

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OVEROKTEMİZE SIÇANLARDA İSKEMİ/REPERFÜZYON' A
BAĞLI OLARAK GELİŞEN KARDİYAK HASARDA D
VİTAMİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

BURCU KESER

1218205101

KARDİYOVASKÜLER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali Rıza KIZILER

Bu Tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından

NKUBAP.02.2YL.23.459 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 187

2023 – Tekirdağ

KABUL VE ONAY

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde Prof. Dr. Ali Rıza KIZILER danışmanlığında yürütülmüş

bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

12 / 01 / 2024

Jüri Başkanı

Üye

Üye

Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Burcu KESER' in "Overektomize Sıçanlarda İskemi/Reperfüzyon' a Bağlı Olarak Gelişen Kardiyak Hasarda D Vitamininin Koruyucu Etkisi" başlıklı tezi 12.01.2024 günü saat 10:00' da Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliği' nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışma sürecinde bilgi ve deneyiminden faydalandığım, beni bu süreçte en iyi şekilde yönlendirerek çalışmama büyük katkı sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Ali Rıza Kızıler' e,

Bilgi ve deneyimiyle tez çalışmamın her adımında yanımda olan ve hiçbir konuda desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Murat Mengi' ye,

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. İbrahim Güner' e,

Biyokimya laboratuvarında alınan örneklerin değerlendirilmesine yardım eden Dr. Öğr. Üyesi Aliye Çelikkol ve Arş. Gör. Ahsen Yılmaz' a,

Araştırmada kullandığım ölçek ve istatistiksel verileri analiz etmem konusunda yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. BİROL TOPÇU' ya,

Tez yazım sürecinde her türlü yardımı esirgemeyen Asistan Dr. Ecem Değer'e,

Ve bu süreçte varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim ve sabırla desteklerini esirgemeyen Ayfer & Feyzullah KESER olmak üzere tüm aile üyelerime ve sevgili arkadaşlarıma,

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

Bu tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (NKUBAP.02.2YL.23.459).

ÖZET

Keser, B. Overektomize Sıçanlarda İskemi / Reperfüzyon' a Bağlı Olarak Gelişen Kardiyak Hasarda D Vitamininin Koruyucu Etkileri, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kardiyovasküler Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 2023.

Menopoza geçiş dönemi ve menopoz döneminde östrojen düzeyindeki azalmayla kardiyovasküler hastalık riski artmaktadır. Menopoz dönemindeki bireylere hormon replasmanın yanı sıra ek olarak D vitamini takviyesi de osteoporozu önlemek için verilmektedir. D vitamininin kardiyak hasar üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu saptanmıştır fakat östrojen hormonu yokluğunda iskemi / reperfüzyona bağlı gelişen akut kardiyak hasarın önlenmesi veya hafifletilmesi üzerindeki etkileri araştırılmamıştır.

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi deney hayvanları laboratuvarında yaptığımız çalışmamızda, overektomize sıçanlarda iskemi / reperfüzyona bağlı olarak gelişen kardiyak hasarda D vitamininin potansiyel koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda 24 adet Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanılmıştır. Deney grupları; kontrol grubu, D vitamini grubu, overektomi grubu ve overektomi + D vitamini grubu olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Deney gruplarında iskemi / reperfüzyon protokolü ve 1000 IU/hafta subkutan D vitamini uygulaması yapılmıştır.

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgulara göre, Serum Troponin T düzeyleri açısından, kontrol-overektomize grup arasında p değeri 0,005, D vitamini-D vitamini + Overektomize grup arasında p=0,021 ve Overektomize-D vitamini + Overektomize grup arasında p=0,000 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde, serum MDA düzeyleri açısından, kontrol-overektomize grup arasında p=0,021, D vitamini-overektomize grup arasında p=0,003 ve Overektomize-D vitamini + Overektomize grup arasında p=0,02 olarak bulunmuştur.

Çalışmanın genel sonuçları, D vitamini takviyesinin serum Troponin T ve MDA düzeylerini düzenleme potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir, bu da kardiyak hasara karşı koruyucu veya olası hasarlara karşı azaltıcı bir etki gösterebileceği anlamına gelir. Ayrıca, overektomi sonrası ortaya çıkabilecek kalp damar hastalık riskini azaltma potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Ancak, bu bulguların daha geniş kapsamlı klinik çalışmalarla desteklenmesi ve mekanizmanın daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akut kalp hasarı, İskemi-reperfüzyon, Abdominal aorta, Overektomi, Oksidatif stres, Troponin T

Destekleyen Kurumlar: Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi BAP

ABSTRACT

Keser, B. Protective Effect of Vitamin D on Cardiac Damage Due to Ischemia/Reperfusion in Ovariectomized Rats, Tekirdag Namik Kemal University, Health Sciences Institute, Department of Physiology. Master thesis, Tekirdag, 2023. The transition period to menopause and the menopausal period are associated with a decrease in estrogen levels, leading to an increased risk of cardiovascular diseases. In addition to hormone replacement, D vitamin supplements are given to individuals in the menopause period to prevent osteoporosis. While the protective effects of D vitamin on cardiac damage have been observed, its impact on preventing or mitigating ischemia/reperfusion-induced acute cardiac injury in the absence of estrogen hormone has not been investigated.

In our study conducted at the Tekirdağ Namik Kemal University laboratory for experimental animals, we aimed to explore the potential protective effect of D vitamin on ischemia/reperfusion-induced cardiac damage in ovariectomized rats. A total of 24 female Sprague Dawley rats were used in our study, divided into four groups: control group, D vitamin group, ovariectomy group, and ovariectomy + D vitamin group. Ischemia/reperfusion protocol and subcutaneous D vitamin administration at a dose of 1000 IU/week were implemented in the experimental groups.

According to the findings of our study, concerning Serum Troponin T levels, the p-value between the control and ovariectomy group was 0.005, between the D vitamin and D vitamin + Ovariectomy group was $p=0.021$, and between the Ovariectomy and D vitamin + Ovariectomy group was $p=0.000$. Similarly, for serum MDA levels, the p-value between the control and ovariectomy group was $p=0.021$, between the D vitamin and ovariectomy group was $p=0.003$, and between the Ovariectomy and D vitamin + Ovariectomy group was $p=0.02$.

The overall findings of the study indicate that D vitamin supplementation may have the potential to regulate serum Troponin T and MDA levels, implying a protective or mitigating effect against cardiac damage. Additionally, it appears to possess the potential to reduce the risk of cardiovascular diseases that may arise after ovariectomy. However, these findings need further support through more extensive clinical studies, and a more detailed understanding of the mechanism is required.

Key Words: *Acute cardiac injury, Ischemia-reperfusion, Abdominal aorta, Ovariectomy, Oxidative stress, Troponin T*

Supporting Institutions: Tekirdağ Namik Kemal University Research Fund

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar	3
2.2. İskemi / Reperfüzyon Hasarı.....	4
2.3. D Vitamini	6
2.4. D Vitamini ve Kardiyovasküler Sağlık İlişkisi	8
2.5. Troponin T.....	10
2.6. Malondialdehid (MDA).....	11
3. MATERYEL VE METOD	12
3.1. Çalışmaya Hazırlık ve Alınan İzinler	12
3.2. Deney Hayvanları Genel Özellikleri ve Grupların Oluşturulması	12
3.3. Cerrahi Protokolün Uygulanışı.....	13
3.3.1. Sham Overektomi.....	13
3.3.2. Overektomi.....	13
3.3.3. İnfrarenal Abdominal Aorta İskemi / Reperfüzyonu	16
3.4. Doku ve Serum Örneklerinin Homojenizasyonu ve Serum Eldesi	19
3.5. Troponin T Ölçüm Yöntemi.....	19
3.6. Malondialdehid (MDA) Ölçüm Yöntemi.....	20
3.7. İstatistiksel Yöntem.....	20
4. BULGULAR.....	21

4.1.	Deney Hayvanlarının Tartım Sonuçları	21
4.2.	Troponin T (TnT) Değerleri	21
4.3.	Malondialdehid (MDA) Değerleri.....	25
4.4.	Protein Değerleri	28
4.5.	Troponin T (TnT) / Protein Değerleri	29
4.6.	Malondialdehid (MDA) / Protein Değerleri	30
5.	TARTIŞMA	36
6.	SONUÇ	38
7.	KAYNAKLAR	40

EKLER

EK 1 - Etik Kurul Onayı

SİMGELER VE KISALTMALAR

DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
1,25(OH)2D3	: 1,25-dihidroksivitamin D3
1,25(OH)2D	: D3 Vitamini
VDR	: D3 Vitamini Reseptörü
KVH	: Kardiyovasküler Hastalıklar
KBH	: Kronik Böbrek Hastalıkları
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
İAA	: İnfrarenal Abdominal Aorta
İRH	: İskemi-Reperfüzyon Hasarı
MPO	: Miyeloperoksidaz
ATP	: Hücre İçindeki Enerji
I / R	: İskemi / Reperfüzyon
MPT	: Mitokondrial Permeabilite Geçiş
D₂	: Ergokalsiferol
D₃	: Kolekalsiferol
Ca	: Kalsiyum
P	: Fosfor
DM	: Diabetes Mellitus
TnT	: Troponin T
cTnT	: Kardiyak Troponin T
cTnI	: Kardiyak Troponin I
cTnC	: Kardiyak Troponin C
MDA	: Malondialdehid

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Ort : Ortalama

SS : Standart Sapma



ŞEKİLLER

Şekil 2.1. : Ergokalsiferol (D₂) ve Kolekalsiferol (D₃) yapısı

Şekil 2.2. : D vitamininin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkisi

Şekil 3.1. : Abdominal kaviteyi çevreleyen membran (periton) açılıp omentum ekarte edilmiş ve ovaryumlara ulaşılmıştır.

Şekil 3.2. : Proksimalde mesoovaryumdan, distalde ise cornu uterustan 4/0 monofilament cerrahi dikiş ipi ile bağlanmıştır.

Şekil 3.3. : Overler bilateral olarak bu iki bağ arasından kesilerek uzaklaştırılmıştır.

Şekil 3.4. : Anestezi işlemi takiben sıçanlar levha üzerinde sırtüstü pozisyonda yatırılır.

Şekil 3.5. : Bağırsaklar ıslak gazlı bez aracılığı ile sola doğru çekilerek abdominal aortaya ulaşılır.

Şekil 3. 6. : Aortanın sağ ve sol böbrek arteri altındaki bölge izole edilir ve İnfrarenal abdominal aortaya travmatik olmayan mikrovasküler klemp yerleştirilir.

Şekil 4.1. : Serum Troponin T Düzeylerinin Grafikle Gösterilmesi

Şekil 4.2. : Kalp Troponin T Düzeylerinin Grafikle Gösterilmesi

Şekil 4.3. : Serum MDA Düzeylerinin Grafikle Gösterilmesi

Şekil 4.4. : Kalp MDA Düzeylerinin Grafikle Gösterilmesi

Şekil 4.5. : Protein Düzeylerinin Grafiklerle Gösterilmesi

Şekil 4.6. : Troponin T/Protein Oranı Değerlerinin Grafikle Gösterilmesi

Şekil 4.7. : MDA/Protein Oranı Değerlerinin Grafikle Gösterilmesi

TABLULAR

Tablo 4.1 : Tüm grupların enjeksiyonlarına ve iskemi reperfüzyon cerrahisi uygulanması sırasındaki ağırlıklarına göre dağılımı (Ort ± SS)

Tablo 4.2 : Serum Troponin T Düzeyinin Gruplardaki Ortalaması (pg/ml)

Tablo 4.3 : Kalp Troponin T Düzeyinin Gruplardaki Ortalaması (pg/ml)

Tablo 4.4 : Serum ve Kalp Troponin T düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımları

Tablo 4.5 : Serum MDA Düzeyinin Gruplardaki Ortalaması (nmol/ml)

Tablo 4.6 : Kalp MDA Düzeyinin Gruplardaki Ortalaması (nmol/ml)

Tablo 4.7 : Serum ve Kalp MDA düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımı

Tablo 4.8 : Protein Değerlerinin Gruplardaki Ortalaması (mg/ml)

Tablo 4.9 : Protein düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımı

Tablo 4.10 : Troponin T / Protein Değerleri (pg/mg)

Tablo 4.11 : Troponin T/Protein düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımı

Tablo 4.12 : MDA / Protein Değerleri (nmol/mg)

Tablo 4.13 : MDA/Protein düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımı

Tablo 4.14 : Yapılan ölçümlerin gruplar arasındaki dağılımı

Tablo 4.15 : Serum TnT, Kalp TnT, Serum MDA ve Kalp MDA değerlendirmelerinin gruplar arası p değeri ve anlamlılık kıyaslaması

Tablo 4.16 : Protein, TnT/Protein ve MDA/Protein değerlendirmelerinin gruplar arası p değeri ve anlamlılık kıyaslaması



1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre kadınlarda gözlemlenen menopoz süreci üç ana dönemden oluşmaktadır. Bu dönemler şunlardır:

1. Premenopozal dönem adı verilen menopoz süreci öncesi 2-6 yıllık süreç,
2. Perimenopozal dönem ise son adet döngüsünden sonraki 1 yıllık süreç,
3. Postmenopozal dönem ise perimenopozal dönem sonrası 6-8 yıllık süreçtir.

Menopoz dönemiyle birlikte insan vücudunda değişiklikler oluşmaktadır. Kadın vücudundaki kısa sürede gerçekleşen değişikliklere ek olarak osteoporoz, kardiyovasküler hastalıklar ve kanserler ile karşılaşılma olasılığı uzun süre sonunda görülen değişiklikler arasındadır (Özgen ve Saka 2022). Yaşam süresinin zaman içerisinde uzamasıyla birlikte menopoz süreci kadınların hayatında daha uzun bir periyotta yer almaya başlamıştır. Kalp damar hastalıklarının görülme sıklığındaki artış menopoz sonrasındaki morbidite ve mortaliteyi arttırmaktadır. İleri yaş ve östrojenin koruyuculuğunun azalması gibi kardiyovasküler risk faktörleri kalp damar hastalıklarındaki artışı etkilemektedir (Ural 2014).

D vitamini eksikliği çok sık karşılaşılan bir problemdir. Tartışmalı bir konu olan D vitamini eksikliği, çoğu uzman tarafından 1,25-hidroksivitamin D düzeyinin 30 ng/mL (75 nmol/L) altında olması şeklinde kabul edilmiştir. D vitamini aktif formu, endokrin sistemin üyesi olan 1,25-dihidroksivitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃)' tür ve bu vitamin vücudun homeostazında görev alır. D vitamini kalsiyum dengesinin korunmasının yanında geniş bir etki alanına sahiptir. D vitamininin antioksidan etkisi kalsiyum olmayan rollerine örnek olarak verilmektedir. Kolesterol ile homolog bir yapıya sahip olmasından kaynaklı, D vitamininin bir antioksidan olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir. D vitamini eksikliğininsülin direnci ve tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar (KVH), kronik böbrek hastalıkları (KBH) gibi birtakım kronik hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda D vitamininin kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde etkin rol oynadığı gösterilmiştir (Hazar, Hazar ve diğ. 2021). D vitamini ile kardiyovasküler hastalıklarda iyileşmenin, endotel fonksiyonlar üzerindeki etkilerinin oksidatif strese karşı koruyucu etkiler oluşturmasıyla gerçekleşeceği savunulmuştur. Oksidatif stres, vazomotor tonusun düzenlenmesini ve nitrik oksidin reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından

inaktivasyonu ile endotelin fonksiyonlarını değiştirir (Mokhtari, Hekmatdoost ve Nourian 2017). Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, 1,25(OH)2D/VDR (D3 vitamini/D3 vitamin reseptörü) sinyalinin sınırlandırılmasının, hipertansiyon ve kardiyak hipertrofi ile artan renin/anjyotensin aktivitesine, vazodilatör nitrik oksidin biyoyararlanımının azalmasına ve bunun sonucunda kan damarı gevşemesinin bozulmasına sebep olduğu görülmüştür (Kienreich, Grubler, Tomaschitz 2013). Ayrıca endotelial disfonksiyon, vasküler düz kas hücrelerinin artan proliferasyonu ve migrasyonuna neden olduğu gösterilmiş ancak insan çalışmalarına çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (Menezes, Lamb ve diğ. 2014).

Deneysel bir çalışmada, sıçanlarda overektomiye bağlı olarak izole kalpte (nörö hormonal etkinin olmadığı) bozulmuş kardiyak mitokondriyal fonksiyon ve artmış oksidatif strese bağlı olarak iskemi reperfüzyon hasarını arttırdığı tespit edilmiştir (Kumar, Boovarahan, Prem ve diğ. 2021).

İnfrareanal abdominal aortanın (İAA) oklüzyonu ve reperfüzyonu insanlarda perivasküler cerrahi sırasında (Kim, Ahn, Kim ve diğ. 2011) ve deneysel hayvan modellerinde (Güner, Yaman, Aksu ve diğ. 2014 & Aksu, Güner, Yaman ve diğ. 2014) sıklıkla uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntem akciğerler, kalp ve böbrek gibi çeşitli uzak organlarda iskemi-reperfüzyon hasarına (İRH) neden olmaktadır. İskemik bir dokuya kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) paradoksal olarak doku veya organın daha fazla hasar görmesine, işlevinin ve canlılığının tehlikeye girmesine neden olur (Dorweiler, Pruefer, Andrasi ve diğ. 2007). İRH' ye artmış oksidatif stres, nötrofil infiltrasyonu, çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin aktiviteleri, endotel hasarı ve hücre zarı iyon taşıma mekanizmalarının bozulması (De Perrot, Liu, Waddell ve diğ. 2003), elastin yapısının bozulması ve yıkımı gibi faktörlere neden olmaktadır (Ayala, Vivar, Montalva ve diğ. 2018). şiddetli travma ve kanama, akciğer ödemine ve akciğer dokusunda immün hücreler, trombositler, miyeloperoksidaz (MPO), elastaz ve C5a miktarında artışa yol açar. Bu değişikliklerin tamamı inflamasyonun ve akut doku hasarının belirteçlerindedir (Wu, Dubick, Schwacha ve diğ. 2017).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar

Kardiyovasküler sistem, metabolik işlevleri düzenlemek, vücut ısısını ve pH'ı dengelemek, homeostazı sağlamak ve savunma mekanizmasını desteklemek için kalp ve diğer sistemleri birbirine bağlayan kan damarlarını ve kalbi içeren bir sistem olarak tanımlanabilir (Okan ve Biçer 2018). Bu gruba giren hastalıklar; koroner kalp hastalıkları, konjestif kalp yetersizliği, periferik damar hastalıkları, konjenital kalp hastalıkları, romatizmal kalp hastalıkları, hipertansif hastalıklar ve aritmiler gibi kalp ve damar hastalıklarını içermektedir. Toplum yaş ortalamasının artması, sağlıksız beslenme şeklinin yaygınlaşması ve sigara alkol gibi alışkanlıkların artması kardiyovasküler hastalıkların (KVH) sebepleri arasında gösterilmektedir (WHO 2023).

KVH, kalp ve kan damarlarının hastalığını anlatan genel bir terim olarak kullanılmaktadır. Bu hastalıkların patofizyolojisi, bir dizi karmaşık olayın sonucu olarak ortaya çıkar ve genellikle kronik iltihap, damar sertliği (ateroskleroz), plak oluşumu, tromboz, kalp kası enfarktüsü ve kalp yetmezliği gibi durumları içerir (Mozaffarian, Benjamin, Go 2016).

Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, Türkiye'de ölümlerin %34'ü kardiyovasküler hastalıklara bağlanmaktadır (WHO, 2019). Nüfusun, göğüs ağrısı veya serebrovasküler olay geçirme sıklığı %5,0 olarak tahmin edilmiştir. Bu oran erkeklerde %5,20 iken kadınlarda % 4,80 olarak belirlenmiştir. Tüm yaş gruplarındaki kadınlarda, sadece "15-29" ve "45-59" yaş grupları dışında, erkeklere göre daha düşük bir görülme sıklığı vardır. Ancak, yaşla birlikte kalp krizi veya kalp hastalığına bağlı göğüs ağrısı veya serebrovasküler olay yaşama sıklığı artar (STEPS 2017).

Ateroskleroz: Kardiyovasküler hastalıkların en yaygın nedenlerinden biri aterosklerozdur. Ateroskleroz, arter duvarlarında lipid birikimleri, inflamasyon ve damar içi zararı içeren bir süreçtir. Bu süreç, damarların daralmasına ve sertleşmesine yol açar, bu da kan akışının kısıtlanmasına ve kan pıhtılarının oluşmasına neden olabilir (Libby 2012).

Myokardiyal İskemi: Kalp kasına yetersiz oksijen gitmesi durumuna myokardiyal iskemi denir. Bu, damarların tıkanması veya daralması sonucu oluşabilir ve kalp krizi riskini artırabilir. Myokardiyal iskemi, kalp kasının hasar görmesine yol açabilir ve kalp yetmezliği riskini artırabilir (Anderson, Morrow 2017).

Kalp Yetmezliği: Kalp yetmezliği, kalp kasının yeterince kan pompalayamadığı bir durumdur. Bu, kalp kasının zayıf veya hasar görmüş olabileceği birçok nedenle ilişkilendirilir. Kalp yetmezliği, özellikle damar hastalıklarının bir sonucu olarak ortaya çıkabilir ve yaşamı tehdit edici sonuçlara yol açabilir (Yancy, Jessup, Bozkurt 2017).

Kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisi karmaşık bir konsepttir ve birçok farklı etmenin birleşimi sonucu oluşur. Bu hastalıkların gelişiminde genetik yatkınlık, yaş, cinsiyet, yaşam tarzı faktörleri (örneğin, sigara içme, yetersiz beslenme ve fiziksel hareketsizlik) ve diğer sağlık koşulları önemli bir rol oynar (Benjamin, Muntner, Alonso ve diğ.1019).

2.2. İskemi / Reperfüzyon Hasarı

Dünya üzerinde birçok ülkenin majör ölüm nedenleri arasında iskemik kalp hastalıkları gösterilmektedir. DSÖ verileri ile kalp hastalıklarına bağlı ölüm nedenleri arasında en sık iskemik kalp hastalıklarının görüldüğü saptanmıştır (Demirhan, Kurutaş 2021).

Dokuların kanlanmaması (yeterince besin ve oksijen gibi maddelerin dokuya ulaşamaması) iskemi olarak isimlendirilir. Dokularda kanlanma süreci ve durumundaki değişikliklere bağlı olarak bazı anormaller oluşmaktadır. İskemik durumda, hücre içerisindeki enerji (ATP) azalır ve aerobik metabolizmanın yavaşladığı bilinmektedir. İskemik hasar gören dokunun yeniden kanlanması ise reperfüzyon olarak isimlendirilmektedir. Reperfüzyon dokunun canlılığını sürdürebilmesi için çok önemli bir süreçtir. Fakat 20 dakikayı aşan bazı iskemi durumlarında gerçekleşen reperfüzyon hücrel nekroza ya da miyokardiyal hasara sebep olabileceği bazı çalışmalar ile belirtilmiştir (Demirhan, Kurutaş 2021).

İskemi/Reperfüzyon (I/R) hasarı, uzun süre kan akışının kesildiği dokuya yani iskemik kalan doku alanına yeniden kan akımının sağlanması hücrel hasarı

düzeltektense daha da artmasına sebep olan ve sürekli tekrarlayan bir olgudur. İskeminin yol açtığı moleküler, dokusal ve hücresele değışiklikler sıklıkla incelenmiştir. Ancak reperfüzyonun da iskemiden bağımsız olarak sebep olduğu birçok hasar son zamanlarda keşfedilmiştir. İ/R sonrası, iskemik fazdan dolayı mı yoksa reperfüzyon fazının sonucunda açığa çıkan yeni mekanizmalardan mı kaynaklı doku hasarının meydana geldiği henüz kesin olarak saptanamamıştır. Patofizyolojik mekanizması henüz net olarak belirli olmayan İ/R hasarının olası mekanizmaları;

- Hücre içerisinde kalsiyum iyonunun toksisitesinin artması,
- Kan akımının yeniden sağlanmasıyla birlikte serbest oksijen radikallerinin artması,
- Endotelyal disfonksiyon,
- Protrombojenik fenotipin gözlemlenmesi,
- Mitokondrial permeabilite geçiş (MPT) ile porların açılışı,
- İnflamatuar yanıtın artmasıdır (Kalogeris, Baines ve diğ. 2012).

Kalp dokusunda İ/R hasarına karşı tolerans aralığı geniştir. 12 saate kadar süren iskemi olayların sonrasında dahi perfüzyon sağlanmasıyla birlikte tekrar dokunun canlılığı sağlanabilir. Kalp ve beyin dokusu arasındaki temel farklılık ise reperfüzyon fazında kalp dokusuna yüksek oranda mast ve fibroblast hücreleri gelmesidir. Mast hücrelerinin temel görevleri tam olarak bilinmemekle birlikte, fibroblast hücreleri kendi ürettikleri kollojenler ile fibrozis oluştururlar ve kalbin kontraktilesinin azalmasına neden olmaktadır (Frank, Bonney, Weitzel ve diğ. 2012).

İ/R hasarı yalnızca maruz olan doku ya da organlara değil, ayrıca uzak doku ve organlarda da hasarlanmalara sebep olmaktadır. Patofizyolojik olarak artmış serbest oksijen radikalleri, lökositler ve inflamatuvar mediatörlerin varlığı bu uzak doku hasarına sebep olmaktadır. Mediatörler ve radikallerin iskemik dokuda üretilmesinden sonra dolaşım yoluyla beraber uzak dokulara taşınarak o bölgeleri de etkilediği, bölgede aktifleşen lökosit ve diğer inflamatuvar hücreler vasıtasıyla başka organlarda da üretilebileceği saptanmıştır (Soares, Losada, Jordani ve diğ. 2019; Abogresha, Gerish ve diğ. 2016).

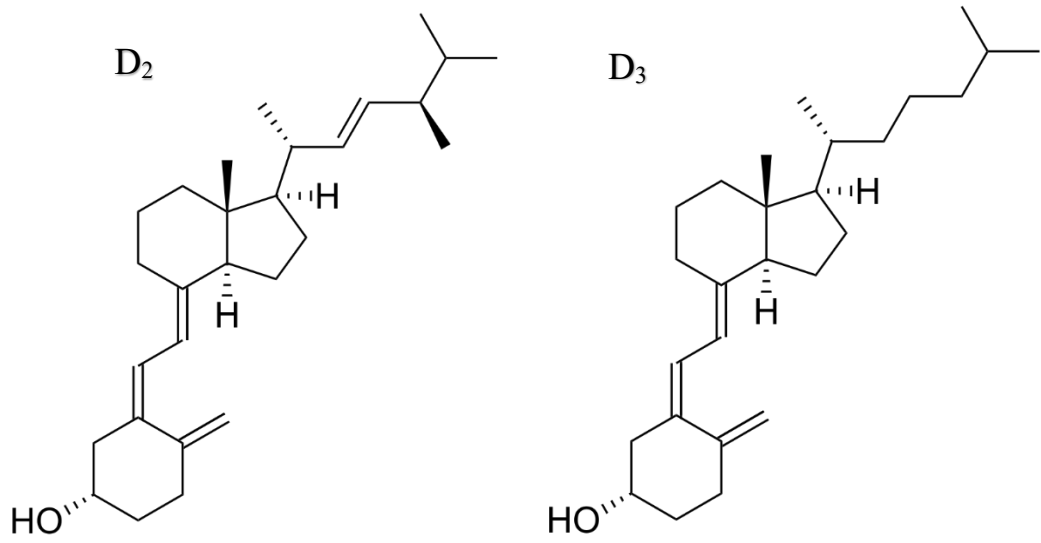
Oksidan/antioksidan dengesi canlılığı sürdürebilmek için çok önemlidir. Antioksidanlar içerisinde vitaminler eksojen grubundadırlar. Bazı deneysel çalışmalar

da bu antioksidan özelliği taşıyan vitaminlerin kalp I/R hasarındaki rolünü kanıtlamaktadır (Demirhan, Kurutaş 2021).

2.3. D Vitamini

Genellikle yeşil bitkilerin temel bileşenlerinden olan vitaminler, çeşitli biyokimyasal işlevler için gereklidir. Metabolizma faaliyetlerinde önemli bir role sahip olan vitaminler, metabolizmada sorumlu olan enzimlerin ve proteinlerin yapısına katılarak biyolojik olayların düzeninin korunmasını sağlar. Ancak, vitamin yetersizliği ya da aşırı alımı durumlarında metabolizmada bozukluklar ortaya çıkabilir. Eğer vitamin yeteri kadar alınmazsa ya da ihtiyaç seviyesine göre fazla miktarda alınırsa metabolizmada birtakım bozukluklar kendini gösterir. Özellikle, A ve D vitaminleri doz aşımı durumlarında vücut tarafından tolere edilemeyebilir ve ciddi bozukluklara, hatta ölümlere sebep verebilir (Akkoyun, Bayramoğlu ve diğ. 2014). A, D, E ve K vitaminleri yağda eriyebilen vitaminler grubundadırlar. Aynı zamanda vücut içerisinde sentezlendikten sonra hedef dokuya taşınabilmesi ve geribildirim (feedback) mekanizmaları sayesinde dolaşım sistemi içerisinde düzey tespitlerinin yapılabilmesinden dolayı hormon olarak da kabul edilmektedirler (Avşar ve Şahiner 2020).

D vitamini, hormon benzeri işlevleri bulunan bir grup steroldür. Yağda çözülen vitamin grubundan olan D vitamini, aynı zamanda kalsiferol olarak da bilinmektedir. İki ana formu D₂ ve D₃ vitaminidir (Akkoyun, Bayramoğlu ve diğ. 2014). D vitamini; ergokalsiferol (D₂) büyük ölçüde insan yapımı ve gıdalara eklenmiş formda iken, kolekalsiferol (D₃) insanların derisinden 7-dehidrokolesterolden ya da hayvan bazlı gıda tüketimi ile vücutta sentezlenmektedir. Hem D₃ hem de D₂ ticari olarak sentezlenmektedir. D₂ ve D₃ formları yalnızca yan zincir yapılarında farklılık göstermektedir ama bu farklılık metabolizmayı (aktivasyonu) etkilememektedir. Her iki form da prohormon olarak işlev göstermektedir. Ancak, yapılan hayvan deneyi çalışmaları sonucunda D₂ vitamininin D₃ vitamininden daha az toksik etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Ross, Taylor ve diğ. 2011).



Şekil 2.1. Ergokalsiferol (D₂) ve Kolekalsiferol (D₃) yapısı

D vitamini kemik sağlığı için çok önemlidir (Atay ve Bereket 2012). Kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) seviyelerinin düzenlenmesinde, otoimmünite, alerji, kanser, Tip 1 diabetes mellitus (DM), depresyon, kardiyovasküler hastalıklar, gebelik komplikasyonları gibi hastalıklarda birtakım görevler almaktadır (Avşar ve Şahiner 2020). D vitamini eksikliği ve yetersiz gün ışığı ile gelişen raşitizm önemli sağlık sorunlarından (Atay ve Bereket 2012).

21. yüzyılın sağlık teknolojisi ve beslenme sanayisinin gelişmişliğine rağmen D vitamini eksikliği bir halk sorunu boyutuna gelmektedir (Acarkan 2015). D vitamininin sadece kemik gelişimi ile ilgili olduğu bilgisi uzun yıllar kabul görmüştür. Ancak, D vitamini kemik gelişimine ek olarak romatoid artrit, kanser, astım, diyabet gibi kronik hastalıkla ilişkili olduğunu gösterir bilgilerin bulunmasında kaynaklı, rutin sağlık taramalarına D vitamini düzeyinin değerlendirilmesi de eklenmiştir (Baysal 2014). D vitamini eksikliğinin sentez, emilim ve metabolizma yönünden etkileyen birçok biyolojik faktör bulunmaktadır. Bunlar:

- Cildin pigmentasyonu
- Genetik çeşitlilik

- Yaşlılık
- Kronik Böbrek Hastalığı
- Yağ Malabsorbsiyon Sendromları
- İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları
- Obezite
- Magnezyum eksikliği (Acarkan 2015).

D vitamininin büyük bir çoğunluğu güneş ışınlarının etkisiyle sentezlenmektedir. Ek olarak D vitamini içeriği yüksek olan besinler ya da D vitamini içeriği açısından zenginleştirilmiş besinler ile beslenmek de D vitamini düzeyini dengeleyici rol oynamaktadır. Ancak, bireyler günlük olarak ihtiyaç duydukları D vitaminini besinler yoluyla karşılayamamaktadır (Akkoyun, Bayramoğlu ve diğ. 2014).

Vücutta bulunan D vitamininin yeterli olup olmadığını gösteren en iyi parametre karaciğerde depolanmış olan 25-hidroksi kolekalsiferoldür ve bunun normal olarak kabul edilen değeri 30-110 ng/mL' dir (Acarkan 2015). T.C. Sağlık Bakanlığı D vitamini eksikliğini önlenmesi için bebeklik döneminde beslenme biçimine bakılmaksızın bütün yeni doğan bebeklere doğduğu ilk günden itibaren 400 IU/gün D vitamini ağızdan verilmesini önermektedir. Bir yaş sonrası dönem için ise 600 IU/gün olacak şekilde alınması gerektiğini ancak, bu ihtiyacın besinler ya da ağızdan D vitamini suplementasyonu ile sağlanabileceğini bildirmektedir. 70 yaşını geçmiş bireylerde ise tavsiye edilen D vitamini 800 IU/gün' dür (Sağlık Bakanlığı Bilim Kurulu Rehberi 2018). D vitamini eksikliğini tedavisi belirlenen miktarlar; çocuklarda 2000 IU/gün ya da 50000 IU/hafta (6 hafta), erişkinlerde 6000 IU/gün ya da 50000 IU/hafta (8 hafta), sistemik hastalığı olan bireylerde 6000-10000 IU/gün şeklinde önerilmektedir (Acarkan 2015).

2.4. D Vitamini ve Kardiyovasküler Sağlık İlişkisi

D vitamini ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişki çokça araştırılan konular arasındadır. Scragg R, yaptığı çalışmalar ile kardiyovasküler hastalıklardan dolayı ölümün mevsimsel olarak değişim gösterdiğini ve ultraviyole B ışınlarının bu hastalıkta pozitif ve koruyucu etkisinin bulunduğunu belirtmiştir (Scragg R. 1981). Gözlemsel çalışmalar, meta-analizler ve girişimsel çalışmalar, hipotansiyon ve

kardiyovasküler hastalıklar ve risk faktörlerinin D vitamini eksikliği ile ilişkili olduğunu belirtmektedir (Yavuz, Mete ve diğ. 2014).

Hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların gözlemsel çalışmalarından elde edilen bilgilere göre D vitamini düşüklüğünün bu hastalıklar ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Randomize yapılan kontrollü çalışmalarda ise D vitamini takviyesi yapılmasının kardiyovasküler sistemi olumlu yönde etkilemeyeceği belirtilmiştir (Avşar ve Şahiner 2020).

Qian ve arkadaşlarının kalpte miyokardiyal I/R hasarına karşı koruyuculuğunu araştırmak için yaptıkları deneyde, D vitamininin enfarktüs alanlarını azaltarak miyokard hasarını önemli derecede hafiflettiğini ve kalp fonksiyonu açısından önemli derecede onarıcı etkiye sahip olduğunu belirtilmiştir. Özellikle artmış miyokardiyal kontraktilite ve izole kalplerde artan kan akışı olarak bu durum kendini göstermektedir (Şekil 2.2). Ayrıca bu deneylerde sıçan serumlarında ve izole kalp dokularında inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azaltmış. Kısaca bu çalışma, D vitaminin inflamasyon kanallarını baskılayarak miyokard hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğunu göstermiştir. (Qian, Zhu ve diğ. 2019).

Kardiyovasküler Sistemde D vitamininin Etkisi		
Miyokard Üzerine	Damarlar Üzerine	Kardiyovasküler Risk Faktörleri Üzerine
<ul style="list-style-type: none"> • Antihipertrofik etki • Kalsiyum akımının modülasyonu ve kontraktilite • Renin süpresyonu • Ekstrasellüler matriks döngüsünün modülasyonu 	<ul style="list-style-type: none"> • Antiaterosklerotik etki • Vasküler kalsifikasyonun inhibisyonu • Endotel fonksiyonlarının iyileşmesi 	<ul style="list-style-type: none"> • Renoprotektif etki • Antihipertansif etki • Antidiyabetik etki • Parathormon süpresyonu • Antiinflamayuvur etki • Antioksidatif etki

Şekil 2.2. D vitamininin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkisi (Kıdır 2013)

2.5. Troponin T

Kardiyak troponinler, protein türünden olup kalp kasının yapısal ve fonksiyonel olarak düzenlenmesinde görev almaktadır. Kardiyak troponin grubundan olan Troponin T, I ve C (cTnT, cTnI, cTnC), aktin ve miyozin arasındaki ilişkiyi kalsiyum ile düzenlemekte ve ince filamentlerde bulunmaktadır (Habif 2003).

cTnC düz kasta bulunan Troponin modellerine benzerdir, ancak cTnT ve cTnI'nın genetik olarak farklı kodlanmasından dolayı iskelet kası troponinlerinden tamamen farklıdır. Bu farklılıklarından kaynaklı (renal disfonksiyon tanılı hasta grupları hariç) cTnT ve cTnI kardiyak olarak özgüllüğe sahip olup, miyokard hasarı sırasında yüksek miktarı ile miyokard hasarını gösterme konusunda duyarlılıkları yüksektir (Çelebi, Diker, Aydoğdu 2008). Kardaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada cTnT' si yüksek olan hastalarda kardiyak tutulumun daha belirgin bir şekilde gözlemlendiği tespit edilmiştir (Kardaş, Kardaş, Bak ve diğ. 2019).

Miyokard dokusunda iskemi, infarkt, travma, toksik hasar veya inflamasyon nedeniyle meydana gelen hasar sonucunda, periferik kanda kreatin kinaz düzeyleri normal seyrederken kardiyak troponin seviyeleri yüksek olarak saptanmıştır. Bu nedenden dolayı birçok kalp hastalığının tanısında biyokimyasal belirteç olarak önerilmektedir (Çelebi, Diker, Aydoğdu 2008).

2.6. Malondialdehid (MDA)

Malondialdehit (MDA), lipidlerin ROS ile oksidasyonuyla oluşan sekonder peroksidasyon ürünlerindedir (Leon, Borges 2020). MDA biyokimyada çok sık kullanılan parametrelerden biridir. Lipit peroksidasyonu ve oksidatif stresin ölçümünde çok sıklıkla kullanılmaktadır (Tsikas 2017).

Bir başka deyişle, lipid peroksidasyon sürecini bir organizmada serbest radikaller oluşturur ve MDA, hücrelerde çoklu doymamış yağ asitleri peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. Serbest radikallerdeki bir artış, MDA' nın aşırı üretimine neden olur (Gawel, Wardas ve diğ. 2004). MDA düzeyi, kanserli hastalarda oksidatif stresin ve antioksidan durumun bir belirteçidir (Romuk, Wojciechowska ve diğ. 2019). KVH, lipit yetersizliği ve diabetes mellitus gibi hastalıklarla da ilişkilidir (Boarescu, Pop ve diğ. 2022)

3. MATERYEL VE METOD

3.1. Çalışmaya Hazırlık ve Alınan İzinler

Çalışmamız için gerekli evraklar (başvuru formu, başvuru dilekçesi ve taahhütname) Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 11.09.2022 tarihli T2022-1153 sayılı onayı ile onay sürecimizi başlattık.

Çalışmamızda kullandığımız sıçanlar Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Sıçanlar 12 saat ışık ve 12 saat karanlık döngüsü ile % 60-70 nem ve 20-24 °C oda ısısı koşullarını sağlayan bir odada kafeslerde barındırılmıştır. Denekler, günlük içme suyu ve standart sıçan yemi ile beslenmiştir.

3.2. Deney Hayvanları Genel Özellikleri ve Grupların Oluşturulması

Çalışma 24 adet dişi Spraque – Dawley cinsi sıçan kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sıçanların ağırlıkları ölçüldükten sonra rastgele olacak şekilde 4 gruba ayrılarak işaretlenmişlerdir.

- **Kontrol Grubu (n=6):** Overektomi işleminde yapılan cerrahi insizyonun sham uygulaması yapılmıştır ve 1. 8. ve 15. günlerde subkutan serum fizyolojik verilmiştir. 28. gün 60 dk' lık iskemi ve sonrasında 120 dk' lık reperfüzyon uygulamasının ardından deney hayvanları sakrifiye edilmiştir.
- **D Vitamini Grubu (n=6):** Overektomi işleminde yapılan cerrahi insizyonun sham uygulaması yapılmıştır ve 1. 8. ve 15. günlerde subkutan 1000 IU D vitamini verilmiştir. 28. gün 60 dk' lık iskemi ve sonrasında 120 dk' lık reperfüzyon uygulamasının ardından deney hayvanları sakrifiye edilmiştir.
- **Overektomi Grubu (n=6):** Bilateral ovaryumları cerrahi olarak alınmıştır ve 1. 8. ve 15. günlerde subkutan serum fizyolojik verilmiştir. 28. gün 60 dk' lık iskemi ve sonrasında 120 dk' lık reperfüzyon uygulamasının ardından deney hayvanları sakrifiye edilmiştir.
- **Overektomi + D Vitamini Grubu (n=6):** Bilateral ovaryumları cerrahi olarak alınmıştır ve 1. 8. ve 15. günlerde subkutan 1000 IU D vitamini verilmiştir. 28. gün 60 dk' lık iskemi ve sonrasında 120 dk' lık reperfüzyon uygulamasının ardından deney hayvanları sakrifiye edilmiştir.

3.3. Cerrahi Protokolün Uygulanışı

Tüm deneklere cerrahi işlem öncesinde genel anestezi uygulaması yapılmıştır. Kontrol ve D vitamini gruplarına overektomi işlemi sonrasında yapılan cerrahi insizyonun sham uygulaması yapılmıştır. Cerrahi işlemi takiben bu iki gruba 1. 8. ve 15. günlerde subkutan serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Diğer iki grup olan overektomi ve overektomi + D vitamini gruplarının ise cerrahi olarak bilateral ovaryumları alınmıştır. Yapılan bu cerrahi işlemi takiben overektomi ve overektomi + D vitamini gruplarına da 1. 8. ve 15. günlerde subkutan 1000 IU D vitamini verilmiştir. Tüm deney gruplarına 28. gün 60 dk' lık iskemi ve ardından 120 dk' lık reperfüzyon uygulaması yapılmıştır. Tüm gruplardan 28. günde kan ve kalp doku örnekleri alınarak deney hayvanları kurban edilmiştir ve böylece deney süreci tamamlanmıştır.

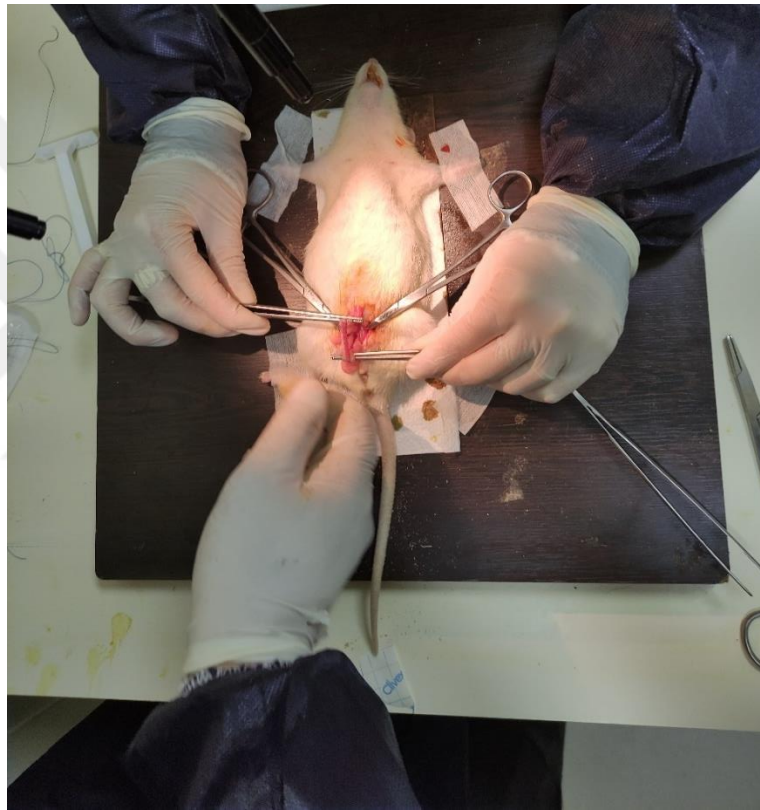
3.3.1. Sham Overektomi

Kontrol ve D vitamini gruplarındaki denekler 50mg/kg İ.M. ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar®, Parke Davis) ve 10 mg/kg Xylazine intraperitoneal enjeksiyonu ile genel anestezi uygulanmıştır. Abdominal tüyler tıraşlandıktan sonra, bölge povidon iyot çözeltisi ile temizlenmiş ve 2 cm'lik bir insizyon yapılmıştır. Abdominal kaviteyi çevreleyen kaslar (m.obliques externus abdominis, m.obliques internus abdominis) ve abdominal kaviteyi çevreleyen membran (periton) açıldıktan sonra, omentum ekarte edilmiştir. İç organlara herhangi bir müdahale yapılmaksızın steril atravmatik cerrahi iplik (Maxon 4/0 Synthetic Absorbable) ile dikilmiştir. Cilt ise 3/0 ipek ile dikilmiş ve Pavidon iyot çözeltisi ile yara dezenfeksiyonu yapılarak sham operasyonu tamamlanmıştır.

3.3.2. Overektomi

Overektomi ve Overektomi + D vitamini gruplarındaki denekler 50mg/kg İ.M. ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar®, Parke Davis) ve 10 mg/kg Xylazine intraperitoneal enjeksiyonu ile genel anestezi uygulanmıştır. Abdominal tüyler tıraşlandıktan sonra, bölge povidon iyot çözeltisi ile temizlenmiş ve 2 cm'lik bir insizyon yapılmıştır. Abdominal kaviteyi çevreleyen kaslar (m.obliques externus abdominis, m.obliques internus abdominis) ve abdominal kaviteyi çevreleyen membran (periton) açıldıktan sonra, omentum ekarte edilerek ovaryumlara ulaşılmıştır (Bkz. Şekil3.1). Proksimalde mesoovaryumdan, distalde ise cornu uterustan 4/0 monofilament (Maxon 4/0

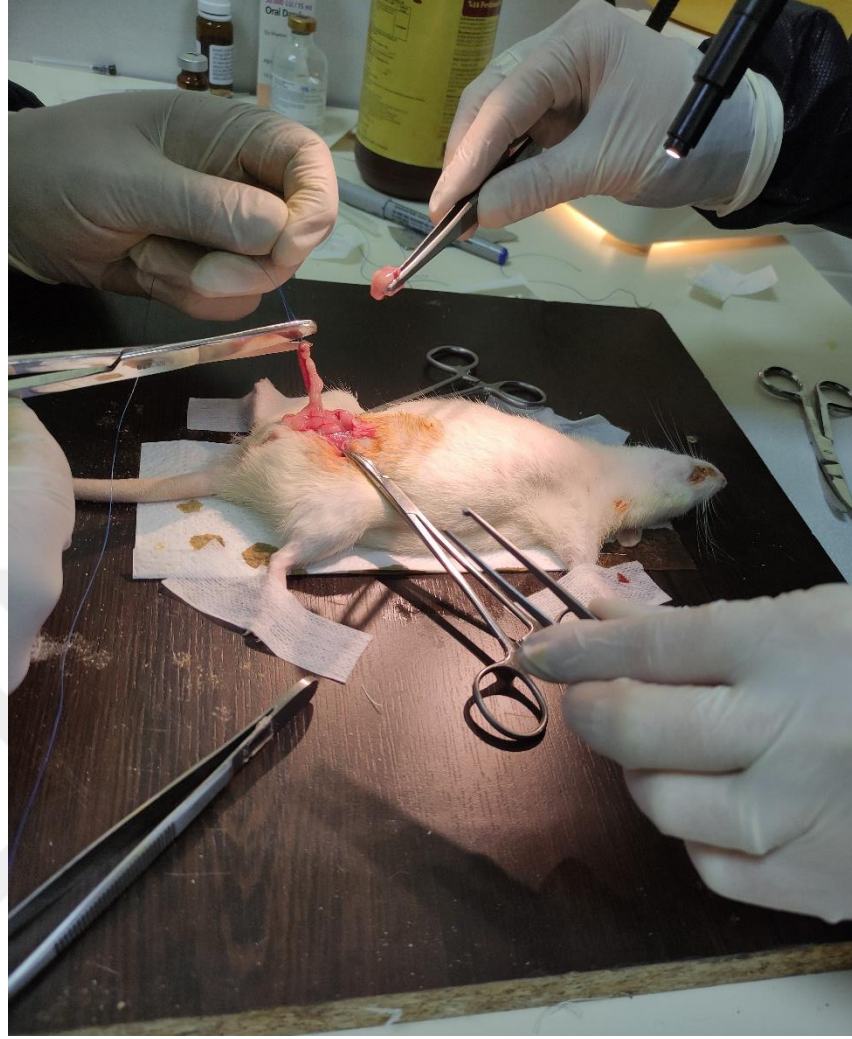
Synthetic Absorbable, Polyglyconate) cerrahi dikiş ipi ile bağlanmıştır (Bkz. Şekil 3.2). Overler bilateral olarak bu iki bağ arasından kesilerek uzaklaştırılmıştır (Bkz. Şekil 3.3). Kanama kontrolü yapılarak m.obliques externus abdominis ile m.obliques internus abdominis ve cilt altı dokular 4/0 monofilament (Maxon 4/0 Synthetic Absorbable, Polyglyconate) cerrahi dikiş ipi ile suture atılarak dikilmiştir. Cilt ise 3/0 ipek ile dikilmiştir ve Pavidon iyot çözeltisi ile yara dezenfeksiyonu yapılarak operasyonu tamamlanmıştır.



Şekil 3.1. Abdominal kaviteyi çevreleyen membran (periton) açılıp omentum ekarte edilmiş ve ovaryumlara ulaşılmıştır.



Şekil 3.2. Proksimalde mesoovaryumdan, distalde ise cornu uterustan 4/0 monofilament cerrahi dikiş ipi ile bağlanmıştır.



Şekil 3.3. Overler bilateral olarak bu iki bağ arasından kesilerek uzaklaştırılmıştır.

3.3.3. İnfrarenal Abdominal Aorta İskemi / Reperfüzyonu

Tüm sıçanlara tiyopental sodyum (Pental Sodyum Flakon, İ.E. ULAGAY, İstanbul, Türkiye) (60 mg/kg, i.p.) verilerek anestezi işlemi yapılmıştır. Anesteziyi takiben sıçanlar bir levha üzerinde sırtüstü pozisyonda yatırılmıştır (Bkz. Şekil 3.4) ve gerekli oldukça ilave anestetik ve sıvı kayıp durumlarına karşı serum fizyolojik vermek üzere lateral kuyruk veni kanüle edilmiştir. Cilt aseptik olarak hazırlandıktan sonra orta hattın laparotomi işlemi yapılmıştır. Bağırsaklar ıslak gazlı bez aracılığı ile sola doğru çekilerek abdominal aortaya ulaşılmıştır (Bkz. Şekil 3.5). Aortanın sağ ve sol böbrek arterlerinin altındaki bölgesi izole edilerek, İnfrarenal abdominal aortaya

travmatik olmayan bir mikrovasküler klemp yerleştirilmiş (Bkz. Şekil 3.6) ve 60 dakika boyunca oklüzyonu sağlanmıştır. Sıvı dengesini korumak amaçlı, 10 mL ılık serum fizyolojik peritoneal boşluğa verilmiştir ve ısı/sıvı kaybını en aza indirmek amacıyla batın insizyonu kapalı bir şekilde tutulmuştur. Oklüzyon süresinin bitimiyle birlikte takılı bulunan klemp çıkartılmış ve 120 dakika boyunca reperfüzyon işlemi sağlanmıştır.



Şekil 3.4. Anestezi işlemi takiben sıçanlar levha üzerinde sırtüstü pozisyonda yatırılır.



Şekil 3.5. Bağırsaklar ıslak gazlı bez aracılığı ile sola doğru çekilerek abdominal aortaya ulaşılır.



Şekil 3.6. Aortanın sağ ve sol böbrek arteri altındaki bölge izole edilir ve İnfrarenal abdominal aortaya travmatik olmayan mikrovasküler klemp yerleştirilir.

3.4. Doku ve Serum Örneklerinin Homojenizasyonu ve Serum Eldesi

Reperfüzyon süresinin bitiminde tüm sıçanlardan kardiyak ponksiyon ile kan örneği alınmıştır. Alınan kan örnekleri düz kan tüplerine konulmuş ve Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarı'nda 20 dk 4000 rpm' de santrifüj işlemi ile serumları ayrıldıktan sonra -80°C ' de ependorf içinde saklanmıştır.

Kan örneği alındıktan sonra tüm hayvanlarda servikal dislokasyon ile ötenazi uygulanmış ve kalp dokusu ayrılarak -80°C ' de gerekli biyokimyasal analizler yapılana kadar saklanmıştır.

Deneklerden alınan serum ve kalp dokusu örnekleri protein konsantrasyonları ölçümü yapılacağı güne kadar -80°C ' de muhafaza edilmiştir. Dokularda bulunan kan gibi çeşitli kalıntılar fosfat tampon çözeltisiyle (PBS Ph 7,4) temizlenip doku örneklerinin hassas terazide tartımı yapılarak kaydedilmiştir. Daha sonra kalp dokuları kendilerinin 9 katı hacmindeki tampon çözeltisiyle homojenize edildi ve dokular 20 dk boyunca 4000 rpm' de santrifüj edildi. Santrifüj edilen homojenizatların, aynı gün içerisinde analiz işlemi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca dolapta saklanan serum örnekleri de oda ısısına getirilerek analiz işlemi tamamlanmıştır.

3.5. Troponin T Ölçüm Yöntemi

Steril şartlarda elde edilen kan serumu ve kalp dokusu örnekleri, uygun işlem adımlarından geçirildikten sonra ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) testine tabi tutulmuştur. Bu ölçme işlemi için ticari bir ELISA kit (96 testlik) kullanılmıştır.

Örnekler, kit protokolüne göre hazırlanmıştır. ELISA plağında bulunan mikrotitre deliklerine, standartlar ve örnekler pipetle eklenmiştir. Protokolde belirlenmiş olan miktarlarda antikör (anti-troponin T antikörü) eklenmiştir. Antikörler, örneklerde bulunan Troponin T' ye özgü olarak bağlanır ve bu sayede hedef molekül spesifik olarak yakalanır. Bağlanan antikörlerle karmaşıklaşmış plakalar, yıkanarak bağlanmış maddelerden ayrıştırılır. Bu işlemi takiben, enzimatik reaksiyon için özel bir substrat eklenir ve bu substrat sayesinde antikör-antijen kompleks yapısının bulunduğu bölümlerde belirgin bir şekilde renk değişimleri oluşturur. Bu renk değişimleri ise bir spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Bu ölçüm, Troponin T düzeyini ölçmek

için temel bir gösterge olmuştur. ELISA kit içeriğindeki standart eğri kullanımıyla, renk değişiminden elde edilen yoğunluk değerleri Troponin T konsantrasyonlarına dönüştürülmüştür.

3.6. Malondialdehid (MDA) Ölçüm Yöntemi

Malondialdehid (MDA) düzeyleri ELİSA yöntemleriyle ölçülmüştür. 96 testilik ELİSA test kiti kullanılmıştır ve kitin ölçüm aralığı: 0,156 -10 ng/L' dir. Kan serumu ve kalp dokusu örnekleri, kitin talimatlarına uygun şekilde hazırlanmıştır. Kitin içerisinde bulunan standartlar, farklı MDA konsantrasyonlarını temsil etmektedir ve bu standartlar kalibrasyon eğrisini oluşturmaktadır. Düşük orta ve yüksek seviyelerde kontrol numunelerinin bulunması, ölçümlerin doğruluğunu kontrol etmek için kullanılmaktadır. Standartların belirlenmiş miktarları deliklere eklendi. Çalışma örnekleri, standartlar ve kontroller deliklere yerleştirildi. Numuneler ve standartlar, antikorlarla birlikte bir süre inkübe edildi. Bu süreçte, MDA ile antikorlar arasında spesifik bir reaksiyon gerçekleştirir. İnkübasyon sürecini takiben plaka yıkandı ve bağlanmamış maddeler uzaklaştırıldı. Daha sonra ise renk reaksiyonu oluşturacak ikinci bir antikor eklendi. Bu antikor, MDA ile kompleks oluşturan ilk antikorla reaksiyona girdi. Yeniden yıkama işlemi uygulanan plakaya substrat eklendi ve renk değişikliğine neden olan bir enzimatik reaksiyon gerçekleşti. Renk değişikliği spektrofotometre ile ölçülerek, MDA konsantrasyonunu belirlemek için kullanıldı.

3.7. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analizler SPSS 25.0 programı ile gerçekleştirilecek olup, gruplar arası kıyaslamalar One Way Anova varyans analizini takiben post-hock test olarak Tukey testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Kalp dokusunda ve serum örneklerinde meydana gelen biyokimyasal MDA ve Troponin T değişiklikleri arasındaki ilişki korelasyon testleri kullanılarak değerlendirilmiş ve normal dağılıma uymayan veriler için Kruskal – Wallis Testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Grafiklerde;

$p < 0,05$ için *, $p < 0,01$ için ** ve $p < 0,001$ için ise *** işareti kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Deneysel Hayvanların Tartım Sonuçları

Çalışmada kullanılan deney hayvanları, deney süreci içerisinde belirli aralıklara titiz bir şekilde tartılmış ve not alınmıştır. Her deney grubu ilk enjeksiyonu ile başlayarak, her enjeksiyon sırasında ve iskemi / reperfüzyon cerrahisi öncesinde tartımları yapılarak kayıt altına alınmıştır.

Tablo 4.1. Tüm grupların enjeksiyon ve iskemi reperfüzyon cerrahisi uygulanmaları sırasındaki ağırlıklarına göre dağılımı (Ort ± SS)

	Kontrol	D Vitamini	Overektomize	D vitamini + Overektomize
Birinci Enjeksiyon (gr)	215,8 ±7,468	222 ±8,367	201,7 ±11,42	202,3 ±11,27
İkinci Enjeksiyon (gr)	225,5 ±11,88	225,7 ±7,257	217 ±11,42	218 ±9,879
Üçüncü Enjeksiyon (gr)	235 ±12,36	231,5 ±8,019	232,8 ±10,42	234,3 ±8,406
İskemi / Reperfüzyon (gr)	240,5 ±15,36	236,2 ±9,283	245 ±12,87	247,5 ±19,17

4.2. Troponin T (TnT) Değerleri

Troponin T, kalp kasının hasar görmesi durumunda kanda artan bir protein olup, kardiyak durumu değerlendirmek için önemli bir biyobelirteçtir. Bu çalışmada, temel odak noktalarından biri kan serumu ve kalp dokusu örneklerinin Troponin T düzeyinin belirlenmesidir ve bu amaçla Troponin T değerlerini belirlemek için ELISA tekniği kullanılmıştır.

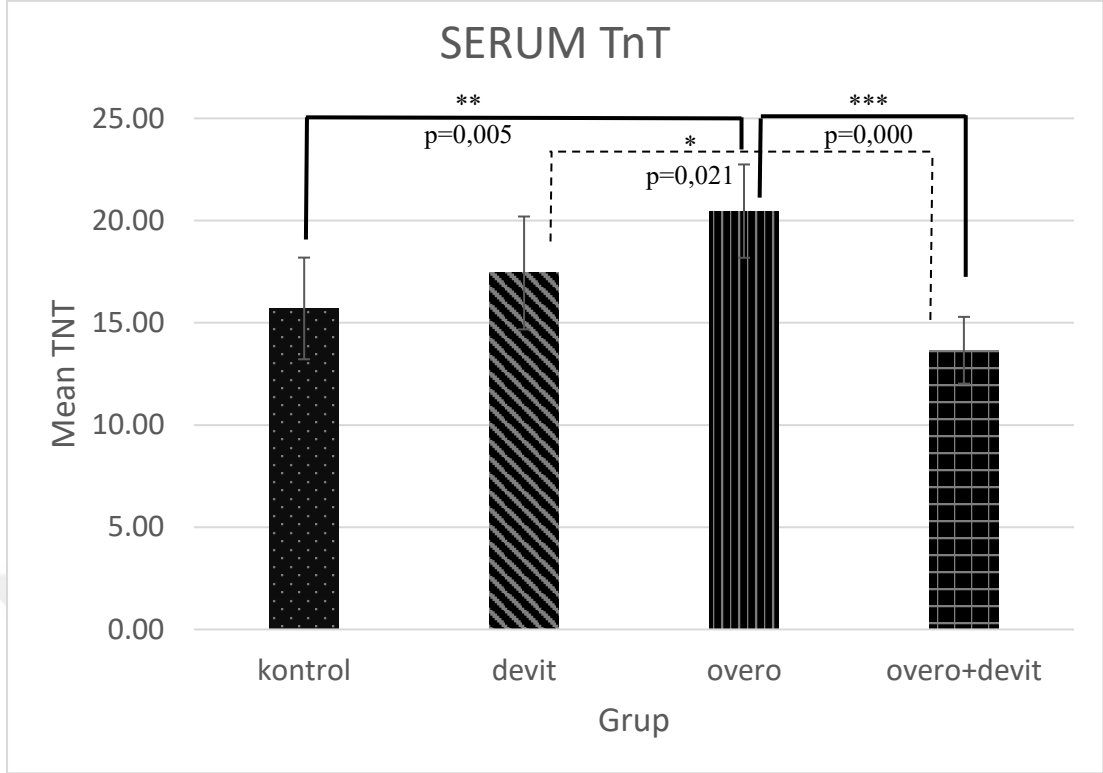
Deney süresi boyunca, deney hayvanlarının serum ve kalp Troponin T düzeyleri özenle ölçülmüş ve not edilmiştir. Bu değerler, hayvanların kardiyak sağlıklarındaki değişimleri ve potansiyel biyolojik tepkileri değerlendirmek için önemli bir veri çıktısı oluşturacaktır.

Grupların serum Troponin T düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri *Tablo 4.2* ve kalp Troponin T düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri *Tablo 4.3*' de gösterilmiştir. Post Hoc Tukey testine göre gruplar arasındaki kıyaslama değerleri ise *Tablo 4.4*' da belirtilmektedir.

Serum Troponin T düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması sonucunda kontrol grubuna göre overektomize grubun Troponin T değerleri anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p=0,005$). D vitamini grubu ile D vitamini + Overektomize grup arasındaki kıyaslamaya göre ise istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,021$). Overektomize ve D vitamini + Overektomize gruplar arasında ise istatistiksel olarak çok yüksek anlamlılık tespit edilmiştir ($p=0,000$). Ancak, kalp Troponin T düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırma sonuçlarında ise bir anlamlılık tespit edilememiştir (Bkz. *Tablo 4.4*).

Tablo 4.2. Serum Troponin T Düzeyinin Gruplardaki Ortalaması (pg/ml)

	Ortalama
Kontrol	15,7024 ± 2,003
D Vitamini	17,4372 ± 2,223
Overektomi	20,463 ± 1,839
Overektomi + D Vitamini	13,656 ± 1,556

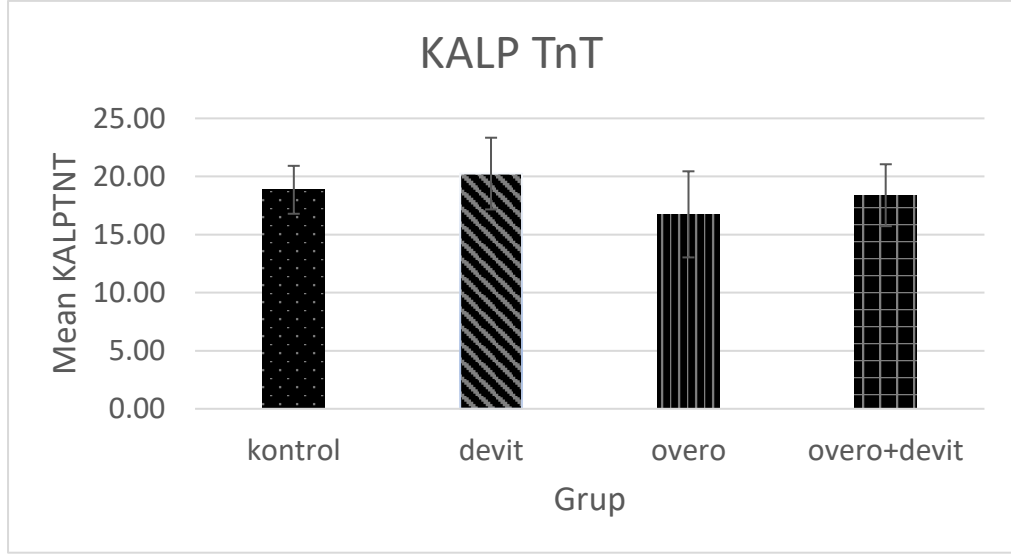


Şekil 4.1. Serum Troponin T Düzeylerinin Grafiklerle Gösterilmesi (Sütunlar ortalamayı, çubuklar standart sapmayı göstermektedir.

(Serum TnT verilerine göre, overektomize grup ile D vitamini + overektomize grup arasındaki fark istatistiksel olarak son derece anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$)).

Tablo 4.3. Kalp Troponin T Düzeyinin Gruplardaki Ortalaması (pg/ml)

	Ortalama
Kontrol	18,850 ± 1,662
D Vitamini	16,738 ± 2,985
Overektomi	20,248 ± 2,485
Overektomi + D Vitamini	18,385 ± 2,540



Şekil 4.2. Kalp Troponin T Düzeylerinin Grafiklerle Gösterilmesi (Sütunlar ortalamayı, çubuklar standart sapmayı göstermektedir.)

(Gruplar arasında yapılan kıyaslamada istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır.)

Tablo 4.4. Serum ve Kalp Troponin T düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımları

	1. Grup	2. Grup	p Değeri	Anlamlılık
SERUM TNT	Kontrol	D vitamini	0,491	-
		Overektomi	0,005	**
		Overektomi + D Vitamini	0,317	-
	D Vitamini	Overektomi	0,093	-
		Overektomi + D Vitamini	0,021	*
		Overektomi + D Vitamini	0,000	***
KALP TNT	Kontrol	D vitamini	0,808	-
		Overektomi	0,544	-
		Overektomi + D Vitamini	0,989	-
	D Vitamini	Overektomi	0,150	-
		Overektomi + D Vitamini	0,608	-
		Overektomi + D Vitamini	0,694	-

4.3. Malondialdehid (MDA) Değerleri

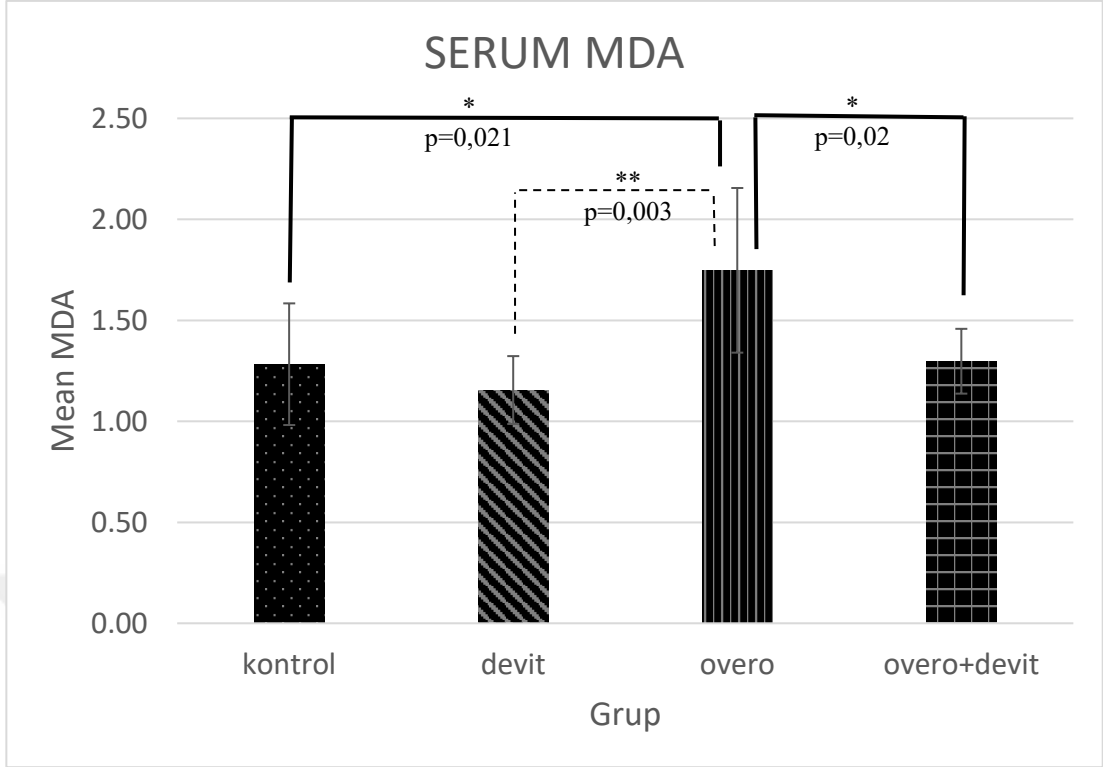
Çalışmanın bir diğer önemli yönü, hücrel oksidatif stresin göstergesi olan MDA düzeylerinin belirlenmesidir. MDA, hücre zarlarındaki lipid peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan bir belirteçtir ve hücrel hasarın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Deney boyunca, deney hayvanlarının doku homojenatlarından elde edilen örneklerdeki MDA düzeyleri ölçülmüştür.

Grupların serum MDA düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri *Tablo 4.5* ve kalp MDA düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri *Tablo 4.6*' de gösterilmiştir. Post Hoc Tukey testine göre gruplar arasındaki kıyaslama değerleri ise *Tablo 4.7*' de belirtilmektedir.

Serum MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması sonucunda kontrol grubuna göre overektomize grubun Troponin T değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,021$). D vitamini grubu ile Overektomize grup arasındaki kıyaslamaya göre ise yüksek bir anlamlılık bulunmuştur ($p=0,003$). Overektomize ve D vitamini + Overektomize gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmiştir ($p=0,02$). Ancak, kalp MDA düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırma sonuçlarında ise bir anlamlılık tespit edilememiştir (Bkz. *Tablo 4.7*).

Tablo 4.5. Serum MDA Düzeyinin Gruplardaki Ortalaması (nmol/ml)

	Ortalama
Kontrol	1,283 ± 0,243
D Vitamini	1,155 ± 0,135
Overektomi	1,748 ± 0,328
Overektomi + D Vitamini	1,298 ± 0,1529

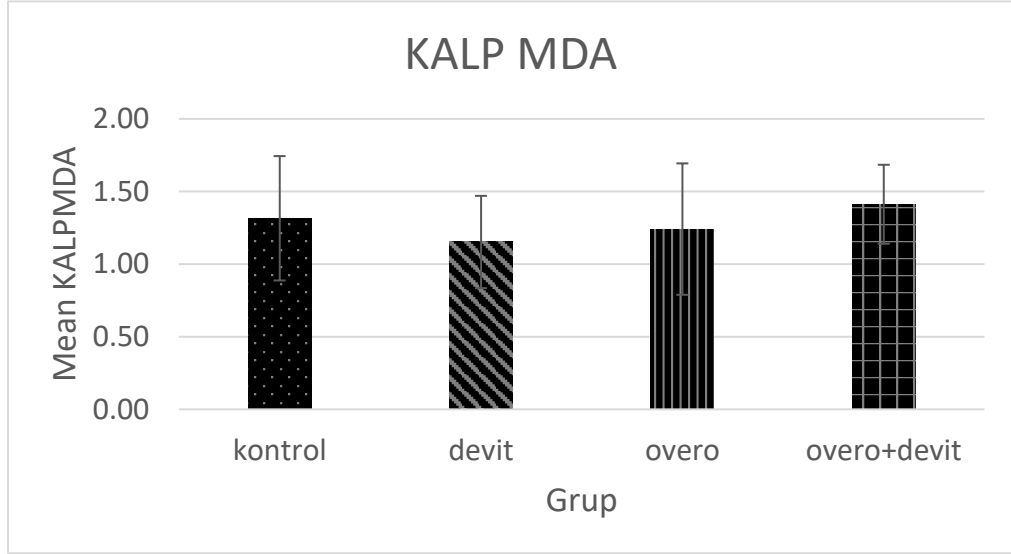


Şekil 4.3. Serum MDA Düzeylerinin Grafiklerle Gösterilmesi (Sütunlar ortalamayı, çubuklar standart sapmayı göstermektedir.)

(Serum MDA verilerine göre, overektomize grup ile D vitamini + overektomize grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,02)).

Tablo 4.6. Kalp MDA Düzeyinin Gruplardaki Ortalaması (nmol/ml)

	Ortalama
Kontrol	1,316 ± 0,345
D Vitamini	1,241 ± 0,364
Overektomi	1,152 ± 0,256
Overektomi + D Vitamini	1,412 ± 0,259



Şekil 4.4. Kalp MDA Düzeylerinin Grafiklerle Gösterilmesi (Sütunlar ortalamayı, çubuklar standart sapmayı göstermektedir.)

(Gruplar arasında yapılan kıyaslamada istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır.)

Tablo 4.7. Serum ve Kalp MDA düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımı

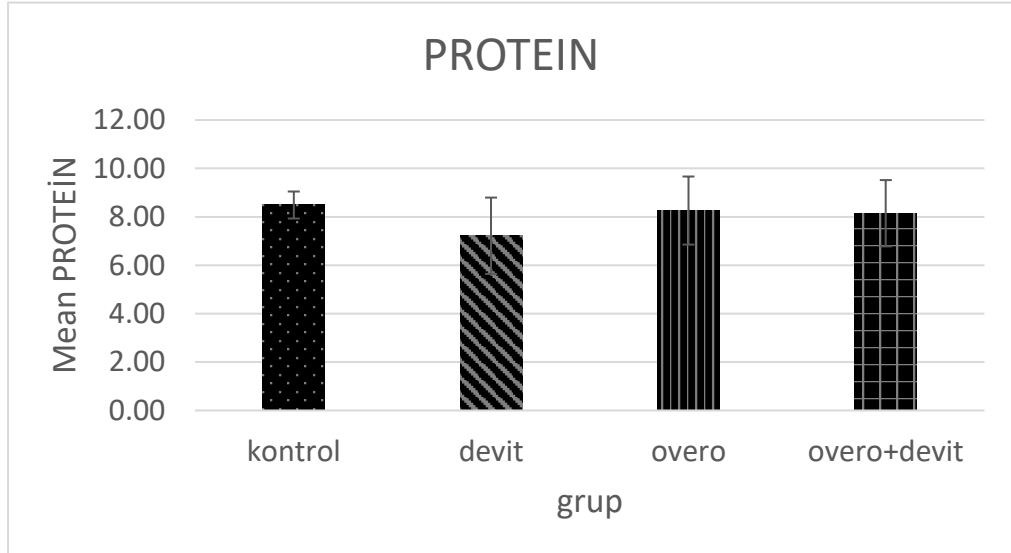
	1. Grup	2. Grup	p Değeri	Anlamlılık
SERUM MDA	Kontrol	D vitamini	0,804	-
		Overektomi	0,021	*
		Overektomi + D Vitamini	1,000	-
	D Vitamini	Overektomi	0,003	**
		Overektomi + D Vitamini	0,723	-
		Overektomi + D Vitamini	0,020	*
KALP MDA	Kontrol	D vitamini	0,835	-
		Overektomi	0,980	-
		Overektomi + D Vitamini	0,953	-
	D Vitamini	Overektomi	0,967	-
		Overektomi + D Vitamini	0,518	-
		Overektomi + D Vitamini	0,795	-

4.4. Protein Değerleri

Grupların protein düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.8’ de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Protein Değerlerinin Gruplardaki Ortalaması (mg/ml)

Ortalama	
Kontrol	8,620 ± 0,582
D Vitamini	8,260 ± 1,133
Overektomi	7,220 ± 1,269
Overektomi + D Vitamini	8,150 ± 1,305



Şekil 4.5. Protein Düzeylerinin Grafiklerle Gösterilmesi (Sütunlar ortalamayı, çubuklar standart sapmayı göstermektedir.)

(Gruplar arasında yapılan kıyaslamada istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır.)

Tablo 4.9. Protein düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımı

	1. Grup	2. Grup	p Değeri	Anlamlılık
<i>PROTEİN</i>	Kontrol	D vitamini	0,302	-
		Overektomi	0,987	-
		Overektomi + D Vitamini	0,956	-
	D Vitamini	Overektomi	0,468	-
		Overektomi + D Vitamini	0,525	-
	Overektomi	Overektomi + D Vitamini	0,998	-

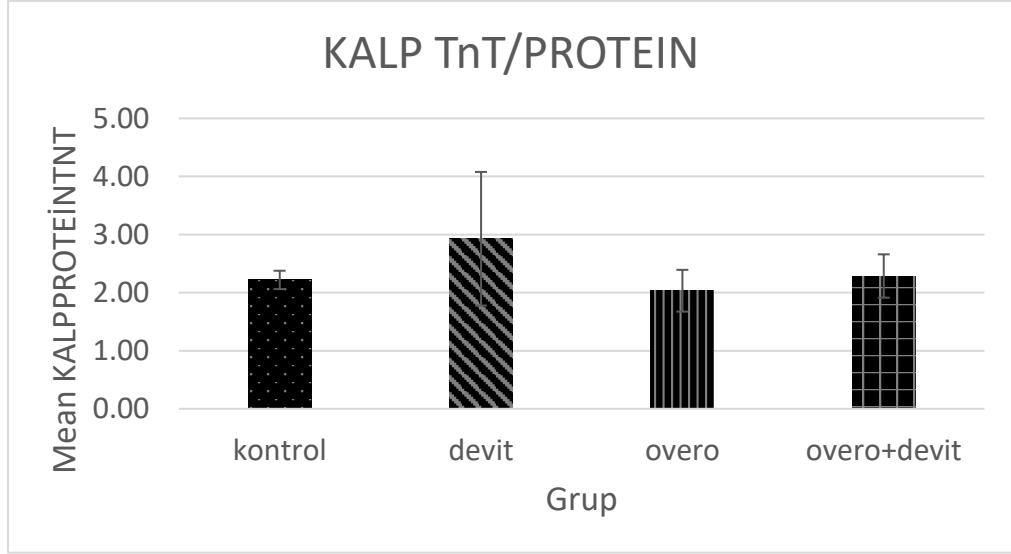
4.5. Troponin T (TnT) / Protein Değerleri

Grupların Troponin T / Protein düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.10 gösterilmiştir.

Post Hoc Tukey testine göre Troponin T / Protein değerlerinin gruplar arası yapılan kıyaslamasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Bkz. Tablo 4.11).

Tablo 4.10. Troponin T / Protein Değerleri (pg/mg)

	Ortalama
Kontrol	2,218812469 ± 0,127439
D Vitamini	2,032487 ± 0,28952
Overektomi	2,698676 ± 0,926415
Overektomi + D Vitamini	2,296295 ± 0,355177



Şekil 4.6. Troponin T/Protein Oranı Değerlerinin Grafiklerle Gösterilmesi (Sütunlar ortalamayı, çubuklar standart sapmayı göstermektedir.)

Tablo 4.11. Troponin T/Protein düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımı

	1. Grup	2. Grup	p Değeri	Anlamlılık
TROPONİN T / PROTEİN	Kontrol	D vitamini	0,166	-
		Overektomi	0,938	-
		Overektomi + D Vitamini	0,996	-
	D Vitamini	Overektomi	0,058	-
		Overektomi + D Vitamini	0,203	-
	Overektomi	Overektomi + D Vitamini	0,845	-

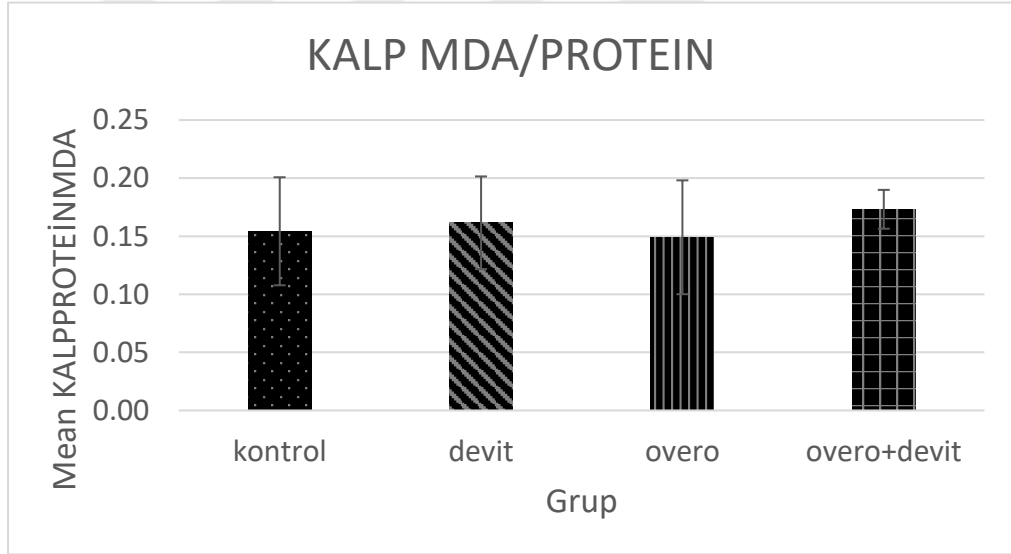
4.6. Malondialdehid (MDA) / Protein Değerleri

Grupların MDA / Protein düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.12 gösterilmiştir.

Post Hoc Tukey testine göre MDA / Protein değerlerinin gruplar arası yapılan kıyaslamasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Bkz. Tablo 4.13).

Tablo 4.12. MDA / Protein Değerleri (nmol/mg)

	Ortalama
Kontrol	1,640 ± 0,037
D Vitamini	0,398 ± 0,039
Overektomi	0,162 ± 0,032
Overektomi + D Vitamini	0,173 ± 0,016



Şekil 4.7. MDA/Protein Oranı Değerlerinin Grafiklerle Gösterilmesi (Sütunlar ortalamayı, çubuklar standart sapmayı göstermektedir.)

(Gruplar arasında yapılan kıyaslamada istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır.)

Tablo 4.13. MDA/Protein düzeylerinin gruplar arasındaki p değeri ve anlamlılık dağılımı

	1. Grup	2. Grup	p Değeri	Anlamlılık
MDA / PROTEİN	Kontrol	D vitamini	0,983	-
		Overektomi	0,994	-
		Overektomi + D Vitamini	0,762	-
	D Vitamini	Overektomi	0,924	-
		Overektomi + D Vitamini	0,930	-
	Overektomi	Overektomi + D Vitamini	0,605	-

Tablo 4.14. Yapılan ölçümlerin gruplar arasındaki dağılımı

	Kontrol	D vitamini	Overektomi	D vitamini + Overektomi
Serum TnT	15,702 ± 2,003	17,437 ±1,155	20,463 ±1,839	13,656 ±1,556
Kalp TnT	18,850 ±1,662	16,738 ±2,985	20,463 ±1,839	18,385 ±2,540
Serum MDA	1,283 ±0,243	1,155 ±0,135	1,748 ±0,328	1,298 ±0,153
Kalp MDA	1,316 ±0,345	1,187 ±0,479	1,152 ±0,256	1,412 ±0,259
Protein	8,620 ±0,582	8,260 ±1,133	7,220 ±1,269	8,150 ±1,305
TnT/Protein	2,219 ±0,127	2,032 ±0,290	2,928 ±0,926	2,286 ±0,355
MDA/Protein	0,154 ±0,037	0,149 ±0,039	0,162 ±0,032	0,173 ±0,016

Tablo 4.15. Serum TnT, Kalp TnT, Serum MDA ve Kalp MDA değerlendirmelerinin gruplar arası p değeri ve anlamlılık kıyaslaması

	1. Grup	2. Grup	p Değeri	Anlamlılık
SERUM TNT	Kontrol	D vitamini	0,491	-
		Overektomi	0,005	**
		Overektomi + D Vitamini	0,317	-
	D Vitamini	Overektomi	0,093	-
		Overektomi + D Vitamini	0,021	*
		Overektomi + D Vitamini	0,000	***
KALP TNT	Kontrol	D vitamini	0,808	-
		Overektomi	0,544	-
		Overektomi + D Vitamini	0,989	-
	D Vitamini	Overektomi	0,150	-
		Overektomi + D Vitamini	0,608	-
		Overektomi + D Vitamini	0,694	-
SERUM MDA	Kontrol	D vitamini	0,804	-
		Overektomi	0,021	*
		Overektomi + D Vitamini	1,000	-
	D Vitamini	Overektomi	0,003	**
		Overektomi + D Vitamini	0,723	-
		Overektomi + D Vitamini	0,020	*
KALP MDA	Kontrol	D vitamini	0,835	-
		Overektomi	0,980	-
		Overektomi + D Vitamini	0,953	-
	D Vitamini	Overektomi	0,967	-
		Overektomi + D Vitamini	0,518	-
		Overektomi + D Vitamini	0,795	-

Tablo 4.16. Protein, TnT/Protein ve MDA/Protein değerlendirmelerinin gruplar arası p değeri ve anlamlılık kıyaslaması

	1. Grup	2. Grup	p Değeri	Anlamlılık
PROTEİN	Kontrol	D vitamini	0.302	-
		Overektomi	0.987	-
		Overektomi + D Vitamini	0.956	-
	D Vitamini	Overektomi	0.468	-
		Overektomi + D Vitamini	0.525	-
		Overektomi + D Vitamini	0.998	-
TROPONİN T / PROTEİN	Kontrol	D vitamini	0.166	-
		Overektomi	0.938	-
		Overektomi + D Vitamini	0.996	-
	D Vitamini	Overektomi	0.058	-
		Overektomi + D Vitamini	0.203	-
		Overektomi + D Vitamini	0.845	-
MDA / PROTEİN	Kontrol	D vitamini	0.983	-
		Overektomi	0.994	-
		Overektomi + D Vitamini	0.762	-
	D Vitamini	Overektomi	0.924	-
		Overektomi + D Vitamini	0.930	-
		Overektomi + D Vitamini	0.605	-

5. TARTIŞMA

Günümüzde, iskemi/reperfüzyon hasarı, birçok kardiyovasküler olayın temelinde yatan önemli bir patofizyolojik mekanizmadır. Bu hasar, dolaşım bozukluğuna bağlı olarak organlarda gelişen ve yeniden kan akışının sağlanmasıyla ortaya çıkan bir durumu ifade eder. Özellikle overektomize sıçanlarda yapılan çalışmalar, iskemi/reperfüzyon kaynaklı kardiyak hasarın derinlemesine incelenmesi açısından önemli bir model sağlamıştır. Bu bağlamda, D vitamini gibi biyolojik olarak etkili olan maddelerin, iskemi/reperfüzyon hasarının önlenmesi veya azaltılmasında potansiyel bir koruyucu rol oynayabileceği konusundaki literatürdeki artan ilgi dikkat çekmektedir. Bu tez, overektomize sıçanlarda iskemi/reperfüzyon kaynaklı kardiyak hasarda D vitamini üzerindeki potansiyel koruyucu etkilerini inceleyerek, bu alandaki çalışmalara katkı sağlamayı amaçlamaktadır.

D vitamini genel olarak kemik gelişimi ile ilişkilendirilse dahi kardiyovasküler etkilerini de olduğu ortaya konulmaya çalışılmıştır. Uçan ve Delibaşı' nın yaptığı derlemede, az sayıda randomize kontrollü çalışma sonucunda D vitamininin kardiyovasküler etkisi değerlendirilirken, geniş randomize çalışmaların geneli D vitamininin kemik sağlığı üzerindeki etkilerini incelediğini belirtmektedir (Uçan, Delibaşı 2014).

Tokgöz ve arkadaşları yaptığı çalışma ile D vitamininin overektomize sıçanlarda iskemi/reperfüzyon hasarı üzerindeki akut etkilerini göstermeyi hedeflemiştir. İskemi/Reperfüzyon uygulamasından 30 dk önce 300000 IU D vitamini subkutan yol ile hayvanlara uygulanmıştır ve olası akut etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda D vitamini tedavisi uygulanmış gruplarda MDA seviyesi anlamlı şekilde düşük

bulunmuştur. Oksidatif hasarlarda, D vitamininin tedavi edici etkisi ortaya konulmuştur. (Tokgöz, Sipahi ve diğ. 2018).

Bizim çalışmamızdaysa serumda MDA değerlerinde benzer şekilde anlamlı bir farklılık tespit edilirken kalp MDA değerlerinde bir anlamlılık gözlemlenmemiştir (Bkz Tablo 4.7). Bunun nedeni, D vitamininin uzun etki süresine ek olarak eksik dozajda verilmesine bağlı olabileceğini düşünüldü. D vitamininin klinik uygulamaları, etkileri ve dozajlarının değerlendirilebilmesi için üzerine çalışılması gerekmektedir.

Hazar ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, overektomize sıçanlara haftada bir kez 12 hafta boyunca oral olarak 1000 IU/kg D vitamini uygulaması yapılmıştır. D vitamini verilen grupta anlamlı bir fark tespit edilmesine rağmen diğer gruplardan biri olan egzersiz kadar etkili olamamıştır. Bu nedenden dolayı, egzersizin kardiyovasküler sistem üzerinde menopozun etkilerine karşı en iyi koruyucu yöntem olduğunu savunmaktadır (Hazar, Hazar ve diğ. 2021).

Bizim çalışmamızda overektomize işlemi yapılmış gruplar kıyaslandığında serum MDA ve TnT açısından anlamlılık saptanmıştır (Bkz. Tablo 4.4 & Bkz. Tablo 4.7). Bu da D vitamininin antioksidan özelliği sayesinde oksidatif stresi azalttığı ve kardiyovasküler sağlığı desteklediğini kanıtlamaktadır. Egzersize ek olarak ya da egzersizin yapılmadığı menopoz sonrası durumlarda D vitamininin koruyucu etkisi göz ardı edilmemelidir.

6. SONUÇ

Serum Troponin T düzeylerinin gruplar arası incelenmesi sonucunda birtakım veriler elde edilmiştir. Elde edilen bu verilere göre, kontrol grubu ile overektomize grup arasında serum Troponin T düzeyleri açısından anlamlı bir fark belirlenmiştir ($p=0,005$). Benzer şekilde, D vitamini grubu ile D vitamini + Overektomize grup arasında da anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,021$). En dikkat çekici olarak, overektomize grup ile D vitamini + overektomize grup arasındaki fark istatistiksel olarak son derece anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$) (Bkz. Tablo 4.4).

Bu sonuçlar, D vitamini takviyesinin overektomi ile indüklenen değişiklikleri modüle etme potansiyeline işaret etmektedir.

Serum malondialdehit (MDA) düzeylerinin gruplar arası incelenmesi sonucunda elde edilen verilere göre birtakım bulgular saptanmıştır. Bulgulara göre, kontrol ile overektomize grup arasında serum MDA düzeyleri açısından anlamlı bir fark belirlenmiştir ($p=0,021$). Ayrıca, D vitamini grubu ile overektomize grup arasında da anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,003$). Özellikle dikkat çeken diğer bir nokta ise overektomize grup ile D vitamini + overektomize grup arasında serum MDA düzeyleri açısından anlamlı bir farkın varlığıdır ($p=0,02$) (Bkz. Tablo 4.7).

Bu sonuçlar ise D vitamini takviyesinin overektomi sonrası serum MDA düzeylerini düzeltebileceğini ve oksidatif stresin azaltılmasına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın sonuçları doğrultusunda yapılan istatistiksel analizler, gruplar arasında kalp Troponin T ve kalp MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir dağılım farkının olmadığını ortaya koymaktadır (Bkz. Tablo 4.4 & Tablo 4.7). Bu

bulgular, deneyde kalp Troponin T ve MDA değerlerinin gruplar arasında homojen olarak dağıldığını ve bu biyobelirteğlerin incelenen gruplar arasında istatistiksel anlamlılık göstermediğini yansıtmaktadır.

Çalışma kapsamında elde edilen bulgulara göre kalp Troponin T / Protein ve kalp MDA / Protein değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilememiştir.

Bulgularımız sonucunda, D vitamini takviyesinin kalp sağlığı üzerinde olumlu etkileri olabileceği ve overektomi sonrasında östrojen hormonu seviyesinin düşmesi nedeniyle artan kardiyovasküler hastalık riskini azaltabileceği düşünölmektedir.

7. KAYNAKLAR

Acarkan, T. (2015, October 1). D VİTAMİNİ.

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/barnat/issue/42340/509522>

Akkoyun, H. T., Bayramoğlu, M., Ekin, S., & Çelebi, F. (2014). D vitamini ve metabolizma için önemi. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 9(3). <https://doi.org/10.17094/avbd.05043>

Aksu, U., Güner, İ., Yaman, M. O., Erman, H., Uzun, D., Sengezer-Inceli, M., Şahin, A., Yelmen, N., Gelişgen, R., Uzun, H., & Şahin, G. (2014). Fluoxetine ameliorates imbalance of redox homeostasis and inflammation in an acute kidney injury model. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 70(4), 925–934. <https://doi.org/10.1007/s13105-014-0361-0>

Anderson, J. L., & Morrow, D. A. (2017). Acute myocardial infarction. *The New England Journal of Medicine*, 376(21), 2053–2064. <https://doi.org/10.1056/nejmra1606915>

Atay, Z. (2012). Vitamin D ve Güncel Öneriler. Makale | Türkiye Klinikleri. <https://www.turkiyeklinikleri.com/article/tr-vitamin-d-ve-guncel-oneriler-62737.html>

Ayala, P., Vivar, R., Montalva, R., Olmos, P., Meneses, M., & Borzone, G. (2018). Elastin degradation products in acute lung injury induced by gastric contents aspiration. *Respiratory Research*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0873-1>

Baysal, A. (2014, August 18). D Vitamini ve Sağlığımız.

<https://www.beslenmevediyetdergisi.org/index.php/bdd/article/view/170>

Bebek ve Çocuklarda D Vitamini Ölçümü, Profilaksisi, D Vitamini Eksikliğinin Tanımlanması ve Tedavisi, D vitamini İntoksikasyonu Konularında Sağlık Bakanlığı Bilim Kurulu Rehberi. (2018, January). Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/cocuk-ergen-sagligi-db/Programlar/D_vitamini_Rehberi.pdf

Benjamin, E. J., Muntner, P., Alonso, Á., Bittencourt, M. S., Callaway, C. W., Carson, A. P., Chamberlain, A. M., Chang, A. R., Cheng, S., Das, S. R., Delling, F. N., Djoussé, L., Elkind, M. S., Ferguson, J. F., Fornage, M., Jordan, L. C., Khan, S. S., Kissela, B. M., Knutson, K. L., . . . Virani, S. S. (2019). Heart disease and stroke statistics—2019 Update: A report from the American Heart Association. *Circulation*, 139(10).

<https://doi.org/10.1161/cir.0000000000000659>

Boarescu, P., Boarescu, I., Pop, R. M., Roşian, Ş. H., Bocşan, I. C., Rus, V., Mada, R. O., Popa, I. D., Neagu, N., Bulboacă, A. E., Buzoianu, A. D., & Bolboacă, S. D. (2022). Evaluation of oxidative stress biomarkers, Pro-Inflammatory cytokines, and histological changes in experimental hypertension, dyslipidemia, and Type 1 diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1438. <https://doi.org/10.3390/ijms23031438>

Cardiovascular diseases. (2023, February 1). WHO. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).

Cause-specific mortality 2000-2019. (n.d.). WHO.

<https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death>

Çelebi, Ö. Ö., Diker, E., & Aydoğdu, S. (2008, June 1). Clinical importance of cardiac troponins. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18765974/>

Christakos, S., Dhawan, P., Verstuyf, A., Verlinden, L., & Carmeliet, G. (2016).

Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological Reviews*, 96(1), 365–408.

<https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2015>

De Leon, J. a. D., & Borges, C. R. (2020). Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Journal of Visualized Experiments*, 159. <https://doi.org/10.3791/61122>

De Perrot, M., Liu, M., Waddell, T. K., & Keshavjee, S. (2003). Ischemia–Reperfusion–induced lung injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 167(4), 490–511.

<https://doi.org/10.1164/rccm.200207-670so>

Demirhan, İ., & Kurutaş, E. B. (2021). Kalp İskemi-Reperfüzyonunda vitaminlerin rolü. *İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14, 323–335.

<https://doi.org/10.38079/igusabder.856218>

Dorweiler, B., Pruefer, D., András, T. B., Maksan, S. M., Schmiedt, W., Neufang, A., & Vahl, C. F. (2007). Ischemia-Reperfusion injury. *European Journal of*

Trauma and Emergency Surgery, 33(6), 600–612.

<https://doi.org/10.1007/s00068-007-7152-z>

Frank, A., Bonney, M., Bonney, S., Weitzel, L., Koeppen, M., & Eckle, T. (2012).

Myocardial Ischemia reperfusion injury. *Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 16(3), 123–132.

<https://doi.org/10.1177/1089253211436350>

Gawel, S., Wardas, M., Niedworok, E., & Wardas, P. (2004). [Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker]. *PubMed*.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15765761/>

Güner, İ., Yaman, M. O., Aksu, U., Uzun, D., Erman, H., İnceli, M. Ş., Gelişgen, R.,

Yelmen, N., Uzun, H., & Şahin, G. (2014). The effect of fluoxetine on ischemia–reperfusion after aortic surgery in a rat model. *Journal of Surgical Research*, 189(1), 96–105. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2014.02.033>

HabiF, S. (2003). Kardiyak Troponinler. Makale | Türkiye Klinikleri.

<https://www.turkiyeklinikleri.com/article/tr-kardiyak-troponinler-2831.html>

Hazar, H. U., Hazar, F., Karul, A., & Demirci, B. (2021). The effects of vitamin D, fish oil and exercise on cardiovascular parameters in ovariectomized rats.

Türk Biyokimya Dergisi, 46(5), 517–523. <https://doi.org/10.1515/tjb-2021-0185>

- Kalogeris, T. J., Baines, C. P., Krenz, M., & Korthuis, R. J. (2016). Ischemia/Reperfusion. *Comprehensive Physiology*, 113–170. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160006>
- Karadaş, U., Karadaş, N., Bak, M., Serdaroğlu, E., Yilmazer, M. M., & Meşe, T. (2019). The role of cardiac troponin T in detection of cardiac damage and long term mortality in children with chronic renal disease. *Turkish Journal of Pediatrics*, 61(6), 873. <https://doi.org/10.24953/turkjped.2019.06.008>
- Kienreich, K., Grubler, M., Tomaschitz, A., & Schmid, J. (2013, April 1). Vitamin D, arterial hypertension & cerebrovascular disease. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23703334>
- Kim, E. S., & Chang, H. W. (2011). The Effects of a Single Bolus of Remifentanyl on Corrected QT Interval Change during Sevoflurane Induction. *Yonsei Medical Journal*, 52(2), 333. <https://doi.org/10.3349/ymj.2011.52.2.333>
- Kıdır, V. (2013). Cardiovascular and metabolic effects of vitamin D. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 4(3). <https://doi.org/10.5799/ahinjs.01.2013.03.0314>
- Kumar, A., Boovarahan, S. R., Prem, P. N., Ramanathan, M., Chellappan, D. R., & Kurian, G. A. (2021). Evaluating the effects of carbon monoxide releasing molecule-2 against myocardial ischemia–reperfusion injury in ovariectomized female rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 394(10), 2103–2115. <https://doi.org/10.1007/s00210-021-02129-8>

Libby, P. (2012). Inflammation in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 32(9), 2045–2051.

<https://doi.org/10.1161/atvbaha.108.179705>

Menezes, A. R., Lamb, M. C., Lavie, C. J., & DiNicolantonio, J. J. (2014). Vitamin D and atherosclerosis. *Current Opinion in Cardiology*, 29(6), 571–577.

<https://doi.org/10.1097/hco.0000000000000108>

Mokhtari, Z. (2016, August 23). Antioxidant efficacy of vitamin D.

https://jparathyroid.com/Article/JPD_20160924145139

Mokhtari, Z., Hekmatdoost, A., & Nourian, M. (2017). Antioxidant efficacy of vitamin D Open Access. ResearchGate.

https://www.researchgate.net/publication/315830569_Antioxidant_efficacy_of_vitamin_D_Open_Access

Mozaffarian, D., Benjamin, E. J., Go, A. S., Arnett, D. K., Blaha, M. J., Cushman, M., Das, S. R., De Ferranti, S. D., Després, J., Fullerton, H. J., Howard, V. J., Huffman, M. D., Isasi, C. R., Jiménez, M. C., Judd, S. E., Kissela, B. M., Lichtman, J. H., Lisabeth, L. D., Liu, S., . . . Turner, M. B. (2016). Heart Disease and Stroke Statistics—2016 update. *Circulation*, 133(4).

<https://doi.org/10.1161/cir.0000000000000350>

Okan Bakır, B., & Biçer, A. H. (2018). Klinik Beslenme için Temel Cep Kitabı (M. Width & T. Reinhard çeviri). Nobel Tıp Kitabevi.

- Özgen, H., & Saka, S. (2022). Postmenopozal Kadınlarda Fiziksel Aktivite Düzeyinin Fonksiyonel Kapasite, Kardiyovasküler Risk Faktörleri, Menopozal Semptomlar ve Yaşam Kalitesi ile İlişkisi. *Akdeniz Tıp Dergisi*, 194–201. <https://doi.org/10.53394/akd.1057897>
- Pilz, S., Tomaschitz, A., Drechsler, C., Dekker, J., & März, W. (2010). Vitamin D deficiency and myocardial diseases. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(8), 1103–1113. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900474>
- Romuk, E., Wojciechowska, C., Jacheć, W., Zemła-Woszek, A., Momot, A., Buczkowska, M., & Rozentryt, P. (2019). Malondialdehyde and Uric Acid as Predictors of Adverse Outcome in Patients with Chronic Heart Failure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2019/9246138>
- Scragg, R. (1981). Seasonality of cardiovascular disease mortality and the possible protective effect of ultra-violet radiation. *International Journal of Epidemiology*, 10(4), 337–341. <https://doi.org/10.1093/ije/10.4.337>
- Soares, R. O. D. S., Losada, D. M., Jordani, M. C., Évora, P. R. B., & Castro-e-Silva, O. (2019). Ischemia/Reperfusion injury Revisited: An overview of the latest pharmacological strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5034. <https://doi.org/10.3390/ijms20205034>
- Tokgöz, V. Y., Sipahi, M., Keskin, Ö., Güvendi, G. F., & Takır, S. (2018). Protective effects of vitamin D on ischemia-reperfusion injury of the ovary in a rat

model. DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals), 21(6), 593–599.
<https://doi.org/10.22038/ijbms.2018.26914.6581>

Tsikakos, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*, 524, 13–30.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021>

Türk Hanehalkı Sağlık Araştırması: Bulaşıcı Olmayan Hastalıkların Risk Faktörleri Prevalansı (STEPS). (2017). WHO.

Uçan, B., & Delibaşı, T. (2015). Vitamin D and cardiovascular disease. *Abant Tıp Dergisi*, 4(4), 428–435. <https://doi.org/10.5505/abantmedj.2015.75010>

Ural, D. (2014). Postmenopozal Kardiyovasküler Hastalıklar. *Turkiye Klinikleri J Cardiol-Special Topics*.

Viswanath, D. (2011). Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. In National Academies Press eBooks. <https://doi.org/10.17226/13050>

Vitamin D, arterial hypertension & cerebrovascular disease. (2013, April 1). PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23703334/>

Wu, X., Dubick, M. A., Schwacha, M. G., Andrew, P., & Darlington, D. N. (2017). Tranexamic acid attenuates the loss of lung barrier function in a rat model of polytrauma and hemorrhage with resuscitation. *Shock*, 47(4), 500–505.
<https://doi.org/10.1097/shk.0000000000000758>

- Xu, Q., Zhu, M., Qian, W., & Song, J. (2019). Vitamin D attenuates myocardial ischemia–reperfusion injury by inhibiting inflammation via suppressing the RhoA/ROCK/NF-κB pathway. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 66(5), 850–857. <https://doi.org/10.1002/bab.1797>
- Yancy, C. W., Jessup, M., Bozkurt, B., Butler, J., Casey, D. E., Colvin, M., Drazner, M. H., Filippatos, G., Fonarow, G. C., Givertz, M. M., Hollenberg, S. M., Lindenfeld, J., Masoudi, F. A., McBride, P. E., Peterson, P. N., Stevenson, L. W., & Westlake, C. (2017). 2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *Circulation*, 136(6). <https://doi.org/10.1161/cir.0000000000000509>
- Yavuz, D., Mete, T., Yavuz, R., & Altunoğlu, A. (2014). D Vitamini, Kalsiyum & Mineral Metabolizması, D Vitaminin İskelet Dışı Etkileri ve Kronik Böbrek Yetmezliğinde Nutrisyonel D Vitamini Kullanımı. *Ankara Medical Journal*, 14(4). <https://doi.org/10.17098/amj.19812>

Ek 1 – Etik Kurul Onayı



T.C.
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı
KARARLAR

Toplantı Tarihi-Saati:2022-11-09 - 16:00

Toplantı Sayısı:T2022-1153

Toplantı Yeri:Telekonferans

KARAR - 2 :

Proje Yürütücülüğünü Prof. Dr. Ali Rıza KIZILER'in yaptığı Prof. Dr. İbrahim GÜNER, Dr. Öğr. Üyesi Murat MENGİ, Dr. Öğr. Üyesi Aliye ÇELİKKOL, Dr. Öğr. Üyesi Birol TOPÇU ve Yüksek Lisans Öğrencisi Burcu KESER ile ortak çalışmaları olan " Overoktemize Sıçanlarda İskemi /Reperfüzyon'a Bağlı Olarak Gelişen Kardiyak Hasarda D Vitamininin Koruyucu Etkisi " adlı proje hakkında görüşüldü.İlgili mevzuatlara uygunluğu incelenerek mevcudun oybirliği ile uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.

Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan, 24 Adet
-----------------------	----------------