

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EMPAGLİFLOZİNİN SIÇANLARDA DOKSORUBİSİN İLE
OLUŞTURULAN KARDİYOMİYOPATİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Veysel Özgür BARIŞ

**Fizyoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2021**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EMPAGLİFLOZİNİN SIÇANLARDA DOKSORUBİSİN İLE
OLUŞTURULAN KARDİYOMİYOPATİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Veysel Özgür BARIŞ

**Fizyoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ayşen ERDEM**

**ANKARA
2021**

ONAY SAYFASI**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ****EMPAGLİFLOZİNİN SIÇANLARDA DOKSORUBİSİN İLE OLUŞTURULAN
KARDİYOMİYOPATİ ÜZERİNE ETKİSİ****Dr. Veysel Özgür Barış****Danışman: Prof. Dr. Ayşen Erdem**

Bu tez çalışması 21 Haziran 2021 tarihinde jürimiz tarafından "FİZYOLOJİ Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

- Jüri Başkanı:** **Prof. Dr. Mustafa Kılıçkap**
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji ABD.
- Üye:** **Doç. Dr. Demet Menekşe Gerede Uludağ**
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji ABD.
- Üye:** **Doç. Dr. Meltem Tuncer**
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD.
- Üye:** **Doç. Dr. Bilge Pehlivanoglu**
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD.
- Üye:** **Doç. Dr. Okan Arıhan**
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD.

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

12 Temmuz 2021

Prof. Dr. Diclehan ORHAN
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir

..... /...../.....

(İmza)

Öğrencinin Adı SOYADI

1“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *.

Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYANI

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Ayşen Erdem danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dr. Veysel zgr BARIŞ

TEŞEKKÜR

Fizyoloji dalında doktora programına başladığımdan beri bana hem derslerimde hem tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesi aşamasında her türlü desteği sağlayan, her zaman bir rol modeli olan ve bana hep umut aşılayarak motive eden danışmanım Sayın Prof. Dr. Ayşen Erdem'e,

Değerli önerileri ile çalışmama katkı sağlayan Sayın Doç. Dr. Meltem Tuncer'e,

Kardiyoloji anabilim dalında tez danışmanlığımı yaptıktan sonra fizyoloji doktora tez çalışmamda da önerileri ile katkı sağlayan Sayın Prof. Dr. Mustafa Kılıçkap'a,

Histopatolojik incelemelerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde katkıda bulunan Sayın Prof. Dr. Sevdâ Müftüoğlu'na ve Sayın Arş. Gör. Selim Zırh'a,

Deneylelerin her aşamasında yardımda bulunan Sayın Arş. Gör. Adnan Berk Dinçsoy ve Sayın Arş. Gör. Esra Gedikli'ye,

Fizyoloji doktora programındaki eğitimim sırasında kardiyolojideki işlerimde bana yardımcı olarak bu eğitimi tamamlayabilmemi sağlayan Sayın Uz. Dr. Serkan Asil'e,

Bu tez çalışmasına ödenek vererek destekleyen başta Sayın Prof. Dr. Oktay Ergene ve Sayın Prof. Dr. Mehdi Zoghi olmak üzere Kardiyovasküler Akademi Derneğine,

Ayrıca doktora eğitimimin bir bölümünde TUBİTAK 2211 Yurt içi Lisansüstü Burs programı desteği için Tubitak'a,

Kızım Lisa'ya,

Tez çalışmam sırasında bana gösterdikleri hoşgörü ve desteklerinden dolayı Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

ÖZET

Barış V.Ö. Empagliflozinin Sıçanlarda Doksorubisin ile Oluşturulan Kardiyomiyopati Üzerine Etkisi Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2021 Empagliflozin, kardiyovasküler ölümleri ve kalp yetersizliğine bağlı hastaneye yatışları azaltan bir SGLT-2 inhibitörüdür. Bu çalışmada, empagliflozinin doksorubisine bağlı kardiyotoksisteye karşı olası koruyucu etkilerini değerlendirmeyi amaçladık. Diyabetik olmayan Sprague-Dawley sıçanlar bu çalışmada rastgele dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna intraperitoneal (I.P.) ve orogastrik (O.G.) yol ile serum fizyolojik (SF) (1 ml) verildi, EMPA grubuna O.G. yol ile 10 mg/kg/gün empagliflozin, I.P. olarak SF verildi, DOX grubuna IP yol ile kümülatif 18 mg / kg vücut ağırlığı / 6 gün doksorubisin, O.G. yol ile SF verildi. DOX + EMPA grubuna 14 gün boyunca aynı dozlarda doksorubisin ve empagliflozin uygulandı. 15. günde anestezi altında ekokardiyografik ve elektrokardiyografik incelemeler yapıldı. Biyokimyasal parametreleri değerlendirmek için kan örnekleri alındı ve histopatolojik bulguları değerlendirmek için kalp dokuları eksize edildi. DOX grubunda kontrol grubuna göre sol ventrikül sistolik (P <0,05) ve diyastolik çapları (P <0,01), QTc intervali (P <0,001), karyoliz ve karyoreksis oranı (P <0,001) ve infiltratif hücre proliferasyonu (P <0,001) önemli ölçüde daha yüksek bulunurken sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu, fraksiyonel kısalması ve normal hücre morfolojisi ise daha düşük (P <0,001) saptandı. DOX + EMPA grubunda; Dox grubuna göre sol ventrikül diyastolik çapları (P <0,05) ve sistolik (P <0,01) çapları, QTc intervali (P <0,001), karyolizis ve karyoreksis oranları (P <0,001) ve infiltratif hücre proliferasyonu anlamlı olarak daha düşüktü (P <0,01); normal hücre morfolojisi ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu DOX grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti (P <0,001). Biyokimyasal sonuçlar gruplar arasında benzerdi. Sonuç olarak; bu çalışma empagliflozinin doksorubisine bağlı olarak gelişen QTc uzamasını, sol ventrikül dilatasyonunu, sol ventrikül sistolik fonksiyonun bozukluğunu, infiltratif hücre proliferasyonunu ve nekrozu önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir. Mevcut çalışmada elde edilen veriler, empagliflozinin koruyucu etkisinin, natriüretik veya antioksidan etkilerden çok mitokondriyal biyogenezdeki artış ve sarkoplazmik retikulum dejenerasyonunun önlenmesinden kaynaklandığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Empagliflozin, Doksorubisin, Kardiyotoksistite

Destekleyen Kurumlar: Kardiyovasküler Akademi Derneği

ABSTRACT

Barış V.Ö. Empagliflozin's Effect on Doxorubicin induced Cardiomypathy in Rats Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Doctor of Philosophy Thesis for Physiology, Ankara, 2021 Empagliflozin is an SGLT-2 inhibitor that reduces cardiovascular deaths and hospitalizations for heart failure. In this study, we aimed to evaluate the possible protective effects of empagliflozin against doxorubicin-induced cardiotoxicity. Non-diabetic Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups in this study. Physiological saline (SF) (1 ml) was given to the control group by intraperitoneal (I.P.) and orogastric (O.G.) routes, and to the EMPA group empagliflozin 10 mg/kg/day by O.G. route, SF was given by I.P. route. DOX group as a cumulative 18 mg / kg body weight / 6 days doxorubicin by IP route, SF was given via O.G. route. Doxorubicin and empagliflozin were administered at the same doses for 14 days to the DOX + EMPA group. On the 15th day, echocardiographic and electrocardiographic examinations were performed under anesthesia. Blood samples were taken to evaluate biochemical parameters and heart tissues were excised to evaluate histopathological findings. Left ventricular systolic (P <0.05) and diastolic diameters (P <0.01), QTc interval (P <0.001), karyololysis and karyorexis ratio (P <0.001) and infiltrative cell proliferation (P < 0.01) in the DOX group compared to the control group (0.001), while left ventricular ejection fraction, fractional shortening and normal cell morphology were found to be lower (P <0.001). In the DOX + EMPA group; Compared to the Dox group, left ventricular diastolic diameters (P <0.05) and systolic (P <0.01) diameters, QTc interval (P <0.001), karyolysis and karyorexis rates (P <0.001) and infiltrative cell proliferation were significantly lower. (P < 0.01); normal cell morphology and left ventricular ejection fraction were significantly higher than in the DOX group (P <0.001). Biochemical results were similar between groups. As a result; This study showed that empagliflozin significantly improved doxorubicin-induced QTc prolongation, left ventricular dilatation, left ventricular systolic dysfunction, infiltrative cell proliferation and necrosis. The data obtained in the current study indicate that the protective effect of empagliflozin is due to the increase in mitochondrial biogenesis and prevention of sarcoplasmic reticulum degeneration rather than natriuretic or antioxidant effects.

Keywords: Empagliflozin, Doxorubicin, Cardiotoxicity

Supported by: Cardiovascular Academy Society

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYANI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Hipotez ve Amaç	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kalp yetersizliği	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Etiyoloji	3
2.1.3. Tedavi	3
2.2. Doksorubisin	4
2.2.1. Temel Moleküler ve Farmakolojik Özellikleri	4
2.2.2. Endikasyonları ve Antitümör Etki Mekanizmaları	4
2.2.3. Kardiyotoksisite Mekanizmaları	5
2.2.4. Kardiyotoksisite Tanı ve Takibi	7
2.2.5. Korunma ve Tedavisi	9
2.3. Empagliflozin	10
2.3.1. Farmokokinetik ve Farmokodinamik Özellikleri	10
2.3.2. Antidiyabetik Etki Mekanizması	10
2.3.3. Klinik Çalışmaları	11
2.3.4. Temel Bilim Çalışmaları	13
2.3.5. Tedavi Endikasyonları	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Deney Grupları	16
3.2. Örneklerin Toplanması	18
3.3. Elektrokardiyografik Kayıtlar	19
3.4. Ekokardiyografik Ölçümler	20
3.5. Histolojik Değerlendirme	22

3.5.1. Işık Mikroskobu İncelemesi	22
3.5.2. İnfiltratif Hücre Sayımı	22
3.5.3. Miyosit Kalınlık Ölçümü	22
3.5.4. Elektron Mikroskopi İncelemesi	23
3.6. Biyokimyasal İncelemeler	23
3.6.1. Paraoksanaz-1, İskemi Modifiye Albumin, Myelloperoksidaz, Superoksid Dismutaz Ölçümleri	23
3.6.2. Beyin Natriüretik Peptid Seviyeleri ölçümü	24
3.6.3. Doku Total Oksidan, Total Antioksidan, Malondialdehit Seviyeleri ve Oksidatif Stres İndeks Ölçümü	24
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	25
3.8. Etik Kurul İzni	26
4. BULGULAR	27
4.1. Elektrokardiyografik Ölçümler	27
4.2. Ekokardiyografik ölçümler	28
4.3. Histolojik bulgular	30
4.3.1. Kardiyomiyosit Kalınlığı, İnfiltratif ve Normal Hücre Sayımları	30
4.3.2. Işık Mikroskobu Bulguları	32
4.3.3. Elektron Mikroskobu Bulguları	35
4.4. Biyokimyasal Bulgular	39
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
7. KAYNAKÇA	48
8. EKLER	61
Ek-1: Bu tez çalışmasından türettiğimiz makalenin bilgileri	
Ek-2: Bu tez çalışmasından aldığımız ulusal ödül	
Ek-2: Etik Kurul Beyanı	
Ek-3: Orjinallik Raporu	
Ek-4: Dijital Makbuz	
9. ÖZGEÇMİŞ	71

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
ARB	: Anjiotensin reseptör blokerlerini
ARNI	: Anjiotensin reseptör ve neprilizin inhibitörlerini
AU	: Arbitrary unit
BNP	: Beyin natriüretik peptid
CAA	: Çeyrekler arası aralık
Dox	: Doksorubisin
EF	: Ejeksiyon fraksiyonu
EKG	: Elektrokardiyografi
EM	: Elektron mikroskopik
EMPA	: Empagliflozin
FDA	: Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi
FK	: Fraksiyonel kısalma
İ.P.	: İntraperitoneal
MDA	: Malondialdehit
O.G.	: Orogastrik gavaj
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PGC-1α	: Peroksizom proliferator-aktive reseptör gamma koaktivator 1-alpha
QTc	: Düzeltilmiş QT mesafesi
ROT	: Reaktif oksijen türleri
RV FAC	: Sağ ventrikül fraksiyonel alan değişimi
SERCA	: Sarkoplazmik retikulum Ca ⁺⁺ ATP az
SGLT-2	: Sodyum glikoz ko-transporter 2
SS	: Standart sapma
SVDSÇ	: Sol ventrikül diyastol sonu çap
SVSSÇ	: Sol ventrikül sistol sonu çap
TAPSE	: Triküspit anüler plan sistolik hareketi
TOPO	: Topoizomeraz
TOS	: Total oksidan

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
3.1. Orogastrik gavaj ile sıçanlara empagliflozin uygulanması	17
3.2. İntraperitoneal enjeksiyon ile sıçanlara doksorubisin uygulanması	18
3.3. Kardiyak ponksiyon ile sıçanlardan kan örneklerinin toplanması	19
3.4. İğne elektrodlar kullanılarak D2 derivasyonundan EKG kayıtları alınıp Biopac MP36 (Biopac Systems, Goleta, CA, USA) veri toplama sistemi ile değerlendirilmesi	19
3.5. Portable Vivid E (General Electronics) cihazı ve 10 s ekokardiyografi probu ile yapılan ekokardiyografik değerlendirmeler	20
3.6. M-Mode Ekokardiyografi ile kısa eksende sol ventrikül diyastol sonu çap (SVDSÇ), sol ventrikül sistol sonu çap (SVSSÇ) ölçümleri yapıldıktan sonra Teicholz yöntemi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve fraksiyonel kısalma (FK) oranlarının hesaplanması	21
3.7. Apikal dört boşluk görüntülerden mitral kapak diyastolik doluş örneklerinden pulse dopler yöntemi ile E ve A dalga ölçümleri yapılması	21
3.8. Dokuların homojenizasyonu	25
4.1. Grupların elektrokardiyografi kayıtları	28
4.2. Ekokardiyografik incelemede sol ventriül kısa aks M-Mode görüntüler	30
4.3. Kontrol grubunun ışık mikroskopik görüntüsü	32
4.4. Empagliflozin grubunun ışık mikroskopik görüntüsü	33
4.5. DOX grubunun hematoksilen eozin boyama ile ışık mikroskopi görüntüsü	34
4.6. DOX + EMPA grubunun ile ışık mikroskopik görüntüsü	35
4.7. Kontrol grubunun elektron mikroskopi ile görünümü	36
4.8. EMPA grubunun elektron mikroskopik incelenmesi	37
4.9. DOX grubunun elektron mikroskopik görüntüsü	38
4.10. DOX + EMPA grubunun elektron mikroskopik görüntüsü	39

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
4.1. Elektrokardiyografik bulgular	27
4.2. Ekokardiyografik bulgular	29
4.3. Histolojik bulgular	31
4.4. Biyokimyasal bulgular	40

1. GİRİŞ

Empagliflozin (EMPA); sodyum glikoz ko-transporter 2 (SGLT-2) inhibisyonu ile renal proksimal tübülüslerden glikoz geri emilimini azaltarak antidiyabetik etki göstermektedir (1). Antidiyabetik etkilerinin ötesinde; EMPA-REG OUTCOME klinik çalışmasında; diyabetik hastalarda plasebo ile karşılaştırıldığında tüm nedenlere bağlı ölümü, kardiyovasküler ölümü ve kalp yetersizliği nedeni hastane yatışlarını azalttığı gösterilmiştir (2). EMPA'nın kardiyovasküler mortaliteyi azaltmadaki bu faydalı etkisi henüz fizyopatolojik olarak tam açıklanamamıştır. Klinik çalışmalarda arteriyel sertliği, kardiyak oksijen ihtiyacını, albuminüriyi azalttığı, hayvan çalışmalarında ise sol ventrikül fibrozis ve yeniden şekillenmeyi geriletmediği, sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyonları üzerine olumlu etkileri olduğuna dair kanıtlar mevcut olsa da bu çalışmalar EMPA'nın kardiyomiyositler üzerinde direk koruyucu etkisi olup olmadığını gösterememektedir (3-10).

Doksorubisin (Dox); klinik pratikte birçok hematolojik ve solid malignitelerin tedavisinde etkili olan bir kemoterapotik ajandır (11-14). Dox; bu geniş kullanım alanlarının yanında akut ve kronik kardiyotoksitesite ile kalp yetersizliğine yol açmaktadır (15, 16). Dolayısıyla Dox kardiyotoksitesitesi uzun dönemde kanser tedavisinde önemli bir problem oluşturmaktadır.

EMPA'nın Dox kardiyotoksitesitesinde olumlu etkilerini gösteren az sayıda çalışma mevcuttur (17, 18). Fakat bu çalışmalarda elektrokardiyografik ve elektron mikroskopik incelemeleri yapılmamıştır.

1.1. Hipotez ve Amaç

H_0 =Empagliflozin, Dox kardiyomyopatisinde koruyucu değildir.

H_1 =Empagliflozin, Dox kardiyomyopatisinde koruyucudur.

Bu çalışmada kardiyovasküler mortalite üzerine olumlu etkileri gösterilen EMPA'nın Dox kardiyotoksitesitesi üzerindeki önleyici etkilerini değerlendirmeyi ve diğer çalışmalara ek olarak elektrokardiyografik ve elektron mikroskopik incelemeler

ile hem fizyopatolojik mekanizmaları hem de EMPA'nın kardiyomiyositler üzerinde direk etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalp yetersizliği

2.1.1. Tanım

Kalp yetersizliği; kalp kasında gelişen yapısal veya fonksiyonel bozukluklara bağlı olarak, kardiyak çıkışın düşmesi veya intrakardiyak basınçların artması sonucu hastalarda dispne, egzersiz intoleransı, paroksizmal noktürnal dispne, ortopne, ödem, halsizlik gibi düşük kardiyak çıkış ve konjesyonun yol açtığı semptomlar ile seyreden bir klinik tablo olarak tanımlanmaktadır (19).

2.1.2. Etiyoloji

Kalp yetersizliğinin etyolosinde iskemik kalp hastalığı, hipertansiyon, kalp kapak hastalıkları, perikardiyal hastalıklar, aritmiler, kalıtsal kardiyomyopatiler gibi kardiyak hastalıkların yanında sistemik hastalıklar (tiroit hastalıkları, amiloidozis, enfeksiyonlar) ve ilaç intoksikasyonu gibi nedenler de yer almaktadır (19).

2.1.3. Tedavi

Düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği tedavisinde güncel kılavuzlar anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörlerini, anjiyotensin reseptör blokerlerini (ARB), anjiyotensin reseptör ve neprilizin inhibitörlerini (ARNI), beta blokerleri, mineralokortikoid reseptör inhibitörlerini ve diüretikleri önermektedir (19). Normal ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği tedavisinde semptomatik tedavinin ötesinde henüz mortaliteyi önleyebilecek tedavi seçeneği bulunmamaktadır (19).

2.2. Dokсорubisin

2.2.1. Temel Moleküler ve Farmakolojik Özellikleri

Dokсорubisin (Dox) ilk defa 1969 yılında *Streptomyces peucetius* bakterisinden izole edilerek kullanılan antrasiklin türevi bir kemoterapotik ajandır (20). Moleküler yapısında tetrasiklik halka içeren aglikonik şeker parçacığı ve birincil alkol ihtiva etmektedir (20). Major metaboliti dokсорubisinoldür. Dox ve dokсорubisinol plazma proteinlerine bağlanarak taşınırlar (21). Hücre içine pasif difüzyon ile girer ve temelde hücre çekirdeğinde birikme eğilimindedir (21). Dokılara penetrasyon yeteneği çok yüksektir, karaciğer, kemik iliği ve beyaz kan hücrelerinde de birikme eğilimi göstermektedir fakat kan beyin bariyerini geçememektedir (21). Temel olarak karaciğerde metabolize olduktan sonra fekal yol ile atılımı gerçekleşmektedir (21).

2.2.2. Endikasyonları ve Antitümör Etki Mekanizmaları

Dox; *Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)* tarafından en etkili kemoteropatik ajanlar arasında gösterilmektedir (22). Klinikte meme kanseri, sarkom, lenfoma ve lösemi gibi malignitelerin tedavisinde temel basamağı oluşturmaktadır (11-14).

Dox' un temel antitümör etki mekanizması; topoizomerez (TOPO) enzimleri üzerinden yaptığı DNA interkalasyonudur (23, 24). Memeli hücrelerinde temel TOPO türü TOPO2'dir. TOPO2'nin alfa ve beta olmak üzere iki izozimi tanımlanmıştır. TOPO2 alfa sadece kanser hücrelerinde ve proliferen olan hücrelerde bulunmaktadır ve hücre siklusunda G1 ve G2 fazlarında DNA replikasyonunda, kromozom kondensasyonu-dekondensasyonunda, kardeş kromatid ayrımında görev almaktadır (25). Kanser hücrelerinde proliferasyon hızı yüksek olduğu için TOPO2 alfa ekspresyonu yüksektir ve Dox' a duyarlıdırlar. TOPO2 beta ise kardiyomiyositler ve tüm hücrelerde mevcuttur ve transkripsiyonda görev aldığı bilinmektedir (26, 27). Dox, hücre bölünmesi sırasında TOPO ve DNA kompleksi ile birleşerek üçlü yapı oluşturmakta ve DNA tamirini önleyerek apoptotik yanıtı başlatmaktadır (24).

Bunun yanında; reaktif oksijen türlerinin (ROT) artışı, bu nedenle nükleer ve mitokondiral DNA alkilasyonu, makromolekül üretiminin durdurulması Dox' un bilinen antitümör etkilerindedir (20, 28). Ayrıca serbest oksijen radikallerinin lipid peroksidasyonu ile Malondialdehit (MDA) düzeyini artırarak DNA hasarına yol açması da Dox' un öne sürülen antitümör etkilerindedir (29). P53 proteinin DNA' ya bağlanmasındaki artış da diğer genotoksik ajanlar gibi Dox' un etkileri arasındadır (30).

Bu temel etki mekanizmaların yanında Dox' un spesifik antitümör etkileri de gösterilmiştir. Meme kanserinde Bcl-2 düzeyinde düşüş ve Bax düzeylerinde artış ile apoptozun tetiklenmesi (31), mide kanserinde Dox' un telomeraz enzim aktivitesini baskılaması spesifik etkilere örnektir (32).

2.2.3. Kardiyotoksisite Mekanizmaları

Dox; bu güçlü etki mekanizmaları ve geniş kullanım alanlarının yanında akut ve kronik kardiyotoksisiteye yol açmaktadır (15, 16). Kanser nedeniyle Dox tedavisi alan hastalarda akut veya kronik dönemde yüksek oranlarda kalp yetersizliği görülebilmektedir (33-35). Bu durum bir kronik hastalığın diğeri ile değişmesine, mortalite ve morbidite artışına yol açmaktadır. Bu nedenle Dox' un yol açtığı kardiyotoksisite mekanizmalarının bilinmesi ve bunlara yönelik tedavi algoritmalarının geliştirilmesi önem arz etmektedir (36).

ROS hasarı Dox' un kardiyotoksisitesini açıklamak için öne sürülen ilk mekanizmadır. Bilindiği üzere kardiyomiyositler mitokondriden zengin fakat antioksidanlardan fakirdir. Dolayısıyla Dox etkisi ile ROT yüksek miktarda oluşabileceği ve kolay şekilde kardiyomiyosit hasarına yol açacağı düşünülmüştür (37-39). Şelatörlerin de *Haber-Weiss* mekanizması ile ROS yapımında azalma ile kardiyoproteksiyonu sağladığı düşünülmüştür (40). Fakat yeni çalışmalar ROS toksisitesinin Dox kardiyotoksisitesinde temel mekanizma olmadığını ortaya koymaktadır (41, 42).

Dox kardiyotoksisitesinde; nükleer ve mitokondriyal TOPO2 β inhibisyonu temel mekanizma olarak kabul edilmektedir (43-45). Nitekim genetik olarak TOPO2 β yapısı değiştirilmiş farelerde Dox kardiyotoksisitesinin oluşturulamaması bu mekanizmayı destekleyen en önemli verilerdendir (42). Ayrıca dekstrazoksanın şelatör etkisinden ziyade TOPO2 β üzerinden kardiyotoksisiteyi önlediği gösterilmiştir (46). Nitekim şelatör etkisi dekstrazokсандan daha kuvvetli olan desferoksaminin Dox toksisitesini önleyememesi, dekstrazoksanın bu koruyucu etkisinin şelatör etki ile açıklanamayacağını göstermektedir (47).

Peroksizom proliferator-aktive reseptör gamma koaktivator 1-alpha (PGC-1 α) mitokondri kitlesinde, sayısında ve fonksiyonunda artış olarak tanımlanan mitokondriyal biyogenezde (48) görev almaktadır ve Dox kardiyotoksisitesinde rol alan ikinci ana yolaktır (45). PGC-1 α 'nın başlıca görevleri; nükleer respiratuar faktör 1 ve 2 nin regülasyonunu ile mitokondriyal oksidatif fosforilasyon için gerekli genlerin ekspresyonunu sağlamak, peroksizom proliferator-aktive reseptör ekspresyon regülasyonu ile yağ asidi oksidasyonunu artırmak, mitokondriyal transkripsiyon faktör A aktivasyonunu artırarak mitokondriyal DNA transkripsiyon ve replikasyonunun düzenlenmesi ile mitokondriyal biyogenezin sağlanmasıdır (49). Dox' un PGC-1 α inhibisyonu yaparak mitokondriyal hasara yol açtığı bildirilmiştir (50). Bu durum elektron mikroskopisinde mitokondriyal dejenerasyon ve kristalizis ile kendini göstermektedir (50, 51). Ayrıca artmış PGC-1 α düzeylerinin Dox kardiyotoksisitesinden koruduğu gösterilmiştir (52, 53).

Dox, sarkoplazmik retikulumda; sarkoplazmik retikulum Ca⁺⁺ ATP az (SERCA) aktivitesini baskılayarak, ryanodin aktivitesini artırarak sitozolik kalsiyum artışına yol açmaktadır (54). Bu durum EKG'de kendini QT uzamasıyla göstermekle beraber, Calpain, Kaspaz 3 ve Kaspaz 9 aktivasyonu ile apoptoza yol açmaktadır (55, 56). Kalsiyum homeostazisindeki bu bozulma titin dejenerasyonu ve eksitasyon-kontraksiyon eşleşmesinde bozulma ile kardiyomyopatinin ilerlemesine de yol açmaktadır (57).

Sonuç olarak; güncel güçlü kanıtlar Dox kardiyotoksisitesinin temelinde TOPO2 β ile PGC-1 α inhibisyonu ve sarkoplazmik retikulum hasarının olduğunu göstermektedir. Toksisitenin esas nedeni olarak ROT miktarlarındaki yükselmeden

çok, TOPO2 β ve PGC-1 α inhibisyonu sonucu oluşan dejenerasyona bağlı olduğu ileri sürülmektedir (58).

2.2.4. Kardiyotoksisite Tanı ve Takibi

Antrasiklin kardiyotoksisitesi için en spesifik ve en sensitif tanı yöntemi, sağ ventrikülden yapılan endomiyokardiyal biyopsidir. Biyopsi bulguları; Dox kardiyotoksisitesinde tipik olarak; miyofibriller dejenerasyon, miyosit vakuolizasyonu, nükleus-kromatin disorganizasyonu ve kromatinin yerini soluk filamanlara bırakması gibi değişiklikleri göstermektedir (59). İnvaziv olması, uygulama ve değerlendirmedeki zorluklar, özellikle çocuk hastalarda riskli olması ve sıklıkla sol ventrikülün etkilendiği görüşü nedeniyle günümüzde tercih edilmemektedir ve yerini görüntüleme yöntemlerine bırakmıőtır (59).

Dox ve diğer antrasiklinlerin oluőturduėu kardiyotoksisite; ekokardiyografide ölçülen sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonununun %53'ün altına düşmesi veya takiplerde tedavi öncesi bazal değerine göre %10 oranında azalması olarak tanımlanmaktadır (60). İki boyutlu ekokardiyografinin klinik pratikte yaygın kullanılmasına karőın üç boyutlu ekokardiyografinin antrasiklin kullanan hastaların takibinde daha üstün olduğu gösterilmiştir (61). Dolayısıyla güncel öneriler mümkünse bu hasta grubunun takibinde üç boyutlu ekokardiyografinin kullanılması yönündedir (60). Ayrıca iki boyutlu ekokardiyografide sol ventrikül segment hareketlerinin tam olarak görölmediği durumlarda kontrast ekokardiyografi önerilirken, üç boyutlu ekokardiyografide buna gerek kalmamaktadır.

Mitral doluş örneklerinde doppler ekokardiyografi ile E ve A dalgalarının ölçülmesi ve bu dalgaların oranlanması ile diastolik fonksiyonlar hakkında bilgi edinilebilmektedir. Diyastolik fonksiyonların antrasiklin kardiyotoksisitesindeki prognostik önemi henüz bilinmemektedir. Fakat sol ventrikül doluş basınçları hakkında önemli bilgiler verdiğinden sistolik fonksiyonlar ile beraber değerlendirilmesi önerilmektedir (60).

İki boyutlu ekokardiyografi ile ölçülen sistolik performans parametreleri ön yük ve art yük bağımlıdır ve küçük defektleri belirlemede yetersiz kalmaktadır. Antrasiklin kardiyotoksitesini klinik olarak aşikâr hale gelmeden önce tanıyabilmek için miyokardiyal deformasyonun incelendiği birçok ekokardiyografik çalışma yapılmış ve doppler temelli deformasyon yaklaşımlarının konvansiyonel ekokardiyografiye göre subklinik hasarı daha önceden tespit ettiği gösterilmiştir (62). Miyokardiyal şekil değişikliklerini inceleyerek sistolik fonksiyonlar hakkında daha ayrıntılı bilgi veren strain ekokardiyografide; global longitudinal strainde bazal değerlere göre %15'lik rölatif düşüşün daha sonraki ejeksiyon fraksiyonu düşüşünü önceden tahmin edebildiği gösterilmiştir (63). Bu konudaki güncel öneriler iki boyutlu ekokardiyografi ile ölçülen global longitudinal strain takibinin sol ventrikül sistolik fonksiyon bozukluğunun erken tesbitinde faydalı olduğu şeklindedir (60). Strain ekokardiyografinin olmaması durumunda ise subklinik hasarın tesbit edilebilmesi için M-Mode ile ölçülen mitral anüler hareket veya doku dopler ile mitral anülüs S' dalgasının ölçülmesi önerilmektedir.

Endomyokardiyal biyopsi ile antrasiklin toksisitesi tanısının konulması, ekokardiyografinin yaygınlaşmadan önceki tarihlerden beri sağ ventrikül tutulumunun da antrasiklin kemoterapisinde görüldüğünü kanıtlamaktadır. Sağ ventrikül fraksiyonel alan değişimi (RV FAC) ve triküspit anüler plan sistolik hareketinin (TAPSE) antrasiklin kemoterapisi ile belirgin düştüğünü gösteren küçük çaplı klinik çalışmalar mevcuttur (64). Fakat sağ ventrikül tutulumunun bu hastalarda prognozu nasıl etkileyeceğini gösteren büyük çaplı çalışmalar henüz mevcut değildir. Bu konudaki öneriler bazal ekokardiyografide sağ ventrikül ölçümlerinin alınması yönündedir (60).

Bilindiği gibi miyokardiyal hasarı göstermede kardiyak troponinler altın standart biyo belirteçlerdir (65). Her kemoterapi seansı sonrası ve tedavi sonrası bir aylık sürede bile kandaki seviyeleri yüksek saptanabilmektedir (66). Son kılavuzlarda kalp yetersizliği tanı ve takibinde ölçümü önerilen beyin natriüretik peptid (BNP) (19) düzeyleri antrasiklin alan hastalarda sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyon bozukluğu ile ilişkili saptanmamıştır (67). Dolayısıyla yüksek

serum troponin düzeyleri antrasiklin kardiyotoksitesinde erken belirti olarak kabul edilirken, BNP düzeylerinin henüz prognostik önemi açığa kavuşmamıştır (60)

İki boyutlu ekokardiyografik tekniklerin gelişiminden önce; multigated radyonukleid anjiyografi (MUGA) ile antrasiklin alan hastalarda ejeksiyon fraksiyonunun ölçümü klinik kalp yetersizliği başlamadan önce fikir vermesi nedeniyle çok kıymetliydi (68). Ayrıca gözlemler ve gözlemciler arası varyasyonların ekokardiyografiye göre çok az olması da MUGA'nın ekokardiyografiye göre en büyük avantajıdır (69). Fakat radyasyon maruziyetinin fazlalığı, kapak ve sağ ventrikül fonksiyonları hakkında bilgi vermemesi bu tetkikin en önemli dezavantajlarıdır.

Kardiyak magnetik rezonans görüntüleme (KMR) myokardiyal fibrozisi, sol ve sağ ventrikül çapları ile ejeksiyon fraksiyonunu hesaplamada altın standart yöntemdir (70). Ulaşılabilirliğinin az olması bu tekniğin en önemli kısıtlılığıdır. Dolayısıyla bu aşamada KMR nin kullanımı ekokardiyografik olarak EF düşüklüğü saptanmış ve kemoterapi bırakılacak hastalar olarak sınırlanmıştır (60).

2.2.5. Korunma ve Tedavisi

Hastanın alacağı kümülatif dozun mümkün olduğu kadarıyla azaltılması Dox kardiyotoksitesinden korunmada önerilen en etkili yöntemdir (58). Tümör hücrelerine spesifiteyi artıran lipozomal Dox formlarının kardiyotoksiteyi önlediği henüz gösterilememiştir (71). Ayrıca hayvan deneyi çalışmalarda taurin, metformin, fenitoin, dekstrazoksan gibi etki mekanizması farklı pek çok ilacın Dox kardiyotoksitesinde olumlu koruyucu etkileri gösterilmiştir (72-75). Fakat klinik uygulamaya şu ana kadar dekstrazoksan geçebilmiştir.

Dekstrazoksan; EDTA kökenli bir şelatör olup klinik çalışmalarda Dox kardiyotoksitesinde olumlu sonuçları gösterilmiştir (76, 77) ve FDA tarafından antrasiklin kardiyotoksite korunmasında onaylanan tek ilaçtır (78). Dekstrazoksanın bu olumlu etkileri ilk başta demir şelasyonuna bağlanmışsa da

güncel kanıtlar bu etkinin TOPO2 β inhibisyonunu önlemesi ile sağladığını göstermektedir (46).

Dox kardiyotoksitesinde kalp yetersizliği geliştikten sonra güncel kılavuzlar dekstrazoksanın yanında kemoterapinin durdurulmasını, beta bloker ve ACE inhibitörlerinden oluşan rutin kalp yetersizliği tedavilerini önermektedir (19).

2.3. Empagliflozin

2.3.1. Farmokokinetik ve Farmokodinamik Özellikleri

Empagliflozin; biyoyararlanımı %78 olan aktif metaboliti olmayan bir ajandır. Barsaklardan emiliminden 1,5 saat sonra maksimal etki seviyesine ulaşır (tmax=1.5 saat). Emilimi yüksek kalorili ve yağ içerikli besinler ile alındığında azalmaktadır. %86.2'si plazma proteinlerine bağlı olarak taşınırken, %36 sı alyuvarlar aracılığı ile taşınmaktadır. Temel olarak glukouronidasyon ile konjugasyon ile metabolize edilir. %54.4 ü idrar ile %41 i feçes ile atılırken, yarılanma ömrü 12.4 saattir (79).

2.3.2. Antidiyabetik Etki Mekanizması

Böbreklerde glikoz geri emilimi; proksimal tübülüslerde sodyum-glikoz ko transporter (SGLT) ile sekonder aktif taşıma ile gerçekleşmektedir. Glikoz geri emiliminin %90'ı proksimal tübülüslerin proksimal segmentinde (S1) düşük affiniteli, yüksek kapasiteli SGLT-2 tarafından gerçekleştirilmektedir (80). Proksimal tübülüsün distal segmentleri (S2 ve S3) ile bağırsaklardan glikoz emilimi ise temel olarak SGLT-1 ile gerçekleşmektedir. Glikoz emiliminde görev alan bu taşıyıcıları hedefleyen moleküller önceden beri diyabet tedavisinde araştırılmıştır.

Florhizin, ilk kullanılan SGLT inhibitörüdür. SGLT-1 ve 2'yi non-selektif olarak bloke etmektedir. SGLT-1 inhibisyonu nedeniyle glikoz-galaktoz malabsorbsiyon sendromuna yol açmaktadır. Bu nedenle klinik kullanımı

kısıtlanmıştır (81). Empagliflozin (EMPA), Tip 2 Diyabetes Mellitus (DM) tedavisinde kullanılan SGLT-2'nin en selektif inhibitörüdür (82). Proksimal tübülüsden SGLT-2 inhibisyonu ile glikoz emilimini inhibe ederek antidiyabetik etkilerini göstermektedir (83).

2.3.3. Klinik Çalışmaları

EMPA'nın antidiyabetik etkilerini inceleyen ilk faz 3 çalışma 'Empagliflozin monotherapy with sitagliptin as an active comparator in patients with type 2 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial' (EMPA REG MONO) isimli çalışmadır (84). Bu çalışmaya dahil edilen katılımcılar plasebo, EMPA 10 mg, EMPA 25 mg ve sitagliptin kollarına ayrılmıştır. Bu çalışmada EMPA; 24 haftalık takip süresinde plasebo ile karşılaştırıldığında; HbA1c yi 10 mg dozunda %0,74; 25 mg dozunda ise %0,85 oranında düşürdüğü kanıtlanmıştır (84). Ayrıca daha önceden antidiyabetik etkileri kanıtlanmış ve piyasada mevcut olan sitagliptin ile karşılaştırıldığında her iki EMPA dozunun da benzer etkinliği saptanmıştır. Yan etkiler açısından karşılaştırıldığında tüm gruplar benzer olarak saptanmıştır.

Antidiyabetik tedavi seçeneklerinden insülin ve metformin'in kalp yetersizliği seyrinde büyük etkileri olmamasına rağmen, tiazolodindionların ödem ve kalp yetersizliği riskini artırdıkları gösterilmiştir (85). Bu nedenle yeni antidiyabetik ilaçların kardiyovasküler açıdan güvenli olması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

EMPA'nın kardiyovasküler güvenliliğini araştırmak için yapılan 'Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes' (EMPA-REG OUTCOME) isimli çalışmada kardiyovasküler hastalığa sahip 7020 Tip 2 DM hastası plasebo ve EMPA kollarına ayrılarak ortanca 3,2 yıl boyunca takip edilmiştir (2). Çalışmanın birincil sonlanım noktası kardiyovasküler ölüm, ölümcül olmayan myokard enfarktüsü ve ölümcül olmayan inme kombinasyonu olarak kabul edilmiştir. Birincil sonlanım noktasında EMPA grubunda %14 oranında daha az izlenirken, kardiyovasküler ölümden %38, tüm nedenlere bağlı ölümden %32 ve kalp yetersizliği nedeniyle hastaneye yatışlarda %35 rölatif risk azalması sağlamıştır (2).

Ölümcül olmayan myokard enfarktüsü ve ölümcül olmayan inme açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark izlenmemiştir. Bu kardiyovasküler yararlarının patofizyolojik mekanizması hala tam açıklanamamış olsa da EMPA'nın; arteryel sertliği, kardiyak oksijen ihtiyacını ve albuminüriyi azaltarak ve hastaları kardiyorenal sendromdan koruyarak bu olumlu etkileri sağladığı öne sürülmüştür (3-6). Ölümcül olmayan miyokard enfarktüsü ve inme açısından EMPA'nın plaseboya üstün olmaması EMPA'nın bu olumlu etkilerinin antidiyabetik ve dolayısıyla antiaterojenik etkilerinden bağımsız olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca diyabet tedavisinde kullanılan birçok ajanın aterogenezi önlediği halde kardiyovasküler mortaliteyi önleyemediği zaten bilinmektedir (85). Ayrıca bu çalışmanın dizaynına bakıldığında popülasyonun kardiyovasküler hastalığı olan Tip 2 DM hastalarından oluştuğu ve kalp yetersizliği hastalarının popülasyonun ancak %10'unu temsil ettiği görülmektedir. Bu çalışmada EMPA'nın özellikle kalp yetersizliği nedeniyle yatış ve ölümü önlediği göz önüne alınırsa yüksek riskli bireylerde EMPA'nın kalp yetersizliğine gidişatı engelleyerek klinik fayda sağladığı sonucuna varılmaktadır (86).

EMPA'nın özellikle kalp yetersizliği hastaları üzerindeki etkilerini gösterebilmek için Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure EMPEROR- Reduced çalışması yapılmıştır (87). Tip 2 DM tanısı olan veya olmayan kalp yetersizliği hastalarının dahil edildiği bu çalışmada plasebo ile karşılaştırıldığında EMPA'nın kardiyovasküler ölüm ve kalp yetersizliği nedeniyle hastaneye yatışları içeren birincil sonlanım noktasında %25 risk azalması sağladığı gösterilmiştir. Randomized Trial of Empagliflozin in Nondiabetic Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction (EMPA- TROPISM) çalışmasında da diyabetik olmayan düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği hastalarında EMPA'nın plaseboya göre sol ventrikül sistol ve diyastol sonu çapları azalttığı, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunu artırdığı ve 6 dakikalık yürüme testinde egzersiz kapasitesini artırdığı gösterilmiştir (88). Fakat şu ana kadar yapılan çalışmalarda EMPA'nın sol ventrikül strain parametrelerine olumlu etkisi henüz saptanmamıştır (89).

Omar ve ark yaptığı diyabeti olan ve olmayan düşük ejeksiyon fraksiyon (EF) sahip kalp yetersizliği hastalarını içeren çalışmada EMPA'nın 12 haftalık takiplerde

plaseboya göre pulmoner kapiller uç basıncı azalttığı fakat kardiyak indekste olumlu bir etkisinin olmadığı görülmüştür (90).

Düşük EF' li kalp yetersizliği hastalarında etkisi kanıtlanmasına rağmen henüz korunmuş EF' li kalp yetersizliği hastalarını dahil eden kapsamlı çalışma mevcut değildir. EMPA'nın korunmuş EF' li kalp yetersizliği hastalarındaki etkisini araştırmak için 'Evaluation of the effects of sodium-glucose co-transporter 2 inhibition with empagliflozin on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure and a preserved ejection fraction' (EMPEROR-Preserved) çalışması planlanmış olup, sonuçları 2021 yılında beklenmektedir (91).

Bu faz 3 çalışmalarının yanında gerçek yaşam verileri de EMPA başta olmak üzere SGLT-2 inhibitörlerinin kalp yetersizliğine bağlı yatışları ve tüm nedenlere bağlı ölümleri önlediğini göstermektedir (92).

Bütün bu klinik çalışmalar başta EMPA olmak üzere SGLT-2 inhibitörlerinin antihiperglisemik ve antiaterojenik etkilerinin ötesinde kardiyoprotektif etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

2.3.4. Temel Bilim Çalışmaları

Erişkin insan miyosit hürelerinde SGLT-2 kanallarının bulunmaması SGLT-2 inhibitörlerinin bu olumlu kardiyovasküler etkilerini başka yollar üzerinden yapabileceğini kuvvetle düşündürmektedir. EMPA'nın kardiyovasküler olumlu etkilerinin fizyopatolojisini açıklayabilmek için birçok laboratuvar çalışması yapılmıştır. Baartscheer ve ark yaptığı çalışmada EMPA'nın SGLT inhibisyonu haricinde kardiyak sodyum – hidrojen değiştirici aktivitesini inhibe ederek sitozolik sodyum ve kalsiyum miktarını azalttığını, mitokondriyal kalsiyum miktarını artırdığını göstermiştir (93). Sadece kardiyak sodyum – hidrojen değiştirici pompa aktivitesinin artışının bile deneysel kalp yetersizliğine yol açtığı göz önüne alınırsa (94) EMPA'nın antidiyabetik etkisinin ötesinde kardiyoprotektif olabileceği öngörülebilir.

Lee ve ark yaptığı streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde, EMPA'nın sodyum – hidrojen değiştirici pompa inhibisyonuna ek olarak L tipi Ca⁺² kanal aktivasyonunu, sodyum-kalsiyum değiştirici pompa aktivitesini, SERCA2a ve RYR2 protein ekspresyonunu artırırken geç sodyum kanal aktivasyonunu ve RYR2-pS2808 protein düzeyini azalttığını gösterilmiştir (95). Bu sayede EMPA'nın aksiyon potansiyeli süresini kısaltarak QT mesafesini kısaltabileceği düşünölmüştür. Ekibimiz tarafından yapılan önceki çalışmalarda EMPA'nın QT uzamasını önlediği *in vivo* hayvan deneylerinde gösterilmiştir (96).

Zhou ve ark yaptığı bir diğer diyabetik sıçan modelinde EMPA'nın antihiperглиsemik etki ile glikoz regöle protein 78 düzeyini azaltarak endoplazmik retikulum stresini önlediği, bu sayede Kaspaz 12 aktivitesini baskılayarak miyosit apopitozisini önlediği gösterilmiştir (97).

Yurista ve ark diyabetik olmayan sıçanlarda yaptığı miyokard infarktüsü modelinde; EMPA'nın infarkt alanında etkili olmadığı, fakat intertisyel fibrozisi azalttığı, EF'yi yükselttiği gösterilmiştir (7). İnfarkt alanını azaltmadığı halde EF de yükselme keton cisimciklerinin artması ve mitokondriyal PGCF-1 α upregölasyonu sayesinde mitokondriyal biyogenezdeki artış ve non-infarkte miyokard alanınının daha etkin enerji üretilmesine bağlanmıştır (7).

Santos-Gallego ve ark non-diyabetik domuzlarda yaptığı benzer bir çalışmada da EMPA'nın ilk başta infarkt alanına etkisi olmadığı halde takiplerde sol ventriköl sistolik ve diyastolik çapları ve volömleri küölterek EF'de artışı sağladığı görölmektedir (10). EMPA'nın bu olumlu etkisi bu çalışmada da total keton cisimciklerinin artışı, PGCF-1 α ve adozin 5' monofosfat- aktive fosfat protein kinaz (AMPK) upregölasyonu ile mitokondriyal biyogenezdeki artış ve miyokardiyal enerji kullanımındaki değişikliğe dayandırılmıştır (10).

Zhou ve ark yaptığı diyabetik sıçan modelindeki çalışmada da EMPA'nın AMPK yolağı üzerinden mitokondriyal füzyonu önlediği histoloji ve akım sitometri çalışmalarında olarak gösterilmiştir (98).

Sonuç olarak bu çalışmalarda; EMPA'nın SGLT-2 ve 1'den bağımsız olarak kardiyomiyositlerde iyon kanallarını etkilediğini, aksiyon potansiyeli ve QT intervalini kısalttığını; mitokondriyal biyogeneze katkıda bulunarak kalp yetersizliğine gidişi önlediğini; ayrıca kalp yetersizliği oluşturulmuş hayvan modellerinde ise yetmezlikteki kalbin temel enerji deposu olarak kullandığı keton cisimciklerini artırarak miyokardı desteklediği gösterilmiştir.

2.3.5. Tedavi Endikasyonları

EMPA, Tip 2 diyabet tedavisinde Amerikan Diyabet Derneği tarafından standart metformin tedavisine ek olarak önerilmektedir (99). Avrupa Kardiyoloji Derneği kılavuzları ise, olumlu kardiyovasküler etkilerinden dolayı, EMPA'yı kardiyovasküler hastalığı bulunan hastalarda Tip2 diyabet tedavisinde ilk seçenek olarak önermektedir (100). Ayrıca EMPA, güncel kılavuzlarında antidiabetik etkiden bağımsız olarak diabeti olan veya olmayan tüm kalp yetersizliği hastalarına ilk seçenek tedavi olarak önerilmektedir (101).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda, Kobay A.Ş'den temin edilen 38 adet, 350-500 gr ağırlığında Sprague Dawley soyu erkek sıçanlar (20-25 hafta) kullanıldı. Bütün gruplardaki sıçanlar standart yem ve sınırsız miktarda su ile beslendi. Tüm sıçanlar deneyler süresince Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanları Laboratuvarında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda, sıcaklığı ve bağıl nemi sabit, havalandırma kontrollü odada tutuldu. Deneysel çalışmalar Helsinki Deklarasyonu'na ve Amerikan Ulusal Sağlık Örgütü tarafından bildirilen Laboratuvar Hayvanlarının Kullanımına ve Bakımına İlişkin Rehber'e uygun olarak gerçekleştirildi. Bu araştırma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun 11.11.2019 tarih ve 2019/12 no'lu toplantısında 2019/12-07 sayılı izni ile gerçekleşmiştir (Ek-1).

3.1. Deney Grupları

Hayvanlar basit randomizasyon ile dört gruba ayrıldı.

- 1) **Kontrol grubu** (n=10): Bu gruptaki sıçanlara 14 gün boyunca orogastrik gavaj (O.G.) ile 1 ml %0,9'luk NaCl solüsyonu ve beraberinde 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günlerde intraperitoneal (İ.P.) yoldan 1.5 ml %0,9'luk NaCl solüsyonu verildi.
- 2) **Empagliflozin grubu** (n=10): Bu gruptaki sıçanlara 14 gün O.G. ile 1 ml serum fizyolojik içinde çözdürülmüş 10 mg/kg empagliflozin (Jardiance, Beuhinger) solüsyonu yanında 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günlerde İ.P. yoldan 1.5 ml %0,9'luk NaCl solüsyonu verildi.
- 3) **Doksorubisin grubu** (n=9): Bu gruptaki sıçanlara 14 gün boyunca O.G. ile 1ml %0,9'luk NaCl solüsyonu yanında deneyin 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günlerde kümülatif olarak İ.P. 18 mg/kg vücut ağırlığı / 7 gün olacak şekilde 1.5 ml'yi aşmayacak şekilde doksorubisin hidroklorür (Adriamisin, Deva) uygulandı.

- 4) **Doksorubisin+ Empagliflozin grubu (n=9):** Bu gruptaki sıçanlara 14 gün O.G. ile 1 ml serum fizyolojik içinde çözdürülmüş 10 mg/kg empagliflozin (Jardiance, Beuhringer) solüsyonu yanında deneyin 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günlerde kümülatif olarak i.p. 18 mg/kg vücut ağırlığı / 7 gün 1.5 ml yi aşmayacak şekilde doksorubisin hidroklorür (Adriamisin, Deva) uygulandı (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2).

Tüm işlemler sirkadiyen değişiklikleri en aza indirmek amacıyla sabah 09.30-10.00 arasında gerçekleştirildi.



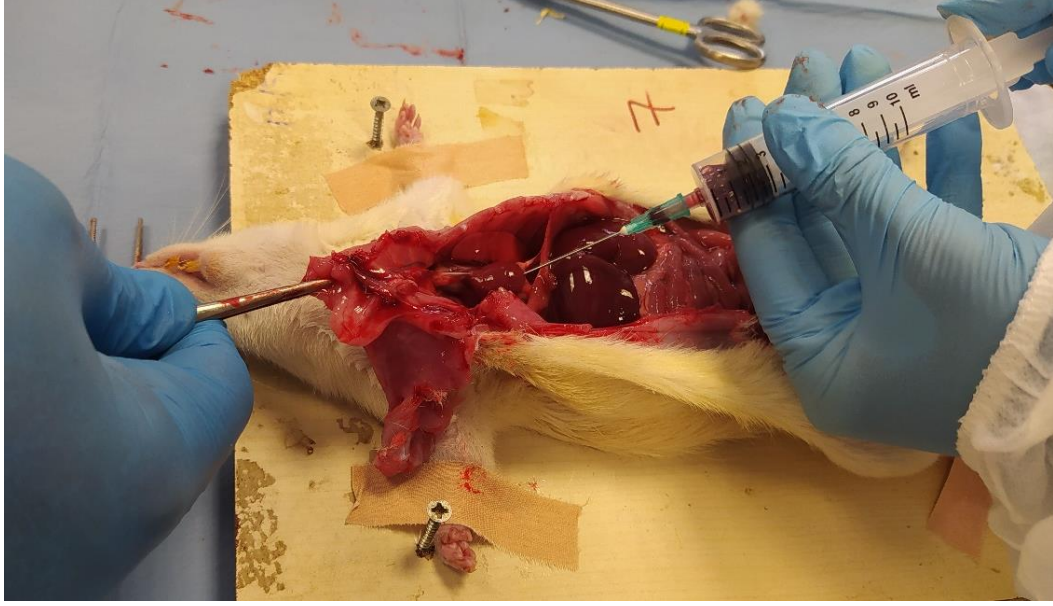
Şekil 3.1. Orogastrik gavaj ile sıçanlara empagliflozin uygulanması



Şekil 3.2. İntraperitoneal enjeksiyon ile sıçanlara doksorubisin uygulanması

3.2. Örneklerin Toplanması

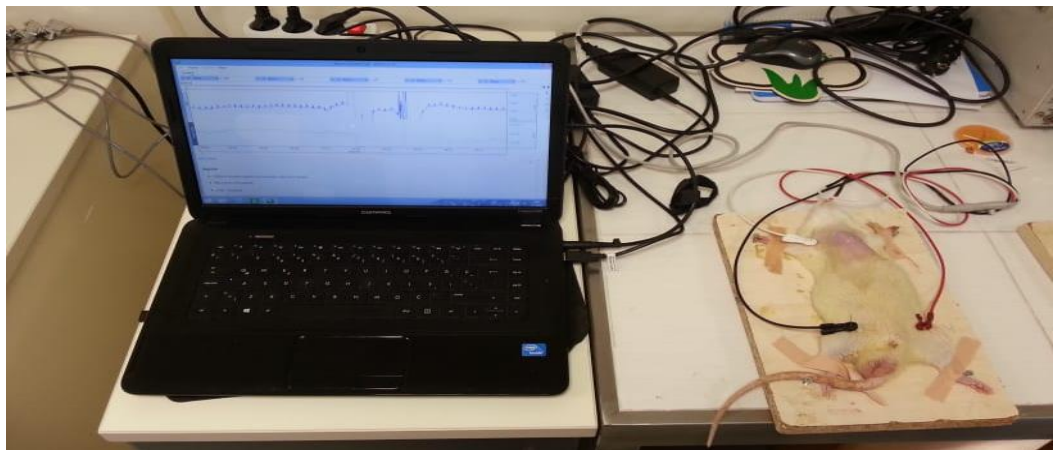
Sıçanlar 15. gün sabah saat 09.30-10.00 arasında tekrar tartıldıktan sonra ketamin (90 mg/kg, i.p.) ve ksilazinle (10 mg/kg, i.p.) ile anestezi edildi. Anestezi sonrası ilk önce elektrokardiyografi (EKG) kayıtları alındı daha sonra ekokardiyografik incelemeler yapıldı. Karın bölgeleri orta hattın açılarak toraksa ulaşıldı. Sol ventrikülden kardiyak ponksiyonla kan örnekleri alındı (Şekil 3.3). Hemen ardından kalp dokusu çıkartılarak tartıldı. Sol ventrikül apikal segmenti cerrahi diseksiyon ile ayrılarak ışık mikroskopisi için formaldehite ve elektron mikroskopik (EM) inceleme için glutaraldehit'e kondu. Kalan kalp dokuları ise hızlı bir şekilde donması için sıvı azotta bekletildikten sonra biyokimyasal incelemeler yapılana kadar -80 C'da saklandı.



Şekil 3.3. Kardiyak ponksiyon ile sıçanlardan kan örneklerinin toplanması

3.3. Elektrokardiyografik Kayıtlar

Anestezi sonrası sıçanlar pron pozisyonda sabitlendi. EKG kayıtları Biopac MP36 (Biopac Systems, Goleta, CA, USA) veri toplama sistemi aracılığı ile iğne elektrodlar kullanılarak D2 derivasyonundan ölçüldü (Şekil 3.4). PR ve QT intervalı, QRS segmenti ve QRS voltaj amplitüdü ile kalp hızı ölçümleri yapıldı. Düzeltilmiş QT mesafesi (QTc) Bazzet formülü ile hesaplandı ($QT / RR^{1/2}$).



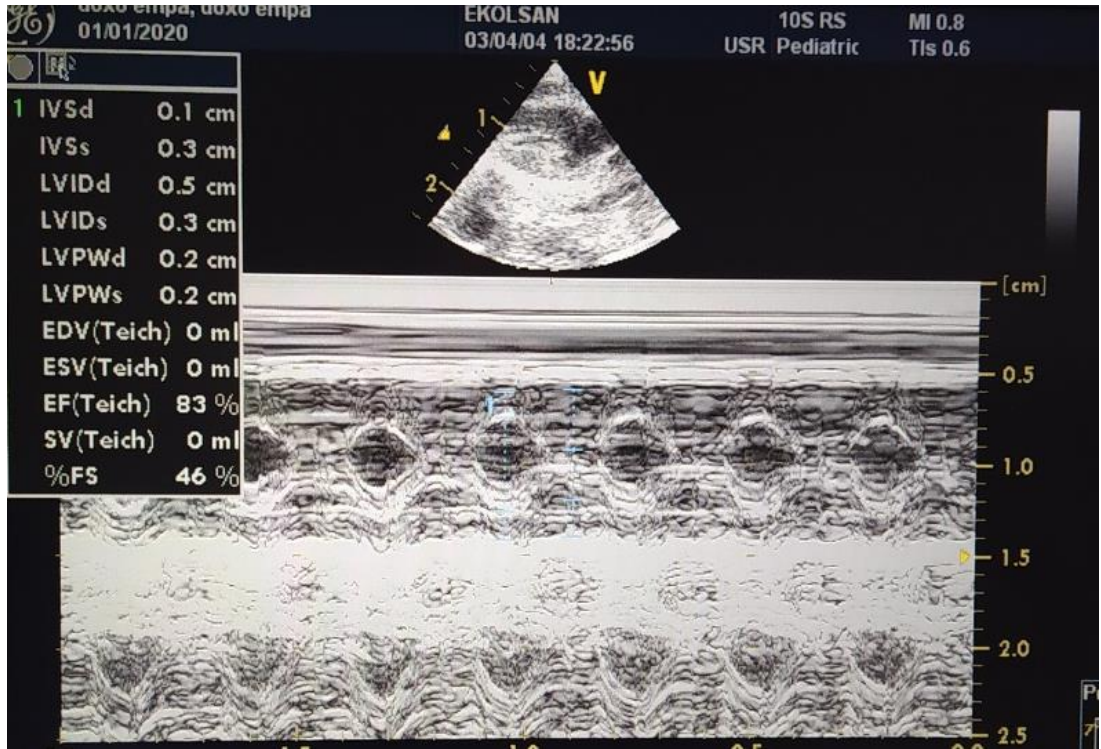
Şekil 3.4. İğne elektrodlar kullanılarak D2 derivasyonundan EKG kayıtları alınıp Biopac MP36 (Biopac Systems, Goleta, CA, USA) veri toplama sistemi ile değerlendirilmesi

3.4. Ekokardiyografik Ölçümler

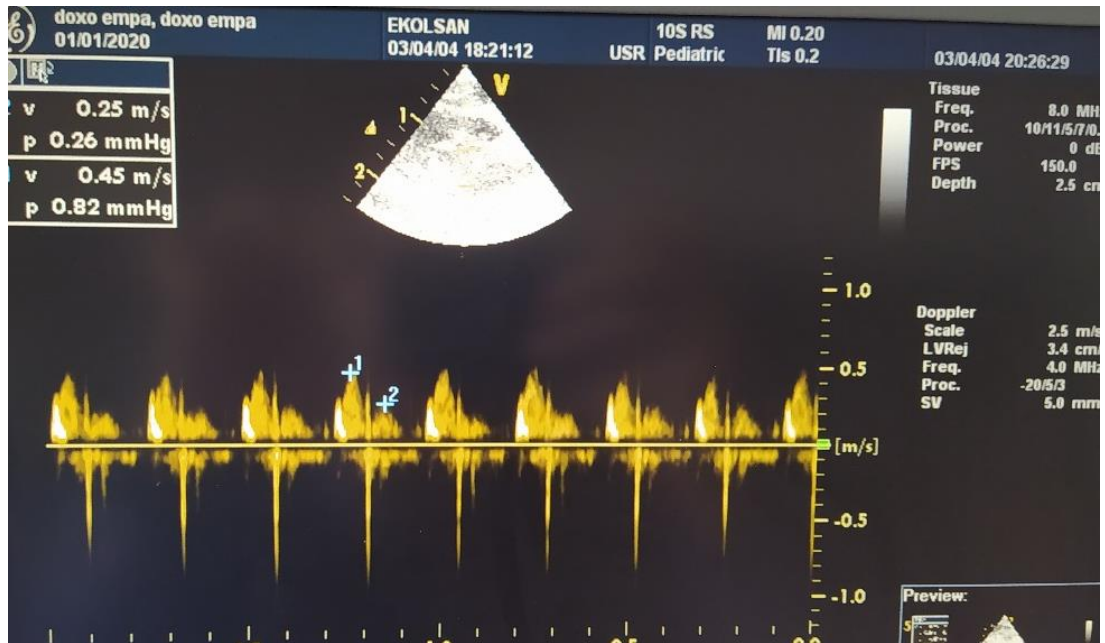
Pron pozisyonunda sabitlenmiş anestezi altındaki sıçanlar EKG kayıtlarından sonra ekokardiyografik değerlendirilmeye alındı. Portable Vivid E (General Electronics) cihazı ve 10 s ekokardiyografi probu ile iki boyutlu ekokardiyografik incelemeler yapıldı (Şekil 3.5). Ekokardiyografik incelemede tüm sıçanlara kısa eksende interventriküler septum ile arka duvar hareketlerini ölçmeye olanak sağlayan M-Mode yöntemi ile sol ventrikül diyastol sonu çap (SVDSÇ), sol ventrikül sistol sonu çap (SVSSÇ) ölçümleri yapıldıktan sonra bu verileri kullanan Teicholz yöntemi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve fraksiyonel kısalma (FK) oranları hesaplandı (Şekil 3.6). Diyastolik fonksiyonların ölçümü için; apikal dört boşluk görüntülerden mitral kapak doluş örneklerinden pulse doppler yöntemi ile E ve A dalga ölçümleri yapıldı (Şekil 3.7). E/A oranının 1' den küçük olması diyastolik fonksiyon bozukluğu olarak kabul edildi.



Şekil 3.5. Portable Vivid E (General Electronics) cihazı ve 10 s ekokardiyografi probu ile yapılan ekokardiyografik değerlendirmeler



Şekil 3.6. M-Mode Ekokardiyografi ile kısa ekseninde sol ventrikül diastol sonu çap (SVSSÇ), sol ventrikül sistol sonu çap (SVDSC) ölçümleri yapıldıktan sonra Teicholz yöntemi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve fraksiyonel kısalma (FK) oranlarının hesaplanması



Şekil 3.7. Apikal dört boşluk görüntülerden mitral kapak diyastolik doluş örneklerinden pulse dopler yöntemi ile E ve A dalga ölçümleri yapılması

3.5. Histolojik Değerlendirme

3.5.1. Işık Mikroskobu İncelemesi

Diseksiyon sonrasında kalp dokusu histolojik incelemeler için %10 tamponlu formalin içinde fikse edildi. Daha sonra parafine gömüldü. Histolojik olarak işlenmiş doku, mikroskopik inceleme için 5 mikron kesitlere ayrıldı. Kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı. Her sıçan kalbinden en az on farklı numune alındı ve değerlendirme için en az 40x büyütme ile görüntüler alındı. Hücre çekirdeğindeki kromatinin azalmış bazofilik boyanması karyolizis, fragmente olmuş piknotik çekirdek görünümünü karyoreksis olarak tanımlandı. Tüm alanlardaki tüm miyositler çekirdeklerinin histolojik görünümüne göre normal, karyoreksis veya karyolizis olarak ayrıldı. Her bir deney hayvanı için toplam 13.072 kardiyomiyosit analiz edildi ve ortalaması alındı. Mikrograflar; Leica DM6000 mikroskobu (Westlar, Almanya) ile alındı ve ImageJ (1.8.0, NIH, ABD) ile analiz edildi.

3.5.2. İnfiltratif Hücre Sayımı

Kalp dokusunda inflamasyon sonucu kandan myokarda geçen hücreler (lenfosit, monosit, nötrofil) infiltratif hücre olarak belirlendi. Tüm gruplar için her hayvandan 5 mikrografa (40x) ait tüm infiltratif hücreler sayıldı (72). İnfiltratif hücreler, Image J'nin Hücre Sayıcı aracı (NIH, ABD) kullanılarak sayıldı.

3.5.3. Miyosit Kalınlık Ölçümü

Miyosit kalınlık veya çap ölçümü, rastgele seçilen 10 hücrede, tüm gruplar için her denekten en az 3 bölümün 40x büyütme oranında gerçekleştirildi (72). Çekirdek alanından geçen enine çizgi Image J (NIH, ABD) ile ölçüldü.

3.5.4. Elektron Mikroskopi İncelemesi

Dokular 0,1 M fosfat tampon solusyonlu (pH: 7,4) %2,5'luk gluteraldehit içinde 8 saat fiske edildi. Fiksasyon sonrası 1 saat %1' lik osmiyum tetraoksit içinde bekletildi. Fiksasyon sonrasında, doku örnekleri etanol örneklerinde (%50 ve %100) yıkandı ve fikse edildi ve propilenoksid içinde durulandı. Sonrasında, örnekler Araldite-Epon 812 (Catno: 13940, EMS, PA, USA) içine konularak 70°C'de 48 saat boyunca polimerize edildi. 1 µm kalınlığındaki kesitler ultramikrotom (Leica RM2265, Germany) ile alındı. Azure 2 metilen mavisi karışımı orta incelikteki örnekler için kullanıldı. 70-75 nm kalınlığındaki ultra ince örnekler için ultramikrotom (LeicaUltracut R, Germany) kullanıldı ve uranilasetatlı sitrat ile kontrast verildi. Elektron mikroskobu (JEOL-JEM 1400, Japan) ve kamera ile (GatanInc., CA, USA) numunelerin görüntüleri alındı.

3.6. Biyokimyasal İncelemeler

Dox ile oluşturulan kardiyotoksisitede; oksidan stres ve iskemik yolakların değerlendirilmesi ve EMPA'nın bu yollara etkisinin gösterilmesi amacıyla biyokimyasal parametreler çalışıldı. Oksidan stresin doku düzeyinde tespiti için doku oksidan ve malondialdehat seviyeleri, sistemik düzeyde tespiti için serumda paroksinaz-1, myelloperoksidaz, süperoksid dismutaz seviyeleri ölçüldü. Dox kardiyotoksisitesinde iskemik yolakların tespiti için serumda iskemi modifiye albümin ölçümü yapıldı. Oluşan kardiyotoksisite ile ventrikül geriminin ve sistemik konjesyonun göstergesi olarak ve EMPA'nın etkilerinin natriüretik etkilerden olup olmadığını araştırmak için serumda B tipi natriüretik peptid ölçümü yapıldı.

3.6.1. Paraoksanaz-1, İskemi Modifiye Albumin, Myelloperoksidaz, Superoksid Dismutaz Ölçümleri

Kardiyak ponksiyon ile alınan kan, tüplere konulduktan sonra yaklaşık 40 dakika bekletilme süresi sonrasında 3000 rpm ile 10 dakika santrifüj edildi. Serum

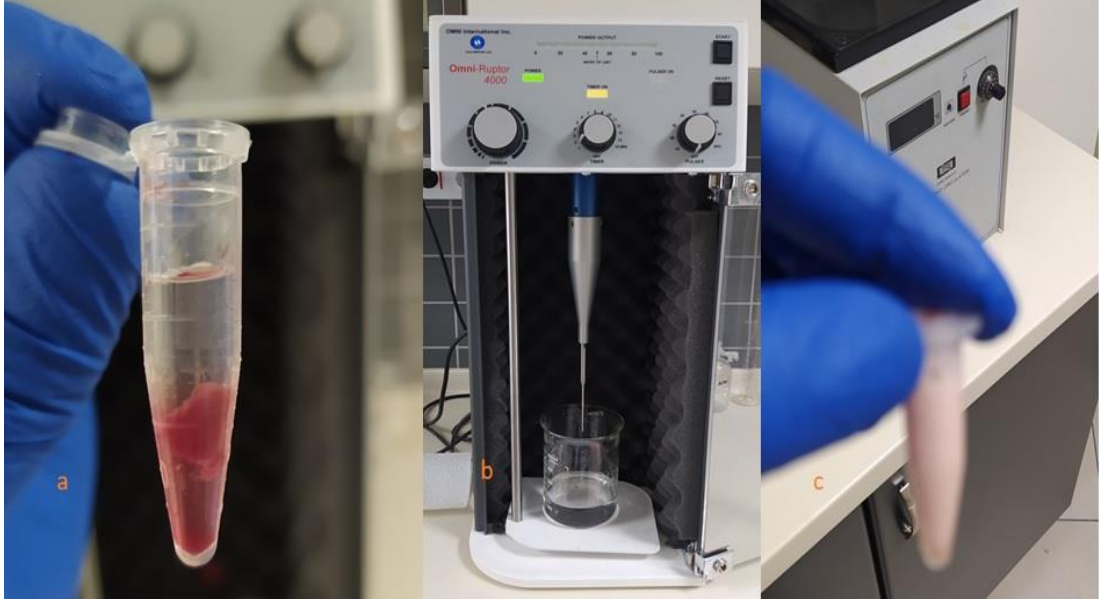
kısmı pipet yardımıyla test tüplerine alınarak -80 °C de analizler yapılana kadar bekletildi. Paraoksanaz-1, iskemi modifiye albumin, myeloperoksidaz, süperoksid dismutaz düzeyleri Baran Medikal Laboratuvarlarında RELASSAY uygulama kiti kullanılarak Mindray marka BS300 model tam otomatik biyokimya cihazı ile kolorimetrik yöntem ile ölçüldü.

3.6.2. Beyin Natriüretik Peptid Seviyeleri ölçümü

Direk kardiyak ponksiyon ile alınan kan EDTA'lı biyokimya tüpüne konulduktan sonra beyin natriüretik peptid (BNP) seviyeleri ölçümü için Baran Medikal laboratuvarına transfer edildi. BNP düzeyleri ELABSCIENCE marka ELISA kiti ile fotometrik olarak ölçüldü.

3.6.3. Doku Total Oksidan, Total Antioksidan, Malondialdehit Seviyeleri ve Oksidatif Stres İndeks Ölçümü

Total oksidan (TOS) ve Malondialdehit (MDA) seviyeleri ölçümü için -80°C'da saklanan kalbin 1 gr'ı test tüpüne alındı. Üzerine deiyonize su içinde 140 mmol KCL ile hazırlanan çalışma solusyonundan 9ml eklenerek homojenize edildi (Şekil 3.8). 3000 rpm de 5 dakika santrifüj edildikten sonra RELASSAY uygulama kiti kullanılarak Mindray marka BS300 model tam otomatik biyokimya cihazı ile kolorimetrik yöntem ile ölçülömler yapıldı. TAS ve TOS ölçümü yapıldıktan sonra $TOS (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent/L}) / TAS (\mu\text{molTroloxequivalent/L})$ denklemi ile oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplandı (102).



Şekil 3.8. Dokuların homojenizasyonu

3.7 İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler. IBM® SPSS Statistics for Windows, (Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp., 2011) ile yapıldı. Deneyler sonucunda elde edilen veriler normal dağılım açısından *Shapiro-Wilk* testi ile değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen parametrelerde gruplar arası farklılıklar için *Kruskal-Wallis* testi ile değerlendirildi. (Elektrokardiyografik ölçümlerde; QRS segment süresi, ekokardiyografik ölçümlerde; SVDSC ve SVSSÇ, interventriküler ve posterior duvar kalınlıkları, biyokimyasal parametrelerde; TOS ve MPO seviyeleri). Normal dağılım gösteren parametreler ANOVA ile test edildi (diğer tüm parametreler). Gruplar arasında anlamlılık olması durumunda alt gruplardaki ikili karşılaştırmalar için post-hoc test olarak Tukey testi uygulandı. Normal dağılıma uyan parametreler ortalama \pm standart sapma (SS) normal dağılıma uymayanlar ise ortanca ve çeyrekler arası aralık (ÇAA) olarak verildi.

$P < 0,05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.8. Etik Kurul İzni

Bu araştırma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun 11.11.2019 tarih ve 2019/12 no'lu toplantısında 2019/12-07 sayılı izni ile gerçekleşmiştir (Ek-1).

4. BULGULAR

4.1. Elektrokardiyografik Ölçümler

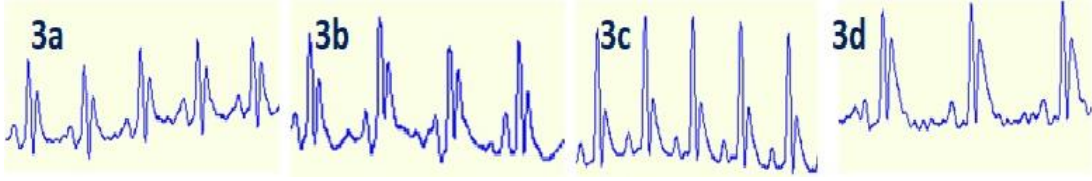
Elektrokardiyografik değerlendirmede kontrol ve EMPA grubunun PR (N: 47±3 msn) ve QT intervalinin, QRS segment (N: 26±1 msn) ve voltajının, QTc'nin (N: 74±5) önceki literatür verileri ile uyumlu olduğu izlenmektedir (103). Doksorubisin ile tedavi edilen grupta PR, QT ve QTc intervallerinde belirgin uzama, QRS voltajında ise belirgin amplitüd artışı izlenmektedir (p<0.001). DOX+EMPA grubunda ise doksorubisin ile indüklenen QT ve QTc intervallerindeki uzamanın belirgin şekilde önlendiği görülmektedir (sırasıyla p<0.05 ve p<0.01) (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Elektrokardiyografik bulgular

	K (n:10)	EMPA (n:10)	DOX (n:9)	DOX+EMPA (n:9)
PR interval (msn)	51,7±7,5	48,7 ± 5,2	65,2 ± 3,5 ^a	59,9 ± 8,8
Ortalama ± SS				
QRS segment (msn)	31,2 (4,0)	32,0 (2,0)	32,0 (10,5)	32,0 (7,00)
Ortalama ± SS				
QRS amplitüd (mv)	178,0 ± 37,9	181,6 ± 25,8	416,2 ±129,5 ^a	388,9 ± 123,8
Ortalama ± SS				
QT interval (msn)	77,2 ±11,13	78,2 ±14,2	124,2 ±29,3 ^a	92,7 ± 20,1 ^b
Ortalama ± SS				
Kalp hızı (atım/dk)	296,2 ± 34,3	338,6 ± 98,2	299,2 ± 100,9	241,1 ± 52,9
Ortalama ± SS				
QTc (msn)	171,9 ± 31,4	180,9 ± 27,5	265,8 ± 34,3 ^a	182,4 ± 33,9 ^c
Ortalama ± SS				

K: Kontrol grubu, EMPA: Empagliflozin grubu, DOX: doksorubisin grubu, DOX+EMPA: Doksorubisin ve empagliflozin grubu, n: denek sayısı, SS: standart sapma Veri analizinde; ANOVA ve post-hoc Tukey testi kullanılmıştır.

a: DOX vs K $P < 0,001$; b: DOX +EMPA vs DOX $P < 0,05$; c: DOX +EMPA vs DOX $P < 0,001$



Şekil 4.1. Grupların elektrokardiyografi kayıtları

a: Kontrol grubu, b: Empagliflozin grubu, c: DOX grubu, d: DOX + EMPA grubu.

4.2. Ekokardiyografik ölçümler

Grupların ekokardiyografik ölçümleri karşılaştırıldığında kontrol ve EMPA grubunun normal SVDSC ve SVSSÇ sahip olduğu ve EF ve FK yüzdelerinin normal olduğu görüldü. Kontrol grubunda SVDSC ortanca 5,6 mm, SVSSÇ 2,9 mm; sol ventrikül EF ortalama %74,9 ve FK ise ortalama %50,5 idi. (Tablo 4.2, Şekil 4.2). EMPA grubunun ekokardiyografik bulguları da normal sınırlardaydı ve kontrol grubuna benzerdi (Tablo 4.2, Şekil 4.2).

DOX grubunda; SVDSC ortanca 7,1 mm; SVSSÇ ise ortanca 5,3 mm olarak ölçüldü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DOX grubunda sol ventrikül sistolik ve diyastolik çaplarının belirgin olarak dilate olduğu saptandı (sırasıyla $P<0.05$ ve $P<0,01$). Dolayısıyla DOX grubunda EF ve FK kontrol grubuna göre düşük olarak bulundu (her iki değer için de $P<0,001$, Tablo 4.2, Şekil 4.2).

EMPA; Dox kaynaklı kardiyotoksisteyi ekokardiyografik parametrelerde önemli ölçüde önledi. DOX + EMPA grubunda, ortanca SVDSC 5,5 mm ve SVSSÇ 2,8 mm olarak hesaplandı, DOX grubuna göre düşük saptandı (sırasıyla $P <0,05$ ve $P<0,01$, Tablo 4.2, Şekil 4.2). Dolayısıyla DOX + EMPA'nın EF ve FK değerleri de DOX grubuna göre yüksek bulundu (her iki değer içinde $P <0,001$ Tablo 4.2).

Dört grupta diyastolik interventriküler septum kalınlıkları ve arka duvar kalınlıkları ile diyastolik mitral doluş örneklerinden alınan E/A dalga oranları benzer saptandı.

Tablo 4.2. Ekokardiyografik bulgular

	K (n:10)	EMPA (n:10)	DOX (n:9)	DOX+EMPA (n:9)
SVDSÇ (mm), Ortanca (ÇAA)	5,6 (1,03)	6,0 (0,9)	7,1 (0,9) ^a	5,5 (0,8) ^b
SVSSÇ mm, Ortanca (ÇAA)	2,9 (0,63)	2,7 (0,9)	5,3 (0,9) ^c	2,8 (0,6) ^d
EF (%) Ortalama ± SS	74,9 ± 4,9	78,4 ± 5,5	35,2 ± 10,5 ^e	74,5 ± 5,5 ^f
IVS kalınlığı (mm) Ortanca (ÇAA)	1,2 (0,8)	1,1 (0,5)	1,7 (0,8)	1,7 (0,4)
Arka duvar kalınlığı (mm) Ortanca (ÇAA)	1,5 (1,0)	1,5 (1,0)	1,1 (0,1)	1,2 (0,7)
FK	50,5 ± 6,2	50,3 ± 3,4	13,7 ± 6,2 ^e	45,4 ± 7 ^f
E/A oranı Ortalama ± SS	2,3 ± 0,6	1,9 ± 0,5	2,8 ± 1,5	2,1 ± 0,4

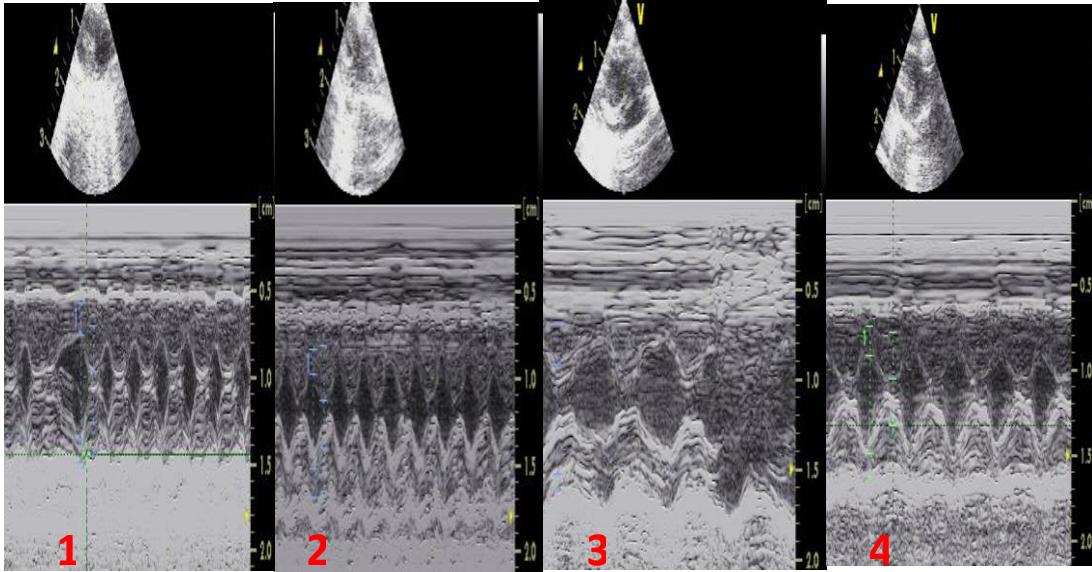
K: Kontrol grubu, EMPA: Empagliflozin grubu, DOX: doksorubisin grubu, DOX+EMPA: Doksorubisin ve empagliflozin grubu,

ÇAA: Çeyrekler arası aralık, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, E/A oranı: Pulse doppler yöntemi ile ölçülen mitral diyastolik doluş örneklerindeki E ve A dalgalarının oranı, FK: Fraksiyonel Kısılma, IVS: interventriküler septum, n: denek sayısı, SVDSÇ: Sol ventrikül diyastol sonu çap, SVSSÇ: Sol ventrikül sistol sonu çap, SS: standart sapma

Veri analizinde; SVDSÇ, SVSSÇ, IVS ve arka duvar kalınlıklarına ait veriler Kruskal-Wallis, diğer parametrelerde ise ANOVA ve post-hoc Tukey testi kullanılmıştır.

a: DOX vs K $P < 0.05$; b: DOX +EMPA vs DOX $P < 0.05$; c: DOX vs Kontrol $P < 0.01$

d: DOX +EMPA vs DOX $P < 0.01$, e: DOX vs K $P < 0.001$; f: DOX +EMPA vs DOX $P < 0.001$



Şekil 4.2. Ekokardiyografik incelemede sol ventriül kısa aks M-Mode görüntüleri

1: Kontrol grubu, 2: Empagliflozin grubu, 3: Doksorubisin grubu, 4: Doksorubisin ve Empagliflozin grubu

4.3. Histolojik bulgular

4.3.1. Kardiyomiyosit Kalınlığı, İnfiltratif ve Normal Hücre Sayımları

Dört grup arasında kardiyak kütle indeksleri benzer olarak saptandı. Kardiyomiyosit hücre çapı DOX grubunda kontrol grubuna göre küçüktü ($P < 0.001$). DOX + EMPA grubunda ise kardiyomiyosit çapında azalma gözlenmedi, kontrol grubu ile benzer büyüklükteydi. DOX grubuna göre DOX + EMPA grubunda hücre çapı büyüktü ($P < 0,01$).

İnfiltratif hücre sayısı DOX grubunda, kontrol ve EMPA grubuna göre yüksek olarak saptandı ($P < 0,001$). DOX + EMPA grubunda ise infiltratif hücre sayısı DOX grubuna göre düşüktü ($P < 0,01$).

Normal morfolojide çekirdek içeren kardiyomiyosit hücre oranı DOX grubunda kontrol ve EMPA grubuna göre daha düşüktü ($P < 0,001$). DOX + EMPA grubunda ise normal morfolojideki kardiyomiyosit hücre oranı DOX grubuna göre daha fazlaydı ($P < 0,001$).

Karyolizis ve karyoreksis izlenen kardiyomiyosit oranı ise DOX grubunda kontrol ve EMPA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak saptandı ($P < 0,001$). DOX + EMPA grubunda ise karyolizis ve karyoreksis izlenen hücre oranı DOX grubuna göre daha azdı ($P < 0,001$) (Tablo 4.3).

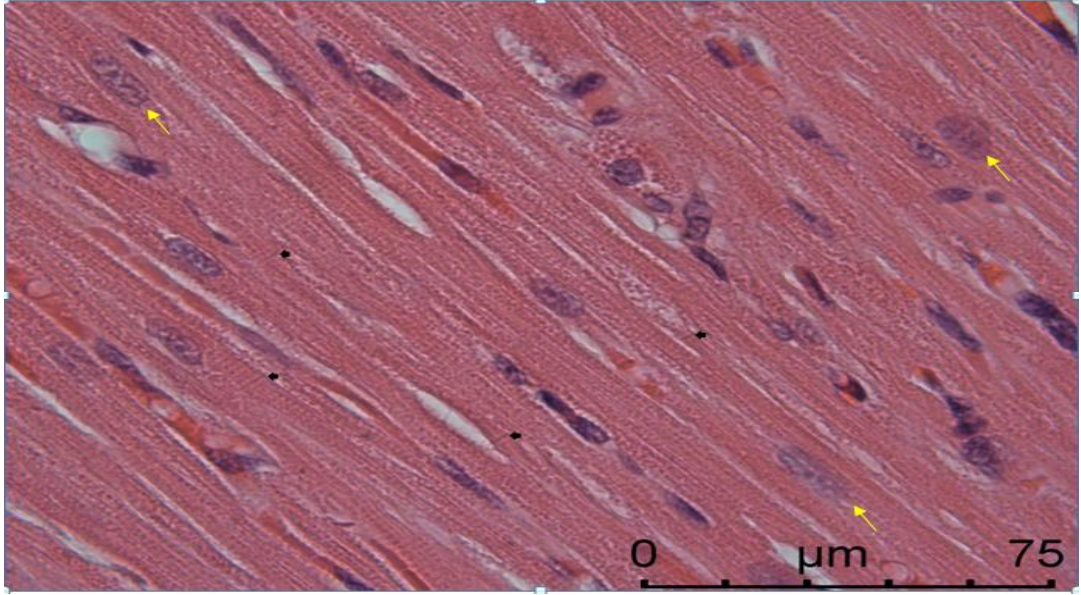
Tablo 4.3. Histolojik bulgular

	K (n=10)	EMPA (n=10)	DOX (n=9)	DOX+EMPA (n=9)
Kardiyak kütle indeksi (mg/100 g vücut ağırlığı)				
Ortalama \pm SS	280,99 \pm 19,82	263,61 \pm 39,79	276,84 \pm 18,84	268,88 \pm 32,55
Kardiyomiyosit hücre büyüklüğü (μm)				
Ortalama \pm SS	16,45 \pm 1,43	15,28 \pm 1,28	9,66 \pm 1,18 ^a	12,81 \pm 1,60 ^d
İnfiltratif hücre sayısı (sayı / inceleme alanı)				
Ortalama \pm SS	3,1 \pm 1,4	2,6 \pm 1,1	11,2 \pm 1,4 ^a	7,9 \pm 2,9 ^d
Normal morfolojide çekirdek içeren miyosit oranı (sayı / 100 miyosit)				
Ortalama \pm SS	0,954 \pm 0,039	0,987 \pm 0,008	0,452 \pm 0,023 ^{a,t}	0,809 \pm 0,026 ^c
Karyolizis gösteren hücre oranı (sayı / 100 miyosit)				
Ortalama \pm SS	0,015 \pm 0,012	0,003 \pm 0,004	0,255 \pm 0,028 ^{a,t}	0,061 \pm 0,008 ^c
Karyoreksis gösteren hücre oranı (sayı / 100 miyosit)				
Ortalama \pm SS	0,030 \pm 0,027	0,012 \pm 0,008	0,293 \pm 0,025 ^{a,t}	0,130 \pm 0,021 ^c

K: Kontrol grubu, EMPA: Empagliflozin grubu, DOX: doksorubisin grubu, DOX+EMPA: Doksorubisin ve empagliflozin grubu, n: denek sayısı, SS: standart sapma. Veri analizinde; ANOVA ve post-hoc Tukey testi kullanılmıştır. a: DOX vs K: $P < 0,001$, b: DOX vs EMPA $P < 0,001$, c: DOX vs DOX+EMPA $P < 0,001$, d: DOX vs DOX+EMPA $P < 0,01$

4.3.2. Işık Mikroskobu Bulguları

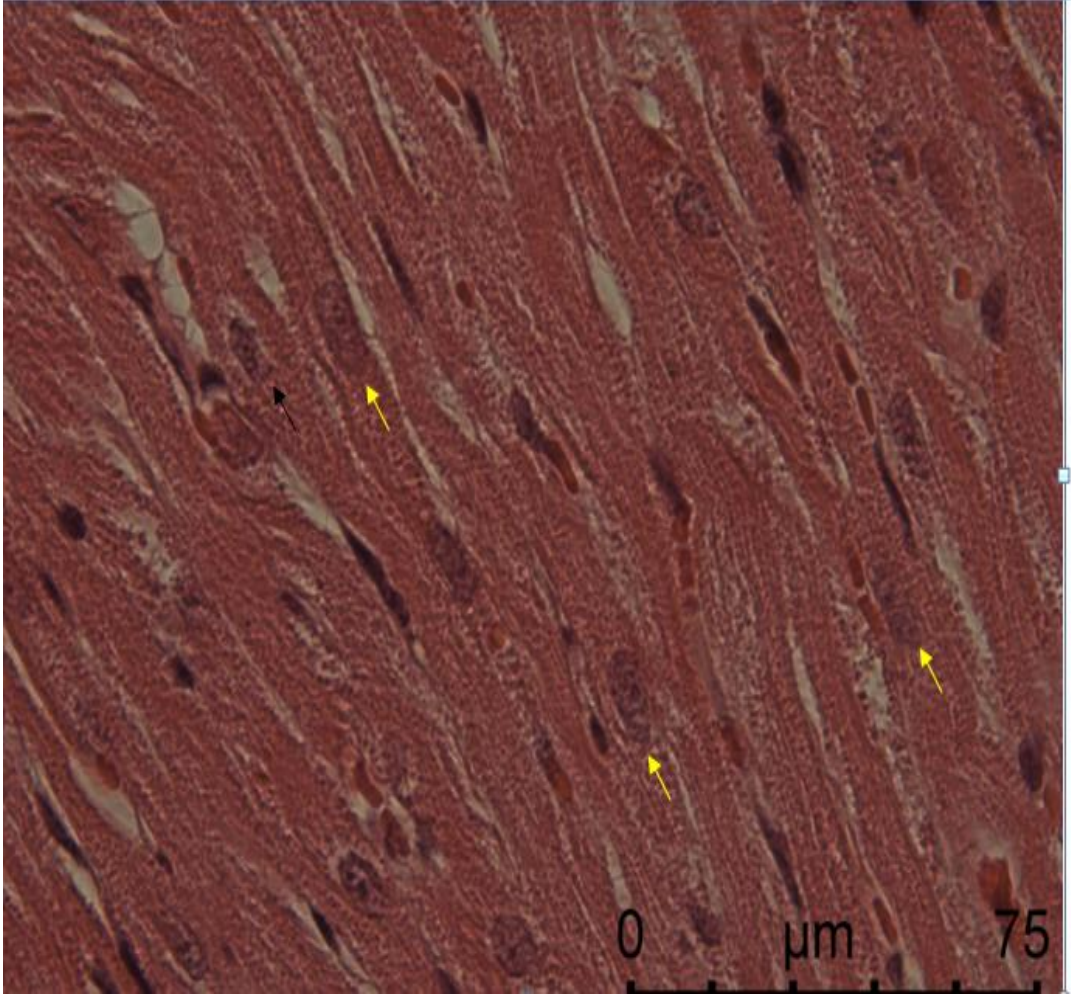
Kontrol grubunda; normal çizgilenmeler içinde, bir veya iki merkezi yerleşimli çekirdeği bulunan, dejeneratif değişiklik izlenmeyen, normal histolojik yapıları miyokard dokusu izlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Kontrol grubunun ışık mikroskobik görüntüsü

Siyah oklar diskus interkalarisi, sarı oklar ise normal kardiyomiyosit hücre çekirdeğini göstermektedir (x63, hematoxilen eozin)

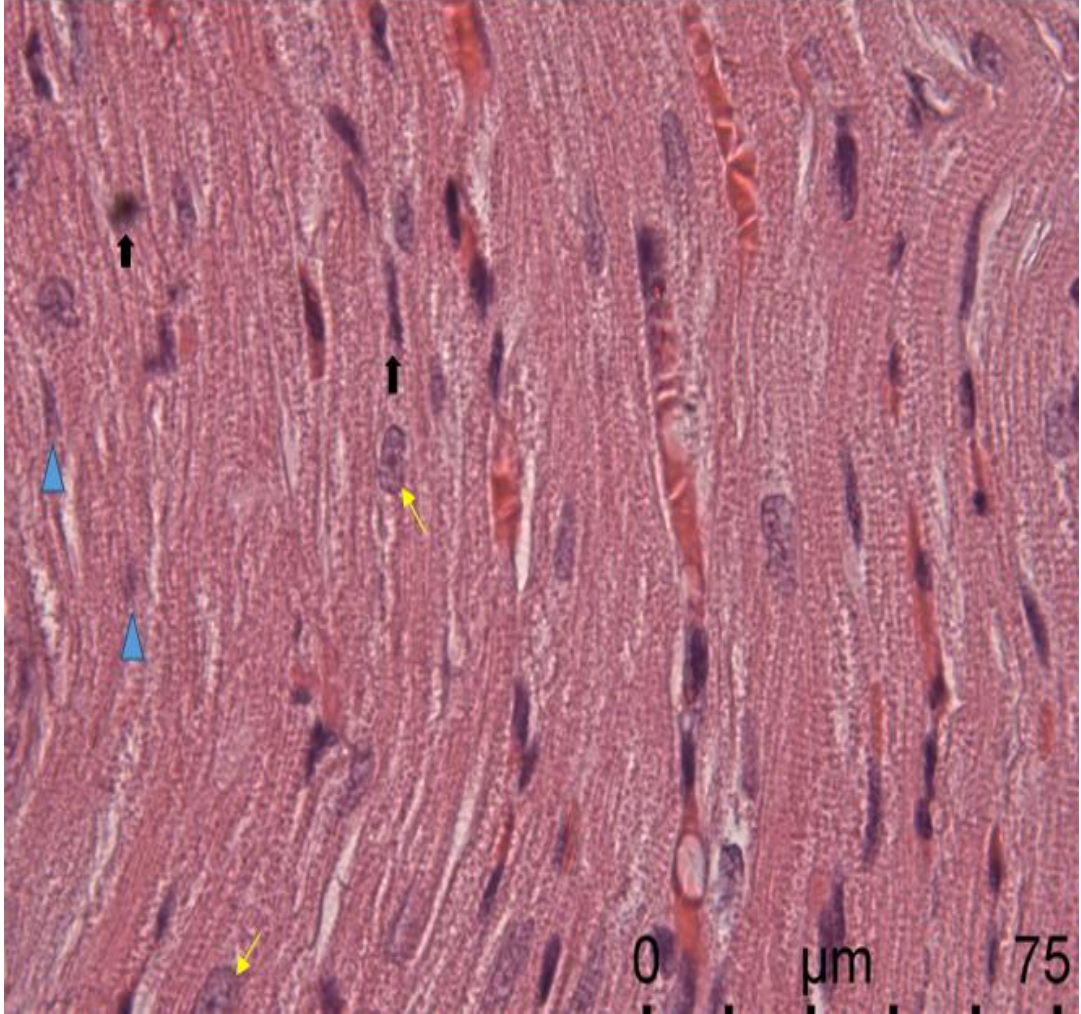
EMPA grubunda kardiyomiyosit hücre yapısı kontrol gurubuna benzer olarak izlenmiş ve myofibril kaybı bu grupta izlenmemiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Empagliflozin grubunun ışık mikroskopik görüntüsü

Sarı oklar normal kardiyomiyosit hücre çekirdeğini gösterirken, siyah ok karyoreksis izlenen çekirdeği göstermektedir (x63, hematoksilen eozin)

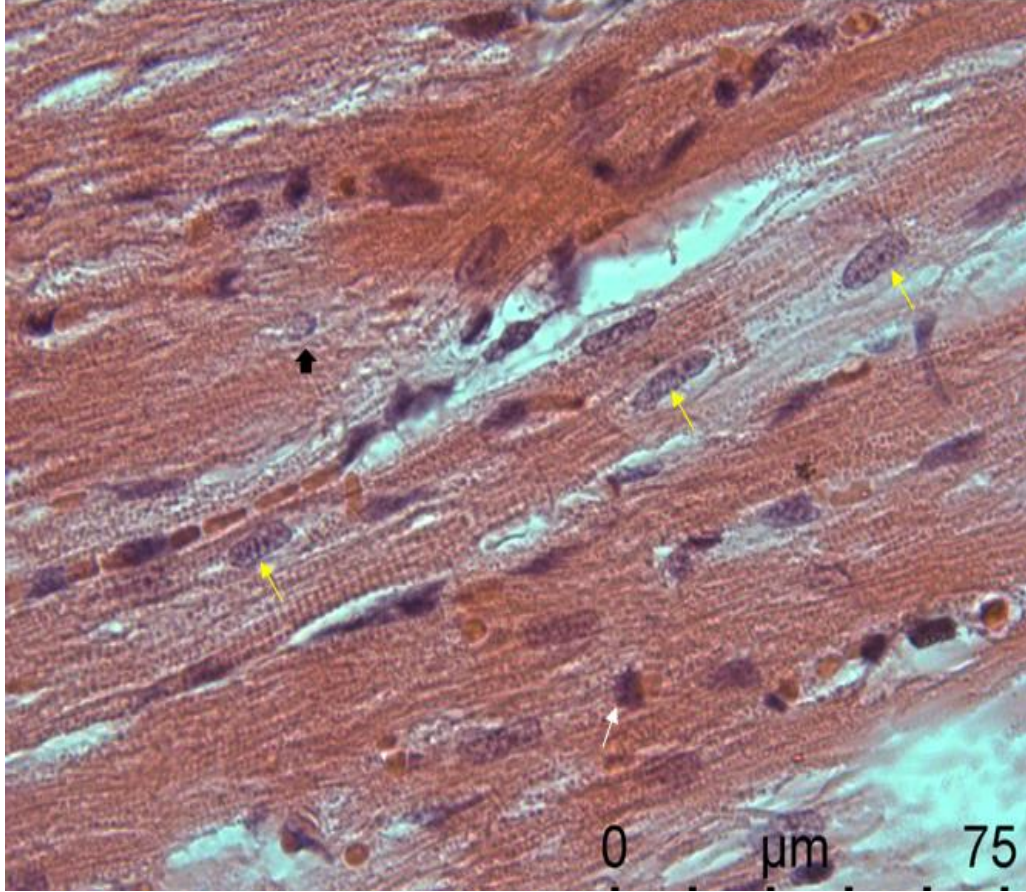
DOX grubunda ise kardiyomiyositlerde karyolizis, karyoreksis, piknozis ile birlikte dejeneratif değişiklikler izlenmektedir (Şekil 4.5). Bu gruptaki bazı kardiyomiyositlerde dejenerasyona yol açacak kadar önemli myofibriler kayıp izlenmektedir. Ayrıca hücresel ödemden dolayı kardiyomiyositler arası boşluklarda azalma izlenmektedir. Bu grupta perivasküler alanda infiltratif hücre birikimi, aktif fibroblast ve daha yoğun bağ dokusu elemanları izlenmektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. DOX grubunun hematoksilen eozin boyama ile ışık mikroskopi görüntüsü

Sarı oklar normal kardiyomiyosit hücre çekirdeğini gösterirken, siyah ok piknozis izlenen, mavi ok ise karyolizis izlenen çekirdeği göstermektedir (63x büyütme)

DOX + EMPA grubunda ise; DOX grubuna göre daha az dejenerasyonun yanında, ödem, infiltratif hücre birikimi ve sitoplazmik dejenerasyonda belirgin azalma izlenmektedir (Şekil 4.6).

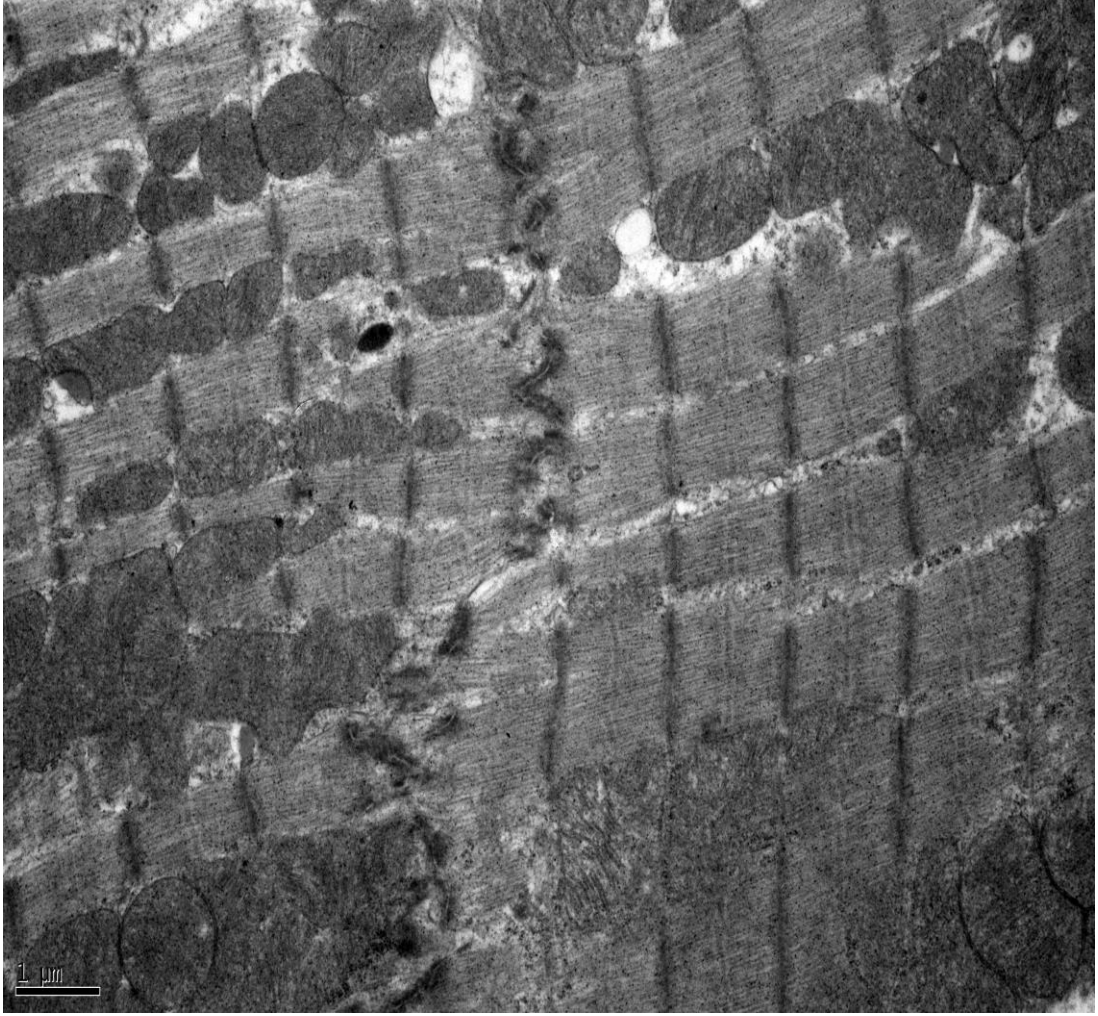


Şekil 4.6. DOX + EMPA grubunun ile ışık mikroskopik görüntüsü

Sarı oklar normal kardiyomiyosit hücre çekirdeğini gösterirken, beyazok piknozis izlenen, siyah ok ise karyolizisi izlenen çekirdeği göstermektedir (x63, hematoxilen eozin)

4.3.3. Elektron Mikroskobu Bulguları

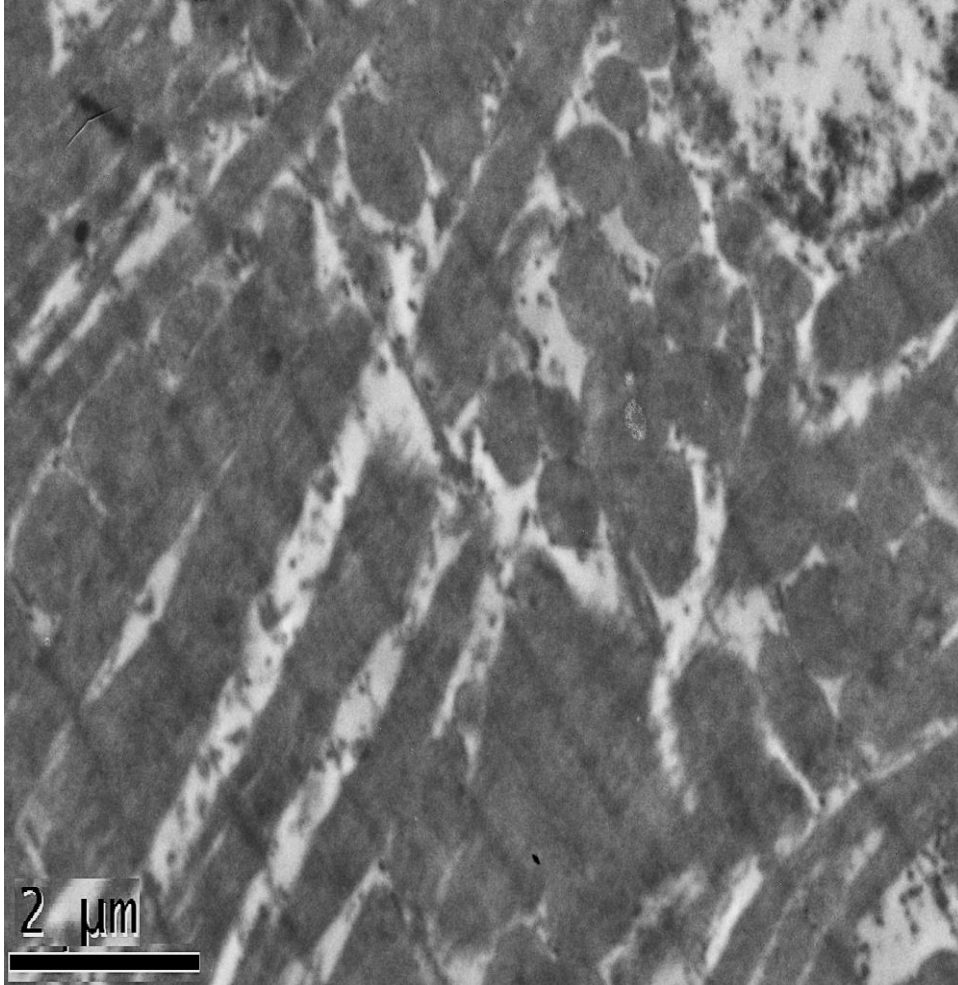
Kontrol grubunda; normal myokard yapısına ile uyumlu şekilde A ve I bandları Z diski ile hücreler arasında diskus interkalaris yapıları izlendi. Miyofibriller arasında bol miktarda çift zar tabakalı mitokondri ile bol miktarda sarkoplazmik retikulum mevcuttu. Miyofibriller arasındaki terminal sisternalarda T tübülleri izlendi (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Kontrol grubunun elektron mikroskopi ile görünümü

Normal kardiyomiyosit yapısı, A ve I bantları, Z çizgileri, bol miktarda normal mitokondri ve sarkoplazmik retikulum

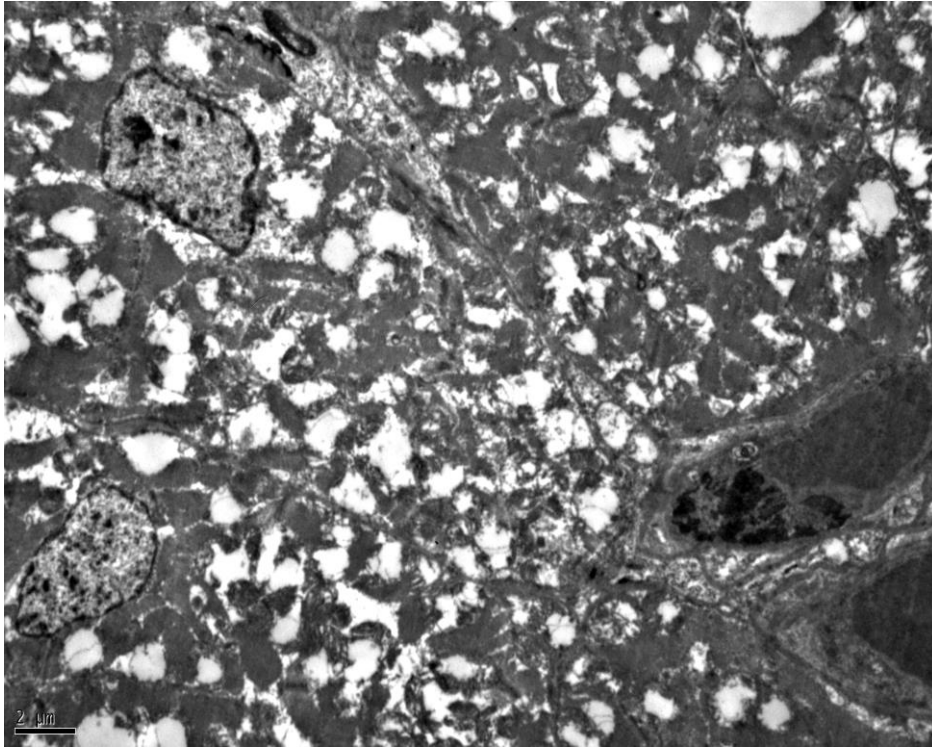
EMPA grubunda kesite bağlı ödem izlenirken, normal miyofibriller yapı mevcuttu (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. EMPA grubunun elektron mikroskobik incelenmesi

Kesite bağlı ödem, normal miyofibriller yapı

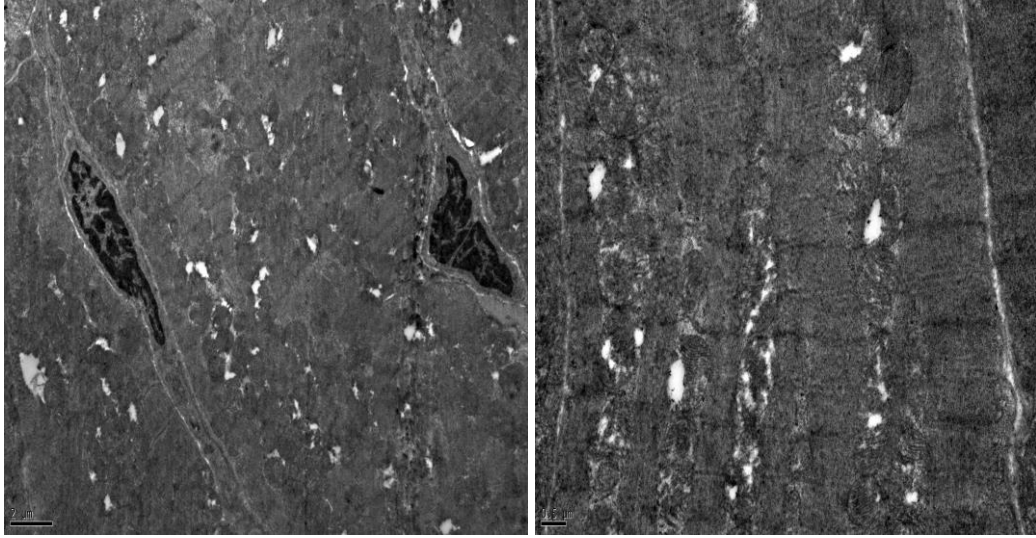
DOX grubunda ise; belirgin miyofibriller dejenerasyon nedeniyle miyositlerin çizgilenmeleri kaybolduğu için A ve I bandı, Z diski izlenemedi. Mitokondri ve sarkoplazmik retikülumlarda ileri dejenerasyon ve yıkım olduğu, çift katlı zar yapısının bozularak mitokondriyal kristalizis olduğu görüldü. Kardiyomiyositlerde hidropik distansiyon ve miyofibril kaybı izlendi. Miyosit çekirdeklerinde karyoreksis ve karyolizis izlendi (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. DOX grubunun elektron mikroskopik görüntüsü

Normal kardiyomiyosit yapısının ve miyofibriler yapının kaybı belirgin şekilde izlenmektedir. Ayrıca mitokondri ve sarkoplazmik retikulum yapılarının azalmasının yanında var olan mitokondrilerde kristalizis göze çarpmaktadır.

DOX + EMPA grubunda; çoğunlukla normal miyofibriler çizgilenmelerin, A ve I bandı ile Z disklerinin korunduğu izlenirken distrofik değişikliklerin nadir olduğu saptandı. Ayrıca mitokondri sayısı normale yakın iken çoğunun sağlam çift membranlı olduğu az bir kısmında kristalizis olduğu görüldü. Kardiyomiyositlerde nadir distrofik değişiklikler görüldü (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. DOX + EMPA grubunun elektron mikroskopik görüntüsü

Nadir distrofik değişikliklerin yanında A ve I bandı ile Z çizgilerinin varlığı ile normal myosit çizgilenmeleri izlenmektedir. Normal yapıda olduğu gibi bol miktarda mitokondri ile sarkoplazmik retikulum izlenirken mitokondrilerin çok az bir kısmında kristalizis mevcuttu.

4.4. Biyokimyasal Bulgular

TOS, OSI, MPO ve IMA düzeyleri dört grup arasında benzerdi. SOD ve Paraoksonaz 1 düzeyleri DOX grubunda düşük olarak saptanırken, DOX+EMPA grubunda bu parametrelerde anlamlı iyileşme olmadığı saptandı (Tablo 4.4). BNP düzeyleri de tüm gruplarda benzer seviyelerde izlendi.

Tablo 4.4. Biyokimyasal bulgular

	K (n:10)	EMPA (n:10)	DOX (n:9)	DOX+EMPA (n:9)
TOS ($\mu\text{mol/L}$)				
Ortanca (ÇAA)	21,72 (11,23)	23,51 (8,18)	22,13 (32,07)	23,68 (12,49)
OSI (AU)				
Ortalama \pm SS	1,68 \pm 0,50	1,83 \pm 0,42	2,07 \pm 1,02	2,08 \pm 0,77
Paroksonaz (U/L)				
Ortalama \pm SS	1052,00 \pm 108,03	1180,10 \pm 209,50	772,44 \pm 239,33 ^a	749,89 \pm 185,96 ^b
IMA (AU)				
Ortalama \pm SS	0,51 \pm 0,05	0,52 \pm 0,10	0,56 \pm 0,10	0,58 \pm 0,09
MPO (U/L)				
Ortanca (ÇAA)	111,92 (85,98)	64,63 (75,80)	182,43 (218,46)	247,99 (770,54)
SOD (U/mL)				
Ortalama \pm SS	176,66 \pm 22,23	189,59 \pm 21,64	139,74 \pm 40,65 ^c	162,50 \pm 35,77
BNP (pg/mL)				
Ortalama \pm SS	350,58 \pm 97,42	302,76 \pm 66,73	267,60 \pm 113,10	260,01 \pm 12,65

K: Kontrol grubu, EMPA: Empagliflozin grubu, DOX: Dokсорubisin grubu, DOX+EMPA: Dokсорubisin ve empagliflozin grubu,

AU: arbitrary unit BNP: Beyin natriüretik peptid, ÇAA: Çeyrekler arası aralık, MPO: Myeloperoksidaz, n: denek sayısı, OSI: Oksidatif stres indeks, SOD: Süperoksit dismutaz, TOS: Total oksidan seviyesi,

Veri analizinde; TOS ve MPO ait veriler Kruskal-Wallis, diğer parametrelerde ise ANOVA ve post-hoc Tukey testi kullanılmıştır.

a: DOX vs K $P < 0,05$; b: DOX +EMPA vs K $P < 0,01$; c: DOX VS EMPA $P < 0,05$

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada empagliflozinin doksorubisin kardiyotoksitesini üzerindeki etkileri araştırılmış ve empagliflozinin doksorubisin kardiyotoksitesini belirgin şekilde önlediği gösterilmiştir. Çalışmamızda Dox; elektrokardiyografik kayıtlarda QTc uzamasına, ekokardiyografik incelemede sol ventrikül sistol ve diyastol sonu çaplarda belirgin artışa, EF ve FK' da belirgin düşüşe; histolojik değerlendirmede ise karyolizis, karyoreksis, infiltratif hücre artışına, mitokondriyal ve sarkoplazmik dejenerasyona, myofibriler dejenerasyona yol açtığı gösterilmiştir ve EMPA'nın bu değişiklikleri belirgin derecede düzelttiği saptanmıştır.

Dox en etkili kemoteropatik ajanlardan biri olup meme kanseri, sarkom, lenfoma ve lösemi gibi malignitelerin tedavisinde temel basamağı oluşturmaktadır (11-14, 22). Dox güçlü etki mekanizması ve geniş kullanım alanlarının yanında akut ve kronik kardiyotoksitesine (15, 16) nedeniyle kalp yetersizliğine yol açmaktadır (33-35). Bu durum mortalite ve morbidite artışına neden olmaktadır. Bu nedenle Dox kardiyotoksitesine yönelik tedavi geliştirilmesi önem arz etmektedir (36). EMPA'nın klinik çalışmalarda kardiyovasküler faydasının yanında; hayvan deneylerinde SGLT-2 inhibisyonundan bağımsız olarak kardiyomiyositlerde iyon kanallarını etkileyerek aksiyon potansiyeli ve QT intervalini kısalttığını; iskemik kardiyomyopati modellerinde keton cisimciklerini artırarak ve mitokondriyal biyogeneze katkıda bulunarak kalp yetersizliğine gidişi önlediğini gösterilmiştir (7, 10, 93, 95).

Çalışmamızda; EMPA'nın Dox kardiyotoksitesine karşı belirgin koruyucu olduğu elektrokardiyografik, ekokardiyografik ve histolojik olarak gösterilmiştir. Bu koruyucu etkisi birkaç mekanizma ile açıklanabilir.

Dox kardiyotoksitesinde; PGC-1 α yolağının önemi bilinmektedir (45). PGC-1 α mitokondriyal biyogenez ve metabolizmada görev alan kilit proteinlerden biridir. Başlıca görevleri; nükleer respiratuar faktör 1 ve 2 nin regülasyonunu sağlayarak mitokondriyal oksidatif fosforilasyon için gerekli genlerin ekspresyonunu sağlamak, peroksizom proliferator-aktive reseptör ekspresyon regülasyonu ile yağ asidi oksidasyonunu artırmak, mitokondriyal transkripsiyon faktör A aktivasyonunu

artırarak mtDNA transkripsiyon ve replikasyonunun düzenlenmesi ile mitokondriyal çoğalmanın sağlanmasıdır (49). Dox' un PGC-1 α inhibisyonu yaparak mitokondriyal hasara yol açtığı bildirilmiştir (50). PGC-1 α inhibisyonunda elektron mikroskopik incelemede mitokondri sayısında azalma, yapısında bozulma ve kristalizis olduğu görülmektedir (50, 51). Bizim çalışmamızda da DOX grubunda belirgin olarak izlenen mitokondriyal bozulma ve kristalizis görülmesi de bu durum ile ilişkilidir. Artmış PGC-1 α düzeylerinin ise Dox kardiyotoksitesinden koruduğu bilinmektedir (52, 53).

Daha önce yapılan iskemik kardiyomyopati hayvan deneylerinde EMPA'nın mitokondriyal PGC-1 α düzeyini artırdığını ve bu sayede mitokondriyal biyogeneze artışı sağlayarak mitokondrileri koruduğu gösterilmiştir (7, 10). PGC-1 α düzeyinin arttığı durumlarda mitokondri sayısının ve hacminin arttığı bilinmektedir (104). Nitekim çalışmamızdaki elektron mikroskopi bulguları bu durumu desteklemektedir. DOX grubunda belirgin olarak izlenen mitokondriyal bozulma ve kristalizis'in DOX+EMPA grubunda yok denecek kadar az izlenmesi ve bu grupta mitokondrilerin çift zarlı yapısını koruyabilmesi bu durumun en önemli histolojik kanıtıdır. Sonuç olarak EMPA'nın PGC-1 α düzeyinde yükselme ile artmış mitokondriyal biyogeneze sayesinde Dox kardiyotoksitesinden koruduğu söylenebilir.

Dox' un sarkoplazmik retiküluma etkisi kardiyotoksitesiteye yol açan bir başka ana yoldur. Dox; sarkoplazmik retikülum dejenerasyonu yanında SERCA aktivitesini baskılayarak, Ryanodin aktivitesini artırarak sitozolik kalsiyum artışına yol açmaktadır (54). Bu durum kendisini; Dox kardiyotoksitesinin klinik öncesi evrede bile EKG'de QT uzaması ile göstermektedir (105). Bununla beraber sitozolik kalsiyum artışı Calpain, Kaspaz 3, Kaspaz 9 aktivasyonu ile apoptozise (55, 56) ve kalsinörin bağımlı nükleer faktör aktivasyonu ile T lenfositlerin myokardı infiltre etmesine ve Fas aracılı myosit hücre ölümüne yol açmaktadır (55). Kalsiyum homeostazisindeki bu bozulma titin dejenerasyonu ile eksitasyon ve kontraksiyon eşleşmesini bozarak-kontraksiyon ve relaksasyon bozukluğu ile kardiyomyopatinin ilerlemesine yol açmaktadır (57).

Çalışmamızda DOX grubunda elektron mikroskobide sarkoplazmik retikulum dejenerasyonu, elektrokardiyografik incelemede ise QT ve QTc intervallerinde uzama saptanmıştır. EMPA ise elektron mikroskopi bulgularında sarkoplazmik retikulum dejenerasyonunu belirgin derecede azaltarak myosit nekrozunu dolayısıyla karyolizis, karyoreksisi, hidropik dejenerasyonu, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu önlemiş ve eksitasyon kontraksiyon eşleşmesini koruyarak ekokardiyografide sol ventrikül sistolik fonksiyonlarını korumuştur. Ayrıca çalışmamızda EMPA'nın Dox ile indüklenen EKG'de QT ve QTc intervallerinde uzamayı belirgin derecede önlediği görülmektedir. Dox SERCA aktivitesinin baskılayarak, Ryanodin aktivitesini ise artırarak sitozolik kalsiyum artışı ile EKG'de QT uzamasına yol açmaktadır (54). Daha önce Lee ve ark yaptığı çalışmada gösterildiği üzere, EMPA L tipi kalsiyum kanal aktivasyonunu, sodyum kalsiyum değiştirici pompa aktivitesini, SERCA2a ve RYR2 protein ekspresyonunu artırırken geç sodyum kanal aktivasyonunu ve RYR2-pS2808 protein düzeyini azaltarak (95) sitozolik kalsiyum miktarını azaltmaktadır. Bu sayede EMPA, Dox'un indüklediği EKG'de QTc intervalinde uzamayı önlediği; histolojik incelemelerde ise Calpain, Kaspaz 3 ve Kaspaz 9 aktivasyonu önleyerek apoptozisi ve infiltratif hücre birikimini önlediği öne sürülebilir.

ROT hasarı Dox'un kardiyotoksitesini açıklamak için öne sürülen ilk ve geleneksel mekanizmadır. Bilindiği üzere kardiyomyositler mitokondriden zengin fakat antioksidanlardan fakirdir. Dolayısıyla Dox etkisi ile ROT yüksek miktarda oluşabileceği ve kolay şekilde kardiyomyosit hasarına yol açabileceği düşünülmüştür (37-39). Şelatörlerin de *Haber-Weiss* mekanizması ile ROT yapımında azalma ile kardiyoproteksiyonu sağladığı düşünülmüştür (40). Fakat yeni çalışmalar ROT hasarının Dox kardiyotoksitesinde temel mekanizma olmadığını; nedenden ziyade mitokondriyal biyogenezin Dox ile inhibisyonu sonucu reaktif oksijen metabolitlerinin temizlenememesi ile sonuç olarak ortaya çıktığını göstermektedir (41, 42). Ayrıca Dox kardiyotoksitesinden korunmada kullanılan en temel molekül olan dextrazoksanın, şelatör etkisinden ziyade TOPO2b üzerinden kardiyotoksitesiteyi önlediği gösterilmiştir (46). Nitekim şelatör etkisi dextrazokсандan daha kuvvetli olan desferoksaminin Dox toksitesini önleyememesi, dextrazoksanın bu koruyucu etkisinin şelatör etki ile

açıklanamayacağını göstermektedir (47). Bizim çalışmamızda da biyokimyasal bulgularda; oksidatif stresi gösteren TOS, OSI, MPO seviyelerinde gruplar arasında fark izlenmemesi, reaktif oksijen metabolitlerinin yaptığı hasarı gösteren SOD ve antioksidan enzim olan Paraoksanaz 1 düzeyleri DOX grubunda düşük olarak saptanırken, DOX+EMPA grubunda bu parametrelerde anlamlı iyileşme olmaması; EMPA'nın bu etkisinin antioksidan yollardan bağımsız gerçekleştirdiğini gözler önüne sermektedir. Yaptığımız literatür araştırmasına göre; çalışmamız ile ilk kez Dox kardiyotoksitesinde Paraoksanaz 1 düzeylerinin düştüğü saptanmıştır.

EMPA'nın Dox kardiyotoksitesinde koruyucu etkilerini gösteren hayvan çalışmaları da mevcuttur. Bu konu hakkında yapılan ilk çalışmada; Oh CM ve ark empagliflozinin Dox kardiyotoksitesisi üzerine potansiyel olumlu etkilerinin olabileceği belirtilmiştir (18). Histolojik çalışmalarda EMPA'nın kronik Dox kardiyotoksitesisinde fibrozisi azalttığı gösterilmiş olsa da sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu üzerine olumlu etkisi istatistiksel olarak anlamlı gösterilememiştir. Bu durumun en önemli nedeninin çalışmadaki metodoloji olduğunu düşünmekteyiz. Araştırmacıların, standart bir EMPA tedavisi yerine EMPA içeren diyet vermesi empagliflozinin koruyucu etkisini yeterince gösterememesine yol açmış olabilir. Ayrıca bu çalışmada EMPA'nın koruyucu etkisini *in vitro* olarak betahidroksibutirat düzeyindeki artış ve bu sayede ROS hasarının önlenmesi olarak öne sürülmüştür. ROS hasarının artık Dox kardiyotoksitesisinde neden değil sonuç olmasının yanında (45); *in vitro* mekanizmaların hayvan deneylerine uyarlanmasının da realistik olmadığı daha önceden gösterilmiştir (106). Çalışmamızda biyokimyasal parametrelerin gruplar arasında benzer olarak saptanması da EMPA'nın koruyucu etkilerinin antioksidan yollar üzerinden olmadığını desteklemektedir. Dolayısıyla bu çalışma ortaya histolojik kanıtlar koymakla beraber fizyopatolojik açıklama getirememektedir.

Bir başka çalışmada da EMPA'nın Dox kardiyotoksitesisi üzerine olumlu etkileri ekokardiyografik ve histolojik olarak gösterilmiştir (17). Bu çalışmada ışık mikroskobu bulgularında, bizim çalışmamızdaki bulgulara ek olarak EMPA'nın Dox kardiyotoksitesisindeki fibrozisi, miyokardiyal bant kısalmasını ve disorganizasyonu önlediği gösterilmiştir. Fakat elektron mikroskobu bulguları çalışılmamıştır. Bu

çalışmada ayrıca denek olarak fare kullanılmış ve fizyopatolojik mekanizma olarak EMPA'nın fare myokardı üzerindeki SGLT-2 reseptörü ile kardiyak olumlu etkilerini gösterdiği öne sürülmüştür. İnsan myosit indüklenebilir pluripotent kök hücrelerinde SGLT-2 reseptörleri gösterilmiş olsa da (107), erişkin insan ve sıçan myokardında henüz SGLT-2 reseptör ekspresyonu gösterilememiştir. Dolayısıyla bu açıklamanın insan modeline uygulanamayacağı aşıkardır.

Çalışmamız, önceki bu çalışmalara ek olarak elektron mikroskopi bulguları ile Dox kardiyotoksisitesinde EMPA'nın myosit yapısını organel düzeyinden itibaren koruyabildiğini; elektrokardiyografik ve ekokardiyografik bulgular ile de bu korunmanın kardiyak fonksiyonlara yansıdığını göstermektedir.

EMPA-REG OUTCOME çalışmasında empagliflozinin kardiyovasküler ölüm ve kalp yetersizliği nedeni hastaneye yatışları azaltmasındaki temel mekanizmanın (2) SGLT-2 inhibisyonundan kaynaklanan natriüretik etksi olabileceği ileri sürülmüştür. Ancak çalışmamızda BNP düzeylerinin de tüm gruplarda benzer seviyelerde izlenmesi, empagliflozinin olumlu etkilerinin natriüretik etkisinin ötesinde olduğunu göstermektedir. Empagliflozinin; klinik çalışmalarda düşük EF'li kalp yetersizliği hastalarında, önceki hayvan deneyi çalışmalarında ise Dox kardiyotoksisitesinden koruduğu deneklerde BNP düzeylerini değiştirmemesi bu durumu desteklemektedir (17, 108). Ayrıca tüm gruplarda İMA düzeyinin benzer olması daha önce ortaya atılan Dox' un iskemik yollardan kardiyomyopatiye yol açabileceği tezi ile de çelişmektedir (109).

Dox' un temel etki mekanizması; topoizomeraz 2 (TOPO 2) enzimleri ile yaptığı DNA interkalasyonudur (23, 24). TOPO 2'nin alfa alt biriminin kanser hücreleri gibi proliferasyon hızı fazla olan hücrelerde ekspresyonu yüksek iken beta alt birimi tüm hücrelerde transkripsiyonda rol oynamaktadır (26, 27). Dox, hücre bölünmesi sırasında TOPO 2 alfa ve DNA kompleksi ile birleşerek üçlü yapı oluşturur ve DNA tamirini önleyerek apoptotik yanıtı başlatmaktadır (24). Dox' un kardiyomiyositlerde nükleer ve mitokondriyal TOPO2β inhibisyonu ise kardiyotoksisitesinin temel mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir (43-45). Fakat çalışmamızda TOPO2β düzeylerinin ölçülememesi nedeniyle EMPA' nın

bu yolak üzerindeki etkisinden bahsedememekteyiz. Bu durum çalışmamızın en önemli kısıtlılıklarındandır.

Ayrıca çalışmamızda PGC1 α kodlayan mRNA aktivite düzeylerinin doğrudan olarak ölçülememesi başka bir kısıtlılıktır. Fakat elektron mikroskobu bulguları PGC1 α işlevi hakkında dolaylı da olsa fikir vermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu hayvan deneyi çalışmasında empagliflozinin doksorubisin kardiyotoksitesini önlemede belirgin etkisinin olduğu elektrokardiyografik, ekokardiyografik ve histolojik olarak gösterilmiştir. Bu veriler empagliflozinin koruyucu etkisinin mitokondriyal biyogenezi artırması, sarkoplazmik retikulum üzerindeki koruyucu etkisi ve intrasellüler kalsiyum metabolizmasındaki düzenleyici etkilerinden kaynaklandığını göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda EMPA'nın kardiyomiyositler üzerinde SGLT inhibisyonundan bağımsız olarak direk olumlu kardiyotropik etkilerinin izlenmesi önemlidir. Bu çalışma ve bundan önceki çalışmaların bulguları empagliflozinin doksorubisin kardiyotoksitesinde koruyucu olduğunu göstermektedir. Yapılacak klinik çalışmalar ile doksorubisin alacak hastalarda empagliflozin tedavisi kardiyotoksiteyi önlemek amacıyla önerilebilir.

7. KAYNAKÇA

1. Grempler R, Thomas L, Eckhardt M, Himmelsbach F, Sauer A, Sharp DE, et al. Empagliflozin, a novel selective sodium glucose cotransporter-2 (SGLT-2) inhibitor: characterisation and comparison with other SGLT-2 inhibitors. *Diabetes Obes Metab.* 2012;14 (1):83-90.
2. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, et al. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015;373 (22):2117-28.
3. Cherney DZ, Perkins BA, Soleymanlou N, Har R, Fagan N, Johansen OE, et al. The effect of empagliflozin on arterial stiffness and heart rate variability in subjects with uncomplicated type 1 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:28.
4. Barnett AH, Mithal A, Manassie J, Jones R, Rattunde H, Woerle HJ, et al. Efficacy and safety of empagliflozin added to existing antidiabetes treatment in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014;2 (5):369-84.
5. Cardoso CR, Ferreira MT, Leite NC, Salles GF. Prognostic impact of aortic stiffness in high-risk type 2 diabetic patients: the Rio de Janeiro Type 2 Diabetes Cohort Study. *Diabetes Care.* 2013;36 (11):3772-8.
6. Bakris GL, Molitch M. Microalbuminuria as a risk predictor in diabetes: the continuing saga. *Diabetes Care.* 2014;37 (3):867-75.
7. Yurista SR, Sillje HHW, Oberdorf-Maass SU, Schouten EM, Pavez Giani MG, Hillebrands JL, et al. Sodium-glucose co-transporter 2 inhibition with empagliflozin improves cardiac function in non-diabetic rats with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *Eur J Heart Fail.* 2019;21 (7):862-73.
8. Connelly KA, Zhang Y, Visram A, Advani A, Batchu SN, Desjardins JF, et al. Empagliflozin Improves Diastolic Function in a Nondiabetic Rodent Model of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *JACC Basic Transl Sci.* 2019;4 (1):27-37.

9. Lee HC, Shiou YL, Jhuo SJ, Chang CY, Liu PL, Jhuang WJ, et al. The sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor empagliflozin attenuates cardiac fibrosis and improves ventricular hemodynamics in hypertensive heart failure rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2019;18 (1):45.
10. Santos-Gallego CG, Requena-Ibanez JA, San Antonio R, Ishikawa K, Watanabe S, Picatoste B, et al. Empagliflozin Ameliorates Adverse Left Ventricular Remodeling in Nondiabetic Heart Failure by Enhancing Myocardial Energetics. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73 (15):1931-44.
11. Blum JL, Flynn PJ, Yothers G, Asmar L, Geyer CE, Jr., Jacobs SA, et al. Anthracyclines in Early Breast Cancer: The ABC Trials-USOR 06-090, NSABP B-46-I/USOR 07132, and NSABP B-49 (NRG Oncology). *J Clin Oncol*. 2017;35 (23):2647-55.
12. Luminari S, Montanini A, Federico M. Anthracyclines: a cornerstone in the management of non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol Rep*. 2011;3 (3s):e4.
13. Keohan ML, Taub RN. Chemotherapy for advanced sarcoma: therapeutic decisions and modalities. *Semin Oncol*. 1997;24 (5):572-9.
14. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer J*. 2017;7 (6):e577.
15. Bristow MR, Billingham ME, Mason JW, Daniels JR. Clinical spectrum of anthracycline antibiotic cardiotoxicity. *Cancer Treat Rep*. 1978;62 (6):873-9.
16. Singal PK, Iliskovic N. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1998;339 (13):900-5.
17. Sabatino J, De Rosa S, Tamme L, Iaconetti C, Sorrentino S, Polimeni A, et al. Empagliflozin prevents doxorubicin-induced myocardial dysfunction. *Cardiovasc Diabetol*. 2020;19 (1):66.
18. Oh CM, Cho S, Jang JY, Kim H, Chun S, Choi M, et al. Cardioprotective Potential of an SGLT2 Inhibitor Against Doxorubicin-Induced Heart Failure. *Korean Circ J*. 2019;49 (12):1183-95.

19. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J.* 2016;37 (27):2129-200.
20. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev.* 2004;56 (2):185-229.
21. Tacar O, Sriamornsak P, Dass CR. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *J Pharm Pharmacol.* 2013;65 (2):157-70.
22. Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, Correia S, Oliveira PJ, Santos MS, et al. Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Curr Med Chem.* 2009;16 (25):3267-85.
23. Hilmer SN, Cogger VC, Muller M, Le Couteur DG. The hepatic pharmacokinetics of doxorubicin and liposomal doxorubicin. *Drug Metab Dispos.* 2004;32 (8):794-9.
24. Tewey KM, Rowe TC, Yang L, Halligan BD, Liu LF. Adriamycin-induced DNA damage mediated by mammalian DNA topoisomerase II. *Science.* 1984;226 (4673):466-8.
25. Cornarotti M, Tinelli S, Willmore E, Zunino F, Fisher LM, Austin CA, et al. Drug sensitivity and sequence specificity of human recombinant DNA topoisomerases I α (p170) and I β (p180). *Mol Pharmacol.* 1996;50 (6):1463-71.
26. Tsutsui K, Tsutsui K, Hosoya O, Sano K, Tokunaga A. Immunohistochemical analyses of DNA topoisomerase II isoforms in developing rat cerebellum. *J Comp Neurol.* 2001;431 (2):228-39.

27. Lyu YL, Lin CP, Azarova AM, Cai L, Wang JC, Liu LF. Role of topoisomerase IIbeta in the expression of developmentally regulated genes. *Mol Cell Biol*. 2006;26 (21):7929-41.
28. Ashley N, Poulton J. Mitochondrial DNA is a direct target of anti-cancer anthracycline drugs. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;378 (3):450-5.
29. Otteneder M, Daniels JS, Voehler M, Marnett LJ. Development of a method for determination of the malondialdehyde-deoxyguanosine adduct in urine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Biochem*. 2003;315 (2):147-51.
30. Ruiz-Ruiz C, Robledo G, Cano E, Redondo JM, Lopez-Rivas A. Characterization of p53-mediated up-regulation of CD95 gene expression upon genotoxic treatment in human breast tumor cells. *J Biol Chem*. 2003;278 (34):31667-75.
31. Leung LK, Wang TT. Differential effects of chemotherapeutic agents on the Bcl-2/Bax apoptosis pathway in human breast cancer cell line MCF-7. *Breast Cancer Res Treat*. 1999;55 (1):73-83.
32. Yoon KA, Ku JL, Yang JO, Park JG. Telomerase activity, expression of Bcl-2 and cell cycle regulation in doxorubicin resistant gastric carcinoma cell lines. *Int J Mol Med*. 2003;11 (3):343-8.
33. Doyle JJ, Neugut AI, Jacobson JS, Grann VR, Hershman DL. Chemotherapy and cardiotoxicity in older breast cancer patients: a population-based study. *J Clin Oncol*. 2005;23 (34):8597-605.
34. Sorensen K, Levitt GA, Bull C, Dorup I, Sullivan ID. Late anthracycline cardiotoxicity after childhood cancer: a prospective longitudinal study. *Cancer*. 2003;97 (8):1991-8.
35. Lipshultz SE, Lipsitz SR, Sallan SE, Dalton VM, Mone SM, Gelber RD, et al. Chronic progressive cardiac dysfunction years after doxorubicin therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2005;23 (12):2629-36.

36. Iarussi D, Indolfi P, Casale F, Martino V, Di Tullio MT, Calabro R. Anthracycline-induced cardiotoxicity in children with cancer: strategies for prevention and management. *Paediatr Drugs*. 2005;7 (2):67-76.
37. Dhingra R, Margulets V, Chowdhury SR, Thliveris J, Jassal D, Fernyhough P, et al. Bnip3 mediates doxorubicin-induced cardiac myocyte necrosis and mortality through changes in mitochondrial signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111 (51):E5537-44.
38. Lebrecht D, Kokkori A, Ketelsen UP, Setzer B, Walker UA. Tissue-specific mtDNA lesions and radical-associated mitochondrial dysfunction in human hearts exposed to doxorubicin. *J Pathol*. 2005;207 (4):436-44.
39. Muindi JR, Sinha BK, Gianni L, Myers CE. Hydroxyl radical production and DNA damage induced by anthracycline-iron complex. *FEBS Lett*. 1984;172 (2):226-30.
40. Fang X, Wang H, Han D, Xie E, Yang X, Wei J, et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116 (7):2672-80.
41. Smith RA, Porteous CM, Gane AM, Murphy MP. Delivery of bioactive molecules to mitochondria in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100 (9):5407-12.
42. Zhang S, Liu X, Bawa-Khalfe T, Lu LS, Lyu YL, Liu LF, et al. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat Med*. 2012;18 (11):1639-42.
43. Cui N, Wu F, Lu WJ, Bai R, Ke B, Liu T, et al. Doxorubicin-induced cardiotoxicity is maturation dependent due to the shift from topoisomerase IIalpha to IIbeta in human stem cell derived cardiomyocytes. *J Cell Mol Med*. 2019;23 (7):4627-39.
44. Vejpongsa P, Yeh ET. Topoisomerase 2beta: a promising molecular target for primary prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Clin Pharmacol Ther*. 2014;95 (1):45-52.

45. Kalyanaraman B. Teaching the basics of the mechanism of doxorubicin-induced cardiotoxicity: Have we been barking up the wrong tree? *Redox Biol.* 2020;29:101394.
46. Bures J, Jirkovska A, Sestak V, Jansova H, Karabanovich G, Roh J, et al. Investigation of novel dexrazoxane analogue JR-311 shows significant cardioprotective effects through topoisomerase IIbeta but not its iron chelating metabolite. *Toxicology.* 2017;392:1-10.
47. Ichikawa Y, Ghanefar M, Bayeva M, Wu R, Khechaduri A, Naga Prasad SV, et al. Cardiotoxicity of doxorubicin is mediated through mitochondrial iron accumulation. *J Clin Invest.* 2014;124 (2):617-30.
48. Jornayvaz FR, Shulman GI. Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays Biochem.* 2010;47:69-84.
49. Riehle C, Abel ED. PGC-1 proteins and heart failure. *Trends Cardiovasc Med.* 2012;22 (4):98-105.
50. Yin J, Guo J, Zhang Q, Cui L, Zhang L, Zhang T, et al. Doxorubicin-induced mitophagy and mitochondrial damage is associated with dysregulation of the PINK1/parkin pathway. *Toxicol In Vitro.* 2018;51:1-10.
51. Villeneuve C, Guilbeau-Frugier C, Sicard P, Lairez O, Ordener C, Duparc T, et al. p53-PGC-1alpha pathway mediates oxidative mitochondrial damage and cardiomyocyte necrosis induced by monoamine oxidase-A upregulation: role in chronic left ventricular dysfunction in mice. *Antioxid Redox Signal.* 2013;18 (1):5-18.
52. Di W, Lv J, Jiang S, Lu C, Yang Z, Ma Z, et al. PGC-1: The Energetic Regulator in Cardiac Metabolism. *Curr Issues Mol Biol.* 2018;28:29-46.
53. Kirkham AA, Davis MK. Exercise Prevention of Cardiovascular Disease in Breast Cancer Survivors. *J Oncol.* 2015;2015:917606.
54. Arai M, Tomaru K, Takizawa T, Sekiguchi K, Yokoyama T, Suzuki T, et al. Sarcoplasmic reticulum genes are selectively down-regulated in cardiomyopathy produced by doxorubicin in rabbits. *J Mol Cell Cardiol.* 1998;30 (2):243-54.

55. Kalivendi SV, Konorev EA, Cunningham S, Vanamala SK, Kaji EH, Joseph J, et al. Doxorubicin activates nuclear factor of activated T-lymphocytes and Fas ligand transcription: role of mitochondrial reactive oxygen species and calcium. *Biochem J.* 2005;389 (Pt 2):527-39.
56. Wenningmann N, Knapp M, Ande A, Vaidya TR, Ait-Oudhia S. Insights into Doxorubicin-induced Cardiotoxicity: Molecular Mechanisms, Preventive Strategies, and Early Monitoring. *Mol Pharmacol.* 2019;96 (2):219-32.
57. Llach A, Mazevet M, Mateo P, Villejouvert O, Ridoux A, Rucker-Martin C, et al. Progression of excitation-contraction coupling defects in doxorubicin cardiotoxicity. *J Mol Cell Cardiol.* 2019;126:129-39.
58. Cowgill JA, Francis SA, Sawyer DB. Anthracycline and Peripartum Cardiomyopathies. *Circ Res.* 2019;124 (11):1633-46.
59. Billingham ME, Mason JW, Bristow MR, Daniels JR. Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. *Cancer Treat Rep.* 1978;62 (6):865-72.
60. Plana JC, Galderisi M, Barac A, Ewer MS, Ky B, Scherrer-Crosbie M, et al. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2014;27 (9):911-39.
61. Thavendiranathan P, Grant AD, Negishi T, Plana JC, Popovic ZB, Marwick TH. Reproducibility of echocardiographic techniques for sequential assessment of left ventricular ejection fraction and volumes: application to patients undergoing cancer chemotherapy. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61 (1):77-84.
62. Jurcut R, Wildiers H, Ganame J, D'Hooge J, De Backer J, Denys H, et al. Strain rate imaging detects early cardiac effects of pegylated liposomal Doxorubicin as adjuvant therapy in elderly patients with breast cancer. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008;21 (12):1283-9.
63. Negishi K, Negishi T, Hare JL, Haluska BA, Plana JC, Marwick TH. Independent and incremental value of deformation indices for prediction of

- trastuzumab-induced cardiotoxicity. *J Am Soc Echocardiogr.* 2013;26 (5):493-8.
64. Abdar Esfahani M, Mokarian F, Karimipanah M. Alterations in the echocardiographic variables of the right ventricle in asymptomatic patients with breast cancer during anthracycline chemotherapy. *Postgrad Med J.* 2017;93 (1099):271-4.
 65. Wright RS, Anderson JL, Adams CD, Bridges CR, Casey DE, Jr., Ettinger SM, et al. 2011 ACCF/AHA focused update incorporated into the ACC/AHA 2007 Guidelines for the Management of Patients with Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines developed in collaboration with the American Academy of Family Physicians, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57 (19):e215-367.
 66. Cardinale D, Sandri MT, Colombo A, Colombo N, Boeri M, Lamantia G, et al. Prognostic value of troponin I in cardiac risk stratification of cancer patients undergoing high-dose chemotherapy. *Circulation.* 2004;109 (22):2749-54.
 67. Dodos F, Halbsguth T, Erdmann E, Hoppe UC. Usefulness of myocardial performance index and biochemical markers for early detection of anthracycline-induced cardiotoxicity in adults. *Clin Res Cardiol.* 2008;97 (5):318-26.
 68. Gottdiener JS, Mathisen DJ, Borer JS, Bonow RO, Myers CE, Barr LH, et al. Doxorubicin cardiotoxicity: assessment of late left ventricular dysfunction by radionuclide cineangiography. *Ann Intern Med.* 1981;94 (4 pt 1):430-5.
 69. van Royen N, Jaffe CC, Krumholz HM, Johnson KM, Lynch PJ, Natale D, et al. Comparison and reproducibility of visual echocardiographic and quantitative radionuclide left ventricular ejection fractions. *Am J Cardiol.* 1996;77 (10):843-50.

70. Kim RJ, Wu E, Rafael A, Chen EL, Parker MA, Simonetti O, et al. The use of contrast-enhanced magnetic resonance imaging to identify reversible myocardial dysfunction. *N Engl J Med*. 2000;343 (20):1445-53.
71. Smith LA, Cornelius VR, Plummer CJ, Levitt G, Verrill M, Canney P, et al. Cardiotoxicity of anthracycline agents for the treatment of cancer: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMC Cancer*. 2010;10:337.
72. Baris VO, Gedikli E, Yersal N, Muftuoglu S, Erdem A. Protective effect of taurine against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: echocardiographical and histological findings. *Amino Acids*. 2019;51 (10-12):1649-55.
73. Argun M, Uzum K, Sonmez MF, Ozyurt A, Derya K, Cilenk KT, et al. Cardioprotective effect of metformin against doxorubicin cardiotoxicity in rats. *Anatol J Cardiol*. 2016;16 (4):234-41.
74. Razmaraii N, Babaei H, Mohajjel Nayebi A, Asadnasab G, Ashrafi Helan J, Azarmi Y. Cardioprotective Effect of Phenytoin on Doxorubicin-induced Cardiac Toxicity in a Rat Model. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2016;67 (3):237-45.
75. Zhang S, Meng T, Liu J, Zhang X, Zhang J. Cardiac protective effects of dexrazoxane on animal cardiotoxicity model induced by anthracycline combined with trastuzumab is associated with upregulation of calpain-2. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94 (4):e445.
76. Swain SM, Whaley FS, Gerber MC, Weisberg S, York M, Spicer D, et al. Cardioprotection with dexrazoxane for doxorubicin-containing therapy in advanced breast cancer. *J Clin Oncol*. 1997;15 (4):1318-32.
77. Swain SM, Whaley FS, Gerber MC, Ewer MS, Bianchine JR, Gams RA. Delayed administration of dexrazoxane provides cardioprotection for patients with advanced breast cancer treated with doxorubicin-containing therapy. *J Clin Oncol*. 1997;15 (4):1333-40.
78. Asselin BL, Devidas M, Chen L, Franco VI, Pullen J, Borowitz MJ, et al. Cardioprotection and Safety of Dexrazoxane in Patients Treated for Newly Diagnosed T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia or Advanced-Stage

- Lymphoblastic Non-Hodgkin Lymphoma: A Report of the Children's Oncology Group Randomized Trial Pediatric Oncology Group 9404. *J Clin Oncol.* 2016;34 (8):854-62.
79. Ndefo UA, Anidiobi NO, Basheer E, Eaton AT. Empagliflozin (Jardiance): A Novel SGLT2 Inhibitor for the Treatment of Type-2 Diabetes. *P T.* 2015;40 (6):364-8.
 80. Hummel CS, Lu C, Loo DD, Hirayama BA, Voss AA, Wright EM. Glucose transport by human renal Na⁺/D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2011;300 (1):C14-21.
 81. Ehrenkranz JR, Lewis NG, Kahn CR, Roth J. Phlorizin: a review. *Diabetes Metab Res Rev.* 2005;21 (1):31-8.
 82. Seman L, Macha S, Nehmiz G, Simons G, Ren B, Pinnetti S, et al. Empagliflozin (BI 10773), a Potent and Selective SGLT2 Inhibitor, Induces Dose-Dependent Glucosuria in Healthy Subjects. *Clin Pharmacol Drug Dev.* 2013;2 (2):152-61.
 83. Isaji M. Sodium-glucose cotransporter inhibitors for diabetes. *Curr Opin Investig Drugs.* 2007;8 (4):285-92.
 84. Roden M, Weng J, Eilbracht J, Delafont B, Kim G, Woerle HJ, et al. Empagliflozin monotherapy with sitagliptin as an active comparator in patients with type 2 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2013;1 (3):208-19.
 85. Fitchett DH, Udell JA, Inzucchi SE. Heart failure outcomes in clinical trials of glucose-lowering agents in patients with diabetes. *Eur J Heart Fail.* 2017;19 (1):43-53.
 86. Lytvyn Y, Bjornstad P, Udell JA, Lovshin JA, Cherney DZI. Sodium Glucose Cotransporter-2 Inhibition in Heart Failure: Potential Mechanisms, Clinical Applications, and Summary of Clinical Trials. *Circulation.* 2017;136 (17):1643-58.

87. Packer M, Anker SD, Butler J, Filippatos G, Pocock SJ, Carson P, et al. Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *N Engl J Med*. 2020.
88. Santos-Gallego CG, Vargas-Delgado AP, Requena JA, Garcia-Ropero A, Mancini D, Pinney S, et al. Randomized Trial of Empagliflozin in Non-Diabetic Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *J Am Coll Cardiol*. 2020.
89. Lee MMY, Brooksbank KJM, Wetherall K, Mangion K, Roditi G, Campbell RT, et al. Effect of Empagliflozin on Left Ventricular Volumes in Patients with Type 2 Diabetes, or Prediabetes, and Heart Failure with Reduced Ejection Fraction (SUGAR-DM-HF). *Circulation*. 2020.
90. Omar M, Jensen J, Frederiksen PH, Kistorp C, Videbaek L, Poulsen MK, et al. Effect of Empagliflozin on Hemodynamics in Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76 (23):2740-51.
91. Anker SD, Butler J, Filippatos G, Khan MS, Ferreira JP, Bocchi E, et al. Baseline Characteristics of Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in the EMPEROR-Preserved Trial. *Eur J Heart Fail*. 2020.
92. Kosiborod M, Cavender MA, Fu AZ, Wilding JP, Khunti K, Holl RW, et al. Lower Risk of Heart Failure and Death in Patients Initiated on Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors Versus Other Glucose-Lowering Drugs: The CVD-REAL Study (Comparative Effectiveness of Cardiovascular Outcomes in New Users of Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors). *Circulation*. 2017;136 (3):249-59.
93. Baartscheer A, Schumacher CA, Wust RC, Fiolet JW, Stienen GJ, Coronel R, et al. Empagliflozin decreases myocardial cytoplasmic Na (+) through inhibition of the cardiac Na (+)/H (+) exchanger in rats and rabbits. *Diabetologia*. 2017;60 (3):568-73.
94. Nakamura TY, Iwata Y, Arai Y, Komamura K, Wakabayashi S. Activation of Na⁺/H⁺ exchanger 1 is sufficient to generate Ca²⁺ signals that induce cardiac hypertrophy and heart failure. *Circ Res*. 2008;103 (8):891-9.

95. Lee TI, Chen YC, Lin YK, Chung CC, Lu YY, Kao YH, et al. Empagliflozin Attenuates Myocardial Sodium and Calcium Dysregulation and Reverses Cardiac Remodeling in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Int J Mol Sci.* 2019;20 (7).
96. Baris VO, Dincsoy B, Gedikli E, Erdemb A. Empagliflozin significantly attenuates sotalol-induced QTc prolongation in rats. *Kardiol Pol.* 2020.
97. Zhou Y, Wu W. The Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitor, Empagliflozin, Protects against Diabetic Cardiomyopathy by Inhibition of the Endoplasmic Reticulum Stress Pathway. *Cell Physiol Biochem.* 2017;41 (6):2503-12.
98. Zhou H, Wang S, Zhu P, Hu S, Chen Y, Ren J. Empagliflozin rescues diabetic myocardial microvascular injury via AMPK-mediated inhibition of mitochondrial fission. *Redox Biol.* 2018;15:335-46.
99. American Diabetes A. 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care.* 2020;43 (Suppl 1):S98-S110.
100. Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V, Bailey CJ, Ceriello A, Delgado V, et al. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur Heart J.* 2019.
101. Writing C, Maddox TM, Januzzi JL, Jr., Allen LA, Breathett K, Butler J, et al. 2021 Update to the 2017 ACC Expert Consensus Decision Pathway for Optimization of Heart Failure Treatment: Answers to 10 Pivotal Issues About Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: A Report of the American College of Cardiology Solution Set Oversight Committee. *J Am Coll Cardiol.* 2021;77 (6):772-810.
102. Kosecik M, Erel O, Sevinc E, Selek S. Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Int J Cardiol.* 2005;100 (1):61-4.
103. Chowdhury RA, Debney MT, Protti A, Handa BS, Patel KHK, Lyon AR, et al. Rotigaptide Infusion for the First 7 Days After Myocardial Infarction-Reperfusion Reduced Late Complexity of Myocardial Architecture of the

- Healing Border-Zone and Arrhythmia Inducibility. *J Am Heart Assoc.* 2021;10(9):e020006.
104. Russell LK, Mansfield CM, Lehman JJ, Kovacs A, Courtois M, Saffitz JE, et al. Cardiac-specific induction of the transcriptional coactivator peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha promotes mitochondrial biogenesis and reversible cardiomyopathy in a developmental stage-dependent manner. *Circ Res.* 2004;94(4):525-33.
 105. BARÇIN C, SAFALI M, KÖSE S, KURŞAKLIOĞLU H, ERİNÇ K, IŞIK E, et al. Follow-up of Corrected QT Interval in the Detection of Doxorubicin Cardiomyopathy: an Experimental Study. *Turk Kardiyol Dern Ars.* 2001;29(6):354-9.
 106. Chandran K, Aggarwal D, Migrino RQ, Joseph J, McAllister D, Konorev EA, et al. Doxorubicin inactivates myocardial cytochrome c oxidase in rats: cardioprotection by Mito-Q. *Biophys J.* 2009;96(4):1388-98.
 107. Ng KM, Lau YM, Dhandhanian V, Cai ZJ, Lee YK, Lai WH, et al. Empagliflozin Ameliorates High Glucose Induced-Cardiac Dysfunction in Human iPSC-Derived Cardiomyocytes. *Sci Rep.* 2018;8(1):14872.
 108. Jensen J, Omar M, Kistorp C, Poulsen MK, Tuxen C, Gustafsson I, et al. Twelve weeks of treatment with empagliflozin in patients with heart failure and reduced ejection fraction: A double-blinded, randomized, and placebo-controlled trial. *Am Heart J.* 2020;228:47-56.
 109. Ma Y, Kang W, Bao Y, Jiao F, Ma Y. Clinical significance of ischemia-modified albumin in the diagnosis of doxorubicin-induced myocardial injury in breast cancer patients. *PLoS One.* 2013;8(11):e79426.

8. EKLER

Ek-1: Bu tez çalışmasından türettiğimiz makalenin bilgileri

> [Cardiovasc Toxicol. 2021 Jun 5. doi: 10.1007/s12012-021-09665-y](#). Online ahead of print.

Empagliflozin Significantly Prevents the Doxorubicin-induced Acute Cardiotoxicity via Non-antioxidant Pathways

Veysel Özgür Barış^{1,2}, Adnan Berk Dinçsoy³, Esra Gedikli³, Selim Zırh⁴, Sevda Müftüoğlu⁴, Ayşen Erdem³

Affiliations + expand

PMID: 34089496 DOI: [10.1007/s12012-021-09665-y](#)

Abstract

Empagliflozin (EMPA) is a SGLT-2 inhibitor that has positive effects on cardiovascular outcomes. In this study, we aim to evaluate the possible protective effects of EMPA against doxorubicin (DOX)-induced acute cardiotoxicity. Non-diabetic Sprague-Dawley rats were randomized into four groups. The control group received serum physiologic (1 ml), the EMPA group received EMPA, the DOX group was administered cumulatively 18 mg/kg body weight DOX. The DOX+EMPA group was administered DOX and EMPA. In the DOX group, LVDED (P < 0.05) and LVSED (P < 0.01), QTc interval (P < 0.001), the ratio of karyolysis and karyorrhexis (P < 0.001) and infiltrative cell proliferation (P < 0.001) were found to be higher than; EF, FS and normal cell morphology were lower than the control group (P < 0.001). In the DOX+EMPA group, LVEDD (P < 0.05) and LVESD (P < 0.01) values, QTc interval (P < 0.001), karyolysis and karyorrhexis ratios (P < 0.001) and infiltrative cell proliferation were lower (P < 0.01); normal cell morphology and EF were higher compared to the DOX group (P < 0.001). Our results showed that empagliflozin significantly ameliorated DOX-induced acute cardiotoxicity.

Keywords: Cardiotoxicity; Doxorubicin; Empagliflozin; Heart failure.

Ek-2: Bu tez çalışmasından aldığımız ulusal ödül



The certificate is a rectangular document with a red border. At the top left, there is a logo for the Turkish Cardiology Society (TKD) and the text 'TÜRK KARDİYOLOJİ DERNEĞİ' and 'TKD2020 DİJİTAL'. At the top center, it reads '36. ULUSLARARASI KATILIMLI TÜRK KARDİYOLOJİ KONGRESİ' and '3 - 6 ARALIK 2020'. At the top right, there is a collage of medical images. The main text in the center reads: 'Dr. Veysel Özgür Barış', 'Empagliflozin; Significantly Attenuates Necrosis and Prevent Left Ventricle Systolic Functions in Doxorubicin Induced Cardiomyopathy Via Non-antioxidant Pathways: Echocardiographic, Histologic and Biochemical Findings', 'İsimli çalışmanız TKD2020DİJİTAL "36. Uluslararası Katılımlı Türk Kardiyoloji Kongresi"', 'En İyi Sözlü Bildiri Birincilik Ödülü'ne değer bulunmuştur.', and 'Kutlar, başarılarınızın devamını dileriz.'. At the bottom left, it says 'Prof. Dr. Cevat KIRMA Genel Sekreter' and at the bottom right, 'Prof. Dr. Mustafa Kemal EROL Başkan'.

TÜRK KARDİYOLOJİ DERNEĞİ
TKD2020 DİJİTAL

36. ULUSLARARASI KATILIMLI TÜRK KARDİYOLOJİ KONGRESİ
3 - 6 ARALIK 2020

Dr. Veysel Özgür Barış
Empagliflozin; Significantly Attenuates Necrosis and Prevent Left Ventricle Systolic Functions in Doxorubicin Induced Cardiomyopathy Via Non-antioxidant Pathways: Echocardiographic, Histologic and Biochemical Findings

İsimli çalışmanız TKD2020DİJİTAL "36. Uluslararası Katılımlı Türk Kardiyoloji Kongresi"
En İyi Sözlü Bildiri Birincilik Ödülü'ne değer bulunmuştur.
Kutlar, başarılarınızın devamını dileriz.

Prof. Dr. Cevat KIRMA
Genel Sekreter

Prof. Dr. Mustafa Kemal EROL
Başkan

Ek-2: Etik Kurul Beyanı

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 52338575 - 128

HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 11.11.2019 (PAZARTESİ)
TOPLANTI SAYISI	: 2019/12
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2019/44
KARAR NUMARASI	: 2019/12- 07
ONAY BİTİŞ TARİHİ	11.11.2024
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Prof. Dr. Ayşen ERDEM
HAYVAN DENEYLERİNDE	Prof. Dr. Ayşen ERDEM, Dr. Veysel Özgür BARIŞ,
GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR	: Arş. Gör. Esra GEDİKLİ,
DİĞER YARDIMCI	:
ARAŞTIRMACILAR	Prof. Dr. Sevda MÜFTÜOĞLU, Dr. Selim ZIRH
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve	
SAYISI	: 40 Adet Sprague Dawley Sıçan

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ayşen ERDEM'in araştırma yürütücüsü olduğu 2019/44 kayıt numaralı "**Empagliflozinin Sıçanlarda Doksorubisin İle Oluşturulan Kardiyomiyopati Üzerine Etkisi**" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Araştırma yürütücüsü en geç, onay bitiş tarihinden sonraki 1 ay içerisinde proje sonuç raporunu Kurulumuza teslim etmekle yükümlüdür.

Ek-3: Orjinallik Raporu

Veysel Özgür Barış Tez Benzerlik Raporu			
ORJİNALLİK RAPORU			
% 12	% 9	% 6	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
BİRİNCİL KAYNAKLAR			
1	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi		% 2
2	jag.journalagent.com İnternet Kaynağı		% 2
3	Veysel Özgür Barış, Adnan Berk Dinçsoy, Esra Gedikli, Selim Zırh, Sevda Müftüoğlu, Ayşen Erdem. "Empagliflozin Significantly Prevents the Doxorubicin-induced Acute Cardiotoxicity via Non-antioxidant Pathways", Cardiovascular Toxicology, 2021 Yayın		% 1
4	acikerisim.pau.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı		% 1
5	acikerisim.pau.edu.tr İnternet Kaynağı		<% 1
6	angora.baskent.edu.tr İnternet Kaynağı		<% 1
7	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı		<% 1

8	www.amboss.com İnternet Kaynağı	<% 1
9	www.ctf.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
10	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
11	www.ccjm.org İnternet Kaynağı	<% 1
12	www.tkd-online.org İnternet Kaynağı	<% 1
13	ebb.klu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
14	dspace.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
15	id.123dok.com İnternet Kaynağı	<% 1
16	sbk2019.org İnternet Kaynağı	<% 1
17	www.tfd.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
18	www.legeforeningen.no İnternet Kaynağı	<% 1
19	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015	<% 1

Yayın

- | | | |
|----|---|------|
| 20 | BOZÇALI, Evin, POLAT, Veli, KUTLU, Gönül, OPAN, Selçuk, PAKER, Nurcan, UYGUN, Turgut, ÖKÇÜN, Barış and KARAKAYA, Osman. "Serum CD40 ligand düzeyi ile tek başına ısrarcı atriyum fibrilasyonu ilişkisi", Türk Kardiyoloji Derneği, 2016.
Yayın | <% 1 |
| 21 | www.tandfonline.com
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 22 | www.karger.com
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 23 | ZENCİR, Cemil, ÇETİN, Mustafa, GÜNGÖR, Hasan, KARAMAN, Kayıhan, AKGÜLLÜ, Çağdaş, ERYILMAZ, Ufuk and AVCİL, Mücahit. "Koroner yavaş akım fenomeni saptanan hastalarda sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyonlarının değerlendirilmesi", Türk Kardiyoloji Derneği, 2013.
Yayın | <% 1 |
| 24 | www.scielo.edu.uy
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 25 | www.science.gov
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 26 | Nandkishor Kotagale, Sandip Rahangdale, Anjali Borkar, Kundan Singh et al. "Possible involvement of agmatine in | <% 1 |

neuropharmacological actions of metformin in diabetic mice", European Journal of Pharmacology, 2021

Yayın

- | | | |
|----|--|------|
| 27 | www.turkiyeklinikleri.com
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 28 | BAŞYİĞİT, Funda, TEMİZHAN, Ahmet, MALÇOK, Özgül, KAHRAMAN, Erkan, ÇAKAL, Erman, SELÇUK, Mehmet Timur and KORKMAZ, Şule. "Kronik kalp yetersizliği olan metabolik sendromlu hastalarda insülin direncinin sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyonu ve fonksiyonel kapasite ile ilişkisi", Türk Kardiyoloji Derneği, 2010.
Yayın | <% 1 |
| 29 | acikerisim.baskent.edu.tr
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 30 | acikerisim.dicle.edu.tr:8080
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 31 | acikerisim.istanbulbilim.edu.tr:8080
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 32 | tjtes.org
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 33 | trmedbook.com
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 34 | app.trdizin.gov.tr | |

	İnternet Kaynağı	<% 1
35	cardiab.biomedcentral.com İnternet Kaynağı	<% 1
36	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
37	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
38	dspace.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
39	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
40	vetkontrol.tarim.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
41	www.egitimkomisyonu.hacettepe.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
42	www.jns.dergisi.org İnternet Kaynağı	<% 1
43	ÜNSAL, Handan and EKİCİ, Enver. "Çocukluk Çağı Obezitesinin Sol Ventrikül Diyastolik Fonksiyonları Üzerine Etkisi", RNA, 2015. Yayın	<% 1
44	Dailey, George. "Empagliflozin for the treatment of type 2 diabetes mellitus: An overview of safety and efficacy based on	<% 1

Phase 3 trials : Empagliflozin Phase 3 trials",
Journal of Diabetes, 2015.

Yayın

45

doczz.net

İnternet Kaynağı

<% 1

46

"EUROANAESTHESIA 2006: Annual Meeting of
the European Society of Anaesthesiology,
Madrid, Spain, June 3-6, 2006", European
Journal of Anaesthesiology, 06/2006

Yayın

<% 1

47

Demircan, Senol. "THE PATIENTS
MANAGEMENT IN HEART FAILURE", TIPMED,
2012.

Yayın

<% 1

48

Systems Biology of Free Radicals and
Antioxidants, 2014.

Yayın

<% 1

Alıntılarını çıkart

Kapat

Eşleşmeleri çıkar

< 5 words

Bibliyografyayı Çıkart üzerinde

Ek-4: Dijital Makbuz

Digital Receipt

This receipt acknowledges that Turnitin received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author: **Veysel Özgür Barış**
Assignment title: **Veysel Özgür Barış Tez Benzerlik Raporu**
Submission title: **Veysel Özgür Barış Tez Benzerlik Raporu**
File name: **veysel_zg_r_bar_tez.pdf**
File size: **1.59M**
Page count: **79**
Word count: **14,325**
Character count: **90,700**
Submission date: **12-Jul-2021 10:00AM (UTC+0300)**
Submission ID: **1618601950**

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EMPAGLİFLOZİNİN SİCANLARDA DOKSORUBİSİN İLE
OLUŞTURULAN KARBİYOMİYOPATI
EZERİNE ETKİSİ

Dr. Veysel Özgür BARİŞ

Fizyoloji Programı
DOKTORA TEZİ

ANKARA 2021

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Uz. Dr. Veysel Özgür Barış