



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜKSEK YAĞLI DİYETLE İNDÜKLENMİŞ OBEZİTEDE
Myrtus communis L. EKSTRAKTININ KALP ve AORT ÜZERİNE
ETKİLERİNİN MORFOLOJİK ve BİYOKİMYASAL OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

NAGEHAN ÖZYILMAZ YAY

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. FERİHA ERCAN

İSTANBUL- 2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

NAGEHAN ÖZYILMAZ YAY

TEŞEKKÜR

Öğrenimim ve tez çalışmam boyunca her konuda ilgi ve desteğini gördüğüm, işine gösterdiği özeni ve çalışma disiplini ile bizlere her zaman örnek olan, üzerimdeki emeği ile çalışma hayatımı şekillendiren çok değerli danışman hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Feriha Ercan'a,

Bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her ihtiyacım olduğunda desteklerini esirgemeyen çok değerli hocalarım Prof. Dr. Şule Çetinel, Prof. Dr. Serap Şirvancı, Prof. Dr. Dilek Akakın ve Doç. Dr. Özlem Tuğçe Kaya'ya,

Tez deneylerinin tüm aşamalarında ve biyokimyasal analizlerde bilgi ve tecrübesini paylaşan çok değerli hocam Fenerbahçe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Göksel Şener'e,

Myrtus communis L. bitki ekstraktının elde edilmesindeki desteklerinden dolayı Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ali Şen'e ve biyokimyasal analizlerdeki desteklerinden dolayı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Rümeyza Keleş Kaya'ya,

Her zaman güleryüzle yardımcı olan Anabilim Dalı sekreterimiz Ayşe Arık'a, teknikerlerimiz Yücel Öztürk ve Belgin Terzi'ye, asistanlığım süresince tanıma şansı bulduğum şu an mezun olmuş ve hala devam etmekte olan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca beni her konuda destekleyen annem Işık Özyılmaz ve babam Alper Özyılmaz'a ve bu sürecin başından beri benimle olan yavrularım Nehir ve Deniz'e teşekkür ederim.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından SAG-C-DRP-250919-0292 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Ocak 2023

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Kalp ve Aort Histolojisi.....	7
4.1.1. Kalp histolojisi.....	7
4.1.2. Aort histolojisi.....	8
4.2. Obezite ve Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri.....	9
4.3. <i>Myrtus communis</i> L. Bitkisinin Özellikleri.....	9
5. GEREÇ ve YÖNTEM.....	12
5.1. Deney Hayvanları	12
5.2. Deney Grupları.....	12
5.3. <i>Myrtus communis</i> L Ekstraktının Hazırlanması.....	12
5.4. Işık Mikroskopik Preparasyon ve Histolojik Skorlama.....	13
5.5. İmmunohistokimyasal Yöntemler.....	13
5.6. TUNEL Yöntemi.....	14
5.7. Biyokimyasal Analizler.....	15
5.7.1. Kan serumunda kolesterol, trigliserit ve HDL analizi.....	15
5.7.2. Doku MDA, 8-OHdG, NO, MPO, TNF- α , MCP-1 analizi.....	16
5.8. İstatiksel Analiz.....	16

6.BULGULAR	17
6.1. Vücut Ağırlığı Bulguları.....	17
6.2. Histopatolojik Bulgular.....	17
6.3. İmmunohistokimya Bulguları.....	24
6.3.1. eNOS immunohistokimya bulguları	24
6.3.2. iNOS immunohistokimya bulguları.....	29
6.3.3. NOX-2 immunohistokimya bulguları	35
6.4. TUNEL bulguları.....	41
6.5. Biyokimyasal Bulgular.....	47
6.5.1 Serumda kolesterol, trigliserit ve HDL düzeyi bulguları.....	47
6.5.2. Doku MDA, NO, 8-OHdG, TNF- α , MCP-1 ve MPO düzeyi bulguları.....	50
7.TARTIŞMA ve SONUÇ	55
8. KAYNAKLAR.....	61
9. EKLER.....	70
Ek 1. Etik Kurul Onay Formu.....	71
Ek 2. İntihal Raporu	72
10. ÖZGEÇMİŞ.....	73

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

DAB: 3,3'-diaminobenzidine

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz

HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

H&E: Hematoksilin ve Eosin

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

MDA: Malondialdehit

MC: *Myrtus communis* L.

MCP-1: Monosit kemoatraktan protein-1

MPO: Miyeloperoksidaz

NO: Nitrik oksit

NOX-2: Nitrik oksit sentaz

8-OHdG: 8-hidroksi-2 –deoksiguanosin

PAI-1: Plazminojen aktivatör inhibitör-1

PBS: Fosfat tampon çözeltisi

ROS: Reaktif oksijen türleri

TNF- α : Tümör nekroz faktör-alfa

TUNEL: Terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı deoksiüridin trifosfat (dUTP)

nick uçlu etiketleme

TXA2: Tromboksen A2

VEGF: Vasküler endotelyal growth faktör

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

YYD: Yüksek yağlı diyet



Şekil listesi

Şekil 1. Kalp boşluklarını gösteren oblik kesit

Şekil. 2 Aort duvarının histolojik yapısı

Şekil 3. *Myrtus communis* L. bitkisinin çiçekleri, beyaz meyveli genotipi ve siyah meyveli genotipi

Şekil 4. Deney gruplarının haftalık kilo takibi

Şekil 5. Deney gruplarına ait kalp dokusunda histopatolojik değerlendirme indeksi

Şekil 6. Deney gruplarına ait aort dokusunda histopatolojik değerlendirme indeksi

Şekil 7. Deney gruplarında kalp dokusuna ait eNOS boyanma yoğunluğu grafiği

Şekil 8. Deney gruplarında aort dokusuna ait eNOS boyanma yoğunluğu grafiği

Şekil 9. Deney gruplarında kalp dokusuna ait iNOS boyanma yoğunluğu grafiği

Şekil 10. Deney gruplarında aort dokusuna ait iNOS boyanma yoğunluğu grafiği

Şekil 11. Deney gruplarında kalp dokusuna ait NOX-2 boyanma yoğunluğu grafiği

Şekil 12. Deney gruplarında aort dokusuna ait NOX-2 boyanma yoğunluğu grafiği

Şekil 13. Deney gruplarında kalp dokusuna ait apoptotik indeks grafiği

Şekil 14. Deney gruplarında aort dokusuna ait apoptotik indeks grafiği

Şekil 15. Deney gruplarındaki hayvanların serum trigliserid değerleri

Şekil 16. Deney gruplarındaki hayvanların serum kolesterol değerleri

Şekil 17. Deney gruplarındaki hayvanların serum HDL değerleri

Şekil 18. Deney gruplarına ait kalp dokularında MDA, 8-OHdG, NO, MPO, TNF- α , MCP-1 aktiviteleri

Şekil 19. Deney gruplarına ait aort dokularında MDA, 8-OHdG, NO, MPO, TNF- α , MCP-1 aktiviteleri



Resim listesi

Resim 1. Kalp dokusu H&E boyası

Resim 2. Aort dokusu H&E boyası

Resim 3. Kalp dokusu eNOS immunohistokimya boyası

Resim 4. Aort dokusu eNOS immunohistokimya boyası

Resim 5. Kalp dokusu iNOS immunohistokimya boyası

Resim 6. Aort dokusu iNOS immunohistokimya boyası

Resim 7. Kalp dokusu NOX-2 immunohistokimya boyası

Resim 8. Aort dokusu NOX-2 immunohistokimya boyası

Resim 9. Kalp dokusu TUNEL boyası

Resim 10. Aort dokusu TUNEL boyası

1. ÖZET

Yüksek Yağlı Diyetle İndüklenmiş Obezitede *Myrtus communis* L. Ekstraktının Kalp ve Aort Üzerine Etkilerinin Morfolojik ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi

Nagehan Özyılmaz Yay, Prof. Dr. Feriha Ercan

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Amaç: Bu çalışmada yüksek yağlı diyet (YYD) ile obezite oluşturulmuş sıçanlarda, oluşan kalp ve aort hasarında *Myrtus communis* L.'nin (MC) etkisinin histolojik ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntem:** Deneyde Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır. YYD grubu (n=7) ve YYD+MC grubundaki (n=7) sıçanlar dört ay süreyle yüksek yağlı yem ile beslenmiştir. YYD+MC grubuna üçüncü aydan sonra oragastrik gavaj ile MC ekstraktı haftada 5 gün uygulanmıştır. Deney sonunda sıçanlar dekapite edilerek kanları, kalp ve aort dokuları alınmıştır. Işık mikroskopik incelemeler için hazırlanan dokularda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS), indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve NADPH oksidaz-2 (NOX-2) pozitif hücreler immunohistokimyasal olarak, apoptoz varlığı ise TUNEL yöntemi ile değerlendirilmiştir. Kan serumunda kolesterol, trigliserid ve HDL değerleri ölçülmüştür. Kalp ve aort malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), mieloperoksidaz (MPO) seviyeleri biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. **Bulgular:** YYD grubunda vücut ağırlığında artış, bozulmuş kalp ve aort morfolojisi görülmüştür. Hem kalp hem aortta iNOS, NOX-2 immünopozitif ve TUNEL pozitif hücrelerde artış, eNOS immünopozitif hücrelerde azalma gözlenmiştir. Serumda trigliserit, kolesterol seviyeleri artarken, HDL seviyesi düşmüştür. Hem kalp hem aort dokularında MDA, 8-OHdG, TNF- α , MCP-1 ve MPO seviyelerinde artış, NO seviyelerinde düşüş olduğu gözlenmiştir. YYD+MC grubunda tüm parametrelerin düzeldiği gözlenmiştir. **Sonuçlar:** YYD ile indüklenen obezitenin sıçanlarda oksidatif stres aracılığıyla kalp ve aort hasarı oluşturduğu görülmüştür. MC ekstraktının oksidatif stresi inhibe ederek kalp ve aort üzerinde koruyucu etkilerinin olabileceği düşünülmektedir. **Anahtar Kelimeler:** Yüksek yağlı diyet, *Myrtus communis* L., kalp, aort, oksidatif stres

2. SUMMARY

Morphological and Biochemical Evaluation of the Effects of *Myrtus communis*

L. Extract on Heart and Aorta in High Fat Diet Induced Obese Rats

Nagehan Özyılmaz Yay, Prof. Dr. Feriha Ercan

Department of Histology ve Embryology

Aim: It was aimed to research the effect of *Myrtus communis* L. (MC) on heart and aorta damage on high-fat-diet (HFD) induced obese rats via histological and biochemical methods. **Materials and Methods:** Wistar albino male rats were used in this study. HFD (n=7) and HFD+MC group (n=7) fed high-fat chow for four months. In HFD+MC group, after third month MC extract was applied by orogastric gavage 5 days a week. Rats were decapitated at the end of experiment and blood, heart and aorta samples were taken. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS), inducible nitric oxide synthase (iNOS) and NADPH oxidase-2 (NOX-2) positive cells were evaluated immunohistochemically and apoptosis was evaluated by TUNEL method. Cholesterol, triglyceride and HDL were measured in blood serum. In heart and aorta malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and myeloperoxidase (MPO) levels were evaluated biochemically. **Results:** Increase in body weight, degenerated heart and aorta morphology, an increase in iNOS, NOX-2 and TUNEL positive cells and a decrease in eNOS-positive cells were observed in both tissues in HFD group. Triglyceride, cholesterol levels increased while HDL level decreased. An increase in MDA, 8-OHdG, TNF- α , MCP-1 and MPO levels and decrease in NO levels were observed in both tissues. These parameters improved in HFD+MC group. **Conclusion:** HFD-induced obesity causes heart and aorta damage through oxidative stress in rats. MC extract may have protective effects on heart and aorta by inhibiting oxidative stress. **Keywords:** High-fat-diet, *Myrtus communis* L., heart, aorta, oxidative stress

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) obeziteyi sağlık için risk oluşturacak ölçüde anormal ve aşırı yağ birikimi olarak tanımlamıştır (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> Erişim tarihi: 09.06.2021). Dünya çapında 18 yaş ve üstü 1,9 milyar insanın fazla kilolu ($VKİ \geq 25$ kg/m²), 650 milyondan fazlasının ise obez ($VKİ \geq 30$ kg/m²) olduğu bildirilmiştir. Birçok batı ülkesinde her iki kişiden birinin fazla kilolu veya obez olduğu kabul edilmektedir (Blüher, 2019; Elagizi ve ark., 2018). Yapılan çalışmalar genetik, diyet, çevre, yaşam koşullarının obeziteye neden olabileceğini göstermiştir (Tobore ve ark., 2020). Obezitenin, kalp ve damar hastalıkları (ateroskleroz, koroner kalp hastalığı, atriyal fibrilasyon, kalp yetmezliği hipertansiyon), Tip 2 diyabet, gastrointestinal hastalıklar, astım, uyku bozukluğu, osteoartrit ve bazı kanser türleri için risk faktörü olduğu bilinmektedir (Manna ve Jain, 2015; Jack ve ark., 2019).

Obezite temelde enerji alımı ile kullanımı arasındaki dengesizlik nedeniyle oluşan çevresel ve genetik faktörlerden etkilenen çok yönlü bir hastalıktır. Fiziksel aktivitenin az oluşu ve sedanter yaşam tarzı da obezite oluşumunda etkili olmaktadır (Szewczyk-Golec ve ark., 2017). Kalori alımındaki artışın kilo artışında en temel nedenlerden biri olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar yüksek kalorili, yüksek yağlı ve düşük lifli diyet türlerinin obeziteyi indüklediğini göstermiştir (Aggarwal, 2011).

Obezite, günümüzde kalp ve damar hastalıklarının oluşumunda majör risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Kilo fazlalığı ve obezite kalp ve damarların yapısını ve fonksiyonunu olumsuz etkileyerek, kardiyovasküler hastalıkların morbidite ve mortalitesini anlamlı derecede arttırmaktadır (Perck ve ark., 2012). Obezitenin neden olduğu oksidatif stresin, obezite ile ilişkili kardiyovasküler riskten sorumlu ana mekanizma olduğu gösterilmiştir (Elmas ve ark., 2019; Soda, 2010). Obezitenin hücrelerdeki reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna sebep olduğu bilinmektedir (Diniz ve ark., 2006). Yağ hücrelerinden salgılanan oksijen radikalleri, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin-6 (IL-6), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), IL-1 β , vasküler endotelial growth faktör (VEGF), tromboksan A2 (TXA2), plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) gibi mediyatörler endotel disfonksiyonu üzerinden kardiyovasküler hastalıkların gelişimine neden olmaktadır (Woo ve ark.,

2007). Ayrıca obezitede artan yağ dokusu miyokarta basınç uygulayarak atrofi oluşturmaktadır ve bu nedenle kalbin ileti yolları etkilenmekte, aritmiler meydana gelmektedir. Artan yağ asidi oksidasyonunun ve adipositlerden salgılanan mediyatörlerin lipotoksisite nedeniyle kardiyomiyositlerde doğrudan hasara yol açması kalbin sistolik fonksiyonunu bozmaktadır (Khan ve ark., 2011). Kalpte meydana gelen bu yapısal ve hemodinamik değişiklikler konjestif kalp yetersizliği ve ani kardiyak ölüm ile sonuçlanan obezite kardiyomiyopatisini oluşturmaktadır (Campbell ve ark., 2019).

Yapılan çalışmalar NOX'un ROS'un ana kaynağı olduğunu ve YYD'nin serbest oksijen radikallerinin üretimini sağlayan NADPH oksidaz-2 (NOX-2)'yi ve oksidatif stresi arttırdığını göstermektedir (Mendez ve ark., 2015). Obezitede artan NOX-2 aktivasyonundan kaynaklanan aşırı miktarda reaktif oksijen türü, endotel disfonksiyonuna ve bunun sonucunda kardiyovasküler komplikasyonlara yol açar (Silver ve ark., 2007). Yüksek yağlı diyet (YYD) sonucu artan reaktif oksijen türlerinin vasküler konstrüktif faktörlerin sentezinde artışa yol açtığı, nitrik oksit (NO) gibi gevşetici faktörlerin salınımını azalttığı ve bunun da koroner arterlerde endotel disfonksiyonuna neden olduğu bilinmektedir. NO dokularda hasar gelişiminde rol alan en önemli mediyatördür ve yapılan araştırmalarda obez hayvanlarda uygulanan antioksidan tedavilerin NO metabolizmasındaki değişiklikleri önleyerek koroner vasküler yanıtı iyileştirdiği gösterilmiştir (Sukumar ve ark., 2014). Hipertansiyon ve ateroskleroz gelişimi, obez ve diyabetik bireylerde endotel disfonksiyonundan sonra gelişen en yaygın kardiyovasküler komplikasyonlardır (Elmas ve ark., 2022). Damar duvarındaki artan oksidatif stres, IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve MCP-1 gibi kemoatraktan moleküllerin ekspresyonunu artırarak enflamasyon gelişimini uyarır (Hoogeveen ve ark., 2005; Engin, 2017). Bu, endotel bölgesine monosit göçü ile sonuçlanır ve monositler, aktif salgılayıcı makrofajlar haline gelir. Obezitede endotel disfonksiyonu, endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesinde ve NO düzeylerinde azalma, ayrıca indüklenabilir NOS (iNOS) aktivitesinde artış ve buna bağlı olarak peroksinitrit oluşumu gözlenmektedir. Bu durumda damar düz kas dokusunda bozulma meydana gelir. Obezite vasküler ve sistemik enflamasyona yol açmaktadır ve oluşan kronik enflamasyon vücuttaki tüm arterleri etkileyen ateroskleroz oluşumunu arttırmaktadır (Silva ve ark., 2016).

Antioksidatif ve antiinflamatuvar aktivite yoluyla uçucu yağlar ve flavonoidler içeren bitkisel ilaçlar, kardiyovasküler yetmezlikler dahil olmak üzere obezite ile ilişkili birçok hastalık için birçok yararlı etkiye sahip olabilir (Patra ve Nithya, 2015). *Myrtus communis* L. (MC), Akdeniz bölgesi ve Orta Doğu'da yaygın olarak bulunan aromatik bir bitkidir (Alipour ve ark., 2014). Antiinflamatuvar, antihipertansif, antitussif, antialerjik, antiemetik etkileri olduğu bilinmektedir. Deneysel diyabet ve hiperlipidemide yararlı etkileri vardır (Kanpalta ve ark., 2022; Kuru Yaşar ve ark., 2021; Khan ve ark., 2014). MC'nin enflamatuvar süreçleri baskılama ve serbest oksijen radikalleri temizleme yeteneğinin, obezitede meydana gelen doku hasarını iyileştirmede etkili olabileceği düşünülmektedir (Khan ve ark., 2014).

Bu çalışmada MC'nin YYD'nin neden olduğu kalp ve aort hasarı üzerindeki olası koruyucu etkilerinin histolojik ve biyokimyasal analizlerle incelenmesi amaçlanmıştır. Kalp ve aort morfolojisi histolojik olarak olarak değerlendirilmiştir. eNOS, iNOS ve NOX-2 aktiviteleri immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir. Ayrıca TUNEL yöntemi ile apoptoz değerlendirilmiştir. Kan serumunda kolesterol, trigliserit ve HDL düzeyleri ile kalp ve aort dokularında malondialdehit (MDA), NO, 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) gibi oksidatif belirteçler ile MCP-1, TNF- α ve miyeloperoksidaz (MPO) gibi enflamatuvar belirteçler biyokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kalp ve Aort Histolojisi

4.1.1. Kalp Histolojisi

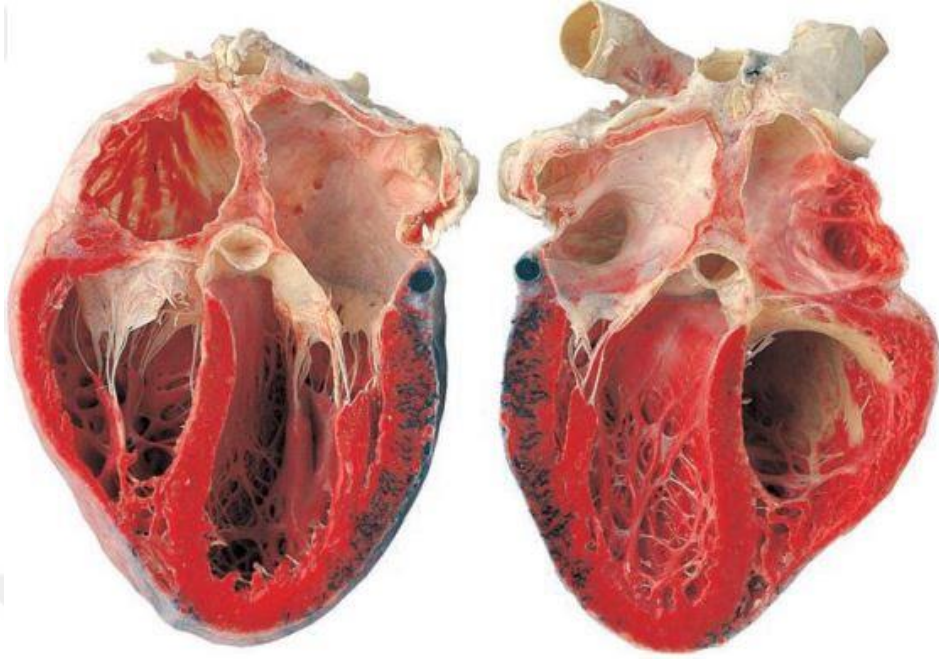
Kalbin dört odacığının duvarını oluşturan kalp kası ritmik kasılmalar ile kanı sistemik dolaşıma pompalar. Kalbin dört odacığının duvarları içten dışa doğru endokard, miyokard ve epikard olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır.

Endokard içte endotel ve destekleyici bağ dokusundan oluşan oldukça ince bir katman, ortada düze kas lifleri ve bağ dokuda oluşan miyoelastik tabaka ve bunun altında miyokardla birleşen subendokardiyal tabakadan oluşur. Kalbin uyarıcı iletici sistemini oluşturan, değişikliğe uğramış kalp kası liflerinden oluşan liflerin dalları subendokardiyal tabakada bulunmaktadır.

Miyokard, kalp duvarının en kalın tabakasıdır ve her kalp boşluğunu spiral olarak saran kalp kası liflerinden oluşmaktadır. Sistemik ve pulmoner dolaşımda kan pompalayabilmek için yüksek güce gereksinim duyulmaktadır. Bu nedenle miyokard özellikle sol ventrikül duvarında olmak üzere ventriküllerde atriyum duvarlarına göre daha kalındır.

Perikard, miyokardı dıştan saran çift tabakalı seröz bir zardır. Viseral tabaka ve pariyetal tabakaların birbirlerine bakan yüzeyleri tek katlı yassı mezotel hücrelerinden oluşur. İki yaprak arasında kalbin içinde yer aldığı perikard boşluğu bulunmaktadır. Perikard boşluğu 15-50 ml seröz sıvı içermektedir. Epikard kalbi saran zar olan perikardın viseral tabakasına karşılık gelen, kan damarları ve sinirler içeren gevşek bir bağ dokusu ile desteklenen tek katlı bir mezoteldir. (Mescher, 2016).

Kardiyak iskeleti oluşturan tıkız fibröz bağ dokusu interatriyal ve interventriküler septumların bir bölümünü oluşturur. Kalbin kapakçıklarını çevreleyerek kapakçıkların yapraklarına uzanır ve tendon kordonlarına uzanır. Tıkız düzensiz bağ dokuya sahip bu bölgeler kalp kapakçıklarını destekler. Kalp kası için tutunma noktaları oluşturur, atriyumlar ve ventriküller arasında elektriksel bir yalıtkan gibi davranarak kalp atımının koordinasyonuna yardımcı olur (Mescher, 2016).



Şekil 1. Kalp boşluklarını gösteren oblik kesit (Ross ve Pavlina, 2014).

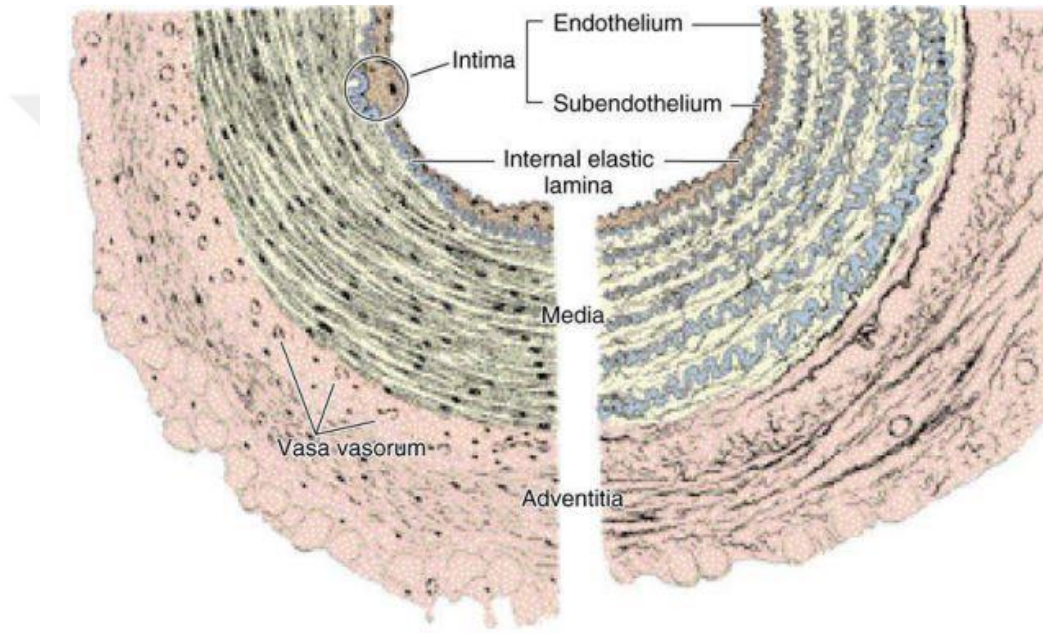
4.1.2. Aort Histolojisi

Aort ve dalları pulmoner arter ve dalları gibi elastik arter sınıfındadır. Bu büyük damarlar kanı daha küçük damarlara taşıma görevlerinden dolayı iletiler olarak da adlandırılırlar. Aort içten dışa doğru 3 tabakadan oluşmaktadır.

Tunika intima: Endotel, subendotelyal tabaka ve internal elastik membran olmak üzere 3 tabakadan oluşur. Endotel, tek katlı yassı epiteldir. Endotel hücreleri, NO, laminin, endotelin, tip II, IV, V kollajenleri ve von Willebrand faktörü salgılar. Aynı zamanda bradikinin, serotonin, prostaglandinler, norepinefrin, anjiyotensin dönüştürücü enzim gibi maddeleri inaktif hale getiren membran bağlı enzimleri içermektedir. Subendotel tabaka ise düz kas hücreleri ve gevşek bağ dokusundan oluşan tabakadır. Yoğun olarak elastik lifler içeren internal elastik membran bu tabakada bulunmaktadır.

Tunika media: Proteoglikan özellikte ve tip III kollajen içeren konsantrik dizilimde düz kas hücrelerini, elastik lifleri ve elastik membranları içeren tabakadır. Eksternal elastik membran içerir. Fibröz elementler ve matriks düz kas hücreleri tarafından sentezlenmektedir.

Tunika adventisya: Bağ dokusu ile devamlılık gösteren uzunlamasına yerleşik elastik liflerin, fibroblastların, tip I kollajen liflerin olduğu tabakadır. Tunika intima damardaki kanla beslenir. Büyük damarların kas tabakasının kalınlığı difüzyonla beslenmeyi engellemektedir. Tunika media ve adventisyanın derinlerindeki hücrelerin difüzyonla beslenmesi zor olduğundan bu tabakada beslenme vaza vazorumlar denilen damar duvarına giren ve sık dallanan damarlar aracılığıyla gerçekleşmektedir (Mescher, 2016).



Şekil 2. Aort duvarının histolojik yapısı (Ross ve Pavlina, 2014).

4.2. Obezite ve Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri

Kronik bir hastalık olarak tanımlanan obezite dünya genelinde epidemik boyutlara ulaşmıştır. Çevresel faktörler ve genetik yatkınlığın yanı sıra yüksek enerjili gıdaların tüketiminde artış ve fiziksel aktivitenin azalması nedeniyle obezite prevalansında artış gözlenmektedir. Son 40 yılda obez bireylerin sayısı erişkinlerde 7 kat, çocuklarda ise 10 kat artmıştır (Meldrum ve ark.,2017). Kalori alımındaki artışın yanı sıra diyetin türünün de obezite üzerindeki etkisinin çok büyük olduğu bilinmektedir. Yüksek kalorili, yüksek yağlı ve düşük lifli bir diyetlerin obeziteyi arttırdığı gösterilmiştir.

Bunun yanı sıra bazı diyet türleri proinflamatuvar olup obeziteyi indüklemekte iken bazıları antiinflamatuvar özellikte olup obeziteyi azaltmaktadır (Hoogeveen ve ark., 2005).

Obezite kalp damar hastalıkları için tek başına risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Kilo fazlalığı ve obezite, kalp ve damarların yapısını ve fonksiyonunu olumsuz etkileyerek, kardiyovasküler hastalıkların morbidite ve mortalitesini anlamlı derecede arttırmaktadır (Campbell ve ark., 2019). Obezite dislipidemi, enflamasyon artışı, hipertansiyon, tıkalı apne ve hipoventilasyon oluşturarak kalp hastalıklarına neden olmaktadır. Obezitenin koroner arter hastalığı, konjestif kalp yetmezliği ve ani kardiyak ölüm ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (Khan ve ark., 2018). Obezitenin vasküler ve sistemik enflamasyona yol açtığı ve nitrik oksit in hasar gelişiminde rol alan en önemli mediyatör olduğu bilinmektedir (Czumaj ve ark., 2019). Obezitede görülen adiposit artışıyla bağlantılı olarak adipositlerden salgılanan oksijen radikalleri, IL-1 β , IL-6, TNF- α , VEGF, PAI-1, TXA2 gibi mediyatörler de artmaktadır. Bu durum endotelial disfonksiyonda artışa neden olarak obezitenin damar hastalıkları ile ilişkisini güçlendirmektedir (Mendez ve ark., 2017). Ayrıca obezitede aterosklerozun artması vücuttaki tüm arterleri etkileyerek dolaşım sisteminde disfonksiyona neden olmaktadır. Bunun yanı sıra obezitede görülen trigliserid artışının miyositlerde yağ asidi oksidasyonu arttırması kalpte miyokartta oksijen tüketiminde artışa neden olmaktadır. Artan yağ dokusunun miyokarta basısı sonucu miyokartta atrofi oluşmaktadır. Bunların sonucunda kalpteki ileti yolları etkilenerek kalbin sistolik fonksiyonu bozulmaktadır. Kalpteki bu yapısal ve hemodinamik değişiklikler konjestif kalp yetersizliği ile sonuçlanan obezite kardiyomiyopatisi denilen durumu meydana getirmektedir. Obezite kardiyomiyopatisi gelişen bireylerde en sık görülen mortalite nedeni ilerleyici kalp yetersizliği ve ani kardiyak ölümdür. Hipokrat yüzyıllar öncesinde obezitenin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkisini “Ani ölüm, şişmanlarda zayıflara göre daha sık görülür” şeklinde tanımlamıştır (Bray, 2004).

Ulusal Kalp Enstitüsü ve Boston Üniversitesi tarafından Massachusetts’deki Framingham kasabasında 1948 yılında 5209 erişkinden oluşan örnek grubuyla başlatılan ve hala devam eden bir çalışma olan Framingham kalp çalışmasından edilen

sonuçlar obezite, diyabet ve sedanter yaşam gibi faktörlerin kalp ve damar hastalıklarının oluşumunda majör risk faktörleri olduğunu göstermiştir.

Obezitede gelişen kalp ve damar hastalıkları riskini değerlendiren en büyük çalışma olarak bilinen Framingham çalışmasından elde edilen verilere göre VKİ'deki her 1 kg/m² 'lik artışın, kalp yetmezliği riskini erkeklerde %5 ve kadınlarda %7 oranında arttırdığı görölmüştür (Elagizi ve ark., 2018). Bunun yanı sıra her iki cinste de obezitede normal ağırlığa göre 40 kat daha fazla ani kardiyak ölümün göröldüğü bildirilmiştir (Ma ve ark., 2014; Khan ve ark 2018). Kalp ve damar hastalıkları ile obezite arasındaki ilişkiyi inceleyen bir diğer kapsamlı çalışmada 1964-2015 yılları arasında 3,2 milyon kişi takip edilmiş ve elde edilen verilere göre normal VKİ'si olan hastalarla obez hastalar karşılaştırıldığında kalp ve damar hastalıklarının morbidite ve mortalite riskinin anlamlı derecede artmış olduğu saptanmıştır (Khan ve ark., 2018).

4.3. *Myrtus communis* L. Bitkisinin Özellikleri

MC bitkisi Akdeniz maki topluluğundaki önemli bitkilerden biridir ve ölkemizde başta Ege ve Akdeniz bölgeleri olmak üzere tüm sahil şeridinde yetişmektedir (şen ve ark., 2016). 2,4-3 m yüksekliğinde Akdeniz ikliminde kendiliğinden gelişebilen küçük yeşil yaprakları olan ve yaprak dökmeyen bir bitkidir. Çiçekleri yıldız şeklinde, beyaz ya da pembemsi renkte olup siyah ve beyaz meyveli olmak üzere iki formu vardır. Özellikle siyah meyveli formları içerdiği antioksidan bileşikler sayesinde son yıllarda sıkça kullanılmaya başlanmıştır (Medda ve ark., 2021). MC bitkisinin hem meyveleri, hem de yaprakları halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır.

MC bitkisinin meyveleri çoğunlukla uçucu yağlar, tanninler, flavonoidler, sitrik ve malik asit gibi organik asitlerden oluşmaktadır. Yapraklar ise tanninler, quercetin, kateşin ve miricetin türevleri flavonoidleri ve uçucu yağları içermektedir. Türkiye'de yetişen MC bitkisinin yapraklarındaki yağların ana bileşenler olarak 1,8-sineol, linalool, mirtenil asetat ve mirtenolden oluştuğu gösterilmiştir (Contini ve ark., 2020; şen ve ark., 2016). MC ekstraktının ve uçucu yağ içeriklerinin, bitkinin analiz edilen kısımlarına, yetiştiği bölgeye, kullanılan çözücü ve analiz yöntemine bağlı olarak değişiklik gösterebileceği bildirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda siyah meyveli ve yabani genotiplerin, beyaz meyveli ve aşılı olan genotiplere göre daha fazla oranda

fenolik bileşik içerdiği tespit edilmiştir (Tuberoso ve ark., 2013). Antioksidan aktivitenin, toplam fenol miktarı ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu gözlenmiştir.

MC'nin antioksidan, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antimutajenik, antikanser, antimikrobiyal, aktiviteleri olduğu bilinmektedir (Hashemipour ve ark., 2017; Alyousef ve ark., 2021; Şen ve ark., 2016). Ayrıca hiperlipidemi ve hiperglisemi üzerindeki iyileştirici etkileri sayesinde antiobezitik etki gösterdiği bildirilmiştir (Ahmed ve ark., 2013; Patra ve ark., 2015). Serum TNF- α ve IL-6 düzeylerini azaltarak hasarlı dokuya lökosit göçünün azaltılmasının antiinflamatuvar etki mekanizmasında rol oynadığı gösterilmiştir (Alipour ve ark., 2014).



Şekil 3. *Myrtus communis* L. bitkisinin çiçekleri, beyaz meyveli genotipi ve siyah meyveli genotipi (Jabri ve ark., 2016).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınarak yapılmıştır (01.05.2019, 23.2019.mar). Çalışmada M.Ü. DEHAMER'den temin edilen Wistar albino yetişkin erkek sıçanlar (2 aylık, 200-250 gr) kullanılmıştır. Hayvanlar, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde ve oda sıcaklığında kafeslerde en fazla 4 sıçan olacak şekilde muhafaza edilmiştir.

5.2. Deney Grupları

Diyetle indüklenmiş obezite oluşturmak için yüksek yağlı diyet (YYD) ve YYD+*Myrtus communis* L. (MC) grubundaki sıçanlar %45 oranında yağlı yem, kontrol (K) grubundakiler ise standart sıçan yemi ile beslenmişlerdir. Tüm deney hayvanları musluk suyu içmişlerdir.

Kontrol (K) grubu (n=7): Bu gruptaki sıçanlar 16 hafta boyunca standart sıçan yemi ile beslenmiştir.

YYD grubu (n=7): Bu gruptaki sıçanlar 16 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenmiştir.

YYD+MC grubu (n=7): Bu gruptaki sıçanlar 16 hafta boyunca YYD ile beslenmiştir; serum fizyolojik ile seyreltilmiş MC ekstraktı (100 mg/kg) çalışmanın son 4 haftası boyunca, haftada 5 gün orogastrik gavaj ile uygulanmıştır.

5.3. MC Ekstraktının Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan MC bitki örnekleri Manisa şehrinden toplandıktan sonra Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ndeki bir botanikçi tarafından teşhis edilmiş ve Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda saklanmıştır. MC'nin yaprakları (100 gr) gölgede oda sıcaklığında kurutularak toz hale getirilmiştir ve Soxhlet cihazı kullanılarak %96 etanol ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzme işleminden sonra buharlaştırıcı kullanılarak kuruyana kadar konsantre

edilmiştir. %28.56 verimle elde edilen toz MC ekstraktı koyu cam şişede buzdolabında (4 °C) kullanılıncaya kadar saklanmıştır (Şen ve ark., 2016).

5.4. Işık Mikroskopik Preparasyon ve Histolojik Skorlama

Tüm gruptaki hayvanlardan 4-5 mm'lik kalp ve aort dokuları dekapitasyonun hemen ardından ışık mikroskopik incelemeler için nötral tamponla hazırlanmış %10'luk formalin içine alınıp 72 saat fikse edilmiştir. Yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edilmiş, 2x15 dakika toluende tutularak şeffaflaştırılmış, 60 °C'lik etüvde parafinde gece boyunca bekletildikten sonra gömme cihazı ile kasetler içerisinde bloklanmıştır. Bloklardan alınan ortalama 4 µm kalınlığındaki kesitler morfolojik değerlendirme ve histopatolojik semikantitatif analizlerde kullanılmak üzere Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyası ile boyanmıştır. Boyanan kesitler Olympus BX51 mikroskopu (Tokyo, Japonya) ile görüntülenmiş ve Olympus DP72 kamera (Tokyo, Japonya) ile fotoğraflanmıştır.

H&E ile boyanan kesitlerde histopatolojik değerlendirme için rastgele belirlenen 5 alan 20 x objektif ile incelenerek semikantitatif olarak skorlanmıştır. Kalp dokusu için enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kardiyomiyositlerde bozulma değerlendirilerek (0: yok; 1: hafif hasar; 2: orta hasar; ve 3: ciddi hasar) skorlama yapılmıştır (Şener ve ark., 2005). Aort dokusu için yapılan histopatolojik skorlamada elastik lamina düzensizliği değerlendirilmiştir (0: yok; 1: hafif hasar, sadece eksternal elastik laminada bozulma; 2: orta şiddette hasar; 3: yüksek şiddette hasar ve 4: şiddetli hasar). Aort hasarı elastik lamina düzensizliği değerlendirilerek 0 ve 4 arasında semikantitatif olarak skorlanmıştır (Hamblin ve ark., 2010).

5.5. eNOS, iNOS ve NOX-2 İmmunohistokimyasal Analizler

Deney gruplarından alınan kalp ve aort dokularında eNOS, iNOS ve NOX-2 immünohistokimya prosedürleri uygulanmıştır. Pozitif şarjlı lamlara alınan 4 µm kalınlığında parafin kesitler 1 gece boyunca 37 °C'lik etüvde bekletildikten sonra, deparafinize etmek amacıyla ksilende 2x10 dakika tutulup, %96'luk alkolde 2 kere 10 dakika bekletildikten sonra endojen enzim blokajı yapmak için metanol ile hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletilmiştir. Önce musluk suyu sonra distile

suda yıkama işleminden sonra antijen geri kazanımı için ısıtılmış sitrat tamponda (pH 6.0, 60 °C'de) 20 dakika 300 W mikrodalgaya maruz bırakılmıştır. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakılan kesitler PBS ile 2 kere 5 dakika yıkandıktan sonra bloklama solüsyonunda 10 dakika bekletilmiştir. Kalp ve aort kesitleri eNOS (1:300, Novus), iNOS (1:50, Novus), ve NOX-2 (1:200, Novus) primer antikorlar ile 1 gece boyunca +4 °C'de bekletilmiştir. Kesitler ikinci gün biyotinlenmiş sekonder antikor (SHP125, ScyTek Laboratories, Inc. USA) damlatılarak 20 dakika bekletilmiştir. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine HRP (horse-radish peroksidaz) solüsyonu damlatılarak 20 dakika bekletildikten sonra ve kesitler son kez PBS solüsyonunda yıkanmıştır. Kesitler yıkama işlemleri sonrası kromojen olarak diaminobenzidin (DAB) ile 1 dakika bekletilerek hematoksilin ile zıt boyaması yapılmıştır. %96 alkolden geçirilen kesitler entellan ile kapatılmıştır. İmmunohistokimyasal boyamaların negatif kontrolü için primer antikor basamağında primer antikor yerine PBS kullanılmıştır. Rastgele seçilen 5 farklı alandan 20x objektif ile elde edilen fotoğraflarda Image-J programı kullanılarak immunopozitif boyanma alanlarının yüzdesi belirlenmiştir.

5.6. TUNEL Yöntemi

Apoptoz tayini için in situ DNA uç işaretleme yöntemi kullanılmıştır ve TUNEL kiti içerisindeki klavuzda yazılı olan işlemler sırasıyla uygulanmıştır (ApopTag Plus, In Situ Apoptosis Detection Kit, S7101, Millipore). Pozitif şarjlı lamlara alınan 4 µm kalınlığında parafin kesitler 3x5 dk ksilen, 2x5 dk %100 alkol, 3 dk %95 alkol, 3 dk %70 alkolde bekletildikten sonra ve 5 dk PBS ile çalkalanmıştır. Proteinlerin sindirilmesi için kesitler Proteinaz K (20µg/ml) ile oda ısısında 15 dk inkübe edilmiş ve 2x2 dk distile su ile çalkalanmıştır. Endojen peroksidazın maskelenmesi için kesitler PBS ile hazırlanmış %3'lük H₂O₂ ile 5 dk oda ısısında inkübe edilmiştir. PBS ile 2x5 dk yıkanmıştır. Lamaların etrafı dikkatlice kurularak kesitlerin üzerine 15 µl dengeleyici tampon konulup, plastik lameller ile kapatılmış ve 30 dk oda ısısında inkübe edilmiştir. Plastik lameller kaldırılarak dokunun etrafı kurulanmış ve her lam üzerine 15 µl Tdt enzimi konulmuş ve tekrar plastik lameller ile kapatılmıştır. Nemli ortamda 37 °C etüvde 1 saat inkübe edilmiştir. Plastik lameller kaldırılarak kesitler durdurma/yıkama tamponu ile oda ısısında 10 dakika yıkanmıştır. PBS ile 3x5 dakika yıkanmıştır. Her kesit üzerine 13 µl Anti-Digoksigenin Peroksidaz konulmuş ve

üzerlerine plastik lameller kapatılarak oda ısısında 30 dakika inkübe edilmiştir. Kesitler PBS ile 3x5 dakika yıkanmıştır. Kesitlerin çevresi kurulandıktan sonra her kesit üzerine 15 µl substrat solüsyonu damlatılmıştır. Boyanma için oda ısısında 5 dakika bekletilmiştir. Renk reaksiyonu oluşması gözlemlendikten sonra kesitler distile su ile yıkanmıştır. Kesitler Mayer Hematoksilin ile boyanarak zıt boyaması yapılmış, %96 alkolde 2x2 dakika bekletildikten sonra kurumaya bırakılmıştır. Kuruma gerçekleşikten sonra entellan ile kapatılmıştır.

Boyalı kesitlerde 20x objektifle rastgele seçilen 5 farklı kesit alanı incelenerek TUNEL pozitif hücreler sayılmıştır. Aort dokusunda apoptotik indeks TUNEL pozitif düz kas hücrelerin sayısının tunika medyadaki toplam düz kas hücre sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur. Kalp dokusunda apoptotik indeks TUNEL pozitif düz kas hücrelerin sayısının toplam düz kas hücre sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur.

5.7. Biyokimyasal Analizler

5.7.1. Kan serumunda kolesterol, trigliserit ve HDL analizi

Dekapitasyon öncesi kalpten alınan kan örnekleri içerisinde antikoagülan madde bulunmayan tüplere alınmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 4000 rpm'de 15 dakika bounca santrifüj edilmiş ve ayrılan serum örneklerinde trigliserid, total kolesterol ve HDL analizleri ELISA yöntemiyle uygulanan ticari kitlerin (Elabscience Mouse Elisa Kit) prosedürüne uygun olarak değerlendirilmiştir. Buzdolabında bekletilmiş kitler oda sıcaklığına gelmesi için 10-20 dakika boyunca bekletilmiştir. Standartlar her iki kit prosedürüne göre seyreltilerek hazırlanmıştır. Reaktifler kit içerisinde hazır olarak verilmiştir. Serum örnekleri 10-20 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve 3000 rpm'de santrifüjlenerek süpernatantı toplanmıştır. İlk inkübasyon öncesinde kör kuyularına hiçbir şey koyulmamış, ancak standart kuyularına 50 mikrolitre +50 mikrolitre streptavidin konulmuş ve 1 saat için 37 °C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon öncesinde hafifçe çalkalanmış ve ardından inkübatöre konulmuştur. İnkübasyon sonrasında her küvete 0,35 ml yıkama solüsyonu konulmuş ve iyice emilmesi 1-2 sn beklenerek sağlanmıştır. Sonrasında silkeleyerek yıkama solüsyonu dökülmüş ve ters çevirerek havlu kâğıda solüsyon boşaltılmıştır. Bu işlem 5 kere tekrar edilmiştir. Yıkama yapıldıktan sonra kör ve standartlar da dâhil

olmak üzere her kuyuya önce kromojen solüsyon A 50 mikrolitre, sonra ışıktan korunması gereken kromojen solüsyon B karanlık ortamda yine 50 mikrolitre olacak şekilde eklenmiştir. Karışması için nazikçe çalkalanmış ve 10 dakika 37 °C’ de inkübe edilmiştir. 10 dakikalık inkübasyon sonrasında her bir kuyuya 50 mikrolitre durdurma solüsyonu eklenmiştir. Durdurma solüsyonu koyduktan sonra 10 dakika içerisinde ELISA Reader’a (Epoch Biotek) alınmıştır. 450 nm’de ELISA Reader yardımıyla ölçüm yapılmıştır. Absorbansların elde edilmesinin ardından absorbans-konsantrasyon grafiği çizilmiştir.

5.7.2. Doku MDA, 8-OHdG, NO, MPO, TNF- α ve MCP-1 analizi

Dekapitasyon sonrası dondurulan kalp ve aort dokuları ağırlıklarına göre yeterli miktarda PBS içerisinde homojenize edilmiştir. Dokuda MDA, 8-OHdG, NO, MPO, TNF- α ve MCP-1 analizi yapmak amacıyla -20 °C’de saklanan kalp ve aort dokuları çözündürülmüş fakat ısının 2-8 °C’de kalmasına dikkat edilmiştir. Dokular küçültülmüş ve ağırlıkları tartılmıştır. Bir tüpün içerisine doku yerleştirilip üzerine %10’luk homojenat olarak PBS (pH 7,4) eklenmiş ve homojenizatör ile örnekler homojenize edilmiştir. Yaklaşık 20 dakika 3000 rpm’de santrifüj edillerek dikkatli bir şekilde süpernatantları toplanmıştır. ELISA kiti içindeki prosedüre göre işlemler yapılarak 450 nm’de ELISA Reader yardımıyla ölçüm yapılmıştır. Absorbansların elde edilmesinin ardından absorbans konsantrasyon grafiği çizilmiştir.

5.8. İstatiksel Analiz

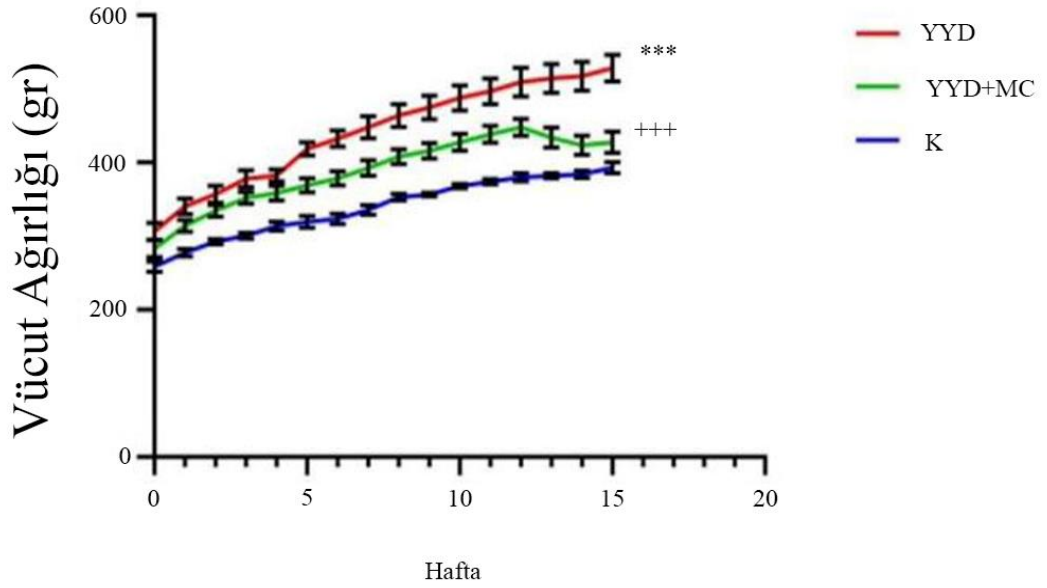
İstatistiksel analiz yapmak için GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) programı kullanılmıştır. İstatistiksel analizler için One-Way ANOVA yöntemi ve Tukey testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Sıçan Ağırlığı

Kontrol grubunda sıçan ağırlığı $268,40 \pm 3,71$ gr iken YYD grubunda $275,8 \pm 4,58$ gr, YYD+MC grubunda $260,6 \pm 3,58$ gr olarak ölçülmüştür.

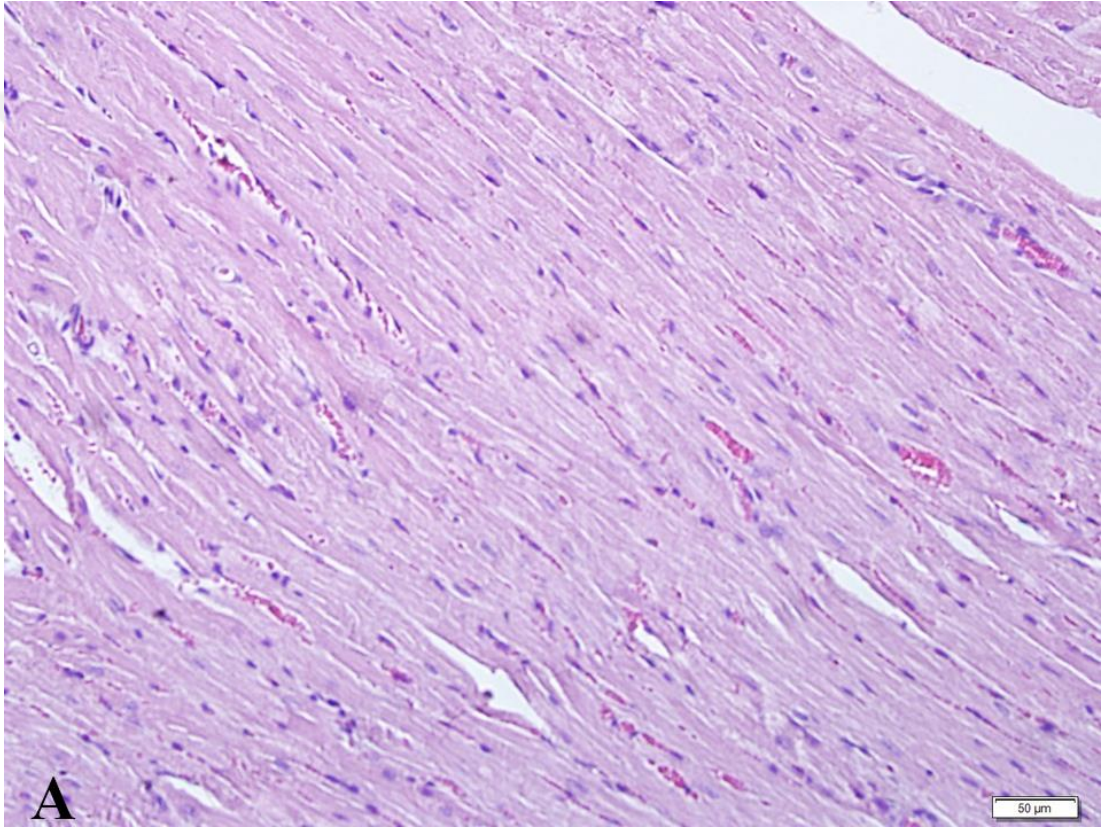
Deney sonunda YYD grubundaki ($409,3 \pm 4,8$ gr; $p < 0,001$) sıçanların ağırlıklarının kontrol grubundaki sıçanların ağırlıklarına göre arttığı YYD+MC grubundaki ($337,3 \pm 2,34$ gr; $p < 0,001$) sıçanların ağırlıklarının YYD grubundaki hayvanların ağırlıklarına göre azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4).



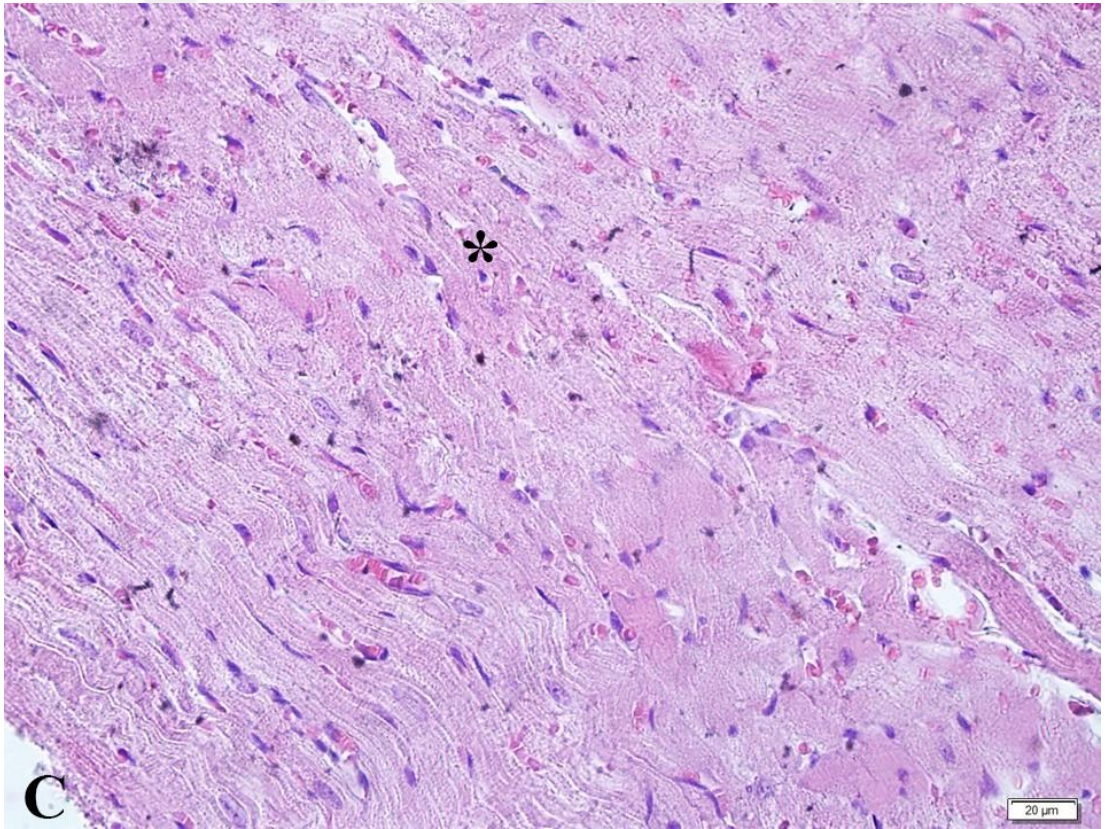
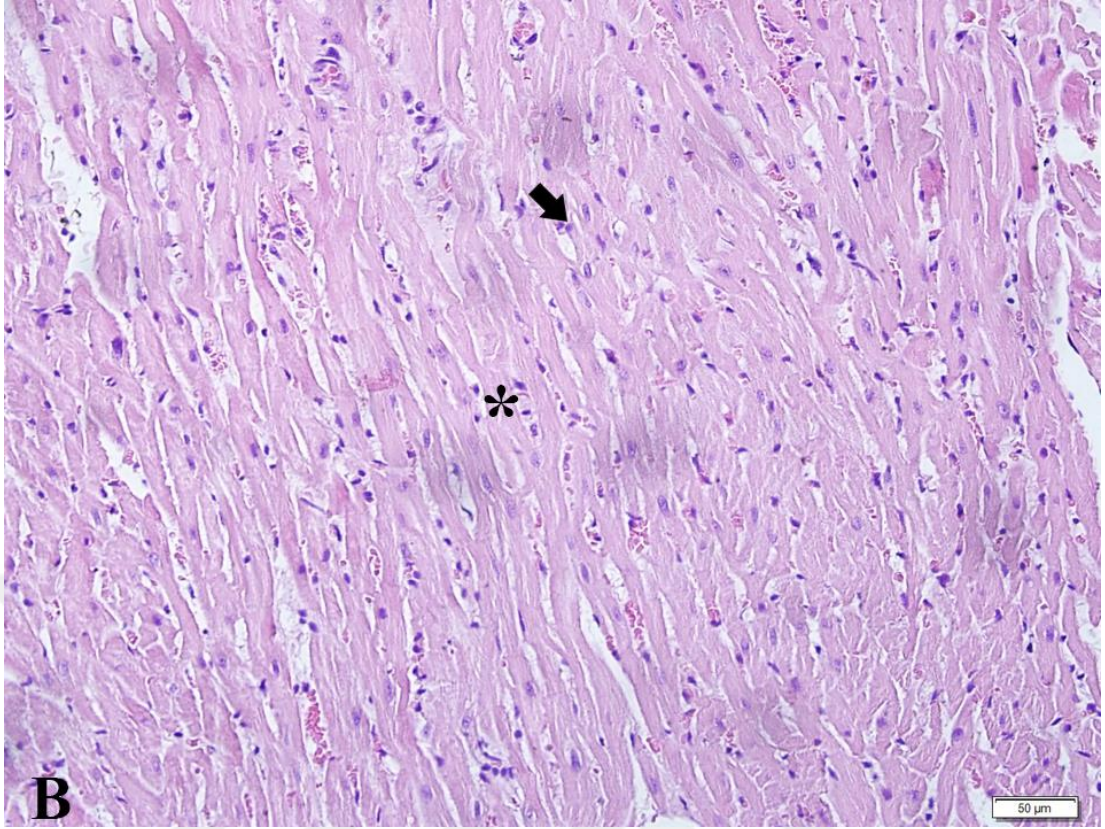
Şekil 4: Haftalık sıçan ağırlığı grafiği. ***: $p < 0,001$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +++ : $p < 0,001$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

6.2. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarına ait H&E ile boyama yapılan kalp örnekleri incelendiğinde kontrol grubuna ait düzenli ve normal morfolojide kalp kasları gözlenmiştir. YYD grubunda dejenere miyofibriller ve kardiyomiyositlerin, bozulmuş lif organizasyonunun arttığı gözlenmiştir. YYD+MC grubunda dejenere miyofibriller ve kardiyomiyositlerin, bozulmuş lif organizasyonunun azaldığı gözlenmiştir (Resim 1A-C).

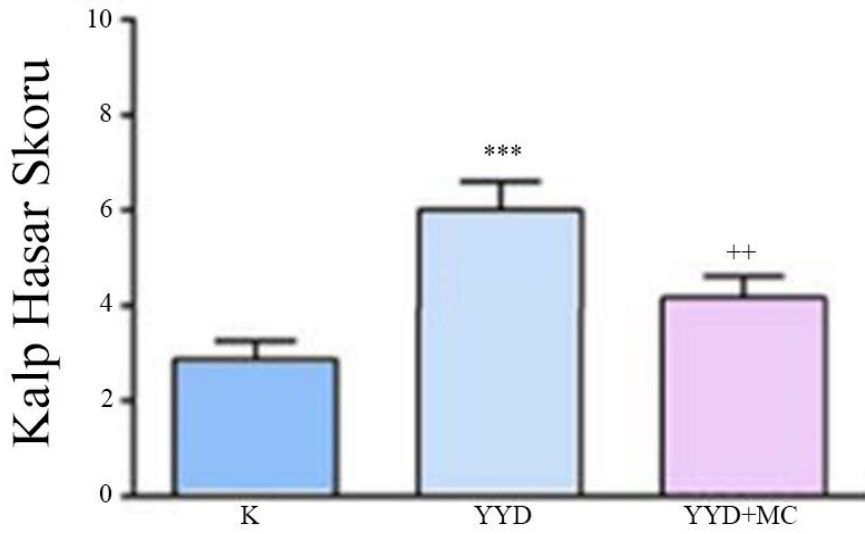


Resim 1 A: Kontrol (K) grubundaki (A) sıçanlarda normal morfolojiye sahip kalp dokusu görülmektedir. H&E boyası.



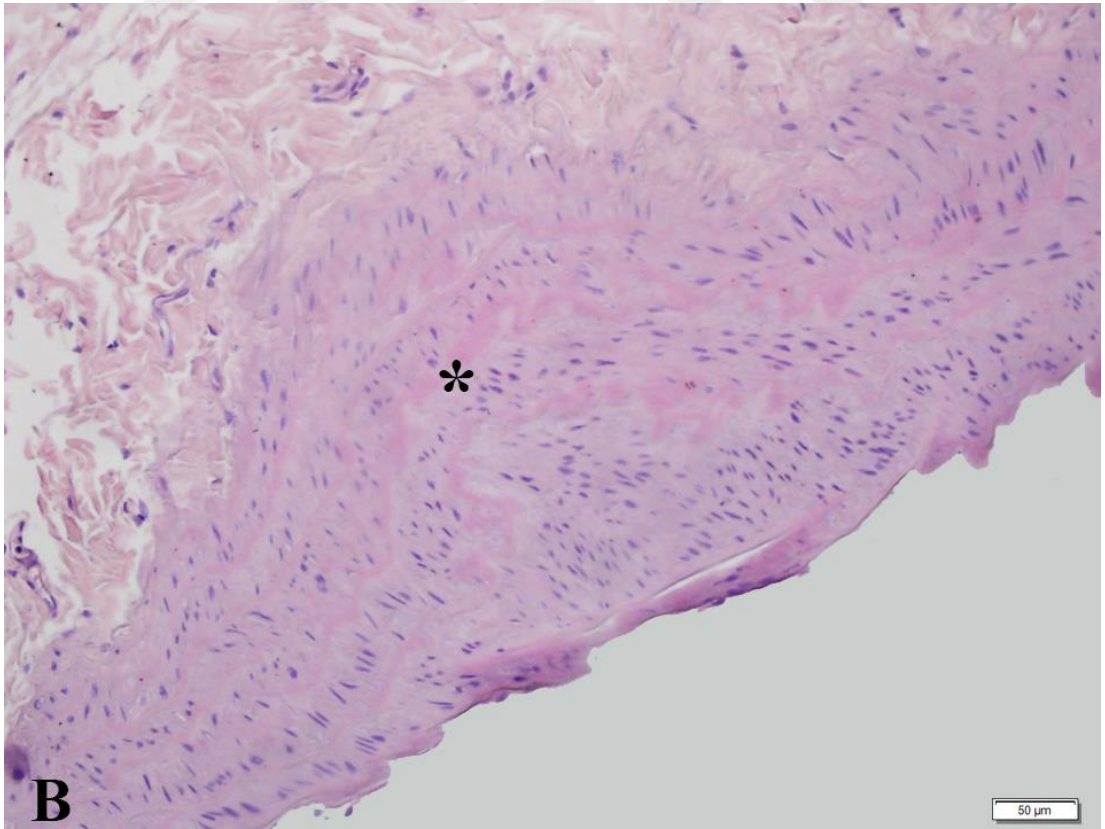
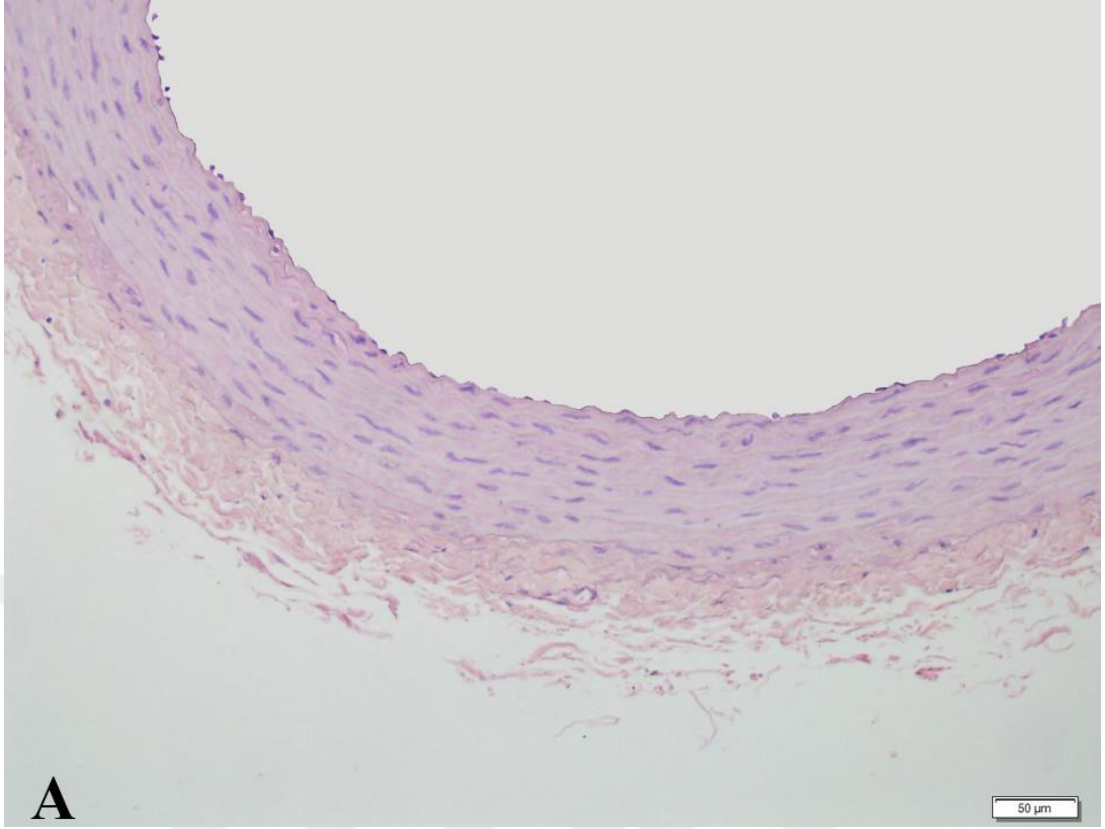
Resim 1 B, C: YYD (B) grubunda düzensiz miyofibriller (ok) ve hasarlanmış kardiyomiyositler (*) görülmektedir. YYD+MC (C) grubunda hasarlanmış kardiyomiyositler (*) görülmektedir. H&E boyası.

Deney gruplarına ait kalp dokularının histopatolojik değerlendirilmesinde YYD grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik skorun arttığı gözlenmiştir ($p<0,01$). YYD+MC grubunda YYD grubuna göre histopatolojik skorun azaldığı ($p<0,01$) ve kontrol grubuna yaklaştığı gözlenmiştir (Şekil 5).

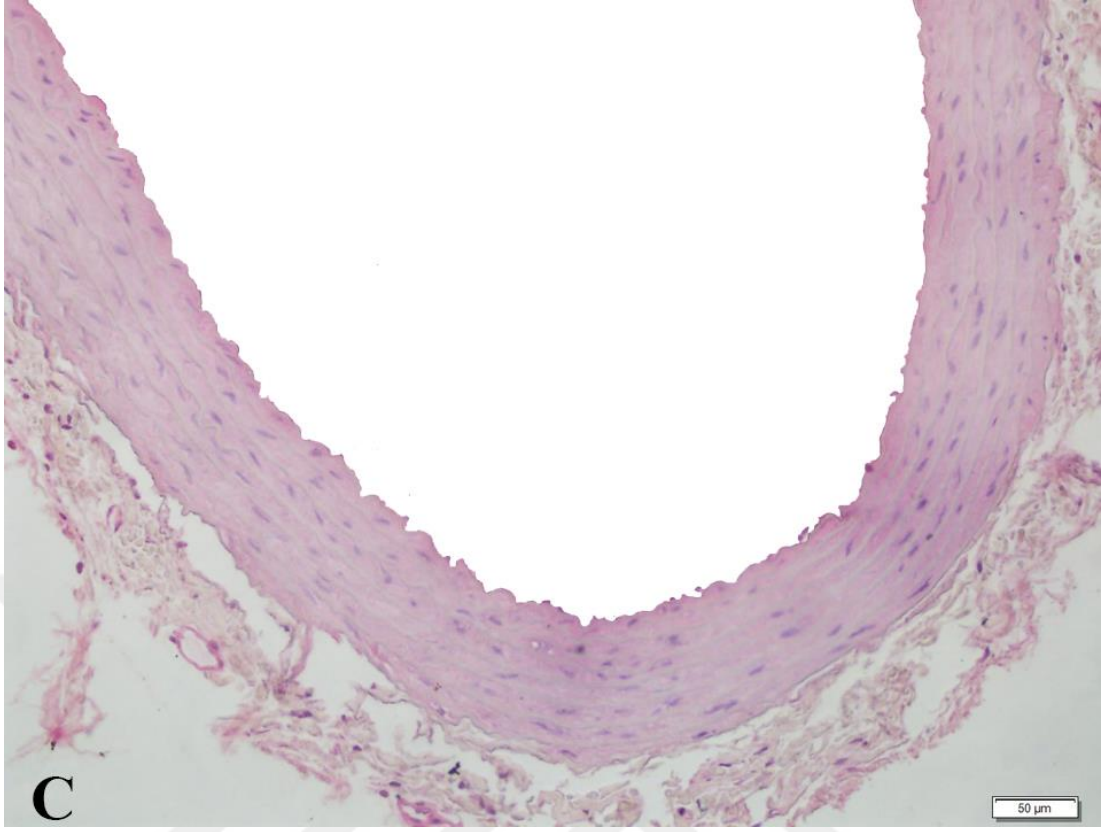


Şekil 5: Deney gruplarında kalp dokularının hasar oranını gösteren grafik. ***: $p < 0,001$ Kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. ++: $p < 0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

Deney gruplarına ait H&E ile boyama yapılan aort örnekleri incelendiğinde kontrol grubuna ait düzenli intima, media ve adventisya tabakaları ile normal morfolojik yapı gözlenmiştir. YYD grubunda hasarlı kalınlaşmış tunika media tabakası ve organizasyonu bozulmuş elastik lifler gözlenmiştir. YYD+MC grubunda tunika mediadaki kalınlaşmanın ve elastik lif organizasyonunda bozulmanın olduğu gözlenmiştir (Resim 2A-C).

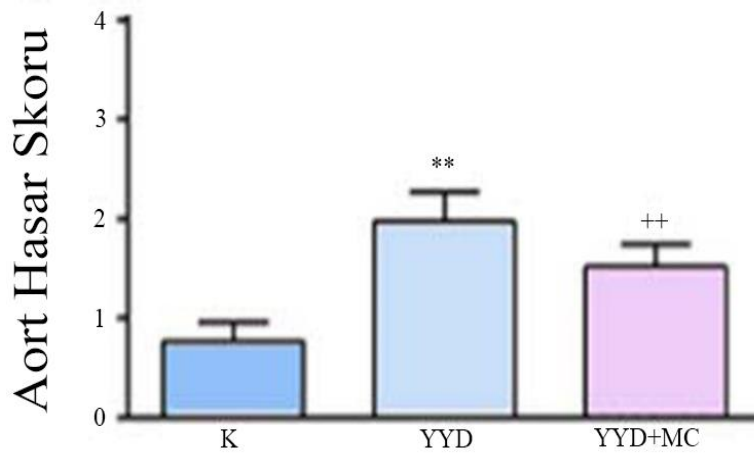


Resim 2 A, B: Kontrol (K) grubundaki (A) sıçanlarda normal morfolojide aort dokusu görülmektedir. YYD grubunda (B), kalınlaşmış media tabası (*) ile bozulmuş aort morfolojisi görülmektedir. H&E boyası.



Resim 2 C: YYD+MC (C) grubunda normal morfoloji görülmektedir. H&E boyası.

Deney gruplarına ait aort dokularının histopatolojik değerlendirilmesinde YYD grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik skorun arttığı gözlenmiştir ($p<0,01$). YYD+MC grubunda YYD grubuna göre histopatolojik skorun azaldığı ($p<0,01$) ve kontrol grubuna yaklaştığı gözlenmiştir (Şekil 6).

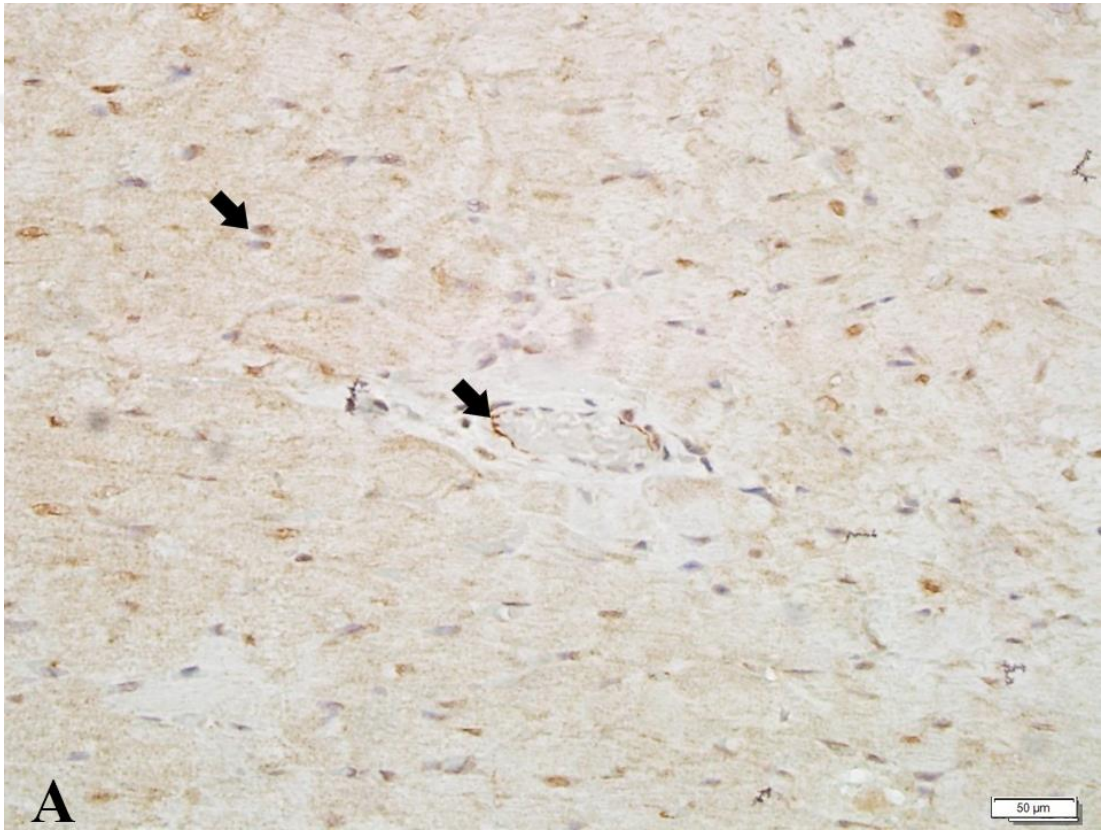


Şekil 6: Deney gruplarında aort dokularının hasar oranını gösteren grafik. **: $p < 0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. ++: $p < 0,001$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

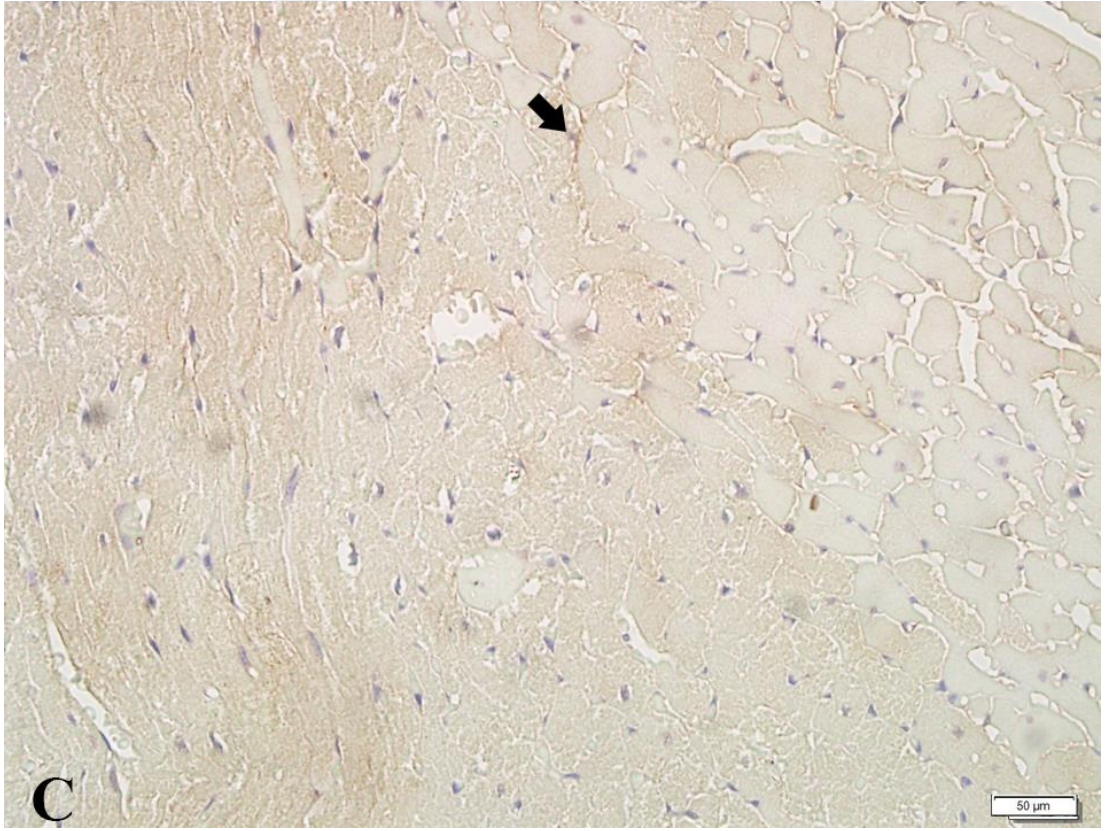
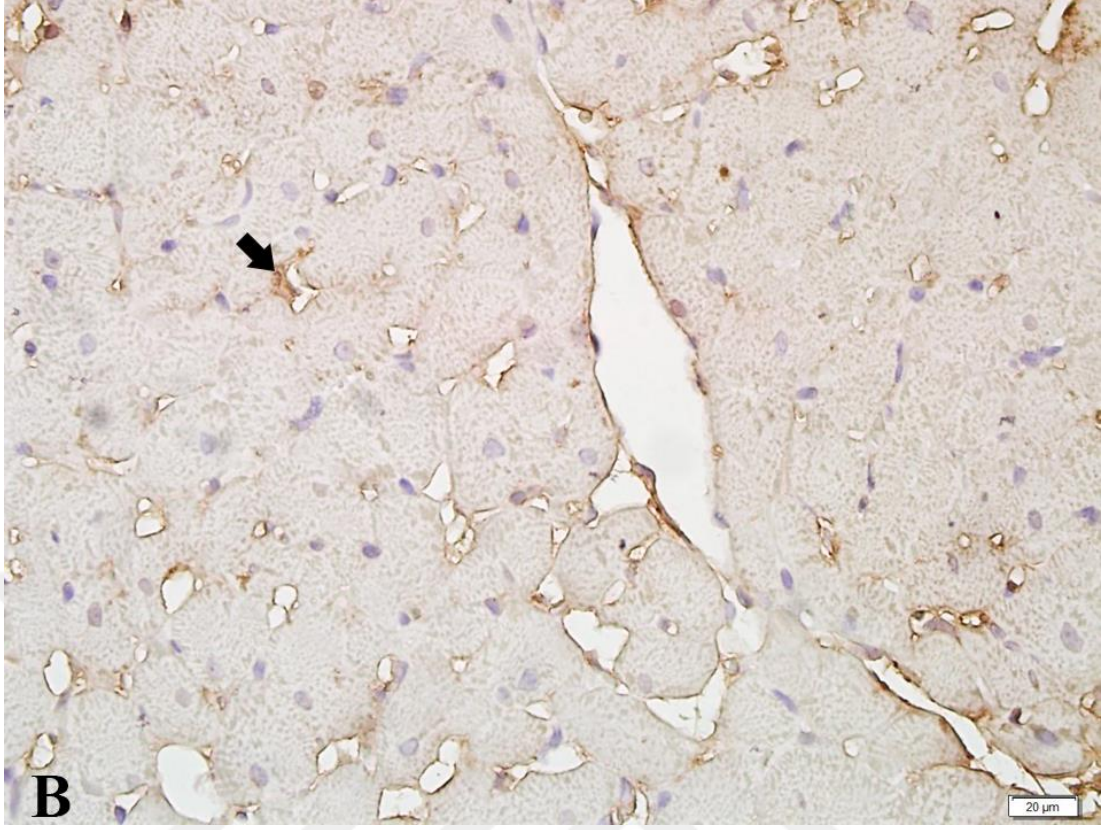
6.3. İmmunohistokimya Bulguları

6.3.1. eNOS immunohistokimya bulguları

Kalp dokularının eNOS immunohistokimya değerlendirmesi sonucunda kontrol grubunda eNOS immunopozitif kardiyomiyositler olduğu gözlenmiştir. YYD grubunda kontrol grubuna göre azalmış eNOS immunopozitif kardiyomiyositler gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ise eNOS immunopozitif kardiyomiyositlerin sayısında artış gözlenmiştir (Resim 3A-C).

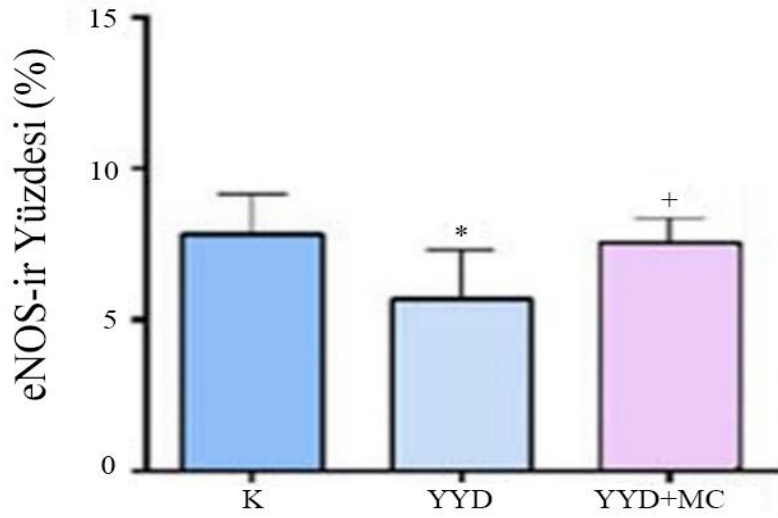


Resim 3 A: Kontrol (K) grubunda (A) çok sayıda eNOS-ir pozitif hücreler (ok) görülmektedir.



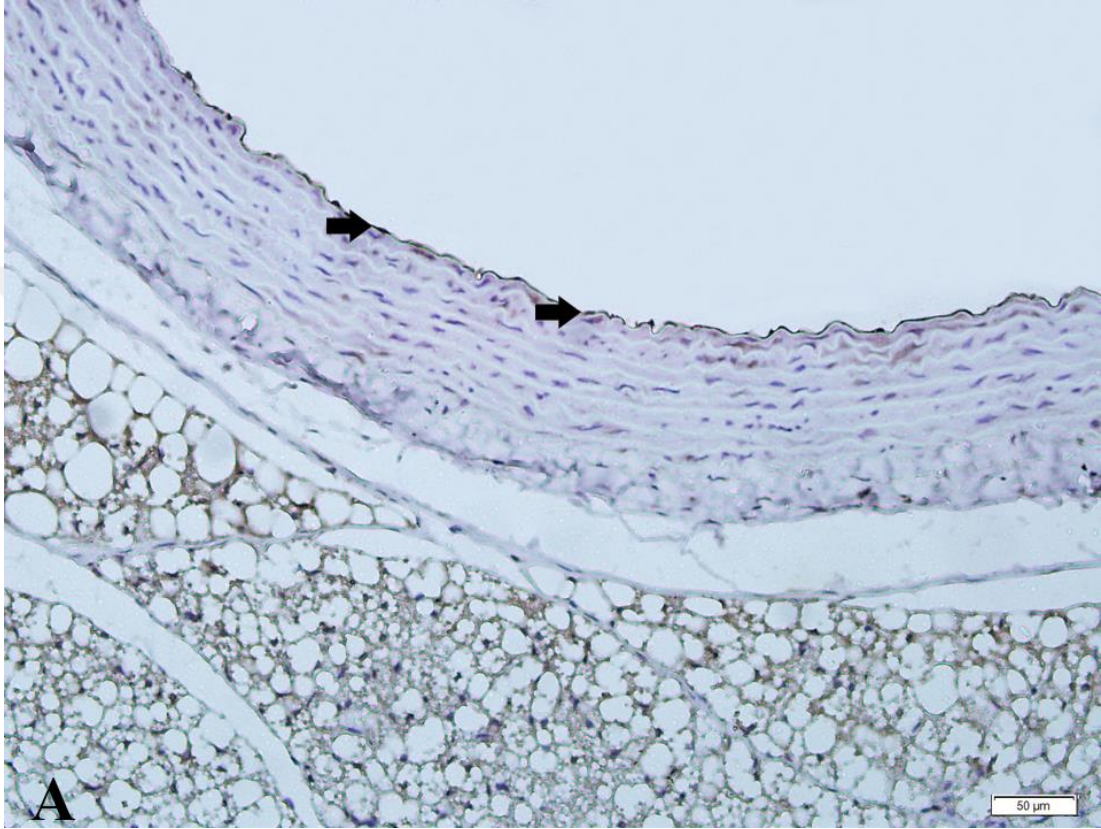
Resim 3 B, C: YYD grubunda (B) eNOS-ir (ok) pozitif hücre sayısında düşüş olduğu görülmektedir. YYD+MC grubunda (C) daha fazla sayıda eNOS-ir pozitif hücreler (ok) gözlenmektedir. eNOS-ir immünohistokimyası.

Deney gruplarına ait kalp dokularının eNOS-ir alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD grubunda ($p<0,01$) kontrol grubuna göre azalma olduğu gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$) ise YYD grubu ile karşılaştırıldığında artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 7).

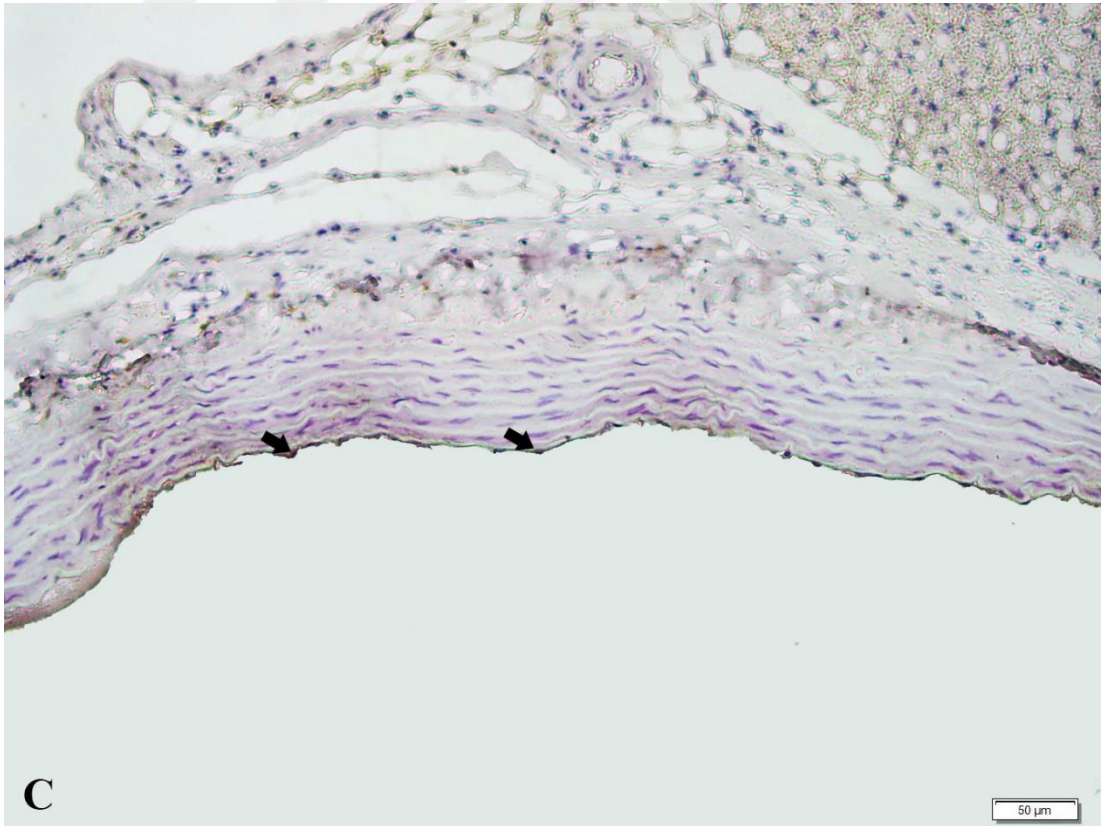
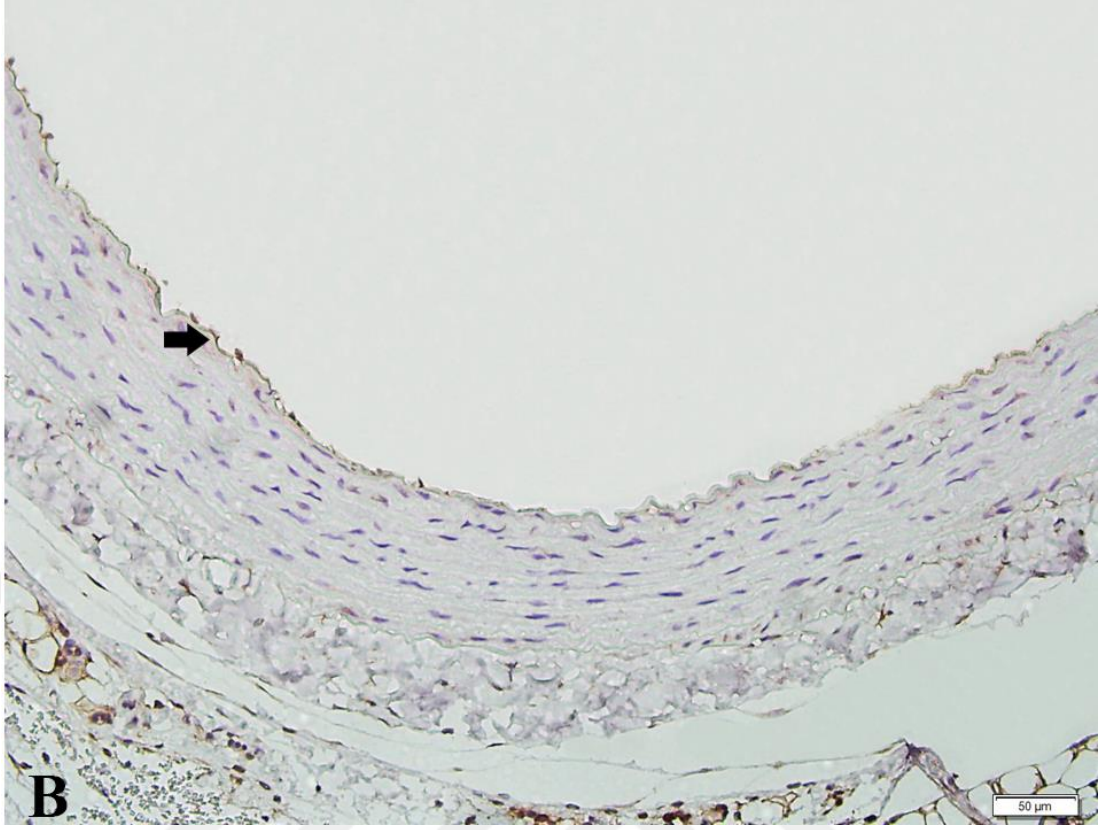


Şekil 7. Kalp dokusuna ait eNOS-ir boyanma yüzdelерini gösteren grafik. *: $p < 0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p < 0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

Aort dokularının eNOS immunohistokimya değerlendirmesi sonucunda kontrol grubunda eNOS immunopozitif endotel hücrelerinin ve tunika mediadaki düz kas hücrelerinin olduğu gözlenmiştir. YYD grubunda kontrol grubuna göre azalmış eNOS immunopozitif kardiyomiyositler gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ise eNOS immunopozitif kardiyomiyositlerin sayısında artış gözlenmiştir (Resim 4A-C).

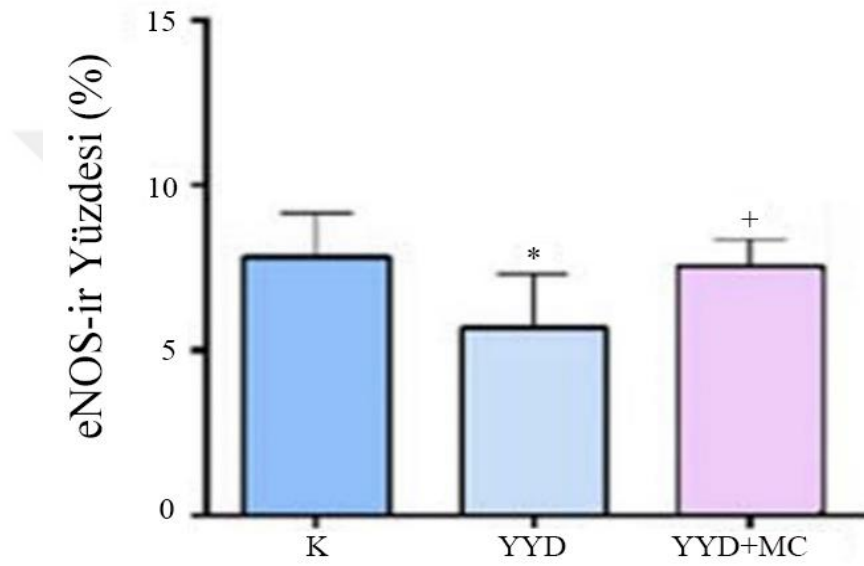


Resim 4 A: Kontrol (K) grubunda (A)  ok sayıda eNOS-ir pozitif hücreler (ok) görülmektedir.



Resim 4 B, C: YYD grubunda (B) eNOS-ir (ok) pozitif hücre sayısında düşüş olduğu görülmektedir. YYD+MC grubunda (C) daha fazla sayıda eNOS-ir pozitif hücreler (ok) gözlenmektedir. eNOS-ir immünohistokimyası.

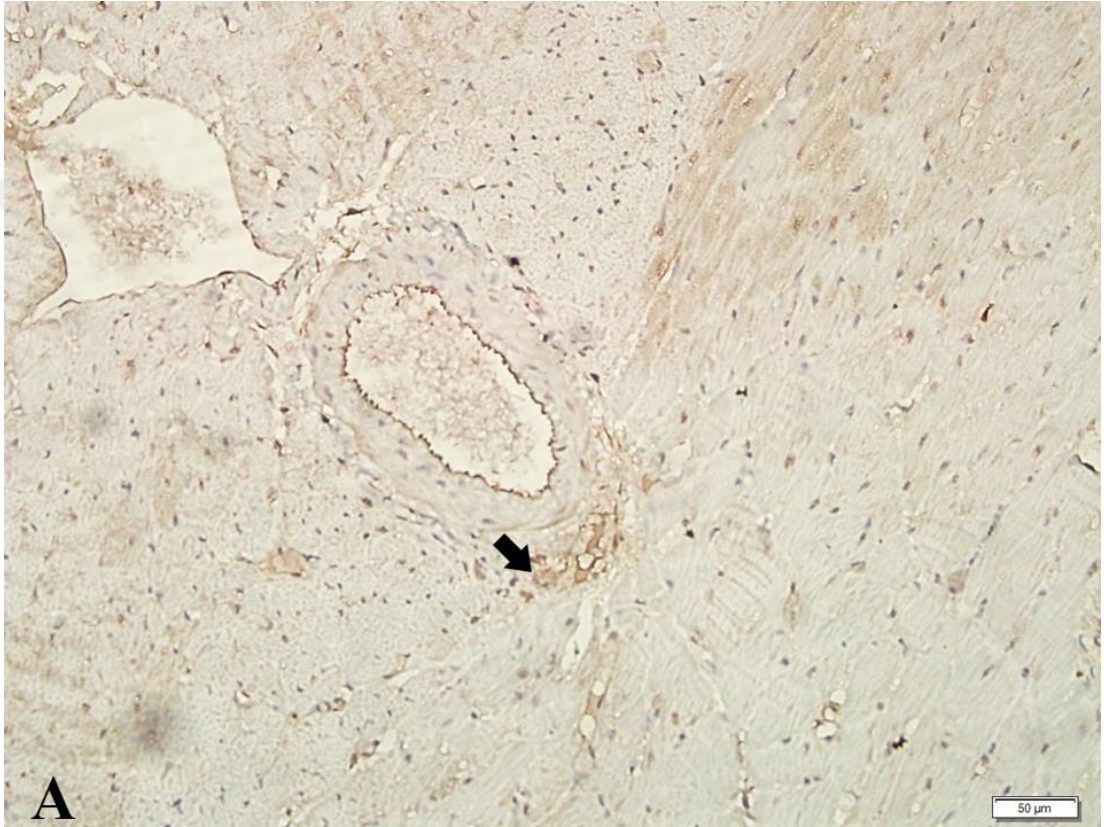
Deney gruplarına ait aort dokularının eNOS-ir alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD grubunda ($p<0,05$) kontrol grubuna göre artış olduğu gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$) ise YYD grubu ile karşılaştırıldığında düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 8).



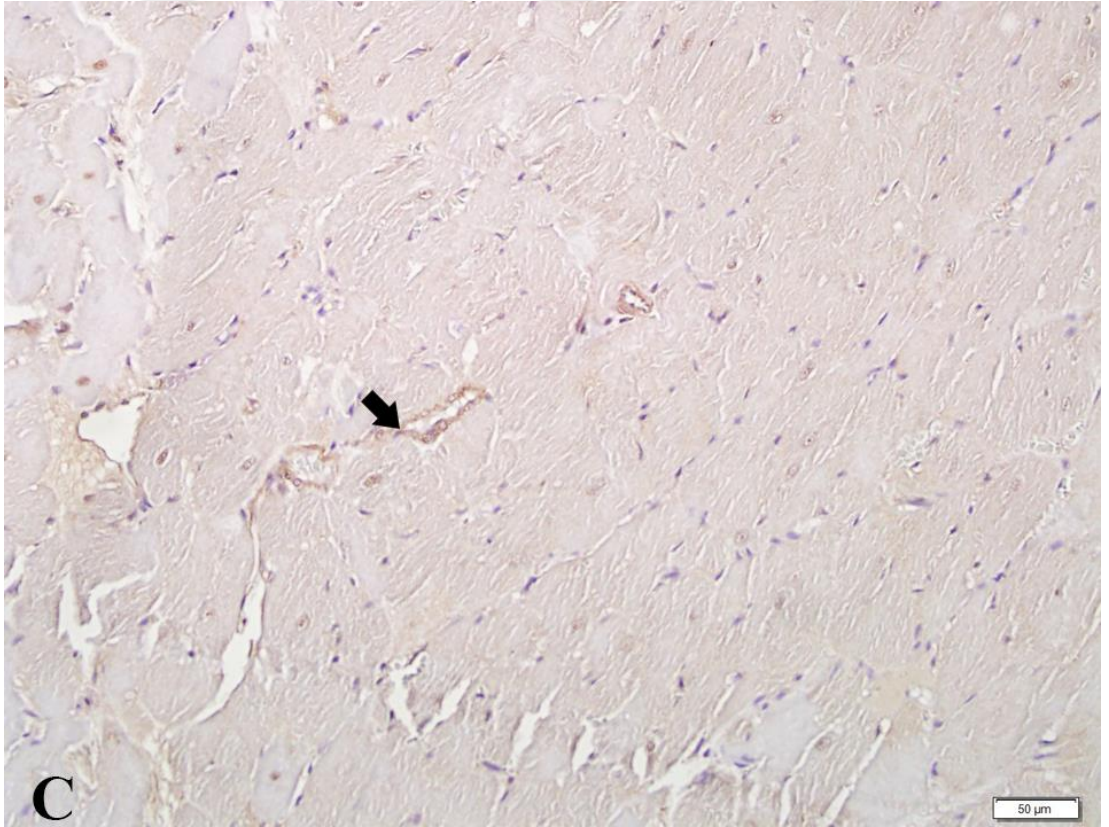
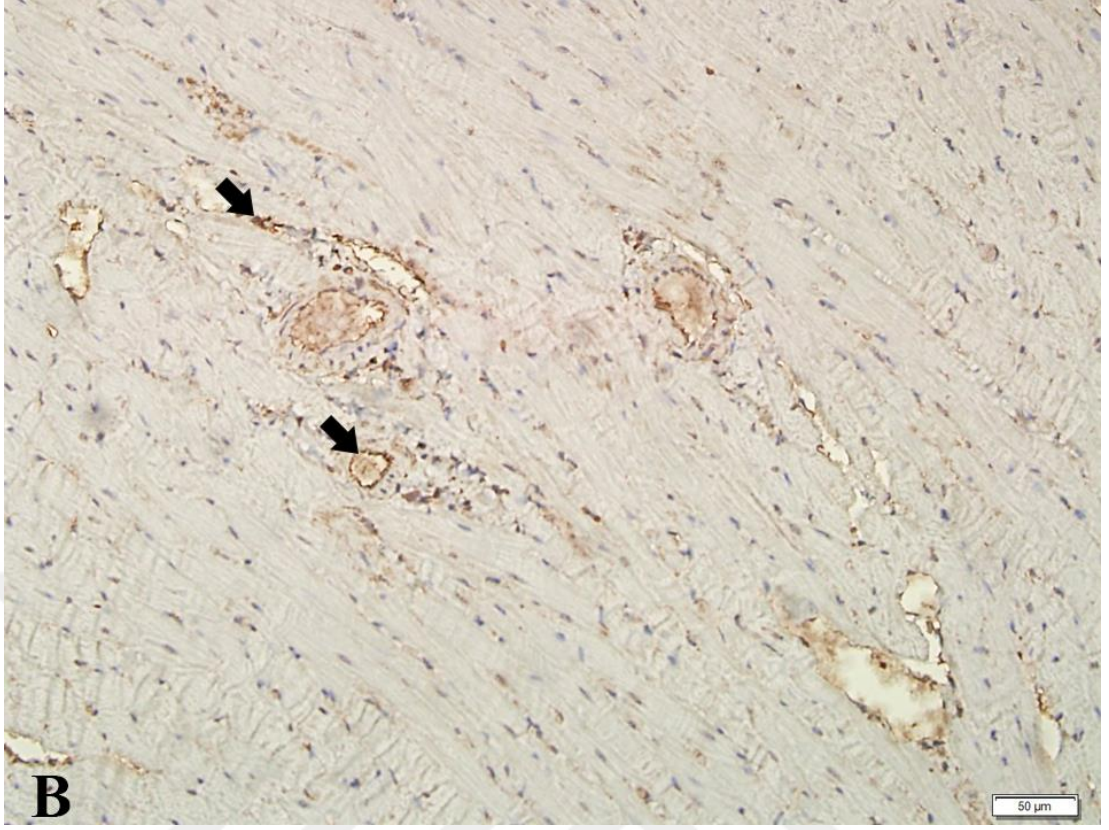
Şekil 8. Aort dokusuna ait eNOS-ir boyanma yüzdelерini gösteren grafik. *: $p < 0,05$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p < 0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

6.3.2. iNOS immunohistokimya bulguları

Kalp dokularının iNOS immunohistokimya değerlendirmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda iNOS immunopozitif kardiyomiyositler gözlenmiştir. YYD grubunda kontrol grubuna göre artmış iNOS immunopozitif kardiyomiyositler gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ise iNOS immunopozitif kardiyomiyositlerin sayısında azalma olduğu gözlenmiştir (Resim 5A-C).

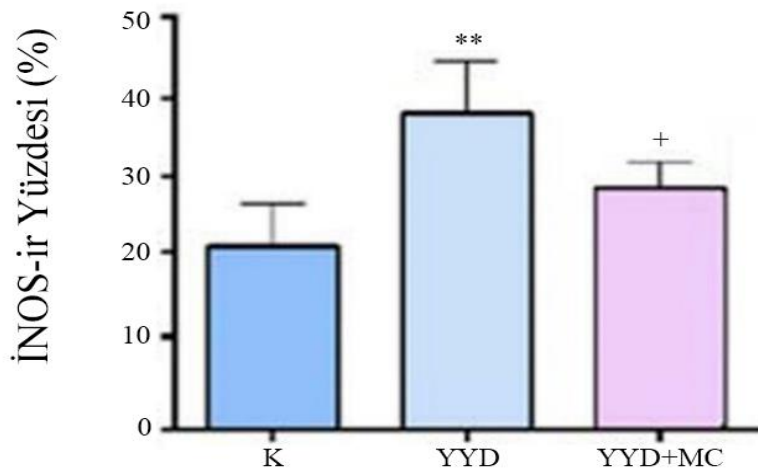


Resim 5 A: Kontrol (K) grubunda (A) az sayıda iNOS-ir pozitif hücreler (ok) görülmektedir.



Resim 5 B, C: YYD grubunda (B) iNOS-ir (ok) pozitif hücre sayısında artış olduğu görülmektedir YYD+MC grubunda (C) az sayıda iNOS-ir pozitif hücreler (ok) gözlenmektedir. iNOS-ir immünhistokimyası.

Deney gruplarına ait kalp dokularının iNOS-ir alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD grubunda ($p<0,01$) kontrol grubuna göre düşüş olduğu gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$) ise YYD grubu ile karşılaştırıldığında artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 9).

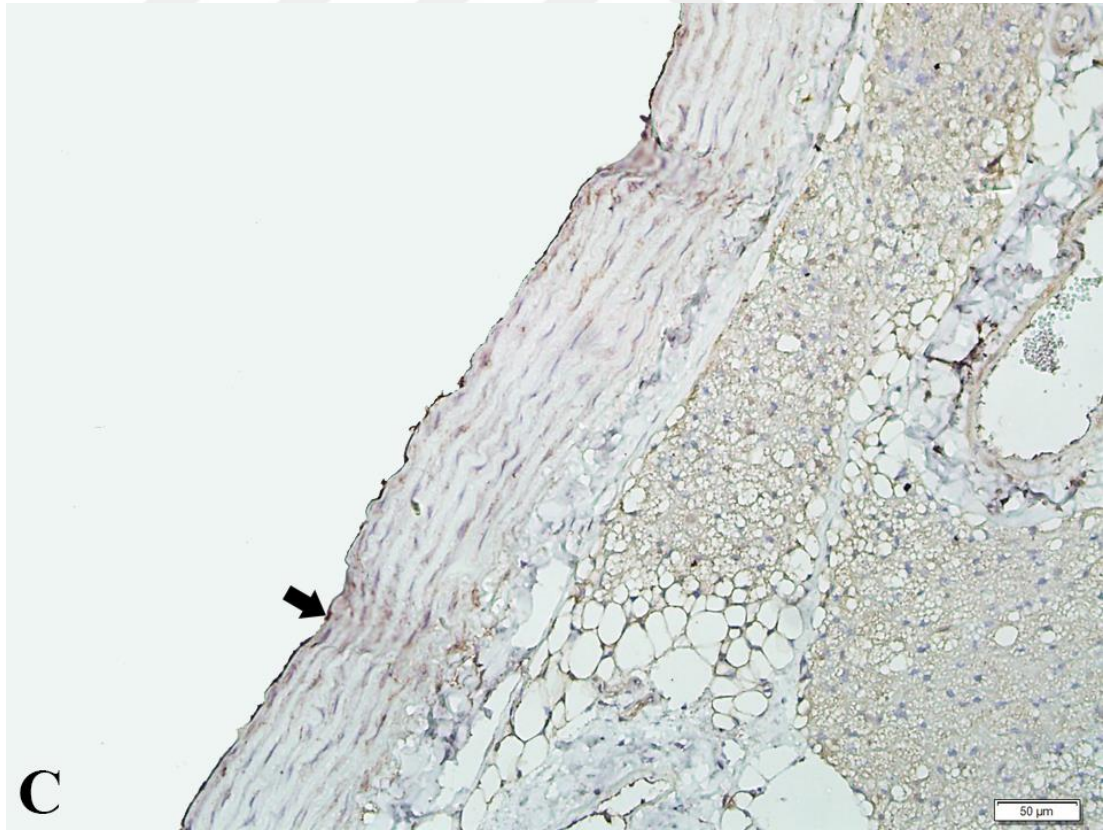
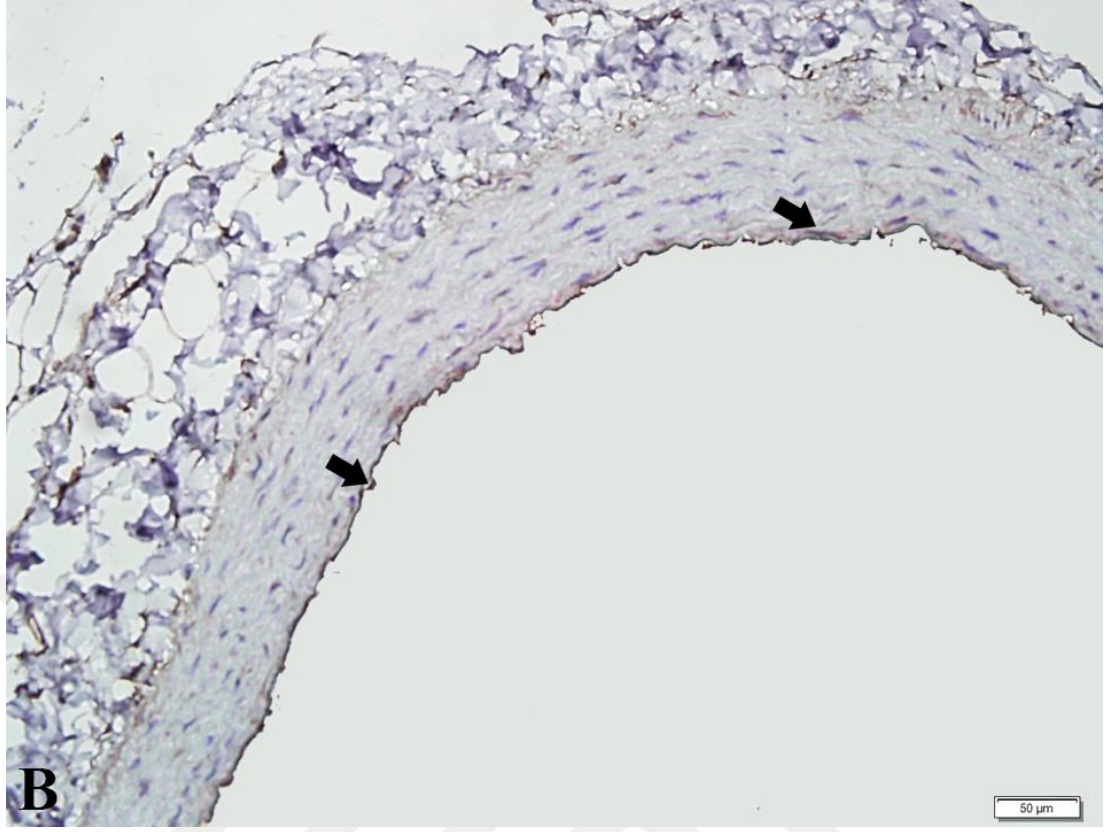


Şekil 9. Kalp dokusuna ait iNOS-ir boyanma yüzdeleri gösteren grafik. **: $p < 0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p < 0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

Aort dokularının iNOS immunohistokimya değerlendirmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda iNOS immunopozitif endotel hücresinin ve tunika mediadaki düz kas hücrelerinin olduğu gözlenmiştir. YYD grubunda kontrol grubuna göre artmış iNOS immunopozitif endotel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin olduğu gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ise iNOS immunopozitif endotel hücrelerin ve düz kas hücrelerinin sayısında azalma gözlenmiştir (Resim 6A-C).

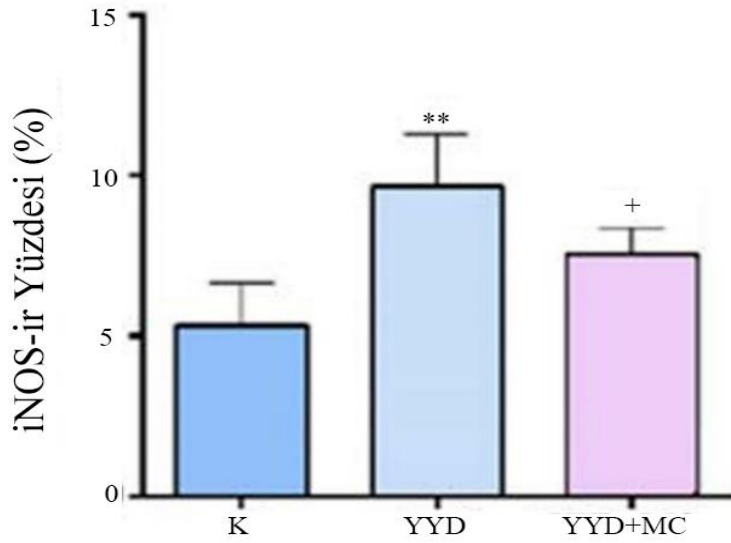


Resim 6 A: Kontrol (K) grubunda (A) az sayıda iNOS-ir pozitif hücreler (ok) görülmektedir. iNOS immünohistokimyası.



Resim 6 B, C: YYD grubunda (B) iNOS-ir (ok) pozitif hücre sayısında artış olduğu görülmektedir. YYD+MC grubunda (C) az sayıda iNOS-ir pozitif hücreler (ok) gözlenmektedir. iNOS immünohistokimyası.

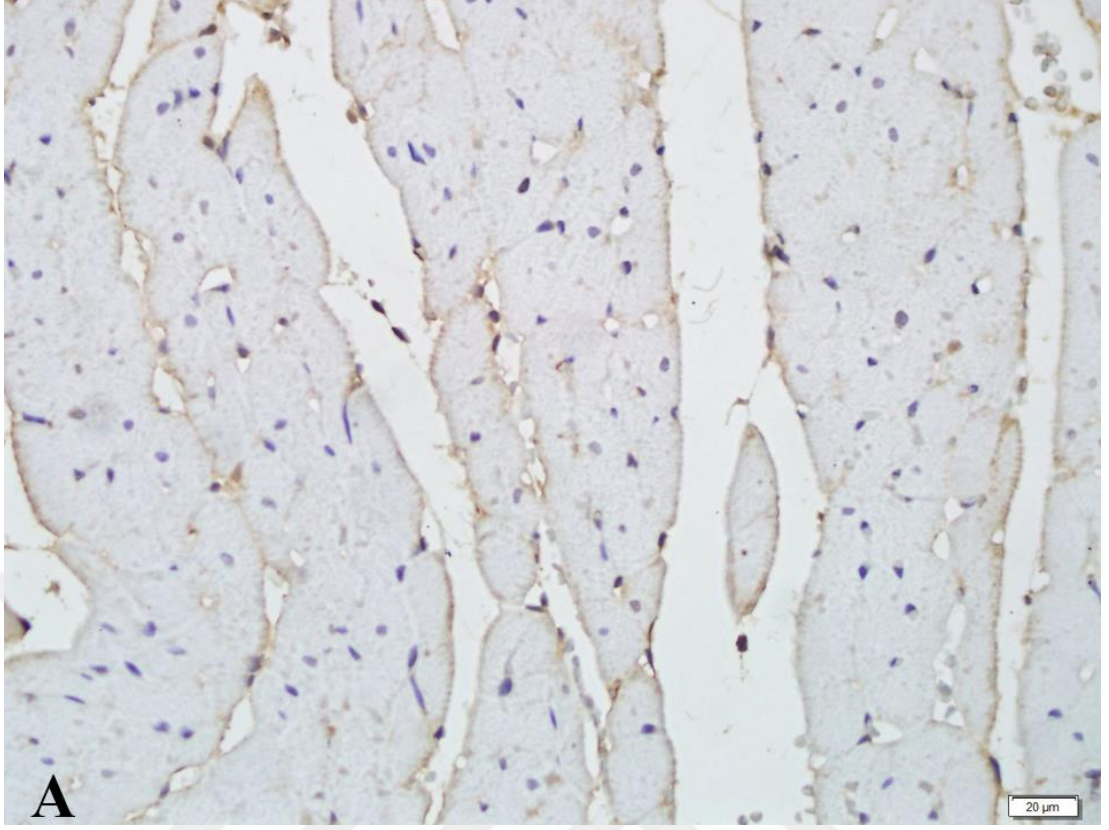
Deney gruplarına ait aort dokularının iNOS-ir alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD grubunda ($p<0,01$) kontrol grubuna göre artış olduğu gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$) ise YYD grubu ile karşılaştırıldığında düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 10).



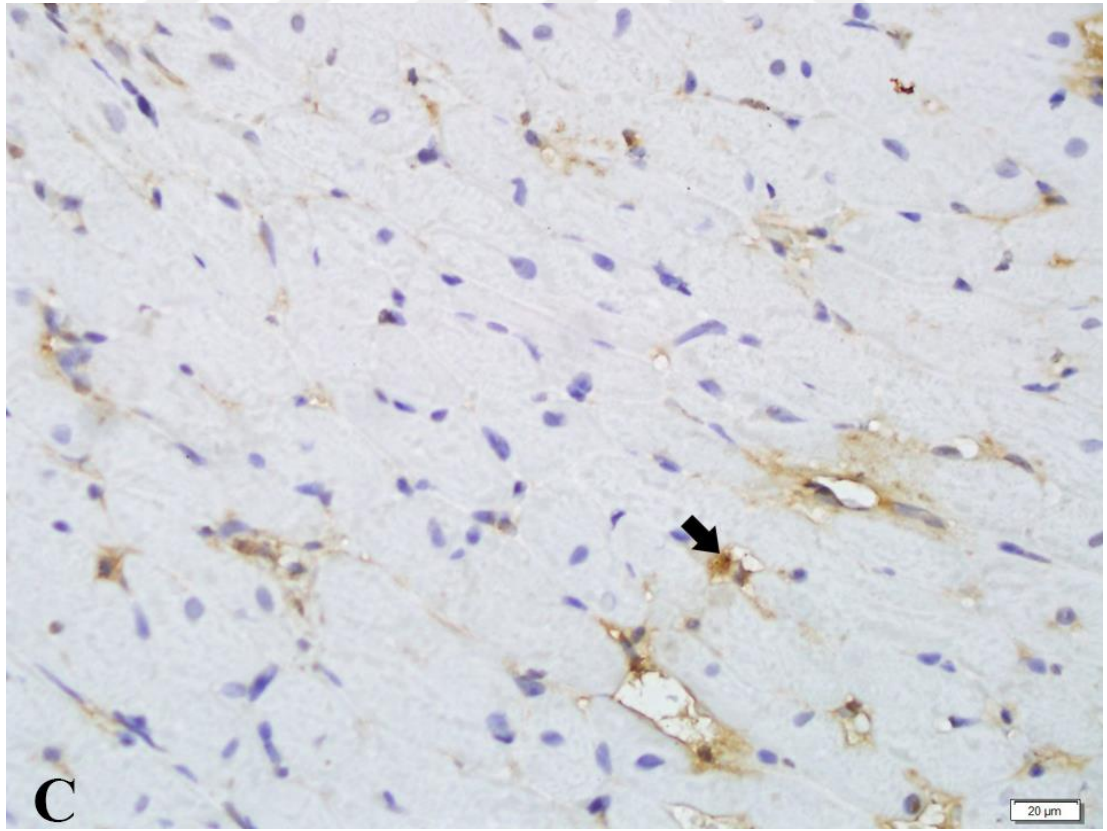
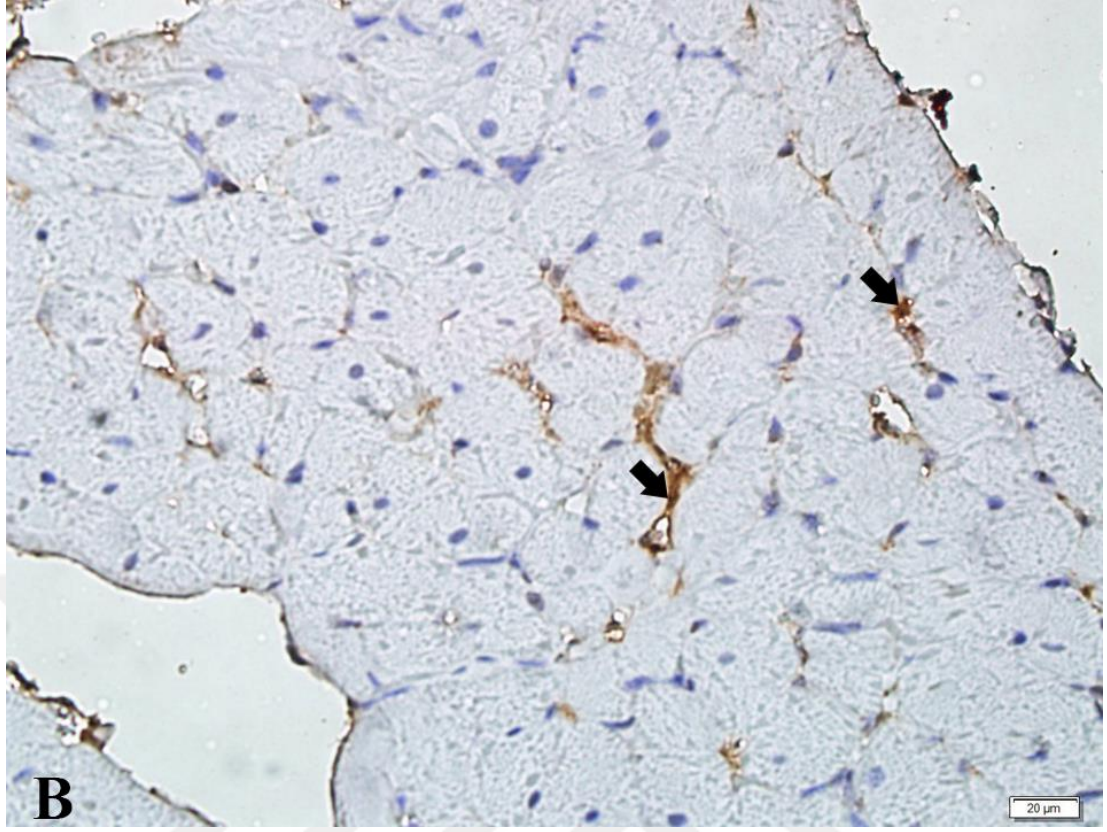
Şekil 10. Aort dokusuna ait iNOS-ir boyanma yüzdelere gösteren grafik. **: $p < 0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p < 0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

6.3.3. NOX-2 immunohistokimya bulguları

Kalp dokularının NOX-2 immunohistokimya değerlendirmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda NOX-2 immunopozitif kardiyomiyositler gözlenmiştir. YYD grubunda kontrol grubuna göre artmış NOX-2 immunopozitif kardiyomiyositler gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ise NOX-2 immunopozitif kardiyomiyositlerin sayısında azalma olduğu gözlenmiştir (Resim 7A-C).

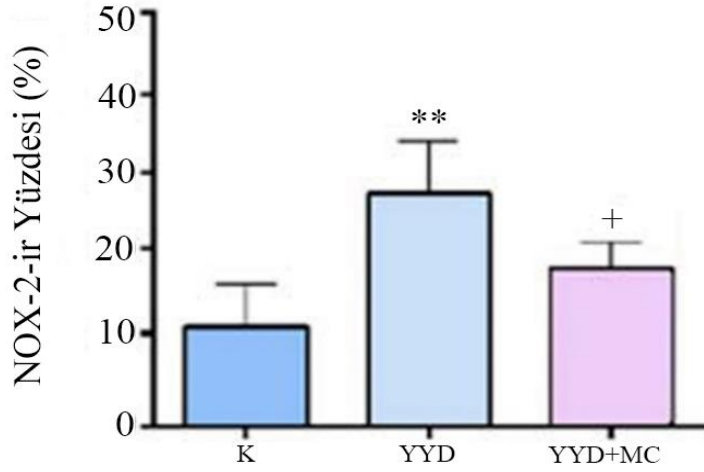


Resim 7 A: Kontrol (K) grubunda (A) az sayıda NOX-2-ir pozitif hücreler görülmektedir.



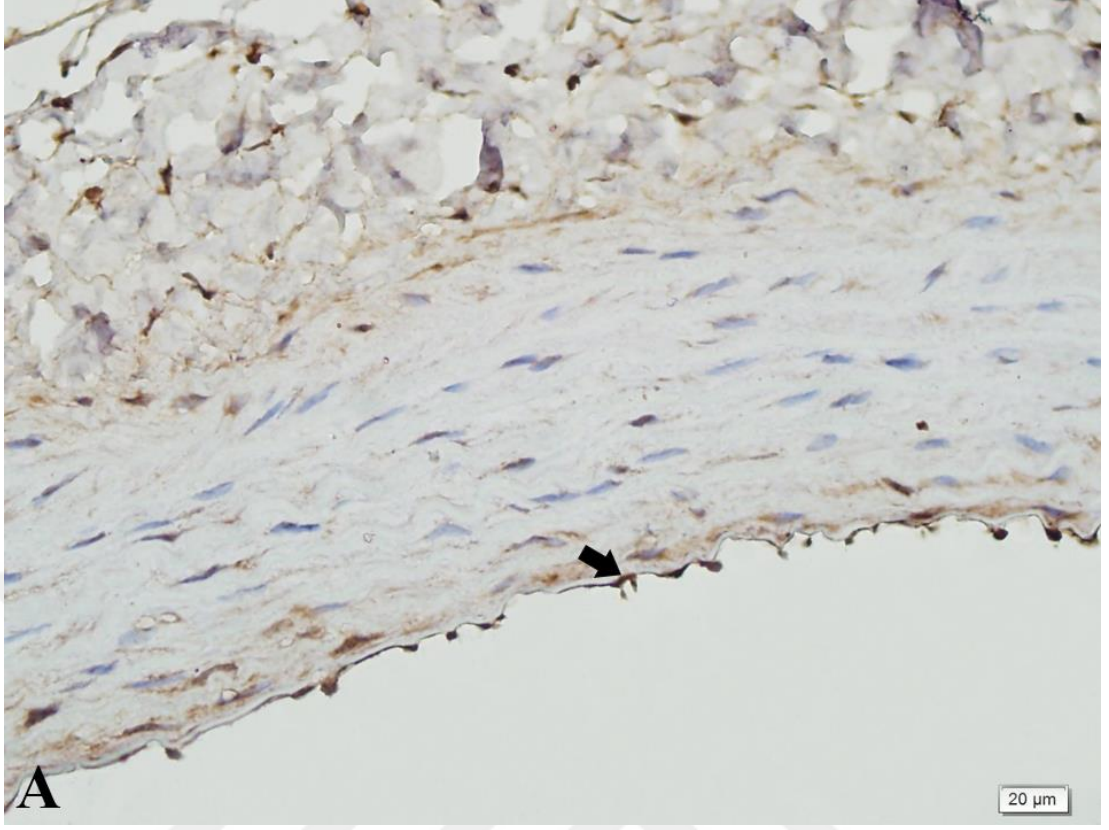
Resim 7 B, C: YYD grubunda (B) NOX-2-ir (ok) pozitif hücre sayısında artış olduğu görülmektedir. YD+MC grubunda (C) az sayıda NOX-2-ir pozitif hücreler (ok) gözlenmektedir. NOX-2 immünohistokimyası.

Deney gruplarına ait kalp dokularının NOX-2-ir alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD grubunda ($p<0,01$) kontrol grubuna göre artış olduğu gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$) ise YYD grubu ile karşılaştırıldığında düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 11).

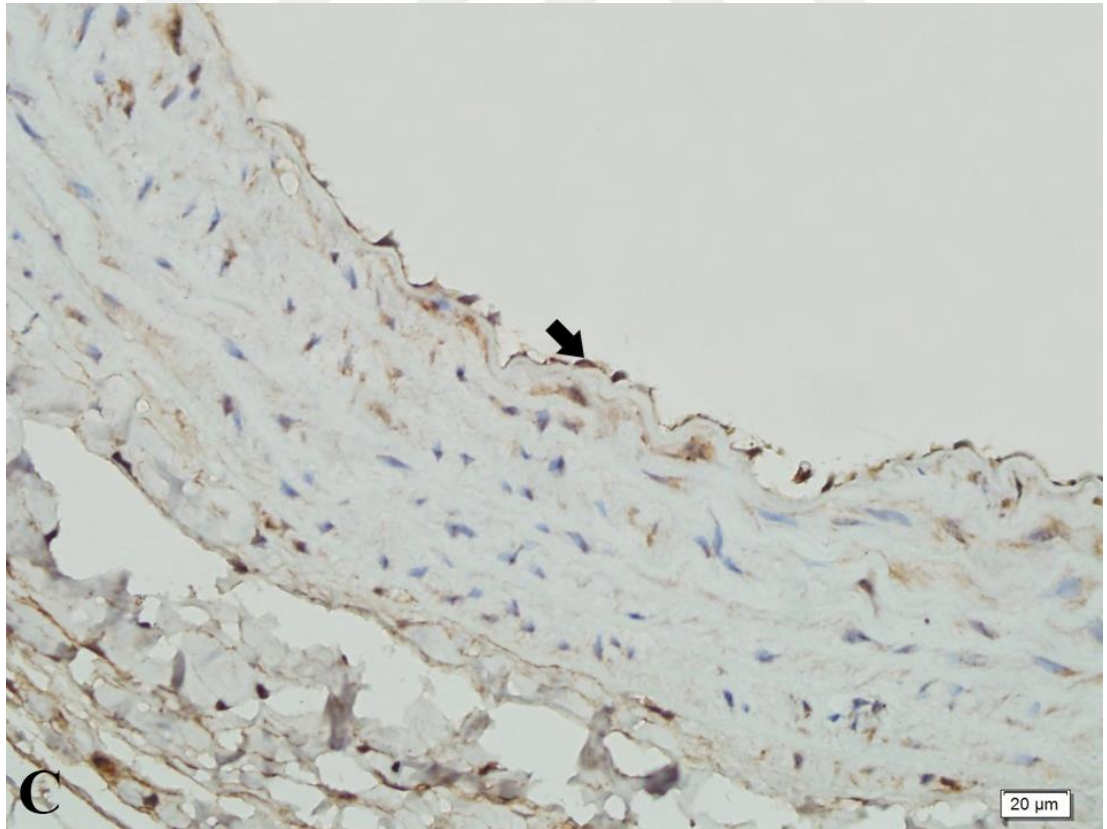
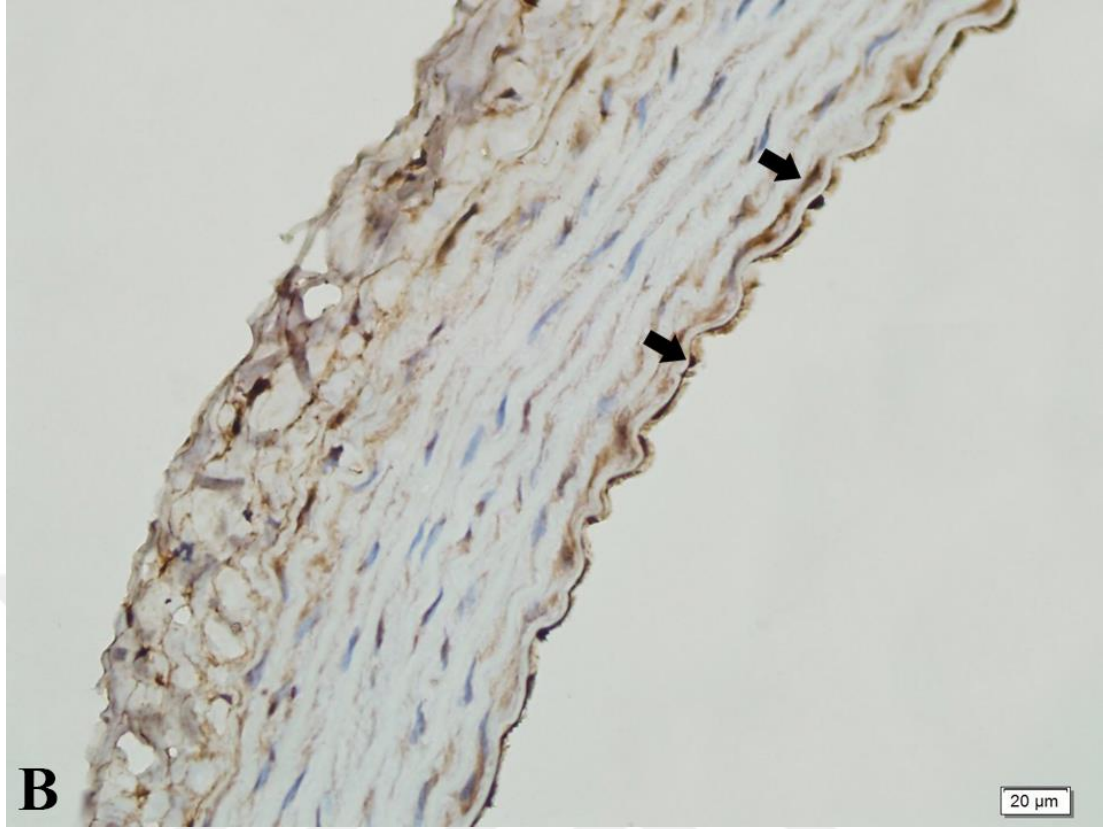


Şekil 11. Kalp dokusuna ait NOX-2-ir boyanma yüzdeleri gösteren grafik. **: $p < 0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +p: $< 0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

Aort dokularının NOX-2 immunohistokimya değerlendirmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda NOX-2 immunopozitif endotel hücrelerinin ve tunika mediadaki düz kas hücrelerinin olduğu gözlenmiştir. YYD grubunda kontrol grubuna göre artmış NOX-2 immunopozitif endotel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin olduğu gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ise NOX-2 immunopozitif endotel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin sayısında azalma gözlenmiştir (Resim 8A-C).

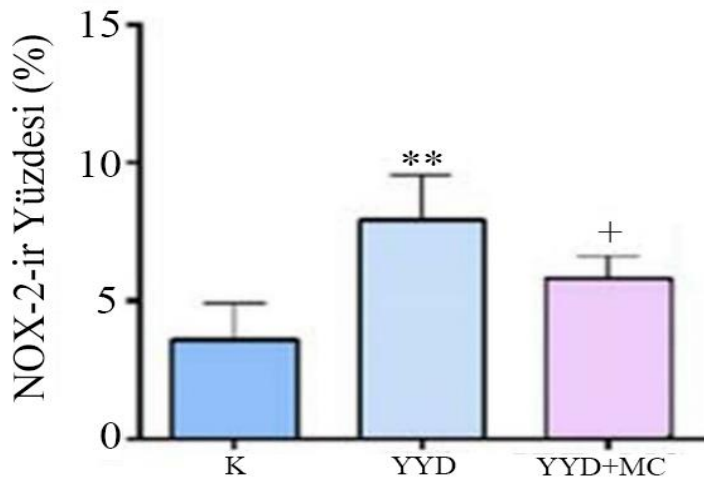


Resim 8 A: Kontrol (K) grubunda (A) az sayıda NOX-2-ir pozitif hücreler (ok) görülmektedir. NOX-2 immünohistokimyası.



Resim 8 B, C: YYD grubunda (B) NOX-2-ir pozitif (ok) hücre sayısında artış olduğu görülmektedir YYD+MC grubunda (C) az sayıda NOX-2-ir pozitif hücreler (ok) gözlenmektedir. NOX-2 immünohistokimyası.

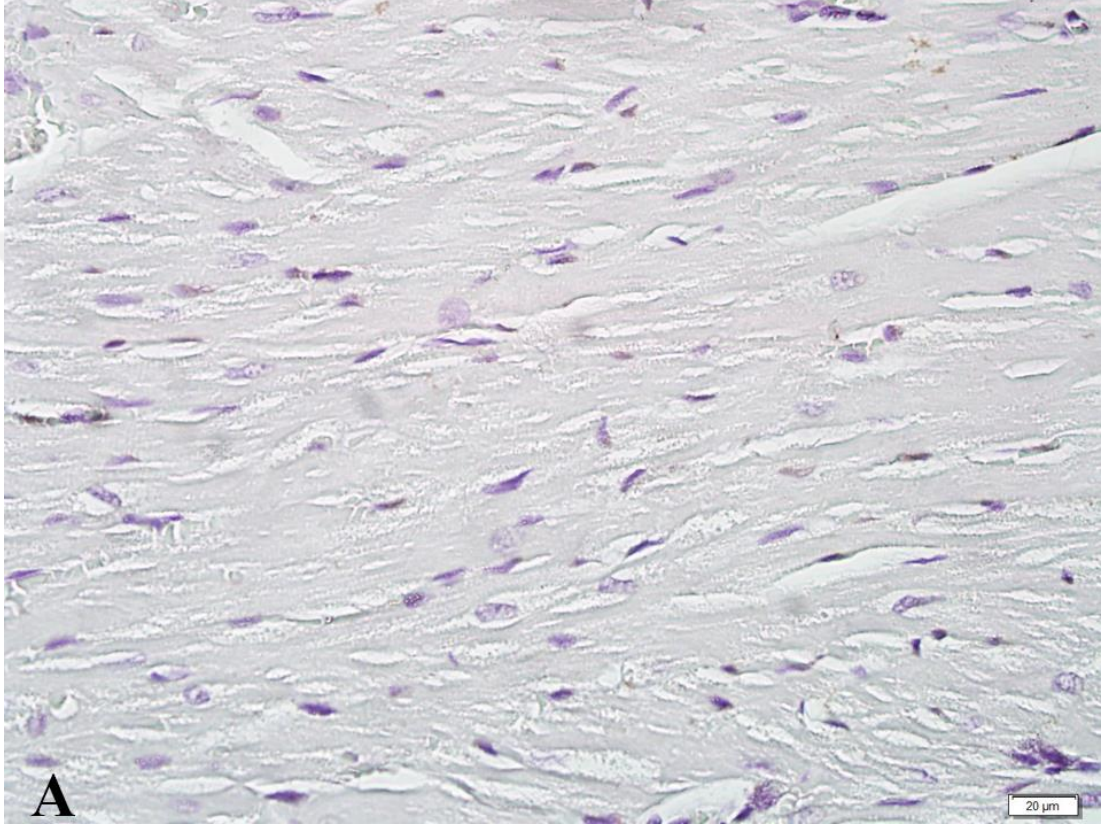
Deney gruplarına ait aort dokularının NOX-2-ir alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD grubunda ($p<0,01$) kontrol grubuna göre artış olduğu gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$) ise YYD grubu ile karşılaştırıldığında düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 12).



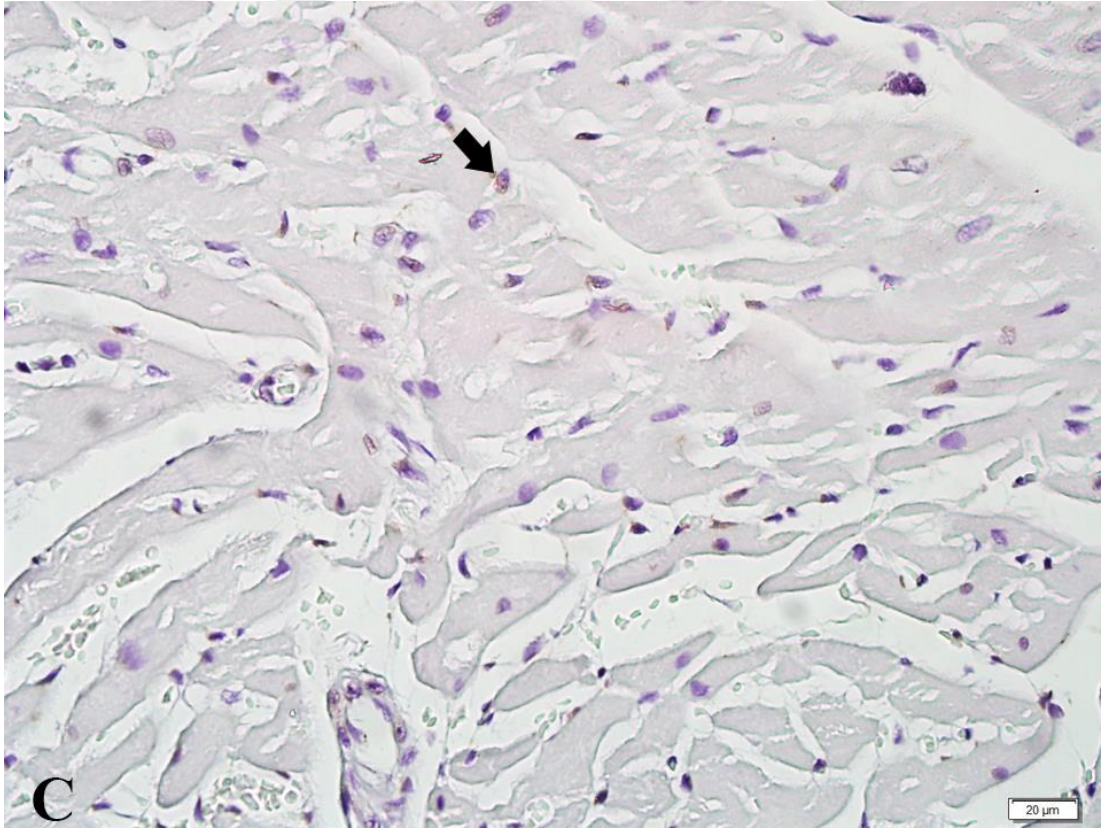
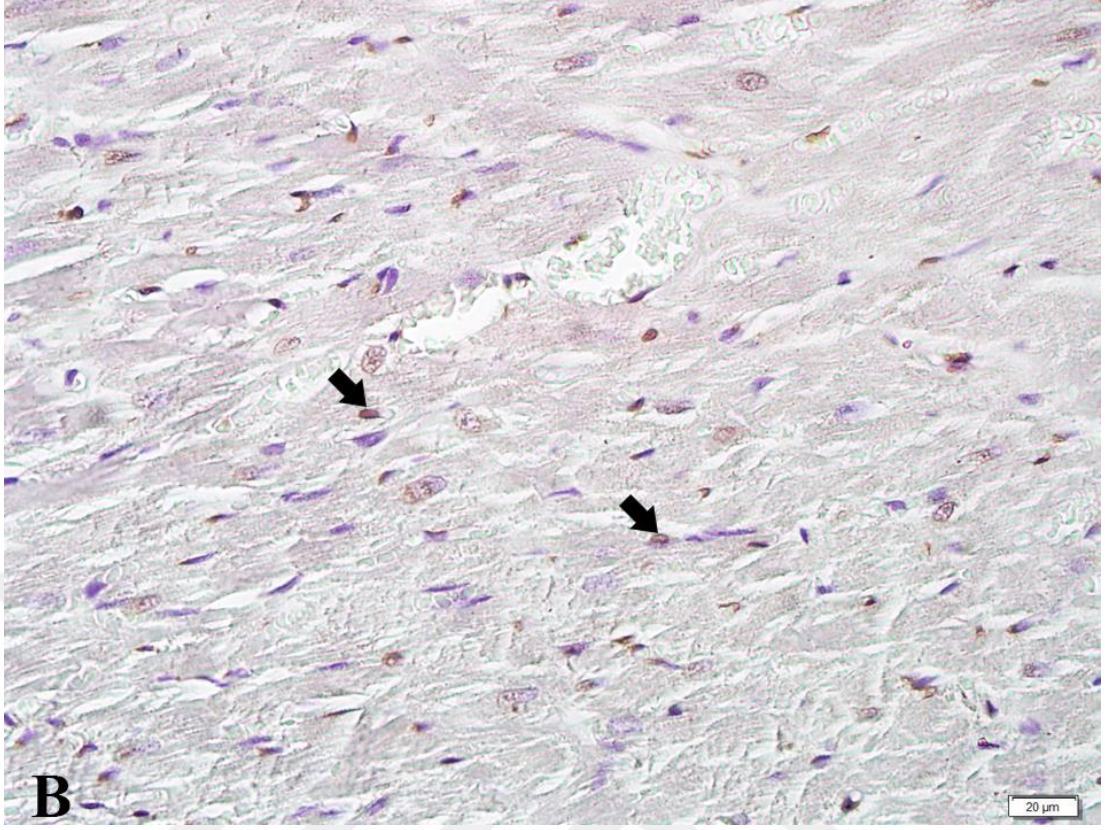
Şekil 12. Aort dokusuna ait NOX-2-ir boyanma yüzdeleri gösteren grafik. **: $p < 0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p < 0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

6.4. TUNEL bulguları

Kalp dokularının TUNEL yöntemi ile incelenmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda TUNEL pozitif hücre gözlenmiştir. YYD grubunda kontrol grubuna göre artmış TUNEL pozitif hücreler gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ise TUNEL pozitif hücre sayısının azaldığı gözlenmiştir (Resim 9A-C).

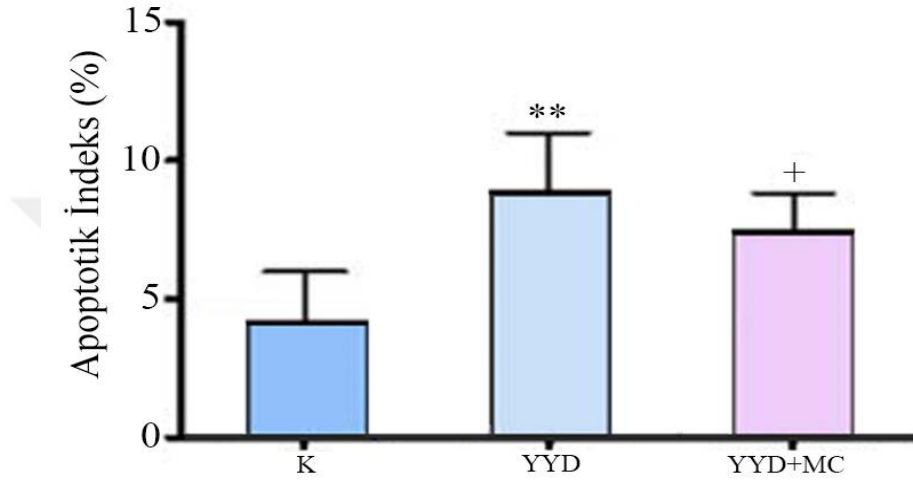


Resim 9 A: Kalp dokusunda kontrol (K) grubunda (A) az sayıda hücrede TUNEL pozitif işaretlenme görülmektedir. TUNEL boyaması.



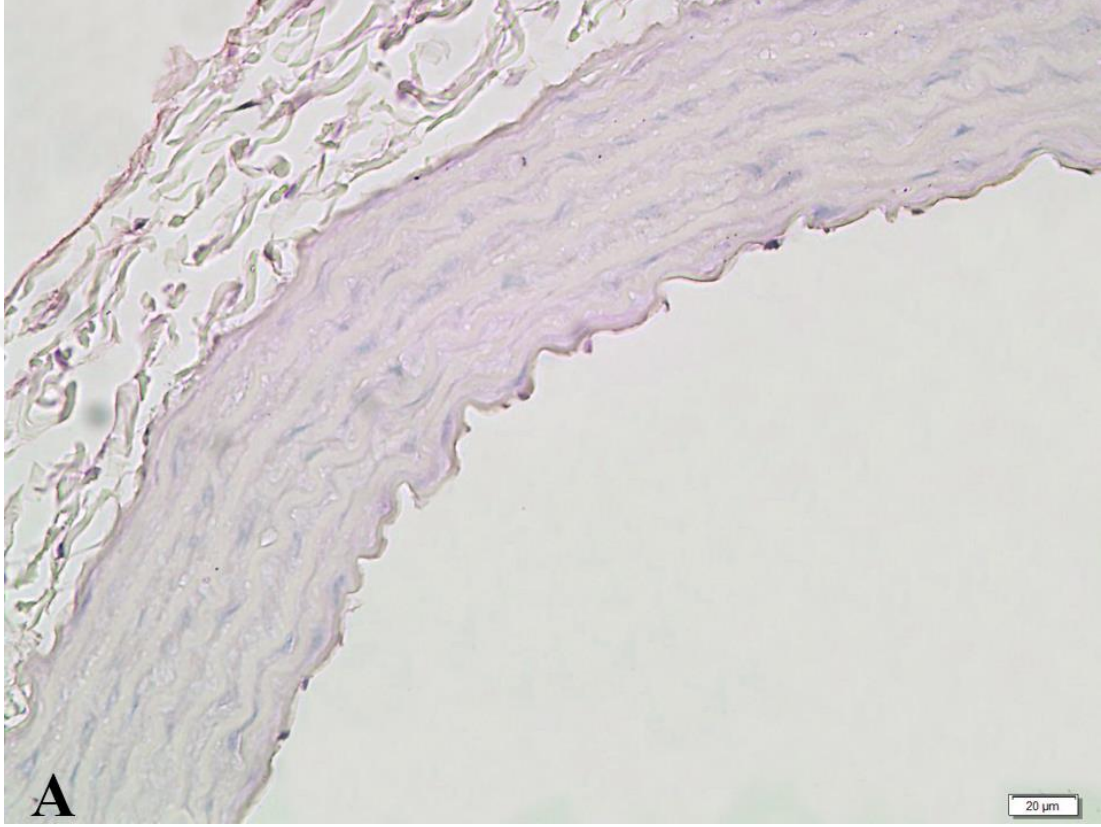
Resim 9 B,C: Kalp dokusunda YYD grubunda (B). TUNEL pozitif işaretlenmede (ok) artış, YYD+MC (C) grubunda TUNEL pozitif (ok) hücre sayısında azalma görülmektedir görülmektedir. TUNEL boyaması.

Kalp dokularında; YYD grubunda apoptotik indekste ($p<0,01$) kontrol grubuna göre artış olduğu, YYD+MC grubunda ise YYD grubuna göre ($p<0,05$) düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 13).

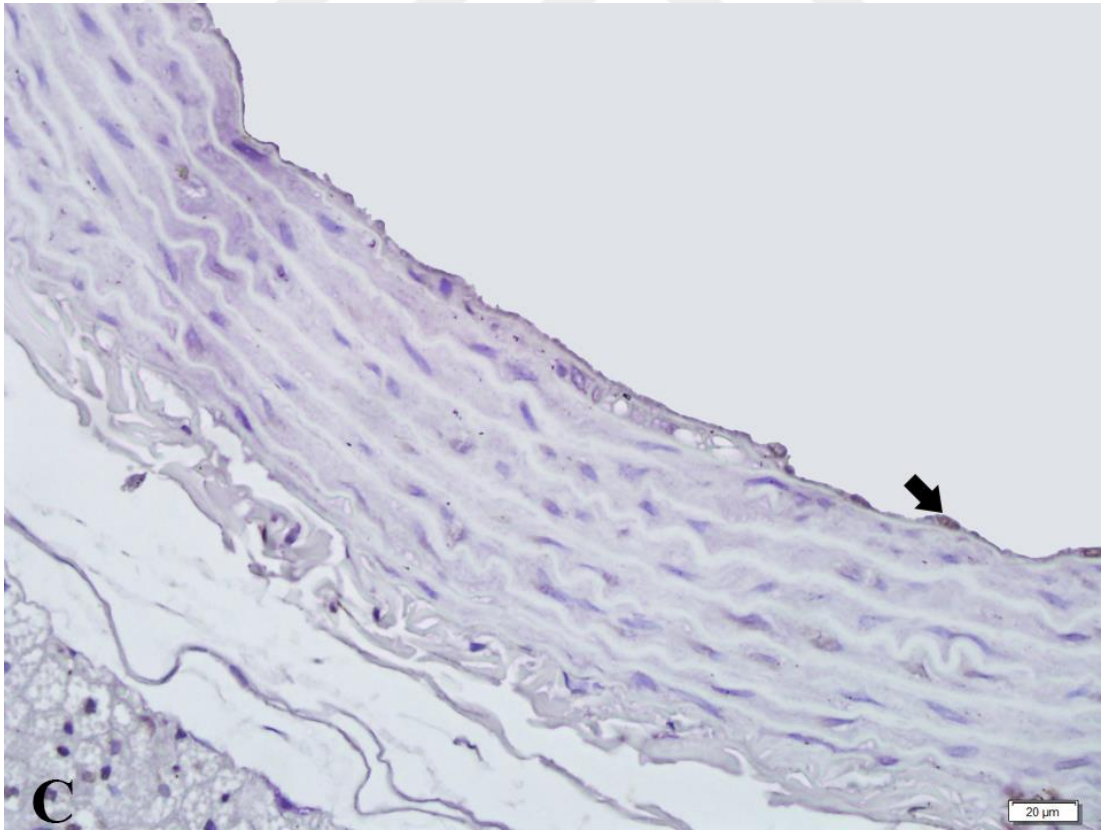
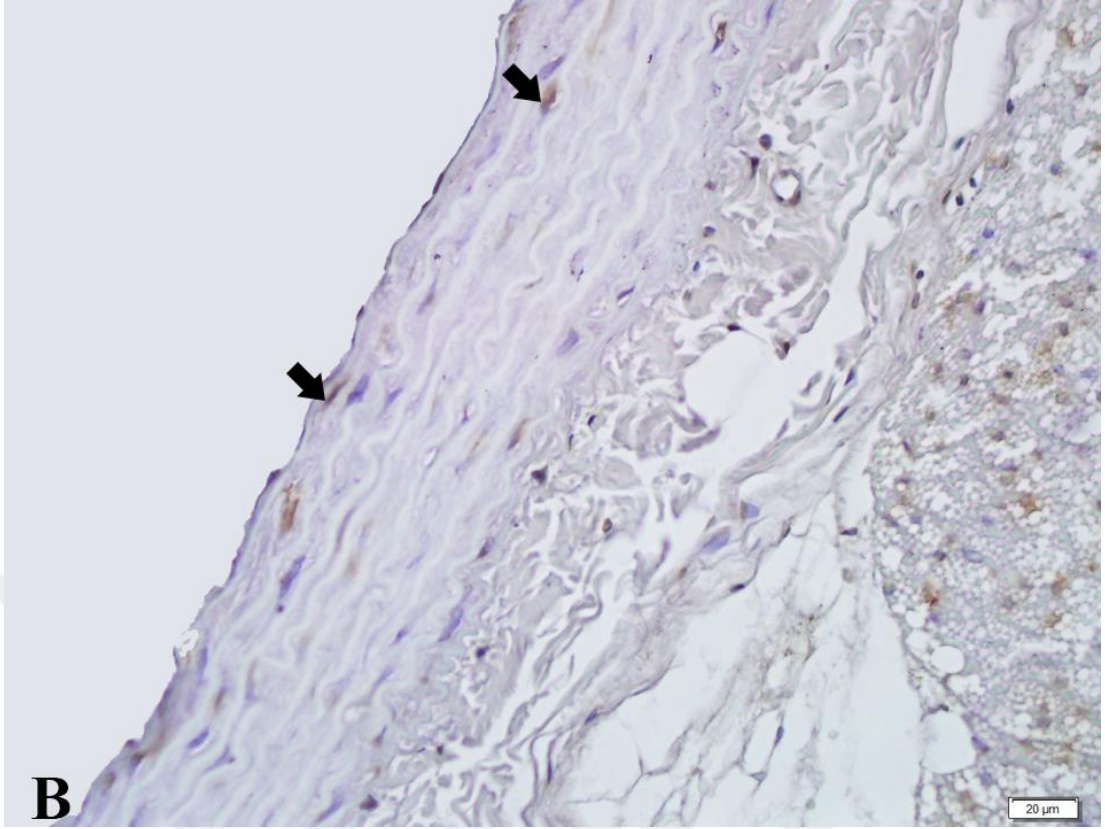


Şekil 13. Kalp dokusuna ait apoptotik indeksi (%) gösteren grafik. **: $p < 0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p < 0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

Aort dokularının TUNEL yöntemi ile incelenmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda TUNEL pozitif hücre gözlenmiştir. YYD grubunda kontrol grubuna göre artmış TUNEL pozitif hücreler gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ise TUNEL pozitif hücre sayısının azaldığı gözlenmiştir (Resim 10A-C).

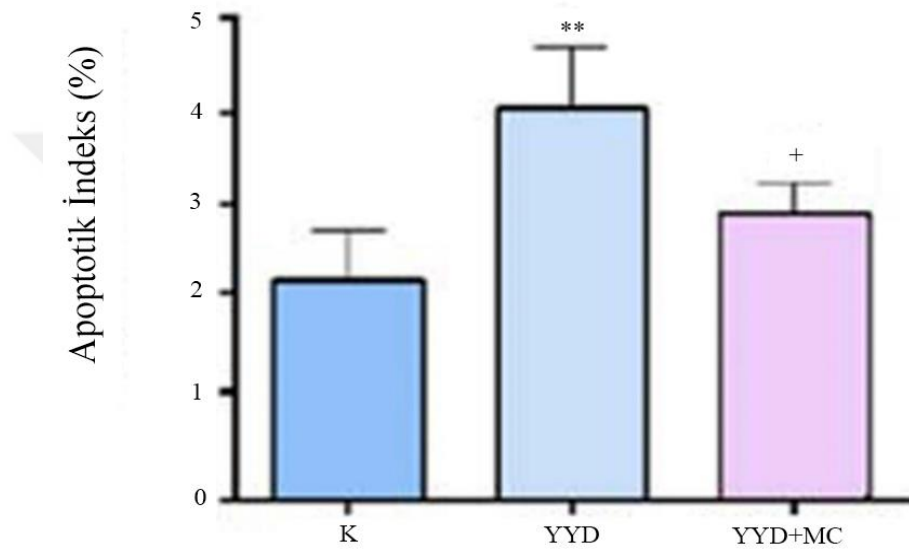


Resim 10 A: Aort dokusunda kontrol (K) grubunda (A) az sayıda hücrede TUNEL pozitif işaretlenme görülmektedir. TUNEL boyaması.



Resim 10 B, C: YYD grubunda (B) TUNEL pozitif işaretlenmede (ok) artış, YYD+MC (C) grubunda azalmış TUNEL pozitif (ok) hücre sayısında görülmektedir. TUNEL boyaması.

Aort dokularında; YYD grubunda apoptotik indekste ($p<0,01$) kontrol grubuna göre artış olduğu, YYD+MC grubunda ise YYD grubuna göre ($p<0,05$) düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 14).

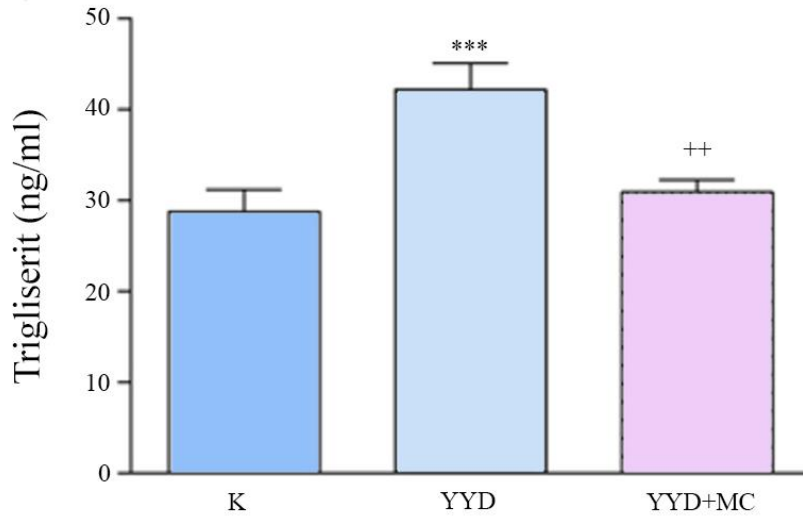


Şekil 14. Aort dokusuna ait apoptotik indeksi gösteren grafik. **: $p < 0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p < 0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

6.5. Biyokimyasal Bulgular

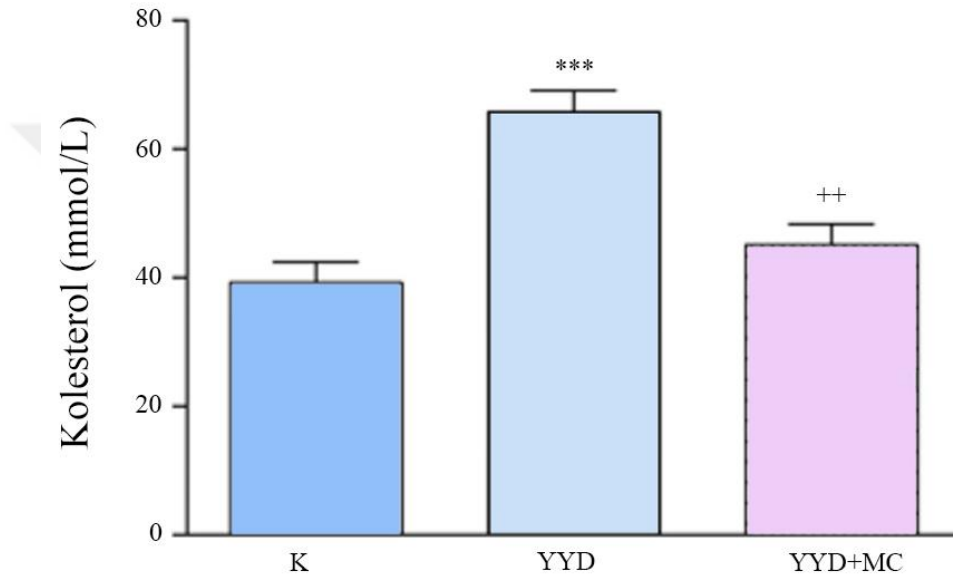
6.5.1. Serumda kolesterol, trigliserit ve HDL düzeyi bulguları

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,001$) trigliserit düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında trigliserit düzeyinin düştüğü gözlenmiştir (Şekil 15).



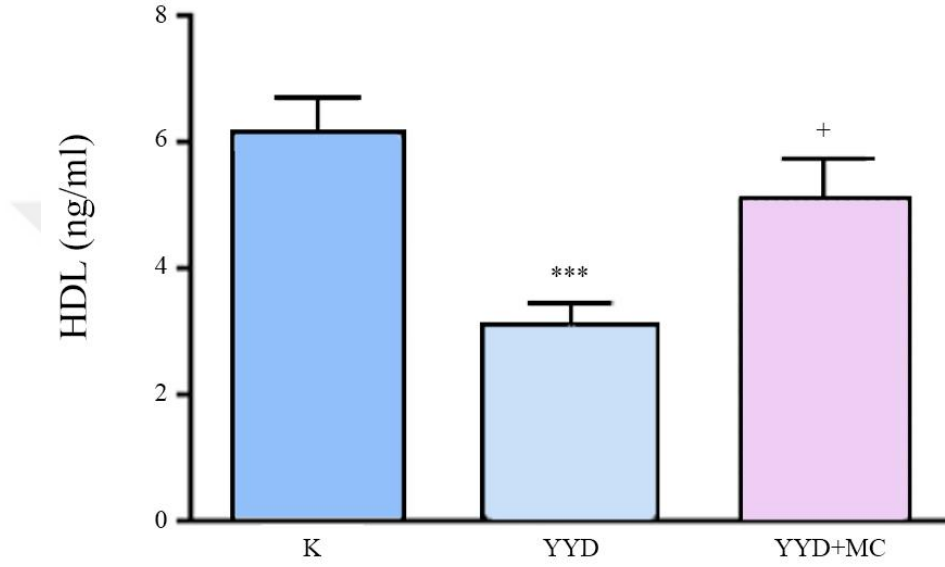
Şekil 15. Deney gruplarında trigliserit düzeyleri ***: $p<0,001$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. ++: $p<0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,001$) kolesterol düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında kolesterol düzeyinin düştüğü gözlenmiştir (Şekil 16).



Şekil 16. Deney gruplarında Kolesterol (B) düzeyleri. ***: $p<0,001$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. ++: $p<0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,001$) HDL düzeyinin düştüğü gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında, HDL düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir (Şekil 17).



Şekil 17. Deney gruplarında HDL (C) düzeyleri. ***: $p<0,001$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p<0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

6.5.2. Doku MDA, NO, 8-OHdG, TNF- α , MCP-1 ve MPO düzeyi bulguları

Kalp MDA, NO, 8-OHdG, TNF- α , MCP-1 ve MPO düzeyi bulguları aşağıdaki gibi bulunmuştur:

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,05$) MDA düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında MDA düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 18A).

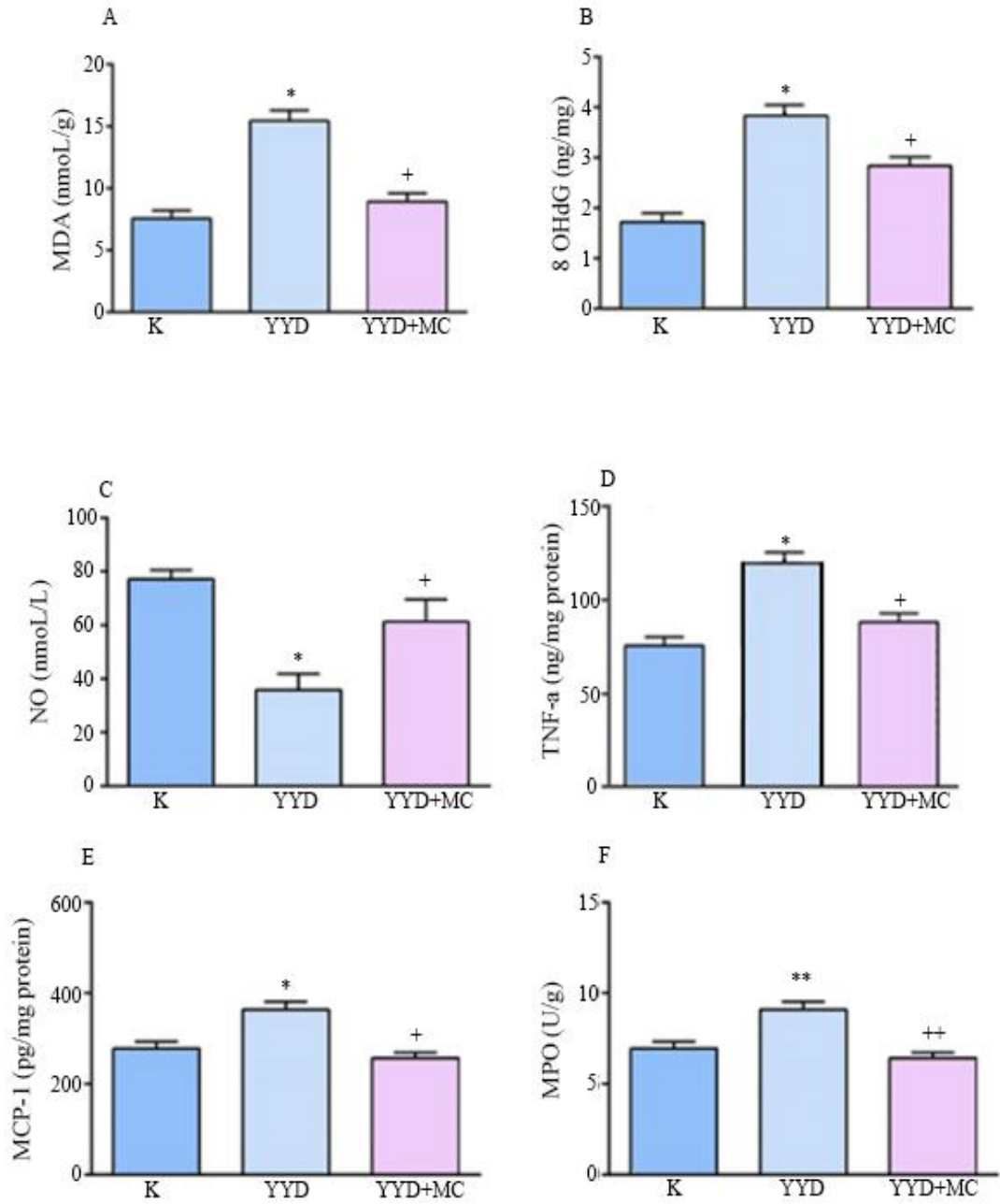
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,05$) 8-OHdG düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında 8-OHdG düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 18B).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,05$) NO düzeyinin düştüğü gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında NO düzeyinde artış gözlenmiştir (Şekil 18C).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,05$) TNF- α düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında TNF- α düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 18D).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,05$) MCP-1 düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında MCP-1 düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 18E).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,01$) MPO düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında MPO düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 18F).



Şekil 18: Deney gruplarında kalp dokusuna ait MDA (A), 8-OHdG (B), NO (C), TNF- α (D), MCP-1 (E) ve MPO (F) düzeyleri. *: $p<0,05$, **: $p<0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p<0,05$, ++: $p<0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

Aort MDA, NO, 8-OHdG, TNF- α , MCP-1 ve MPO düzeyi bulguları aşağıdaki gibi bulunmuştur:

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,01$) MDA düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında MDA düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 19A).

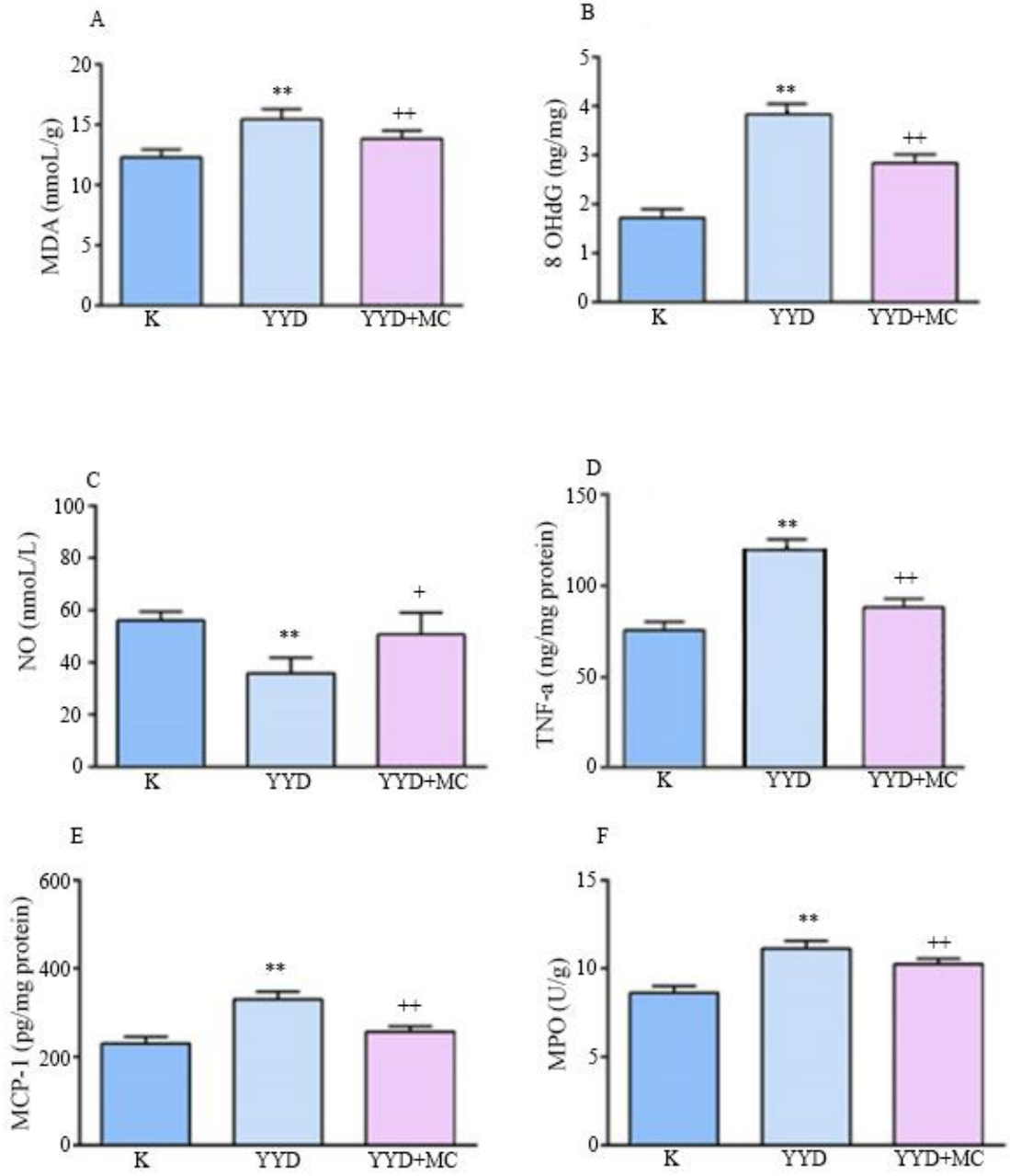
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,01$) 8-OHdG düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında 8-OHdG düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 19B).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,01$) NO düzeyinin düştüğü gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,05$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında NO düzeyinde artış gözlenmiştir (Şekil 19C).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,01$) TNF- α düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında TNF- α düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 19D).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda ($p<0,01$) MCP-1 düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında MCP-1 düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 19E).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, YYD grubunda ($p<0,01$) MPO düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. YYD+MC grubunda ($p<0,01$), YYD grubu ile karşılaştırıldığında MPO düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 19F).



Şekil 19: Deney gruplarında aort dokusuna ait MDA (A), 8-OHdG (B), NO (C), TNF- α (D), MCP-1 (E) ve MPO (F) düzeyleri. **: $p < 0,01$ kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında. +: $p < 0,05$, ++: $p < 0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, MC tedavisinin YYD'nin neden olduğu kalp ve aort hasarı üzerindeki iyileştirici etkileri biyokimyasal, histolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir. YYD ile indüklenmiş obezitede sıçanlarda vücut ağırlığının, kan serumunda trigliserit ve kolesterol düzeylerinin arttığı, HDL düzeyinin ise azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca YYD grubunda kalp ve aort dokularında MDA, 8-OHdG, TNF- α , MCP-1 ve MPO düzeylerinin düştüğü, NO düzeyinin ise azaldığı gözlenmiştir. Biyokimyasal parametrelere paralel olarak YYD grubunda dejenere kalp ve aort morfolojisinin varlığı gözlenmiştir. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda kalp ve aort dokularında iNOS ve NOX-2 immünopozitif hücrelerin, apoptotik hücrelerin arttığı, eNOS immünopozitif hücrelerin ise azaldığı gözlenmiştir. MC ekstraktı uygulanmasının YYD ile indüklenmiş obezitede tüm biyokimyasal, histolojik ve immünohistokimyasal parametreleri iyileştirdiği gözlenmiştir.

Yapılan insan ve hayvan çalışmaları, YYD'nin vücut ağırlığını önemli ölçüde arttırarak obeziteye neden olduğunu bu nedenle diyetin yağ içeriğinin kilo artışıyla yakından ilgili olduğunu göstermiştir (Hariri ve Thibault, 2010). Oksidatif stresin obezite ve kilo kaybında önemli bir rolü olduğu bilinmektedir, bu nedenle antioksidan tedavilerle ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (Engin, 2017; Elmas ve ark., 2019). MC ekstraktının antiobezitik etkileri olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada 6 hafta boyunca standart yem, YYD, YYD+Sibutramin, YYD+MC (200 mg ve 400 mg) verilen sıçanlardan YYD ile beslenen sıçanların vücut ağırlıkları kontrol grubundakilere göre belirgin derecede artış gösterdiği, 5 mg/kg sibutramine verilen grupta YYD grubuna oranla %32 oranında kilo kaybı, MC verilen gruplarda ise YYD grubuyla karşılaştırıldığında %21-%24 oranında kilo kaybı görülmüştür (Ahmed, 2013). Çalışmamızda da benzer şekilde YYD ile beslenen sıçan grubunda, standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubundaki hayvanlara göre vücut ağırlıklarının arttığı, MC ekstraktı uygulanması ile vücut ağırlıklarının anlamlı olarak azaldığı görülmüştür.

Obezitede lipid metabolizmasındaki anormallikler sıkça görülmektedir. Yapılan çalışmalar, obez hayvanlarda serum trigliserit ve kolesterolde artış ve HDL düzeylerinde azalma gibi lipid profillerinde önemli değişiklikler olduğunu göstermiştir (Elmas ve ark., 2019; Kanpaltı ve ark., 2022). Yapılan bir araştırmada 14 hafta

boyunca YYD ile beslenen sıçanlara süt tozu ve kefir peptidi uygulanması sonucunda YYD ile beslenen hayvanların serum TG, total kolesterol, LDL ve serbest yağ asidi değerleri yüksek bulunmuş, YYD+kefir peptidi verilen grupta serum seviyelerinde özellikle LDL ve serbest yağ asidinin önemli ölçüde düştüğü gösterilmiştir (Tung ve ark., 2018). Ayrıca YYD ile 16 hafta beslenen farelerle yapılan bir çalışmada 10 hafta sonra insandakine benzer şekilde obezite, hiperlipidemi ve hiperinsülinemi tablosu geliştiği bildirilmiştir (Ito ve ark., 2007). MC tedavisinin, YYD'nin neden olduğu obezitede sıçanlarda görülen dislipidemiye önlediği ve biyokimyasal değişiklikleri önemli ölçüde iyileştirdiği gösterilmiştir (Ahmed ve ark., 2013; Patra ve ark., 2015). Bu bulgulara paralel olarak YYD grubunda kan serumunda trigliserid ve kolesterol düzeylerinde artış, HDL düzeyinde azalma gözlenmiş ve MC uygulanması ile bu bulguların düzeldiği gözlenmiştir.

Diyete bağlı obezitede oksidatif stresin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Obezite, NOX üretimi, oksidatif fosforilasyon, protein kinaz C aktivasyonu, gliseraldehid oksidasyonu, gibi birçok biyokimyasal mekanizma aracılığıyla oksidatif stres oluşturmaktadır. Obezitenin kalp ve damar hastalıklarını da artmış ROS üretimi ile tetiklediği belirtilmiştir (Elmas ve ark., 2019; Gamez-Mendez ve ark., 2015). Obezite ve kardiyovasküler sistem ile ilişkili yapılan çalışmalarda kalp ve damar hastalıklarının obezitenin yaygın olduğu bölgelerde daha sık görüldüğü gösterilmiştir (Bray, 2004; Blüher, 2009). Obezite oluşumundaki temel sebeplerden biri olan yağ oranı yüksek besinlerin tüketilmesinin süperoksit anyonlarının üretimini artırarak oksidatif stres oluşumunu arttırdığı bilinmektedir (Yu ve ark., 2018). Ayrıca obezitenin, enflamatuar hücre infiltrasyonu, yaygın fibroz ve kollajen birikimi yoluyla da normal kalp morfolojisini bozduğu, ayrıca damarlardaki endotel hücrelerinde yapısal değişikliklere yol açarak endotelyal disfonksiyon gelişimini arttırdığı gösterilmiştir (Du J ve ark, 2013). YYD ile indüklenen obez sıçanlarda, MC'nin antioksidan aktiviteyi arttırdığı, böbrek ve mesane dokusunda histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiği gösterilmiştir (Kanpalta ve ark, 2022). Benzer şekilde çalışmamızda MC uygulanmasının kalp ve aort morfolojisini iyileştirdiği gözlenmiştir.

Birçok hastalığın tedavisi ve önlenmesine yönelik araştırma çalışmalarında bitkisel antioksidanların kullanımı artmıştır (Tuzcu ve ark., 2017; Mabrouki ve ark., 2020).

Yapılan araştırmalar sonucunda MC'nin meyveleri, yaprakları ve uçucu yağlarının etkileri ortaya konulmuştur (Patra ve ark., 2015; Alipour ve ark., 2014). Önceki çalışmalar, MC'nin çeşitli hayvan modellerinde oksidatif strese karşı antiobezite, antioksidatif, antiinflamatuvar, antiapoptotik etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca MC'nin bileşiklerinden semi-myrtucommulone ve myrtucommulone-A'nın antiaterojenik etkileri bildirilmiştir (Rosa ve ark., 2003; Rossi ve ark., 2009). Bununla birlikte literatürde MC tedavisinin kalp ve aort üzerindeki etkilerini ortaya koyan çalışmalar sınırlıdır.

NO, vasküler yaralanma, enflamasyon ve tromboza karşı koruyucu etkisiyle kardiyovasküler homeostazın devam etmesinde önemli bir role sahiptir (Engin, 2017). NO, lökositlerin endotele yapışmasını inhibe eder, vasküler düz kas hücrelerini proliferatif olmayan bir pozisyonda tutar ve trombosit agregasyonunu sınırlar (Kumral ve ark., 2017; Ritchie ve ark., 2016). Ayrıca obezite ve hipertansiyon gibi yaygın kardiyovasküler risk faktörleri, endotelin koruyucu işlevini bozmaktadır (Skrzep-Poloczek ve ark., 2020). Yapılan çalışmalarda YYD'nin neden olduğu obezitenin ROS üretimini, iNOS aktivitesini arttırdığını, NO seviyelerini ve eNOS aktivitesini ise azalttığını göstermiştir (Godo ve ark., 2016; Engin, 2017). Çalışmamızda, YYD ile indüklenen obez sıçanlarda hem kalpte hem de aortta iNOS-ir hücrelerinde artış, eNOS-ir hücrelerinde ve NO düzeylerinde ise azalma olduğu gözlenmiştir. MC tedavisinin, hem kalp hem de aort dokularında NO düzeylerini, eNOS-ir ve iNOS-ir düzeylerini iyileştirdiği görölmüştür.

YYD ile beslenmenin ROS üretimini arttırdığı ve dokularda patolojik değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (Ritchie ve ark., 2016). MDA, lipid peroksidasyonunun belirteci olduğu ve YYD ile indüklenen obezitede MDA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Patra ve ark., 2015; şen ve ark., 2016; Kanpalta ve ark., 2022). Önceki çalışmalar, antioksidan ajanların YYD ile indüklenen obezitede MDA düzeylerini düşürdüğünü göstermiştir (Wang ve ark., 2016; Yaşar ve ark., 2021). Bu bulgulara paralel olarak çalışmamızda YYD grubunda MDA düzeylerinin arttığı ve MC tedavisinin hem kalp hem de aorttaki değişiklikleri iyileştirdiği gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar, aktive edilen NOX-2'nin elektronları oksijene taşıyarak ve süperoksit anyonlarının oluşumunu arttırdığını bu nedenle NOX-2'nin ROS'un ana kaynağı

olduğunu göstermiştir (Wang ve ark., 2016). NOX-2 enzim inhibisyonunun dokuları oksidatif hasara karşı korumada rol oynadığı düşünülmektedir (Ma ve ark., 2014). Yüksek yağlı bir diyetle beslenme, süperoksit anyonlarının üretimine yol açan NOX-2'nin aktivasyonuna ve sonuç olarak oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır. NOX-2, endotelial reaktif oksijen türlerinin ana kaynağıdır ve damarda endotelial hücrelerde, adventisyadaki fibroblastlarda ve düz kas hücrelerinde eksprese edilmektedir. NOX-2 tarafından üretilen fazla miktardaki ROS'un endotelial disfonksiyona neden olarak vasküler komplikasyonlara neden olduğu gösterilmiştir (Du ve ark., 2013). Çalışmamızda YYD'nin NOX-2 immünopozitif hücre sayısını arttırdığı ve MC tedavisinin antioksidan etki mekanizmasıyla NOX-2 immünopozitif hücre sayısını azalttığı gözlenmiştir.

Yağ dokusu, TNF- α ve IL-6 gibi sitokinleri sekrete eden bir endokrin organ olarak kabul edilmektedir. Obezitede adipositlerin hem hiperplazisi hem de hipertrofisinde artış görülmektedir. Bu nedenle obezite de kronik enflamatuvar bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Artan yağ dokusu nedeniyle TNF- α , MCP-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun arttığı bilinmektedir (Gregor ve Hotamışlıgil, 2011). Çalışmamızda, YYD ile indüklenen obezitenin ROS'u arttırarak ve antioksidan savunmayı bozarak enflamasyonla ilişkili belirteçleri arttırdığı gözlenmiştir. YYD grubunda hem kalp hem de aort dokularında TNF- α ve MCP-1 düzeylerinin artması YYD'ye bağlı hasarların enflamasyon ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. MC tedavisinin, hem kalp hem de aort dokularında TNF- α ve MCP-1 dâhil olmak üzere enflamatuvar belirteçlerin seviyelerini azalttığı görülmüştür.

Bir diğer enflamasyon belirteci olan MPO da oksidatif stres durumunda artan bir enzimdir ve obezitede dokularda artışı olduğu bilinmektedir (Piek ve ark., 2019). YYD ile beslenen sıçanlarda artan MPO düzeylerinin MPO inhibitörü olan ajanlar verildikten sonra düştüğü, ayrıca kullanılan MPO inhibitörünün yağ doku artışını, enflamasyonu ve karaciğer ve kalpteki dejenerasyonu azalttığı bildirilmiştir (Piek ve ark., 2019). Bu bulgulara paralel olarak çalışmamızda kalp ve aort doku örneklerinde ölçülen MPO düzeylerinin YYD grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmış olduğu, YYD+MC grubunda ise hem kalp hem de aort

dokularında YYD grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir düşüş meydana geldiği görülmüştür.

Oksidatif stres ayrıca dokuda proliferasyon ve apoptozun düzenlenmesini de etkilemektedir. Hücrelerde apoptozdaki artışların dokuda hasara neden olduğu ve kalp ve damar hastalıkları dahil birçok hastalığın patolojisinde rol oynadığı bilinmektedir. YYD ile indüklenen obezitenin dokularda oksidatif stresi artırarak apoptotik hücre sayısını arttırdığı gösterilmiştir (Hunter ve ark., 2005). Bu çalışmada YYD grubunda kalpte kardiyomiyositlerde ve aortta endotel ve düz kas hücrelerinde apoptotik hücre sayısının arttığı gözlenmiştir. MC tedavisinin, güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkiler yoluyla hem kalp hem de aortdaki apoptotik hücreleri azalttığı düşünülmektedir.

YYD ile indüklenen obezitede artan ROS oluşumu, hem lipidlerin hem de nükleik asitlerin oksidasyonuna neden olmaktadır. Obezite, kronik bir oksidatif stres durumu olarak kabul edilmektedir ve ateroskleroz, hipertansiyon, kalp ve damar hastalıklarının patogeneğinde önemli rol oynayan DNA hasarına neden olmaktadır (Tobore ve ark., 2020). Oksidatif hasarı hücrelerde replikasyon ve transkripsiyonu bozarak genetik kararsızlığa ve mutasyon artışına neden olduğu bilinmektedir. DNA'daki oksidatif hasarın şiddetini belirlemek için ROS'un dokuda oluşturduğu DNA hasarının bir göstergesi olan 8-OHdG düzeylerinin ölçümü yapılmaktadır (Maciejczyk ve ark., 2016). Önceki çalışmalar, YYD'nin neden olduğu obezitenin birçok dokuda 8-OHdG'yi arttırdığını göstermiştir (Valavanidis ve ark., 2009; Kanpaltı ve ark., 2022; Kuru Yaşar ve ark., 2021). Bu bulgulara paralel olarak çalışmamızda YYD grubunda kalp ve aort dokularında 8-OHdG düzeyinde artış ve apoptotik aktivite gözlenmiştir. Bununla birlikte, MC tedavisi hem kalp hem de aort dokularında apoptotik aktiviteyi ve 8-OHdG seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir. MC, apoptotik aktivitenin inhibisyonu yoluyla YYD'nin neden olduğu kalp ve aort hasarını iyileştirmiştir. Bu çalışmada MC ekstraktının kalp ve aort dokusunda antioksidan ve antiapoptotik fonksiyona sahip olabileceği gösterilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma YYD'nin neden olduğu obezitenin, artmış oksidatif stres, NOX-2-ir ve iNOS-ir, azalmış NO aktivitesi ile lipid profillerinde değişikliğe, kalp ve aort dokularında histopatolojik hasara neden olduğunu ortaya koymuştur. MC

tedavisinin güçlü antioksidan, antienflamatuar ve antiapoptotik etkileri olduğu, oksidatif stresi inhibe ederek ve NO metabolizmasını düzenleyerek YYD'nin neden olduğu kalp ve damar hasarını iyileştirebileceği konusunda literatüre katkıda bulunduğu düşünölmektedir. Kronik ve çok fazla etkeni olan bir hastalık olan obezitede MC'nin terapötik kullanımının mümkün olması için daha fazla deneysel ve klinik çalışma yapılması gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır.



8. KAYNAKLAR

Ahmed AH. Flavonoid content and antiobesity activity of leaves of *Myrtus communis*. Asian J Chem. 2013;25:6818–22

Alipour G, Dashti S, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of *Myrtus communis* L. and its active constituents. Phytother Res. 2014;28:1125-36

Arslan S, Ozcan O, Gurel-Gokmen B, Cevikelli-Yakut ZA, Saygı HI, Sen A, Göger F, Erkanli-Senturk G, Sener G, Tunalı-Akbay T. Myrtle improves renovascular hypertension-induced oxidative damage in heart, kidney, and aortic tissue. Biologia. 2022;77:1877-88

Blüher M. Obesity: Global epidemiology and pathogenesis. Nat Rev Endocrinol. 2019;15:288-298

Bray GA. Medical consequences of obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:2583-9

Campbell MS, Ouyang A, Krishnakumar IM, Charnigo RJ, Westgate PM, Fleenor BS. Influence of enhanced bioavailable curcumin on obesity-associated cardiovascular disease risk factors and arterial function: A double-blinded, randomized, controlled trial. Nutrition. 2019;62:135-9

Codoñer-Franch P, Tavañez-Alonso S, Murria-Estal R, Herrera-Martín G, Alonso-Iglesias E. Polyamines are increased in obese children and are related to markers of oxidative/nitrosative stress and angiogenesis. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:2821-5

Czumaj A, Śledzińska M, Brzeziński M, Szlagatys-Sidorkiewicz A, Słomińska E, Śledziński T. Decreased serum level of nitric oxide in children with excessive body weight. Adv Clin Exp Med. 2019;28:439-46

Diniz YS, Rocha KKHR, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. Eur J Pharmacol. 2006;543:151-7

Du J, Fan LM, Mai A, Li JM. Crucial roles of Nox2-derived oxidative stress in deteriorating the function of insulin receptors and endothelium in dietary obesity of middle-aged mice. *Br J Pharmacol*. 2013;170:1064–1077

El-Awady MS, Suddek GM. Agmatine ameliorates atherosclerosis progression and endothelial dysfunction in high cholesterol-fed rabbits. *J Pharm Pharmacol*. 2014;66:835-43

Elmas MA, Ozakpinar OB, Kolgazi M, Sener G, Ercan F. Morphological and biochemical investigation of the healing effects of exercise on high fat diet induced kidney and bladder damage. *Clin Exp Health Sci* 2022; 12: 817-823

Engin A. Endothelial dysfunction in obesity. *Adv Exp Med Biol*. 2017; 960:345-379

Elmas MA, Cakıcı SE, Dur IR, Kozluca I, Arınc M, Binbuga B, Bingöl Ozakpinar O, Kolgazi M, Sener G, Ercan F. Protective effects of exercise on heart and aorta in high-fat diet-induced obese rats. *Tissue Cell*. 2019; 57:57-65

Eşrefoğlu M. Özel Histoloji 2. Baskı. İstanbul Kitabevi, 2016. S: 3-13

Fernández-García JC, Martínez-Sánchez MA, Bernal-López MR, Muñoz-Garach A, Martínez-González MA, Fitó M. Effect of a lifestyle intervention program with energy-restricted Mediterranean diet and exercise on the serum polyamine metabolome in individuals at high cardiovascular disease risk: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2020; 1;111:975-982

Gadde KM, Martin CK, Berthoud HR, Heymsfield SB. Obesity: Pathophysiology and Management. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71:69-84

Gamez-Mendez AM, Vargas-Robles H, Ríos A, Escalante B. Oxidative stress-dependent coronary endothelial dysfunction in obese mice. *PloS One*. 2015;10:e0138609

Godo S, Shimokawa H. Divergent roles of endothelial nitric oxide synthases system in maintaining cardiovascular homeostasis. *Free Radic Biol Med*. 2017;109:4-10

Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011; 29: 415-45

Hamblin M, Chang L, Zhang H, Yang K, Zhang J, Chen YE. Vascular smooth muscle cell peroxisome proliferator-activated receptor- γ deletion promotes abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2010;52:984-993

Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev.* 2010;23(2):270-99

Heber D. An integrative view of obesity. *Am J Clin Nutr.* 2010;91:280-3

Hoogeveen RC, Morrison A, Boerwinkle E, Miles JS, Rhodes CE, Sharrett AR. Plasma MCP-1 level and risk for peripheral arterial disease and incident coronary heart disease: Atherosclerosis Risk in Communities study. *Atherosclerosis.* 2005;183:301-7

Hotamisligil, GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006;444:860-867

Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : Direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;259:87-91

Hussain T, Tan B, Ren W, Rahu N, Dad R, Kalhor DH, Yin Y.. Polyamines: therapeutic perspectives in oxidative stress and inflammatory diseases. *Amino Acids.* 2017;49:1457-68

Hunter AL, Choy JC, Granville DJ. Detection of apoptosis in cardiovascular diseases. *Methods Mol Med.* 2005;112:277-89

Ito, M, Longitudinal analysis of murine steatohepatitis model induced by chronic exposure to high-fat diet. *Hepatol Res.* 2007;37:50-7

Jabri MA, Tounsi H, Rtibi K, Marzouki L, Sakly M, Sebai H. Ameliorative and antioxidant effects of myrtle berry seed (*Myrtus communis*) extract during reflux-induced esophagitis in rats. *Pharm Biol* 2016:1-11

Jack BU, Malherbe CJ, Mamushi M, Muller CJF, Joubert E, Louw J, Pheiffer C. Adipose tissue as a possible therapeutic target for polyphenols: A case for Cyclopia extracts as anti-obesity nutraceuticals. Biomed Pharmacother. 2019;120:109-139

Kalpana B, Wilson C, Harmancey R, Taegtmeier H. Obesogenic high fat western diet induces oxidative stress and apoptosis in rat heart. Mol Cell Biochem. 2010;344:221-30

Kalsait RP, Khedekar PB, Saoji AN, Bhusari KP. Role of C-reactive protein in the development of atherosclerosis in diet-induced lipidemia in albino rats. Trop J Pharm Res. 2011;10:41-5

Kanpalta F, Ertas B, Sen A, Akakin D, Sener G, Ercan F. *Myrtus communis* L. extract ameliorates high fat diet induced kidney and bladder damage by inhibiting oxidative stress and inflammation. Eur J Biol. 2022;81:1-14

Khan R, Feroz Z, Jamil M, Ahmed M. Hypolipidemic And Antithrombotic evaluation of *Myrtus communis* L. in cholesterol-fed rabbits. Afr J Pharm Pharmacol. 2014;8:235-239

Khan SS, Ning H, Wilkins JT, Allen N, Carnethon M, Berry JD, Sweis R, Lloyd-Jones DM. Association of body mass index with lifetime risk of cardiovascular disease and compression of morbidity. JAMA Cardiology. 2018;3(4):280-7

Kierszenbaum AL. Çeviri Editörü: Prof. Dr. Ramazan Demir. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş palme yayıncılık 2006, s: 321-3

Kumral ZN, Sener G, Ozgur S, Koc M, Suleymanoglu S, Hurdag C, Yegen B. Regular exercise alleviates renovascular hypertension-induced cardiac/endothelial dysfunction and oxidative injury in rats. J Physiol Pharmacol. 2016;67:45-55

Kuru Yaşar R, Kuru D, Şen A, Şener G, Ercan F, Yarat A. Effects of *Myrtus communis* L. extract and apocynin on lens oxidative damage and boron levels in rats with a high fat-diet. Turk J Ophthalmol. 2021;51: 344-350

Li H, Sureda A, Devkota HP, Pittalà V, Barreca D, Silva AS, Tewari D, Xu S. Curcumin, the golden spice in treating cardiovascular diseases. *Biotechnol Adv.* 2020;38:107343

Ma Y, Li H, Yue Z, Guo J, Xu S, Xu J, Jian Y. Cryptotanshinone attenuates cardiac fibrosis via downregulation of COX-2, NOX-2, and NOX-4. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2014;64:28-37

Mabrouki L, Rjeibi I, Taleb J, Zourgui L. Cardiac ameliorative effect of *Moringa Oleifera* leaf extract in high-fat diet-induced obesity in rat model. *Biomed Res Int.* 2020;7:6583603

Maciejczyk M, Zebrowska E, Zalewska A, Chabowski A. Redox balance, antioxidant defense, and oxidative damage in the hypothalamus and cerebral cortex of rats with high fat diet-induced insulin resistance. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;6:6940515

Manna P, Jain SK. Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: Causes and therapeutic strategies. *Metab Syndr Relat Disord.* 2015;13:423-44

Marques C, Meireles M, Norberto S, Leite J, Freitas J, Pestana D, Faria A, Calhau C. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague Dawley Rat. *Adipocyte.* 2016;5:11-21

Medda S, Sanchez-Ballesta MT, Romero I, Dessena L, Mulas M. Expression of structural flavonoid biosynthesis genes in dark blue and white myrtle berries (*Myrtus communis* L.). *Plants.* 2021; 10: 316

Meldrum DR, Morris MA, Gambone JC. Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions, but do we have the will? *Fertil Steril.* 2017;107:833-9

Mescher AL. Junqueira Temel Histoloji Atlas Kitap. Çeviren: Solakoğlu S. 1. basım, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul; 2016, s: 212-219

Morton LW, Caccetta RA, Puddey IB, Croft KD. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2000;27:152-159

Nader MA, Gamiel NM, El-Kashef H, Zaghloul MS. Effect of agmatine on experimental vascular endothelial dysfunction. Hum Exp Toxicol. 2016;35:573-82

Ndisang JF, Vannacci A, Rastogi S. Oxidative stress and inflammation in obesity, diabetes, hypertension, and related cardiometabolic complications. Oxid Med Cell Longev. 2014;506948

Novelli ELB, Santos PP, Assalin HB, Souza G, Rocha K, Ebaid GX. N-acetylcysteine in high-sucrose diet-induced obesity: energy expenditure and metabolic shifting for cardiac health. Pharmacol Res. 2009;59:74-9

Patra S, Nithya S. Review of medicinal plants for anti-obesity activity. Transl Biomed. 2015;6:1-22

Piek A, Koonen D, Schouten EM, Lindtstedt E, Michaelsson E, Boer R, Sillje H. Pharmacological myeloperoxidase inhibition in an obese/hypertensive mouse model attenuates obesity and liver damage, but not cardiac remodeling. Sci Rep. 2019; 9:18765

Ritchie RH, Drummond GR, Silva S, Kemp-Harper BK. The opposing roles of NO and oxidative stress in cardiovascular disease. Pharmacol Res. 2017;116:57-69

Rosa A, Deiana M, Casu V, Corona G, Appendino G, Bianchi F, Ballero M, Dessi MA. Antioxidant activity of oligomeric acylphloroglucinols from *Myrtus communis* L. Free Radic Res. 2003;37:1013-19

Ross MH, Pawlina W. Çeviri Editörü Baykal B. Histoloji konu anlatımı ve atlas. Palme Yayıncılık 2014, s: 400-7

Rossi A, Di Paola R, Mazzon E, Genovese T, Caminiti R, Bramanti P, Carlo Pergola C, Koeberle A. Myrtucommulone from *Myrtus communis* exhibits potent anti-inflammatory effectiveness in vivo. J Pharmacol Exp Ther. 2009;329:76-86

Sen A, Ozkan S, Recebova K, Cevik O, Ercan F, Demirci EK, Bitis L, Sener G. Effects of *Myrtus communis* extract treatment in bile duct ligated rats. J Surg Res. 2016;205:359-67

Sen A, Yuksel M, Bulut G, Bitis L, Ercan F, Ozyilmaz-Yay N, Cobanoğlu H, Ozkan S, Sener G. Therapeutic potential of *Myrtus communis* subsp. *communis* extract against acetic acid-induced colonic inflammation in rats. J Food Biochem. 2016;41:12297

Sener G, Toklu H, Kapucu C, Ercan F, Erkanli G, Kacmaz A, Tilki M, Yegen B. Melatonin protects against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. Surg Today. 2005;35:52-59

Silva JF, Correa IC, Diniz TF, Lima PM, Santos RL, Cortes SF, Coimbra CC, Lemos VS. 2016. Obesity, inflammation, and exercise training: Relative contribution of iNOS and eNOS in the modulation of vascular function in the mouse aorta. Front Physiol. 2016;7:386

Silver AE, Beske SD, Christou DD, Donato AJ, Moreau KL, Eskurza I. Overweight and obese humans demonstrate increased vascular endothelial NAD(P)H oxidase-p47phox expression and evidence of endothelial oxidative stress. Circulation. 2007;115:627-63

Singh P, Rai SN. Factors affecting obesity and its treatment. Obes Med. 2019;16:100-140

Skrzep-Poloczek B, Poloczek J, Chelmecka E, Dulaska A, Romuk E, Idzik M, Kazura W, Nabrdalik K, Gumprecht J, Jochem J, Stygar DM. The Oxidative stress markers in the erythrocytes and heart muscle of obese rats: Relate to a high-fat diet but not to DJOS bariatric surgery. Antioxidants .2020;9:183-193

Soda K. Polyamine intake, dietary pattern, and cardiovascular disease. Med Hypotheses. 2010;75:299-301

Sonta T, Inoguchi T, Tsubouchi H, Sekiguchi N, Kobayashi K, Matsumoto S. Evidence for contribution of vascular NAD(P)H oxidase to increased oxidative stress in animal models of diabetes and obesity. *Free Radic Biol Med*. 2004;37:115-123

Sudirman S, Lai CS, Yan YL, Yeh HI, Kong ZL. Histological evidence of chitosan-encapsulated curcumin suppresses heart and kidney damages on streptozotocin-induced type-1 diabetes in mice model. *Sci Rep*. 2019;9:1-11

Sukumar P, Viswambharan H, Imrie H, Cubbon RM, Yuldasheva N, Gage M. NADPH oxidase has a critical role in insulin resistance-related endothelial cell dysfunction. *Diabetes*. 2013;62:2130-2134

Tobore TO, Towards A. Comprehensive theory of obesity and a healthy diet: The causal role of oxidative stress in food addiction and obesity. *Behav Brain Res*. 2020;384:112560

Tuberoso C, Boban, E, Bifulco E, Budimir D, Filippo MP. Antioxidant Capacity And Vasodilatory Properties Of Mediterranean Food: The Case Of Cannonau Wine, Myrtle Berries Liqueur And Strawberry-Tree Honey. *Food chemistry*. 2013;140:686-91

Tung, YT, Chen HL, Wu HI, Ho MH, Chong KY, Chen CM. Kefir peptides prevent hyperlipidemia and obesity in high-fat-diet-induced obese rats via lipid metabolism modulation. *Mol Nutr Food Res*, 2018;62:3

Tuzcu Z, Orhan C, Sahin N, Juturu V, Sahin K. Cinnamon polyphenol extract inhibits hyperlipidemia and inflammation by modulation of transcription factors in high-fat diet-fed rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;1583098

Upadhyay J, Farr O, Perakakis N, Ghaly W, Mantzoros C. Obesity as a Disease. *Medical Clinic*. 2018;102:13-33

Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*. 2009;27:120-39

Wang S, Moustaid-Moussa N, Chen L, Mo H, Shastri A, Su R, Bapat P, Kwun IS, Chwan-Li S. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *J Nutr Biochem*. 2014;25:1-18

Wang X, Zhao S, Su M, Sun L, Zhang S, Wang D, Liu Z, Yuan Y, Liu Y, Li Y Geraniol improves endothelial function by inhibiting NOX-2 derived oxidative stress in high fat diet fed mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;10:182-187

Xu Z, Qin Y, Lv B, Tian Z, Zhang B. Intermittent fasting improves high-fat diet-induced obesity cardiomyopathy via alleviating lipid deposition and apoptosis and decreasing m6A methylation in the heart. *Nutrients*. 2022;14:251

Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. The immunomodulatory and antiinflammatory role of polyphenols. *Nutrients*. 2018;10:16-18

Yu HT, Fu X, Liang B, Wang S, Liu K, Wang SR, Feng ZH. Oxidative damage of mitochondrial respiratory chain in different organs of a rat model of diet-induced obesity. *Eur J Nutr*. 2018;57:1957-1967

Zhao Y, Chen B, Shen J, Wan L, Zhu Y, Yi T. The Beneficial Effects of Quercetin, Curcumin, and Resveratrol in Obesity. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:1459497

9. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onay Form

Ek 2. İntihal Raporu



Ek 1. Etik Kurul Onay Form



Ek 2. İntihal Raporu

Yüksek Yağlı Diyetle İndüklenmiş Obezitede Myrtus Communis L. Ekstraktının Kalp ve Aort Üzerine Etkilerinin Morfolojik ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi

ORJİNALLİK RAPORU			
%6	%5	%2	%2
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
BİRİNCİL KAYNAKLAR			
1	dspace.marmara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1	
2	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	%1	
3	Kabelo Mokgalaboni, Yonela Ntamo, Khanyisani Ziqubu, Tawanda M Nyambuya et al. "Curcumin supplementation improves biomarkers of oxidative stress and inflammation in conditions of obesity, type 2 diabetes and NAFLD: Updating the status of clinical evidence", Food & Function, 2021 Yayın	<%1	
4	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	<%1	
5	acikerisim.pau.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1	
6	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<%1	

10. ÖZGEÇMİŞ

