



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇAN MİYOKARDİT MODELİNDE İNSÜLİN BENZERİ
BÜYÜME FAKTÖRÜ (IGF-1)'İN KARDİYOPROTEKTİF
ETKİLERİ

Eriñç YÜCEL

Nisan 2023
DENİZLİ

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇAN MİYOKARDİT MODELİNDE İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME
FAKTÖRÜ (IGF-1)'İN KARDİYOPROTEKTİF ETKİLERİ**

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Erinç YÜCEL

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ

Denizli, 2023

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öğrenci Adı Soyadı : Erinç YÜCEL

İmza :

ÖZET

SIÇAN MİYOKARDİT MODELİNDE İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ (IGF-1)'İN KARDİYOPROTEKTİF ETKİLERİ

Erinç YÜCEL

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ

Ocak 2023, 63 Sayfa

Doksorubisin (Dox) oksidatif hasara bağlı kardiyotoksik etkisi nedeniyle miyokardite neden olmaktadır. İnsülin benzeri büyüme faktör (IGF)-1 antiinflamatuvar, antiapoptotik ve antioksidan özelliğe sahip kardiyovasküler sistem üzerinde etkili farmakolojik bir ajandır. Yapılan çalışmada Dox ile indüklenen miyokardit modelinde IGF-1'in moleküler mekanizmalarının aydınlatılması ve kardiyoprotektif etkilerinin araştırılması amaçlandı. Wistar albino erkek sıçanlar Kontrol, Dox (4mg/kg/hafta), IGF-1 (1 µg /kg iki gün arayla) ve Dox + IGF-1 (4mg/kg/hafta Dox ve 1 µg /kg iki gün arayla IGF-1) olarak 4 gruba ayrıldı ve tüm uygulamalar intraperitoneal olarak yapıldı. 4 haftalık deney protokolünün sonunda Ketamin ve Ksilazin anestezisi altında sakrifikasyon yapıldı. Kan serumundan CK-MB ve Troponin-I seviyeleri biyokimyasal analizlerle ölçüldü. Kalp dokusundan histopatolojik ve immünohistokimyasal (Kaspaz-3 ve ICAM-1) değerlendirmeler yapıldı. Ayrıca kalp dokusundan ELISA yöntemiyle TNF-α, IL-6, TAS ve TOS seviyeleri ile RT-PCR yöntemiyle *Beclin-1*, *SQSTM1*, *LC3*, *HIF-1α*, *iNOS*, *SERCA2a* ve *MasR* gen ekspresyonları analiz edildi. Dox uygulaması histopatolojik ve immünokimyasal skorları, CK-MB, Troponin-I, TNF-α, IL-6 seviyelerini ve TOS/TAS oranını arttırdı. Moleküler analizler sonucunda *Beclin-1*, *SQSTM1*, *LC3*, *SERCA2a*, *MasR* ve *HIF-1α* ekspresyonlarını indükleyerek kardiyak hasara neden oldu. IGF-1 tedavisi sonrasında hasar parametrelerinde anlamlı seviyede iyileşme görüldü. Dox ile indüklenen miyokardit modelinde IGF-1'in *SERCA2a*/ *MasR* sinyal yolağı aracılı otofajiyi inhibe ederek kardiyoprotektif etki sağladığı bulundu. IGF-1'in Dox ile indüklenen miyokardit modelinde inflamatuvar süreçlerin düzenlenme, oksidatif hasarı azaltma, apoptotik hücre ölümü ve otofajiyi inhibe etme mekanizmalarıyla terapötik etki sağladığı bulundu.

Anahtar kelimeler: Doksorubisin, IGF-1, Miyokardit, Oksidatif Hasar, Otofaji

Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2021SABE015 proje numarasıyla desteklenmiştir.

ABSTRACT

CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR (IGF-1) IN A RAT MODEL OF MYOCARDITIS

MSC Thesis in Medicinal Pharmacology
Supervisor: Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ
January 2023, 63 Pages

Doxorubicin (Dox) causes myocarditis due to its cardiotoxic effect due to oxidative damage. Insulin-like growth factor (IGF)-1 is a pharmacological agent with anti-inflammatory, anti-apoptotic, and antioxidant properties, effective on the cardiovascular system. This study, it was aimed to elucidate the molecular mechanisms of IGF-1 and to investigate its cardioprotective effects in the Dox-induced myocarditis model. Wistar albino male rats Control, Dox (4mg/kg/week), IGF-1 (1 µg/kg two days apart) and Dox + IGF-1 (4mg/kg/week Dox and 1 µg/kg two days apart IGF-1) and all applications were done intraperitoneally. At the end of the 4-week experimental protocol, sacrifice was performed under Ketamine and Xylazine anesthesia. CK-MB and Troponin-I levels in blood serum were measured by biochemical analysis. Histopathological and immunohistochemical (Caspase-3 and ICAM-1) evaluations were performed on heart tissue. In addition, TNF-α, IL-6, TAS, and TOS levels were analyzed by ELISA method, and *Beclin-1*, *SQSTM1*, *LC3*, *HIF-1α*, *iNOS*, *SERCA2a*, and *MasR* gene expressions were analyzed by RT-PCR method in heart tissue. Dox administration increased histopathological and immunochemical scores, CK-MB, Troponin-I, TNF-α, IL-6 levels, and TOS/TAS ratio. As a result of molecular analyzes, caused cardiac damage by inducing the expressions of *Beclin-1*, *SQSTM1*, *LC3*, *SERCA2a*, *MasR*, and *HIF-1α*. There was a significant improvement in damage parameters after IGF-1 treatment. In a model of Dox-induced myocarditis, IGF-1 was found to exert a cardioprotective effect by inhibiting autophagy mediated by the *SERCA2a/MasR* signaling pathway. It was found that IGF-1 provides a therapeutic effect by regulating inflammatory processes, reducing oxidative damage, and inhibiting apoptotic cell death and autophagy in a model of Dox-induced myocarditis.

Keywords: Doxorubusin, IGF-1, Myocarditis, Oxidative Damage, Autophagy

This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit through project number 2021SABE015.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmamın her safhasında bilgi, görüş ve önerileriyle yol gösteren, tecrübelerinden çok şey öğrendiğim, araştırmalarım ve deneysel çalışmalarım bilimsel katkı ve desteğini esirgemeyen kıymetli danışmanım Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ hocama ve Tıbbi Farmakoloji ailesine,
Tez projemin gerçekleşmesi için destek veren Pamukkale Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine,
Gelişmem ve yetişmemde sonsuz katkıları olan, bugünlere gelmemde emeklerinin karşılığını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim değerli aileme çok teşekkür ederim.

Dr. Erinç YÜCEL
Denizli, 2023

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1 Amaç	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI	2
2.1. Miyokardit	2
2.1.1. Epidemiyoloji	2
2.1.2. Etiyoloji	2
2.1.3. Klinik	6
2.1.4. Patogenez	6
2.1.5. Tanı	7
2.1.6. Tedavi	8
2.1.7. Prognoz	8
2.2. Doksorubisin	9
2.2.1. Farmakokinetik Özellikleri	9
2.2.2. Yan Etkileri	9
2.2.3. Etki Mekanizması	10
2.2.4. Kardiyak Fonksiyonu Üzerindeki Etkileri	10
2.2.5. Kardiyotoksisitenin Önlenmesi	12
2.3. IGF Eksenı	13
2.3.1. IGF Moleküler Yapısı	13
2.3.2. IGF Etki Mekanizması	14
2.3.2.1. IGF-1'in Fizyolojik Etkileri	14
2.3.2.2. IGF-1'in Hücresele Etkileri	14
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	16
3.1. Etik Kurul	16
3.2. Deney Protokolü	16
3.3. Farmakolojik Ajanlar	17
3.4. Analiz Örneklerinin Hazırlanması	17
3.4.1. Kan Serumunun Hazırlanması	17
3.4.2. Kalp Dokusu Homojenizatının Hazırlanması	18
3.5. Kuyruk Kan Basıncının Ölçümü	18
3.6. Biyokimyasal Analizler	18
3.7. ELISA Yöntemiyle Hasar Parametrelerinin Analizi	19
3.8. RT-PCR Yöntemiyle Gen Ekspresyonlarının Analizi	19
3.9. Histopatolojik Yöntem	20
3.10. İmmünohistokimyasal Yöntem	21
3.11. İstatistiksel Analiz	21
4. BULGULAR	23
4.1. Hayvan Ağırlığı Bulguları	23
4.2. Kuyruk Kan Basıncı Bulguları	23
4.3. Biyokimya Bulguları	24
4.4. ELISA Analizi Bulguları	25
4.5. Histopatolojik Bulgular	29
4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular	27

5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR	42
7. KAYNAKLAR	43
8. ÖZGEÇMİŞ	54
9. EKLER	55



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 IGF-1'in birincil ve üç boyutlu yapısı.....	5
Şekil 3.1 Deney gruplarına göre uygulamaların zaman çizelgesi	17
Şekil 4.1 Deney gruplarının ortalama ağırlık artışı	15
Şekil 4.2. Sıçan kalp dokularında inflamasyon parametleri	25
Şekil 4.3. Sıçan kalp dokularında oksidatif hasar parametreleri	26
Şekil 4.4 Kalp dokularında otofajik hücre ölümü ilişkili gen ekspresyonları	27
Şekil 4.5 Kalp dokularında oksidatif hasar ilişkili gen ekspresyonu bulguları	28
Şekil 4.6 Kalp dokularında MasR ve SERCA2a gen ekspresyonu bulguları	29
Şekil 4.7 Histopatolojik bulgular	30
Şekil 4.8 Kaspaz-3'ün immünohistokimyasal bulguları	31
Şekil 4.9 ICAM-1'in immünohistokimyasal bulguları	32



TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1.1 Etiyolojide rol oynayan faktörler	3
Tablo 3.1 Kalp lezyonlarının histopatolojik skorları	21
Tablo 4.1 Ortalama kan basıncı ve kalp atım hızı	24
Tablo 4.2 Serum CK-MB ve Troponin-I seviyeleri	24
Tablo 4.3 Grupların histopatolojik skorlarının istatistik analiz sonuçları	29
Tablo 4.4 Kazpaz-3'ün immunohistokimyasal skorları	31
Tablo 4.5 ICAM-1'in immunohistokimyasal skorları	32



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CK	Kreatin kinaz
DOX	Doksorubisin
HE	Hematoksilen-eozin
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGF-1R	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörü
IGFBP	IGF-bağlayıcı protein
iNOS	Nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
OSİ	Oksidatif stres indeksi
PBS	Fosfat tampon salin
RT-PCR	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
TAS	Total antioksidan durumu
TOS	Total oksidan durumu



1. GİRİŞ

Miyokardit kalp kası hücrelerinin dejenerasyonu ile karakterize enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz faktörler sonucunda ortaya çıkan inflamatuvar bir kalp hastalığıdır. Hastalık asemptomatik olabileceği gibi kardiyojenik şok, aritmi veya ölüm gibi farklı durumlara da neden olabilmektedir. Miyokardit tanısında kullanılan çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Tedavisinde ise en sık kullanılan yöntem semptomatik tedavidir (Ammirati vd., 2021). Miyokardite neden olan en önemli non-enfeksiyöz faktörlerden biri doksorubisin toksisitesidir. Doksorubisin lösemi, lenfoma ve akciğer gibi kanser kemoterapisinde en sık kullanılan ajanlardan biridir ancak kardiyotoksik yan etkisi nedeniyle kullanımını kısıtlanmaktadır (Rivankar, 2014). Doksorubisin kardiyotoksitesinin temel mekanizması reaktif oksijen türlerinin ve lipid peroksidasyonu artmasına bağlı oluşan oksidatif hasardır (Peter vd., 2022). Miyokarditin yüksek morbitide ve mortaliteye sahip olmasına rağmen özgün bir tedavisinin bulunmaması yeni tedavi arayışlarına yol açmıştır. İnsülin benzeri büyüme faktör (IGF)-1 anti-inflamatuvar, anti-apoptotik ve antioksidan özelliğe sahip farmakolojik bir ajandır. Kardiyovasküler sistemde kalsiyum duyarlılığında artış sağlama ve kardiyak homeostaz ile vasküler damar direncini korunma etkilerinden dolayı kardiyoprotektif bir ajan olarak kullanılabilir (Bach 2018; Poreba ve Durzynska 2020).

1.1. Amaç

Sıçanlarda doksorubisin ile indüklenen miyokardit modelinde, kardiyoprotektif etkileri olduğu bildirilen IGF-1'in moleküler mekanizmalarının aydınlatılması ve kardiyak iyileşme sürecindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI

2.1. Miyokardit

Miyokardit enfeksiyonlar, toksik maddelere maruz kalma ve bağışıklık sistemi aktivasyonu sonucu ortaya çıkan inflamatuvar bir kalp hastalığıdır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre ise miyokardit; kalp kasının histolojik, immünolojik ve immünohistolojik olarak kanıtlanabilen inflamatuvar hastalığı olarak tanımlanmış olup yapılan sınıflandırmada ikincil kardiyomiyopatiler arasında yer almaktadır (Magnani ve Dec 2006).

2.1.1. Epidemiyoloji

Miyokardit asemptomatik olabileceği gibi kalp kasında oluşan yapısal veya fonksiyonel hasar sonucunda kalp yetmezliği, kronik dilate kardiyomiyopati veya ani ölüme kadar geniş bir klinik tablo ve prognoz gösterebilir. Bu nedenle miyokarditin gerçek insidansını saptamak zordur ve prevalansı düşüktür (Doolan, Langlois, ve Semsarian 2004; Duman 2022).

2.1.2. Etiyoloji

Miyokardit etiolojisinde enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz faktörler yer almaktadır. Enfeksiyöz faktörler bakteri, virüs ve mantarlar başta olmak üzere geniş bir patojen ağına sahiptir. Virüsler, akut miyokardit raporlarında en sık görülen patojenler olup 1950 yıllarında özellikle *Coxsackie* virüsleri kapsayan enterovirüsler miyokardit ile ilişkilendirmiştir. Günümüzde ise miyokardit modeli olarak en sık tanımlananlar parvovirüs ve insan herpes virüsü olarak bilinmektedir (Basso 2022; Cooper 2009). Ayrıca *Corynebacterium diphtheriae* ve *Trypanosoma cruzi*, *Borrelia burgdorferi*, *Campylobacter jejuni* ile ilişkili miyokardit vakaları da bildirilmiştir. 2022 yılı itibarıyla pandemi nedeni olan SARS-CoV-2'nin de miyokardit ile ilişkisi bulunmuştur (Ammirati vd., 2021; Cooper 2009; Durani vd., 2009; Kemeç vd., 2022).

İlaç toksisitesi, otoimmün hastalıklar ve aşırı duyarlılık reaksiyonları miyokarditin non-enfeksiyöz faktörleri arasında yer almaktadır. Bu faktörler morbidite riski ve spesifik tedavi potansiyeli taşımaları nedeniyle önem taşımaktadır. Doksorubisin, aminofilin, amfetamin, fenitoin ve siklofosfamid toksisitesine bağlı gelişen miyokardit doğrudan toksik etkinin yanı sıra hipersensitivite sonucu da ortaya çıkabilir. Etiyolojisinde rol oynayan faktörler viral ve viral olmayan etkenler olarak iki grup altında sınıflandırılabilir. (Leuschner, Katus, ve Kaya 2009; Minotti vd., 2004; Sharma vd., 2019; Deepak Sharma 2012).

Tablo 1.1 Etiyolojide rol oynayan faktörler

Viral Etkenler
• RNA virüsleri • <i>Picornavirus (Coxsackie A+B, Echovirus, Poliovirus, Hepatitis virus)</i> • <i>Orthomyxoviren (Influenza, Paramyxoviren, Respiratory syncytial virus, Mumps)</i> • <i>Togaviruses (Rubella virus)</i> • <i>Flaviviruses (Dengue fever, Yellow fever)</i> • <i>Retrovirus (Human immunodeficiency virus)</i> • DNA Virüsleri • <i>Adenovirus</i> • <i>Erythrovirus</i> • <i>Herpesvirus (Human herpes virus 6, Cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, Varicella-zoster virus)</i> • Postinfeksiyöz Kardiyomiyopati (Otoimmün miyokardit ve dilate kardiyomiyopati)
Viral Olmayan Etkenler
• Bakteriler • <i>Chlamidya pneumonia</i> • <i>Haemophilus influenza</i> • <i>Legionella pneumophila</i> • <i>Francisella tularensis</i> • <i>Neisseria meningitidis</i> • <i>Mycobacterium tuberculosis</i> • <i>Streptococcus pneumonia</i> • <i>Francisella tularensis</i> • <i>Clostridium tetani</i> • <i>Treponema pallidum</i>

- *Vibrio cholerae*
- Spiroketler
 - *Borrelia recurrentis*
 - *Leptospira*
 - *Treponema pallidum*
- Riketsiyalar
 - *Coxiella brunetti*
 - *Rickettsia rickettsii/ prowazekii*
- Funguslar
 - *Acinomyces*
 - *Aspergillus*
 - *Candida*
 - *Cryptococcus*
 - *Histoplasma*
 - *Nocardia*
- Protozoolar
 - *Entamoeba histolytica*
 - *Leishmania*
 - *Plasmodium falciparum*
 - *Trypanosoma cruzi*
 - *Trypanosoma brucei*
 - *Toxoplasma gondii*
- Helminthler
 - *Ascaris*
 - *Echinococcus granulosus*
 - *Schistosoma*
 - *Trichinella spiralis*
 - *Wuchereria bancrofti*
- İlaçlar
 - Aminofilin
 - Amfetamin
 - Antrasiklin
 - Katekolaminler
 - Kloramfenikol
 - Kokain
 - Siklofosfamid

- Doksorubisin
- 5-Florourasil
- Fenitoin
- Trastuzumab
- Zidovudin
- İlaçlar- Hipersensitivite Reaksiyonları
 - Azitromisin
 - Benzodiazepinler
 - Klozapin
 - Sefalosporinler
 - Dapson
 - Dobutamin
 - Lityum
 - Diüretikler
 - Tiazidler
 - Metildopa
 - Meksiletin
 - Streptomisin
 - Sülfonamidler
 - Nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçlar
 - Tetanos toksoidi
 - Tetrasiklin
 - Trisiklik antidepresanlar
- Venomlar- Hipersentivite Reaksiyonları
 - Arı
 - Eşek arısı
 - Akrep
 - Yılan
- Otoimmün Hastalıklar
 - Dematomiyozit
 - Romatoid artrit
 - Sjögren sendromu
 - Sistemik lupus eritematozus
 - Wegener granülomatozisi
- Sistemik Hastalıklar
 - Churge-Strauss Sendromu

- Kollajen hastalıklar
- Sarkoidoz
- Kawasaki hastalığı

2.1.3. Klinik

Miyokarditin klinik belirtileri kişiden kişiye farklılık göstermekle birlikte en sık görülenler yorgunluk, aritmi, kalp yetmezliği, kardiyojenik şok ve göğüs ağrısıdır. Nadir görülen belirtiler düşük kardiyak debi, bozulmuş perfüzyon, zayıf nabız, malign aritmiler, hipotansiyon ve asidozdur. Bu belirtilere ek olarak yatan hastaların yaklaşık %50'sinde kalp blokları, ventriküler ve supraventriküler aritmi görülmektedir. Belirtiler hastalığın etiyolojisi, hastalık evresi ve şiddetine göre de değişmektedir (Friedrich vd., 2009). Genellikle enfeksiyon öncesinde solunum yolu veya gastrointesinal hastalık öyküsü bulunmaktadır. Enfeksiyon sonrasında ateş ve myalji gibi prodromal semptomları göğüs ağrısı, egzersiz intoleransı, senkop ve dispne gibi non-spesifik semptomlar takip etmektedir. Tanı öncesi hastalarda en sık görülen muayene bulguları takipne, nefes darlığı, halsizlik ve gastrointestinal semptomlar olup taşikardi, hipotansiyon, retraksiyon, periferik ödem, hepatomegali, letarji, iç çekme, üfürüm veya gallop ritmi de görülebilmektedir (Duman 2022). İnflamasyona bağlı olarak ise akut ve kronik olmak üzere klinik miyokardit profilleri tanımlanmıştır (Smith vd., 1997; Yang vd., 2020).

2.1.4. Patogenez

Miyokardit akut, subakut ve kronik olmak üzere 3 fazdan oluşmaktadır. Akut fazda inflamasyona bağlı olarak makrofaj hücrelerinin aktivasyonu ve miyozit hasarı meydana gelmektedir. Makrofaj hücrelerinin aktivasyonu sonucunda *TNF- α* , *IL-6* ve *IL-1 β* gibi inflamasyon sitokinleri seviyesi artar (McNamara vd., 1997; Sangomla vd., 2018). *IL-1* ve *TNF- α* miyozitlerin, β -adrenerjik cevaplarını inhibe ederek kalpte negatif inotropik etki gösterir. Ayrıca *TNF- α* immün yanıtı artırır ve apoptotik hücre ölümünü indükler (Kawai 1999; Shioi vd., 1997). Sitokin salınımını takiben indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS)'ı indüklendiğinde ise yüksek seviyede nitrik oksit (NO) oluşur ve hücrede toksisiteye neden olur (Green vd., 1994).

Subakut fazda virüs, bakteri veya yabancı nükleik asitler tarafından reseptörler aracılığıyla kaskad indüklenerek inflamatuvar sitokin üretimi ve immün aktivasyon başlatılır. Doğal bağışıklık yanıtının indüklenmesi sırasıyla T hücrelerinin aktivasyonu, B hücrelerin uyarılması

ve antikor üretimine neden olur. Bunun sonucunda miyozitlerde kronik inflamasyona bağlı nekroz veya fibroz gerçekleşebilir (Kawai 1999).

Kronik faz, viral patojenlerin kompleks immün yanıtı yol açmasıyla oluşmaktadır. İnflamasyon sürecinde oluşan sitokinler, matriks metalloproteinazları aracılığıyla kardiyak dilatasyona neden olduğundan, patoloji dilate kardiyomiyopati olarak da adlandırılır. Dilate kardiyomiyopatide özellikle *IL-1* ve *TNF- α* gibi inflamatuvar sitokin seviyeleri artmakta ve patolojik fibrozise neden olmaktadır (Durani, Giordano, ve Goudie 2010; Takimoto vd., 2000).

2.1.5. Tanı

Klinik olarak akut miyokardit durumunda kardiyak hasar parametreleri ve akut faz reaktanları seviyelerine bakılmalı, ventrikül fonksiyonu testleri ve viral seroloji değerlendirmeleri yapılmalıdır. Tanıda kullanılan kan, idrar, gaita gibi periferik örneklerde yapılan viral kültürler miyokardite neden olan etkeni saptamakta yeterli olmadığından doku örneğinde moleküler yöntemler kullanılabilir. RT-PCR yöntemi viral genomu miyokardiyal dokuda tespit etmek amacıyla kullanılan spesifik ve yüksek duyarlılığa sahip bir yöntemdir (Freedman vd., 2007).

Miyokardiyal hasar parametreleri olarak da bilinen troponin ve kreatin kinaz enzim seviyeleri hasar durumunda yükselir (Basso 2022). Miyokardit tanısında troponin-T'nin duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla % 53 ve % 94'tür. Troponin-T seviyesi miyokardit hasarından ortalama 6 saat sonra kanda yükselir, 12-24 saatte en yüksek seviyeye ulaşır ve ortalama 2 haftada normale seviyeye iner. Troponin-I için ise miyokardit tanısındaki duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla %34 ve %89'dur. Duyarlılık değerlerinin düşük olması nedeniyle birlikte çalışılmasının kesin tanı da önemli olduğu belirtilmiştir (Lauer vd., 1997; Mair vd. 1995). Kreatin kinaz (CK) CK-MB (kardiyak kas dokusunda bulunan), CK-BB (beyin dokusunda bulunan) ve CK-MM (iskelet kas dokusunda bulunan) olmak üzere 3 izoformu bulunan ve miyokard hasarında en özgün izoformunun CK-MB olduğu bir enzimdir. Miyokard hasarı sonrasında CK-MB seviyesi 4-10 saat içerisinde yükselir, 24 saatte en yüksek seviyeye ulaşır ve ortalama 2 gün içerisinde normal seviyeye iner (Braunwald vd., 1994).

Miyokardiyal biyopsi kesin tanı ve etiyolojinin değerlendirilmesinde kullanılır. Endomiyokardiyal biyopsi klinikte rutin olarak yapılmayıp genellikle ölümcül vakalarda yapılmaktadır. Alınan biyopsi örneklerinde miyokardit histopatolojisi miyokardiyal hasarın boyutuna bağlı olarak değişkenlik gösterir. Histopatolojik değerlendirmede miyokardiyal hasar odaksal veya yaygın olabilir. Ayrıca lenfositik, eozinofilik ve granülomatoz olarak

adlandırılan çeşitli inflamatuvar hücreleri nekroz veya fibrozis görülebilir. Buna göre yapılan değerlendirmede inflamasyon ve nekroz birlikte ise aktif miyokardit, miyozit nekrozu olmadan sadece inflamatuvar hücre infiltrasyonu bulunursa borderline miyokardit, inflamasyon ve nekroz bulunmuyorsa negatif miyokardit olarak belirtilir (Thomas Aretz 1987).

Tanıda kullanılan diğer yöntemler ekokardiyografi ve manyetik rezonans görüntülemedir. Ekokardiyografi miyokardite özgü değildir bu nedenle daha çok tedaviye verilen cevabın değerlendirilmesinde kullanılabilir (Buttà vd., 2020). Manyetik rezonans görüntüleme miyokardit sonrasında ortalama 2 hafta sonra daha yüksek duyarlılığa sahip non-invaziv bir yöntemdir. Bu nedenle hastalığın seyri ve tedaviye verilen cevabın değerlendirilmesinde kullanılabilir (Friedrich vd., 2009).

2.1.6. Tedavi

Miyokarditin kesin bir tedavisi olmamakla birlikte birincil tedavi yöntemi destekleyici bakım ve semptomatik tedavidir. Miyokardit vakalarında kan basıncının ve solunum stabilizasyonun sağlanması önem taşımaktadır. Kalp yetmezliği durumunda farmakolojik tedavide diüretikler öncelikli olmakla birlikte anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve anjiyotensin reseptör blokerleri kullanılmaktadır (Basso 2022; Jensen ve Marchant 2016). Artan sol ventrikül dolum basıncı için vazodilatör ajanlar ve dolaşımın devam etmesi, semptomların düzenlenmesi ve hedef organ fonksiyonlarının iyileştirilmesi amacıyla inotropik ajanlar kullanılabilir (Yang vd., 2020). Pozitif inotropik etki gösteren dopamin ve kan basıncını ile kalp hızını arttıran epinefrin de tedaviye eklenebilir. Uygulanan tedaviye rağmen kalp yetmezliği ilerleyen vakalarda mekanik dolaşım desteği sağlanmalıdır (Basso 2022). Viral miyokardit vakalarında, virüsün yok edilmesinde immün sistemin önemi nedeniyle, konak immün sistemini hedef alan immünmodülatör ajanların kullanılabilir. Bu amaçla kullanılan immünmodülatör ajanlar kortikosteroid, intravenöz immunoglobulin, azatioprin ve siklosporindir (Camargo vd., 2011).

2.1.7. Prognoz

Miyokardit ile ilişkili prognoz semptomların geliştiği süre ve şiddete göre sınıflandırılmaktadır. Çoğu vaka komplikasyon olmadan, kendi kendini sınırlayan hafif bir seyir göstererek iyileşir. Bununla aksine ödem ve nekroz oluşması sonucunda meydana gelen sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun azalmasının eşlik ettiği kalp yetmezliği, ileri atriyoventriküler blok sonucunda ölüm riski oluşabilir veya kalp nakline ihtiyaç duyulabilir (Basso 2022; Yang vd., 2020). Çocukluk çağında prognoz yaştan dışı hastalığın

temelindeki inflamasyona bağılı olarak değişiklik göstermektedir (Canter ve Simpson 2014; Klugman vd. 2010).

2.2. Doksorubisin

Doksorubisin (adriamisin, 14-hidroksi daunorubisin) *Streptomyces peucetius variete caesi*u kültüründen elde edilen, sitotoksik antibiyotik sınıfında yer alan, kemoterapide kullanılan ilk antrasiklin antibiyotik olarak bilinmektedir. Yumuşak doku ve kemik sarkomları, nöroblastom, lösemi ve lenfoma tedavisi başta olmak üzere terapötik etkinliği nedeniyle tedavide kullanılan etkili bir farmakolojik ajandır (Minotti vd., 2004).

2.2.1. Farmakokinetik özellikleri

Doksorubisin oral yolla uygulandığında gastrointestinal sistemden emilimi düşük olması ve doku tahrişine yol açması nedeniyle intravenöz yolla 60-75 mg/kg dozunda üç hafta boyunca uygulanır. Uygulandıktan sonra karaciğerde daha az aktif metabolitleri olan doksorubisinol ve daunorubisinol'e dönüşür. Plazma proteinlerine %70 oranında bağlanan doksorubisin kalp, miyokard, testis ve karaciğerde birime eğilimindedir. En yüksek konsantrasyonuna ise tümör dokusunda ulaşır. Doksorubisinin yarılanma yarı ömrü 48 saattir ve başlıca eliminasyon organı karaciğerdir. Karaciğer ve böbrek hastalıklarında eliminasyonu yavaşladığından uygulama dozunun azaltılması gerekmektedir. Eğer aksi durumda uygulama dozunun üzerine çıkılırsa kalp yetmezliği gibi ölümcül sonuçlara neden olabilir (Gokcimen vd., 2007; Keefe 2001).

2.2.2. Yan etkileri

Doksorubisin tedavisine bağılı olarak akut veya kronik dönemde birçok yan etki ortaya çıkabilir. Yan etkileri arasında mide bulantısı, kusma, ağız yaraları, ateş, yorgunluk, saç dökülmesi de yer almaktadır. İntravenöz uygulamaya bağılı olarak doksorubisin ekstrevasyonu, ciddi doku ülserasyonu ve nekroz oluşabilir. En ciddi iki yan etkisi olan kemik iliği depresyonu ve kardiyotoksisite klinik kullanımını engellemektedir. Kemik iliği üzerindeki etkileri arasında nötropeni, lökopeni, trombositopeni ve anemi yer almaktadır. Ancak bu etkilerin oluşması ve şiddeti hastanın kemik iliğinin rejenerasyon kapasitesi ve ilacın dozuna bağılıdır. Kardiyotoksik semptomlar arasında ise miyokardit, kardiyomiyopati, perikardit, kardiyak ritim ve kan basıncı değişiklikleri bulunmaktadır. Belirtilen semptomlar

doksorubisin tedavi sırasında oluşabileceği gibi tedaviden aylar sonra da görülebilir (Gewirtz 1999; Maciej Serda vd., 2004; Simmons, Vacek, ve Meyers 2015; Jain 2000).

2.2.3. Etki mekanizması

Doksorubisin hücre bölünmesi sırasında hücre döngüsü kontrol noktalarından S ve G2 fazlarına etki ederek, proliferasyon yeteneği yüksek tümör hücrelerinin replikasyonunu engeller ve antitümoral etkinlik oluşturur. Doksorubisin transkripsiyon sırasında DNA zincirinin açılmasını sağlayan topoizomerez II enzimini inhibe ederek apoptotik hücre ölümüne neden olur. Doksorubisin serbest radikallerin meydana gelmesi sonucunda da hücre ölümüne neden olmaktadır. Özellikle kimyasal reaktivitesi daha yüksek oksijen formları olan reaktif oksijen türleri mitokondriyal DNA hasarına bağlı apoptotik hücre ölümünü indüklemektedir. Ayrıca nükleer DNA ve mitokondriyal DNA üzerine etkili olan interkalasyon yeteneği nedeniyle de guanin ve sitozin baz çiftleri arasına girerek replikasyonu durdurur ve dolaylı yoldan transkripsiyon ve translasyonu engeller (Nitiss 2009; Tacar, Sriamornsak, ve Dass 2012).

Doksorubisinin etki mekanizmaları arasında kalsiyum metabolizmasının bozulması da yer almaktadır. Metabolitlerinden biri olan doksorubisinol sarkoplazmik retikulumun fonksiyonunu engeller ve lipid peroksidasyonunu indükler. Mitokondride meydana gelen permeabilite artışı sonrasında transisyon porları açılarak krista bütünlüğü bozulur. Bunun sonucunda mitokondride kalsiyum içeren cisimcikler oluşur ve artan kalsiyum konsantrasyonuna bağlı mitokondriyel toksisite oluşur (Peter vd., 2022).

2.2.4. Kardiyak fonksiyonu üzerindeki etkileri

Doksorubisin uygulaması sonrasında görülen kan basıncı değişiklikleri, kalp hızı düzensizliği ve kontraktilite azalması hasarın göstergelerindendir. Oluşan hasar morfolojik olarak dilate kardiyomiyopati ile benzerlik göstermektedir. Azalan ventriküler ejeksiyon fraksiyonu ve kontraktıl fonksiyonlarına diastolik disfonksiyon da eşlik etmektedir. Ayrıca ventrikül ve atriumlarda dilatasyonu meydana gelebilir (Chatterjee vd., 2010).

Doksorubisin kaynaklı kardiyotoksisite klinikte akut, subakut, kronik ve geç kardiyotoksisite olarak dört farklı şekilde oluşabilir. Akut kardiyotoksisite doksorubisinin uygulaması sırasında veya birkaç saat içinde ortaya çıkar. Genellikle asemptomatiktir ancak nadiren miyokardiyal infarkt gelişebilir. Subakut kardiyotoksisite doksorubisinin uygulaması

sonrasında bir haftaya kadar ortaya çıkar. Nadir olmakla birlikte miyokardit veya perikardit gelişebilir. Kronik kardiyotoksisite, doksorubisin uygulaması sonrasında en sık görülen kardiyak hasar şeklidir. Kümülatif doza bağlı olarak uygulamadan sonra birkaç ay içinde ortaya çıkar ve genellikle sol ventrikül etkilenir. Geç kardiyotoksisite doksorubisin uygulaması bittikten en az bir yıl sonra kalp yetmezliği bulguları ile ortaya çıkar (Outomuro vd., 2007; Simmons, Vacek, ve Meyers 2015; Singal vd., 2000).

Doksorubisin kaynaklı kardiyotoksisitede en önemli faktörlerden biri ROS üretimidir. Çünkü kalp diğer dokularla karşılaştırıldığında yüksek miktarda oksijen tüketimine rağmen rölatif olarak sınırlı antioksidan savunma sistemine sahiptir. Doksorubisinin kardiolipine bağlanması sonucunda aktive olan kaskad serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Serbest radikaller lipid peroksidasyonuna ve mitokondriyal hasarı indükleyerek oksidatif hasara neden olur. Oksidatif hasara bağlı olarak kardiyak inflamasyon ve kardiyomiyositlerde apoptotik hücre ölümü meydana gelir. İnflamasyon ile birlikte apoptotik hücre ölümü ilerleyici kardiyomiyosit hasarına ve hücresel kayba yol açarak ventriküler duvarların incelmeye ve sistolik performansın azalmasına neden olur (Kaiserová vd. 2007; Kalivendi vd., 2001; Pacher vd., 2003; Tokarska-Schlattner, Wallimann, ve Schlattner 2002; Tokudome vd., 2002).

Doksorubisin ile indüklenen kardiyotoksisitenin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır ancak farklı birçok mekanizma ile ilişkisi bulunmuştur. Mitokondriyal DNA'da delesyon ve mutasyonlara bağlı olarak ATP üretiminin durdurulması, sirtüin proteini inhibisyonu sonucunda mitokondriyal lipid oksidasyonunun bozulması, lipid peroksidasyonu sonucunda oksidatif hasarın indüklenmesi, hidrojen peroksit ve superoksit dismutaz artışına bağlı apoptotik hücre ölümü miyokard kontraksiyon ve relaksasyon fazlarının değişimi, sarkoplazmik retikulumda kalsiyum kanalları sayısının azalması, kardiyomiyositlerde desmin ve miyozin proteinlerinin azalmasına bağlı miyofibriller kasılma yeteneğinin azalması ilişkili mekanizmalara örnektir (Bristow vd., 1980; Fabbi vd. 2015; Singal vd., 2000).

2.2.5. Kardiyotoksisitenin önlenmesi

Doksorubisinin kardiyotoksik etkilerini azaltmak amacıyla tedavide kullanılan uygulama dozu veya uygulama sıklığı değiştirilebilir. Bunun dışında doksorubisin analogları veya doksorubisin ile birlikte kombinasyon halinde kardiyoprotektif ajanlar kullanılabilir. Günümüzde kardiyotoksisiteye karşı koruma sağlayan ve klinikte kullanımı için onay verilen

tek ajan deksrazoksandır. Deksraksoksanın kardiyomiyositlerde topoizomeraz-II β enzimine bağlanarak doksorubisinin enzime bağlanmasını önlediği ve böylece kardiyak hücreler üzerindeki sitotoksik etkiyi önlediği bildirilmiştir (Lyu vd., 2007). Doksorubisine bağlı kardiyotoksistide yapılan son araştırmalar antioksidan tedaviye yönelik olup uygulanan antioksidanların mitokondriyal enerji metabolizmasını düzenlenlediği ve oksidatif strese bağlı hasara karşı hücreyi koruduğu gösterilmiştir (Dantas 2022).

Doksorubisin toksisitesine karşı uygulanan karvedilol tedavisinde oksidatif hasarın ve apoptotik hücre ölümünün azaldığı gösterilmiştir (Nabati vd, 2017). Trimetazidin tedavisinin ise mitokondriyal enzimatik sistemler aracılığıyla hücresel homeostazi, elektriksel ve kasılma fonksiyonu koruduğu bildirilmiştir (Salouge 2014). Antioksidan ve kardiyoprotektif etkisi bilinen resveratrol uygulamasının ise doksorubisin ile indüklenen serbest radikal oluşumunu azalttığı ve toplam antioksidan kapasiteyi arttığı bildirilmiştir. Ayrıca lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit ile kardiyak enzimlerden laktat dehidrogenaz ve kreatin fosfokinaz seviyelerini de azalttığı bulunmuştur (AlHarthi 2014). Benzer şekilde Zilinyi ve ark. tarafından yapılan çalışmada doksorubisin kardiyotoksistisine karşı metformin kullanımı serum troponin T ve kardiyak malondialdehit seviyelerinde önemli derecede düşüşe neden olarak koruyucu etki göstermiştir (Zilinyi 2018).

Klinik çalışmalarda antioksidan etkisi bilinen melatonin kullanımının koroner perfüzyon basıncını azaltıp sol ventrikül basıncını artırarak doksorubisin kardiyotoksistisine karşı etki gösterdiği raporlanmıştır (Liu 2022; Özgen 2016). Bir anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü olan enalapril kullanan hastalarda ise doksorubisinin neden olduğu sol ventrikül ejeksiyon fraksiyon düşüşünde iyileşme sağladığı görülmüştür (Janbabai vd., 2017; Vaynblat vd. 2002). Ayrıca farklı bir araştırma zofenoprilin kardiyoprotektif etkisinin enalapriple kıyasla daha fazla olduğu bildirilmiştir (Bozcali vd., 2012).

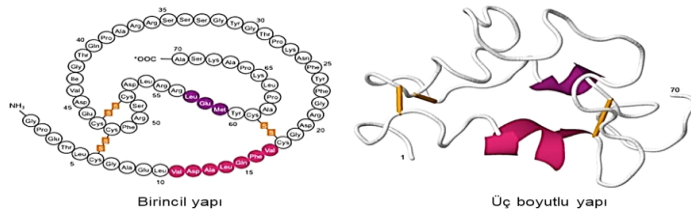
2.3. IGF Ekseni

IGF hücre büyümesi ve hücre farklılaşmasında rol alan, anti-inflamatuvar, anti-apoptotik ve antioksidan özelliğe sahip olan anabolik etkili çok yönlü bir sistemin üyesidir. Bu sistem IGF ekseni olarak adlandırılır ve yapısında yüksek afiniteli IGF-bağlayıcı proteinden (IGFBP), IGF-1 ve IGF-2 olmak üzere iki ligandı bulunmaktadır. İnsülin, IGF-1R, IGF-2 mannoz-6-fosfat olmak üzere üç farklı tip reseptörü bulunur. IGF'nin karaciğerden salınmasını uyan ve metabolik etki göstermesinde rol oynayan en önemli faktör büyüme hormonudur. IGF lokal olarak otokrin ve parakrin aktivite gösterikleri kas dokusunda üretilir.

Üretiminde rol oynayan diğer hormonlar tiroid hormonu, parathormon ve östrojendir (Duan, Ren, ve Gao 2010; Todorović vd., 2008).

2.3.1. IGF moleküler yapısı

IGF'ler tek zincirli polipeptid yapıya sahiptir ve 4 farklı (A, B, C, D) domainden oluşur. Yapısal olarak insüline benzeyen peptidler 'insülin benzeri büyüme faktörleri' olarak adlandırılır. Ligandlarından IGF-1 7649 135 kDA molekül ağırlığına sahip 70 aminoasit içeren bazik bir yapıdadır. IGF-2 ligandı ise 7471 135 kDA molekül ağırlığına sahip ve 67 amino asit içeren asidik bir yapıdadır. Glikopeptit yapıda olan IGF1 reseptörü hücre dışında 135 kDA molekül ağırlığına sahip iki alfa ünitesi ve 95 kDA molekül ağırlığına sahip iki transmembran beta ünitesi içerir. Alfa ve beta üniteleri birbirine disülfid bağları ile bağlanır (Denley vd., 2005; Köseoğlu vd., 2020).



Şekil 2.1 IGF-1'in birincil ve üç boyutlu yapısı (Bailes Julian ve and Mikhail Soloviev 2021)

2.3.2. IGF etki mekanizması

IGF-1 ligandlarının insüline ve IGF-1 reseptörünün insülin reseptörüne yapısal olarak benzerliği bulunmaktadır. Bu nedenle IGF-1'in metabolik etkileri insülin reseptörlerine bağlanmaları sonucunda oluşur (Denley vd. 2005). IGF'lerin bağlanması için yüksek afiniteye sahip olan altı farklı IGFBP (IGFBP1-6) glikosilasyon veya fosforilasyonla aktif forma dönüşür. IGF-1 ve IGF-2 dolaşım sisteminde IGFBP'ye bağlanır ve otofosforilasyona uğrayan IGF-1 reseptörünü uyarır. IGFBP'ler ise hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak farklı sinyal yollarını aktive eder (Bach 2018; Bergman vd., 2013).

2.3.2.1. IGF-1'in fizyolojik etkileri

IGF-1 immün sistem, aterosikleroz ve fetal gelişim başta olmak üzere fizyolojik süreçlerde farklı etkilere sahiptir. Kardiyak fonksiyonlar üzerindeki etkileri arasında kardiyak homeostazın korunması, miyoflamentlerin kalsiyum duyarlılığında artış sağlanması, kardiyak hipertrofinin uyarılması, miyokardiyal fonksiyonun regülasyonu ve vasküler damar direncinin korunması bulunmaktadır. Ek olarak kalp kasında aminoasit ve glikozun taşınması, proteoglikan ve kollojen üretimini aracılı enerji metabolizması, miyofibril oluşumunda rol oynar (Böger vd., 1996; Kinugawa vd., 1999; Moran vd., 2000; C. Y. Wang vd., 2016).

IGF-1 kas ve kemik dokusunda miyojenik ve anabolik etki gösterir ve kas atrofisini inhibe eder. Ayrıca kırıldak dokusunda osteosit aktivasyonunu ve yağ dokusunda glikoz oksidasyonunu sağlar. Nörotrofik etkisi nedeniyle beyin fonksiyonlarının gelişiminde, lenfositlerinin üretim ve fonksiyonlarını indüklemesi nedeniyle immün sistemde, magnezyum, potasyum ve kalsiyum homeostazının korunmasında etki gösterir (Bach 2018; Logan vd., 2018; Todorovi  vd., 2008).

2.3.2.2. IGF-1'in hücresel etkileri

IGF-1 hücre büyümesi, hücre farklılaşması, hücresel metabolizma, hücresel yaşlanma ve hücre ölümü gibi çeşitli süreçlerde rol oynar. Hücre siklusunda replikasyonunu uyararak IGF-1'e ek olarak IGF-1R h cren proliferasyonu kromatinlerin aktivasyonu, transkripsiyonun regülasyonu ve DNA hasar tamir mekanizmalarındaki rolü nedeniyle hücresel süreçlere etki eder (Poreba ve Durzynska 2020). IGF-1, makrofajik fonksiyonlarının düzenlenmesi, proinflamatuvar sitokin ekspresyonunun inhibisyonu ve inflamatuvar hücrelerin dokulara sızmasını engelleyerek anti-inflamatuvar etki gösterir (Hijikawa vd., 2008; Sukhanov vd., 2007).

IGF-1, *PI3K-Akt* sinyal yolağı aracılı protein sentezi, glikoz metabolizması ve apoptotik hücre ölümünde etki gösterir. Proapoptotik (*Bak*, *Bax*, *Bad* gibi) ve anti-apoptotik (*Bcl-2*, *Bcl-XL* gibi) protein ailesinden *Bad* ekspresyonunun inhibe edilmesi ve *Bcl-XL* ekspresyonunun indüklenmesi sonucunda hücrenin hayatta kalmasını destekler (Liao vd., 2019; O'Connor vd., 2008).

Kalp kası hücrelerinde apoptotik hücre ölümü kardiyomiyositlerin mitokondriyel fonksiyon kaybına neden olabilir. Aynı zamanda oksidatif strese bağlı olarak gelişen kardiyomiyopati sürecinde miyokardiyal apoptotik hücre ölümü de oluşmaktadır. IGF-1, kardiyomiyositlerin apoptotik hücre ölümünü engellemesinin yanı sıra NO aracılı vazodilatatör etkinliği nedeniyle damar yükünü azaltır ve kardiyak fonksiyonları korur (Fabbi vd., 2015; Matthey vd., 2004).

Oksidan antioksidan homeostazının bozulması sonucunda oksidatif stres oluşur. Hücrel antioksidan sistemlerin önemli bir bileşeni olan glutatyon peroksidaz dolaşım sistemi başta olmak üzere çeşitli dokularda üretilir. IGF-1 özellikle glutatyon peroksidaz ekspresyonu ve aktivitesini artırarak antioksidan aktivite gösterir. Ayrıca süperoksit seviyelerindeki artmaya bağlı olarak endotel tabakası tarafından NO sentezi gerçekleşen hasara karşı da IGF-1 iyileştirici etki gösterir (Ekc vd. 2008; Higashi vd., 2013; Shareef, Anwer, ve Poizat 2014).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Etik Kurul

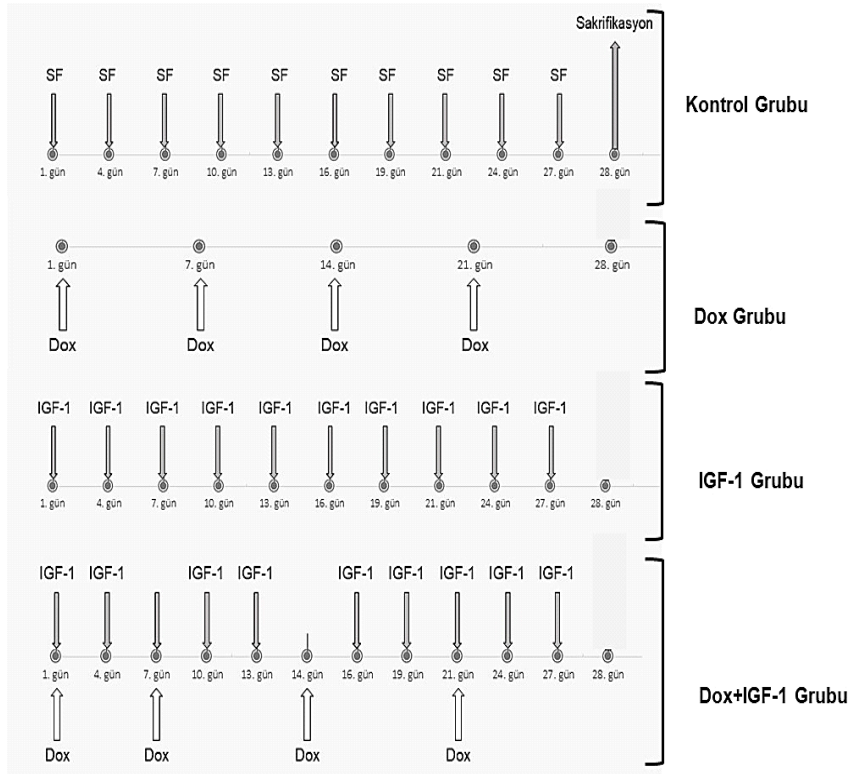
PAUHDEK tarafında 2021/15 numaralı etik kurul onayı alındıktan sonra Wistar albino (2-3 aylık) 32 adet erkek sıçan (250-300 gram) 1 haftalık adaptasyon süresini takiben her grupta 8 deney hayvanı olacak şekilde eşit sayıda 4 gruba ayrıldı. Çalışmaya dahil edilen sıçanlar deney hayvanları ünitesindeki kafeslerinde $22\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $\%50\pm5$ nem ortamında 12 saat karanlık-aydınlık döngüsünde barındırıldı. Beslenme için standart yem ve içme suyu verildi.

3.2. Deney Protokolü

Her grupta 8 deney hayvanı olacak şekilde oluşturulan gruplar ve uygulamaları aşağıdaki gibidir (Şekil 3.1).

- *Kontrol Grubu:* IGF-1 uygulamasına eş hacimde iki gün arayla serum fizyolojik (SF) intraperitoneal (ip) olarak 4 hafta boyunca uygulandı.
- *Dox Grubu:* 4mg/kg/hafta doksorubusin ip olarak 4 hafta boyunca uygulandı.
- *IGF-1 Grubu:* 1 μg /kg iki gün arayla IGF-1 ip olarak 4 hafta boyunca uygulandı.
- *Dox + IGF-1 Grubu:* 4mg/kg/hafta doksorubusin ve 1 μg /kg iki gün arayla IGF-1 ip olarak 4 hafta boyunca uygulandı.

Deney protokolünü takiben son uygulamadan 24 saat sonra Ketamin (80mg/kg) ve Ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altında tüm sıçanların abdominal aortasından kan alınarak sakrifikasyon yapıldı ve kalp dokuları çıkarıldı.



Şekil 3.1 Deney gruplarına göre uygulamaların zaman çizelgesi

3.3. Farmakolojik Ajanlar

Wistar albino erkek sıçanlarda miyokardit modeli oluşturmak için doksorubusin (Koçak Farma, 50 mg) ve tedavi amacıyla IGF-1 (BioLegend Lot: B322231) uygulandı. Deney hayvanlarının sakrifikasyonu öncesinde anestezide Ketamin (Ketax) ve Ksilazin (Xylazinbio) kullanıldı.

3.4. Analiz Örneklerinin Hazırlanması

3.4.1. Kan serumunun hazırlanması

Biyokimya tüplerine aktarılan kan örnekleri 3500 rpm'de 15dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Elde edilen serum ependorf tüplere aktararak ilgili analizlerde kullanmak üzere -80 °C'de saklandı.

3.4.2. Kalp dokusu homojenizatının hazırlanması

Alınan kalp dokularından artık dokular uzaklaştırıldı ve soğuk distile suyla yıkandı. Kalp dokularından 300mg alınarak 3 kez 1mL fosfat tampon salin (PBS) ile yıkandı ve sıvı aspire edilerek ependorf tüpe alındı. Soğuk PBS ve beadler eklenerek Bullet Blender'a yerleştirildi (8 rpm zaman: 4-10 dakika). Elde edilen homojenizatlar ilgili analizlerde kullanmak üzere -80 °C'de saklandı.

3.5. Kuyruk Kan Basıncının Ölçümü

Kuyruk kan basınçları non-invazif bir yöntemle (tail cuff) sıçanların alışma süresi takiben ses ve ışık gibi herhangi bir stres faktörü içermeyen ortamda kuyruk arterlerinden ölçüldü. Kuyruğa takılan basınç probuyla alınan sinyaller Commat may nibp 200-A ünitesi aracılığıyla bilgisayara aktarıldı ve ölçümler Biopac student lab PRO programıyla çizdirilen basınç traseleri üzerinden yapıldı.

Kan basıncı ölçümü sırasında kuyruk arterlerindeki kan akımının kısa bir süre kesilmesi manşet (cuff) ile sağlandı. Kuyruk dibine, basınç probunun önüne konulan ve belirlenebilen bir basınç sağlayacak düzeyde şişen manşetin yavaş yavaş otomatik olarak söndürülmesiyle kan akımı tekrar sağlandı ve arterdeki pulsasyonların proba algılanmasına izin verildi. Kan akımı kesildiğinde, bilgisayarda kaydedilen ölçüm trasesinde basınç pulsasyonları görülmedi. Manşet içindeki basınç sistolik basınç düzeyine geldiğinde artan amplitütte basınç pulsasyonları görülmeye başlandı. Pulsasyonların başladığı nokta sistolik kan basıncını gösteren değer olarak kabul edildi ve trase üzerine manuel olarak işaretlendi. Diastolik kan basıncı otomatik olarak ve sistolik kan basıncı ise manuel olarak kaydedildi. Her bir sıçan için ardışık 5 ölçüm yapılarak en yüksek ve en düşük değerler dışlandı. Sonuçlar kalan 3 değer in ortalaması olarak alındı.

3.6. Biyokimyasal Analizler

Kardiyak hasarın belirteçleri olan Troponin I ve CK-MB seviyeleri Beckman-Coulter AU5800 otoanalizörü (Beckman Coulter, Amerika) kullanılarak kan serumundan spektrofotometrik yöntemle ölçüldü.

3.7. ELISA Yöntemiyle Hasar Parametlerinin Analizi

IL-6 ve TNF-a seviyelerinin ölçümü Bioassay Technology Laboratory'den ticari olarak alınan ELISA kit protokolüne uygun olarak kalp doku homojenatlarından 450nm'de spektrofotometrik yöntem kullanılarak yapıldı.

Total antioksidan durumu (TAS) ve total oksidan durumu (TOS) seviyelerinin ölçümü sırasıyla 660nm ve 530nm'de Rel Assay Diagnostics'ten ticari olarak alınan ELISA kit protokolüne uygun olarak kalp doku homojenatlarından yapıldı. Oksidatif stres indeksi (OSİ) ' $TOS (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent/L}) / TAS (\mu\text{mol Trolox equivalent/L}) \times 100$ ' formülü kullanılarak hesaplandı.

3.8. RT-PCR Yöntemiyle Gen Ekspresyonlarının Analizi

Gen ekspresyon analizi için kalp doku homojenatları kullanılarak sırasıyla total RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve RT-PCR analizi yapıldı. Total RNA izolasyonu, üreticinin protokolüne göre One Step RNA Reagent (BioBasic) kullanılarak yapıldı. Protokole göre; 500 µl doku homojenatı için 1 ml olacak şekilde One Step RNA Reagent eklendi. Sırasıyla 200 µl kloroform ve 500 µl izopropil alkol eklenerek santrifüj edildi. Elde edilen pelet 1 ml etanol ile yıkanarak 60 µl RNaz-DNaz içermeyen su ile çözdürüldü. İzole edilen total RNA'ların konsantrasyonu ve saflığı Nanodrop spektrofotometre ile ölçüldü. Total RNA için beklenen saflık değeri 260/280 oranında 2,0 olarak belirlendi. İzole edilen total RNA'lar cDNA sentezine kadar -80°C'de muhafaza edildi.

cDNA sentezi, OneScript Plus cDNA sentez kit kullanılarak üreticinin protokolüne göre yapıldı. cDNA sentezi için karışımında her örnek 2000 ng total RNA içeren konsantrasyonda alındı ve son hacim 20 µl'ye RNaz-DNaz içermeyen su ile tamamlandı. cDNA sentezi reaksiyon şartları 55°C' de 15 dakika ve 85°C'de 5 dakika olarak Thermal Cycler cihazında yapıldı. Gen ekspresyonlarının analizi BlasTaq 2X qPCR MasterMix kiti kullanılarak üretici firmanın protokolü doğrultusunda StepOnePlus Real-Time PCR (Applied Biosystems) cihazı kullanılarak yapıldı. RT- PCR'da kullanılan primerler Bio Basic Canada'dan temin edildi. PCR verilerin analizi $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanılarak Gene Globe platformunda 'RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis' programında yapıldı.

3.9. Histopatolojik Yöntem

Sıçanlardan alınan kalp örnekleri %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içinde tespit edildi. İki gün formaldehit tespitinin ardından örnekler doku takip kasetlerine yerleştirildi. Her bir kasete grup ve hayvan numarası yazılarak tekrar formaldehite konuldu. Bir gece daha formaldehitte bekletilen kalp örnekleri ertesi gün akşam rutin histopatolojik doku takibi amacıyla tam otomatik doku takip cihazının sepetine dizilerek (Leica ASP300S; Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) cihaza yerleştirildi. Günlük doku takip programına ayarlanarak doku takip işlemi gerçekleştirildi. Bu amaçla kasetler cihaz içerisinde gece boyunca düşük dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere (%70'den %100'e) geçirilerek dokudaki sularının alınması, iki adet ksilolden geçirilerek organlardaki yağın alınması ve sıcak parafine atılarak doku boşluklarına parafinin yerleşmesi sağlandı.

Ertesi sabah takibi tamamlanan doku örneklerinin blokajları yapıldı. Bu amaçla örnekler ototeknikon cihazından alınarak blokaj işlemi için doku gömme cihazının (Leica Histocore Arcadia H) sıcak bölümüne alındı ve parafine blokajları yapıldı. Ardından bloklar parafin cihazının soğuk tabla bölümüne yerleştirildi ve burada bir saat tutularak parafinin donması sağlandı. Bloklardan 4-5 saat soğutulmanın ardından Leica 2155 model tam otomatik rotary mikrotomda (Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) 5 mikron kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitlerin kuruması için bir gece oda ısısında bekletildi.

Kesitler bir gün sonra hematoksilin-eozin (HE) boyama için köprülere dizilerek boyama prosedürüne geçildi. Öncelikle kesitler üzerindeki parafinin erimesi ve dokuların lam üzerine daha iyi yapışması için 60°C'de 2 saat etüvde bekletildi. Daha sonra kalan parafinin uzaklaştırılması için 30'ar dakika süre ile 3 ayrı ksilol serisinden geçirildi. Ardından sırasıyla %100, 96, 90, 80 ve 70'lik alkollerden geçirilerek dokulara su verildi. Daha sonra hematoksilinle 15 dakika boyanıp distile su ile yıkandıktan sonra eozinle 3 dakika süreyle boyandı. Bunun ardından sırasıyla %70, 80, 90, 96 ve 100'lük alkollerden geçirilen dokuların suyu alındı. Ksilolde parlatılan dokuların üzerine entellan damlatılarak lamel yapıştırıldı. Boyamanın ardından bir gün kurutulan kesitler mikroskop altında incelenmeye hazır hale getirildi. Olympus CX21 model ışık mikroskobunda incelenen preparatlar Olympus DP26 model kamera ile mikroskobik dijital fotoğraflar çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı.

Yangısal reaksiyonun şiddet ve derecesi mikroskobik bulgulara göre Tablo 3.1'de verildiği gibi skorlandı. Morfometrik analizler ve microfotografi için Database Manual Cell Sens Life Science Imaging Software System (Olympus Co., Tokyo, Japan) kullanıldı.

Tablo 3.1 Kalp lezyonlarının histopatolojik skorları

0	1	2	3
Lezyon yok	Hafif hiperemi ve ödem, endotellerde hafif hipertrofi	Belirgin hiperemi, ödem mikrokanamalar	Myoardial hücrelerde dejenerasyon, yangısal hücre infiltrasyonları, fibrozis

3.10. İmmunohistokimyasal Yöntem

İmmunohistokimyasal analiz için iki seri kesit alındı ve Poli-L-lizinli lamlara çekildi. Kesitler Kaspaz-3 (*Anti-caspase-3 Antibody (E-8): sc-7272*) ve ICAM-1 (*ICAM-1 (M/K-2):sc-18864, 1/100 dilüsyon*) Santa cruz (Texas, USA) ekspresyonlarının değerlendirilmesi için streptavidin-biyotin kompleks peroksidaz yöntemine göre boyandı. Bu amaçla önce kesitler bir gece 45°C sıcaklıktaki etüvde bekletilerek lam üzerine kesitlerin daha iyi yapışması sağlandı. Ardından ksilolden geçirilen kesitler üzerindeki parafin uzaklaştırıldı ve dereceli alkollerden geçirilerek (%100'lükten %70'lik alkole) dokuların rehidrasyonları sağlandı. Lamlar son alkolden alındıktan sonra distile su içinde 10 dakika süre ile bekletildi. Bu aşamanın ardından doku kesitleri nemli kamara içine alındı ve sitrat tampon solüsyonu ile mikrodalga fırında kaynatma işlemi dışındaki tüm aşamalar nemli kamarada içinde gerçekleştirildi.

İmmunohistokimyasal boyama işlemi için kesitler endojen peroksidaz aktivitesini uzaklaştırmak amacıyla metanolde hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksit solüsyonu içinde 20 dakika süre ile bekletildi. Daha sonra doku kesitleri sitrat buffer solüsyonunun içerisine alındı ve beşer dakika süreyle iki defa mikrodalga fırında kaynatılmaları sağlandı. Ardından 2 kez PBS yıkamaları yapıldı. Dokularda şekillenebilecek non-spesifik bağlanmaları uzaklaştırmak amacı ile kesitler üzerine normal keçi serumu konularak 45 dakika inkübe edilmeleri sağlandı. İnkübasyon tamamlandıktan sonra yıkama yapılmadan protein bloğun fazlası atıldı ve kesitler üzerine primer antikörler damlatılarak +4°C'de gece boyunca bekletildi.

Ertesi gün kesitler tekrar PBS ile yıkandı ve üzerlerine streptavidin damlatılarak 30 dakika süre ile inkübasyon yapıldı. Bu süre sonunda PBS ile iki defa yıkama işlemi yapıldı. Daha sonra kesitler üzerine biyotinli serum damlatılıp 30 dakika süre ile muamele edildikten sonra tekrar PBS içinde iki defa daha yıkandı. Ardından doku kesitlerin üzerine 3,3'-

diaminobenzidin tetrahidroklorid (DAB) kromojen damlatılarak şekillenen reaksiyonun görünür hale getirilmesi sağlandı. Daha sonra Harris hematoksilen boyası ile karşıt boyama yapılarak işlem sonlandırıldı. Tüm bu aşamaların ardından kesitlerin üzerine lamel kapatılıp ışık mikroskobunda incelemeye hazır hale getirildi.

İmmünohistokimyasal analiz için, her iki antikor için kesitler ayrı ayrı incelendi. Hücrelerin belirteçlerle immünohistokimyasal reaksiyonunun şiddetini değerlendirmek için, (0) ile (3) arasında değişen bir skorumla kullanıldı. Bu amaçla (0) = negatif, (1) = fokal hafif boyanma, (2) = yaygın hafif boyama, (3) = yaygın şiddetli boyama olarak değerlendirildi. Değerlendirme için her bölümde 40X objektif büyütme altında 10 farklı alan incelendi. Morfometrik analizler ve mikrofotografi Database Manual Cell Sens Life Science Imaging Software System (Olympus Co., Tokyo, Japonya) kullanılarak yapıldı.

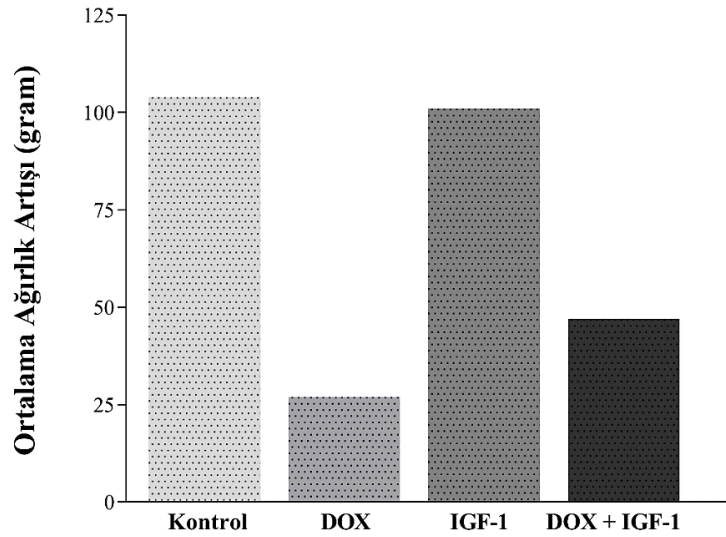
3.11. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS (18. versiyon) paket programında Two-way ANOVA ve post-hoc Bonferroni testi kullanıldı. Gen ekspresyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Student t-testi kullanıldı. Histopatolojik ve immünohistokimyasal skorların istatistik analizi için SPSS-22.00 paket program kullanılarak gruplar arası farklar Duncan testi ile belirlendi. Tüm analizlerdeki anlamlılık değeri $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hayvan Ağırlığı Bulguları

Deney protokolünün başında sıçanların ortalama ağırlıkları 265 gram olarak ölçüldü. 30 günün sonunda ağırlık artışı en çok kontrol grubunda ve en az doksorubusin uygulanan grubunda saptandı (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Deney gruplarının ortalama ağırlık artışı

4.2. Kuyruk Kan Basıncı Bulguları

Doksorubusin uygulanan grupta diğer gruplara kıyasla kuyruk kan basıncı değerleri anlamlı seviyede azaldı ve kalp atım hızı anlamlı seviyede arttı. Dox +IGF-1 grubunda uygulanan IGF-1 tedavisi sonrasında ortalama kan basıncı ve kalp atım hızı seviyelerinde anlamlı değişiklikler ve iyileşme oldu (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Ortalama kan basıncı ve kalp atım hızı

	KONTROL	DOX	IGF-1	DOX+IGF-1
Ortalama kan basıncı (mm-Hg)	120,75± 1,7 ^b	104± 1,8 ^a	121,05± 1,9 ^b	114,25± 0,9 ^{ab}
Kalp atım hızı (bpm)	327,56± 2,9 ^b	383± 1,8 ^a	319,5± 2,3 ^{ab}	347,75± 3,9 ^{ab}

Veriler ortalama $\pm$ S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir (a: Kontrol grubuna göre ve b: Dox grubuna göre; $p < 0.05$).

4.3. Biyokimya Bulguları

Doksorubusin uygulanan grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kardiyak hasarın göstergesi olan serum CK-MB ve Troponin-I seviyeleri anlamlı olarak arttı. Dox grubuyla karşılaştırıldığında Dox +IGF-1 grubunda CK-MB ve Troponin-I seviyeleri anlamlı olarak azaldı (Tablo 4.2).

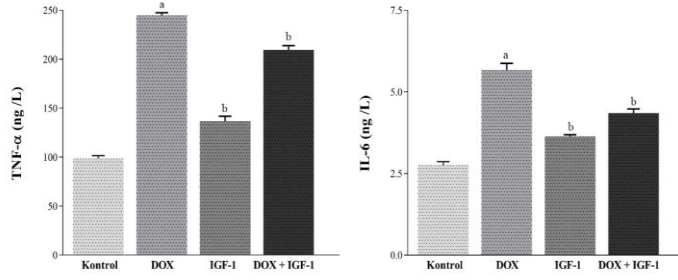
Tablo 4.2 Serum CK-MB ve Troponin-I seviyeleri

	KONTROL	DOX	IGF-1	DOX+IGF-1
CK-MB (U/L)	505,5± 5,82 ^b	957,8± 21,43 ^a	514,5± 7,38 ^b	793 ± 5,16 ^{ab}
Troponin-I (ng/ml)	1,123± 0,15 ^b	5,411± 0,09 ^a	1,276± 0,30 ^b	2,82 ± 0,34 ^{ab}

Veriler ortalama $\pm$ S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir (a: Kontrol grubuna göre ve b: Dox grubuna göre; $p < 0.05$).

4.4. ELISA Analizi Bulguları

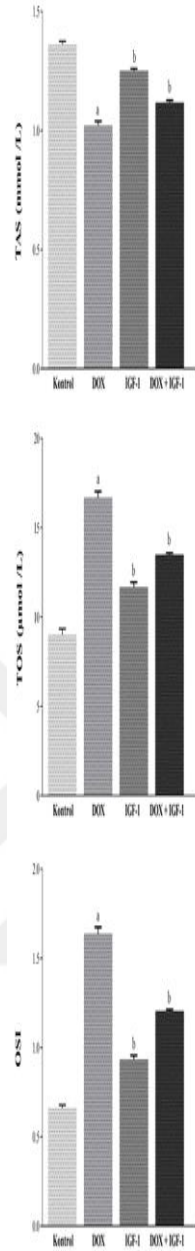
Doksorubusin uygulanan grupta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TNF- α ve IL-6 seviyeleri anlamlı olarak arttı. Dox grubuyla karşılaştırıldığında Dox +IGF-1 grubunda TNF- α ve IL-6 seviyeleri anlamlı olarak azaldı ($p < 0.05$). Sadece IGF-1 uygulanan grupta TNF- α ve IL-6 seviyeleri Dox grubuna göre anlamlı olarak azaldı. Kalp dokusunda inflamasyon göstergesi olan TNF- α ve IL-6 seviyeleri Şekil 4.2' de verildi.



Şekil 4.2 Sıçan kalp dokularında inflamasyon parametreleri

Veriler ortalama $\pm$ S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir (a: Kontrol grubuna göre ve b: Dox grubuna göre; $p < 0.05$).

Kalp dokusunda oksidatif hasar ile ilişkili TAS, TOS ve OSI seviyelerindeki değişiklikler Şekil 4.3'de verildi. Dokсорubusin uygulanan grupta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TOS ve OSI seviyeleri anlamlı olarak arttı ve TAS seviyesi anlamlı olarak azaldı ($p < 0.05$). IGF-1 ve Dox +IGF-1 gruplarında, Dox grubuyla karşılaştırıldığında, TOS ve OSI seviyeleri anlamlı olarak azalırken TAS seviyesi anlamlı olarak arttı. ($p < 0.05$).

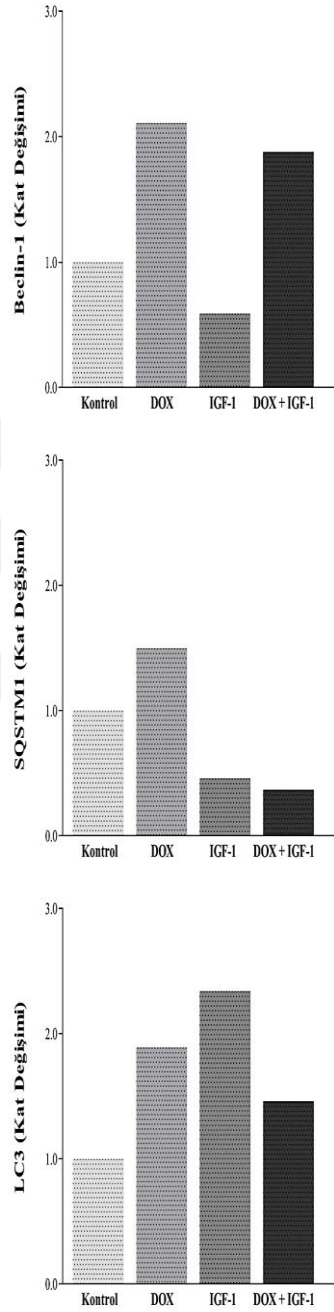


Şekil 4.3 Sıçan kalp dokularında oksidatif hasar parametreleri

Veriler ortalama $\pm$ S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir (a: Kontrol grubuna göre ve b: Dox grubuna göre; $p < 0.05$).

4.5. Gen Ekspresyonu Bulguları

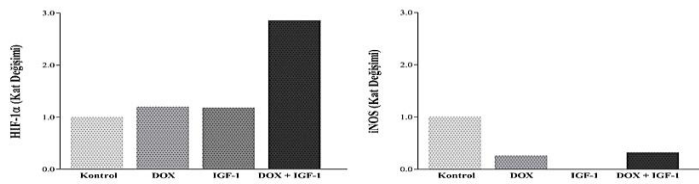
Kalp dokusunda otofajik hücre ölümü ilişkili gen ekspresyonu bulguları Şekil 4.4'de verildi.



Şekil 4.4 Kalp dokularında otofajik hücre ölümü ilişkili gen ekspresyonları

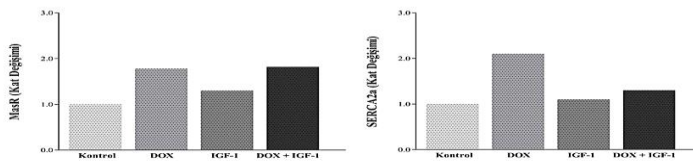
Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Dox grubunda *Beclin-1*, *SQSTM1* ve *LC3* gen ekspresyonları arttı ($p<0.005$). Sadece IGF-1 uygulanan grupta *Beclin-1* ve *SQSTM1* gen ekspresyonları azalırken *LC3* ekspresyonunda arttı. Dox grubuyla karşılaştırıldığında Dox +IGF-1 grubunda *Beclin-1*, *SQSTM1* ve *LC3* ekspresyonları azaldı.

Kalp dokusunda oksidatif hasar ilişkili gen ekspresyonu bulguları Şekil 4.5’de verildi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Dox grubunda anlamlı olarak *HIF-1 α* gen ekspresyonu artarken *iNOS* gen ekspresyonu azaldı ($p<0.05$). Sadece IGF-1 uygulanan grupta *HIF-1 α* gen ekspresyonu arttı ancak *iNOS* gen ekspresyonunda bir değişiklik saptanmadı. Dox grubuyla karşılaştırıldığında Dox +IGF-1 grubunda *HIF-1 α* ve *iNOS* gen ekspresyonu arttı.



Şekil 4.5 Kalp dokularında oksidatif hasar ilişkili gen ekspresyonu bulguları

Kalp dokusunda *MasR* ve *SERCA2a* gen ekspresyonu bulguları Şekil 4.6’da verildi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Dox grubunda *MasR* ve *SERCA2a* gen ekspresyonu arttı ($p<0.005$). Dox grubuyla karşılaştırıldığında Dox +IGF-1 grubunda *MasR* gen ekspresyonu azaldı.



Şekil 4.6 Kalp dokularında MasR ve SERCA2a gen ekspresyonu bulguları

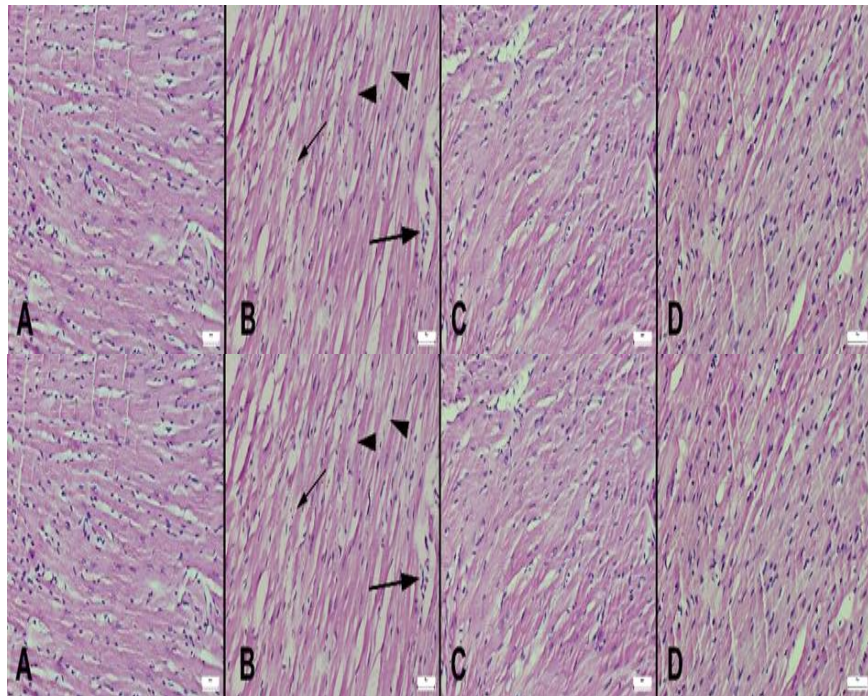
4.6. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değerlendirme sırasında kontrol ve IGF-1 gruplarında normal doku histolojisi gözlemlendi. Dox grubunda kalp dokularında şiddetli hiperemi, ödem, hafif veya orta şiddette kanamalar ve inflamatuvar hücre infiltrasyonları görüldü. IGF-1 tedavisi kalp dokularında patolojik bulgularının düzelmesini sağladı (Tablo 4.3 ve Şekil 4.7).

Tablo 4.3 Grupların histopatolojik skorlarının istatistik analiz sonuçları

	Histopatolojik skorlar
Kontrol	0.00±0.00 ^a
Dox	1.85±0.89 ^b
IGF-1	0.00±0.00 ^a
Dox+ IGF-1	0.28±0.18 ^a
p değeri	<0.001

Veriler ortalama ± S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

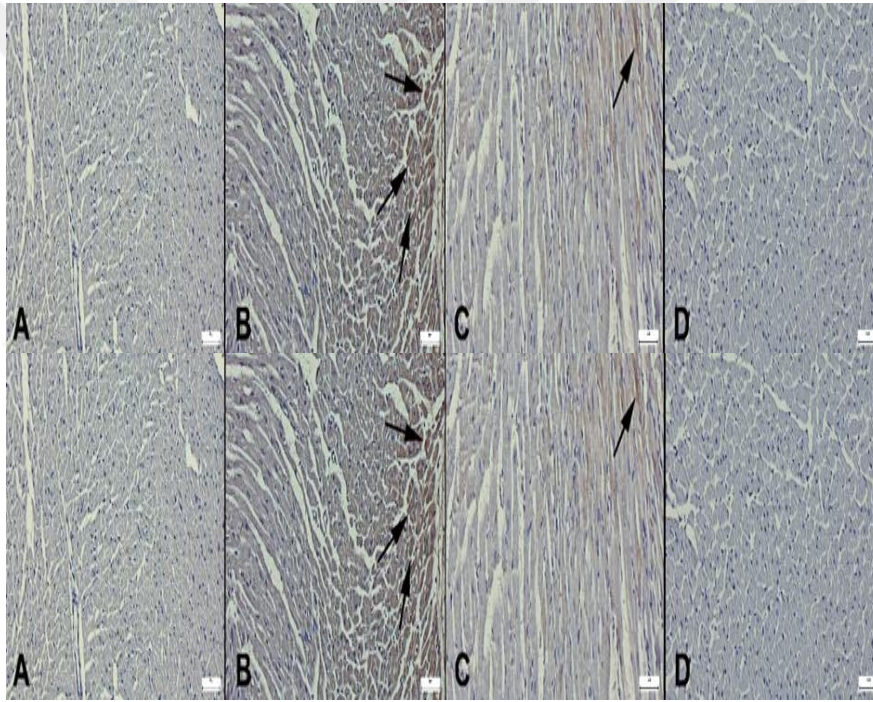


Şekil 4.7 Histopatolojik bulgular

(A) Kontrol grubunda normal doku histolojisi. (B) Dox grubundan bir sıçanda kalpte şiddetli ödem (ok başı), mikrohemorajiler (ince ok) ve hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonları (kalın ok). (C) Dox+ IGF-1 grubunda mikroskopik bulgulara belirgin iyileşme. (D) IGF-1 grubunda normal kalp histolojik görünümü (HE, barlar=50µm).

4.7. İmmünohistokimyasal Bulgular

İmmünohistokimyasal incelemede Dox grubunda hem Kaspaz-3 hem de ICAM-1 ekspresyonlarında artış gözlemlendi. IGF-1 tedavisi, her iki belirteçte de azalmaya sebep oldu. Ekspresyonlar en yaygın olarak miyokardiyal hücrelerde görüldü (Şekil 4.8-4.9). Gruplara göre immünohistokimyasal skorların istatistik analizi Tablo 4.4 ve Tablo 4.5’de gösterildi.



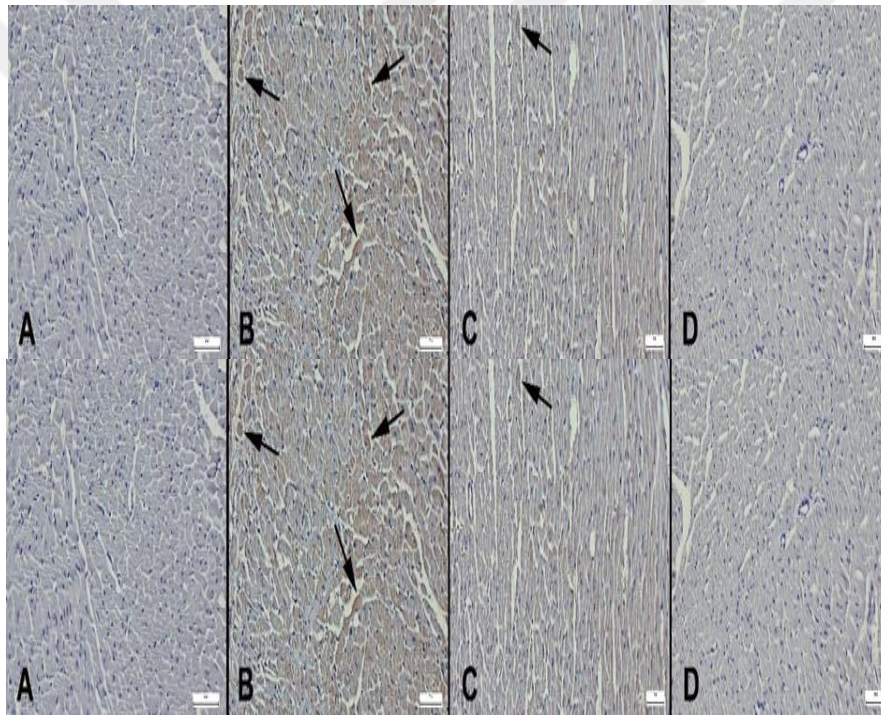
Şekil 4.8 Kaspaz-3’ün immünohistokimyasal bulguları

(A) Kontrol grubunda negatif ekspresyon. (B) Dox grubundaki miyokardiyal hücrelerde belirgin ekspresyon (oklar). (C) Dox+ IGF-1 grubunda azalan ekspresyon (ok). (D) IGF-1 grubunda negatif ekspresyon (Streptavidin biotin peroksidaz yöntemi, barlar=50µm).

Tablo 4.4 Kaspaz-3'ün immunohistokimyasal skorları

	Kaspaz-3
Kontrol	0.00±0.00 ^a
Dox	1.57±0.53 ^b
IGF-1	0.00±0.00 ^a
Dox+IGF-1	0.42±0.20 ^a
p değeri	<0.001

Veriler ortalama $\pm$ S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

**Şekil 4.9** ICAM-1'in immünohistokimyasal bulguları

(A) Kontrol grubunda negatif ekspresyon. (B) Dox grubunda orta düzeyde ekspresyon. (C) Dox+ IGF-1 grubunda miyokardiyal hücrelerde (ok) azalmış ekspresyon. (D) IGF-1 grubunda negatif ekspresyon (Streptavidin biotin peroksidaz yöntemi, barlar=50μm).

Tablo 4.5 ICAM-1'in immunohistokimyasal skorları

	ICAM-1
Kontrol	0.14±0.14 ^a
Dox	1.42±0.53 ^b
IGF-1	0.00±0.00 ^a
Dox+IGF-1	0.57±0.20 ^c
p değeri	<0.001

Veriler ortalama ± S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Miyokardit enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz faktörler sonucunda ortaya çıkan yüksek morbitide ve mortaliteye sahip inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığa yönelik spesifik bir tedavi olmamakla birlikte destekleyici bakım ve semptomatik tedavi uygulanmaktadır. Nonenfeksiyöz faktörler arasında en sık karşılaşılan farmakolojik ajan antrasiklinler grubunda yer alan doksorubisindir (Fadillioğlu vd., 2004; Simmons, Vacek, ve Meyers 2015). Doksorubisin anti-tümöral etkinliği nedeniyle uzun yıllardır kemoterapide kullanılan etkili bir ilaçtır (Havelka vd. 2007). Ancak kemoterapi sonrasında yaklaşık %20 oranında ortaya çıkan kardiyotoksik yan etkiler kullanımını sınırlandırmaktadır. Kardiyotoksitenin temelinde ise apoptotik hücre ölümü ve oksidatif stres yer almaktadır (Lotrionte vd., 2013). Yapılan çalışmalarda kardiyotoksitenin profilaktik veya terapötik tedavisinde antioksidan etkili ajanların kullanılabileceğini bildirilmiştir (Bast vd. 2007; Bryant vd., 2007). IGF-1 kardiyak fonksiyonların ve homeostazın korunmasında önemli role sahip olan antioksidan, anti-apoptotik ve anti-inflamatuvar etkili bir ajandır. Deneysel multiple skleroz, romatoid artrit, diyabet, miyokardiyal iskemi ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları modellerinde terapötik etkisi gösterilmiştir (Hijikawa vd., 2008; Todorović vd., 2008; Ungvari ve Csiszar 2012).

Literatüre dayanarak yapılan tez çalışmasında sıçanlarda doksorubisin ile indüklenen miyokardit modelinde IGF-1'in terapötik etkisi ve etki mekanizmalarının araştırılması amaçlandı. Bu amaçla Wistar albino erkek sıçanlara doksorubisin uygulaması yapılarak miyokardit modeli oluşturuldu ve 4 hafta boyunca terapötik ajan olarak IGF-1 uygulandı. Deney protokolü başlangıcında ve sonunda deney hayvanlarının ağırlık, kan basıncı ve kalp atım hızı seviyeleri ölçüldü. Deney protokolünün sonlanmasını takiben alınan kan örneklerinden ve kalp dokusu örneklerinden kardiyak hasarın göstergesi olan Troponin-I ve CK-MB seviyelerine ölçüldü. Alınan sıçan kalp dokularında ELISA yöntemiyle inflamasyon ilişkili IL-6 ve TNF-a seviyeleri ile oksidatif hasar ilişkili TAS, TOS ve OSI seviyeleri; RT-PCR yöntemiyle *Beclin-1*, *SQSTM1*, *LC3*, *HIF-1α*, *iNOS*, *MasR* ve *SERCA2a* gen ekspresyonları; histopatolojik değerlendirmeleri, Kaspaz-3 ve ICAM-1'in immünohistokimyasal skorlamaları analiz edildi.

Doksorubisin tedavisi sırasında iştahta azalma ve kusma gibi yan etkiler nedeniyle vücut ağırlığında azalma meydana gelebilir (von Hoff vd., 1979; Shaker vd., 2018).

Doksorubusin uygulaması sonrasında kardiyotoksik bulgularla doğru orantılı olarak sıçan ağırlıklarında azalma olduğu gösterilmiştir (Garcia-Fernandez vd. 2011; Y. Zhang vd. 2021). Doksorubisinle indüklenen kardiyotoksiste modellerinde sıçan vücut ağırlığına paralel olarak kalp ağırlığında da azalma meydana gelmiştir (Bertinchant vd., 2003; Zare vd., 2019).

Yapılan tez çalışmasında kontrol grubuna kıyasla doksorubusin uygulanan grupta literatüre benzer şekilde ortalama sıçan ağırlıkları % 25 oranında azaldı ve IGF-1 tedavisinin uygulanması bu oranı arttırdı. IGF-1'in protein, lipid ve karbonhidrat metabolizmasında anabolik etkilerinin olduğu ve büyümeyi desteklediği bildirilmiştir (Le Roith vd., 2001). Sadece IGF-1 uygulanan grup ağırlık ortalamaları kontrol grubuyla benzerlik gösterdi. Bu nedenle ip yolla IGF-1 uygulamasının vücut ağırlığı üzerinde anlamlı bir değişime neden olmadığı ve kilo kaybını önlediği söylenebilir.

Doksorubisine bağlı kardiyotoksitede kan basıncı değişikliği ve aritmi gibi semptomatik belirtilerin yanı sıra kardiyomiyopati ve sol ventrikül fonksiyon baskılanması gibi ciddi etkiler de görülebilir (Maciej Serda vd. 2004; Minotti vd. 2004). Weinstein ve ark. yaptığı çalışmada tek doz ip 20 mg/kg doksorubusin uygulaması sol ventrikül kasılma fraksiyonunda ve kardiyak atım hızında belirgin değişiklik göstermiştir (Abuosa vd., 2018) Bu nedenle kalp atım hızı ve kan basıncının ölçümü toksiste modelinin değerlendirilmesinde yardımcı parametrelerdir.

IGF-1 uygulamasının akut ve kronik dönemde kardiyovasküler sistem üzerinde kalsiyum geçişini artırarak pozitif inotropik etki oluşturduğu ve kardiyomiyositlerde apoptotik hücre ölümünü baskılayarak kardiyak fonksiyonları iyileştirdiği bildirilmiştir (Drogan vd. 2016). Klinik araştırmalarla IGF-1'in iskemik kalp hastalığı olan bireylerde kan basıncının olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (Anastasilakis vd., 2019; Haleagrahara, Chakravarthi, ve Mathews 2011). Kardiyak hasar sonrasında köpekler üzerinde yapılan çalışmalarda IGF-1 tedavisi kan basıncı, kalp debisi ve atım hacminde %50 oranında iyileşme göstermiştir (Mahmoudabady vd., 2009; Pedersen vd. 2005). Kronik sol ventrikül hasarına karşı sıçanlarda 4 hafta boyunca uygulanan IGF-1 tedavisinin sistemik vasküler direnci azalttığı ve kalp debisinde artma meydana getirdiği bildirilmiştir (Liao vd., 2019).

Yapılan tez çalışmasında kontrol grubuna göre doksorubusin uygulamasının ortalama kan basıncı değerini azalttığı ve kalp atım hızını arttırdığı bulundu. Sadece IGF-1 verilen grupta kalp atım hızı ve kan basıncı parametrelerinde anlamlı bir farklılık oluşmadı ancak miyokardit tedavisi olarak uygulanan IGF-1 bu parametreleri normal düzeye yaklaştırdı. Bu

nedenle IGF-1 uygulamasının kalp atım hızı ve kan basıncı üzerinde olumsuz bir etki göstermediği ve miyokardit tedavisinde IGF-1 uygulamasının kardiyak hasarı azaltılabileceği gösterildi.

Miyokardit hasarına bağlı olarak miyositlerde meydana gelen nekroz sonucunda kardiyak hasarın göstergesi olarak bilinen CK-MB ve Troponin-I benzeri enzimlerin seviyeleri artar. Bu nedenle yapılan tez çalışmasında doksorubusine bağlı hasarın değerlendirilmesinde kan serumu CK-MB ve CK-MB ve Troponin-I seviyeleri değerlendirilmiştir. CK-MB sağlıklı dönemde kanda düşük seviyede bulunan ve kalp hasarının akut döneminde belirgin şekilde bir artış gösteren izoenzimdir. Doksorubusine indüklenen toksisitede CK-MB seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir (Sangomla vd. 2018; Songbo vd. 2019). Doksorubusin ile indüklenen farklı kardiyotoksikite modellerinde Troponin-I seviyelerinin asemptomatik dönemde bile arttığı ve bu nedenle kardiyotoksitenin belirlenmesinde önemli bir parametre olduğu belirtilmiştir (Bertinchant vd. 2003; Shaker vd. 2018; Zilinyi vd. 2018). Kardiyak hasarın oluşturulduğu çeşitli deneysel çalışmalarda artan Troponin-I seviyesinin antioksidan kullanımı ile azaltılabileceği gösterilmiştir (Atteya vd., 2017; Savaş Gül ve Aygün 2019).

IGF-1 uygulamasının sıçan miyokardiyal iskemi hasarında miyokardiyal enfarktüs boyutuyla birlikte CK-MB seviyesinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Liao vd., 2019). Klinik araştırmalarda ise iskemik kalp hastalığı olan bireylerle kandaki IGF-1 ile CK-MB seviyeleri arasında ters orantılı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Anastasilakis vd. 2019; Haleagrahara, Chakravarthi, ve Mathews 2011). Yapılan tez çalışmasında literatür ile uyumlu olarak doksorubusin uygulamasının CK-MB ve Troponin-I seviyelerinde artışa neden olduğu bulundu. Bir antioksidan ajan olarak kabul edilen IGF-1 tedavisinin ise CK-MB ve Troponin-I seviyelerinde azalma sonucunda iyileştirici etkisi gösterildi.

Miyokardit hasarında immün sistem tarafından kardiyak miyozin aracılı makrofaj ve lenfosit otoreaktivasyonu gerçekleşir. Hedef organa makrofaj ve lenfositlerin ulaşması sonucunda IL-6, IL-1 β , TNF- α ve IFN- γ gibi inflamatuvar sitokinlerin seviyesi artar ve eş zamanlı olarak inflamasyon indüklenir. Miyokarditin akut fazından itibaren kalp dokusunda IL-6, IL-1 β ve TNF- α seviyelerinde belirgin artış görülür (Eriksson vd., 2003; Okura vd. 1997). Doksorubusine indüklenen deneysel miyokardit modellerinde TNF- α ve IL-6 başta olmak üzere inflamatuvar sitokin seviyelerinin arttığı ve tedavide kullanılan melatonin, taurin, kateşin ve karvedilol gibi ajanların sitokin seviyesini azalttığı bildirilmiştir (El-Aziz vd., 2012; Galano, Tan, ve Reiter 2013; Sari vd., 2011).

Proinflamatuvar sitokinler tarafından IGF direncinin uyarılması apoptotik hücre ölümünün indüklenmesinden tümör hücrelerinde proliferasyonun inhibe edilmesine kadar birçok hücrel süreç uyarır. Aynı zamanda IGF-1 seviyesindeki değişiklikler de hücre içi ikincil sinyal yolları aracılığıyla sitokin salınımını etkiler (O'Connor vd., 2008; Schillaci vd., 1998). Bu nedenle immün sistemin elemanları olan sitokinler ve IGF-1 arasında bir homeostazın olduğu söylenebilir. Klinik bir araştırmada yanık tedavisinde IGF-1 uygulanan vakalarda C-reaktif protein, α 1-asit glikoprotein, TNF- α ve IL-1 β seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (Jeschke, Barrow, ve Herndon 2000).

Yapılan tez çalışmasında sıçan kalp dokusunda doksorubusinle indüklenen miyokardit hasarında TNF- α ve IL-6 inflamatuvar sitokin seviyeleri anlamlı bir şekilde arttı. Miyokardit tedavisinde uygulanan IGF-1 sitokin seviyelerinde anlamlı bir azalmaya neden oldu. Sadece IGF-1'in uygulanması sitokin seviyelerinde belirgin bir artış göstermedi. Bu nedenle IGF-1'in miyokardit hasarına karşı anti-inflamatuvar etkinlik gösteren güvenli bir farmakolojik ajan olduğu söylenebilir.

Oksidatif hasar, oksidan ve antioksidan homeostazının bozulması veya toplam oksidan seviyesinin artması sonucunda ortaya çıkarak lipid peroksidasyonu ve apoptotik hücre ölümüne neden olur. Reaktif oksijen türlerinin mitokondride üretimi oksidan seviyesindeki artışın en önemli nedenlerinden biridir. Mitokondri bakımından diğer dokulara kıyasla daha zengin olan kardiyomiyositler oksidatif hasara karşı kalp hücrelerinin duyarlılığını artırır (Özdemir vd., 2020; Sangomla vd., 2018; Songbo vd., 2019). Ancak doku ve serum örneklerinde farklı türde oksidan ve antioksidan bileşenlerinin bulunması oksidatif hasarın değerlendirilmesini etkilemektedir. Bu nedenle toplam oksidan ve antioksidan kapasitenin dokudan ölçümü ve oksidatif stres indeksinin tespit edilmesi önem taşımaktadır (Cao ve Prior 1998).

Kardiyomiyositlerdeki doksorubusin hasarı mekanizmalarından biri topoizomerez-II enzim aktivitesinin inhibisyonuna bağlı reaktif oksijen türlerinin oluşumudur (S. Zhang vd. 2012). Doksorubusin NOS izoformlarını indirgeyerek yüksek seviyede NO oluşturur. NO ise süper oksit anyonu ile reaksiyona girerek oksidan etkiye sahip peroksinitrit seviyesinde artışa neden olur. Bunun sonucunda hücrel yapılar oksitlenerek miyokardiyal oksidatif hasar ve apoptotik hücre ölümüne neden olur. Yapılan birçok çalışmada doksorubisinle indüklenen kardiyotoksitenin patofizyolojisinde kalp dokusundaki oksidatif hasarın sorumlu olduğu ve çeşitli antioksidan ajanların tedavide kullanılabileceği gösterilmiştir (Adams vd., 1999; Förstermann ve Sessa 2012; Igarashi vd., 1998).

IGF-1'in oksidatif hasar ile ilişkisini araştıran çalışmalar sonucunda beyin ve karaciğer dokularında oksidatif hasarı azalttığı, antioksidan enzim seviyelerini arttırdığı, NO biyoyararlanımını ve mitokondriyal disfonksiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (Bailey-Downs vd., 2012; Castilla-Cortázar vd. 2011). Yapılan tez çalışması kapsamında doksorubusin uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla TOS seviyesi ve OSI değerinde anlamlı bir artış görüldü. TAS seviyesindeki anlamlı azalma sonucunda oksidatif hasar desteklendi. Hasara karşı IGF-1 tedavisi oksidatif hasarın iyileşmesini sağladı. Sadece IGF-1 verildiğinde görülen artışın inflamasyon aracılı olduğu ve hücrel stres nedeniyle olduğu düşünüldü.

NOS nöronal, endotelial ve indüklenabilir olarak (sırasıyla nNOS, eNOS ve iNOS) 3 izoforma sahiptir. Ekspresyonları sonrasında eNOS endotelial hücreler ve trombositlerde bulunurken iNOS vasküler düz kas hücreleri, endotelial hücreler, makrofajlar ve kardiyomiyositlerde bulunur. iNOS hücre içi düşük kalsiyum seviyesinde dinlenme durumunda bulunurken, inflamasyon ve oksidatif stres sonucunda uyarılır ve ekspresyonu artar (Förstermann ve Sessa 2012; Schulz vd. 2005).

Doksorubusin ile indüklenen kardiyotoksik modellerde *iNOS* ekspresyonunun kalp kasılma gücü ile ters orantılı ve inflamasyonla doğru orantılı bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Doksorubusin ile birlikte antioksidan ajan uygulandığında ise *iNOS* ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (Okura vd. 1997). *iNOS*'un aşırı ekspresyonu miyokardiyumda inflamasyonla birlikte kardiyak depresyona neden olurken kardiyak hasarın ileri evrelerinde *iNOS*'un aşırı ekspresyonu ortadan kalkar (Busse, Fleming, ve Schini 1995; Jung vd. 2000; Schulz vd. 2005; Ungureanu-Longrois vd. 1995). Yapılan bazı çalışmalar *iNOS*'un miyokard enfarktüsü sonrasında aşırı ekspresyonunu ve 3 gün sonrasında ekspresyonun hızla azaldığını bildirmiştir (Prabhu vd., 2000; Takimoto vd., 2000). Bu nedenle kardiyovasküler hastalıklarda *iNOS* hastalığın evresi, tespit edildiği doku ve diğer faktörlere bağlı olarak hasarın veya tedavinin göstergesi olabilir. Yapılan tez çalışmasında *iNOS* ekspresyonu Doksorubusin uygulanan gruplarda azaldı. Literatüre dayanarak şiddetli hasar sonrasında ekspresyonun hızlı bir şekilde azaldığı söylenebilir.

HIF-1 α oksijen seviyesinin azaldığı hipoksik koşullarda iskemi ve oksidatif hasara karşı genlerin aktivasyonunu sağlayan bir adaptasyon mekanizmasıdır (Ciurea vd., 2013; Wu vd., 2016). Yapılan araştırmalar yaşa bağlı olarak IGF-1 seviyesindeki azalmanın *HIF-1 α* ile ters orantılı bir ilişkisinin olduğunu bildirmiştir (Bailey-Downs vd., 2012). IGF-1 ekseninin vazoproteksiyon ve kardiyoprotektif aktivite göstererek kardiyovasküler sistem üzerinde yapısal ve fonksiyonel bütünlüğü koruduğu bilinmektedir. Etki mekanizmasına yönelik

hipotezlerden biri *HIF-1 α* aracılı VEGF ekspresyonunun düzenlenmesidir (Billemont vd. 2008). Yapılan araştırmalar *HIF-1 α* aktivasyonunun hücre içi reaktif oksijen türlerinde azalmayı indüklediğini göstermektedir (Movafagh, Crook, ve Vo 2015; R. Sun vd., 2019; Zheng vd., 2017). *HIF-1 α* 'nın aktivasyonu, hücrel metabolizmayı mitokondriyal solunum yerine glikolize yönlendirerek reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltabilir (Wheaton ve Chandel 2011). Buna karşı *HIF-1 α* 'nın inhibisyonu endoplazmik retikulum stresi aracılı yüksek reaktif oksijen türleri ile sonuçlanabilir (Fu vd., 2015). Literatüre göre *HIF-1 α* ekspresyonundaki artışın *kaspaz 3* aracılı apoptotik hücre ölümünü veya *Beclin-1* aracılı otofaji ile hücre sağkalımını indükleyebileceği bu nedenle konunun netlik kazanmadığı görülmektedir (Guo 2017).

Yapılan tez çalışmasında doksorubusin ve IGF-1'nin birlikte uygulanması *HIF-1 α* ekspresyonunda anlamı seviyede artışa neden oldu. Oksidatif hasar ile antioksidan etkiye sahip ajanın birlikte uygulanmasının antioksidan savunma mekanizmasını tetikleyerek artışa neden olduğu düşünülmektedir. Doksorubusin toksisitesinin yanı sıra IGF-1 uygulamasında ve kalp dokusunda *HIF-1 α* ilişkisinin gösterilmesi bakımından tez çalışması özgün değerini korumaktadır.

Otofaji besin tüketimi, protein parçalanması, organel düzeyinde stres, hücrel yaşlanma gibi temel hücrel süreçlerde rol oynayarak hücre ölümü veya sağkalımına neden olur (De Duve ve Wattiaux 2003; Lum vd. 2005; Sahin ve Yıldız 2017). Otofaji reaktif oksijen türlerinin üretimine bağlı oksidatif hasar ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalar çok sayıda sağlıklı ve özellikle tümoral hücrelerde hipoksi kaynaklı otofajinin olduğunu bildirmiştir (Rouschop vd. 2009; Rouschop ve Wouters 2009). Kardiyak dokuda ise *HIF-1 α* aracılı otofajinin hasarlı mitokondrinin ortadan kaldırılması ve reaktif oksijen türlerinin seviyelerinin azalmasında rol aldığı gösterilmiştir (Guo 2017; H. Zhang vd., 2008). Ancak otofaji *HIF-1 α* 'dan bağımsız olarak *mTOR* yolağı aracılıda gerçekleşerek aminoasit ve glikoz kısıtlamasının olduğu durumlarda indüklenebilir (Mazure ve Pouyssegur 2010). Sepsise bağlı kardiyak hasarda *Beclin-1* aracılı otofajinin inflamasyonun ve fibrozun azalmasına katkı sağlayarak kardiyak fonksiyonları iyileştirdiği gösterilmiştir (Y. Sun vd., 2018).

Beclin-1, *SQSTM1* ve *LC3* otofajinin düzenlenmesinde ve tespitinde önemli role sahip anahtar belirteçlerdir (Kandemir, Ilkeritürk, ve Gur 2022). *Beclin-1* seviyesindeki artışın hipoksiye maruz kalan kardiyomiyositlerde otofajiye neden olduğu gösterilmiştir (Ma vd. 2012; Munasinghe vd. 2016). *SQSTM1* otofaji aracılı işlevsiz proteinlerin ortadan kaldırılması ve DNA hasarının belirlenmesinde rol oynamaktadır (Mathew vd., 2009). Yapılan bir araştırmada sepsis kaynaklı kardiyak disfonksiyonun *Beclin-1*, *SQSTM1* ve *LC3*

seviyelerindeki artışa bağlı olduğu bulunmuştur. Bu hasara karşı uygulanan farmakolojik ajanın ise otofajiyi azaltarak kardiyak fonksiyonları iyileştirdiği bildirilmiştir (Pi vd., 2021).

Yapılan tez çalışmasında doksorubusinle indüklenen hasarda otofaji gen ekspresyonlarının arttığı ve uygulanan IGF-1 tedavisi sonrasında *Beclin-1*, *SQSTM1* ve *LC3* ekspresyonlarının azalarak kardiyak hasarı iyileştirdiği görüldü. Doksorubusinle indüklenen kardiyak hasar ile otofajinin ilişkisi gösterildi. Ayrıca IGF-1'in otofajiye karşı kullanılabilecek terapötik bir ajan olduğu gösterildi.

Kalp kasının kasılması depolarizasyona bağlı kalsiyum iyonlarının hücre içinde yoğunlaşması ve sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salımının uyarılmasıyla ilişkilidir. Kalsiyum homeostazının etki mekanizmasında *SERCA* proteinleri yer almaktadır. *SERCA* protein ailesinin en önemli üyeleri kardiyak miyositler ve iskelet kasında eksprese olan *SERCA2a* ve farklı dokularda ekspresyonu gerçekleşen *SERCA2b*'dir. *SERCA2a* sitozolden sarkoplazmik retikuluma kalsiyum akışından sorumludur ve kardiyak kontraktilete regülasyonunu sağladığı için terapötik hedefler arasında yer almaktadır (Shareef, Anwer, ve Poizat 2014).

Doksorubusin kardiyotoksitesisi altında yatan moleküler mekanizmaya yönelik hipotezlerden biri oksidatif stres ilişkili hücre içi kalsiyum seviyesidir. Doksorubusin ana metabolitlerinden biri olan doksorubisinolun iyon bağımlı kanallarından geçişi, ATP üretimini ve kalsiyumun sarkoplazmik retikulum içine alımını önlediği bildirilmiştir. Buna bağlı olarak kalsiyumun hücre içinde seviye artışı kasılma mekanizmasını bozarak hücre ölümüne neden olmaktadır (Jensen ve Marchant 2016). Doksorubusin hasarında artan *SERCA2a* ekspresyonunu azaltmak amacıyla terapötik ajanlar denenmektedir (Agustini vd., 2015; Frank vd. 2003; Xian-mei, Wei-hua, ve Man-li 2003).

IGF-1'in hücre içi kalsiyum seviyesini artırarak kontraktileteyi olumlu yönde etkilediği ve kalp kasında pozitif inotropik etki oluşturduğu bildirilmiştir (Abdellatif vd. 2022; Sowers 1997). Yaşlanmayla indüklenen kardiyak kontraktilete disfonksiyonunda IGF-1 tedavisi *SERCA2a* ekspresyonunu azaltarak kardiyak hasarda iyileşmeye neden olmuştur (Li vd., 2007). Ayrıca IGF-1'in kardiyak kasılma fonksiyonları ve hücre içi kalsiyum duyarlılığında seks hormonlarının etkili olabileceği gösterilmiştir (Ceylan-Isik, Li, ve Ren 2011). Yapılan tez çalışmasında literatür ile uyumlu olarak doksorubusin uygulamasının *SERCA2a* ekspresyonunu arttırdığı bulundu. Miyokardit hasarına karşı uygulanan IGF-1 tedavisinin *SERCA2a* ekspresyonunu azaltmasına dayanarak kardiyak kontraktilete ve kalsiyum seviyelerini olumlu yönde etkilediği söylenebilir.

Doksorubisin ile indüklenen nefropati modelinde böbreklerde *MasR* ekspresyonunun belirgin olarak azaldığı bildirilmiştir (Rabinovich vd., 2018). Pregabalin ile indüklenen kardiyak hasarda ise *MasR* ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (Awad vd. 2019). Ancak tam aksine yapılan bir çalışmada kardiyak hasar durumunda *MasR* ekspresyonunun süperoksit dismutaz ve NOS seviyelerine paralel olarak arttığı belirtilmiştir (Wang vd., 2015). Hasar durumunda ekspresyon artışını destekleyen farklı bir çalışmada ise kardiyomiyositlerinde *MasR*'nin aşırı ekspresyonunun hipertrofiye neden olabileceği belirtilmiştir (Zhang vd. 2012). Yapılan tez çalışmasında sadece doksorubisin veya IGF-1 uygulanması *MasR* ekspresyonunda artışa neden oldu. Doksorubisin ile IGF-1 birlikte uygulandığında ekspresyon artışının devam ettiği görüldü. Doksorubisin ile indüklenen miyokardit modelinde *MasR* seviyesinin arttığı söylenebilir. Ancak *MasR* yolağı ilişkili farklı parametrelerin bakılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Doksorubisinle indüklenen kardiyotoksisite modellerinde yapılan histopatolojik değerlendirmelerde kardiyomiyositlerde karyoreksis ve karyolizis gibi dejeneratif değişiklikler, miyokardiyal kan damarlarında konjesyon, intermiyokardiyal vakuolizasyon ve ödem, parçalanmış miyofibriller, kardiyomiyosit nekrozu ve kardiyomiyopati skorlarında artma görüldüğü bildirilmiştir (Demir 2004; Barış 2021; Gören 2021). Yapılan tez çalışmasında kontrol ve IGF-1 gruplarında kalp dokularının normal histolojik görünüme sahip olduğu görüldü. Doksorubisin uygulamasının kalp dokusunda şiddetli ödem, mikrohemoraji ve hücre infiltrasyonuna bağlı olarak hasara neden olduğu saptanmasıyla hasar modelinin oluşturulduğu doğrulandı. Doksorubisin ile IGF-1 birlikte uygulandığında ise mikroskopik bulgularda belirgin iyileşme ve histopatolojik skorlarda azalma olduğu belirlendi. Histopatolojik değerlendirme sonuçlarına dayanarak, doksorubisin hasarına karşı IGF-1 uygulamasının iyileştirici etkisinin olduğu saptandı.

Kaspaz-3 miyokardiyal apoptotik hücre ölümünde önemli bir role sahiptir. Yapılan deneysel doksorubisin hasar modellerinde reaktif oksijen türlerinin üretimi sonucunda kaspaz-3 aracılı apoptotik hücre ölümünün indüklendiği gösterilmiştir (Angsutararux vd 2015). Kardiyak hasarda kaspaz-3 inhibisyonunun ise doksorubisin ile indüklenen apoptotik hücre ölümüne karşı koruma sağladığı bildirilmiştir (Negoro vd., 2001). ICAM-1 (intrasellüler adezyon molekülü-1) endotel hücresi, monositler, lenfositler ve lökositler gibi hücrelerin membranında bulunan bir transmembran glikoprotein olup inflamatuvar ve immün hücrelerin aktivasyonu ile lökositlerin migrasyonunda önemli bir role sahiptir. Yapılan çalışmalarda kardiyak hasar sonrasında ICAM-1 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Aziz vd. 2020; Hadi vd. 2012; Yousif vd.,f 2011). Yapılan tez çalışmasında doksorubisin uygulaması miyokardiyal

hücrelerde Kaspaz-3 ve ICAM-1'in immunohistokimyasal skorlarında belirgin bir artışa neden oldu. Doksorubisin ile IGF-1 birlikte uygulandığında ise skorlarda belirgin bir azalma meydana geldi. Bu sonuçlar doğrultusunda IGF-1'in doksorubisin ile indüklenen kalp hasarında anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik etkisinin bulunduğu söylenebilir.



6. SONUÇ

Doksorubisinle indüklenen miyokardit modelinde Wistar albino erkek sıçanların vücut ağırlığında azalma, ortalama kan basıncı ve kalp atım hızında artış görüldü. Doksorubisin kan serumunda CK-MB ve Troponin-I seviyelerini, kalp dokusunda TNF- α ve IL-6 seviyelerini ve TOS/TAS oranını arttırdı. Moleküler düzeyde *Beclin-1*, *SQSTM1* ve *LC3*, *SERCA2a*, *MasR* ve *HIF-1 α* ekspresyonlarını indükleyerek kardiyak hasara neden oldu. Doksorubisin kaynaklı kardiyak hasar parametrelerinde IGF-1 tedavisi sonrasında anlamlı seviyede iyileşme görüldü. Doksorubisin ile indüklenen miyokardit modelinde IGF-1'in *MasR/SERCA2a* sinyal yolağı aracılı otofajiyi inhibe ederek kardiyoprotektif etki sağladığı bulundu. Doksorubisin uygulamasının histopatolojik skorlarda artış göstererek doku hasarına neden olduğu ve IGF-1 uygulamasının bu skorlarda iyileşme sergileyerek oluşan hasarı azalttığı tespit edildi. Yapılan tez çalışması kapsamında IGF-1'in doksorubisin ile indüklenen sıçan miyokardit modelinde, inflamatuvar süreçlerin düzenleme, oksidatif hasarı azaltma, apoptotik hücre ölümü ve otofajiyi inhibe etme mekanizmalarıyla doksorubisin toksisitesini iyileştirebileceği sonucuna ulaşıldı. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, IGF-1'in kanser kemoterapisinde doksorubisin toksisitesini azaltmak maksadıyla kombine olarak kullanılma potansiyeli taşıdığı değerlendirildi.

7. KAYNAKLAR

- Abdellatif, Mahmoud vd. 2022. "Fine-Tuning Cardiac Insulin-Like Growth Factor 1 Receptor Signaling to Promote Health and Longevity". *Circulation* 145(25): 1853–66. <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCULATIONAHA.122.059863> (22 Aralık 2022).
- Abuosa, Ahmed Mohamed vd. 2018. "Prophylactic use of carvedilol to prevent ventricular dysfunction in patients with cancer treated with doxorubicin". *Indian Heart Journal* 70: S96–100.
- Adams, Volker vd. 1999. "Apoptosis in skeletal myocytes of patients with chronic heart failure is associated with exercise intolerance". *Journal of the American College of Cardiology* 33(4): 959–65.
- Angsutararux Paweorn, Sudjit Luanpitpong, ve Surapol Issaragrisil 2015. "Chemotherapy-induced cardiotoxicity: overview of the roles of oxidative stress." *Oxidative medicine and cellular longevity*.
- Agustini, Femmi Dwinda vd. 2015. "Cardioprotection mechanism of mangiferin on doxorubicin-induced rats: Focus on intracellular calcium regulation". <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1073750> 54(7): 1289–97. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/13880209.2015.1073750> (22 Aralık 2022).
- AlHarthi, Sameer E vd. 2014. "Amelioration of doxorubicin-induced cardiotoxicity by resveratrol." *Molecular medicine reports* 10(3): 1455-1460.
- Ammirati, Enrico vd. 2021. "Update on acute myocarditis". *Trends in Cardiovascular Medicine* 31(6): 370–79.
- Anastasilakis, Athanasios D. vd. 2019. "Free IGF-1, Intact IGFBP-4, and PicoPAPP-A are Altered in Acute Myocardial Infarction Compared to Stable Coronary Artery Disease and Healthy Controls". *Hormone and Metabolic Research* 51(2): 112–19. <http://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/a-0794-6163> (23 Aralık 2022).
- Atteya, Muhammad vd. 2017. "Lisinopril has a cardio-protective effect on experimental acute autoimmune myocarditis in rats". *Histology and Histopathology* 32(4): 405–12.
- Awwad, Zeinab M. vd. 2019. "Telmisartan and captopril ameliorate pregabalin-induced heart failure in rats". *Toxicology* 428: 152310.
- Aziz Malek M vd. 2020. "Protective effects of olmesartan and L-carnitine on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats." *Canadian journal of physiology and pharmacology* 98(4): 183-193.
- Bach, L. A. 2018. "40 YEARS OF IGF1: IGF-binding proteins". *Journal of Molecular Endocrinology* 61(1): T11–28. <https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/61/1/JME-17-0254.xml> (22 Aralık 2022).
- Barış, Veysel Özgür 2021. "Empagliflozin Sıçanlarda Doksorubisin ile Oluşturulan Kardiyomiyopati Üzerine Etkisi."
- Bailes Julian ve Mikhail Soloviev 2021. "Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and its monitoring in medical diagnostic and in sports." *Biomolecules* 11(2): 217.
- Bailey-Downs, Lora C. vd. 2012. "Growth Hormone and IGF-1 Deficiency Exacerbate High-Fat Diet-Induced Endothelial Impairment in Obese Lewis Dwarf Rats: Implications for Vascular Aging". *The Journals of Gerontology: Series A* 67A(6): 553–64.

- <https://academic.oup.com/biomedgerontology/article/67A/6/553/582151> (22 Aralık 2022).
- Basso, Cristina. 2022. "Myocarditis" ed. Dan L. Longo. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2114478> 387(16): 1488–1500. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra2114478> (22 Aralık 2022).
- Bast, Aalt, Guido R.M.M. Haenen, Anna M.E. Bruynzeel, ve Wim J.F. Van Der Vijgh. 2007. "Protection by flavonoids against anthracycline cardiotoxicity: From chemistry to clinical trials". *Cardiovascular Toxicology* 7(2): 154–59. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12012-007-0018-0> (22 Aralık 2022).
- Bergman, Daniel, Matilda Halje, Matilda Nordin, ve Wilhelm Engström. 2013. "Insulin-Like Growth Factor 2 in Development and Disease: A Mini-Review". *Gerontology* 59(3): 240–49. <https://www.karger.com/Article/FullText/343995> (22 Aralık 2022).
- Bertinchant, J. P. vd. 2003. "Evaluation of cardiac troponin I and T levels as markers of myocardial damage in doxorubicin-induced cardiomyopathy rats, and their relationship with echocardiographic and histological findings". *Clinica Chimica Acta* 329(1–2): 39–51.
- Billemont, B. vd. 2008. "Blood glucose levels in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib". *British Journal of Cancer* 2008 99:9 99(9): 1380–82. <https://www.nature.com/articles/6604709> (22 Aralık 2022).
- Böger, Rainer H. vd. 1996. "Nitric oxide may mediate the hemodynamic effects of recombinant growth hormone in patients with acquired growth hormone deficiency. A double-blind, placebo-controlled study." *The Journal of Clinical Investigation* 98(12): 2706–13.
- Braunwald, Eugene vd. 1994. "Diagnosing and managing unstable angina. Agency for Health Care Policy and Research." Clinical practice guideline. Quick reference guide for clinicians 90(10): 1–25. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8026048/> (22 Aralık 2022).
- Bristow, Michael R. vd. 1980. "Acute and chronic cardiovascular effects of doxorubicin in the dog: the cardiovascular pharmacology of drug-induced histamine release". *Journal of cardiovascular pharmacology* 2(5): 487–515. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6157945/> (22 Aralık 2022).
- Bryant, J. vd. 2007. "Cardioprotection against the toxic effects of anthracyclines given to children with cancer: A systematic review". *Health Technology Assessment* 11(27).
- Busse, R., I. Fleming, ve V. B. Schini. 1995. "Nitric oxide formation in the vascular wall: Regulation and functional implications". *Current Topics in Microbiology and Immunology* 196: 7–18. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-79130-7_3 (22 Aralık 2022).
- Buttà, Carmelo, Luca Zappia, Giulia Laterra, ve Marco Roberto. 2020. "Diagnostic and prognostic role of electrocardiogram in acute myocarditis: A comprehensive review". *Annals of Noninvasive Electrocardiology* 25(3): e12726. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/anec.12726> (22 Aralık 2022).
- Bozcali, Evin vd. 2012. "Cardioprotective effects of zofenopril, enalapril and valsartan against ischaemia/reperfusion injury as well as doxorubicin cardiotoxicity." *Acta cardiologica* 67(1): 87-96.
- Camargo, Paulo Roberto vd. 2011. "Myocarditis in children and detection of viruses in myocardial tissue: Implications for immunosuppressive therapy". *International Journal of Cardiology* 148(2): 204–8.
- Canter, Charles E., ve Kathleen P. Simpson. 2014. "Diagnosis and Treatment of Myocarditis in Children in the Current Era". *Circulation* 129(1): 115–28. <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001372> (22 Aralık 2022).
- Cao, Guohua, ve Ronald L. Prior. 1998. "Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum". *Clinical Chemistry* 44(6): 1309–15. <https://academic.oup.com/clinchem/article/44/6/1309/5642696> (22 Aralık 2022).
- Castilla-Cortázar, Inma vd. 2011. "Hepatoprotection and neuroprotection induced by low doses of IGF-II in aging rats". *Journal of Translational Medicine* 9(1): 1–9. <https://link.springer.com/articles/10.1186/1479-5876-9-103> (22 Aralık 2022).

- Ceylan-Isik, Asli F., Qun Li, ve Jun Ren. 2011. "Insulin-like growth factor I (IGF-1) deficiency ameliorates sex difference in cardiac contractile function and intracellular Ca²⁺ homeostasis". *Toxicology Letters* 206(2): 130–38.
- Chatterjee, Kanu, Jianqing Zhang, Norman Honbo, ve Joel S. Karliner. 2010. "Doxorubicin Cardiomyopathy". *Cardiology* 115(2): 155–62. <https://www.karger.com/Article/FullText/265166> (22 Aralık 2022).
- Ciurea, A. V., C. Palade, D. Voinescu, ve D. A. Nica. 2013. "Subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm – Literature review". *Journal of Medicine and Life* 6(2): 120. [/pmc/articles/PMC3725434/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2375434/) (22 Aralık 2022).
- Cooper, Leslie T. Jr. 2009. "Myocarditis". <https://doi.org/10.1056/NEJMra0800028> 360(15): 1526–38. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmra0800028> (22 Aralık 2022).
- Dantas, Danielle vd. 2022. "Doxycycline Attenuates Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity by Improving Myocardial Energy Metabolism in Rats." *Journal of Cardiovascular Development and Disease* 9(8): 254.
- Demir, Funda vd. 2004. "Doksorubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksisite üzerine melatoninin etkisi." *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 47(4): 260-268.
- Denley, Adam vd. 2005. "Molecular interactions of the IGF system". *Cytokine & Growth Factor Reviews* 16(4–5): 421–39.
- Deepak Sharma 2012. "Myocarditis With Complete Heart Block: Challenges in Diagnosis and Treatment" 11:2.
- Doolan, Alessandra, Neil Langlois, ve Christopher Semsarian. 2004. "Causes of sudden cardiac death in young Australians". *Medical Journal of Australia* 180(3): 110–12. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.5694/j.1326-5377.2004.tb05830.x> (22 Aralık 2022).
- Drogan, Dagmar, Matthias B. Schulze, Heiner Boeing, ve Tobias Pischon. 2016. "Insulin-Like Growth Factor 1 and Insulin-Like Growth Factor–Binding Protein 3 in Relation to the Risk of Type 2 Diabetes Mellitus: Results From the EPIC–Potsdam Study". *American Journal of Epidemiology* 183(6): 553–60. <https://academic.oup.com/aje/article/183/6/553/2195447> (22 Aralık 2022).
- Duan, Cunming, Hongxia Ren, ve Shan Gao. 2010. "Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins: Roles in skeletal muscle growth and differentiation". *General and Comparative Endocrinology* 167(3): 344–51.
- Duman, D 2022. "Çocuklarda miyokardit/miyoperikarditlerde güncel yaklaşım tanı, tedavi ve izlem". *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 15:42-48.
- Durani, Yamini vd. 2009. "Pediatric myocarditis: presenting clinical characteristics". *The American Journal of Emergency Medicine* 27(8): 942–47.
- Durani, Yamini, Katie Giordano, ve Brett W. Goudie. 2010. "Myocarditis and pericarditis in children". *Pediatric Clinics of North America* 57(6): 1281–1303. <http://www.pediatric.theclinics.com/article/S0031395510001616/fulltext> (22 Aralık 2022).
- De Duve, C., ve R. Wattiaux. 2003. "Functions of Lysosomes". <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.28.030166.002251> 28: 435–92. <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.ph.28.030166.002251> (22 Aralık 2022).
- Ekc, Lütfiye, Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, ve Gıda Mühendisli. 2008. "Serbest Radikaller ve Antioksidan Gıdalarla İnhibisyonu". *The Journal of Food* 33(5): 251–60. <https://dergipark.org.tr/en/pub/gida/issue/6833/91714> (22 Aralık 2022).
- El-Aziz, Tarek A.Abd, Randa H. Mohamed, Heba F. Pasha, ve Hisham R. Abdel-Aziz. 2012. "Catechin protects against oxidative stress and inflammatory-mediated cardiotoxicity in adriamycin-treated rats". *Clinical and Experimental Medicine* 12(4): 233–40. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10238-011-0165-2> (22 Aralık 2022).
- Eriksson, Urs vd. 2003. "Interleukin-6–Deficient Mice Resist Development of Autoimmune Myocarditis Associated With Impaired Upregulation of Complement C3". *Circulation* 107(2): 320–25. <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.CIR.0000043802.38699.66> (22 Aralık 2022).

- Fabbi, Patrizia vd. 2015. "Doxorubicin Impairs the Insulin-Like Growth Factor-1 System and Causes Insulin-Like Growth Factor-1 Resistance in Cardiomyocytes". PLOS ONE 10(5): e0124643. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0124643> (22 Aralık 2022).
- Fadillioglu, Ersin vd. 2004. "Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats". Journal of Applied Toxicology 24(1): 47–52. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jat.945> (22 Aralık 2022).
- Förstermann, Ulrich, ve William C. Sessa. 2012. "Nitric oxide synthases: regulation and function". European Heart Journal 33(7): 829–37. <https://academic.oup.com/eurheartj/article/33/7/829/407043> (22 Aralık 2022).
- Frank, Konrad F., Birgit Bölck, Erland Erdmann, ve Robert H.G. Schwinger. 2003. "Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase modulates cardiac contraction and relaxation". Cardiovascular Research 57(1): 20–27. <https://academic.oup.com/circres/article/57/1/20/374216> (22 Aralık 2022).
- Freedman, Stephen B. vd. 2007. "Pediatric Myocarditis: Emergency Department Clinical Findings and Diagnostic Evaluation". Pediatrics 120(6): 1278–85. [/pediatrics/article/120/6/1278/70582/Pediatric-Myocarditis-Emergency-Department](https://pediatrics/article/120/6/1278/70582/Pediatric-Myocarditis-Emergency-Department) (22 Aralık 2022).
- Friedrich, Matthias G. vd. 2009. "Cardiovascular Magnetic Resonance in Myocarditis: A JACC White Paper". Journal of the American College of Cardiology 53(17): 1475–87. <https://www.jacc.org/doi/10.1016/j.jacc.2009.02.007> (22 Aralık 2022).
- Fu, Zhichao, Huihua Cheng, Dongsheng Chen, ve Fengmei Wang. 2015. "Hypoxia-Inducible Factor-1 α Protects Cervical Carcinoma Cells from Apoptosis Induced by Radiation via Modulation of Vascular Endothelial Growth Factor and p53 under Hypoxia". Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research 21: 318. [/pmc/articles/PMC4316866/](https://pmc/articles/PMC4316866/) (22 Aralık 2022).
- Galano, Annia, Dun Xian Tan, ve Russel J. Reiter. 2013. "On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK". Journal of Pineal Research 54(3): 245–57. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jpi.12010> (22 Aralık 2022).
- Garcia-Fernandez, Maria vd. 2011. "Liver mitochondrial dysfunction is reverted by insulin-like growth factor II (IGF-II) in aging rats". Journal of Translational Medicine 9(1): 1–9. <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-5876-9-123> (22 Aralık 2022).
- Gewirtz, David A. 1999. "A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin". Biochemical Pharmacology 57(7): 727–41. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10075079/> (22 Aralık 2022).
- Gokcimen, Alpaslan vd. 2007. "Protective effect of N-acetylcysteine, caffeic acid and vitamin E on doxorubicin hepatotoxicity". Human and Experimental Toxicology 26(6): 519–25. <http://het.sagepub.com> (22 Aralık 2022).
- Gören, Duygu 2022. "Doksorubisin ile oluşturulan kardiyotoksiste modelinde incir (*Ficus carica*) çekirdeği yağının etkisinin araştırılması". Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Green, Shawn J. vd. 1994. "Nitric oxide: Cytokine-regulation of nitric oxide in host resistance to intracellular pathogens". Immunology Letters 43(1–2): 87–94.
- Guo, Yongqing. 2017. "Role of HIF-1 α in regulating autophagic cell survival during cerebral ischemia reperfusion in rats". Oncotarget 8(58): 98482. [/pmc/articles/PMC5716744/](https://pmc/articles/PMC5716744/) (22 Aralık 2022).
- Hadi Najah vd. 2012. "Vitamin E and telmisartan attenuates doxorubicin induced cardiac injury in rat through down regulation of inflammatory response." BMC Cardiovascular Disorders 12 (2012): 1-7.
- Haleagrahara, Nagaraja, Srikumar Chakravarthi, ve Lisa Mathews. 2011. "Insulin Like Growth Factor-1 (IGF-1) Causes Overproduction of IL-8, an Angiogenic Cytokine and Stimulates Neovascularization in Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Rats".

- International Journal of Molecular Sciences 2011, Vol. 12, Pages 8562-8574 12(12): 8562–74. <https://www.mdpi.com/1422-0067/12/12/8562/htm> (23 Aralık 2022).
- Havelka, Aleksandra M. vd. 2007. "Mechanisms of Action of DNA-Damaging Anticancer Drugs in Treatment of Carcinomas: Is Acute Apoptosis an Off-Target Effect?" *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 7(10): 1035–39.
- Higashi, Yusuke, Arvind Pandey, Brett Goodwin, ve Patrice Delafontaine. 2013. "Insulin-like growth factor-1 regulates glutathione peroxidase expression and activity in vascular endothelial cells: Implications for atheroprotective actions of insulin-like growth factor-1". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1832(3): 391–99.
- Hijikawa, Takeshi vd. 2008. "Insulin-like growth factor 1 prevents liver injury through the inhibition of TNF- α and iNOS induction in D-galactosamine and LPS-treated rats". *Shock* 29(6): 740–47. https://journals.lww.com/shockjournal/Fulltext/2008/06000/INSULIN_LIKE_GROWTH_FACTOR_1_PREVENTS_LIVER_INJURY.15.aspx (22 Aralık 2022).
- von Hoff, D. D. vd. 1979. "Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure". *Annals of Internal Medicine* 91(5): 710–17.
- Igarashi, Junsuke vd. 1998. "Inducible nitric oxide synthase augments injury elicited by oxidative stress in rat cardiac myocytes". *American Journal of Physiology - Cell Physiology* 274(1): 43-1. <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.1998.274.1.C245> (22 Aralık 2022).
- Jain, D. 2000. "Cardiotoxicity of doxorubicin and other anthracycline derivatives". *Journal of Nuclear Cardiology* 7: 53-62.
- Janbabai, Ghasem vd. 2017. "Effect of enalapril on preventing anthracycline-induced cardiomyopathy." *Cardiovascular toxicology* 17: 130-139.
- Jensen, Lionel D., ve David J. Marchant. 2016. "Emerging pharmacologic targets and treatments for myocarditis". *Pharmacology & Therapeutics* 161: 40–51.
- Jeschke, Marc G., Robert E. Barrow, ve David N. Herndon. 2000. "Insulinlike Growth Factor I Plus Insulinlike Growth Factor Binding Protein 3 Attenuates the Proinflammatory Acute Phase Response in Severely Burned Children". *Annals of Surgery* 231(2): 246. </pmc/articles/PMC1420993/> (22 Aralık 2022).
- Jung, Frank, Lisa A. Palmer, Nan Zhou, ve Roger A. Johns. 2000. "Hypoxic regulation of inducible nitric oxide synthase via hypoxia inducible factor-1 in cardiac myocytes". *Circulation research* 86(3): 319–25. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10679484/> (22 Aralık 2022).
- Kaiserová, Helena vd. 2007. "New iron chelators in anthracycline-induced cardiotoxicity". *Cardiovascular Toxicology* 7(2): 145–50. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12012-007-0020-6> (22 Aralık 2022).
- Kalivendi, Shasi V. vd. 2001. "Doxorubicin-induced Apoptosis Is Associated with Increased Transcription of Endothelial Nitric-oxide Synthase". *Journal of Biological Chemistry* 276(50): 47266–76. <http://www.jbc.org/article/S0021925819372618/fulltext> (22 Aralık 2022).
- Kandemir, Fatih Mehmet, Mustafa Ileriturk, ve Cihan Gur. 2022. "Rutin protects rat liver and kidney from sodium valproate-induce damage by attenuating oxidative stress, ER stress, inflammation, apoptosis and autophagy". *Molecular Biology Reports* 49(7): 6063–74. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-022-07395-0> (22 Aralık 2022).
- Kawai, Chuichi. 1999. "From myocarditis to cardiomyopathy: Mechanisms of inflammation and cell death: Learning from the past for the future". *Circulation* 99(8): 1091–1100. <http://ahajournals.org> (22 Aralık 2022).
- Keefe, D. 2001. "Anthracycline-induced cardiomyopathy". *Seminars in Oncology* 28: 2–7.
- Kemeç, Gamze vd. 2022. "Ailevi Akdeniz ateşi tanılı hastada SARS-CoV-2 enfeksiyonu sonrası miyokardit ve Guillain-Barré sendromu ile ortaya çıkan MIS-A olgusu". *Journal of Turkish Society for Rheumatology* 14.
- Kinugawa, Shintaro vd. 1999. "Positive inotropic effect of insulin-like growth factor-1 on normal and failing cardiac myocytes". *Cardiovascular Research* 43(1): 157–64. <https://academic.oup.com/circovasces/article/43/1/157/355445> (22 Aralık 2022).

- Klugman, Darren vd. 2010. "Pediatric patients hospitalized with myocarditis: A multi-institutional analysis". *Pediatric Cardiology* 31(2): 222–28. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00246-009-9589-9> (22 Aralık 2022).
- Köseoğlu, Hanife Gündoğdu vd. 2020. "The role of insulin-like growth factor in Acrochordon Etiopathology". *BMC Dermatology* 20(1): 1–6. <https://link.springer.com/articles/10.1186/s12895-020-00111-0> (22 Aralık 2022).
- Lauer, Bernward vd. 1997. "Cardiac Troponin T in Patients With Clinically Suspected Myocarditis". *Journal of the American College of Cardiology* 30(5): 1354–59. [https://www.jacc.org/doi/10.1016/S0735-1097\(97\)00317-3](https://www.jacc.org/doi/10.1016/S0735-1097(97)00317-3) (22 Aralık 2022).
- Leuschner, Florian, Hugo A. Katus, ve Ziya Kaya. 2009. "Autoimmune myocarditis: Past, present and future". *Journal of Autoimmunity* 33(3–4): 282–89.
- Li, Qun vd. 2007. "Cardiac-specific overexpression of insulin-like growth factor 1 attenuates aging-associated cardiac diastolic contractile dysfunction and protein damage". *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 292(3): 1398–1403. <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajpheart.01036.2006> (22 Aralık 2022).
- Liao, Yaojun vd. 2019. "Cardioprotective effect of IGF-1 against myocardial ischemia/reperfusion injury through activation of PI3K/Akt pathway in rats in vivo". *Journal of International Medical Research* 47(8): 3886–97.
- Liu, Xuwan vd. 2022. "Melatonin as an effective protector against doxorubicin-induced cardiotoxicity." *American journal of physiology-heart and circulatory physiology* 283(1): 254–263.
- Logan, Sreemathi vd. 2018. "Insulin-like growth factor receptor signaling regulates working memory, mitochondrial metabolism, and amyloid- β uptake in astrocytes". *Molecular Metabolism* 9: 141–55.
- Lotrionte, Marzia vd. 2013. "Review and Meta-Analysis of Incidence and Clinical Predictors of Anthracycline Cardiotoxicity". *The American Journal of Cardiology* 112(12): 1980–84.
- Lum, Julian J. vd. 2005. "Growth Factor Regulation of Autophagy and Cell Survival in the Absence of Apoptosis". *Cell* 120(2): 237–48.
- Lyu, Yi Lisa vd. 2007. "Topoisomerase II β -mediated DNA double-strand breaks: implications in doxorubicin cardiotoxicity and prevention by dexrazoxane." *Cancer research* 67(18): 8839–8846.
- Ma, Xiucui vd. 2012. "Impaired autophagosome clearance contributes to cardiomyocyte death in ischemia/reperfusion injury". *Circulation* 125(25): 3170–81. <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.041814> (22 Aralık 2022).
- Maciej Serda vd. 2004. "Doxorubicin-induced experimental cardiotoxicity and effect of pentoxphylline on cardiotoxicity Doksorubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksiste ve kardiyotoksiste üzerine pentoksifilin etkisi" ed. G. Balint vd. *Türk Kardiyoloji Dernegi Arsivi* 32(5): 343–54. <https://avesis.erciyes.edu.tr/yayin/e0d4933a-b3f8-4da1-8238-fa2d2407cb0d/doxorubicin-induced-experimental-cardiotoxicity-and-effect-of-pentoxphylline-on-cardiotoxicity-doksorubisin-ile-olusturulmus-deneysel-kardiyotoksiste-ve-kardiyotoksiste-uzerine-pentoksifilin-etkisi> (22 Aralık 2022).
- Magnani, Jared W., ve G. William Dec. 2006. "Myocarditis". *Circulation* 113(6): 876–90. <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.584532> (22 Aralık 2022).
- Mahmoudabady, Maryam vd. 2009. "Cardiac insulin-like growth factor-1 and cyclins gene expression in canine models of ischemic or overpacing cardiomyopathy". *BMC Cardiovascular Disorders* 9(1): 49. <https://bmccardiovascdisord.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2261-9-49> (22 Aralık 2022).
- Mair, Johannes vd. 1995. "Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios, and cardiac troponins I and T for acute myocardial infarction". *Clinical Chemistry* 41(9): 1266–72. <https://academic.oup.com/clinchem/article/41/9/1266/5645932> (22 Aralık 2022).

- Mathew, Robin vd. 2009. "Autophagy Suppresses Tumorigenesis through Elimination of p62". *Cell* 137(6): 1062–75.
- Mattey, D. L. vd. 2004. "Increased levels of antibodies to cytokeratin 18 in patients with rheumatoid arthritis and ischaemic heart disease". *Annals of the Rheumatic Diseases* 63(4): 420–25. <https://ard.bmj.com/content/63/4/420> (22 Aralık 2022).
- Mazure, Nathalie M., ve Jacques Pouyssegur. 2010. "Hypoxia-induced autophagy: cell death or cell survival?" *Current Opinion in Cell Biology* 22(2): 177–80.
- McNamara, Dennis M. vd. 1997. "Intravenous immune globulin in the therapy of myocarditis and acute cardiomyopathy". *Circulation* 95(11): 2476–78.
- Minotti, Giorgio vd. 2004. "Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity". *Pharmacological Reviews* 56(2): 185–229. <https://pharmrev.aspetjournals.org/content/56/2/185> (22 Aralık 2022).
- Moran, Adrian M., Steven D. Colan, Joseph A. Majzoub, ve Jane W. Newburger. 2000. "Exogenous growth hormone: a new therapy for dilated cardiomyopathy". *Progress in Pediatric Cardiology* 12(1): 125–32.
- Movafagh, Shahrzad, Sean Crook, ve Kim Vo. 2015. "Regulation of Hypoxia-Inducible Factor-1a by Reactive Oxygen Species : New Developments in an Old Debate". *Journal of Cellular Biochemistry* 116(5): 696–703. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcb.25074> (23 Aralık 2022).
- Munasinghe, Pujika Emani vd. 2016. "Type-2 diabetes increases autophagy in the human heart through promotion of Beclin-1 mediated pathway". *International Journal of Cardiology* 202: 13–20.
- Nabati, Maryam vd. 2017. "Cardioprotective effects of carvedilol in inhibiting doxorubicin-induced cardiotoxicity." *Journal of cardiovascular pharmacology* 69(5): 279-285.
- Negoro Shinji vd. 2001. "Glycoprotein 130 regulates cardiac myocyte survival in doxorubicin-induced apoptosis through phosphatidylinositol 3-kinase/Akt phosphorylation and Bcl-xL/caspase-3 interaction." *Circulation* 103(4): 555-561.
- Nitiss, John L. 2009. "Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy". *Nature Reviews Cancer* 2009 9:5 9(5): 338–50. <https://www.nature.com/articles/nrc2607> (22 Aralık 2022).
- O'Connor, Jason C. vd. 2008. "Regulation of IGF-I function by proinflammatory cytokines: At the interface of immunology and endocrinology". *Cellular Immunology* 252(1–2): 91–110.
- Okura, Yuji vd. 1997. "Characterization of Cytokine and iNOS mRNA Expression in situ During the Course of Experimental Autoimmune Myocarditis in Rats". *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 29(2): 491–502.
- Outomuro, Delia, Daniel R. Grana, Francisco Azzato, ve José Milei. 2007. "Adriamycin-induced myocardial toxicity: New solutions for an old problem?" *International Journal of Cardiology* 117(1): 6–15.
- Ozgen, Zeynep Erdogmus vd. 2016. "Protective effects of melatonin on doxorubicin induced cardiotoxicity in isolated rat heart." *Eastern Journal of Medicine* 21(3): 119.
- Özdemir, Selçuk, Sefa Kucukler, Selim Çomaklı, ve Fatih Mehmet Kandemir. 2020. "The protective effect of Morin against ifosfamide-induced acute liver injury in rats associated with the inhibition of DNA damage and apoptosis". <https://doi.org/10.1080/01480545.2020.1822390> 45(3): 1308–17. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01480545.2020.1822390> (22 Aralık 2022).
- Pacher, Pál vd. 2003. "Potent Metalloporphyrin Peroxynitrite Decomposition Catalyst Protects Against the Development of Doxorubicin-Induced Cardiac Dysfunction". *Circulation* 107(6): 896–904. <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.CIR.0000048192.52098.DD> (22 Aralık 2022).
- Pedersen, Henrik D. vd. 2005. "Circulating Concentrations of Insulin-Like Growth Factor-1 in Dogs with Naturally Occurring Mitral Regurgitation". *Journal of Veterinary Internal*

- Medicine 19(4): 528–32. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02722.x> (22 Aralık 2022).
- Peter, Sijongesonke, Sibusiso Alven, Rejoice Bethusile Maseko, ve Blessing Atim Aderibigbe. 2022. "Doxorubicin-Based Hybrid Compounds as Potential Anticancer Agents: A Review". *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 4478 27(14): 4478. <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/14/4478/htm> (22 Aralık 2022).
- Pi, Qiang Zhong vd. 2021. "Melatonin Alleviates Cardiac Dysfunction Via Increasing Sirt1-Mediated Beclin-1 Deacetylation and Autophagy During Sepsis". *Inflammation* 44(3): 1184–93. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10753-021-01413-2> (22 Aralık 2022).
- Poreba, Elzbieta, ve Julia Durzynska. 2020. "Nuclear localization and actions of the insulin-like growth factor 1 (IGF-1) system components: Transcriptional regulation and DNA damage response". *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 784: 108307.
- Prabhu, Sumanth D., Bysani Chandrasekar, David R. Murray, ve Gregory L. Freeman. 2000. "beta-adrenergic blockade in developing heart failure: effects on myocardial inflammatory cytokines, nitric oxide, and remodeling". *Circulation* 101(17): 2103–9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10790354/> (22 Aralık 2022).
- Rabinovich, Iris vd. 2018. "Cancer stem cell markers ALDH1 and CD44+/CD24– phenotype and their prognosis impact in invasive ductal carcinoma". *European Journal of Histochemistry : EJH* 62(3): 231–37. <https://pmc/articles/PMC6240790/> (22 Aralık 2022).
- Le Roith, D. vd. 2001. "The Somatomedin Hypothesis: 2001". *Endocrine Reviews* 22(1): 53–74. <https://academic.oup.com/edrv/article/22/1/53/2424011> (22 Aralık 2022).
- Rivankar, S. 2014. "An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy". *Journal of cancer research and therapeutics*: 10(4): 853-858.
- Rouschop, Kasper M.A. vd. 2009. "Autophagy is required during cycling hypoxia to lower production of reactive oxygen species". *Radiotherapy and Oncology* 92(3): 411–16.
- Rouschop, Kasper M.A., ve Bradly G. Wouters. "Regulation of Autophagy Through Multiple Independent Hypoxic Signaling Pathways".
- Sahin, Yasemin, ve Dilara Akcora Yıldız. 2017. "Memeli hücrelerinde otofajinin moleküler mekanizması". *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute* 5(2): 205–18. <https://dergipark.org.tr/en/pub/maeusabed/issue/33314/355164> (22 Aralık 2022).
- Salouge, Issam vd. 2014 "Means of evaluation and protection from doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats." *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 10(2): 274-278.
- Sangomla, Swetha, Mohd Aslam Saifi, Amit Khurana, ve Chandraiah Godugu. 2018. "Nanoceria ameliorates doxorubicin induced cardiotoxicity: Possible mitigation via reduction of oxidative stress and inflammation". *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 47: 53–62.
- Sari, Flori R. vd. 2011. "Carvedilol Attenuates Inflammatory-Mediated Cardiotoxicity in Daunorubicin-Induced Rats". *Pharmaceuticals* 2011, Vol. 4, Pages 551-566 4(3): 551–66. <https://www.mdpi.com/1424-8247/4/3/551/htm> (22 Aralık 2022).
- Savaş Gül, Serdar, ve Hatice Aygün. 2019. "Cardioprotective effect of vitamin D and melatonin on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rat model: an electrocardiographic, scintigraphic and biochemical study". *The European Research Journal* 5(4): 649–57. <http://dergipark.org.tr/eurj> (22 Aralık 2022).
- Schillaci, Roxana, Mariana G. Brocardo, Adriana Galeano, ve Alicia Roldán. 1998. "Downregulation of insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) expression in human T lymphocyte activation". *Cellular immunology* 183(2): 157–61. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9607000/> (22 Aralık 2022).
- Schulz, R. vd. 2005. "Recent advances in the understanding of the role of nitric oxide in cardiovascular homeostasis". *Pharmacology & Therapeutics* 108(3): 225–56.
- Shaker, Reem Ali, Samer Hassan Abboud, Hayder Chasib Assad, ve Najah Hadi. 2018. "Enoxaparin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis". *BMC Pharmacology and Toxicology*

- 19(1): 1–10. <https://bmcpharmacoltoxicol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40360-017-0184-z> (22 Aralık 2022).
- Shareef, Mohammad Abrar, Lucman A. Anwer, ve Coralie Poizat. 2014. "Cardiac SERCA2A/B: Therapeutic targets for heart failure". *European Journal of Pharmacology* 724(1): 1–8.
- Sharma, Ajay Nair, Jacob Randolph Stultz, Nikhil Bellamkonda, ve Ezra Abraham Amsterdam. 2019. "Fulminant Myocarditis: Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Management". *The American Journal of Cardiology* 124(12): 1954–60.
- Shioi, Tetsuo vd. 1997. "Protective Role of Interleukin-12 in Viral Myocarditis". *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 29(9): 2327–34.
- Simmons, Ashley, James L. Vacek, ve David Meyers. 2015. "Anthracycline-Induced Cardiomyopathy". <http://dx.doi.org/10.3810/pgm.2008.11.1940> 120(4): 67–72. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3810/pgm.2008.11.1940> (22 Aralık 2022).
- Singal, Pawan K. vd. 2000. "Adriamycin-induced heart failure: Mechanism and modulation". *Molecular and Cellular Biochemistry* 207(1–2): 77–86. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1007094214460> (22 Aralık 2022).
- Smith, Stacy C., Jack H. Ladenson, Jay W. Mason, ve Allan S. Jaffe. 1997. "Elevations of Cardiac Troponin I Associated With Myocarditis". *Circulation* 95(1): 163–68. <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.CIR.95.1.163> (22 Aralık 2022).
- Songbo, Mei vd. 2019. "Oxidative stress injury in doxorubicin-induced cardiotoxicity". *Toxicology Letters* 307: 41–48.
- Sowers, James R. 1997. "Insulin and insulin-like growth factor in normal and pathological cardiovascular physiology". *Hypertension* 29(3): 691–99.
- Sukhanov, Sergiy vd. 2007. "IGF-1 reduces inflammatory responses, suppresses oxidative stress, and decreases atherosclerosis progression in ApoE-deficient mice". *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 27(12): 2684–90. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17916769/> (22 Aralık 2022).
- Sun, Rongli vd. 2019. "Overexpression of HIF-1 α could partially protect K562 cells from 1,4-benzoquinone induced toxicity by inhibiting ROS, apoptosis and enhancing glycolysis". *Toxicology in Vitro* 55: 18–23.
- Sun, Yuxiao vd. 2018. "Beclin-1-Dependent Autophagy Protects the Heart During Sepsis". *Circulation* 138(20): 2247–62. <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.032821> (22 Aralık 2022).
- Tacar, Oktay, Pornsak Sriamornsak, ve Crispin R. Dass. 2012. "Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems". *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 65(2): 157–70. <https://academic.oup.com/jpp/article/65/2/157/6132943> (22 Aralık 2022).
- Takimoto, Yoshihito vd. 2000. "Differential expression of three types of nitric oxide synthase in both infarcted and non-infarcted left ventricles after myocardial infarction in the rat". *International Journal of Cardiology* 76(2–3): 135–45.
- Thomas Aretz, H. 1987. "Myocarditis: The Dallas criteria". *Human Pathology* 18(6): 619–24.
- Todorović, Vera vd. 2008. "Insulin-like growth factor-I in wound healing of rat skin". *Regulatory Peptides* 150(1–3): 7–13.
- Tokarska-Schlattner, Malgorzata, Theo Wallimann, ve Uwe Schlattner. 2002. "Multiple Interference of Anthracyclines with Mitochondrial Creatine Kinases: Preferential Damage of the Cardiac Isoenzyme and Its Implications for Drug Cardiotoxicity". *Molecular Pharmacology* 61(3): 516–23. <https://molpharm.aspetjournals.org/content/61/3/516> (22 Aralık 2022).
- Tokudome, Takeshi vd. 2002. "Adrenomedullin Inhibits Doxorubicin-Induced Cultured Rat Cardiac Myocyte Apoptosis via a cAMP-Dependent Mechanism". *Endocrinology* 143(9): 3515–21. <https://academic.oup.com/endo/article/143/9/3515/2880826> (22 Aralık 2022).
- Ungureanu-Longrois, Dan vd. 1995. "Induction of nitric oxide synthase activity by cytokines in ventricular myocytes is necessary but not sufficient to decrease contractile

- responsiveness to beta-adrenergic agonists". *Circulation research* 77(3): 494–502. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7543826/> (22 Aralık 2022).
- Ungvari, Zoltan, ve Anna Csiszar. 2012. "The Emerging Role of IGF-1 Deficiency in Cardiovascular Aging: Recent Advances". *The Journals of Gerontology: Series A* 67A(6): 599–610. <https://academic.oup.com/biomedgerontology/article/67A/6/599/583651> (22 Aralık 2022).
- Vaynblat, Mikhail vd. 2002. "Simultaneous angiotensin converting enzyme inhibition moderates ventricular dysfunction caused by doxorubicin." *European Journal of Heart Failure* 4(5): 583-586.
- Wang, Cheng Yu, Xiang Dan Li, Zhi Hong Hao, ve Dongyuan Xu. 2016. "Insulin-like growth factor-1 improves diabetic cardiomyopathy through antioxidative and anti-inflammatory processes along with modulation of Akt/GSK-3 β signaling in rats". *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology: Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology* 20(6): 613. /pmc/articles/PMC5106395/ (22 Aralık 2022).
- Wang, Lingjun vd. 2015. "Resveratrol ameliorates pressure overload-induced cardiac dysfunction and attenuates autophagy in rats". *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 66(4): 376–82. https://journals.lww.com/cardiovascularpharm/Fulltext/2015/10000/Resveratrol_Ameliorates_Pressure_Overload_induced.8.aspx (22 Aralık 2022).
- Wheaton, William W., ve Navdeep S. Chandel. 2011. "Hypoxia. 2. Hypoxia regulates cellular metabolism". *American Journal of Physiology - Cell Physiology* 300(3): 385–93. <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.00485.2010> (22 Aralık 2022).
- Wu, Duoguang vd. 2016. "Hypoxia-induced microRNA-301b regulates apoptosis by targeting Bim in lung cancer". *Cell Proliferation* 49(4): 476–83. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cpr.12264> (22 Aralık 2022).
- Xian-mei, Huang, Zhu Wei-hua, ve Kang Man-li. 2003. "Study on the effect of doxorubicin on expressions of genes encoding myocardial sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ transport proteins and the effect of taurine on myocardial protection in rabbits". *Journal of Zhejiang University-SCIENCE A* 2003 4:1 4(1): 114–20. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02841089> (22 Aralık 2022).
- Yang, Fuyao vd. 2020. "The prognostic value of late gadolinium enhancement in myocarditis and clinically suspected myocarditis: systematic review and meta-analysis". *European Radiology* 30(5): 2616–26. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00330-019-06643-5> (22 Aralık 2022).
- Yousif Nasser Ghaly ve Fadhil G. Al-Amran 2011. "Novel Toll-like receptor-4 deficiency attenuates trastuzumab (Herceptin) induced cardiac injury in mice." *BMC cardiovascular disorders* 11(1): 1-7.
- Zare, Masoud Fallah Rajabpour vd. 2019. "Apigenin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity via reducing oxidative stress and apoptosis in male rats". *Life Sciences* 232: 116623.
- Zhang, Huafeng vd. 2008. "Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia". *Journal of Biological Chemistry* 283(16): 10892–903. <http://www.jbc.org/article/S0021925820620579/fulltext> (22 Aralık 2022).
- Zhang, Sui vd. 2012. "Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity". *Nature Medicine* 2012 18:11 18(11): 1639–42. <https://www.nature.com/articles/nm.2919> (22 Aralık 2022).
- Zhang, Tong vd. 2012. "Inhibition of Mas G-protein signaling improves coronary blood flow, reduces myocardial infarct size, and provides long-term cardioprotection". *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 302(1): 299–311. <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajpheart.00723.2011> (22 Aralık 2022).
- Zhang, Yang vd. 2021. "Idarubicin-induced oxidative stress and apoptosis in cardiomyocytes: An in vitro molecular approach". *Human and Experimental Toxicology* 40(12_suppl):

- S553–62. <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/09603271211033774> (22 Aralık 2022).
- Zheng, Qing qing vd. 2017. "Iron overload promotes erythroid apoptosis through regulating HIF-1a/ROS signaling pathway in patients with myelodysplastic syndrome". *Leukemia Research* 58: 55–62.
- Zilinyi, Rita vd. 2018. "The Cardioprotective Effect of Metformin in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: The Role of Autophagy". *Molecules* 2018, Vol. 23, Page 1184 23(5): 1184. <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/5/1184/htm> (22 Aralık 2022).



Evrak Tarih ve Sayısı: 23.02.2021-E.22819



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Etik Kurulu

Sayı : E-60758568-020-22819

Konu : Başvurunuz Hk.

Sayın Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ

İlgi : 19/02/2021 tarihli dilekçeniz. **10.241.65.131**
96201
6.03.2021

"Sıçan Myokardit Modelinde İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-1)'in Kardiyoprotektif Etkileri" (PAUHDEK-2021/15) konulu çalışmanız 23.02.2021 tarih ve 2021/03 sayılı toplantımızda görüşülmüş olup

Yapılan görüşmelerden sonra, söz konusu çalışmanın **Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna ve 43 adet sıçan kullanılarak yapılmasına** oy birliği ile karar verildi.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Gülçin METE
Başkan

