



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**ELEKTRİKSEL KAS UYARISI VE YÜZME EGZERSİZİNİN SIÇAN
PULMONER ARTERİYEL HİPERTANSİYON MODELİNDE
İRİSİN ARACILI İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

TURGAY ARSLAN

TIBBİ FARMAKOLOJİ

MERSİN

TEMMUZ-2025

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**ELEKTRİKSEL KAS UYARISI VE YÜZME EGZERSİZİNİN SIÇAN
PULMONER ARTERİYEL HİPERTANSİYON MODELİNDE
İRİSİN ARACILI İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

TURGAY ARSLAN
ORCID: 0000-0001-8708-4945

DANIŞMAN
PROF. DR. KANSU BÜYÜKAFŞAR

TIBBİ FARMAKOLOJİ

MERSİN

TEMMUZ- 2025

ÖZET

ELEKTRİKSEL KAS UYARISI VE YÜZME EGZERSİZİNİN SIÇAN PULMONER ARTERİYEL HİPERTANSİYON MODELİNDE İRİSİN ARACILI İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH), nadir görülmesine rağmen ilerleyici seyirli, sağ ventrikül yetmezliği ve ölümlle sonuçlanabilen multifaktöriyel bir hastalıktır. Egzersizin PAH hastaları üzerinde olumlu etkiler oluşturabileceği bildirilmektedir. Ancak, yüzme egzersizi ve elektriksel kas uyarısının PAH üzerindeki spesifik etkileri literatürde yeterince aydınlatılamamıştır. Ayrıca, egzersizle indüklenen bir miyokin olan irisin'in plazma düzeylerindeki değişimlerinin, hastalığın patolojik süreçlerini önleyici bir etkisi olup olmadığı da henüz netlik kazanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, yüzme egzersizi ve elektriksel kas uyarısının deneysel PAH modeli üzerindeki terapötik etkilerini araştırmak; bu etkinin irisin aracılığıyla gerçekleşip gerçekleşmediğini ve bu süreçte integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörünün rol alıp almadığını belirlemektir. **Yöntem:** Deneysel PAH modeli, Wistar türü sıçanlara tek doz 60 mg/kg (i.p.) monokrotalin (MCT) uygulanarak oluşturuldu. Çalışmada yüzme ve elektriksel kas uyarısı (EMS) uygulamaları, MCT enjeksiyonundan itibaren 4 hafta süreyle, haftada 5 gün ve günde 30 dakika uygulandı. Ölçülen parametreler, sağ ventrikül hipertrofisi, sağ ventrikül basıncı, pulmoner arteriollerin medial tabaka kalınlığı, damar lümen oklüzyon oranı, serum irisin düzeyleri, in vitro izole pulmoner arter vazodilatasyon yanıtları ve arteriollerde integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptör ekspresyonunu içermektedir. Veriler ortalama $\pm$ standart hata (SEM) şeklinde ifade edildi ve istatistiksel analiz için parametrik ve non parametrik testler yapıldı. 0.05'ten küçük P değerleri anlamlı kabul edildi. **Bulgular:** Monokrotalin uygulaması beklenildiği gibi sıçanlarda PAH semptomlarını oluşturdu. Yüzme ve EMS uygulamaları, PAH'lı sıçanlarda sağ ventrikül basıncında anlamlı azalma sağladı. Ayrıca PAH'lı sıçanlardan elde edilen izole pulmoner arter halkalarında asetilkolin ve irisin'e karşı vazodilatör yanıtların arttığı gözlemlendi. Ancak, irisin'in bu etkisi, integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptör blokörü Silengitid varlığında değişmedi. Histopatolojik incelemeler sonucunda, pulmoner arteriollerde medial tabaka kalınlaşması, damar lümen daralması ve integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptör ekspresyonundaki artış, MCT grubunda belirgin iken, MCT+Yüzme ve MCT+EMS gruplarında anlamlı şekilde azaldı. MCT uygulaması, sıçanların serum irisin düzeylerini anlamlı olarak azaltırken, yüzme ve EMS uygulamaları sonucunda bu değer normale dönmedi. **Sonuç:** Yüzme egzersizi ve EMS, sıçanlarda monokrotalin ile indüklenen PAH modelinde hastalıkla ilişkili pek çok parametrede iyileştirici etki gösterdi. Dolayısıyla egzersizin ve EMS'nin PAH'da tedavi edici değeri olabilir. Ancak egzersizin bu faydalı etkisinde irisinin rolü net olarak ortaya konulamadı. Bundan dolayı, EMS ve egzersizin terapötik etki mekanizmalarının anlaşılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Elektriksel kas uyarısı; Integrin $\alpha V/\beta 5$; İrisin; Monokrotalin; Pulmoner hipertansiyon; Yüzme

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE IRISIN-MEDIATED HEALING EFFECT OF ELECTRICAL MUSCLE STIMULATION AND SWIMMING EXERCISE ON THE RAT PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION MODEL

Aim: Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a multifactorial disease with a progressive course that, although rare, can lead to right ventricular failure and death. Exercise has been reported to exert beneficial effects in patients with PAH. However, the specific effects of swimming exercise and electrical muscle stimulation (EMS) on PAH have not been sufficiently elucidated in the literature. Moreover, it remains unclear whether changes in plasma levels of irisin, an exercise-induced myokine, play a protective role in the pathological processes of the disease. The aim of this study was to investigate the therapeutic effects of swimming exercise and EMS on an experimental model of PAH, to determine whether these effects are mediated by irisin, and to evaluate the involvement of the integrin $\alpha V/\beta 5$ receptor in this process. **Methods:** An experimental PAH model was established by administering a single intraperitoneal dose of 60 mg/kg monocrotaline (MCT) to Wistar rats. Swimming and EMS interventions were applied for 4 weeks, starting from the day of MCT injection, for 30 minutes per day, 5 days a week. The measured parameters included right ventricular hypertrophy, right ventricular pressure, medial wall thickness of pulmonary arterioles, vascular lumen occlusion rate, serum irisin levels, in vitro vasodilatory responses of isolated pulmonary arteries, and the expression of integrin $\alpha V/\beta 5$ receptors in arterioles. Data were expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM), and both parametric and non-parametric tests were used for statistical analysis. A p-value < 0.05 was considered statistically significant. **Results:** As expected, monocrotaline administration induced PAH symptoms in the rats. Both swimming and EMS significantly reduced right ventricular pressure in rats with PAH. In addition, enhanced vasodilatory responses to acetylcholine and irisin were observed in isolated pulmonary artery rings obtained from PAH rats. However, the effect of irisin was not altered in the presence of cilengitide, an integrin $\alpha V/\beta 5$ receptor blocker. Histopathological analysis revealed significant medial wall thickening, vascular lumen narrowing, and increased integrin $\alpha V/\beta 5$ receptor expression in the MCT+Swimming and MCT+EMS groups, whereas these changes were significantly reduced in the swimming group. MCT administration significantly decreased serum irisin levels, and although swimming and EMS interventions were applied, irisin levels did not return to baseline. **Conclusion:** Swimming exercise and EMS exhibited therapeutic effects in several PAH-related parameters in a monocrotaline-induced PAH model in rats. These findings suggest that exercise and EMS may have therapeutic potential in PAH. However, the role of irisin in mediating these beneficial effects remains unclear. Further studies are needed to elucidate the underlying mechanisms of EMS and exercise-induced therapeutic benefits in PAH.

Keywords: Electrical muscle stimulation; Integrin $\alpha V/\beta 5$; Irisin; Monocrotaline; Pulmonary hypertension; Swimming

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesinde değerli zamanını ayırarak bana yol gösteren, bilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, sabır ve anlayışla beni destekleyen danışman hocam Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAŞAR' a,

Doktora tez dönemi boyunca tezim ile ilgili her konuda kılavuzluk yapan Tez İzleme Komitesi üyelerinden Prof. Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI ve Doç. Dr. Rukiye Nalan TİFTİK hocalarıma,

Her zaman değerli fikirlerini belirtip, bizlere yön gösteren Anabilim Dalı Üyeleri Prof. Dr. İsmail ÜN, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Sencer YURTSEVER hocalarıma,

Üniversitemiz Kök Hücre ve Rejeneratif Tıp Anabilim Dalı Üyesi Doç. Dr. Leyla BAHAR hocama

Doktora öğrenimi süresinde birlikte vakit geçirdiğim çalışma arkadaşlarıma,

Beni büyütüp yetiştiren annem, babam ve hayatımın her anında bana desteğini esirgemeyen eşim Emine ARSLAN' a ve bu süreçte onlara ayırmam gereken zamandan fedakârlık gösteren çocuklarım Deniz ARSLAN, Ali Uygar ARSLAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından 2024-TP3-5062 kodu ve TÜBİTAK tarafından 124S796 kodu ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	4
2.1. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon	5
2.2. Yüzme Egzersizi	8
2.3. Elektriksel Kas Uyarısı	9
2.4. İrisin	9
2.4.1. İrisin Pulmoner Hipertansiyon İlişkisi	12
2.4.2. İrisin-integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptör İlişkisi	13
3. MATERYAL ve YÖNTEM	15
3.1. Deney Hayvanları	15
3.2. Madde ve Malzemeler	15
3.3. Monokrotalin Solüsyonunun Hazırlanması	17
3.4. Yüzme Egzersizi	17
3.5. Elektriksel Kas Uyarısı	18
3.6. Kateterizasyon	19
3.7. Pulmoner Arter Reaktivitesinin İn vitro Olarak Gösterilmesi	20
3.8. Kalp Ventrikül Kütle Ölçümü	21
3.9. Histokimyasal İnceleme	21
3.10. İmmünohistokimyasal Boyama	22
3.11. İrisin Tayini	23
3.12. İstatistik	23

	Sayfa
4. BULGULAR	24
4.1. Kütle Değişimi Değerlendirilmesi	24
4.2. Hipertrofi Değerlendirmesi	25
4.3. Sağ Ventrikül Basınç Değerlendirmesi	27
4.4. Asetilkolin ve İrisin-Aracılı Vazodilatör Yanıtların Değerlendirilmesi	29
4.5. Serum İrisin Tayini	31
4.6. Histokimyasal İncelemeler	32
4.7. İmmünohistokimyasal İnceleme	36
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	42
KAYNAKLAR	48
EKLER	63
ÖZGEÇMİŞ	65

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. Pulmoner arteriyel hipertansiyonun prognostik risk sınıflandırması	6
Tablo 2.2. İrisin için hedef organ/doku ve etkisinin özeti	10
Tablo 2.3 İrisin öncüsü FNDC5'in farklı dokularda mRNA ekspresyonu	11
Tablo 4.1. Gruplara ait kilo değişim tablosu	24
Tablo 4.2. Kalp ventrikül ıslak kütle ölçüm verileri	24
Tablo 4.3. Sağ ventrikül basınç verileri	25
Tablo 4.4. Vazodilatör yanıt verileri	27

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Pulmoner arteriyel hipertansiyon patogeneğinde yer alan belirlenmiş ve varsayılan araçlar ve etki yolları	7
Şekil 2.2. İrisin'in gen ekspresyonu ve buna etki eden sinyaller maddelerinin gösterimi	11
Şekil 2.3. Endojen ve Eksojen İrisin uygulaması sonrası çeşitli organ/dokulardaki görülen etkiler	12
Şekil 3.1. Deney gruplarına ait işlem basamaklarının şematik gösterimi	17
Şekil 3.2. MCT+Yüzme grubuna ait fotoğraflar	18
Şekil 3.3. Elektriksel kas uyarısı verilen gruba ait fotoğraflar	18
Şekil 3.4. Kateterizasyon işlem aşamaları	19
Şekil 3.5. Sağ ventrikül ortalama basınç ölçümü	20
Şekil 3.6. Pulmoner arter diseksiyonu	21
Şekil 3.7. Sağ ventrikül hipertrofi değerlendirmesi için kütle ölçümü	21
Şekil 4.1. Kütle değişim grafiği	24
Şekil 4.2. Sağ ventrikül morfometrik kütle ölçümü	25
Şekil 4.3. Sol ventrikül morfometrik kütle ölçümü	26
Şekil 4.4. Sağ ventrikül hipertrofisinin değerlendirilmesi için yapılan Fulton indeksi	26
Şekil 4.5. Sağ ventrikül sistolik basınçları	27
Şekil 4.6. Sağ ventrikül diyastolik basınçları	28
Şekil 4.7. Ortalama sağ ventrikül basınçları	28
Şekil 4.8. Sağ ventrikül atım sayısı	29
Şekil 4.9. Fenilefrin (Phe) ile ön kastırılmış pulmoner arterde asetilkolin (Ach, 10-6 M) % vazodilatör yanıtları.	30
Şekil 4.10. Fenilefrin (Phe) ile ön kastırılmış pulmoner arterde irisin (10-7 M) % vazodilatör yanıtları	30
Şekil 4.11. Fenilefrin (Phe) ile ön kastırılmış pulmoner arterde silengitid (10-6 M) +irisin (10-7 M) % vazodilatör yanıtları	31
Şekil 4.12. Serum irisin seviyeleri	32
Şekil 4.13. Pulmoner arteriol medial tabaka hipertrofisi	33
Şekil 4.14. Pulmoner arteriol lümen daralması	33
Şekil 4.15. Gruplara ait akciğer dokusunun mikrografi	35

Şekil	Sayfa
Şekil 4.16. Pulmoner arteriol damarlarında AlfaV/Beta5 reseptörünün immünohistokimyasal olarak gösterimi	36
Şekil 4.17. Gruplara ait akciğer dokusunun Alfa-V antikor immünohistokimyasal mikrofrafı	38
Şekil 4.18. Gruplara ait akciğer dokusunun Beta-5 antikor immünohistokimyasal mikrofrafı	40

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simgesi	Tanım
Ach	Asetilkolin
$\alpha V/\beta 5$	Alfa v beta 5
AMPK	5' adenosin monofosfat-aktif protein kinaz
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
BNP	Beyin natriüretik peptid (B-tipi natriüretik peptid)
$CaCl_2$	Kalsiyum klorür
cAMP	Siklik adenosin monofosfat
CREB	cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein
DMSO	Dimetil sülfoksit
EMS	Elektriksel kas uyarısı
FNDC5	Fibronektin tip III domain içeren protein 5
HCl	Hidroklorik asit
Hg	Civa
H&E	Hemotoksilen-Eozin
Hsp90 α	Isı şok proteini 90 alfa
KCl	Potasyum klorür
KH_2PO_4	Potasyum dihidrojen fosfat
KPET	Kardiyopulmoner egzersiz testi
LC3/p62	Protein hafif zincir 3 protein 62
L-NAME	N ω -Nitro-L-arginin Metil Ester
M	Molar
mA	Mili amper
MCT	Monokrotalin
$MgSO_4$	Magnezyum sülfat
mm	Milimetre
ml	Mililitre
MLCK	Miyozin hafif zincir kinaz
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
NaCl	Sodyum klorür
$NaHCO_3$	Sodyum bikarbonat
Ng	Nanogram

Kısaltma/Simgesi	Tanım
NF- κ B	Nükleer Faktör Kappa B
PAH	Pulmoner arteriyel hipertansiyon
PGC-1 α	Peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör gama koaktivatörü 1-alfa
Phe	Fenilefrin
PINK-1	Fosfataz ve tensin homologu kaynaklı kinaz 1
NT-proBNP	N-terminal pro-beyin natriüretik peptid
TENS	Transkutanöz elektriksel sinir uyarısı
UCP	Mitokondriyal ayrıştırma proteini
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR	Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü

1. GİRİŞ

Pulmoner hipertansiyon, nadir görülmesine rağmen ilerleyici seyirli, sağ ventrikül yetmezliği ve ölüme yol açabilen multifaktöriyel bir hastalıktır. Bu hastalıkta, pulmoner arter ortalama kan basıncı istirahatte >20 mmHg, egzersiz sırasında ise >25 mmHg'ye ulaşarak solunum ve kardiyovasküler hastalıkları daha komplike hale getirir [1-2]. Pulmoner hipertansiyon, pulmoner arteriyollerdeki tıkanma ve kan akışını sınırlandıran vasküler lezyonlarla karakterizedir ve vasküler yeniden düzenleme ile histopatolojik değişiklikler gözlenir [3]. Bu durum, sağ ventriküle yük bindirerek ventriküler disfonksiyon ve yetmezliğe neden olur [4]. Pulmoner hipertansiyon hastalıkları, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 1. Pulmoner arteriyel hipertansiyon, 2. Sol kalp hastalığına bağlı pulmoner hipertansiyon, 3. Akciğer hastalığına bağlı pulmoner hipertansiyon, 4. Akciğerlerdeki kan pıhtılarına bağlı pulmoner hipertansiyon, 5. Pulmoner Hipertansiyona yol açan kan ve diğer nadir bozukluklar şeklinde beş gruba ayrılmaktadır [4-5]. PAH, artmış vasküler dirençle birlikte küçük pulmoner arterlerde proliferasyon ve fibrozis ile seyreden ciddi bir kardiyopulmoner bozukluktur [1].

Düzenli egzersizin genel sağlık üzerindeki olumlu etkileri iyi bilinmektedir. DSÖ, orta ve yüksek düzeyde fiziksel aktivitenin metabolik ve kardiyovasküler hastalık risklerini azalttığını rapor etmektedir [6]. PAH hastalarında egzersizin hemodinamik fonksiyonlar, yaşam kalitesi ve kas gücü üzerinde olumlu etkiler sağladığı bildirilmektedir [7-8]. Egzersiz intoleransının, mitokondriyal elektron taşıma zinciri protein ekspresyonundaki değişikliklerle iyileşme gösterebildiği belirtilmektedir [9]. Öte yandan, geleneksel egzersizin yerine geçebilecek alternatif yöntemler üzerinde çalışmalar yürütülmekte ve bu yöntemler geliştirilmektedir. Bu yaklaşımlardan biri olan elektriksel kas uyarımı (EMS), özellikle hareket kısıtlılığı olan hastalarda kas gücünü ve fonksiyonel kapasiteyi artırmak amacıyla kullanılmaktadır. EMS, kaslara dışarıdan elektriksel impulslar verilerek kas kasılmalarının tetiklenmesini sağlar ve bu yolla egzersize benzer fizyolojik adaptasyonlar oluşturabilir. Bu yöntem, özellikle serebrovasküler hastalıklar, omurilik yaralanmaları ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi durumlarda fiziksel rehabilitasyon amacıyla yaygın olarak uygulanmaktadır [10-11]. Ayrıca, farklı kas gruplarına yönelik geliştirilen taşınabilir cihazlar sayesinde evde kullanım için de uygun hale getirilmiştir. farklı kas gruplarına yönelik programlanabilen bu cihazlar, özellikle uzun süreli immobilitateye sahip hastalarda veya ev temelli rehabilitasyon gereksinimi duyan bireylerde etkili bir tedavi seçeneği sunmaktadır. Günümüzde geliştirilen kompakt ve kullanıcı dostu EMS sistemleri, alt ekstremiteler kasları başta olmak üzere birçok kas grubuna uygulanabilmekte ve bu sayede ev ortamında düzenli kullanım ile kas kütlesi korunabilmekte, kas gücü artırılabilen ve

fonksiyonel kapasite iyileştirilebilmektedir [12-14]. Bu gelişmeler, EMS'nin kronik hastalıklarda ve yaşlı bireylerde fiziksel inaktivitenin olumsuz etkilerini azaltmada potansiyel bir araç olarak kullanımını daha erişilebilir kılmaktadır. Bu cihazlarla yapılan elektriksel kas uyarımı sonrasında aynı egzersizde olduğu gibi kas kaynaklı maddelerin kana salıverildiği gösterilmiştir [15-20].

Elektriksel kas uyarısı (EMS) ve yüzme egzersizlerinin, kas fonksiyonu, egzersiz kapasitesi ve yaşam kalitesini geliştirerek PAH hastalarına fayda sağlayabileceği bildirilmektedir [8; 21-26]. Ancak, bu yaklaşımlara ilişkin spesifik etkiler yeterince açıklığa kavuşturulamamıştır [7-9; 21; 27-28]. Yani gerek egzersizin gerekse elektriksel kas uyarısının kalp-damar sağlığına olan faydaları çok yoğun araştırılıyor olmasına rağmen hala bilinmeyen çok mekanizmanın olduğu aşikârdır. Örneğin, egzersiz sonrası kan basıncında belirgin bir düşme görülür (egzersiz-sonrası-hipotansiyon). Bu fenomenin oluşmasında, egzersiz sonrası kardiyak outputtaki değişimler ve vasküler direnç düşmesinin etkili olabileceği bildirilmiştir. Her iki parametreye, cilt vazodilatasyonu [29], kan volumündeki düşme [30], sempatik ve afferent sinir aktivitesindeki değişiklikler [31-32] aracılık edebilir. Diğer taraftan, iskelet kaslarının elektrikle uyarılması, egzersiz sırasında görülenlere benzer kardiyovasküler değişikliklere neden olur. Örneğin gastrokinemus ve biceps femoris kasının elektriksel stimülasyon sonrası kan basıncında uzun süreli bir düşme meydana gelir; buna serotonerjik ve endojen opioid sistemin katkı yaptığı bildirilmiştir [33-34]. Sonuç olarak, iskelet kasları sadece denge ve hareketlerin oluşması ve kontrolünü sağlamaz aynı zamanda kardiyovasküler sistemin homeostazına da katkı sağlar.

İrisin, Fibronektin Tip III Domain İçeren Protein 5'in (FNDC5) kesilmesiyle oluşan, 112 amino asitlik bir tip 1 transmembran glikoproteindir [35-36]. Egzersizle iskelet kasından salgılanarak lipid ve glikoz metabolizmasını etkileyebildiği, vazodilatasyon sağladığı ve kardiyak dokuya olumlu etkilerinin olduğu bildirilmektedir [37-48]. Egzersizle birlikte AMPK-PINK1/Parkin-LC3/P62 sinyal yolağını aktive ederek mitofajiyi düzenlediği ve oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir [46]. Ayrıca irisinin, endotel hücreesindeki integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörüne bağlandığı ve PGC-1 α ile mitokondriyal transkripsiyon faktör A'yı aktive ettiği rapor edilmiştir [46]. Ayrıca egzersizle artan bir miyokin olan irisin'in, PAH'daki plazma düzeyleri ve hastalığa etkileri henüz yeterli şekilde ortaya konulmamıştır. Dolayısıyla bu tezde spesifik olarak irisin, egzersiz, elektriksel kas uyarımı ve PAH ilişkisi araştırılmıştır.

Araştırma Hipotezleri:

1. Yüzme ve EMS, MCT ile oluşturulan PAH modelinde pulmoner arter basıncını azaltır.
2. Yüzme ve EMS, sağ ventrikül hipertrofisi, pulmoner arteriol medial kalınlaşması ve oklüzyonları önler.

3. Yüzme ve EMS, irisin plazma düzeylerini artırır.
4. Pulmoner arterlerde integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörü bulunur ve egzersizle sayısı artar.
5. Yüzme ve EMS, pulmoner arter plastisitesini irisin aracılığıyla iyileştirir.
6. İrisin vazodilatör etkisini integrin $\alpha V/\beta 5$ aracılığı ile oluşturur; bu reseptör blokörü silengitid ile bu etki engellenir.
7. Egzersizi tolere edemeyen PAH hastalarında EMS alternatif olabilir.

Araştırmanın Amacı:

Bu tez çalışmasında, yüzme ve EMS uygulamalarının sıçanlarda monokrotalin ile oluşturulan deneysel PAH modelinde sağ ventrikül hipertrofisi, pulmoner arter basıncı, arteriöl duvar kalınlığı ve oklüzyon üzerine olası iyileştirici etkisini araştırmak ve bu etkilerde kas kaynaklı bir miyokin olan irisinin aracılık edip etmediğini incelemektir. Eğer irisin aracılık ediyorsa bunu integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörü üzerinden yapıp yapmadığını ortaya koymaktır.

Araştırma Hedefleri:

1. Egzersizin PAH'a karşı olası etkisi, yüzme ve EMS ile test edildi.
2. İrisin adlı miyokinin egzersiz sırasında artıp artmadığı yüzme ve EMS sonrası plazmadaki düzeylerinin kolorometrik kitlerle ölçüldü.
3. Egzersiz toleransı olmayan PAH hastaları için bir alternatif yöntem geliştirme adına EMS'nin etkinliği, monokrotalin-aracılı PAH modelinde araştırıldı.
4. İrisinin etkinliğinin onun reseptörü olduğu iddia edilen integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörleri aracılığıyla olup olmadığı, bu reseptör blokörü silengitid kullanılarak test edildi.

Özgün Değerler:

1. Yüzme ve EMS'nin PAH modeli üzerinde karşılaştırmalı etkileri literatürde henüz gösterilmemiştir.
2. İzole pulmoner arter segmentlerinde irisinin olası vazodilatör etkisi henüz test edilmemiştir.
3. Egzersizin ve EMS'nin serum irisin düzeylerine olan etkisi MCT ile indüklenen PAH modelinde değerlendirilmemiştir.
4. Pulmoner arterde irisin etkilerine integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörünün aracılık edip etmediği onun blokörü olan silengitid kullanılarak fonksiyonel olarak araştırılmamıştır.
5. Ayrıca immünohistokimya yöntemi ile integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörünün pulmoner arteriöl preparatlarında varlığı henüz ortaya konmamıştır.

Yaygın Etkiler:

1. PAH'ın tedavisinde non-farmakolojik yöntemlerin (yüzme ve EMS gibi) gösterilmesiyle yeni ve farklı tedavi alternatiflerin ortaya konulması.
2. Egzersiz ve EMS'nin irisin düzeylerine etkisinin gösterilmesiyle egzersiz ve yapay egzersizin biyokimyasal etkilerinin anlaşılması.
3. Egzersiz toleransı olmayan hastalar için EMS'nin alternatif bir yöntem olarak kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi.



2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon

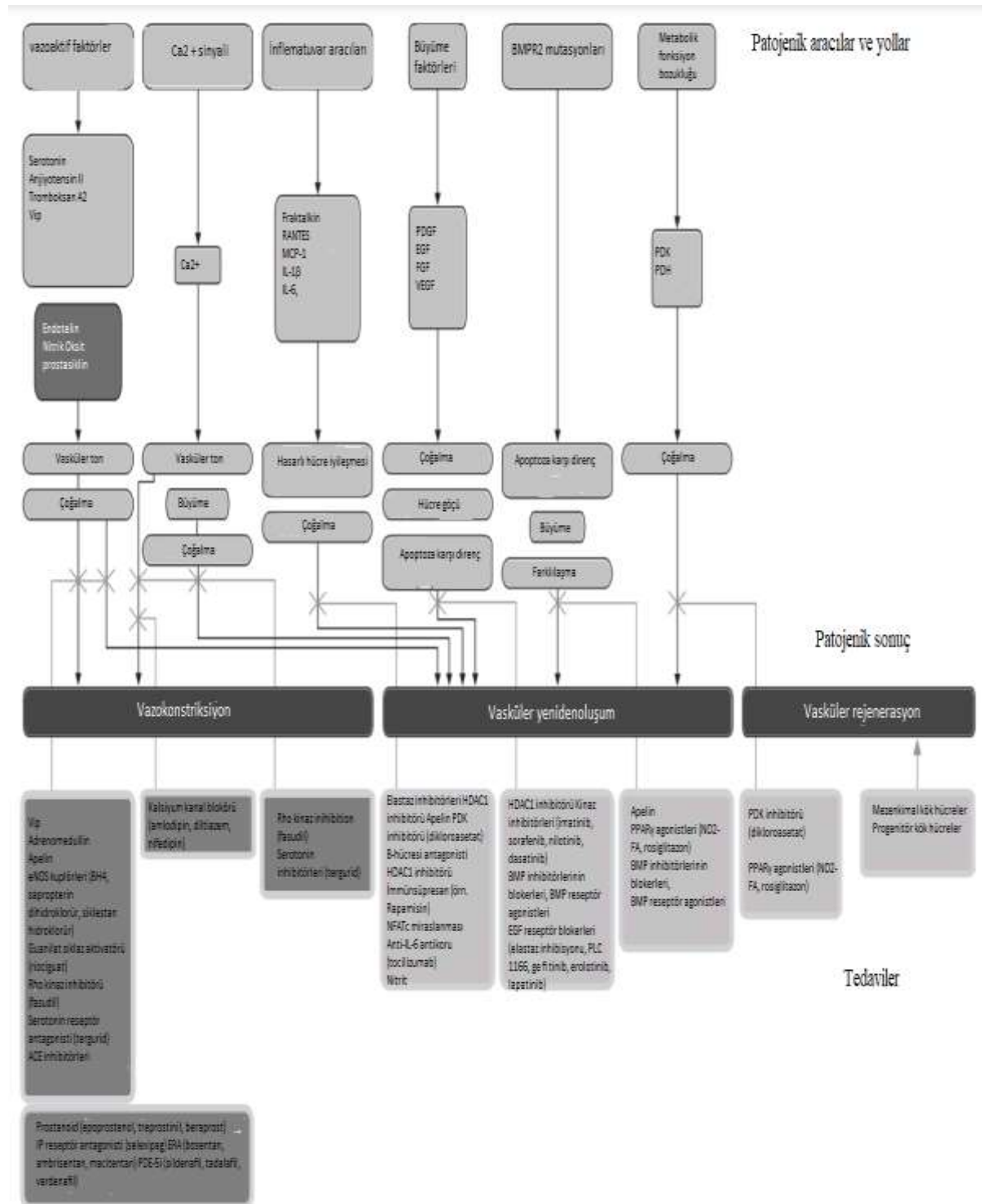
PAH, pulmoner hipertansiyon sınıflandırmasında 1. grupta yer alır ve prevalansı Amerika Birleşik Devletleri'nde 1 milyon yetişkin başına yaklaşık 10,6 vaka olmakla birlikte Avustralya'da yapılan çalışmada 100 binde 15 vaka olarak kayıtlara geçmiştir [21]. Kanada verilerine göre grup 1 sınıfın alt grubu olan pediatrik pulmoner hipertansiyon tüm pulmoner hipertansiyon vakalarının %3,6'sı olup yaşı 16 altında olanlar %65,2'sini oluşturmaktadır [21]. Bu hastalarda nakilsiz sağ kalımın 1 yılda %86-92, 5 yılda %74-84 ve 10 yılda %69 arasında değiştiği bildirilmiştir [22; 27]. Tedavi edilmeyen hastalık, sağ kalp yetmezliğine ve ölüme doğru ilerlemektedir. Güncel tedaviler, nitrik oksit-siklik guanozin monofosfat biyolojik yolunu güçlendiren ilaçlardan (sildenafil, tadalafil veya riociguat), prostasiklin yolu agonistlerinden (epoprostenol veya treprostinil) ve endotelin reseptör antagonistlerinden (bosentan ve ambrisentan) oluşmaktadır [28; 49]. Vazoreaktivite testi pozitif olanlar da L-tipi kalsiyum kanal blokerleri ve destek tedavisi de bulunmaktadır. En yeni güncel tedaviler arasında aktivin sinyal yolunu hedef alarak vasküler yeniden şekillenmeyi azaltan sotatercept bulunmaktadır [50-51]. Bununla birlikte PAH da alta yatan patolojik süreçlere (Şekil 2.1) yönelik araştırmalar ve yeni ilaç geliştirmeler devam etmektedir. PAH tedavisinde, hastanın risk profiline (Tablo 2.1) göre monoterapi veya kombinasyon tedavisi tercih edilir. Yüksek riskli hastalarda agresif kombinasyon tedavileri önerilirken, düşük riskli hastalarda monoterapi yeterli olabilir. Beş yıllık sağ kalım oranı %34 iken bu güncel tedavilerle %60'ın üzerine çıkmıştır [52]. Monoterapi ve/veya kombine tedavilere rağmen yıllar içinde sağ kalım oranları düşmekte ve hastalara organ nakli (kalp-akciğer) yapılmadığı takdirde ölümler görülmektedir. Sonuç olarak, PAH'ın tedavi algoritması hala yeterli görünmemekte olup başka ilaç ya da yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Pulmoner hipertansiyonda egzersize karşı intolerans gelişir ve bunun alta yatan birçok fizyolojik neden vardır [53]. Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda yorgunluk, dispne ve egzersiz intoleransı gibi spesifik olmayan semptomlar olabilir. Kardiyopulmoner egzersiz testi (KPET), egzersiz intoleransının kaynağını belirlemeye, hastalığın ilerlemesini veya tedavi yanıtını izlemeye ve prognoza yardımcı olabilir [54]. PAH da egzersizi bozan mekanizmalar şunlardır: (1) pulmoner vasküler yatağın vazodilatasyon yapamaması (özellikle küçük damarlarda bozulmuş gerilebilirlik ve vazodilatasyon) [55]; (2) Sağ ventrikül kontraktilitesinde azalma [56]; (3) kronotropik bozulma [57]; (4) anormal gaz değişimi ve hipoksemi; (5) kemoreseptör aktivasyonu; (6) endotel disfonksiyonu; ve (7) iskelet kası miyopatidir.

PAH araştırmalar için fizyolojik, kimyasal, genetik gibi tekli ve/veya çoklu stimulanlar ile indüklenerek deneysel modeller oluşturulabilmektedir [58-60]. En yaygın kullanılan deneysel hastalık modellerinden biri, *Crotalaria spectabilis* bitkisinden elde edilen monokrotalin alkaloidinin deneklere uygulanması ile oluşturulur. Monokrotalin 60 mg/kg tek doz uygulamasını takiben 3-4 haftada içinde PAH gelişir. Ayrıca, pulmoner mononükleer vaskülit (hayvanların yaklaşık üçte birinde akut nekrotizan pulmoner arterit) ve sağ ventrikül hipertrofisi ile karakterize bir hastalık tablosu indüklenmiş olur [61-62].

Tablo 2. 1. Pulmoner arteriyel hipertansiyonun prognostik risk sınıflandırması [2]

Prognoz Belirleyicileri (tahmini 1 yıllık ölüm oranı)	Düşük Risk: <%5	Orta Risk: %5-20	Yüksek Risk: >%20
Sağ kalp yetmezliğinin klinik bulguları	Yok	Var	Var
Semptomların ilerlemesi	Yok	Yavaş	Hızlı
Senkop atakları	Yok	Ara sıra senkop	Tekrarlayan senkop
DSÖ fonksiyonel sınıfı	I, II	III	IV
6 dakikalık yürüme mesafesi	> 440 m	165-440 m	<165 m
Kardiyopulmoner egzersiz testi	Pik (oksijen tüketimi) VO2: > 15 mL / dak / kg (>%65 tahmin edilir) VE / VCO2 (dakika havalandırma / karbondioksit üretimi): eğim <36	Pik (oksijen tüketimi) VO2: 11-15 mL / dak / kg (%35-65 tahmin edilir) VE / VCO2 (dakika havalandırma / karbondioksit üretimi): eğim 36-44	Pik (oksijen tüketimi) VO2: < 11 mL / dak / kg (<%35 tahmin edilir) VE / VCO2 (dakika havalandırma / karbondioksit üretimi): eğim >44
N-terminal pro-beyin natriüretik peptid plazma seviyeleri (NT-proBNP)	Beyin natriüretik peptidi (BNP): <50 ng / L N-terminal pro-beyin natriüretik peptidi (NT-proBNP): <300 ng / L	Beyin natriüretik peptidi (BNP): 50-800 ng / L N-terminal pro-beyin natriüretik peptidi (NT-proBNP): 300-1100 ng / L	Beyin natriüretik peptidi (BNP): >800 ng / L N-terminal pro-beyin natriüretik peptidi (NT-proBNP): >1100 ng / L
Görüntüleme (Ekokardiyogram)	Sağ atrium alanı: <18 cm ² , TAPSE (triküspit anüler düzlemi sistolik depresmanı)/sPAP (sistolik pulmoner arter basıncı) >0,32 mm/mmHg Perikardiyal efüzyon yok	Sağ atrium alanı: 18-26 cm ² , TAPSE (triküspit anüler düzlemi sistolik depresmanı)/sPAP (sistolik pulmoner arter basıncı) 0,19-0,32 mm/mmHg Perikardiyal efüzyon minimal	Sağ atrium alanı: >26 cm ² , TAPSE (triküspit anüler düzlemi sistolik depresmanı)/sPAP (sistolik pulmoner arter basıncı) <0,19 mm/mmHg Perikardiyal efüzyon orta ve büyük
Kardiyak manyetik rezonans görüntüleme	RVEF (sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonu) > %54 SVI (vurum hacmi indeksi) > 40mL/m ² RVESVI (sağ ventrikül sistol sonu hacim indeksi) < 42mL/m ²	RVEF (sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonu) % 37-54 SVI (vurum hacmi indeksi) 26- 40mL/m ² RVESVI (sağ ventrikül sistol sonu hacim indeksi) 42-54 mL/m ²	RVEF (sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonu) <%37 SVI (vurum hacmi indeksi) < 26mL/m ² RVESVI (sağ ventrikül sistol sonu hacim indeksi) > 54mL/m ²
Hemodinami	Sağ atriyal basınç: <8 mmHg Kardiyak indeks: ≥2.5 L / dak / m ² SVI (vurum hacmi indeksi) > 38mL/m ² Karışık venöz oksijen doyumluğu SvO2: >%65	Sağ atriyal basınç: 8-14 mmHg Kardiyak indeks: 2.0-2.4 L / dak / m ² SVI (vurum hacmi indeksi) 31-38 mL/m ² Karışık venöz oksijen doyumluğu SvO2: %60-65	Sağ atriyal basınç: >14 mmHg Kardiyak indeks: <2.0 L / dak / m ² SVI (vurum hacmi indeksi) < 31mL/m ² Karışık venöz oksijen doyumluğu SvO2: <%60



Şekil 2.1. Pulmoner arteriyel hipertansiyon patogeneğinde yer alan belirlenmiş ve varsayılan araçlar ve etki yolları. BMPR2: kemik morfogenetik peptit reseptörü 2; VIP: vazoaktif bağırsak peptidi; NO: nitrik oksit; RANTES: normal T hücresi eksprese ve salgılanmasını aktivasyonunu düzenleyici; MCP: monosit kemo-çekici protein; IL: interlökin; PDGF: trombosit türevli büyüme faktörü; EGF: epidermal büyüme faktörü; FGF: fibroblast büyüme faktörü; VEGF: vasküler epidermal büyüme faktörü; PDK: piruvat dehidrojenaz kinaz; PDH: piruvat dehidrojenaz [63].

2.2. Yüzme Egzersizi

Genel egzersiz eğitimi ile ilgili, randomize kontrollü bir pilot olan ExPAH çalışmasında, 12 haftalık ayakta egzersiz tedavisi programının PAH hastalarında hemodinami ve yaşam kalitesi üzerindeki etkisi araştırılmış ve egzersizin iyileşen hemodinamik fonksiyon, yaşam kalitesi ve kas gücü ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [6]. Başka bir çalışma olan WHOLEi+12, aerobik, direnç ve spesifik inspiratuar kas antrenmanını içeren 8 haftalık egzersizin PAH hastaları için güvenli olduğunu ve kas gücünde ve diğer fonksiyonel değişkenlerde önemli iyileşmeler sağladığı gösterilmiştir [7]. Bir başka çalışmada ise dayanıklılık egzersizinin, daha verimli solunumu destekleyebilen ve egzersiz intoleransını düzelten iskelet kası elektron taşıma zinciri komplekslerinin artışına neden olduğu yönünde ilişkilendirilmiştir [8].

Farklı yaş, cinsiyet, hastalık veya sağlıklı bireylerde, birçok farklı egzersiz türü ve süresine bağlı olarak İrisin seviyesi ilişkisini gösteren çalışmalar [64] oldukça fazla olmakla birlikte yüzme egzersizinde İrisin seviyeleri ile ilgili yeterince çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte yapılan değişken yüzme süreleri ile ilgili İrisin seviyesinde artış olduğunu gösteren çalışmalar da yer almaktadır [65-74].

Yüzme egzersizinin Pacegnelli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, yüzmeyi de içeren koruyucu egzersizin, monokrotalin ile oluşturulan PAH sıçan modelinde kompanse hipertrofiye kardiyoprotektif bir etki gösterebileceğini göstermiştir [24; 75]. Önleyici egzersizin, kalp pik akış hızını normalleştirdiğini ve hücre dışı matrikste değişiklik yapmadan kardiyomiyositlerin alanını azalttığını, bu durumunda pulmoner hipertansiyonun erken evrelerinde faydalı olduğunu düşündürmektedir [24]. PAH için farmakolojik olmayan bir tedavi olarak yüzmeyi de içerebilen aerobik egzersizler önerilmektedir. Aerobik egzersizin, PAH hastalarında iskelet kası adaptasyonlarını tetiklediği, fiziksel efor toleransını ve yaşam kalitesini artırdığı [76] vurgulanmakta fakat terapötik potansiyelinin altında yatan mekanizmalarının henüz tam olarak anlaşılamamış olduğu belirtilmektedir [25; 77]. PAH da solunum ve fiziksel egzersiz eğitiminin, egzersiz kapasitesini, kas fonksiyonunu [78] ve pulmoner dolaşımı iyileştirdiği [79-80] vurgulanmakla birlikte, bunların hangi mekanizmalarla fayda sağladığının araştırılması gerektiği ifade edilmektedir [26]. Ayrıca egzersizin bu iyileştirici etkisinde İrisin' in rolü ile ilgili yapılan bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

2.3. Elektriksel Kas Uyarısı

EMS'nin PAH üzerindeki etkileri direkt araştırılmamakla birlikte bazı çalışmalar PAH'lı hastalarda uyarılabileceğine işaret etmektedir. Yüzeysel EMS olmamakla birlikte, nöromusküler EMS'nin PAH'lı (n=22) hastalar üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada, periferik kas gücünde, kas kesit alanı ve kalınlığında, egzersiz kapasitesinde, fiziksel aktivite düzeyinde ve yaşam kalitesinde önemli iyileşmelerin yanı sıra damar sertliğinde azalma olduğu gösterilmiş, PAH hastalarında kardiyopulmoner iyileştirme için nöromusküler EMS'nin etkili bir yöntem olduğu ifade edilmiştir [23]. Uno ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, egzersizi tolere edemeyen koşullarda EMS'nin denervasyon atrofisini önlediğini atrofiye neden olan enzim aktivite ve miktarının azaltılması yolu ile yaptığını belirtmektedir [81]. Bu çalışmalardan EMS'nin egzersiz benzeri etki gösterebileceği sonucu çıkarılabilmektedir. Elektriksel olarak kasların uyarılması sonucu irisin seviyelerinde artış olduğunu gösteren ve işaret eden çalışmalar mevcuttur [17; 82-84].

Özetle, hem EMS hem de potansiyel olarak yüzmeyi de içeren egzersiz eğitiminin, kas fonksiyonunu, egzersiz kapasitesini ve yaşam kalitesini iyileştirerek PAH hastalarına fayda sağlayabileceği görülmektedir. Ancak yüzmeye egzersizinin PAH üzerindeki spesifik etkileri çalışmalarda doğrudan ele alınmamıştır ve bunun etkisini açıklığa kavuşturmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

2.4. İrisin

Ekserkinler, etkilerini endokrin, parakrin ve/veya otokrin olarak gösteren, akut ve/veya kronik egzersize yanıt olarak salınan sinyal maddeleri olarak tanımlanır [85-86]. İskelet kası (miyokinler), kalp (kardiyokinler), karaciğer (hepatokinler), beyaz yağ dokusu (adipokinler), kahverengi yağ dokusu (baptokinler) ve nöronlar (nörokinler) dahil olmak üzere çok sayıda organ, hücre ve doku bu faktörleri salgılayabilmektedir [85]. Ekserkinlerin kardiyovasküler, metabolik, bağışıklık ve nörolojik sağlığı iyileştirmede potansiyel rolleri vardır [87]. Ekserkinler, özellikle organlar arası ve sistemik iletişim ve koordinasyondaki rollerinden dolayı, egzersizle ilgili değişiklikler ve sağlık yararları açısından kritik araçlar olarak giderek daha fazla tanınmaktadır [85]. Egzersizle birlikte kan damarlarında hidrostatik basınç, damar çapı gerimi, ekstrasvasküler basınç gibi kan akışını hızlandıran hemodinamik sinyaller yolu ile endotel tabakada kalsiyum artışı, nitrik oksit ve prostasiklin salınımı ve reaktif oksijen türleri oluşumuna ve ayrıca damar düz kasında kalsiyum azalmasına ve sonuçta vazodilasyona neden olabildiği daha önceleri gösterilmiştir [88]. Ayrıca egzersiz diğer organlarla nöronal, metabolik ve humoral

faktörler aracılığı ile etkileşim göstermektedir [88]. Bu etkileşimde yer alan maddeler arasında kaslardan salgılanan miyokinler ve metabolitler de bulunmaktadır. Bu miyokinlerin ayrıca, metabolik sendromun baskılanması, diyabetin, damar sertliğinin, demans gelişme riskinin azaltılması, kemik yoğunluğu kaybının önlenmesi, kanserin ve enfeksiyonun önlenmesi gibi etkilerinin olduğu ifade edilmektedir [89]. Bu bilgiler ışığında egzersizle salınan miyokinlerin çeşitliliği ve etkilerine yönelik bilgiler artmaktadır ve hala yenilerinin keşfi devam etmektedir. Bu keşiflere rağmen bu maddelerin hala birçoğunun göstermiş olduğu olumlu etkilerinin altta yatan mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Kaslardan egzersiz ile salgılanan ve son zamanlarda önemi giderek artan miyokinlerden biri de irisin molekülüdür.

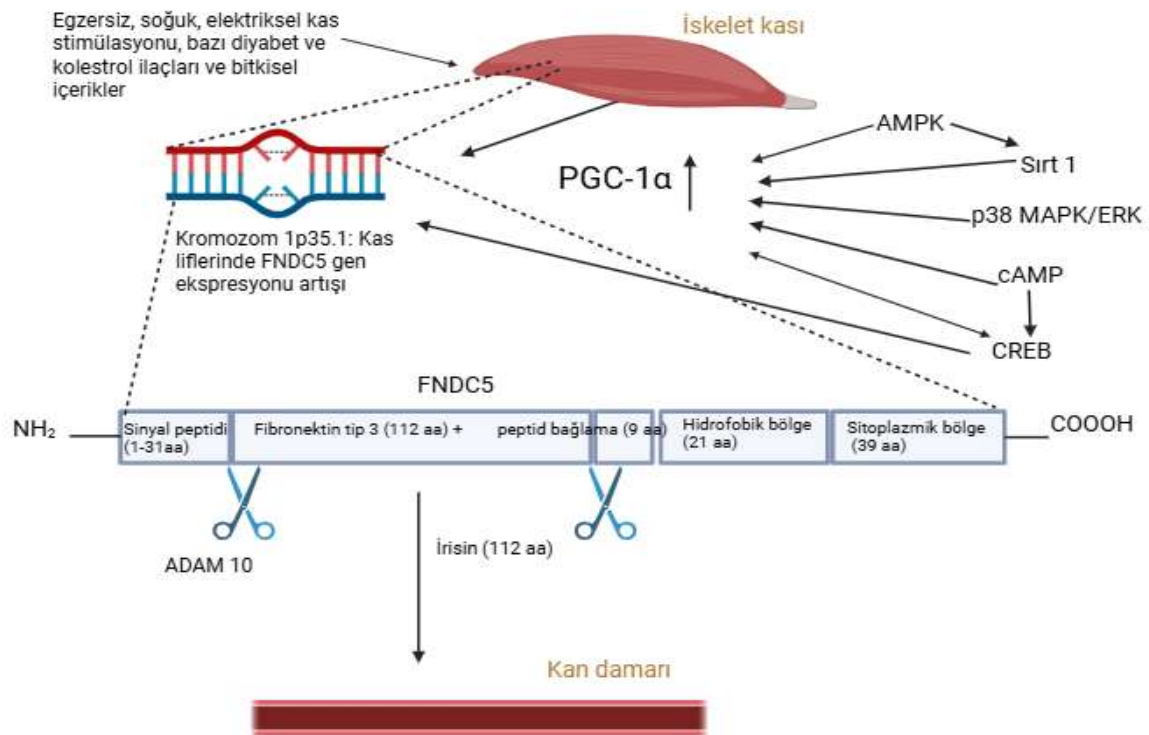
İrisin, Fibronektin Tip III Alan İçeren 5 (FNDC5) geninden türetilen iskelet kası hücreleri tarafından salgılanan bir polipeptit hormondur (insanlarda 212 amino asit, fare ve sıçanlarda 209 amino asit). İrisin geni, peroksisom proliferatör aktive edici reseptör gama koaktivatörü 1-alfa (PGC-1 α) ve cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) tarafından indüklenir, [35-36] ve egzersiz sırasında salınır. İrisin hemen dolaşım sistemine ve bazı organlara girer. İrisin' in günümüze kadar yapılan birçok çalışma ile doku ve organ düzeyinde etkileri Tablo 2.2 ve Şekil 2.2'de, hangi dokulardan salınımı ise öncüsü olan FNDC5 mRNA ekspresyonları şeklinde Tablo 2.3'de endojen ve eksojen tam irisin peptidi veya bağlanma bölgesi içeren peptid parçalarının çeşitli organlardaki etki özeti Şekil 2.3 'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. İrisin için hedef organ/doku ve etkisinin özeti

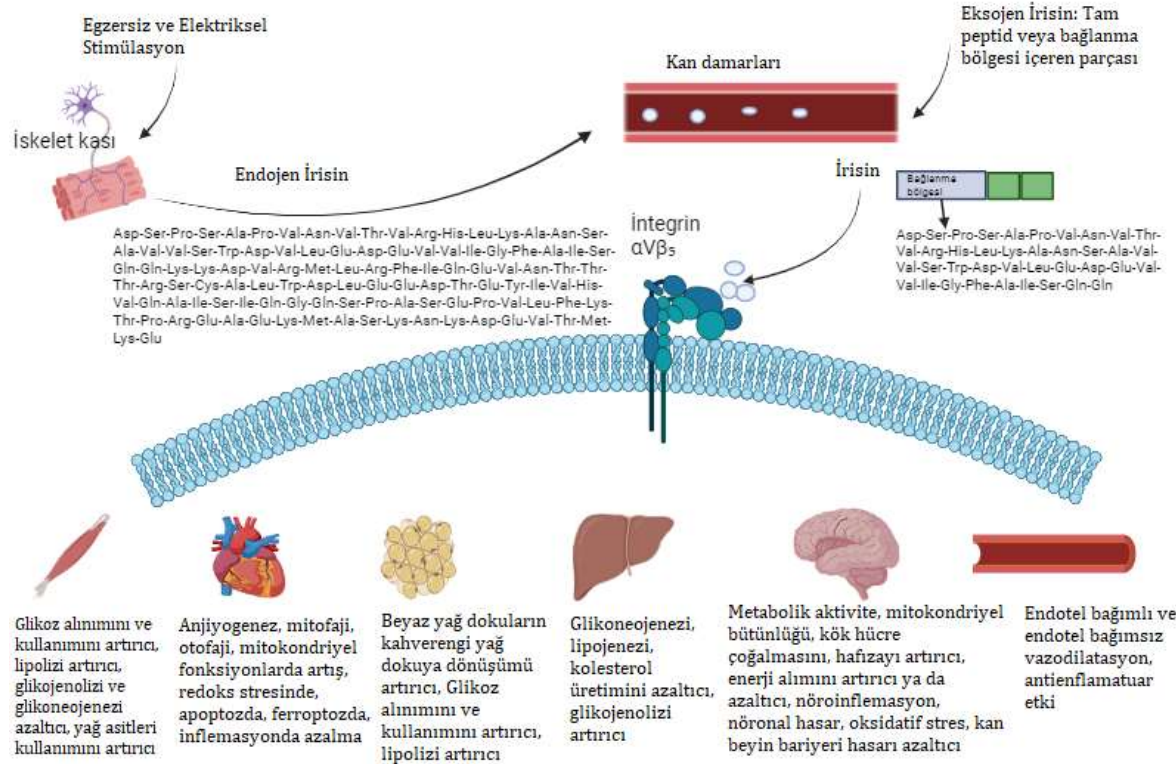
Etki Yeri	Etkisi	Kaynak
Çizgili Kas	Glikoz alımını ve kullanımını artırıcı, lipolizi artırıcı, glikojenolizi ve glikoneojenezi azaltıcı, yağ asitleri kullanımını artırıcı	[90-91]
Kalp	Anjiyogenez, mitofaji, otofaji, mitokondriyel fonksiyonlarda artış, redoks stresinde, apoptozda, ferroptozda, inflamasyonda azalma	[92-96]
Kan Damarları	Endotel bağımlı ve endotel bağımsız vazodilatasyon, antiinflamatuvar etki	[37; 39; 41; 97]
Adipoz doku	Beyaz yağ dokuların kahverengi yağ dokuya dönüşümü artırıcı, Glikoz alımını ve kullanımını artırıcı, lipolizi artırıcı	[98-101]
Karaciğer	Glikoneojenezi, lipojenezi, kolesterol üretimini azaltıcı, glikojenolizi artırıcı	[102-103]
Beyin	Metabolik aktivite, mitokondriyel bütünlüğü, kök hücre çoğalmasını, hafızayı artırıcı, enerji alımını artırıcı ya da azaltıcı, nöroinflamasyon, nöronal hasar, oksidatif stres, kan beyin bariyeri hasarı azaltıcı	[104-108]
Kadın Üreme Organları	Folikül oluşumunu artırıcı, menopoza sonrası kemik kırıklarını azaltıcı	[109-111]
Erkek Üreme Organları	Spermatogenezi ve steroidogenezi artırır	[112-116]
Kemikler	Osteoklast aktivitesini artırıcı, osteoklast aktivitesini azaltıcı etki ile kortikal kemik kütlesinde artış	[117-118]

Tablo 2.3. İrisin öncüsü FNDC5'in farklı dokularda mRNA ekspresyonu [119]

Doku	İnsan	10	Sıçan	10
Kalp	+	+	+	+
Beyin	+	+	+	+
Çizgili kas	+	+	+	+
Karaciğer	+	+	+	+
Over/Testis	+	+	+	+
Böbrek	+	+	+	+
Akciğer	+	+	+	+
Plesanta	+	+	+	+
Prostat	+	+	+	+
İncebağırsak	+	+	+	+
Pankreas	+	+	+	+
Timus	+	+	+	+
Dalak	+	+	+	+
Kahverengi yağ			+	+
Beyaz yağ			+	+
Mide			+	+



Şekil 2.2. İrisin'in gen ekspresyonu ve buna etki eden sinyaller maddelerinin gösterimi (Biorender ile oluşturulmuştur) [119]. N-terminal sinyal peptidi çıkarıldıktan sonra, peptit proteolitik olarak C-terminal kısmından ayrılır, glikozile edilir ve FNIII tekrar bölgesinin çoğunu içeren 112 amino asitlik bir hormon olarak salınır (insanda, tam uzunluktaki proteinin 32-143. amino asitleri; fare ve sıçanda, 29-140. amino asitleri)[120]. FNDC5: Fibronektin tip 3 alan içeren protein 5, ADAM: Bir integrin parçalayıcı ve metalloproteaz, PGC-1α: Peroksizom proliferatörüyle aktifleştirilen reseptör-gama koaktivatörü 1alfa, AMPK: 5' adenosin monofosfat ile aktive olan protein kinaz, Sirt 1: Sirtuin 1, cAMP: Siklik adenosin monofosfat, CREP: cAMP yanıt elementi bağlayıcı protein, MAPK: Mitogenle aktive olan protein kinaz, ERK: Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz, p38: Mitogenle aktive olan protein kinaz alt türüdür.



Şekil 2.3. Endojen ve Eksojen İrisin uygulaması sonrası çeşitli organ/dokulardaki görülen etkiler (Biorender ile oluşturulmuştur)

2.4.1. İrisin-Pulmoner Hipertansiyon İlişkisi

İrisinin pulmoner hipertansiyon üzerindeki etkisi çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır; bunlardan bazıları potansiyel faydalar öne sürerken diğerleri kan basıncı üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını belirtmektedir. Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada irisinin akciğer histolojik değişikliklerini hafiflettiği ve lipopolisakkarit kaynaklı akut akciğer hasarında pulmoner mikrovasküler geçirgenliği azalttığı gösterilmiş ve bu durum pulmoner hipertansiyon durumlarıyla ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Çalışmada, irisinin koruyucu etkilerine, inflamasyonu ve apoptozu baskılayan AMPK/SIRT1 yollarının aktive edilmesinin aracılık edebileceği belirtilmiştir [121]. Nω-Nitro-L-arginin Metil Ester (L-NAME) Hidroklorür ile deneysel hipertansiyonu oluşturulan başka bir çalışma, irisin tedavisi kan basıncını düşürmede anlamlı bir değişikliğe neden olmazken, böbrek nitrik oksit düzeyleri anlamlı olarak artmış ve endotel nitrik oksit sentaz immünreaktivitesinin azaldığı gösterilmiştir [122]. İrisin' in nitrik oksid bağımlı yollar aracılığıyla kan basıncını düşürdüğü ve preeklamsi kadınlarda kan basıncıyla negatif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir. Ancak arteriyel hipertansiyon, diyabet ve kronik böbrek hastalığı gibi kronik hastalıklardaki kesin işlevi daha fazla araştırma gerektirmekte olduğu vurgulanmaktadır [123]. İdiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyonu

(PAH alt grubunda yer alan bir pulmoner hipertansiyondur) olan hastalarda plazma irisin düzeyleri hemodinamik fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olup, düşük plazma irisin düzeyleri daha kötü hemodinamik durum ve daha kötü sağkalım oranlarıyla bağlantısı olduğu bulunmuştur. Bu durumun ise idiyopatik PAH hastalarında hastalığın ciddiyetini ve prognozunu değerlendirmede bir biyobelirteç görevi görebileceği belirtilmiştir [124]. Akut pulmoner embolisi olan hastalarda, olmayanlara kıyasla serum irisin düzeyleri anlamlı derecede düşük bulunmuş ve bu durumun irisinin pulmoner hipertansiyon ile ilişkili olabilen bu durum için tanısal öneme sahip olabileceğini gösterebileceği belirtilmiştir [125]. Özetle, irisinin akciğer hasarına karşı koruyucu etkileri olabilir ve potansiyel olarak pulmoner hipertansiyon şiddeti ve prognozu için bir biyobelirteç görevi görebilir. Ancak pulmoner hipertansiyon tedavisindeki kesin rolü ve pulmoner hipertansiyon hastalarında kan basıncı üzerindeki etkisinin daha fazla araştırılması gerekmektedir.

2.4.2. İrisin-İntegrin $\alpha V/\beta 5$ Reseptör İlişkisi

İntegrinler, hücrelerin çevreleriyle olan biyokimyasal ve mekanik etkileşimlerinde görev alan, hücre iskeleti ile ekstraselüler matriks arasında bağlantı ve sinyal iletimini sağlayan temel yapışma reseptörleridir [126]. İntegrinler, kovalent olmayan şekilde ilişkili α - ve β -alt birimlerden oluşan heterodimerik transmembran glikoprotein reseptörlerinin bir ailesidir [127]. Memeli genomu, yirmi dört benzersiz integrin oluşturmak üzere bir araya gelen 18 bilinen α -alt birim ve sekiz β -alt birim kodlar [128]. Bu 24 integrin reseptöründen en az sekizi ($\alpha V\beta 1$, $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$, $\alpha V\beta 6$, $\alpha V\beta 8$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 8\beta 1$ ve $\alpha 11\beta 3$) arginin-glisin-aspartik asit tripeptit dizisinin yoluyla ligandlara bağlanırlar [129]. $\alpha V\beta 3$ 'ün ligand bağlama özgülüğünün, $\alpha V\beta 5$ 'ten daha gevşek olduğu genel olarak kabul edilir, çünkü $\alpha V\beta 3$ 'ün $\alpha V\beta 5$ 'ten en az altı tane daha fazla endojen ligandı bağladığı bilinmektedir [130-131]. İntegrinler $\alpha V\beta 3$ ve $\alpha V\beta 5$, farklı mekanizmalarla anjiyogenezde [132] ve vasküler geçirgenliğin düzenlenmesinde önemli roller oynar. Pulmoner epitel hücrelerinde $\alpha V\beta 5$ 'in bloke edilmesi/genetik yokluğu, akut akciğer hasarı modellerinde vasküler geçirgenlikteki artışları önlediği gösterilmiştir [133]. Yapılan çalışmalarla $\alpha V\beta 5$ 'in endotel hücreleri de dahil olmak üzere yaygın olarak eksprese edilip, endotel hücresi iskeletinin yeniden oluşumu ile vasküler geçirgenliği düzenlediği bildirilmiştir [134].

İrisin ile integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörü arasındaki etkileşim çeşitli bağlamlarda araştırılmış olup, araştırmalar irisinin etkilerine bu reseptörün aracılık edebildiğini ortaya çıkarmıştır [135-137]. İrisin ve kemik yeniden şekillenmesinde, αV sınıfı integrinlerin proteinlerine bağlandığı gösterilmiştir ve biyofiziksel çalışmalar, irisin ile $\alpha V/\beta 5$ integrin arasındaki etkileşimli yüzeyleri

tanımlamıştır[138]. Bu etkileşim ile iskeletin yeniden şekillenmesine irisin rolünün, osteositik canlılığı ve kemik yeniden şekillenmesinin lokal bir modülatörü olan sklerostinin üretimini artırabileceği şeklinde olduğu belirtilmiştir [138]. Nöroproteksiyon ve nöroinflamasyonda, farelerde intraserebral kanamadan sonra irisin tedavisi nörolojik fonksiyonları iyileştirdiği, beyin ödemi azalttığı ve nöroinflamasyonu ve nöronal apoptozu iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu etkilere integrin $\alpha V/\beta 5$ /AMPK sinyal yolu aracılığıyla aracılık edildiği ve irisin ile tedavi sonrası integrin $\alpha V/\beta 5$ ve fosforile AMPK ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir [139]. İntegrin $\alpha V/\beta 5$ 'i içeren irisin reseptör sinyal yolu ile ilgili Zhu ve arkadaşları, mekanik stresin iletilmesinde ve kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik/adipojenik farklılaşmasının düzenlenmesinde irisinin önemli bir rol oynadığı, integrin $\alpha V/\beta 5$ geninin susturulması ile osteojenik farklılaşmanın azaldığını, aşırı ekspresyonu ile arttığını ortaya koymuşlardır [140]. İrisin'in, integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörüne bağlanarak bağırsak hasarı sırasında bağırsak epitel bariyer fonksiyon bozukluğunu tersine çevirdiğini, mitokondriyal fonksiyonu koruyan ve enterosit apoptozunu azaltan AMPK-UCP2 yolunu aktive ettiği gösterilmiştir [141]. Metastatik prostat kanseri hücrelerinde irisinin, apoptozu indüklediği ve in vivo olarak tümör büyümesini inhibe ettiği $\alpha V/\beta 5$ integrin ve PI3k-Akt sinyal yolundaki değişiklikler aracılığı ile olduğu gösterilmiştir [142]. Endotel bariyer fonksiyonu üzerine irisinin, integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörüne bağlanarak endotel bariyer fonksiyonunu güçlendirdiği ve mikrovasküler sızıntıya bağlı hastalıkları azalttığı, Src-MLCK- β -katenin yolunun baskılanması ve AMPK-Cdc42/Rac1 yolunun aktivasyonu ile ilişkilendirilerek gösterilmiştir [141]. İrisinin, beyin dokusunda integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptör düzeyleri ile ilgili olarak Jackson ve arkadaşları tarafından çeşitli yaşlardaki insan beyin dokularında tespit edilmiş ve bunun irisinin gelişmekte olan beyin üzerinde etkileri olabileceğini ve bebeklerde zika virüsü enfeksiyonu gibi hastalıklar için etkileri olabileceği bahsedilmiştir [143].

Sonuç olarak bu çalışmalar irisinin, kemiğin yeniden şekillenmesi, nöroproteksiyon, kök hücrelerin farklılaşması, bağırsak bariyer fonksiyonu, kanser apoptozu ve endotel fonksiyonu dahil olmak üzere çeşitli dokular ve koşullar altında etkilerini göstermek üzere integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörü ile etkileşime girdiğini göstermekle beraber başkaca hücre ve dokularda benzer etkileşimin olduğunun gösterilmesi de gerekmektedir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Deneyde toplam 32 adet Erkek Wistar sıçanlar (180-260 gram) kullanıldı. Sıçanlar, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu 2024/12 sayılı onayı sonrası yine Mersin Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Biriminden temin edildi. Çalışmada dört grup olup, grupların denek sayıları güç analizi sonrası [144], etki büyüklüğü 0.91 testin gücü %90 tip 1 hata %1 alınarak her grupta 8 (n=8) olarak belirlendi. Gruplar şu şekilde oluşturuldu:

Grup 1: Kontrol (Monokrotalin çözücüsü: HCl, NaOH)

Grup 2: Monokrotalin (60 mg/kg i.p. tek doz)

Grup 3: Monokrotalin + Yüzme egzersizi (haftada 5 gün 30 dk yüzmeye)

Grup 4: Monokrotalin + EMS (İki ayak bileklerine yerleştirilen elektrotlarla 7Hz, 200 μ s, 41 volt)

3.2. Madde ve Malzemeler

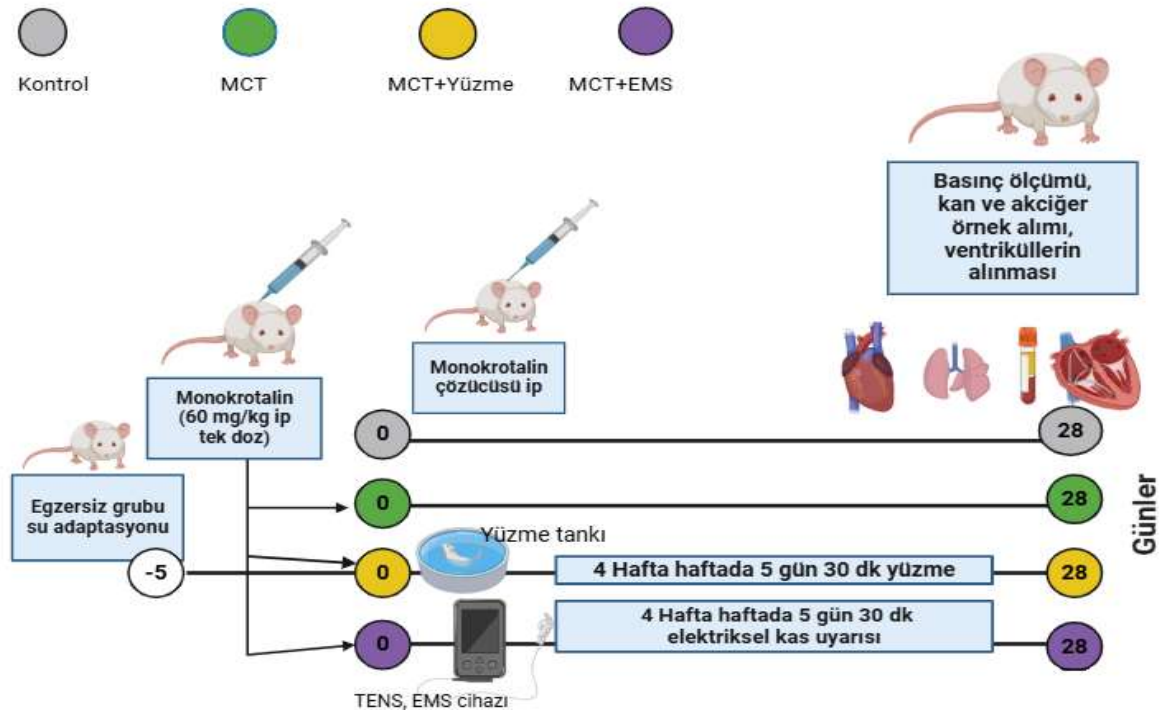
İrisin, Phoenix Pharmaceuticals'dan ($0.67-24 \times 10^{-7}$ M), integrin α V/ β 5 inhibitörü silengetid MedChemExpress'den (10^{-6} M) (HY-16141, Cilengetide). Monokrotalin, fenilefrin, asetilkolin, integrin α V antikor (AF0185) (MAB1978, C2401-1G), formalin, etil alkol, hematoksilen eozin boyası, Kına, HCl asit, dimetil sülfoksit (DMSO) ile Krebs tuz ve re ajanları Sigma Inc. (Almanya) temin edilirken, integrin β 5 antikor Affbiotech'ten, sıçan irisin elisa kiti (E6281Ra, 96 well) BT-Lab'dan temin edildi.

EMS (KTR-2610, Çin) TENS-EMS cihazı shenzhen kentro firmasından, basınç transdüseri COMMAT firmasından (Ankara, Türkiye)'den satın alındı. P50 katater, pH metre, izole organ banyosu sistemi Biopac Inc.'dan (Kaliforniya, ABD) temin edildi. Yüzme havuzu (dikdörtgen 32 cm X 114 cm X 44 cm) bir plastik bidon kullanılarak bizim tarafımızdan hazırlandı.

Deneyde yapılan işlem sıralaması şu şekildedir (Şekil 3.1'de sunulmuştur):

- 1- Toplamda 32 denek rastgele olarak dört gruba ayrılarak ve kiloları tartılıp kına ile numaralandırılarak (sağ ön ayak: bir, sol ön ayak: iki, sağ arka ayak: üç, sol arka ayak: dört) gruplar dörderli olarak kafeslere konuldu.
- 2- MCT grubundan başlanarak hergün 2 sıçana monokrotalin 60mg/kg tek doz i.p. uygulandı.

- 3- MCT+Yüzme grubu sıçanları monokrotalin uygulaması + yüzme egzersizi ve MCT+EMS grubu sıçanlarına ise monokrotalin + EMS 30 dk uygulandı.
- 4- Gruplardaki sıçanlar 28. günde 60 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin uygulanarak anestezi yapıldı. Daha sonra polietilen 50 (P50) kateteri ile sağ *jugular ven eksterna* ile sağ ventriküle girilerek pulmoner arteriyel basıncını yansıtan sağ ventrikül basıncı ölçümü yapıldı.
- 5- Basıncı ölçümleri sonrası kalp ponksiyonu ile kan örnekleri alınıp santrifüj edilerek serum kısmı ayrıştırılıp donduruldu (kan örnekleri 1000 g'de 15 dakika +4 °C'de santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri analiz edilene kadar -80°C'de saklandı).
- 6- Kalp ponksiyonu sonrası trakea kanülasyonu ile %10 luk formalin akciğerlere gönderilerek, sonrasında torakotomi yapılarak akciğer sol lobundan kesitler %10 formalin ile yıkanarak fikse edilmek üzere bir numune kaplarına konuldu.
- 7- Kalp, önce atriumlarından ayrılarak ve daha sonra sağ ve sol ventriküller septum solda olacak şekilde ayrılarak ve yaş kütleleri fulton indeks ile sağ ventrikül hipertrofisi değerlendirildi.
- 8- Torakotomi sonrası pulmoner arter diseksiyonu yapılarak arter halkaları izole organ banyosunda vazodilatör yanıtlar yönünden değerlendirildi.
- 9- Alınan akciğer kesitlerinden (formaldehidde saklanan) daha sonra $\alpha V/\beta 5$ reseptör varlığını göstermek için immünohistokimyasal analiz yapıldı.
- 10- Öncesinde alınan kan serum örneklerinde İrisin Elisa kiti ile irisin seviyelerine bakıldı.



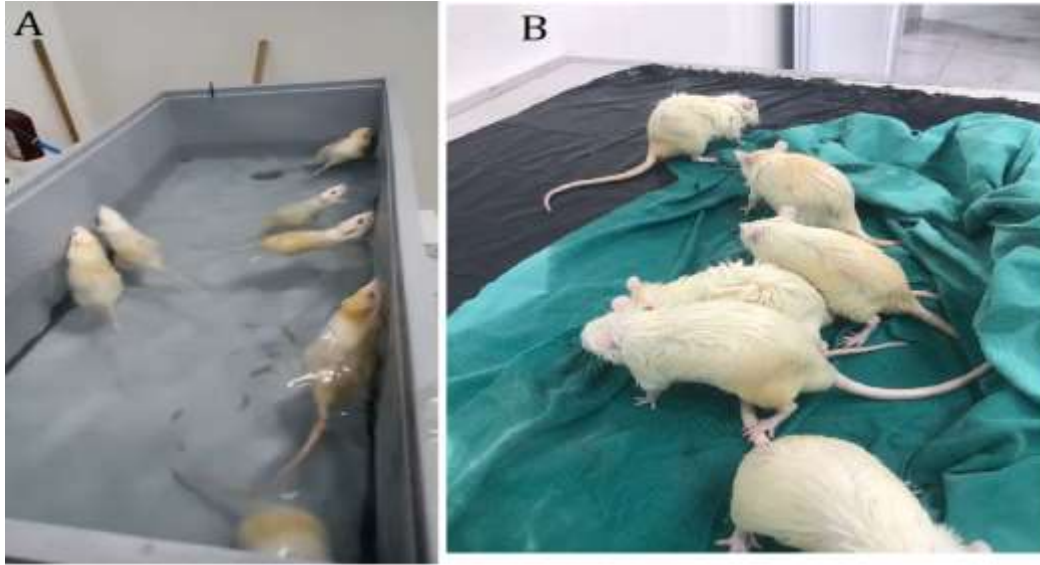
Şekil 3.1. Deney gruplarına ait işlem basamaklarının şematik gösterimi (Biorender ile oluşturulmuştur)

3.3. Monokrotalin Solüsyonunun Hazırlanması

Bir ml'lik 60 mg/ml monokrotalin çözeltisi için 2 ml'lik bir tüpte 60 mg monokrotalin tartıldı. Daha sonra 700 µL %0,9 NaCl ve 200 µL 1 M HCl eklenerek, tüpteki solüsyon sıcak musluk suyu içinde ısıtılıp vortekslendi. Sonrasında pH metre ile pH'ı 7.0'a olacak şekilde 6 N NaOH eklendi. İntraperitoneal uygulama için kg başına 1 ml 60 mg/ml monokrotalin solüsyonu enjekte edildi (200 g sıçan için 0,2 ml 60 mg/ml) [145].

3.4. Yüzme Egzersizi

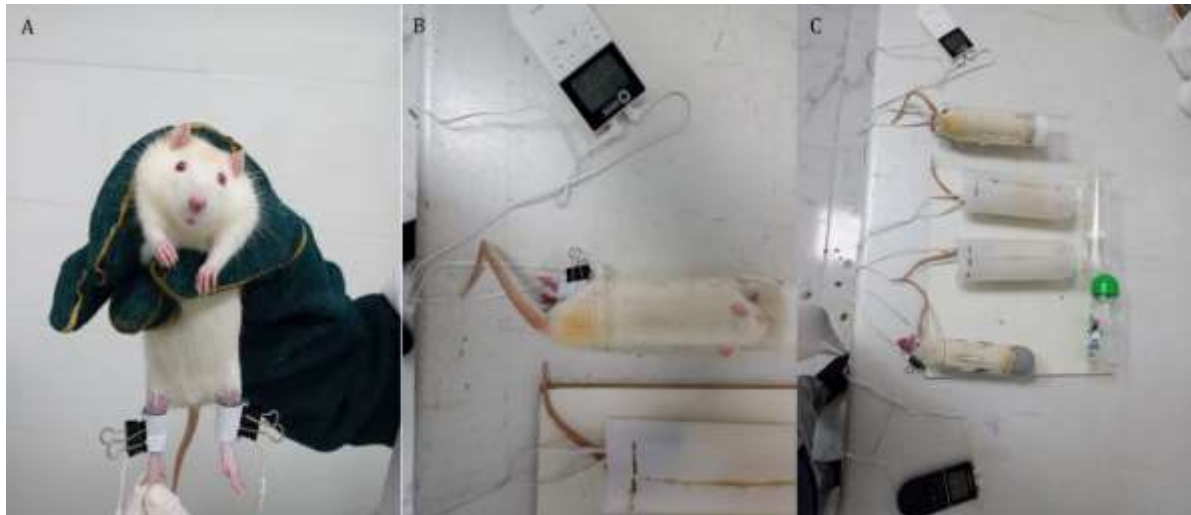
Yüzme egzersizi öncesi deneklerin adaptasyon periyodu, 5 gün boyunca 15 dk bir yüzme tankında bulunan sıg suda (~23 °C, 5 cm derinliğinde) yapıldı. Daha sonra su derinliği 35 cm olan bir dikdörtgen yüzme havuzunda 30 dakika boyunca haftanın 5 günü 4 hafta boyunca kendiliğinden yüzmeleri sağlanarak yapıldı (Şekil 3.2). Sıçanların yorgunluktan hareketsiz kalması durumunda su dalgalandırması yapılarak tekrar yüzmeleri sağlandı. Yüzme işlemi sonrasında vücutları kurutularak kafeslerine bırakıldı.



Şekil 3.2. MCT+Yüzme grubuna ait fotoğraflar. **A.** Sıçanların 32x114x44 cm'lik havuz içinde yüzmelerini göstermektedir, **B.** Yüzme sonrası deneklerin kurulama işlemini göstermektedir.

3.5. Elektriksel Kas Uyarısı

Sağ ve sol ayak bilekleri tıraş edilen denekler, bir sabitleme aparatına (restrainer) yerleştirildi. Tıraş edilen her iki ayak bileğine kare elektrottan kemer tipi elektrotlar oluşturularak (3cm x 6cm) yerleştirildi. Alt ekstremite kaslarına, 200 μ s (0,20 ms) darbe genişliğinde 7 Hz'de (saniyede 35 Hz'e karşılık gelmektedir) maksimum çıkış voltajı 41 volt ve ortalama maksimum ortalama akım 0,22 mA olacak şekilde KTR 2610 TENS-EMS cihazı ile elektriksel kas uyarı gerçekleştirildi (Şekil 3.3). Her iki ayak bileği eşzamanlı olarak 30 dakika boyunca sürekli bir seğirme ortaya çıkacak şekilde uygulandı [81].



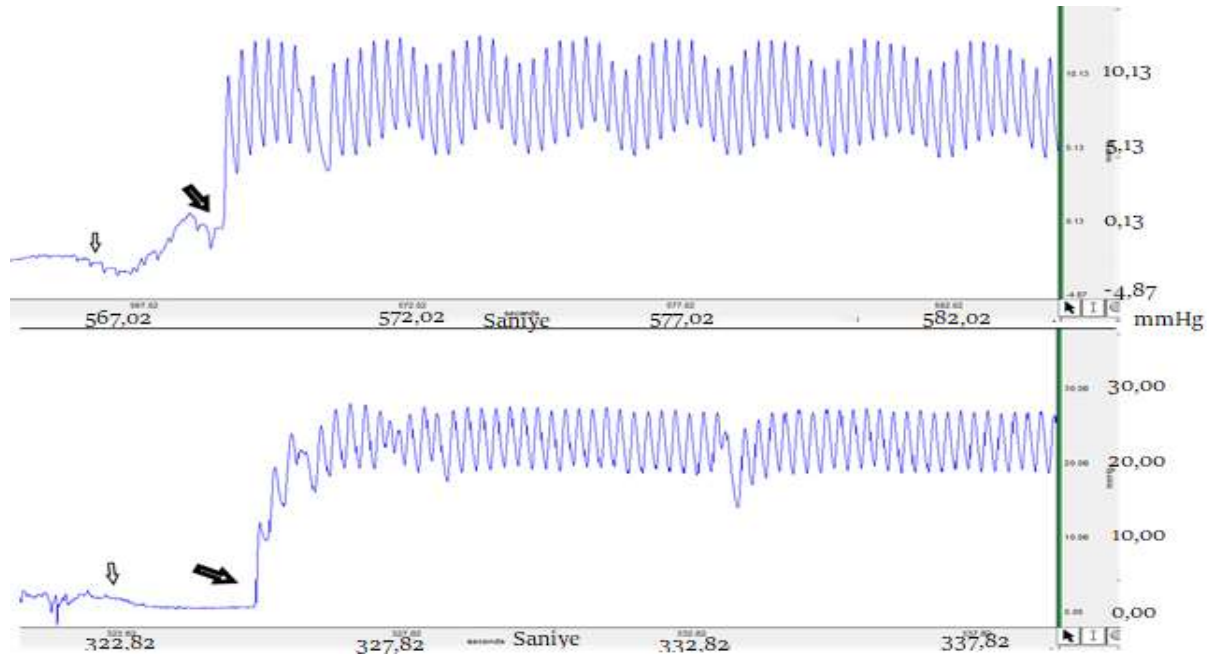
Şekil 3.3. Elektriksel kas uyarısı verilen gruba ait fotoğraflar. **A.** Deneklere 3 cm x 6 cm'lik elektrotların bağlanma şeklini göstermektedir, **B.** EMS verilme esnasında deneklerin sabitlenme şeklini göstermektedir, **C.** Bir EMS'nin, bir seansta 2 farklı cihaz ile toplam 4 denneğin eş zamanlı uygulanmasını göstermektedir.

3.6. Kateterizasyon

Sıçanlar ketamin + ksilazin ile anestezi edildi ve boyun bölgesindeki cilt kesilerek dikkatli bir şekilde jugular vene ulaşıldı. Damarın üst kısmı 4.0 cerrahi iplikle 2 düğüm olacak şekilde bağlandı. Bu işlemten sonra 22 G'lik iğne ile damar delme işlemi gerçekleştirilmiş ve daha sonra P50 kateter (basınç transdusirine bağlı ve heparinli kreps solüsyonu bulunan) damar içine yerleştirilerek cerrahi 4.0 iplikle hafif sabitlendi. P50 kateterizasyonu ile girdikten sonra yavaş bir şekilde katater ilerletilerek sağ ventriküle girildi. Sağ ventriküle doğru bir şekilde girildiği basınç trasesindeki basınç göstergesindeki değişim ile teyit edildi. Ayrıca kataterin damar içerisinde ilerletilmesi esnasında çok düşük basınçtan kaynaklı (0-2 mmHg arası) kateter içine herhangi bir kan geri kaçması yaşanmazken, sağ ventriküle girildiği zaman kateter içine bir miktar kan geri kaçmakta ve ventrikül atımı hissedilmektedir (kanın geri kaçması, ventriküllerin sistol-diyastol olaylarından kaynaklanmaktadır). Kateterizasyon basamaklarına ait resimler şekil 3.4'te gösterilmiştir. Ayrıca basınç trase örneği şekil 3.5'de gösterilmiştir.



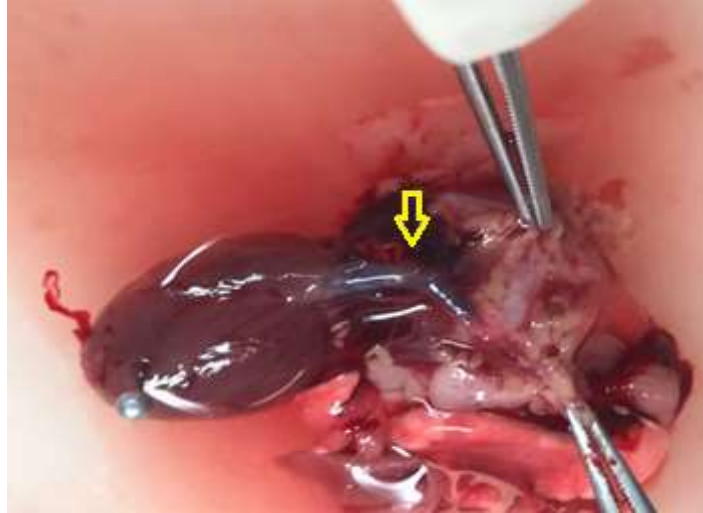
Şekil 3.4. Kateterizasyon işlem aşamaları. **A.** İnsizyon yerini göstermektedir, **B.** Basınç ölçümü için girilecek juguler venin temizlenmesini ve damarın yerini göstermektedir, **C.** Sağ ventrikül basınç ölçümü için juguler ven aracılığı ile sağ ventriküle kateterin yerleştirilmesini göstermektedir.



Şekil 3.5. Sağ ventrikül ortalama basınç ölçümü. **A.** Kontrol grubuna ait sağ ventrikül basınç trase örneği, **B.** MCT grubuna ait sağ ventrikül basınç trase örneği. İnce ok: Damar içindeki basıncı, Kalın ok: sağ ventriküle girişteki basınç değişikliğini göstermektedir.

3.7. Pulmoner Arter Reaktivitesinin İn vitro Olarak Gösterilmesi

Ekzanguinasyonu takiben sıçanların göğüs kafesleri açıldı ve pulmoner arter izole edildi. İçinde daha önceden gazlandırılmış (%95 O₂ + % 5 CO₂) Krebs solüsyonu (NaCl: 119 mM, KCl: 4,7 mM, MgSO₄: 1,5 mM, KH₂PO₄: 1,2 mM, CaCl₂: 2,5 mM, NaHCO₃: 25 mM, Glukoz: 11 mM) bir Petri'ye alındı ve akabinde pulmoner arter 3-5 mm'lik halkalar şeklinde kesildi (Şekil 3.6). İki çelik kanca ile bir organ banyosunda (10 ml) 0,5 g ön gerim altında asıldı. Damar dokusunun mekanik yanıtları bir izometrik transdüsr (COMMAT, Ankara Türkiye) kullanılarak bir veri toplama sistemi (MP35, Biopac, Kaliforniya, ABD) aracılığı ile bilgisayara aktarıldı ve burada kaydedildi. Bir saatlik dengelenme süresi sonunda pulmoner arter halkaları 2x10⁻⁵ M fenilefrin ile önkastırıldı, kasılma plato düzeyine ulaşınca banyo ortamına 10⁻⁶ M asetilkolin klorür uygulanarak damar dokusu endotelial bütünlüğü test edildi. Daha sonra organ banyosu taze Krebs solüsyonu ile iyice yıkandı ve damar dokusu ilave 30-45 dk'lık dinlenmeye alındı. Bu süre sonunda damar halkaları yeniden fenilefrin ile kastırılarak kasılmanın platoya ulaşmasını takiben tek konsantrasyon halinde banyo ortamına irisin (10⁻⁷ M) uygulandı. Elde edilen gevşemelerde integrin α V/ β 5 reseptör aracılığını ortaya koymak için bu reseptörlerin blokörü silengitide (10⁻⁶ M) varlığında irisin vazodilatasyonları yeniden elde edildi. Bu işlemler dört grup için ayrı ayrı uygulandı.



Şekil 3.6. Pulmoner arter diseksiyonu (ok ile gösterilmiştir)

3.8. Kalp Ventrikül Kütle Ölçümü

Kalbin sağ ventrikül basınç ölçümleri yapıldıktan sonra kalp ponksiyonu ile kan alma işlemi yapılmış ve daha sonrasında pulmoner arter izole edildikten sonra kalp bölmelerinden ventriküllerin kütlesi ölçüldü. Kütle ölçümü öncesi, önce atriumlar ventriküllerden ayrıldı. Ventriküllerden sağ ventrikül pulmoner semilunar kapaktan itibaren ince cerrahi makas ile septum sol ventrikülde kalacak şekilde sağ ventrikül kesilerek çıkartıldı. Daha sonra ise sağ ve sol ventrikül yaş kütleleri hassas terazi ile tartıldı (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Sağ ventrikül hipertrofi değerlendirmesi için kütle ölçümü. **A.** Kalbin sağ ve sol ventrikül+septum birbirinden ayrılmış halini göstermektedir, **B.** Ventriküllerin yaş kütlelerinin ölçümünü göstermektedir.

3.9. Histokimyasal İnceleme

Sol akciğerler %10 luk formalin solüsyonu içinde tespit edildikten hematoksilen ve eozin (H&E) boyası ile rutin histolojik boyama protokolü uygulandı. Parafin bloklardan 4-5 µm

kalınlığında kesitler alınarak lamlara yerleştirildi. Kesitler, öncelikle 37°C'de 24 saat, ardından 60°C'de 3 saat süreyle etüvde bekletildi. Oda sıcaklığında iki kez 45 dakika süreyle ksilolde bekletilerek deparafinizasyon sağlandı. Takiben, %96'dan %70'e azalan etanol serilerinden (%90, %80, %70) geçirilerek rehidrasyon yapıldı. Distile suda yıkandıktan sonra, kesitler 10 dakika hematoksilen solüsyonunda inkübe edildi ve ardından 15 dakika boyunca akan su altında yıkandı. Suyu süzülen kesitler, daha sonra 2 dakika boyunca eozin solüsyonunda bekletildi. Ardışık olarak %70, %80, %90 ve %96 etanol serilerinde birer dakika süreyle geçirildikten sonra, üç kez 20 dakika süreyle ksilolde şeffaflandırma işlemi gerçekleştirildi ve kesitler entellan ile kapatıldı. H&E ile boyanan preparatlar ışık mikroskopunda 10x, 20x ve 40x büyütmelemlerle incelendi. Tüm histolojik analizler, çalışma grubu atamalarından habersiz, deneysel çalışmaya kör bir histolog tarafından gerçekleştirildi. Her gruptaki her sıçan için üç ayrı preparat seçildi ve her preparattan, tanısal değeri yüksek en az 10 alan analiz edilerek akciğer dokusundaki damarların dış çapı, lümen çapı, oklüzyon skoru ve medial tabaka hipertrofisi değerlendirildi. Tam sirküler şekilde olmayan veya damar duvarının 1/4'ünden fazlası kollabe, süperpoze olan damarlar değerlendirmeye alınmadı. Değerlendirmeye alınan her damar için damar lümen çapı ve dış elastik membran sınırları esas alınarak (adventisya tabakası dahil edilmemiştir) damar dış çapı belirlendikten sonra damar duvar kalınlığı $[(\text{Dış çap-lümen çapı}) / 2]$ ve oklüzyon skoru $(100x (\text{dış çap-lümen çapı}) / \text{dış çap})$ ayrı ayrı hesaplandı [145].

3.10. İmmünohistokimyasal Boyama

Doku örnekleri %10'luk nötral formalin solüsyonunda fikse edildikten sonra rutin doku takip işlemleri uygulanarak parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak ışık mikroskopik inceleme amacıyla hazırlanan preparatlar H&E ile boyandı. Kesitlerin bir bölümü ise immünohistokimyasal analizler için deparafinizasyona ve rehidratasyona tabi tutuldu. Rehidratasyon işlemini takiben, kesitler %0.3 Triton X-100 içeren solüsyonda 10 dakika inkübe edildi ve ardından fosfat tamponlu salin (PBS; pH 7.4) ile yıkandı. Antijen geri kazanımı amacıyla kesitlere sitrat tamponu (pH 6.0) uygulandı. Endojen peroksidaz aktivitesinin inhibisyonu için PBS içinde hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisiyle 10 dakika inkübasyon gerçekleştirildi. Nonimmün serum ile bloklama işleminin ardından, kesitler 1/200 oranında seyreltilmiş primer antikorlar (alfa-V ve beta-5) ile +4°C'de 18 saat süreyle inkübe edildi. Daha sonra sırasıyla biyotinlenmiş sekonder antikor ve streptavidin-peroksidaz konjugatı her biri 20 dakika süreyle uygulandı. Renk reaksiyonunun geliştirilmesi amacıyla 3,3'-diaminobenzidin (DAB) kromojeni kullanıldı. Son olarak, doku morfolojisinin değerlendirilmesi için hematoksilenle karşı boyama gerçekleştirildi [146].

3.11. İrisin Tayini

Tayin öncesinde, daha öncesinde dondurulmuş serum örnekleri (Numuneler topladıktan sonra 30 dakika içinde 2-8°C'de 1000×g'de 15 dakika boyunca santrifüjlenip -70°C de saklanmıştır) çözündürüldü ve santrifüj edildi. İrisin seviyesi elisa kiti üreticisinin talimatları doğrultusunda basamak basamak uygulanarak gerçekleştirildi. Kit sonucunun okunması 450 ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik mikroparka okuyucu ile yapıldı. Elde edilen absorban değerleri ile kit standartlarının karşılı değerler kullanılarak hiperbol bir eğri ve konsantrasyon değerleri oluşturuldu.

3.12. İstatistik

Vazodilatör yanıtlar fenilefrin kasılmalarının yüzdesi olarak ifade edildi. Bu çalışmada elde edilen veriler, grup sayısına, verilerin normal dağılım gösterip göstermemesine, bağımlı olup olmamasına göre değerlendirildi ve buna göre uygun test istatistiği seçildi. Kolmogorov-Smirnov veya Shapiro-Wilk testine göre normal dağılan verilere ANOVA testi ve sonrasında varyans dağılımına uygun bir *post-hoc* testi uygulandı. Grup verileri normal dağılım göstermeyen veriler için ise, Kruskal Wallis varyans analizi testi yapıldı. Gruplar arasındaki anlamlılık $p < 0.05$ ile H_0 hipotezi ret edilip H_1 hipotezi kabul edildi.

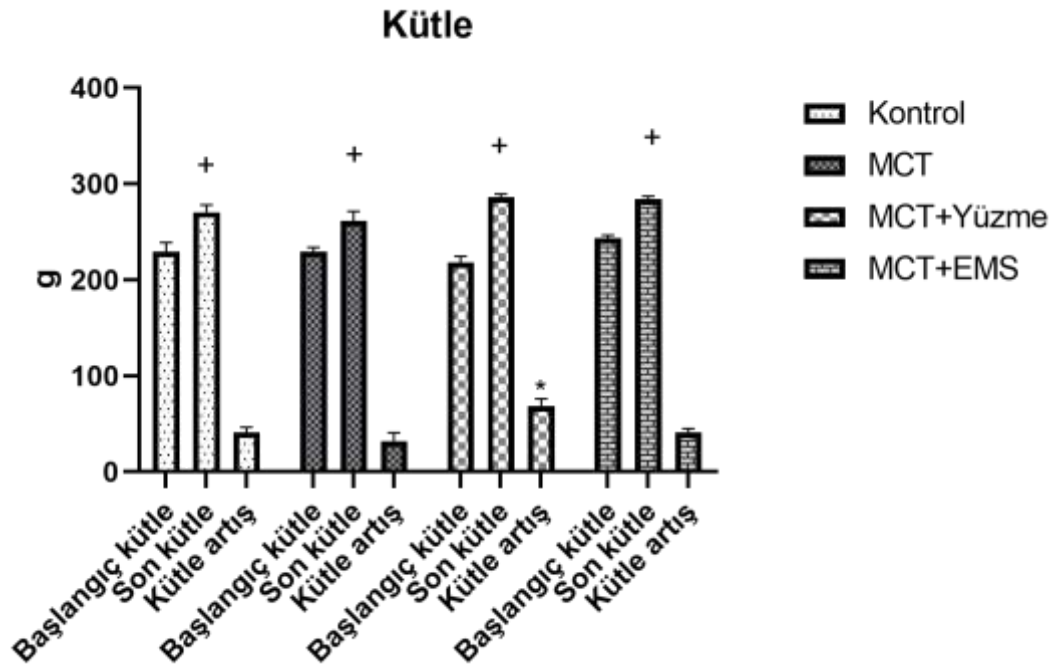
4. BULGULAR

4.1. Kütle Değişimi Değerlendirilmesi

Sıçanların zamana bağlı vücut kütlelerindeki değişimler deney başlangıcı ve sakrifikasyon öncesi ölçüldü ve bu değişimler Tablo 4.1’de gösterildi. Grup içi kütle değişimleri karşılaştırıldığında tüm gruplarda anlamlı bir kilo artışı gözlemlendi. Kilo artışlarının ortalamasını gruplar arasında karşılaştırdığımızda ise kontrol grubuna göre MCT+Yüzme grubunda anlamlı bir artış görülürken diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 4.1. Gruplara ait kilo değişim tablosu

Gruplar	Önceki Kütle (g)	Sonraki Kütle (g)	Fark (g)
Kontrol	229,5±9,29	270,5±7,57	41±5,66
MCT	229,4±4,37	261,4±9,94	32±8,83
MCT + Yüzme	217,7±6,75	286,3±3,11	68,67±7,43
MCT + EMS	243±3,52	284,5±2,56	41,5±3,57



Şekil 4.1. Kütle değişim grafiği. Grup içi kütle öncesi-sonrası bağımlı testlerden Wilcoxon testi ile yapıldı. $p < 0,05$, +: Başlangıç kütlelerine göre anlamlılığı temsil etmektedir. Gruplar arasında kütle artışı karşılaştırması ise Kruskal-Wallis testi ile yapıldı ve ortalama değer $\pm$ SEM kullanıldı. $p < 0,05$, *: Kontrol grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir (n=6-8).

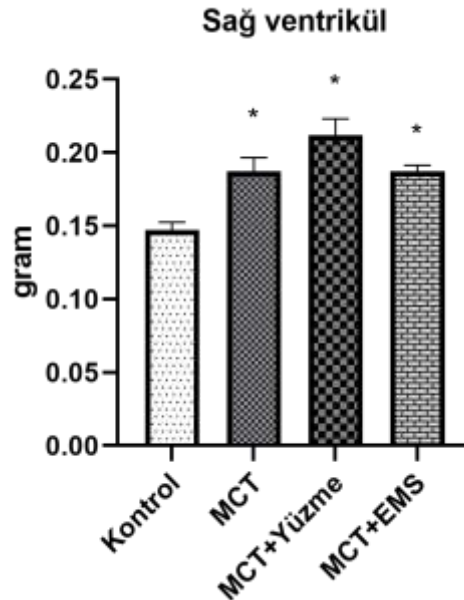
4.2. Hipertrofi Değerlendirmesi

Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) ile ilişkili sağ kalp hipertrofisinin değerlendirilmesi amacıyla sağ ventrikül ve sol ventrikül ıslak kütleleri ile Fulton indeksi [Fulton İndeksi = (Sağ Ventrikül / (Sol Ventrikül + Septum)) × 100] hesaplandı. Elde edilen ıslak kütle ortalamaları Tablo 4.2’de sunuldu.

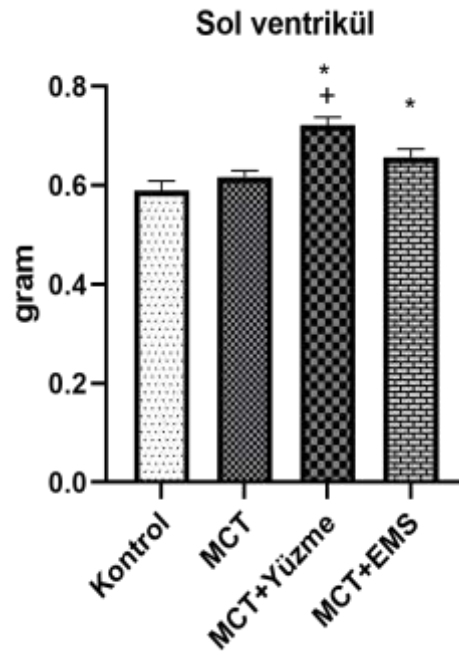
Tablo 4.2. Kalp ventrikül ıslak kütle ölçüm verileri

Gruplar	Sol ventrikül ± SEM	Sağ ventrikül ± SEM	Fulton indeksi ± SEM
Kontrol	0,59 ± 0,02 g	0,15 ± 0,005 g	0,25 ± 0,007
MCT	0,62 ± 0,013 g	0,19 ± 0,009 g	0,30 ± 0,018
MCT+Yüzme	0,72 ± 0,016 g	0,21 ± 0,010 g	0,30 ± 0,012
MCT+EMS	0,66 ± 0,016 g	0,19 ± 0,004 g	0,28 ± 0,008

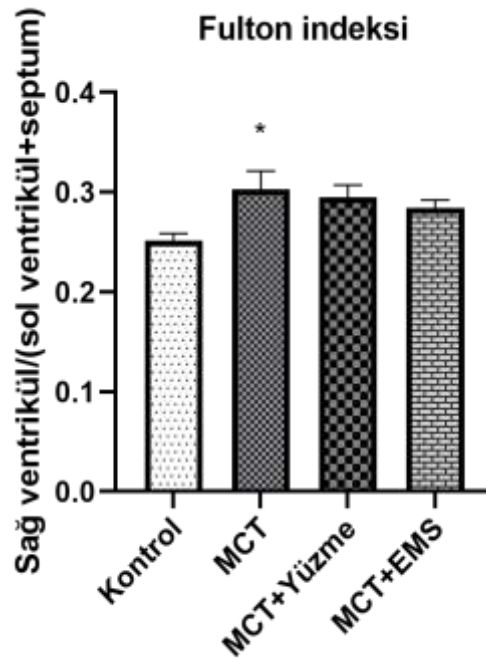
Sağ ventrikül kütlesi bakımından MCT, MCT+Yüzme ve MCT+EMS gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı (Şekil 4.2). Sol ventrikül kütlesi analizinde ise MCT+Yüzme ve MCT+EMS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde bir artış gözlemlendi (Şekil 4.3). Ayrıca MCT+Yüzme grubunda MCT grubuna göre de anlamlı bir artış vardı (Şekil 4.3). Sağ ventrikül hipertrofisini değerlendirmek amacıyla hesaplanan Fulton indeksi açısından ise MCT grubunda, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış belirlendi (Şekil 4.4).



Şekil 4.2. Sağ ventrikül morfometrik kütle ölçümü. Veriler ortalama ±SEM olarak ifade edildi ve istatistiksel analiz için ANOVA ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. p<0,05, *: Kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı temsil etmektedir (n=6-8).



Şekil 4.3. Sol ventrikül morfometrik kütle ölçümü. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi ve istatistiksel analiz için ANOVA ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. $p < 0,05$ *: Kontrol grubuna göre anlamlılığı, +: MCT grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir (n=6-8).



Şekil 4.4. Sağ ventrikül hipertrofisinin değerlendirilmesi için yapılan fulton indeksi. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi, istatistiksel analiz için ANOVA ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. $p < 0,05$, *: Kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı temsil etmektedir (n=6-8).

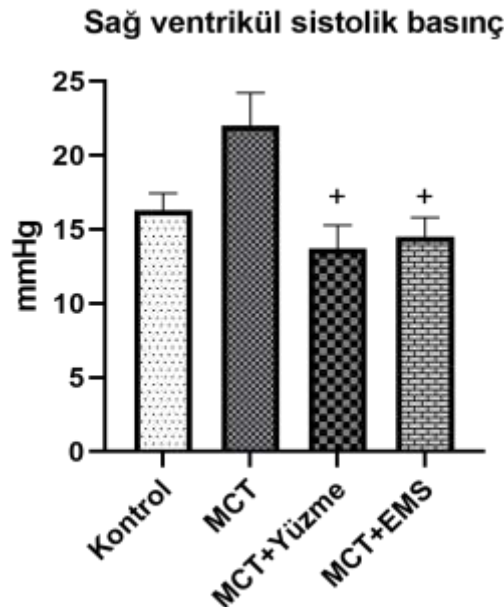
4.3. Sağ Ventrikül Basınç Değerlendirmesi

Çalışmada, sıçanların pulmoner arter basıncını yansıtan sağ ventrikül basınç parametreleri değerlendirildi. Sağ ventrikül sistolik ve diyastolik basınçları, ortalama ventrikül basınçları ile sağ kalp atım sayıları karşılaştırıldı. Karşılaştırmalara ait sayısal veriler Tablo 4.3’de verilmiştir.

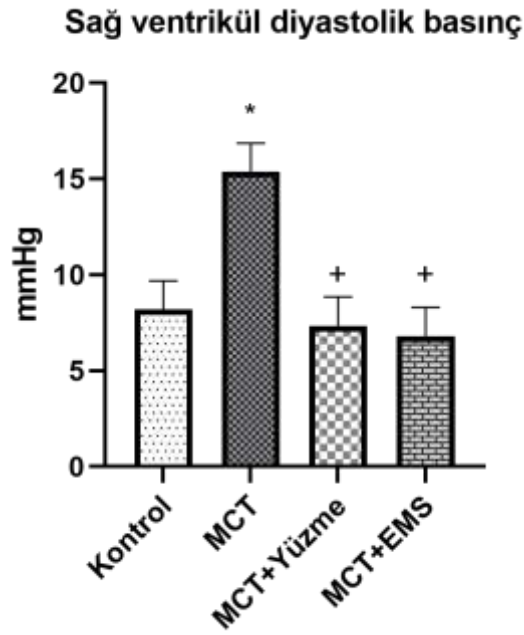
Tablo 4.3. Sağ ventrikül basınç verileri

Gruplar	Sistolik basınç $\pm$ SEM	Diyastolik basınç $\pm$ SEM	Ortalama ventrikül basıncı $\pm$ SEM	Ventrikül atım sayısı $\pm$ SEM
Kontrol	16,27 $\pm$ 1,170 mmHg	8,22 $\pm$ 1,483 mmHg	11,71 $\pm$ 1,099 mmHg	199,8 $\pm$ 16,393
MCT	22,01 $\pm$ 2,218 mmHg	15,39 $\pm$ 1,461 mmHg	18,77 $\pm$ 1,949 mmHg	219,0 $\pm$ 32,195
MCT+Yüzme	13,72 $\pm$ 1,566 mmHg	7,35 $\pm$ 1,504 mmHg	10,39 $\pm$ 1,619 mmHg	213,17 $\pm$ 14,894
MCT+EMS	14,50 $\pm$ 1,307 mmHg	6,81 $\pm$ 1,507 mmHg	10,48 $\pm$ 1,396 mmHg	199,29 $\pm$ 10,634

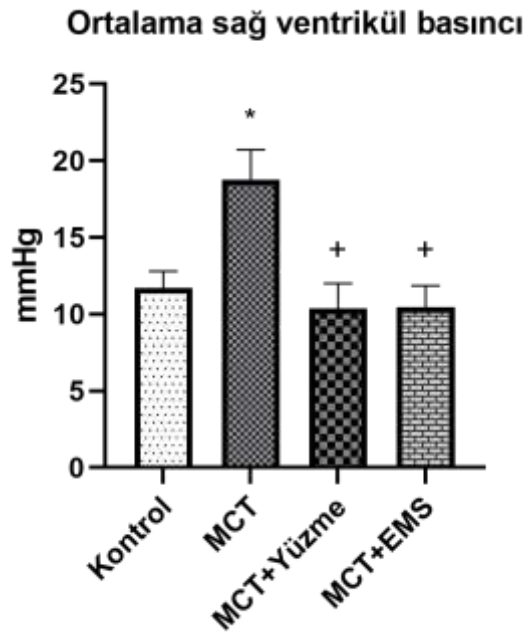
İstatistiksel analizler sonucunda hem MCT+Yüzme hem de MCT+EMS gruplarının sistolik basınçları, MCT grubuna kıyasla anlamlı olarak daha düşük bulundu (Şekil 4.5). Sağ ventrikül diyastolik basınçları (Şekil 4.6) ve ortalama ventrikül basınçları karşılaştırmasında ise (Şekil 4.7) MCT, tüm diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksekti. Ancak, ortalama ventrikül atımları yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.



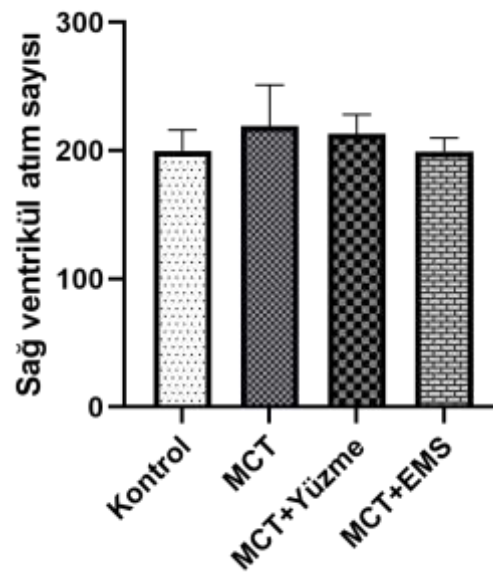
Şekil 4.5. Sağ ventrikül sistolik basınçları. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi ve istatistiksel analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. $p < 0,05$ +: MCT grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir (n=4-7).



Şekil 4.6. Sağ ventrikül diyastolik basınçları. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi ve istatistiksel analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. $p < 0.05$, *: Kontrol grubuna +: MCT grubuna göre anlamlı farklılığı temsil etmektedir (n=4-7).



Şekil 4.7. Ortalama sağ ventrikül basınçları. Ortalama ventrikül basıncı: Diyastolik basınç + ((sistolik basınç - diyastolik basınç)/3) formülü ile hesaplanmıştır ve ortalama pulmoner arter basıncını yansıtmaktadır. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi ve istatistiksel analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. $p < 0.05$, *: Kontrol grubuna +: MCT grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir (n=4-7).



Şekil 4.8. Sağ ventrikül atım sayısı. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi ve istatistiksel analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı (n=4-7).

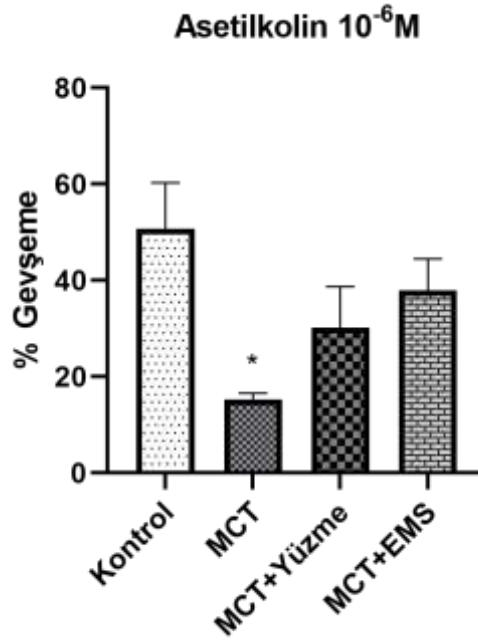
4.4. Asetilkolin ve İrisin-Aracılı Vazodilatör Yanıtların Değerlendirilmesi

Fenilefrin 2×10^{-5} dozunda yapılan ön kastırma sonrası asetilkolin, irisin ve silengitid+irisin uygulamaları yapılmıştır. Uygulama sonrası elde edilen vazodilatör yanıtlar fenilefrin kasılma miktarına göre yüzdesi ile hesaplanmış ve Tablo 4.4’de sunulmuştur.

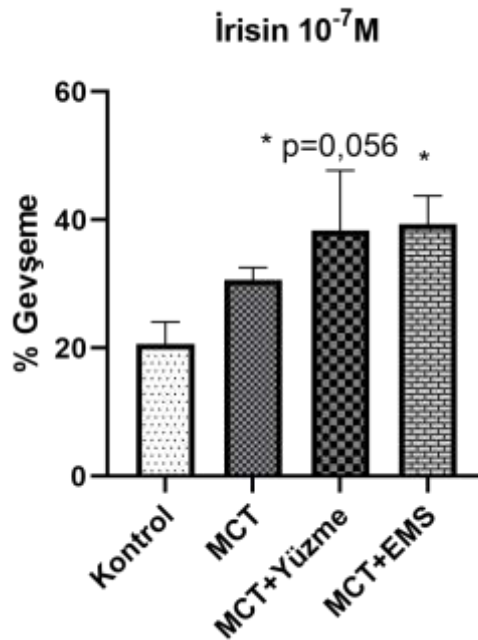
Tablo 4.4. Vazodilatör yanıt verileri

Gruplar	Asetilkolin % vazodilatasyon $\pm$ SEM	İrisin % vazodilatasyon $\pm$ SEM	Silengitid+İrisin % vazodilatasyon $\pm$ SEM
Kontrol	50,73 $\pm$ 9,59	20,62 $\pm$ 3,47	22,47 $\pm$ 6,39
MCT	15,31 $\pm$ 1,27	30,66 $\pm$ 1,92	47,14 $\pm$ 6,11
MCT+Yüzme	30,16 $\pm$ 8,52	38,37 $\pm$ 9,36	65,62 $\pm$ 7,03
MCT+EMS	37,90 $\pm$ 6,61	39,37 $\pm$ 4,41	50,84 $\pm$ 8,77

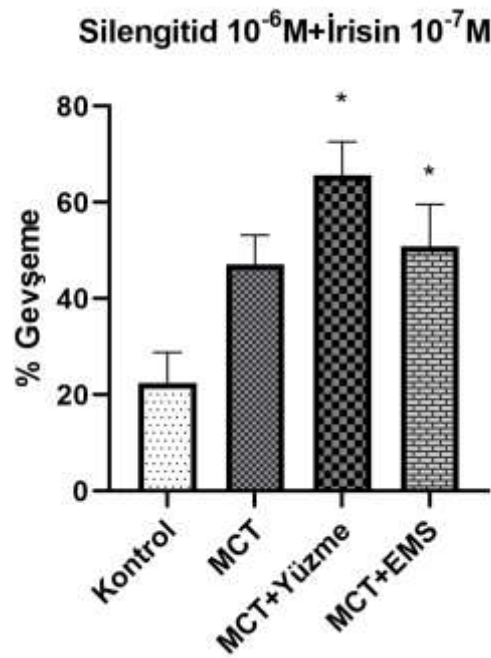
Asetilkolin vazodilatör yanıt yüzdesi karşılaştırmasında MCT grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (Şekil 4.9). İrisin vazodilatör yanıt yüzdesi karşılaştırmasında MCT+Yüzme ve MCT+EMS gruplarında kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.10). Silengitid (α V β 5 reseptör blokörü) varlığında da irisin vazodilatör yanıt yüzdesi MCT+Yüzme ve MCT+EMS gruplarında kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.11).



Şekil 4.9. Fenilefrin (Phe) ile ön kastırılmış pulmoner arterde asetilkolin (Ach, 10^{-6} M) % vazodilatör yanıtları. Vazodilatör yanıtlar Phe 2×10^{-5} kasılma yüzdesi ile hesaplanmıştır. Veriler ortalama değer $\pm$ SEM olarak ifade edildi. İstatistik analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. $p < 0,05$, *: Kontrol grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir (n=4).



Şekil 4.10. Fenilefrin (Phe) ile ön kastırılmış pulmoner arterde irisin (10^{-7} M) % vazodilatör yanıtları. Ön kastırma Phe 2×10^{-5} ile yapılmıştır. Veriler ortalama değer $\pm$ SEM olarak ifade edildi. İstatistik analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. $p < 0,05$, *: Kontrol grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir (n=4-6).

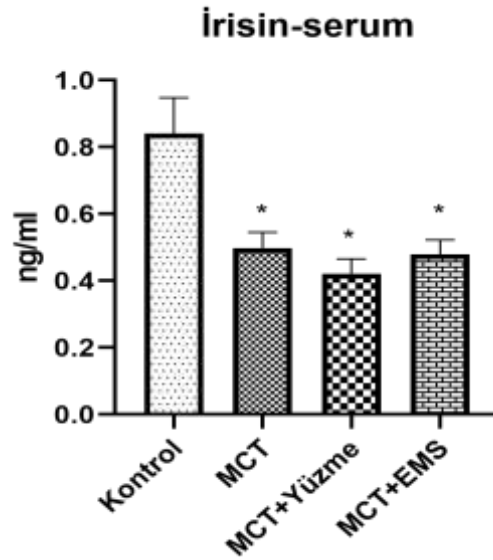


Şekil 4.11. Fenilefrin (Phe) ile ön kastırılmış pulmoner arterde silengitid (10^{-6} M) +irisin (10^{-7} M) % vazodilatör yanıtları. Ön kastırma Phe 2×10^{-5} ile yapılmıştır. Veriler ortalama değer $\pm$ SEM olarak ifade edildi. İstatistik analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. $p < 0,05$, *: Kontrol grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir ($n=4-6$).

4.5. Serum İrisin Tayini

Çalışmada, deney gruplarının serum irisin düzeyleri, ratlara özgü enzim bağlantılı immünosorbent analiz (ELISA) kiti kullanılarak belirlendi. Analiz işlemleri, kitin üretici firmasının protokolü doğrultusunda gerçekleştirildi ve absorbens ölçümleri 450 nm dalga boyunda çalışan bir mikroplaka okuyucu aracılığıyla yapıldı. Ölçülen absorbens değerleri, standart irisin konsantrasyonlarına (0, 1, 2, 4, 8 ve 16 ng/ml) karşılık gelen değerlerle karşılaştırılarak hiperbolik bir absorbens-konsantrasyon kalibrasyon eğrisi oluşturuldu ve örneklerin konsantrasyonları bu eğri üzerinden hesaplandı.

Serum irisin konsantrasyonları kontrol grubunda $0,84 \pm 0,11$ ng/ml iken, MCT grubunda $0,50 \pm 0,05$ ng/ml, MCT+Yüzme grubunda $0,42 \pm 0,05$ ng/ml ve MCT+EMS grubunda $0,48 \pm 0,04$ ng/ml olarak tespit edildi. MTC, MCT+Yüzme ve MCT+EMS gruplarındaki irisin düzeyleri kontrole göre anlamlı olarak düşük bulundu (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Serum irisin seviyeleri. Veriler ortalama değer $\pm$ SEM olarak ifade edildi. İstatistik analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı. $p < 0,05$, *: Kontrol grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir (n=7-8).

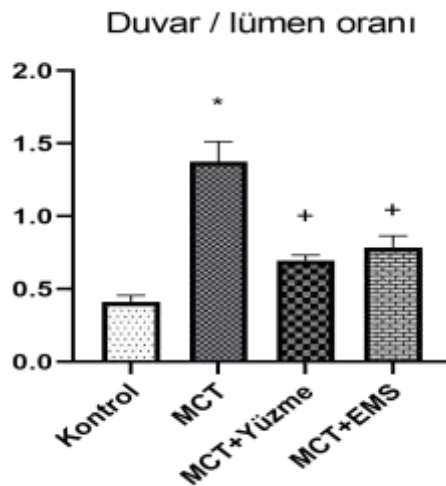
4.6. Histokimyasal İncelemeler

Sol akciğer kesitlerinden elde edilen dokularda, H&E boyama yöntemi kullanılarak pulmoner arteriollerdeki medial tabaka kalınlaşması histokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Analiz sırasında her gruba ait belirli sayıda damar örneği incelenmiştir: kontrol grubunda 8 hayvandan toplam 80 damar (8×10), MCT grubunda 7 hayvandan 70 damar (7×10), MCT+Yüzme grubunda 7 hayvandan 70 damar (7×10) ve MCT+EMS grubunda 8 hayvandan 80 damar (8×10) ölçüme dahil edilmiştir. İncelenen damarların dış çap ortalamaları sırasıyla kontrol grubunda $152,53 \mu\text{m}$, MCT grubunda $110,83 \mu\text{m}$, MCT+Yüzme grubunda $97,21 \mu\text{m}$ ve MCT+EMS grubunda $111,48 \mu\text{m}$ olarak belirlenmiştir.

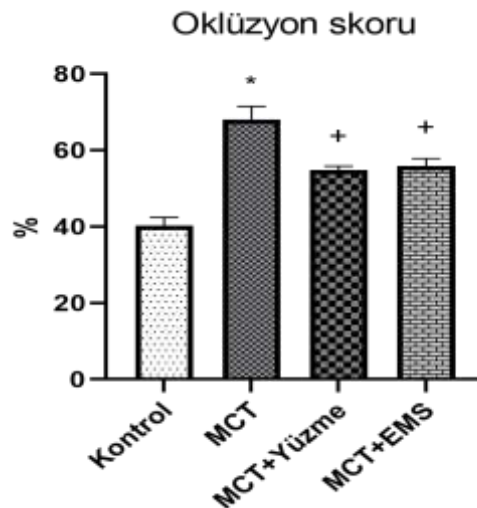
Damar duvar kalınlığı, klasik morfometrik yöntem olan $[(\text{Dış çap} - \text{Lümen çapı}) / 2]$ formülü ile hesaplanmıştır. Medial hipertrofiyi değerlendirmek amacıyla damar duvar kalınlığı, lümen çapına oranlanarak indekslenmiş ve bu oran medial kalınlaşma indeksi olarak kullanılmıştır. Gruplara ait ortalama damar duvarı/lümen çapı oranları (ortalama $\pm$ SEM) kontrol grubunda $0,412 \pm 0,043$, MCT grubunda $1,376 \pm 0,139$, MCT+Yüzme grubunda $0,696 \pm 0,037$ ve MCT+EMS grubunda $0,787 \pm 0,080$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, pulmoner arteriollerdeki damar lümen daralması oklüzyon skoru yüzdesi üzerinden değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme, aşağıdaki formül kullanılarak gerçekleştirilmiştir:

$$\text{Oklüzyon skoru yüzdesi} = [100 \times (\text{Dış çap} - \text{Lümen çapı}) / \text{Dış çap}]$$

Bu hesaplama ile damar lümeninin dış çapa oranla ne ölçüde daraldığı nicel olarak belirlenmiştir. Elde edilen oklüzyon skoru yüzdeleri (ortalama $\pm$ SEM) şu şekildedir: kontrol grubunda $40,317 \pm 2,119$, MCT grubunda $68,059 \pm 3,437$, MCT+Yüzme grubunda $54,826 \pm 1,035$ ve MCT+EMS grubunda $55,916 \pm 1,908$ olarak bulunmuştur. Verilerin istatistiksel karşılaştırması Şekil 4.13 ve 4.14’de sunulmuştur.



Şekil 4.13. Pulmoner arteriol medial tabaka hipertrofisi. Pulmoner arteriol damar medial tabaka kalınlığı için her bir grup örneklerinden 10 adet damar çapları ölçülerek ortalamaları alınmıştır. Ölçülen damarlardan, duvar kalınlığı $[(\text{Dış çap-lümen çapı})/2]$ formülü ile hesaplanmış ve medial tabaka hipertrofisi için damar duvarı/lümen çapı ile indeksleme yapılmıştır. İstatistik analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı ve ortalama değer $\pm$ SEM kullanılmıştır. $p < 0,05$, *: Kontrol grubuna göre +: MCT grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir. (n=7-8).

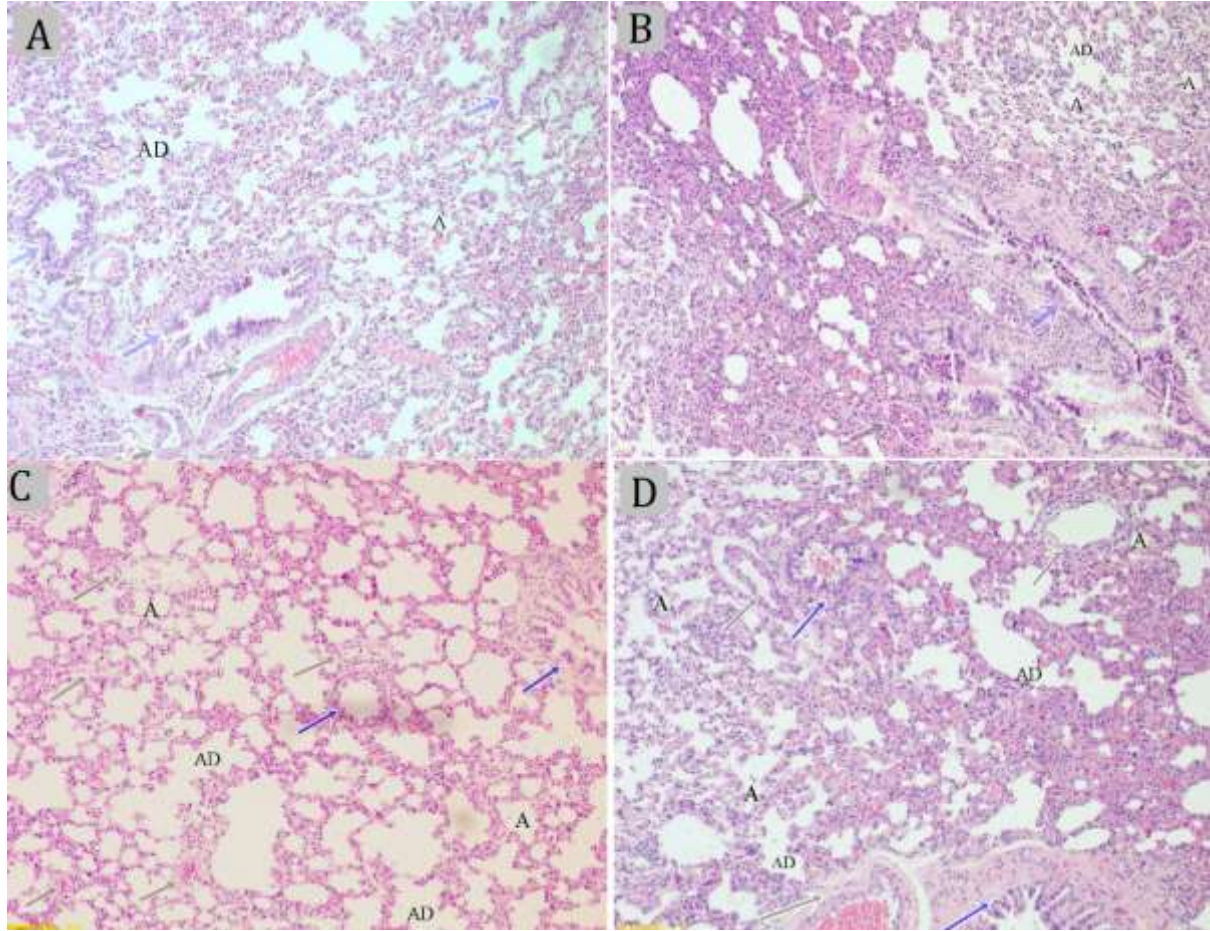


Şekil 4.14. Pulmoner arteriol lümen daralması. Pulmoner arteriol damar lümen daralması için her bir grup örneklerinden 10 adet damar çapları ölçülerek ortalamaları alınmıştır. Ölçülen damarlardan, oklüzyon skoru $[100 \times (\text{Dış çap-lümen çapı}) / \text{dış çap}]$ formülü hesaplama yapılmıştır. İstatistik analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Bonferroni testi uygulandı ve ortalama değer $\pm$ SEM kullanılmıştır. $p < 0,05$ *: Kontrol grubuna göre, +: MCT grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir. (n=7-8).

Kontrol grubundan elde edilen akciğer dokusunun mikroskopik incelemesinde, doku bütünlüğü korunmuş ve yapısal organizasyon olağan sınırlar içerisinde gözlemlendi. Bronşiol kesitlerinde, silli prizmatik ya da kübik epitel hücrelerinden oluşan epitel örtü, tek sıra halinde düzenlenmiş biçimde izlendi; bu epitel tabakayı destekleyen ince lamina propria yapısal olarak sağlam bulundu. Bronşiol çevresindeki düz kas tabakasının kesintisiz ve düzgün konturlu olduğu, kas liflerinin fizyolojik formda seyrettiği görüldü. Alveoler alanlarda, hava boşluklarının çevresini saran ince septalar yapıların normal kalınlıkta olduğu ve herhangi bir fibrotik değişiklik veya hücreyel infiltrasyon içermediği gözlemlendi. Mikrografta ayrıca, damar yapıları normal sınırlarda görüldü; damar duvarları düzgün konturlu ve intima, media, adventisya katmanları seçilebilir düzeydeydi. Parankimal alanlarda stromal destek dokusu homojen dağılım göstermekte olup, elastik lifler ve ince bağ dokusu elemanları fizyolojik yapılarıyla ayırt edilebildi (Şekil 4.15-A).

MCT grubuna ait akciğer dokusunun mikroskopik değerlendirmesinde, parankimal bölgelerde inflamatuvar hücre infiltrasyonunun belirgin şekilde arttığı ve alveoler boşluklar ve interstisyel alanda sıvı birikimine bağlı ödem bulgularının mevcut olduğu saptandı. Ayrıca, bazı alanlarda eritrosit ekstrasvazasyonuna bağlı fokal hemorajik odakların varlığı dikkat çekmektedir. Damar yapılarının incelenmesinde, özellikle küçük kalibreli pulmoner arteriollerde duvar kalınlığının arttığı ve bu artışın özellikle media tabakasında, düz kas hücrelerinden zengin musküler komponentte yoğunlaştığı gözlemlendi. Bu segmentlerde damar lümeninde relatif daralma izlenmiş olup, vasküler yeniden yapılanmaya işaret eden morfolojik değişiklikler belirgindi. Alveoler mimaride kısmi bozulmalarla birlikte interalveoler septalarda inflamatuvar hücre birikimleri ve kapiller yoğunluğunda artış izlendi (Şekil 4.15-B).

MCT+Yüzme grubuna ait akciğer örneklerinin Hematoksilen-Eozin ile boyanmış kesitlerinin histolojik incelemesinde, bazı bölgelerde interstisyel sıvı birikimine bağlı ödem bulgularına rastlandı. Alveoler yapı genel hatlarıyla korunmuş olup, parankimal organizasyonda belirgin bir bozulma izlenmedi. Genel olarak, akciğer dokusunda hafif düzeyde ödem ve minimal hemorajik değişikliklere rağmen vasküler ve alveoler bütünlük korunmuş olarak görüldü. Vasküler yapılara yönelik değerlendirmede, küçük çaplı arteriollerin duvar tabakalarının normal histolojik özellikleri büyük oranda sürdürdüğü gözlemlendi. İntima, media ve adventisya katmanları arasında yapısal bütünlük korunmuş; damar lümenleri ise açık ve şekilsel olarak fizyolojik görünümdeydi. Damar çevresinde fibrotik değişiklik ya da belirgin inflamatuvar yanıt izlenmedi (Şekil 4.15-C).



Şekil 4.15. Gruplara ait akciğer dokusunun mikrografı. **A)** Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun mikrografı. Normal morfolojik görünümde bronşiol ve damarların yer aldığı, alveolar yapıların doğal görünümde olduğu izlenmektedir. **B)** MCT grubuna ait akciğer dokusunun mikrografı. Yaygın infiltrasyon ve ödem yanı sıra yer yer hemorajik alanlar izlenmektedir. Arteriol damar duvar yapısının tabakalarında özellikle muskuler tabakanın kalınlaştığı belirgin olarak izlenmektedir. **C)** MCT+Yüzme grubuna ait akciğer dokusunun mikrografı. Hemotoksilen-Eosin ile boyanan kesitlerde yer yer ödem içeren ve kısmen hemorajik alanlar izlenmektedir. Arteriol damar tabakaları ve lümen yapısının normale yakın görünümde olduğu izlendi. **D)** EMS grubuna ait akciğer dokusunun mikrografı. Hemotoksilen-Eosin ile boyanan kesitlerde yer yer hemorajik ve kısmen inflamatuvar alanlar izlenmektedir. Arteriol damar tabakaları ve lümen yapısının normale yakın görünümde olduğu izlendi. Mavi ok: Terminal Bronşiol; Gri ok: Arteriol, AD: Alveolar Duktus; A: Alveolus (Büyütme X20). (n=7-8).

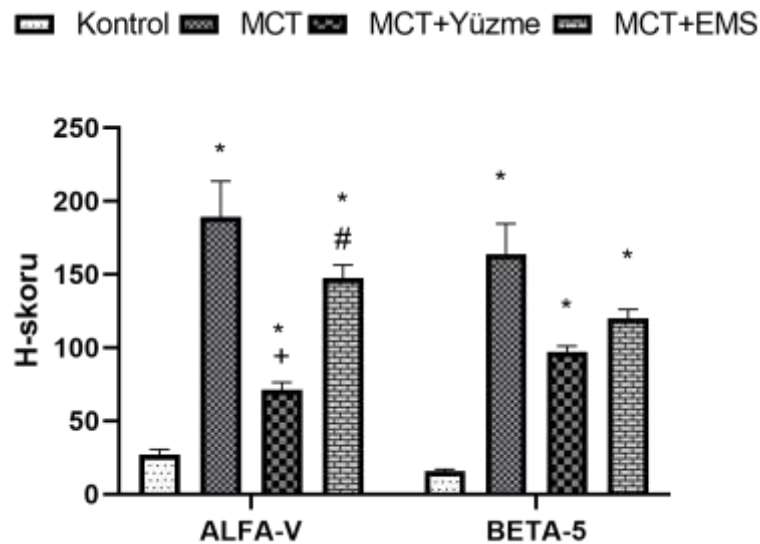
MCT+EMS grubuna ait akciğer dokusunun Hematoksilen-Eozin ile boyanmış histolojik kesitlerinde, alveolar parankim içinde sınırlı sayıda hemorajik odaklara ve bazı bölgelerde hafif düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonuna rastlandı. İnteralveoler septalarda hafif kalınlaşmalar dikkati çekmekle birlikte, genel alveoler mimarinin büyük oranda korunduğu görüldü. Küçük çaplı damar yapıları incelendiğinde, arteriollerin duvar tabakalarının fizyolojik sınırlarda olduğu, özellikle media ve intima katmanlarında yapısal bütünlüğün korunduğu saptandı. Vasküler lümen açıklığı düzenli olup, damar çevresinde belirgin ödem veya fibrotik değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.15-D).

4.7. İmmünohistokimyasal inceleme

Çalışmada yapılan immünohistokimyasal analizler sonucunda, integrin $\alpha\beta5$ reseptörünün akciğer dokusundaki arteriollerdeki ekspresyonu gösterilmiştir. Reseptörün varlığı, iki ayrı spesifik antikor (αV ve $\beta 5$) kullanılarak değerlendirilmiş ve her biri farklı örnekler üzerinde boyanma paterniyle analiz edilmiştir. Ekspresyon düzeyleri, H skorumla yöntemi ile kantitatif olarak belirlenmiştir.

H skoru hesaplamasında, hücrelerin boyanma şiddeti 0–3 arasında derecelendirilmiştir (0: boyama yok, 1: hafif boyama, 2: orta şiddette boyama, 3: yoğun boyama) ve bu değer i ile simgelenmiştir. Ayrıca, boyanma yüzdesi P_i (0–100 arası) olarak belirtilmiştir. H skoru, şu formül ile hesaplanmıştır: $H \text{ skoru} = \sum P_i \times (i + 1)$. Bu hesaplama ile skorlar 0 ile 400 arasında bir değer almaktadır. Her bir gruba ait örneklerde, altı farklı alandan H skoru değerlendirilmiş ve bu değerlerin ortalaması alınarak sonuçlar elde edilmiştir.

Bu sonuçlar doğrultusunda, gruplar arasında integrin $\alpha\beta5$ ekspresyonu yönünden Bulgular şu şekildedir: αV antikoru için H skoru (ortalama $\pm$ SEM): Kontrol: $27,08 \pm 3,35$ MCT: $189,29 \pm 24,43$ Yüzme: $71,25 \pm 5,11$ EMS: $147,50 \pm 8,99$. $\beta 5$ antikoru için H skoru (ortalama $\pm$ SEM): Kontrol: $15,73 \pm 1,25$ MCT: $163,81 \pm 20,88$ Yüzme: $96,88 \pm 4,25$ EMS: $119,79 \pm 6,45$. anlamlı farklılıklar gözlenmiş olup ilgili veriler Şekil 4.16’de sunulmuştur. Verilerin değerlendirildiği mikroskop görüntüleri ise Şekil 4.18 - 4.21’de sunulmuştur.

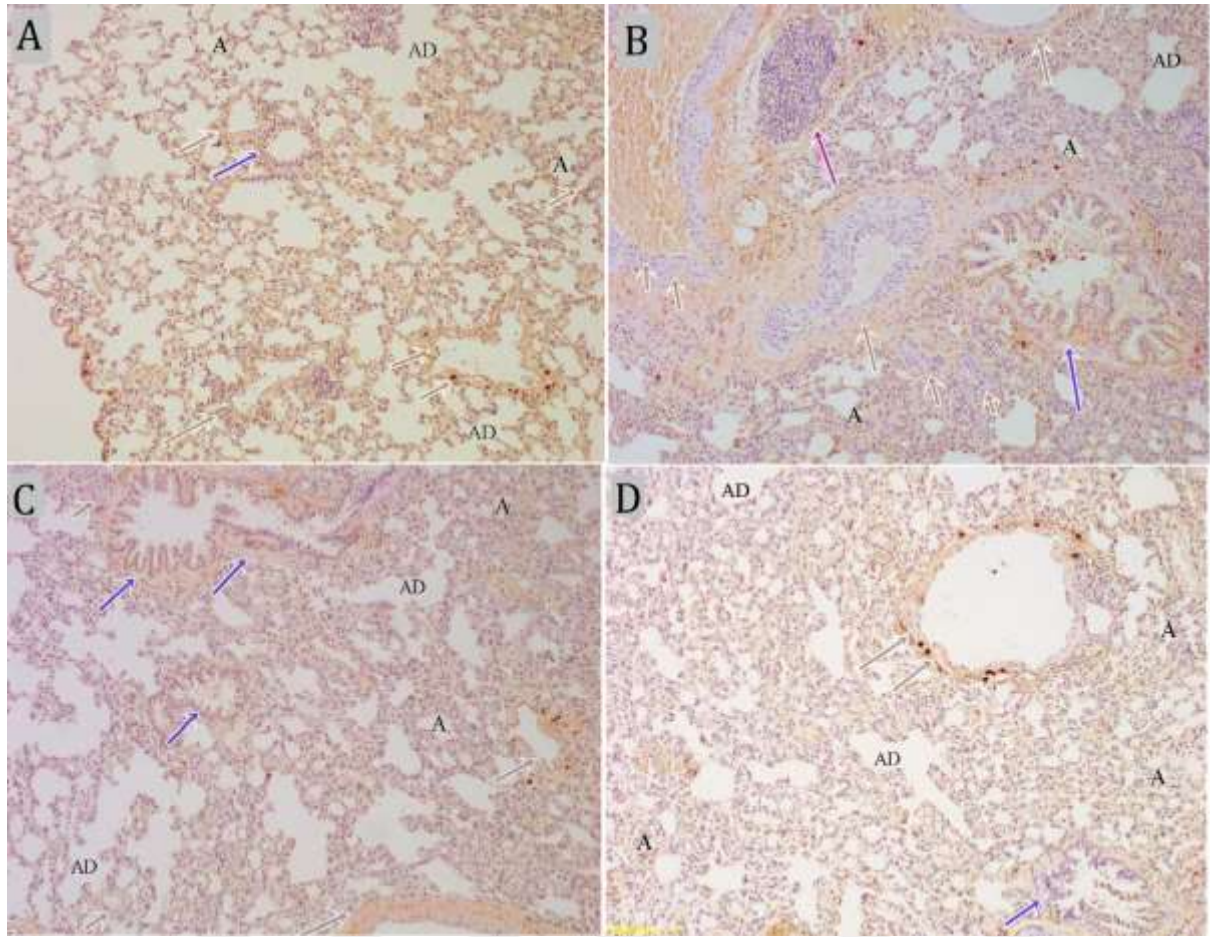


Şekil 4.16. Pulmoner arteriöl damarlarında AlfaV/Beta5 reseptörünün immünohistokimyasal olarak gösterimi. İstatistik analiz için ANOVA testi ve sonrasında Post Hoc olarak Tamhane testi uygulandı ve ortalama değer $\pm$ SEM kullanılmıştır. $p < 0,05$, *: Kontrol grubuna göre, +: MCT grubuna göre, #: MCT+Yüzme grubuna göre anlamlılığı temsil etmektedir (n=7-8).

Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun, alfa-V antikoru ile immünohistokimyasal olarak işaretlenmiş kesitlerinde, terminal bronşiolleler, alveolar duktuslar ve alveol boşlukları ile damar yapıları düzenli morfolojik özelliklerini korumuş olarak izlendi. Epitel hücreleri ve alveoler duvarlar boyunca immünreaktivite hafif düzeyde ve fizyolojik sınırlarda sınırlı boyutta olup, spesifik bir patolojik artış göstermediği görüldü. Küçük çaplı damar yapıları, özellikle arteriollerde, damar lümeni açık ve simetrik konturlu izlendi; damar çevresinde belirgin inflamasyon, fibrozis ya da aşırı immünreaktiviteye rastlanmadı. Genel olarak, doku bütünlüğünün korunduğu ve vasküler ya da parankimal yapılarda anlamlı bir patolojik immün işaretlenme gözlenmedi (Şekil 4.17-A).

MCT grubuna ait akciğer dokusunun, alfa-V antikoru ile gerçekleştirilen immünohistokimyasal analizinde, terminal ve respiratuar bronşiollelerin yanı sıra alveoler yapılar ile damar çevresindeki bronkoalveolar bağ dokuda immünreaktivitenin anlamlı şekilde arttığı saptandı. Pozitif işaretlenme özellikle interstisyel alanda yoğunlaşmış, bu durum ilgili dokularda hücresel ve ekstrasellüler yeniden yapılanma süreçlerine işaret etmekteydi. Arteriollerin duvar yapısı incelendiğinde, özellikle media tabakasındaki düz kas hücrelerinde belirgin kalınlaşma dikkat çekti; bu alanda alfa-V antikoru ile yoğun immünpozitiflik gözlemlendi. Damar lümeninin daraldığı, vasküler yeniden şekillenmenin morfolojik olarak tanımlanabildiği ve düz kas hipertrofisine eşlik eden alfa-V ekspresyonunun arttığı belirlendi (Şekil 4.17-B).

MCT+Yüzme grubuna ait akciğer dokusunun alfa-V antikoru ile işaretlenmiş immünohistokimyasal kesitlerinde; terminal ve respiratuar bronşiollelerin, alveoler boşlukların ve bu yapıların etrafını çevreleyen bronkoalveolar bağ dokunun morfolojik organizasyonunun büyük oranda korunduğu belirlendi. İncelenen alanlarda, doku bütünlüğü ve hücresel düzen normal sınırlara yakın seyretmiş, belirgin bir yapısal deformasyon ya da patolojik immünreaktiviteye rastlanmadı. Küçük damar yapılarına yönelik analizde, damar duvar katmanlarının (intima, media, adventisya) düzenli ve fizyolojik sınırlar içinde olduğu, lümen çapının simetrik ve açık kaldığı izlendi. Ayrıca, önceki gruplara kıyasla damarsal yeniden yapılanma sürecinde regresyon eğilimi olduğu gözlemlendi; düz kas hipertrofisinin gerilediği ve damar duvarında orta-hafif düzeyde alfa-V immünpozitifliği saptandı (Şekil 4.17-C).



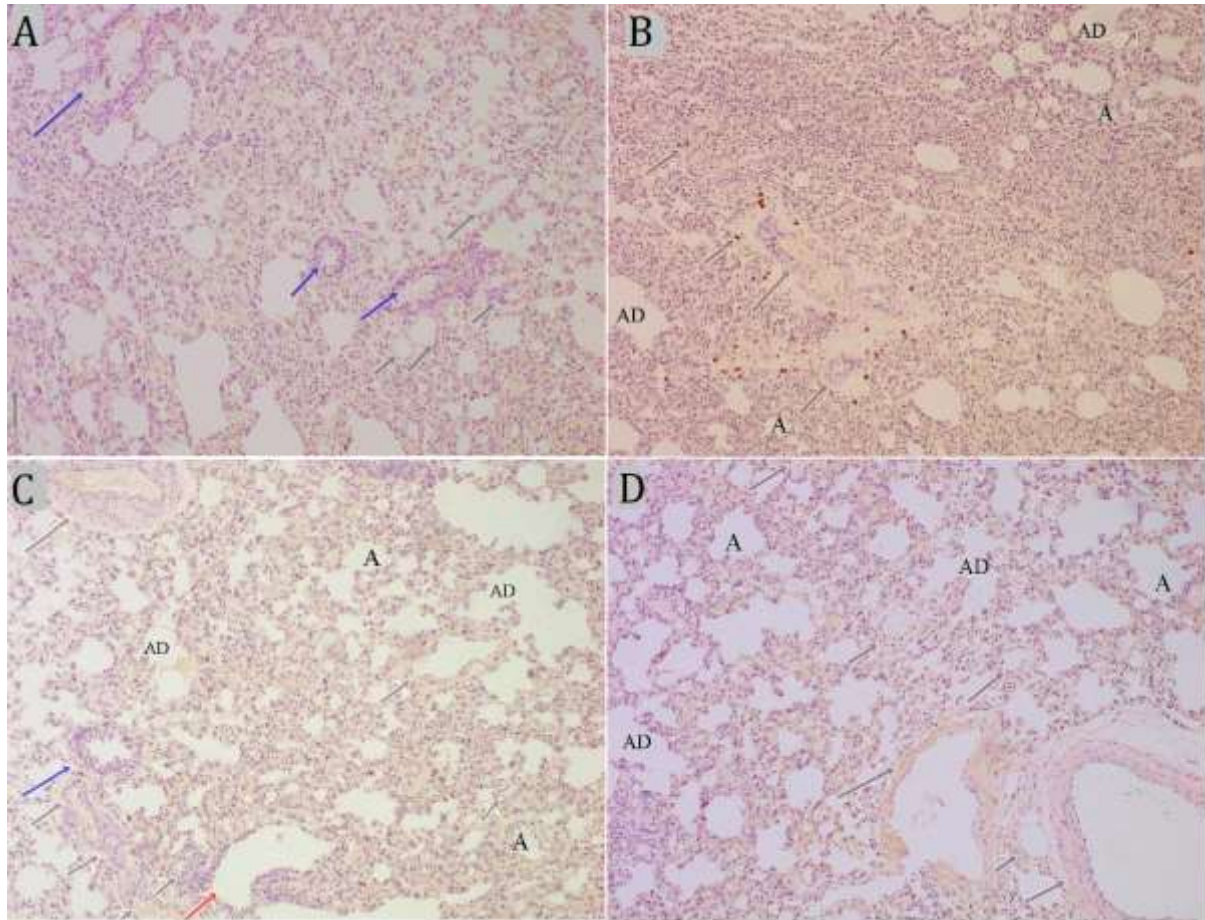
Şekil 4.17. Gruplara ait akciğer dokusunun Alfa-V antikor immünohistokimyasal mikrografı. **A)** Kontrol grubuna ait olup Alfa-V antikor ile immünreaktivitesi değerlendirilen kesitlerde terminal bronşioler, alveolar duktuslar, alveoller ve damar yapıları histolojik açıdan normal olarak değerlendirilmiştir. Arteriol damar tabakaları ve lümen yapısının normal olduğu izlendi. **B)** MCT grubuna ait olup Alfa-V antikor ile immünreaktivitesi değerlendirilen kesitlerde terminal, respiratuar bronşioleri, alveollerin ve damarların etrafını saran bronkoalveolar bağ dokunun yapıları histolojik açıdan immünreaktivitesi belirgin olarak değerlendirilmiştir. Arteriol damar tabakalarında özellikle müküler tabakada kalınlaşma ve lümen çapının azaldığı izlendi. Damarsal yeniden yapılanma ve düz kas hipertrofisi ile yoğun alfa-V boyanması gözlemlendi. **C)** MCT+Yüzme grubuna ait olup Alfa-V antikor ile immünreaktivitesi değerlendirilen kesitlerde terminal, respiratuar bronşioleri, alveollerin ve damarların etrafını saran bronkoalveolar bağ dokunun yapıları histolojik açıdan normal görünüme yakın olarak değerlendirilmiştir. Arteriol damar tabakaları ve lümen çapının normal görünümde olduğu izlendi. Damarsal yeniden yapılanmaya bağlı olarak damar düz kas hipertrofisinin azaldığı orta-hafif derece alfa-V immünreaktivitesi gözlemlendi. **D)** EMS grubuna ait olup Alfa-V antikor ile immünreaktivitesi değerlendirilen kesitlerde terminal, respiratuar bronşioleri, alveollerin ve damarların etrafını saran bronkoalveolar bağ dokunun yapıları histolojik açıdan normale yakın olarak değerlendirilmiştir. Arteriol damar tabakaları ve lümen çapının histolojik olarak normal görünüme yakın olduğu izlendi. Damarsal yeniden yapılanmaya bağlı olarak damar düz kas hipertrofisinin azaldığı ve orta derece alfa-V boyanması gözlemlendi. Mavi ok: Terminal Bronşiol; Kırmızı ok: Respiratuar Bronşiol; Gri ok: Arteriol; AD: Alveolar Duktus; A: Alveolus. (Büyütme X20). (n=7-8).

MCT+EMS grubuna ait akciğer dokusunun, alfa-V antikor ile immünohistokimyasal olarak boyanmış kesitlerinde; terminal ve respiratuar bronşioler, alveoler yapılar ile bu oluşumları çevreleyen bronkoalveolar bağ dokuların histolojik bütünlüğünün büyük ölçüde korunduğu gözlemlendi. İncelenen dokularda alfa-V immünreaktivitesi fizyolojik sınırlarda kalmış,

yoğun işaretlenmeye rastlanmadı. Arteriollerin duvar yapısı değerlendirildiğinde, intima ve media katmanlarının normal histolojik düzenini büyük ölçüde muhafaza ettiği; damar lümen çapının düzenli ve açık olduğu saptandı. Daha önce gözlenen damarsal yeniden yapılanmaya oranla düz kas hipertrofisinde azalma izlendi ve buna paralel olarak damar duvarında orta düzeyde alfa-V pozitifliği saptandı (Şekil 4.17-D).

Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun, beta-5 antikoru ile gerçekleştirilen immünohistokimyasal boyamasında; terminal ve respiratuar bronşiolleler, alveoler yapılar ile bu yapılara eşlik eden bronkoalveolar bağ dokusunun morfolojik bütünlüğünü koruduğu ve histolojik açıdan normal sınırlarda değerlendirilebilecek bir görünüm sergilediği belirlendi. Damar yapılarının incelenmesinde, katmanlarının yapısal olarak düzenli olduğu, lümen çaplarının ise simetrik ve açık kaldığı gözlemlendi. Damarsal yapılarda patolojik bir yeniden yapılanma ya da duvar kalınlaşması izlenmedi. Ayrıca, bronkoalveolar bağ dokuda ve vasküler yapılarda beta-5 antikoru ile saptanan immünreaktivite ya hiç görülmemiş ya da sadece hafif düzeyde saptandı (Şekil 4.18-A).

MCT grubuna ait akciğer dokusunun beta-5 antikoru ile işaretlenen immünohistokimyasal kesitlerinde, terminal ve respiratuar bronşiolleler ile alveoler yapılar ve bunları çevreleyen bronkoalveolar bağ dokusunda yoğun infiltrasyon alanları belirgin şekilde gözlemlendi. Arteriollerde, damar lümen çaplarında belirgin daralma ile birlikte, damar duvarlarının özellikle media tabakasında kalınlaşma dikkat çekici biçimde izlenmedi. Ayrıca, hem damarsal yapılarda hem de bronkoalveolar bağ dokuda beta-5 antikoruyla karşı güçlü ve yoğun immünreaktivite saptandı (Şekil 4.18-B).



Şekil 4.18. Gruplarına ait akciğer dokusunun Beta-5 antikor immünohistokimyasal mikrofotografı. **A)** Kontrol grubuna ait olup Beta-5 antikor ile immünreaktivitesi değerlendirilen kesitlerde terminal, respiratuar bronşioalleri, alveollerin ve damarların etrafını saran bronkoalveolar bağ dokunun yapıları histolojik açıdan normal görünümde izlenmiştir. Arteriol damar tabakaları ve lümen çapının normal görünümde olduğu izlendi. Damarsal yapılar ve bronkoalveolar bağ doku immünreaktivitesinin yok veya hafif düzeyde gözlemlendi. **B)** MCT grubuna ait olup Beta-5 antikor ile immünreaktivitesi değerlendirilen kesitlerde terminal, respiratuar bronşioalleri, alveollerin ve damarların etrafını saran bronkoalveolar bağ dokunun yapıları histolojik açıdan yoğun infiltrasyon görünümde izlenmiştir. Damar lümen çaplarının azaldığı, arteriol damar tabakalarının kalınlaşmış görünümde olduğu izlendi. Damarsal yapılar ve bronkoalveolar bağ doku immünreaktivitesinin belirgin-yoğun düzeyde olduğu tespit edildi. **C)** MCT+Yüzme grubuna ait olup Beta-5 antikor ile immünreaktivitesi değerlendirilen kesitlerde terminal, respiratuar bronşioalleri, alveollerin ve damarların etrafını saran bronkoalveolar bağ dokunun yapıları histolojik açıdan normale yakın görünümde izlenmiştir. Damar lümen çaplarının ve arteriol damar tabakalarının normal görünümde olduğu ve Bronkoalveolar bağ dokunun hafif düzeyde ve homojen yayımlı infiltrasyon alanlarının yer aldığı gözlemlendi. İmmünreaktivitesinin hafif-az yoğun düzeyde ve homojen görünümde olduğu tespit edildi. **D)** EMS grubuna ait olup Beta-5 antikor ile immünreaktivitesi değerlendirilen kesitlerde terminal, respiratuar bronşioalleri, alveollerin ve damarların etrafını saran bronkoalveolar bağ dokunun yapıları histolojik açıdan normale yakın görünümde izlenmiştir. Damar lümen çapları ve arteriol damar tabakalarının normal görünümde olduğu ve Bronkoalveolar bağ dokuda kısmen hafif düzeyde infiltrasyon yer aldığı gözlemlendi. İmmünreaktivite açısından hafif-az yoğun düzeyde ve homojen görünümde olduğu tespit edildi. Mavi ok: Terminal Bronşiol; Kırmızı ok: Respiratuar Bronşiol; Gri ok: Arteriol; AD: Alveolar Duktus; A: Alveolus. (Büyütme X20). (n=7-8).

MCT+Yüzme grubuna ait akciğer dokusunun beta-5 antikor ile boyanan immünohistokimyasal kesitlerinde; terminal ve respiratuar bronşioaller, alveoller ile damarları

çevreleyen bronkoalveolar bağ dokunun histolojik görünümünün büyük ölçüde normal görünümde olduğu gözlemlendi. Damar yapılarında arteriollerin duvar kalınlığı ve lümen çapının normal fizyolojik sınırlar içinde korunduğu belirlendi. Bronkoalveolar bağ dokusunda, hafif derecede ve homojen dağılım gösteren infiltrasyon alanları tespit edildi. İmmünreaktivite değerlendirmesinde, beta-5 ekspresyonunun hafif-az yoğunlukta ve homojen bir şekilde dağıldığı izlendi (Şekil 4.18-C).

MCT+EMS gruba ait akciğer dokusunun beta-5 antikoru ile işaretlenen immünohistokimyasal kesitlerinde; terminal ve respiratuar bronşiolle, alveoller ile damarların etrafını çevreleyen bronkoalveolar bağ dokusunun genel olarak histolojik açıdan normale yakın bir görünüm sergilediği belirlendi. Damar yapılarında, arteriollerin duvar kalınlığı ve lümen çapının düzenli ve fizyolojik sınırlar içinde olduğu gözlemlendi. Bronkoalveolar bağ dokuda hafif düzeyde infiltrasyonun varlığı tespit edilmiş olup, bu alandaki immünreaktivite hafif ile az yoğunlukta ve homojen dağılım gösterdi (Şekil 4.18-D).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan çalışmalarda egzersizin, endotelde eNOS aktivitesini artırarak nitrik oksit (NO) üretimini uyardığı; bu da cGMP aracılığıyla damar gevşemesi ve vasküler düz kas proliferasyonunun baskılanması yoluyla pulmoner arter basıncının düşmesini sağladığı bildirilmiştir [147]. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) düzeylerini artırarak TrkB reseptörleri üzerinden Fosfatidilinositol 3 Kinaz (PI3K)/Akt yolunu aktive ederek, eNOS aktivasyonu ve NO salınımını artırarak endotelial fonksiyonu iyileştirdiği ve vasküler dirençte azalmaya yol açtığı gösterilmiştir [148]. Egzersiz ile IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin salınımının artırılması ile Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) aktivitesinin baskılanması, IL-6 ve TNF-α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretiminin azaltılması ile damar duvarındaki inflamasyonun sınırlandırıldığı da gösterilmiştir [149]. Yine yüzme egzersizi ile VEGF artışı, endotel hücrelerinde VEGFR2 reseptörü üzerinden eNOS'u aktive ederek anjiyogenezi teşvik eder. Böylece pulmoner damarlar genişler ve vasküler direnç azalır [150]. Egzersizle artan adiponektin düzeyleri, AMPK ve eNOS aktivasyonu yoluyla vazodilatasyonu destekler ve antiinflamatuvar etkileriyle vasküler direnç ve kardiyak yükü azaltır [151]. BNP, egzersiz sonrası salınımı artarak guanylat siklaz aktivasyonu ve cGMP birikimi aracılığıyla vazodilatasyon ve sağ ventrikül yükünün azalmasını sağlar [152]. Kas kasılması ile salınan irisin ise, AMPK yolunu aktive ederek PGC-1α üzerinden mitokondriyal biyogenezi uyarır. Bu süreç oksidatif stresi azaltarak sağ ventrikül hipertrofisinin hafiflemesine katkıda bulunur [153].

Bu tezde monokrotalin ile indüklenen pulmoner arteriyel hipertansiyon modelinde yüzme egzersizinin ve elektriksel kas stimülasyonunun olası önleyici ve tedavi edici etkisi incelendi. Ayrıca kas kaynaklı bir myokin olan irisinin bu olası önleyici/düzeltici etkide varsa aracılığı araştırıldı.

Çalışmada, öncelikle deney hayvanlarındaki kütle değişimleri değerlendirildi. Daha önce yapılan bir çalışmada, yüzme egzersizinin etkisiyle vücut kütlelerinde gözlenen değişimin, su sıcaklığına da bağlı olarak ilk 4 haftalık süreçte negatif korelasyon göstermediği, ancak 4. haftadan itibaren kilo alımının azaldığı bildirilmesine rağmen [154] bizim çalışmamızda, deney öncesi ve sonrası vücut kütlesi karşılaştırıldığında, yüzme grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış tespit edildi. Bu kütle değişiminin kaynağına ilişkin doğrudan bir parametre (yağ, kemik veya kas kütlesi) değerlendirilmemiş olmakla birlikte, artan aerobik aktiviteye bağlı olarak yağ yakımının artması ve ad libitum beslenme koşullarında enerji açığını kapatmaya yönelik artan gıda alımının etkili olabileceği düşünülmektedir [155].

Sağ ventrikül hipertrofisi, modelde en son gelişen ve sağ kalbin ön yükündeki (pulmoner arter, arteriollerdeki vasküler direnç) artışa bağlı olarak daha geç [156] ortaya çıkan bir parametre olup, genellikle ölümle sonuçlanmaktadır. PAH hayvan modellerinde kalp büyümesinin morfolojik değerlendirilmesinde Fulton indeksi yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda, gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak MCT+Yüzme ve MCT+EMS gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış saptanmamış olmakla birlikte, MCT uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre daha yüksek Fulton indeksi değerleri gözlemlendi. Bu artışın sağ ventrikül hipertrofisinden kaynaklandığı görülmüştür. Bu bulgular, literatürdeki önceki çalışmalarla da paralellik göstermektedir [157-158].

MCT+Yüzme ve MCT+EMS uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış bulunmaması, monokrotalin ile indüklenen sağ ventrikül hipertrofisinin yüzme egzersizi ve ona alternatif sayılabilecek elektriksel kas uyarımı ile önlenemediğini göstermektedir. Ayrıca, sol ventrikül kütlelerinin karşılaştırılması sonucunda, yüzme ve EMS gruplarında sağ ventrikül ile birlikte sol ventrikül kütlesinin de artmış olması, bu gruplarda artan kas aktivitesine bağlı olarak kalp debisinin artışı karşılayacak şekilde sol ventrikül vurum hacminde bir adaptasyon geliştiğini düşündürmektedir. Ancak bu gruplar arasında kalp atım sayılarında anlamlı fark bulunmadı.

Bilindiği üzere, PAH tanısında pulmoner arter basıncı genellikle sağ ventrikül ortalama basıncı ile yansıtılmaktadır. Ancak bu parametrede kullanılan modele ve gözlem süresine bağlı olarak pulmoner arter basınçlarının değiştiği bildirilmektedir [159]. En yaygın kullanılan modeller arasında monokrotalin, monokrotalin + sol pnömonektomi, kronik hipoksi, kronik hipoksi + pnömonektomi, hiperkapni ve VEGF inhibitörü (SU5416) yer almaktadır. Monokrotalin (MCT) ile yapılan bir çalışmada, MCT grubunda ortalama pulmoner arter basıncı $27,2 \pm 2,6$ mmHg, tedavi (MCT+Omentin $18 \mu\text{g/kg/gün}$) grubunda ise $18,7 \pm 1,4$ mmHg olarak bildirilmiştir [158]. İnvaziv ve non-invaziv mPAP karşılaştırması yapılan bir çalışmada invaziv MCT grubu $24,62 \pm 1,38$ mmHg kontrol $15,19 \pm 0,70$ mmHg iken non-invaziv MCT grubunda $24,9 \pm 3,7$ mmHg kontrol grubunda ise $15,6 \pm 1,6$ mmHg olarak bildirilmiştir [160]. Başka bir çalışmada ise MCT grubu mPAP $15,45 \pm 1,06$ mmHg maprotilin 10 mg/kg ip $9,59 \pm 1,02$ mmHg şeklinde olduğu bildirilmiştir [161]. Model açısından benzerlik gösteren çalışmamızda MCT, hem sistolik hem de diyastolik ventrikül basınçlarında artış oluşturmaması, PAH modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğunu teyit etmektedir. EMS ve yüzme egzersizi, MTC ile artırılan pulmoner arter basınçlarını anlamlı bir şekilde düşürerek tedavi edici etkinlik oluşturmuştur.

Deneylerimizin izole organ banyosu serilerinde, MCT grubundan elde edilen pulmoner arter halkalarında asetilkolin ile oluşturulan vazodilatör yanıtların önemli ölçüde süprese edildiğini gösterdik. Bizim bulgularımızla paralel bir şekilde, önceki çalışmalarda da fenilefrin ile ön kasılma sonrası asetilkolin ile oluşturulan vazodilatör cevapların MTC ile indüklenen pulmoner hipertansiyon grubunda anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir [162]. Bu durum, MCT'nin endotelial disfonksiyona neden olduğunu gösterebilir. Ancak uygulanan EMS'nin ve yüzme egzersizinin bu disfonksiyonu önlediğini yani endotelial bütünlüğü koruduğunu göstermektedir. Yüzmenin ve EMS'nin bu önleyici etkisinin mekanizmasının ne olduğunu henüz bilmiyoruz. Egzersize atfedilen ve kardiyovasküler sistemin homeostazına olumlu etki yaptığı gösterilen pek çok mekanizma ileri sürülmektedir [163-164]. Bunlardan biri de kas kökenli bazı maddelerin kana salgılanması ve onların kalp-damar sistemi üzerine iyileştirici etkisinin olabileceğidir. Nitekim irisin adlı myokinin bu tür etkilerinin olabileceği bildirilmiştir [165-168].

İrisin, vazodilatör, anti-inflamatuvar, anti-apoptotik etkili ve kas dokusundan salıverilen 112 aminoasitli bir peptiddir [169]. İrisinin vazodilatör etkisi üzerine yapılan önceki çalışmalarda, bu etkinin K^+ kanalları [43; 170-171], nitrik oksit üretimi [39; 45] ve TRPV4 kanalları [45] üzerinden gerçekleştiği bildirilmiştir. Çalışmamızda irisin uygulaması sonrası vazodilatasyon, kontrol grubuna kıyasla MCT, MCT+Yüzme ve MCT+EMS gruplarında daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, irisinin EMS uygulanan PAH modelinde daha etkili bir vazodilatasyon sağladığını gösterebilir. Ayrıca çalışmamızda, irisinin vazodilatör etkisine aracılık ettiği öne sürülen integrin $\alpha V\beta 5$ reseptörünün etkisini de araştırdık. Bu amaçla, irisin fragmenti (ilk 39 amino asidi içeren rekombinant form) ile indüklenen vazodilatasyon, integrin $\alpha V\beta 5$ reseptör blokörü olan silengitid varlığında değerlendirildi. Silengitid, bu irisin fragmentinin vazodilatör etkisini değiştirmedir. Literatürde, irisinin integrin $\alpha V\beta 5$ reseptörüne bağlanma bölgelerinin farklılık gösterdiği ve bu etkileşimin egzersizle indüklenen Hsp90 α gibi bileşenler aracılığıyla gerçekleştiği yönünde veriler mevcuttur [172-173]. İzole organ banyosu koşullarında Hsp90 α etkileşimi beklenmediğinden ve kullanılan irisin fragmenti tam proteinin yalnızca bir kısmını içerdiğinden, vazodilatör etkinin integrin $\alpha V\beta 5$ aracılığıyla gerçekleşmediği düşünülmektedir. Bu durumun doğrulanması için tam uzunlukta irisin ile yapılacak ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

İrisinin keşfinden bu yana pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Özellikle bu hastalıklarla irisin plazma/serum düzeyleri arasında bir takım korelasyonlar kurulmuştur. Bunlar arasında kalça kırıkları [173], sarkopeni [174], insülin direnci [175], KOAH [176] ve kronik böbrek hastalıkları [177-178] yer almaktadır. İrisin düzeyleri genellikle FNDC5 ekspresyonu, ELISA ya

da Western Blot gibi yöntemlerle değerlendirilmektedir. Ölçüm yöntemi, doku kaynağı ve analiz kiti markasına bağlı olarak sonuçlarda farklılıklar görülebilmektedir [64; 179-182]. Bizim çalışmamızda, PAH oluşturulan tüm gruplarda serum irisin düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu azalmanın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak endotelial harabiyetten kaynaklanabilir ya da MTC'nin kas dokusunda irisin sentez ve/veya salıverilmesini ile ilgili olaylara müdahale ediyor olabilir. Ya da PAH grubunda azalan irisin düzeylerinin pulmoner arteriyel hipertansiyonun bir nedeni mi yoksa bir sonucu mu olduğunu aydınlatmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Ancak irisinin vasküler sağlığın korunmasında rol oynayabileceği bilinmektedir [136; 183-185]. Hipotezlerimizden biri olan egzersizin irisin düzeylerini arttıracak durumu, bu çalışmamızda gösterilememiştir. Bu durum, PAH gelişim sürecinde endotel hasarıyla birlikte irisinin dolaşımdaki seviyesinin azalabileceği ihtimalini düşündürmektedir. Bu nedenle, PAH gelişmeden önce uygulanan egzersiz ve EMS protokollerinin etkisini değerlendirmek üzere akciğer dokusunda irisin miktarı ve FNDC5 ekspresyon düzeyleri gibi ek analizlere ihtiyaç vardır.

PAH'da arteriyollerin medial tabakasındaki düz kas hücrelerinin hipertrofisi ve proliferasyonu, damar duvarı kalınlaşması ve lümen daralması gibi yapısal değişiklikler hastalığın temel patofizyolojisini oluşturmaktadır [186-188]. Bu yapısal değişiklikler, pulmoner vasküler direncin artışına ve sağ ventrikül yetmezliğine neden olmaktadır. Bu temel parametreler bizim çalışmamızda MTC ile indüklenen PAH'ta da gözlemlendi. Yüzme ve EMS uygulamalarında bu yapısal değişikliklerin azaldığı görüldü ancak anlamlı fark, yalnızca yüzme grubunda bulundu. Diğer taraftan yine çalışmamızda immünohistokimyasal analizlerde, integrin $\alpha V\beta 5$ reseptör ekspresyonunun MTC ile oluşturulan PAH modelinde kontrol grubuna göre arttığı gösterildi. Bu artış, olasılıkla PAH'ı kompanse etmek için gelişmektedir zira integrin $\alpha V\beta 5$ reseptörleri damarlarda geçirgenliği stimüle ederken damar kalınlaşmasını da süprese etmektedir [189-191]. Bu bulgular, integrin $\alpha V\beta 5$ reseptörünün endotel hücre proliferasyonu ve düz kas hipertrofisi gibi patolojik süreçlerin düzeltilmesinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır [192-199]. Bununla birlikte, serum irisin düzeyleri ile integrin $\alpha V\beta 5$ ekspresyonu arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar sınırlıdır [106; 200-202].

Yaptığımız bu çalışmada aşağıdaki hipotezlerimizin kabul veya ret durumları şu şekildedir:

1- Hem yüzme egzersizi hem de EMS sıçanlarda monokrotalin (MCT) ile oluşturulan PAH belirteçlerinden pulmoner arter basıncının yükselmesini önler şeklindeydi. Bulgularımız ve

istatistiksel analiz sonrası hem EMS hem de yüzme egzersizi uygulanan sıçanlarda pulmoner arter basıncını yansıtan ortalama sağ ventrikül basıncın yükselmesi önlenmiştir ve hipotezimiz doğrulanmıştır.

2- Hem yüzme egzersizi hem de EMS sıçanlarda monokrotalin ile oluşturulan PAH belirteçlerinden sağ ventrikül ve pulmoner arteriöl medial tabaka hipertrofisini, pulmoner arteriöl oklüzyonların oluşmasını önler. Tüm bu parametreler bulgular ve istatistiksel analizler sonrası hem yüzme hem de EMS grubunda hipotezimiz doğrulanmıştır.

3- Hem yüzme egzersizi hem de EMS sıçan irisin plazma seviyesinin yükselmesine neden olur. Yüzme ve EMS gruplarında serum irisin seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük bulunması ve MCT grubuna göre farklı olmamasından kaynaklı hipotezimiz ret edilmiştir.

4- Pulmoner arterlerde integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörü mevcuttur ve hem yüzme egzersizi hem de EMS sonucu pulmoner damarlarda integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörü sayısında artış olur. Yaptığımız immünohistokimyasal analiz sonrası kontrol grubuna göre MCT uygulaması yapılan gruplarda integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptör sayısı artmıştır. Bulgulara göre hipotezimiz ret edilmiştir. Bunun sebebi hipotezi oluştururken reseptörün etkisinin pulmoner arter basıncında direkt vazodilatasyon etkisini gösterme yönden düşünülerek kurulduğunu içindir.

5- Hem yüzme egzersizi hem de EMS sonucu PAH'lı sıçanlarda pulmoner arter kasılma-gevşeme paternlerinde irisin aracılı iyileştirici etki oluşur. Model grubunda endotel bağımlı bir gevşetici madde olan asetilkolin gevşemeleri MCT grubunda anlamlı olarak daha düşük olduğu MCT+Yüzme ve MCT+EMS grubunda kontrolle fark olmadığı için hipotezimiz doğrulanmıştır. Ayrıca irisin vazodilatör yanıtları da MCT+EMS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde daha fazla olup hipotezimizi desteklemektedir.

6- İrisin pulmoner arterlerde vazodilatasyon oluşturur ve bunu integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörü aracılığıyla gerçekleştirir, izole organ banyosunda pulmoner damarlarda integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörü inhibitörü silengitid (cilengitide) varlığında vazodilatasyon oluşmaz. Yaptığımız çalışmada Silengitid varlığında irisinin vazodilatör cevabında bir azalma olmamış hatta tekrarlanan dozdan kaynaklı artış olduğu için hipotezimiz ret edilmiş ve irisinin vazodilatör cevapta integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörün rol almadığı bulunmuştur.

7- Egzersizi tolere edemeyen pulmoner hipertansiyon hastalarında EMS egzersize alternatif olarak kullanılabilir. İncelenen parametrelerde hem MCT+Yüzme hem de MCT+EMS grubunda sonuçların benzer olması hipotezimizi doğrulamıştır ve EMS uygulaması hareketsiz ve egzersizi tolere edemeyenler için bir alternatif yöntem olarak görünmektedir.

Sonuç olarak, bu tezde monokrotalin ile oluşturulan sıçan PAH modelinde hem yüzme egzersizinin hem de EMS'nin pulmoner arter basıncını düşürdüğü, pulmoner arteriollerdeki medial tabaka kalınlaşmasını ve lümen daralmasını önlediği gösterilmiştir. Egzersize toleransı olmayan veya sedanter koşullardaki PAH hastaları için bize göre EMS, potansiyel bir alternatif yöntem gibi durmaktadır. Diğer taraftan serum irisin düzeyleri MTC ile oluşturduğumuz sıçan PAH modelinde azalmıştır. Ancak 4 haftalık yüzme egzersizi veya EMS uygulaması her ne kadar PAH semptomlarını önlese de irisin düzeylerini anlamlı bir şekilde artırmamıştır. İrisin'in pulmoner arterlerde vazodilatör etkisi olduğu bir kez daha bizim tarafından doğrulanmıştır ancak bu etkinin integrin $\alpha V\beta 5$ reseptöründen bağımsız olabileceği görünmektedir. Bu bağlamda, PAH'da egzersiz ve EMS'nin terapötik etkilerinde irisinin rolünü açıklığa kavuşturmak amacıyla daha ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1]. Hoeper, M. M., Bogaard, H. J., Condliffe, R., Frantz, R., Khanna, D., Kurzyna, M., Langleben, D., Manes, A., Satoh, T., Torres, F., Wilkins, M. R., Badesch, D. B., Definitions and diagnosis of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*, **2013**, 62, D42-50.
- [2]. Humbert, M., Kovacs, G., Hoeper, M. M., Badagliacca, R., Berger, R. M. F., Brida, M., Carlsen, J., Coats, A. J. S., Escribano-Subias, P., Ferrari, P., Ferreira, D. S., Ghofrani, H. A., Giannakoulas, G., Kiely, D. G., Mayer, E., Meszaros, G., Nagavci, B., Olsson, K. M., Pepke-Zaba, J., Quint, J. K., Rådegran, G., Simonneau, G., Sitbon, O., Tonia, T., Toshner, M., Vachiery, J. L., Vonk Noordegraaf, A., Delcroix, M., Rosenkranz, S., 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur Respir J*, **2023**, 61,
- [3]. Tonelli, A. R., Arelli, V., Minai, O. A., Newman, J., Bair, N., Heresi, G. A., Dweik, R. A., Causes and circumstances of death in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, **2013**, 188, 365-369.
- [4]. Montani, D., Gunther, S., Dorfmüller, P., Perros, F., Girerd, B., Garcia, G., Jais, X., Savale, L., Artaud-Macari, E., Price, L. C., Humbert, M., Simonneau, G., Sitbon, O., Pulmonary arterial hypertension. *Orphanet J Rare Dis*, **2013**, 8, 97.
- [5]. Jardim, C., Waetge, D., The importance of the World Symposium on Pulmonary Hypertension. *J Bras Pneumol*, **2018**, 44, 0.
- [6]. Bull, F. C., Al-Ansari, S. S., Biddle, S., Borodulin, K., Buman, M. P., Cardon, G., Carty, C., Chaput, J. P., Chastin, S., Chou, R., Dempsey, P. C., DiPietro, L., Ekelund, U., Firth, J., Friedenreich, C. M., Garcia, L., Gichu, M., Jago, R., Katzmarzyk, P. T., Lambert, E., Leitzmann, M., Milton, K., Ortega, F. B., Ranasinghe, C., Stamatakis, E., Tiedemann, A., Troiano, R. P., van der Ploeg, H. P., Wari, V., Willumsen, J. F., World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *Br J Sports Med*, **2020**, 54, 1451-1462.
- [7]. Chia, K. S. W., Shiner, C. T., Brown, K., Holloway, C. J., Moreyra, C., Bart, N., Wong, P. K. K., Faux, S. G., Kotlyar, E., The exercise in pulmonary arterial hypertension (ExPAH) study: A randomized controlled pilot of exercise training and multidisciplinary rehabilitation in pulmonary arterial hypertension. *Pulm Circ*, **2022**, 12, e12069.
- [8]. Gonzalez-Saiz, L., Fiuza-Luces, C., Sanchis-Gomar, F., Santos-Lozano, A., Quezada-Loaiza, C. A., Flox-Camacho, A., Munguia-Izquierdo, D., Ara, I., Santalla, A., Moran, M., Sanz-Ayan, P., Escribano-Subias, P., Lucia, A., Benefits of skeletal-muscle exercise training in pulmonary arterial hypertension: The WHOLEi+12 trial. *Int J Cardiol*, **2017**, 231, 277-283.
- [9]. McCullough, D. J., Kue, N., Mancini, T., Vang, A., Clements, R. T., Choudhary, G., Endurance exercise training in pulmonary hypertension increases skeletal muscle electron transport chain supercomplex assembly. *Pulm Circ*, **2020**, 10, 2045894020925762.
- [10]. Maddocks, M., Gao, W., Higginson, I. J., Wilcock, A., Neuromuscular electrical stimulation for muscle weakness in adults with advanced disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, **2013**,
- [11]. Nuhr, M. J., Pette, D., Berger, R., Quittan, M., Crevenna, R., Huelsman, M., Wiesinger, G. F., Moser, P., Fialka-Moser, V., Pacher, R., Beneficial effects of chronic low-frequency stimulation of thigh muscles in patients with advanced chronic heart failure. *Eur Heart J*, **2004**, 25, 136-143.

- [12]. Gondin, J., Cozzzone, P. J., Bendahan, D., Is high-frequency neuromuscular electrical stimulation a suitable tool for muscle performance improvement in both healthy humans and athletes? *Eur J Appl Physiol*, **2011**, 111, 2473-2487.
- [13]. Neder, J. A., Sword, D., Ward, S. A., Mackay, E., Cochrane, L. M., Clark, C. J., Home based neuromuscular electrical stimulation as a new rehabilitative strategy for severely disabled patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Thorax*, **2002**, 57, 333-337.
- [14]. Ambrosini, E., Ferrante, S., Pedrocchi, A., Ferrigno, G., Molteni, F., Cycling induced by electrical stimulation improves motor recovery in postacute hemiparetic patients: a randomized controlled trial. *Stroke*, **2011**, 42, 1068-1073.
- [15]. Salehi, M. R. P., Reisi, J., Marandi, S. M., Abdollahi, M., Effect of Whole-Body Electrical Muscle Stimulation Training on Inflammatory and Anti-inflammatory Cytokines in Overweight Men. *J Obes Metab Syndr*, **2024**, 33, 270-274.
- [16]. Bustamante, M., Fernández-Verdejo, R., Jaimovich, E., Buvinic, S., Electrical stimulation induces IL-6 in skeletal muscle through extracellular ATP by activating Ca(2+) signals and an IL-6 autocrine loop. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **2014**, 306, E869-882.
- [17]. Szabó, M. R., Csont, T., Csonka, C., The effect of electrical stimulation of skeletal muscle on cardioprotection and on muscle-derived myokine levels in rats: A pilot study. *Physiol Int*, **2023**, 110, 135-149.
- [18]. Park, S., Min, S., Park, S. H., Yoo, J., Jee, Y. S., Influence of Isometric Exercise Combined With Electromyostimulation on Inflammatory Cytokine Levels, Muscle Strength, and Knee Joint Function in Elderly Women With Early Knee Osteoarthritis. *Front Physiol*, **2021**, 12, 688260.
- [19]. Sajer, S., Guardiero, G. S., Scicchitano, B. M., Myokines in Home-Based Functional Electrical Stimulation-Induced Recovery of Skeletal Muscle in Elderly and Permanent Denervation. *Eur J Transl Myol*, **2018**, 28, 7905.
- [20]. Bustamante, M., Fernández-Verdejo, R., Jaimovich, E., Buvinic, S., Electrical stimulation induces IL-6 in skeletal muscle through extracellular ATP by activating Ca(2+) signals and an IL-6 autocrine loop. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, **2014**, 306, E869-882.
- [21]. Strange, G., Playford, D., Stewart, S., Deague, J. A., Nelson, H., Kent, A., Gabbay, E., Pulmonary hypertension: prevalence and mortality in the Armadale echocardiography cohort. *Heart*, **2012**, 98, 1805-1811.
- [22]. Constantine, A., Dimopoulos, K., Haworth, S. G., Muthurangu, V., Moledina, S., Twenty-year experience and outcomes in a National Pediatric Pulmonary Hypertension Service. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **2022**, 206, 758-766.
- [23]. Kahraman, B. O., Savci, S., Ozsoy, I., Baran, A., Acar, S., Ozpelit, E., Balci, A., Sevinc, C., Akdeniz, B., Effects of neuromuscular electrical stimulation in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized controlled pilot study. *J Cardiol*, **2020**, 75, 702-708.
- [24]. Pacagnelli, F., Mariano, T., Sabela, A. K., Dias, R., Freire, A. P., Junior, L. A., Schaffer, L., Carvalho, R., Okoshi, K., Late Breaking Abstract - Effects of preventive exercise in monocrotaline rat model with pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal*, **2019**, 54, PA3945.

- [25]. Drummond, F. R., Leite, L. B., de Miranda, D. C., Drummond, L. R., Lavorato, V. N., Soares, L. L., Neves, C. A., Natali, A. J., Skeletal muscle dysfunctions in pulmonary arterial hypertension: Effects of aerobic exercise training. *Front Physiol*, **2023**, 14, 1148146.
- [26]. Dalla Vecchia, L. A., Bussotti, M., Exercise training in pulmonary arterial hypertension. *J Thorac Dis*, **2018**, 10, 508-521.
- [27]. Abman, S. H., Mullen, M. P., Sleeper, L. A., Austin, E. D., Rosenzweig, E. B., Kinsella, J. P., Ivy, D., Hopper, R. K., Raj, J. U., Fineman, J., Characterisation of paediatric pulmonary hypertensive vascular disease from the PPHNet Registry. *European Respiratory Journal*, **2022**, 59,
- [28]. Mocumbi, A., Humbert, M., Saxena, A., Jing, Z. C., Sliwa, K., Thienemann, F., Archer, S. L., Stewart, S., Pulmonary hypertension. *Nat Rev Dis Primers*, **2024**, 10, 1.
- [29]. Franklin, P. J., Green, D. J., Cable, N. T., The influence of thermoregulatory mechanisms on post-exercise hypotension in humans. *J Physiol*, **1993**, 470, 231-241.
- [30]. Beaulieu, M., Nadeau, A., Lacourcière, Y., Cléroux, J., Post-exercise reduction in blood pressure in hypertensive subjects: effects of angiotensin converting enzyme inhibition. *Br J Clin Pharmacol*, **1993**, 36, 331-338.
- [31]. Kulics, J. M., Collins, H. L., DiCarlo, S. E., Postexercise hypotension is mediated by reductions in sympathetic nerve activity. *Am J Physiol*, **1999**, 276, H27-32.
- [32]. Hoffmann, P., Thorén, P., Electric muscle stimulation in the hind leg of the spontaneously hypertensive rat induces a long-lasting fall in blood pressure. *Acta Physiol Scand*, **1988**, 133, 211-219.
- [33]. Hoffmann, P., Delle, M., Thorén, P., Role of opioid receptors in the long-lasting blood pressure depression after electric muscle stimulation in the hind leg of the rat. *Acta Physiol Scand*, **1990**, 140, 191-198.
- [34]. Hoffmann, P., Skarphedinsson, J. O., Thorén, P., Electric muscle stimulation in the spontaneously hypertensive rat induces a post-stimulatory reduction in activity: role of different opioid receptors. *Acta Physiol Scand*, **1990**, 140, 507-514.
- [35]. Erickson, H. P., Irisin and FNDC5 in retrospect: An exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte*, **2013**, 2, 289-293.
- [36]. Bostrom, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., Rasbach, K. A., Bostrom, E. A., Choi, J. H., Long, J. Z., Kajimura, S., Zingaretti, M. C., Vind, B. F., Tu, H., Cinti, S., Hojlund, K., Gygi, S. P., Spiegelman, B. M., A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, **2012**, 481, 463-468.
- [37]. Demirel, S., Sahinturk, S., Isbil, N., Ozyener, F., Physiological role of K(+) channels in irisin-induced vasodilation in rat thoracic aorta. *Peptides*, **2022**, 147, 170685.
- [38]. Demirel, S., Sahinturk, S., Isbil, N., Ozyener, F., Irisin relaxes rat thoracic aorta: MEK1/2 signaling pathway, K(V) channels, SK(Ca) channels, and BK(Ca) channels are involved in irisin-induced vasodilation. *Can J Physiol Pharmacol*, **2022**, 100, 379-385.
- [39]. Demirel, S., Şahintürk, S., İşbil, N., Özyener, F., Irisin relaxes rat thoracic aorta through inhibiting signaling pathways implicating protein kinase C. *Turk J Med Sci*, **2022**, 52, 514-521.
- [40]. Deng, X., Huang, W., Peng, J., Zhu, T. T., Sun, X. L., Zhou, X. Y., Yang, H., Xiong, J. F., He, H. Q., Xu, Y. H., He, Y. Z., Irisin Alleviates Advanced Glycation End Products-Induced Inflammation

- and Endothelial Dysfunction via Inhibiting ROS-NLRP3 Inflammasome Signaling. *Inflammation*, **2018**, 41, 260-275.
- [41]. Han, F., Zhang, S., Hou, N., Wang, D., Sun, X., Irisin improves endothelial function in obese mice through the AMPK-eNOS pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2015**, 309, H1501-1508.
- [42]. Jiang, M., Wan, F., Wang, F., Wu, Q., Irisin relaxes mouse mesenteric arteries through endothelium-dependent and endothelium-independent mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun*, **2015**, 468, 832-836.
- [43]. Ma, C., Ding, H., Deng, Y., Liu, H., Xiong, X., Yang, Y., Irisin: A New Code Uncover the Relationship of Skeletal Muscle and Cardiovascular Health During Exercise. *Front Physiol*, **2021**, 12, 620608.
- [44]. Sundararajan, L., Rajeswari, J. J., Weber, L. P., Unniappan, S., The sympathetic/beta-adrenergic pathway mediates irisin regulation of cardiac functions in zebrafish. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, **2021**, 259, 111016.
- [45]. Ye, L., Xu, M., Hu, M., Zhang, H., Tan, X., Li, Q., Shen, B., Huang, J., TRPV4 is involved in irisin-induced endothelium-dependent vasodilation. *Biochem Biophys Res Commun*, **2018**, 495, 41-45.
- [46]. Li, H., Qin, S., Liang, Q., Xi, Y., Bo, W., Cai, M., Tian, Z., Exercise Training Enhances Myocardial Mitophagy and Improves Cardiac Function via Irisin/FNDC5-PINK1/Parkin Pathway in MI Mice. *Biomedicine*, **2021**, 9,
- [47]. Ellefsen, S., Vikmoen, O., Slettalokken, G., Whist, J. E., Nygaard, H., Hollan, I., Rauk, I., Vegge, G., Strand, T. A., Raastad, T., Ronnestad, B. R., Irisin and FNDC5: effects of 12-week strength training, and relations to muscle phenotype and body mass composition in untrained women. *Eur J Appl Physiol*, **2014**, 114, 1875-1888.
- [48]. Qin, S., Tian, Z., Boidin, M., Buckley, B. J. R., Thijssen, D. H. J., Lip, G. Y. H., Irisin is an Effector Molecule in Exercise Rehabilitation Following Myocardial Infarction (Review). *Front Physiol*, **2022**, 13, 935772.
- [49]. Galiè, N., Ghofrani, A. H., New horizons in pulmonary arterial hypertension therapies. *Eur Respir Rev*, **2013**, 22, 503-514.
- [50]. Kang, C., Sotatercept: First Approval. *Drugs*, **2024**, 84, 857-862.
- [51]. Marino, A. B., Theroux, J. D., Drake, E. S., Anderson, J. L., Self, D. S., The Drug Update: Recent drug approvals, winter 2025 edition. *Nurse Pract*, **2025**, 50, 27-40.
- [52]. Ruopp, N. F., Cockrill, B. A., Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension: A Review. *JAMA*, **2022**, 327, 1379-1391.
- [53]. Babu, A. S., Arena, R., Myers, J., Padmakumar, R., Maiya, A. G., Cahalin, L. P., Waxman, A. B., Lavie, C. J., Exercise intolerance in pulmonary hypertension: mechanism, evaluation and clinical implications. *Expert Rev Respir Med*, **2016**, 10, 979-990.
- [54]. Coulis, A., Levanon, S., Randhawa, G., Brailovsky, Y., Raza, F., Oliveros, E., Cardiopulmonary exercise testing in pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Front Sports Act Living*, **2024**, 6, 1477562.
- [55]. Provencher, S., Hervé, P., Sitbon, O., Humbert, M., Simonneau, G., Chemla, D., Changes in exercise haemodynamics during treatment in pulmonary arterial hypertension. *European Respiratory Journal*, **2008**, 32, 393-398.

- [56]. Holverda, S., Gan, C. T.-J., Marcus, J. T., Postmus, P. E., Boonstra, A., Vonk-Noordegraaf, A., Impaired stroke volume response to exercise in pulmonary arterial hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, **2006**, 47, 1732-1733.
- [57]. Provencher, S., Chemla, D., Herve, P., Sitbon, O., Humbert, M., Simonneau, G., Heart rate responses during the 6-minute walk test in pulmonary arterial hypertension. *European Respiratory Journal*, **2006**, 27, 114-120.
- [58]. Gomez-Arroyo, J. G., Farkas, L., Alhussaini, A. A., Farkas, D., Kraskauskas, D., Voelkel, N. F., Bogaard, H. J., The monocrotaline model of pulmonary hypertension in perspective. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **2012**, 302, L363-369.
- [59]. Santos-Ribeiro, D., Mendes-Ferreira, P., Maia-Rocha, C., Adao, R., Leite-Moreira, A. F., Bras-Silva, C., Pulmonary arterial hypertension: Basic knowledge for clinicians. *Arch Cardiovasc Dis*, **2016**, 109, 550-561.
- [60]. Maarman, G., Lecour, S., Butrous, G., Thienemann, F., Sliwa, K., A comprehensive review: the evolution of animal models in pulmonary hypertension research; are we there yet? *Pulm Circ*, **2013**, 3, 739-756.
- [61]. Kay, J. M., Harris, P., Heath, D., Pulmonary hypertension produced in rats by ingestion of *Crotalaria spectabilis* seeds. *Thorax*, **1967**, 22, 176-179.
- [62]. Lalic, J. J., Merkow, L., Pulmonary arteritis produced in rat by feeding *Crotalaria spectabilis*. *Lab Invest*, **1961**, 10, 744-750.
- [63]. Galiè, N., Ghofrani, A.-H., New horizons in pulmonary arterial hypertension therapies. *European Respiratory Review*, 22, 503-514.
- [64]. Parada-Sanchez, S. G., Macias-Cervantes, M. H., Perez-Vazquez, V., Vargas-Ortiz, K., The Effects of Different Types of Exercise on Circulating Irisin Levels in Healthy Individuals and in People With Overweight, Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes. *Physiol Res*, **2022**, 71, 457-475.
- [65]. Lee, S. H., Nam, B., Youn, J., Lee, K. H., Jo, S., Swimming exercise alleviates pathological bone features in curdlan-injected SKG mice by inducing irisin expression. *Life Sci*, **2024**, 352, 122894.
- [66]. Tosta, A., Fonseca, A. S., Messeder, D., Ferreira, S. T., Lourenco, M. V., Pandolfo, P., Effects of Gestational Exercise on Nociception, BDNF, and Irisin Levels in an Animal Model of ADHD. *Neuroscience*, **2024**, 543, 37-48.
- [67]. Nayeibifar, S., Nakhaei, H., Kakhki, Z. B., Ghasemi, E., Intermittent vs. continuous swimming training on adipokines and pro-inflammatory cytokines in metabolic syndrome experimental model. *Horm Mol Biol Clin Investig*, **2023**, 44, 321-328.
- [68]. Zhou, W., Shi, Y., Wang, H., Chen, L., Yu, C., Zhang, X., Yang, L., Zhang, X., Wu, A., Exercise-induced FNDC5/irisin protects nucleus pulposus cells against senescence and apoptosis by activating autophagy. *Exp Mol Med*, **2022**, 54, 1038-1048.
- [69]. Arikan, S., Alaca, N., Ozbeyli, D., Elmas, M. A., Arbak, S., Suyen, G., Effects of moderate aerobic exercise, low-level laser therapy, or their combination on muscles pathology, oxidative stress and irisin levels in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Lasers Med Sci*, **2022**, 37, 2925-2936.
- [70]. Cho, E., Jeong, D. Y., Kim, J. G., Lee, S., The Acute Effects of Swimming Exercise on PGC-1alpha-FNDC5/Irisin-UCP1 Expression in Male C57BL/6j Mice. *Metabolites*, **2021**, 11,

- [71]. Kang, Y. S., Kim, J. C., Kim, J. S., Kim, S. H., Effects of Swimming Exercise on Serum Irisin and Bone FNDC5 in Rat Models of High-Fat Diet-Induced Osteoporosis. *J Sports Sci Med*, **2019**, 18, 596-603.
- [72]. Bashar, S. M., Samir El-Sherbeiny, S. M., Boraie, M. Z., Correlation between the blood level of irisin and the severity of acute myocardial infarction in exercise-trained rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, **2018**, 30, 59-71.
- [73]. Yang, X. Q., Yuan, H., Li, J., Fan, J. J., Jia, S. H., Kou, X. J., Chen, N., Swimming intervention mitigates HFD-induced obesity of rats through PGC-1alpha-irisin pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, **2016**, 20, 2123-2130.
- [74]. Lu, Y., Li, H., Shen, S. W., Shen, Z. H., Xu, M., Yang, C. J., Li, F., Feng, Y. B., Yun, J. T., Wang, L., Qi, H. J., Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats. *Lipids Health Dis*, **2016**, 15, 93.
- [75]. Leite, L. B., Soares, L. L., Portes, A. M. O., da Silva, B. A. F., Dias, T. R., Soares, T. I., Assis, M. Q., Guimarães-Ervilha, L. O., Carneiro-Júnior, M. A., Forte, P., Machado-Neves, M., Reis, E. C. C., Natali, A. J., Combined exercise hinders the progression of pulmonary and right heart harmful remodeling in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *J Appl Physiol (1985)*, **2025**, 138, 182-194.
- [76]. Chan, L., Chin, L. M. K., Kennedy, M., Woolstenhulme, J. G., Nathan, S. D., Weinstein, A. A., Connors, G., Weir, N. A., Drinkard, B., Lamberti, J., Keyser, R. E., Benefits of intensive treadmill exercise training on cardiorespiratory function and quality of life in patients with pulmonary hypertension. *Chest*, **2013**, 143, 333-343.
- [77]. Mereles, D., Ehlken, N., Kreuscher, S., Ghofrani, S., Hoeper, M. M., Halank, M., Meyer, F. J., Karger, G., Buss, J., Juenger, J., Holzapfel, N., Opitz, C., Winkler, J., Herth, F. F., Wilkens, H., Katus, H. A., Olschewski, H., Grunig, E., Exercise and respiratory training improve exercise capacity and quality of life in patients with severe chronic pulmonary hypertension. *Circulation*, **2006**, 114, 1482-1489.
- [78]. de Man, F. S., Handoko, M. L., Groepenhoff, H., van 't Hul, A. J., Abbink, J., Koppers, R. J., Grotjohan, H. P., Twisk, J. W., Bogaard, H. J., Boonstra, A., Postmus, P. E., Westerhof, N., van der Laarse, W. J., Vonk-Noordegraaf, A., Effects of exercise training in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*, **2009**, 34, 669-675.
- [79]. Grunig, E., Maier, F., Ehlken, N., Fischer, C., Lichtblau, M., Blank, N., Fiehn, C., Stockl, F., Prange, F., Staehler, G., Reichenberger, F., Tiede, H., Halank, M., Seyfarth, H. J., Wagner, S., Nagel, C., Exercise training in pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue diseases. *Arthritis Res Ther*, **2012**, 14, R148.
- [80]. Becker-Grunig, T., Klose, H., Ehlken, N., Lichtblau, M., Nagel, C., Fischer, C., Gorenflo, M., Tiede, H., Schranz, D., Hager, A., Kaemmerer, H., Miera, O., Ulrich, S., Speich, R., Uiker, S., Grunig, E., Efficacy of exercise training in pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease. *Int J Cardiol*, **2013**, 168, 375-381.
- [81]. Uno, H., Kamiya, S., Akimoto, R., Hosoki, K., Tadano, S., Kouzaki, K., Tamura, Y., Kotani, T., Isemura, M., Nakazato, K., Low-frequency electrical stimulation of bilateral hind legs by belt electrodes is effective for preventing denervation-induced atrophies in multiple skeletal muscle groups in rats. *Sci Rep*, **2022**, 12, 21275.
- [82]. Karnia, M. J., Myslinska, D., Dzik, K. P., Flis, D. J., Podlacha, M., Kaczor, J. J., BST Stimulation Induces Atrophy and Changes in Aerobic Energy Metabolism in Rat Skeletal Muscles-The Biphasic Action of Endogenous Glucocorticoids. *Int J Mol Sci*, **2020**, 21,

- [83]. Adilakshmi, P., Suganthi, V., Rao, K. S., Mahendran, K. B., Effect of High-Intensity Resistance Training Versus Endurance Training on Irisin and Adipomyokine Levels in Healthy Individuals: An 8-Week Interventional Study. *Cureus*, **2023**, 15, e46483.
- [84]. Zhang, Y., Wang, L., Kang, H., Lin, C.-Y., Fan, Y., Applying exercise-mimetic engineered skeletal muscle model to interrogate the adaptive response of irisin to mechanical force. *iScience*, **2022**, 25,
- [85]. Chow, L. S., Gerszten, R. E., Taylor, J. M., Pedersen, B. K., van Praag, H., Trappe, S., Febbraio, M. A., Galis, Z. S., Gao, Y., Haus, J. M., Lanza, I. R., Lavie, C. J., Lee, C. H., Lucia, A., Moro, C., Pandey, A., Robbins, J. M., Stanford, K. I., Thackray, A. E., Villeda, S., Watt, M. J., Xia, A., Zierath, J. R., Goodpaster, B. H., Snyder, M. P., Exerkines in health, resilience and disease. *Nat Rev Endocrinol*, **2022**, 18, 273-289.
- [86]. Pedersen, B. K., Febbraio, M. A., Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev*, **2008**, 88, 1379-1406.
- [87]. Piercy, K. L., Troiano, R. P., Ballard, R. M., Carlson, S. A., Fulton, J. E., Galuska, D. A., George, S. M., Olson, R. D., The Physical Activity Guidelines for Americans. *JAMA*, **2018**, 320, 2020-2028.
- [88]. Konigstein, K., Dipla, K., Zafeiridis, A., Training the Vessels: Molecular and Clinical Effects of Exercise on Vascular Health-A Narrative Review. *Cells*, **2023**, 12,
- [89]. Nishii, K., Aizu, N., Yamada, K., Review of the health-promoting effects of exercise and the involvement of myokines. *Fujita Med J*, **2023**, 9, 171-178.
- [90]. Lee, H. J., Lee, J. O., Kim, N., Kim, J. K., Kim, H. I., Lee, Y. W., Kim, S. J., Choi, J. I., Oh, Y., Kim, J. H., Suyeon, H., Park, S. H., Kim, H. S., Irisin, a Novel Myokine, Regulates Glucose Uptake in Skeletal Muscle Cells via AMPK. *Mol Endocrinol*, **2015**, 29, 873-881.
- [91]. Xin, C., Liu, J., Zhang, J., Zhu, D., Wang, H., Xiong, L., Lee, Y., Ye, J., Lian, K., Xu, C., Zhang, L., Wang, Q., Liu, Y., Tao, L., Irisin improves fatty acid oxidation and glucose utilization in type 2 diabetes by regulating the AMPK signaling pathway. *Int J Obes (Lond)*, **2016**, 40, 443-451.
- [92]. Lu, L., Ma, J., Tang, J., Liu, Y., Zheng, Q., Chen, S., Gao, E., Ren, J., Yang, L., Yang, J., Irisin attenuates myocardial ischemia/reperfusion-induced cardiac dysfunction by regulating ER-mitochondria interaction through a mitochondrial ubiquitin ligase-dependent mechanism. *Clin Transl Med*, **2020**, 10, e166.
- [93]. Cao, G., Yang, C., Jin, Z., Wei, H., Xin, C., Zheng, C., Xu, J., Huang, Q., Zhang, Z., Hu, T., FNDC5/irisin reduces ferroptosis and improves mitochondrial dysfunction in hypoxic cardiomyocytes by Nrf2/HO-1 axis. *Cell Biol Int*, **2022**, 46, 723-736.
- [94]. Jiang, X., Cai, S., Jin, Y., Wu, F., He, J., Wu, X., Tan, Y., Wang, Y., Irisin Attenuates Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Apoptosis in the H9C2 Cellular Model of Septic Cardiomyopathy through Augmenting Fundc1-Dependent Mitophagy. *Oxid Med Cell Longev*, **2021**, 2021, 2989974.
- [95]. Pesce, M., Ballerini, P., Paolucci, T., Puca, I., Farzaei, M. H., Patrino, A., Irisin and Autophagy: First Update. *Int J Mol Sci*, **2020**, 21,
- [96]. Zhuo, C., Xin, J., Huang, W., Zhang, D., Yan, X., Li, R., Li, H., Lan, J., Lin, L., Li, L., Wang, X., Liu, L., Wang, Y., Li, X., Mao, Y., Chen, H., Wu, S., Yang, X., Jiang, W., Irisin protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by improving AMPK-Nrf2 dependent mitochondrial fusion and strengthening endogenous anti-oxidant defense mechanisms. *Toxicology*, **2023**, 494, 153597.

- [97]. Lu, J., Xiang, G., Liu, M., Mei, W., Xiang, L., Dong, J., Irisin protects against endothelial injury and ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein E-Null diabetic mice. *Atherosclerosis*, **2015**, 243, 438-448.
- [98]. Polyzos, S. A., Anastasilakis, A. D., Efstathiadou, Z. A., Makras, P., Perakakis, N., Kountouras, J., Mantzoros, C. S., Irisin in metabolic diseases. *Endocrine*, **2018**, 59, 260-274.
- [99]. Zhang, N., Zhou, H., Xu, Y., Zhang, Y., Yu, F., Gui, L., Zhang, Q., Lu, Y., Liraglutide promotes UCP1 expression and lipolysis of adipocytes by promoting the secretion of irisin from skeletal muscle cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **2024**, 588, 112225.
- [100]. Xiong, X.-Q., Chen, D., Sun, H.-J., Ding, L., Wang, J.-J., Chen, Q., Li, Y.-H., Zhou, Y.-B., Han, Y., Zhang, F., Gao, X.-Y., Kang, Y.-M., Zhu, G.-Q., FNDC5 overexpression and irisin ameliorate glucose/lipid metabolic derangements and enhance lipolysis in obesity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, **2015**, 1852, 1867-1875.
- [101]. Aladag, T., Mogulkoc, R., Baltaci, A. K., Irisin and Energy Metabolism and the Role of Irisin on Metabolic Syndrome. *Mini Rev Med Chem*, **2023**, 23, 1942-1958.
- [102]. Liu, S., Cui, F., Ning, K., Wang, Z., Fu, P., Wang, D., Xu, H., Role of irisin in physiology and pathology. *Front Endocrinol (Lausanne)*, **2022**, 13, 962968.
- [103]. Liu, T.-Y., Shi, C.-X., Gao, R., Sun, H.-J., Xiong, X.-Q., Ding, L., Chen, Q., Li, Y.-H., Wang, J.-J., Kang, Y.-M., Zhu, G.-Q., Irisin inhibits hepatic gluconeogenesis and increases glycogen synthesis via the PI3K/Akt pathway in type 2 diabetic mice and hepatocytes. *Clinical Science*, **2015**, 129, 839-850.
- [104]. Wang, K., Song, F., Xu, K., Liu, Z., Han, S., Li, F., Sun, Y., Irisin Attenuates Neuroinflammation and Prevents the Memory and Cognitive Deterioration in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Mediators Inflamm*, **2019**, 2019, 1567179.
- [105]. Guo, P., Jin, Z., Wang, J., Sang, A., Wu, H., Irisin Rescues Blood-Brain Barrier Permeability following Traumatic Brain Injury and Contributes to the Neuroprotection of Exercise in Traumatic Brain Injury. *Oxid Med Cell Longev*, **2021**, 2021, 1118981.
- [106]. Wang, Y., Tian, M., Tan, J., Pei, X., Lu, C., Xin, Y., Deng, S., Zhao, F., Gao, Y., Gong, Y., Irisin ameliorates neuroinflammation and neuronal apoptosis through integrin $\alpha V\beta 5$ /AMPK signaling pathway after intracerebral hemorrhage in mice. *J Neuroinflammation*, **2022**, 19, 82.
- [107]. Wang, C., Wang, X., Sun, S., Chang, Y., Lian, P., Guo, H., Zheng, S., Ma, R., Li, G., Irisin inhibits microglial senescence via TFAM-mediated mitochondrial metabolism in a mouse model of tauopathy. *Immunity & Ageing*, **2024**, 21, 30.
- [108]. Wen, P., Sun, Z., Yang, D., Li, J., Li, Z., Zhao, M., Wang, D., Gou, F., Wang, J., Dai, Y., Zhao, D., Yang, L., Irisin regulates oxidative stress and mitochondrial dysfunction through the UCP2-AMPK pathway in prion diseases. *Cell Death Dis*, **2025**, 16, 66.
- [109]. Weng, Y., Zhang, Y., Wang, D., Wang, R., Xiang, Z., Shen, S., Wang, H., Wu, X., Wen, Y., Wang, Y., Exercise-induced irisin improves follicular dysfunction by inhibiting IRE1 α -TXNIP/ROS-NLRP3 pathway in PCOS. *Journal of Ovarian Research*, **2023**, 16, 151.
- [110]. Liang, H., Qi, W., Jiajue, R., Chi, Y., Liu, W., Wang, O., Li, M., Xing, X., Yu, W., Jiang, Y., Xia, W., Serum Irisin level is associated with fall risk, muscle strength, and cortical porosity in postmenopausal women. *Front Endocrinol (Lausanne)*, **2023**, 14, 1096950.
- [111]. Oranger, A., Zerlotin, R., Buccoliero, C., Sanesi, L., Storlino, G., Schipani, E., Kozloff, K. M., Mori, G., Colaianni, G., Colucci, S., Grano, M., Irisin Modulates Inflammatory, Angiogenic,

- p>and Osteogenic Factors during Fracture Healing.
- International Journal of Molecular Sciences*
- ,
- 2023**
- , 24, 1809.
- [112]. Khan, M. I., Khan, M. I., Wahab, F., Irisin in Reproduction: Its Roles and Therapeutic Potential in Male and Female Fertility Disorders. *Biomolecules*, **2024**, 14, 1222.
 - [113]. Vaishnavi Nalla, S., Jayapradha, P., Lalruatmawii, Nandheeswari, K., Naxine, P., Vigneshwaran, G., Rohilla, G., Dubey, I., Kushwaha, S., Irisin as an emerging target in the regulation of reproductive functions in health and disease. *General and Comparative Endocrinology*, **2024**, 353, 114529.
 - [114]. Mu, Y., Dai, H.-G., Luo, L.-B., Yang, J., Irisin alleviates obesity-related spermatogenesis dysfunction via the regulation of the AMPK α signalling pathway. *Reproductive Biology and Endocrinology*, **2021**, 19, 135.
 - [115]. Wahab, F., Drummer, C., Mätz-Rensing, K., Fuchs, E., Behr, R., Irisin is expressed by undifferentiated spermatogonia and modulates gene expression in organotypic primate testis cultures. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **2020**, 504, 110670.
 - [116]. Canpolat, S., Ulker, N., Yardimci, A., Tancan, E., Sahin, E., Yaman, S. O., Bulmuş, O., Alver, A., Ozcan, M., Irisin ameliorates male sexual dysfunction in paroxetine-treated male rats. *Psychoneuroendocrinology*, **2022**, 136, 105597.
 - [117]. Xue, Y., Hu, S., Chen, C., He, J., Sun, J., Jin, Y., Zhang, Y., Zhu, G., Shi, Q., Rui, Y., Myokine Irisin promotes osteogenesis by activating BMP/SMAD signaling via α V integrin and regulates bone mass in mice. *Int J Biol Sci*, **2022**, 18, 572-584.
 - [118]. Zhang, M., Xiong, W., Qiao, R., Li, M., Zhang, C., Yang, C., Zhu, Y., He, J., Ma, Z., Irisin in the modulation of bone and cartilage homeostasis: a review on osteoarthritis relief potential. *Front Physiol*, **2025**, 16, 1570157.
 - [119]. Flori, L., Testai, L., Calderone, V., The "irisin system": From biological roles to pharmacological and nutraceutical perspectives. *Life Sci*, **2021**, 267, 118954.
 - [120]. Young, M. F., Valaris, S., Wrann, C. D., A role for FNDC5/Irisin in the beneficial effects of exercise on the brain and in neurodegenerative diseases. *Progress in Cardiovascular Diseases*, **2019**, 62, 172-178.
 - [121]. Li, X., Jamal, M., Guo, P., Jin, Z., Zheng, F., Song, X., Zhan, J., Wu, H., Irisin alleviates pulmonary epithelial barrier dysfunction in sepsis-induced acute lung injury via activation of AMPK/SIRT1 pathways. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, **2019**, 118, 109363.
 - [122]. Aydogdu, N., Yalcinkaya Yavuz, O., Tastekin, E., Tayfur, P., Kaya, O., Kandemir, N., The Effects of Irisin on Nomega-Nitro-L-arginine Methyl Ester Hydrochloride-Induced Hypertension in Rats. *Balkan Med J*, **2019**, 36, 337-346.
 - [123]. Maciorkowska, M., Musialowska, D., Malyszko, J., Adropin and irisin in arterial hypertension, diabetes mellitus and chronic kidney disease. *Adv Clin Exp Med*, **2019**, 28, 1571-1575.
 - [124]. Sun, N., Chen, Y., Fan, Y., Chang, J., Gao, X., Zhao, Y., Sun, H., Wang, Z., Gu, X., Tian, J., Wu, B., Plasma irisin levels are associated with hemodynamic and clinical outcome in idiopathic pulmonary arterial hypertension patients. *Intern Emerg Med*, **2021**, 16, 625-632.
 - [125]. Gurger, M., Telo, S., Yilmaz, M., Atescelik, M., Gul, E., Goktekin, M. C., Diagnostic and Prognostic Relevance of Serum Irisin Level in Patients with Pulmonary Embolism. *Clin Lab*, **2021**, 67,

- [126]. Pang, X., He, X., Qiu, Z., Zhang, H., Xie, R., Liu, Z., Gu, Y., Zhao, N., Xiang, Q., Cui, Y., Targeting integrin pathways: mechanisms and advances in therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **2023**, 8, 1.
- [127]. Lippa, R. A., Barrett, J., Pal, S., Rowedder, J. E., Murphy, J. A., Barrett, T. N., Discovery of the first potent and selective $\alpha(v)\beta(5)$ integrin inhibitor based on an amide-containing core. *Eur J Med Chem*, **2020**, 208, 112719.
- [128]. Ley, K., Rivera-Nieves, J., Sandborn, W. J., Shattil, S., Integrin-based therapeutics: biological basis, clinical use and new drugs. *Nature reviews Drug discovery*, **2016**, 15, 173-183.
- [129]. Ruoslahti, E., RGD and other recognition sequences for integrins. *Annual review of cell and developmental biology*, **1996**, 12, 697-715.
- [130]. Kapp, T. G., Rechenmacher, F., Neubauer, S., Maltsev, O. V., Cavalcanti-Adam, E. A., Zarka, R., Reuning, U., Notni, J., Wester, H.-J., Mas-Moruno, C., A comprehensive evaluation of the activity and selectivity profile of ligands for RGD-binding integrins. *Scientific Reports*, **2017**, 7, 39805.
- [131]. Marinelli, L., Gottschalk, K.-E., Meyer, A., Novellino, E., Kessler, H., Human integrin $\alpha\beta5$: Homology modeling and ligand binding. *Journal of medicinal chemistry*, **2004**, 47, 4166-4177.
- [132]. Friedlander, M., Brooks, P. C., Shaffer, R. W., Kincaid, C. M., Varner, J. A., Cheresh, D. A., Definition of two angiogenic pathways by distinct αv integrins. *Science*, **1995**, 270, 1500-1502.
- [133]. Su, G., Hodnett, M., Wu, N., Atakilit, A., Kosinski, C., Godzich, M., Huang, X. Z., Kim, J. K., Frank, J. A., Matthay, M. A., Integrin $\alpha\beta5$ regulates lung vascular permeability and pulmonary endothelial barrier function. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, **2007**, 36, 377-386.
- [134]. Su, G., Atakilit, A., Li, J. T., Wu, N., Luong, J., Chen, R., Bhattacharya, M., Sheppard, D., Effective treatment of mouse sepsis with an inhibitory antibody targeting integrin $\alpha\beta5$. *Critical care medicine*, **2013**, 41, 546-553.
- [135]. Kim, H., Wrann, C. D., Jedrychowski, M., Vidoni, S., Kitase, Y., Nagano, K., Zhou, C., Chou, J., Parkman, V.-J. A., Novick, S. J., Irisin mediates effects on bone and fat via αV integrin receptors. *Cell*, **2019**, 178, 507-508.
- [136]. Bi, J., Zhang, J., Ren, Y., Du, Z., Li, T., Wang, T., Zhang, L., Wang, M., Wu, Z., Lv, Y., Irisin reverses intestinal epithelial barrier dysfunction during intestinal injury via binding to the integrin $\alpha\beta5$ receptor. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **2020**, 24, 996-1009.
- [137]. Welser-Alves, J. V., Boroujerdi, A., Tigges, U., Milner, R., Microglia use multiple mechanisms to mediate interactions with vitronectin; non-essential roles for the highly-expressed $\alpha\beta3$ and $\alpha\beta5$ integrins. *Journal of neuroinflammation*, **2011**, 8, 1-10.
- [138]. Kim, H., Wrann, C. D., Jedrychowski, M., Vidoni, S., Kitase, Y., Nagano, K., Zhou, C., Chou, J., Parkman, V. A., Novick, S. J., Strutzenberg, T. S., Pascal, B. D., Le, P. T., Brooks, D. J., Roche, A. M., Gerber, K. K., Mattheis, L., Chen, W., Tu, H., Boussein, M. L., Griffin, P. R., Baron, R., Rosen, C. J., Bonewald, L. F., Spiegelman, B. M., Irisin Mediates Effects on Bone and Fat via αV Integrin Receptors. *Cell*, **2018**, 175, 1756-1768 e1717.
- [139]. Wang, Y., Tian, M., Tan, J., Pei, X., Lu, C., Xin, Y., Deng, S., Zhao, F., Gao, Y., Gong, Y., Irisin ameliorates neuroinflammation and neuronal apoptosis through integrin $\alpha V\beta5$ /AMPK signaling pathway after intracerebral hemorrhage in mice. *J Neuroinflammation*, **2022**, 19, 82.

- [140]. Zhu, J., Li, J., Yao, T., Li, T., Chang, B., Yi, X., Analysis of the role of irisin receptor signaling in regulating osteogenic/adipogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. *Biotechnol Genet Eng Rev*, **2023**, 1-24.
- [141]. Bi, J., Zhang, J., Ren, Y., Du, Z., Zhang, Y., Liu, C., Wang, Y., Zhang, L., Shi, Z., Wu, Z., Lv, Y., Wu, R., Exercise hormone irisin mitigates endothelial barrier dysfunction and microvascular leakage-related diseases. *JCI Insight*, **2020**, 5,
- [142]. Alshanqiti, K. H., Alomar, S. F., Alzoman, N., Almomen, A., Irisin Induces Apoptosis in Metastatic Prostate Cancer Cells and Inhibits Tumor Growth In Vivo. *Cancers (Basel)*, **2023**, 15,
- [143]. Jackson, T. C., Gorse, K., Herrmann, J. R., Kochanek, P. M., Hippocampal and Prefrontal Cortical Brain Tissue Levels of Irisin and GDF15 Receptor Subunits in Children. *Mol Neurobiol*, **2021**, 58, 2145-2157.
- [144]. Soltani Hekmat, A., Amini, F., Javanmardi, K., Effects of alamandine on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Iran J Basic Med Sci*, **2024**, 27, 500-508.
- [145]. van der Feen, D. E., Weij, M., Smit-van Oosten, A., Jorna, L. M., Hagdorn, Q. A., Bartelds, B., Berger, R. M., Shunt Surgery, Right Heart Catheterization, and Vascular Morphometry in a Rat Model for Flow-induced Pulmonary Arterial Hypertension. *J Vis Exp*, **2017**,
- [146]. Asano, Y., Ihn, H., Yamane, K., Kubo, M., Tamaki, K., Increased expression levels of integrin alphavbeta5 on scleroderma fibroblasts. *Am J Pathol*, **2004**, 164, 1275-1292.
- [147]. Green, D. J., Maiorana, A., O'Driscoll, G., Taylor, R., Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J Physiol*, **2004**, 561, 1-25.
- [148]. Wang, B. L., Jin, H., Han, X. Q., Xia, Y., Liu, N. F., Involvement of brain-derived neurotrophic factor in exercise-induced cardioprotection of post-myocardial infarction rats. *Int J Mol Med*, **2018**, 42, 2867-2880.
- [149]. Gielen, S., Adams, V., Möbius-Winkler, S., Linke, A., Erbs, S., Yu, J., Kempf, W., Schubert, A., Schuler, G., Hambrecht, R., Anti-inflammatory effects of exercise training in the skeletal muscle of patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, **2003**, 42, 861-868.
- [150]. Chen, Q. H., Wang, X. Q., Yu, M. T., Li, X. H., Wang, J., [The vasoactive material and pulmonary vascular structural remodeling in rats]. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*, **2006**, 22, 71-74.
- [151]. Meziat, C., Boulghobra, D., Strock, E., Battault, S., Bornard, I., Walther, G., Reboul, C., Exercise training restores eNOS activation in the perivascular adipose tissue of obese rats: Impact on vascular function. *Nitric Oxide*, **2019**, 86, 63-67.
- [152]. Daniels, L. B., Maisel, A. S., Natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol*, **2007**, 50, 2357-2368.
- [153]. Zhu, D., Wang, H., Zhang, J., Zhang, X., Xin, C., Zhang, F., Lee, Y., Zhang, L., Lian, K., Yan, W., Ma, X., Liu, Y., Tao, L., Irisin improves endothelial function in type 2 diabetes through reducing oxidative/nitrative stresses. *J Mol Cell Cardiol*, **2015**, 87, 138-147.
- [154]. Shams, S., Tavasolian, M., Amani-Shalamzari, S., Motamedi, P., Rajabi, H., Weiss, K., Knechtle, B., Effects of swimming in cold water on lipolysis indicators via fibroblast growth factor-21 in male Wistar rats. *Biochem Biophys Rep*, **2024**, 38, 101662.
- [155]. Riahi, F., Riahi, S., Effect of moderate swimming exercise on weight gain in high fat diet rats. **2016**,

- [156]. Meyrick, B., Gamble, W., Reid, L., Development of Crotalaria pulmonary hypertension: hemodynamic and structural study. *Am J Physiol*, **1980**, 239, H692-702.
- [157]. Sztuka, K., Jasinska-Stroschein, M., Animal models of pulmonary arterial hypertension: A systematic review and meta-analysis of data from 6126 animals. *Pharmacol Res*, **2017**, 125, 201-214.
- [158]. Kazama, K., Okada, M., Yamawaki, H., A novel adipocytokine, omentin, inhibits monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, **2014**, 452, 142-146.
- [159]. Sztuka, K., Jasińska-Stroschein, M., Animal models of pulmonary arterial hypertension: A systematic review and meta-analysis of data from 6126 animals. *Pharmacological Research*, **2017**, 125, 201-214.
- [160]. Zeng, G. Q., Liu, R., Liao, H. X., Zhang, X. F., Qian, Y. X., Liu, B. H., Wu, Q. H., Zhao, J., Gu, W. W., Li, H. T., Single intraperitoneal injection of monocrotaline as a novel large animal model of chronic pulmonary hypertension in Tibet minipigs. *PLoS One*, **2013**, 8, e78965.
- [161]. Tong, Y., Jiao, Q., Liu, Y., Lv, J., Wang, R., Zhu, L., Maprotiline Prevents Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension in Rats. *Front Pharmacol*, **2018**, 9, 1032.
- [162]. Tasca, S., Patrick, T., Daniela, D., Cristina, C. C., Adriane, B.-K., Luz, D. C. A., and Da Rosa Araujo, A. S., Melatonin improves adverse vascular remodelling and redox homeostasis in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 1-12.
- [163]. Chiriaco, M., Masi, S., Viridis, A., Taddei, S. (2022). Endothelial Function and Physical Exercise: A Key to Cardiovascular Protection? In P. Palatini, E. Agabiti-Rosei, G. Mancia (Eds.), *Exercise, Sports and Hypertension* (pp. 43-54). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-07958-0_4
- [164]. Marsh, S. A., Coombes, J. S., Exercise and the endothelial cell. *International Journal of Cardiology*, **2005**, 99, 165-169.
- [165]. Fu, J., Li, F., Tang, Y., Cai, L., Zeng, C., Yang, Y., Yang, J., The Emerging Role of Irisin in Cardiovascular Diseases. *J Am Heart Assoc*, **2021**, 10, e022453.
- [166]. Zhu, G., Wang, J., Song, M., Zhou, F., Fu, D., Ruan, G., Zhu, X., Bai, Y., Huang, L., Pang, R., Kang, H., Pan, X., Irisin Increased the Number and Improved the Function of Endothelial Progenitor Cells in Diabetes Mellitus Mice. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **2016**, 68,
- [167]. Ho, M.-Y., Wang, C.-Y., Role of Irisin in Myocardial Infarction, Heart Failure, and Cardiac Hypertrophy. *Cells*, **2021**, 10, 2103.
- [168]. Ho, M. Y., Wang, C. Y., Role of Irisin in Myocardial Infarction, Heart Failure, and Cardiac Hypertrophy. *Cells*, **2021**, 10,
- [169]. Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., Rasbach, K. A., Boström, E. A., Choi, J. H., Long, J. Z., Kajimura, S., Zingaretti, M. C., Vind, B. F., Tu, H., Cinti, S., Højlund, K., Gygi, S. P., Spiegelman, B. M., A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, **2012**, 481, 463-468.
- [170]. Han, F., Zhang, S., Hou, N., Wang, D., Sun, X., Irisin improves endothelial function in obese mice through the AMPK-eNOS pathway. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **2015**, 309, H1501-H1508.

- [171]. Zhang, W., Chang, L., Zhang, C., Zhang, R., Li, Z., Chai, B., Li, J., Chen, E., Mulholland, M., Central and peripheral irisin differentially regulate blood pressure. *Cardiovasc Drugs Ther*, **2015**, 29, 121-127.
- [172]. A, M., Wales, T. E., Zhou, H., Draga-Coletă, S. V., Gorgulla, C., Blackmore, K. A., Mittenbühler, M. J., Kim, C. R., Bogoslavski, D., Zhang, Q., Wang, Z. F., Jedrychowski, M. P., Seo, H. S., Song, K., Xu, A. Z., Sebastian, L., Gygi, S. P., Arthanari, H., Dhe-Paganon, S., Griffin, P. R., Engen, J. R., Spiegelman, B. M., Irisin acts through its integrin receptor in a two-step process involving extracellular Hsp90 α . *Mol Cell*, **2023**, 83, 1903-1920.e1912.
- [173]. Yan, J., Liu, H.-J., Guo, W.-C., Yang, J., Low serum concentrations of Irisin are associated with increased risk of hip fracture in Chinese older women. *Joint Bone Spine*, **2018**, 85, 353-358.
- [174]. Chang, J. S., Kim, T. H., Nguyen, T. T., Park, K. S., Kim, N., Kong, I. D., Circulating irisin levels as a predictive biomarker for sarcopenia: a cross-sectional community-based study. *Geriatrics & gerontology international*, **2017**, 17, 2266-2273.
- [175]. Liu, B.-W., Yin, F.-Z., Qi, X.-M., Fan, D.-M., Zhang, Y., The levels of serum irisin as a predictor of insulin resistance in han chinese adults with metabolically healthy obesity. *Clinical laboratory*, **2017**, 63, 881-886.
- [176]. Sugiyama, Y., Asai, K., Yamada, K., Kureya, Y., Ijiri, N., Watanabe, T., Kanazawa, H., Hirata, K., Decreased levels of irisin, a skeletal muscle cell-derived myokine, are related to emphysema associated with chronic obstructive pulmonary disease. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*, **2017**, 765-772.
- [177]. Yang, S., Xiao, F., Pan, L., Zhang, H., Ma, Z., Liu, S., Liu, Y., Zhang, W., Zeng, X., Liu, C., Association of serum irisin and body composition with chronic kidney disease in obese Chinese adults: a cross-sectional study. *BMC nephrology*, **2015**, 16, 1-11.
- [178]. Ebert, T., Focke, D., Petroff, D., Wurst, U., Richter, J., Bachmann, A., Lössner, U., Kralisch, S., Kratzsch, J., Beige, J., Serum levels of the myokine irisin in relation to metabolic and renal function. *European journal of endocrinology*, **2014**, 170, 501-506.
- [179]. Sadeghipour, H. R., Golan, Y., Abdossaleh, Z., Mohsen, S., Samad, A., and Bernardi, M., The effect of 4-week endurance training on serum levels of irisin and betatrophin in streptozotocin- induced diabetic rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, **2023**, 129, 575-581.
- [180]. Tang, Y. J., Zhang, Z., Yan, T., Chen, K., Xu, G. F., Xiong, S. Q., Wu, D. Q., Chen, J., Jose, P. A., Zeng, C. Y., Fu, J. J., Irisin attenuates type 1 diabetic cardiomyopathy by anti-ferroptosis via SIRT1-mediated deacetylation of p53. *Cardiovasc Diabetol*, **2024**, 23, 116.
- [181]. Byun, K., Lee, S., The Potential Role of Irisin in Vascular Function and Atherosclerosis: A Review. *Int J Mol Sci*, **2020**, 21,
- [182]. Ahmed, T. M., Nassar, M., Mohamed, H. A. A., Elhadidy, K. E.-S., Farhan, H. M., El Basset, A. S. A., Elmessiery, R. M., Kamel, M. F., Evaluation of serum levels of Irisin as a marker of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocrinology, diabetes & metabolism*, **2023**, 6, e403.
- [183]. Huerta-Delgado, A. S., Roffe-Vazquez, D. N., Gonzalez-Gil, A. M., Villarreal-Calderon, J. R., Tamez-Rivera, O., Rodriguez-Gutierrez, N. A., Castillo, E. C., Silva-Platas, C., Garcia-Rivas, G., Elizondo-Montemayor, L., Serum Irisin Levels, Endothelial Dysfunction, and Inflammation in Pediatric Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Metabolic Syndrome. *J Diabetes Res*, **2020**, 2020, 1949415.

- [184]. Fang, L., Li, W., Zhao, H., Wang, W., Gao, H., Wang, P., Zhang, X., Lv, R., Xu, F., Chen, J., Lyu, L., Chen, Y., Irisin alleviates steroid-induced vascular dysfunction by regulating the α V β 5-c-Abl-Caveolin-1 signaling pathway. *Biochemical Pharmacology*, **2025**, 236, 116870.
- [185]. Luna-Ceron, E., Gonzalez-Gil, A. M., Elizondo-Montemayor, L., Current Insights on the Role of Irisin in Endothelial Dysfunction. *Curr Vasc Pharmacol*, **2022**, 20, 205-220.
- [186]. Rajagopal, S., Yu, Y.-R. A., The Pathobiology of Pulmonary Arterial Hypertension. *Cardiology Clinics*, **2022**, 40, 1-12.
- [187]. Boucly, A., Gerges, C., Savale, L., Jaïs, X., Jevnikar, M., Montani, D., Sitbon, O., Humbert, M., Pulmonary arterial hypertension. *La Presse Médicale*, **2023**, 52, 104168.
- [188]. Shimoda, L. A., Laurie, S. S., Vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Journal of Molecular Medicine*, **2013**, 91, 297-309.
- [189]. Su, G., Hodnett, M., Wu, N., Atakilit, A., Kosinski, C., Godzich, M., Huang, X. Z., Kim, J. K., Frank, J. A., Matthay, M. A., Sheppard, D., Pittet, J. F., Integrin α v β 5 regulates lung vascular permeability and pulmonary endothelial barrier function. *Am J Respir Cell Mol Biol*, **2007**, 36, 377-386.
- [190]. Sarrazy, V., Koehler, A., Chow, M. L., Zimina, E., Li, C. X., Kato, H., Caldarone, C. A., Hinz, B., Integrins α v β 5 and α v β 3 promote latent TGF- β 1 activation by human cardiac fibroblast contraction. *Cardiovascular Research*, **2014**, 102, 407-417.
- [191]. Chen, J., Li, K., Shao, J., Lai, Z., Gao, R., Wang, C., Song, X., Guo, W., Yu, X., Du, F., Zhu, Z., Wang, J., Ma, J., Xu, L., Zhou, Y., Liu, J., Shu, K., Zhao, H., Wang, J., Liu, B., Irisin Suppresses Nicotine-Mediated Atherosclerosis by Attenuating Endothelial Cell Migration, Proliferation, Cell Cycle Arrest, and Cell Senescence. *Front Cardiovasc Med*, **2022**, 9, 851603.
- [192]. Asano, Y., Ihn, H., Yamane, K., Jinnin, M., Tamaki, K., Increased Expression of Integrin α v β 5 Induces the Myofibroblastic Differentiation of Dermal Fibroblasts. *The American Journal of Pathology*, **2006**, 168, 499-510.
- [193]. Chu, D., Circulating exosomal integrin α v β 5 predicts liver metastasis and prognosis in human colorectal cancer. *Annals of Oncology*, **2018**, 29, viii35-viii36.
- [194]. Yoshioka, T., Nishikawa, Y., Ito, R., Kawamata, M., Doi, Y., Yamamoto, Y., Yoshida, M., Omori, Y., Kotanagi, H., Masuko, T., Enomoto, K., Significance of integrin α v β 5 and erbB3 in enhanced cell migration and liver metastasis of colon carcinomas stimulated by hepatocyte-derived heregulin. *Cancer Sci*, **2010**, 101, 2011-2018.
- [195]. Bai, S. Y., Xu, N., Chen, C., Song, Y. L., Hu, J., Bai, C. X., Integrin α v β 5 as a biomarker for the assessment of non-small cell lung cancer metastasis and overall survival. *Clin Respir J*, **2015**, 9, 457-467.
- [196]. Tatler, A. L., John, A. E., Jolly, L., Habgood, A., Porte, J., Brightling, C., Knox, A. J., Pang, L., Sheppard, D., Huang, X., Jenkins, G., Integrin α v β 5-mediated TGF- β activation by airway smooth muscle cells in asthma. *J Immunol*, **2011**, 187, 6094-6107.
- [197]. Leifheit-Nestler, M., Conrad, G., Heida, N. M., Limbourg, A., Limbourg, F. P., Seidler, T., Schroeter, M. R., Hasenfuss, G., Konstantinides, S., Schäfer, K., Overexpression of integrin beta 5 enhances the paracrine properties of circulating angiogenic cells via Src kinase-mediated activation of STAT3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2010**, 30, 1398-1406.
- [198]. Zhang, Q., Xiang, S., Chen, X., Rong, Y., Huang, L., Chen, Z., Yao, K., Chen, W., Deng, C., Wang, J., Irisin attenuates acute glaucoma-induced neuroinflammation by activating microglia-

- integrin α V β 5/AMPK and promoting autophagy. *Int Immunopharmacol*, **2024**, 138, 112545.
- [199]. Kumawat, A. K., Yu, C., Mann, E. A., Schridde, A., Finnemann, S. C., Mowat, A. M., Expression and characterization of α V β 5 integrin on intestinal macrophages. *Eur J Immunol*, **2018**, 48, 1181-1187.
- [200]. Xue, Y., Hu, S., Chen, C., He, J., Sun, J., Jin, Y., Zhang, Y., Zhu, G., Shi, Q., Rui, Y., Myokine Irisin promotes osteogenesis by activating BMP/SMAD signaling via α V integrin and regulates bone mass in mice. *Int J Biol Sci*, **2022**, 18, 572-584.
- [201]. Kim, H., Wrann, C. D., Jedrychowski, M., Vidoni, S., Kitase, Y., Nagano, K., Zhou, C., Chou, J., Parkman, V. A., Novick, S. J., Strutzenberg, T. S., Pascal, B. D., Le, P. T., Brooks, D. J., Roche, A. M., Gerber, K. K., Mattheis, L., Chen, W., Tu, H., Buxsein, M. L., Griffin, P. R., Baron, R., Rosen, C. J., Bonewald, L. F., Spiegelman, B. M., Irisin Mediates Effects on Bone and Fat via α V Integrin Receptors. *Cell*, **2018**, 175, 1756-1768.e1717.
- [202]. Myint, P. K., Ito, A., Appiah, M. G., Obeng, G., Darkwah, S., Kawamoto, E., Gaowa, A., Park, E. J., Shimaoka, M., Irisin supports integrin-mediated cell adhesion of lymphocytes. *Biochem Biophys Rep*, **2021**, 26, 100977.