır. Buna bağlı olarak iki gruptaki sıçanlarda belirgin kilo kaybı gözlenmiştir.

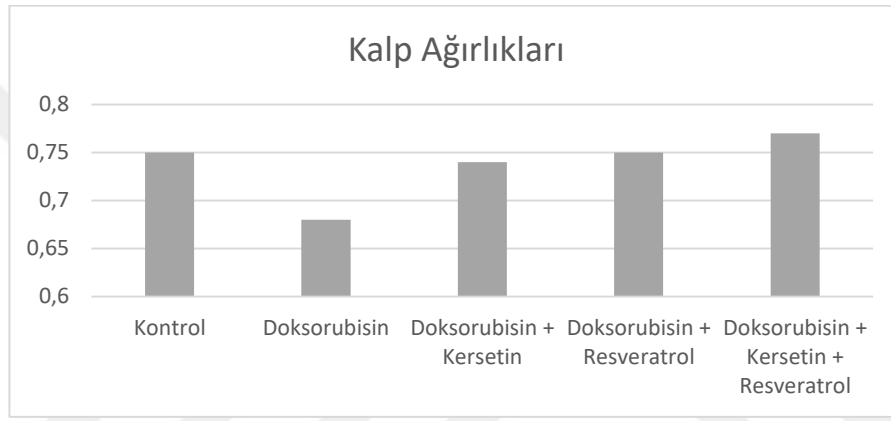


Şekil 5. Sıçanların canlı ağırlık grafiği

Tablo 3. Kalp Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Grup	Mean	Std. Dev.	Median	Min.	Max.	*p.
Kontrol	,754	,049	,762	,696	,817	,064
Doksorubisin	,682	,051	,675	,606	,736	
Doksorubisin+Kersetin	,748	,105	,750	,605	,968	
Doksorubisin+Resveratrol	,758	,059	,773	,638	,829	
Doksorubisin+Kersetin+Resveratrol	,774	,054	,761	,707	,887	

Doksozubisin grubunda bulunan sıçanların kalplerinin ortalama ağırlığı diğer gruplardan düşük olmasına rağmen kalp tartı değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Daha yüksek dozda doksozubisin tedavisi verilmesi veya deneyin süresini uzatılması zamanla istatistiksel fark oluşmasını sağlayabilir.



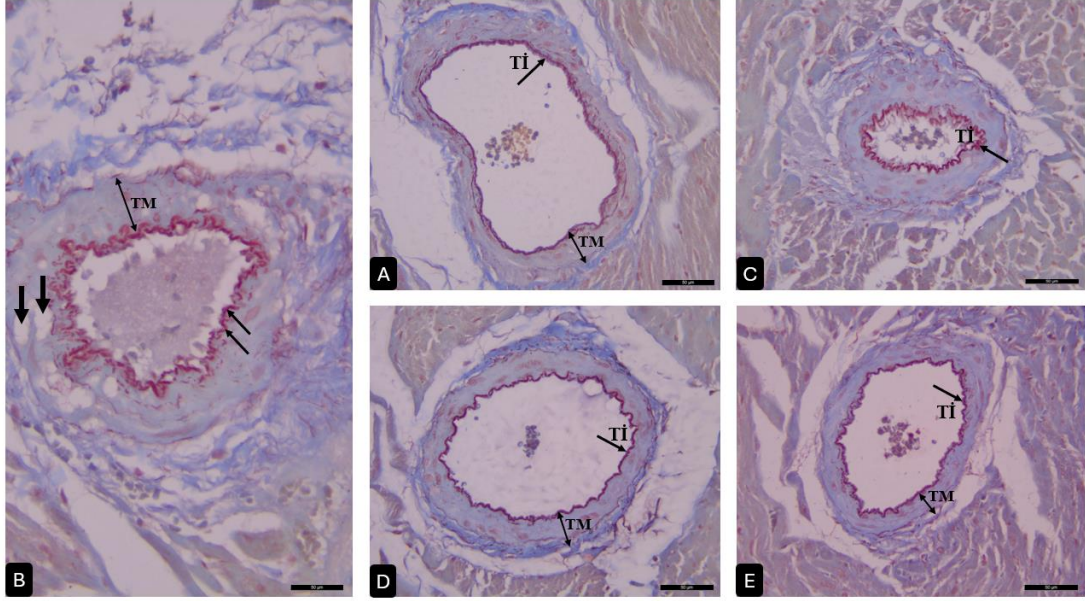
Şekil 6. Sıçanların Kalp Ağırlıkları Grafiği

4.2 Işık Mikroskop Bulguları

Histolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular

Orcein-picroindigocarmine Boyama Bulguları

Doksozubisin grubunda, kontrol ve deney gruplarına göre kas liflerinin morfolojik yapısının, kas lifleri arasındaki bağlantıların, damar duvarının yapısının bozulması, damarların tunika media katındaki vakuoler oluşumlar dikkati çekmekteydi.



Resim 6. Dokсорubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan grupta kontrol ve diğer gruplara göre kas dokusu ve damar yapısındaki bozulma dikkati çekmekte.

A: Kontrol **B:** Dokсорubisin **C:** Dokсорubisin + Kersetin **D:** Dokсорubisin + Resveratrol **E:** Dokсорubisin + Kersetin + Resveratrol **F:** Negatif kontrol (Orcein-picroindigocarmine, X400)

Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları

Hematoksilen–Eozin boyama yöntemi ile kontrol grubu, kardiyomiyopati grubu ve tedavi edilen gruplarda sol ventriküle ait kalp kası değişiklikleri küçük ve büyük büyültmelerde değerlendirildi.

Kontrol grubunda ortada yerleşmiş oval şekilli çekirdekleri ile uzun silindirik şekilli kalp kası liflerinin normal yapıda bir düzenlenme gösterdiği izlenirken, kalp kası lifleri arasındaki yan dallanmaların mevcut olduğu görüldü (Resim 7).

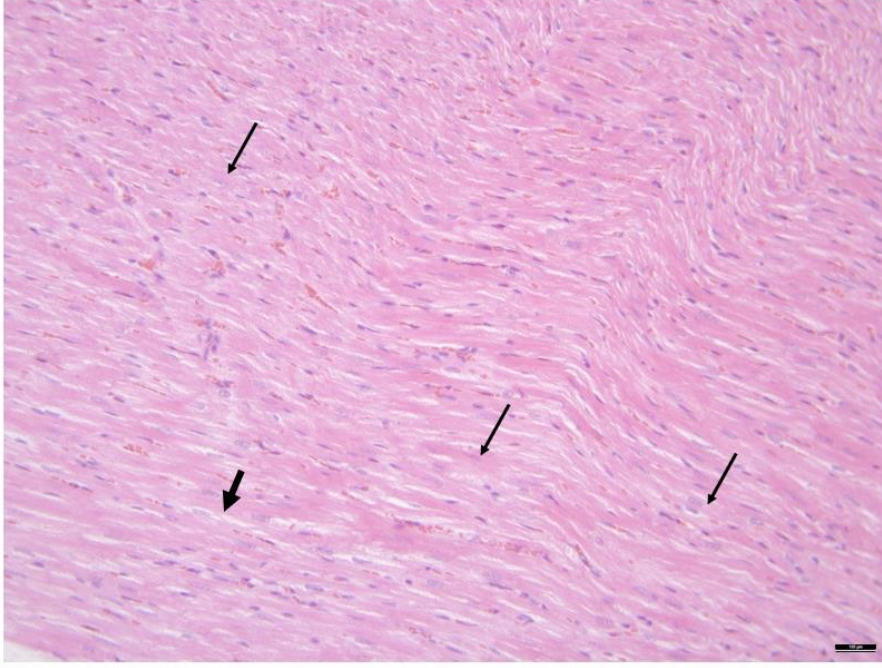
Dokсорubisin grubunda, kas liflerinin bütünlüğünde ve düzenleniminde bozulma hücrelerde dejenerasyon multifokal özellikte sitoplazmaları daha yoğun

eosinofilik boyanan nekrotik hücrelerin varlığı dikkati çekti (Resim 8). Damar bütünlüğünde bozulma belirgin konjesyon ekstravazasyon (Resim 9) damar endotel hücrelerinin yassı şekillerini kaybederek damar lümenine dik olarak uzanan çekirdekleri olan hücreler olarak düzenlendiği saptandı (Resim 10). Kas lifleri arasında hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 11).

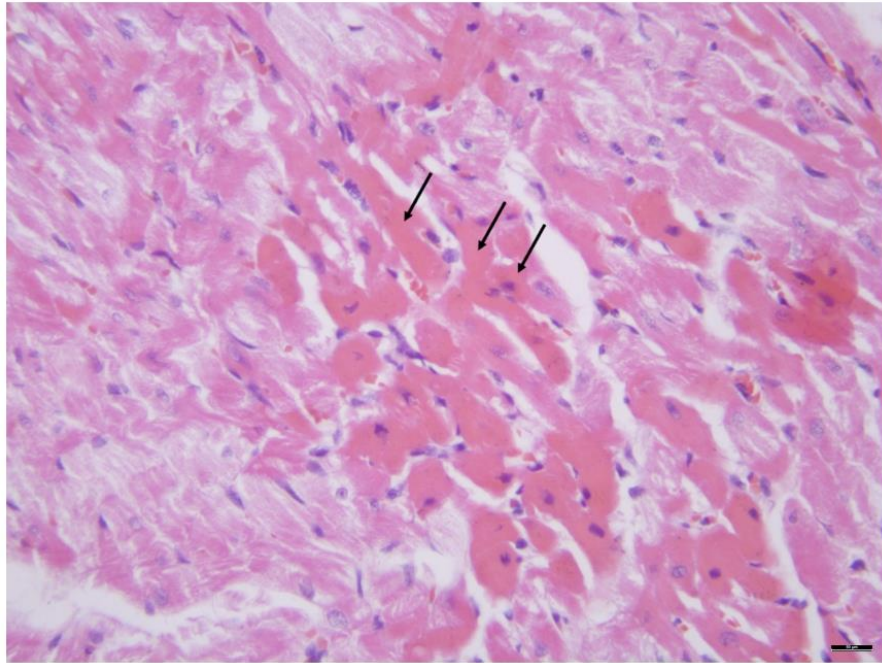
Doksorubisin + Kersetin grubunda, doksorubisin grubuna göre kas liflerinin düzenleniminin daha iyi olduğu görülmekle beraber hücre infiltrasyonu (Resim 13 ve 14), dejeneratif ve nekrotik hücre içeren (Resim 12) alanların doksorubisin grubuna göre daha sınırlı olmak üzere devam ettiği görüldü.

Doksorubisin + Resveratrol grubunda, doksorubisin grubuna göre kas liflerinin düzenleniminin kas lifleri arasındaki dallanmaların normale yakın bir görünümde olduğu dikkati çekti. Diğer gruplara göre dejenerasyon ve nekroza giden hücre sayısının bu grupta azalmış olduğu izlendi. (Resim 15) Doksorubisin grubuna göre damar endotel hücrelerinin normale yakın olduğu, konjesyon görülmediği dikkati çekti (Resim 16). Kas lifleri arasında hücre infiltrasyonuna rastlanmadı.

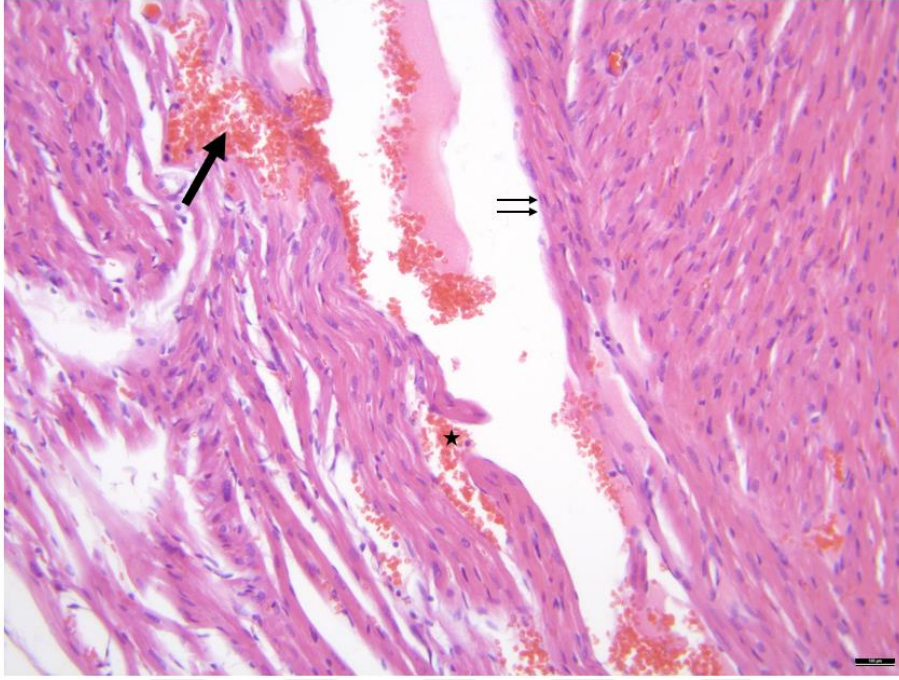
Doksorubisin + Kersetin + Resveratrol grubunda, doksorubisin grubuna göre kas lifleri düzenleniminin daha iyi korunduğu kas lifleri arasında hücre infiltrasyonunun dejenerasyon ve nekroza giden hücre sayısının azaldığı gözlemlendi (Resim 17).



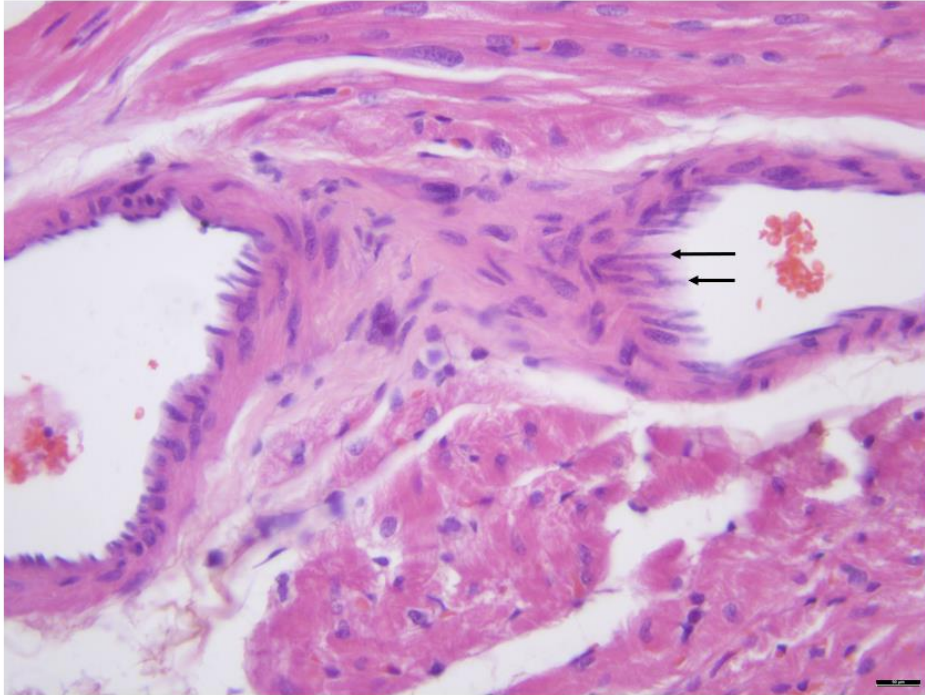
Resim 7. Kontrol grubu oval şekilli nukleusları ortada yerleşmiş, uzun silindirik şekilli kalp kası lifleri (ince ok) ve kas lifleri arasında yan dallanmalar (kalın ok) görülmekte (H&E, X200)



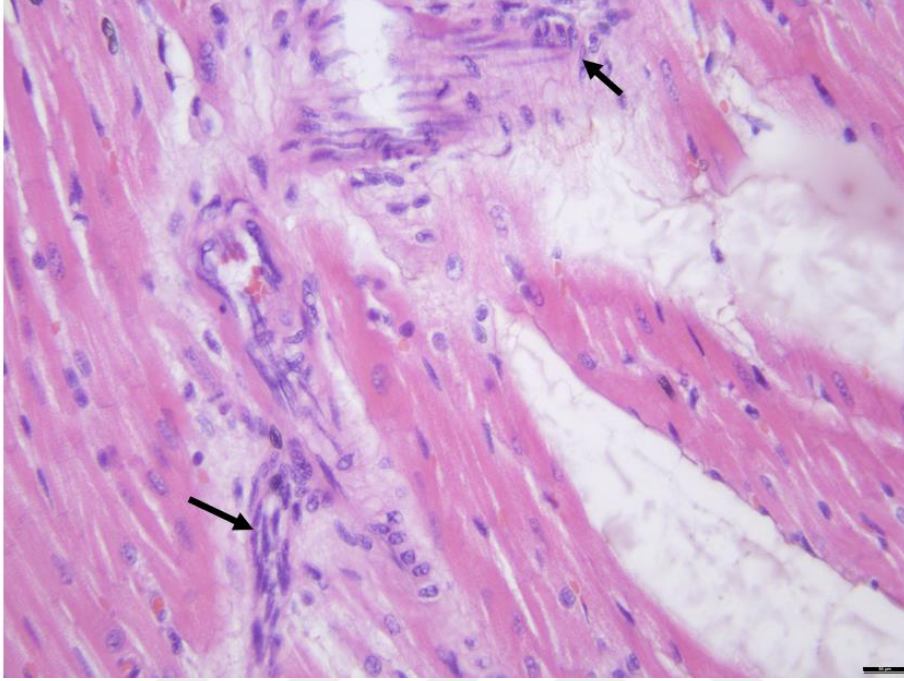
Resim 8. Doksorubisin grubunda kas liflerinin bütünlüğünde ve düzenleniminde bozulma, hücrelerde dejenerasyon, multifokal özellikle sitoplazmaları daha yoğun eosinofilik boyanan nekrotik hücrelerin (ok) varlığı dikkat çekmekte (H&E, X400)



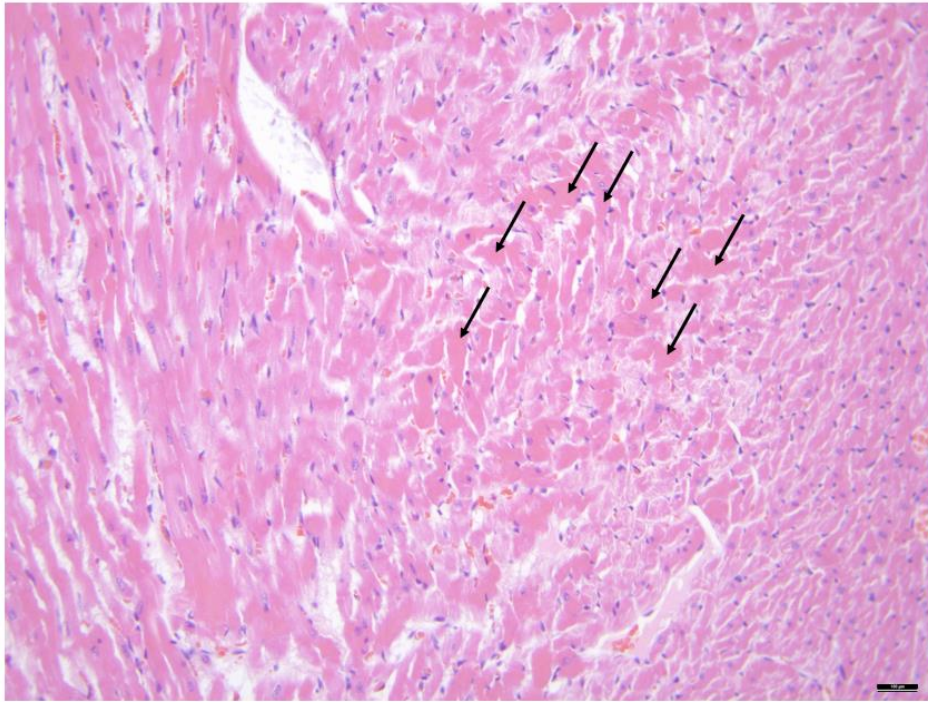
Resim 9. Dokсорubisin grubunda damar bütünlüğünde bozulma (çift ok), belirgin konjesyon (kalın ok), ekstrasvazyon (yıldız) görülmekte (H&E, X200)



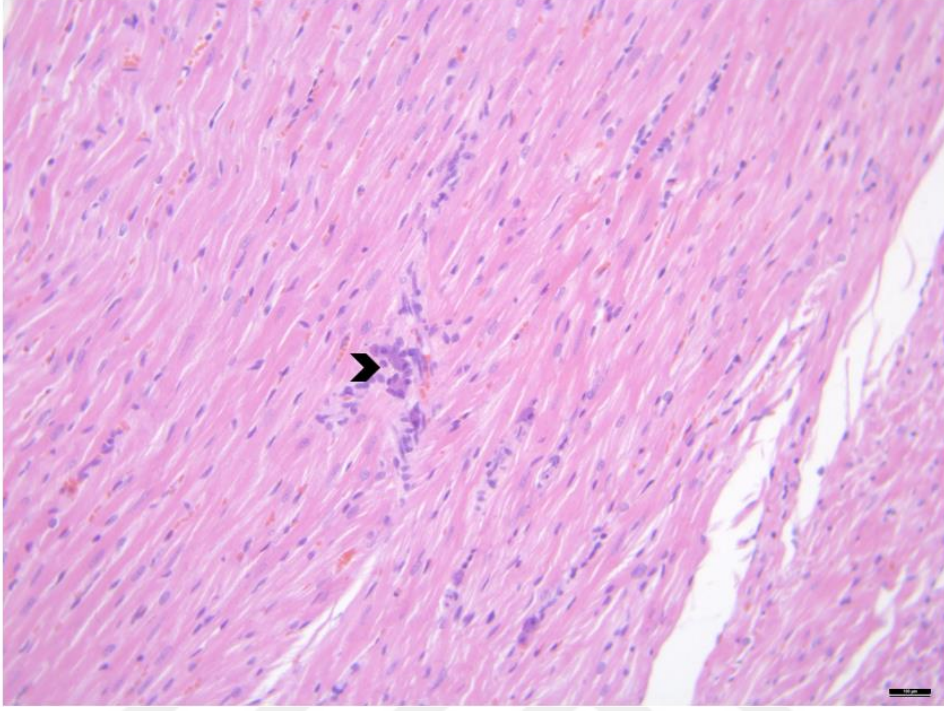
Resim 10. Dokсорubisin grubunda damar entotel hücrelerinin yassı şekillerini kaybederek damar lümenine dik olarak uzanan çekirdekleri sahip olduğu görülmekte (ok) (H&E, X400)



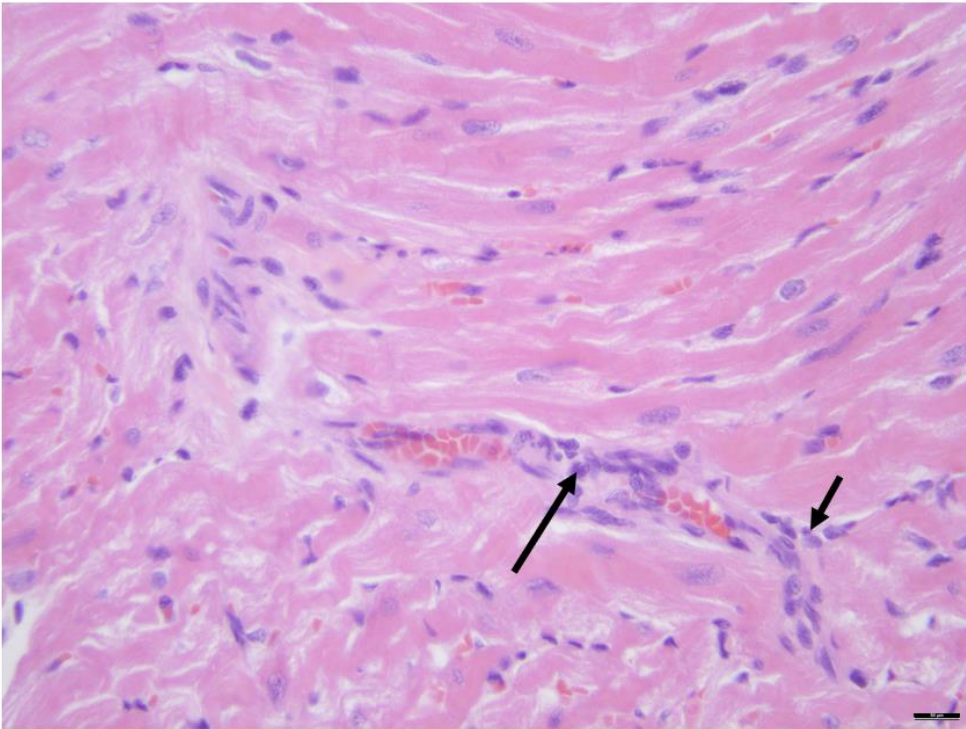
Resim 11. Dokсорubisin grubunda kas lifleri arasında hücre infiltrasyonu (ok) görülmekte (H&E, X400)



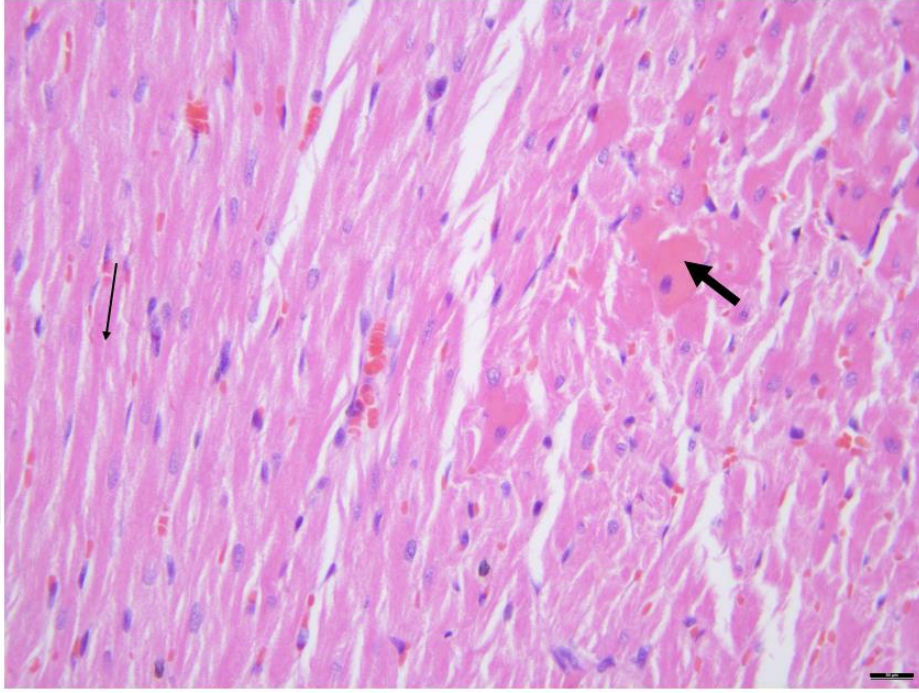
Resim 12. Dokсорubisin + kersetin grubunda, dokсорubisin grubuna göre dejeneratif ve nekrotik hücre (ok) içeren alanların azaldığı görülmekte (H&E, X200)



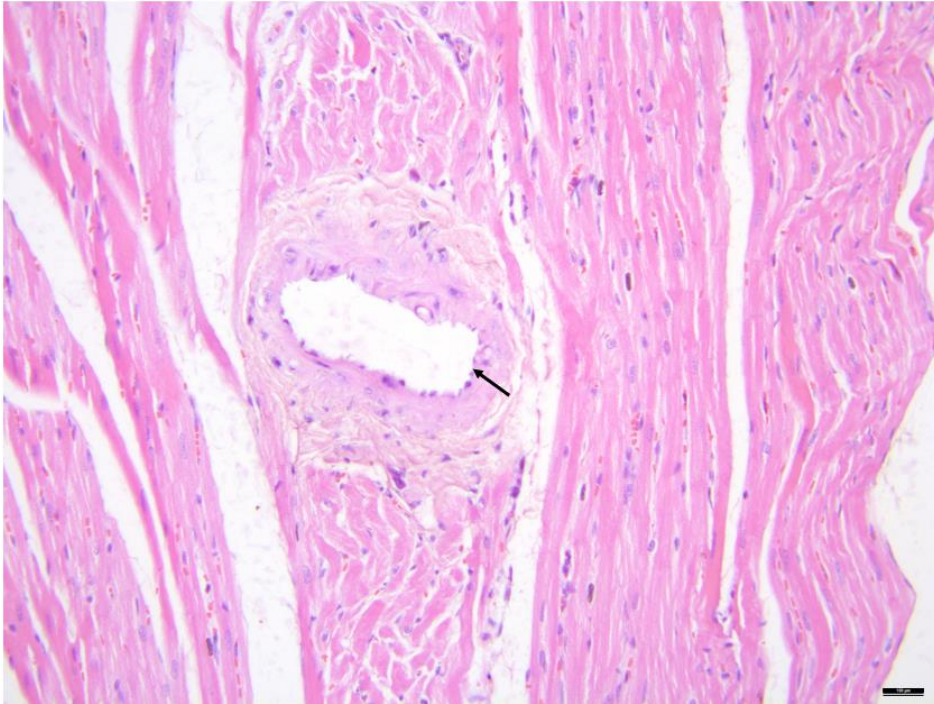
Resim 13. Dokсорubisin + kersetin grubunda, dokсорubisin grubuna göre daha sınırlı olmak üzere hücre infiltrasyonu (ok başı) görülmekte (H&E, X200)



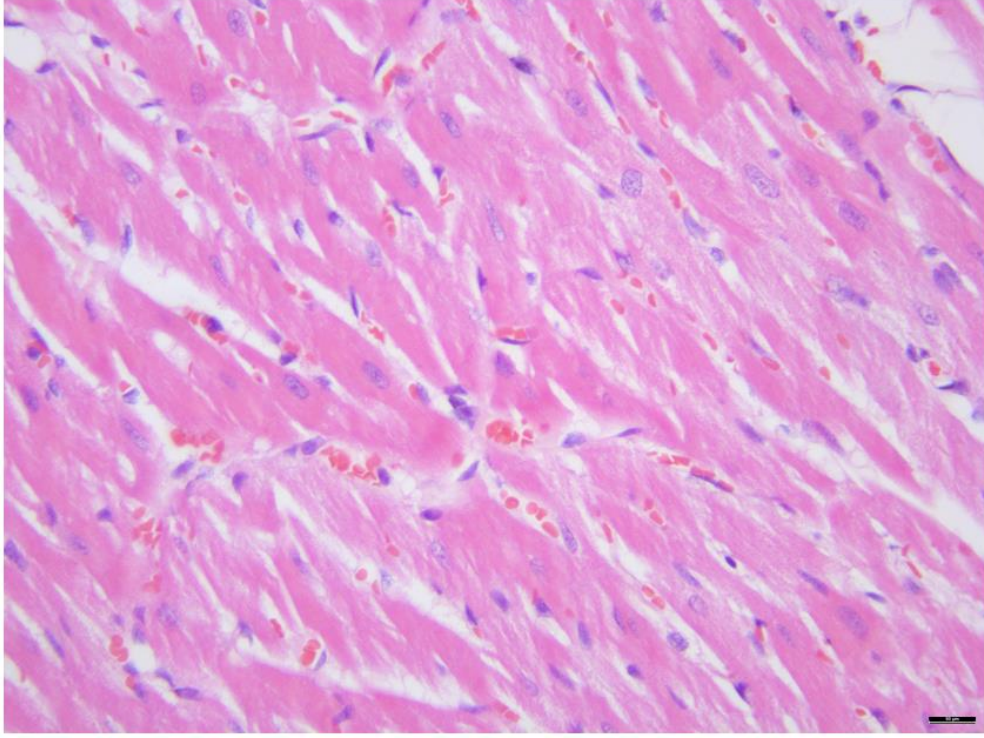
Resim 14. Dokсорubisin + kersetin grubunda kas lifleri düzenlenimi ile sınırlı alanlarda hücre infiltrasyonu görülmekte (H&E, 400X)



Resim 15. Doksorubisin + Resveratrol grubunda normale yakın kas lifleri (ince ok) düzenlenimi ve yan dallanmalar görülürken, dejenerasyon ve nekroza giden hücre (kalın ok) sayısında azalma görülmekte (H&E, X400)



Resim 16. Doksorubisin + Resveratrol grubunda kas liflerinin ve damar endotel hücrelerinin (ok) görünümü (H&E, X200)



Resim 17. Doksorubisin + Kersetin + Resvetarol Grubunda kas liflerinin düzenlenimi, dejenerasyon ve nekroza giden hücre sayısında azalma, kas lifleri arasındaki hücre infiltrasyonunda azalma görülmekte (H&E X400)

Picosirius Red Boyama Bulguları

Kontrol ve deney gruplarına ait sol ventrikül miyocard dokularının picosirius red boyama yöntemi kullanılarak elde edilen küçük ve büyük büyültmelerindeki görüntülerinde perivasküler fibrozis ve interstisyel fibrozis bulguları değerlendirildi.

Kontrol grubuna ait miyocard dokularında perivasküler ve interstisyel alanda normal yoğunlukta kollajen lif dağılımı izlenirken (Resim 18), 6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg intraperitoneal doksorubisin uygulanarak oluşturulan kardiyomiyopati grubunda perivasküler ve interstisyel alanda belirgin

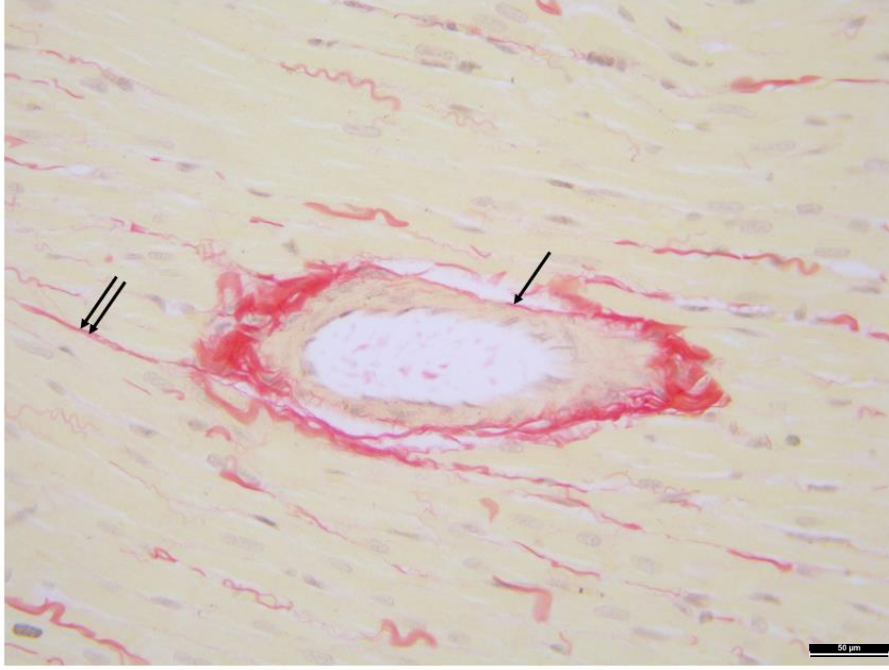
fibrozis dikkati çekti. Perivasküler ve interstisyel alandaki kollajen lifleri kontrol gurubuna göre doksorubisin grubunda daha kalın olarak izlenmiştir (Resim 19 ve 20).

6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg intraperitoneal doksorubisin ve 20 mg/kg/gün oral kercetin uygulanan grupta doksorubisin grubuna göre perivasküler, interstisyel alanda fibrozis yoğunluğunun azalmış olduğu dikkati çekti (Resim 21).

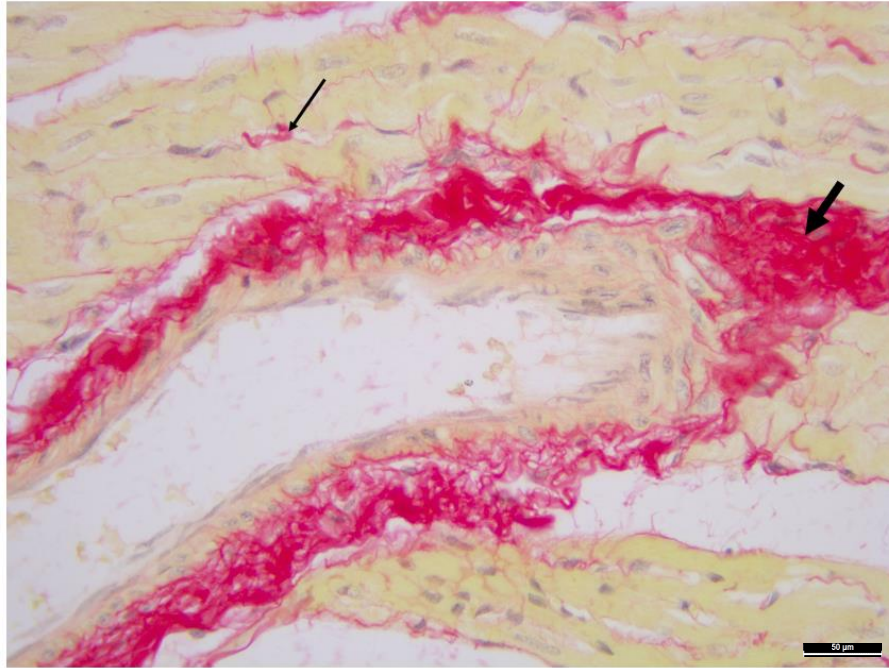
6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg intraperitoneal doksorubisin ve 50 mg/kg/gün oral resveratrol uygulanan grupta da doksorubisin grubuna göre perivasküler interstisyel alanda fibrozis yoğunluğunun azalmış olduğu görüldü (Resim 22).

6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg/gün intraperitoneal doksorubisin ve oral 20 mg/kg/gün oral kersetin ve 50mg/kg/gün oral resveratrol uygulanan grupta da kersetin ve resveratrol grubuna benzer şekilde doksorubisin grubu ile karşılaştırıldığında perivasküler ve interstisyel fibrozis yoğunluğunun azalmış olduğu dikkati çekti (Resim 23).

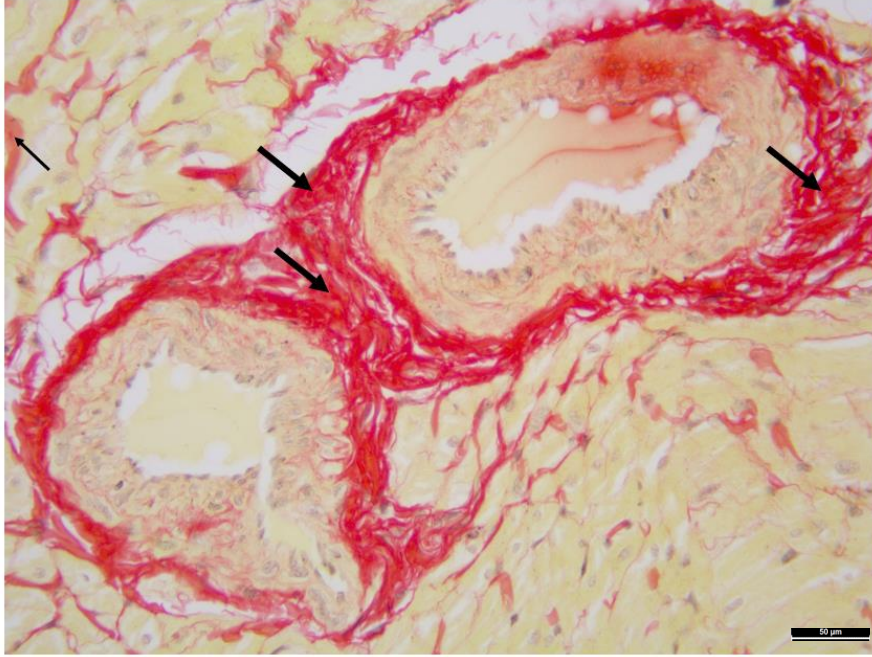
Picosirius (Alan/Çap) değerinin gruplara göre karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında; doksorubisin grubunda Picosirius (Alan/Çap) değeri, diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu da doksorubisin'e maruz kalan sıçanların sol ventrikül duvarındaki miyokard hasarı, fibrozis ve buna bağlı olarak hasarlı bölgenin yüzey alanında artış olduğunu göstermiştir ($p=0,001$) (Tablo 4 ve 5).



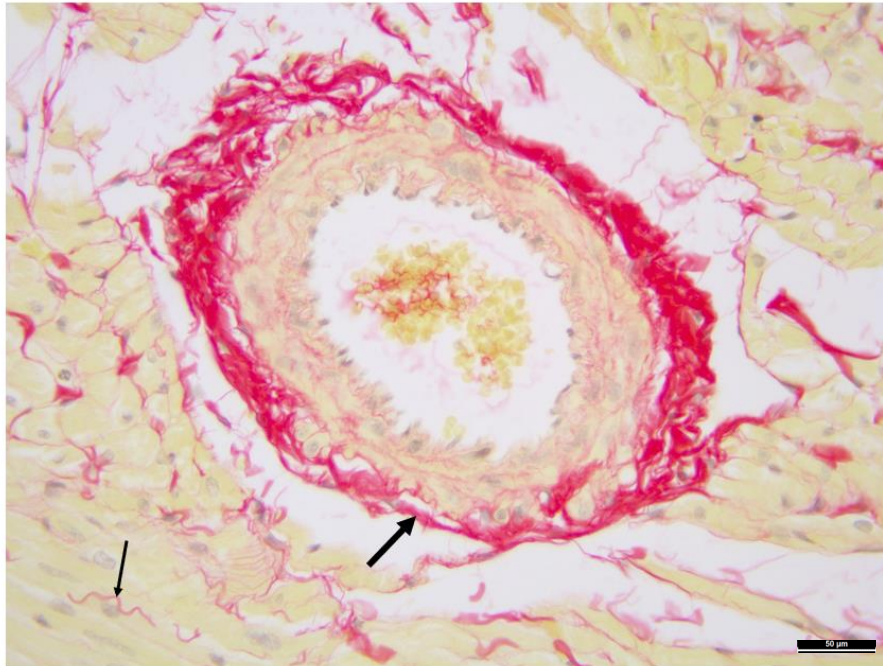
Resim 18. Kontrol grubunda picrosirius red boyama yöntemi ile perivasküler (ok) ve interstisyel alandaki kollajen lif (Çift ok) dağılımı



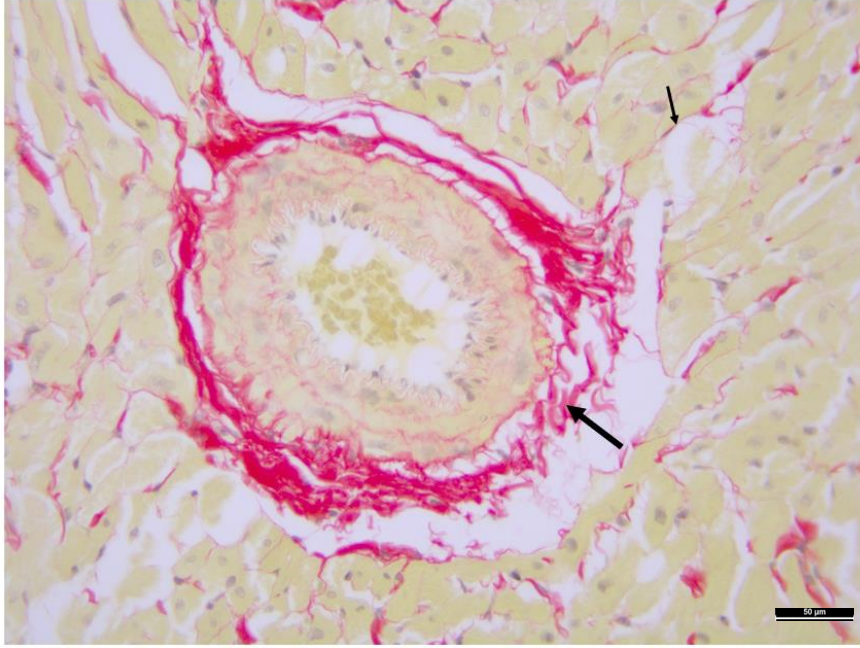
Resim 19. Dokсорubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan grupta picrosirius red boyama yöntemi ile perivasküler (kalın ok) ve interstisyel alanda belirgin fibrozis (ince ok) görülmekte (X400)



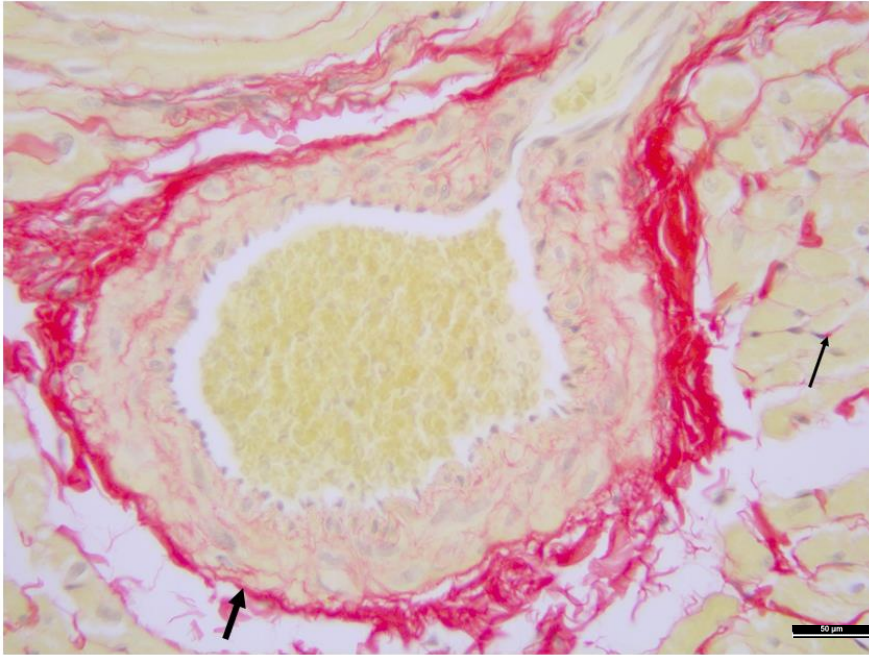
Resim 20. Dokсорubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan grupta picosirius red boyama yöntemi ile perivasküler (kalın ok) ve interstisyel alanda belirgin fibrozis (ince ok) görülmekte (X400)



Resim 21. Kardiyomiyopati + Kersetin grubunda picosirius red boyama yöntemi ile kardiyomiyopati grubuna göre perivasküler (kalın ok) ve interstisyel (ince ok) alandaki fibrozis yoğunluğunun azaldığı görülmekte (X400)



Resim 22. Kardiyomiyopati + Resveratrol grubunda picosirius red boyama yöntemi ile kardiyomiyopati grubuna göre perivasküler (kalın ok) ve interstisyel (ince ok) alandaki fibrozis yoğunluğunun azalmış olduğu dikkati çekmekte (X400)

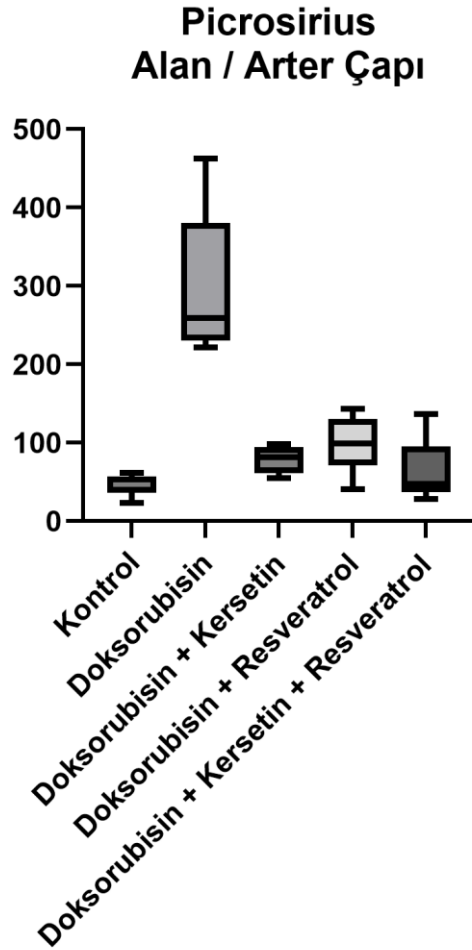


Resim 23. Kardiyomiyopati + Kersetin + Resveratrol grubunda perivasküler (kalın ok) ve interstisyel (ince ok) alandaki lif kalınlığının ve lif çaplarının kardiyomiyopati grubuna göre belirgin azalmış olduğu gözlenmekte (X400)

Tablo 4. Picrosirius (Alan/Çap) değerinin gruplar arası karşılaştırma sonuçları

Grup	Mean	Std. Dev.	Median	Min.	Max.	*p.
Kontrol	,047 b	,014	,052	,023	,061	,001
Dokso rubisin	,284 a	,085	,247	,215	,425	
Dokso rubisin+Kersetin	,077 b	,018	,079	,054	,098	
Dokso rubisin+Resveratrol	,097 b	,035	,096	,040	,141	
Dokso rubisin+Kersetin+Resveratrol	,063 b	,039	,047	,028	,134	

* Kruskal-Wallis H testine göre gruplar arası anlamlılık düzeyi
a,b: Bonferroni Post-Hoc testine göre gruplar arası farkı gösterir



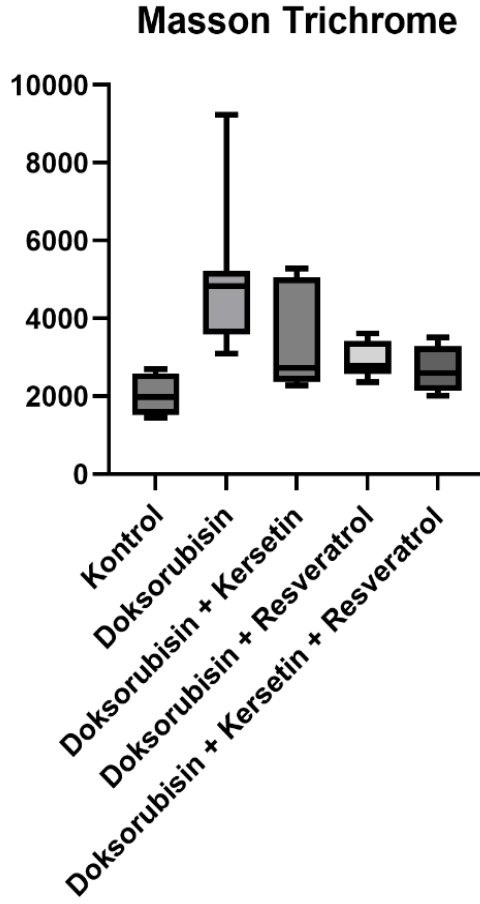
Şekil 7. Picrosirius boyama yöntemi fibrozis alanı/çap grafiği (ortalama ± standart sapma)

Masson Trichrome Bulguları

Kontrol ve deney gruplarına ait sol ventrikül miyocard dokularında kalp kası lifleri arasındaki fibrozis oluşumunu incelemek amacıyla masson trichrome boyamasından elde edilen görüntüler değerlendirildi.

Kontrol grubuna ait miyocard dokularında kalp kası lifleri arasında normal yoğunlukta kollajen lif dağılımı izlenirken , 6 hafta boyunca haftada 2 kez 1 mg/kg intraperitoneal doksorubisin uygulanarak oluşturulan kardiyomiyopati grubunda belirgin fibrozis olduğu dikkati çekti. Diğer gruplarda ise doksorubisin grubuna göre daha az fibrozis olduğu tespit edildi (Resim 24).

Masson trichrome boyamasından elde edilen görüntülerden fibrozis alan değerlendirmesi için ölçümler yapılmıştır. Bu ölçümler sonucunda doksorubisin grubunda diğer gruplara göre fibrozis alan varlığının arttığı gözlemlenmiştir. Diğer gruplarda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p=0,002$) (Tablo 6, Şekil 7).

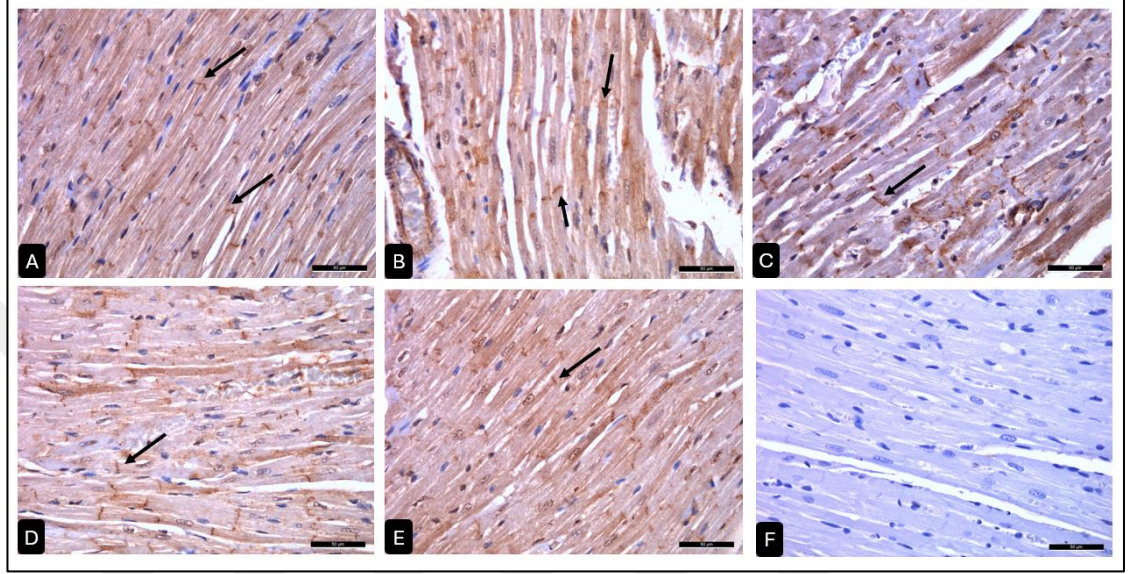


Şekil 8. Fibrozis alan ölçümü (ortalama \pm standart sapma)

PAS Boyaması Bulguları

Kontrol ve deney gruplarına ait sol ventrikül miyocard dokularının PAS boyama yöntemi ile elde edilen görüntülerinde kalp kası liflerinde glikojen birikimi değerlendirildi. Kontrol grubunda PAS ile boyanan normal glikojen varlığı gözlemlenirken, doksorubisin grubunda glikojen birikimlerinin belirgin bir şekilde azaldığı görülmüştür. Diğer gruplarda ise doksorubisin grubuna göre daha fazla, ancak kontrol grubuna göre az oranda glikojen görülmüştür.

immunreaktivitelerinin doksorubisin grubuna göre daha belirgin olduğu dikkati çekti (Resim 26).

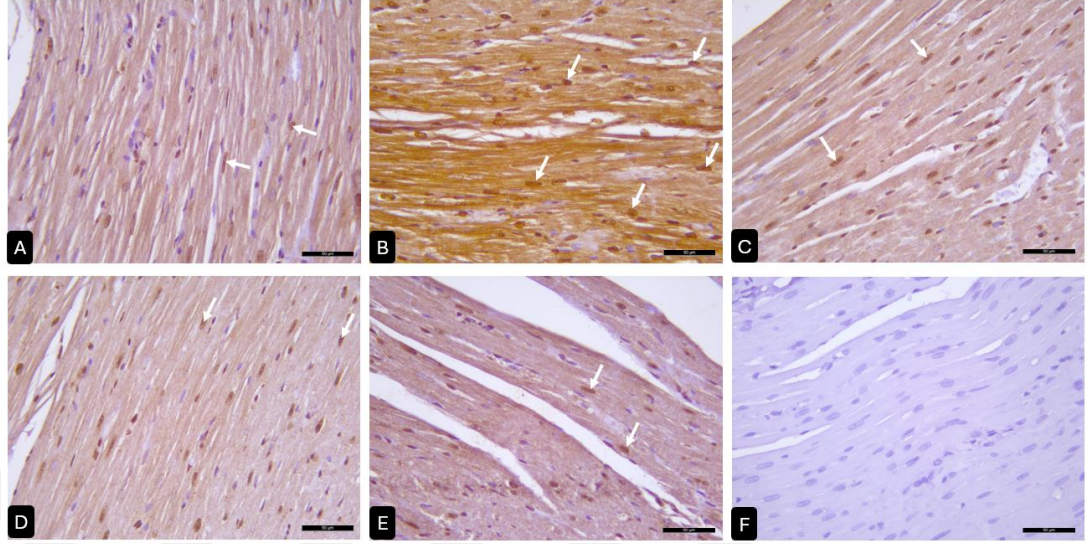


Resim 26. N-cadherin immunoreaktivitesi

A: Kontrol **B:** Doksorubisin **C:** Doksorubisin + Kersetin **D:** Doksorubisin + Resveratrol **E:** Doksorubisin + Kersetin + Resveratrol **F:** Negatif kontrol (DAB-Hematoksilen, X400)

Caspase 3 Bulguları

Kontrol ve deney gruplarına ait miyocard dokularında apoptozu değerlendirmek amacıyla caspase 3 ile yapılan immunohistokimyasal boyamalarda doksorubisin grubunda kalp kası hücrelerinde immunreaktivitenin diğer gruplara göre artmış olduğu, diğer gruplarda ise immunreaktivitenin benzer olduğu saptandı (Resim 27). Doksorubisin grubunda diğer gruplara göre immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir ($p=0,008$) (Tablo 7, Şekil 9).



Resim 27. Kontrol ve deney gruplarında caspase 3 immunreaktivitesi görülmekte

A: Kontrol **B:** Doksorubisin **C:** Doksorubisin + Kersetin **D:** Doksorubisin + Resveratrol **E:** Doksorubisin + Kersetin + Resveratrol **F:** Negatif kontrol (DAB-Hematoksilen, X400)

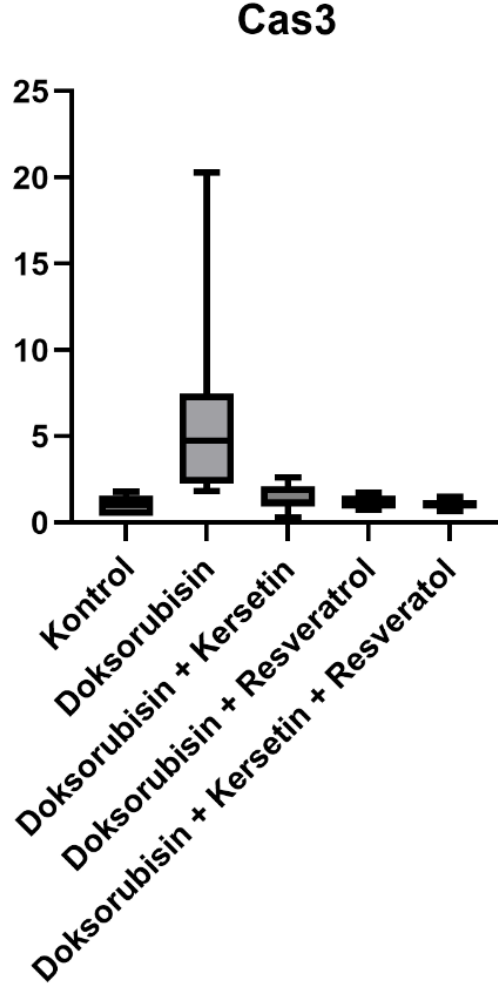
Tablo 6. Caspase 3 immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırma sonuçları

Grup	Mean	Std. Dev.	Median	Min.	Max.	*p.
Kontrol	1,019 b	,587	1,040	,383	1,793	,008
Doksorubisin	6,186 a	5,750	4,745	1,826	8,516	
Doksorubisin+Kersetin	1,391 b	,791	1,171	,312	2,616	
Doksorubisin+Resveratrol	1,195 b	,410	1,151	,760	1,769	
Doksorubisin+Kersetin+Resveratrol	1,061 b	,289	1,050	,666	1,500	

* *Kruskal-Wallis H testine göre gruplar arası anlamlılık düzeyi;*
a,b: Bonferroni Post-Hoc testine göre gruplar arası farkı gösterir

Bütün gruplarda caspase 3 immunreaktivitesi kontrol grubuna göre artmıştır. Caspase 3 proapoptotik bir markerdir. Doksorubisin'in sitotoksik etkisi proapoptotik markerların seviyesini artırır. Doksorubisin grubunda caspase 3

immunreaktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p=0,008$).

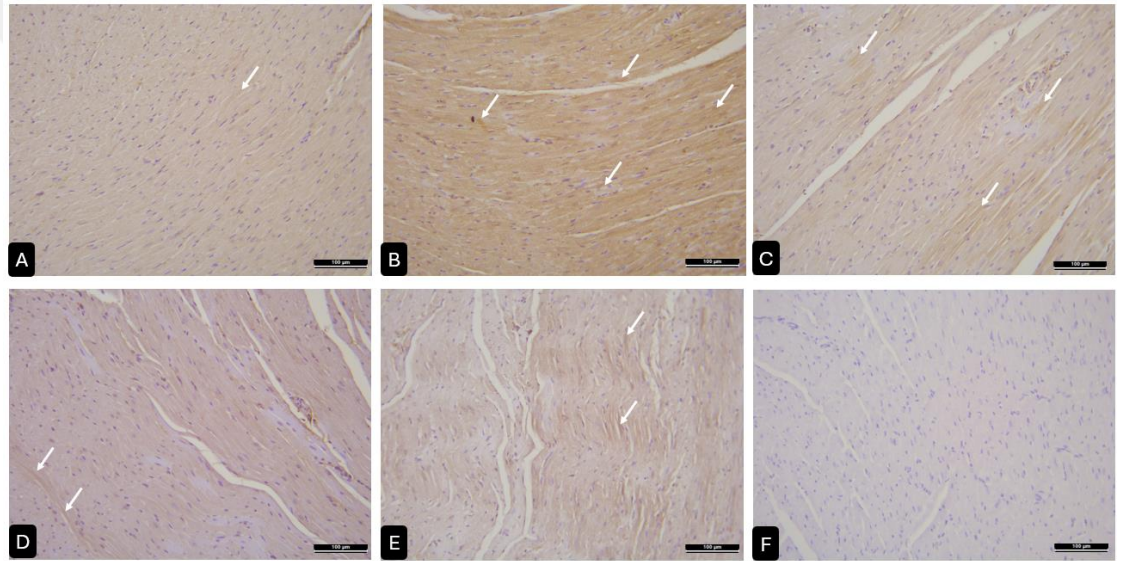


Şekil 9. Caspase 3 immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırma sonuçları (ortalama \pm standart sapma)

TNF- α Bulguları

Kontrol ve deney gruplarına ait miyocard dokularında inflamasyonu değerlendirmek amacıyla TNF- α ile yapılan immunohistokimyasal boyamalarda

doksorubisin grubunda kalp kası hücrelerinde immunreaktivitenin diğer gruplara göre artmış olduğu, kontrol ve diğer gruplarda ise immunreaktivitenin benzerlik gösterdiği gözlemlendi (Resim 28). Doksorubisin grubunda diğer gruplara göre TNF- α immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir ($p=0,001$) (Tablo 8, Şekil 10).



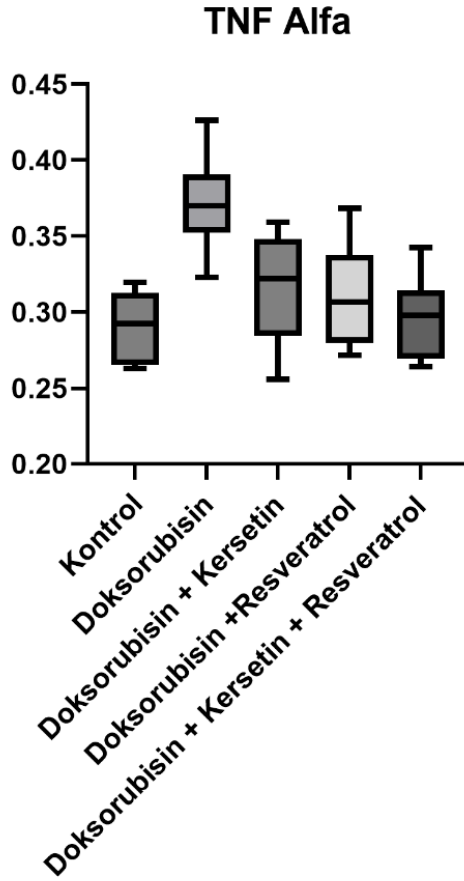
Resim 28. Kontrol ve deney gruplarında TNF- α immunreaktivitesi görülmekte

A: Kontrol B: Doksorubisin C: Doksorubisin + Kersetin D: Doksorubisin + Resveratrol E: Doksorubisin + Kersetin + Resveratrol F: Negatif kontrol (DAB-Hematoksilen, X400)

Tablo 7. TNF- α immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırma sonuçları

	Grup	Mean	Std. Dev.	Median	Min.	Max.	*p.
TNF- α	Kontrol	,291 b	,024	,293	,263	,320	,001
	Doksorubisin	,371 a	,032	,370	,323	,426	
	Doksorubisin+Kersetin	,316 b	,036	,322	,256	,359	
	Doksorubisin+Resveratrol	,310 b	,033	,307	,272	,368	
	Doksorubisin+Kersetin+Resveratrol	,297 b	,027	,298	,264	,342	

TNF- α inflamatuvar bir markerdir. Doksorubisin'in sitotoksik etkisi proapoptotik markerların seviyesini artırır. Doksorubisin grubunda TNF- α immunreaktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p=0,001$).



Şekil 10. TNF- α immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırma sonuçları

4.3 Ekokardiyografik Bulgular

Deney öncesi ve deney sonrası sistol ve diyastol anında septum interventriculare kalınlıkları (IVSs - IVSd) ölçüldü.

Deney sonrası Doksorubisin + Kersetin grubunda IVSs değeri artmış, diğer grupların IVSs değeri azalmıştır. Doksorubisin+Kersetin+Resveratrol grubunda deney öncesi-sonrası yapılan ölçümlerde IVSs değeri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$). Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre bütün gruplarda IVSd değeri azalmıştır. Ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. IVSs ve IVSd kalınlıkları, dilate kardiyomiyopati gelişiminde en son bozulan parametlerden biridir. Daha yüksek dozda doksorubisin tedavisi verilmesi veya deneyin süresini uzatılması zamanla IVSs ve IVSd değerlerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltabilir.

Deney öncesi ve deney sonrası sol ventrikül sistol ve diyastol sonu çapı uzunlukları (LVIDs - LVIDd) ölçülmüştür. Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre LVIDd değeri kontrol grubunda azalırken diğer gruplarda artmıştır. Ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre LVIDs değeri kontrol grubunda sabit kalırken diğer gruplarda artmıştır. Doksorubisin ve doksorubisin + resveratrol grubu için, deney öncesi ve deney sonrası LVIDs değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,05$). Doksorubisin uygulamasına bağlı dilate kardiyomiyopati gelişiminde zamanla sol ventrikül iç basıncı artar. Bu durum sol ventrikülün sistol ve diyastol sonu çaplarını artırır. Doksorubisin ve doksorubisin

+ resveratrol grubunda kardiyomiyopati gelişimi diğer gruplara göre daha erken dönemde gerçekleşmiştir.

Deney öncesi ve deney sonrası sistol ve diyastol sırasında sol ventrikül arka duvar kalınlığı (LVPW_s - LVPW_d) ölçülmüştür. Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre LVPW_d değeri kontrol, doksorubisin+kersetin grubu ve doksorubisin + kersetin + resveratrol gruplarında artarken, doksorubisin grubu ve doksorubisin + resveratrol grubunda azalmıştır. Doksorubisin + resveratrol grubu için deney öncesi-sonrası yapılan ölçümlerde LVPW_d değeri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır. Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre LVPW_s değeri kontrol ve doksorubisin + kersetin + resveratrol grubunda artarken diğer gruplarda azalmıştır. Doksorubisin grubu için, deney sonrası LVPW_s değerleri deney öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($p < 0,05$). LVPW_s ve LVPW_d kalınlıkları, dilate kardiyomiyopati gelişiminde en son bozulan parametlerden biridir. Daha yüksek dozda doksorubisin tedavisi verilmesi veya deneyin süresini uzatılması zamanla LVPW_s ve LVPW_d değerlerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltabilir.

Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre (Diyastol sonu volüm) EDV değeri kontrol grubunda azalırken diğer gruplarda artmıştır. Ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre (Sistol sonu volüm) ESV değeri kontrol grubunda azalırken diğer gruplarda artmıştır. Doksorubisin ve doksorubisin + resveratrol grubu için, deney öncesi ve deney

sonrası ESV değerleri arasında istatistik olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p<0,05$). ESV değeri, deney sonrasında anlamlı şekilde artmıştır.

Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre (Ejeksiyon fraksiyonu) EF değeri kontrol grubunda sabit kalırken diğer gruplarda azalmıştır. Doksorubisin, doksorubisin + kersetin ve doksorubisin + resveratrol gruplarında deney sonrası EF değerleri deney öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$).

Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre (Stroke volüm) SV değeri doksorubisin grubu için, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,05$).

Deney sonrası yapılan ölçümlerde deney öncesine göre (Fraksiyonel kısalma) %FS değeri bütün gruplarda azalmıştır. Doksorubisin, doksorubisin + kersetin ve doksorubisin + resveratrol grubu için, deney sonrası %FS değerleri deney öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$).

EF, SV ve %FS parametreleri birbiri ile korelasyon gösterir. Ejeksiyon fraksiyonu ve stroke volümün azalması bir formül ile hesaplanan %FS'nin de azalmasına sebep olur. Kardiyomiyopati sol ventrikül işlev bozukluğu ile seyreder. Yani SV ve EF ile birlikte %FS de azalır.

“EKO” değerlerinin “Gruba” ve “Deney Öncesi-Sonrasına” göre iki yönlü karşılaştırma sonuçları

	Kontrol				Doxorubicin				Doxorubicin+Kersetin				Doxorubicin+Resveratrol				Doxorubicin+Kersetin+Resveratrol				*p.
	Mean	SD	Median	Range	Mean	SD	Median	Range	Mean	SD	Median	Range	Mean	SD	Median	Range	Mean	SD	Median	Range	
IVSd (DÖ)	,135	,041	,135	,100	,125	,015	,125	,040	,128	,029	,135	,080	,127	,018	,120	,050	,125	,024	,130	,070	,965
IVSd (DS)	,130	,041	,120	,090	,105	,019	,110	,050	,127	,018	,120	,050	,112	,018	,115	,040	,120	,024	,125	,070	,427
IVSs (DÖ)	,137	,033	,130	,090	,138	,015	,135	,040	,138	,019	,135	,050	,162	,031	,150	,090	#,155	,015	,155	,040	,273
IVSs (DS)	,135	,028	,140	,080	,123	,026	,130	,070	,145	,016	,150	,040	,132	,018	,120	,040	,128	,015	,125	,040	,496
LVIDd (DÖ)	,487b	,108	,495	,270	,537a	,079	,540	,240	,420b	,050	,405	,130	,552a	,086	,550	,230	,482b	,071	,505	,180	,074
LVIDd (DS)	,483c	,029	,480	,080	,583a	,096	,560	,270	,457c	,067	,455	,150	,618a	,079	,595	,210	,510b	,057	,505	,170	,002
LVIDs (DÖ)	,268	,083	,300	,200	#,305	,062	,310	,150	,230	,043	,220	,120	#,308	,080	,315	,240	,283	,049	,300	,130	,255
LVIDs (DS)	,268b	,030	,275	,080	,433a	,069	,435	,210	,282b	,044	,280	,120	,408a	,059	,390	,170	,322b	,051	,310	,150	,001
LVPWd (DÖ)	,150	,037	,145	,100	,168	,041	,165	,120	,200	,035	,195	,080	#,168	,028	,170	,070	,153	,015	,150	,040	,089
LVPWd (DS)	,157b	,020	,160	,050	,160b	,038	,150	,110	,212a	,050	,200	,130	,138b	,008	,140	,020	,158b	,035	,155	,100	,012
LVPWs (DÖ)	,173	,041	,165	,120	#,237	,066	,230	,170	,220	,035	,210	,090	,197	,016	,200	,040	,183	,035	,200	,080	,085
LVPWs (DS)	,178	,036	,180	,100	,140	,023	,140	,060	,203	,034	,210	,080	,173	,032	,160	,090	,185	,047	,165	,120	,063
EDV (DÖ)	,305	,165	,300	,400	,385	,146	,370	,440	,192	,066	,170	,170	,422	,172	,400	,460	,287	,107	,310	,270	,061
EDV (DS)	,277	,050	,275	,130	,495	,245	,410	,670	,245	,098	,240	,210	,572	,224	,495	,590	,325	,106	,310	,310	,006
ESV (DÖ)	,062	,040	,070	,100	#,082	,044	,080	,110	,033	,020	,025	,050	#,085	,054	,080	,160	,062	,029	,065	,080	,183
ESV (DS)	,055	,015	,055	,040	,210	,097	,200	,290	,062	,028	,060	,080	,180	,082	,150	,230	,092	,042	,080	,120	,001
EF (DÖ)	81,607	6,325	79,380	15,130	#79,802	5,689	77,595	15,460	#82,363	4,234	82,785	10,990	#81,092	6,738	79,435	17,810	78,692	3,523	80,565	7,990	,782
EF (DS)	80,785	6,134	81,830	18,390	57,182	6,127	56,280	14,910	74,240	6,995	75,775	16,900	68,700	4,760	67,330	11,530	72,270	7,883	68,450	18,850	,001
SV (DÖ)	,243	,127	,230	,320	#,308	,112	,305	,350	,157	,052	,140	,130	,335	,131	,310	,320	,223	,085	,240	,230	,054
SV (DS)	,225	,043	,225	,130	,285	,153	,210	,380	,155	,071	,120	,150	,390	,143	,325	,380	,237	,074	,240	,210	,012
%FS (DÖ)	45,275	6,812	42,665	15,930	#43,433	6,352	40,780	17,020	#45,487	4,353	45,775	11,110	#45,187	8,209	42,505	21,690	41,832	3,164	43,540	6,960	,801
%FS (DS)	44,262	6,121	44,835	18,530	26,063	3,776	25,515	8,900	38,082	5,825	39,065	14,090	33,855	3,561	32,760	8,670	36,767	6,952	33,240	16,980	,001

* Kruskal-Wallis H testine göre gruplar arası anlamlılık düzeyi; a,b Bonferroni Post-Hoc testine göre gruplar arası farkı gösterir

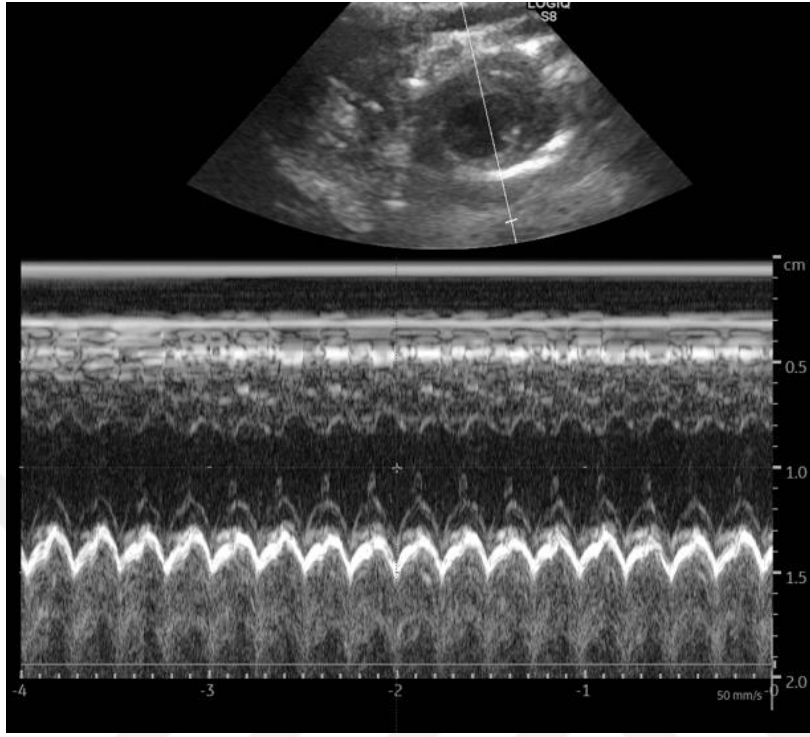
Wilcoxon testi sonucuna göre "Deney Öncesi-Sonrası" arasındaki anlamlı farkın varlığını gösterir; SD: Standard Deviation; DÖ: Deney Öncesi; DS: Deney sonrası

Tablo 8. Ekokardiyografi parametrelerinin deney öncesi ve deney sonrası ölçümleri

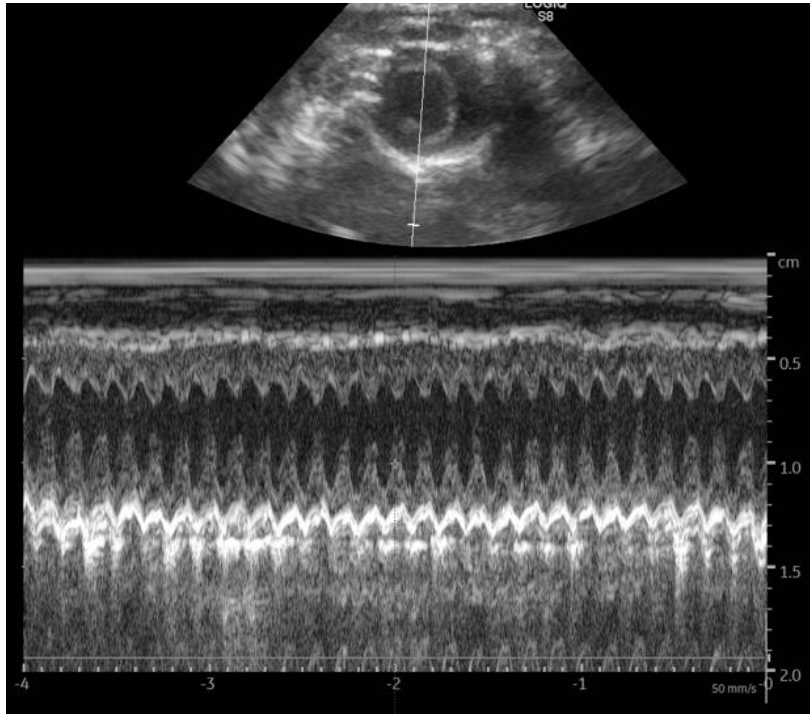
Yukarıdaki tabloda; Ekokardiyografi değerlerinin gruplar arası ve deney öncesi – deney sonrası ölçümlerinin iki yönlü karşılaştırma sonuçları verilmiştir.

Gruplar arası karşılaştırma sonuçları:

LVIDd, LVIDs, LVPWd, EDV, ESV, EF, SV ve %FS'nin deney sonrası ölçümünde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 11. Kontrol grubuna ait ekokardiyografi görüntüsü



Şekil 12. Doksorubisin grubuna ait ekokardiyografi görüntüsü

4.4 Biyokimyasal Bulgular

Sakrifikasyon öncesi hayvanlardan alınan kanlardan rutin biyokimya ve ELISA ölçümleri yapıldı.

Tablo 9. Biyokimyasal değerlerin gruplar arası karşılaştırma sonuçları

	Grup	Mean	Std. Dev.	Median	Min.	Max.	*p.
K ⁺	Kontrol	5,022 a	,576	5,100	4,100	5,700	,001
	Dokso rubisin	3,967 b	,327	3,900	3,600	4,400	
	Dokso rubisin+Kersetin	4,100 b	,260	4,100	3,800	4,600	
	Dokso rubisin+Resveratrol	4,178 b	,192	4,200	4,000	4,600	
	Dokso rubisin+Kersetin+Resveratrol	4,100 b	,719	4,000	3,400	5,600	
BUN	Kontrol	21,667 c	4,546	22,000	16,000	27,000	,030
	Dokso rubisin	31,889 a	9,649	27,000	21,000	46,000	
	Dokso rubisin+Kersetin	21,444 c	4,187	20,000	18,000	30,000	
	Dokso rubisin+Resveratrol	26,222 b	4,893	26,000	19,000	35,000	
	Dokso rubisin+Kersetin+Resveratrol	25,889 b	9,307	21,000	16,000	38,000	
CRE	Kontrol	,240 c	,066	,260	,160	,310	,016
	Dokso rubisin	,349 a	,114	,340	,250	,600	
	Dokso rubisin+Kersetin	,270 b	,030	,270	,230	,320	
	Dokso rubisin+Resveratrol	,267 b	,025	,270	,220	,310	
	Dokso rubisin+Kersetin+Resveratrol	,320 a	,058	,300	,230	,410	
ALT	Kontrol	48,000	9,317	48,000	37,000	58,000	,942
	Dokso rubisin	49,556	7,764	47,000	40,000	64,000	
	Dokso rubisin+Kersetin	47,000	9,874	43,000	35,000	67,000	
	Dokso rubisin+Resveratrol	49,667	8,201	45,000	41,000	67,000	
	Dokso rubisin+Kersetin+Resveratrol	47,222	8,212	47,000	34,000	61,000	
AST	Kontrol	151,500 b	39,384	137,000	116,000	203,000	,013
	Dokso rubisin	211,111 a	68,954	189,000	108,000	311,000	
	Dokso rubisin+Kersetin	153,556 b	27,749	155,000	116,000	206,000	
	Dokso rubisin+Resveratrol	145,444 b	23,287	133,000	123,000	194,000	
	Dokso rubisin+Kersetin+Resveratrol	154,111 b	34,454	153,000	105,000	200,000	
LDH	Kontrol	1898,667	887,744	1800,500	1046,000	2857,000	,117
	Dokso rubisin	2977,000	1184,571	3135,000	1512,000	4426,000	
	Dokso rubisin+Kersetin	1963,444	1007,714	1611,000	1240,000	4500,000	
	Dokso rubisin+Resveratrol	1863,000	1013,633	1573,000	1260,000	4500,000	
	Dokso rubisin+Kersetin+Resveratrol	1903,000	893,630	1501,000	903,000	3297,000	

CK	Kontrol	1691,500 b	520,643	1524,000	1113,000	2590,000	,032
	Dokso r ubisin	2934,222 a	1036,828	3103,000	1263,000	4422,000	
	Dokso r ubisin+Kersetin	1972,875 b	419,176	2115,000	1363,000	2538,000	
	Dokso r ubisin+Resveratrol	2018,778 b	820,599	1636,000	1173,000	3318,000	
	Dokso r ubisin+Kersetin+Resveratrol	1803,000 b	1025,772	1643,000	372,000	3721,000	
CK-MB	Kontrol	1923,833 b	368,979	1832,000	1538,000	2512,000	,026
	Dokso r ubisin	3243,000 a	1256,297	3208,000	1663,000	4677,000	
	Dokso r ubisin+Kersetin	2101,667 b	618,556	2256,000	1279,000	2960,000	
	Dokso r ubisin+Resveratrol	2071,333 b	834,518	1778,000	1209,000	3921,000	
	Dokso r ubisin+Kersetin+Resveratrol	2076,250 b	990,627	1718,500	1045,000	3992,000	
Trop-I	Kontrol	32,919 c	8,880	33,557	22,660	44,586	,039
	Dokso r ubisin	99,796 a	53,105	79,690	52,866	228,704	
	Dokso r ubisin+Kersetin	87,530 a	38,852	70,272	35,053	155,178	
	Dokso r ubisin+Resveratrol	91,919 a	46,712	79,690	24,812	161,169	
	Dokso r ubisin+Kersetin+Resveratrol	71,450 b	37,184	72,709	17,117	145,834	
IL-12	Kontrol	3,167 c	1,487	2,786	1,415	5,685	,030
	Dokso r ubisin	11,077 a	6,998	8,172	2,228	20,367	
	Dokso r ubisin+Kersetin	6,774 b	3,446	6,077	3,138	11,788	
	Dokso r ubisin+Resveratrol	7,874 b	4,231	8,655	1,563	12,864	
	Dokso r ubisin+Kersetin+Resveratrol	7,111 b	3,045	7,145	3,213	11,632	
BNP	Kontrol	67,597c	36,621	66,149	26,987	129,563	,033
	Dokso r ubisin	172,961a	75,442	172,097	72,064	280,055	
	Dokso r ubisin+Kersetin	131,124b	75,570	133,373	11,787	238,687	
	Dokso r ubisin+Resveratrol	105,771b	53,611	109,137	19,167	185,703	
	Dokso r ubisin+Kersetin+Resveratrol	76,868c	47,975	84,419	12,637	156,760	
IL-17	Kontrol	17,551	4,351	17,429	12,660	23,886	,198
	Dokso r ubisin	89,731	143,923	15,357	13,294	369,334	
	Dokso r ubisin+Kersetin	16,627	6,438	13,294	11,649	29,144	
	Dokso r ubisin+Resveratrol	30,110	26,075	17,841	11,239	88,484	
	Dokso r ubisin+Kersetin+Resveratrol	41,095	34,181	24,724	12,265	104,988	
IL-10	Kontrol	170,7689 a	48,2338	177,1395	103,2178	232,2681	,001
	Dokso r ubisin	13,8544 c	12,0606	9,7689	2,6065	29,3396	
	Dokso r ubisin+Kersetin	125,5985 b	15,5061	127,2641	102,9204	145,1702	
	Dokso r ubisin+Resveratrol	94,8569 b	30,9969	87,2100	65,7226	151,5190	
	Dokso r ubisin+Kersetin+Resveratrol	86,6432 b	21,6115	88,5406	54,3155	119,0234	

* *Kruskal-Wallis H testine göre gruplar arası anlamlılık düzeyi;*
a,b: Bonferroni Post-Hoc testine göre gruplar arası farkı gösterir

Bütün hayvanların potasyum (K^+) değeri normal aralıkta olmasına rağmen kontrol grubu harici grupların K^+ değeri daha düşük bulunarak kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmuştur ($p=0,001$). Doksorubisin, K^+ gibi elektrolitlerin idrar ile daha fazla atılmasını sağlayarak kanda azalmasına sebep olur. Aynı zamanda doksorubisin'in nefrotoksik etkisi doğrudan böbreğin süzme işlevini bozarak elektrolit bozukluğuna sebep olabilir.

Bütün hayvanların üre (BUN) değeri normal aralıkta olmasına rağmen doksorubisin grubunda üre değeri daha yüksek bulunarak diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmuştur ($p=0,030$). Kardiyomiyopati sol ventrikül disfonksiyonu oluşturarak böbreklere gelen kan miktarını azaltır. Bu durum böbreğin süzme işlevini bozar.

Bütün hayvanların kreatinin değeri normal aralıkta olmasına rağmen doksorubisin ve Doksorubisin + Kersetin + Resveratrol gruplarında kreatinin değeri daha yüksek bulunarak diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmuştur ($p=0,016$). Kardiyomiyopati sol ventrikül disfonksiyonu oluşturarak böbreklere gelen kan miktarını azaltır. Bu durum erken dönemde böbrek fonksiyon testlerini bozar. İlerleyen dönemde böbrek yetmezliği ile sonuçlanır.

AST, CK, CK-MB, IL-12 ve değerleri doksorubisin grubunda diğer gruplara göre daha yüksek bulunarak diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmuştur ($p<0,05$). AST ve CK spesifik olmayan kas yıkım ürünleridir. Kalp, karaciğer ve kas hastalıklarında artar. Serum seviyelerinin

artması birçok faktörden etkilenir. CK-MB ise kalp hastalıkları için daha spesifiktir.

Troponin I değeri; Doksorubisin, Doksorubisin + Kersetin ve Doksorubisin + Resveratrol gruplarında daha yüksek bulunarak diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmuştur ($p=0,039$). Troponin I, kalbe spesifik bir markerdir. Akut miyocard enfarktüsü başta olmak üzere hücre ölümü görülen birçok kalp hastalığında artar. Kontrol grubu ve doksorubisin + kersetin + resveratrol grubunda troponin I artışının istatistiksel olarak anlamlı olmaması kalp yapısının korunduğunu gösterir.

Brain natriüretic peptide (BNP) değeri, doksorubisin grubunda daha yüksek bulunarak diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmuştur ($p=0,033$). BNP, kalp yetmezliğinin öncül belirteçlerinden birisidir. Doksorubisin grubunda, anlamlı BNP artışı olması bu gruptaki hayvanlarda zamanla kalp yetmezliği oluşacağını erken belirteci olabilir.

IL-10 değeri doksorubisin grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur ($p=0,001$). IL-10 antiinflamatuvar bir markerdir. Artan IL-10 düzeyleri miyokardial inflamasyonu hafifletir [71].

Buna karşın ALT, LDH ve IL-17 değerlerinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). ALT ve LDH kalbe spesifik olmayan bir kas yıkım ürünüdür. Kalp, karaciğer ve kas hastalıklarında artar. IL-17 ise proapoptotik bir markerdir. Üç parametre de doksorubisin grubunda artmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir. Uygulanan kümülatif

doksorubisin dozunun artması zamanla ALT, LDH ve IL-17 değerlerinde de anlamlı sonuç verebilir.



5. TARTIŞMA

Kardiyomiyopati, kalbin kas ve iletim sistemi ile ilgili bir hastalık grubudur. Hastalığın ilerleyen safhalarında kardiyomiyopatilerin tamamı kalp yetmezliği oluşturarak ciddi morbidite ve mortaliteye sebep olur. Kardiyomiyopatiler konjenital veya edinilmiş olabilir. Dilate kardiyomiyopati, hipertrofik kardiyomiyopati, restriktif kardiyomiyopati ve aritmojenik sağ ventriküler kardiyomiyopati gibi türleri vardır [72].

Çoğu kardiyomiyopati türü erken dönemde kendine has sistemik belirti vermeyebilir. Hastalar genellikle klasik kalp yetmezliğinin erken dönem semptomları ile hekime başvurur. Bu semptomlar yorgunluk, nefes darlığı, öksürük ve ödem gibi nonspesifik semptomlardır [72]. Kardiyomiyopati tanısı için anamnezin yanısıra elektrokardiyografi, biyokimya ve ekokardiyografi kullanılabilir [73].

Dilate kardiyomiyopati en sık görülen kardiyomiyopati tipidir. 100.000 yetişkinde 5-8 arasında görülür. Asemptomatik olup kliniğe başvurmayan vakalar düşünüldüğünde, gerçek insidans tespit edilenden çok daha fazladır. Amerika Birleşik Devletleri'nde tüm kalp hastalıkları içinde koroner arter hastalığı ve hipertansiyonun ardından gelen önemli bir kalp yetmezliği sebebidir [74].

Dilate kardiyomiyopati, anormal yüklenme durumları olmayan ve koroner arter hastalığı ile açıklanamayan kalp kası fonksiyon bozukluğu ile karakterize klinik bir tanıdır [75]. Dilate kardiyomiyopati tanısı için gerekli olan sol ventrikül dilatasyonu; vücut yüzey alanı, yaş ve cinsiyete bağlı düzeltilen değerlere göre

normalden büyük diyastol sonu hacimleri veya çapları ile tanımlanır [76]. Dilate kardiyomiopati'nin en sık sebepleri idiyopatik ve ailesel nedenlerdir. İnvaziv ve noninvaziv yöntemler kullanılarak DKMP etiolojisinin açıklanabilmesi, hasta bakımını ve hastalığın prognozunu iyileştirir [75]. 2015 yılında yayınlanan 'Küresel Hastalık Yüğü' adlı çalışmada dünyada 2.5 milyon kardiyomiopati hastası olabileceği belirtilmiştir. Kardiyomiopatinin görülme sıklığı son 10 yılda %27 oranında artmıştır [77].

Dilate kardiyomiopati hastaları sıklıkla 20-50 yaşlar arasında tanı konan hastalardır [78]. Dilate kardiyomiopati'den kaynaklanan kalp yetmezliğinin %70'i dilate kardiyomiopati'de meydana gelen işlev bozukluğundan, %30'u ise kardiyomiopatilerde oluşan aritmilerden kaynaklanır [79].

Gelişmiş ülkelerde DKMP'ye bağlı ölüm oranı giderek azalmaktadır. Bunun sebebi gelişen farmakolojik tedaviler, implante edilebilen kardiyoverter defibrilatörler (ICD) ve artan kalp nakli oranlarıdır [77].

Dilate kardiyomiopati'de meydana gelen kalp hasarı, ventriculus sinister'in fibrozisi ve yeniden şekillenmesinden kaynaklanır. İlerleyen dönemde ventriculus sinister doğal yapısını kaybederek küresel bir şekil alır. Son dönemde ise atım hacminde ve kalp debisinde azalma, ventriküler dolunda bozulma ve diyastol sonu basıncında artış görülür. Ventriküler gevşemenin bozulması hızlı ventriküler dolumun azalmasına sebep olur. Vücutta buna cevap olarak sistemik vasküler direnç, venöz basınç ve kan hacmi artar [75].

Kusurlu kuvvet iletimi hipotezine göre hücre iskeleti, sarkomerden hücre dışı matrikse kuvvet aktarımı sağlar. Miyositlerin mekanik stresten korunması için de destek görevi görür. Hücre iskeletini oluşturan proteinlerde meydana gelen bozulmalar kuvvet aktarımını ve fiziksel strese karşı direnci azaltarak dilate kardiyomiyopatiye neden olur. Sarkomeri oluşturan proteinler ve bunları kodlayan genler dilate kardiyomiyopati ile ilişkilendirilmişlerdir [80], [81].

Sebebi ne olursa olsun miyokardın hasar görmesi inflamasyonu uyarır. Hasarlı miyokardiumun tamiri için bağışıklık hücreleri bölgeye gelir [82]. Bu hücreler arasında mast hücreleri, makrofajlar, T lenfositler ve T helper hücreleri bulunur [83].

Hasarlı bölgedeki inflamasyon sonucunda fibrozis oluşur. Fibrozis, kardiyomiyopatinin karakteristik patolojik özelliğidir [76]. Bu çalışmada da kardiyomiyopati oluşturulan hayvanlarda başlangıçta daha az olmak üzere kümülatif doza bağımlı olarak ilerleyen fibrozis görüldü.

Dilate kardiyomiyopati toksin ve ilaçlara bağılı olarak da ortaya çıkabilir. Dilate kardiyomiyopati'nin en sık sebep olan antrasiklinler arasında doksorubisin, epirubisin ve idarubisin bulunur. Doksorubisin, birçok çocukluk çağı ve yetişkin dönemde ortaya çıkan kanserlerde kullanılabilir. Ancak kümülatif, doza bağılı ve ilerleyici miyokard hasarı oluşturur. Bu hasar son dönemde kalp yetmezliği ile sonuçlanır [76]. Ciddi yan etkilerinden ötürü ömür boyu kümülatif doz sınırı metrekare başına 450-550 mg'dır [84].

Doksorubisin, DNA ve tip II topoizomeraz'a bağlanarak DNA çift sarmalında kırıklara ve transkriptom değişikliklerine sebep olur. Bu değişiklikler mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna, reaktif oksijen ürünleri oluşumuna ve son dönemde kalp hasarı hücrelerinin ölümüne neden olur [85].

Doksorubisin kullanılan çocukluk çağı kanserlerinde, hastaların yarıdan fazlası antrasiklin türevi olan doksorubisin ve türevlerini kullanır. Hastaların %80'den fazlası hayatta kalır. Ancak %60'a yakınında miyosit nekrozuna, apoptoza, hipertrofiye, fibrozise, venticulus sinister disfonksiyonuna, dilate kardiyomiyopati'ye veya kalp yetmezliğine sebep olan en az bir tür kalp işlev bozukluğu gelişir [86], [87].

Biyopsilerde sitozolik vakuolizasyon, miyofibrillerin parçalanması ve hücresel şişme gibi kardiyotoksisite belirtileri görülebilir. Troponin I, miyokardiyal hasarın bir serum belirtecidir. Doksorubisin toksisitesinin dilate kardiyomiyopati'ye dönüşmesini öngörmeye yardımcıdır [88]. Cardinale ve arkadaşlarının belirttiği gibi, bu çalışmada da gibi kardiyomiyopatili kalp kaslarında hücresel şişme, miyofibrillerde düzensizleşme görüldü. Ayrıca kardiyotoksisiteye bağlı olarak doksorubisin verilerek kardiyomiyopati oluşturulan sıçanlarda troponin I düzeyinde anlamlı artışlar görüldü.

Dilate kardiyomiyopatide tedavinin yetersiz olması birçok araştırmacıyı birtakım başka ajanlar kullanmaya yönlendirmiştir. Bunlardan en önemlileri bir polifenolik bileşik olan resveratrol ve bir flavonoid olan kersetin'dir [89].

Meyve ve sebzelerde bulunması nedeniyle kersetin; akciğer, meme, prostat ve kolon kanserlerine yakalanma riskini azaltır. Birçok araştırmacı da flavonoidler'in bu etkiden sorumlu olabileceğini düşünmektedir. Çünkü flavonoidler hücre döngüsü ve apoptoz gibi karsinogenez ile ilgili mekanizmalar üzerine etkilidir [90]. Bu çalışmada da apoptozu kersetin, resveratrol ve kersetin+resveratrol kombinasyonu vererek önlemeye çalıştık.

Biyoflavonoidler ilk olarak 1930 yılında Nobel ödüllü bilim adamı Albert Szent Gyorgyi tarafından keşfedilmiştir. Flavonoidler değişken fenolik yapıya sahiptir. Başta üzüm olmak üzere çeşitli meyve, sebze, tahıl ve çayda bulunur. Bitkilerin çekici renklerinden sorumlu 4000'in üzerinde flavonoid tanımlanmıştır. Kersetin en iyi tanımlanan flavonoidlerden biridir [91].

Flavonoidler, heterosiklik bir piron halkası ile bağlanan iki benzen halkasından oluşan ortak bir flavon çekirdeğine sahiptir. Hayvanlar flavon çekirdeğini sentezleyemediği için sadece bitkilerde bulunur [92].

Kersetin, TNF- α üretimini ve gen ekspresyonunu inhibe eder. TNF- α bir proinflatuar sitokindir. Başlıca kronik inflamatuar hastalıkların patogenezinde rol oynar [93]. Bu durum flavonoidlerin bağışıklık tepkisini düzenleme kapasitesini ve potansiyel antiinflamatuar etkilerini gösterir [94].

Kersetin, normal oksijen metabolizması sırasında üretilen veya hasar sonucu oluşan reaktif oksijen ürünlerine karşı en etkili antioksidan gibi görünmektedir [95]. Reaktif oksijen ürünlerinin hücrede oluşturduğu en önemli mekanizma hücre ölümüne sebep olan lipid peroksidasyonudur. Canlılar bunu

engellemek için antioksidan sistemler geliştirmişlerdir [96]. Kersetin, A vitamini ve C vitamini bahsedilen antioksidan sistemin çalışmasına katkı sağlar [97].

Nitrik oksit, endotel hücreleri ve makrofajlar başta olmak üzere birçok hücre tarafından sentezlenebilir. Nitrik oksit uygun dozda damarlarda vazodilatasyona sebep olur. Ancak makrofajlarda induklenebilir NOS tarafından üretilen yüksek miktarda nitrik oksit oksidatif hasara neden olur. Nitrik oksit, serbest radikallerle reaksiyona girerek daha zararlı bir bileşik olan peroksinitrit'e dönüşür. Peroksinitrit, LDL'yi oksitler. Bu da hücre membranında irreversibl hasara sebep olur. Kersetin, bahsedilen serbest radikallerin temizlenmesini sağlar [98].

Fransız toplumunda yüksek miktarda yağ tüketimine ve tütün ürünleri kullanımına rağmen koroner kalp hastalığı riski görece düşük bulunmuştur. Literatürde bu durum Fransız paradoksu olarak adlandırılır ve kırmızı şarap tüketimi ile ilişkilendirilir [99]. Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) çeşitli biyoaktivitelere sahip doğal bir polifenolik fitokimyasaldır. Üzüm ve yer fıstığında bolca bulunur. Metilen köprüsüyle birleştirilen 2 aromatik halkadan oluşan stilben ailesinin bir üyesidir. Resveratrol aynı zamanda mantar enfeksiyonlarının ilerlemesini önleyen viniferinlerin ana molekülüdür [100].

Trombositler, adenzin difosfat (ADP), kollajen ve trombin gibi birçok faktör ile aktiveleşebilir. Aktive edilmiş trombositler ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişki gösterilmiştir. Resveratrol tedavisi, trombositlerin kollajen ve fibrinojene yapışmasını doza bağlı olmayan bir şekilde inhibe eder [101].

Prostaglandinler, inflamatuvar süreçlere eşlik eder. Resveratrol, lökositlerde indüklenen prostaglandin E2 üretimini doza bağlı olarak baskılar. Resveratrol etkilerinin bir kısmını, prostaglandin aktivitesinin baskılayarak gösteriyor olabilir. Resveratrol ayrıca prostaglandin sentezini artıran ve inflamasyon durumunda düzeyi artan siklooksijenaz 2'nin ekspresyonunu da azaltır [102]. TNF- α ve interlökin-1 gibi sitokinlerin inflamatuvar etkilerini de baskılar [103].

Bu çalışmada, doksorubisin ve kersetinin farklı parametreler üzerine değişken derecede etkili olduğu gösterilmiştir. Bu durum kersetin ve resveratrol'ün kalp koruyucu etkilerini göstermektedir. Günümüzde doksorubisin kardiyotoksitesini geri çevirebilen bir ajan bulunmamaktadır. Bu yüzden kersetin ve resveratrol'ün, doksorubisin'e bağlı toksik etkilerin başlamasını önlemek amacıyla, doksorubisin tedavisi ile aynı anda başlaması faydalı olacaktır. Kardiyotoksitenin başlamasını engelleyen bu uygulama ile uzun dönem kardiyak işlev bozukluğunun oluşması da engellenebilir [104]. Birçok parametrede kersetin ve resveratrol'ün kombine uygulaması daha yararlı sonuç vermektedir.

Anish Sharma ve arkadaşlarının (2020) yaptığı çalışmada doksorubisin grubunda ve doksorubisin+kersetin grubunda vücut ağırlığı/tibia uzunluğunda anlamlı bir artış izlenmemiştir. Kontrol grubuna göre doksorubisin grubunun kalp ağırlığı istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir [105]. Bir başka çalışmada ise doksorubisin uygulanan grupta kalp ağırlığı/vücut oranı artmıştır [104]. Çalışmamızda da sıçanların kalp ağırlığının, sıçanların canlı ağırlığına oranı bütün gruplarda kontrol grubuna göre artmıştır.

Tatlıdede ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları bir çalışmada vücut ağırlığı ölçümleri doksorubisin grubunda azalma göstermiştir [106]. Çalışmamızda sıçanların son canlı tartı değerinde doksorubisin ve doksorubisin+resveratrol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. ($p=0,003$) Kısa ve uzun süreli doksorubisin uygulamasını değerlendiren bir çalışmada, doksorubisin uygulanan bütün hayvanlarda kontrol grubuna göre kilo kaybı izlenmiştir [107]. Bu haliyle çalışmamız Tatlıdede ve arkadaşları ile uyumluluk göstermektedir.

Kardiyomiyopati modeli oluşturulan bir başka çalışmada doksorubisin grubunun kalp ağırlığında azalma görülmüştür [106]. Çalışmamızda doksorubisin grubunun kalp tartı ağırlıkları kontrol grubuna göre azalmış olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Doksorubisin dozunun ve uygulama süresinin artmasıyla birlikte doksorubisin grubundaki hayvanların kalp ağırlıkları giderek daha da azalabilir. Ayrıca hayvan kalplerinin ağırlıkları oldukça düşüktür. Ölçüm öncesinde hayvan kalpleri içerisinde kalan kan miktarı ölçüm sonuçlarını etkilemiş olabilir. Literatürde farklı sonuçların olmasının nedeni alınan doku miktarı ile ilişkili olabilir.

Yang li ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise doksorubisin uygulanan sıçanların ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalmasının azaldığı gösterilmiştir. (Yang li 2006) Çalışmamızda doksorubisin, doksorubisin+kersetin ve doksorubisin+resveratrol grubu için, deney öncesi ve deney sonrası ejeksiyon fraksiyonu değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$). Ancak doksorubisin grubunda görülen ejeksiyon fraksiyonu azalması, doksorubisin+kersetin ve doksorubisin+resveratrol grubunda görülenden daha

fazladır. Kersetin ve resveratrol uygulaması ventriküler dilatasyonu azaltır. Sol ventrikül sistolik fonksiyonunu iyileştirir. Kersetin ve resveratrol'ün daha yüksek dozda ve daha uzun süre uygulanması doksorubisin'in toksik etkilerinin oluşmasını engelleyebilir.

Shen ve arkadaşlarının yaptığı doksorubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan bir çalışmada doksorubisin verilen grupta belirgin nekroz ve fibrozis izlenmiştir [65]. Bir başka çalışmada da doksorubisin verilen hayvanlarda interstisyel fibrozis görülmüştür. İnterstisyel fibrozis oluşan kalplerde lezyon çevresinde hipertrofik ve atrofik miyocard lifleri, ayrıca dejenerasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmüştür. Bunlara ek olarak miyocard liflerinin seyrinde de bozulmalar görülmüştür [105]. Çalışmamızda ise kas liflerinin düzenleniminde bozulma, dejenerasyon ve nekrotik hücre varlığı gözlemlendi. Ayrıca kas lifleri arasında hücre infiltrasyonu belirgindi. Kersetin ve resveratrolün kalp koruyucu etkisi, diğer gruplarda normal kas lifi görünümü ve inflamatuvar hücrelerin olmamasıyla gösterildi. İnterstisyel ve perivasküler fibrozis, sol ventrikül işlev bozukluğuna sebep olan makrofaj ve fibroblastların aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir [108].

Kümülatif 15 mg/kg doksorubisin uygulanan bir çalışmada hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde miyokardiyal liflerde artış, miyokardiyal nekroz, miyosit kaybı ve vakuolar dejenerasyon görülmüştür [109]. Çalışmamızda hematoksilen-eozin boyaması yapılan kesitlerde yoğun eosinofilik boyanan nekrotik hücreler, kalp kasında yan dallanmalar ve dejenerasyon izlendi.

Yoshida ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada resveratrolün sıçan miyokardında inflamasyonu ve fibrozisi hafiflettiği gösterilmiştir [67]. Podyacheva ve arkadaşlarının (2022) yaptığı çalışmada ise kardiyomiyopatili sıçanlarda sitoplazmada belirgin vakuolizasyon ve nekroz izlenmiştir. Tedavi edilen gruplarda ise fokal nekroz izlenmiştir. Ayrıca kardiyomiyopati oluşturulan grupta kollajen miktarında artış bulunmuştur [31]. Çalışmamızda doksorubisin grubunda; fibrozis, vakuolizasyon ve nekroz izlenmiştir. Bu durum literatür ile uyumlu görünmektedir.

Kümülatif 15 mg/kg doksorubisin uygulanan bir çalışmada masson trichrome boyası ile fibrozis alanları istatistiksel olarak anlamlı artmış bulunmuştur [109]. Fatease ve arkadaşları yaptıkları çalışmada yapılan masson trichrome boyamasında doksorubisin uygulanan grupta fibrotik doku varlığını göstermişlerdir [104]. Bu durum doksorubisin uygulamasının kalp üzerinde oluşturduğu hasarın bir göstergesi olabilir. Çalışmamızda da doksorubisin grubunda masson trichrome boyamasına bağlı alan ölçümleri yapılmış ve doksorubisin grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir ($p=0,002$).

Bir başka çalışmada ise mallory azan boyaması ile kollajen birikimi gösterilmiştir. Doksorubisin grubunda interstisyel kollajen miktarı artarken, tedavi edilen gruplarda kollajen birikiminin görece daha az olduğu tespit edilmiştir. Histomorfometrik olarak görme alanı başına kollajen alanı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur [110]. Çalışmamızda doksorubisin grubunda görülen kollajen alanı diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı

yüksek bulunmuştur. Bu durum kardiyomiyopati patofizyolojisinde görülen kollajen birikiminin deney modelinde de oluştuğunu göstermektedir.

Doksohubisin verilen sıçanların sol ventrikül trabecula carnea'larında düzensiz çapraz çizgi boyama paternine sahip hücreler tek tek tanımlanmıştır [111]. Çalışmamızda picrosirius boyama ile ventrikül trabeküllerinde düzensiz çapraz çizgilenmeler ile perivasküler ve interstisel fibrozis gösterilmiştir. Arter çapı başına düşen fibrozis alanı ölçümünde (Alan/Çap) doksohubisin grubu diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

Doksohubisin kaynaklı kardiyotoksisite bulgularını inceleyen bir çalışmada picrosirius boyama ile kardiyomiyositler arasındaki kollajen gösterilmiştir [112]. Yine doksohubisin kaynaklı kardiyotoksisite bulgularını inceleyen bir çalışmada picrosirius boyama ile perivasküler fibrozis gösterilmiştir [113]. Bu çalışmada da doksohubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan grupta picrosirius red boyama yöntemi ile perivasküler ve interstisyel alanda belirgin fibrozis görülmekteydi.

Doksohubisin toksisitesi üzerine yapılan bir çalışmada doksohubisin verilen grupta TNF- α ve caspase-3 alan yüzdesi artmış olarak bulunmuştur [114]. Yine doksohubisin kullanılan başka bir çalışmada caspas 3 aktivitesi doksohubisin grubunda artmıştır [115]. Çalışmamızda da TNF- α ve caspase 3 immunohistokimyasal boyanma yoğunluğu doksohubisin grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada doksohubisin verilen sıçanlarda LVIDs ve LVIDd değerlerinde önemli bir artma, fraksiyonel kısalma değerlerinde azalma

gözlenmiştir [31]. Çalışmamızda LVIDs ve LVIDd değerlerinde kontrol grubunda sabit kalırken diğer bütün gruplarda artmıştır. LVIDd değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak LVIDs değerlerindeki artış doksorubisin grubu ve doksorubisin+resveratrol grubu için istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Bu durum doksorubisin grubu ve doksorubisin+resveratrol grubunda kalp içi dilatasyonun daha fazla olduğunu gösterir. Kalp içi dilatasyonun artması ilerleyen dönemde dilate kardiyomiyopati gelişimi için zemin hazırlar.

Bunun yanında septum interventriculare ve LVPW kalınlıklarında hafif azalma izlenmiştir [31]. Çalışmamızda doksorubisin+kersetin uygulanan grubun dışındaki diğer gruplarda IVSs ve bütün gruplarda IVSd kalınlığı deney öncesine göre azalmıştır. Ancak sadece doksorubisin+kersetin+resveratrol grubunda IVSs azalması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Sıçanların ekokardiyografi ile ölçülen septum interventriculare kalınlıkları ortalama 0,12-0,13 cm uzunluğundadır. Anestezi altındaki sıçanlarda hassas ölçümler yapabilmek oldukça zordur. Ayrıca anestezi için kullanılan ketamin'in taşikardi yapıcı etkisi vardır. Bu durumda ölçümler daha da zorlaşmaktadır. İstatistik sonucumuzda yer alan bu uyumsuzluk ekokardiyografinin ölçüm kısıtlılıklarından kaynaklanıyor olabilir.

Dilate kardiyomiyopati modeli oluşturulan bir çalışmada LVIDs ve LVIDd değerleri artarken, EF ve fraksiyonel kısalma değerleri azalmıştır [109]. Doksorubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan bir başka çalışmada LVIDs ve LVIDs ölçümleri artarken, ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalma azalmış olarak bulunmuştur [116].

Doksorubisin verme süresinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada LVIDs ve LVIDd değerleri arasında 6. haftada gruplar arasında fark yokken 12. haftada doksorubisin grubunda LVIDs ve LVIDd istatistiksel olarak anlamlı bir artmıştır [110]. Çalışmamızda LVIDs ve LVIDd ölçümleri doksorubisin grubu ve doksorubisin+resveratrol grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu durum kalp kasının kasılabilirliğinin azalması sonucu duvar kalınlığında incelmeye bağlı olabilir. Kalp kası kasılmakta zorlandıkça atım hacmi düşer ve kalp içerisinde biriken hacim artar. Bunun sonucunda kalbin iç çap ölçümleri de artar.

Yoshida ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada fraksiyonel kısalmanın doksorubisin grubunda azaldığı bulunmuştur [67]. Fraksiyonel kısalma = $[(LVIDd-LVIDs)/LVIDd] \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. Çalışmamızda kontrol grubu harici bütün gruplarda fraksiyonel kısalma azalmıştır. Doksorubisin grubu, doksorubisin+kersetin grubu ve doksorubisin+resveratrol grubunda fraksiyonel kısalma anlamlı olarak azalmıştır. Bu durum doksorubisin+kersetin ve doksorubisin+resveratrol grubunda da kardiyomiyopati ve buna bağlı sistolik işlev yetersizliği geliştiğini göstermektedir. Her ne kadar kersetin ve resveratrol, doksorubisin'in kardiyotoksik etkilerini önlemekte yetersiz gibi görünse de, doksorubisin grubunda fraksiyonel kısaltmada azalma diğer gruplara göre belirgin derecede düşüktür.

Kümülatif 20 mg/kg doksorubisin verilerek kardiyomiyopati modeli oluşturulan bir çalışmada LDH, CK ve AST düzeyi artmış bulunmuştur. Resveratrol ile tedavi edilen grupta ise ilgili parametreler azalmış bulunmuştur

[106]. Çalışmamızda ise CK ve AST düzeyi doksorubisin grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. ($p<0,05$) Hücre yıkımını gösteren biyokimyasal parametrelerin yükselmesi doksorubisin'in sitotoksik etkisinden ve buna bağlı olarak hayvanlarda gelişen kalp yetmezliği kaynaklı olabilir.

Yapılan bir çalışmada doksorubisin grubunda CK-MB ve LDH düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur [105]. Bu durum doksorubisin'in neden olduğu sitotoksikite ile açıklanabilir. Çalışmamızda doksorubisin grubunda LDH seviyesi diğer gruplara göre yüksek bulunmasına rağmen LDH seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir. Bu durum LDH'nin nonspesifik bir gösterge olması ve deney modeli ile ilişkilendirilebilir. Doksorubisin dozunun ve uygulama süresinin artırılması LDH değerleri için anlamlı istatistiksel sonuç verebilirdi. Laktat dehidrogenaz; vücutta kalp, karaciğer, böbrek, iskelet kasları ve eritrositlerde bulunur. Bu yüzden vücutta görülen birçok değişimden etkilenebilir. Laktat dehidrogenaz değeri nonspesifik bir belirteçdir [117]. Biyokimyasal olarak görülen bu uyumsuzluğun nedeni, doksorubisin'in böbrek üzerine olan toksik etkileri ve doksorubisin grubunun diğer gruplara göre daha fazla kilo kaybetmesi olabilir.

Shen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ideal doksorubisin modelleri arasında sağ kalım karşılaştırılmıştır. Aynı kümülatif dozda farklı uygulama metodlarının karşılaştırıldığı bu çalışmada BNP düzeyi her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) [65]. Çalışmamızda BNP düzeyleri doksorubisin grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı

yüksek bulunmuştur. Doksorubisin+kersetin ve doksorubisin+resveratrol grupları ise kontrol ve doksorubisin+kersetin+resveratrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). BNP, kalp yetmezliğinin erken dönem belirteçlerinden birisidir. Deney modelinin devam etmesi durumunda hayvanlarda kalp yetmezliği oluşacağının göstergesidir.

Yapılan bir çalışmada kardiyomiyopati oluşturulan grupta TNF- α , IL-12 ve IL-17 düzeyleri artmış, IL-10 düzeyi ise azalmış olarak izlenmiştir [71]. Bu durum kersetinin TNF- α üretimini inhibe ederek miyokarditi iyileştirdiğini göstermektedir. IL-10, monosit, makrofaj ve Th2 hücreleri tarafından üretilir. Çalışmada IL-10 düzeyi kersetin ile tedavi edilen grupta daha yüksek bulunmuştur. IL-10 antiinflamatuvar bir sitokindir. Diğer sitokinlerin üretilmesini ve çalışmasını engeller. Bu yüzden doksorubisin grubunda diğer gruplardan anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Çalışmamızda IL-10 düzeyi diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Bu durum literatür çalışmalarını desteklemektedir. TNF- α ve IL-12 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. IL-17 düzeyi doksorubisin grubunda en yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu haricindeki gruplarda ise yükselmiştir. Ancak bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değildir. Doksorubisin uygulama dozu ve süresinin değişmesi ilerleyen dönemde IL-17 düzeyinin de istatistiksel olarak anlamlı olmasını sağlayabilir.

Kardiyomiyopati modeli oluşturulan bir çalışmada troponin I düzeyi, doksorubisin uygulanan grupta önemli ölçüde yüksek bulunmuştur [104]. Çalışmamızda troponin I değeri; doksorubisin, doksorubisin+kersetin ve

doksorubisin+resveratrol gruplarında diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p=0,039$).

Doksorubisin'in nefrotoksisitesini araştıran bir çalışmada doksorubisin verilen grupta üre ve kreatinin parametrelerinde yükselme görülmüştür [118]. Çalışmamızda re ve kreatinin normal sınırlar içerisinde olmasına rağmen doksorubisin grubunda, diğer gruplara göre artmıştır. Doksorubisin ve kardiyotoksisite oluşturarak böbreğe gelen kan miktarını azaltır, hem de nefrotoksisite oluşturarak böbreğin süzme işlevini bozar. Kümülatif doksorubisin dozunun arttırılması böbrek fonksiyon testlerini normal aralığın üzerine çıkaracak Şekilde bozabilir. Ayrıca kreatinin bir kas yıkım ürünüdür. Böbrekte tübüler sekresyona uğrar. Kronik böbrek yetmezliği ve Őiddetli proteinüri varlığında kreatinin tübüler sekresyonu artar [119]. Kreatinin parametresinin değerlendirilmesinde doksorubisin'in kalp ve böbrek üzerine olan etkileri birlikte ele alınmalıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Doksozubisin verilerek oluşturulan kardiyomiyopati modelinde, kersetin ve resveratrol'ün kalp hasarı oluşmasını engelleyici etkileri araştırılmıştır.

Histomorfolojik değerlendirmede doksozubisin grubunda; kardiyotoksik etkiler net bir şekilde görülürken, doksozubisin+kersetin ve doksozubisin+resveratrol gruplarında görece daha az kardiyotoksik etkiler olduğu görüldü. Doksozubisin+kersetin+resveratrol grubunda ise kardiyotoksik etkiler kontrol grubuna en yakın seviyedeydi.

Ekokardiyografik ölçümlerde doksozubisin grubunda kardiyak morfoloji ve işlevin en fazla bozulduğu, doksozubisin+kersetin grubunda ve doksozubisin+resveratrol grubunda daha az bozulmuş olduğu görüldü. Doksozubisin+kersetin+resveratrol grubunda ise kardiyak morfoloji ve işlevin korunduğu görüldü.

Biyokimyasal analizlerde doksozubisin grubunda diğer gruplara göre belirgin farklılıklar gözlemlendi. Doksozubisin+kersetin ve doksozubisin+resveratrol grubunda izlenen değerler birbiri ile benzerdi. Doksozubisin+kersetin+resveratrol grubunda ise kontrol grubuna en yakın değerler izlendi. Bazı nonspesifik parametrelerde gruplar arası farklılık izlenmedi.

Çalışmamızda ulaşılan sonuçların desteklenmesi için daha fazla sayıda randomize kontrollü çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

7. KAYNAKÇA

- [1] Prof. Dr. Murat Sezer and Uzm. Dr. Emre Aslanger, *Braunwald Kalp Hastalıkları*, 9th ed. Nobel Tıp Kitabevi, 2015.
- [2] R. G. Weintraub, C. Semsarian, and P. Macdonald, 'Dilated cardiomyopathy', *The Lancet*, vol. 390, no. 10092, pp. 400–414, Jul. 2017, doi: 10.1016/S0140-6736(16)31713-5.
- [3] S. Heymans, N. K. Lakdawala, C. Tschöpe, and K. Klingel, 'Dilated cardiomyopathy: causes, mechanisms, and current and future treatment approaches.', *Lancet*, vol. 402, no. 10406, pp. 998–1011, Sep. 2023, doi: 10.1016/S0140-6736(23)01241-2.
- [4] D. Harding *et al.*, 'Dilated cardiomyopathy and chronic cardiac inflammation: Pathogenesis, diagnosis and therapy.', *J Intern Med*, vol. 293, no. 1, pp. 23–47, Jan. 2023, doi: 10.1111/joim.13556.
- [5] D. Reichart, C. Magnussen, T. Zeller, and S. Blankenberg, 'Dilated cardiomyopathy: from epidemiologic to genetic phenotypes: A translational review of current literature.', *J Intern Med*, vol. 286, no. 4, pp. 362–372, Oct. 2019, doi: 10.1111/joim.12944.
- [6] Y. Liu, W. Zhang, T. Hu, J. Ni, B. Xu, and W. Huang, 'A Doxorubicin-Induced Murine Model of Dilated Cardiomyopathy In Vivo.', *J Vis Exp*, no. 159, May 2020, doi: 10.3791/61158.
- [7] A.-M. Meredith and C. R. Dass, 'Increasing role of the cancer chemotherapeutic doxorubicin in cellular metabolism', *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 68, no. 6, pp. 729–741, May 2016, doi: 10.1111/jphp.12539.
- [8] W. Qi, W. Qi, D. Xiong, and M. Long, 'Quercetin: Its Antioxidant Mechanism, Antibacterial Properties and Potential Application in Prevention and Control of Toxipathy.', *Molecules*, vol. 27, no. 19, Oct. 2022, doi: 10.3390/molecules27196545.
- [9] D. A. Espírito-Santo *et al.*, 'Cardioprotective effect of the quercetin on cardiovascular remodeling and atherosclerosis in rodents fed a high-fat diet: A systematic review', *Chem Biol Interact*, vol. 384, p. 110700, Oct. 2023, doi: 10.1016/j.cbi.2023.110700.
- [10] Y. Zhou *et al.*, 'Advance in the pharmacological effects of quercetin in modulating oxidative stress and inflammation related disorders', *Phytotherapy Research*, vol. 37, no. 11. John Wiley and Sons Ltd, pp. 4999–5016, Nov. 01, 2023. doi: 10.1002/ptr.7966.

- [11] S. Fan *et al.*, 'Role of resveratrol in inhibiting pathological cardiac remodeling', *Frontiers in Pharmacology*, vol. 13. Frontiers Media S.A., Sep. 01, 2022. doi: 10.3389/fphar.2022.924473.
- [12] C. A. de la Lastra and I. Villegas, 'Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications', *Biochem Soc Trans*, vol. 35, no. 5, pp. 1156–1160, Nov. 2007, doi: 10.1042/BST0351156.
- [13] Prof. Dr. Hasan Ozan, *Ozan Anatomi*, 3rd ed. Ankara: Klinisyen Tıp Kitabevleri, 2014.
- [14] Keith L. Moore and T.V.N. Persaud, *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*, 2nd ed. Nobel Tıp Kitabevleri, 2009.
- [15] Michael H. Ross, Gordon I. Kaye, and Wojciech Pawlina, *Histology a text and atlas*, 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2003.
- [16] Luiz Carlos JUNQUEIRA and Jose CARNEIRO, *Basic Histology*, 11th ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003.
- [17] Michael H. Ross, *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Palme Yayıncılık, 2014.
- [18] Prof. Dr. Mehmet Yıldırım, *Topografik Anatomi*, 1st ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000.
- [19] Prof. Dr. Kaplan Arıncı and Prof. Dr. Alaittin Elhan, *Anatomi*, 7th ed. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2020.
- [20] Susan Standring, *Gray's Anatomy*, 40th ed. Elsevier, 2008.
- [21] Keith L. Moore, *Kliniğe Yönelik Anatomi*, 4th ed. Pennsylvania: Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
- [22] Prof. Dr. Yasin Arifoğlu, *Her Yönüyle Anatomi*, 2nd ed. İstanbul Tıp Kitabevleri, 2019.
- [23] K. B. Wallace, 'Doxorubicin-Induced Cardiac Mitochondrionopathy', *Pharmacol Toxicol*, vol. 93, no. 3, pp. 105–115, Sep. 2003, doi: 10.1034/j.1600-0773.2003.930301.x.
- [24] P. Elliott, 'Pathogenesis of Cardiotoxicity Induced by Anthracyclines', *Semin Oncol*, vol. 33, no. SUPPL. 8, pp. 2–7, Jun. 2006, doi: 10.1053/J.SEMINONCOL.2006.04.020.
- [25] J. M. Bos, J. A. Towbin, and M. J. Ackerman, 'Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Implications of Genetic Testing for Hypertrophic Cardiomyopathy', *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 54, no. 3. pp. 201–211, Jul. 14, 2009. doi: 10.1016/j.jacc.2009.02.075.

- [26] A. S. Herrey, 'Pregnancy in inherited and acquired cardiomyopathies', *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, vol. 28, no. 4, pp. 563–577, 2014, doi: 10.1016/j.bpobgyn.2014.03.010.
- [27] A. Radakrishnan, J. Dokko, P. Pastena, and A. P. Kalogeropoulos, 'Thromboembolism in peripartum cardiomyopathy: a systematic review', *Journal of Thoracic Disease*, vol. 16, no. 1. AME Publishing Company, pp. 645–660, Jan. 30, 2024. doi: 10.21037/jtd-23-945.
- [28] J. Li *et al.*, 'Generation of human induced pluripotent stem cell line from a patient with restrictive cardiomyopathy', *Stem Cell Res*, vol. 76, p. 103370, Apr. 2024, doi: 10.1016/j.scr.2024.103370.
- [29] J. Zhang *et al.*, 'Immune cells and related cytokines in dilated cardiomyopathy', *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 171. Elsevier Masson s.r.l., Feb. 01, 2024. doi: 10.1016/j.biopha.2024.116159.
- [30] E. Angeli *et al.*, 'The role of fibrosis in cardiomyopathies: an opportunity to develop novel biomarkers of disease activity', *Matrix Biology*, Feb. 2024, doi: 10.1016/j.matbio.2024.02.008.
- [31] E. Podyacheva *et al.*, 'Modeling Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy With Fibrotic Myocardial Damage in Wistar Rats', *Cardiol Res*, vol. 13, no. 6, pp. 339–356, Dec. 2022, doi: 10.14740/cr1416.
- [32] W. Zhang, Y. Zheng, F. Yan, M. Dong, and Y. Ren, 'Research progress of quercetin in cardiovascular disease', *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, vol. 10. Frontiers Media SA, 2023. doi: 10.3389/fcvm.2023.1203713.
- [33] G. Minotti, P. Menna, E. Salvatorelli, G. Cairo, and L. Gianni, 'Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity', *Pharmacol Rev*, vol. 56, no. 2, pp. 185–229, Jun. 2004, doi: 10.1124/pr.56.2.6.
- [34] S. Rivankar, 'An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy', *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, vol. 10, no. 4. Medknow Publications, pp. 853–858, Oct. 01, 2014. doi: 10.4103/0973-1482.139267.
- [35] S. Sanyakamdhorn, L. Bekale, D. Agudelo, and H. A. Tajmir-Riahi, 'Structural analysis of doxorubicin-polymer conjugates', *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 135, pp. 175–182, Nov. 2015, doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.07.070.
- [36] A. J. Smuder, 'Exercise stimulates beneficial adaptations to diminish doxorubicin-induced cellular toxicity', *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, vol. 317, no. 5. American Physiological Society, pp. R662–R672, 2019. doi: 10.1152/ajpregu.00161.2019.

- [37] K. J. M. Schimmel, D. J. Richel, R. B. A. van den Brink, and H. J. Guchelaar, 'Cardiotoxicity of cytotoxic drugs', *Cancer Treat Rev*, vol. 30, no. 2, pp. 181–191, 2004, doi: 10.1016/j.ctrv.2003.07.003.
- [38] C. Carvalho *et al.*, 'Doxorubicin: The Good, the Bad and the Ugly Effect', *Curr Med Chem*, vol. 16, no. 25, pp. 3267–3285, Sep. 2009, doi: 10.2174/092986709788803312.
- [39] T. Li and P. K. Singal, 'Adriamycin-Induced Early Changes in Myocardial Antioxidant Enzymes and Their Modulation by Probuco', *Circulation*, vol. 102, no. 17, pp. 2105–2110, Oct. 2000, doi: 10.1161/01.CIR.102.17.2105.
- [40] C. F. Thorn *et al.*, 'Doxorubicin pathways: Pharmacodynamics and adverse effects', *Pharmacogenet Genomics*, vol. 21, no. 7, pp. 440–446, 2011, doi: 10.1097/FPC.0b013e32833ffb56.
- [41] N. Koleini and E. Kardami, 'Oncotarget 46663 www.impactjournals.com/oncotarget Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity', 2017. [Online]. Available: www.impactjournals.com/oncotarget/
- [42] A. V. Anand David, R. Arulmoli, and S. Parasuraman, 'Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid', *Pharmacognosy Reviews*, vol. 10, no. 20. Medknow Publications, pp. 84–89, Jul. 01, 2016. doi: 10.4103/0973-7847.194044.
- [43] Y. Marunaka *et al.*, 'Actions of quercetin, a polyphenol, on blood pressure', *Molecules*, vol. 22, no. 2. MDPI AG, Feb. 01, 2017. doi: 10.3390/molecules22020209.
- [44] M. Reyes-Farias and C. Carrasco-Pozo, 'The anti-cancer effect of quercetin: Molecular implications in cancer metabolism', *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 13. MDPI AG, Jul. 01, 2019. doi: 10.3390/ijms20123177.
- [45] H. Yi *et al.*, 'The Therapeutic Effects and Mechanisms of Quercetin on Metabolic Diseases: Pharmacological Data and Clinical Evidence', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2021. Hindawi Limited, 2021. doi: 10.1155/2021/6678662.
- [46] W. Wang *et al.*, 'The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review', *Trends in Food Science and Technology*, vol. 56. Elsevier Ltd, pp. 21–38, Oct. 01, 2016. doi: 10.1016/j.tifs.2016.07.004.
- [47] B. Paul, I. Masih, J. Deopujari, and C. Charpentier, 'Occurrence of resveratrol and pterostilbene in age-old darakchasava, an ayurvedic medicine from India', 1999. [Online]. Available: www.elsevier.com/locate/jethpharm
- [48] Z. Kohandel, T. Farkhondeh, M. Aschner, A. M. Pourbagher-Shahri, and S. Samarghandian, 'STAT3 pathway as a molecular target for resveratrol in breast

cancer treatment', *Cancer Cell International*, vol. 21, no. 1. BioMed Central Ltd, Dec. 01, 2021. doi: 10.1186/s12935-021-02179-1.

- [49] E. Szliszka, Z. P. Czuba, M. Domino, B. Mazur, G. Zydowicz, and W. Krol, 'Ethanollic Extract of Propolis (EEP) Enhances the Apoptosis- Inducing Potential of TRAIL in Cancer Cells', *Molecules*, vol. 14, no. 2, pp. 738–754, Feb. 2009, doi: 10.3390/molecules.
- [50] J. Gambini *et al.*, 'Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2015. Hindawi Limited, 2015. doi: 10.1155/2015/837042.
- [51] L. Wei, S. Chai, C. Yue, H. Zhang, J. Li, and N. Qin, 'Resveratrol protects osteocytes against oxidative stress in ovariectomized rats through AMPK/JNK1-dependent pathway leading to promotion of autophagy and inhibition of apoptosis', *Cell Death Discov*, vol. 9, no. 1, Dec. 2023, doi: 10.1038/s41420-023-01331-2.
- [52] G. J. Soleas, E. P. Diamandis, and D. M. Goldberg, 'Resveratrol: A molecule whose time has come? And gone?', *Clin Biochem*, vol. 30, no. 2, pp. 91–113, Mar. 1997, doi: 10.1016/S0009-9120(96)00155-5.
- [53] G. J. Soleas, E. P. Diamandis, and D. M. Goldberg, 'Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention', *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, vol. 11, no. 5. pp. 287–313, 1997. doi: 10.1002/(SICI)1098-2825(1997)11:5<287::AID-JCLA6>3.0.CO;2-4.
- [54] Y. Yao, H. Yuan, C. Chen, J. Liang, and C. Li, 'Study of the Antioxidant Capacity and Oxidation Products of Resveratrol in Soybean Oil', *Foods*, vol. 13, no. 1, p. 29, Dec. 2023, doi: 10.3390/foods13010029.
- [55] K. P. L. Bhat, J. W. Kosmeder, and J. M. Pezzuto, 'Biological effects of resveratrol', *Antioxid Redox Signal*, vol. 3, no. 6, pp. 1041–1064, 2001, doi: 10.1089/152308601317203567.
- [56] K. Mizutani, K. Ikeda, Y. Kawai, and Y. Yamori, 'Protective effect of resveratrol on oxidative damage in male and female stroke-prone spontaneously hypertensive rats', *Clin Exp Pharmacol Physiol*, vol. 28, no. 1–2, pp. 55–59, 2001, doi: 10.1046/j.1440-1681.2001.03415.x.
- [57] J. Wu, Z.-R. Wang, T.-C. Hsieh, J. Bruder, J.-G. Zou, and Y.-Z. Huang, 'Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine (Review)', *Int J Mol Med*, Jul. 2001, doi: 10.3892/ijmm.8.1.3.
- [58] L. Frémont, 'Biological effects of resveratrol', *Life Sci*, vol. 66, no. 8, pp. 663–673, Jan. 2000, doi: 10.1016/S0024-3205(99)00410-5.

- [59] L. H. Opie and S. Lecour, 'The red wine hypothesis: From concepts to protective signalling molecules', *European Heart Journal*, vol. 28, no. 14. pp. 1683–1693, Jun. 2007. doi: 10.1093/eurheartj/ehm149.
- [60] Y. Li, Z. Cao, and H. Zhu, 'Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress', *Pharmacol Res*, vol. 53, no. 1, pp. 6–15, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.phrs.2005.08.002.
- [61] R. Nakata, S. Takahashi, and H. Inoue, 'Recent advances in the study on resveratrol', *Biol Pharm Bull*, vol. 35, no. 3, pp. 273–279, Mar. 2012, doi: 10.1248/BPB.35.273.
- [62] W. Qian *et al.*, 'Resveratrol slows the tumourigenesis of pancreatic cancer by inhibiting NFκB activation', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 127, p. 110116, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.biopha.2020.110116.
- [63] A. Movahed, L. Yu, S. J. Thandapilly, X. L. Louis, and T. Netticadan, 'Resveratrol protects adult cardiomyocytes against oxidative stress mediated cell injury', *Arch Biochem Biophys*, vol. 527, no. 2, pp. 74–80, Nov. 2012, doi: 10.1016/j.abb.2012.05.002.
- [64] N. Ratola, J. L. Faria, and A. Alves, 'Analysis and Quantification of trans-Resveratrol in Wines from Alentejo Region (Portugal)', *Food Technol. Biotechnol*, vol. 42, no. 2, pp. 125–130, 2004.
- [65] L. Shen, S. Lu, Y. Zhou, L. Li, Q. Xing, and Y. Xu, 'Developing a rat model of dilated cardiomyopathy with improved survival', *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, vol. 17, no. 12, pp. 975–983, Dec. 2016, doi: 10.1631/jzus.B1600257.
- [66] M. Milenković, N. Arsenović-Ranin, Z. Stojić-Vukanić, B. Bufan, D. Vučićević, and I. Jančić, 'Quercetin Ameliorates Experimental Autoimmune Myocarditis in Rats', *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, no. 3, p. 311, Sep. 2010, doi: 10.18433/J3VS3S.
- [67] Y. Yoshida, T. Shioi, and T. Izumi, 'Resveratrol ameliorates experimental autoimmune myocarditis.', *Circ J*, vol. 71, no. 3, pp. 397–404, Mar. 2007, doi: 10.1253/circj.71.397.
- [68] J. P. Bertinchant *et al.*, 'Evaluation of cardiac troponin I and T levels as markers of myocardial damage in doxorubicin-induced cardiomyopathy rats, and their relationship with echocardiographic and histological findings', *Clinica Chimica Acta*, vol. 329, no. 1–2, pp. 39–51, 2003, doi: 10.1016/S0009-8981(03)00013-5.
- [69] D. M. Rostom, N. Attia, H. M. Khalifa, M. W. Abou Nazel, and E. A. El Sabaawy, 'The Therapeutic Potential of Extracellular Vesicles Versus Mesenchymal Stem

Cells in Liver Damage', *Tissue Eng Regen Med*, vol. 17, no. 4, pp. 537–552, Aug. 2020, doi: 10.1007/s13770-020-00267-3.

- [70] F. M. Habib, D. R. Springall, G. J. Davies, C. M. Oakley, J. M. Polak, and M. H. Yacoub, 'Tumour necrosis factor and inducible nitric oxide synthase in dilated cardiomyopathy', *The Lancet*, vol. 347, no. 9009, pp. 1151–1155, Apr. 1996, doi: 10.1016/S0140-6736(96)90610-8.
- [71] M. Marina, A.-R. Nevena, S.-V. Zorica, B. Biljana, V. Dragana, and J. Ivan, 'Quercetin Ameliorates Experimental Autoimmune Myocarditis in Rats', 2010. [Online]. Available: www.cspsCanada.org
- [72] R. Wexler, T. Elton, A. Pleister, and D. Feldman, 'Cardiomyopathy: An Overview', 2009. [Online]. Available: <http://www.aafp.org/afp/20090501/778-s1.html>.
- [73] J. Brieler, M. A. Breeden, and J. Tucker, 'Cardiomyopathy: An Overview', 2017. [Online]. Available: www.aafp.org/afp.
- [74] G. W. Dec and V. Fuster, 'Idiopathic Dilated Cardiomyopathy', *New England Journal of Medicine*, vol. 331, no. 23, pp. 1564–1575, Dec. 1994, doi: 10.1056/NEJM199412083312307.
- [75] H.-P. Schultheiss *et al.*, 'Dilated cardiomyopathy', *Nat Rev Dis Primers*, vol. 5, no. 1, p. 32, May 2019, doi: 10.1038/s41572-019-0084-1.
- [76] Y. M. Pinto *et al.*, 'Proposal for a revised definition of dilated cardiomyopathy, hypokinetic non-dilated cardiomyopathy, and its implications for clinical practice: a position statement of the ESC working group on myocardial and pericardial diseases', *Eur Heart J*, vol. 37, no. 23, pp. 1850–1858, Jun. 2016, doi: 10.1093/eurheartj/ehv727.
- [77] T. Vos *et al.*, 'Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015', *The Lancet*, vol. 388, no. 10053, pp. 1545–1602, Oct. 2016, doi: 10.1016/S0140-6736(16)31678-6.
- [78] B. P. Halliday *et al.*, 'Sex- and age-based differences in the natural history and outcome of dilated cardiomyopathy', *Eur J Heart Fail*, vol. 20, no. 10, pp. 1392–1400, Oct. 2018, doi: 10.1002/ejhf.1216.
- [79] L. A. Saxon *et al.*, 'Predicting death from progressive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy', *Am J Cardiol*, vol. 72, no. 1, pp. 62–65, Jul. 1993, doi: 10.1016/0002-9149(93)90220-7.
- [80] R. H. Willott, A. V. Gomes, A. N. Chang, M. S. Parvatiyar, J. R. Pinto, and J. D. Potter, 'Mutations in Troponin that cause HCM, DCM AND RCM: What can we learn about thin filament function?', *J Mol Cell Cardiol*, vol. 48, no. 5, pp. 882–892, May 2010, doi: 10.1016/j.yjmcc.2009.10.031.

- [81] R. E. Hershberger *et al.*, 'Clinical and Functional Characterization of *TNNT2* Mutations Identified in Patients With Dilated Cardiomyopathy', *Circ Cardiovasc Genet*, vol. 2, no. 4, pp. 306–313, Aug. 2009, doi: 10.1161/CIRCGENETICS.108.846733.
- [82] M. Noutsias *et al.*, 'Expression of functional T-cell markers and T-cell receptor Vbeta repertoire in endomyocardial biopsies from patients presenting with acute myocarditis and dilated cardiomyopathy', *Eur J Heart Fail*, vol. 13, no. 6, pp. 611–618, Jun. 2011, doi: 10.1093/eurjhf/hfr014.
- [83] P. Liu *et al.*, 'The tyrosine kinase p56lck is essential in coxsackievirus B3-mediated heart disease', *Nat Med*, vol. 6, no. 4, pp. 429–434, Apr. 2000, doi: 10.1038/74689.
- [84] B. Cote, L. J. Carlson, D. A. Rao, and A. W. G. Alani, 'Combinatorial resveratrol and quercetin polymeric micelles mitigate doxorubicin induced cardiotoxicity in vitro and in vivo', *Journal of Controlled Release*, vol. 213, pp. 128–133, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.jconrel.2015.06.040.
- [85] S. Zhang *et al.*, 'Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity', *Nat Med*, vol. 18, no. 11, pp. 1639–1642, Nov. 2012, doi: 10.1038/nm.2919.
- [86] S. E. Lipshultz *et al.*, 'Chronic Progressive Cardiac Dysfunction Years After Doxorubicin Therapy for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 23, no. 12, pp. 2629–2636, Apr. 2005, doi: 10.1200/JCO.2005.12.121.
- [87] S. E. Lipshultz and M. J. Adams, 'Cardiotoxicity After Childhood Cancer: Beginning With the End in Mind', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 28, no. 8, pp. 1276–1281, Mar. 2010, doi: 10.1200/JCO.2009.26.5751.
- [88] D. Cardinale *et al.*, 'Prevention of High-Dose Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity in High-Risk Patients by Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition', *Circulation*, vol. 114, no. 23, pp. 2474–2481, Dec. 2006, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.635144.
- [89] L. Biasutto and M. Zoratti, 'Prodrugs of Quercetin and Resveratrol: A Strategy Under Development', *Curr Drug Metab*, vol. 15, no. 1, pp. 77–95, Feb. 2014, doi: 10.2174/1389200214666131211160005.
- [90] M. L. Neuhouser, 'Review: Dietary Flavonoids and Cancer Risk: Evidence From Human Population Studies', *Nutr Cancer*, vol. 50, no. 1, pp. 1–7, Sep. 2004, doi: 10.1207/s15327914nc5001_1.
- [91] P. Lakhanpal, D. Deepak, and K. Rai, 'Quercetin: A Versatile Flavonoid'.

- [92] N. Shrivastava, S. Singh Baghel, R. Singh Baghel, P. Agrawal, and S. Rajput, 'A review of quercetin: Antioxidant and anticancer properties', 2012. [Online]. Available: www.wjpps.com
- [93] M. IIO, Y. ONO, S. KAI, and M. FUKUMOTO, 'Effects of flavonoids on xanthine oxidation as well as on cytochrome c reduction by milk xanthine oxidase.', *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, vol. 32, no. 6, pp. 635–642, 1986, doi: 10.3177/jnsv.32.635.
- [94] K. T. Calamia, 'Current and Future Use of Anti-TNF Agents in the Treatment of Autoimmune, Inflammatory Disorders', in *Adamantiades-Behçet's Disease*, Boston: Kluwer Academic Publishers, pp. 545–549. doi: 10.1007/0-306-48382-3_110.
- [95] H. de Groot, 'Reactive oxygen species in tissue injury.', *Hepatogastroenterology*, vol. 41, no. 4, pp. 328–32, Aug. 1994.
- [96] B. Halliwell, 'How to characterize an antioxidant: an update', *Biochemical Society Symposia*, vol. 61, pp. 73–101, Nov. 1995, doi: 10.1042/bss0610073.
- [97] T. Bahoran, M. A. Soobrattee, V. Luximon-Ramma, and O. I. Aruoma, 'Free Radicals and Antioxidants in Cardiovascular Health and Disease', *Internet Journal of Medical Update - EJOURNAL*, vol. 1, no. 2, Nov. 2007, doi: 10.4314/ijmu.v1i2.39839.
- [98] Z. Shutenko *et al.*, 'Influence of the antioxidant quercetin in vivo on the level of nitric oxide determined by electron paramagnetic resonance in rat brain during global ischemia and reperfusion', *Biochem Pharmacol*, vol. 57, no. 2, pp. 199–208, Jan. 1999, doi: 10.1016/S0006-2952(98)00296-2.
- [99] J. Constant, 'Alcohol, ischemic heart disease, and the French paradox', *Coron Artery Dis*, vol. 8, no. 10, pp. 645–650, Oct. 1997, doi: 10.1097/00019501-199710000-00007.
- [100] R. E. King, J. A. Bomser, and D. B. Min, 'Bioactivity of resveratrol', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 5, no. 3. pp. 65–70, Jul. 2006. doi: 10.1111/j.1541-4337.2006.00001.x.
- [101] B. Olas, B. Wachowicz, J. Saluk-Juszczak, and T. Zieliński, 'Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on platelet activation induced by endotoxin or thrombin', *Thromb Res*, vol. 107, no. 3–4, pp. 141–145, Aug. 2002, doi: 10.1016/S0049-3848(02)00273-6.
- [102] N. Richard, D. Porath, A. Radspieler, and J. Schwager, 'Effects of resveratrol, piceatannol, tri-acetoxystilbene, and genistein on the inflammatory response of human peripheral blood leukocytes', *Mol Nutr Food Res*, vol. 49, no. 5, pp. 431–442, May 2005, doi: 10.1002/mnfr.200400099.
- [103] U. R. Pendurthi, J. T. Williams, and L. V. M. Rao, 'Resveratrol, a Polyphenolic Compound Found in Wine, Inhibits Tissue Factor Expression in Vascular Cells',

Arterioscler Thromb Vasc Biol, vol. 19, no. 2, pp. 419–426, Feb. 1999, doi: 10.1161/01.ATV.19.2.419.

- [104] A. Al Fatease *et al.*, 'Chemosensitization and mitigation of Adriamycin-induced cardiotoxicity using combinational polymeric micelles for co-delivery of quercetin/resveratrol and resveratrol/curcumin in ovarian cancer', *Nanomedicine*, vol. 19, pp. 39–48, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.nano.2019.03.011.
- [105] A. Sharma, M. Parikh, H. Shah, and T. Gandhi, 'Modulation of Nrf2 by quercetin in doxorubicin-treated rats', *Heliyon*, vol. 6, no. 4, p. e03803, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03803.
- [106] E. Tatlidede *et al.*, 'Resveratrol treatment protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by alleviating oxidative damage', *Free Radic Res*, vol. 43, no. 3, pp. 195–205, 2009, doi: 10.1080/10715760802673008.
- [107] J. L. O'Connell *et al.*, 'Short-term and long-term models of doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats: A comparison of functional and histopathological changes', *Experimental and Toxicologic Pathology*, vol. 69, no. 4, pp. 213–219, Apr. 2017, doi: 10.1016/j.etp.2017.01.004.
- [108] R. V. Shah and J. L. Januzzi, 'Soluble ST2 and Galectin-3 in Heart Failure', *Clin Lab Med*, vol. 34, no. 1, pp. 87–97, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.cll.2013.11.009.
- [109] R. Sun *et al.*, 'Traditional chinese medicine baixin decoction improves cardiac fibrosis of rats with dilated cardiomyopathy', *Exp Ther Med*, vol. 13, no. 5, pp. 1900–1906, May 2017, doi: 10.3892/etm.2017.4223.
- [110] T. Tokudome *et al.*, 'Prevention of Doxorubicin (Adriamycin)-Induced Cardiomyopathy by Simultaneous Administration of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Assessed by Acoustic Densitometry', *J Cardiovasc Pharmacol*, vol. 36, no. 3, pp. 361–368, Sep. 2000, doi: 10.1097/00005344-200009000-00012.
- [111] R. J. Bennink *et al.*, 'Annexin V imaging of acute doxorubicin cardiotoxicity (apoptosis) in rats.', *J Nucl Med*, vol. 45, no. 5, pp. 842–8, May 2004.
- [112] L. Cove-Smith *et al.*, 'An integrated characterization of serological, pathological, and functional events in doxorubicin-induced cardiotoxicity', *Toxicological Sciences*, vol. 140, no. 1, pp. 3–15, 2014, doi: 10.1093/toxsci/kfu057.
- [113] B. Krishnamurthy *et al.*, 'Febuxostat ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats', *Chem Biol Interact*, vol. 237, pp. 96–103, Jun. 2015, doi: 10.1016/j.cbi.2015.05.013.
- [114] A. F. Khafaga and Y. S. El-Sayed, 'All-trans-retinoic acid ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity: in vivo potential involvement of oxidative stress, inflammation, and apoptosis via caspase-3 and p53 down-expression', *Naunyn*

Schmiedebergs Arch Pharmacol, vol. 391, no. 1, pp. 59–70, Jan. 2018, doi: 10.1007/s00210-017-1437-5.

- [115] M. Ueno *et al.*, 'Doxorubicin induces apoptosis by activation of caspase-3 in cultured cardiomyocytes in vitro and rat cardiac ventricles in vivo', *J Pharmacol Sci*, vol. 101, no. 2, pp. 151–158, 2006, doi: 10.1254/jphs.FP0050980.
- [116] S. Haesen *et al.*, 'Pyridoxamine Limits Cardiac Dysfunction in a Rat Model of Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity', *Antioxidants*, vol. 13, no. 1, Jan. 2024, doi: 10.3390/antiox13010112.
- [117] R. Klein, O. Nagy, C. Tóthová, and F. Chovanová, 'Clinical and Diagnostic Significance of Lactate Dehydrogenase and Its Isoenzymes in Animals', *Veterinary Medicine International*, vol. 2020. Hindawi Limited, 2020. doi: 10.1155/2020/5346483.
- [118] M. A. Ibrahim, O. M. Ashour, Y. F. Ibrahim, H. I. EL-Bitar, W. Gomaa, and S. R. Abdel-Rahim, 'Angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin AT1-receptor antagonism equally improve doxorubicin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity', *Pharmacol Res*, vol. 60, no. 5, pp. 373–381, Nov. 2009, doi: 10.1016/j.phrs.2009.05.007.
- [119] X. Zhang, A. D. Rule, C. E. McCulloch, J. C. Lieske, E. Ku, and C. Y. Hsu, 'Tubular secretion of creatinine and kidney function: An observational study', *BMC Nephrol*, vol. 21, no. 1, Mar. 2020, doi: 10.1186/s12882-020-01736-6.

8. ÖZET

Sıçanlarda Doxorubicin İle Oluşturulan Deneysel Kardiyomiyopatide Quercetin Ve Resveratrol'ün Etkilerinin Karşılaştırılmalı Olarak İncelenmesi

Dilate kardiyomiyopati tüm kardiyomiyopatiler içinde en sık görülenidir. Ölüm oranı % 10 ile %50 arasında değişmektedir. Günümüzde kardiyomiyopatinin etkin bir tedavisi bulunmamaktadır. Yapılan tedaviler hastaların sıvı düzeylerini düzenlemeye yönelik semptomatik tedavilerdir. Günümüzde antioksidan özelliğe sahip kersetin ve resveratrolün kardiyomiyopati oluşumunu engellemeye yönelik çalışmalar son 10 yılda giderek artmaktadır. Bu tez çalışmasında doksorubisin verilerek oluşturulan kardiyomiyopati modelinde, kersetin ve resveratrol'ün kalp hasarı oluşmasını engelleyici etkileri araştırılmıştır.

Bu amaçla kontrol grubunda 6 hayvan, diğer gruplarda 10 hayvan olmak üzere 46 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçanlar 5 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu'na (Grup 1) haftada 2 kez 1 mg/kg serum fizyolojik verilmiştir. Kontrol grubu hariç diğer gruplara ise haftada 2 kez 1 mg/kg doksorubisin verilerek kardiyomiyopati modeli oluşturulmuştur. Doksorubisin grubu (Grup 2) tedavi edilmemiştir. Grup 3'e kersetin (20 mg/kg, her gün), grup 4'e resveratrol (50 mg/kg, her gün) ve grup 5'e kersetin (20 mg/kg, her gün) + resveratrol (50 mg/kg her gün) verilerek kardiyomiyopati oluşumu engellenmeye çalışılmıştır. Oluşan

değişiklikler histokimyasal, immünohistokimyasal, ekokardiyografik ve biyokimyasal parametreler kullanılarak takip edilmiştir.

Yapılan değerlendirmelerde tedavi almayan doksorubisin grubunda kardiyak morfoloji ve işlev bozulmuştur. Kersetin+resveratol ile tedavi edilen grupta kardiyak morfoloji ve işlev korunmuştur. Sadece kersetin ve sadece resveratrol ile tedavi edilen gruplarda ise kardiyak morfoloji ve işlev tedavi almayan gruba göre korunmuştur. Bu iki grupta elde edilen sonuçlar birbiri ile benzerdir.

Konu ile ilgili daha fazla sayıda randomize kontrollü çalışma yapılması ile gelecek dönemde kersetin ve resveratrol kardiyomiyopati tedavisinde kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Kardiyomiyopati, Kersetin, Resveratrol

9. SUMMARY

Comparison examination of the effects of quercetin and resveratrol on doxorubicin induced experimental cardiomyopathy in rats

Dilated cardiomyopathy is the most common of all cardiomyopathies. The mortality rate varies between 10% and %50. Currently, there is no effective treatment for cardiomyopathy. The treatments are symptomatic treatments aimed at regulating the fluid levels of the patients. Today, studies on the use of antioxidant quercetin and resveratrol to prevent the formation of cardiomyopathy have been increasing in the last 10 years. In this thesis study, the effects of quercetin and resveratrol on preventing heart damage were investigated in a cardiomyopathy model created by administering doxorubicin.

For this purpose, 46 female Wistar Albino rats divided into 5 groups, 6 animals in the control group and 10 animals in the other groups. The control group (Group 1) was given 1mg/kg saline twice a week. Except for the control group, the other groups were given 1 mg/kg doxorubicin twice a week to create a cardiomyopathy model. The doxorubicin group (Group 2) was not treated. Group 3 was treated with quercetin (20 mg/kg, every day), group 4 with resveratrol (50 mg/kg, every day) and group 5 with quercetin (20 mg/kg, every day) + resveratrol (50 mg/kg, every day) to prevent cardiomyopathy. The changes were monitored using histochemical, immunohistochemical, echocardiographic and biochemical parameters.

According to the evaluations, cardiac morphology and function were impaired in the doxorubicin group that did not receive treatment. Cardiac morphology and function were preserved in the quercetin+resveratrol treated group. In the groups treated with only quercetin and only resveratrol, cardiac morphology and function were preserved compared to the group that did not receive treatment. The results obtained in these two groups are similar to each other.

Quercetin and resveratrol may be used in the treatment of cardiomyopathy in the future by conducting more randomized controlled studies on the subject.

Key Words: Cardiomyopathy, Quercetin, Resveratrol

10. EKLER

EK-1: Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 24.06.2022-E.396151



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : E-66332047-604.01.02-396151
Konu : Değerlendirme ve Onay

24.06.2022

Sayın Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER
Anatomi Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Tuncay Veysel PEKER, Tamer ÖZDOĞAN, Suna ÖMEROĞLU, Yusuf ŞEN, Müşerref Şeyma CEYHAN ve Neslihan BUKAN'dan oluşan, G.Ü.ET-22.075 kod numaralı ve "Sıçanlarda Doxorubicin ile Oluşturulan Deneysel Kardiyomyopatiye Quercetin ve Resveratrol'ün Etkilerinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-22.075 and entitled "*Comparison Examination of the Effects of Quercetin and Resveratrol on Doxorubicin Induced Experimental Cardiomyopathy in Rats*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Sıçan Sprague Dawley
Hayvan Sayısı : 46

Prof. Dr. Mustafa ARSLAN
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Evrak Tarih ve Sayısı: 24.06.2022-E.396151

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 26/05/2022		TOPLANTI SAYISI : 05
ADI-SOYADI	İMZA	
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)		
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)		
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU		
Prof.Dr.İlker ŞEN		
Prof.Dr.Mustafa KAVUTCU		
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK		
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ		
Prof.Dr.İpek SÜNTAR		
Prof.Dr.Serkan YAVUZ		
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER		
Doç.Dr.Elvan ANADOL		
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ		
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM		
Öğr.Gör.Dr.Şevki Mustafa DEMİRÖZ		
Öğr.Gör.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN		
Vet.Hek.Burcu AVCI		
Osman İÇ		

EK-2 Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası



KONYA

**NECETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM DENEYSSEL TIP UYGULAMA
VE ARAŞTIRMA MERKEZİ ETİK KURULU**



KONÜDAM

DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

Tamer ÖZDOĞAN

**28 Mart - 7 Nisan 2016 tarihleri arasında araştırmacılar için düzenlenen
"Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı"nı
başarıyla tamamlayarak bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.**

Deney hayvanlarının: anatomisi, fiziolojisi, histolojisi ve biyokimyası (teorik: 3 s)
Mevzuatı (teorik: 2 s)
Hayvan deneyleri etiği (teorik: 2 s)
Alternatif metodlar (teorik: 4 s)
Tutuş teknikleri (teorik: 3 s)
İlaç verme ve enjeksiyon teknikleri (teorik: 3 s)
Kan ve örnek alma teknikleri (teorik: 3 s)
Anestezi ve otanazi teknikleri (teorik: 3 s)
Laboratuvar işletmesi (teorik: 1 s)
Temel laboratuvar güvenliği ve temizlik (teorik: 6 s)
Hayvan refahı ve davranış özellikleri (teorik: 3 s)
Deney hayvanları üretimi (teorik: 2 s)
Deney hayvanlarının beslenmesi (teorik: 1 s)
Hayvan hastalıkları (teorik: 2 s)
İş sağlığı ve güvenliği (teorik: 2 s)
Laboratuvar stajı (uygulama: 40 s)
Sertifika Numarası: 2016-042

Prof. Dr. Selim KUTLU
KONÜDAM Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Muzaffer ŞEKER
Necmettin Erbakan Üniversitesi Rektörü

Bu kurs T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün, Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına Dair Genelge'sine (2007-11) uygun olarak hazırlanmıştır.