



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SIÇAN KALP NAKLİ MODELİNDE KARDİYOPLEJİ
SIVILARININ VERİCİ KALBI ÜZERİNE ETKİLERİ**

Gülsüm KARDUZ

Biyoloji Anabilim Dalı

Zooloji Programı

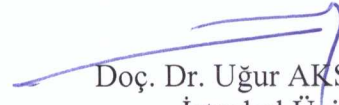
**DANIŞMAN
Doç. Dr. Uğur AKSU**

Aralık, 2018

İSTANBUL

Bu çalışma, 26.12.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Doç. Dr. Uğur AKSU (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Fevzi TORAMAN
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi
Tıp Fakültesi



Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Rıfkı TOPÇUL
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2018-27622 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Tez çalışmamda, sıçan kalp nakli modelinde kardiyopleji sıvılarının verici organ üzerindeki etkilerini değerlendirdik.

Eğitim sürecim boyunca bilgi ve tecrübesini hiç esirgemeyen, her zaman fikirlerimize önem veren, bilimsel anlamda bize gerçek soruları sormayı öğretene ve değerli cevaplar aramaya teşvik eden saygıdeğer hocam *Doç. Dr. Uğur AKSU*'ya her koşulda ve her zaman destek olduğu için en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez araştırmam için hiç düşünmeden destek olduğu ve bize her zaman yol gösterdiği için kıymetli hocam *Prof. Dr. Fevzi TORAMAN*'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmamıza ve fikirlerimize önem vererek değerli tecrübesini esirgemeyen ve elindeki imkanları bizimle paylaştığı için kıymetli hocam *Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN*'e en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmam için olanaklarını bizimle paylaşan değerli hocam *Doç. Dr. Ertekin Utku Ünal*'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Deneysel süreçte tecrübelerini benimle paylaşarak yardımcı olan değerli hocalarım *Öğr. Gör. Dr. Onur YAMAN* ve *Uzm. Dr. Mehmet ALTAN*'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmalarım sırasında yanımda olarak bana yardımcı olan, *MSc. Kübra VARDAR*, *Bio.Utku ÇAKIR* ve *Araş. Kader İNCE*'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Deneylemin zor anlarında bana destek olarak ellerinden gelenin fazlasını yapmak için benimle çalışan dostlarım *Bio. Sinan Musa YILMAZ*, *Bio. Pınar İdil BOSTANCI* ve *Kim. Emre ORDU*'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Yaşamım boyunca enerjisini, bana olan desteğini hep arkamda hissettiğim sevgili ablam *Yurdağül KARDUZ*'a, bu zamanlara gelmem için bana hep güvenen ve inanan sevgili babam *Celal KARDUZ*'a ve en kıymetlim her zaman, her zor anımda bana umut olan inancını hiç kaybetmeyen sevgili annem *Kevser KARDUZ*'a hayatımda oldukları için teşekkür ederim.

Aralık 2018

Gülsüm KARDUZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	x
ÖZET	xii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. KALP KASININ FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ	3
2.2. KALP NAKLİ VE KARDİYOPLEJİK SIVILAR.....	8
2.3. OKSİDATİF STRES VE İNFLAMASYON	14
2.4. MİYOKART DOKUSUNUN YENİDEN MODELLENMESİ.....	17
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	21
3.1. DENEY HAYVANLARININ GENEL ÖZELLİKLERİ.....	21
3.2. CERRAHİ PROTOKOL	21
3.2.1. Gruplar.....	21
3.3.MİYOKART KONTRAKTİLİTESİ ÖLÇÜMLERİ	22
3.4.HOMOJENİZASYON	24
3.5.BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER.....	24
3.5.1. Manuel Yöntem İle Yapılan Ölçümler	24
3.5.1.1. Sialik Asit Tayini	24
3.5.1.2. Protein Tayini.....	24
3.5.2. ELISA Yöntemi İle Yapılan Ölçümler	25
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	25
4. BULGULAR.....	26
4.1. ORGAN BANYOSU DENEY BULGULARI.....	26
4.2. BİYOKİMYA DENEY BULGULARI	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	33

KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ	46



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Kalp kasındaki filamentler ve kasılma (Katz, 2001).	4
Şekil 2.2: Ventrikül aksiyon potansiyeli (Shah ve diğ., 2009)	5
Şekil 2.3: Miyokartta aksiyon potansiyelinin oluşumunda Ca^{++} etkisi (Dudley S.)	6
Şekil 2.4: Adanilat siklaz sinyal yolu.....	7
Şekil 2.5: Nakil için standart soğuk kalp depolaması	9
Şekil 2.6: Nakilde verici organın korunması için kullanılan perfüzyon sistemi (Ardehali ve diğ., 2015).....	10
Şekil 2.7: I/R hasarında oluşan oksidatif stres ve hasara karşı antioksidanların kalbi koruyucu etkisi (Valko ve diğ., 2007).....	14
Şekil 2.8: Miyokart kalsiyum salınımı ve reaktif oksijen türleri oluşumu (Demir, bölüm 9).....	16
Şekil 2.9: Ekstraselüler matriks bileşenleri	18
Şekil 3.1: Cerrahi protokol süreci	22
Şekil 3.2: Organ banyosu deney düzeneği	23
Şekil 3.3: Kuvvet transdüsörüne bağlanan doku	23
Şekil 4.1: Doku banyosu deneylerinde 3 μ M izoproterenol uygulaması ile oluşan miyokart kasılma sinyaline örnek.....	26
Şekil 4.2: İzoproterenolün (ISO; 3 μ M) neden olduğu spontan ventriküler hızındaki artış (A) ve kasılma kuvveti üzerine etkileri (B) (* $p<0,05$; CD grubuna göre).....	26
Şekil 4.3: Doku banyosu deneylerinde 30 μ M noradrenalin uygulaması ile oluşan miyokart kasılma sinyaline örnek.....	28
Şekil 4.4: Noradrenalinin (NA; 30 μ M) neden olduğu spontan ventriküler hızdaki artış ve kasılma kuvveti üzerine etkileri (* $p<0,05$; CD grubuna göre).....	28
Şekil 4.5: Sağ ventrikül dokusunda MMP-9 (A) ve TNF- α düzeyleri (** $p<0,01$ ve * $p<0,05$; CD grubuna göre).	29
Şekil 4.6: Sağ ventrikül dokusunda ATP düzeyleri (** $p<0,001$; CD grubuna göre).	30

Şekil 4.7: Dört saatlik inkübasyon sonrası (T1) kalp dokularının inkübe edildiği sıvı örneklerindeki TNF- α (A) ve Troponin-I (B) düzeyleri (**p<0,001 ve *p<0,05; T1-CD grubuna göre)	31
Şekil 4.8: Sağ ventrikül dokusunda sialik asit (SA) düzeyleri (p > 0,05; tüm gruplar arasında)	31
Şekil 4.9: Custodiol kardiyoplejisinde inkübe edilen kalplerin sağ ventrikül dokusundaki TNF- α ve MMP-9 değerleri ile ATP arasındaki ilişki.	32
Şekil 4.10: Custodiol kardiyoplejisinde inkübe edilen kalplerin sağ ventrikül dokusundaki TNF- α ve MMP-9 değerleri arasındaki ilişki.....	32



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Kardiyopleji solusyon içerikleri	12
Tablo 4.1: Izoproterenol (3 μ M) uygulaması ile yapılan organ banyosu deneyi ile ilgili ventriküler atım düzeyleri (* $p<0,05$; CD grubuna göre).....	27
Tablo 4.2: Izoproterenol (3 μ M) uygulaması ile yapılan organ banyosu deneyi ile ilgili kasılma kuvvetin düzeyleri ($p>0,05$; tüm gruplar karşılaştırıldığında).	27
Tablo 4.3: Noradrenalin (30 μ M) uygulaması ile yapılan organ banyosu deneyi ile ilgili ventriküler atım düzeyleri (* $p<0,05$; CD grubuna göre).....	28
Tablo 4.4: Noradrenalinin (NA; 30 μ M) neden olduğu spontan ventriküler hızdaki artış ve kasılma kuvveti üzerine etkileri (* $p<0,05$; CD grubuna göre).....	29

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
Na^+	: Sodyum iyonu
Ca^{++}	: Kalsiyum iyonu
K^+	: Potasyum iyonu
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
OH^-	: Hidroksil iyonu
ONOO^-	: Peroksinitrit
HCl	: Hidrojen klorür
NaCl	: Sodyum klorür
KCl	: Potasyum klorür
CaCl_2	: Kalsiyum klorür
MgSO_4	: Magnezyum sülfat
KH_2PO_4	: Potasyum fosfat
NaHCO_3	: Sodyum bikarbonat
g	: Gram
mg	: Miligram
pg	: pikogram
M	: Molar
mmol / mM	: Milimolar
$\mu\text{mol} / \mu\text{M}$	: Mikromolar
L	: Litre
dk	: Dakika

Kısaltmalar	Açıklama
CD	: Custodiol kardiyopleji sıvısı
ST	: St. Thomas kardiyopleji sıvısı
DN	: del Nido kardiyopleji sıvısı
TNF- α	: Tümör nekrozis alfa
SA	: Sialik asit
MMP-9	: Matriks metalloproteinaz-9

ATP	: Adenozin trifosfat
T0	: İnkübasyon sıvısının ilk zaman noktası
T1	: İnkübasyon sıvısının son zaman noktası
I/R	: İskemi / reperfüzyon
ROS	: Reaktif oksijen türevleri
CAT	: Katalaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
GSH-PX	: Glutasyon peroksidaz
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
IP3	: İnositol-3-fosfat
DAG	: Diaçil gliserol
PKC	: Protein kinaz C
PKA	: Protein kinaz A
PLC	: Fosfolipaz C
PIP2	: İnositol 4,5 bifosfat
ESM	: Ekstraselüler-hücre dışı matriks
IVC	: İnförior vena kava

ÖZET

SIÇAN KALP NAKLİ MODELİNDE KARDİYOPELJİ SIVILARININ VERİCİ KALBI ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülsüm KARDUZ

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Uğur AKSU

Çalışmamızda sıçan kalp nakli modelinde farklı kardiyopleji sıvılarının uzamış iskemi döneminde verici kalbine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, Wistar albino erkek sıçanlara anestezi altında Custodiol, St. Thomas ve del Nido kardiyopleji sıvıları kalp arrest olana kadar uygulanmıştır. İzole edilen kalpler 4 saat soğuk iskemide (4°C) bekletilmiş ve daha sonra sağ ventrikul duvarından elde edilen şeritlerden organ banyosunda izoproteronol-noradrenalin bağlı kasılmalar değerlendirilmiştir. Ayrıca, sağ ventrikül dokusundan ATP, TNF- α , troponin-I ve sialik asit düzeyleri ile MMP-9 aktivitesi ölçülmüştür. Custodiol uygulaması diğer sıvılara göre miyokart kasılmasını ($p<0,05$, iki grupta da karşılaştırıldığında) ve ATP düzeyini ($p<0,001$, iki grupta da karşılaştırıldığında) azaltmış, TNF- α düzeyini ($p<0,05$, iki grupta da karşılaştırıldığında) ve MMP-9 aktivitesini ($p<0,05$, St. Thomas ile ; $p<0,01$, del Nido ile karşılaştırıldığında) artırmıştır. Ek olarak, 4. saatin sonunda inkübasyon sıvısında troponin-I düzeyleri Custodiol grubunda artmıştır ($p<0,05$, iki grupta da karşılaştırıldığında). Bununla birlikte, Custodiol uygulamasında TNF- α düzeyi, MMP-9 aktivitesi ile pozitif ($r=0,93$, $P=0,007$), ATP ile negatif ($r=-0,91$, $P=0,01$) ilişki göstermiştir. Ayrıca MMP-9 aktivitesi ile ATP düzeyi de negatif ($r=-0,9$, $P=0,01$) ilişki göstermiştir. Sonuç olarak; Custodiol kardiyoplejisi kalp dokusunda fonksiyonel ve hücresel hasarı engelleyememektedir. Bu açıdan hücre dışı hedefli kardiyopleji sıvıları hücresel ve fonksiyonel açıdan daha avantajlı

olabilir. Kardiyopleji sıvılarının doku koruyucu etkisini değerlendirmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Aralık 2018, 62 sayfa.

Anahtar kelimeler: verici kalbi, kardiyopleji, iskemi, oksidatif stres, miyokart kasılması



SUMMARY

EFFECTS OF CARDIOPLEGIC SOLUTIONS ON DONOR HEART IN RAT HEART TRANSPLANTATION MODEL

M.Sc. THESIS

Gülsüm KARDUZ

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Uğur AKSU

In our study, the effects of different cardioplegia fluids on the donor heart during the extended ischemia period were investigated in rat heart transplantation model. For this purpose, under anesthesia, cardioplegia fluids of Custodiol, St. Thomas and del Nido were administered to male Wistar albino rats until cardiac arrest. Isolated hearts were incubated in cold ischemia (+4 °C) throughout 4 hours and then organ bath experiments were performed isoproterenol-noradrenaline-induced contractions in strips from the right ventricular free wall of the heart tissue. Also, ATP, TNF- α , troponin-I and sialic acid levels and MMP-9 activity were measured in right ventricular tissue. Custodiol application reduced myocardial contraction ($p<0,05$, compared with both groups) and decreased ATP levels ($p<0,001$, compared with both groups) compared to other fluids, increased TNF- α levels ($p<0,05$, compared with both groups) and MMP-9 activity ($p<0,05$, with compared to St. Thomas; $p<0,01$, with compared to del Nido). Additionally, troponin-I levels ($p<0,05$, compared with both groups) were significantly increased in the Custodiol group at time T1 of the incubation fluid compared to the other groups. However, TNF- α levels were positive ($r=0,93$, $P=0,007$) with MMP-9 activity and negatively ($r=-0,91$, $P=0,01$) correlated with ATP levels. Also MMP-9 activity were negatively ($r=-0,9$, $P=0,01$) correlated with ATP levels. Consequently, Custodiol

cardioplegia can not prevent functional and cellular damage in heart tissue. In this respect, extracellularly cardioplegia fluids may be more advantageous as cellular and functional. Further studies are needed to evaluate the tissue-protective effect of cardioplegia fluids.

December 2018, 62 pages.

Keywords: donor heart, cardioplegia, oxidative stress, myocardial contraction



1. GİRİŞ

Kalp nakli, ileri düzey kalp hastalıkları için kullanılan bir tedavi yöntemidir. Kalp cerrahisinde ve kalp naklinde, miyokart hasarına bağlı kalbin kasılmasındaki fonksiyon bozukluğu sağ kalımı etkileyen önemli bir etkindir. Etkili bir miyokart koruması sağlanmadığı durumlarda, iskemi sırasında, miyositlerin ve vasküler endotel hücrelerinin hasara uğraması sonucu kalpte fonksiyon kaybı gelişir. Bu istenmeyen etki, iskemi süresinin artmasıyla daha belirgin hale gelmektedir (Renner ve diğ., 2004). Kalp nakli karmaşık bir cerrahi süreç gerektirir. Nakil sürecinde verici olan organın korunması ve nakline kadar geçen sürenin en düşük seviyede tutulması önemlidir. Hipotermi bu sürecin en az zararlı geçirilmesi için gerekli olan etkili bir süreçtir. Kardiyoplejik sıvılar doku için uygun ortam sağlayarak uzun süreli iskemi/reperfüzyon hasarına karşı organı dayanıklı hale getirmektedir (Caus ve diğ., 2001).

Günümüzde, iskemik hasarın en aza indirilmesi amaçlanarak geliştirilen kardiyopleji sıvıları ile hasar kısmen giderilmiş olsa da, kalp nakli gibi iskemik sürenin uzadığı durumlarda verici kalbi için miyokart hasarı korunmaya rağmen kısmen oluşmaktadır (Şahin ve diğ., 2011). Kardiyopleji sıvıları kalp kasında diyastolik arrest oluşturur. Bu durum reperfüzyon sonrası hasara karşı güvenli bir koruma sağlar. Ayrıca bu sıvılar kalbin miyokartın enerji talebini de karşılar; böylece anabolik metabolizma yavaşlar ve kalp iskemik dönemde korunmuş olur. Ancak hipotermi organ hasarını engellemek veya en aza indirmek için yeterli değildir (Kamoda ve diğ., 2007). Kardiyoplejik sıvıları organı soğuk iskemi döneminde korumak için geliştirilen sıvılardır. Çeşitli tiplerde üretilen bu sıvılar transmembran iyon dengesini sağlayarak membran depolarizasyonunu korumak ve hasarı en düşük seviyede tutmak için uygulanırlar. Kimyasalların reaksiyon hızının değişen sıcaklıkla ilişkili olması, hipoterminin kalp ve diğer organlar için koruyucu olmasını sağlar. Enzim aktiviteleri yavaşlayacağı için besin elde etme süreci uzayacaktır. Organların metabolik ihtiyaçları azalacak ve perfüzyonun düşük olduğu durumlarda organ hasarı da azalacaktır (Jahania ve diğ., 1999). Hipotermi hücre koruyucu olmasına rağmen iske miyle birlikte bazı hücre sel hasar süreçleri kaçınılmazdır. Hipotermiden dolayı oksidatif fosforilasyon zayıfladığı için hücre içi enerji düzeyleri azalır. Azalan ATP düzeyi organı hasara uğr atır. Bu durum hücrede antioksidan enzim seviyelerinin azalmasına neden olur. Ayrıca endotel hasarı ve kalsiyum konsantrasyonunda değişimler

oluşturur (Minasian ve diğ., 2015). İskemi ile birlikte artan oksidatif stres lipid peroksidasyonuna ve inflamatuvar ajanların aktivasyonuna neden olur. Özellikle radikal aracılı hasarın inflamasyonu başlattığı ve bağ doku unsurlarını uyararak dokuda yapısal değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (Kumar ve diğ., 2016). Hücresel hasar mekanizmalarının aktif olmasıyla hücre dışı matrikste bulunan enzimlerden matriks metalloproteazlar matriks bileşenlerini parçalayabilirler (Bae ve diğ., 2016). Nakil edilecek doku için bu süreçleri değerlendirmek önemlidir. Ayrıca, kardiyoplejik sıvılar hiperpotasemiye bağlı olarak membran potansiyelini depolarize ederek de etki gösterirler. Hasar süreçlerinden en az seviyede etkilenmesi için miyokartı, hiperkalemik kardiyopleji sıvısı ile oluşturulan elektromekanik arrest ve hipotermi ile sağlanan bazal metabolik hızın azaltılmasıyla korumak amaçlanır (Marten ve diğ., 1999).

Kullanılan kardiyoplejik sıvıların uygulama yolları ve içerikleri hakkında değişik görüşler vardır. Geliştirilen kardiyoplejik sıvılar doku hasarına karşı organı korumayı amaçlamaktadır. Buna rağmen kardiyoplejik sıvıların yetersizliği, hücre içi ve hücre dışı bölgede gösterilmiştir (Guibert ve diğ., 2011). Kardiyoplejilerin çok çeşitli olması ve etki mekanizmaları tam bilinmediğinden dolayı sıvıların hücre hasar süreçlerine etkisi karşılaştırılmamıştır. Custodiol, St. Thomas ve del Nido kardiyoplejileri farklı iyon içeriklerine sahip ve klinikte çok sık kullanılan sıvılardır. Ancak bu sıvıların etkileri tam olarak bilinmediğinden verici organın korunması için yeterli oldukları kesin olarak değerlendirilmemiştir.

Custodiol, St. Thomas ve del Nido kardiyoplejileri sıvılarının verici kalbi için karşılaştırmasını yapacağımız çalışmamızda, en etkili ve kullanımı en uygun olan sıvıyı belirlemek ve hücre düzeyinde koruyucu etkilerini karşılaştırmayı amaçladık. Sıvıların inflamasyon, oksidatif stres, miyokardiyal yeniden modellenmesi üzerine etkilerini değerlendirmeyi hedefledik. Ayrıca miyokart fonksiyonlarına etkilerini de belirlediğimiz çalışmamız, kullanılan sıvılar arasında bu süreçlerin değerlendirildiği ilk çalışma olmaktadır. Çalışmamızda tüm bu süreçleri nasıl belirlediğimiz ve nasıl değerlendirdiğimiz anlatılacaktır.

2. GENEL KISIMLAR

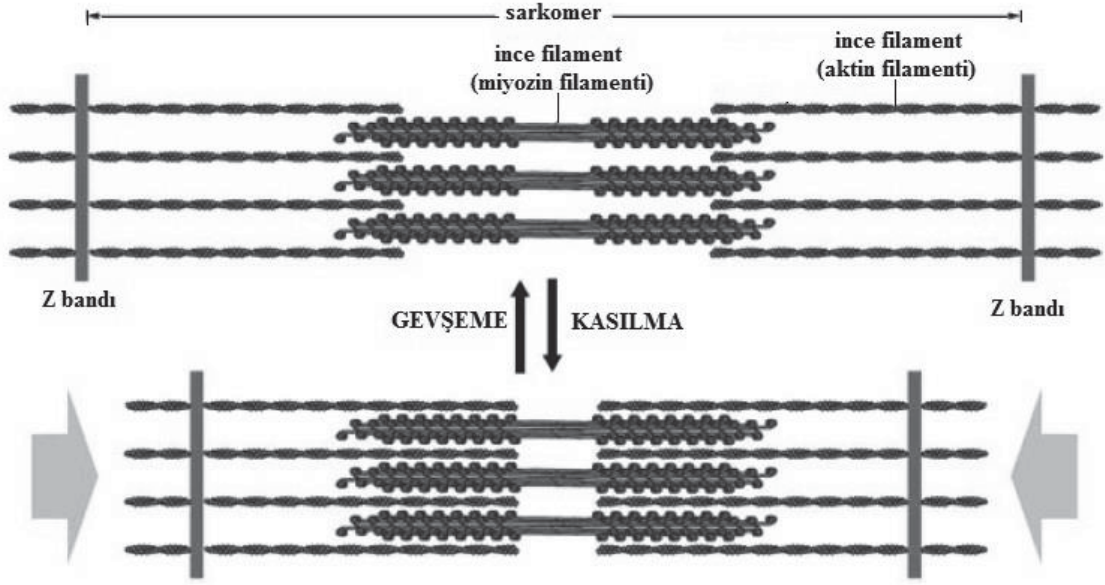
2.1. KALP KASININ FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Kalp, kanın hareketi için itici kuvvet oluşturan bir pompadır. Böylece canlılığın sürdürülebilmesi için kanın taşıma görevine destek sağlamış olur. Kalpte normal ritmik uyarıları ortaya çıkaran sistem sinüs düğümü veya sinoatriyal (SA) düğüm olarak isimlendirilir. SA düğüm lifleri doğrudan atriyum liflerine bağlanarak aksiyon potansiyelinin hemen atriyum kasına yayılmasına neden olur. Aksiyon potansiyelleri ise atriyumun kas kütesinin tümüne ve sonrasında atriyoventriküler (AV) düğümüne yayılırlar. AV düğümünden pürkinje liflerine ulaşan uyarı hızlı bir şekilde ventriküllerin pürkinje sistemine gelir. Buradan da ventrikül kas lifleri boyunca iletilir (Shah ve diğ., 2009). Bu iletimin gerçekleşmesi, hücre içi kalsiyum konsantrasyonundaki artıştan etkilenir ve bunun sonucunda hücre depolarize olur. Her hücre komşu hücrelerine temas ettiği bölgelerde düşük dirençli olduğu için depolarizasyon dalgası tüm kalp boyunca yayılır ve kasılma dalgasına yol açar. Bu olaylar sırasıyla şu şekilde gerçekleşir;

1. Depolarizasyon ve kalp kasılması, sağ atriyumdaki sino-atriyal düğümde bulunan pace-maker hücrelerini uyarır.
2. Bu hücreler ritmik bir depolarizasyon oluşturmaları ve daha sonra atriyo-ventriküler düğümünden atriya yayılırlar.
3. Atriyum kasılır ve kan ventriküllere pompalanır.
4. Elektrik iletimi, ventrikül tabanında bulunan his demetlerine geçer.
5. Bu durum, ventriküllerin kasılarak kanı yukarı doğru pulmoner artere (sağda) ve aortaya (solda) pompalanır.
6. Atriyum daha sonra miyokartın gevşemesiyle yeniden dolar.

Kalbin yapısını oluşturan miyokart (kalp kası), elektriksel uyarılardan etkilenen özel hücreler topluluğundan oluşmuş bir kas tipidir (Katz, 2001). Miyokartta; atriyum kası, ventrikül kası ve özelleşmiş uyarıcı ve iletici kas lifleri olmak üzere 3 tip kas grubu vardır. Kas miyofibrilleri aktin ve miyozin filamentleri içerirler. Filamentler iç içe geçmiştir ve kasılma

sırasında birbirleri üzerinde hareket ederler. Tek tip lif içeren kalpte yavaş kasılan lifler bulunur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Kalp kasındaki filamentler ve kasılma (Katz, 2001).

Ayrıca kalp, dokusunda bulunan pace-maker sistemi sayesinde kendi kendisine impuls oluşturur ve bu impuls tüm kalp hücrelerine yayılır. Bu nedenle sinirsel bir bağlantı olmasa bile kalp uyarılara yanıt olarak otonom kasılabilir.

Miyokarta gelen uyarı sonucu kalp kasılır ve aksiyon potansiyeli meydana gelir. Kalpteki aksiyon potansiyelinin oluşmasında kalsiyum (Ca^{++}) iyonu etkili rol oynar. Bu işlem kalpte dört fazda gerçekleşir (Bers, 2002)

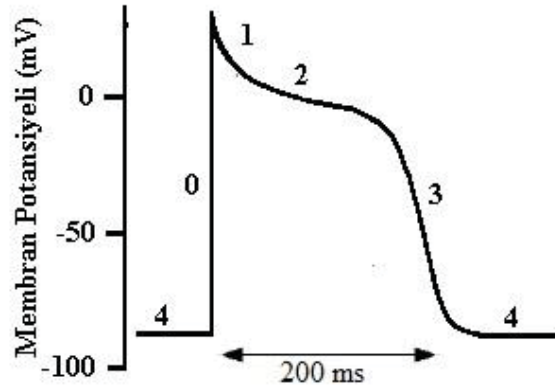
Faz 0: (Depolarizasyon fazı): Miyokartta depolarizasyon başladığında hücre zarında sodyum (Na^+) iyon geçirgenliği ani olarak yükselir. Hücre içi potansiyel +20 milivolta kadar ulaşır.

Faz 1: (Erken repolarizasyon fazı): Na^+ kanalları inaktive olur ve potasyum (K^+) geçirgenliği geçici olarak artar. Bunun sonucunda K^+ iyonları hücre dışına yavaşça çıkar.

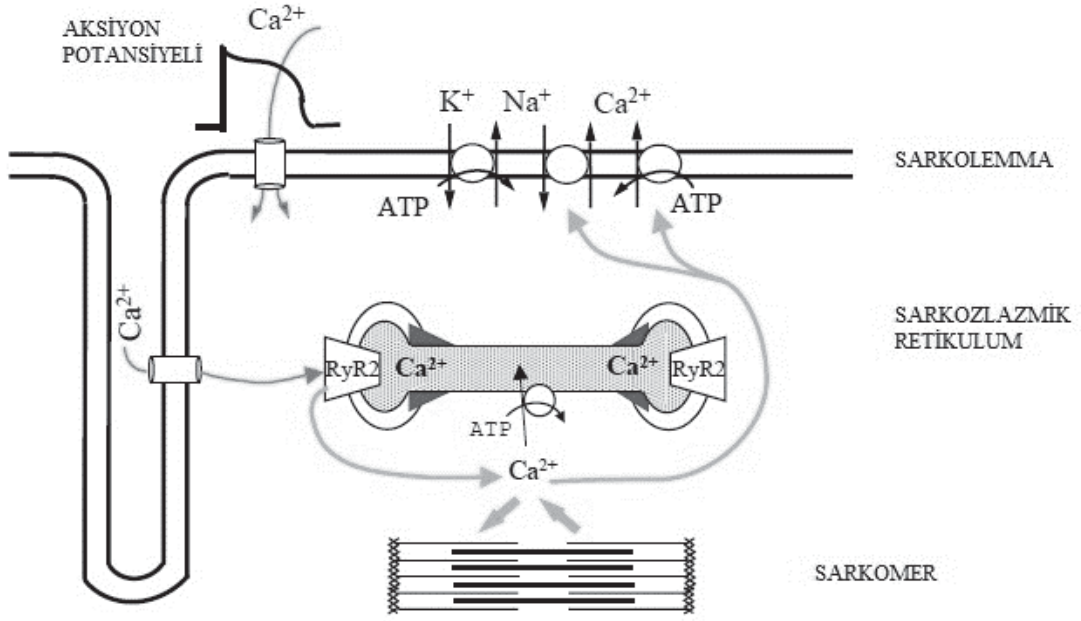
Faz 2: (Plato fazı): İyon değişiminden dolayı Ca^{++} kanalları açılır. Böylece Ca^{++} hücre içine girer. Aksiyon potansiyelinin en uzun süren fazı olan plato fazında Ca^{++} hücre içine yavaş yavaş girer. K^+ hücre dışına akışı devam eder.

Faz 3: (Geç repolarizasyon): Dinlenme potansiyeline dönüş fazıdır. Potasyum kanallarının açılmasıyla K^+ hücreden akışı hızlanır ve hücre içi alanda Na^+ birikir.

Faz 4: (Dinlenme fazı-diyastolik depolarizasyon): Dinlenme durumuna geçen kalpte aksiyon potansiyeli kaybolur (Şekil 2.2). Aksiyon potansiyeli kalp kası boyunca ilerler ve T tübüllerindeki aksiyon potansiyelleri Ca^{++} iyonlarının sarkoplazmik retikulumdan hücre sitoplazmasına geçişini sağlar. Katalizör gibi miyofibrillerin içine difüze olan Ca^{++} aktin ve miyozin kompleksine etki ederek kas kasılmasına neden olur. Bu sırada T tübüllerinden de sarkoplazmaya kalsiyum difüzyonu artar. Artan kalsiyum difüzyonu sayesinde kalp kasının güçlü kasılması gerçekleşmektedir. Aksiyon potansiyelindeki platonun sonunda kalsiyumun kas lifi içine akışı durur ve kalsiyum iyonları hızla ryanodin reseptörü aracılığıyla sarkoplazmik retikuluma ve T tübüllerine geri pompalanır. Böylece yeni bir uyarıya kadar kasılma durur (Şekil 2.3).



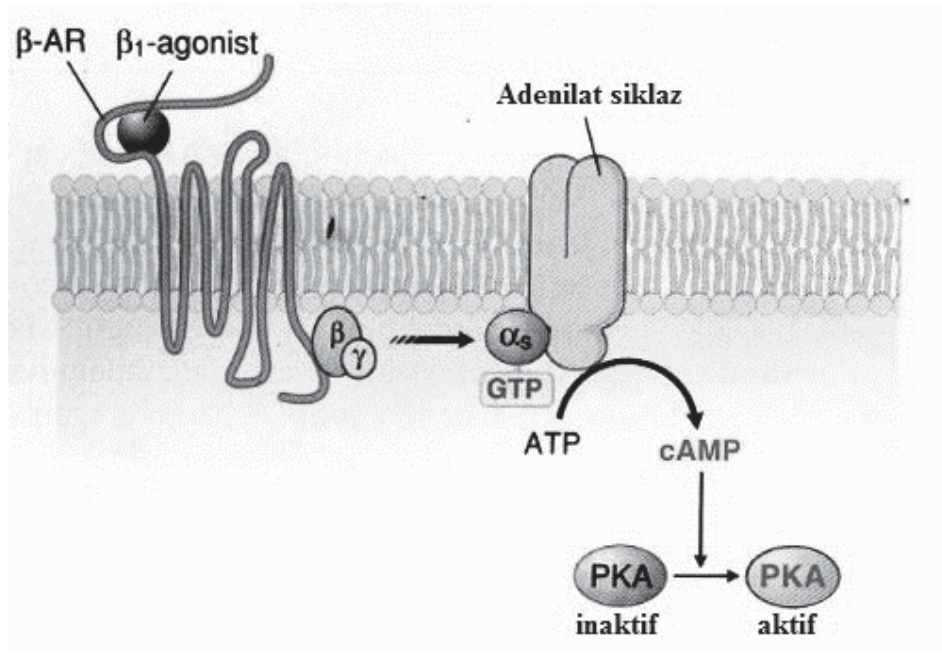
Şekil 2.2: Ventrikül aksiyon potansiyeli (Shah ve diğ., 2009).



Şekil 2.3: Miyokartta aksiyon potansiyelinin oluşumunda Ca^{++} etkisi (Dudley S.).

Miyokart dokusu birden fazla reseptör sistemi tarafından uyarılır. Bununla birlikte, sağlıklı kalpte miyokart fonksiyonunu etkilemek için esas olarak sempatik sinir sistemi tarafından kullanılan reseptör; beta-1 (β -1) adrenerjik reseptör, vasküler ve diğer bölgelerdeki düz kaslarda ise beta-2 (β -2) adrenerjik reseptördür (Xiao, 1999). Miyokart β -1 adrenerjik reseptör aktivasyon mekanizması sırasında (Şekil 2.4);

1. Agonist miyokarttaki β -1 adrenerjik reseptöre bağlanır. Bu reseptör, tipik bir G-proteinine bağlı reseptördür.
2. Uyarılmamış halde G-proteini, guanozindifosfat (GDP) ile kompleks haline getirilir.
3. G proteini / guanozintrifosfat (GTP) kompleksi, adenilat siklazı aktive eder.
4. Bu aktivasyon hücre içi siklik adenosinmonofosfat (cAMP) ve cAMP bağımlı protein kinazı (PKA) aktive eder.
5. PKA, Ca^{++} akışını teşvik eden Ca^{++} kanalını fosforile eder.
6. Hücre içi Ca^{++} , kasılma proteinlerini aktive eder.
7. Hücre içi Ca^{++} artışına neden olan sarkoplazmik retikulum, PKA fosforilasyonuna neden olur.
8. PKA, kalsiyum etkisiyle troponini fosforile eder. Böylece miyokart kasılır.



Şekil 2.4: Adenilat siklaz sinyal yolu (PHA 622).

β -1 adrenerjik reseptörün aktivasyonu, kasılma kuvvetinde ve kalp hızında artışlara yol açar. Artmış miyokart kasılması, özellikle ventrikül ile ilişkili β adrenerjik reseptörlerinin aktivasyonunun bir sonucudur (Madamanchi, 2007). Kasılma oranındaki artışlar ise SA ve AV düğümler ile ilişkili reseptörlerin aktivasyonuna bağlıdır. SA ve AV düğümlerde öncelikli etki gösteren iyon kanalları kalsiyum kanallarıdır. His demetlerinde ve ventriküler miyokarta ise elektrik akımı sodyum kanalları ile taşınır. β reseptörünün aktivasyonu, her iki kanal türünde de iyon hareketlerini artırarak, kalp hızında artışa neden olur. Reseptör aktivasyonu ile oluşan elektrofizyolojik faktörler kalbin etkin kasılma aktivitesini sağlayan düzenli ve ritmik elektriksel aktiviteye katkıda bulunur (Bers, 2002).

Miyokartta β -adrenerjik reseptörlerin katekolaminerjik aktivasyonu sonucu, vuruş hacmi ve kalp hızı yükselir. Bu durum kalp debisinde bir artışla sonuçlanır. β -adrenerjik reseptörler aracılığıyla etki eden katekolaminler, insan kalbinde hem pozitif inotropik hem de kronotropik etkiler üretir. Sempatik sinir aktivitesi, noradrenalin salınımı yoluyla kalp kasılmasını artırır. Bu durum adrenoseptörleri uyarır ve sonuç olarak uyarıcı G protein / adenil siklaz yolundan cAMP üretimi artar (Galindo-Tovar ve diğ., 2018) (Şekil 2.4).

İzoproterenol güçlü sentetik β -adrenerjik bir agonisttir. Güçlü sistemik vasküler dengede kronotropik ve inotropik özelliklere sahiptir. β -adrenerjik reseptörler üzerinden hem kalp hacmini hem de kalp atış hızını artırarak normal kalbin kasılma fonksiyonunu arttırabilir. İzoproterenolün miyokart kasılmasını arttırdığı ve kalbin hem sistol sonu hem de diyastol sonu hacimlerini azalttığı bilinmektedir (Dorn,2002).

Kalpdeki adrenerjik sinyal sempatik postganglionik adrenerjik sinirlerden lokal olarak salgılanan endojenik noradrenalin tarafından da düzenlenir. Adrenerjik reseptörleri aktive eder ve adenil siklaz / PKA sinyal yollarının uyarılmasına neden olur. Güçlü bir β -adrenerjik reseptör agonisti olan noradrenalin doğrudan inotropik özelliklere sahip damar kastırıcı bir ajandır. Noradrenalin esas olarak sistolik, diyastolik, nabız basıncını arttırır ve kalp debisi üzerinde zayıf bir etkiye sahiptir. Ayrıca bu ajanın, kalp atış hızının uyarılmasının istenmediği durumlarda zayıf kronotropik etkileri de vardır. Uzun süreli noradrenalin uygulaması, PKA aktivasyonu ve artan sitozolik Ca^{++} akışı yoluyla apoptozu indükleyerek kalp kası hücreleri üzerinde doğrudan toksik etki gösterebilir (Overgaard ve Dzavik, 2008).

2.2. KALP NAKLİ VE KARDİYOPEJİK SIVILAR

Kalp dokusundaki hasar ve beraberinde gelişen kalp yetmezliği mortalite ve morbiditesi yüksek olan patolojik bir durumdur. Kalp nakli, kalp yetmezliğinde sağ kalımı olumlu etkileyen ve tedavi süreciyle birlikte yaşam kalitesini arttıran önemli bir tedavi yöntemidir. Kalp naklinde verici kalbini en iyi şekilde korumak hastalığın patolojisini etkili bir şekilde azaltmaktadır. Etkili koruma yöntemleri akut sağ kalımı arttırmaktadır (Beyersdorf, 2004). Nakil sürecinde verici organın hazırlanma süresi uzun ve karmaşıktır. Doku tiplmesi yapmak, alıcı için hazırlık yapmak ve vericinin en uygun şekilde nakil sürecine hazırlanması ortalama en az 8 saat gerektirir. Bu sebeple verici kalbin saklanma süresinin en hasarsız şekilde uzatılabilmesi nakil merkezi için tedarik alanını da genişletecektir (Yağdı ve diğ., 2004).

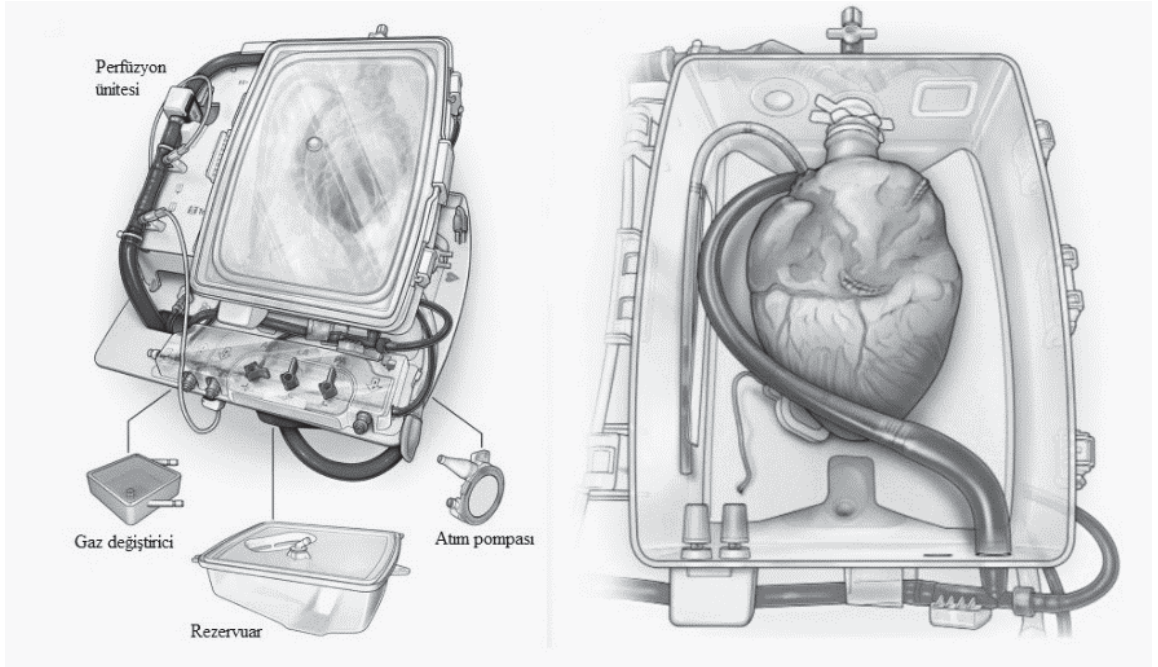
Kalp nakli için verici organ steril taşıma kabına koyulur ve soğuk kalması için $+4^{\circ}C$ izotonik içerisine yerleştirilir. Hipoterminin kalp ve diğer organlar için koruyucu olması kimyasalların reaksiyon hızının ısıyla orantılı olmasına dayanır. Hipotermi kardiyoplejik sıvıların soğutulması ile sağlanmaktadır. Soğuk iskemi sırasında miyokart hücrelerinde önemli

değişimler meydana gelir. Örneğin; yüksek enerjili fosfat sentezindeki azalmaya bağlı olarak oksidatif fosforilasyon azalır. Bu durum hücrede antioksidan enzim seviyelerinin azalmasına neden olur (Minasian ve diğ., 2014). Kalp naklinde total kardiyak iskemik süre çok uzatılmamalıdır (mak. 4 saat). İskemik sürenin uzaması durumunda enerji depolarında azalma, hücre içi pH'da değişme, katabolik faaliyetlerin artmasından dolayı ürün birikimi ile sonuçlanan süreçlerde hücre zarı hasarları görülür (Caus ve diğ., 2001).

Geliştirilen nakil teknikleri arasında olan verici kalbinin perfüzyon makinesine bağlanmasıyla miyokartı korumayı hedefleyen yöntemler bulunmaktadır. Verici organı korumada klasik soğuk depolama (Şekil 2.5) ile karşılaştırıldığında bu yöntemin klinikte daha iyi sonuçlar verdiği yönünde çalışmalar bulunmaktadır (Rosenbaum ve diğ., 2008). Perfüzyonun devamlı olması, enerji depolarının korunmasını ve ihtiyaç duyulan besin desteğini sağlar. İskemik dönemde oluşabilecek olan hasar süreçlerini engellediği ve nakil sürecini uzatabildiği için etkili bir koruma sağlamaktadır. Makine perfüzyonu, iskemiden dolayı miyokartın artan enerji ihtiyacı nedeniyle verici kalp korunmasında daha büyük faydalar sağlayabilir (Cobert ve diğ., 2014; Tolboom ve diğ., 2015). Cobert ve diğ. (2010) tarafından elde edilen deneysel veriler, küçük ve büyük hayvan modellerinde, standart hipotermik statik depolamayla karşılaştırıldığında, makine perfüzyonu ile korunan kalplerde miyokart korunmasının daha üstün olduğunu göstermektedir. Ancak klinikte yüksek maliyet nedeniyle nakil sürecinde perfüzyon makinesi sık tercih edilen teknikler arasında değildir. Sonuç olarak, günümüzde yaygın olarak kullanılmaya devam eden soğuk kardiyoplejik arrest ile standart saklama tekniği daha güvenli, basit ve kolay uygulanabilir niteliktedir (Şekil 2.6).



Şekil 2.5: Nakil için standart soğuk kalp depolaması.



Şekil 2.6: Nakilde verici organın korunması için kullanılan perfüzyon sistemi (Ardehali ve diğ., 2015).

Kalp naklinde vericinin beyin ölümü sonrasında sinir hasarları, katekolamin salınımı ve asit-baz dengesizliği gibi sorunlar yaşanır. Bu nedenle kardiyak açıdan normal olan verici kalp dokusunda bile bir süre sonra miyokart fonksiyon bozukluğu görülebilir. Koruma yöntemleri ve ilaç tedavisi uygulanarak vericinin kalp dokusu en az zararla kullanılabilir hale getirilmelidir. Etkili bir miyokart koruması sağlamak için;

- Hızlı bir arrest sağlanmalı ve doku enerji düzeyi korunmalı.
- Metabolik faaliyetleri yavaşlatmak için hipotermi sağlanmalı (+4°C).
- Hücre ve dokuları, iskemi ve hipotermiden korumak, canlılığını devam ettirebilmesi için uygun ortam oluşturulmalı.
- Nakil sonrası reperfüzyon dönemindeki hasarın etkisini azaltmak için koruyucu ajanlar kullanılmalıdır (Eren ve diğ., 2004).

Verici kalbinin fonksiyonlarının korunması için miyokart koruma teknikleri geliştirilmiştir. Kalp nakli için mevcut uzun vadeli koruma yöntemleri hipotermik ve hiperkalemik kardiyopleji sıvıların kullanımını içerir. Kardiyopleji uygulaması, hücre dışı alandaki iyon içeriğini korumak ve zararlı atıkların etkisini azaltmak için de iyi bir yöntemdir (Kotani ve diğ., 2013). Kullanılan kardiyoplejik sıvıların uygulama yolları ve içerikleri hakkında değişik görüşler vardır. Kardiyoplejik sıvılar hareketsiz bir ameliyat alanı sağlamak için kalp

cerrahisinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Kristaloid kardiyoplejik sıvılar iyon konsantrasyonlarına ve içerdikleri katkı maddelerine bağlı hücre içi ve hücre dışı olarak ikiye ayrılır (Hoenicke ve diğ., 2000).

“Hücre içi kardiyoplejiler” içerdikleri düşük sodyum (<70 mEq/L) ve yüksek potasyum (>100 mEq/L) nedeniyle hücrenin normal hücre içi ortamına benzerler. Hücre zarındaki elektriksel yük dengesini azaltarak hücreye su ve sodyum girişini düzenlerler. Böylece hücre ödemi de azaltılmış olur. Buna rağmen, hücreye kalsiyum girişine ve kısa sürelide olsa vazokonstrüksiyona neden olabilirler. Bununla birlikte içerdikleri yüksek potasyum nedeniyle endotel hasarı oluşturabilirler. En sık kullanılan hücre içi kardiyoplejilerden biride Custodiol (histidin-triptofan-ketogluterat) kardiyoplejisidir.

“Hücre dışı kardiyoplejiler” ise yüksek sodyum (>70 mEq/L) ve düşük potasyum (<20 mEq/L) konsantrasyonuna sahiptirler. Hücre dışı hiperkalemi, hücre zarının depolarizasyonunu sağlar. St. Thomas ve del Nido kardiyopleji sıvıları klinikte kullanılan hücre dışı kardiyoplejilerdir. İçerdikleri mannitol gibi yüksek molekül ağırlıklı bileşikler hücre ödemini azaltıcı etki yapmaktadır. Düşük potasyum sayesinde vasküler rezistansı artırır ve endotel hasarı oluşturacak etkileri azaltırlar (Hoenicke ve diğ., 2000).

Tablo 2.1: Kardiyopleji sıvılarının içerikleri.

İçerik(mmol/L)	Custodiol	St. Thomas	del Nido (Isolyt S hazırlandı)
Sodyum	15	110	141
Potasyum	9	16	25
Kalsiyum	0,015	1,2	-
Magnezyum	4	16	17,4
Klor	-	160	98
Sodyum bikarbonat	-	10	13
Mannitol	-	-	18,6
Lidokain	-	-	0,5
Histidin/ Histidin HCl	180/18	-	-
Triptofan	2	-	-
α -Ketoglutarat	1	-	-
pH	7,4	7,8	7,4
Osmolarite (mosmol/kg)	310	300	300

Günümüzde kullanılan kardiyoplejiler arasındaki en belirgin farklar iyon konsantrasyonları (Na^{++} ve K^+ gibi) ve hücre içi veya hücre dışı ortama olan benzerlikleridir. Kardiyoplejiler hiperkalemik arrest ile kalp asistolü oluşturmak için geliştirilmiştir. Yüksek potasyum ve hipotermi verici organın saklanması ve naklinde en sık kullanılan yöntemlerdir. Kalbin hızlı diastolik arresti için en çok kullanılan molekül potasyumdur. Klinikte 15-70 mEq/L po-

tasyum içeren kardiyoplejiler kullanılmaktadır. Kardiyoplejik sıvıda potasyum düzeyinin yetersiz olması diyastolik arrestin bununla birlikte kardiyak korumanın da yetersiz olmasına neden olur (Peker ve diğ., 2014). Hücre dışı hiperkalemi, hücre zarının depolarizasyonunu sağlar. Sodyum kanalları açılır ve hücre inaktif hale geçer. Sodyum hücre içine alınması ile sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum çıkışı sağlanır ve kalsiyum hücre içi yükü artar. Böylece sodyum-kalsiyum yük değişimi oluşur. Bu süreçler sodyum-kalsiyum pompasını aktifleştirerek, iskemide hücre içi enerji düzeyinin azalmasına neden olur. Hiperkalemik kristaloid kardiyopleji sıvıların hücre membran depolarizasyonu sağlayarak aksiyon potansiyeli oluşumunu engellediği, diyastolik kardiyak arreste yol açtığı gösterilmiştir (Hoenicke ve diğ., 2000).

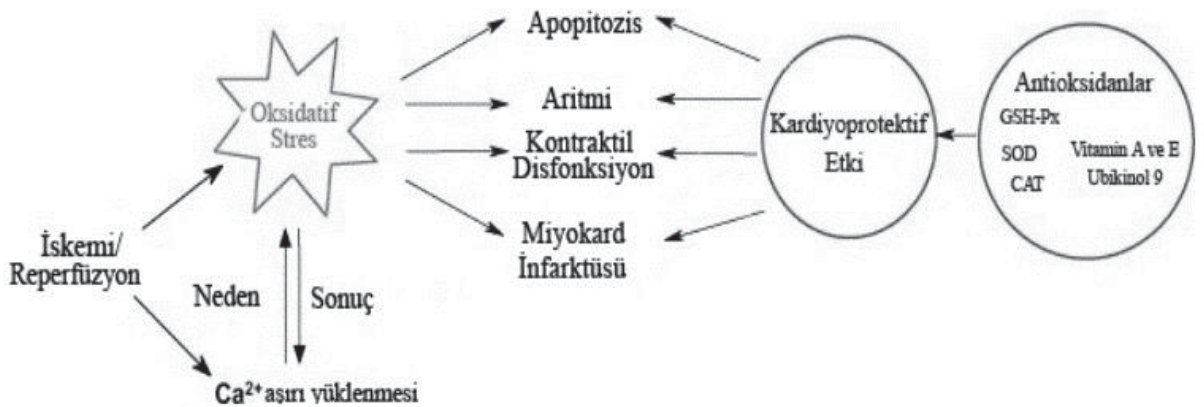
Kardiyoplejik sıvılar miyokartın substrat metabolizması üzerinde yaygın değişiklikler meydana getirir. Kardiyoplejilere eklenen histidin tampon görevi görürken, triptofan ve magnezyum sülfat kalsiyumun hücre içine girişini engellemek membran stabilizasyonunda sağlamak için kullanılır. Ketoglutarat ise substrat düzeyini koruyarak reperfüzyon sırasında yüksek enerji üretimine destek olur. İçerdikleri düşük kalsiyum konsantrasyonu sayesinde ise membran potansiyelinin, dinlenme membran potansiyeli seviyesine yakın durmasını sağlarlar. Bu şekilde oluşturulan polarize arrestin, hiperkalemik sıvının zararlı etkilerinden koruyabileceği düşünülmektedir (Pietersen ve diğ., 1999).

Kardiyoplejilerde kullanılan mannitol, histidin, lidokain gibi hücre membranından geçemeyen maddeler hücre içi ozmotik basınca karşı etki göstererek hipotermiye bağlı hücrel ödemi azaltırlar. Substrattan zengin sıvıların kullanılmasının amacı miyokartta yüksek enerjili fosfatların iskemi döneminde korunmasını ve reperfüzyonda dokunun hızlı iyileşmesini sağlamaktır (Careaga ve diğ., 2001). İskemide asidoz, glikojen ve ATP düzeyleri hızla azalır. Hücrel metabolizma yavaşlarken aerobik ve anaerobik enerji üretiminin devamı için kardiyoplejilere oksijen, glukoz, glutamat, aspartat gibi substratların eklenmesinin daha iyi miyokart koruması sağlayacağı görüşleri vardır. Böylece geliştirilen kardiyoplejiler, hücre zarını depolarize tutmak için farklı seviyelerde potasyuma, serbest radikaller oluşumunu engelleyici ajanlara, ozmotik basıncı korumak için emilim maddelerine ve ödemi, enerji substratlarını ve asidozu önlemek için tamponlar kullanılarak hazırlanır (McLaren ve Friend, 2003; Jahania ve diğ., 1999).

2.3. OKSİDATİF STRES VE İNFLAMASYON

Kardiyoplejik sıvılar doku hasarına karşı organı korumak için üretilmiştir. Bu sıvılar doku için uygun ortam sağlayarak uzun süreli iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarına karşı organı dayanıklı hale getirmektedir (Caus ve diğ., 2001; Renner ve diğ., 2004). Buna rağmen kardiyoplejik sıvıların I/R hasarına karşı yetersizlikleri, hem hücre içi hem de hücre dışı bölgede gösterilmiştir. Kardiyoplejilerin çok çeşitli olması ve etki mekanizmaları tam bilinmediğinden dolayı sıvıların hücre hasar süreçlerine etkisi karşılaştırılmamıştır (Guibert ve diğ., 2011).

Fizyolojik şartlarda hücre içi veya hücre dışından kaynaklanan etkenlerle bazal düzeyde reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir. ROS oluşumu ile antioksidan mekanizmanın koruyuculuğu arasında homeostatik bir denge vardır. Kalpte bazal olarak üretilen ROS, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) gibi endojen enzimatik serbest radikal hasarı engelleyici (antioksidan) maddeler tarafından etkili bir şekilde yok edilir. İskemi sürecinde hücrel savunma mekanizmasının üstesinden gelemeyeceği düzeyde ROS meydana gelebilir ve bu durum oksidatif stres olarak kabul edilir. Bununla beraber reperfüzyon süreci endotel hücresinde fonksiyonel değişikliklere yol açarak zaten var olan hasarda artışa neden olur. Reperfüzyon kaynaklı bu hasarın artmasında hücre içi ve hücre dışı kökenli oksijen radikallerinin birikimi sorumludur (Şekil 2.7) (Lefer ve diğ., 2000; Granger ve Kvietys, 2015).



Şekil 2.7: I/R hasarında oluşan oksidatif stres ve hasara karşı antioksidanların kalbi koruyucu etkisi (Valko ve diğ., 2007).

Kalp dokusundaki oksidan araçlar I/R hasarı, miyokart enfarktüsü ve kardiyomiyopati gibi çeşitli patofizyolojik koşullar altında farklı kaynaklar tarafından üretilir. ROS üretimi için potansiyel kaynaklar, bozulmuş mitokondriyal elektron taşıma zinciri, araşidonik asit metabolizması, nötrofil infiltrasyonunu ve aktivasyonu, ksantin-ksantin oksidaz ve katekolaminler olabilir. Üretilen ROS membran lipidlerinde peroksidasyona, proteinler ve DNA'da ise oksidasyona doğrudan yol açabilir ve serbest radikal aracılı reaksiyonları başlatabilir. Sonuç olarak ROS'un neden olduğu oksidatif stres I/R hasarının gelişmesine ve kalp-damar hastalıklarının oluşmasına neden olabilir (Dedeoğlu ve diğ., 2008; Han ve diğ., 2014).

Serbest radikaller farklı türevleri ile oldukça reaktiftir. Moleküler oksijen, hücre içi ve hücre dışı ortamlarda önemli bir serbest radikal oluşumu kaynağıdır. ROS süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^-$) ve hidroksil radikali ($OH^\cdot$) gibi serbest radikalleri içerir. ROS, aerobik metabolizmanın toksik yan ürünleri olarak, çevredeki makromoleküller ile olumsuz reaksiyona girerek ciddi hücre ve doku hasarı oluşturur. Hücre içi ROS genellikle normal aerobik metabolitlerden veya hücredeki reaksiyonlardan kaynaklanan bir hasar süreci oluşturur. Hücre dışı ROS bozulmuş endotelial hücrelerden ve katekolaminlerden kaynaklanabilir (Kumar ve Juddutt, 2003).

İskemik hasarda oluşan ROS artışı hücre içi sinyal iletimi etkiler. Hücre zarı fosfolipidi olan fosfatidil inozitol 4,5 bifosfatı (PIP2) oksidatif stres sonucu hidroliz eden aktif fosfolipaz-c (PLC), inositol-3-fosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG) oluşmasını sağlar. IP3 sarkoplazmik retikulumun kalsiyum kanal reseptörlerine bağlanarak sitoplazmaya Ca^{++} akışını sağlar. Nitrik oksitin deaktivasyonu ile ROS oluşumu sonucunda miyokartta DAG / protein kinaz C (PKC) sinyal transdüksiyon yolu doku kan akışında azalmaya, damar geçirgenliğinin artmasına ve hücre dışı matrikste birikmeye yol açar (Şekil 2.8) (Valko ve diğ., 2007).

Artan ROS doğrudan etkilerinin dışında kalp dokusundaki Bcl-2 aile proteinlerini, mitokondriyal yolu, kaspazları ve mitojenle etkinleşen protein kinazları (MAPK) aktive edebilir ve hücrel hipertrofiye, apoptoza ve nekroza neden olur. Bu durum kalp fonksiyon bozukluğuna yol açan çeşitli hücre içi proteinleri etkiler (Guibert ve diğ., 2011).

İnflamasyon, iskemik bir olaydan sonra miyokarttaki doku hasarına aracılık eden önemli bir süreçtir. Ayrıca, miyokart fonksiyon bozukluğu sonucu kardiyomiyosit ölümüne inflamatuvar sitokinlerin rol oynayabileceği gösterilmiştir. Miyokart inflamasyonu, miyokartın metabolik ihtiyacı ile koroner oksijen ve besin kaynağı arasındaki dengesizlikten kaynaklanan miyokart nekrozunun bir koşulu olarak tanımlanabilir (Abbas,2016). TNF- α gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin inflamasyonda artmış üretimi ve oksidatif stresin aktivasyonu kalbin kasılma performansının bozulmasına neden olur. Bu nedenle, TNF- α oluşumunu ve oksidatif stresi baskılamak miyokart fonksiyonunun korunmasını sağlayabilir (Bradham ve diğ., 2002).

2.4. MİYOKART DOKUSUNUN YENİDEN MODELLENMESİ

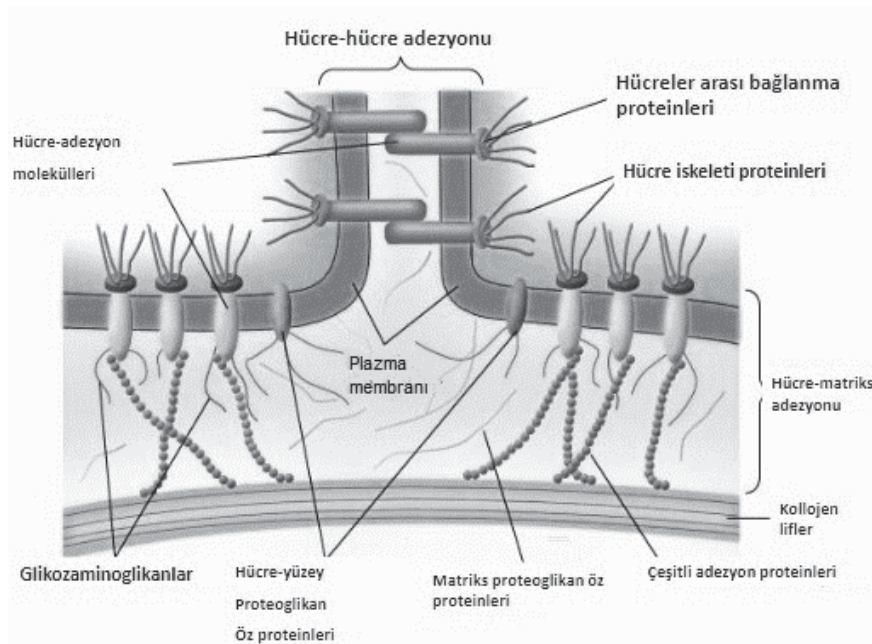
Kardiyovasküler sistem, yapısal ve fonksiyonel yeniden yapılanma süreci ile belirli fizyolojik ve patolojik uyarılara cevap verir. Yeniden modelleme kardiyomiyositler, ventriküler miyokart, interstisyel matriks, vasküler düz kas ve endotelyum gibi birçok kardiyovasküler dokuda meydana gelebilir. İskemik hasar; miyositleri, vasküler endoteli ve özelleşmiş iletim hücrelerini etkilemesinin yanında geri dönüşümsüz hücre nekrozu gibi patolojik durumlara neden olan karmaşık bir süreçtir (Bradham ve diğ., 2002). Kalpte iskemik süreç ventriküler boyut, şekil ve fonksiyonda zararlı değişikliklere neden olur. Miyokarttaki iskemiden hemen sonra kalp hücrelerinde ve hücre dışı matrikste bozunma ile başlayan inflamatuvar bir süreç vardır. Nihayetinde duvar kalınlığının incilmesi, ventrikül dilatasyonu ve kalp fonksiyon bozukluğu gibi büyük yapısal değişiklikler, apoptoz, beta-adrenerjik sinyal yolunda bozulma, kontraksiyon-eksitasyon uyumsuzluğu, fibroblast ve ekstraselüler matriks (ESM) bileşenlerinde hasar ve mitokondriyal oksidatif metabolizma gibi birçok hücresel düzensizlikten kaynaklanır. Dolayısıyla iskemik miyokart dokusundaki yeniden modelleme birçok faktöre bağlıdır (Sekaran ve diğ., 2017).

Yeniden modellemenin olduğu ESM alanı dokuyu oluşturan hücrelerin arasını dolduran ve bir arada tutulmasına destek olan fonksiyonel bir yapıdır. Bulunduğu dokuya göre farklı yapısal moleküllerden oluşur. Bağ dokuda bu yapısal molekülleri salgılayan hücreler fibroblastlardır. Hücre hareketini, gelişimini, farklılaşmasını ve hücreler arası iletişimi sağlamada önemli bir yapısal unsur olan ESM, kendilerini üreten hücrelerin yüzeyleri ile yakın ilişki halindedir (Şekil 2.9). ESM yapısını oluşturan hücre dışı proteinler, proteoglikanlar ve fibröz

proteinlerdir. Proteoglikanlar kovalent bağlar ile glikozaminoglikanlara bağlanmış karbonhidrat ve peptid yapılı zincirlerdir (Bosman ve Stamenkovic, 2003).

Hyalüronik asit, kondroitin sülfat, keratan sülfat, heparin, heparan sülfat ve dermatan sülfat olarak yedi çeşit glikozaminoglikan vardır. Proteoglikanlar, ESM'de bu moleküllere bağlanırlar ve matriksin yapısında hücreler arası besin, metabolik ürünler ve hormonların taşınmasında büyük öneme sahiptirler. Proteoglikanlar salgılanan glikozaminoglikanlara bağlanarak onların fonksiyonlarını yerine getirmelerini sağlar. Salgılanan proteini bulunduğu bölgede sabit kalmasını sağlar ve böylece protein etkili olacağı hücrede kalır. Proteinleri proteolitik hasardan koruyarak etki sürelerini uzatırlar. Hücre yüzey reseptörleri tarafından proteinlerin tanınmaları için yapısal değişiklikler oluştururlar.

Fibröz proteinler fonksiyonel olarak yapısal proteinler ve yapıştırıcı proteinler olarak sınıflandırılabilir. Matriks yapısında en yoğun bulunan kollajen ve elastin yapısal proteinleri oluştururlar. Yapıştırıcı proteinler olan fibronektin, laminin, tenaskin, vitronektin ve integrinler ise dokuların oluşumu, bakımı ve yeniden şekillenmesi, hücre büyümesi, hücre hareketlerinde değişiklikler, hücre göçü, hücre adezyonu gibi kompleks fizyolojik süreçlerde görev alırlar. Fibröz proteinler yapı ve büyüklük olarak oldukça farklılık gösterirler (Frantz ve diğ., 2010).



Şekil 2.9: Ekstraselüler matriks bileşenleri.

Hücre içi matriksinin önemli bir yapısal unsuru olan glikoproteinlerin fonksiyonu hücre yapısının korunmasında önemlidir. Sialik asit, hücre yüzeyinde ve salgılanmış glikoproteinlere bağlı glikan zincirlerinin en dış birimi olarak bulunan asidik dokuz karbonlu bir şekerdir. Oligosakkarit dallarındaki terminal sialik asit negatif yüke sahip olması nedeniyle, pozitif yüklü moleküllerin taşınmasında ve bağlanmasında, tanıma alanlarının kapatılmasında, hücrelerin ve moleküllerin taşınmasında önemli bir rol alır (Cheng ve diğ., 2016; Yang ve diğ., 2015). Hücre yüzeyindeki sialik asitler, çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlere aracılık etmektedirler. Matriks yapısını oluşturan glikoproteinlerin çoğu, glikokaliksin yapısına katkıda bulunan sialik asit ile kaplıdır. Endotelial glikokalikste hasar süreçlerinde oluşan sialik asit kalıntıları endotel hasarı oluşturarak permeabiliteyi etkiler. Endotel hasarında gerçekleşen süreçlerin çoğu endotelial glikokaliksin yapısal bütünlüğünün korunmasına bağlıdır (Salmon ve Satchell, 2012). Punithavathi ve diğ. (2009) çalışmada miyokart infarktüsü ve iskemi sonucu hasara bağlı, bir matriks glikoproteini olan sialik asit düzeylerinin hasar parametresi olarak arttığını göstermiştir.

ESM'nin yeniden modellenmesi, uyarıcıya göre değişen birçok işlemin sonucudur. Bu nedenle, iskemi kaynaklı bir inflamasyon tepkisi sırasında ortaya çıkan kalp ESM'deki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler yapıda farklılaşmalara neden olur. ESM'nin proteolitik bozulmasında çok sayıda proteaz görev alır. Bunlar arasında en belirgin olanlar matriks metalloproteinaz (MMP) ailesinin üyeleridir. Hücre dışı matrikste bulunan enzimlerden matriks metalloproteazlar matriks bileşenlerini parçalayabilirler (Kuzminski ve diğ., 2012). MMP'lerin büyük bir kısmı bağ doku hücreleri tarafından ve inflamasyonda görevli fagositler tarafından salgılanırlar. Doku yeniden modellenmesine yaptıkları etkinin yanı sıra yara iyileşmesi, metazis, tümör gelişimi gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçte görev alırlar. MMP enzim ailesi yapılarına ve etkiledikleri reaksiyonlara göre 4 farklı sınıfta toplanırlar. Kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13), jelatinazlar (MMP-2, MMP-9), stromelizinler (MMP-3, MMP-7, MMP-10, MMP-11, MMP-12) ve membrana bağlı MMP'ler (MT1-MMP, MT2-MMP, MT3-MMP, MT4-MMP) olarak sınıflandırılırlar. Katalitik bölgelerinin aktif alanında çinko içerirler ve proenzim olarak sentezlenip inaktif yapıda salgılanırlar. Proenzimlerin hücre dışı alanda aktif hale dönüşürler. ESM'de enzimin katalitik bölgesi tanınır ve enzim aktivitesi hücre dışı alandaki metalloproteinaz inhibitörleri tarafından baskılanır (Bosman ve Stamenkovic, 2003). Hipotermi ve iskeminin etkisiyle oksidatif stres altındaki

dokularda MMP'ler aktive olmaktadır. MMP'lerin jelatinazlar grubunda olan MMP-9'un oksidatif stres altındaki dokularda aktive olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, akut miyokartitte kalp kasılma fonksiyonun azalması MMP aktivasyonu ile ilişkilendirilmektedir. İskemi sürecinde artan MMP-9 aktivitesi miyokart doku fibrozunu arttırmaktadır (Huang ve diğ., 2012).



3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARININ GENEL ÖZELLİKLERİ

İ.Ü. Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu izni (442761) ile yapılan çalışmamız için hayvanlar İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi. Çalışmamızda $397.2 \pm 7,4$ g ağırlığında toplam 18 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar deney gününe kadar nem oranı %50 olan ve 24 °C sıcaklıktaki odalarda bakıldı. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olan ışık periyodunda, standart pellet yemle beslendi ve musluk suyu içirilerek barındırıldı.

3.2. CERRAHİ PROTOKOL

Hayvanlar, ketamin HCl (70 mg/kg i.p.) ve ksilazin HCl (10 mg/kg i.p.) kullanılarak anestezi induksiyonu sağlandıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Hayvanların karın bölgesi alkole silindikten sonra orta hat boyunca açıldı. İnferior vena cava izole edildi. Sol taraftan göğüs kafesi açılarak aort izole edildi. İnferior vena cava kesildi. Ardından çıkan aort içine kalp arrest olana kadar (yaklaşık 5 mL) heparinli (5 UI/g vücut ağırlığı) soğuk kardiyopleji sıvıları uygulandı. Arrestten sonra kalp çıkarıldı ve 4 saat hacminin yaklaşık 2-3 katı miktardaki (10 mL) ilgili grubun soğuk kardiyoplejisinde (+4°C) bekletildi (Şekil 3.10).

3.2.1. Gruplar

- Custodiol kardiyopleji (CD) grubu (n=6): Kalp arresti için aort içine Custodiol kardiyopleji sıvısı enjekte edilen ve aynı kardiyopleji sıvısında kalplerinin 4 saat inkübe edildiği hayvanlardan oluşmaktadır.
- St. Thomas kardiyopleji (ST) grubu (n=6): Kalp arresti için aort içine St. Thomas kardiyopleji sıvısı enjekte edilen ve aynı kardiyopleji sıvısında kalplerinin 4 saat inkübe edildiği hayvanlardan oluşmaktadır.
- del Nido kardiyopleji (DN) grubu (n=6): Kalp arresti için aort içine del Nido kardiyopleji sıvısı enjekte edilen ve aynı kardiyopleji sıvısında kalplerinin 4 saat inkübe edildiği hayvanlardan oluşmaktadır.

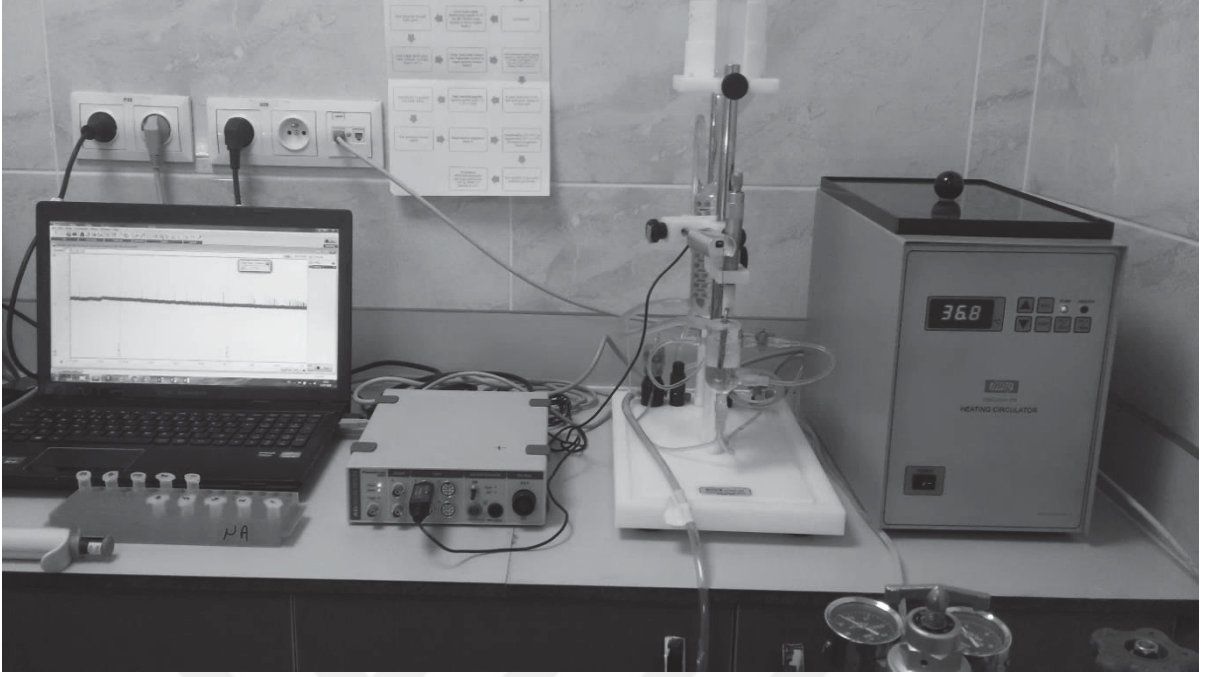
Bekleme süresinden sonra miyokard kontraktilitesinin değerlendirilmesi için sağ ventrikül duvarından kas şeritleri çıkarıldı. Kontraktilite ölçümünde kullanılmayan ventrikül kısımları ve kalan doku biyokimyasal parametrelerin ölçüm gününe kadar -80 derecede saklandı.



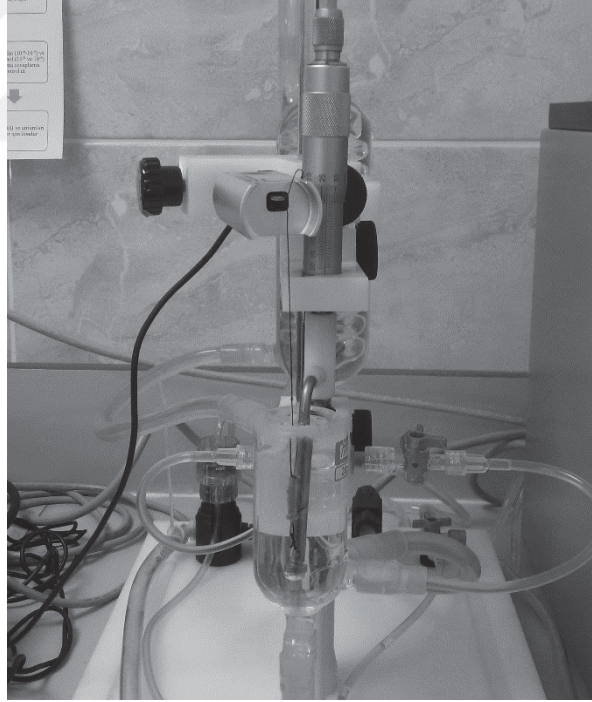
Şekil 3.1 : Cerrahi protokol süreci

3.3. MİYOKART KONTRAKTİLİTESİ ÖLÇÜMLERİ

Dört saat soğuk kardiyoplejide inkübe edilen kalp dokuları, ilgili oldukları gruba ait kardiyopleji sıvıları içerisinde kısımlarına ayrıldı (sağ-sol ventrikül ve sağ-sol atrium). Ardından sağ ventrikül miyokard kontraktilitesi için kullanıldı. Organ banyosunda kullanmak üzere Krebs-Henseleit tampon içeriği (mmol/L) : 120 NaCl, 4,80 KCl, 1,25 CaCl₂, 1,20 MgSO₄, 1,20 KH₂PO₄, 25 NaHCO₃ ve 11 glukoz olarak hazırlandı. Sağ ventrikül duvar stripleri ile organ banyosu sisteminde kasılma ve gevşeme cevabı değerlendirildi. Sağ ventrikül duvarından kas şeritleri 1.5 mm x 10 mm x 1 mm ölçülerde çıkarıldı ve organ banyosu içine yerleştirildi. Dokunun diğer serbest ucu banyo içinde kuvvet transdüsörüne bağlandı (MLTF050/ST, PowerLab 26T, ADInstruments) Organ banyosu 20 mL Krebs-Henseleit çözeltisi (pH 7,4) ile dolduruldu ve % 95 O₂- % 5 CO₂ gaz karışımı ile 37 °C sıcaklık ayarlandı. Bir gram gerilme kuvveti ayarlanarak ventrikül şeritleri asıldı. Doku 30 dakika sabit gerilimde tutuldu. Tüm hayvanların sağ ventrikül duvarından alınan kas şeritlerinde ventrikül kasılma kontrolü isoproterenol (10⁻⁹ - 3x10⁻⁶ M) ve noradrenalin (10⁻⁸ - 3x10⁻⁵ M) ile konsantrasyona bağlı kasılma kuvveti olarak ölçüldü.



Şekil 3.2: Organ banyosu deney düzeneği



Şekil 3.3: Kuvvet transdüsörüne bağlanan doku

3.4. HOMOJENİZASYON

Kalp dokuları; 1:10 (w/v) oranında fosfat tamponu solüsyonu (PBS pH 7.4) içerisinde teflon başlıklı homojenizator yardımıyla homojenize edildi ve elde edilen homojenatlar 3000 g'de 10 dk santrifüj yapıldı. Süpernatantlar biyokimyasal ölçümler için kullanıldı.

3.5. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER

3.5.1. Manuel Yöntem İle Yapılan Ölçümler

3.5.1.1. Sialik Asit Tayini

Doku sialik asit düzeylerinin belirlenmesi spektrofotometrik yöntem kullanılarak yapıldı. (Sydow 1985).

Kullanılan kimyasallar;

%5 perklorik asit; %60'lık stok perklorik asit çözeltisinden alınan 8,3 mL distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Ehrlich; ticari olarak satılan solüsyon kullanıma hazır olarak satın alındı.

Ölçüm:

0,2 mL örnek 1,5 mL %5 perklorik asitle karıştırıldı. 5 dakika 100°C'de inkübe edilen örnekler, soğutulduktan sonra 2500 g'de 4 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar toplanarak üzerlerine 0,2 mL Ehrlich çözeltisi eklendi ve 15 dakika daha 100° C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 1 mL distile su eklenip 525 nm'de spektrofotometrik okuma ile ölçüm yapıldı. Elde edilen absorbans değerleri standart eğri üzerinden hesaplanarak sialik asit konsantrasyonları belirlendi.

3.5.1.2. Protein Tayini

Doku protein tayini, boya bağlama yöntemi olarak kabul edilen Bradford protein tayini yöntemi kullanılarak yapıldı. Bu yöntem, Coomassie parlak mavisi G-250 boyasının farklı konsantrasyonlardaki protein çözeltilerinde oluşturduğu mavi rengin yoğunluğuna bağlı olarak oluşan renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (Bradford M., 1976).

3.5.2. ELISA Yöntemi İle Yapılan Ölçümler

Tümör nekrosiz faktör- α (TNF- α) (Elabscience), matriks metalloproteaz-9 (MMP-9) (Elabscience), adenzintrifosfat (ATP) (Elabscience) ve troponin-I (Elabscience) seviyeleri sağ ventrikül dokularında ELISA yöntemiyle ölçüldü. Ayrıca, farklı zamanlardaki inkübasyon sıvılarında da TNF- α ve troponin-I ELISA yöntemiyle ölçüldü.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Elde edilen veri setlerinin normal dağılıma uygunluğu belirlendi ve değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak sunuldu. İstatistiksel olarak anlamlılık tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) takiben Tukey çoklu karşılaştırma testi ile belirlendi. Gruplar arasındaki karşılaştırma normal dağılıma uymayan durumlarda Mann-Whitney testi ile yapıldı. İstatistiksel analiz programı olarak GraphPad Prism (V.5.0.ABD) kullanıldı. $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

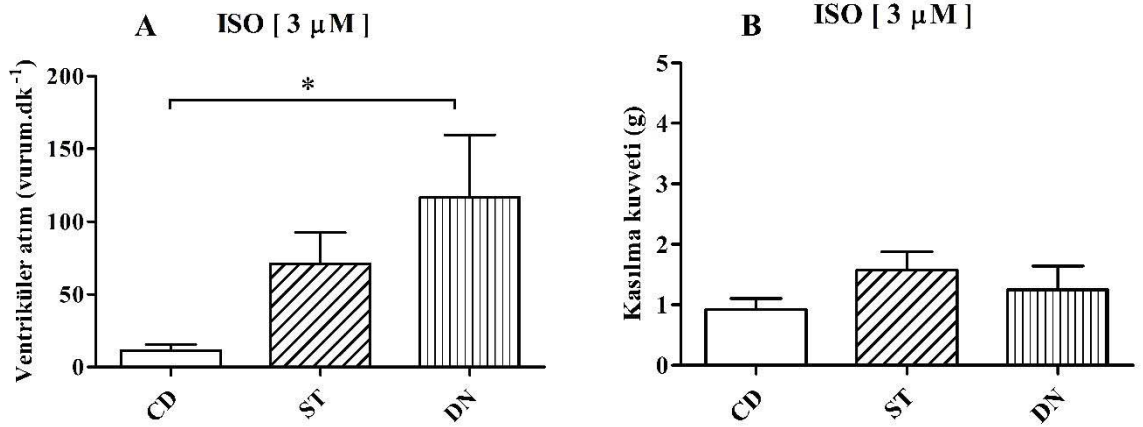
4. BULGULAR

4.1. ORGAN BANYOSU DENEY BULGULARI

Sağ ventrikül serbest duvarından alınan kas şeritlerine izoproterenol (ISO, 3 μ M) uygulaması ile yapılan doku banyosu deneyinde ventriküler atım del Nido kardiyopleji grubunda, Custodiol kardiyopleji grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmıştır ($p<0,05$) (Şekil 4.2.A ve Tablo 4.1). Ayrıca miyokard kasılma kuvveti tüm gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 4.2.B ve Tablo 4.2).



Şekil 4.1: Doku banyosu deneylerinde 3 μ M izoproterenol uygulaması ile oluşan miyokard kasılma sinyali örneği.



Şekil 4.2: İzoproterenolün (ISO; 3 μ M) neden olduğu spontan ventriküler hızındaki artış (A) ve kasılma kuvveti üzerine etkileri (B) (* $p<0,05$; CD grubuna göre).

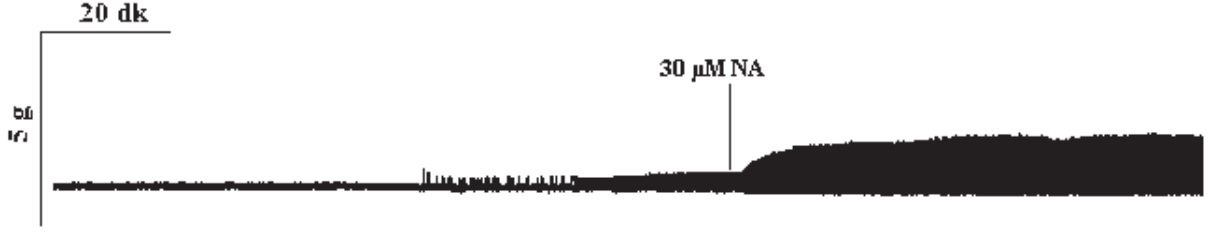
Tablo 4.1: Izoproterenol (3 μ M) uygulaması ile yapılan organ banyosu deneyi ile ilgili ventriküler atım düzeyleri (* $p < 0,05$; CD grubuna göre).

Kardiyopleji	Ventriküler atım (vurum.dk⁻¹)	N
Custodiol	11,5 $\pm$ 4,1	6
St. Thomas	70,8 $\pm$ 21,7	6
Del Nido	116,8 $\pm$ 42,9 *	6

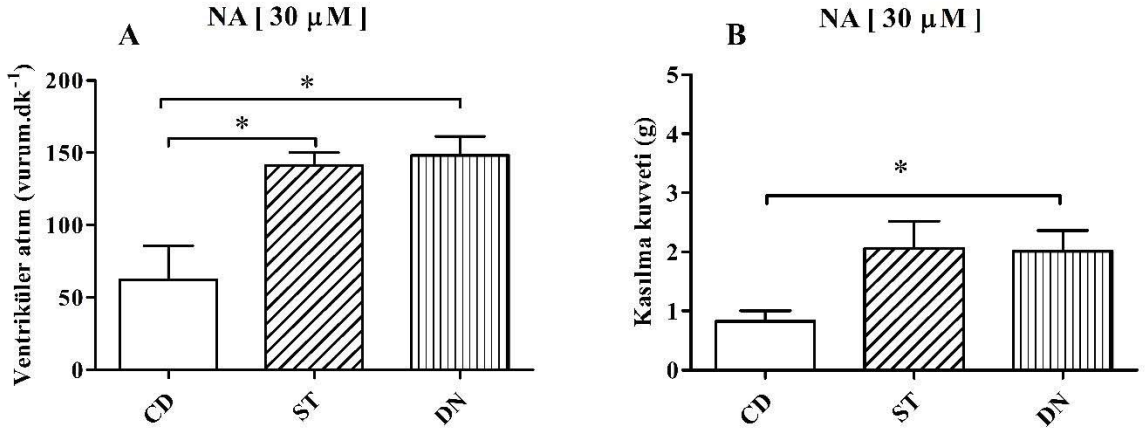
Tablo 4.2: Izoproterenol (3 μ M) uygulaması ile yapılan organ banyosu deneyi ile ilgili kasılma kuvvetin düzeyleri ($p > 0,05$; tüm gruplar karşılaştırıldığında).

Kardiyopleji	Kasılma kuvveti (gram)	N
Custodiol	0,92 $\pm$ 0,18	6
St. Thomas	1,5 $\pm$ 0,30	6
Del Nido	1,2 $\pm$ 0,39	6

Sağ ventrikül serbest duvarından alınan kas striplerine noradrenalin (NA, 30 μ M) uygulaması ile yapılan organ banyosu deneyinde ventriküler atım del Nido ve St. Thomas kardiyopleji gruplarında, Custodiol kardiyopleji grubu ile karşılaştırıldıklarında anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.4.A ve Tablo 4.3). Ayrıca miyokard kasılma kuvveti Custodiol kardiyopleji grubuna göre, del Nido kardiyopleji grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). St. Thomas kardiyopleji grubu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Şekil 4.4.B, Tablo 4.4).



Şekil 4.3: Doku banyosu deneylerinde 30 µM noradrenalin uygulaması ile oluşan miyokart kasılma sinyaline örnek.



Şekil 4.4: Noradrenalinin (NA; 30 µM) neden olduğu spontan ventriküler hızdaki artış ve kasılma kuvveti üzerine etkileri (*p<0,05; CD grubuna göre).

Tablo 4.3: Noradrenalin (30 µM) uygulaması ile yapılan organ banyosu deneyi ile ilgili ventriküler atım düzeyleri (*p<0,05; CD grubuna göre).

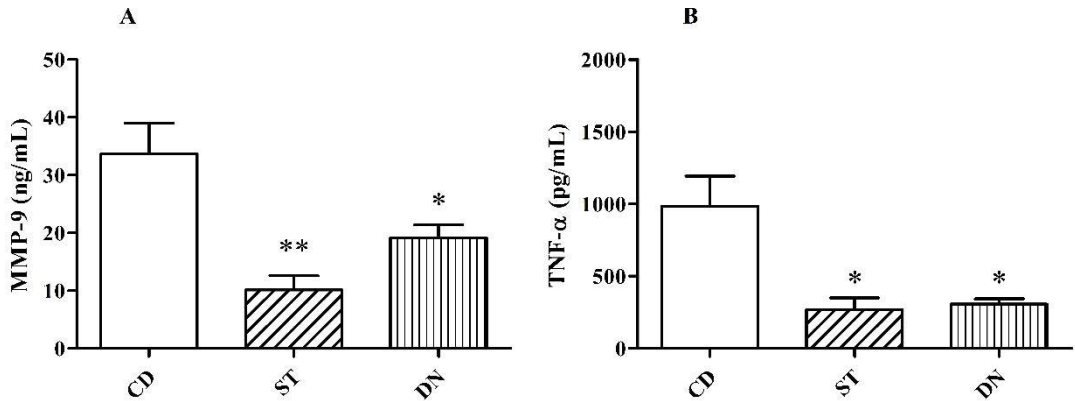
Kardiyopleji	Ventriküler atım (vurum.dk ⁻¹)	N
Custodiol	62,22 ± 23.7	6
St. Thomas	141,3 ± 9,0 *	6
del Nido	148,2 ± 13,2 *	6

Tablo 4.4: Noradrenalin (30 μ M) uygulaması ile yapılan organ banyosu deneyi ile ilgili kasılma kuvvet düzeyleri (* $p<0,05$; CD grubuna göre).

Kardiyopleji	Kasılma kuvveti (gram)	N
Custodiol	$0,82 \pm 0,17$	6
St. Thomas	$2,05 \pm 0,45$	6
Del Nido	$2,0 \pm 0,35$ *	6

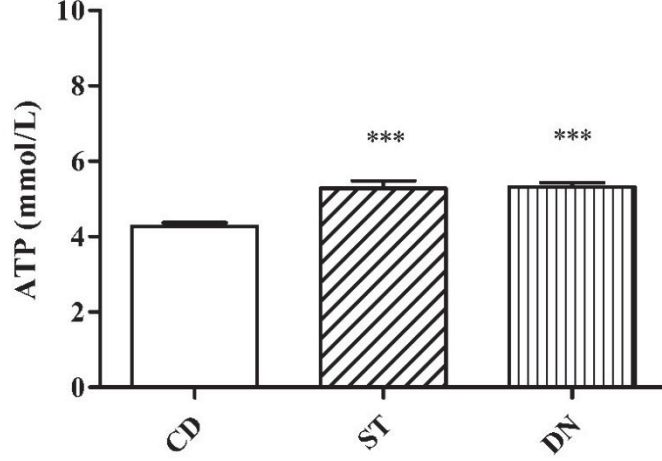
4.2. BİYOKİMYA DENEY BULGULARI

Sağ ventrikül dokusundaki MMP-9 aktivitesi değerlendirildiğinde ST ($10,2 \pm 2,4$ ng/mL) ve DN grupları ($19,2 \pm 2,2$ ng/mL) ile CD grubu arasında ($33,7 \pm 5,3$ ng/mL); ** $p<0,01$, * $p<0,05$, sırasıyla) anlamlı olarak fark bulundu (Şekil 4.5.A). Sağ ventrikül dokusundaki TNF- α düzeyleri ise ST ($269,8 \pm 81,4$ pg/mL) ve DN grupları ($306,7 \pm 37,7$ pg/mL) ile CD grubu arasında ($984,9 \pm 208,6$ pg/mL; ** $p<0,01$, * $p<0,05$, sırasıyla) istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdi (Şekil 4.5.B).



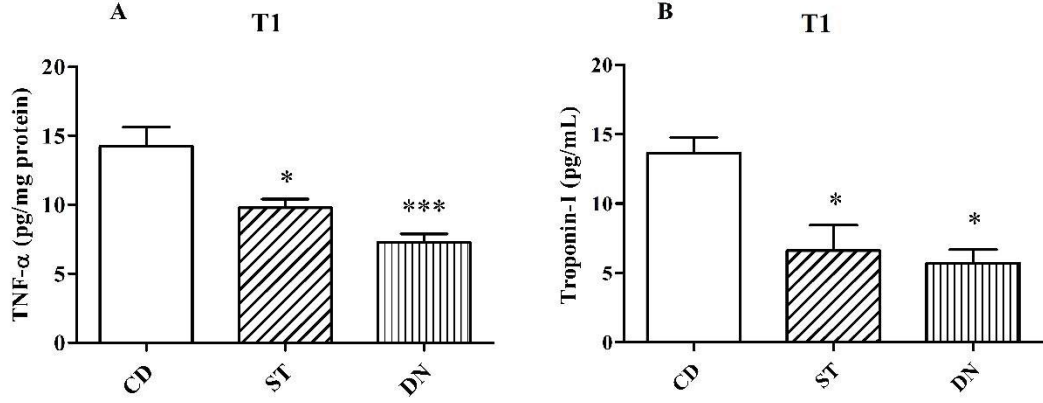
Şekil 4.5: Sağ ventrikül dokusunda MMP-9 (A) ve TNF- α düzeyleri (** $p<0,01$ ve * $p<0,05$; CD grubuna göre).

Sağ ventrikül dokusundaki ATP düzeyleri karşılaştırıldığında ST ($5,3 \pm 0,2$ mmol/L) ve DN grupları ($5,3 \pm 0,1$ mmol/L) ile CD grubu arasında ($4,3 \pm 0,1$ mmol/L; *** $p < 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Şekil 4.6).



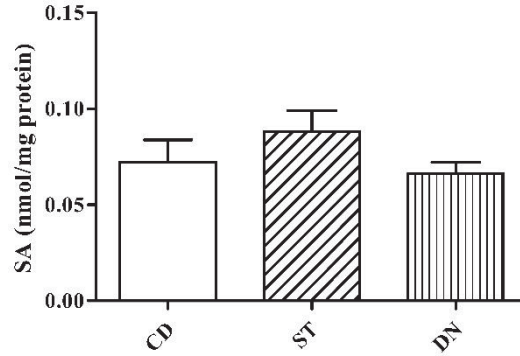
Şekil 4.6: Sağ ventrikül dokusunda ATP düzeyleri (*** $p < 0,001$; CD grubuna göre).

Dört saatlik inkübasyon sonrası (T1) kalp dokularının inkübe edildiği sıvı örneklerindeki TNF- α düzeyleri kardiyopleji gruplarında karşılaştırıldığında ST ($9,7 \pm 0,6$ pg/mg ptotein) ve DN grupları ($7,3 \pm 0,6$ pg/mg protein), CD ($14,2 \pm 1,4$ pg/mg ptotein; *** $p < 0,001$, * $p < 0,05$, sırasıyla) grubuna göre anlamlı fark göstermiştir (Şekil 4.7.A). Dört saatlik inkübasyon sonrası (T1) kalp dokularının inkübe edildiği sıvı örneklerindeki troponin-I değerleri kardiyopleji gruplarında karşılaştırıldığında ST ($6,6 \pm 1,8$ pg/mL) ve DN grupları ($5,7 \pm 1,0$ pg/mL), CD ($13,6 \pm 1,1$ pg/mL; * $p < 0,05$) grubuna göre anlamlı fark göstermiştir (Şekil 4.7.B).



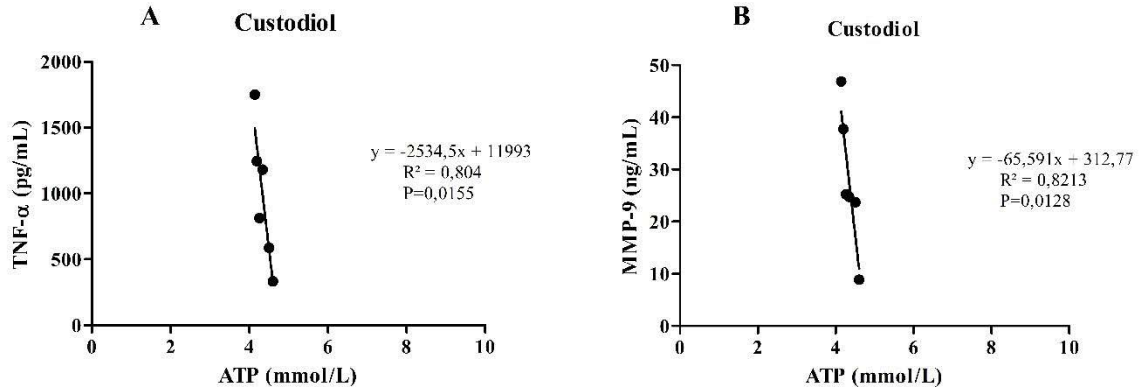
Şekil 4.7: Dört saatlik inkübasyon sonrası (T1) kalp dokularının inkübe edildiği sıvı örneklerindeki TNF- α (A) ve Troponin-I (B) düzeyleri (**p<0,001 ve *p<0,05; T1-CD grubuna göre).

Sağ ventrikül dokusundaki sialik asit düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$; tüm gruplar arasında) (Şekil 4.8).



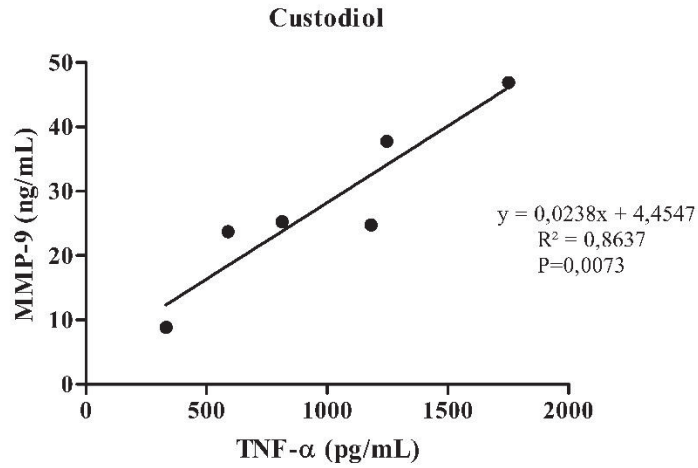
Şekil 4.8: Sağ ventrikül dokusunda sialik asit (SA) düzeyleri ($p > 0,05$; tüm gruplar arasında).

Sağ ventrikül dokusundaki Custodiol kardiyopleji grubunda MMP-9 aktiviteleri ile ATP seviyeleri anlamlı düzeyde negatif ilişki gösterdi [$r=-0,90$, $P=0,01$ (Şekil 4.9.A)]. Sağ ventrikül dokusundaki Custodiol kardiyopleji grubunda TNF- α seviyeleri ile ATP seviyeleri de anlamlı düzeyde negatif ilişki gösterirdi [$r=-0,91$, $P=0,01$ (Şekil 4.9.B)].



Şekil 4.9: Custodiol kardiyoplejisinde inkübe edilen kalplerin sağ ventrikül dokusundaki TNF- α ve MMP-9 değerleri ile ATP arasındaki ilişki.

Ayrıca sağ ventrikül dokusundaki Custodiol [$r=0,93$, $P=0,007$ (Şekil 4.10)] kardiyopleji grubunda MMP-9 aktiviteleri ile TNF- α seviyeleri arasında anlamlı düzeyde pozitif ilişki bulundu.



Şekil 4.10: Custodiol kardiyoplejisinde inkübe edilen kalplerin sağ ventrikül dokusundaki TNF- α ve MMP-9 değerleri arasındaki ilişki.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda sıçan kalp nakli modelinde kullanılan Custodiol, St. Thomas ve del Nido kardiyopleji sıvılarının verici kalbine olan etkileri fizyolojik ve biyokimyasal açıdan ortaya konmaya çalışılmıştır. Bu amaçla; sıvıların ventrikül fonksiyonu üzerindeki etkileri için organ banyosunda kasılma gücü-atım hızları ölçülmüş ve hücre düzeyindeki etkilerini karşılaştırmak için ise oksidatif stres, inflamasyon ve doku yeniden modellemesi süreçleri değerlendirilmiştir. Klinikte sıklıkla kullanılan bu 3 çeşit kardiyoplejinin karşılaştırıldığı çalışmamız bu anlamda bir ilktir. Çalışmamızın ana bulgusu; St. Thomas ve del Nido kardiyopleji sıvıları hücre düzeyinde benzer bir etkiye sahip olup, Custodiol kardiyopleji sıvısı bu sıvılara göre daha zayıf koruma göstermektedir.

Kalp nakli çevresel, genetik ve fizyolojik birçok etkenle gelişen kalp dokusundaki hasarın son dönem tedavisi için kullanılan bir yöntemdir. Verici organın belirlenmesi süreci sırasında kan uyumu, doku uygunluğu, yaş ve geçirilen sağlık sorunları gibi birçok faktör değerlendirilir. Bu karmaşık süreçte en temel sorun nakil edilecek olan organın yeterli korunamamasıdır. Kalp cerrahisindeki gelişmelerle birlikte 1950’lerde iskemiye karşı ilk koruyucu teknikler geliştirilmeye başlanmıştır. Bretschneider tarafından geliştirilen kardiyopleji sıvısı (Custodiol) farmakolojik arrest kavramını ortaya atmıştır (Bretschneider, 1964). 1970’lerde cerrahideki ilerlemelerle birlikte kullanılan kardiyopleji sıvıları yenilenmiş ve hücre dışı iyon dengesinin korunması amaçlanarak St. Thomas kardiyopleji sıvısı geliştirilmiştir. Bu sıvının iyon içeriği plazmayla dengeli olarak uygun konsantrasyonda potasyum, kalsiyum ve magnezyum ile hazırlanmıştır. İlk olarak 1975’de cerrahide kullanılan St. Thomas kardiyopleji sıvısı daha sonraları geliştirilerek günümüzde klinikte sık kullanılan bir içeriğe sahip sıvı olmuştur (Brambridge ve diğ., 1977). Klinikte genellikle kan kardiyoplejisi olarak kullanılan del Nido kardiyopleji sıvısı 1980’lerde çocuk kalp cerrahisinde tek doz olarak etkili bir kardiyopleji geliştirmek amacıyla içeriği oluşturulmuştur. Yetişkin cerrahisinde yeni dönemde kullanılmaya başlanan del Nido kardiyoplejisinin bu alandaki hücresel süreçlere etkisi deneysel olarak henüz tam belirlenememiştir (del Nido, 1985; Kim ve diğ.,2014).

Nakil sürecinde dokunun iyi korunması ve saklanması, hücre hasarını en düşük seviyede tutmak başarılı bir sağ kalım süreci oluşturur. Verici organın korunması nakil başarısını

belirleyen ana faktördür. Kardiyoplejik sıvıların gerekliliği nakil sürecinden sonra ortaya çıkan patolojilerde kendini göstermiştir. Nakil edilecek kalp için en iyi koruma yöntemlerinden birisi soğuk kardiyopleji uygulama yöntemidir. Hipoterminin kalp ve diğer organlar için koruyucu olması kimyasalların reaksiyon hızının ısıyla orantılı olmasına dayanır. Enzim aktiviteleri yavaşlayacağı için besin elde etme süreci uzayacaktır. Organların metabolik ihtiyaçları azalacak ve perfüzyonun düşük olduğu durumlarda organ hasarında azalacaktır. Kardiyopleji uygulaması, hücre dışı alandaki iyon içeriği korumak ve zararlı atıkların etkisini azaltmak için de iyi bir yöntemdir (Jahania, 1999; Minasian, 2015). Hipotermi hücre koruyucu olmasına rağmen uzun dönemde iskemiyle birlikte hücresel hasar süreçleri başlatır. Hipotermiden dolayı oksidatif fosforilasyon zayıfladığı için enerji depoları tükenir. Bu durum iskemiye bağlı hücresel hasar süreçlerini başlatır. Miyokart fonksiyonlarının bozulmasına ve işlevini kaybetmesine neden olur. Bu nedenle, uygulanan miyokart korumasının amacı, hiperkalemik kardiyopleji sıvısı ile oluşturulan elektromekanik arrest ve hipotermi ile sağlanan bazal metabolik hızın azaltılmasıdır. İskemi ile birlikte artan oksidatif stres lipid peroksidasyonuna ve inflamatuvar ajanların aktivasyonuna neden olur. Hücre dışı matrikste bulunan enzimler oksidatif stres altındaki dokularda aktive olarak hücre hasar süreçlerine katılır. Nakil edilecek doku için bu süreçleri değerlendirmek önemlidir (Lefer, 2000; Agnic, 2015).

Sıçan kalp kası doku banyosu birçok araştırmada çeşitli süreçlerin etkilerinin değerlendirilmesi için kullanılan iyi bir modeldir. Yapılan çalışmalarda noradrenalin ve izoproterenol ile sağ ventrikülün kasılma performansı değerlendirilmiştir (Hernandez-Cascales, 2017). Çalışmamızda da benzer bir yaklaşımla kardiyopleji sıvılarının kalp kası üzerindeki doğrudan etkileri noradrenalin ve izoproterenol uygulamasıyla anlaşılmaya çalışmış ve Custodiol uygulanan grupta diğer sıvılara göre ventrikül kasılma kuvveti ve ventrikül atım hızı anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ayrıca düşük kasılma gücü düşük ATP düzeylerini takip etmiştir. Custodiol'ün farklı sıvılar ile karşılaştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Tek başına Custodiol ve kanla seyreltilerek kullanılan del Nido'nun karşılaştırıldığı Pereira do Carmo ve diğ. (2017) çalışmalarında üç saat iskemiden sonra dp/dt_{max} ve koroner direnç düzeyleri Custodiol uygulamasında düşük bulunmuştur. Çalışmamızda kan kullanılmadan da del Nido uygulamasının miyokart kasılma gücü açısından daha etkili olduğu ortaya konulmuştur. Dolayısıyla del Nido sıvısının Custodiale göre fonksiyonel koruyuculuğunun kandan gelmediğini düşündürmektedir.

Custodiol sıvısını iyileştirme adına çalışmalar bulunmaktadır. Loganathan ve diğ. (2015) yaptığı çalışmada Custodiol'ün miyokart fonksiyonu üzerindeki etkisi sol ventrikül sistolik basıncı ve dP/dt_{max} ile değerlendirilmiş ve sıvının koruyucu etkisinin ancak içerisinde katılan maddeler ile sağlanabileceği gösterilmiştir. Aynı şekilde Custodiol etkisi olexomin eklemesiyle sol ventrikül basıncı, dP/dt_{max} ve koroner akım hızı iyileştirilmiş ve bu iyileşme doku ATP düzeylerini takip etmiştir (Salameh ve diğ., 2017).

Ayrıca Yan ve diğ. (2010) çalışmalarında 8 saatlik uzun iskemiden sonra Custodiol ve bu sıvıya eklenmiş mitokondri ve sarkoplazmik retikulumdaki ATP duyarlı potasyum kanal blokerlerinin etkilerini karşılaştırmışlardır. Kanal blokerlerinin sıvıya eklenmesi tek başına Custodiol'e göre daha yüksek koroner akım, iyileşmiş mitokondriyal solunum fonksiyonları ve daha az troponin-I salınımına neden olmuştur. Miyokarttaki iskemik hasarına bağlı olarak artan doku ve serum troponin-I seviyeleri hasar belirleyicisidir. İzoproterenol veya farklı ajanlar ile oluşturulan iskemi modellerinde serum ve dokuda troponin düzeyleri ve protein ekspresyonu yüksek bulunmuştur (Bae ve diğ., 2016). Çalışmamızda da Custodiol uygulamasının kasılma gücünde yarattığı zayıflık ortaya konulmuş ve aerobik solunumun bir belirteci olan ATP düzeylerinin düşük bulunması ve yüksek troponin-I salınması ile de desteklenmiştir. Dolayısıyla bulgularımız tüm bu çalışmalar ile birlikte değerlendirildiğinde Custodiol sıvısının dokuda mitokondri hasarı yapmış olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonucu desteklemek için mitokondri enzim sistemlerinin de değerlendirilmesi gerekliliği açıktır.

Custodiol sıvısının sentetik kardiyoplejiler dışında kan kardiyoplejisi ile de karşılaştırılan yayınlar bulunmaktadır. Hoyer ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada izole aort kapak replasmanı (AVR) ameliyatlarında kalp arresti için kullanılan Custodiol ve kan kardiyoplejilerin etkilerini karşılaştırmışlardır. Gruplar diyabet, cinsiyet operasyon mortalitesi, operasyon sonrası renal fonksiyonlar ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu değerlendirildiğinde benzer sonuç vermiştir. Ancak kan kardiyoplejisinin azalmış sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu olan hastalar için faydalı olduğu görülmektedir.

Custodiol sıvısının diğer kardiyoplejilere göre daha iyi koruyucu olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Lee ve diğ. (2011) nin yaptığı çalışmada yaşlı ve genç verici kalpleri Celsior ve histidin-triptofan-ketagluterat (HTK-Custodiol) kardiyopleji sıvılarına göre karşılaştırılmıştır. Yaşlı grupta Custodiol kardiyopleji uygulanan vericilerde yüksek doku

ATP seviyeleri bulunmuştur. Dolayısıyla Custodiol kardiyoplejisi yaşlı bireylerde uygun olabilir.

Kardiyoplejik sıvılar tek başına uygulandığı gibi kan ile de birlikte kullanılabilir. Del Nido kan ile birlikte kullanılan sıvılardan birisidir. Govindapillai ve diğ. (2013) çalışmalarında kalp cerrahisinde yaşlı sıçan kalplerinin iskemi sonrası kalp fonksiyonları üzerine standart kan kardiyoplejisi ile del Nido kardiyoplejisini karşılaştırmışlar ve del Nido grubunun kalp debisi ve kasılma gücünün daha yüksek olduğunu, arrest sonrası spontan kasılmayı azaltarak troponin salınımını azalttığını belirlemişlerdir. Çalışmamızda del Nido sıvısının doğrudan etkisini ortaya koyabilmek için kan ile karıştırılmamıştır. Del nido uygulanan grupta Custodiol'e göre daha iyi kasılma performansı görülmüş, yüksek ATP düzeyleri bulunmuştur. Dolayısıyla del Nido sıvısı kan olmaksızın da daha iyi bir koruma göstermektedir.

Yetişkin cerrahisinde del Nido ve St. Thomas No.2 kardiyoplejilerinin karşılaştırıldığı çalışmada, del Nido kullanımı daha kısa kross-klemp ve kardiyopulmoner by-pass süresi sağladığı, ek doz kardiyopleji uygulamasına gerek kalmadığı belirtilmiştir. Ayrıca, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunu koruduğu ve cerrahi sonrası mortalite oranında St.Thomas'la karşılaştırıldığında daha iyi bir miyokart korumasına sahip olduğu değerlendirilmiştir (Mishra ve diğ., 2016). Deneysel çalışmamızda del Nido ve St. Thomas sıvıları arasında ATP, troponin-I ve kasılma gücü açısından hücrel ve fonksiyonel düzeyde anlamlı bir fark görülmemiştir.

Kardiyoplejinin neden olduğu arrest sırasında aerobik metabolizma zayıflar. Hem zayıflayan aerobik metabolizma hem de hücre içinde hidrojen iyonu birikmesinden dolayı anaerobik glikoliz ve ATP üretimi baskılanır. Bu nedenle, anaerobik glikoliz desteklenmelidir. St.Thomas ve del Nido kardiyopleji sıvıları hidrojen iyonlarının aşırı birikimini engellemek ve hücre içi pH'ı korumaya yardımcı olmak için bir tampon çözeltisi olarak sodyum bikarbonat içerir (Matte, 2012). Custodiol'e karşı St Thomas ve del Nido sıvılarının zayıf koruyucu etkide bulunması nedeni Custodiol sıvısının içindeki bikarbonat iyon eksikliğinden kaynaklanabilir.

Çalışmamızda kullandığımız kardiyopleji sıvılarının 4 saatlik iskemi sonrası hücrel inflamasyon, oksidatif stres ve miyokart dokusunun yeniden modellenmesi süreçlerine olan etkileri de değerlendirilmiştir. Custodiol'ün miyokart fonksiyonlarına olan olumsuz etkisi

hücresel süreçte de görülmüş ve doku TNF- α ve inkübasyon sıvısındaki troponin-I yüksek düzeyde bulunmuştur. Ayrıca, MMP-9 aktivitesi de yüksek bulunan grupta, TNF- α düzeyi ile MMP-9 aktivitesi pozitif ilişki göstermiştir. Doku ATP düzeyleri düşük bulunan grupta, ATP ile TNF- α düzeyi ve MMP-9 aktivitesi negatif ilişki göstermiştir. Dolayısıyla Custodiol dokuda ATP düzeyini düşürdükçe inflamasyon da o oranda artmış ve ilişkili olarak doku yeniden modellenmesi de devam etmiştir.

Sıçan kalp nakli modelinde Custodiol kardiyoplejisi ile uygulanan arrest ile 8 saatlik uzun iskemi süresi ve farklı sürelerde uygulanan reperfüzyon sonrası ROS ve antioksidan enzim aktivitelerinin belirlendiği çalışmada ciddi glutatyon kaybı ve lipid hidroperoksit (LOOH) oluşumu, sıçan kalplerinde nakil kaynaklı oksidatif stresi göstermiştir (Renner ve diğ.,2004). Ayrıca Lange ve diğ. (2008) çalışmalarında Custodiol ile 8 saat iskemi oluşturdıkları gruplarda oksidatif stres ve inflamasyon değerlendirmeleri yapılmış ve hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gen ekspresyonunda artma gösterilmiştir. Manju ve Nair (2006) çalışmalarında ise sol ventrikül papillar kasında H₂O₂ gibi ROS oluşumunun kasılma kuvvetini zayıflattığı gösterilmiş ve bu artış ATP üretiminin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla çalışmamızda bulduğumuz Custodiol'un kasılmadaki zayıflatıcı etkisinin, salınan ROS'un aracılık ettiğini ve bu süreç sonunda oksidatif stress ilişkili ATP üretimindeki baskılanma olarak açıklamaktayız.

Miyokartta meydana gelen hasar süreçleri inflamatuvar yanıtların oluşmasını sağlar. İskemik hasar ROS oluşumuna bağlı endotel hücrelerinde sitokin sentezine neden olmaktadır. Bu durum miyokart inflamasyonuna neden olur ve doku fonksiyonlarını kaybederek hücre ölümü süreci başlatılır. Önemli bir pro-inflamatuvar sitokin olan TNF- α kalp cerrahisinde ve nakil sonrası süreçte hasar parametresi olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, TNF- α artışı fonksiyon ile ilişkilendiren çalışmalar bulunmaktadır (Han ve diğ., 2014). Çalışmamızda da Custodiol uygulaması yapılan grubumuzda iskemi sonrası TNF- α artışı görüldü. Bu nedenle Custodiol'un inflamasyon yanıtı başlatarak matriksin yeniden modellenmesine sebep olduğu ve bu sürecin miyokart fonksiyonlarını da etkileyebileceği düşüncesindeyiz.

TNF- α , kalbin yeniden modellenmesine katkıda bulunan kronik kalp yetmezliğinin hasarında da aracı rol oynar. Sıçan kalp embriyonik hücrelerinde değerlendirilen bu yol artan TNF- α düzeyinin, MMP-9 mRNA ve pro-MMP-9'un protein ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Bu süreç farklı çalışmalarda da değerlendirilmişti (Bradham ve diğ., 2002). Zheng ve diğ.

(2016) kalpte iskemi sonrasında aktivasyonu artan MMP-9'un ESM bileşenlerini bozarak inflamasyona ve doku yeniden modellenmesine neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda da TNF- α ve MMP-9 aktivitesi arasındaki pozitif ilişki bu süreci ortaya koymuştur. Dolayısıyla Custodiol'un neden olduğu İnflamatuvar yanıt MMP-9 aktivitesinde artışa neden olarak matriksi değiştirmektedir.

Koruyucu bir tampon gibi görülen Custodiol kardiyopleji içeriğinde bulunan histidinin hasara yol açtığı gösterilmiştir (Rauen ve diğ., 2007). Böylece Custodiol kardiyoplejinin içeriğinde yeni düzenlemeler yapma gerekliliği oluşturmuştur. Yeni nesil Custodiol sıvıları geliştirilmeye başlanmıştır. Wu ve diğ. (2011) çalışmalarında fare kalplerinde Custodiol ve yeni geliştirilen içerisine demir şelatlar eklenmiş N-Custodiol kardiyoplejisi ile arrest oluşturmuş ve miyokart koruyucu etkileri değerlendirmiştir. N-Custodiol grubunda nakil sonrası kreatin kinaz ve laktatdehidrojenaz salınımı azalmış, kalp vurumu daha kısa sürede başlamıştır. Farklı bir çalışma da sıçan kalp nakli modelinde Custodiol ve N-Custodiol sıvılarının iskemik hasara ve organ korumasına etkilerini karşılaştırmak için Loganathan ve diğ. (2010) yaptığı çalışmadır. Koroner kan akımı ve sol ventrikül basıncı N-Custodiol grubunda iskemi sonrası 60 dk reperfüzyon döneminde anlamlı olarak artmıştır. Ayrıca doku ATP içeriğinde yüksek bulunmuştur. Ek olarak, Trescher ve diğ. (2013) çalışmasında da yeni model N-Custodiol kardiyoplejisinin sıçan kalp iskemisine karşı koruyucu etkisini değerlendirmiştir. İskemi sonrası reperfüzyon döneminde kalp fonksiyonları incelendiğinde, vuruş hacmi ve vuruş gücü N-Custodiol grubunda anlamlı olarak düzelmiştir ve doku ATP düzeyleri Custodiol grubuyla karşılaştırıldığında N-Custodiol grubunda yüksek bulunmuştur. Bu durum klasik Custodiol sıvısına göre yeni geliştirilen sıvının daha koruyucu olduğunu göstermiştir. Tüm bu bilgiler değerlendirildiğinde çalışmamızda kullandığımız Custodiol kardiyoplejinin hücrel hasar süreçlerinde kötü etkisi olduğu ve yeni geliştirilen N-Custodiol kardiyoplejisinin bu etkileri iyileştirebileceği görüşü yeni geliştirilecek olan kardiyoplejilere de fikir olmuştur (Kahn ve Schemmer, 2017).

Kalp cerrahisinde ve kalp naklinde çok sık kullanılan kardiyoplejik sıvıların sadece etkili bir cerrahi sağlama yönüyle değil hücrel hasar süreçlerine ve iskemiyeye karşı etkili bir koruma sağlama yönüyle de değerlendirilmesi gerekir. Çalışmamızın sonucunda kristaloid kardiyoplejik sıvısı olarak kullanılan Custodiol'un en zayıf korumaya sahip olduğunu, St. Thomas ve del Nido kardiyoplejisi ile karşılaştırıldığında inflamasyon, oksidatif stres ve

miyokart kasılma gücünde düşük koruma gösterdiğini belirledik. St.Thomas ve del Nido kardiyopleji sıvılarının hücresel ve fonksiyonel değişimlere karşı zararlı bir etkisinin bulunmadığı sonucunu bulgularımızdan elde ettik. Kardiyoplejik arrest sırasında etkili bir organ koruması desteği için kullanılan kardiyoplejik sıvıların iyon ve tampon içeriklerinin değerlendirilmesi gerektiği düşüncesindeyiz. İlerli düzey çalışmalar ile hasar süreçlerinin belirlenmesi ve gerekli durumlarda sıvı içeriklerinin iyi bir koruma için değiştirilmesi gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Agnic, I., N. Filipovic, K. Vukojevic, M. Saraga-Babic, M. Vrdoljak and I. Grkovic, 2015, Effects of isoflurane postconditioning on chronic phase of ischemia-reperfusion heart injury in rats, *Cardiovascular Pathology*, 24(2): 94-101.
- Ardehali, A., F. Esmailian, M. Deng, E. Soltesz, E. Hsich, Y. Naka, D. Mancini, M. Camacho, M. Zucker, P. Leprince, R. Padera and J. Kobashigawa, 2015, Ex-vivo perfusion of donor hearts for human heart transplantation (PROCEED II): a prospective, open-label, multicentre, randomised non-inferiority trial, *Lancet*, 385(9987): 2577-2584.
- Bae, H. K., H. Lee, K. C. Kim and Y. M. Hong, 2016, The effect of sildenafil on right ventricular remodeling in a rat model of monocrotaline-induced right ventricular failure, *Korean Journal of Pediatrics*, 59(6): 262-270.
- Bers, D. M., 2002, Cardiac excitation-contraction coupling, *Nature*, 415(6868): 198-205.
- Beyersdorf, F., 2004, Myocardial and endothelial protection for heart transplantation in the new millenium: lessons learned and future directions, *Journal of Heart and Lung Transplantation*, 23(6): 657-665.
- Bosman, F. T. and I. Stamenkovic, 2003, Functional structure and composition of the extracellular matrix, *Journal of Pathology*, 200(4): 423-428.
- Bradford MM, 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72:248-54.
- Bradham, W. S., B. Bozkurt, H. Gunasinghe, D. Mann and F. G. Spinale, 2002, Tumor necrosis factor-alpha and myocardial remodeling in progression of heart failure: a current perspective, *Cardiovascular Research*, 53(4): 822-830.
- Bradham, W. S., G. Moe, K. A. Wendt, A. A. Scott, A. Konig, M. Romanova, G. Naik and F. G. Spinale, 2002, TNF-alpha and myocardial matrix metalloproteinases in heart failure: relationship to LV remodeling, *American Journal of Physiology-Heart Circulatory Physiology*, 282(4): H1288-1295.
- Braimbridge MV, Chayen J, Bitensky L, Hearse DJ, Jynge P, Canković-Darracott S., 1977, Cold cardioplegia or continuous coronary perfusion? Report on preliminary clinical experience as assessed cytochemically, *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 74(6):900-6.
- Bretschneider, H. J. (1964). Survival time and recuperative time of the heart in normothermia and hypothermia. *Verh Dtsch Ges Kreislaufforsch* 30, 11–34.

- Careaga, G., D. Salazar, S. Tellez, O. Sanchez, G. Borrayo and R. Arguero, 2001, Clinical impact of histidine-ketoglutarate-tryptophan (HTK) cardioplegic solution on the perioperative period in open heart surgery patients, *Archives of Medical Research*, 32(4): 296-299.
- Carmo, H. P. d., K. Reichert, D. D. d. Carvalho, L. d. M. Silveira-Filho, K. Vilarinho, P. Oliveira and O. Petrucci, 2018, Lidocaine and Pinacidil Added to Blood versus Crystalloid Cardioplegic Solutions: Study in Isolated Hearts, *Brazilian journal of cardiovascular surgery*, 33(3): 211-216.
- Caus T, Izquierdo M, Lan C, Le Fur Y, Confort-Gouny S, Cozzone PJ, Bernard M. ,2001, Simultaneous study of metabolism and function following cardioplegic arrest: a novel method of evaluation of the transplanted heart in the rat, *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 20(5):575-82.
- Cheng, B., R. Xie, L. Dong and X. Chen, 2016, Metabolic Remodeling of Cell-Surface Sialic Acids: Principles, Applications, and Recent Advances, *Chembiochem*, 17(1): 11-27.
- Cobert, M. L., M. E. Merritt, L. M. West, C. Ayers, M. E. Jessen and M. Peltz, 2014, Metabolic characteristics of human hearts preserved for 12 hours by static storage, antegrade perfusion, or retrograde coronary sinus perfusion, *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 148(5): 2310-2315.e2311.
- Cobert, M. L., M. Peltz, L. M. West and M. E. Jessen, 2010, Importance of organ preservation solution composition in reducing myocardial edema during machine perfusion for heart transplantation, *Transplantation Proceedings*, 42(5): 1591-1594.
- Demir A., 2015, *Miyokard Korumasının Patofizyolojisi*, Kalp ve Anestezi, Dönmez A. (ed.), Bölüm 9, Intertıp
- del Nido PJ, Wilson GJ, Mickle DA, Bush BG, Rebeyka IM, Klement P, Harding R, Tait GA., 1985, The role of cardioplegic solution buffering in myocardial protection. A biochemical and histopathological assessment, *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 89(5):689-99.
- Dorn, G. W., 2nd, 2002, Adrenergic pathways and left ventricular remodeling, *Journal of Cardiac Failure*, 8(6 Suppl): S370-373.
- Eren E., Kıralı K., Güler M., ve Yakut C., 2004, Kalp Transplantasyonunda Verici Kalp Prezervasyonu, *Türk Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Dergisi*, 2004;12:145-150
- Frantz, C., K. M. Stewart and V. M. Weaver 2010, The extracellular matrix at a glance, *Journal of Cell Science*, 123(Pt 24): 4195-4200.
- Govindapillai, A., R. Hua, R. Rose, C. H. Friesen and S. B. O'Blens, 2013, Protecting the aged heart during cardiac surgery: use of del Nido cardioplegia provides superior functional recovery in isolated hearts, *Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery*, 146(4): 940-948.
- Granger, D. N. and P. R. Kvietys, 2015, Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept, *Redox Biology*, 6: 524-551.

- Guibert, E. E., A. Y. Petrenko, C. L. Balaban, A. Y. Somov, J. V. Rodriguez and B. J. Fuller, 2011, Organ Preservation: Current Concepts and New Strategies for the Next Decade, *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 38(2): 125-142.
- Han, J., D. Wang, B. Yu, Y. Wang, H. Ren, B. Zhang, Y. Wang and Q. Zheng, 2014, Cardioprotection against ischemia/reperfusion by licochalcone B in isolated rat hearts, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 34862-134862.
- Hernandez-Cascales, J., 2017, Resveratrol enhances the inotropic effect but inhibits the proarrhythmic effect of sympathomimetic agents in rat myocardium, *PeerJ*, 5: e3113.
- Hoenicke, E. M., D. S. Peterseim, C. T. Ducko, X. Sun and R. J. Damiano, 2000, Donor heart preservation with the potassium channel opener pinacidil: comparison with University of Wisconsin and St. Thomas' solution, *Journal of Heart and Lung Transplantation*, 19(3): 286-297.
- Hoyer, A., S. Lehmann, M. Mende, T. Noack, P. Kiefer, M. Misfeld, F. Bakhtiary and F. W. Mohr, 2017, Custodiol versus cold Calafiore for elective cardiac arrest in isolated aortic valve replacement: a propensity-matched analysis of 7263 patients, *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 52(2): 303-309.
- Jahania, M. S., J. A. Sanchez, P. Narayan, R. D. Lasley and R. M. Mentzer, Jr., 1999, Heart preservation for transplantation: principles and strategies, *Annals of Thoracic Surgery*, 68(5): 1983-1987.
- Kahn J, Schemmer P., 2017, Comprehensive Review on Custodiol-N (HTK-N) and its Molecular Side of Action for Organ Preservation, *Current Pharmaceutical Biotechnology*;18(15):1237-1248. doi: 10.2174/1389201019666180409165154.
- Kamoda Y, Fujino Y, Tanioka Y, Sakai T, Kuroda Y. , 2007, Ischemically damaged heart after preservation by the cavitory two-layer method as a possible donor in rat heart transplantation, *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 26(12):1320-5.
- Katz A.M., Physiology of the Heart, *Lippincott Williams & Wilkins*, New York, 2001.
- Kim, K., C. Ball, P. Grady and S. Mick, 2014, Use of del Nido Cardioplegia for Adult Cardiac Surgery at the Cleveland Clinic: Perfusion Implications, *Journal of Extra-Corporeal Technology*, 46(4): 317-323.
- Kotani, Y., J. Tweddell, P. Gruber, C. Pizarro, E. H. Austin, 3rd, R. K. Woods, C. Gruenwald and C. A. Caldarone, 2013, Current cardioplegia practice in pediatric cardiac surgery: a North American multiinstitutional survey, *Annals of Thoracic Surgery*, 96(3): 923-929.
- Krukenkamp, I. B. and S. Levitsky, 1996, Physiological and cellular mechanisms of myocardial protection, *The American Journal of Surgery*, 172(1): 79-84.
- Kumar, D. and B. I. Jugdutt, 2003, Apoptosis and oxidants in the heart, *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 142(5): 288-297.

- Kuralay F.,Çavdar Z., 2006, İnflamatuvar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Dergisi* ;16(3):143-152
- Lange, V., A. Renner, M. R. Sagstetter, M. Lazariotou, H. Harms, J. F. Gummert, R. G. Leyh and O. Elert, 2008, Heterotopic rat heart transplantation (Lewis to F344): early ICAM-1 expression after 8 hours of cold ischemia, *Journal of Heart and Lung Transplantation* 27(9): 1031-1035.
- Lee, S., C. S. Huang, T. Kawamura, N. Shigemura, T. R. Billiar, A. Nakao and Y. Toyoda, 2011,Histidine-tryptophan-ketoglutarate or celsior: which is more suitable for cold preservation for cardiac grafts from older donors?, *Annals of Thoracic Surgery*, 91(3): 755-763.
- Lefer, D. J. and D. N. Granger (2000). "Oxidative stress and cardiac disease, *The American Journal of Medicine*, 109(4): 315-323.
- Loganathan, S., S. Korkmaz-Icoz, T. Radovits, S. Li, B. Mikles, E. Barnucz, K. Hirschberg, M. Karck and G. Szabo, 2015, Effects of soluble guanylate cyclase activation on heart transplantation in a rat model, *Journal of Heart and Lung Transplantation*, 34(10): 1346-1353.
- Loganathan, S., T. Radovits, K. Hirschberg, S. Korkmaz, A. Koch, M. Karck and G. Szabo 2010, Effects of Custodiol-N, a novel organ preservation solution, on ischemia/reperfusion injury, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 139(4): 1048-1056.
- Madamanchi, A., 2007, Beta-adrenergic receptor signaling in cardiac function and heart failure, *McGill journal of medicine : MJM : an international forum for the advancement of medical sciences by students*,10(2): 99-104.
- Manju, L. and R. R. Nair, 2006, Magnesium deficiency augments myocardial response to reactive oxygen species, *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 84(6): 617-624.
- Marten K., Schmiedl A., Schnobe PA., and Richter J. (1999). Structural Protection of the Myocardial Capillary Endothelium By Different Forms of Cardiac Arrest and Subsequent Global Ischemia at 5°C. *Thoracic and cardiovascular Surgeon*; 47(4): 205-212 DOI: 10.1055/s-2007-1013145
- Matte, G. S. and P. J. del Nido, 2012, History and use of del Nido cardioplegia solution at Boston Children's Hospital, *Journal of Extra-Corporeal Technology*, 44(3): 98-103.
- McLaren, A. J. and P. J. Friend, 2003, Trends in organ preservation, *Trasplant International*, 16(10): 701-708.
- Minasian, S. M., M. M. Galagudza, Y. V. Dmitriev, A. A. Karpov and T. D. Vlasov, 2015, Preservation of the donor heart: from basic science to clinical studies, *Interactive Cardiovascular and Thoracics Surgery*, 20(4): 510-519.

- Mishra, P., R. B. Jadhav, C. K. Mohapatra, J. Khandekar, C. Raut, G. K. Ammannaya, H. S. Seth, J. Singh and V. Shah, 2016, Comparison of del Nido cardioplegia and St. Thomas Hospital solution - two types of cardioplegia in adult cardiac surgery, *Kardiochir Torakochirurgia Pol*, 13(4): 295-299.
- Overgaard, C. B. and V. Dzavik, 2008, Inotropes and vasopressors: review of physiology and clinical use in cardiovascular disease, *Circulation*, 118(10): 1047-1056.
- Peker M. , Karabayırlı S. , Özancı A., Çolak N., Demircioğlu Ri., Muslu B. , 2014 , Koroner Arter Baypas Cerrahisinde Soğuk Kan Kardiyoplejisi Potasyum Konsantrasyonu Üzerine Hipoterminin Etkisi, *Göğüs Kalp Damar Anestesi ve Yoğun Bakım Dergisi*, 20(1):16-20, 2014 doi:10.5222/GKDAD.2014.016.
- Pietersen, H. G., C. J. Langenberg, G. Geskes, A. Kester, S. de Lange, G. J. Van der Vusse, A. J. Wagenmakers and P. B. Soeters, 1999, Myocardial substrate uptake and oxidation during and after routine cardiac surgery, *Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery*, 118(1): 71-80.
- Renner, A., M. R. Sagstetter, M. E. Gotz, V. Lange, D. Bengel, H. Harms, P. Riederer and O. Elert, 2004, Heterotopic rat heart transplantation: severe loss of glutathione in 8-hour ischemic hearts, *Journal of Heart and Lung Transplantation*, 23(9): 1093-1102.
- Rosenbaum, D. H., M. Peltz, J. M. DiMaio, D. M. Meyer, M. A. Wait, M. E. Merritt, W. S. Ring and M. E. Jessen, 2008, Perfusion preservation versus static preservation for cardiac transplantation: effects on myocardial function and metabolism, *Journal of Heart and Lung Transplantation*, 27(1): 93-99.
- Sahin MA, Yucel O, Guler A, Doganci S, Jahollari A, Cingoz F, Arslan S, Gamsizkan M, Yaman H, Demirkilic U, 2011, Is there any cardioprotective role of Taurine during cold ischemic period following global myocardial ischemia?, *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 18;6:31. doi: 10.1186/1749-8090-6-31.
- Salameh, A., M. Keller, I. Dähnert and S. Dhein, 2017, Olesoxime Inhibits Cardioplegia-Induced Ischemia/Reperfusion Injury: A Study in Langendorff-Perfused Rabbit Hearts, *Frontiers in physiology*, 8: 324-324.
- Schumacher, S. M. and S. V. Naga Prasad, 2018, Tumor Necrosis Factor-alpha in Heart Failure: an Updated Review, *Current Cardiology Reports*, 20(11): 117.
- Sekaran, N. K., A. L. Crowley, F. R. de Souza, E. S. Resende and S. V. Rao, 2017, The Role for Cardiovascular Remodeling in Cardiovascular Outcomes, *Current Atherosclerosis Report*, 19(5): 23.
- Shah, S., G. Gnanasegaran, J. Sundberg-Cohon and J. R. Buscombe, 2009, *Chapter 1, The Heart: Anatomy, Physiology and Exercise Physiology, Integrating Cardiology for Nuclear Medicine Physicians: A Guide to Nuclear Medicine Physicians*. A. Movahed, G. Gnanasegaran, J. Buscombe and M. Hall. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 3-22.

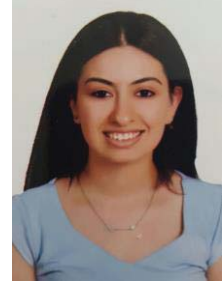
- Sydow G., 1985, A simplified quick method for determination of sialic acid in serum, *Biomedica Biochimica Acta*, 44(11-12):1721-3.
- Tolboom, H., A. Makhro, B. A. Rosser, M. J. Wilhelm, A. Bogdanova and V. Falk, 2015, Recovery of donor hearts after circulatory death with normothermic extracorporeal machine perfusion, *European Journal of Cardiothoracic Surgery*, 47(1): 173-179; discussion 179.
- Trescher K, Hasun M, Baumgartner A, Dietl W, Wolfsberger M, Hallström S, Podesser BK., 2013, New HTK-N46B cardioplegia provides superior protection during ischemia/reperfusion in failing hearts, *The Journal of Cardiovascular Surgery*, 54(3):413-21.
- Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. Cronin, M. Mazur and J. Telser, 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1): 44-84.
- Wu, K., T. R. Turk, U. Rauen, S. Su, T. Feldkamp, H. de Groot, I. Wiswedel, H. A. Baba, A. Kribben and O. Witzke, 2011, Prolonged cold storage using a new histidine-tryptophan-ketoglutarate-based preservation solution in isogeneic cardiac mouse grafts, *European Heart Journal*, 32(4): 509-516.
- Xiao, R. P., P. Avdonin, Y. Y. Zhou, H. Cheng, S. A. Akhter, T. Eschenhagen, R. J. Lefkowitz, W. J. Koch and E. G. Lakatta, 1999, Coupling of beta2-adrenoceptor to Gi proteins and its physiological relevance in murine cardiac myocytes, *Circulation Research*, 84(1): 43-52.
- Yağdı T., Nalbantgil S., Engin Ç., Zoghi M., Özbaran M., 2004, Kalp transplantasyonunda donör bakımı. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*;4: 339-45
- Yang, L. and T. Yu, 2010, Prolonged donor heart preservation with pinacidil: the role of mitochondria and the mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channel, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 139(4): 1057-1063.
- Yang, S., S. Mishra, L. Chen, J. Y. Zhou, D. W. Chan, S. Chatterjee and H. Zhang, 2015, Integrated glycoprotein immobilization method for glycopeptide and glycan analysis of cardiac hypertrophy, *Analytical Chemistry*, 87(19): 9671-9678.
- Zheng, X. Z., J. L. Zhou, J. Ye, P. P. Guo and C. S. Lin, 2016, Cardioprotective effect of novel sulphonamides-1,3,5-triazine conjugates against ischaemic-reperfusion injury via selective inhibition of MMP-9, *Chemical Biology and Drug Design* 88(5): 756-765.

Web sitesi kaynakları

- Dudley S., 2014, Introduction to Cardiovascular Physiology, medicine.emory.edu/cardio/labs/dudley/.../Cvphysio [Ziyaret tarihi: 26.11.2018]
- PHA 622, Receptor Regulation And Cardiovascular Function, http://www.uky.edu/~mtp/Receptor_Regulation [Ziyaret tarihi: 15.11.2018]

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Gülsüm KARDUZ
Doğum Yeri	Bakırköy
Doğum Tarihi	26.03.1993
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	0(553)-465-28-07
E-Posta Adresi	gulsum.karduz@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji Bölümü
Mezuniyet Yılı	17.06.2015

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Zooloji Programı

Doktora	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	Anabilim Dalı Adı
Programı	Program Adı

Makale ve Bildiriler

Ulugol H, Aksu U, Kocyigit M, Kilercik M, Karduz G, Okten M, Toraman F., 2018 Aug, Comparative effects of blood and crystalloid cardioplegia on cellular injury and oxidative stress in cardiovascular surgery, *Annals of Thoracic Cardiovascular Surgery*, Doi: 10.5761/Atcs.Oa.18-00113.

Can Mg, Ulugöl H, Güneş I, Aksu U, Tosun M, Karduz G, Vardar K, Toraman F. June 2018, Effects of alprazolam and melatonin used for premedication on oxidative stress, glyocalyx integrity and neurocognitive functions. *Turkish Journal Anaesthesiology and Reanimation* ;46(3):233-237. Doi: 10.5152/Tjar.2018.65475.

H Ulugol, Melis Tosun, M Okten, K Vardar, G Karduz, M Kilercik, U Aksu, M Senturk, C Alhan, F Toraman. April 2017. Elimination of hydroxyethyl starch (hes) when used as colloid priming in cardiovascular surgery. *Journal Of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. Volume 31, Supplement 1, Pages S25-S26.

Ulugol H, Gunes I., Tosun M. , Karduz G., Vardar K., Kilercik M., Okten M., Aksu U., Toraman F. April 2017. Op38 - the effects of alprazolam and melatonin used in pre-medication on oxidative stress, glyocalyx integrity and postoperative neuro-cognition disorders. *Journal Of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. Volume 31, Supplement 1, Page S44.

Presentation: Demonstration of the role of gender in reperfusion dynamics by laser speckle imaging system. Aksu U., Ulugöl H., Vardar K., Karduz G., Tosun M., Toraman F. 2016. *Turkish Anesthesiology and Reanimation Congress*.

Presentation: Karduz G., Vardar K., Aksu U., Toraman F. Evaluation of blood flow heterogeneity during reperfusion by using laser speckle imaging technique. *Acta Physiologica*, Vol.218, Pp.32-32, 2016