

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ISOPROTERENOL İLE DENEYSEL MİYOKARD ENFARKTÜSÜ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA NEROLİDOL VE VİTAMİN D' NİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatma Tuba KARAKAŞ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Nevin KOCAMAN

ELAZIĞ

2023

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

DEKAN

Bu tez uzmanlık tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Dürrin Özlem DABAK

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Nevin KOCAMAN _____ Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

İTHAF

Annem ve Babam' a...



TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşarak bana yardımcı olan, Üremeye Yardımcı Tedavi Uygulama (ÜYTE) eğitimim süresince hekimlik bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen aynı zamanda tez boyunca yanımda olup yardımcı olan danışman Hocam olan Doç. Dr. Nevin KOCAMAN'a,

Uzmanlık eğitimimdeki değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK'e, Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU' na, Prof. Dr. Dürrin Özlem DABAK'a,

Tezimin oluşum aşamasında gerekli ortamı hazırlayarak karşılaşılan güçlüklerin aşılmasında yol gösterici olan Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na,

Tezimde desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Nalan KAYA TEKTEMUR'a, Dr. Öğr. Gör. Tuba YALÇIN'a, Araş. Gör. Dr. Serhat HANÇER'e, Araş. Gör. Dr. Esra TUNÇ'a, Araş. Gör. Dr. Mualla Büşra BİLBAY'a,

Tezime yaptığı bilimsel katkılarından dolayı ve tez boyunca desteğini esirgemeyen arkadaşım Peray AYHAN' a

Tezime yaptığı bilimsel katkılarından dolayı değerli abim Araş. Gör. Muhammet GÜRBÜZ' e,

Tüm hayatım boyunca yanımda olan ve maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Kardiyovasküler hastalıklar küresel olarak önde gelen ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Akut miyokard enfarktüsü (MI) geçiren hastaların mortalite ve morbidite oranları genel popülasyona oranla 1.5 kat yüksektir. Nerolidol(NRD), çiçek kokulu çeşitli bitkilerin uçucu yağında bulunan doğal olarak oluşan bir seskiterpen alkoldür. Vitamin D(VİT D), metabolizmada başta kemik ve iskelet sistemi olmak üzere birçok önemli fonksiyona sahiptir. Yapılan araştırmalar NRD ve VİT D' nin hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği yönündedir.

Çalışmamıza 42 adet 8-10 haftalık Wistar Albino erkek sıçanlar dahil edildi ve her grupta 7 sıçan olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Gruplar; kontrol, MI, NRD, MI+NRD, VİT D, MI+VİT D şeklinde oluşturuldu. Akut MI oluşturmak için 200 mg/kg Isoproterenol kullanıldı. Tedavi için sıçanlara mısırözü yağında çözödürölen NRD(100 mg/kg/gün) ve VİT D (50 IU/gün) 14 gün boyunca uygulandı. NRDve VİT D' nin terapötik etkileri kardiyak belirteçler, anti-oksidan, biyokimyasal parametreler, histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak incelendi.

Çalışma sonucunda MI grubuna kıyasla MI+NRD ve MI+VİT D gruplarında total antioksidan seviyelerinde(TAS) artma ve total oksidan seviyelerinde(TOS) anlamlı bir azalma olduğu göröldü ($p<0,05$). Asprosin düzeylerinde, MI grubuna kıyasla MI+NRD ve MI+VİT D gruplarında anlamlı bir azalma tespit edildi ($p<0,05$). Yine MI grubu ile kıyaslandığında MI+NRD ve MI+VİT D gruplarında Meteorin Like Protein (METRNL) düzeylerinin ise anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0,05$). Histopatolojik incelemelerde MI+NRD ve MI+VİT D gruplarında MI grubuna oranla eritrosit ekstrasvazasyonu ve fibrozisin anlamlı düzeyde azaldığı ve nekrotik kas liflerinde anlamlı derecede iyileşme olduğu göröldü (sırası ile $p<0,001$, $p=0,002$).

Nerolidol ve Vitamin D' nin MI tedavisinde etkili olduğu ve bu etkinin METRNL'e bağımlı ancak asprosinde bağımsız olduğu göröldü.

Anahtar kelimeler: Miyokard Enfarktüsü, Isoproterenol, Nerolidol, Vitamin D, Asprosin, Meteorin like protein

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF NEROLIDOL AND VITAMIN D IN RATS WITH ISOPROTERENOL CREATED WITH EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION

Cardiovascular diseases are one of the leading causes of death globally. The mortality and morbidity rates of patients with acute myocardial infarction (MI) are 1.5 times higher than in the general population. Nerolidol (NRD) is a naturally occurring sesquiterpene alcohol found in the essential oil of various floral-scented plants. Vitamin D (VIT D) has many important functions in metabolism, especially in the bone and skeletal system. Studies have shown that NRD and VIT D can be used to treat cardiovascular diseases and hypertension.

42 numbers of 8-10 week old Wistar Albino male rats were included in our study, and they were divided into 6 groups with 7 rats in each group. Working groups include Control, MI, NRD, NRD+MI, VIT D, MI+VIT D. 200 mg/kg Isoproterenol was used to induce acute MI. Rats were treated with NRD dissolved in corn oil (100 mg/kg/day) and VIT D (50 IU/day) for 14 days. The therapeutic effects of NRD and VIT D were examined with cardiac markers, oxidation and biochemical parameters, and histopathological and immunohistochemical methods.

As a result, MI+NRD and MI+VIT D groups, compared to the MI group, increased the total antioxidant status(TAS) and decreased the total oxidant status(TOS) level significantly ($p<0,05$). Asprosin levels were significantly lower in the MI+NRD and MI+VIT D groups compared to the MI group ($p<0,05$). Meteorin Like Protein (METRNL) levels significantly increased in the MI+NRD and MI+VIT D groups compared to the MI group ($p<0,05$). In histopathological examinations, it was observed that erythrocyte extravasation, and fibrosis were significantly reduced, and necrotic muscle fibers showed a significantly improved pattern in the MI+NRD and MI+VIT D groups compared to the MI group. ($p<0,001$, $p=0,002$, respectively).

Nerolidol and Vitamin D were found to be effective in the treatment of MI, and this effect was dependent on METRNL but independent of asprosin.

Keywords: Myocardial Infarction, Isoproterenol, Nerolidol, Vitamin D, Asprosin, Meteorin like protein



İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI.....	ii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	xii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR ve SEMBOLLER LİSTESİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kalbin Anatomisi	1
1.2. Kalbin Embriyolojik Gelişimi.....	2
1.2.1. Primer ve Sekonder Kalp Alanlarının Oluşumu	2
1.2.2. Kalp Tüpünün Oluşumu	3
1.2.3. Kalp Halkasının Oluşumu	3
1.2.4. Sinüs Venozusun Gelişimi	3
1.2.5. Kardiyak Septumların Oluşumu.....	4
1.2.6. Aortikopulmoner Septum'un Gelişimi/Kardiyak Çıkım Yolunun Gelişimi.....	6
1.2.7. Kardiyak kapakların oluşumu	7
1.2.8. Kalp damarlarının erken vasküler gelişimi	7
1.3. Kalbin Histolojik Yapısı.....	7
1.3.1. Endokardiyum	8
1.3.2. Miyokardiyum.....	8

1.3.3. Epikardiyum	10
1.3.4. İnterventriküler Septum.....	12
1.4. Kalbin Uyarı ve İletici Sistemi.....	12
1.4.1. Kalp Kapakları	12
1.4.2. Arterler	13
1.4.2.1. Elastik Arterler	13
1.4.2.2. Musküler Arterler.....	13
1.4.2.3. Küçük Çaplı Arterler ve Arteriyoller	14
1.4.2.4. Kapiller Damarlar.....	14
1.4.3. Venler	14
1.4.4. Lenf Damarları	15
1.5. Akut Miyokard İnfarktüsü.....	15
1.5.1. Tanım	15
1.5.2. Epidemiyoloji.....	16
1.5.3. Tanı.....	16
1.5.4. Akut Miyokard İnfarktüs'ünün Etiyopatolojisinde Rol Alan İnflamatuar Süreçler	16
1.5.5. Miyokard İskemisi ve Enfarktüsünde Meydana Gelen Olaylar ve Değişiklikler.....	18
1.5.6. Serbest Radikaller	22
1.5.7. Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları (Antioksidanlar)	22
1.5.8. Total Antioksidan Seviye (TAS).....	23
1.5.9. Total Oksidatif Seviye (TOS)	23
1.5.9.1. Nekrozlu Miyokard Hasarının Biyobelirteçlerle Saptanması	23
1.6. Isoproterenol.....	24
1.7. Asprosin	26

1.7.1. Asprosin' in Etkileri.....	27
1.7.2. Asprosin ve Kalp.....	28
1.8. Meteorin Like Protein (METRNL)	28
1.9. Nerolidol.....	31
1.9.1. Anti-Oksidan Aktivite	32
1.9.2. Anti-inflamatuar aktivite	33
1.9.3. Diğer Etkileri.....	33
1.10. Vitamin D	34
1.10.1. D Vitamini Metabolizması	34
1.10.2. D Vitamininin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri.....	37
1.10.3. Vitamin D'nin Kardiyovasküler Hastalıklar ile İlişkisi	37
1.10.4. Vitamin D ve Akut Miyokard İnfarktüsü.....	40
2. GEREÇ VE YÖNTEM	42
2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması	42
2.2. Deneyin Sonlandırılması ve Doku Örneklerinin Alınması	43
2.3. Histolojik Değerlendirmeler.....	43
2.4. İmmunohistokimyasal Değerlendirme	44
2.5. ELISA yöntemi Asprosin, Meteorin-like Protein, TAS ve TOS Düzeylerinin Ölçümü	47
2.6. Biyokimyasal Analiz	47
2.7. İstatistiksel Analiz	47
3. BULGULAR	48
3.1. Biyokimyasal Bulgular.....	48
3.1.1. Kardiyak Belirteç Düzeyleri.....	48
3.1.2. Serum Total Oksidan Status (TOS) Düzeyleri.....	49
3.1.3. Serum Total Antioksidan Status (TAS) Düzeyleri.....	49

3.1.4. Serum Asprosin Düzeyleri	50
3.1.5. Serum Meteorin Like Protein Düzeyleri	51
3.2. Histolojik Bulgular	52
3.3. İmmünohistokimyasal Bulgular	60
3.3.1. Asprosin İmmünreaktivitesi	60
3.3.2. Meteorin Like Protein İmmünreaktivitesi	60
4. TARTIŞMA	68
5. KAYNAKLAR.....	74
6. ÖZGEÇMİŞ.....	93

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Histolojik Takip Prosedürü	44
Tablo 2.	İmmünohistokimyasal Boyama Prosedürü.....	46
Tablo 3.	Serum Troponin I, CK-MB	48
Tablo 4.	Serum TOS ve TAS Düzeyleri.....	50
Tablo 5.	Serum Asprosin ve Meteorin Like Protein Düzeyleri.....	51
Tablo 6.	Histopatolojik Değerlendirme.....	58
Tablo 7.	Histopatolojik Değerlendirme Skoru	59
Tablo 8.	Asprosin ve Meteorin Like Protein İmmünreaktivite Değerlendirme Skoru	61

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1:	Grupların serum Troponin I ve CK-MB düzeylerinin karşılaştırılması	49
Şekil 2:	Grupların serum TOS ve TAS düzeylerinin karşılaştırılması	50
Şekil 3:	Grupların serum Asprosin ve METRNL düzeylerinin karşılaştırılması	52
Şekil 4:	Kontrol grubuna ait normal görünümlü kalp dokusu (H&E).....	52
Şekil 5:	Nerolidol grubuna ait normal görünümlü kalp dokusu (H&E).....	53
Şekil 6:	Vitamin D grubuna ait normal görünümlü kalp dokusu (H&E).	53
Şekil 7:	MI grubuna ait kalp dokusundaki patolojik değişiklikler nekrotik kas lifleri (siyah ok), eritrosit ekstrasvasyonu (mavi ok) ve fibrozis (yeşil ok başı) (H&E).....	54
Şekil 8:	MI+ NRD grubuna ait kalp dokusu. Nekrotik kas lifleri (siyah ok), fibrozis (yeşil ok başı) (H&E).....	54
Şekil 9:	MI+Vitamin D grubuna ait kalp dokusu (H&E).	55
Şekil 10:	Kontrol grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikrom).	55
Şekil 11:	Nerolidol grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikrom).....	56
Şekil 12:	Vitamin D grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikrom).....	56
Şekil 13:	MI grubuna ait kalp dokusundaki patolojik değişiklikler fibrozis (siyah ok) (Masson Trikrom).	57
Şekil 14:	MI+NRD grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikrom).	57
Şekil 15:	MI+Vitamin D grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikrom).....	58
Şekil 16:	Grupların Nekrotik kas, Eritrosit ekstrasvasyonu ve Fibrozis histopatolojik değerlendirme skorlarının karşılaştırılması.....	59
Şekil 18:	Kontrol grubunda Asprosin immünreaktivitesi.....	62
Şekil 19:	Nerolidol grubunda Asprosin immünreaktivitesi.....	62

Şekil 20:	Vitamin D grubunda Asprosin immünreaktivitesi	63
Şekil 21:	MI grubunda Asprosin immünreaktivitesi	63
Şekil 22:	MI+NRD grubunda Asprosin immünreaktivitesi.....	64
Şekil 23:	MI+Vitamin D grubunda Asprosin immünreaktivitesi	64
Şekil 24:	Kontrol grubunda METRNL immünreaktivitesi.....	65
Şekil 25:	Nerolidol grubunda METRNL immünreaktivitesi.....	65
Şekil 26:	Vitamin D grubunda METRNL immünreaktivitesi	66
Şekil 27:	MI grubunda METRNL immünreaktivitesi	66
Şekil 28:	MI+NRD grubunda METRNL immünreaktivitesi.....	67
Şekil 29:	MI+Vitamin D grubunda METRNL immünreaktivitesi	67

KISALTMALAR ve SEMBOLLER LİSTESİ

AMI	: Akut miyokard infarktüsü
AV	: Atriyoventriküler
ATP	: Adenozin trifosfat
AST	: Aspartat Aminotransferaz
AMP	: Adenozin monofosfat
AgRP	: Oreksijenik aguti ile ilişkili peptid
AKS	: Akut Koroner Sendrom
CAT	: Katalaz
CK	: Kreatin Kinaz
CPK	: Kreatin fosfokinaz
DOX	: Doksorubisin
D2	: Ergokalsiferol
D3	: Kolekalsiferol
EKG	: Elektrokardiyografi
Enos	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Aktif glutasyon
GSH	: Glutasyon
H-E “	: Hemotoksilen eozin
ISO	: Isoproterenol
İ.p.	: İntraperitoneal
İ.v.	: İntravenöz
IL	: İnterlökin
KAH	: Koroner arter hastalığı
KVH	: Kardiyovasküler hastalıklar
LDH	: Laktat dehidrojenaz
MSC	: Mezenkimal stromal hücreler
METRNL	: Meteorin Like Protein

MDA	: Malondialdehit
MI	: Miyokard İnfarktüsü
MAP	: Mitojen aktivite protein
NRD	: Nelidol
NO	: Nitrik oksit
OSI	: Oksidatif stres indeksi
OR	: Olfaktör reseptör
O2-	: Süperoksit radikali
OH⁻	: Hidroksil radikali
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
RAAS	: Renin-anjiotensin-aldosteron sistemi
ROS	: Oksijen kaynaklı serbest radikaller
RNS	: Nitrojen kaynaklı serbest radikaller
PKA	: Primer kalp alanı
PNL	: Polimorfonükleer lökositler
POMC	: Pro-opiomelanokortin
PTH	: Parathormon
SKA	: Sekonder kalp alanı
SA	: Sinoatriyal açıklık
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SOD	: Süperoksid dismutaz
SPSS	: Statistical Package of Science
TAS	: Total antioksidan seviye
TOS	: Total oksidan seviye
UVB	: Ultraviyole B
VSD	: Ventriküler septal defekt
VCİ	: Vena kava inferiyor
VDR	: Vitamin D Reseptörü
VDRE	: Vitamin D responsive element

1. GİRİŞ

1.1. Kalbin Anatomisi

Kalp; göğüs boşluğunda, mediastinum'un iki yaprağı arasında, göğüs boşluğunun biraz solunda, perikardium denen zarın içinde yer almaktadır. Sternum, vertebral kolon, diafragma ve akciğerler arasında bulunan boşluk olan orta mediastende oblik olarak yerleşmiştir. Kalbin ortalama ağırlığı; kadınlarda 250-300 gram, erkeklerde 300-350 gramdır (1). Kalp, iki atrium ve iki ventrikül olmak üzere 4 odacıktan oluşmaktadır. Üstteki odacıklar atrium alttaki odacıklar da ventrikül olarak adlandırılır. Kalp, atrium ve ventriküller arasında interatrial ve interventriküler septum denen yapılar ile bölünmüştür. İnterventriküler septumun üst 1/3 kısmı membranöz, alt 2/3 kısmı ise musküler yapıdan oluşmaktadır. Sol ventrikül duvarı sağ ventriküle göre basınç farkından dolayı daha kalındır. Sağ ventrikül kanı akciğerlere pompalarken sol ventrikül kanı tüm vücuda pompalar (2). Atriumlar ve ventriküller arasında kapakçıklar bulunur. Sol atrium ve sol ventrikül arasında mitral kapak, sağ atriyum ve sağ ventrikül arasında triküspit kapak bulunmaktadır. Kalbin sol ventrikülünden aort damarı denen vücudun en büyük atardamarı çıkar. Bu damar tüm vücuda oksijenlenmiş temiz kanı taşımakla görevlidir. Vücuttan gelen kirli kan v. Cava Inferior ve v. Cava Superior aracılığıyla sağ atriya gelir. Oradan sağ ventriküle geçen kan pulmoner arter ile akciğere pompalanır. Akciğerlerde temizlenmiş ve oksijenlenmiş kan, sol atriya açılan 4 adet akciğer toplardamarları (pulmoner venler) aracılığıyla sol atriya gelir. Sol atriya gelen oksijenlenmiş kan mitral kapak aracılığıyla sol ventriküle gelir ve sol ventrikülden de aort ile tüm vücuda pompalanır. Kalpte bulunan bu kapaklar kanın bu dolaşımı esnasında, kanın geriye kaçmasını engelleyerek kanın tek yönde akışını sağlamaktadır (1). Kalbin dış yüzünde kalbi saran ve “perikard” adı verilen bir zar bulunur. Perikardın içerisinde kalbin rahat bir şekilde hareket etmesini sağlayan ve sürtünmeyi engelleyici, kayganlaştırıcı perikard sıvısı bulunur. Bu sıvı kalbi dış etkilere korur. Perikard seröz ve fibröz perikard olmak üzere 2 bölüme oluşur. Seröz perikardın iç kısmına visseral perikard dış kısmına ise parietal perikard denir. Visseral perikard aynı zamanda kalp duvarının dışını oluşturduğu için epikard adını da alır. Kalp 3 tabakadan oluşur. Dıştan içe doğru

epikardiyum, miyokardiyum ve endokardiyum olarak adlandırılır. Epikardiyum ince seröz bir membrandır. Bu tabaka kalbin yağlanması önler ve kalbin dış kısmının korunmasını sağlar. Miyokardiyum epikardiyum altında yer alan kalın kalp kasından meydana gelir ve bu tabaka kan, lenf kapilleri ve sinir liflerince zengindir. Miyokardiyum, kalbin kontraksiyonundan ve kanın pompalamasından sorumludur. En iç kısımda bulunan ince fibröz tabaka ise endokardiyum olarak isimlendirilir. Bu tabaka bağ dokusu, düz kas hücreleri ve kalp kası liflerinden oluşur (4).

1.2. Kalbin Embriyolojik Gelişimi

Kalp fonksiyonel olarak embriyoda meydana gelen ilk organdır (5). Kalbin embriyolojik gelişiminin çok yönlü olarak devam etmesi nedeni ile morfolojik alanlar ele alınarak incelenir (6);

1. Primer ve sekonder kalp alanlarının oluşumu
2. Primitif (ilkel) kalp tüpünün oluşumu
3. Kalbin yetişkin formunu alması (kardiyak halkanın oluşumu)
4. Sinüs venosus'un gelişimi ve regresyonu
5. Kardiyak septumların oluşumu
6. Aortikopulmoner septum'un gelişimi/ kardiyak çıkım yolunun gelişimi
7. Kardiyak kapakların oluşumu
8. Kalp damarlarının erken vasküler gelişimi

1.2.1. Primer ve Sekonder Kalp Alanlarının Oluşumu

Üçüncü haftanın sonuna kadar embriyo difüzyonla beslenir. Daha sonra embriyo gelişebilmek için damar sistemine ihtiyaç duyar. Öncü kalp hücreleri gebeliğin 16.gününde primitif çizgi boyunca göç ederken kalbin parçalarını oluşturmak üzere farklılaşırlar. Bu hücreler, primitif çizginin kranial ucunun lateralindeki epiblastta bulunurlar ve lateral plak mezoderminin splanknik tabakasına gelerek at nalına benzer primer kalp alanı (PKA) denen bir hücre kümesi oluştururlar. Bu hücrelerden atriumlar, sağ ventrikülün bir kısmı ve sol ventrikül gelişir. Sağ ventrikülün kalan kısmı ve konus kordis ve trunkus arteriozus sekonder kalp alanından (SKA) gelişir (8).

1.2.2. Kalp Tüpünün Oluşumu

Kalp tüpü kardiyomiyositlerin başlangıç çizgisindeki prekürsör hücrelerden gelişmektedir. Daha sonra bu hücrelerin anterolateral yönde hareket ederek bilateral kardiyojenik alanları oluşturmaktadır. Bu alanların alt tarafında endotelial hücreler farklılaşma geçirerek sağ ve sol endokardiyal tüp oluşumunu sağlar. Kalp tüpü dışarıda miyokardiyal ve içeride endotelial hücre tabakalarını barındırır. Bu iki tabaka arasında ekstraselüler matriks bulunur (5). Gebeliğin 18. Gününde bir çift kardiyak tüpün gelişimi görülmektedir. Daha sonra 22. Günde bu tüplerin birleşmesi ile birlikte pirimitif kardiyak tüp morfolojik yapısı görülür (7). Kardiyojenik alanın gelişimi devam ederken kaudal alanda kalınlaşma, perikardiyal alanda bombeleşme, transvers perikardiyal sinüs oluşumu, proepikardiyal organ oluşumu, epikardiyal tabaka oluşumu ve epikardiyumdan damarların oluşumu gözlenir (9).

1.2.3. Kalp Halkasının Oluşumu

Kalp tüpü sekonder kalp alanından gelen hücrelerin eklenmesiyle uzamasına devam eder. Sağ ventrikülün ve akım çıkış kanalının normal bir şekilde gelişmesi için tüpün uzaması önemli bir aşamadır. Hala uzamasına devam eden kalp bükülmeye 23. günde başlar. Tüpün sefalik kısmı kaudale, ventrale ve sağa doğru bükülürken kaudal kısmı dorsokraniale ve sola doğru yer değiştirir. Bükülme süreci 28. günde tamamlanır ve kardiyak halka olarak isimlendirilen bir yapı ortaya çıkar (9).

1.2.4. Sinüs Venozusun Gelişimi

Sinüs venozus primitif atriumun dorsal duvarının ortasına açılır. Başlangıçta sinüs venozusun sağ ve sol boynuzu eşit büyüklüktedir. Dördüncü haftanın sonlarına gelindiğinde, sağ boynuz soldan daha geniştir, sol boynuz küçülür ve koroner sinüs adını alır. Sinoatriyal (SA) açıklık sağa doğru kayar ve primordiyal atriyumuna açılır. Sağ sinüs; baş ve boyundan gelen kanı VCS ile alır, plasenta ve gövdenin kaudal bölgesinden gelen kanı ise VCI ile alır. Sağ atrium duvarının düz parçasına sinüs venozustan kaynaklandığı için sinüs venarum denir. Primitif

atriyumdan orjin alan sağ atrium kısmı ise ventrale doğru itilir ve aurikulayı oluşturur. Sağ aurikulanın sağ atriumun iç yüzeyinin kalan kısmının girintili çıkıntılı trabeküllü bir görünümü vardır. Krista terminalis, sağ atriumun trabeküler bölümü ile sağ sinüs boynuzundan orjin alan, sinüs venarumu birbirinden ayıran çizgiyi oluşturur. Krista terminalis, sağ sinoatriyal kapağın kraniyal kısmıdır, sol atrium duvarıyla birleşerek 4 pulmoner veni oluşturur (8).

1.2.5. Kardiyak Septumların Oluşumu

Atrioventriküler Kanalin Bölünmesi: Atrioventriküler kanalın bölmelenmesi ve dolayısıyla primordiyal atrium, primordiyal ventrikül ve çıkış yolu oluşumu dördüncü haftanın ortalarında başlamakta ve sekizinci haftanın sonunda tamamlanmaktadır. Endokardiyal yastıklar, atrioventriküler (AV) kanalın dorsal ve ventral duvarında dördüncü haftanın bitmesine yakın oluşmaktadır. Beşinci haftada bu doku kütesine mezenkimal hücrelerin göç etmesiyle ve AV endokardiyal yastıkların birleşmeleriyle AV kanal sağ ve sol iki kanala ayrılır. Böylece primordiyal atrium kısmen primordiyal ventrikülden ayrılmış olur. Endokardiyal yastıklar AV kapaklar gibi işlev görürler. Septal kapaklar ise süperior ve inferior endokardiyal yastıkların kaynaşmasıyla oluşur (8).

Primordiyal Atriumun Bölünmesi: Primordiyal atrium dördüncü haftanın bitiminden başlayarak çeşitli modifikasyonlar geçirerek sağ atrium ve sol atrium olarak bölünür. Septum primum ince bir membrandır ve primordiyal atriumun tavanından gelen endokardiyal yastıkçıklarla birleşerek kısmi olarak atriyumu sağ ve sol yarım olarak ayırmaktadır. Daha sonra foramen primum(ostiyum primum) denen büyük bir açıklık oluşur. Bu açıklık oksijenli kanın sağ atriumdan sol atriyuma akışını sağlar. Daha sonra ise foramen primum küçülerek kaybolur çünkü septum primum kısmen birleştiği endokardiyal yastıkçıklarla birleşmesini tamamlar ve böylece bu açıklık tamamen kapanır, primordiyal AV septum oluşmuş olur (8).

Septum primumun posterior bölgesi açılarak ostiyum sekundum oluşur. Böylece fetal venöz dönüş önce sağ atriuma oradan da sol atriuma geçer. Septum primum üzerine flap çevrilir ve foramen ovale oluşur. Bunun sonucu olarak vena

kava inferior akımının foramen ovale yoluyla sol ventriküle doğru yönlendirilmesi sağlanmış olur (7). Doğumdan önce foramen ovale açıkken doğumdan yaklaşık 3 ay sonra foramen ovale fonksiyonel olarak kapanır. Çünkü foramen ovale doğumdan önce sağ atriuma gelen kanın büyük bir kısmının sol atriuma geçişine olanak sağlar ve kanın ters yönde akımını engeller. Doğumdan sonra ise sol atriumun basıncı sağa göre yüksek olduğundan fonksiyonel olarak foramen ovale kapanarak fossa ovalis adını alır (8).

Primordiyal Ventrikülün Bölmelenmesi: Primordial ventrikül öncelikle musküler bir çıkıntı yani interventriküler (İV) septum ile iki ventriküle bölünmeye başlar. Bu çıkıntı ventrikül tabanında yer alır. İV septumun musküler kısmının oluşumuna sağ ve sol primordiyal ventriküllerin miyositleri katılır. Başlangıçta İV septum'un her iki yanındaki ventriküllerin genişlemesiyle İV septum'un yüksekliği artar. Daha sonra ise miyofibroblastların aktif proliferasyon göstermesiyle septumun boyutu artar. Yedinci haftaya kadar interventriküler foramen vardır. Bu foramen sağ ve sol ventriküller arası geçişe izin verir ve yedinci haftanın sonunda kapanır. Hem İV foramenin kapanması hem de İV septumun membranöz kısmının oluşumu üç kaynaktan köken alan dokunun birleşmesiyle oluşur. Bu üç doku; sağ ve sol bulbar çıkıntı ve endokardiyal yastıktır. İV foramenin kapanması ve interventriküler septumun membranöz kısmının oluşumundan sonra truncus pulmonalis ve sağ ventrikül sol ventrikül aracılığıyla aorta ile bağlantı kurar. Ventrikül duvarlarındaki boşluklar trabeculae carneae denen süngerimsi kas demetlerini oluşturur. Bu demetlerin bir kısmı, papiller kaslar ve korda tendinea olur. Korda tendinealar papiller kas yapılarından atrioventriküler kapaklara uzanırlar (8).

Ventrikül bölünmesi yaklaşık 25. günde endokardiyumun primitif ventrikül ve bulbus kordise doğru tomurcuklanması ile oluşur. Ventriküler septal defekt (VSD), gelişmekte olan interventriküler septumun herhangi bir bölgesinde oluşabilir. Konotrunkal septum çıkış bölgesi atrioventriküler yastıklarındakine benzer şekilde kardiyak jelden oluşmuştur. Kardiyak jel füzyona uğrayarak spiral septum oluşur. Bu sayede ileride pulmoner arter ön taraftan sağ ventriküle, aorta ise sol ve arkadan sol ventriküle bağlanır. Bu gelişim sırasındaki bozukluklardan dolayı

konotrunkal ve aort arkı anomalileri (trunkus arteriyozus, fallot tetralojisi, pulmoner atrezi, çift çıkışlı sağ ventrikül ve kesintili arkus aorta) oluşur (7).

Truncus Arteriosus ve Bulbus Kordis' in Bölmelenmesi: 5.haftada bulbus kordis'in duvarındaki mezenkim hücrelerinin proliferasyonu ile bulbar çıkıntı oluşur. Bulbar çıkıntılar ile devam eden truncus arteriosus'da da benzer çıkıntılar oluşur. Trunkal ve bulbar çıkıntılar nöral krest mezenkiminden farklılaşırlar (8).

Trunkal ve bulbar çıkıntılarının spiral şekilde düzenlenimi ventriküllerin kan akımı nedeniyle oluşur. Bu çıkıntılar birleşince aortikopulmoner septum oluşur. Bu septum truncus arteriosus ve bulbus kordisi aorta asendes ve trunkus pulmonalis olarak iki arteriyel kanala böler. Truncus pulmonalis, aorta asendes'in etrafında dönüş yapar. Bulbus kordis ise gerçek ventriküllerin duvarlarıyla birleşir. Sağ ventrikülde bulbus kordis, truncus pulmonalis'in çıkan kısmını yapar. Sol ventrikülde bulbus kordis aort kapağının aşağısındaki ventriküler boşluğun bir kısmı olan aortik vestibülün duvarını yapar (8).

1.2.6. Aortikopulmoner Septum'un Gelişimi/Kardiyak Çıkım Yolunun Gelişimi

4. haftanın başlarında sol atriyumda primitif atriyumun dorsal duvarından dışa doğru büyümesi ile pulmoner ven gelişimi başlamış olur. Sağ ve sol dallara ayrılan pulmoner ven tekrar dallanır ve 4 tane pulmoner ven oluşur. 5.hafta boyunca sol atriyum duvarı primordiyal pulmoner venle birleştiğinden dolayı büyük bir kısmı düzdür. Primitif atriyumdan kaynaklanan trabeküllü kısım da sola ve ventrale yerleşerek sol aurikulayı oluşturur. Primordiyal pulmoner ven, septum primum'un hemen sol tarafında sol atriumun duvarının dışa doğru genişlemesi ile gelişir. Atrium genişledikçe primordial pulmoner ven ve ana dalları; bu kapağın kaudal kısmı, VCİ ve sinüs koronarius'un kapaklarını yapar (8).

Embriyoda kalbin vasküler sistemi üç bölümden meydana gelir. Dördüncü haftada intertrabeküler boşluktan ilk bölüm gelişir. Altıncı haftada orta kardiyak venden sinüs venosus oluşur. Bulbus kordisin tomurcuklanmasıyla koroner arterler meydana gelir. Sağ koroner arterdeki tomurcuklanma pulmoner konus, sağ

ventrikül ve sağ apendiks arasındaki sulkusa doğru uzanır. Bu seyir boyunca sağ ve sol ventriküle musküler dallarını verir. Sol koroner arter ise aortadan tomurcuklanır. İnterventiküler sulkusa geniş dallar verir. Sol atrioventriküler sulkusa sirkumfleks arteri verir. Ana koroner arterlerden çıkan dallar miyokarda penetre olarak intertrabeküler boşlukta anastomozlar yaparlar (7).

1.2.7. Kardiyak kapakların oluşumu

Truncus arteriosus'un bölmelenmesi tamamladığında truncus pulmonaris ve aorta açıklıklarının çevresindeki subendokardiyal dokudaki üç şişkinlikten semilunar kapaklar gelişir. Sonra bu şişkinlikler çukurlaşır ve ince duvarlı üç adet kapak yaparlar. Atrioventriküler kapaklar (mitral ve triküspit kapaklar) AV kanallarının çevresindeki dokunun çoğalmasından gelişir (8).

1.2.8. Kalp damarlarının erken vasküler gelişimi

Embriyoda erken dönemlerde ana damarlar aortadan köken alarak büyümekte, somitler arasında dorsal olarak büyüyerek intersomitik damarları oluşturmakta, bu ise daha sonra lateral olarak kaudal ve kranial bölgelere dallanmakta ve dorsolateral anastomozlaşan damarları oluşturmaktadır. Bu safhada intersomitik damarlar aortaya bağlıdırlar ve aortadan köken almaktadırlar. Takip eden safhalar boyunca kardinal venden köken alan sekonder tomurcuklar paralel olarak büyürler ve intersegmenter somitik arterlere yakın olarak seyrederek. Nadir olarak bu sekonder tomurcuklar intersomatik arterler ile birleşirler ve aorta ile bağının kopmasına neden olarak intersegmental damarın toplardamara dönüşmesine sebep olurlar. Sonuç olarak intersomatik arterdeki akım yönü tersine döner (10).

1.3. Kalbin Histolojik Yapısı

Kalp boşluklarının bütün duvarları içte endokardium ortada miyokardium ve dışta epikardiumdan oluşur.

1.3.1. Endokardiyum

Atriyum ve ventriküler alanı döşeyen epitelyal hücrelere endokardiyum adı verilmektedir. Endokardiyum, tek katlı yassı epitel hücrelerinden meydana gelmektedir. Endokardiyum tabakası üç farklılaşmış alan halinde incelenir. Daha iç alanda yer alan iç tabakada endotel ve subendotel bağ dokusu yer almaktadır. Orta tabaka düz kas hücreleri ve bağ dokusundan meydana gelir. Bu iki tabakanın dışında görülen diğer bir tabaka da subendokardiyal tabakadır. Buradaki doku bağ dokusu hücrelerinden meydana gelmektedir (11). Endotel hücreleri epitel hücrelerinden özelleşen hücrelerdir. Kardiyovasküler sistem içerisinde endotel hücreleri, hemostazinin sağlanması açısından çok büyük önem taşımaktadır. Endotel hücrelerinin bu fonksiyonu gerçekleştirirken vazoaaktif maddeler salgıladıkları bilinmektedir. Kardiyovasküler sistem açısından endotel hücrelerinin bir diğer önemimin ise mezenkimal hücrelere dönüşebilme yetenekleri olduğu gösterilmiştir. Embriyonal gelişim sürecinde septa ve valfin değişime uğrayan bu hücrelerden meydana geldiği belirlenmiştir. Gelişim sürecinde endokardiyal dokunun öncelikle anterioventriküler kanal ve çıkış kanallarının meydana geldiği görülür. Bu kanallar iç endotel tabakası ve dış miyokardiyal tabakadan meydana gelirler. Bu iki tabaka kardiyak ekstraselüler matriks ile birbirinden ayrılır. Bu sıvı içerisinde yerleşen endotel hücreleri mezenkimal hücrelere farklılaşır. Mezenkimal hücreler vasküler sistemin gelişmesinden sorumlu hücre tabakası olarak bilinir. Mezenkimal hücreler perisit ve vasküler düz kaslara dönüşürler (12).

Günümüzde birçok kardiyovasküler ve konjenital kardiyovasküler hastalığın endokardiyal tabakanın embriyonik gelişimi ve mezenkimal hücrelere farklılaşma süreci ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (12). Ayrıca endotel tabakasının kapladığı alan, uzunluğu, kalınlığı ve en/boy oranları da yapay greft uygulamaları için çok büyük önem taşımaktadır (13).

1.3.2. Miyokardiyum

Miyokardiyal hücreler at nalı şeklindeki alandaki mezodermal hücrelerden farklılaşmaktadırlar. Bunun için birçok düzenleyici faktör devreye girmektedir. İn-vitro çalışmalar bu hücrelerin miyositlere farklılaşma potansiyelinin gözlenenden

çok daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (14). Mezenkimal hücrelerin migrasyon esnasında yalnızca yer değiştirme işlemini değil bununla birlikte yapısal ve pozisyonel değişikliklere uğradığı bilinmektedir. Bu değişimler protrusyonların incelenmesi sonucunda tanımlanmıştır. Bu noktada bahsedilen protrusyon aktin filamenter yapısının bu yapıları karakterize ettiği görülmektedir. Bu yapısal çıkıntılar aktif ve inaktif tabakaları belirler. Mikrotübüler yapıların aktin filamentleri üzerindeki aktivitelerinin iskelet yapısında yön belirleyici olduğu belirlenmiştir. Bu iki yapı ile birlikte intermediate filamentler arasında gerçekleşen etkileşim yapılaşmanın nasıl gerçekleşeceğinin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır (15).

Kalp tüpü miyositlerin gözlemlendiği ilk anatomik yapı olarak belirlenmiştir. Buradaki hücreler iki sıra halinde sıralanmış olan ince bir örtü niteliğindedir. Miyositlerin mikro-yapısı incelendiğinde bu hücreler aktin ve fibronektin özellik göstermektedir. Bu yapıların konstrüksüyondaki etkileri embriyolojik dönemde ve olgun formda farklılıklar göstermektedir. Trabekülasyon sürecinde ilk farklılaşmanın miyokardiyal tabakada gerçekleştiği görülmektedir. Bu gelişme ratlarda 11 gün, farelerde 10 gün ve insanlarda ise gestasyon döneminin ilk ayının sonunda gerçekleşmektedir. Bu aşamada öncelikli olarak yüzey/hacim oranının arttığı görülmektedir. Bu oranın artması ile birlikte miyokardiyal kütleyi dolaşımın başlamasından önce hacimsel olarak artmaya yönelik hareket eder (14). Sağ ventrikülün yapısal özelliklerinin sol ventrikülün özelliklerinden farklı olduğu kanıtlanmıştır. Sol ventrikülün tabanına doğru birçok yönde yerleşim gösteren kalın bir miyosit hücre tabakası olduğunu görmek mümkündür. Farklılaşmış üç tabakadan oluşan bu yapı subepikardiyum, orta duvar yapısı ve subendokardiyum tabakalarını barındırmaktadır. Bu tabakaların her birinin farklı fonksiyonel özellikleri bulunmaktadır ve patolojik durumlarda kalınlıklarının değişebildiği kanıtlanmıştır. Sağ ventrikül ise daha ince olan trabeküler yapıya sahiptir. Sağ ventrikül subepikardiyum ve subendokardiyum olmak üzere iki tabakayı içermektedir. Ancak patolojik durumlarda sağ ventrikülde orta tabakanın belirlemeye başladığı durumlar olduğu kanıtlanmıştır. Sağ ventrikülün etrafından dolanmaktadır. Bu nedenle sağ ventrikülde meydana gelen herhangi patolojik bir durumun sol ventrikülün işlevsel açıdan zarar görmesine neden olabileceği bildirilmiştir (16).

Ventriküllerdeki bu gelişim ile kıyaslandığında atriumlardaki gelişimin daha az ilgi çekici olduğunu ifade etmek mümkündür. Bu kanallardaki gelişim bölümlenmenin başlangıcından sonra gerçekleşmeye başlar (14).

Bu dönemde pektinat kaslarının gözlenmeye başladığı bilinmektedir. Burada sinoatriyal düğümünden sol atriyuma sinyal yolağının aktifleştiği görülmektedir. Yolağın ilgili olduğu morfolojik yapılardan biri pektinat kaslardır. İlerleyen dönemde bu kasların terminal krest ile atrioventriküler sulkus arasında sinyal ilettiği gözlenmektedir. Böylece pektinat kaslarının atriumlardaki direnci arttırmakla kalmayıp fizyolojik rol de üstlendiği belirlenmiştir (14).

Miyokardiyal kompaksiyon(yoğunlaşma) aşamasında belirgin değişimler görmek mümkündür. Bu dönemdeki ilk kalınlaşma proliferasyon süreci ile gerçekleşmektedir. Kompaksiyonun daha çok sol ventriküler yapı ile ilişkilendirildiği ve bununla birlikte postnatal gelişim ve sistolik basıç artışı ile son halini aldığı daha önce yapılan çalışmalarda ifade edilmiştir. Nonkompaksiyon(yoğunlaşmamış) ise çok daha hızlı ortaya çıkmaktadır ve birçok hastalıkla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Nonkompaksiyon insanlarda çok daha lokal olarak gözlenebilmektedir. Kompaksiyon durumu aslında temel olarak epikardiyal gelişim sürecini de etkilemektedir (14).

Miyokardiyumun ekstraselüler yapısı interstisyel tabakadır. İnterstisyel tabaka endomisyum (fibro-kollajen yapıda) içermektedir. Endomisyum, akımın yönlendirilmesi için gerekli olan sinyallerin aktarılması, kuvvet etkisini aktarılması ve desteklemek gibi hayati fonksiyonları sağlamakla görevlidir. Bu alandaki bağ dokusunun oranı ve yapısı çok büyük önem taşımaktadır. Bağ dokusu özelliklerindeki değişim miyokardiyal esneklik ve uyum derecesini direkt olarak etkilemektedir. Bu durum sol ve sağ ventrikülde yapısal bozulma ve uzun dönemde sistemik olarak etki gösterebilmektedir (16).

1.3.3. Epikardiyum

Epikardiyum kalbin 4 odacıklı gelişimi ve kalbin atması için ihtiyaç duyulan bir dokudur. Gelişim sürecinde epikardiyum dokusundaki patolojik durumların

'Ebstein Anomalisi' ve 'Wolff-Parkinson-White Sendromu' gibi konjenital hastalıklara neden olduğu kanıtlanmıştır (17).

Epikardiyumun gelişimi Sinüs venosus' un perikardiyal aktiviteye dahil olması sonucunda gerçekleşmektedir. Epikardiyumdan orjinlenen hücreler kalbe doğru hareket ederek koroner arterlerin oluşumuna katılır. Epikardiyum posteriyor kardiyak alanın splanknoplöral mezoderm hücrelerinden köken almaktadır. Bu hücreler başlangıçta villus yapısı içermektedir. Bu yapıya proepikardiyal seroza, proepikardiyum ve ya proepikardiyal organ adı verilmektedir. Epikardiyumdan köken alan hücrelerin özelliklerinden biri multipotent olmalarıdır. Bu özellik ile epikardiyumdan köken alan hücrelerin damarların düz kas yapısını, fibroblast hücrelerini ve fibröz iskelet yapısını meydana getirebildikleri belirlenmiştir. Bu özellikleri ile birlikte embriyolojik süreçte rol almış olduğu süreçler; bölünme, koroner gelişim, valf gelişimi, purkinje liflerinin farklılaşması, miyokardiyum yapısının gelişmesi ve korunması olarak sıralanabilmektedir. Embriyolojik dönemde epikardiyum kökenli fibröz yapının sorumlu olduğu fonksiyonun kollajen XII üretimi olduğu ve bu yapının kollajen I ile birlikte kompakt miyokardiyum gelişimi tamamlanana kadar fonksiyonel olduğu ortaya konulmuştur. Daha sonra proepikardiyal hücreler miyokardiyuma doğru migrasyon gerçekleştirerek bu tabakayı çevreleyerek epikardiyumu meydana getirmektedir. Miyokardiyum ve subendokardiyum alanına göç eden bu hücreler, subepikardiyal mezenkimal hücre tabakasının gelişimini sağlarlar. Miyokardiyuma tutunduktan sonra proepikardiyal hücrelerin bütün kalbi kaplayana kadar lateral yönde hareket ettiği görülmektedir. Bu fonksiyonunu tamamladıktan sonra hücrelerin radyal yöne doğru harekete geçtikleri ve atriyoventriküler oluşuma katıldıkları görülmektedir. Arteriyal uçta görülen epikardiyum hücrelerin kökeni mezenkimal hücre tabakası olması dolayısı ile farklılık göstermektedir (17, 18). Perikardiyum lokal visseral depo olarak epikardiyal adipoz doku içermektedir. Özellikle koroner arter yapısında bu yağ tabakasına sıklıkla rastlamak mümkündür. Perikardiyal adipoz doku proinflamatuvar mediyatörlerin salınımının gerçekleştiği alan olarak bilinmektedir. Bu nedenle dejeneratif süreçte önemli bir yeri vardır. Kardiyovasküler sistemin durumundaki farklılaşma adipoz dokuda volüm artışına sebep olabilmektedir (19).

1.3.4. İnterventriküler Septum

Sağ ventrikül ve sol ventrikül arasında bulunan duvardır. Membranöz kısmı hariç tamamı kalp kası içerir. İnterventriküler septumun bütün yüzeylerini endokardiyum döşemektedir. İki atrium arasında bulunan interatriyal septum, interventriküler septumdan daha incedir. Fibröz doku içeren bazı lokalize yerler dışında kalp kasından meydana gelen bir merkezi tabakası ve her bir boşluğa bakan endokardiyum örtüsü bulunmaktadır (20).

1.4. Kalbin Uyarı ve İletici Sistemi

Kalp, kendi bünyesinde yer alan özel bir sinyal üreten ve ileten sistemin etkisiyle ritmik bir şekilde kasılmaktadır. Kalbin özel uyarı sistemi; sinoatriyal düğüm, atriyoventriküler (AV) düğüm ve AV demetinden (His demeti) oluşmaktadır. Sinoatriyal düğüm, vena cava superior ile sağ atriumun birleşme yerine yakın yer alır, özelleşmiş kalp kası hücre grubundan oluşur. Bu alanda oluşan impluslar atrium kasları ve modifiye kalp kası lifleri olan internodal traktus boyunca yayılarak atriyoventriküler düğüme ulaşırlar. Bu demet sağ ve sol iki dala ayrıldıktan sonra endokardiyumda purkinje adı verilen liflere dönüşür (20).

Sinoatriyal düğüm ve AV düğümün hücreleri atriyal kalp kası hücrelerine göre daha küçük çaplı kas hücreleridir. Bu hücrelerde miyofibril azdır ve hücreler arasında genellikle tipik diskus yapısı görülmez. Atriyoventriküler demetin hücreleri de aslında değişime uğramış kalp kası hücreleridir. Kalbin subendokardiyal tabakasında bulunan purkinje lifleri ise kalp kası hücrelerine göre daha bol sitoplazmalı ve daha geniş çaplıdırlar (20).

1.4.1. Kalp Kapakları

Kalp kapakçıkları atriyum ve ventriküller arasında ve ventriküller ile pulmoner arter ve aort arasında yerleşmiş olarak iki farklı noktada yer alırlar. Kalp kapaklarının yapısında, tutunmuş oldukları fibröz yapılar bulunmaktadır. Bu yapının yanısıra histolojik açıdan kapaklar 3 tabakadan meydana gelmektedir. Bu tabakalar gevşek bağ dokusundan oluşan 'spongiyoza', kapağın medial yapısını

meydana getiren 'fibroza' ve endotel hücrelerden meydana gelen 'ventrikularis' lerdir (20).

1.4.2. Arterler

Arterlerin sınıflaması çaplarına, duvarlarında bulunan histolojik yapılarına göre ve yapılarında bulunan düz kas ve elastik lif oranı dikkate alınarak yapılır. Bu sınıflandırmaya göre arterler; elastik, musküler, küçük çaplı arterler ve arteriyoller olarak 4'e ayrılırlar (20).

1.4.2.1. Elastik Arterler

Tunika medya tabakasında yoğun olarak bulunan elastik liflerden oluşan bu arterin çapı 10 mm'den fazladır. Aort ve pulmoner arterler örnek verilebilir. Temel olarak iletici tüp olarak fonksiyon görürler. Sistol sırasında ventriküllerin kasılmasıyla kan elastik arterlere ve arter sistemine iletilir. Elastik arterler tunika intima, media ve adventisya olarak 3 tabakadan oluşur. Tunika intima; endotel ve subendotel tabakalarından oluşur. Endotel hücrelerinin sitoplazmalarında Weibel-Palade cisimcikleri olarak adlandırılan inklüzyonlar bulunur. Subendotel tabaka, endotel bazal laminanın altında yer alan gevşek bağ dokusudur. Bu tabaka kollajen lif, elastik fiberler, düz kas hücreleri fibroblast ve makrofajları içerir. Bu tabakanın temel hücresi düz kas hücreleridir. Tunika media, elastik arterlerin en kalın tabakasıdır. Elastin, düz kas hücreleri, kollajen fiberler ve ara maddeden (proteoglikanlardan) oluşur. İntima ile media tabakaları arasında membrana elastika interna bulunur. Tunika adventisya, media tabakasına göre incedir. Yapısında kollajen fiberler, elastik fiberler, fibroblastlar, makrofajlar bulunur. Ayrıca damar duvarını besleyen vazo vazorumlar (kan damarları) bulunur (21, 11). Media ve adventisya arasında ise membrana elastika externa bulunur (20).

1.4.2.2. Musküler Arterler

Musküler arterler kanı organlara dağıtırlar ve media tabakasındaki düz kasları kasarak ve ya gevşeterek kan basıncının ayarlanmasına yardımcı olurlar. İntima tabakası belirgin bir elastik lamina ve ince bir subendotel tabakadan oluşur. Media tabakası değişken sayıda elastik lameller arasına serpiştirilmiş düz kas

hücrelerinden oluşur. External elastik lamina sadece daha büyük musküler arterlerde bulunur. Adventisyial bağ dokusu; lenfatik kapilleri, vaso vasorumları, kılcal damarları ve sinirleri içerir (23).

1.4.2.3. Küçük Çaplı Arterler ve Arteriyoller

Bu arterler birbirlerinden tunika mediyalarında bulunan düz kas hücre tabaka sayısı ile ayırt edilirler. Her iki damarda da oluklu bağlantıları ve adventisyanın ince, sınırlarının belirsiz olması ortak özellikleridir. Arteriyollerin fonksiyonu kapillere giden kan akımını ayarlamaktır. Bu fonksiyonun yerine getirilmesinde prekapiller sfinkterler görev alır (20).

1.4.2.4. Kapiller Damarlar

Kapillerlerin çapları 4-10 mikrometre arasında değişir. Endotel ile döşelidirler ve arteriyel ve venöz dolaşım sistemlerini birbirlerine bağlarlar. Kesintisiz, pencereci ve sinüzoid olmak üzere 3 tipi vardır. Sadece tunika intima tabakasına sahiptirler. Sitoplazmalarında çok miktarda pinositoz vezikülü bulunur. Bağ dokularında perisitler denen fibroblastlara benzeyen yassı hücreler yer alır (20). Perisitler endotel hücrelerinin etrafında bulunup onları çevrelerler (20, 25). Bu hücreler pek çok hücreye dönüşebilen yedek hücrelerdir (20). Ayrıca bu hücrelerin kasılma özellikleri de vardır (8).

1.4.3. Venler

Venler çaplarına göre 3 grupta incelenirler. Bunlar geniş venler (>10mm), orta çaplı venler (1-10 mm) ve küçük çaplı venler (0,1-1 mm) veya venüllerdir. Geniş venlerde, subendotel tabakası kas hücrelerini içeren gevşek bağ dokusundan oluşur, tunika mediya sirküler seyirli düz kas hücreleri, sayıca az fibroblast ve kollajen lifler bulunduran ince bir yapıdadır ve adventisyası kalındır. Orta çaplı venlerde damar yapısı tam olarak gözlenir. Tunika intimaları endotel, bazal lamina ve düz kas hücresi içeren çok ince bir subendotel tabakasından oluşur. Tunika mediyaları birbirinden kollajen ve elastik liflerle ayrılmış, sirküler seyirli düz kas lifleri içerir. Tunika adventisyalı kalındır, elastik liflerden ve longitudinal seyirli kollajen liflerden oluşur. Küçük çaplı venlerin tunika intimaları endotel ve ince bir

bağ dokusundan oluşur. 2-3 sıralı kas tabasından oluşan tunika mediyaya sahiptirler. Tunika adventisyalı elastik lifleri de içeren bağ dokusu tabakasıdır (26).

Bunun yanı sıra venüllerin postkapiller ve musküler olmak üzere 2 farklı profile sahip olduğu görülür. Lenf düğümlerindeki post kapiller venüllere ise yüksek endotelli venül adı verilir. Postkapiller venüllerin fonksiyonu inflamasyon ve allerjik reaksiyonlarda histamin ve serotonin gibi ajanlarla endotele etki etmektir. Yapılarında bazal lamina, endotel örtüsü ve perisitler bulunur. Endotel ve perisitler birbirinin hayatta kalmasını ve proliferasyonunu destekler. Perisit oranı postkapiller venüllerde kapillere göre daha fazladır. Musküler venüllerde karakteristik olarak tunika media bulunmasına rağmen genellikle perisit bu venüllerde bulunmaz. Postkapiller venüllerin distaline yerleşen bu venüllerin tunika adventisyalı incedir (11).

1.4.4. Lenf Damarları

Lenf damarları fizyolojik olarak lenf sıvısının kan dolaşımına taşınmasından sorumludur. Bu fonksiyonu bazal laminanın yapısal olarak kesintili olması ile gerçekleştirirler. Böylece proteinden zengin sıvılar toplanabilmektedir. Lenf damarlarının duvarında düz kas hücreleri ve kollajen lifler bulunur. Lenf tek yönlü akım gösterir ve büyük lenf damarları büyük venlere açılır (20). Lenf subklavian ve interjuguler venlerin birleştiği yerde damar sistemine girmektedir. Vücudun büyük kısmını drene eden sol taraftaki venlere boşalan en büyük lenf damarı duktus torasikustur. Diğer ana kanal ise sağ lenfatik turunkustur (27).

1.5. Akut Miyokard İnfarktüsü

1.5.1. Tanım

Ateroskleroz nedeni ile daralmış koroner arterlerin trombotik tıkanması sonucu koroner kan akımının ani kesilmesine bağlı olarak oluşan geri dönüşümsüz miyokard hasarı ve nekrozuna akut miyokard infarktüsü (AMI) denir (26).

1.5.2. Epidemiyoloji

Kalp ve damar hastalıkları, günümüzde, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önde gelen mortalite ve morbidite nedenlerindendir (24, 28). Akut miyokard infarktüsü (AMİ) geçirmiş bir hastanın mortalite ve morbiditesi genel popülasyona göre 1,5-15 kat yüksektir (29). Kardiyovasküler hastalıklar (KVH' lar) küresel olarak önde gelen ölüm nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü 2019 verilerine göre dünya genelinde toplam ölümlerin %32' sinden KVH' ların sorumlu olduğu bildirilmiştir. Bu oran yaklaşık olarak 18 milyon insanın KVH kaynaklı olarak hayatını kaybettiğini göstermektedir. Erken yaşta ölümlerden ise KVH' ların çok daha fazla (%38) sorumlu olduğu bildirilmiştir. Bu ölüm oranlarının %75' i düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelmektedir. Ülkemizde ise 2016 verilerine göre 3.4 milyon yetişkinin KVH' tan muzdarip olduğu belirlenmiştir ve 2035 yılına kadar bu rakamın 5.8 milyona yükselebileceği tahmin edilmektedir (32).

1.5.3. Tanı

Geçmişte, miyokard infarktüsü için genel bir fikir birliği vardı. Hastalık prevalansı çalışmalarında, Dünya Sağlık Örgütü semptomlardan, EKG anormalliklerinden ve enzimlerden miyokard enfarktüsünü tanımladı. Bunun yanında daha hassas ve spesifik serolojik biyobelirteçlerin ve görüntüleme tekniklerinin geliştirilmesi, giderek daha küçük miktarlarda miyokard nekrozlarının belirlenmesine olanak tanıdı (33). Bugün akut miyokard infarktüsünün teşhisi klinik tanı, elektrokardiyografi (EKG) deki değişiklikler ve miyokard nekrozunun biyokimyasal belirteçlerinin yükselmesine bakılarak yapılmaktadır (34).

1.5.4. Akut Miyokard İnfarktüs' ünün Etiyopatolojisinde Rol Alan İnflamatuar Süreçler

Akut miyokard infarktüsü akut inflammatuar bir cevapla başlar. Bu inflammatuar cevabın artması kötü bir sol ventrikül iyileşmesine ve kalp yetmezliğine sebep olmaktadır. AMİ'li hastalarda miyokardiyumdaki inflmasyona artmış sistemik inflammatuar cevabın eşlik ettiği rapor edilmiştir. Sistemik inflamasyonu; dolaşımdaki inflammatuar sitokinler, hücre adezyon molekülleri, kemokinler, immün

hücreler ve kompleman sistemi oluşturur. Bu artmış sistemik inflamasyon tekrarlayan kalp krizleri ile AMI'li hastalarda kalp yetmezliği ve ölümle sonuçlanabilir (35).

AMI da akut miyokardiyal nekroz ve hasarla ilişkili moleküler matriks (damaged associated molecular patterns; DAMP) olarak bilinen alarm sinyalleri salınır. DAMP'lar kompleman kaskadını aktive ederek TLR\IL-1 sinyallerini indüklerler. Sonra nükleer faktör kappa hafif zincir artırıcı aktif B hücreleri (nükleer factor kappa light chain enhancer of activated B cell; NFkB)'nin aktivasyonu ve kemokin, sitokin, adezyon moleküllerinin sentezi indüklenir. Miyokardiyal infarktli bölgeye nötrofiller başta olmak üzere mononükleer hücreler damar dışına çıkarak bu bölgede birikirler. AMI'yı takip eden inflamatuvar yanıtın amacı hasarlı bölgeyi iyileştirmektir ama bu yanıt aşırı olursa kalp yetmezliği ile sonuçlanır (36).

TLR (Toll -Like Receptor)'ler hereditör olarak gelen bağışıklık sistemini tanıma reseptörleridir. Bu aileden olan TLR4 (Toll-Like Receptor 4), infarktüs meydana gelen kalpte inflamatuvar yanıtta anahtar bir reseptör olarak görev yapar. MI da oluşturulan sinyaller TLR'leri etkinleştirirken aynı zamanda reaktif oksijen türlerinin üretilmesi, kompleman aktivasyonu ve sitokin ve kemokinlerin artmasını indüklerler (37). TLR4 reseptöründeki delesyonun IL1 β , IL-6 ve TNF- α serum seviyelerinde azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Bu sebeple, AMI'de lokal ve inflamatuvar cevapta rol alan önemli bir moleküldür (38).

IL-1 β , MI' da inflamatuvar cevapta erken ve önemli bir aracıdır (39). TNF, MI da infarktüsli miyokardda kemokinleri ve adezyon moleküllerini uyararak infarktüs hasarını tetikler. Ek olarak kardiyomiyositleri apoptozdan koruyabilmektedir (40). TNF-1 ve TNF-2 reseptörleri ile infarktüsli kalbin yeniden şekillenmesi düzenlenebilmektedir (41).

İlk kez 1926' da Zinsser ve Tamiya tarafından sitokinler tanımlanmış ve lökositlerden salgılanarak damar duvarı fonksiyonlarını etkiledikleri bildirilmiştir (42). Glikoprotein yapıda olan sitokinler; inflamasyon, hücre iyileşmesi, hücre büyümesi ve sistemik yanıtta fonksiyon gösteren kimyasal moleküllerdir (43). Sitokinler aldıkları kökene göre farklı isimler alırlar. Lenfosit kökenliler

lenfokinler, monosit ve makrofaj kökenliler monokinler ve lökosit kökenliler interlökin olarak isimlendirilirler.

Sitokinler inflamasyondaki fonksiyonlarına göre proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Proinflamatuvar sitokinler, sitokinlerin sentezini ve fonksiyonlarını arttırmak; antiinflamatuvar sitokinler ise sitokinlerin fonksiyonlarını azaltırlar. Proinflamatuvar sitokinlerin interlökin (IL) IL-4, IL-6, IL-9, IL17 ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) olduğu kabul edilir. IL-6, makrofaj ve T hücreleri tarafından salgılanır ve yanık, travma ve doku yaralanmalarında inflamasyon yanıtını indükler. TNF- α , sistemik inflamasyonla ilişkilidir, tüm akut faz reaktanlarını uyarır ve enfeksiyon durumlarında da inflamasyonun başlaması için gereklidir. IL-4, etkisini tip 1 ve Tip 2 TNF- α reseptörleriyle gösteren bir proteindir. IL-4, AMI'ü tedavisinde önemli bir potansiyel sitokindir (44).

İnterlökin-23 (IL-23), inflamatuvar yanıtları ve oksidatif stres reaksiyonlarını arttırarak miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon hasarına katkıda bulunmaktadır. Reperfüzyona miyokard apoptozu ve nekrozun eklenmesi ile reperfüzyon hasarı dediğimiz olay meydana gelir. IL-23' ün kardiomyosit apoptozunu artırdığı raporlanmıştır (45).

1.5.5. Miyokard İskemisi ve Enfarktüsünde Meydana Gelen Olaylar ve Değişiklikler

Miyokard enfarktüsü uzun süreli iskemiye bağlı miyokard hücresi ölümü olarak tanımlanır. Koroner arterlerin kısmi veya tam obstrüksiyonu sonucu koroner kan akımının azalması, kardiyak iskemi vakalarının % 90'ından sorumludur (26).

Miyokardiyal perfüzyon, miyokard alanından birim zamanda akan kan hacmidir. Miyokard metabolizmasına ve oksijen gereksinimine göre perfüzyon miktarı değişir. Miyokard oksijen tüketimindeki artış, miyokardiyal perfüzyonun artmasına sebep olur. Koroner arterlerde belirgin bir darlık ya da tıkanma durumunda maksimum kan akımı, artmış oksijen isteğini karşılamada yetersiz kalır ve miyokardiyal iskemi veya nekroz gelişir (46). Yeterli oksijen gelmediği için anaerobik mekanizma başlar ve laktat oluşur. Miyokard iskemisi oluşunca iskemik

kaslarda diyastol hızında azalma olur ve sol ventrikülün iskemik alanlarında sertleşme meydana gelir. İskemik bölgelerde sistolik kontraksiyonda azalma olur ve laktat oluşumu sonucu aritmiler, ST aralığı ve T dalgasında değişiklikler meydana gelir (47). Miyokardiyal iskemi sırasında anjiotensin II' nin salınımı periferik vazokonstrüksiyona ve sıvı retansiyonuna neden olur. Bu durum miyokardın yükünü arttırarak miyosit kontraktilitesinin kaybını daha da arttırmaktadır (48).

Ayrıca salınan katekolaminler nedeniyle iskemi sırasında sempatik ve parasempatik sistem arasındaki denge bozulmaktadır. Katekolaminler glukoz, glikojen ve serbest yağ asidi salınımını hızlandırırlar ve yapılan çalışmalarda miyokard enfarktüsünden sonraki bir saat içinde serbest yağ asidi ve gliserol plazma konsantrasyonlarının arttığı görülmüştür (48). Katekolamin ve yüklenmeye bağlı olarak akut MI sonrası intakt miyokard segmentinde kontraksiyonda artış olur. Ve sonrasında zaman içinde infarktüse uğramış miyokard segmentinin komşu bölgesinde hipertrofi meydana gelir (49).

Miyokardda ki iskemik süreç 20 dakikadan kısa sürerse herhangi bir hasar oluşmadan normal hale dönüş olabilir. Ancak bu süre uzarsa (> 45 dakika) dokunun kan ihtiyacını sağlamak için reperfüzyon hasarı dediğimiz olay başlar (50).

Reperfüzyon, iskemi meydana gelen dokuların yeniden kanlanması ve oksijenlenmesidir. Reperfüzyon hasarı ise henüz sağlam olan miyositlerin reperfüzyonla beraber metabolik, fonksiyonel ve yapısal olarak hasar görmesidir. Bu hasar reperfüzyon öncesi iskemi nedeniyle oluşmuş hasardan daha büyük olabilir ve iskemik sürecin uzunluğuna bağlı olarak geri dönüşümlü veya dönüşümsüzdür. Reperfüzyon hasarından birçok mekanizma sorumlu tutulmuştur ancak serbest oksijen radikal (SOR) türevleri en fazla suçlanan faktör olmuştur (50, 51). Diğer serbest radikal kaynakları nitrik oksit, nötrofil, endoplazmik retikulum, peroksizom, plazma mebranı ve mitokondriyal elektron transport sistemidir. Diğer iskemi reperfüzyon mekanizmaları; renin-anjiotensin-aldosteron sistemi (RAAS), trombositler, kontraktürdür (51). RAAS sonucu üretilen anjiotensin-II miyositlerde hücre içi kalsiyumu artırarak koroner vazokonstrüksiyona neden olur (52). Diğer bir iskemi reperfüzyon hasarına neden olan trombositler, hasarlı bölgeye doğru göç

ederler, sonra tromboksan A2 ve serotonin aracılığıyla mikrovasküler konjesyon, trombozis, mikrosirkülatuar spazm ve koroner akımda yavaşlama gibi etkilerle iskemi-reperfüzyon hasarına neden olur (53). Son olarak miyokardiyal kontraktür ise kasılmada rol alan aktin miyozin arasındaki çapraz bağlanmanın geri dönüşümsüz hasarı ile meydana gelir (54, 55).

İskemi reperfüzyon hasarına bağlı olarak kalpte aritmiler, miyositlerde nekroz, geçici post-iskemik miyokardiyal disfonksiyon, mikrovasküler ve koroner endotelyal disfonksiyon olabilir. Geçici post-iskemik miyokardiyal disfonksiyon, normal koroner kan akışının zamanında restorasyonuna rağmen, perfüzyonda kısa bir kesintiden sonra nekroz olmaksızın miyokardın bir kısmında meydana gelebilen mekanik bozulma durumudur (56). Miyositlerde meydana gelen nekroz, iskemi reperfüzyondaki mekanizmaların ortak sonucudur. Erken dönemdeki nekrozun nedeni kalp hücrelerinde meydana gelen kontraktürdür (57). Koroner endotelyal disfonksiyon sonucu vazodilatatör cevap azalırken, endotelin-1 ve SOR kaynaklı koroner vazokonstriksiyon meydana gelir ve sonuçta kan akımında azalma görülür (58). İskemi reperfüzyonu takiben meydana gelen endotelyal disfonksiyon, trombosit nedenli ödem, mikrovasküler tıkanıklık ve oksidatif hasar sonucu mikrovasküler disfonksiyon meydana gelir. Bu disfonksiyonun meydana geldiği kalp alanlarında reperfüzyon döneminde kan akımı azalır ve hipoperfüze alanlar görülür (59).

Miyokard infarktüsü sonucu ventrikülün hacminde, duvar kalınlığında ve şeklinde meydana gelen değişimlere “ventriküler remodeling”(yeniden şekillenme) adı verilir. Miyokard enfarktüsünden sonra sol ventrikülün yeniden şekillenmesi çeşitli aşamalara bölünmüştür (60). Miyokard iskemisini takiben kardiyak iyileşme ve onarım inflamatuvar faz ile başlar. İnflamatuvar faz, nekrotik miyokardın ve granülasyon dokusunun yer değiştirmesi ile karakterizedir. Ve bunu skar dokusu oluşumu ile sonuçlanan fibrojenik faz takip eder (61, 62). Sol ventrikülün yeniden şekillenmesi; duvar stresindeki artışlara bağlı olarak aşamalı bir şekilde devam eder ve bu durum enfarktüs sınır bölgesinde kardiyak miyosit hipertrofisini, duvar incelmelerini ve ventrikül genişlemelerini tetikler. Bu global olumsuz yeniden şekillenme yanıtı, hem sol ventrikül diyastol sonu hacmi hem de sistol sonu hacimlerinde artışlara ve ejeksiyon fraksiyonunun azalmasına yol açar (63). Bir

koroner damarın tıkanması sebebiyle arteriyel kan perfüzyonun kesilmesi, kardiyak miyositlerin ölümü ile sonuçlanır. Bu hücreler nekroz, apoptoz veya muhtemelen otofaji yoluyla ölürlür (64, 65). Histolojik hücre ölümü hemen görülmez, miyokard iskemisi başladıktan 20 dakika kadar sonra görülebilir (66). Miyokard hücrelerinde tam olarak nekroz meydana gelmesi için en az 2-4 saat geçmesi gerekir. Ancak iskemik alanın kollateral dolaşımına, koroner arter obstrüksiyonuna, miyositlerin iskemiyeye karşı hassasiyetine ve bireysel oksijen ve besin ihtiyacına bağlı olarak bu süre değişir (33).

Akut miyokard infarktüsünde meydana gelen fizyopatolojik olaylar 2 evrede gelişir:

1. Gelişen erken değişiklikler (<5gün): Oksijenin eksikliği ile oluşur. Damar tıkanıldıktan hemen sonra başlar. Ph' ın düşmesiyle miyokardın kontraktilesi azalır ve 2-4 gün içinde miyokardda koagülasyon nekrozu gelişir. Akut iskemi durumunda aerobik metabolizmanın yetersiz kalması ile hücre içi adenosin trifosfat (ATP) azalır, hücre içi asidoz gelişir ve sonuçta ATP' ye bağlı süreç bozulur.
2. Miyokardın rekonstriksiyonu sırasında meydana gelen geç değişiklikler (>5gün): Makrofajlar nekrotik miyokardı temizler ve kollajenin birikmesi ile skar dokusu oluşur. 7 hafta sonra kalpte fibrozis ve skarlaşma tamamlanır. Sonuçta ventriküllerin kontraksiyonu hızlı bir şekilde bozulur. Genellikle de kalp debisi azalır (67).

Enfarktüsün iyileşmesi genellikle 5-6 hafta kadar sürer. AMİ, polimorfonükleer lökositlerin (PNL) bulunması ile karakterize edilir. Ancak PNL ler özellikle enfarktüsün başlaması ile ölüm arası süre kısa sürmüş ise her zaman saptanmayabilir. PNL'lerin yokluğu, mononükleer hücrelerin ve fibroblastların varlığı enfarktüsün iyileştiğine işaret eder. Hücresel infiltrasyon olmadan skar dokusu meydana gelmiş ise bu enfarktüsün iyileştiğini gösterir. Reperfüzyon, kontrakte olmuş miyositler ve büyük miktarlarda ekstrasvaze(damar dışına sızma) eritrositlerle nekrotik bölgenin makroskopik ve mikroskopik görünümünü değiştirebilir. Miyokard enfarktüsleri klinik ve patolojik görünüme göre; akut (6

saat-7 gün), iyileşme (7-28 gün) ve iyileşmiş (>29 gün) olarak sınıflandırılabilir (68).

1.5.6. Serbest Radikaller

Dış yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili reaktif kimyasallara reaktif oksijen adı verilmektedir (69). Bu moleküller eşlenmemiş elektrona sahip olduklarından diğer moleküllerle kolaylıkla reaksiyona girebilme özelliğine sahiptirler (70). Kaynaklar göz önünde bulundurularak serbest radikalleri iki kategoride incelemek mümkündür. Kategorilerden ilki oksijen kaynaklı serbest radikalleri (ROS) tanımlamaktadır. İkinci kategoride ise nitrojen kaynaklı serbest radikaller (RNS) bulunmaktadır (71). Serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklar tarafından üretilebilmektedir (72, 73). Düşük düzeyde hücre içerisinde bulunan serbest radikallerin, hücresel savunma için birçok farklı şekilde rol alabildiği bulunmuştur. Bunun yanı sıra serbest radikaller enerji metabolizmasına ve büyüme ile ilgili fizyolojik süreçlere de dahil olabilmektedirler. Sağladığı avantajların hücre içi seviyesi arttıkça dezavantaja dönüşebildiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (70, 74, 75, 76). Serbest radikallerin hasar mekanizması hücresel karbonhidrat, lipid ve proteinlere bağlanması ile daha belirgin olarak gözlemlenmektedir. Literatürde çokça çalışılan bir diğer hasar mekanizması ise genetik mekanizmalara etki etmesi ve programlanmış hücre ölümünü (apoptoz) aktive etmesidir (77, 74, 78, 75). Bu hasar mekanizmalarının dengede kalması için antioksidan üretiminin ve aktivitesinin de dengede olması gerekmektedir. Serbest radikallerin seviyesindeki artış, dengenin bozulması ile birlikte kardiyovasküler sistem hastalıkları gibi birçok hastalığa kaynaklık edebilir.

1.5.7. Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları (Antioksidanlar)

Serbest radikallere karşı reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek ve bunların oluşturmuş olduğu hasarı önlemek için geliştirilen mekanizmalara “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” denir (79). Antioksidanlar serbest radikallerin fazlasını nötr hale getirirler, serbest radikallerin toksik etkilerinden metabolizmayı korurlar ve hastalıkları önlerler (72).

Antioksidanlar endojen ve eksojen olarak sınıflandırılırlar. Endojen antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik olarak iki gruba ayrılırlar. Enzimatik antioksidanlar; Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Glutasyon redüktaz (GR)' dir. Nonenzimatik antioksidanlar ise glutasyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin'dir (79). Eksojen antioksidanlar ise vitaminler ve ilaç olarak kullanılan antioksidanlar olarak ikiye ayrılır. Vitamin Eksojen Antioksidanlar; β -karoten (Vitamin A), folik asit (Vitamin B9), askorbik asit (Vitamin C) ve α -Tokoferol (Vitamin E) dışarıdan alınan antioksidanlardır (80, 81).

1.5.8. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Tek tek antioksidanları ölçmek zaman alıcı ve yoğun emek gerektirdiğinden, genel antioksidan durumunu tahmin etmek için genellikle toplam antioksidan durumunun (enzimatik ve nonenzimatik antioksidanları içerir) bir ölçümü olarak TAS parametresi kullanılır (82).

1.5.9. Total Oksidatif Seviye (TOS)

Total Oksidatif Stres (TOS) oksidatif stresin toplam değerinin bir göstergesidir. Farklı oksidan türlerinin plazmadaki konsantrasyonlarını ayrı ayrı ölçülebilir, ancak ölçümler zaman alıcı, maliyetlidir ve kompleks teknikler gerektirir. Farklı oksidan moleküllerinin ayrı ayrı ölçülmesi pratik olmadığından hastanın genel oksidasyon durumunu belirlemek için toplam oksidan durumu (TOS) ölçülür (83).

1.5.9.1. Nekrozlu Miyokard Hasarının Biyobelirteçlerle Saptanması

Miyokardiyal hücre ölümü, hasarlı miyositlerden dolaşıma salınan miyogloblin, troponin T ve troponin I, LDH, CK ve diğer farklı proteinlerin kanda miktarının belirlenmesi ile tanınabilir (84). Kardiyak troponin I ve T, miyokardiyal hücrelerin kasılma mekanizmasının bileşenleridir ve neredeyse yalnızca kalpte tanımlanır (9). Akut miyokard iskemisi durumunda kardiyak troponin veya kreatin

kinaz miyokard bandı (CK-MB) gibi hassas ve spesifik biyobelirteçlerin kan seviyeleri arttığında miyokard enfarktüsü tanısı konur (68).

Akut miyokard enfarktüsünün tanısında yapılan ölçümlerde yükselme ve/veya düşmelerin saptanması ve takibi önemlidir. Troponin ölçümü için kan örnekleri ilk değerlendirme esnasında ve 6-9 saat sonra alınmalıdır (85). Daha önceki ölçümler yükselmemişse ve miyokard enfarktüsünün klinik şüphesi yüksekse, hastadan 12 ila 24 saat arasında ek bir ölçüm alınabilir (86). Troponin değerleri, enfarktüsün başlamasını takip eden 7-14 gün boyunca yüksek kalabilir (85). Troponin testleri yoksa, en iyi alternatif CK-MB (kreatin kinaz miyokard bandı) 'dir (88). CK-MB kalp kasında yoğun olarak bulunur. CK-MB ölçümleri, miyokard enfarktüsünün teşhisi için yükseliş ve/veya düşüşü göstermek için hastanın ilk değerlendirmesi esnasında ve 6-9 saat sonra ölçülmelidir. Daha önceki CK-MB ölçümleri yükselmemişse ve miyokard enfarktüsünün klinik şüphesi yüksekse, hastadan 12 ila 24 saat arasında ek bir ölçüm yapılması gerekebilir (33).

Miyokard infarktüsü sonrası Laktat dehidrogenaz (LDH) değeri 24-48 saat içinde yükselmeye başlar, 3-6. günlerde maximum dğerine ulaşır ve 8-14. Günlerde normale döner (59).

1.6. Isoproterenol

Isoproterenol(ISO), sistemik adı 4-(1-hidroksi-2-[(metiletil)amino]etil)-1,2-benzendiol hidro- klorit, kapalı formülü $C_{11}H_{17}NO_3.HCl$, 242.72 g molekül ağırlığına sahip non-selektif β mimetik ve zayıf alfa-adrenerjik etkinliği olan inotrop tur. Sentetik bir sempatomimetik katekolamindir ve β_1 ve β_2 reseptörlerini uyarır (89).

Adrenalin vücutta doğal olarak sentezlenen bir katekolamindir. ISO, adrenaline yapı olarak çok benzerlik gösterir. Farkı adrenalin α reseptörlerini etkilerken, ISO α reseptörlerini etkilemez. ISO, pozitif inotropik etkisiyle miyokardın kasılma gücünü, pozitif kronotropik etkisiyle de kalp hızını artırarak kardiyak debiyi artırmaktadır. ISO, β_2 reseptörlerini etkileyerek pulmoner ve iskelet damarlarında vazodilatasyon yaparak sistemik ve pulmoner direnci azaltır. Burada sistolik kan basıncı değişmezken diyastolik ve ortalama arter basıncında

düşme olur (90). Oksijen tüketimini arttırdığından iskemi, taşikardi, taşiaritmi riski artar. Bu sebeple koroner arter hastalığı olan kişilerde ISO kontrendikedir (89). Aslında toksisitesinin fazla olması ve alternatif ajanların da varlığından dolayı inotrop ajan olarak ilk tercih değildir (90).

Deneyssel çalışmalarda ISO, ilaçların kardiyak fonksiyonlar üzerine olan etkilerini araştırmak amacıyla da kullanılmaktadır. Sıçanlarda ISO uygulaması miyokardda nekroza neden olarak kalp kası hücrelerinde enerji rezervini azaltıp yapısal ve biyokimyasal değişikliklere neden olmaktadır (91, 92). Yüksek doz ISO uygulanması, antioksidatif savunma sistemleri ve serbest radikaller arasındaki dengenin bozularak antioksidan fonksiyonlarda azalmaya neden olur. Sonuç olarak lipid peroksidasyonu ve kalp enzimlerinde değişiklikler oluşur ve ciddi miyokardiyal hasar meydana gelir (93). β -adrenoreseptör agonisti olan ISO, yüksek dozlarda miyokard enfarktüsünü indükleyebilir (94). Literatüre bakıldığında sıçanlarda 40 mg/kg ve 200 mg/kg doz aralığında uygulaması ile deneyssel MI modeli oluşturulmuştur (95). ISO uygulanan sıçanlarda normal sıçanlara kıyasla süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), aktif glutatyon (GSH) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi endojen antioksidanların belirgin derecede tükenmesi ve serum belirteç enzimlerinden olan aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH) ve kreatin fosfokinaz (CPK) da artış gözlenmiştir (96). ISO' nun kronotropik ve pozitif inotropik etkisiyle β adrenerjik reseptörler vasıtasıyla sıklıkla hücre içi kalsiyum aşırı artar yüksek enerjili fosfat yapılamaz ve sonuçta mitokondride kalsiyuma bağlı olarak çalışan ATPaz çalışamaz ve ATP azalması sonucu kalp dokusunda geri dönüşümsüz hasar meydana gelir (97). Bu sebeple uzun vadeli ISO tedavisinin en önemli klinik sınırlaması, miyokardda geri dönüşü olmayan hasarlara yol açan kardiyak toksisitedir. Altta yatan mekanizmalar komplekstir ve hala iyi anlaşılamamıştır (98). ISO, ratlarda insan kalp yetmezliğindeki hemodinamik, morfolojik ve patolojik değişikliklere benzer şekilde; miyokardial hipertrofi, bağ dokusu oluşumunun artması, fibroblast proliferasyonu ve miyokard kompliyansında düşmeye yol açarak diyastolik ve sistolik işlevlerin bozulmasına neden olabilir. Bu nedenle, sıçanlarda MI modeli oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (96).

Kardiyovasküler hastalıklar dünyada ölüme neden olan başlıca hastalıklardır. Miyokard infarktüsü bu hastalıkların önemli bir kısmını oluşturur. Bu sebeple bu hastalığın önlenmesi ve tedavi edilmesi için araştırmacılar tarafından hayvanlarda insanlardakine benzer bir model oluşturulması ve çeşitli bileşenlerin hastalık üzerine faydasının bulunması çok önem arz etmektedir.

1.7. Asprosin

İlk olarak 2016 yılında Romere ve ark. tarafından yeni bir glukojenik adipokin ve protein yapıda bir hormon olan asprosin keşfedilmiştir. Beyaz yağ dokusu asprosinin temel kaynağıdır ve bundan dolayı “Asprosin” yunanca beyaz anlamına gelen aspros kelimesinden türemiştir (72). Fibrillin 1 (FBN1) geninin iki eksonu (ekson65 ve ekson 66) ile kodlanmaktadır. FBN1 235 kb uzunluğunda ve 66 ekson içermektedir. FBN1 geninin iki eksonundan biri olan Ekson 65, 11 amino asidi kodlarken ekson 66 ise 129 amino asidi kodlar (99). Profibrillin-1, N- ve C-terminal alanlarında furin ile bölünür ve olgun fibrillin-1 ve N- ve C-terminal propeptidlerine yol açar. C-terminal propeptidi (asprosin) dolaşıma salınırken, N-terminali propeptidinin işlevi bilinmemektedir (100).

Beyaz yağ doku tarafından salgılanan asprosin hepatik glukoz salınımını düzenler ve açlık durumunda salınımı artar (99). Asprosin beyaz yağ dokusu dışında böbrek, karaciğer, akciğer, kalp, mide, testis, beyin ve deri dokularında da varlığı bildirilmiştir (101, 99, 102, 103). Bu sonuçlar, asprosinin bu dokulardan ve hücre kaynaklarından salınmasının muhtemel olduğunu göstermektedir. FBN1, mRNA'nın en bol olarak iskelet kası kaynaklı mezoanjyoblastlar, menisküs hücreleri, karaciğer arter endotel hücreleri, karaciğer ven endotel hücreleri ve osteoblastların insan dokularında eksprese edildiğini ortaya koymaktadır(104) Bunların dışında bazı hastalık durumlarında da asprosin salınımı görülmüştür. Örneğin; hiperlipidemik koşullarda pankrestaki β hücrelerinde asprosin salgılayabileceği gibi, açlık durumunda hipotalamusta iştahı uyarması ile kandaki asprosin seviyesi artar. Ayrıca malign mezotelyoma ve bazal hücreli karsinom gibi kanserlerde de asprosin ekspresyonunda artış tespit edilmiş ve hatta bazal hücreli karsinom tanısında marker olarak kullanılabileceği de belirtilmiştir (105). Asprosinin yanık sonrası komplikasyonları tedavi etmede anahtar bir rol

oynayabileceği ve gelecekte umut verici bir tedavi olarak kullanılabileceği önerilmiştir (106).

2019 yılında yapılan bir çalışmada olfaktör reseptör (OR) OLFR734'ün asprosinin bir reseptörü olduğu bulunmuştur. Asprosin, OLFR734 reseptörü aracılığıyla hepatik glikoz üretimini teşvik eder, obezite ve açlık sırasında glikoz homeostazını korur. Bu reseptörün eksikliği durumunda ise glukoneogenez azalır ve insülin duyarlılığı artar (107).

Asprosinin dokular üzerindeki etki mekanizması farklı yollarla olmaktadır. Beyaz yağ dokusundan salınan asprosin hormonu hipotalamustaki iştahtan sorumlu olan anoreksijenik pro-opiomelanokortin (POMC) nöronları ve oreksijenik aguti ile ilişkili peptid (AgRP) nöronları aracılığıyla iştahta rol oynar. Asprosin kan beyin bariyerini geçer, hipotalamustaki G proteinleri-cAMP-PKA yolu aracılığıyla AgRP nöronlarının aktivitesini artırarak iştahın artmasını sağlar (108). Asprosin karaciğerde bulunan olfaktör reseptör734' e (OLFR734) bağlanır, adenilil siklaz-cAMP-PKA yolunu aktive eder ve karaciğerden glikoz üretimine ve salınımına yol açar (99). Asprosin, pankreas β -hücrelerinde TLR4 e bağlanır, TLR4/JNK aracılı yolu kullanır ve cAMP düzeylerini inhibe ederek insülin sekresyonunu azaltır (101). Asprosin, miyokardiyal mezenkimal hücreler (MSC)'de ise ERK1/2-SOD2 yolunu kullanarak bu hücreleri oksidatif stres kaynaklı apoptozdan koruyabilir (109).

1.7.1. Asprosin' in Etkileri

Asprosin iskelet kasında henüz bilinmeyen bir reseptöre bağlanarak PKC δ /SERCA2 aracılı endoplazmik retikulum stres/iltihap yollarını aktiveleştirerek insülin direncine sebep olur (110). Yapılan araştırmalarda insülin direncine sahip insan ve farelerde plazma asprosin seviyesinin artmış olduğu tespit edilmiştir. Asprosin vücutta iştah mekanizmasında rol oynar. Kan beyin bariyerini geçen asprosin cAMP- Protein Kinaz A yolağını kullanarak hipotalamustaki aguti ilişkili protein (AgRP) nöronlarını uyarırken proopiomelanokortin (POMC) nöronlarını ise baskılayarak iştahı artırır ve böylece besin alımının artmasını sağlar (109). Bir çalışmada asprosinin yağ dokusu tarafından salgılandığı göz önüne alındığında,

hem obez insanlarda hem de yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde kontrol deneklerle kıyaslandığında asprosin yüksek bulunmuş (108). PCOS tanılı hasta ve kontrollerle yapılan çalışmalarda pcosu hastaların dolaşımında asprosin düzeyleri yüksek bulunmuştur (111, 112).

1.7.2. Asprosin ve Kalp

Bir çalışmada, asprosinin mezenkimal stromal hücreler (MSC'ler) üzerindeki etkilerine ve asprosin tedavisinin miyokard enfarktüsü üzerindeki etkilerine odaklanılmıştır. Çalışma, MSC'lerde asprosinin tedavisinin bu hücrelerin hedeflenmesini arttırdığını, miyokardiyal ejeksiyon fonksiyonunu iyileştirdiğini ve miyokard enfarktüsü sonrası miyokardiyal yeniden şekillenmeyi azalttığını göstermiştir. Asprosin MSC çoğalmasını ve yayılmasını etkilememiş, ancak bu hücreler, ERK1 / 2-SOD2 yolunun aktive edilmesiyle hidrojen peroksit kaynaklı hasar ve apoptozdan korunmuşlardır. Bu nedenle asprosin, MSC'lerin fonksiyonlarını ve MSC'lerin miyokard enfarktüsü üzerindeki terapötik etkilerini artırabilir (109). Ming-shien ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 50 dilate kardiyomiyopati hasta 5 yıl boyunca takip edilmiş. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, dilate kardiyomiyopati hastalarının daha yüksek asprosin seviyelerine sahip olduğu bulunmuş. Hücresel bir model olarak kardiyomiyoblastları kullanarak, asprosinin hipoksiye bağlı hücre ölümünü önlediğini ve hipoksi altında mitokondriyal solunumu ve proton sızıntısını artırdığını göstermişlerdir(113). Bir araştırmada koroner arter hastalarında asprosin seviyesinin kontrollere kıyasla yüksek olduğu bulunmuştur. Ve bu patolojik yüksekliğin; dislipidemi, insülin direnci ve adipozite ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (114). Yapılan bir çalışmada asprosin düzeyi ile KAH şiddeti arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur (115).

1.8. Meteorin Like Protein (METRNL)

Meteorin like proteini, diğer ismiyle IL-41, Meteorin- β proteini (Metnr β) olarak da bilinir (116). METRNL, ilk olarak Nishino ve ark. tarafından 2004 yılında Meteorin'e özdeş bir protein olarak keşfedilmiştir (117). Bu peptit, işlevine bağlı olarak adipokin (subfatin), sitokin (interlökin 39) ve nörotrofik faktör (cometin)

olarak da bilinen küçük bir proteindir. METRNL geni insan kromozomu 17 (17q25.3) ve fare kromozomu 11 bölgesinde bulunur. 45 amino asitlik bir sinyal peptidi ile 311 amino asitlik (~30 kDa) küçük bir proteini kodlar ve 266 amino asitlik (~28 kDa) matur bir proteini oluşturur (118). İnsan ve fare genleri kıyaslandığında 239 aminoasit özdeşliğiyle yaklaşık %77 oranında benzerlik ortaya çıkmaktadır (119). İnsanda ve farede METRNL, subkutan kahverengi yağ dokuda en yüksek seviyede eksprese edilir ve ayrıca böbrek, karaciğer, testis, kalp, iskelet kası, dalak ve beyin gibi çeşitli dokularda ve makrofaj, monosit ve stromal hücrelerde de tespit edilmiştir (118, 120).

Meteorin like protein, yağ dokusunda enerji harcamasını ve inflamasyonu modüle etme fonksiyonu gösteren yeni tanımlanmış bir adipomiyokindir (120). Miyokinler, hedef dokuların fizyolojik işlevini değiştirmek için otokrin, parakrin ve endokrin fonksiyon gören iskelet kası aracılığıyla üretilen ve salgılanan moleküllerdir (121). METRNL, egzersiz ve soğuğa maruz kalma sonrasında iskelet kası ve beyaz yağ dokusunda indüklenir ve dolaşımda bulunur (120). Li ve arkadaşları, METRNL' in eksikliğinin, yüksek yağlı diyet tarafından indüklenen insülin direncini arttırdığını, METRNL' nin spesifik aşırı ekspresyonunun, yüksek yağlı diyet veya leptin delesyonunun neden olduğu insülin direncini önlediğini göstermiştir (122).

Yapılan bir çalışmada METRNL' nin hem doğal (cilt ve mukozal dokulardaki ekspresyonu aracılığıyla) hem de edinilmiş (aktive makrofajlardaki ekspresyonu aracılığıyla) bağışıklıkta etkili olduğu gösterilmiştir(118). METRNL' nin, bağışıklık fonksiyonu olarak IL-4' te eozinofille bağlı bir artışla makrofajların gelişimini desteklediğini gösterilmiştir(120). METRNL ekspresyonu sedef hastalığı, psoriatik ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklar ve büyük olasılıkla sepsis ile de bağlantılıdır (118). Bu duruma ilişkin olarak METRNL -/- fareleri septik şoka daha duyarlıdır ve yaşlanmayla birlikte inflamatuvar lezyonlar geliştirirler (Ushach ve ark., 2018). METRNL nakavt fareler, düzensiz bir sitokin üretimi ve lipopolisakkarit nedenli sepsise karşı yüksek bir duyarlılık göstermiştir (123).

METRNL kalp dokusunda da eksprese edilir ve çeşitli kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (122). METRNL düzeylerinin, insanlarda koroner arter hastalığının varlığını ve önemini gösterdiğine dair bilgiler gösterilmiştir (124). KAH olan hastalarda, METRNL' nin serum seviyesinin daha düşük olduğu ve inflamatuvar sitokinler ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (125).

METRNL eksikliği olan farelerin kardiyak değişiklikler geliştirmeye eğilimli olduğunu ve METRNL ekspresyonunun kardiyak spesifik iyileşmesinin hipertrofik indüksiyonunu önlediği gözlemlenmiştir. Hipertrofiyi destekleyen sinyaller kardiyak METRNL ekspresyonunu ve protein salgılanmasını da uyarırlar. Kalp yetmezliği hastalarında dolaşımdaki METRNL seviyeleri artar ve METRNL bu hastalarda kardiyak prognoz için yeni bir biyobelirteç olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir (126). Bir çalışmada, ISO ile oluşturulmuş kardiyak hipertrofidan sonra METRNL' nin dolaşım seviyeleri önemli ölçüde indüklenmiştir (126). Sıçan kalbinden elde edilen kardiyak hücrelerin izolasyonu, METRNL' nin kardiyak fibroblastlardan ziyade kardiyomiyositlerde eksprese edildiğini göstermiştir (126). Aynı çalışmada PPAR α yolunun kalpteki Metrn β ekspresyonunu kritik olarak kontrol ettiğini göstermiştir. Metrn β eksikliğinin kalbi değiştirdiğini, kardiyak disfonksiyon yaptığı, daha çok sol ventrikül disfonksiyonu ile karakterize asimetrik kardiyak hipertrofiyi indüklediği ve interstisyel fibrozu arttırdığını göstermiştir. Buna karşın Metrn β 'nin kardiyak spesifik aşırı ekspresyonu, kardiyak hipertrofi ve fibroz gelişimini önler ve miyokardın normal işleyişini düzeltir. Sonuçta Metrn β 'nin kardiyoprotektif bir etki gösterdiğini bulunmuştur (126). Bir çalışmada kardiyomiyositlerde, ilk kez Metrn β tedavisinin, Metrn β tarafından STAT3 fosforilasyonunun tercihli indüksiyonunu gösteren makrofajlardaki bulguların aksine, p38-MAPK'nın hücre içi indüksiyonuna ve transkripsiyon faktörü CREB'nin fosforilasyonuna yol açtığını bulmuşlardır (127). METRNL' nin aşırı ekspresyonu, inflamasyonu ve endoplazmik retikulum stresini azaltarak kardiyomiyosit apoptozunu azalttığı görülmüştür (125). Yakın bir zamanda METRNL' nin kanser tedavilerinde kemoterapi ile ilişkili olarak kardiyotoksisiteyi azalttığı gösterilmiştir (128). AMPK sinyal yollarının aktivasyonunun endoplazmik retikulum stresini azaltmak için etkili bir strateji olduğu ve METRNL' nin

inflamasyonu baskılamak için terapötik bir ajan olabileceği rapor edilmiştir (125, 129). Gerçekleştirilen bir METRNL' nin farelerin iskelet kasında AMPK veya PPARδ'ye bağlı sinyalleşme aracılığıyla lipid kaynaklı iltihabı ve insülin direncini iyileştirdiğini göstermiştir (129). METRNL, yağ dokusunda STAT6 aracılı bir yol ile beyaz yağ dokusunun esmerleşmesini artırarak tüm vücudun enerji harcamasını yükseltir ve glikoz toleransını geliştirir (120). İskelet kasında METRNL, AMP ile aktive olan protein kinaz ve PPARδ'ye bağlı yollar aracılığıyla inflamasyonu ve insülin direncini azaltır (130). Yakın zamanlarda, bir çalışmada rekombinant METRNL tedavisinin, AMPK veya PPARδ' nin aracılık ettiği sinyalleme yoluyla lipid kaynaklı iltihabı ve iskelet kası insülin direncini farelerde azalttığını göstermişlerdir (130).

METRNL çeşitli mekanizmalarla dokular üzerinde farklı fonksiyonları gerçekleştirir ancak bazı fonksiyonlarının mekanizmaları hala aydınlatılamamıştır. METRNL transgenik farelerde yapılan çalışmada METRNL' nin adiposit farklılaşmasında çok önemli bir rolü olduğu düşünülen PPARγ aracılı sinyalleşmenin aktivasyonu aracılığıyla insülin duyarlılığını geliştirdiğini gösterilmiştir (122).

1.9. Nerolidol

Uçucu yağlar, güçlü bir kokusu olan uçucu, doğal ve karmaşık biyoaktif bileşiklerdir ve biyolojik etkilerini hücreler, dokular ve tüm organizmalar ile etkileşime girerek gösterirler (131). Peruviol olarak da bilinen Nerolidol (NRD) (3,7,11-trimetil-1,6,10-dodecatrien-3-ol), çiçek kokulu çeşitli bitkilerin uçucu yağında bulunan doğal olarak oluşan bir seskiterpen alkoldür (132). NRD yüksek hidrofobikliğe sahip olduğundan dolayı plazma zarından daha kolay geçebilir ve hücre içi proteinler veya organellerle etkileşime izin verir (133). NRD zencefil, yasemin, lavanta, limon otu ve kenevirde bulunur. Biyolojik aktiviteleri arasında antioksidan, antifungal ve antimikrobiyal gibi çeşitli özellikleri vardır (134). NRD sıklıkla kozmetiklerde (örneğin şampuanlar ve parfümlerde koku olarak) ve kozmetik olmayan ürünlerin (örneğin deterjanlar ve temizleyiciler) içeriğinde bulunur (135). Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylandıktan sonra hem kozmetik sektöründe hem de gıda endüstrisinde (aroma maddesi olarak) sıklıkla

kullanılmaktadır (136). NRD gibi bazı seskiterpenler, potansiyel biyolojik aktiviteleri nedeniyle bilimsel açıdan ilgi çekicidir (136).

1.9.1. Anti-Oksidan Aktivite

Reaktif oksijen türleri (ROS), aerobik metabolizma sırasında oksijenin tam olmayan indirgenmesiyle oluşur (137). Normal şartlar altında veya düşük seviyede oksidatif stres altında, vücutta yerleşik bir antioksidan savunma sistemi mevcuttur ve bu sistem ROS'u glutatyon (GSH) redüktaz, Glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz gibi uygun enzimlerle detoksifiye ederek hücreleri olası hasarlara karşı korur. Ancak, antioksidan savunma sisteminde bir bozukluk veya hücrenin detoksifikasyon kapasitesini aşan serbest radikallerin aşırı üretimi durumunda oksidatif stres başlar (138). Oksidatif stres ile miyokard enfarktüsü(MI) hasarı arasında bilinen bir ilişki vardır (139). MI tarafından üretilen serbest radikaller, hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek ve lipid peroksidasyonuna yol açarak serbest radikal üretimini arttırabilirler. ISO ile indüklenen MI sıçanlarında, plazma ve kalpte TBARS konsantrasyonlarının arttığı bildirilmiştir. Ayrıca, ISO ile indüklenen MI sıçanlarında kalpte süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidanların aktiviteleri azalmıştır (140).

Nerolidolün, hücreleri lipidlere, proteinlere ve DNA'ya yönelik oksidatif hasara karşı koruyarak ROS'un etkisini dengelemede güçlü antioksidan özellikler sergilediği gösterilmiştir (141, 142). NRD hücrelerin yapısındaki lipid, protein ve DNA ya yönelik ROS hasarına karşı oksidatif- antioksidan özellikler gösterir. Bu olay Nerolidolün antioksidan aktivitesini hidroksil ve nitrik oksit radikallerini uzaklaştırması ve tiyobarbitürik asit (TBARS) reaktiflerinin oluşumunu engelleyerek olmaktadır (143). NRD, 2,2'-Azobis (amidinopropan) dihidroklorür (AAPH) tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunu önleyebilir, böylece oluşan TBARS miktarını inhibe edebilir ve bu radikalın neden olduğu hücre hasarını azaltabilecek önemli bir antioksidan potansiyeli sergileyebilir. Nerolidolün antioksidan özelliklerini gösteren in vitro kanıtların yanı sıra, Bununla ilgili olarak yapılan bir çalışmada farelerin hipokampusünde Nerolidolün oksidatif stresi engelleyerek nöroprotektif etki yaptığı gösterilmiştir (142). Aynı şekilde DOX (Doksorubisin) ile sıçanlarda akut kardiyotoksisite oluşturulmuş olan ratlarda da

kardiyoprotektif etkisi belirlenmiştir. NRD, Sıçanlarda DOX ile indüklenen akut kardiyotoksistide Nrf2/MAPK sinyal yollarını uyararak güçlü antioksidan, anti-inflamatuar ve antiapoptotik aktivite göstererek DOX kaynaklı akut kardiyotoksisteye karşı kardiyoprotektif etkiler gösterdiği bulunmuştur (144).

1.9.2. Anti-inflamatuar Aktivite

Akut inflamasyonun özelliklerinden biri lezyon bölgesindeki hücrelerin göçüdür. Bu olay vazodilatasyon ve artan vasküler geçirgenlik ve TNF- α , IL-1 β , IL-8 ve prostanoidler gibi çeşitli inflammatuar mediatörlerin salınımının bir sonucu olarak ortaya çıkar (145). Sitokinlerin etkisinin veya sentezinin azalması, bir anti-inflamatuar etki ile ilişkilidir. Bir çalışmada Nerolidolün anti-inflamatuar aktivitesini nasıl uyguladığını araştırmak için peritoneal makrofajlar ile TNF- α , IL-1 β ve IL-6 üretim seviyeleri değerlendirilmiştir. Sonuçta NRD, peritoneal lavajda TNF-a üretimini ve peritoneal makrofajlar tarafından IL-1 β üretimini azalttığı; bununla birlikte, IL-6 seviyeleri değişmediği bulunmuştur. Bu sonuçlar, Nerolidolün anti-inflamatuar aktivitesini gerçekleştirdiği mekanizmayı ortaya çıkarmaya çalışmaktadır (146).

Nerolidolün Staphylococcus aureus FDA 209P, metisiline duyarlı S. aureus (MSSA) suşuna ve metisiline dirençli S. aureus (MRSA) suşuna karşı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir (147). Nerolidolün membran bozulmasına neden olmasının yanı sıra patojenlerin patojenitesini düzenleyen genlere müdahale ettiği de bulunmuştur (148). Nerolidol'ün Escherichia coli ve Micrococcus luteus'a karşı antibakteriyel aktivitesi ile ilgili olarak, sırasıyla 0,39 ve 0,19 μ L/mL MIC değerleri bulundu ve bu da doğal bir gıda koruyucusu olarak potansiyel uygulamasını güçlendirmiştir (149). Ve Nerolidol, Gram pozitif bakteriler olan Lactobacillus fermentum'a karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği bulunmuştur (150).

1.9.3. Diğer Etkileri

Biyofilmler, bazı mikroorganizmaların bir temas yüzeyine yapıştığı ve besin eksikliği ve antibiyotiklere veya kimyasal ajanlara maruz kalma gibi faktörlere karşı kendilerini korumak için kendi ürettiği polisakkaritlerden oluşan bir matris

oluşturduğu biyolojik topluluklardır (151). Nerolidolün bir dizi patojene karşı anti-biyofilm aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (152). Birçok çalışma Nerolidolün mantar önleyici aktivite gösterdiğini bulmuştur (133). Lee ve ark. Nerolidolün, saç, tırnak ve derinin stratum korneumu dahil keratinize dokularda dermatofitoza neden olan *Microsporum gypseum*'a karşı güçlü bir mantar önleyici etkisi olduğunu bildirmişlerdir (148). Nerolidolün başta leishmaniasis, tripanosomal, şistozomal, sıtma olmak üzere başka birçok diğer parazite karşı antiparazitik etkisi vardır (136). Klopell ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada Nerolidolün mide koruyucu ve ülser engelleyici tedavilerde kullanılabileceğini bulmuşlardır (153). Nerolidolün güçlü bir deri penetrasyon arttırıcı olduğu bulunmuştur (154, 155). Bir çalışma, Nerolidolün kanser hücre dizileri üzerinde anti-tümör özelliklerini göstermiştir. Ryabchenko ve ark. Nerolidolün güçlü anti-tümör etkilerini göstermiştir (156).

ISO ile MI modeli oluşturulmuş bir deneyde sıçanların kalp dokularında nekrozla beraber mononükleer infiltrasyon tespit edilmiştir. Sonra bu sıçanlara Nerolidol ile tedavi uygulaması sonucunda kalp dokusunda nekrozun hafiflediği ve mononükleer infiltrasyonun azalmış olduğunu gösterilmiştir (140) .

1.10. Vitamin D

Kalsiferol olarak da bilinen D vitamini yağda çözünebilen vitaminler arasında yer almaktadır (157). Diyet aracılığı ile alınabilen bu vitaminin vücut tarafından da sentezlenebildiği bilinmektedir (158). Başta kemik yapısı ve diş sağlığı için olmak üzere birçok sistemik hastalık açısından da D vitamini etkin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Araştırmalar D vitamininin sistemik etkileri arasında kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyon gelişiminde de rol oynadığını ortaya koymuştur (159).

1.10.1. D Vitamini Metabolizması

D vitamini, ergokalsiferol (D2), kolekalsiferol (D3) ve 1-25(OH)₂kolekalsiferol (kalsitriol) olmak üzere üç farklı formu bulunmaktadır (160, 161). Diyet yolu ile vücuda D vitamininin D2 ve D3 formu alınabilmektedir. Hayvansal besinlerden alınan D vitamini formu D3 iken bitkisel besinlerden D2 formu alınabilmektedir (161, 159). Besinlerle birlikte alınan bu eksojen kökenli D vitaminin miktarı vücutta bulunan D vitamininin % 20' sini oluşturmaktadır. Geriye

kalan %80 oranındaki D vitamini 1-25(OH)₂kolekalsiferol formundadır ve deri tarafından sentezlenir. Epidermal doku bu sentezi 7-dihidroksikolestrol' ün ultraviyole B (UVB) ışının maruz kalması ile gerçekleştirmektedir (162). D2 ve D3 vitaminlerinin aktif forma dönüşmesi için hidroksilasyon reaksiyonu gerektirmektedir (157). D3 vitamininin hidroksilasyonu önce karaciğerde bulunan sitokrom P450 enzimleri tarafından hidroksile edilmektedir. Böylece (25(OH)D3)'ne dönüşmektedir. İnsan vücudunda bulunan D vitamini düzeyinin tespit edilmesi için 25(OH)D3 formu kullanılmaktadır. Kan plazma düzeyinde bölgesel değişimler göstermekle birlikte 20-125 nM/L arasındaki değerler normal kabul edilmektedir. Ancak genel kanı 50nM/L altında ve 150 nM/L üzerinde seyreden D vitamini düzeyinin patolojik süreçlerle ilişkili olduğu ve bir takım hastalıklara yol açtığı yönündedir. Daha sonra böbreğe gelen 25(OH)D3 filtre edilir ve megalin ile kübülün reseptörleri aracılığı ile geri emilimi gerçekleştirilir. Geri emilimden sonra P450 enzimi, parathormonun (PTH) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) etkisi ile tekrar hidroksilasyona tabi tutulur. Bu kimyasal sürecin sonunda 1 α -hidroksilaz enzimi katalizörlüğünde 1,25(OH)₂D3 oluşumu gözlenir (160, 163, 164, 162).

D vitamininin etki mekanizması Vitamin D Reseptörü' ne (VDR) bağlanması ile gerçekleşmektedir (163, 164). VDR reseptörünün nükleer hormon reseptör ailesinin bir üyesi olduğu tespit edilmiştir (165). VDR aktif D vitamini ile kompleks bir şekilde diferansiyasyon, kalsiyum homeostazı, büyüme denetimi, apoptoz, anjiyogenezin ve immün cevapların düzenlenmesi gibi 900'den fazla genin ekspresyonunu yapabilmektedir ve nükleer ligand-indükleyici bir transkripsiyon faktörüdür (166).

D2 vitamini, D vitamini bağlayıcı proteinle daha zayıf bağlarla bileşik oluşturmaktadır. Bu nedenle D2 formunun plazmadaki yarılanma ömrü D3 formuna kıyasla daha kısadır. Her iki formda da benzer şekillerde metabolize olmaktadır (167). Metabolize olan ve ihtiyaç duyulmayan D2 ve D3 adipoz dokuda depolanmaktadır (160).

1,25(OH)₂D3' ün hücrel metabolizması incelendiğinde etkisini iki şekilde gerçekleştirebildiği görülmektedir. Bu mekanizmalardan ilki hücrel boyuttaki

etkisidir. Bu mekanizma aktif D vitamini formunun VDR' ye bağlandıktan sonra hücre plazma zarında bulunan sinyal yollarını aktive etmesi ile gerçekleşmektedir. Bunun için kullanmış olduğu ikincil haberciler siklik adenosin monofosfat (AMP) ve mitojen aktivite protein (MAP)' dir. Bununla birlikte D vitamininin etki ettiği bir diğer mekanizma protein fosforilasyonudur. MAP D vitamininin hücre çekirdeğine girerek etki etmesini ve transkripsiyonel mekanizmaya bağlanmasını sağlaması açısından önem taşımaktadır (168). Vitamin D' nin bir diğer etki mekanizması ise nükleer boyutta gerçekleşmektedir. VDR ile bileşik oluşturan D vitamini daha sonra intranükleer retinoid-x reseptörüyle heterodimerik bir kompleks oluşturmaktadır. Meydana gelen kompleksin vitamin D responsive element(VDRE)' e bağlandığı görülür. Bu bileşik genomik düzeyde etki edebilme özelliğine sahiptir (165).

Vitamin D yağda çözünmesi, kolestrolde sentezlenmesi, enzimatik yollarla metabolize edilmesi ve reseptörler aracılığı ile metabolik süreçleri ve etki mekanizmaları vücutta aktif olarak kullanılması için diğer bazı maddelerin de seviyelerinin önemini göstermektedir. Vücuda giren D vitamininden en iyi biyoyararlanımın sağlanabilmesi için öncelikli olarak emilim için görev alan metabolik trigliserite ihtiyaç duyulmaktadır. Barsak malabsorpsiyonuna neden olan çölyak gibi birtakım hastalıklar bu vitaminin emilimini azaltabilmektedir. Bu oranının % 80' lere kadar çıkabildiği görülmektedir. Bunun yanı sıra karaciğer yetmezliği, kistik fibrozis gibi sistemik hastalıklarında benzer etkiyi gösterdikleri ortaya konulmuştur. Yağ metabolizması ile D vitamini arasında ters korelasyon olduğu düşünülmektedir. Obezite durumunda vücutta tespit edilen D vitamini düzeyinin benzer yaş grubu ve çevre şartlarına sahip bireylere oranla yaklaşık olarak %50 daha az olduğu tespit edilmiştir. Kolestatik karaciğer hastalığı, siroz ve karaciğer yetmezliğinin D vitamininin dolaşımda olan seviyesini azalttığı ve taşınmasına etki ederek vücutta kalma ile hücresel yaralanım süreçlerini etkilediği bilinmektedir. Kronik böbrek yetmezliği de D vitamininin azalmasına etki eden bir diğer durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Son dönem böbrek yetmezliği durumlarında D vitaminin tespit edilememesi morfolojik mekanizmalar kadar enzimatik süreçlerinde biyoyararlanımda etkili olduğunu göstermektedir. Tüm bu hastalıklara ek olarak bazı ilaçların kullanımının D vitamini metabolizmasını

arttırıcı yönde etki ettiği ortaya konulmuştur. Antikonvülsanlar, glukokortikoidler, fenobarbital, fenitoin, karbamazepin, rifampisin ve antiretrovirallerin uzun süreli kullanımının CYP3A4 regülasyonunu arttırarak aktif D vitamini seviyesini azalttığı görülmektedir (169).

1.10.2. D Vitamininin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

VDR hemen her doku ve hücrede ifade edildiği göz önüne alındığında, D vitamininin potansiyel iskelet dışı etkileri dikkate alınması gereken bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, düşük 25-hidroksivitamin D (25[OH]D) konsantrasyonlarının çeşitli akut ve kronik hastalıklarla ilişkili olduğunu göstermiştir. D vitamini, bağırsak, kemik ve böbrekler üzerindeki etkileri ile birlikte kalsiyum ve fosfat metabolizmasının düzenlenmesinde kritik bir role sahip olduğu bilinmektedir. Özetle normal kalsiyum ve fosfat seviyelerini korumak ve sekonder hiperparatiroidizmi önlemek için yeterli bir D vitamini seviyesinin vücutta bulunması gerekmektedir. Bu bağlamda, D vitamini optimal bağırsak kalsiyum emilimi için özellikle önemlidir ve mineral homeostazını koruyarak kemik üzerinde büyük etkiler gösterir. Bunun yanı sıra D vitamininin kemik hücreleri üzerinde doğrudan pleiotropik etkileri de olduğu bilinmektedir. Nutrisyonel raşitizm başta olmak üzere, kardiyovasküler, otoimmün hastalıklar, nörolojik hastalıklar, enfeksiyonlar, gebelik komplikasyonları, kanser solunum yolu enfeksiyonları, astım alevlenmeleri, bazı gebelik sonuçları ve mortalite gibi çok farklı alanlarda D vitamini seviyesinin etkisi görebilmek mümkündür (170, 171).

1.10.3. Vitamin D' nin Kardiyovasküler Hastalıklar ile İlişkisi

Vitamin D' nin ilişkili olduğu kardiyovasküler hastalıklar arasında koroner arter hastalıkları, konjenital kalp hastalığı, inme, hipertansiyon ve vasküler demans gibi kalp ve kan damarlarının çeşitli hastalıkları, kardiyomiyopati, hipertrofi, miyokard enfarktüsü, kalp yetmezliği, kardiyak fibrozis ve ritim anormallikleri gibi çeşitli hastalıklar yer almaktadır (172). Sigara, yüksek tansiyon, yüksek kan kolesterolü, aşırı alkol tüketimi, fiziksel hareketsizlik, obezite, diyabet, aile öyküsü, cinsiyet ve yaş, KVH'ler için ortak risk faktörleri olarak belirlenmiştir (169).

Vitamin D' nin kardiyovasküler fonksiyon ve regülasyonu üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar aynı zamanda D vitamininin hipertansiyon üzerinde de etkili olabileceğini vurgulamaktadır. Bu çalışmalarda D vitamininin renin-angiotensin-aldesteron mekanizmasına direkt etkisi, VDR mutasyonları ve D vitamini eksikliği ön plana çıkmaktadır (171).

RAAS elektrolit ve hacim homeostazını, kan basıncını düzenlemeye yardımcı olmaktadır ve aşırı RAAS' nin uyarımının hipertansiyon ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Hayvan çalışmaları, D vitamininin RAAS nin önemli bir düzenleyicisi olduğunu ve D vitamininin aktif formu olan 1,25(OH)₂D'nin renin gen ekspresyonunu baskıladığını göstermektedir (173). VDR transkripsiyon geninin bozulması durumunda yüksek renin üretimi, kardiyak hipertrofi ve yüksek kan basıncı gözlenmesi ile sonuçlandığı belirlenmiştir (174). D vitamini reseptörünün baskılandığı bir başka çalışmada ise sistemik ve kardiyak RAAS' nin altında yatan bir aktivasyondan kaynaklanan hipertansiyon ve kardiyak hipertrofi durumunun meydana geldiği gözlenmiştir (175). Hipertansiyon üzerinde etkili olan bir diğer etki şekli endotelial yapı üzerinden gerçekleşmektedir. Endotelial fonksiyon ve vasküler geçirgenlik üzerinde D vitamininin etkisinin genomik ve non-genomik her iki mekanizma ile de gerçekleştiğini ifade etmek mümkündür. Endotel üzerindeki etkiyi hücresel seviyede görmek mümkündür. Bu noktada endotel dokunun stabilizasyonunun D vitamini alımından direk olarak etkilendiği belirlenmiştir. 1,25(OH)₂D₃ endotelial nitrik oksit sentazın (eNOS) transkripsiyonel regülasyonundan sorumludur. Regülasyon vitaminin alımından sonraki ilk 1 dk içerisinde gerçekleşmektedir. Bu sürede adenilil siklaz/siklik adenosin monofosfat (AC/cAMP) ve inositol trifosfat/diasilgliserol (IP₃/DAG) yollarını içeren hücre içi ikinci haberci yolları aracılığıyla eNOS aktivitesini arttırdığı ve bunun da hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasına neden olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra VDR'nin de fosfoinositid 3-kinaz/protein kinaz b (PI3K/Akt) yolu aracılığıyla eNOS'u da aktive ederek etki ettiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Üremik hayvan çalışması 1,25(OH)₂D₂ formunun vasküler-endotelial-kaderin bağımlı hücresel bağlantıları desteklediği ve F-aktin stresine bağlı organizasyonel yapılanmayı engellediği belirlenmiştir (176). Yapılan araştırmalarla birlikte D vitamini eksikliği olan hastalarda hipertansiyon ve KVK

riskinde artış tespit görüldüğü belirlenmiştir (158). Krause ve ark., 3 ay süresince haftada 3 kez bir bronzlaşma yatağında UVB radyasyonuna maruz kalmanın artmasının 25(OH)D seviyelerinde %180 artışa ve hem diyastolik hem de sistolik basınçlarda 6 mm Hg azalmaya yol açtığını göstermiştir (177). Klinik çalışmalar D vitamini takviyesinin hipertansiyon riskini azalttığı gösterilmiştir. D vitamininin, RAAS üzerindeki inhibisyon etkisi kalbin kontraktilite ve hipertrofi artışını önleyerek muhtemelen de miyokard infarktüsü ve ani kardiyak ölümden kaynaklanan mortalitenin azaltılmasını sağlamaktadır (178).

Kardiyovasküler hastalıklar açısından D vitaminin etkili olduğu bir diğer nokta sekonder hiperparatroidizme neden olmasıdır. Sekonder hiperparatroidizm üç farklı mekanizmayı kullanarak kardiyovasküler hastalıklara neden olabilmektedir. Bunlardan ilki kişinin insülin direnci ve β - hücre disfonksiyonu ile metabolik sendrom ve diyabet aracılığı ile KVH meydana gelmesidir. İkinci mekanizma RAS sistemi aracılığı ile kardiyak fibrozis ve miyosit apoptozuna yol açmasıdır. Üçüncü ve son mekanizma ise sistemik ve vasküler inflamasyonu stimüle etmesidir (169).

Koroner kalp hastalığının D vitamini seviyesi ile doğrudan bağlantılı olduğu görünmektedir. Prospektif olarak gerçekleştirilmiş olan bir çalışmada kadınlarda >47.7 nmol/L seviyesinde olan koroner kalp hastalığı riskinin azaldığı belirlenmiştir. Benzer bir çalışma düşük 25(OH)D konsantrasyonlarının beyaz ve Çinli katılımcılarda koroner kalp hastalığı riskinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (169).

D vitamini eksikliği, inflamasyonun artmasına, inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun artmasına ve VDR'nin (D vitamini reseptörü) ekspresyonu ve aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır. Bu durum, kolajen kaybına, fibroze, artan oksidatif strese, artan inflamasyona, enfeksiyonlara karşı artan hassasiyete ve azaltılmış koruyucu mekanizmalara yol açan inflamatuvar sinyalleme kaskadlarının gelişmiş etkileşimine neden olmaktadır (172). VDR aracılığıyla vitamin D makrofaj, T ve B lenfositler ve de dendritik hücreler olmak üzere bağışıklık hücrelerini inhibe edebilmektedir (179). Yapılan bir çalışmada D vitamini desteği alan bireylerde de düşük seviyede Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α) analiz edildiği belirlenmiştir. Bununla birlikte kontrol ve plasebo grupları ile IL10 ve IL6 seviyelerinde anlamlı bir farklılık görülmediği ifade edilmiştir (180). Literatürde

yer alan araştırmaların bir bölümü D vitamininin immünomodülatör etkilerinin, interlökin 10'un (IL-10) indüksiyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. IL-10 en güçlü anti-inflamatuar sitokin olarak bilinmektedir. IL-10'un uyarılması, hem T-yardımcı 1 (Th1) hem de Th2 aktivitesinin inhibisyonuna yol açması nedeni ile önem kazanmaktadır. IL-10, inflammatuar süreçlerdeki etkisinin azalması, enterik antijenler tarafından indüklenen çok sayıda inflammatuar yanıtla sonuçlanabilmektedir. Bununla birlikte D vitamininin immünomodülatör etkileri IL-10 indüksiyonu ile sınırlı olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. IL-6 ve yüksek duyarlı C-reaktif proteinin (hs-CRP) D vitamini ile negatif korelasyon gösterdiği yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (181).

D vitamininin miyokard enfarktüsü, tromboz ve ateroskleroz gibi çeşitli inflammatuar süreçlerin inhibisyonunu desteklediği düşünülmektedir (182). KVH'lere ağırlıklı olarak büyük ve orta büyüklükteki arterlerdeki aterosklerotik birikintiler neden olmaktadır. Lipid birikimi ve inflamasyonun yanı sıra kalsifikasyon da ileri aterosklerotik lezyonların önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir. D vitamini, yüksek kalsiyum alımı varlığında kalsiyum emilimini artırma potansiyeline sahip olduğundan vasküler kalsifikasyonu artırabileceği ve bunun sonucunda KVH riskini artırabileceği olası kabul edilmektedir. Bu etkinin D vitamini eksikliğinde de benzer şekilde görülebildiği belirlenmiştir (169). Ayrıca D vitamininin IL1, IL6, IL8 ve TNF- α ekspresyonunu azaltarak ateroskleroz patofizyolojisini etkilediği düşünülmektedir. Aterosklerozun önemli sonuçlarından biri, koroner arterin akut tıkanmasına ve sonuç olarak miyokard enfarktüsünün (MI) gelişmesine neden olan plak bozulmasıdır. Deneysel çalışmalar, MI gelişiminde D vitamininin rolüne ilişkin çelişkili kanıtlar olduğunu göstermişlerdir (183).

1.10.4. Vitamin D ve Akut Miyokard İnfarktüsü

Akut miyokard infarktüsü gelişimi için bilinen, en çok tanınan risk faktörlerinin yanı sıra, potansiyel yeni risk faktörleri ortaya çıkmaktadır. Bunlar arasında, D vitamini eksikliği, son zamanlarda odaklanılan bir konu olmuştur. D vitamini yetersizliği veya eksikliğinin genel popülasyonda oldukça yaygın olduğu da iyi bilinmektedir (184, 185). Yapılan bir çalışmada, stabil anginalı, AMİ'li ve sağlıklı deneklerde D vitamini düzeyleri incelenmiş ve angina veya AMİ'li

hastalarda D vitamini seviyelerinin kontrollere kıyasla belirgin şekilde düşük olduğunu bulmuştur (186). Erkeklerde 25-Hidroksi-D Vitamini ve miyokard enfarktüsü riskine ilişkin prospektif bir çalışma yapılmıştır. Sağlık Profesyonelleri takip çalışmasında 18.225 erkekte, düşük D vitamini seviyeleri, diğer kardiyovasküler risk faktörlerine bakıldıktan sonra ve 10 yıllık takipte normal D vitamini olanlarda bile daha yüksek AMI riski ile ilişkilendirildi. Bu çalışma, MI riskini azaltmak için optimal 25(OH)D düzeylerinin en az 30 ng/mL olması gerektiğine dair kanıt sağlamıştır (187).

VDR kalsiyum homeostazını düzenler, antiaterosklerotik etki gösterebilir, renin sistemini baskılayabilir ve miyokardiyal hipertrofi ve kalp yetmezliğinin yanı sıra koroner arter hastalığına karşı koruma sağlayabilir (188, 189). VDR geninin polimorfizmleri veya genetik varyasyonları MI'ı pozitif olarak öngörebilir (190). Ayrıca, doğal ve sentetik agonistler tarafından miyokardiyal iskemi/reperfüzyondan sonra fare kalbindeki endojen VDR ekspresyonunun artması ve miyokard enfarktüsü boyutunda azalma, artmış VDR' nin koruyucu rolünü ortaya koymaktadır. VDR aktivasyonunun kardiyoprotektif etkisi ile endoplazmik retikulum stresi inhibe edilir, mitokondriyal bozulma azaltılır, otofaji disfonksiyonu azaltılır ve kardiyomiyosit apoptozu azaltılır. Ayrıca başka bir çalışmada VDR agonistleri ile tedavinin enfarktüs boyutlarını önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (191).

Ateroskleroz ve trombüs ve emboli oluşumu MI için başlıca risk faktörleridir. İnflamasyon, bu risk faktörlerinin patogenezinde ve post-miyokardiyal yeniden şekillenmede önemli rol oynar. D vitamini eksikliği artmış inflamasyon, proinflamatuvar sitokinler ve ateroskleroz ile ilişkilidir ve D vitamini takviyesi bu faktörleri azaltabilir (192). Yaşamın erken evrelerinde Vitamin D eksikliği arteriyel kan basıncını artırır, vasküler oksidatif stresi artırır ve kardiyak gen ekspresyonunda değişikliklere neden olur (193). D vitamini eksikliği aynı zamanda daha fazla inflamasyonu destekleyen bir sitokin profili (örn. daha yüksek CRP, IL-6 ve düşük IL-10) ile ilişkilendirilmiştir ve bu da yüksek MI riskine zemin hazırlayabilir (194). Bu nedenle D vitamini eksikliği MI'da rol oynayabilir. Akut MI hastalarında yüksek D vitamini eksikliği prevalansı tarafından da desteklenmektedir (195, 196).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Fırat Üniversitesi (F.Ü.) Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan 04/11/2020 tarihli ve 420957 sayılı yazıda 2020/13 nolu karar ile onay alınmıştır. Çalışmanın deneysel kısmı F.Ü. Deney Hayvanları Merkezi (FÜDAM) biriminden temin edilen Wistar Albino cinsi sıçanlar kullanılarak FÜDAM ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yürütülmüştür.

Çalışmada Kullanılan Hayvanların Beslenmeleri ve Barındırılmaları

Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜDAM) 8-10 haftalık 42 adet Wistar Albino erişkin erkek sıçan temin edildi. Işık düzeni 12 saat aydınlık-12 saat karanlık (07:00-19:00 arası aydınlık) olacak şekilde ayarlandı. Hayvanlara yem ve su ad libitum verildi. Hayvanlar üzerinde yürütülen tüm çalışmalarda hayvanların bakımı ve kullanılmasına ilişkin etik kurallara uygun hareket edildi.

2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Sıçanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde rastgele 6 gruba ayrıldı:

- 1- Kontrol grubu:** Bu gruptaki sıçanlara, 14 günlük deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı.
- 2- MI grubu:** Bu gruptaki sıçanlara, 200 mg/kg ISO (Isoproterenol hydrochloride, I5627, Sigma-Aldrich Corporation St. Louis, USA), 24 saat ara ile 2 kez subkutan (s.c.) olarak verildi, bunun dışında deney süresince başka uygulama yapılmadı.
- 3- NRD grubu:** Bu gruptaki sıçanlara, 14 günlük deney süresince mısır özü yağında çözündürülmüş 100 mg/kg/ gün dozunda Nerolidol oral gavaj yöntemi ile uygulandı.
- 4- MI + NRD grubu:** Bu gruptaki sıçanlara, 200 mg/kg ISO (Isoproterenol hydrochloride, I5627, Sigma-Aldrich Corporation St. Louis, USA), 24 saat ara ile 2 kez subkutan (s.c.) olarak verildi ve 14 günlük deney süresince

mısırözü yağında çözdürülmüş 100 mg/kg/ gün dozunda Nerolidol oral gavaj yöntemi ile uygulandı ve bunun dışında deney süresince başka uygulama yapılmadı.

5- VİT D grubu: Bu gruptaki sıçanlara, 14 günlük deney süresince 50 IU/gün dozunda Vitamin D oral yolla, damlalık aracılığıyla uygulandı.

6- MI + VİT D grubu: Bu gruptaki sıçanlara, 200 mg/kg ISO (Isoproterenol hydrochloride, I5627, Sigma-Aldrich Corporation St. Louis, USA), 24 saat ara ile 2 kez s.c. olarak verildi ve 14 günlük deney süresince 50 IU/gün dozunda Vitamin D oral yolla, damlalık aracılığıyla uygulandı.

2.2. Deneyin Sonlandırılması ve Doku Örneklerinin Alınması

Bu çalışmada ISO 200 mg/kg olacak şekilde 2 doz subkutan olarak uygulandıktan sonra deneyin 48.saatinde tüm deney hayvanlarının kuyruk venlerinden alınan kanlar santrifüj edilip, elde edilen serumlardan kardiyak belirteçlere bakıldı. 14 günlük deney süresi sonunda tüm gruplardaki sıçanlardan ksilazine (10 mg/kg) ve ketamine (75 mg/kg) anestezisi altında intrakardiyak olarak kan alındı ve hayvanlar dekapite edildi.

Kalp dokuları hızlıca çıkarıldı ve fiksasyon amacıyla %10'luk formaldehit solüsyonu içerisine alındı. Alınan kan örnekleri 3500 rpm'de 5 dakika santrifüjlenerek serum örnekleri hazırlandı. Elde edilen serum örnekleri ependorf tüplere konularak biyokimyasal değerlendirmeler için -80 °C'de çalışma gününe kadar muhafaza edildi.

2.3. Histolojik Değerlendirmeler

%10'luk formaldehit solüsyonuna alınarak fikse edilen kalp dokuları fiksasyon süresi sonunda akan musluk suyu altında yıkandı. Yıkanan dokular rutin histolojik takip serilerinden (Tablo 1) geçirilerek dehidrate edildi. Dehidratasyondan sonra ksilolde parlatılan dokulara 58°C'lik etüvde parafin infiltrasyonu yapıldı. İnfiltrasyon süresi sonunda dokular parafine (P3558, Sigma-Aldrich, ABD) gömüldü. Bu parafin bloklardan mikrotom (LEİCA RM2125RT) aracılığıyla 5 µm kalınlığında kesitler histopatolojik değerlendirmeler için rodajlı

lamlara ve immünohistokimyasal boyamalar için ise polilizinli lamlara alındı. Rodajlı lamlara alınan kesitler, histopatolojik değişikliklerin incelenmesi için Hematoksilen- Eozin (H&E) boyası ile kalp dokularında fibrozisi göstermek için ise Masson Trichrome boyası ile boyandı. Boyanan dokular ışık mikroskobu altında (Leica DM 500) incelendi ve fotoğraflandı (DFC295; Leica, Wetzlar, Germany).

Hematoksilen- Eozin ve Masson Trichrome boyaları uygulanan preparatlarda eritrosit ekstrevasyonu, nekrotik kas lifleri ve fibrozis açısından incelenip her bir hayvan için histopatolojik değerlendirme skoru oluşturuldu (0: yok; 1: az; 2: orta; 3: şiddetli) (197).

Tablo 1. Histolojik Takip Prosedürü

Takip Prosedürü		
Sıra	İşlem	Süresi
1	% 70 Alkol	2 saat
2	% 80 Alkol	1 saat
3	% 90 Alkol	1 saat
4	% 96 Alkol I	1 saat
5	% 96 Alkol II	1 saat
6	% 100 Alkol I	1 saat
7	% 100 Alkol II	1 saat
8	Ksilol I	1 saat
9	Ksilol II	1 saat
10	Ksilol + Yumuşak parafin	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin+ Sert parafin	1.5 saat
13	Sert parafin	3 saat
13	Gömme (Bloklama)	

2.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Kalp dokusunda Meteorin like protein (METRNL) ve Asprosin immünreaktivitelerinin belirlenebilmesi için avidin-biotin-peroksidaz kompleks

yöntemi ile immünohistokimyasal boyamalar yapıldı. Bu amaçla polilizinli lamlara alınan kalp kesitleri deparafinize edildi.

Deparafinize edilen kesitler dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Formaldehit ile doku fiksasyonu esnasında oluşan çapraz bağları yıkmak için (antigen retrieval), kesitler sitrat tamponu (pH:6) içerisinde mikrodalga fırında (750 W) 12 dk kaynatıldı. Dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA)' e alınıp oda ısısında soğutuldu, dokuların etrafı hidrofobik kalemle (PatoLab Hydrophobic PAP PEN) sınırlandırıldı. Daha sonra kesitlere endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksit bloker solüsyonu (TA-125-H2O2Q, Thermo Scientific, USA) ile muamele edildi. PBS ile yıkanan kesitlere zemin boyanmasını engellemek için Ultra V Block (Ultra V Block, TA-125-UB, Thermo Scientific, USA) solüsyonu damlatıldı. Bekleme süresi sonunda yıkama işlemi yapılmaksızın kesitler 1:200 oranında dilüe edilen primer antikorlar (Anti-asprosin antikor, FNab09797, Fine Test, CHINA ve METRNL Poliklonal Antikor, PA5-38043, Invitrogen, USA) ile nemli ortam kabında oda sıcaklığında 60 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası PBS ile yıkanan kesitlere sekonder antikor (TP-125-BN, Thermo Scientific, USA) damlatıldı. Sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS içerisinde yıkanan kesitlere Streptavidin Horse Radish Peroxidase (TS-125-HR Thermo Scientific, USA) damlatıldı ve oda sıcaklığında nemli ortamda 30 dk inkübasyon sağlandı. Sonra dokulara AEC (3-Amino-9-ethyl carbazole), (TA-060-HA, Lab Vision Corporation, USA) Substrate+AEC Chromogen solüsyonu damlatıldı ve ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra reaksiyon PBS ile sonlandırıldı. Hematoksilen ile zıt boyama yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldıktan sonra ışık mikroskobu altında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde; immün boyanmanın yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4: %26-50, 0.6: %51-75, 0.9: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu (Histoskor= yaygınlık x şiddet).

Tablo 2. İmmünohistokimyasal Boyama Prosedürü

	İşlem	Süre
1	Ksilol I	10 dakika
2	Ksilol II	10 dakika
3	Ksilol III	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	% 70 Alkol	10 dakika
8	Distile Su / PBS	5 dakika
9	Antijen Retrieval	7x5 dakika
10	Oda Isısında Soğutma	20 dakika
11	Dokuların etrafı kalemle (PAP PEN) çizilerek sınırlandırılır.	
12	PBS	3x5 dakika
13	H2O2 bloker	5 dakika
14	PBS	3x5 dakika
15	UV block	5 dakika
16	Primer Antikor	60 dakika oda ısısı
17	PBS	3x5 dakika
18	Sekonder Antikor	30 dakika
19	PBS	3x5 dakika
20	Streptavidin HRP (Horse radish peroksidaz)	30 dakika
21	PBS	3x5 dakika
22	AEC	5-20 dakika
23	Distile Su	5 dakika
24	Harris Hematoksilen	10 saniye
25	Yıkama	5 dakika
26	Kapatma	

2.5. ELISA yöntemi Asprosin, Meteorin Like Protein, TAS ve TOS Düzeylerinin Ölçümü

Serum asprosin düzeyleri Rat Asprosin ELISA kiti (SunRed. Katalog no: 201-11-2025, ÇİN), Serum Meteorin-like Protein düzeyleri ise Rat Meteorin-like protein(METRNL) ELISA kiti (SunRed. Katalog no: 201-11-2697, CHINA)kullanılarak, üretici firma önerileri doğrultusunda kit prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar (Thermo Fischer, MultiScan, GERMANY) ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm’de okutuldu. Sonuçlar ng/mg olarak ölçüldü. Asprosin için kitin ölçüm aralığı 25-5000pg/ml, hassasiyeti 20.625pg/ml idi. Meteorin like Protein için kit ölçüm aralığı 0.08-20ng/mL, hassasiyeti 0.071ng/ml idi.

Serum TAS düzeyleri Rat (TAS) ELISA kiti (Sunred, Katalog no:201-11-2672, CHINA), serum TOS düzeyleri ise Rat (TOS) ELISA kiti (SunRed. Katalog no: 201-11-1669, CHINA) kullanılarak, üretici firma önerileri doğrultusunda kit prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar (Thermo Fischer, MultiScan, GERMANY) ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm’de okutuldu. Sonuçlar U/ml ve nmol/ml olarak ölçüldü. TAS için kitin ölçüm aralığı 0.2-60 U/ml, hassasiyeti 0.175 U/ml idi. TOS için kit ölçüm aralığı 0.1-20nmol/mL, hassasiyeti 0.073 nmol /mL idi.

2.6. Biyokimyasal Analiz

Serum Troponin I ölçümleri elektrokemilüminesans yöntemiyle, CK-MB ölçümleri spektrofotometrik olarak otoanalizör ile ve TAS, TOS, Asprosin ve METRNL düzeyleri ELISA yöntemi ile üretici firmanın prosedürüne uygun biçimde yapıldı.

2.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada istatistiksel değerlendirme; Fırat Üniversitesi Lisanslı IBM SPSS 22.0 paket program kullanılarak yapıldı. Sayısal veriler median (minimum – maksimum) olarak belirtti. Genel karşılaştırmada ikiden fazla grup için Kruskal Wallis testi kullanıldı. İkili gruplar arasındaki karşılaştırmalarda ise Kruskal Wallis’ten sonra post-hoc Dunn testi kullanıldı. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Bulgular

3.1.1. Kardiyak Belirteç Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum Troponin I ve CK-MB değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NRD grubunda Troponin I, CK-MB düzeylerinde sırasıyla ($p=0,877$, $p=0,939$) ve VİTD grubunda Troponin I, CK-MB düzeylerinde sırasıyla ($p=0,808$, $p=0,760$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, MI grubunda Troponin I, CK-MB düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p<0,001$, $p=0,001$). MI grubu ile karşılaştırıldığında ise MI+NRD grubunda Troponin I, CK-MB düzeylerinde sırasıyla ($p=0,597$, $p=0,819$) ve VİTD grubunda Troponin I, CK-MB düzeylerinde sırasıyla ($p<0,001$, $p=0,002$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi.

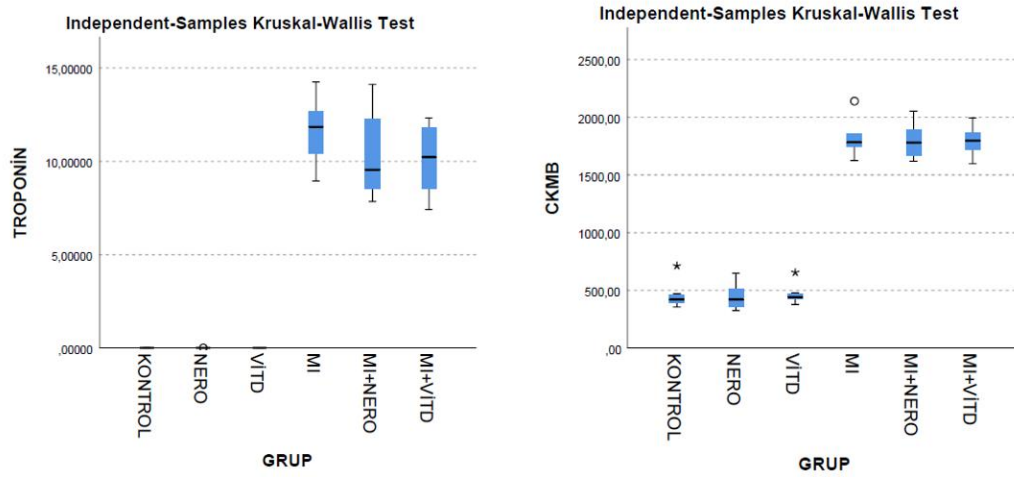
Tablo 3. Serum Troponin I, CK-MB

	KONTROL	NRD	VİTD	MI	MI+NRD	MI+VİTD	p*
	Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	
Troponin I ($\mu\text{g/L}$)**	0,000 (0,000- ,007)	0,000 (0,000- ,007)	0,000 (0,000- ,004)	11,850 ^a (8,950- 14,250)	9,540 (7,850- 14,120)	10,230 (7,410- 12,320)	<0,001
CK-MB (U/L)**	421,00 (356,00- 712,00)	421,00 (325,00- 648,00)	441,00 (378,00- 654,00)	1785,00 ^a (1625,00- 2141,00)	1781,00 (1621,00- 2054,00)	1796,00 (1598,00- 1995,00)	<0,001

Değerler median, min-max olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0,05$)

*:Kruskal-Wallis Test, **: Dunn-Bonferroni Test



Şekil 1: Grupların serum Troponin I ve CK-MB düzeylerinin karşılaştırılması

3.1.2. Serum Total Oksidan Status (TOS) Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum TOS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NRD ($p=0,948$) ve VİTD ($p=0,870$) gruplarında TOS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, MI grubunda TOS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p=0,001$). MI grubu ile karşılaştırıldığında ise MI+NRD ($p=0,003$) ve MI+VİTD ($p<0,001$) gruplarında TOS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi (Tablo 4).

3.1.3. Serum Total Antioksidan Status (TAS) Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum TAS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NRD ($p=0,513$) ve VİTD ($p=0,184$) gruplarında TAS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, MI grubunda TAS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi ($p=0,001$). MI grubu ile karşılaştırıldığında ise MI+NRD ($p=0,003$) ve MI+VİTD ($p=0,001$) gruplarında TAS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (Tablo 4).

Tablo 4. Serum TOS ve TAS Düzeyleri

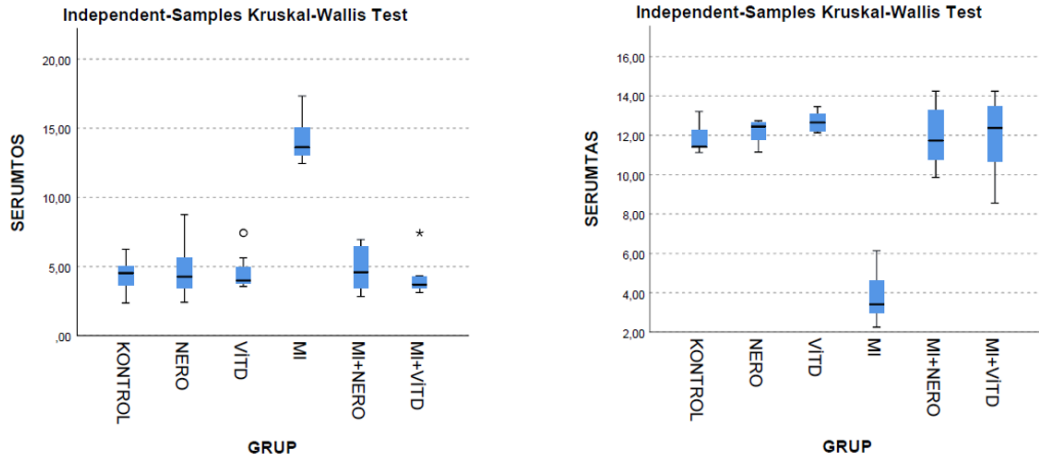
	TOS (nmol/ml)	TAS (u/ml)
	Median (min-max)**	Median (min-max)**
KONTROL	4,52 (2,36-6,25)	11,42(11,12- 13,21)
NRD	4,26(2,41- 8,74)	12,45(11,14- 12,74)
VİTD	3,98(3,56- 7,42)	12,65(12,14- 13,46)
MI	13,62(12,45- 17,32) ^a	3,42(2,25- 6,13) ^a
MI+NRD	4,58(2,82- 6,95) ^b	11,74(9,85- 14,25) ^b
MI+ VİTD	3,68(3,12- 7,42) ^b	12,37(8,56- 14,24) ^b
p*	0,003	0,002

Değerler median, min-max olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b MI grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0,05)

*:Kruskal-Wallis Test, **: Dunn-Bonferroni Test

**Şekil 2:** Grupların serum TOS ve TAS düzeylerinin karşılaştırılması

3.1.4. Serum Asprosin Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum Asprosin düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NRD (p=0,777) ve VİT D (p=0,862) gruplarında Asprosin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, MI grubunda Asprosin düzeylerinde

istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p=0,003$). MI grubu ile karşılaştırıldığında ise MI+NRD ($p<0,001$) ve MI+VİT D ($p=0,001$) gruplarında Asprosin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi.

3.1.5. Serum Meteorin Like Protein Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum Meteorin like protein düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NRD ($p=0,845$) ve VİT D ($p=0,862$) gruplarında Meteorin like protein düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, MI grubunda Meteorin like protein düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi ($p=0,002$). MI grubu ile karşılaştırıldığında ise MI+NRD ($p=0,004$) ve MI+VİT D ($p<0,001$) gruplarında Meteorin like protein düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (Tablo 3).

Tablo 5. Serum Asprosin ve Meteorin like protein Düzeyleri

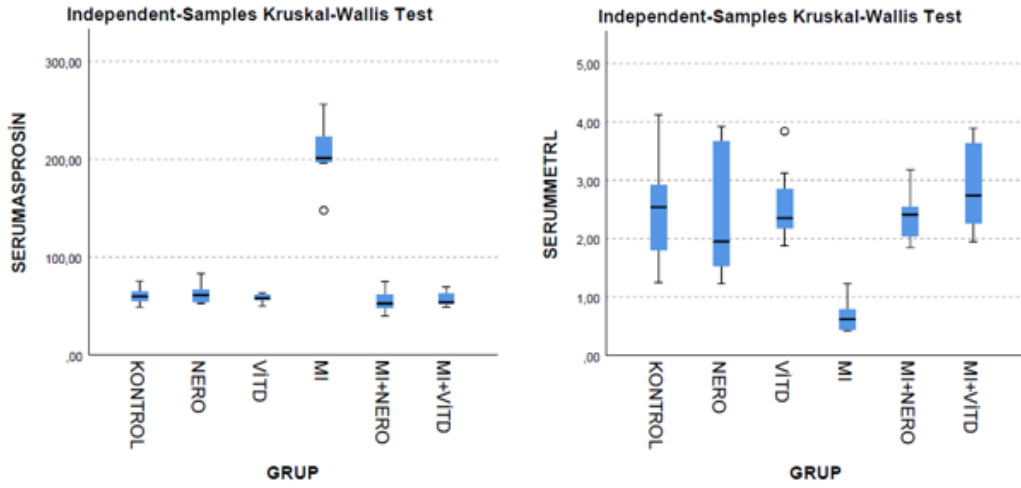
	Asprosin (pg/ml) Median (min-max)**	Meteorin Like Protein (ng/ml) Median (min-max)**
KONTROL	59,67(48,62- 75,32)	2,54(1,25- 4,12)
NRD	61,21(52,61- 83,14)	1,95(1,23- 3,92)
VİTD	57,82(49,68- 63,21)	2,35(1,88- 3,84)
MI	201,16(147,62- 256,39) ^a	0,62(0,42- 1,23) ^a
MI+NRD	52,38(39,62- 75,01) ^b	2,41(1,85- 3,18) ^b
MI+ VİTD	53,62(48,85- 69,41) ^b	2,74(1,95- 3,89) ^b
p*	0,002	0,003

Değerler median, min-max olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b MI grubu ile karşılaştırıldığında, ($p<0.05$)

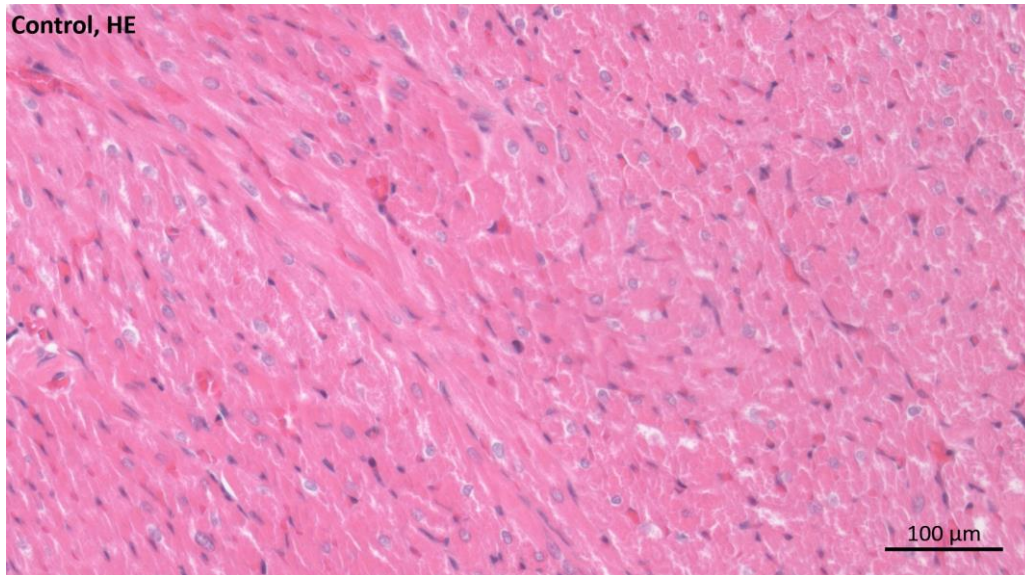
*:Kruskal-Wallis Test, **: Dunn-Bonferroni Test



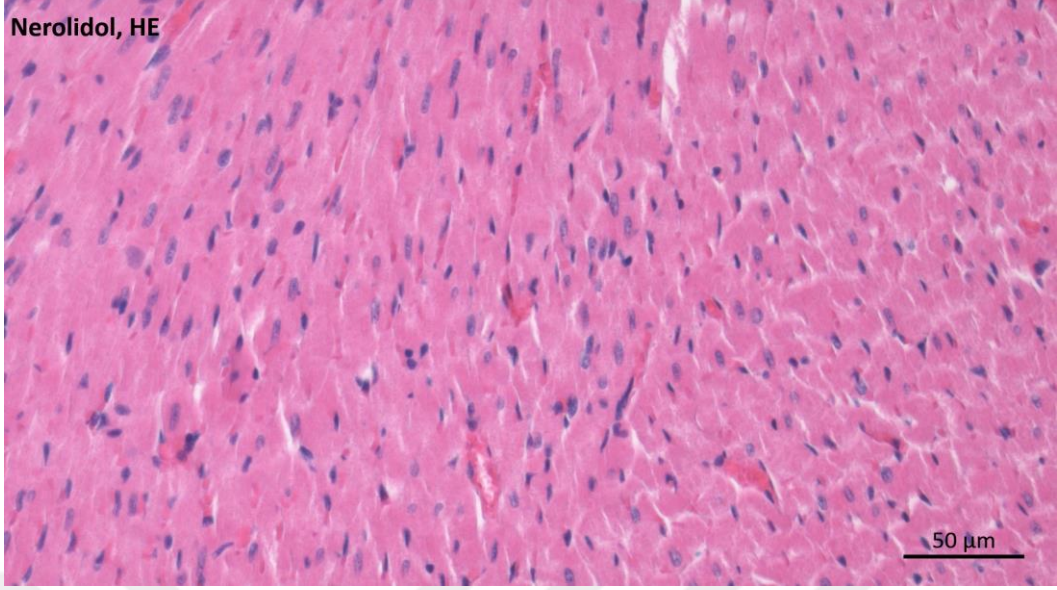
Şekil 3: Grupların serum Asprosin ve METRNL düzeylerinin karşılaştırılması

3.2. Histolojik Bulgular

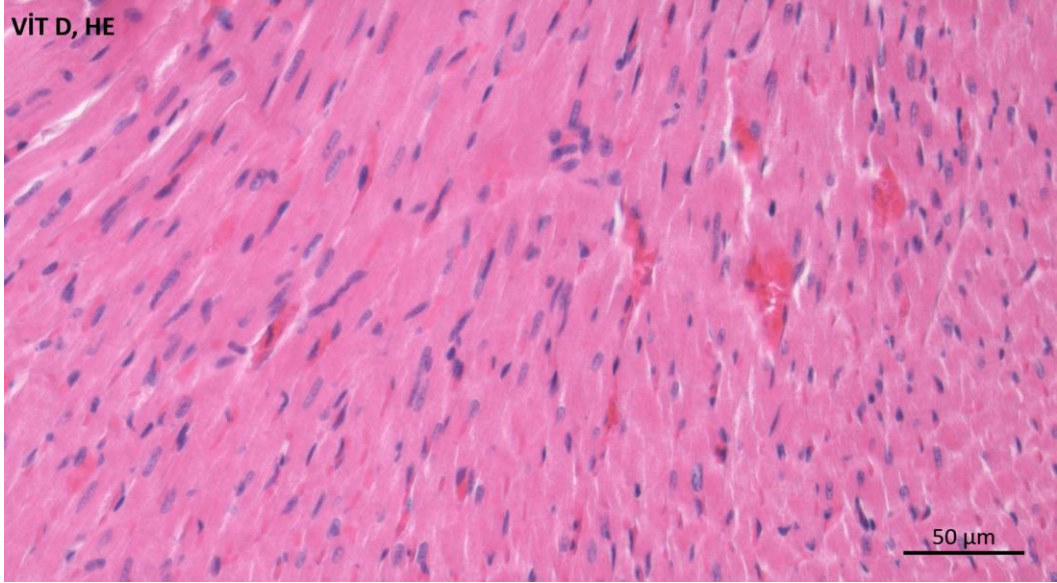
Hematoxilen&Eozin ve masson trikrom ile boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu, tüm gruptaki kalp dokuları; eritrosit ekstravazasyonu (mavi ok), nekrotik kas lifleri (siyah ok) ve fibrozis (yeşil ok başı) açısından incelenip her bir hayvan için histopatolojik değerlendirme skoru oluşturularak istatistiksel analizleri yapıldı (Tablo 6, 7), (Şekil 1-12)



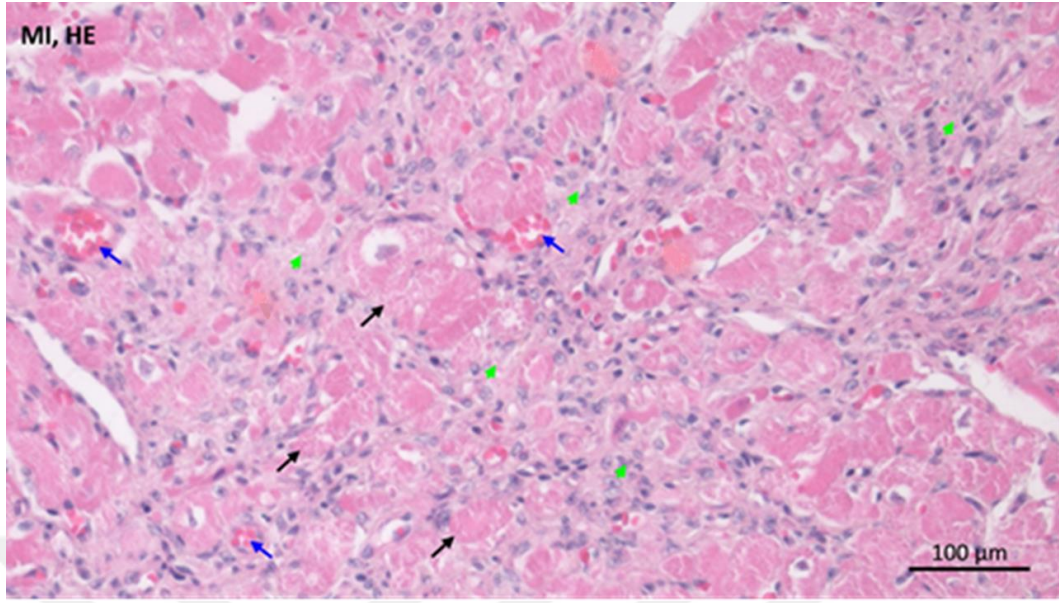
Şekil 4: Kontrol grubuna ait normal görünümlü kalp dokusu (H&E).



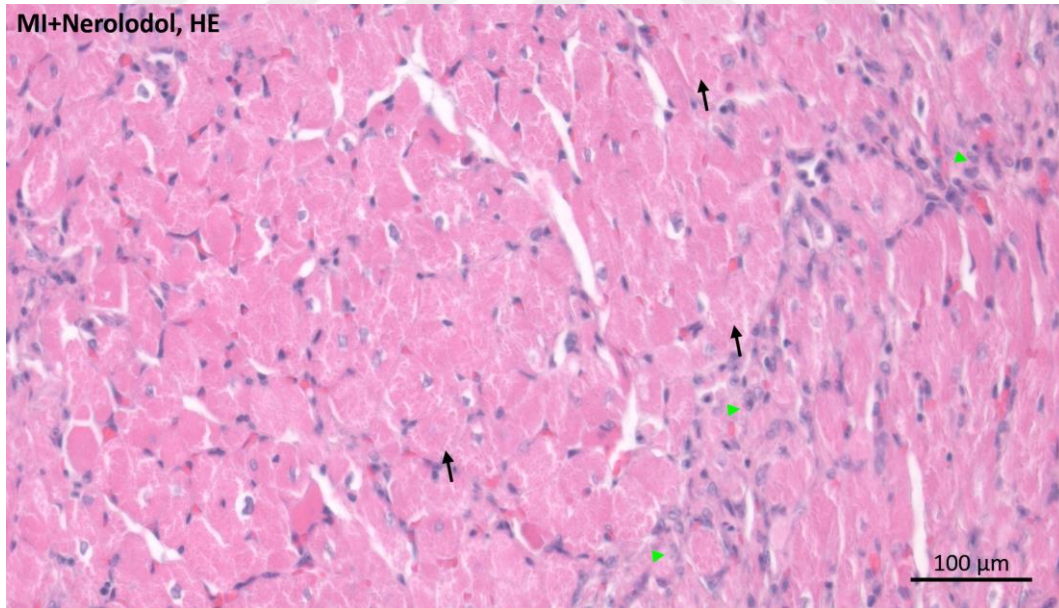
Şekil 5: Nerolidol grubuna ait normal görünümlü kalp dokusu (H&E).



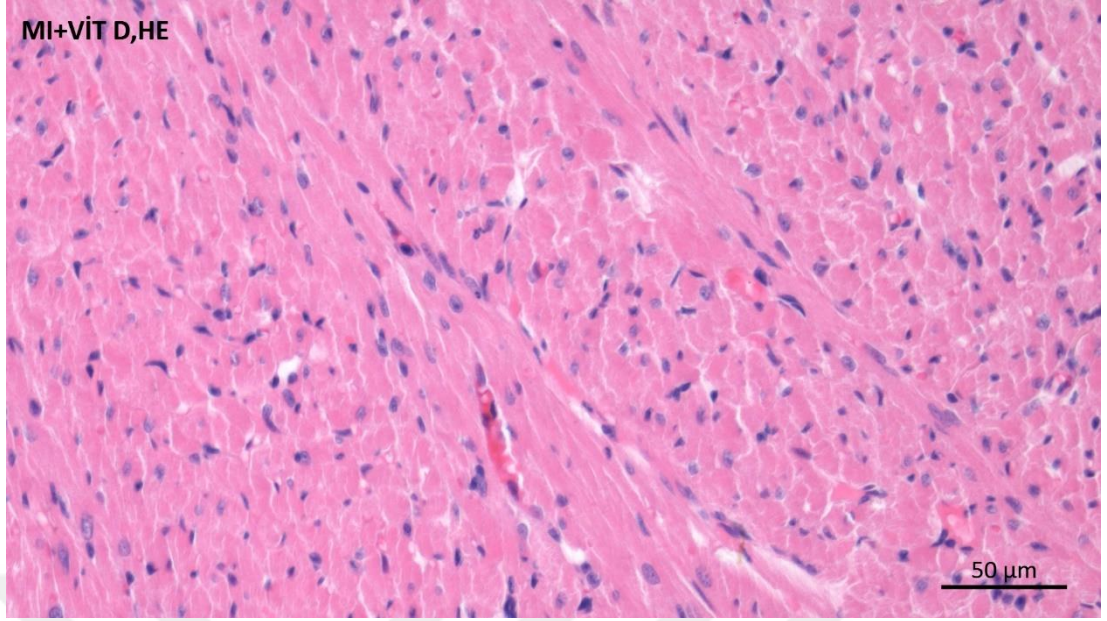
Şekil 6: Vitamin D grubuna ait normal görünümlü kalp dokusu (H&E).



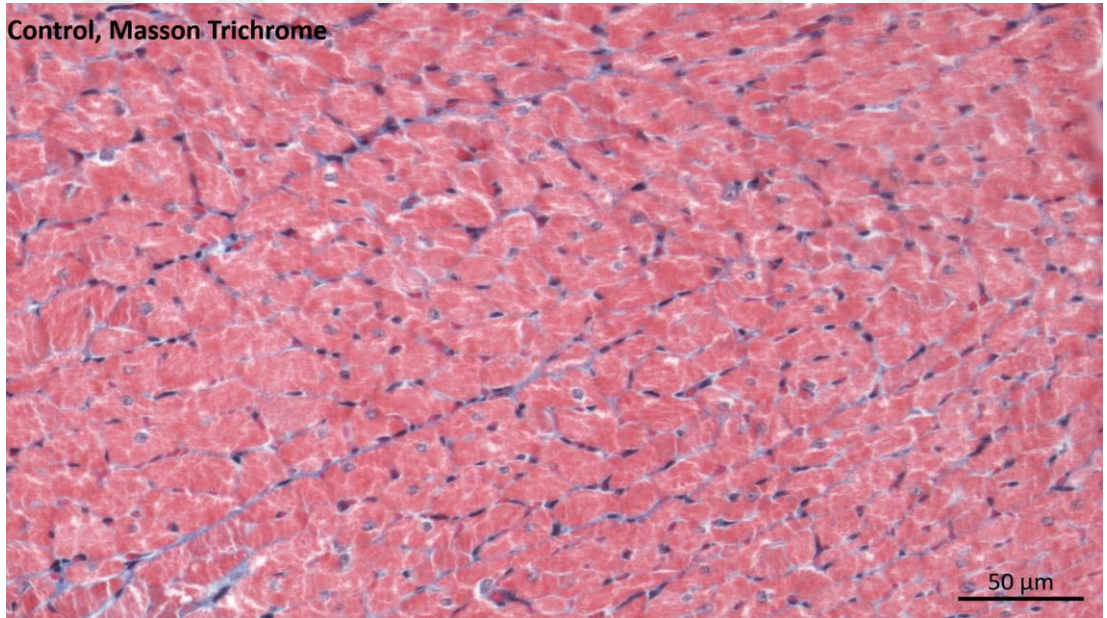
Şekil 7: MI grubuna ait kalp dokusundaki patolojik değişiklikler nekrotik kas lifleri (siyah ok), eritrosit ekstrasvazasyonu (mavi ok) ve fibrozis (yeşil ok başı) (H&E).



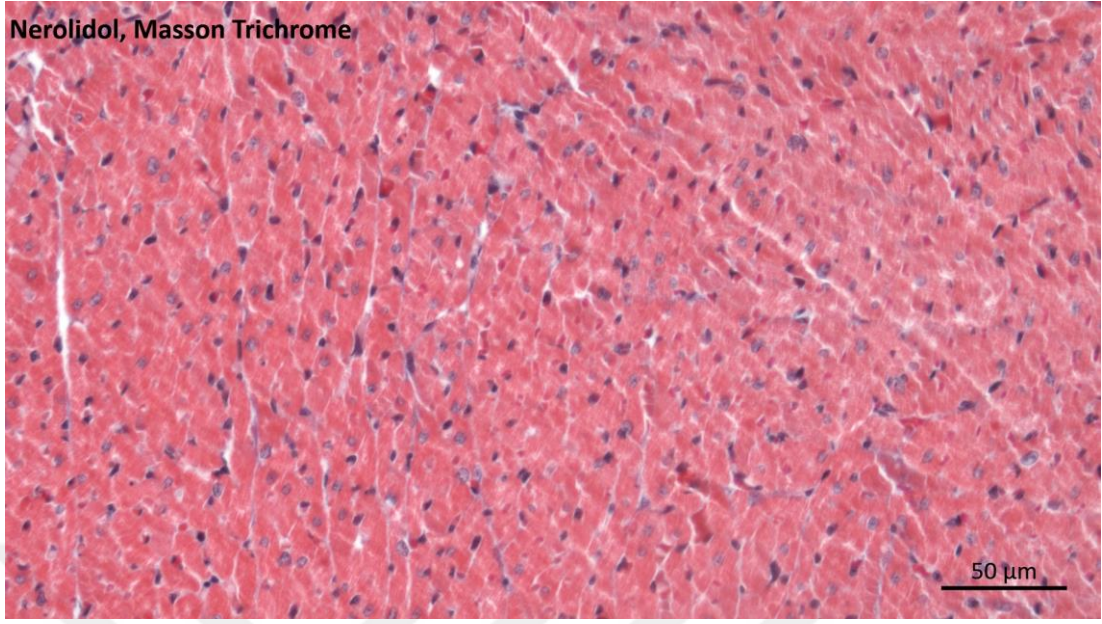
Şekil 8: MI+ NRD grubuna ait kalp dokusu. Nekrotik kas lifleri (siyah ok), fibrozis (yeşil ok başı) (H&E).



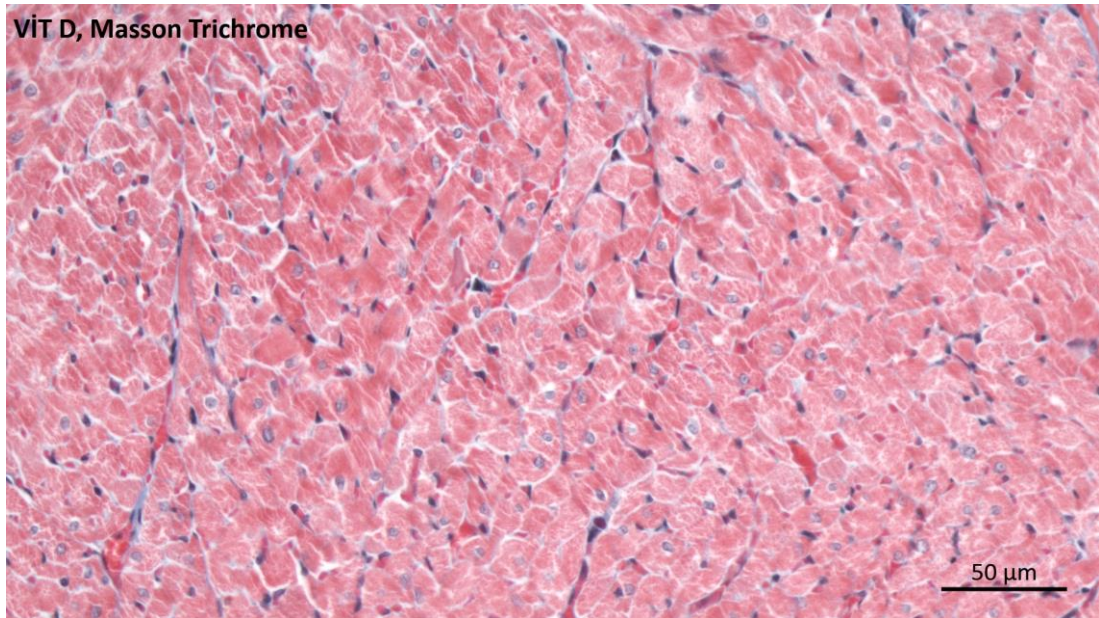
Şekil 9: MI+Vitamin D grubuna ait kalp dokusu (H&E).



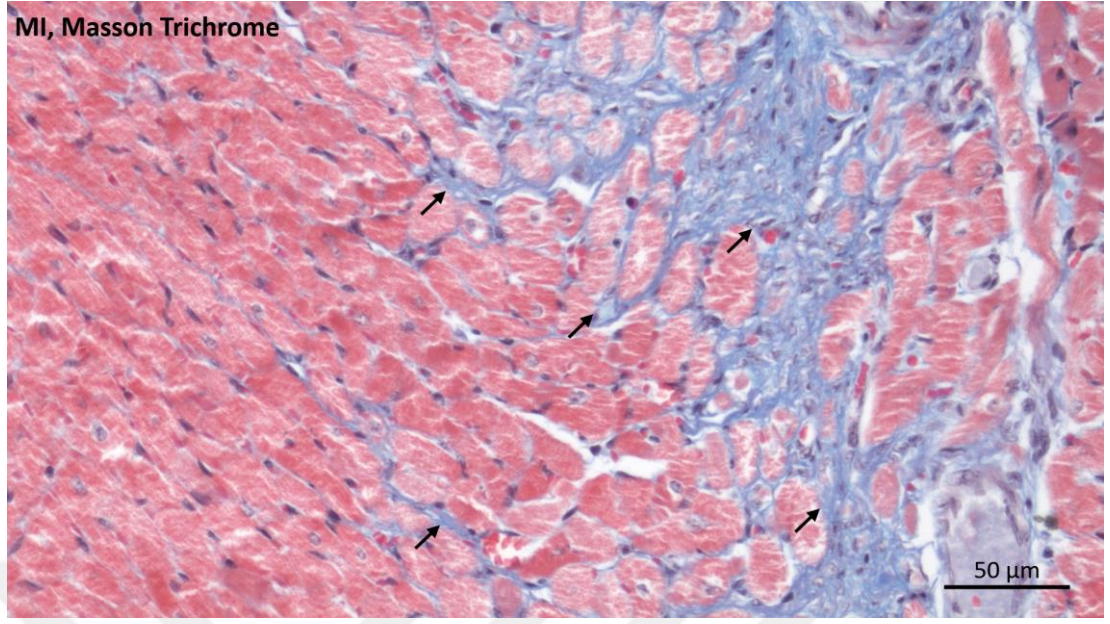
Şekil 10: Kontrol grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikröm).



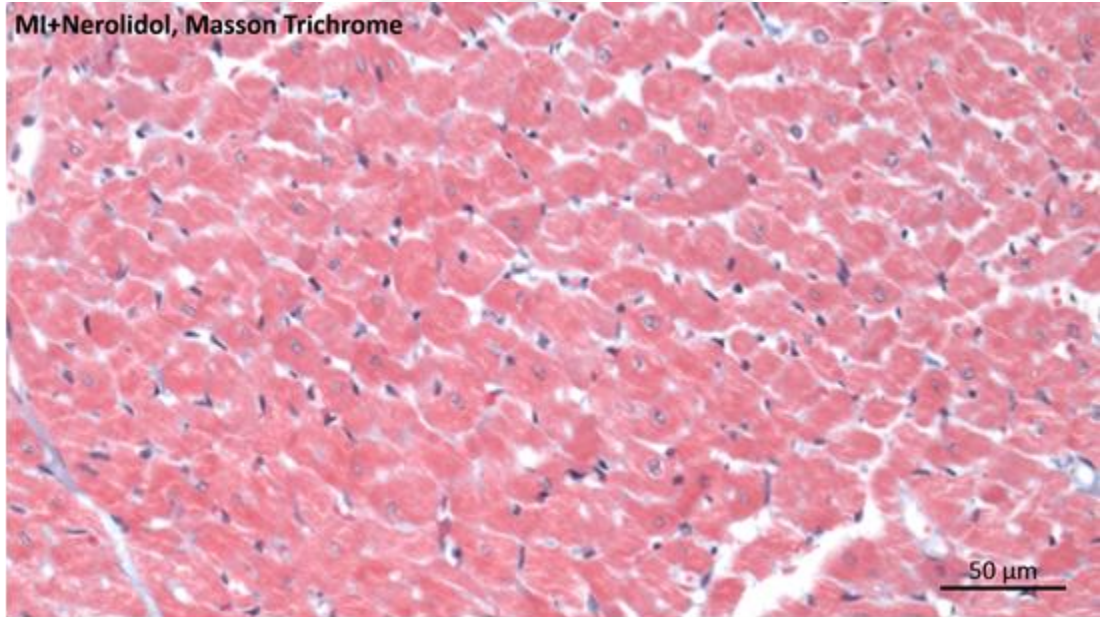
Şekil 11: Nerolidol grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikrom).



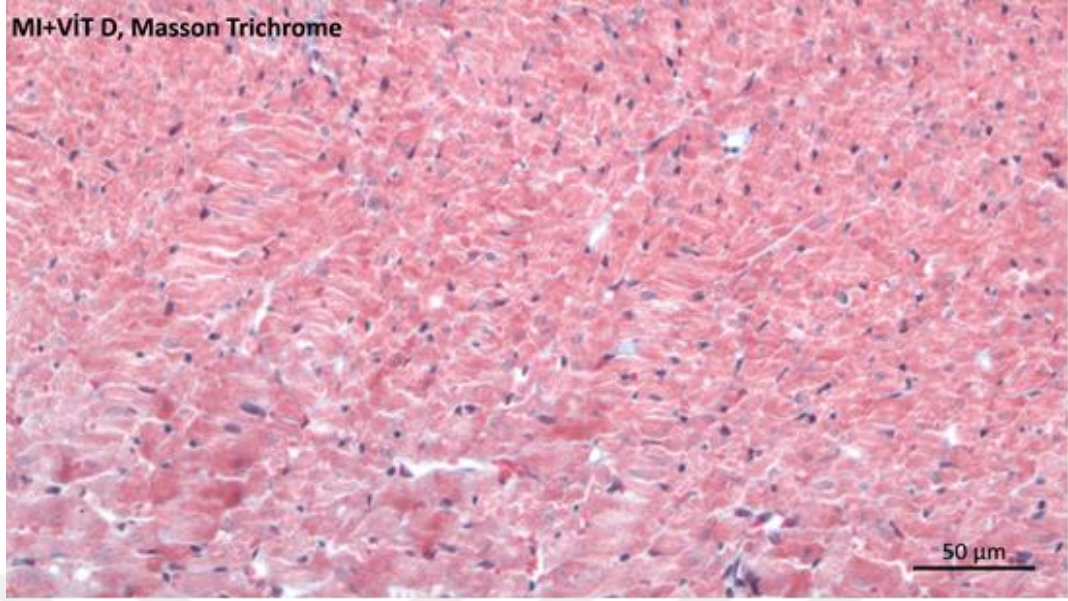
Şekil 12: Vitamin D grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikrom).



Şekil 13: MI grubuna ait kalp dokusundaki patolojik değişiklikler fibrozis (siyah ok) (Masson Trikrom).



Şekil 14: MI+NRD grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikrom).



Şekil 15: MI+Vitamin D grubuna ait kalp dokusu (Masson Trikrom).

Histopatolojik değerlendirme (Tablo 6) sonrası yapılan istatistiksel analiz sonucu; Kontrol grubu ile kıyaslandığında NRD ($p=1,000$) ve VİTD ($p=0,693$) gruplarında histopatolojik değerlendirme skorunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken MI grubunda histopatolojik değerlendirme skorunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p<0,001$). MI grubu ile karşılaştırıldığında ise MI+NRD ($p<0,001$) ve MI+VİTD ($p=0,002$) gruplarında histopatolojik değerlendirme skorunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. histopatolojik değerlendirme skoru açısından MI+NRD ($p=0,003$) ve MI+VİTD ($p=0,002$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi (Tablo 7).

Tablo 6. Histopatolojik Değerlendirme

	Kontrol				NRD				VİTD				MI				MI+NRD				MI+VİTD			
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Nekrotik kas lifleri	7				7				7				2	5	4	2	1				5	2		
Eritrosit ekstravazasyonu	6	1			6	1			7				1	6	4	2	1				6		1	
Fibrozis	7				7				7				2	5	5	2					6	1		

(0): yok, (1): hafif, (2): orta, (3): şiddetli

Tablo 7. Histopatolojik Değerlendirme Skoru

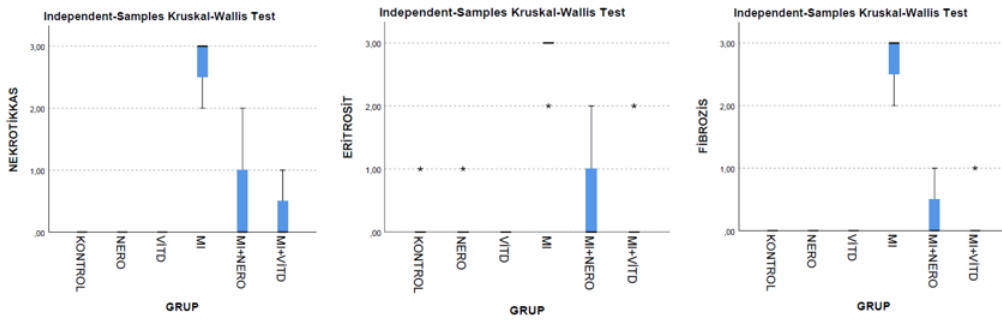
Histopatolojik değerlendirme skoru	
	Median (min-max)**
KONTROL	0,00(0,00-1,00)
NRD	0,00(0,00-1,00)
VİTD	0,00(0,00-0,00)
MI	9,00(6,00-9,00) ^a
MI+NRD	0,00(0,00-5,00) ^b
MI+ VİTD	0,00(0,00-3,00) ^b
p*	p<0,001

Değerler median, min-max olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b MI grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0,05)

*:Kruskal-Wallis Test, **: Dunn-Bonferroni Test



Şekil 16: Grupların Nekrotik kas, Eritrosit ekstrevasyonu ve Fibrozis histopatolojik değerlendirme skorlarının karşılaştırılması

3.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.3.1. Asprosin İmmünreaktivitesi

Asprosin immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Asprosin immünreaktivitesi kalp dokusunda miyositlerde gözlemlendi.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NRD ($p=0,647$) ve VİTD ($p=0,366$) gruplarında Asprosin immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, MI grubunda Asprosin immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p=0,001$). MI grubu ile karşılaştırıldığında ise MI+NRD ($p<0,001$) ve MI+VİTD ($p=0,003$) gruplarında Asprosin immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gözlemlendi (Tablo 8), (Şekil 13-18).

3.3.2. Meteorin like protein İmmünreaktivitesi

Meteorin like protein immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Meteorin like protein immünreaktivitesi kalp dokusunda miyositlerde (siyah yıldız) gözlemlendi.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NRD ($p=0,781$) ve VİTD ($p=0,894$) gruplarında Meteorin like protein immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, MI grubunda Meteorin like protein immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi ($p=0,001$). MI grubu ile karşılaştırıldığında ise MI+NRD ($p<0,001$) ve MI+VİTD ($p<0,009$) gruplarında Meteorin like protein immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (Tablo 8), (Şekil 19-24).

Tablo 8. Asprosin ve Meteorin Like Protein İmmünreaktivite Değerlendirme Skoru

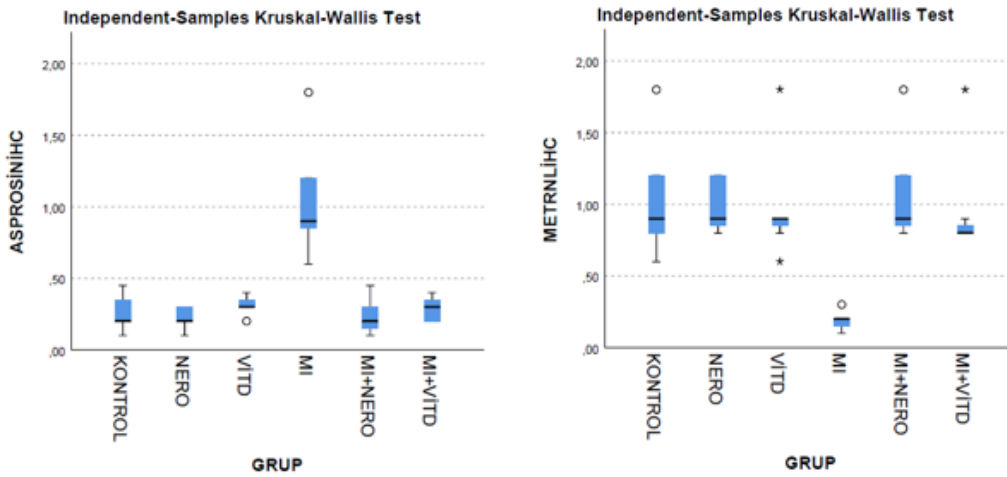
	Asprosin İmmünreaktivitesi histoskoru Median (min-max)	Meteorin Like Protein İmmünreaktivitesin histoskoru Median (min-max)
KONTROL	0,20(0,10-0,45)	0,90(0,60-1,80)
NRD	0,20(0,10-0,30)	0,90(0,80-1,20)
VİTD	0,30(0,20-0,40)	0,90(0,60-1,80)
MI	0,90(0,60-1,80) ^a	0,20(0,10-0,30) ^a
MI+NRD	0,20(0,10-0,45) ^b	0,90(0,80-1,80) ^b
MI+ VİTD	0,30(0,20-0,40) ^b	0,80(0,80-1,80) ^b
p*	0,002	0,003

Değerler median, min-max olarak verilmiştir.

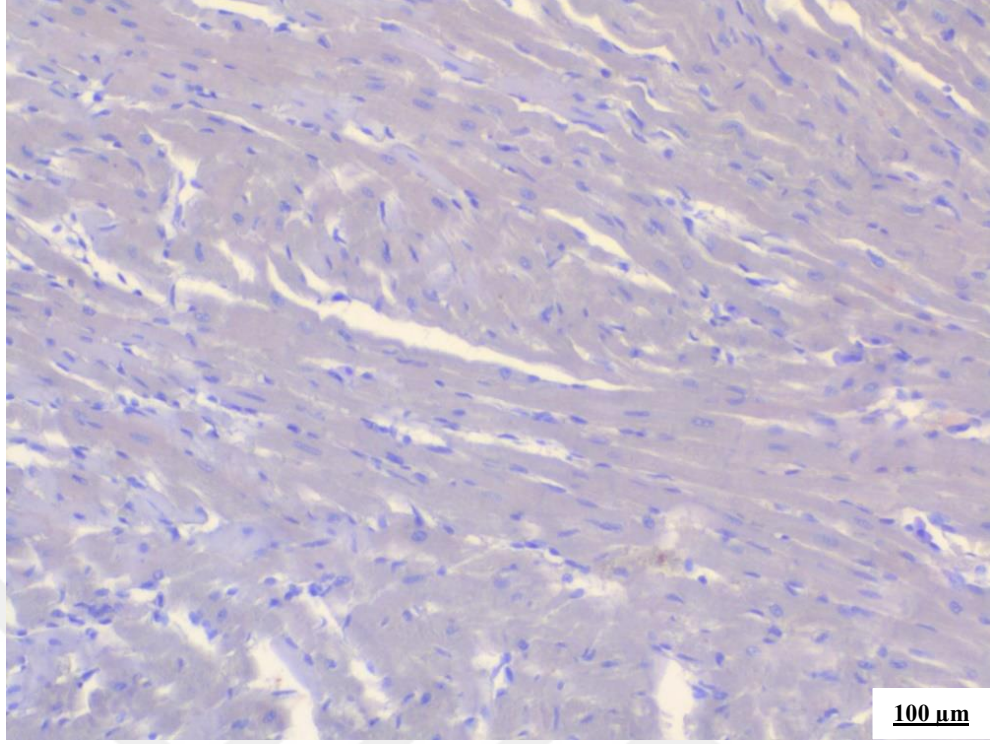
^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b MI grubu ile karşılaştırıl

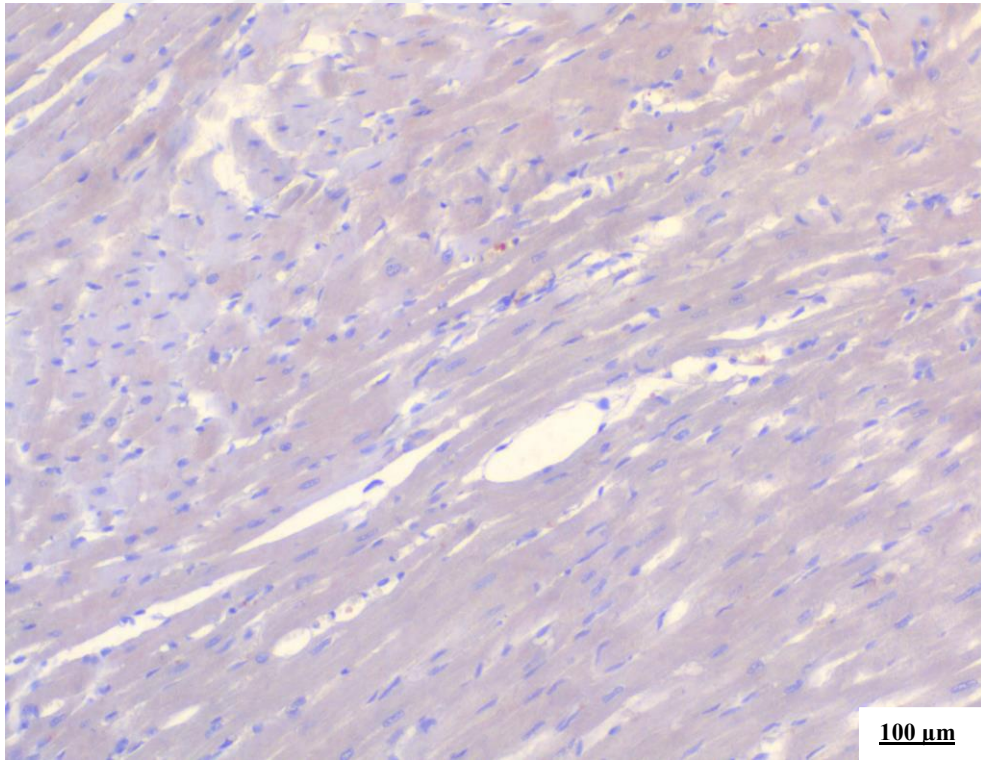
*:Kruskal-Wallis Test



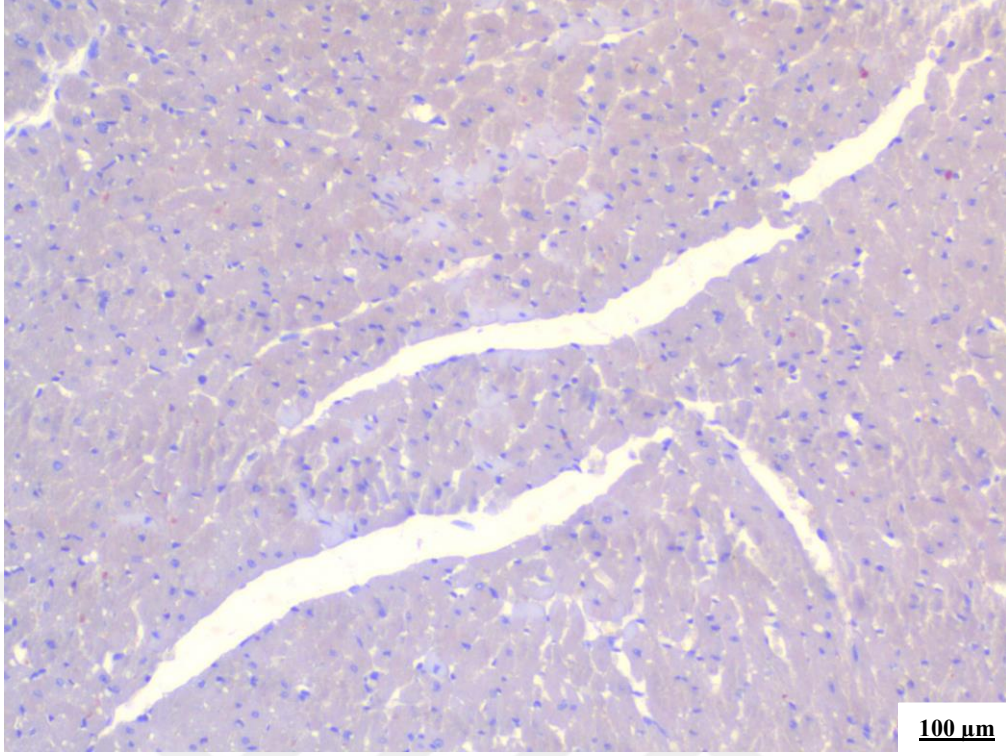
Şekil 17: Grupların Asprosin ve Meteorin Like Protein İmmünreaktivitelerinin karşılaştırılması



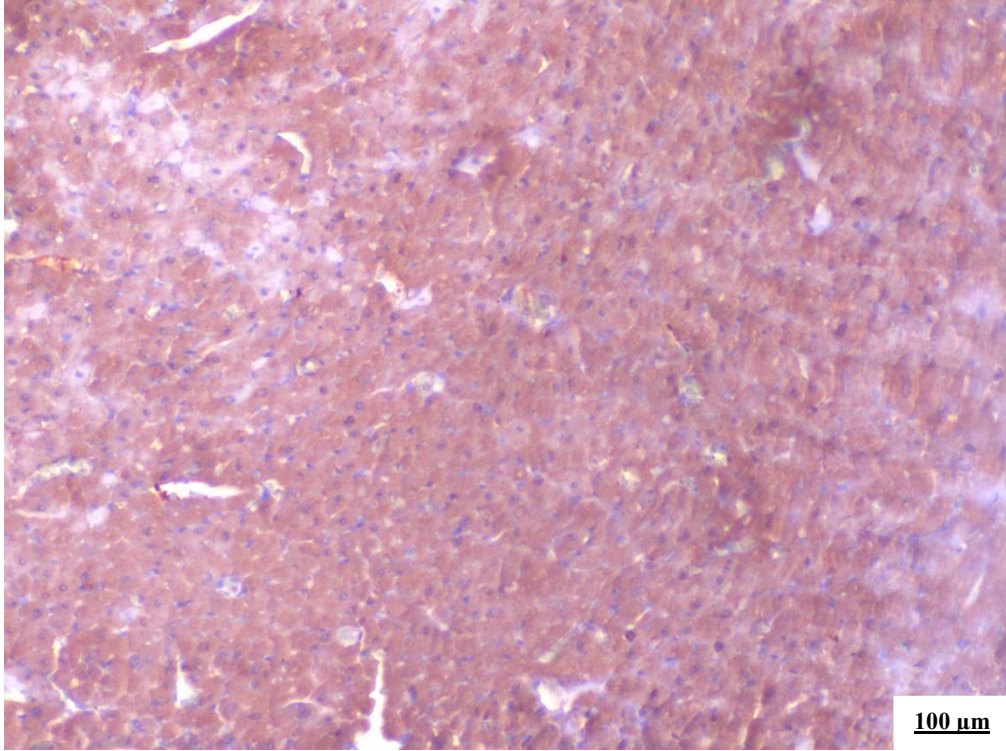
Şekil 18: Kontrol grubunda Asprosin immünreaktivitesi



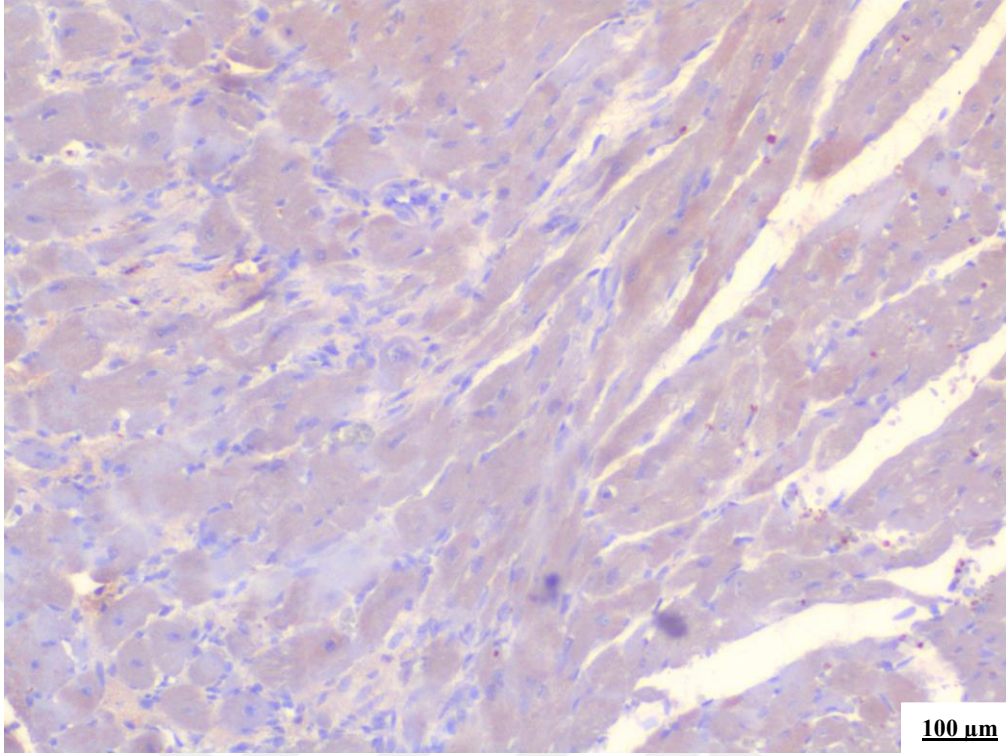
Şekil 19: Nerolidol grubunda Asprosin immünreaktivitesi



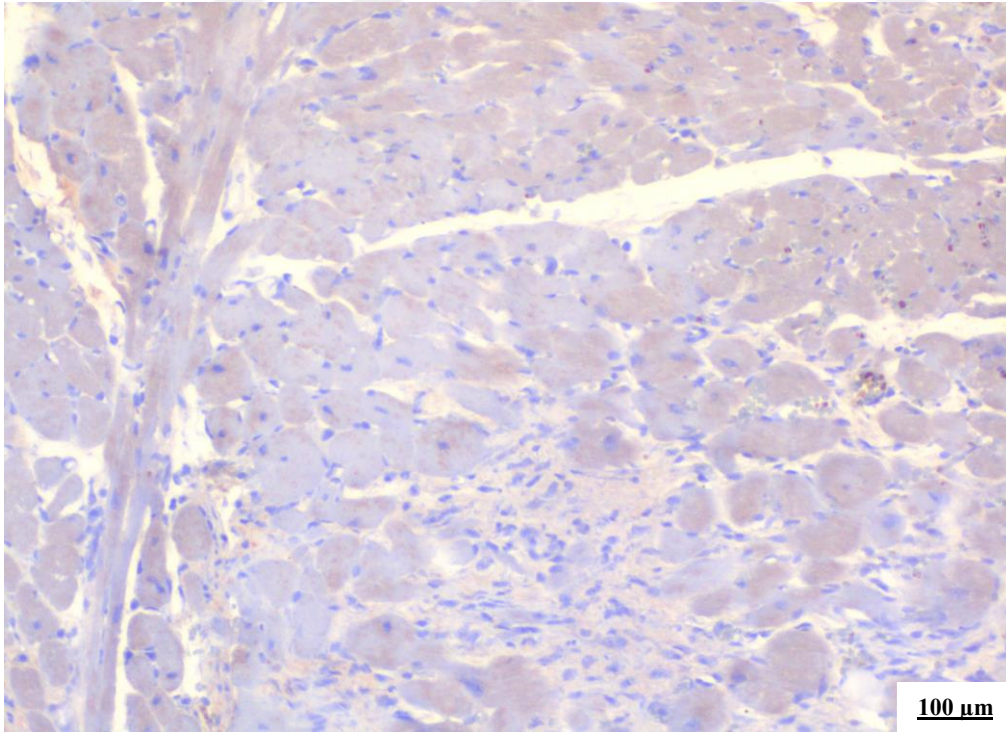
Şekil 20: Vitamin D grubunda Asprosin immünreaktivitesi



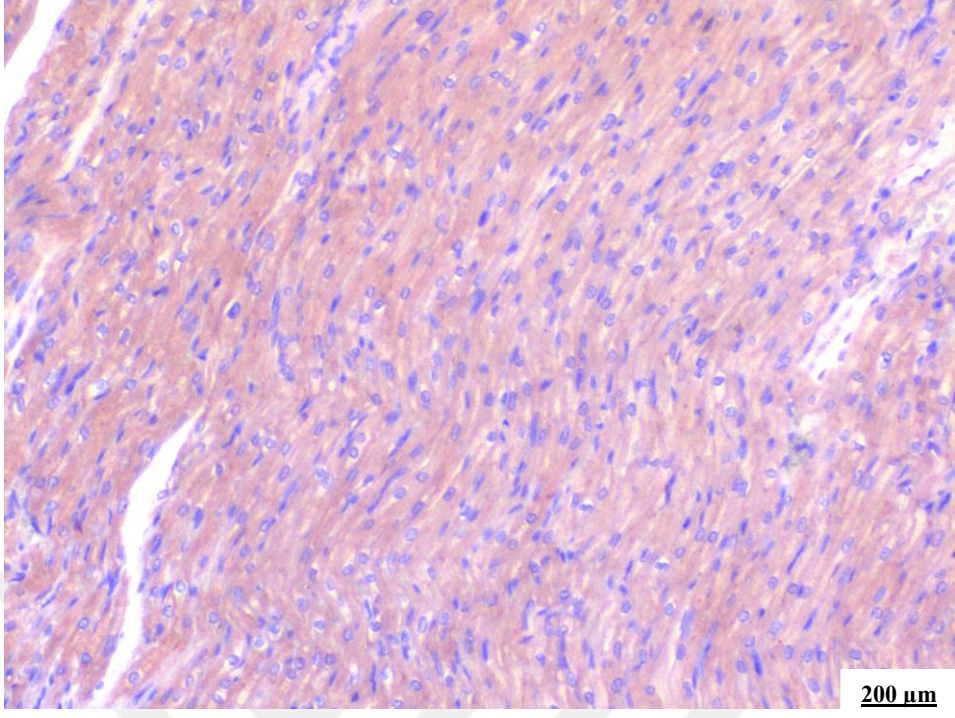
Şekil 21: MI grubunda Asprosin immünreaktivitesi



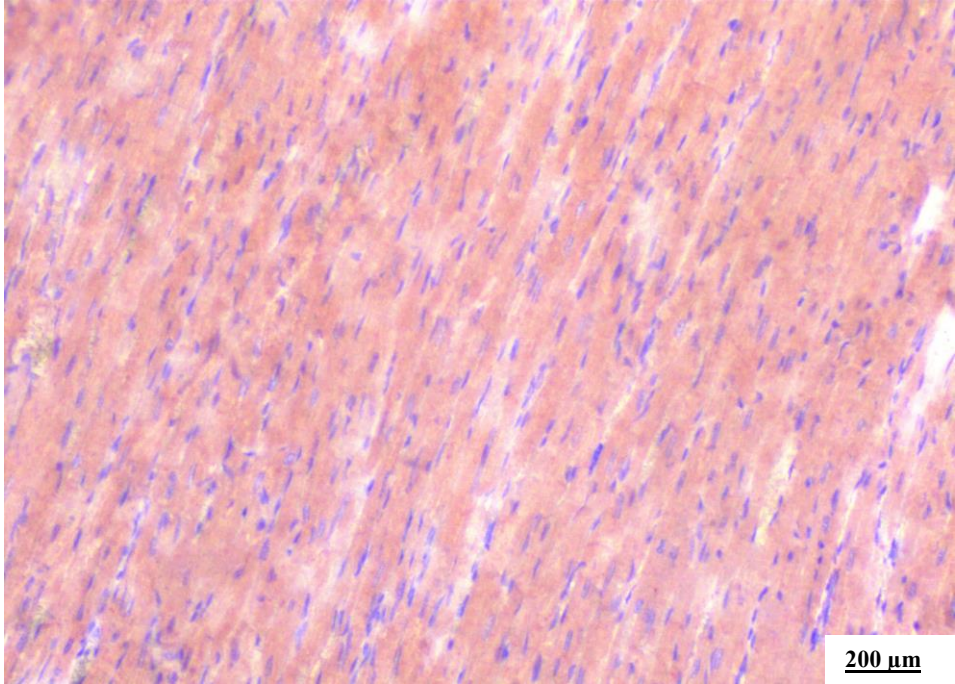
Şekil 22: MI+NRD grubunda Asprosin immünreaktivitesi



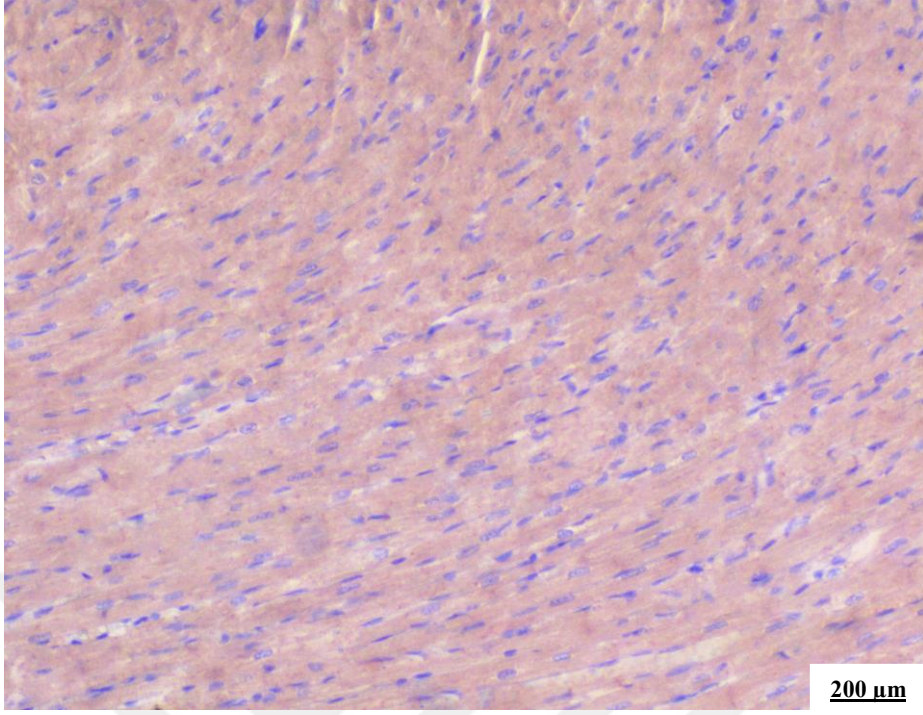
Şekil 23: MI+Vitamin D grubunda Asprosin immünreaktivitesi



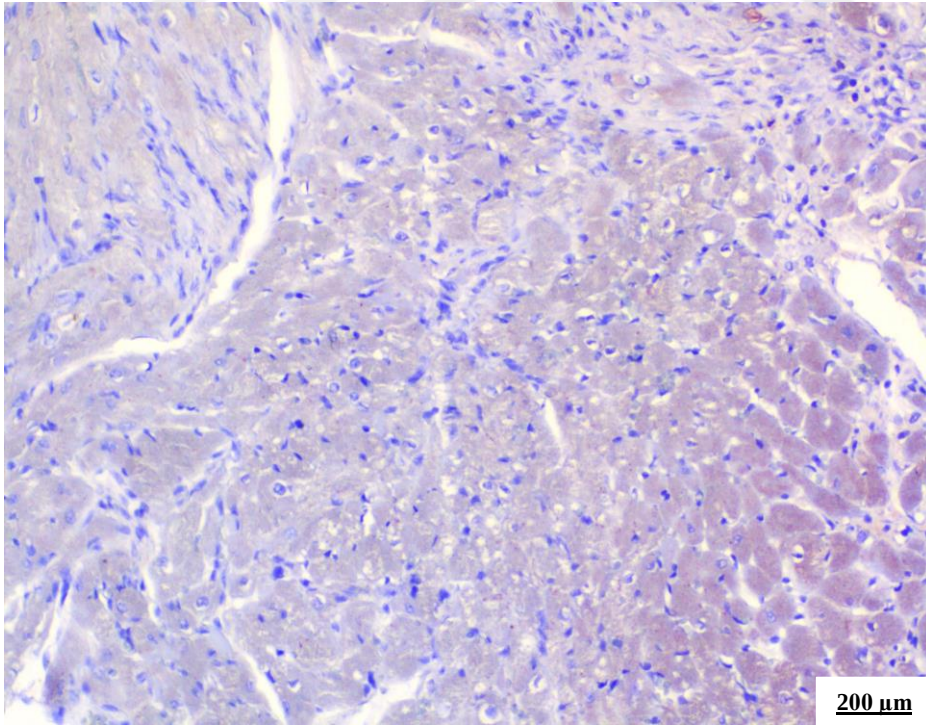
Şekil 24: Kontrol grubunda METRNL immünreaktivitesi



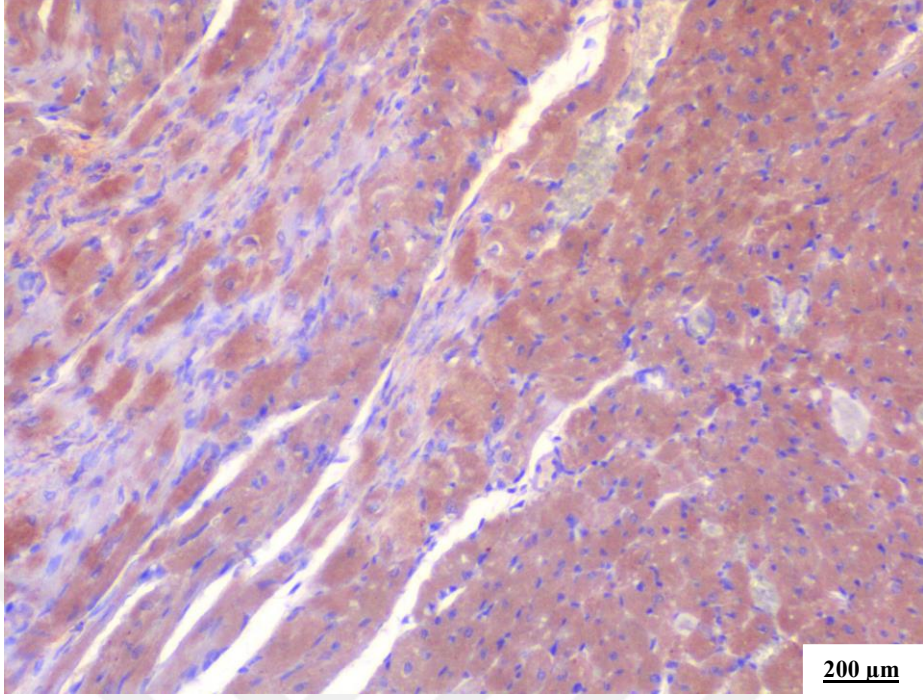
Şekil 25: Nerolidol grubunda METRNL immünreaktivitesi



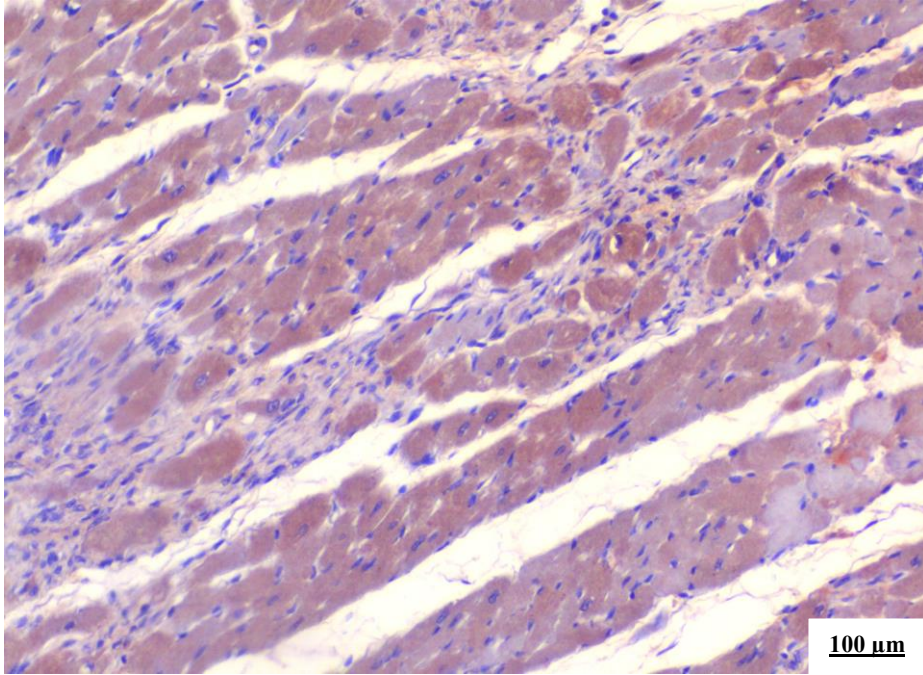
Şekil 26: Vitamin D grubunda METRNL immünreaktivitesi



Şekil 27: MI grubunda METRNL immünreaktivitesi



Şekil 28: MI+NRD grubunda METRNL immünreaktivitesi



Şekil 29: MI+Vitamin D grubunda METRNL immünreaktivitesi

4. TARTIŞMA

Kardiyovasküler hastalıklar, günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önde gelen mortalite ve morbidite nedenlerindendir. Miyokard enfarktüsünden sonra hasarlı kalp dokularının uygun şekilde yenilenememesi veya onarılamaması, kalp yetmezliğinin önemli bir nedenidir (199).

MI, uzun süreli iskemiye bağlı olarak miyokard alanının yetersiz perfüzyonu sonucu miyokard hücrelerinin geri dönüşümsüz nekroza gitmesidir (48). MI' da mortalitenin azaltılması esas amaç olmakla birlikte, MI geçiren hastaların kaliteli bir yaşam sürdürmeleri de oldukça önemlidir. Bu durum, araştırmacıları mevcut tedavilere ek olarak farklı tedavi stratejileri geliştirmeye yöneltmiştir (211).

Günümüzde deneysel çalışmalarda ISO uygulanması sıçanlarda miyokardda nekroza neden olarak, akut miyokard infarktüsü modeli oluşturmak üzere kullanılmaktadır (91, 92). Yüksek doz ISO uygulanması ile antioksidan savunma sistemleri ve serbest radikaller arasındaki denge bozulur. Oluşan aşırı düzeydeki serbest radikaller miyokard hücre membran bütünlüğünün ve miyokard fonksiyonlarının kaybına yol açar. Sonuç olarak lipit peroksidasyonu, kalp enzimlerinde değişiklikler, hiperlipidemi, membran geçirgenliğinin bozulması, inflamasyon, aşırı kalsiyum yüklenmesi, nekroz ve miyosit kaybı oluşur (93, 200). Akut miyokard infarktüsünde, sarkolemma ve Z-disk hasarı oluştuğunda CK-MB'nin dolaşımdaki düzeyi yükselir.

Bu çalışmada NRD ve VİT D nin MI üzerine olan etkisi asprosin ve METRNL proteinleri yönüyle araştırıldı. Sıçanlara yüksek doz ISO verilerek oluşturulan deneysel MI modelinde kalpte meydana gelen değişikliklere, nerolidol ve vitamin D verilerek iyileştirici etkilerinin olup olmadığı incelendi. Bu amaçla sıçanlara 200 mg/kg ISO subkutan(s.c.) olarak verildi ve 48. saatte ölçüm yapıldı. Bu ölçümler sonucunda Troponin I ve CK-MB düzeylerine bakılarak MI modeli oluşturulduğu tespit edildi. MI oluşturulan bir grup sıçana 14 gün boyunca 100 mg/kg/gün dozunda Nerolidol uygulandı. Diğer bir MI grubuna ise 14 gün boyunca

50 IU/gün dozunda Vitamin D verildi. MI oluşturulmayan deney gruplarından bir gruba deney süresince sadece NRD ve diğer bir gruba ise sadece Vitamin D verildi.

Yüksek doz ISO uygulaması sonucu alınan kan örneklerinde biyokimyasal olarak bakılan Troponin I ve CK-MB düzeylerinin arttığı ve MI modeli olduğu görüldü. Histopatolojik (H&E ve Masson Trikrom) incelemeler sonucunda MI oluşturulan grubun kalp dokularında patolojik olarak eritrosit ekstrasvazasyonu, nekrotik kas lifleri ve inflamasyona bir cevap olarak fibrozis geliştiği görüldü. Normalde MI sonrası reperfüzyon olayı gerçekleşerek dokuların yeniden kanlanması ve oksijenlenmesi sağlanır. Ancak reperfüzyon ile henüz sağlam olan miyositler metabolik, fonksiyonel ve yapısal olarak hasar görebilir. Reperfüzyon hasarından birçok mekanizma sorumlu tutulmuş ancak, serbest oksijen radikalleri en fazla suçlanan faktör olmuştur (50, 51). Bizim çalışmamızda da, iskemi/reperfüzyon hasarını doğrular şekilde, MI grubuna ait serum örneklerinde TOS düzeyleri artarken, TAS düzeylerinin ise azaldığı görüldü.

Adipokinlerin metabolik olaylar dışında farklı etkilerinin belirlenmesi araştırmacıların dikkatini çekmiş ve farklı çalışmalara hız kazandırmıştır. Asprosin temel olarak beyaz yağ dokudan salınan protein yapıda yeni bir glukojenik adipokin olup aynı zamanda böbrek, karaciğer, akciğer, kalp, mide, testis, beyin ve deri dokularında da varlığı bildirilmiştir (101, 99, 102, 103). Yapılan çalışmalar asprosin düzeyi ile KAH arasında önemli bir ilişki olduğunu ve koroner arter hastalarında asprosin seviyesinin kontrollere kıyasla yüksek olduğunu göstermiştir (114, 115). Asprosinin, mezenkimal stromal hücre (MSC) hedefli tedavilerde kullanılarak miyokardiyal ejeksiyon fraksiyonunu iyileştirdiği ve miyokard enfarktüsü sonrası miyokardiyal yeniden şekillenmeyi azalttığı gösterilmiştir. MSC'lerin çoğalması ve yayılması asprosinde etkilenmemiş, ancak asprosin etkisiyle ERK1 / 2-SOD2 yolunun aktive edilmesi, MSC'leri hidrojen peroksit kaynaklı hasar ve apoptozdan korumuştur. Asprosinin apoptotik yollarda etkili olması, kalp üzerinde asprosin hedefli tedavilerde kullanılmasına imkan sağlamıştır (109). Hücrel bir model olarak kardiyomiyoblastların kullanıldığı bir çalışma, asprosinin hipoksiye bağlı hücre ölümünü önlediğini ve hipoksi altında mitokondriyal solunumu ve proton sızıntısını artırdığını göstermiştir (113). Bizim çalışmamızda da bu çalışmalarla örtüşür şekilde, MI grubuna ait serum ve kalp dokularında asprosin düzeyleri

yüksek bulundu. Bu bulguya dayanarak MI'da, miyokardiyal hasar mekanizmalarında asprosinin önemli bir faktör olduğunu ve asprosin düzeyleri ile hasar oluşumu arasında bağlantı olduğunu söyleyebiliriz. MI ile karşılaştırıldığında, MI+NRD ve MI+VİT D gruplarında asprosin düzeylerinin anlamlı derecede azalması hatta kontrole yakın düzeye gelmesi ise NRD ve VİT D' nin iyileştirici etkilerinin asprosinde bağımsız olduğunu göstermiş olabilir.

METRNL ise yağ ve kas dokularından salgılanarak enerji harcanmasını ve inflamasyonu düzenleyen yeni bir adipomiyokin olarak tanımlanmıştır (120). METRNL kalp dokusundan da eksprese edilir ve çeşitli kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde rol oynar (122). METRNL eksikliğinin daha çok sol ventrikül disfonksiyonu ile karakterize, asimetrik kardiyak hipertrofiyi indüklediği ve interstisyel fibrozisi artırarak kardiyak disfonksiyon yaptığı gösterilmiştir. Yine METRNL'nin kalpte aşırı ekspresyonunun, inflamasyonu ve endoplazmik retikulum stresini azaltarak kardiyomiyosit apoptozunu azalttığı, kardiyak hipertrofi ve fibrozis gelişimini önlediği ve kardiyoprotektif etki yaparak miyokard fonksiyonlarını düzenlediği gösterilmiş ve aynı zamanda Th1, Th2 ve Th17 yoluyla kazanılmış bağışıklık üzerinde de rol oynadığı bildirilmiştir (126, 125, 204). Koroner arter hastalığı olan kişilerde, serum METRNL düzeylerinin daha düşük olduğu ve inflamatuvar sitokinler ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (107, 125). Bizim çalışmamız MI grubunda, METRNL düzeylerinin kontrole kıyasla anlamlı derecede azaldığını gösterdi. Ve bu azalma METRNL'in miyokardiyal hasar oluşumunda etkili olabileceği yönünde değerlendirildi.

Miyokard enfarktüsünün hala dünya çapında çok ciddi bir hastalık olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada; antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-tümör, antifungal ve anti-mikrobiyal aktiviteleri olan ve hücre membranlarını ve DNA'yı serbest radikallerin hasarına karşı koruyarak güçlü antioksidan özellikler sergileyen bir ajan olan nerolidol kullanıldı (134, 146, 156, 141, 142). Tioasetamid ile oluşturulan kalp ve böbrek hasarı üzerine nerolidolün etkilerinin incelendiği bir çalışmada nerolidolün oksidatif hasarı ve lipid peroksidasyonunu geri döndürdüğü ve kardiyoprotektif ve nefroprotektif etki yaptığı gösterilmiştir (205). MI modeli oluşturulup nerolidol tedavisi uygulanmış farklı bir çalışmada ise sıçanların kalp dokularında nekrozun hafiflediği ve mononükleer infiltrasyonun azaldığı

gösterilmiş ve nerolidolün, akut kardiyotoksistide antioksidan, anti-inflamatuar ve antiapoptotik aktivitelerini Nrf2/MAPK sinyal yollarını uyararak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (140, 144). Bizim çalışmamızda da MI+NRD grubuna ait kalp dokuları MI grubu ile histopatolojik olarak kıyaslandığında nekrotik kas lifleri, fibrozis ve eritrosit ekstrasvazasyonunun azaldığı ve hatta kontrole yakın bulgular elde edildiği görüldü. Aynı şekilde MI+NRD grubuna ait serum örneklerinde ise MI grubuna kıyasla TOS düzeylerinin azaldığı, TAS düzeylerinin ise arttığı belirlendi ki bu bulgu, nerolidolün oksidatif stresi azaltarak kardiyoprotektif etki yaptığının kanıtı niteliğinde idi.

Çalışmamızda NRD ve VİT D gruplarında asprosin seviyeleri kontrol grubu ile benzer bulundu. MI grubuna ait serum ve kalp dokularında asprosin düzeyleri artmış olup bu durum, iskemik bölgede protein ve kalori ihtiyacının artmasına yönelik organizmanın defansif bir etkisi olarak değerlendirildi. MI ile karşılaştırıldığında, MI+NRD ve MI+VİT D gruplarında asprosin düzeylerinin azalması hatta kontrole yakın düzeye gelmesi, nerolidol ve VİT D' nin iskemik hasarı iyileştirmesine sekonder gelişmiş olabileceği gibi, NRD ve VİT D' nin kardiyoprotektif etkilerini asprosinde bağımsız bir mekanizma ile yaptığı yönünde de değerlendirilebilir. METRNL düzeylerinin kontrol, NRD ve VİT D gruplarında benzer olduğu ancak, MI grubunda kontrole kıyasla anlamlı derecede azaldığı görüldü. MI+NRD ve MI+VİT D gruplarında ise METRNL düzeyleri, MI grubuna kıyasla anlamlı bir artış gösterdi ve bu bulgu, hem NRD'nin ve hem de VİT D' nin kardiyoprotektif etkilerini, METRNL ekspresyonunu arttırarak yapmış olabileceği şeklinde düşünüldü.

Son zamanlarda Vitamin D'nin de kardiyovasküler fonksiyon ve regülasyon üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Bu etki renin-anjiotensin-aldesteron mekanizması (RAAS) ve Vitamin D Reseptörü (VDR) üzerinden olmaktadır (171). Hayvan çalışmaları, D vitamininin RAAS' ın önemli bir düzenleyicisi olduğunu ve D vitamininin aktif formu olan 1,25(OH)2D' nin, renin gen ekspresyonunu baskıladığını göstermiştir (173). Vitamin D eksikliği, renin salınımının artmasına, dolayısıyla da artan arteriyel basınca, vasküler oksidatif strese, inflamasyon ve inflammatuar sitokinlerin artmasına ve VDR' nin salınımının ve aktivitesinin azalmasına sebep olarak kardiyak gen ekspresyonlarında değişikliklere neden

olmaktadır. Artan oksidatif stres ve inflamasyon ise enfeksiyonlara karşı artan hassasiyete ve azalmış koruyucu mekanizmalara yol açmaktadır (193, 206). Bu eksiklik; kollajen kaybı, kardiyomiyopati, hipertrofi, miyokard enfarktüsü, kalp yetmezliği, kardiyak fibrozis ve ritim anormallikleri gibi KVH'lar ile sonuçlanabilir (207). Aynı zamanda Vitamin D reseptörlerinin endotelyum, kalp kası ve vasküler düz kas hücrelerinde bulunmasından dolayı VDR transkripsiyon genindeki bozukluklar yüksek renin üretimi, yüksek kan basıncı ve kardiyak hipertrofi ile sonuçlanır (168, 174). Zaten D vitamini reseptörünün baskılandığı bir çalışmada da sistemik ve kardiyak RAAS aktivasyonu kaynaklı hipertansiyon ve kardiyak hipertrofi varlığı gösterilerek bu bilgilerin doğruluğu kanıtlanmıştır (175). D vitamininin miyokard enfarktüsü, tromboz ve ateroskleroz gibi çeşitli inflamatuvar süreçlerin inhibisyonunu desteklediği, kardiyomiyositlerin relaksasyonunu hızlandırdığı ve kalbin diastolik fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir. (182, 208) Yine Vitamin D' nin glikoz-6-fosfat-dehidrogenazı artırarak TOS değerini düşürdüğü ve dokuda antioksidan kapasiteyi artırıp, apoptotik hücreleri azalttığı bilinmektedir. Aynı zamanda Vitamin D' nin anti-proliferatif, pro-diferansiyatif ve immunomodülatör özelliklere sahip olması, doku hasarlarında önemli bir redüktan olarak işlev görmesini sağlamaktadır (209). Bizim çalışmamızda da VİT D ile tedavi ettiğimiz grubun serum TOS ve asprosin düzeyleri düşük, TAS düzeyleri ise yüksek bulundu. Dokuda İHC ile değerlendirdiğimiz tedavi grubundaki asprosin düzeyleri düşük iken histopatolojik incelemede nekrotik kas lifleri, fibrozis, eritrosit ekstrasvazasyonun azaldığı ve hatta kontrole benzer bulgular elde edildiği görüldü. Bu bulgular VİT D' nin MI da miyokardiyal hasarı azaltarak kardiyoprotektif etki yaptığını ancak bu etkisinin asprosinden bağımsız olduğu yönünde değerlendirildi. VİT D' nin aynı zamanda Th1, Th2 bağışıklık tepkilerinde de rol oynadığı belirlenmiş olup, bu bulgu Th1, Th2 ve Th17 yoluyla kazanılmış bağışıklıkta rol oynadığı bilinen METRNL ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür (210, 204). Bu çalışmada VİT D ile tedavi ettiğimiz MI grubuna ait dokularda METRNL immünreaktivitesinin MI grubuna kıyasla anlamlı derecede artması, VİT D' nin ve METRNL' nin ortak mekanizmalar üzerinden hareket ettiklerini ve/veya VİT D' nin kardiyoprotektif etkilerini METRNL bağımlı mekanizmalar ile yaptığını gösterebilmesi açısından önemlidir.

Deney sonunda edindiğimiz verilere bakarak MI grubu ile NRD ve VİT D arasında güçlü ilişkiler tespit edilmiştir. Çalışmamız, NRD ve VİT D' nin kardiyoprotektif etkilerinin asprosin ve METRNL ile ilişkilerini araştıran ilk çalışmadır. Elde ettiğimiz sonuçlar, NRD ve VİT D' nin kardiyoprotektif etkili ajanlar olduğunu ve bu tedavi edici etkilerini METRNL bağımlı, asprosin bağımsız bir mekanizma ile yaptıklarını düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada, kalp dokusunda iskemi reperfüzyon hasarında NRD ve VİT D' nin iyileştirici etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Ancak asprosin ve METRNL' nin bu iyileştirici etkiler üzerindeki rolünü kesin olarak ortaya koymak için hücresel, moleküler ve reseptör düzeyinde daha kapsamlı araştırmalara gereksinim duyulduğu kanaatine varılmıştır.

5. KAYNAKLAR

1. Shah S, Gnanasegaran G, Sundberg-Cohon J, Buscombe J R. The heart: Anatomy, physiology and exercise physiology. In Integrating cardiology for nuclear medicine physicians Springer, 2009; 3-22.
2. Heden. Anatomy & Physiology. OpenStax College, Chapter 19. The Cardiovascular System: The Heart. 2013.
3. Martini T. Human Anatomy (8th Edition), Chapter 21. 2015.
4. Mescher AL. Pancreatic islets. Junqueira's Basic Histology, 2016; 427-429.
5. Savolainen SM, Foley JF, Elmore SA. Histology atlas of the developing mouse heart with emphasis on E11. 5 to E18. 5. J Toxicol Pathol. 2009; 37(4), 395-414.
6. Kloesel B, DiNardo JA, Body SC. Cardiac Embryology and Molecular Mechanisms of Congenital Heart Disease: A Primer for Anesthesiologists. Anesth Analg. 2016; 123(3), 551-69.
7. Soylu N. Kardiyovasküler Sistem Ait Konjenital Anomali ve Varyasyonların Değerlendirilmesinde Kardiyak BT Anjiyografinin Etkinliği. Uzmanlık Tezi, Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, Radyoloji Anabilim Dalı, 2014
8. Keith L.Moore Tvnp, Mark G. Torchia. DALÇIK H. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. 10.Baskı, İstanbul: Nobel, 2016: 293-300.
9. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Third universal definition of myocardial infarction. Eur Heart J. 2012; 33(20), 2551-2567.
10. Aykan AÇ, YILDIZ BŞ. Embriyonun vasküler gelişimi. Koşuyolu Kalp dergisi, 2016:19(2), 114-116.
11. Ross AJ, Yang Z, Berr SS, et al. Serial MRI evaluation of cardiac structure and function in mice after reperfused myocardial infarction. Magnetic Resonance in Medicine: Magn Reson Med. 2002; 47(6), 1158-1168.
12. Gong H, Lyu X, Wang Q, Hu M, Zhang X. Endothelial to mesenchymal transition in the cardiovascular system. J Life Sci., 2017; 184, 95-102.

13. Garipcan B, Maenz S, Pham T, et al. Image analysis of endothelial microstructure and endothelial cell dimensions of human arteries–a Clin., 2008; 4(3), 235-245.
14. Omelchenko T. Cellular protrusions in 3D: Orchestrating early mouse embryogenesis. In Seminars in Cell ve Developmental Biology. Acad Press, 2022.
15. Ghonim S, Voges I, Gatehouse PD, et al. Myocardial architecture, mechanics, and fibrosis in congenital heart disease. Front Cardiovasc Med., 2017; 4, 30.
16. Lie-Venema H, van den Akker N, Bax NA, et al. Origin, fate, and function of epicardium-derived cells (EPDCs) in normal and abnormal cardiac development. ScientificWorldJournal, 2007; 7, 1777-1798
17. Perdios C, Parnall M, Pang KL, Loughna S. Altered haemodynamics causes aberrations in the epicardium. J Anat., 2019; 234(6), 800-814.
18. Commandeur F, Goeller M, Betancur J, et al. Deep learning for quantification of epicardial and thoracic adipose tissue from non-contrast CT. IEEE Trans Med Imaging., 2018; 37(8), 1835-1846.
19. Eşrefoğlu M. 1.Baskı ed. İstanbul: İstanbul Tıp Kitapevi; 2018; 137-138 p.
20. Stewart P, Hayakawa K, Hayakawa E, Farrell C, Del Maestro R. A quantitative study of blood-brain barrier permeability ultrastructure in a new rat glioma model. Acta Neuropathol., 1985;67(1):96-102.
21. Ross MH PW. Histology a Text and Atlas. 7th Edition ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2016. 407
22. Eberth C. Handbuch der Lehre von der Gewegen des Menschen und der Tiere. Leipzig: Engelman JA, 1871.
23. Eşrefoğlu M. 2 ed. İstabul: İstanbul Tıp Kitapevi; 2016. 27-28 p.
24. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji. Başaklar AC (Çeviren). 13 baskı. Ankara: Palma Yayınevi, 2020: 175-198.
25. Kazezoğlu, C., Usta, U., ve Gökmen, S. S. Deneysel miyokard infarktüsünde total ve lipide bağlı sialik asid düzeyleri. Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 2009; 7(1), 7-15.

26. H.Ross M, Baykal B. Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas. 2016:420.
27. T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Kalp ve Damar Hastalıklarını Önleme ve Kontrol Programı. 2015;16.
28. Türk Kardiyoloji Derneği. Türkiyede kalp ve damar hastalıklarının olumsuz etkilerini en aza indirmek için eylem planı (ÖZET).
29. Türk Kardiyoloji Derneği. Ulusal Kalp Sağlığı Politikası Ana İlkeleri, 2012
30. World Health Organisation Cardiovascular diseases (CVDs) [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) 11/06/2021.
31. Balbay Y, Gagnon-Arpin I, Malhan S, et al. Modeling the burden of cardiovascular disease in Turkey. *Anatol J Cardiol.*, 2018; 20(4), 235.
32. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.*, 2007;50(22):2173-2195.
33. GÖK H. İstanbul: İstanbul Tıp Kitapevi; 1996.
34. Simes RJ, Topol EJ, Holmes DR, et al. Link between the angiographic substudy and mortality outcomes in a large randomized trial of myocardial reperfusion. Importance of early and complete infarct artery reperfusion. GUSTO-I Investigators. *Circ J.*, 1995; 91: 1928
35. Feng Y, Chao W. Toll-like receptors and myocardial inflammation. *Int J Inflam* 2011; 2011: 170352.
36. Timmers L, Sluijter JP, Keulen JK, et al. Toll-like receptor 4 mediates maladaptive left ventricular remodeling and impairs cardiac function after myocardial infarction. *Circ Res.*, 2008; 102: 257–264
37. Kim SC, Ghanem A, Stapel H, et al. Toll-like receptor 4 deficiency: smaller infarcts, but no gain in function. *BMC Physiol.*, 2007; 7: 5.
38. Dinarello CA. A clinical perspective of IL-1beta as the gatekeeper of inflammation. *Eur J Immunol* 2011; 41: 1203–1217.
39. Frangogiannis NG. Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNFalpha, initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial ischemia/reperfusion. *Circ J.*, 1998; 98: 699–710.

40. Hamid T. Divergent tumor necrosis factor receptor-related remodeling responses in heart failure: role of nuclear factor-kappaB and inflammatory activation. *Circ J.*, 2009; 119: 1386–1397
41. Zinsser H, Tamiya T. An Experimental Analysis Of Bacterial Allergy. *J Exp Med.*, 1926; 6: 753-776
42. Nororiha IL, Niemir Z, Stein H, Waldher R. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant.*, 1995, 10: 775-786
43. Karahasanoğlu AB. Akut ve Düzenli Egzersizin Biyokimyasal Parametrelere Etkisi. Bitirme ödevi, Kayseri: Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 2011.
44. Kurrelmeyer KM. Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97: 5456–5461.
45. Janssen C, Kuijpers D, Oudkerk M. MR Perfusion Imaging for the Detection of Myocardial Ischemia. *J Magn Reson Imaging.*, 2004;8:13-27.
46. Cheitlin MD SM, Mc Ilroy MB. Clinical cardiology; Prentice Hall International Inc. Alange Medical Book 1993:7-8,28-30,147-58,60-62.
47. Huether SE, McCance KL. Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children, 6e: Elsevier; 2014.
48. Anversa P, Loud AV, Levicky V, Guideri G. Left ventricular failure induced by myocardial infarction. I. Myocyte hypertrophy. *Am J Physiol.*, 1985;248(6 Pt 2):H876-882.
49. Serap AYKUT AKA MS. Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Türkiye Klinikleri Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, 2004.
50. Akkuş H. Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı, 2022; 35
51. Neves LA, Almeida AP, Khosla MC, Campagnole-Santos MJ, Santos RA. Effect of angiotensin-(1-7) on reperfusion arrhythmias in ISOLated rat hearts. *Braz J Med Biol Res.*, 1997;30(6):801-809.
52. Xiao CY, Hara A, Yuhki K, et al. Roles of prostaglandin I(2) and thromboxane A(2) in cardiac ischemia-reperfusion injury: a study using

- mice lacking their respective receptors. *Circ J.*, 2001;104(18):2210-2215.
53. Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *Ann Thorac Surg.*, 1999;68(5):1898-1904.
 54. Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *Int J Cardiol.* 2005;100(2):179-190.
 55. Kloner RA, Arimie RB, Kay GL, et al. Evidence for stunned myocardium in humans: a 2001 update. *Coron Artery Dis.*, 2001;12(5):349-356.
 56. Piper HM, Meuter K, Schäfer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg.* 2003;75(2):S644-648.
 57. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res.*, 1996;32(4):743-751.
 58. Kloner RA, Rude RE, Carlson N, Maroko PR, DeBoer LW, Braunwald E. Ultrastructural evidence of microvascular damage and myocardial cell injury after coronary artery occlusion: which comes first? *Circ J.*, 1980;62(5):945-952.
 59. Fraccarollo D, Galuppo P, Bauersachs J. Novel therapeutic approaches to post-infarction remodelling. *Cardiovasc Res.*, 2012;94(2) :293-303.
 60. Dobaczewski M, Gonzalez-Quesada C, Frangogiannis NG. The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.*, 2010;48(3):504-511.
 61. Frantz S, Bauersachs J, Ertl G. Post-infarct remodelling: contribution of wound healing and inflammation. *Cardiovasc Res.*, 2009;81(3):474-81.
 62. Dorn GW. Novel pharmacotherapies to abrogate postinfarction ventricular remodeling. *Nat Rev Cardiol.*, 2009;6(4):283-91.
 63. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science.*, 2009;324(5923):98-102.

64. Senyo SE, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, Yang VK, Cai L, Wang M, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. *Nature.*, 2013;493(7432):433-436.
65. Jennings RB, Ganote CE. Structural changes in myocardium during acute ischemia. *Circ Res.*, 1974;35 Suppl 3:156-172.
66. H. G. Klinik Kardioloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1996: 97-171.
67. Antman E, Bassand J-P, Klein W, et al. Myocardial infarction redefined a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology committee for the redefinition of myocardial infarction: *J Am Coll Cardiol.*, 2000;36(3):959-969.
68. Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.*, 1994;65(1):27-33.
69. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
70. Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *Faseb j.*, 1987;1(5):358-364.
71. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci.*, 2008;4(2):89-96.
72. Nagendrappa G. An appreciation of free radical chemistry 3. Free radicals in diseases and health. *Resonance.*, 2005;10(4):65-74.
73. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition.*, 2002;18(10):872-879.
74. Devasagayam TP, Tilak JC, Bloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India.*, 2004;52:794-804.
75. Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *Faseb j.*, 1997;11(2):118-124.
76. Devasagayam TP, Bloor KK, Ramasarma T. Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits. *Indian J Biochem Biophys.*, 2003;40(5):300-308.

77. Sarma AD, Mallick AR, Ghosh A. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *Int J Pharma Sci.*, 2010;1(3):185-192.
78. Karabulut, H. & Gülay, M. Ş. Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 2016;1(1): 65-76.
79. Dündar Y, Aslan R. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller, antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bil Dergisi*, 1999;2(2):134-142.
80. Aydemir B, Sarı Ek. Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal.*, 2009;2(2):56-60.
81. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37(4):277-285.
82. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103-1111.
83. Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, et al. It's time for a change to a troponin standard. *Am Heart Assoc.*, 2000; 1216-1220.
84. Jaffe AS. Chasing troponin: how low can you go if you can see the rise? : *J Am Coll Radiol.*, 2006;1763-1764.
85. MacRae AR, Kavsak PA, Lustig V, Bhargava R, et al. Assessing the requirement for the 6-hour interval between specimens in the American Heart Association Classification of Myocardial Infarction in Epidemiology and Clinical Research Studies. *Clin Chem.*, 2006; 52(5):812-818.
86. Jaffe AS, Babuin L, Apple FS. Biomarkers in acute cardiac disease: the present and the future. *J Am Coll Cardiol.*, 2006; 48(1):1-11.
87. Morrow D. National Academy of Clinical Biochemistry. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Circ J.*, 2007;115:e356-e75.

88. Tipnis UR, He GY, Li S, Campbell G, Boor PJ. Attenuation of Isoproterenol-mediated myocardial injury in rat by an inhibitor of polyamine synthesis. *Cardiovasc Pathol.*, 2000; 9(5):273-280.
89. Neriman Defne ALTINTAŞ ATİ. Vazoaktif ve İnotropik İlaçların Doğru Kullanımı, 2006:179-190.
90. Zanzwar AA, Hegde MV, Bodhankar SL. Cardioprotective activity of flax lignan concentrate extracted from seeds of *Linum usitatissimum* in ISOprelalin induced myocardial necrosis in rats. *Interdiscip Toxicol.*, 2011; 4(2):90.
91. Knuffman N, Van Der Laarse A, Vliegen H, Brinkman C. Quantification of myocardial necrosis and cardiac hypertrophy in Isoproterenol-treated rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.*, 1987;57(1):15-32.
92. Goyal S, Siddiqui MK, Siddiqui KM, et al. Cardioprotective effect of 'Khamira Abresham Hakim Arshad Wala' a unani formulation in Isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats. *Exp Toxicol Pathol.*, 2010;62(1):61-74.
93. Boarescu P-M, Chirilă I, Bulboacă AE, et al. Effects of Curcumin Nanoparticles in Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction. *Oxid Med Cell Longev.*, 2019; 7847142.
94. Thompson JA, Hess ML. The oxygen free radical system: a fundamental mechanism in the production of myocardial necrosis. *Prog Cardiovasc Dis.*, 1986;28(6):449-462.
95. Panda VS, Naik SR. Evaluation of cardioprotective activity of *Ginkgo biloba* and *Ocimum sanctum* in rodents. *Altern Med Rev.*, 2009;14(2):161.
96. Khan V, Sharma S, Bhandari U, Ali SM, Haque SE. Raspberry ketone protects against Isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Life Sci.* 2018;194:205-212.
97. Gyongyosi A, Zilinyi R, Czegledi A, Tosaki A, Tosaki A, Lekli I. The Role of Autophagy and Death Pathways in Dose-dependent Isoproterenolinduced Cardiotoxicity. *Curr Pharm Des.*, 2019;25(19): 2192-2198.

98. Romere C, Duerrschmid C, Bournat J, et al. Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein Hormone. *Cell.*, 2016;165(3):566-579.
99. Muthu ML, Reinhardt DP. Fibrillin-1 and fibrillin-1-derived asprosin in adipose tissue function and metabolic disorders. *J Cell Commun Signal.*, 2020;14(2):159-173.
100. Yuan M, Li W, Zhu Y, Yu B, Wu J. Asprosin: A Novel Player in Metabolic Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne).*, 2020;11:64.
101. Kocaman N, Kuloğlu T. Expression of asprosin in rat hepatic, renal, heart, gastric, testicular and brain tissues and its changes in a streptozotocin-induced diabetes mellitus model. *Tissue Cell.*, 2020;66:101397.
102. Kocaman N, Yuksel EI, Demir B, Calik I, Cicek D. Two Novel Biomarker Candidates for Differentiating Basal Cell Carcinoma from Trichoblastoma; Asprosin and Meteorine Like Peptide. *Tissue Cell.*, 2022;76:101752.
103. Liu L, Liu Y, Huang M, et al. The Effects of Asprosin on Exercise-Intervention in Metabolic Diseases. *Front Physiol.*, 2022;13:907358.
104. Kocaman N, Artaş G. Can novel adipokines, asprosin and meteorin-like, be biomarkers for malignant mesothelioma? *Biotech Histochem.*, 2020;95(3):171-175.
105. Donma MM, Donma O. Asprosin: Possible target in connection with ghrelin and cytokine network expression in the post-burn treatment. *Med Hypotheses.*, 2018;118:163-168.
106. Li E, Shan H, Chen L, et al. OLFRL1 Mediates Glucose Metabolism as a Receptor of Asprosin. *Cell Metab.*, 2019;30(2):319-28.e8.
107. Duerrschmid C, He Y, Wang C, et al. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nat Med.*, 2017; 23(12):1444-1453.
108. Zhang Z, Tan Y, Zhu L, et al. Asprosin improves the survival of mesenchymal stromal cells in myocardial infarction by inhibiting apoptosis via the activated ERK1/2-SOD2 pathway. *Life Sci.*, 2019;231:116554.

109. Jung TW, Kim HC, Kim HU, et al. Asprosin attenuates insulin signaling pathway through PKC δ -activated ER stress and inflammation in skeletal muscle. *J Cell Physiol.*, 2019; 234(11):20888-20899.
110. Alan M, Gurlek B, Yilmaz A, ve ark., Asprosin: a novel peptide hormone related to insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol.*, 2019; 35(3):220-223.
111. Li X, Liao M, Shen R, et al. Plasma Asprosin Levels Are Associated with Glucose Metabolism, Lipid, and Sex Hormone Profiles in Females with Metabolic-Related Diseases. *Mediators Inflamm.* 2018; 2018:7375294.
112. Wen MS, Wang CY, Yeh JK, et al. The role of Asprosin in patients with dilated cardiomyopathy. *BMC Cardiovasc DISOrd.*, 2020; 20(1):402.
113. N, Fouani FZ, Vatannejad A, Bakhti Arani A, Shahrzad S, Fadaei R. Serum levels of Asprosin in patients diagnosed with coronary artery disease (CAD): a case-control study. *Lipids Health Dis.*, 2021; 20(1):88.
114. Güven C, Kafadar H. Evaluation of Plasma Asprosin Concentration in Patients with Coronary Artery Disease. *Braz J Cardiovasc Surg.*, 2022.
115. Bridgewood C, Russell T, Weedon H, et al. The novel cytokine Metrnl/IL-41 is elevated in Psoriatic Arthritis synovium and inducible from both enthesal and synovial fibroblasts. *Clin Immunol.*, 2019;208:108253.
116. Nishino J, Yamashita K, Hashiguchi H, Fujii H, Shimazaki T, Hamada H. Meteorin: a secreted protein that regulates glial cell differentiation and promotes axonal extension. *Embo j.* 2004;23(9):1998-2008.
117. Ushach I, Burkhardt AM, Martinez C, et al. METEORIN-LIKE is a cytokine associated with barrier tissues and alternatively activated macrophages. *Clin Immunol.*, 2015;156(2):119-127.
118. Jørgensen JR, Fransson A, Fjord-Larsen L, et al. Cometin is a novel neurotrophic factor that promotes neurite outgrowth and neuroblast migration in vitro and supports survival of spiral ganglion neurons in vivo. *Exp Neurol.*, 2012;233(1):172-181.

119. Rao RR, Long JZ, White JP, et al. Meteorin-like is a hormone that regulates immune-adipose interactions to increase beige fat thermogenesis. *Cell.*, 2014;157(6):1279-1291.
120. Das DK, Graham ZA, Cardozo CP. Myokines in skeletal muscle physiology and metabolism: Recent advances and future perspectives. *Acta Physiol (Oxf).*, 2020;228(2):e13367.
121. Li ZY, Song J, Zheng SL, et al. Adipocyte Metrnl Antagonizes Insulin Resistance Through PPAR γ Signaling. *Diabetes.*, 2015; 64(12):4011-4022.
122. Ushach I, Arrevillaga-Boni G, Heller GN, et al. Meteorin-like/Meteorin- β Is a Novel Immunoregulatory Cytokine Associated with Inflammation. *J Immunol.*, 2018;201(12):3669-3676.
123. Liu ZX, Ji HH, Yao MP, et al. Serum Metrnl is associated with the presence and severity of coronary artery disease. *J Cell Mol Med.*, 2019;23(1):271-280.
124. Xu L, Cai Y, Wang Y, Xu C. Meteorin-Like (METRNL) Attenuates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury-Induced Cardiomyocytes Apoptosis by Alleviating Endoplasmic Reticulum Stress via Activation of AMPK-PAK2 Signaling in H9C2 Cells. *Med Sci Monit.*, 2020;26:e924564.
125. Rupérez C, Ferrer-Curriu G, Cervera-Barea A, et al. Meteorin-like/Meteorin- β protects heart against cardiac dysfunction. *J Exp Med.*, 2021;218(5).
126. Baht GS, Bareja A, Lee DE, et al. Meteorin-like facilitates skeletal muscle repair through a Stat3/IGF-1 mechanism. *Nat Metab.*, 2020;2(3):278-289.
127. Hu C, Zhang X, Song P, et al. Meteorin-like protein attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity via activating cAMP/PKA/SIRT1 pathway. *Redox Biol.*, 2020;37:101747.

128. Kim SH, Park JW. Morin hydrate attenuates CSE-induced lipid accumulation, ER stress, and oxidative stress in RPE cells: implications for age-related macular degeneration. *Free Radic Res.*, 2019;53(8):865-874.
129. Jung TW, Lee SH, Kim HC, et al. METRNL attenuates lipid-induced inflammation and insulin resistance via AMPK or PPAR δ -dependent pathways in skeletal muscle of mice. *Exp Mol Med.*, 2018;50(9):1-11.
130. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem Toxicol.*, 2008;46(2):446-475.
131. Ferreira FM, Palmeira CM, Oliveira MM, et al. NRDLidol effects on mitochondrial and cellular energetics. *Toxicol In Vitro.*, 2012;26(2):189-196.
132. Park MJ, Gwak KS, Yang I, et al. Effect of citral, eugenol, NRDLidol and alpha-terpineol on the ultrastructural changes of *Trichophyton mentagrophytes*. *Fitoterapia.*, 2009;80(5):290-296.
133. Thurman EM. Chapter Seven - Analysis of terpenes in hemp (*Cannabis sativa*) by gas chromatography/mass spectrometry: Isomer identification analysis. In: Ferrer I, Thurman EM, editors. *Comprehensive Anal Chem.*, 2020;197-233.
134. Lapczynski A, Bhatia SP, Letizia CS, Api AM. Fragrance material review on NRDLidol (ISomer unspecified). *Food Chem Toxicol.*, 2008; 46 (11), 247-250.
135. Chan WK, Tan LTH, Chan KG, Lee LH, Goh BH. NRDLidol: a sesquiterpene alcohol with multi-faceted pharmacological and biological activities. *Molecules.*, 2016;21(5):529.
136. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact.*, 2014;224:164-175.
137. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging.*, 2007;2(2):219-236.
138. van der Pol A, van Gilst WH, Voors AA, van der Meer P. Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. *Eur J Heart Fail.*, 2019;21(4):425-435.

139. Asaikumar L, Vennila L, Akila P, et al. Preventive effect of NRDLidol on Isoproterenol induced myocardial damage in Wistar rats: Evidences from biochemical and histopathological studies. *Drug Dev Res.*, 2019;80(6):814-823.
140. Vinholes J, Rudnitskaya A, Gonçalves P, Martel F, Coimbra MA, Rocha SM. Hepatoprotection of sesquiterpenoids: a quantitative structure-activity relationship (QSAR) approach. *Food Chem.*, 2014;146:78-84.
141. Nogueira Neto JD, de Almeida AA, da Silva Oliveira J, Dos Santos PS, de Sousa DP, de Freitas RM. Antioxidant effects of NRDLidol in mice hippocampus after open field test. *Neurochem Res.*, 2013; 38(9):1861-1870.
142. Serafini MR, Santos RC, Guimaraes AG, et al. *Morinda citrifolia* Linn leaf extract possesses antioxidant activities and reduces nociceptive behavior and leukocyte migration. *J Med Food.*, 2011;14(10):1159-1166.
143. Arunachalam S, Nagoor Meeran MF, Azimullah S, Sharma C, Goyal SN, Ojha S. NRDLidol Attenuates Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis by Modulating Nrf2/MAPK Signaling Pathways in Doxorubicin-Induced Acute Cardiotoxicity in Rats. *Antioxidants (Basel).*, 2021;10(6)
144. Hall JC, Heel KA, Papadimitriou JM, Platell C. The pathobiology of peritonitis. *Gastroenterology*, 1998;114(1):185-196.
145. Fonsêca DV, Salgado PR, de Carvalho FL, et al. NRDLidol exhibits antinociceptive and anti-inflammatory activity: involvement of the GABAergic system and proinflammatory cytokines. *Fundam Clin Pharmacol.*, 2016;30(1):14-22.
146. Hada T, Shiraishi A, Furuse S, et al. Inhibitory effects of terpenes on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Nat Med.*, 2003;57(2):64-67.
147. Lee K, Lee JH, Kim SI, Cho MH, Lee J. Anti-biofilm, anti-hemolysis, and anti-virulence activities of black pepper, cananga, myrrh oils, and NRDLidol against *Staphylococcus aureus*. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 2014;98(22):9447-9457.

148. Nguikwi SK, Nyegue MA, Belinga FNF, et al. The chemical composition and antibacterial activities of the essential oils from three *Aframomum* species from Cameroon, and their potential as sources of (E)-(R)-NRDlitol. *Nat Prod Commun.*, (2013). 8(6), 1934578 X1300 800638.
149. Ephrem E, Najjar A, Charcosset C, Greige-Gerges H. Selection of NRDlitol among a series of terpenic and phenolic compounds for its potent activity against *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338. *Process Biochem.*, 2019;80:146-156.
150. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.*, 2002;8(9):881-890.
151. Lee SJ, Han JI, Lee GS, et al. Antifungal effect of eugenol and NRDlitol against *Microsporum gypseum* in a guinea pig model. *Biol Pharm Bull.*, 2007;30(1):184-188.
152. Klopell FC, Lemos M, Sousa JP, et al. NRDlitol, an antiulcer constituent from the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). *Z Naturforsch C J Biosci.*, 2007;62(7-8):537-542.
153. Cornwell PA, Barry BW. Sesquiterpene components of volatile oils as skin penetration enhancers for the hydrophilic permeant 5-fluorouracil. *J Pharm Pharmacol.*, 1994;46(4):261-269.
154. Prasanthi D, Lakshmi PK. Terpenes: Effect of lipophilicity in enhancing transdermal delivery of alfuzosin hydrochloride. *J Adv Pharm Technol Res.*, 2012;3(4):216-223.
155. Kubo I, Morimitsu Y. Cytotoxicity of green tea flavor compounds against two solid tumor cells. *J Agric Food Chem.*, 1995;43(6):1626-1628.
156. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR, Ulukaya E, Cangül H. Lippincott's illustrated review serisinden, *Biyokimya: Nobel Tıp Kitabevleri*; 2007.
157. Öngen B, Kabaroğlu C, Parıldar Z. Vitamini'nin biyokimyasal ve laboratuvar değerlendirmesi. *Türk klinik Biyokimya Dergisi.* 2008;6(1):23-31.

158. Chang, SW, Lee, HC. Vitamin D and health-The missing vitamin in humans. *Pediatrics & Neonatology*, 2019; 60(3), 237-244.
159. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.*, 2007;357(3):266-81.
160. Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab.*, 2018;72(2):87-95.
161. Sassi F, Tamone C, D'Amelio, P. Vitamin D: nutrient, hormone, and immunomodulator. *Nutrients*, 2018; 10(11), 1656.
162. Liu JJ, Bertrand KA, Karageorgi S, et al. Prospective analysis of vitamin D and endometrial cancer risk. *Ann Oncol.*, 2013;24(3):687-692.
163. Agic A, Xu H, Altgassen C, et al. Relative expression of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor, vitamin D 1 alpha-hydroxylase, vitamin D 24-hydroxylase, and vitamin D 25-hydroxylase in endometriosis and gynecologic cancers. *Reprod Sci.*, 2007;14(5):486-497.
164. Özkan B, Döneray H. vitamininin iskelet sistemi dışı etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 2011;54(2):99-119.
165. Kongsbak M, Levring TB, Geisler C, von Essen MR. The vitamin d receptor and T cell function. *Front Immunol.*, 2013;4:148.
166. Kruse K. Endocrine Control of Calcium and Bone Metabolism. In "Clinical Paediatric Endocrinology". Brook CGD (Ed). 3th ed. Blackwell Science Ltd. Oxford 1995;712-743.
167. Tellioğlu A, Başaran S. Güncel bilgiler ışığında vitamin D. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 2013;22(2):259-271.
168. Zhang, S, Miller, DD, Li, W. Non-musculoskeletal benefits of vitamin D beyond the musculoskeletal system. *Int J Mol Sci.*, 2021; 22(4), 2128.
169. Pilz S, Zittermann A, Trummer C, et al. Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence. *Endocr Connect.*, 2019; 8(2), R27-R43.
170. Zmijewski MA. Vitamin D and human health. *Int J Mol Sci.*, 2019; 20(1), 145
171. Rai V, Agrawal DK. Role of Vitamin D in Cardiovascular Diseases. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2017;46(4):1039-1059.

172. Li YC, Qiao G, Uskokovic M, Xiang W, Zheng W, Kong J. Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, 2004; 89-90(1-5):387-392.
173. Xiang W, Kong J, Chen S, et al. Cardiac hypertrophy in vitamin D receptor knockout mice: role of the systemic and cardiac renin-angiotensin systems. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 2005; 288(1):E125-132.
174. Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest.*, 2002;110(2):229-238.
175. Charoenngam N, Holick, MF. Immunologic effects of vitamin D on human health and disease. *Nutrients*, 2020; 12(7), 2097.
176. Krause R, Buhning M. Ultraviolet B and blood pressure. *The Lancet.*, 1998; 352(9129), 709-710.
177. Thomas GN, B óH, Bosch JA, et al. Vitamin D levels predict all-cause and cardiovascular disease mortality in subjects with the metabolic syndrome: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) Study. *Diabetes Care.*, 2012;35(5):1158-1164.
178. Liu W, Zhang L, Xu HJ, et al. The Anti-Inflammatory Effects of Vitamin D in Tumorigenesis. *Int J Mol Sci.*, 2018;19(9).
179. Rodriguez AJ, Mousa A, Ebeling PR, Scott D, De Courten B. Effects of vitamin D supplementation on inflammatory markers in heart failure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci Rep.*, 2018; 8(1), 1-8.
180. Yarparvar A, Elmadfa I, Djazayeri A, Abdollahi Z, Salehi F. The association of vitamin d status with lipid profile and inflammation biomarkers in healthy adolescents. *Nutrients*, 2020; 12(2), 590.
181. El-Fakhri N, McDevitt H, Shaikh MG, Halsey C, Ahmed SF. Vitamin D and its effects on glucose homeostasis, cardiovascular function and immune function. *Horm Res Paediatr.*, 2014; 81(6):363-378.

182. Latic N, Erben RG. Vitamin D and Cardiovascular Disease, with Emphasis on Hypertension, Atherosclerosis, and Heart Failure. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(18).
183. Harinarayan CV. Prevalence of vitamin D insufficiency in postmenopausal south Indian women. *Osteoporos Int.*, 2005;16(4):397-402.
184. Alkerwi A, Sauvageot N, Gilson G, Stranges S. Prevalence and Correlates of Vitamin D Deficiency and Insufficiency in Luxembourg Adults: Evidence from the Observation of Cardiovascular Risk Factors (ORISCAV-LUX) Study. *Nutrients*, 2015; 7(8):6780-6796.
185. Lund B, Badskjaer J, Lund B, Soerensen OH. Vitamin D and ischaemic heart disease. *Horm Metab Res.*, 1978;10(6):553-556.
186. Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch Intern Med.*, 2008;168(11):1174-1180.
187. Gangula PR, Dong YL, Al-Hendy A, et al. Protective cardiovascular and renal actions of vitamin D and estrogen. *Front Biosci (Schol Ed).*, 2013;5:134-148.
188. Gardner DG, Chen S, Glenn DJ. Vitamin D and the heart. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 2013;305(9):R969-977.
189. Zostautiene I, Jorde R, Schirmer H, et al. Genetic Variations in the Vitamin D Receptor Predict Type 2 Diabetes and Myocardial Infarction in a Community-Based Population: The Tromsø Study. *PLoS One*, 2015;10(12):e0145359.
190. Yao T, Ying X, Zhao Y, et al. Vitamin D receptor activation protects against myocardial reperfusion injury through inhibition of apoptosis and modulation of autophagy. *Antioxid Redox Signal.*, 2015;22(8):633-650.
191. Gupta GK, Agrawal T, Rai V, Del Core MG, Hunter WJ, 3rd, Agrawal DK. Vitamin D Supplementation Reduces Intimal Hyperplasia and Restenosis following Coronary Intervention in Atherosclerotic Swine. *PLoS One*, 2016;11(6):e0156857.

192. Argacha JF, Egrise D, Pochet S, et al. Vitamin D deficiency-induced hypertension is associated with vascular oxidative stress and altered heart gene expression. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 2011;58(1):65-71.
193. Zittermann A, Dembinski J, Stehle P. Low vitamin D status is associated with low cord blood levels of the immunosuppressive cytokine interleukin-10. *Pediatr Allergy Immunol.*, 2004;15(3):242-246.
194. Gondim F, Caribé A, Vasconcelos KF, Segundo AD, Bandeira F. Vitamin D Deficiency Is Associated with Severity of Acute Coronary Syndrome in Patients with Type 2 Diabetes and High Rates of Sun Exposure. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes*, 2016; 9:37-41.
195. Tokarz A, Kusnierz-Cabala B, Kuźniewski M, Gacoń J, Mazur-Laskowska M, Stępień E. Seasonal effect of vitamin D deficiency in patients with acute myocardial infarction. *Kardiologia Pol.*, 2016;74(8):786-792.
196. Samrao D, Wang D, Ough F, et al. Histologic parameters predictive of disease outcome in women with advanced stage ovarian carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. *Transl Oncol.*, 2012;5(6):469-474.
197. Sapmaz E, Kale A, Akpolat N. Melatonin use in unilateral total salpingectomy in rats. *Clin Exp Obstet Gynecol.*, 2012; 39(2):186-190.
198. Lien CL, HarrISON MR, Tuan TL, Starnes VA. Heart repair and regeneration: recent insights from zebrafish studies. *Wound Repair Regen.*, 2012; 20(5):638-46.
199. Nagoor Meeran MF, Laham F, Azimullah S, Tariq S, Ojha S. α -Bisabolol abrogates Isoproterenol-induced myocardial infarction by inhibiting mitochondrial dysfunction and intrinsic pathway of apoptosis in rats. *Mol Cell Biochem.*, 2018; 453, 89–102.
200. Lin CY, Zhao L, Huang T, et al. Spexin Acts as Novel Regulator for Bile Acid Synthesis. *Front Physiol.*, 2018; 10:9:378.
201. Wong MK, Sze KH, Chen T, et al. Goldfish spexin: solution structure and novel function as a satiety factor in feeding control. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 2013; 305(3): 348-366.

202. Iqbal A, Sharma S, Ansari MA, et al. NRDlidol attenuates cyclophosphamide-induced cardiac inflammation, apoptosis and fibrosis in Swiss Albino mice. *Eur J Pharmacol.*, 2019;863:172666.
203. Gong L, Huang G, Weng L, et al. Decreased serum interleukin-41/Metrnl levels in patients with Graves' disease. *J Clin Lab Anal.*, 2022; 36(10):e24676.
204. Türkmen NB, Yüce H, Taşlıdere A, Şahin Y, Çiftçi O. The Ameliorate Effects of Nerolidol on Thioacetamide-induced Oxidative Damage in Heart and Kidney Tissue. *Turk J Pharm Sci.*, 2022;19(1):1-8.
205. Öngen B, Kabaroğlu C, Parıldar Z. Vitamini'nin biyokimyasal ve laboratuvar değerlendirmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2008;6(1):23-31.
206. Green JJ, Robinson DA, Wilson GE, et al. Calcitriol modulation of cardiac contractile performance via protein kinase C. *J Mol Cell Cardiol.*, 2006; 41:350-359.
207. Rai V, Agrawal DK. Role of Vitamin D in Cardiovascular Diseases. *Endocrinol Metab Clin North Am.*, 2017; 46(4):1039-1059.
208. Green JJ, Robinson DA, Wilson GE, et al. Calcitriol modulation of cardiac contractile performance via protein kinase C. *J Mol Cell Cardiol.*, 2006; 41:350-359.
209. Kivity S, Agmon-Levin N, Zisappl et al. Vitamin D and autoimmune thyroid diseases. *Cell Mol Immunol.*, 2011; 8: 243-247.
210. HewISON M. D vitamini ve bağışıklık sistemi: eski bir tema üzerine yeni bakış açıları. *Rheum Dis Clin Kuzey Am.*, 2012; 38 :125-139.
211. Ferreira R, Ferreira D, Correia MJ, et al. Prevenção secundária no enfarte agudo do miocárdio [Secondary prevention in acute myocardial infarction]. *Acta Med Port.*, 2001;14(2):149-169.