



T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA MİYOKARD
İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE ST.
THOMAS VE DEL NİDO KARDİYOPELEJİ
SOLÜSYONLARININ ETKİNLİĞİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

MERVE SERİN

PERFÜZYON TEKNİKLERİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR-2018

TEZ KODU:DEU.HSI.MSc-2016970077



T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA MİYOKARD
İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE ST.
THOMAS VE DEL NİDO KARDİYOPELEJİ
SOLÜSYONLARININ ETKİNLİĞİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

PERFÜZYON TEKNİKLERİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE SERİN

Danışman Öğretim Üyesi: Prof.Dr.Sadık Kıvanç Metin

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2018.KB.SAG.
017 sayı ile desteklenmiştir.

TEZ KODU:DEU.HSI.MSc-2016970077

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Perfüzyon Teknikleri
Anabilim Dalı, Perfüzyon Teknikleri Yüksek Lisans programı öğrencisi Merve
SERİN ‘SIÇANLARDA MİYOKARD İSKEMİ/REPERFÜZYON
MODELİNDE ST. THOMAS VE DEL NİDO KARDİYOPEJİ
SOLÜSYONLARININ ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI’ konulu
Yüksek Lisans tezini 28../12..2018 tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.

Prof.Dr.S.Kıvanç Metin

BAŞKAN

Dokuz Eylül Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Kıvanç S. Metin

Prof.Dr.Erdem Erinc Silistreli

ÜYE

Dokuz Eylül Üniversitesi

Tıp Fakültesi

E. Erinc

Prof.Dr.Tanzer Çalkavur

ÜYE

Ege Üniversitesi

Tıp Fakültesi

[Signature]

Dr.Öğr.Üyesi Tuğra Gençpınar

ÜYE

Dokuz Eylül Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Prof.Dr.Yüksel Atay

ÜYE

Ege Üniversitesi

Tıp Fakültesi

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
TABLO VE GRAFİK DİZİNİ.....	iii
ŞEKİL DİZİNİ.....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Miyokardiyal Koruma Tekniklerinin Tarihsel Gelişimi.....	6
2.2. Miyokart Fizyolojisi.....	7
2.2.1.Koroner Dolaşım Anatomisi.....	7
2.2.2.Miyokardın Morfolojik Yapısı.....	8
2.2.3.Miyokardın Uyarılma-Kasılma Mekanizması.....	9
2.2.4.Miyokardın Enerji Metabolizması.....	10
2.3.Miyokart İskemi Fizyopatolojisi ve Sonuçları.....	10
2.3.1.İskemik Hasara Duyarlılık.....	10
2.3.2.Miyokart Reperfüzyon Hasarı.....	11
2.3.3.Miyokardiyal Stunning (sersemleme).....	11
2.3.4.Reperfüzyon Aritmileri.....	12
2.3.5. Miyosit Ölümleri ve Nekroz.....	12
2.3.6.Endotel Disfonksiyonu.....	12
2.4.Miyokardiyal Koruma Yöntemleri.....	12
2.4.1.Hipotermi.....	13
2.4.2.Kalbin Durdurulması ve Cerrahi İhtiyaçlar.....	13
2.4.3.Kardiyopleji Çeşitleri.....	15
2.4.4.Kardiyopleji Uygulama Yolları.....	16
2.5.Kardiyak İskemi Markerları.....	17
2.6.Stromal Derived Factor(SDF1) ve İskemi Modifiye Albumin(IMA).....	18
2.6.1.Stromal-Derived Factor-1 (SDF-1).....	18
2.6.2.İskemi Modifiye Albumin (IMA).....	20

2.6.3.Albumin-Kobalt Bağlama Testi.....	22
2.7. Sıçanların Kalp Anatomisi ve İnsana Benzerlik Farklılık Yönleri.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	25
3.1. Araştırmanın Tipi.....	25
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı.....	25
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları.....	25
3.4.Çalışma Materyali.....	25
3.5.Araştırmanın Değişkenleri.....	25
3.6. Veri Toplama Araçları.....	26
3.7.Araştırmanın Planı ve Takvimi.....	30
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi.....	31
3.9.Araştırmanın Sınırlılıkları.....	31
3.10.Etik Kurul Onayı.....	31
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA.....	35
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	37
7. KAYNAKLAR.....	38
8. EKLER.....	47

TABLO VE GRAFİK DİZİNİ

Tablo 1: Miyokardiyal Korumanın Tarihsel Gelişimi.....	1
Tablo 2: Del Nido ve St Thomas Kristaloid Kardiyopleji Solüsyonları.....	16
Tablo 3: IMA ve SDF Değerlerinin Karşılaştırılması.....	33
Grafik 1: IMA ve SDF Değerlerinin Karşılaştırılması.....	34



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Koroner Dolaşım Anatomisi.....	7
Şekil 2: Troponin Kompleksi.....	9
Şekil 3: Uyarılma-Kasılma ve Gevşeme Mekanizması.....	10
Şekil 4: Kardiyopleji Uygulama Yolları.....	17
Şekil 5: SDF Metabolizması.....	19
Şekil 6: İskemi Modifiye Albumin.....	23
Şekil 7: Sıçan Kalbi.....	24

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

CPB: Kardiyopulmoner bypass

RCA: Sağ koroner arter

Cx: Sirkumfleks arter

SA: Sinoatrial nod

AV: Atrioventriküler nod

Ca: Kalsiyum

Asetil CoA: Asetil koenzim-A

ATP: Adenozin tri fosfat

MVO₂ : Miyokard oksijen tüketimi

CO₂: Karbon dioksit

O₂: Oksijen

DIC: Yaygın damar içi pıhtılaşma

K: Potasyum

Na: Sodyum

SDF: Stromal-derived faktör

IMA: İskemi modifiye albümin

EPC: Endotelial progenitör hücre

ACB: Albumin kobalt bağlama

Co: Kobalt

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca daima yol gösterici olan, tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen, tez projeminin hipotezinin kurulmasında, tüm deneylerin yapılmasında ve tezimin tamamlanıp yazılmasında her konuda desteğini hissettiğim değerli danışman hocam **Prof.Dr. Sadık Kıvanç Metin'e**;

Türkiye'de bir ilk olarak Perfüzyon Teknikleri Anabilim Dalının kurulmasında ve bu alanın akademide ilerlemesindeki katkılarından dolayı Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı ve Perfüzyon Teknikleri Anabilim Dalı kurucusu, bana akademik çalışmayı çok sevdiren rehberim kıymetli hocam **Prof.Dr. Erdem Erinç Silistreli** ve mesleğimizin duayenlerinden olan **Uzm. Perfüzyonist Nuran Ay Dereli'ye**;

Tez çalışmam için maddi kaynak sağlayan Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna;

Bilimsel Araştırma Projemin tüm aşamalarında yol gösteren, yöntemler öğreten ve laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Prof.Dr.Ayşe Semra Koçtürk'e**, tüm süreçte destek olan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı doktora öğrencileri **Belgin Sert Serdar** ve **Tuğba Erkmen'e**, Laboratuvar Hayvanları Anabilim Dalı Başkanı **Prof.Dr.Osman Yılmaz'a** ve ekibine ;

Lisansüstü eğitimim boyunca desteğini hep hissettiğim tıkaandığım noktalarda yoluma ışık tutan kıymetli hocam Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Öğr.Gör.Uzm.Dr.Cemal Hüseyin Güvercin'e** ve istatistiksel analiz hesaplamalarındaki katkılarından dolayı İstanbul Aydın Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı **Prof.Dr.Ayşe Canan Yazıcı Güvercin'e** ;

Deneylerime destek veren **Uzm.Dr.Nijat Süleymanov** ve **Figen Saygılı'ya** ; dönem arkadaşlarım **Emre Üstel** ve **Şeyhmus Yersel'e** ; lisansüstü eğitimimin bana kattığı güzel dostum **Şefika Kılıç'a**

Dokuz Eylül Üniversitesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı ekibine; lisansüstü eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen Aydın Devlet Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi ekibine; **Uzm. Dr. Özer Uyguç** ve **Uzm.Dr.Göksel Kılıcı 'ya**

Gelişimimdeki katkılarından dolayı tüm bilim insanlarına; beni bilgileriyle donatan bugünlere gelmemde büyük emekleri olan saygıdeğer hocalarıma;

Hayatıma anlam katan, en güzel renklerim nadide dostlarıma;

Varlığımı adadığım, her anımda yanımda olan, dünyadaki en kıymetli varlıklarım anneciğim ve babacığım;

Sevgi, saygı ve tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

Merve Serin

SIÇANLARDA MİYOKARD İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE ST. THOMAS VE DEL NIDO KARDİYOPLEJİ SOLÜSYONLARININ ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Merve SERİN

**Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Perfüzyon Teknikleri Anabilimdalı,
Narlıdere, İzmir.**

ÖZET

Amaç: Açık kalp cerrahisi sonrası hastaların postoperatif dönemdeki mortalite ve morbidite oranı operasyon sırasında iskekiye bağı oluşan reperfüzyon hasarıyla yakından ilişkilidir. Açık kalp ameliyatlarında aortik kros klemp sonrası kalbi diyastolde durdurmak, miyokardı korumak ve iskekiye/reperfüzyon hasarını önlemek için kardiyopleji solüsyonuna ihtiyaç vardır. Bu çalışmada açık kalp operasyonlarında kullanılan iki kardiyopleji solüsyonunun miyokart hücrelerinde hasar markeri olan SDF-1 proteininin ve iskekiye modifiye albuminin miyokart dokusundaki düzeylerine etkilerinin karşılaştırılması planlanmıştır.

Yöntem: Deney hayvanı çalışmasında DEÜ Multidisiplin Laboratuvarı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 25/2017 protokol numarası ile etik kurul onayı alındı. Deney hayvanları DEU Multidisiplin Laboratuvarından sağlandı. Ağırlıkları 200-300 g arasında değışen Wistar albino tipi 21 adet dişi sıçanlardan rastgele seçilerek 3 grup oluşturuldu.

Grup 1 (n:7): Sham grubu (4ml serum fizyolojik) intrakardiyak

Grup 2 (n:7): Geleneksel solüsyon St.Thomas (Plegisol) .(4 ml solüsyon) intrakardiyak

Grup 3(n:7): Yeni nesil solüsyon del Nido .(4 ml solüsyon) intrakardiyak

Tüm gruptaki sıçanlar 45 mg/kg Ketamin/ 7 mg / kg Xylazin intraperitonel uygulama yoluyla anestezi altına alındı. Denekler supin pozisyonu verilerek tespit edildi. Daha sonra göğüs bölgesi tıraş-dezenfeksiyon yapılarak asepsi sağlandı. Sıçanlarda sternotomi yapılarak kalbe ulaşıldı. Kalp çalışırken atriumdan heparinize edildi. Tüm gruptaki sıçanlara sternotomi yapıldı, aortaya kros-klemp konularak kalpte kontrollü iskekiye yaratıldı. Kros-klempin ardından aort kökünden branül yardımıyla 4 ml kardiyopleji verilerek arrest sağlandı. Reperfüzyondan sonra kros-klemp kaldırılıp kalp tamamen alınarak denekler sakrifiye edildi. Miyokart dokuları sıvı azot ile dondurularak işlem tamamlandı.

Bulgular: Açık kalp cerrahisi vakalarında uygulanan geleneksel kardiyopleji solüsyonu St.Thomas (Plegisol) ile yeni nesil kardiyopleji solüsyonu del Nido oksidatif stres markerları iskemi modifiye albümin (IMA) ve stromal derived faktörün (SDF1) miyokardiyal iskemi/reperfüzyon modelinde doku düzeyinde seviyelerine bakıldı.SDF1 analiz değerlerine bakıldığında; kontrol grubunun SDF1 değeri $33,221 \pm 16,558$, plegisol grubunun SDF1 değeri $24,114 \pm 22,470$ ve del Nido grubun SDF1 değeri $35,007 \pm 23,365$ olarak bulundu ($p=0,456$). IMA analiz değerlerine bakıldığında; kontrol grubunun IMA değeri $99,790 \pm 92,246$, plegisol grubunun IMA değeri $257,587 \pm 98,347$ ve del Nido grubun IMA değeri $236,918 \pm 118,376$ olarak bulundu ($p=<0,05$).

Sonuç: Hem St.Thomas uygulanan grupta hem de del Nido uygulanan grupta miyokardiyal koruma etkinliği açısından karşılaştırma yapıldığında anlamlı bir fark saptanmadı.

Anahtar Sözcükler: Miyokardiyal koruma, iskemi/reperfüzyon hasarı, St. Thomas Kardiyopleji, del Nido Kardiyopleji, oksidatif stress

COMPARISON OF THE EFFICACY OF ST.THOMAS AND DEL NIDO CARDIOPLEGIA SOLUTIONS IN A MYOCARDIAL ISCHEMIA/REPERFUSION MODEL IN RATS

Merve SERİN

Dokuz Eylül University Graduate School of Health Sciences Perfusion Techniques
Narlıdere, İzmir.

ABSTRACT

Objective: Postoperative mortality and morbidity rates of patients after open heart surgery are closely related to ischemia-induced reperfusion injury. In open heart surgeries, cardioplegia solution is needed to stop the heart in diastole after aortic cross clamp, to protect the myocardium and to prevent ischemia / reperfusion injury. In this study, it is planned to compare the effects of two cardioplegia solutions used in open heart operations on the myocardial damage markers SDF-1 protein and ischemia modified albumin levels in myocardial tissue.

Method: Ethical committee approval was obtained in the experimental animal study with the protocol number 25/2017 of the Animal Experiments Ethics Committee of DEU Multidisciplinary Laboratory. Experimental animals were obtained from the DEU Multidisciplinary Laboratory. Wistar albino type rats were randomly selected from 3 groups.

Group 1 (n: 7): Sham group (4ml physiological saline solution) intracardiac

Group 2 (n: 7): Traditional solution St.Thomas (Plegisol). (4 ml solution) intracardiac

Group 3 (n: 7): new generation solution del Nido (4 ml solution) intracardiac

Rats in all groups were anesthetized with 45 mg / kg Ketamine / 7 mg / kg xylazine intraperitoneally. Subjects were detected by giving a supine position. Then, asepsis was provided by shaving and disinfection. The heart was reached by sternotomy in rats. It was heparinized from the atrium while the heart was running. All rats in all groups undergone sternotomy. The rats in all groups were placed in the aorta with a cross-clamp and controlled ischemia was created in the heart. Following the cross-clamp, 4 ml of cardioplegia was provided with the help of a branule from the aortic root. After reperfusion, the cross-clamp was removed and the heart was completely sacrificed. The myocardial tissues were frozen with liquid nitrogen and the procedure was completed.

Results: Cardioplegia solution with traditional cardioplegia solution in St. Thomas (Plegisol) and new generation cardioplegia solution del Nido oxidative stress markers ischemia modified

albumin (IMA) and stromal derived factor (SDF1) were evaluated in myocardial ischemia / reperfusion model. When the analysis values are examined; SDF1 value of the control group was found to be $33,221 \pm 16,558$, the SDF1 value of the pleisol group was $24,114 \pm 22,470$ and the SDF1 of the del Nido group was $35,007 \pm 23,365$ ($p = 0.456$). When IMA analysis values are examined; The IMA value of the control group was $99,790 \pm 92,246$, the IMA value of the pleisol group was $257,587 \pm 98,347$ and the IMA value of the del Nido group was found as $236,918 \pm 118,376$ ($p = <0.05$).

Conclusion: There was no significant difference between the groups in both the St.Thomas group and the del Nido group in terms of myocardial protection efficiency.

Keywords: Myocardial protection, ischemia / reperfusion injury, St.Thomas cardioplegia, del Nido cardioplegia, oxidative stress

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Açık kalp cerrahisinin uygulanmaya başlamasından günümüze kadar üzerinde en fazla durulup araştırma yapılan konulardan birisi de miyokardiyal koruma olmuştur. Miyokardiyal koruma kalp cerrahisinin önemli bir unsurudur. Açık kalp cerrahisi sonrası hastaların postoperatif dönemdeki mortalite ve morbidite oranı operasyon sırasında iskemiye bağlı oluşan reperfüzyon hasarıyla yakından ilişkilidir. Kontrollü iskemi sonrası belirli protokollerle kardiyopleji solüsyonu verilerek miyokardiyal koruma amaçlanır. İyi bir miyokardiyal koruma elektif arest döneminde hücrenin fonksiyonel yapısının bozulmaması, enerji depolarının korunması, reperfüzyon hasarının önlenmesi ile miyokart hasarının engellenmesine dayanır.

Miyokardiyal koruma stratejileri, klinikler arasında farklılık gösterse de yaygın kabul gören yaklaşımda, hipotermi ile metabolik aktivitenin azaltılması ve kalpte elektromekanik aktivitenin durdurulması hedeflenir. Bu şekilde miyokarda sunulan enerji ile miyokardın ihtiyacı olan enerji arasında denge kurulmaya çalışılır.

Miyokardiyal koruma yöntemleri üzerinde yapılan çalışmalar sayesinde kardiyopleji solüsyonlarının içerikleri, uygulama yöntemlerinin geliştirilmesi ve hipotermi katkısıyla açık kalp cerrahisinde iyi sonuçlar elde edilmesine rağmen hala ideal bir miyokardiyal koruma yönteminin olduğunu söylemek güçtür. Yapılan çalışmalar iskeminin patofizyolojisine ve reperfüzyonun doğasına hakim olarak bu alanda yeni bilimsel gelişmelere olanak sağlamıştır. İskemiye maruz kalan hücrelerdeki erken dönem değişiklikler, hücrelerin geliştirdikleri adaptif cevap ve endojen protektif mekanizmaların varolduğu gösterilmiştir.

Bu çalışma kapsamında deney hayvanı üzerinde miyokardiyal iskemi/reperfüzyon modeli oluşturulup açık kalp cerrahisinde geleneksel olarak kullanılan St.Thomas kardiyopleji solüsyonu ile yeni nesil del Nido kardiyopleji solüsyonu etkinliği karşılaştırılmıştır.

Elde edilen verilerin ışığında operasyon bazında değişen durumlara, mümkün olan en iyi yaklaşımı sunmak hedeflenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Miyokardiyal Koruma Tekniklerinin Tarihsel Gelişimi

Miyokardın perioperatif dönemde korunma düşüncesi ilk olarak Bigelow tarafından 1950 yıllarında ortaya atılmıştır. Bigelow köpeklerde hipotermi ile miyokardı korumanın mümkün olduğunu göstermiştir (1). 1953 yılında John Gibbon kalp-akciğer makinasını ilk kez başarılı bir şekilde kullanarak o dönemlerde imkansız gibi görünen kardiyopulmoner bypassı (CPB) hayata geçirmiştir (2). 1955 yılında Mayo Klinikten Kirklin ve arkadaşları, John Gibbon tarafından kullanılan kalp akciğer makinasına benzer bir makina kullanarak ameliyat edilen olgularda, sağ kalım oranını %50 olarak bildirmişlerdir. Kirklin'in bir dönüm noktası olan yazısında, bu sistemin kullanılmasının intrakardiyak cerrahi için güvenilir bir klinik araç olduğu sonucuna varılmıştır (3). Böylece kardiyak cerrahinin modern çağı başlamış, miyokardiyal koruma yöntemleri de vücut dışı dolaşım birlikteliğinde gelişmeye devam etmiştir (Tablo 1).

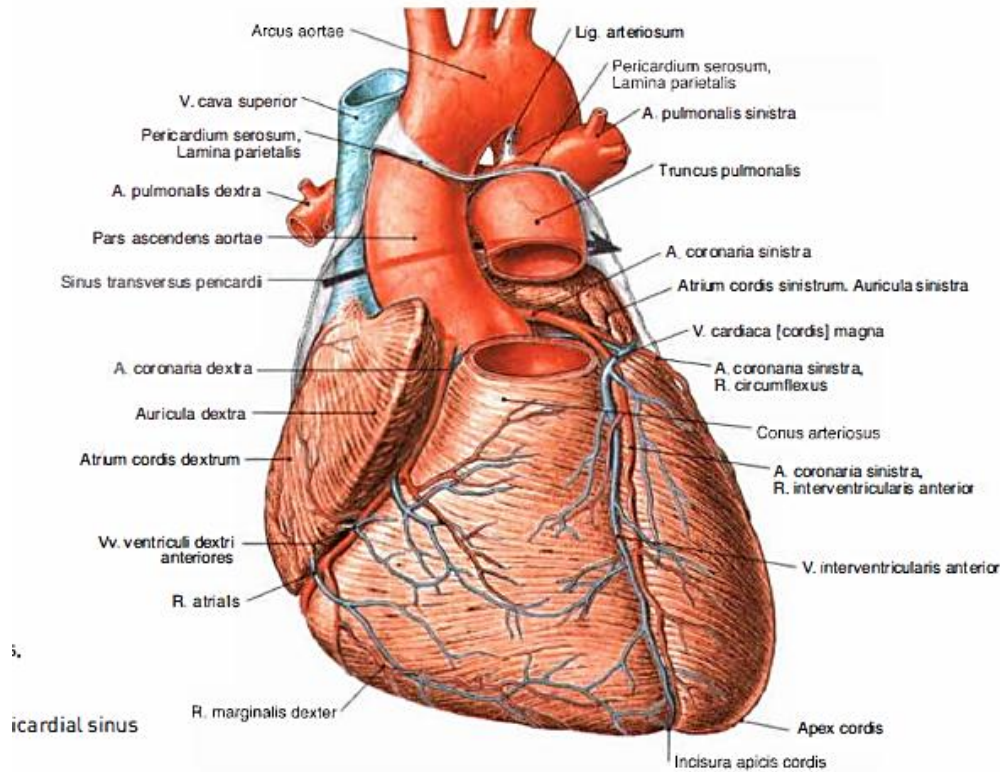
Bigelow	1950	Köpeklerde hipotermi uygulaması
Lewis, Taufic	1952	İnsanlarda hipotermi ve inflow oklüzyonla ASD tamiri
Swan H	1953	İnsanda hipotermik arrest
Melrose DG, Bentall HH	1955	Köpeklerde geri dönüşümlü kimyasal arrest
Lillehei CW	1956	Koroner arter kanülasyonu ile hipotermik kristaloid kardiopleji
Lam CR	1957	Kardiopleji teriminin bilinen ilk kullanımı
Gerdobe F, Melrose DG	1958	İnsanda potasyum sitrat ile kardiyak arrest oluşturma
McFarland JA	1960	Aralıklı aort oklüzyonu ile miyokardiyal koruma
Bretschneider HJ	1964	Düşük sodyumlu, kalsiyumsuz procain içeriklisolüsyon ile kardiyak arrest
Gay WA, Ebert PA	1973	Köpek kalbinde hücrel hasar olmaksızın potasyum solüsyonu ile 60dk arrest sağlama
Hearse DJ, Braimbridge MV	1975	St Thomas I tanımlanması ve ilk klinik kullanımı
Buckberg GD	1979	Kan kardioplejisi kullanımı
Akins CW	1984	Kardioplejisiz hipotermik fibrillatuvar arrest ile koroner revaskülarizasyon
Murray CE	1986	İskemik ön hazırlama(preconditioning)
Lichtenstein SV, Salerno TA	1991	Devamlı sıcak kan kardioplejisinin klinik faydaları

Tablo 1: Miyokardiyal Korumanın Tarihsel Gelişimi (4)

2.2.Miyokart Fizyolojisi

2.2.1.Koroner Dolaşım Anatomisi

Koroner dolaşım anatomisi, arteriyel ve venöz sistemlerle bunlar arasındaki bağlantılardan ibarettir. Koroner arterler aort ile kapiller yatak arasındaki damar yollarıdır. Sağ ve sol olmak üzere iki büyük koroner arter bulunur. Kalbi besleyen kan asıl olarak epikardiyal koroner arterler ile kalbe ulaşır. Hangi koroner arterin baskın olduğuna, posterior desendan arterin köken aldığı yere göre karar verilir. Kişiden kişiye göre değişebilmektedir. Posterior desendan arter %90 sağ koroner arterden (RCA), %10 sirkumfleks arterden (Cx) köken alır. Kalp her diastolde miyokardı kanlandırır ve en son subendokardiyal miyokarda ulaşır. Sinüs nodunu besleyen SA nodu arteri insanların %50 den fazlasında RCA' nın dalyken diğerlerinde CX' in dalıdır. AV nodun arteri %90 RCA dan köken alırken %10 CX den oluşabilir. His demeti sol anterior desendan ve posterior desendan arterin septal dalları ile beslenerek çift yoldan kanlanır (5,6) (Şekil 1).



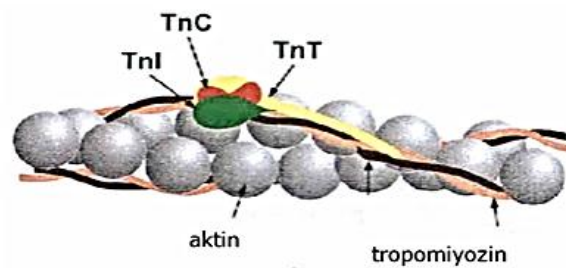
Şekil 1: Koroner Dolaşım Anatomisi (6)

2.2.2.Miyokardın Morfolojik Yapısı

Kalp kası hücreleri, tipik bir memeli hücresi ile içerdikleri organeller bakımından benzerdir, fakat aynı zamanda hücreye bağlanan ayrıntılı bir protein iskeleti içermeleri bakımından farklılaşmaktadır. Matriks içindeki proteinler tarafından kuvvet oluşturma, hücrelerin büzülmesine ve kalbin kanın pompalanmasına yol açar. Memeli kalp hücreleri kabaca silindirik yapıdadır. Kardiyak miyozitlerin çapları 10-20 mm arasında uzunlukları 50-100 mm kadardır. Bir miyozit, miyoflamentler içeren miyofibril bantlarında oluşmuştur. Kuvvet esas olarak hücrenin uzun eksenine boyunca üretilir.

Miyofibriller miyozitlerin temel kontraktıl ünitesi olan sarkomer olarak adlandırılan tekrarlayan ünitelerden oluşur. Sarkomer iki Z hattı arasındaki yapılar olarak adlandırılırlar. İki Z hattı arası uzunluk insan kalplerinde yaklaşık 1,6-2,2 μ kadardır. Sarkomerler aktin ve miyozin filamentlerinden oluşur. Bu iki filament arasındaki fiziksel ve kimyasal etkileşimler miyozitlerin kontraksiyonuna neden olur (7).

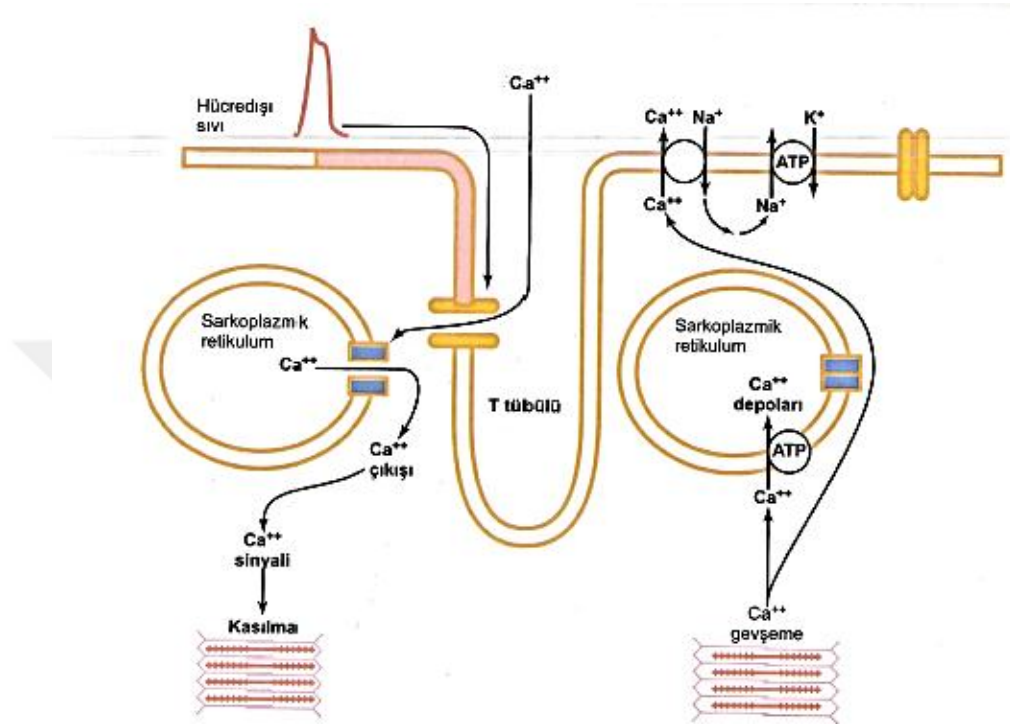
Sarkomerdeki kalın filament miyozin, ince filament aktin olarak adlandırılır. İnce filament 3 farklı proteinden oluşmaktadır. Aktin tropomiyozin ve troponinden oluşan bu yapı düzenleyici kompleks olarak da adlandırılmaktadır. Tropomiyozinlere düzenli olarak bağlanan troponin kompleksinin 3 farklı alt ünitesi vardır. Troponin-T tropomiyozine bağlanmıştır, troponin-C kasılma-gevşeme esnasında kalsiyumun (Ca^{++}) bağlantı yeridir ve troponin-I miyozin ve aktinin bağlanmasını inhibe eder (8) (Şekil 2).



Şekil 2: Troponin Kompleksi

2.2.3.Miyokardın Uyarılma-Kasılma Mekanizması

Miyositlerin yüzeyinde oluşan aksiyon potansiyeli kalp kasında kasılmayı oluşturur. Bu olayda Ca^{++} iyonu çok önemli role sahiptir (9). Kasılmayı aşağıdaki şekil ile özetleyecek olursak (Şekil 3) ;



Şekil 3 : Uyarılma-Kasılma ve Gevşeme Mekanizması (8)

Kasılma mekanizması kalp kasında iskelet kasından farklı olup bu farklılık yapısal özelliklerinden kaynaklanmaktadır.

Aksiyon potansiyeli zar üzerinde ilerlerken eş zamanlı olarak transvers tübüllerin zarları boyunca kas lifinin iç kısımlarına kadar yayılır. T tübüllerindeki aksiyon potansiyeli sarkoplazmik retikulumun zarlarını etkiler ve Ca^{++} iyonları serbest kalır.

Saniyeler içinde miyofibrillere difüze olan Ca^{++} iyonları aktin ve miyozinin birbiri üzerinde kaymasını sağlayan kimyasal tepkimeleri başlatır. Kasılmanın kuvveti Ca^{++} iyonu ile ilişkilidir.

Kalbin aksiyon potansiyelindeki platonun bitiminde Ca^{++} iyonlarının liflere akışı son bulur ve sarkoplazmadaki Ca^{++} iyonları hızla sarkoplazmik retikuluma geri pompalanır. Aktif taşıma ile gerçekleştirilen bu olay sayesinde kalp kasındaki kasılma durur ve bir sonraki aksiyon potansiyeline hazırlanmış olur (10).

2.2.4.Miyokardın Enerji Metabolizması

Miyokartta oksijen sunumu ve ihtiyacı arasında bir dengesizlik meydana geldiğinde oluşan miyokart iskemisi sistemi anaerobik metabolizmaya kaydırır. Anaerobik metabolizmanın son ürünleri ise hızlı bir asidoza ve akabinde miyokart hasarına sebep olur.

Aerobik glukoz metabolizmasında glukoz ilk önce pirüvata, sonra asetil koenazim-A (Asetil CoA) ya dönüştürülmektedir. Asetil CoA mitokondride Krebs döngüsüne katılarak su ve karbondioksite kadar parçalanarak enerji elde edilir. Her glikoz molekülü yıkımından 38 ATP elde edilir. Bunun 36 ATP si oksidatif fosforilasyonla 2 ATP si glikoliz yolu ile gerçekleşir. Sistem anaerobik metaolizmaya kaydığında yalnızca 2 ATP elde edilir ve son ürün laktat olarak açığa çıkar.

İnsan kalbi istirahat halinde vücudun oksijeninin %7 sinden fazlasını tüketmektedir. Miyokardın oksijen tüketimi koroner kan akımı, arteriyal ve koroner sinüs kan örnek içerikleri bilindiği takdirde hesaplanabilmektedir. Miyokart oksijen tüketimi kalp hızı, *stroke* volüm (bir sistol esnasında damarlara pompalanan kan miktarı) ve inotropik faktörlere bağlıdır (11).

Kalp cerrahisi sırasında miyokart oksijen tüketimi değişiklik gösterir. Buckberg ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada boş atan kalp, fibrile kalp ve arrest halindeki kalbin oksijen tüketimleri karşılaştırılmıştır. En yüksek tüketim normotermik fibrilasyonda en düşük ise hipotermik hiperkalemik arrest halinde olduğu bulunmuştur (12).

2.3.Miyokart İskemi Fizyopatolojisi ve Sonuçları

2.3.1.İskemik Hasara Duyarlılık

İskemi miyokartta hızlı bir metabolik bozulmaya yol açar. Yüksek enerjili fosfat depoları hızlı bir şekilde boşalır ve ATP rezervlerinin yaklaşık %50 si iskeminin ilk 10 dakikası içinde kaybedilir. Sonraki dakikalarda azalmış miyokardiyal kontraktilite ortaya çıkar. Normotermik iskemi halinde yarım saat içinde geri dönüşümsüz miyokardiyal hasar oluşmaktadır (13).

Kalbin subendokardiyal kası iskemik hasara en duyarlı kısımdır. Özellikle sol ventrikül subendokardiyal kısmında kan akımı sadece diastolde gerçekleşmektedir (14).

2.3.2.Miyokart Reperfüzyon Hasarı

Reperfüzyon hasarı anormal miyokard metabolizmasından kaynaklanmaktadır. Ameliyat esnasında reperfüzyonun yanı sıra sitotoksik serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Bu radikaller hücrelerin membran bütünlüğünü bozarak reperfüzyon patogenezinde önemli rol oynamaktadır.

Erken reperfüzyon, iskemik miyokardın hayatta kalması için mutlak bir ön koşuldur. Ancak reperfüzyonun kendisi, tek başına iskemi tarafından üretilenin ötesinde hızlı ve ek miyokardiyal hasara yol açabilir. Reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan bu süreç reperfüzyonla ilişkili patolojilerin bir spektrumuyla sonuçlanmaktadır (15).

Yapılan çalışmalar intraoperatif miyokardiyal hasarın önlenmesi için miyokardiyal reperfüzyon fazının özelliklerine odaklanılması gerektiğini göstermiştir (16).

Bir koroner arterin trombotik tıkanmasının, zamana bağlı bir şekilde subendokardiyumdan subepikardiyuma uzanan geri dönüşümsüz miyokardiyal hücre hasarının bir dalgası ile sonuçlandığı bilinmesi, akut miyokard enfarktüsü için reperfüzyon tedavisinin başlatılmasına yol açmıştır (17).

2.3.3.Miyokardiyal *Stunning* (sersemleme)

Klinik olarak reperfüzyon hasarı, *no-reflow* fenomeni de dâhil olmak üzere miyokardiyal *stunning*, reperfüzyon aritmisi, miyosit ölümü ve endotelial ve mikrovasküler disfonksiyon ile kendini göstermektedir.

Miyokardiyal *stunning* reperfüzyon hasarının en iyi göstergesi olup 1975 yılında Heyndrickx ve arkadaşları tarafından (18) tanımlanmıştır. Miyokardiyal nekroz dâhil olmak üzere geri dönüşümsüz hasara rağmen iskemik dokunun reperfüzyondan sonra devam eden, uzamış postiskemik mekanik disfonksiyon olarak tarif edilebilir (19).

Miyokardiyal *stunning*, global iskemik miyokardın reperfüzyonundan sonra (kardiyak cerrahi sırasında kardiyak arrest) veya bölgesel iskemi ve reperfüzyon (peruktan girişim, tromboliz, kararsız angina ve stres yaratan egzersiz ile oluşturulan angina) ile oluşabilir. Tekrarlayan miyokardiyal *stunning* iskemik kardiyomiyopatinin gelişmesine sebep olabilmektedir (20).

2.3.4.Reperfüzyon Aritmileri

İskemik dönemden sonra kalbin reperfüzyonu potansiyel olarak öldürücü aritmilere yol açabilmektedir (21). Antegrad akımının spontan restorasyonunu takiben ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyon ani ölümlerin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır (22). Serbest oksijen radikallerinin ventriküler aritmilerin oluşumunda anahtar rol oynayabileceği öne sürülmektedir (23).

2.3.5. Miyosit Ölümleri ve Nekroz

İskemi sırasında kardiyomiyosit hücre ölümü, iskemi olarak adlandırılır, reperfüzyon sırasında miyokardiyal reperfüzyon hasarının bir parçasıdır.

Kardiyomiyosit kontraktürünün (kasılma bandı nekrozu) gelişimi, reperfüzyonun en erken evresi olan dakikalar içerisinde nekrotik kardiyomiyosit yaralanmasının birincil nedeni gibi görünmektedir. Daha sonra yani dakikalar ile saat arası süreçte çeşitli ek nedenlerle birlikte nekroz veya apoptoz ile hücre ölümünün daha fazla artmasına yol açabilmektedir (24). Sonuç olarak miyokart kardiyomiyosit ölümü olmaksızın şiddetli ve hatta total miyokardiyal iskeminin kısa dönemlerine (15 dakikaya kadar) dayanabilir (25,26).

2.3.6.Endotel Disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu, endotel bağımlı vazokonstriktörlere verilen cevabın abartılarak endotel bağımlı vazodilatasyona yol açması olarak tanımlanmaktadır. Endotelin-1 ve oksijensiz radikaller gibi güçlü vazokonstriktörlerin artması, koroner vazokonstriksiyonu artırır ve kan akışını azaltır. Ayrıca, bu şekilde endotel disfonksiyonu, reperfüzyon hasarının önemli araçları olan trombositler ve nötrofillerin aktivasyonu ile nitelendirilen bir protrombotik fenotipin tanımlanmasını kolaylaştırır (27).

2.4.Miyokardiyal Koruma Yöntemleri

Kalp cerrahisi sırasında kardiyopulmoner bypass ile kalp ve akciğer dolaşımdan ayrılır. Kalbin dolaşımının durdurulması miyokardiyal iskemiye sebep olur. Bu iskemiye ek olarak, dokunun yapısını kötüleştirebilen reperfüzyon hasarı üzerine organ işlev bozukluğu ortaya çıkar. Yıllar boyunca çeşitli stratejiler bu iskemi/reperfüzyon hasarının derecesini azaltmayı veya modüle etmeyi amaçlamıştır (28).

Yapılan çalışmalarda yeterli koroner perfüzyon sağlandığında vücut dışı dolaşımın 3 saate kadar uzamasının miyokard metabolizması üzerinde aşırı zararlı bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (29).

Kalp üzerinde operasyon yapabilmek için bazı teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler hipotermi, atan kalp (*beating heart*), fibrile kalp, iskemik veya farmakolojik arrest olarak sayılabilir. Bu tekniklerden fibrile kalp ve iskemik arrest teknikleri terkedilmiş olup bunların hasara yol açtığını gösteren çalışmalar vardır (30,31).

2.4.1.Hipotermi

Kardiyopulmoner bypass esnasında miyokardı korumak için hipotermi uygulanır. Hipoterminin sadece miyokard üzerinde değil aynı zamanda vücut üzerinde de yararlı etkileri bulunmaktadır. Kalbin ve tüm vücudun metabolik ihtiyaçları azalır. Metabolizma yavaşlar. MVO_2 (Miyokardın oksijen tüketimi) azalır. Perfüzyon akım oranlarının azaltılmasını sağlar. Serebral koruma ve vital organ korunmasını sağlar. Hücre içi metabolik ve enzimatik reaksiyon hızı azalır. ATP rezervleri korunur. Apoptosis önlenir (32).

Hipoterminin yararlı etkilerinin yanında zararlı etkileri de vardır. CO_2 çözünürlüğü artar, parsiyel basıncı düşer. Alkaloz oluşur. Oksihemoglobin eğrisi sola kayar ve dokulara O_2 verilimi zorlaşır. Kanın viskozitesi artar dolaşım yavaşlar. Hiperglisemi oluşur. Hemoraji ve yaygın damar içi pıhtılaşması (DIC) riski artar (33).

Hipoterminin zararlı etkilerine rağmen günümüzde kalp cerrahisinde farmakolojik arest ile birlikte vazgeçilmez bir unsur olarak uygulanmaktadır.

2.4.2.Kalbin Durdurulması ve Cerrahi İhtiyaçlar

Günümüzde kalbin durdurulup kansız cerrahi alan sağlanması için kontrollü iskemi yaratılmaktadır. Hipotermi ile birlikte farmakolojik arest kullanılarak kalp güvenli bir şekilde durdurulmakta iskeminin zararlı etkileri önlenmeye çalışılmaktadır. Koronerler yoluyla iletilen kardiyopleji adı verilen farmakolojik ajanlar içeren bu solüsyonlarla arest sağlanmaktadır.

Kardiyopleji solüsyonları hızlı diastolik arest oluşturmali, metabolizma için gerekli substratları içermeli, membran stabilitesini koruyucu özellikte olmalı ve miyokart ödemi engellemelidir (34).

Kardiyoplejinin temel amacı;

- Kardiyopulmoner Bypass (CPB) öncesi olumsuz etkileri saptamak ve gerekli önlemleri almak
- Kansız ve güvenli bir cerrahi alan sağlamak
- Hızlı diastolik arest sağlamak
- Cerrahi güvenli ve yeterli zaman tanımak
- Kros-klemp sırasında oluşabilecek miyokart iskemisini önlemek ya da azaltmak
- Kros-klemp kaldırıldıktan sonra gelişebilecek iske-mi-reperfüzyon hasarını önlemek veya azaltmak
- Postoperatif dönemde kardiyak fonksiyonların sağlıklı ve çabuk bir şekilde geri dönmelerini sağlamak ve diğer organlarda bir hasara neden olmamaktır.

Kalbin hızlı diastolik aresti için en çok potasyum (K^+) tercih edilmektedir. Arest oluşturmak için kullanılan kardiyopleji solüsyonlarında hedef voltaj bağımlı iyon kanallarıdır. Uyarılma kasılma bağlantısı zincirinin iyonik mekanizmaları etkilenerek farmakolojik arest sağlanır (35).

Aksiyon potansiyeli sodyum (Na^+) kanallarının hızlı açılması ile başlar, hiperkalemik kardiyopleji solüsyonları ile ekstraselüler hiperkalemi yaratılarak depolarizasyon oluşur. Ekstraselüler potasyum yoğunluğu 10 mmol/L olduğunda voltaj kapılı Na^+ kanallarının inaktivasyonu başlar ve böylece yeni bir aksiyon potansiyelinin başlaması engellenir. Ekstraselüler potasyum yoğunluğu yaklaşık 30 mmol/L olduğunda membran potansiyeli -35 mV seviyesine gelir, Ca^{++} kanalları aktive olur ve hücre içine yoğun Ca^{++} girişi gerçekleşir (36). Bu durum hücre içinde aşırı Ca^{++} birikimine neden olur ve iske-mi-reperfüzyon hasarı ile ilişkilidir (37).

2.4.3.Kardiyopleji Çeşitleri

Kardiyopleji solüsyonları, iyon kompozisyonlarına ve yansıttıkları hücresel ortama (hücre dışı veya hücre içi) dayanarak hücre dışı veya hücre içi solüsyonlar olarak sınıflandırılırlar. Ekstraselüler kardiyopleji solüsyonları arasında St. Thomas, Buckberg ve del Nido bulunurken, intraselüler solüsyonlar arasında Custodiol® HTK Solüsyonu (Essential Pharmaceuticals, Ewing, NJ) bulunmaktadır.

Kan kardiyoplejisinin, kristaloid kardiyoplejisine göre, oksijen taşıma ve mükemmel tamponlama nedeniyle daha avantajlı olduğu düşünülmektedir. Elektrolit ve osmotik bileşenlerin benzer olması, serbest radikalleri temizleyerek oksidatif stres hasarını azaltması diğer avantajları arasında sayılabilmektedir (38).

- *St.Thomas Kardiyopleji*

St. Thomas kardiyopleji solüsyonu (Plegisol; Abbott Laboratories, Chicago, IL) 1980-1990 yıllarında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (39). İskemik kalp, kalsiyum içeriği düşük olan ve magnezyum içermeyen potasyumlu kardiyopleji solüsyonu ile korunabilmektedir. Kalsiyum ve magnezyum içeren St. Thomas kardiyopleji solüsyonunun, erken reperfüzyon döneminde kalbin fonksiyonel ve elektriksel olarak geri kazanılmasını sağladığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar reperfüzyonda farklı hücre dışı kalsiyum ve magnezyum seviyeleri ile ilişkilendirilebilir (40).

- *Del Nido Kardiyopleji*

Del Nido kardiyopleji solüsyonu, 1990'larda, özellikle neonatal, infant ve pediatrik hastalarda olgunlaşmamış ve gelişmekte olan miyokardın ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla Pittsburgh Üniversitesi'nde geliştirilmiştir (41). İçeriğindeki lidokain sodyum kanal blokajı yapar. Troponin salınımını azaltır. Mannitolün hem serbest radikalleri temizlediği hem de miyokardiyal hücre şişmesini azalttığı gösterilmiştir (42). Özellikle yaşlılarda üst düzey koruma sağlar. 90 dk'lık kros-klemp süresinde güvenli koruma sağladığı bildirilmiştir. Del Nido uygulama kolaylığı ile kesintisiz cerrahi sağlar, retrograd uygulama gerektirmez. Daha iyi intraoperatif kan şekeri regülasyonu sağladığı da gösterilmiştir (43).

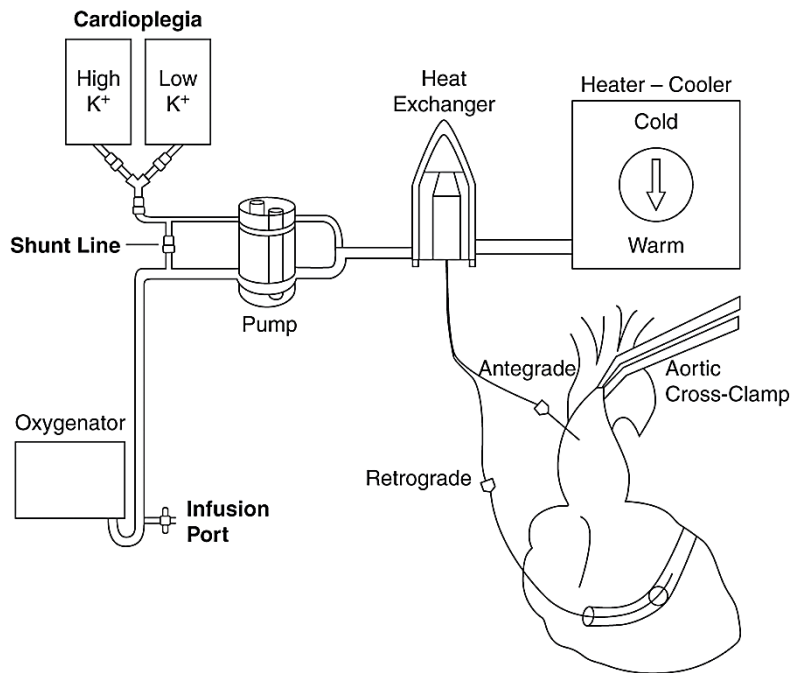
del Nido	153 mmol/L Na ⁺ , 132 mmol/L Cl ⁻ , 24 mmol/L K ⁺ , 0,4 mmol/L Ca ⁺⁺ 6,2 mmol/L Mg ⁺⁺ , 140mg/L Lidokain, 2,6 g/L mannitol
St.Thomas	129 mmol/L Na ⁺ , 140 mmol/L Cl ⁻ , 16 mmol/L K ⁺ , 1,2 mmol/L Ca ⁺⁺ 16 mmol/L Mg ⁺⁺

Tablo 2 Del Nido ve St Thomas Kristaloid Kardiyopleji Solüsyonları (44)

St.Thomas ve del Nido kardiyopleji solüsyonları karşılaştırıldığında temel fark kalsiyum içerikleridir. St Thomas solüsyonu iyonize kalsiyum açısından normokalsemiktir ve mannitol ile lidokain içermez (Tablo 2). Diğer bir fark ise magnezyum konsantrasyonudur. Miyokardiyal seviyede artmış magnezyum, hücreye kalsiyum girişini inhibe ederek St Thomas solüsyonu içindeki yüksek kalsiyumu dengeleyecektir. Yüksek magnezyumlu kardiyoplejinin başka bir yararı kardiyopulmoner bypass sonrası aritmilerde azalma ile ilişkili olmasıdır (45).

2.4.4.Kardiyopleji Uygulama Yolları

İyi bir miyokardiyal koruma sağlamak için kardiyopleji solüsyonunun miyokardın her bölgesine eşit dağıtılması gerekmektedir. Bu amaçla kardiyopleji direkt aort kökünden, koroner ostiumlardan antegrad yolla ya da koroner sinüsten retrograd yolla verilebilir (46) (Şekil 4).



Şekil 4: Kardiyopleji Uygulama Yolları (46)

Hastanın durumuna göre kardiyopleji verilme şekilleri değişiklik gösterebilmektedir. Hastanın kilosuna göre hesaplanan kardiyopleji dozu 15-20ml/kg olarak antegrad yolla 200ml/dk hızla en az 3 dakika süreyle verilmelidir (12)

Retrograd kardiyopleji zayıf kolleteralli ve ventrikül fonksiyonları iyi olmayan hastalar için uygulanabilir. Ayrıca koroner reoperasyonlarında ve aort cerrahisinde teknik üstünlük sağladığı düşünülmektedir. Retrograd yoldan verilen kardiyopleji antegrada göre biraz daha yavaş verilmelidir (100ml/dk).

Retrograd kardiyopleji uygulanırken koroner sinüs yaralanması en sık görülen komplikasyondur. Koroner sinüs basıncı 40mmHg'yı aşarsa miyokardiyal ödeme sebep olabilir. Kombine uygulanan kardiyopleji solüsyonları daha homojen dağılma sayesinde daha iyi miyokard koruması sağlar (47).

2.5.Kardiyak İskemi Markerları

Malondialdehid düşük yoğunluklu lipoprotein (MDA-LDL), stabil olmayan anjina ve akut miyokart infarktüsü hastaları için duyarlı bir biyobelirteçtir. MDA-LDL'nin plazma konsantrasyonları, koroner arter hastalığı olan hastaları tanımlar (48).

Miyeloperoksidaz (MPO) protein dimeri olup ABD'den yapılan bir olgu-kontrol çalışmasında, Zhang ve arkadaşları koroner arter hastalığı olan hastalarda MPO konsantrasyonlarının anjiyografik olarak anlamlı koroner hastalığı göstermeyen kontrollere kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğunu göstermektedir. Plazma MPO konsantrasyonları nekroz yokluğunda majör advers kardiyak olay riski olan hastaları belirler (49).

Tam kan ve plazma kolin konsantrasyonları koroner plak hücre yüzey reseptörlerinin veya iskeminin aktivasyonundan sonra artmaktadır (50).

Dolaşımdaki serbest yağ asitleri salınımının mekanizması tam olarak anlaşılamasa da kardiyak iskemiyi takiben artan katekolaminler, adipositlerdeki lipolizi takiben serbest yağ asidi oluşumunu aktive edebilmektedir. Yapılan bir çalışmada iskemik ST segment değişikliklerine sahip olan hastalarda serbest yağ asidinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (51). Göğüs ağrısı popülasyonunda tanı ve prognostik değerini değerlendirmek için daha fazla çalışma gereklidir.

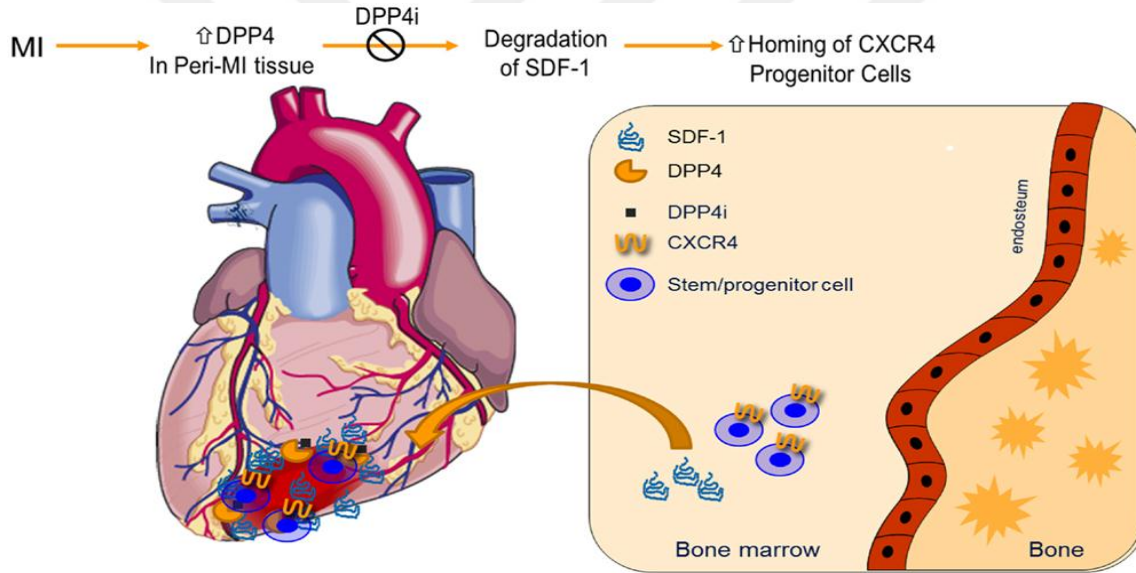
Günümüzde en sık kullanılan kardiyak iskemi belirteci kardiyak troponinlerdir (52).

2.6.Stromal Derived Factor(SDF1) ve İskemi Modifiye Albumin(IMA)

2.6.1.Stromal-Derived Factor-1 (SDF-1)

Stromal hücre kaynaklı faktör-1 alfa(SDF-1) çeşitli dokulardan iskemiye cevaben salgılanan bir protein faktördür (kemokin protein grubuna aittir) . Stromal-derived factor-1, hücrede reseptörü olan CXCR4 ile etkileşmekte ve hücre içinde çeşitli proteinleri etkilemektedir. SDF-1 ile reseptörü CXCR4'ün etkileşimi, endotel progenitör hücrelerin mobilizasyonunda, hücrelerin hareketinde ve anjiyogenezde rol oynar (53).

SDF-1'in etkileri, iskemik reperfüzyon hasarından (İRH) erken dönemde koruma ve hasarlanan dokuya kök hücrelerinin toplanmasını sağlayarak tamiri başlatmaktadır (54,55) (Şekil 5).



Şekil 5: SDF Metabolizması

Miyokard enfarktüsü sonrasında SDF-1 düzeyinin serumda azaldığına dair çalışmalar vardır (56). Bu etki SDF-1'in muhtemelen mikrodolaşım üzerindeki etkilerden kaynaklanmaktadır.

Kardiyopleji ve kardiyopulmoner baypas (CP /CPB) hücre sinyal yollarını etkilemektedir. Çalışmada kalp krizi geçiren hastaların atriyal dokusu Cerrahi CP / CPB öncesi ve sonrası alınarak SDF-1'in protein seviyeleri ve CXCR4, sırasıyla Western blot ve immünohistokimya yöntemleri ile, plazma SDF-1 seviyeleri ise ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. CP / CPB'den sonra plazmada SDF-1 seviyesinin arttığı, miyokardda da SDF-1 düzeyinin arttığı ve bu artışın endotel hücrelerinde, düz kas hücrelerinde ve miyositlerde olduğu gözlemlenmiştir (57).

Miyokard infarktüsü, kalıcı kas hasarı, skar oluşumu ve kardiyak depresyon ile ilişkilidir. Son çalışmalar, kök hücre bazlı tedavilerin klinik önemini ortaya koymuştur. En etkili kök hücre homing faktörü kemokin SDF-1 α /CXCL12'dir (58). Kardiyomiyositlerin sağkalımı, neovaskülarizasyon ve kardiyak fonksiyon üzerindeki olumlu etkileri sayesinde SDF-1 / CXCR4 enfarktüs sonrası tedaviyi iyileştirmek için umut verici yeni terapötik bir yaklaşım gibi gözükmemektedir (59). Yapılan çalışmalar SDF-1 / CXCR4 çift kök hücre tabanlı tedavinin başarısı için gerekli olduğunu göstermiştir (60).

SDF-1 reseptörü CXCR4'e ve hücre dışı matris proteinlerine(GPVI) yüksek bağlanma afinitesine sahiptir (61). SDF1-GPVI, CXCR4-pozitif hücrelerin kemotaksisini tetikler, hücre hayatta kalmasını korur, artırır ve kalp fonksiyonunu korur. Bu sonuçlar SDF1-GPVI uygulamasının miyokardiyal tedavide umut verici bir strateji olabileceğini göstermektedir (62).

SDF1 epiderminin hasarlı bölgesindeki hücrelerde artar ve CXCR4 lökositleri hasar alanına dahil eder. Sinyalleme doku mimarisini ve tüm hücre tiplerini tam olarak yeniden yapılandırmayı içeren doku onarımını artırır (63).

Vasküler girişimler, örneğin perkütan koroner girişimler (PCI), endotel hasarına yol açar ve inflamatuvar bir cevaba neden olur. Çalışmalarda endotelial progenitor hücrelerin (EPC) re-endotelializasyonda ve vasküler yaralanmayı onarımda belirgin bir rolü olduğu gösterilmiştir. Dolaşımdaki SDF-1 α ve EPC'ler vasküler hasar alanlarına göç eder. Bununla birlikte, enflamatuvar yanıt sonrası SDF-1 α ve EPC düzeyleri arasındaki ilişki net değildir. Yüz hasta (ortalama yaş 65.5 ± 10.9 yıl,% 32 kadın) üzerinde yapılan çalışmada, PCI sonrasında EPC

seviyelerinde bir artış görülmüştür. Bu artışın, hasarlanan düz kas ve trombositlerden salınan SDF-1 α nedeniyle olabileceği öne sürülmüştür (64).

İskemik akut böbrek hasarı, kronik böbrek hastalığına gidebilen bir patolojidir. Dolayısıyla, endotel korumanın moleküler mekanizmasını aydınlatılması önemlidir. Ortaya çıkan kanıtlar, kemik iliği kaynaklı hücrelerin çeşitli türlerde doku yeniden yapılandırılmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir. Yaralanmadan sonra organlarda özellikle erken dönemde böbrek endotelinin yeniden yapılandırılmasına nasıl katkı sağladığı bilinmemektedir. Bir fare iskemik AKI modeli kullanılarak, kemik iliği kaynaklı hücrelerin vasküler bileşenlere (endotel ve düz kası hücreleri) yerleşmeleri böbrek iskemisi ve reperfüzyonundan sonraki dört gün içerisinde incelenmiştir. Buna göre, bu yerleşme endotel hücrelerdeki SDF-1'e ve kemik iliği kaynaklı hücrelerde bu proteinin reseptörü olan CXCR4'ün varlığına bağlıdır. Çalışma böbrek üstü endotel post-iskemisinin yeniden yapılandırılmasının SDF1-CXCR4'ün bir parakrin halkasına bağlı olduğunu göstermektedir (65).

Miyokart enfarktüsünün ekstraselüler matrikse etkilerinin incelendiği bir çalışmada, sıçan kalpleri deneysel enfarktüs sonrası deselülerize edilmiş ve kalan ekstraselüler matriks yapısı bir jele yerleştirilmiştir. Bunun üzerine yerleştirilen mezankimal kök hücrelerin salgıladıkları SDF-1'in parakrin etkilerle yeniden modelleme (remodelling) üzerinde etki yaptığı gösterilmiştir (66). Doku rejenerasyonunu en üst düzeye çıkarmak ve nihayetinde kalp yetmezliğinin yaygınlığını ve ciddiyetini azaltmak için implantasyon tedavileri uygulanabilir.

2.6.2.İskemi Modifiye Albumin (IMA)

İskemi-modifiye albumin (IMA), miyokard iskemisinin hemen ardından üretilen "N-terminal modifiye" albumin olarak kabul edilir. Albumin N- ucu geçiş metallerini bağlar. Albumin normalde kobalt bağlamazken IMA kobalt bağlamaktadır. IMA teşhisi kobalt affinitesine dayanmaktadır (67).

IMA, albumin'den türetilen işlevsiz bir proteindir ve oksijen afinitesinde mutlak veya görece düşüş sonucu kalp kası içinde iskemik koşulların doğrudan bir sonucu olarak oluşur. IMA'nın oluşumuna yol açan en yaygın faktör, albumin ve reaktif oksijen türleri arasındaki muhtemel etkileşimdir (68). IMA, temel bilim ve klinik araştırma ortamlarında kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve kalp iskemisinin saptanması için FDA tarafından onaylanmış CE işaretli klinik bir testtir. Albumin kobalt bağlanma testi, akut koroner hastalığı iskemik olmayan

göğüs ağrısından ayırmada potansiyel olarak güçlü bir belirteç olarak kabul edilmesine rağmen, son yıllarda kullanışlılığı sorgulanmaktadır.

Akut iskemik miyokartlı hastalar, serum yağ asitleri seviyelerinde hızlı bir artış sergilerler. Hemen hemen tüm salınan serbest yağ asitleri albümin ile kuvvetli bir şekilde bağlıdır. Bu da proteinde yapısal değişikliklere sebep olarak kobalt bağlanma affinitesini azaltır. Albümin kobalt bağlama testi ile serum albümin seviyeleri ile ölçülen IMA arasında net bir metabolik ve zamansal ilişki vardır. Artmış oksidatif stresle bağlantılı kronik hastalığın albümin modifikasyonunu tanımlamak için, IMA'dan kavramsal olarak farklı olan "oksidasyon modifiye albumin, OMA" da kullanılabilmektedir (69).

Kardiyak iskemide laboratuvar bulgusu olarak kullanılan IMA ile ilgili yapılan bir çalışmada iskemi derecesinin IMA düzeyi ile ilişkisi ölçülmüştür. Direkt Perkütan Koroner Girişim (PCI) için ST elevasyonu olan miyokard enfarktüsü tanısı ile gelen 216 hasta üzerinde çalışma yapılmıştır. IMA'nın biyokimyasal analizi, albümin kobalt bağlanma (ACB) Testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Miyokardiyal nekroz belirteçleri için de iskemi ile ilgili değerler elde edilmiştir.(CK, CK-MB, cTnT).Tüm hastalarda işlem öncesi artmış İMA düzeyi vardır. Yapılan analizler sonucu cTnT ve CK-M ile IMA arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (70).

Akut miyokardiyal iskeminin yeni bir biyogöstergesi olan iskemi-modifiye albumin (IMA) 'nin iskemik göğüs ağrısının teşhisinde ve klinik uygulamada gelecekteki kardiyak olayların öngörülmesinde güvenilir olup olmadığını araştıran başka bir çalışmada araştırılmıştır. Ağrı başlamasını takiben 6 saat içinde acil servise başvuran 390 hasta iskemik göğüs ağrısı olan ve olmayanlar olarak iki gruba ayrılmıştır. 2 yıllık izlem sırasında kardiyak ölüm, tekrarlayan angina, miyokart enfarktüsü gibi istenmeyen kardiyak olaylar meydana gelmiş ancak IMA'nın kardiyak olayları öngörmediğine karar verilmiştir (71).

Göğüs ağrısı ile başvuran 68 hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada numunelerin depolanma koşulları araştırılmıştır. Numuneler alındıktan 2.5 saat içinde ve -20°C de saklandıktan sonra analiz edilmiştir. -20°C de saklanan numuneler hemen çalışılmalardan 3 birim yüksek çıkmıştır ve bunun konsantrasyona bağlı olmadığı kaydedilmiştir. Bundan yola çıkarak IMA analizleri numune saklama koşullarından etkilenmektedir (72).

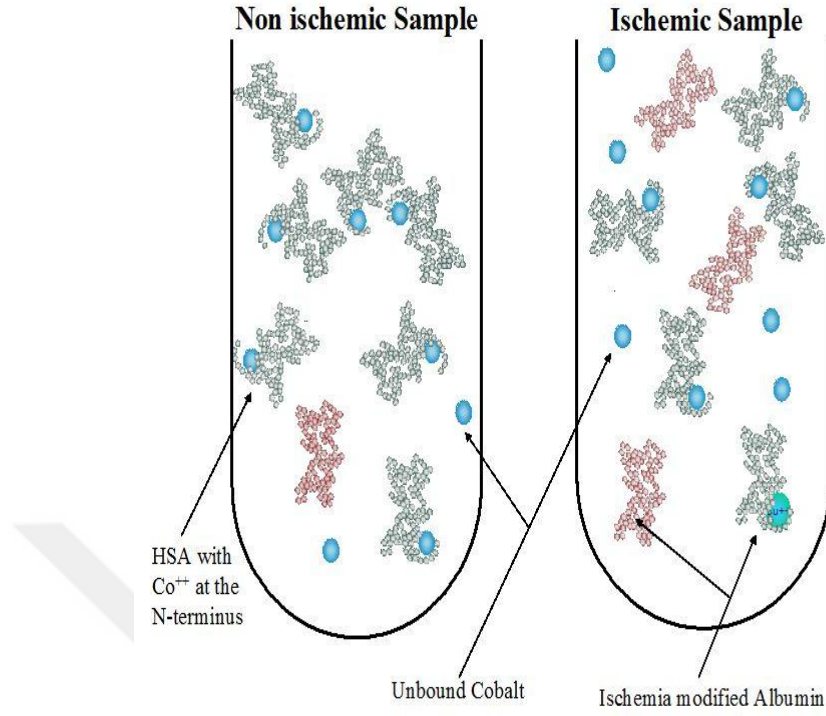
Kalp iskemisinin ardından insan serum albumininin N-ucunun geçiş metali iyonlarını bağlama kabiliyetindedir. Bu iyonların salınması muhtemelen IMA'yı olumsuz yönde etkileyebilecek bir girişim olarak kabul edilmek yerine IMA üretimi için potansiyel bir yol başlatır. Bu öneriyi desteklemek için miyokardiyal iske mi bulgusu olmayan 44 göğüs ağrısı hastasına kıyasla, miyokart iskemisi olan 99 akut göğüs ağrısı hastasında albümin kobalt bağlanmasının azaldığı bildirilmiştir (73).

Koroner arter anjiyoplasti uygulanan başka bir çalışmada 41 hastada Albumin kobalt bağlanması değerlendirilmiştir. Numuneler, işlem den önce, hemen sonra, 6 ve 24 saat sonra Albumin Kobalt Bağlama (ACB) testi kullanılarak test edilmiştir ve balon anjiyoplasti yapılmadan kalp kateterizasyonu uygulanan 13 hastadan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak kontrol grubu olarak hizmet edimiştir. ACB konsantrasyonları, kontrol popülasyonuna kıyasla işlem sonrası hemen hemen yükselmiş ve ACB konsantrasyonları altı saat sonra başlangıç seviyesine geri dönmüştür (74). Bu da elektif anjiyoplasti sırasında indüklenen koroner arter oklüzyonunun hemen sonrasında insan serum albumininin ekzojen Co^{+2} bağlama kapasitesinde önemli bir azalmaya uğradığını düşündürmektedir. Asp-Ala-His-Lys bölgesinin N-terminal asetilasyonu ya da bir ya da daha fazla artık maddenin silinmesi ile modifikasyonu bu kobalt bağı nı ortadan kaldırır.

2.6.3.Albumin-Kobalt Bağlama Testi

İske mi modifiye albümin (IMA) spektrofotometrik yöntemle albümin kobalt bağlama testiyle saptanmaktadır (75). Bu test 2000 yıllarında keşfedilmiştir (76). Testin çalışma prensibinde örnekte bulunan albüminin kobaltı bağlama kapasitesini ölçülmektedir. Kobaltın ditiotreitol ile bağlanmasının kolorimetrik olarak ölçülmesiyle elde edilir ve sonuç absorbans ünitesi (ABSU) veya U/mL olarak kaydedilir. IMA referans aralığı 52.76 - 116.56 U/mL olarak belirlenmiştir. Albümine bağlanan kobalt miktarı (Co^{+2}) ve oluşan renk arasında ters orantı bulunmaktadır.

IMA'nın stabilite süresi iki saattir ve ölçüm yapılırken dilüsyondan sakınılmalıdır. - 20°C de saklanan numunelerde değerler aynı kalsa da taze serum ile çalışılan örnekler ile kıyaslandığında daha yüksek olduğu belirtilmiştir (77). IMA değeri yaş ve cinsiyete göre değişmez. Normalde IMA total albüminin % 1-2' si iken iske mi durumunda bu oran % 6-8'dir (78). Albüminin çok düşük ve yüksek konsantrasyonları ve laktik asidoz varlığı IMA ölçümünü etkiler. Albüminde 1g/dL' lik bir değişiklik IMA seviyesinde % 2.6 oranında bir değişikliğe yol açmaktadır (79) . (Şekil 2)

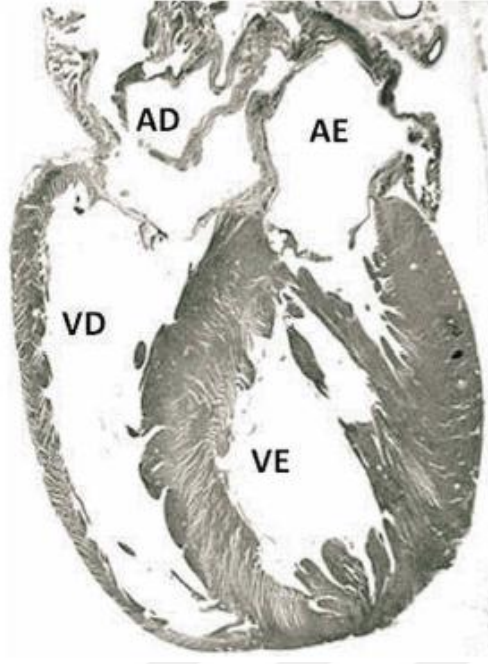


Şekil 6: İskemi Modifiye Albumin (80)

2.7. Sıçanların Kalp Anatomisi ve İnsana Benzerlik Farklılık Yönleri

Sıçanlar bilimsel araştırmalarda yaygın kullanılan deney hayvanlarıdır. İnsanla büyük ölçüde benzerlik gösterse de bazı farklılıkları bulunmaktadır. Bu hayvanların anatomi ve morfolojisi ile ilgili literatür eski olup çok açıklayıcı değildir. Yapılan bir araştırmada Wistar sıçanlarının yaşamlarının farklı evrelerinde kalbi hakkında henüz tarif edilmemiş olan çeşitli parametrelerin makroskopik morfometrik yönlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Ölçümler dişilerin kalplerinin erkeklerden daha kısa, daha dar, daha küçük ve daha hafif olduğunu göstermiştir. Bu dişilerin yaşamı boyunca, kalp ağırlığı arttığında, kalp görünüşünü ve şeklini koruduğunu, erkeklerin kalplerinin gelişimleri boyunca daralıp ve uzadığını göstermiştir (81).



Şekil 7 : Sıçan Kalbi (81)

Makroskobik parametrelerin incelenmesi için yapılan başka bir çalışmada kalp eksize edilerek belli bölgelerden ölçümler yapılmıştır. Ölçümler, atriyoventriküler oluğun (PAV) çevresi ve atriyoventriküler oluktan kalbin apexine (DGA) olan mesafeye karşılık gelir.

Her iki parametre de kalbin yüzey anatomisinin bir parçasıdır ve bu hayvanların ağırlık kazanması durumunda, kalbin içinde meydana gelen cinsel dimorfizmin ve adaptasyonun anlaşılmasına yardımcı olabilir (82).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada, DEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2017/09 sayılı onayı ile gerçekleştirildi.

3.1. Araştırmanın Tipi

Araştırma deneysel niteliktedir.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırma Ocak 2017 da literatür taraması ile başladı. Çalışmanın deneyleri ve planlamaları yapıldı. Etik Kurul başvurusunun ardından Mayıs 2017 de onay alındı. Etik Kurul onayının ardından bilimsel araştırma projesi yazıldı. Proje başvurusu yapıldı. Mart 2018 de projenin onayını takiben çalışmalara başlamak için gerekli hazırlıklar yapıldı. Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Laboratuvarında Temmuz 2018 de Miyokardiyal İskemi/Reperfüzyon Modeli oluşturuldu. Sıçanlara deney prosedüründe belirtilen basamaklar uygulandıktan sonra alınan örnekler saklandı. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında saklanan örnekler çalışılarak deney verileri elde edildi. Aralık 2018 de tez savunması yapıldı.

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Araştırmada deney hayvanı modeli kullanılmıştır. İnsan üzerinde herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

3.4. Çalışma Materyali

Çalışma 21 adet Wistar albino cinsi genç erişkin 3 aylık dişi sıçanlarda yapıldı. Deney hayvanları Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Laboratuvarından BAP bütçesi ile sağlandı. Sıçanlar 3 gruba ayrıldı.

Grup 1 (n:7): *Sham* grubu (Serum Fizyolojik).(4 ml intrakardiyak solüsyon)

Grup 2 (n:7): Geleneksel solüsyon St. Thomas (Plegisol).(4 ml intrakardiyak solüsyon)

Grup 3(n:7): Yeni nesil solüsyon del Nido.(4 ml intrakardiyak solüsyon)

3.5. Araştırmanın değişkenleri

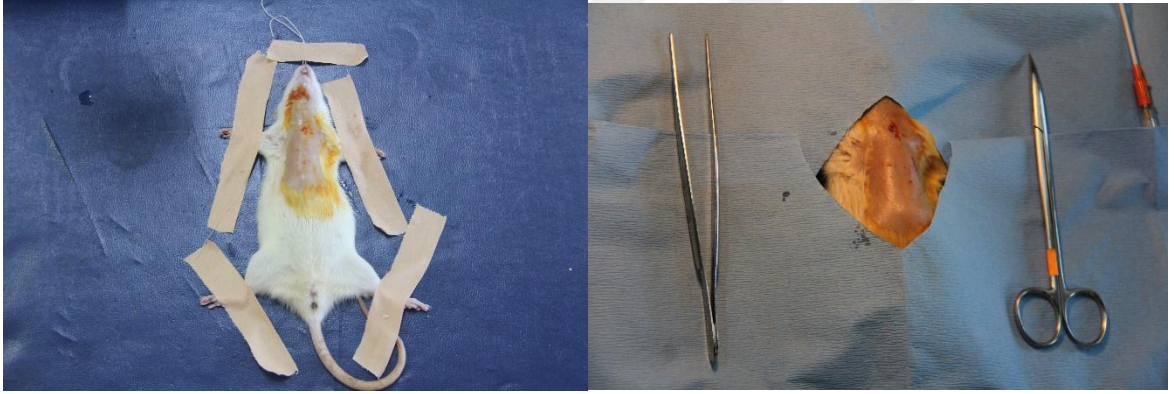
Araştırmada sıçanlar 3 gruba ayrıldı. 1.grup *sham* (kontrol) grubu olarak değerlendirildi. 2. ve 3. gruplara kardiyopleji solüsyonları uygulandı. 1. gruba bağımsız değişken olarak serum fizyolojik uygulandı. 2. gruba bağımsız değişken olarak geleneksel kardiyopleji solüsyonu St.

Thomas(Plegisol) uygulandı. 3. gruba ise bağımsız değişken olarak yeni nesil kardiyopleji solüsyonu del Nido uygulandı. Gruplara uygulanan solüsyonlara bağlı değişken olarak oksidatif stres markerlarından SDF1 ve albümin modifikasyonu(IMA) bakıldı.

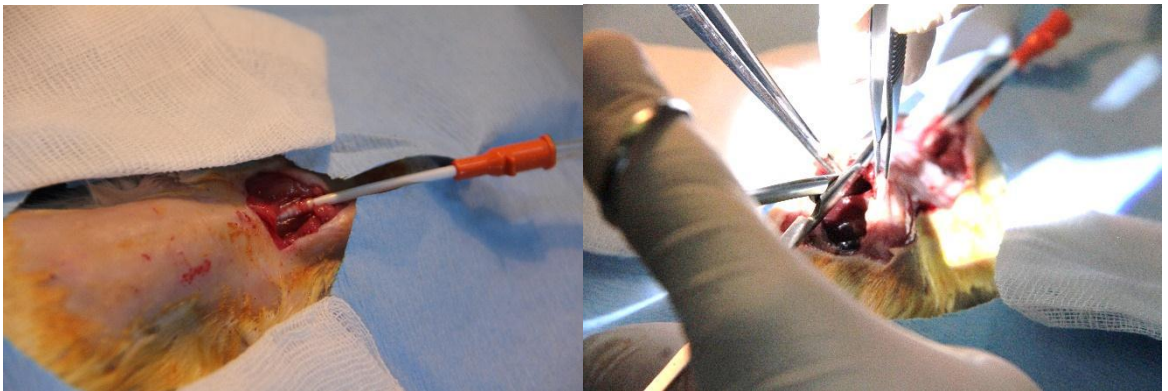
3.6. Veri Toplama Araçları

Cerrahi Hazırlık

Tüm gruplardaki sıçanlar 45 mg/kg Ketamin(Ketalar® 50mg/mL, Pfizer, Türkiye) ve 7 mg/kg Ksilazin (Xylazin Bio, 20 mg/mL, Bloveta Plc. Komenskeho, Çek Cumhuriyeti) ile intraperitoneal uygulama yoluyla anestezi altına alındı. Daha sonra denekler supin pozisyonu verilerek tespit edildi. Göğüs ve boyun bölgesi tıraş-dezenfeksiyon yapılarak povidon iodin ile asepsi sağlandı.

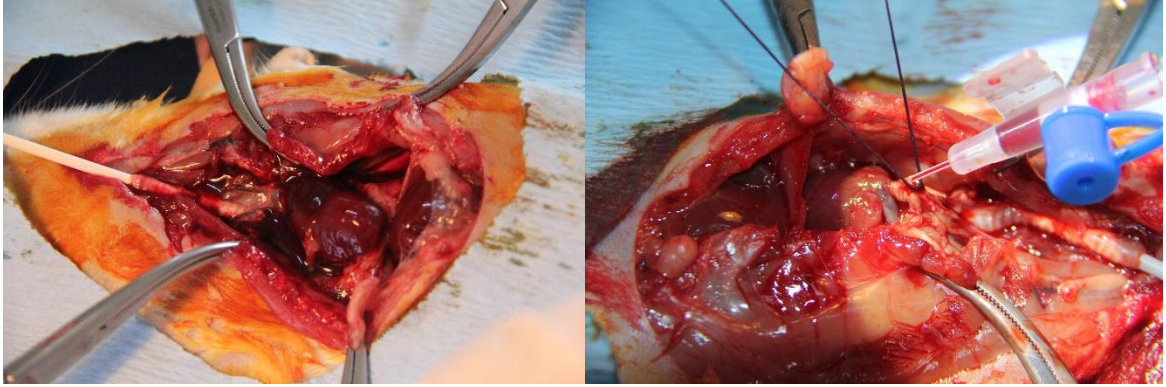


Entübasyon için 14G branül kullanıldı. Trakeostomi ile branül yardımıyla entübe edildi. Respiratuara bağlandı. Sternotomi yapılarak kalbe ulaşıldı.



Sternotominin ardından kalp ve aort çevresindeki dokulardan diseksiyon makası ile serbestlendi. Perikard açılarak kalbe ulaşıldı. Aorta 1-0 serbest ipek suture ile dönülerek askıya alındı. Kalp iskemiye maruz bırakılmadan sağ atriumdan insülin enjektörü ile heparinize edildi. Aortaya kros klemp kondu. Proksimalden 22G branül ile aort köküne

hazırlanan kardiyopleji solüsyonu verildi. Kalp arest olduktan sonra aynı branül yardımıyla kan örneği alındı.



Kardiyopleji Sıvısının Hazırlanması

Kros-klemp konulduktan sonra 2.ve 3. gruba ilk olarak aresti sağlamak için kan içermeyen kardiyopleji solüsyonu verildi. Erişkin indüksiyon dozu rutinde 20 ml /kg olarak hesaplanmaktadır. Bundan yola çıkarak ağırlığı ortalama 200g olan sıçanlara 4 ml kardiyopleji verildi.

Örneklerin Toplanması

Tüm gruplardaki sıçanlara sternotomi yapıldıktan sonra aortaya kros-klemp konularak kardiyopleji verildi. Reperfüzyondan sonra deneklerin kalpleri alındı. Denekler sakrifiye edildi.

Dokuların İşlemi

Kalp dokuları alınır alınmaz sağ ve sol kalp olmak üzere bistüri yardımıyla iki parçaya ayrıldı. Ayrılan dokular serum fizyolojik ile yıkanıp kandan arındırıldıktan sonra *criyo-vial* tüplere konularak sıvı azota atıldı ve dondurma işlemi sağlandı. Tüm deneklerden doku örnekleri alındıktan sonra etiketlenmiş tüpler bekletilmeden -80°C'de saklandı.

Doku Homojenizasyonu:

Sıvı azottan dondurulmuş doku tartılıp, bistüri ile mekanik olarak parçalara ayrılarak *ependorf* tüplerinin içine alındı. Üzerine soğuk 1000µ *RIPA* ve Protein kokteyl

inhibitöründen oluşan liziz tamponu ilave edildi. (*Protein kokteyl öncesinde protein kokteyl inhibitörü: 1 tablet /1500 µl 100 mM PBS tamponunda çözünür). Her bir *ependorf* tüpüne, paslanmaz çelikten yapılmış olan tungsten bilyelerden birer tane kondu. Tüpler, önceden soğutulmuş (-20°C) Tissuelyser LT raklarına yerleştirildi. TissueLyser (Qiagen) doku homojenizasyon cihazında frekans 30 h/z, 45xsn ~2 dakikaya ayarlandı ve çalıştırıldı. Homojenatı tam olarak süspanse etmek için elektrikli homojenizatör (Polytron® PT 1200) kullanılarak homojenize edildi. Ardından süpernatant yeni bir tüpe aktarıldı. Total protein konsantrasyonlarının belirlenmesi için BCA (Bikinkoninik asit) protein tayin kiti (Thermo-Pierce BCA kit) kullanıldı. Örnekler 1/10, 1/20, 1/50,1/100 dilüsyon oranlarında duplice çalışıldı. 0,025-2,0 mg/ml arası değişen konsantrasyonda BSA standartları aynı plağa 25 µl olacak şekilde pipetlendi ve her bir örnek 200 µl BCA reaktifi ile karıştırılarak plak 37°C'de 30 dk. bekletildi. Süre sonunda plak okuyucuda kolorimetrik olarak 562 nm'de okuma gerçekleştirildi. Elde edilen absorbans verilerine karşılık gelen BSA standart konsantrasyonları ile standart grafiği çizildi. Standart grafiğinden elde edilen $y=ax+b$ denklemi kullanılarak örneklerin total protein konsantrasyonları hesaplandı.

IMA ELISA Prosedürü:

1. Standartların hazırlanması:

Ana stok standartı olan 400 ng/ml 1000µl Refence Standard&Sample Diluent ile çözünüp, 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Ardırdan 7 *ependorf* hazırlanıp sırayla seri dilüsyon yapıldı: 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 0 ng/mL.

2. Biotinylated Detection Ab working solution: 100x olan ana konsantrasyon kuyu başı 100 ul olacak şekilde 1x konsantrasyonunda hazırlandı.

3. Concentrated HRP Conjugate working solution: 100x olan ana konsantrasyon kuyu başı 100 ul olacak şekilde 1x konsantrasyonunda hazırlandı.

4. Yıkama Tamponu: Tampon kuyu başı ve yıkama tekrarı göz önünde bulundurularak kit prosedürüne göre hazırlandı.

Her bir standarttan ve 1:40 hazırlanan örnekler 100µl çalışma platene eklendi ve 37 C’de 90 dakika bekletildi. İnkübasyon sonrasında sıvı uzaklaştırıldı ve 100µl Biotinylated Detection Ab working her bir kuyuya eklendi ve 1 saat 37 C’de inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 3 kez yıkama yapıldı ve 100µl HRP Conjugate working solution her bir kuyuya konup, 30 dakika 37 C’de inkübasyona bırakıldı. Ardından 5 kez yıkama yapıldı. 90 µL of Substrate Reagent her bir kuyuya eklenip, 37 C’de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. 50µL of stop solüsyonundan eklenip 450 nm ‘de ELX 800 ELISA plate okuyucuda ölçüm alındı.

SDF-1 ELISA Prosedürü:

1. Standartların hazırlanması:

Ana stok standardı olan 1000 ng/ml 1000µl Refence Standard&Sample Diluent ile çözünüp, 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Ardından 7 *ependorf* hazırlanıp sırayla seri dilüsyon yapıldı: 500, 250, 125, 62,5, 31.25, 15.625, 0 pg/mL.

2. Biotinylated Detection Ab working solution: 100x olan ana konsantrasyon kuyu başı 100 ul olacak şekilde 1x konsantrasyonunda hazırlandı.

3. Concentrated HRP Conjugate working solution: 100x olan ana konsantrasyon kuyu başı 100 ul olacak şekilde 1x konsantrasyonunda hazırlandı.

4. Yıkama Tamponu: Tampon kuyu başı ve yıkama tekrarı göz önünde bulundurularak kit prosedürüne göre hazırlandı.

Her bir standarttan ve 1:40 hazırlanan örnekler 100µl çalışma platene eklendi ve 37 C’de 90 dakika bekletildi. İnkübasyon sonrasında sıvı uzaklaştırıldı ve 100µl Biotinylated Detection Ab working her bir kuyuya eklendi ve 1 saat 37 C’de inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 3 kez yıkama yapıldı ve 100µl HRP Conjugate working solution her bir kuyuya konup, 30 dakika 37 C’de inkübasyona bırakıldı. Ardından 5 kez yıkama yapıldı. 90 µL of Substrate Reagent her bir kuyuya eklenip, 37 C’de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. 50µL of stop solüsyonundan eklenip 450 nm ‘de ELX 800 ELISA plate okuyucuda ölçüm alındı.

SDF-1 ve İskemi Modifiye Albümin Ölçümü

Bu iki proteinin miktarının belirlenmesi, sandviç ELİSA yöntemi ile yapıldı. Her kitte 96 kuyuluk katmanlar bulunmaktadır. Buna göre katmanlar, ölçülecek proteine karşı oluşturulmuş antikor ile kaplıdır. Kuyuya eklenen örnekteki protein (kullanılan kite göre SDF-1 veya iskemi modifiye albümin), kuyunun duvarlarında hareketsiz duran antikorlarla etkileşir ve onlara bağlanır. Sonrasında ilk antikoru tanıyan biotinli 2. Antikor kuyulara eklenir. Ardından Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatı kuyulara eklenir. Son olarak eklenecek substrat ile inkübasyon sonucunda kuyuda mavi renk oluşumu meydana gelir. Absorbanslar 450 nm’de okunur. Kuyuya örneğin içinde ne kadar fazla protein eklenmiş ise kuyudaki absorbans o derece fazla olacaktır. Her kitte bulunan standartlar ile standart eğri oluşturulur ve örneklerde miktar belirtimi bu eğri yoluyla yapılır.

3.7.Araştırmanın Planı ve Takvimi

ARAŞTIRMA PLANI	AYLAR									
	Ocak- Mart/17	Nisan- Mayıs/17	Haziran- Eylül/17	Ekim- Aralık/17	Ocak/18	Şubat- Mart/18	Nisan- Mayıs/18	Haziran- Eylül/18	Ekim- Kasım/18	Aralık/18
Tez konusu	X									
Literatür araştırma	X	X								
Etik kurul başvurusu		X								
Etik kurul onay		X								
Tez önerisi		X								
Tez onayı			X							
Proje planlaması			X	X	X	X				
Deney planlama, malzeme temini				X	X	X	X	X		
Deney prosedürleri, istatistiksel analiz							X	X	X	
Tez yazımı							X	X	X	
Tez savunması										X

3.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Değişkenlerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Varyansların homojenliği ise Levene testi ile analiz edildi. Parametrik testlerin varsayımlarının yerine gelmediği görüldüğünden söz konusu değişkenlere ilişkin bağımsız iki grup karşılaştırması amacıyla Mann-Whitney U testi kullanıldı. Üç bağımsız grubun karşılaştırılması amacıyla ise Kruskal-Wallis testi ve ardından çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Dunn testi kullanıldı. Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca değer ve en küçük-en büyük değerler olarak ifade edildi. Veri analizinde IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0 (SPSS 19, Armonk, NY: IBM Corp) kullanıldı. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları

Araştırmanın deneysel aşamasında ELISA testlerinin serumda çalışılması planlanmıştır. Deneklerden alınan kan örnekleri laboratuvar koşullarından etkilendiği için serumdan çalışılan örneklerin sonuçları arasında orantısız bulgular elde edildi. Bu yaklaşımla istatistiksel olarak anlamlı bir analiz yapılamayacağı için deneklerin dokularından ELISA testlerinin yeniden çalışılması planlandı. ELISA testleri deney prosedürü gerçekleştirildikten sonra deneklerden alınan kalp dokularının homojenizasyon protokollerinin uygulanması ile yeniden çalışıldı.

3.10. Etik Kurul Onayı

Araştırmamız Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 16 Mayıs 2017 tarihinde gerçekleştirilen 09/10/2017 no' lu toplantıda, 25/2017 Protokol no ile etik açıdan uygun bulunmuştur.

Etik kurul onayları eklenmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamız için ağırlıkları 200-300 g arasında değişen Wistar albino tipi 21 adet dişi sıçanlardan rastgele seçilerek 3 grup oluşturuldu. Denek sayısı deney sırasında hayvan kayıpları ve istatistiksel anlamlılık dikkate alınarak belirlendi. Genç erişkin 3 aylık sıçanlar %45 lik nem ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık fotoperiyodda deneyden 1 hafta önce alıştırdı.

Grup 1 (n:7): *Sham* grubu (4ml serum fizyolojik) intrakardiyak

Grup 2 (n:7): Geleneksel solüsyon St.Thomas (Plegisol) .(4 ml solüsyon) intrakardiyak

Grup 3(n:7): Yeni nesil solüsyon del Nido .(4 ml solüsyon) intrakardiyak

Açık kalp cerrahisi vakalarında uygulanan geleneksel kardiyopleji solüsyonu St.Thomas (Plegisol) ile yeni nesil kardiyopleji solüsyonu del Nido oksidatif stres markerları iskemi modifiye albümin (IMA) ve stromal derived faktörün (SDF1) miyokardiyal iskemi/reperfüzyon modelinde doku düzeyinde seviyelerine bakıldı.

Hem St.Thomas uygulanan grupta hem de del Nido uygulanan grupta miyokardiyal koruma etkinliği açısından karşılaştırma yapıldığında anlamlı bir fark saptanmadı.

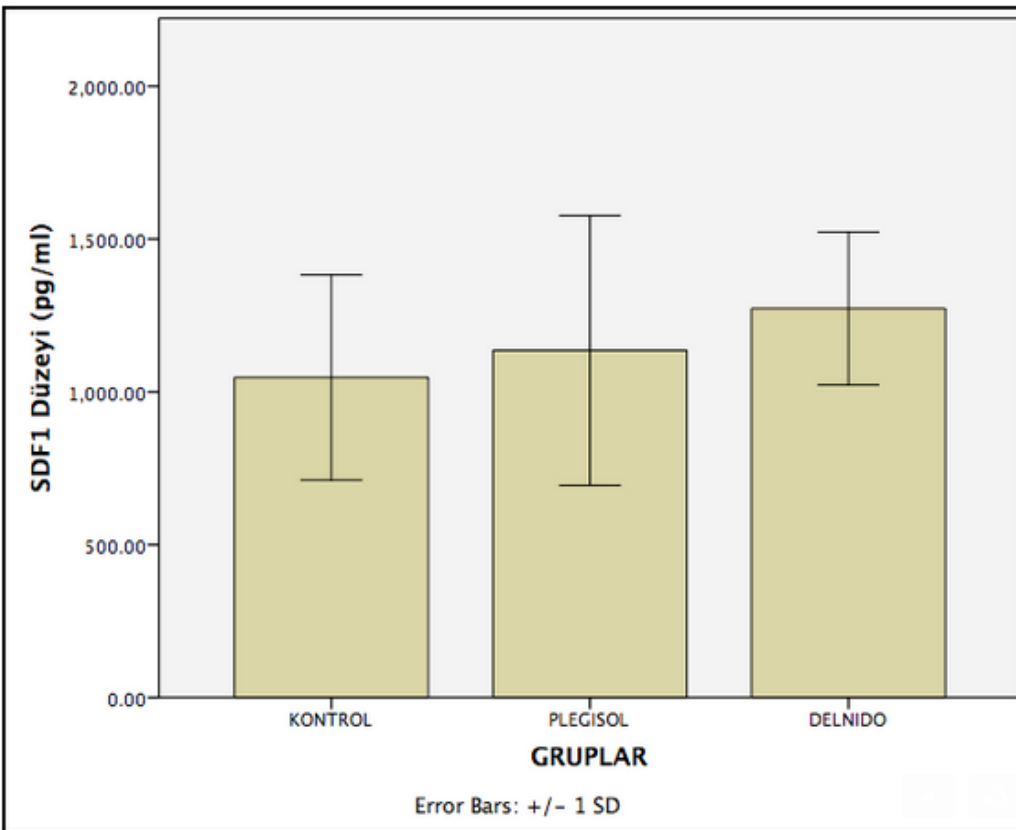
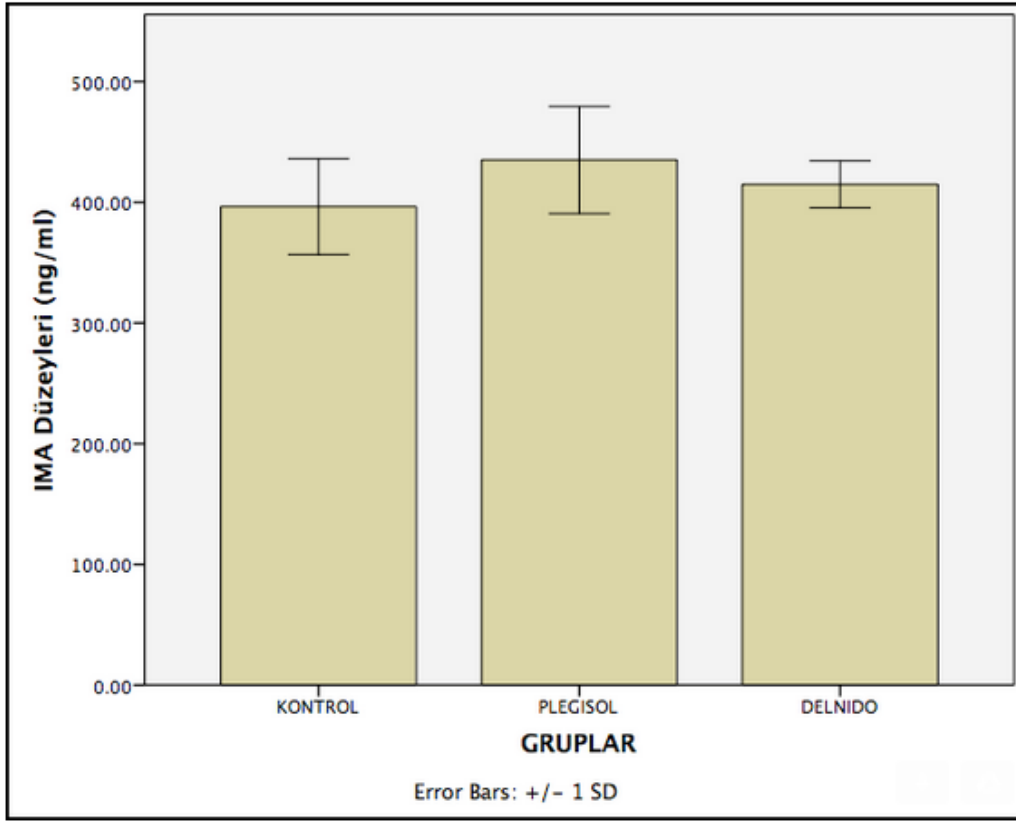
SDF1 analiz değerlerine bakıldığında; kontrol grubunun SDF1 değeri $33,221 \pm 16,558$, plegisol grubunun SDF1 değeri $24,114 \pm 22,470$ ve del Nido grubun SDF1 değeri $35,007 \pm 23,365$ olarak bulundu ($p=0,456$).

IMA analiz değerlerine bakıldığında; kontrol grubunun IMA değeri $99,790 \pm 92,246$, plegisol grubunun IMA değeri $257,587 \pm 98,347$ ve del Nido grubun IMA değeri $236,918 \pm 118,376$ olarak bulundu ($p=<0,05$).

	Ortalama±Std sapma Ortanca değ�r (Min-Max)		p (Mann-Whitney U test)
	SDF1	IMA	
Kontrol	33,221±16,558 35,061(6,652-54,455)	99,790±92,246 85,473(9,401-254,813)	0,165
Plegisol	24,114±22,470 14,000(6,576-67,864)	257,587±98,347 280,214 (48,575-351,636)	<0.001
Del Nido	35,007±23,365 36,576 (6,950-63,020)	236,918±118,376 198,833 (77,921-393,577)	<0.001
p (Kruskal-Wallis test)	0,456	<0,05	

	Ortalama±Std sapma Ortanca değ�r (Min-Max)		p (Mann-Whitney U test)
	SDF1	IMA	
Kontrol	1047,449±335,273 1038,790(669,09-1720,61)	396,424±39,696 390,54(322,69-439,82)	<0.01
Plegisol	1135,671±441,415 1199,390(530,91-1905,45)	435,050±44,388 432,10 (378,50-496,38)	<0.01
Del Nido	1272,987±249,577 1247,88 (878,18-1641,82)	414,834±19,439 412,29 (386,08-445,36)	<0.01
p (Tek Y�nl� Varyans Analizi (One Way ANOVA))	0,494	0,165	

Tablo 3: IMA ve SDF Değ rlerinin Karşılaştırılması



Grafik 1 : IMA ve SDF Değerlerinin Karşılaştırılması

5.TARTIŞMA

Geleneksel kardiyoplejiye kıyasla del Nido solüsyonu kullanılırken operasyonun daha az kesintiye uğraması ve daha düşük kardiyopleji hacmi ile benzer sonuçlar elde edilebilmektedir. Çalışmamızda geleneksel solüsyon ile karşılaştırılan del Nido kardiyopleji sonuçları arasında anlamlı fark bulunmaması bu bulguları desteklemektedir. Uzamış iskemik aralıklı tek veya seyrek olarak verilen del Nido kardiyoplejisi, kalp ameliyatı sırasında özellikle daha uzun vaka sürelerine sahip konjenital kalp cerrahisinde alternatif bir strateji olarak kullanılabilir (83, 84).

Del Nido kardiyoplejisi ile iskemik dönemde düşük spontan ve indüklenabilir aktivite, iskemi ve reperfüzyon sırasında düşük diyastolik Ca^{++} ve standart kardiyoplejiye göre yaşlı kardiyomiyositlerde erken reperfüzyon sırasında kasılma amplitüdü ile sonuçlandığı gösterilmiştir (85). Çalışmamızda aynı standartlara sahip gruplar arasında solüsyonların etkinliği oksidatif stress açısından karşılaştırıldığı için ejeksiyon fraksiyonu ölçümleri içeren izole kalp çalışmaları ile bu açıdan değerlendirme yapılabilir.

İzole kalp ve tüm hayvan preklinik çalışmaları, iskemi sırasında görülen yararlı etkilerin ve erken reperfüzyonun artmış kardiyak fonksiyona dönüşüp dönüşmediğini belirlemek için gerekli olacaktır. Del Nido kardiyoplejisi, yaşlılarda miyokardiyal korumaya özel bir yaklaşımla diğer stratejilerin yanında yer alabilir. İzole yaşlı kalplerde, bir del Nido kardiyopleji stratejisinin, standart çok doz verilen 4: 1 kan kardiyopleji stratejisiyle karşılaştırıldığında, iskemi sırasında daha az spontan aktivite, azalmış miyokardiyal hasar ve daha iyi fonksiyonel iyileşme ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (86). Çalışmamızda genç erişkin denekler kullanılmıştır. Genç erişkin denekler ve geriatric denekler üzerinde karşılaştırılma yapılarak benzer hipotezlerle del nido kardiyoplejisi doku düzeyinde çeşitli parametreler ile değerlendirilebilir.

Del Nido solüsyonu, yetişkin izole kapak cerrahisinde Buckberg solüsyonuna alternatif olarak güvenli ve etkili bir şekilde kullanılabilir, düşük insülin gereksinimleri ve potansiyel zaman ve maliyet tasarrufu ile uygun bir alternatif olabileceği belirtilmiştir (87, 88). Uzamış iskemi durumunda sistemik inflamatuvar yanıtı bağli olarak insülin düzeylerinde artış gözlenebilir. Özellikle diyabetik hastalar üzerinde intraoperatif glikoz düzeyi regülasyonu avantajı kullanılabilir. Del Nido kardiyoplejisi tekniğı, kısaltılmış kros klemp süreleri ve retrograd kardiyopleji uygulama tekniğinin daha az kullanımı ile ilişkilendirilebilmektedir (89).

St. Thomas kardiyoplejisine oranla del Nido kardiyoplejik solüsyonu alan hastalarda kros-klomp fibrilasyonu oranlarında anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu düşüş, del Nido'nun daha etkili bir çözüm olduğunu düşündürmektedir (90). Randomize prospektif çalışmalar, doz rejimleri ve redüksiyon aralıkları gibi diğer optimal miyokardiyal koruma koşullarının belirlenmesinde avantajlı olabilir.

Del Nido kardiyopleji solüsyonu, 60 dakikaya kadar dayanan bir depolarize hiperkalemik arrest sağlar ve lidokain ilavesi hücre içi kalsiyum girişini sınırlayabilir. Tek doz del Nido kardiyoplejisi, akut miyokard enfarktüsünü takiben çok dozlu soğuk tam kan kardiyoplejisine alternatif bir miyokard koruma stratejisi sunabilir. Akut miyokard enfarktüsünde del Nido kardiyoplejisi, negatif inotropik etki olmaksızın mevcut kardiyoplejiye eşdeğer miyokardiyal koruma sağlayabilmektedir (91).

Del Nido kardiyopleji solüsyonu tek bir antegrad doz olarak izole erişkin koroner arter bypass greft hastalarında Buckberg'e eşdeğer miyokardiyal koruma ve klinik sonuçlar sağlamıştır. Del Nido kardiyopleji solüsyonu, daha düşük kardiyopulmoner bypass glikoz seviyeleri ve rutin koroner operasyonlar için tek doz uygulama avantajları sunar (92).

Çalışmamız geleneksel ve yeni nesil kardiyopleji solüsyonlarının deneysel yöntemle ve doku düzeyinde karşılaştırılmasıyla literatüre katkı açısından önem taşımaktadır.

Açık kalp cerrahisinde miyokart koruma yöntemleri ve uygulanan kardiyopleji solüsyonları hala güncel araştırma konuları arasında yer almaktadır. Kontrollü iskemi sonrası her iki kardiyopleji solüsyonu da benzer yanıt ile oksidatif stress markerlarını arttırmıştır. Del Nido kardiyopleji solüsyonunun tek doz avantajının kardiyopulmoner bypass (CPB) ve kros-klomp süresine olumlu etkisi vardır. Bu durum fizyolojik olmayan ekstrakorporeal dolaşım süreci için hastalara avantaj sağladığını düşündürebilmektedir. Etkin miyokardiyal koruma için St.Thomas solüsyonun her yirmi dakikada bir idame dozları ile desteklenmesi gerekmektedir.

Her iki koşulda da hem geleneksel solüsyon St.Thomas ile hem de yeni nesil solüsyon del Nido ile benzer klinik sonuçlar elde edildiği için her iki solüsyon da çeşitli kliniklerde kabul görmektedir. Solüsyonların birbirine avantajları hakkında kesin yargıya varabilmek için daha çok parametre değerlendirmesi içeren deneysel çalışmalara ve deney hayvanı modellerine ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Açık kalp cerrahisi vakalarında kardiyopulmoner bypass ve kros klemp altında kalp dokusunun iskeminin etkilerine maruz kalması kaçınılmazdır. Fizyolojik olmayan koşullara maruz kalan kalpte iskemi ve reperfüzyon hasarını önlemek kalp cerrahisinin yapılmaya başladığı zamandan günümüze kadar çalışılan bir konu olmuştur.

Çalışmamızın sonuçları göz önünde bulundurulduğunda St.Thomas protokolünü kullanan kliniklerde de, yeni nesil kardiyopleji solüsyonu del Nido kullanılan kliniklerde de miyokardiyal koruma sonrası oksidatif stres yanıtı benzer olmuştur. Kardiyopleji solüsyonları açısından deney hayvanları modelleri ya da miyosit hücre kültürü ile hücresel ve doku düzeyinde daha çok karşılaştırma yapmak bu solüsyon içeriklerini, etki mekanizmalarını, sinyal yollarına etkilerini daha kapsamlı bir şekilde tartışmak için etkili bir yol olabilir. Literatürlerin ışığında deneysel çalışmalar ve vaka düzeyindeki prospektif ve retrospektif datalar göz önünde bulundurularak en iyi kardiyopleji solüsyonu yaklaşımına ulaşılabileceği kanısına varılmıştır.

Kalp cerrahisi merkezlerinin miyokardiyal korumadaki sonuçları preoperatif bakım, anestezi uygulama ve yöntemleri, perfüzyon yönetimi, cerrahi teknik gibi değişkenlerden etkilenmektedir. Çok değişkenli parametreler sonuçları karılaştırmada güçlük yaratmaktadır. Çok sayıda kardiyopleji protokolü olması ve konuyla ilgili bilimsel birikimlerin devam etmesi bu yönde çalışmaların yapılmaya devam edeceğinin göstergesidir.

Miyokardiyal korumanın ana bileşeni kardiyopleji gibi görünse de sonuçlara bakıldığında tek değişken olmadığı aşikardır. En iyi sonuç için tüm koşulların göz önünde bulundurulduğu çoklu yaklaşım modellerinin geliştirilmesi uygun olacaktır.

7.KAYNAKÇA

1. Bigelow, W. G., Lindsay, W. K., & Greenwood, W. F. Hypothermia: its possible role in cardiac surgery: an investigation of factors governing survival in dogs at low body temperatures. *Annals of surgery*, 1950, 132(5), 849.
2. Gibbon JH JR, Application Of A Mechanical Heart And Lung Apparatus To Cardiac Surgery. *Minn Med*, 1954, 37:171-85
3. Kirklin, J. W., Donald, D. E., Harshbarger, H. G., Hetzel, P. S., Patrick, R. T., Swan, H. J. C., & Wood, E. H. Studies in extracorporeal circulation. I. Applicability of Gibbon-type pump-oxygenator to human intracardiac surgery: 40 cases. *Annals of surgery*, 1956, 144(1), 2.
4. Robert M, Mentzer, JR, et. Al, Myocardial Protection Chapter 15 *Cardiac Surgery in The Adult* , 2007, 3rd Ed. Lawrence H. Cohn
5. Mustafa Paç , Kalp ve Damar Cerrahisi, 2004, Ankara, MN Medikal Nobel Tıp, s:10-14
6. Sobotta Atlas of Human Anatomy p : 84 14th edition 2006, Elsevier ,GmbH , Munich
7. Forbes M J Ultrastructure of mammalian cardiac muscle. *Physiology and patophysiology of the heart* , 1984, pp:3-42
8. Herzing JW, Myocardial excitation-contraction coupling as influenced through modulation of the calcium sensitivity of the contractile proteins , 1991, *Heart Failure* 6:244
9. Langer, G. A. ,The role of calcium in the control of myocardial contractility: an update. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 1980, 12(3), 231-239.
10. Guyton&Hall, Tıbbi Fizyoloji ,12.baskı sayfa 104
11. Krukenkamp, I. B., Silverman, N. A., Sorlie, D., Pridjian, A., Feinberg, H., & Levitsky, S. Characterization of postischemic myocardial oxygen utilization. *Circulation*, 1986, 74(5 Pt 2), III125-9.
12. Buckberg, G. D., Brazier, J. R., Nelson, R. L., Goldstein, S. M., McConnell, D. H., & Cooper, N. Studies of the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. I. The adequately perfused beating, fibrillating, and arrested heart. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 1977, 73(1), 87-94

13. Brazier, J., Cooper, N., Buckberg, G. The adequacy of subendocardial oxygen delivery: the interaction of determinants of flow, arterial oxygen content and myocardial oxygen need. *Circulation*, 1974, 49(5), 968-977.
14. Sarnoff, S. J., Braunwald, E., Welch Jr, G. H., Case, R. B., Stainsby, W. N., & Macruz, R. ,Hemodynamic determinants of oxygen consumption of the heart with special reference to the tension-time index. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 1957, 192(1), 148-156.
15. Yellon DM, Baxter GF. Protecting the ischaemic and reperfused myocardium in acute myocardial infarction: distant dream or near reality? *Heart* 2000;83(4):381– 7.
16. DeWood MA, Spores J, Notske R, Mouser LT, Burroughs R, Golden MS, et al. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med* 1980; 303(16):897– 902.
17. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death: 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 1977;56(5): 786– 94.
18. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 1975;56(4):978–85.
19. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982;66(6): 1146– 9.
20. Kloner RA, Arimie RB, Kay GL, Cannom D, Matthews R, Bhandari A, et al. Evidence for stunned myocardium in humans: a 2001 update. *Coron Artery Dis* 2001;12(5):349– 56.
21. Manning AS, Hearse DJ. Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol* 1984;16(6): 497–518
22. Tzivoni D, Keren A, Granot H, Gottlieb S, Benhorin J, Stern S. Ventricular fibrillation caused by myocardial reperfusion in Prinzmetal's angina. *Am Heart J* 1983;105(2):323– 5.
23. Bernier M, Manning AS, Hearse DJ. Reperfusion arrhythmias: dose-related protection by anti-free radical interventions. *Am J Physiol* 1989;256(5 Pt 2):H1344–52
24. Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia– reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 2003;75(2):S644 –8
25. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. *Circulation* 2001;104(24):2981–9.

26. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 2. *Circulation* 2001;104(25):3158–67
27. Lefer, A. M., Tsao, P. S., Lefer, D. J., Ma, X. L. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of reperfusion injury after myocardial ischemia. *The FASEB Journal*, 1991, 5(7), 2029-2034
28. Stefan De Hert, Anneliese Moerman, Myocardial injury and protection related to cardiopulmonary bypass, *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 2015, 29, 137-149
29. Stremmer, E. A. ,Functional and structural alterations in the myocardium during aortic cross-clamping. *J. thorac. cardiovasc. Surg.*, 1973, 66, 755-770.
30. Cooley, D. A., Reul, G. J., & Wukasch, D. C. Ischemic contracture of the heart: “stone heart”. *American Journal of Cardiology*, 1972, 29(4), 575-577
31. Buckberg, G. D., & Allen, B. S. Myocardial protection management during adult cardiac operations. In *Glenn's thoracic and cardiovascular surgery* ,1995, pp. 1653-1660). Appleton & Lange, New York
32. Kurth, C. D., Priestley, M., Golden, J., McCann, J., Raghupathi, R. Regional patterns of neuronal death after deep hypothermic circulatory arrest in newborn pigs. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 1999, 118(6), 1068-1077
33. Schubert, A. Side effects of mild hypothermia. *Journal of neurosurgical anesthesiology*, 1995 7(2), 139-147.
34. Buckberg, G. D., Allen, B. S. Myocardial protection management during adult cardiac operations. In *Glenn's thoracic and cardiovascular surgery*, 1995, (pp. 1660-1687). Appleton & Lange, New York
35. López, J. R., Jahangir, R., Jahangir, A., Shen, W. K., & Terzic, A. Potassium channel openers prevent potassium-induced calcium loading of cardiac cells: possible implications in cardioplegia. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 1996, 112(3), 820-831.
36. McAllister, R. E., Noble, D., Tsien, R. W. Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres. *The Journal of physiology*, 1975, 251(1), 1-59
37. Shen, A. C., Jennings, R. B. Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischemic injury. *The American journal of pathology*, 1972, 67(3), 441
38. Guru, V., Omura, J., Alghamdi, A. A., Weisel, R., Fremes, S. E. Is blood superior to crystalloid cardioplegia?: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Circulation*, 2006, 114(1 suppl), I-331.

39. Bilfinger TV, Moeller JT, Kurusz M, Grimson RC, Anagnostopoulos CE. Pediatric myocardial protection in the United States: A survey of current clinical practice. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1992;40:214–8.
40. Kinoshita, K., Oe, M., & Tokunaga, K. Superior protective effect of low-calcium, magnesium-free potassium cardioplegic solution on ischemic myocardium. Clinical study in comparison with St. Thomas' Hospital solution. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 1991, 101(4), 695-702.
41. Turkoz R. Myocardial protection in pediatric cardiac surgery. *Artif Organs.* 2013;37:16–20
42. Powell, W. J. Dibona, D. R., Flores, J., The protective effect of hyperosmotic mannitol in myocardial ischemia and necrosis. *Circulation*, 1976, 54(4), 603-615
43. Szekely A, Levin J, Miao Y. Impact of hyperglycemia on perioperative mortality after coronary artery bypass graft surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011;142:430–7
44. Darryl H., Berkowgtz, J. *Pediyatrik Kardiopulmoner Baypas Yönetimi Bölüm 10* *Pediyatrik Kalp Cerrahisi 4. Baskı* Ed: Constantine Mavroudis ,2013 Carl Backer
45. Thoren, E. Postoperative Atrial Fibrillation after Coronary Artery Bypass Grafting. 2017
46. <https://www.cambridge.org/core/books/cardiopulmonary-bypass/myocardial-protection-and-cardioplegia/FE794287AA43570F67321DF1C6A756A4>, 11.12.18
47. Buckberg, G. D., Antegrade cardioplegia, retrograde cardioplegia, or both?. *The Annals of thoracic surgery*, 1988, 45(6), 589-590
48. Holvoet, P., Vanhaecke, J., Janssens, S., Van de Werf, F., Collen, D. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation*, 1998, 98(15), 1487-1494.
49. Zhang R, Brennan ML, Fu X et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA.* 2001;286:2136-2142.
50. Danne O, Mockel M, Lueders C et al. Prognostic implications of elevated whole blood choline levels in acute coronary syndromes. *Am J Cardiol.* 2003;91:1060-1067
51. Kleinfeld AM, Prothro D, Brown DL et al. Increases in serum unbound free fatty acid levels following coronary angioplasty. *Am J Cardiol.* 1996;78:1350-1354
52. Adams, J. 3., Bodor, G. S., Davila-Roman, V. G., Delmez, J. A., Apple, F. S., Ladenson, J. H., Jaffe, A. S. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *circulation*, 1993, 88(1), 101-106.

53. Dimova, I. Djonov, V. Role of Notch, SDF-1 and Mononuclear Cells Recruitment in Angiogenesis , In Physiologic and Pathologic Angiogenesis-Signaling Mechanisms and Targeted Therapy , 2017, InTech
54. Bromage, D. I., Davidson, S. M. Stromal derived factor 1 α : a chemokine that delivers a two-pronged defence of the myocardium, Pharmacology & therapeutics, 2014, 143(3) , 305-315
55. Zhong, J., Rajagopalan, S. ,Dipeptidyl peptidase-4 regulation of SDF1/CXCR4 axis: implications for cardiovascular disease , Frontiers in immunology, 2015, 6, 477
56. Abbott, J. D., Huang, Y., Liu, D., Hickey, R., Krause, D. S., Stromal cell-derived factor-1 α plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury , Circulation , 2004, 110(21) , 3300-3305.
57. Mieno, S., Boodhwani, M., Ramlawi, B., Li, J., Feng, J., Bianchi, C. Human coronary microvascular effects of cardioplegia-induced stromal-derived factor-1 α . ,The Annals of thoracic surgery, 2006, 82(2), 657-663
58. Matsuoka, S., Uematsu, M., Nakamura, T., Shimizu, T., Futamata, M., Obata, J. E. , High levels of stromal cell-derived factor-1 α predict secondary cardiac events in stable patients with a history of myocardial infarction" , Journal of cardiology, 2017, 69(1), 320-325
59. Ghadge, S. K., Mühlstedt, S., Özcelik, C., SDF-1 α as a therapeutic stem cell homing factor in myocardial infarction , Pharmacology & therapeutics ,2011, 129(1), 97-108
60. Theiss, H. D., Vallaster, M., Rischpler, et al. Dual stem cell therapy after myocardial infarction acts specifically by enhanced homing via the SDF-1/CXCR4 axis , Stem cell research, 2011, 7(3), 244-255
61. Burns, J. M., Summers, B. C., Wang, Y., et al. A novel chemokine receptor for SDF-1 and I-TAC involved in cell survival, cell adhesion, and tumor development , Journal of Experimental Medicine, 2006, 203(9), 2201-2213.
62. Ziegler, M., Elvers, M., Baumer, Y., et al. The bispecific SDF1-GPVI fusion protein preserves myocardial function after transient ischemia in mice" , Circulation, 2012, Cirdulationnaha-111
63. Leung, T. H., Snyder, E. R., et al. A cellular, molecular, and pharmacological basis for appendage regeneration in mice" , Genes & development, 2015, 29(20), 2097-2107

64. Garg, R., Tellez, A., Alviar, C., et al. The effect of percutaneous coronary intervention on inflammatory response and endothelial progenitor cell recruitment" , Catheterization and Cardiovascular Interventions, 2008, 72(2), 205-209
65. Ohnishi, H., Mizuno, S., et al. Stromal cell-derived factor-1 (SDF1)-dependent recruitment of bone marrow-derived renal endothelium-like cells in a mouse model of acute kidney injury , Journal of Veterinary Medical Science, 2015, 77(3), 313-319
66. Sullivan, K. E., Quinn, K. P., et. al. Extracellular matrix remodeling following myocardial infarction influences the therapeutic potential of mesenchymal stem cells, Stem cell research & therapy, 2014, 5(1), 14
67. Gidenne, S., Ceppa, F., et al. Analytical performance of the albumin cobalt binding (ACB®) test on the Cobas MIRA® Plus analyzer, Clinical chemistry and laboratory medicine, 2004, 42(4), 455-461
68. Roy, D., Quiles, J., Gaze, D. C. et al. Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischaemia modified albumin, Heart, 92(1), 2006, 113-114
69. Oran, I., Oran, B. Ischemia-Modified Albumin as a Marker of Acute Coronary Syndrome: The Case for Revising the Concept of “N-Terminal Modification” to “Fatty Acid Occupation” of Albumin" , Disease markers, 2017
70. Chek, J., Dusek, J., et al. Role of ischemia-modified albumin in estimating the extent and scope of cardiac ischemia in patients with ST elevation myocardial infarction , Heart and vessels, 2011, 26(6), 622-627
71. Kim, J. S., Hwang, H. J., Ko, Y. G., Kim, J. S., Choi, D., Ha, J. W., Jang, Y. Ischemia-modified albumin: is it a reliable diagnostic and prognostic marker for myocardial ischemia in real clinical practice?" , Cardiology, 2010, 116(2), 123-129
72. Beetham, R., Monk, C., et. al. Effects of storage at -20° C on ischaemia-modified albumin results" , Annals of clinical biochemistry, 2006, 43(6), 500-502.)
73. Bar-Or, D., Thomas, G. W., et al. Diagnostic potential of phosphorylated cardiac troponin I as a sensitive, cardiac-specific marker for early acute coronary syndrome: Preliminary report" , Clinica chimica acta, 2005, 362(1), 65-70

74. Bar-Or, D., Winkler, J. V., VanBenthuyzen, K., et al. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I" , *American heart journal*, 2001, 141(6), 985-991
75. Lee, E., Eom, J. E., et. al. Evaluation of albumin structural modifications through cobalt-albumin binding (CAB) assay , *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2014, 91, 17-23.
76. Christenson, R. H., Duh, S. H., Sanhai, W. R., Wu, A. H., Holtman, V., Painter, P., Morris, D. L. Characteristics of an albumin cobalt binding test for assessment of acute coronary syndrome patients: a multicenter study. *Clinical Chemistry*, 2001, 47(3), 464-470.
77. Gaze, D. C. Ischemia modified albumin: a novel biomarker for the detection of cardiac ischemia. *Drug metabolism and pharmacokinetics* , 2009, 24(4), 333-341..). 985-990.
78. Sbarouni, E., Georgiadou, P., Voudris, V. Ischemia modified albumin changes—review and clinical implications , *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2011, 49(2), 177-184)
79. Ellidag, H. Y., Bulbuller, N., Eren, E., et. al. Ischemia-modified albumin: could it be a new oxidative stress biomarker for colorectal carcinoma?" , *Gut and liver*, 2013, 7(6), 675.
80. Gidenne, S., Ceppa, F., Fontan, E., Perrier, F., & Burnat, P. Analytical performance of the albumin cobalt binding (ACB®) test on the Cobas MIRA® Plus analyzer" , *Clinical chemistry and laboratory medicine* , 2004, 42(4), 455-461.
81. De Carvalho, C. A. M., Thomazini, J. Study of Wistar Rats Heart at Different Stages in the Evolutionary Cycle. *Int. J. Morphol*, 2014, 32(2), 614-617.
82. De Carvalho, C. A. M., & Thomazini, J. A. Macroscopic anatomy of the surface of the heart of albino Wistar rats. *J. Morphol*, 2013, 30(4), 299-303.
83. Pourmoghadam, K. K., Ruzmetov, M., O'Brien, M. C., Piggott, K. D., Plancher, G., Narasimhulu, S. S., ... & Decampoli, W. M. Comparing del Nido and conventional

cardioplegia in infants and neonates in congenital heart surgery. *The Annals of thoracic surgery*, 2017, 103(5), 1550-1556.

84. Kotani, Y., Tweddell, J., Gruber, P., Pizarro, C., Austin III, E. H., Woods, R. KCaldarone, C. A. Current cardioplegia practice in pediatric cardiac surgery: a North American multiinstitutional survey. *The Annals of thoracic surgery*, 2013, 96(3), 923-929.
85. O'blenes, S. B., Friesen, C. H., Ali, A., & Howlett, S, Protecting the aged heart during cardiac surgery: the potential benefits of del Nido cardioplegia. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 2011, 141(3), 762-770.
86. Govindapillai, A., Hua, R., Rose, R., Friesen, C. H., Protecting the aged heart during cardiac surgery: use of del Nido cardioplegia provides superior functional recovery in isolated hearts. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 2013, 146(4), 940-948.
87. Mick, S. L., Robich, M. P., Houghtaling, P. L., Gillinov, A. M., Soltesz, E. G., Johnston, D. R., del Nido versus Buckberg cardioplegia in adult isolated valve surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 2015, 149(2), 626-636.
88. Charette, K., Gerrah, R., Quaegebeur, J., Chen, J., Riley, D., Mongero, L., ... & Bacha, E. Single dose myocardial protection technique utilizing del Nido cardioplegia solution during congenital heart surgery procedures. *Perfusion*, 2012, 27(2), 98-103.
89. Ota, T., Yerebakan, H., Neely, R. C., Mongero, L., George, I., Takayama, H., Short-term outcomes in adult cardiac surgery in the use of del Nido cardioplegia solution. *Perfusion*, 2016, 31(1), 27-33.
90. Buel, S. T., Striker, C. W., del Nido versus St. Thomas cardioplegia solutions: a single-center retrospective analysis of post cross-clamp defibrillation rates. *The journal of extra-corporeal technology*, 2016, 48(2), 67.
91. Yerebakan, H., Sorabella, R. A., Najjar, M., Castillero, E., Mongero, L., Beck, J., ... & Argenziano, M. Del Nido Cardioplegia can be safely administered in high-risk coronary artery bypass grafting surgery after acute myocardial infarction: a propensity matched comparison. *Journal of cardiothoracic surgery*, 2014, 9(1), 141.

92. Timek, T., Willekes, C., Hulme, O., Himmelhoch, B., Nadeau, D., Borgman, A., Propensity matched analysis of del Nido cardioplegia in adult coronary artery bypass grafting: initial experience with 100 consecutive patients. *The Annals of thoracic surgery*, 2016, 101(6), 2237-2241.



8.EKLER

8.1.Etik Kurul Onay Belgeleri

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ MULTİDİSİPLİN LABORATUVARI HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

16340 İncirli İsmi: 930 4109334

Gündem No/ Toplantı No/Yıl : 09/10/2017
Toplantı Tarihi : 16 Mayıs 2017

Sayın, Prof. Dr. Sadık Kıvanç METİN
DEÜ Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

25/2017 Protokol No'lu: yürütücüsü olduğunuz "Sıçanlarda Miyokard İskemi/Reperfüzyon Modelinde St. Thomas ve Del Nido Kardiyopleji Solüsyonlarının Etkinliğinin Karşılaştırılması" isimli: Merve Serin, Osman Yılmaz, Kemal Baysal'ın araştırmacı olduğu, 21 Adet Wistar Albino verildiği projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Prof. Dr. Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı
(Araştırmacı)
(Topl. Katılmadı)

Prof. Dr. Ali Necati GÖKMEN
Başkan Vekili

Prof. Dr. Safiye AKTAŞ
Üye

Prof. Dr. Hatice Nur OLGUN
Üye

Prof. Dr. Gülgün OKTAY
Üye

Prof. Dr. Günay KIRKIM
Üye

Prof. Dr. Türkan ERTAY
Üye

Prof. Dr. Pembe UYGUN KESKİNOĞLU
Danışman

Doç. Dr. Nergiz DURMUŞ
Üye

Doç. Dr. Nermin Nüket BOÇMEN MAS
Üye

Doç. Dr. Zekiye Sultan ALTUN
Üye

Yard. Doç. Dr. Orhan KALEMCI
Üye

Zehra KINAM
Üye

Vet. Hekim Adnan SERPEN
Üye (Topl. Katılmadı)

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin başvuru formunda **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.

Gündem No/Toplantı No/Yıl : 01/08/2018
Toplantı Tarihi : 17 Nisan 2018

Sayın, Prof.Dr.Sadık Kıvanç METİN
DEÜ Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

25/2017 Protokol No'lu; yürütücüsü olduğunuz "Sıçanlarda Miyokard İskemi/Reperfüzyon Modelinde St.Thomas ve Del Nido Kardiyopleji Solüsyonlarının Etkinliğinin Karşılaştırılması" isimli; Merve Serin, Osman Yılmaz, Kemal Baysal'ın araştırmacı olduğu, 21 Adet Wistar Albino verildiği projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilen projede gönderilen belgeler incelenerek, Ayşe Semra Koçtürk, Belgin Sert Serdar ve Tuğba Erkmen'in projeye araştırmacı olarak katılmaları hususunda bilgi edinilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı
(Araştırmacı)

Prof.Dr.Safiye AKTAS
Üye

Prof.Dr.Gülşün OKTAY
Üye

Prof.Dr.Türkan ERTAY
Üye

Prof.Dr.Nergiz DURMUŞ
Üye

Doç.Dr.Nermin Nüket GÖÇMEN MAS
Üye

Z. Kınar
Zehra KINAM
Üye

Prof.Dr.Ali Necati GÖKMEN
Başkan Vekili

Prof.Dr. Hatice Nur OLGUN
Üye (Topl.Katılmadı)

Prof.Dr.Günay KIRKIM
Üye
(topl. Katılmadı)

Prof.Dr.Pembe UYGUN KESKİNOĞLU
Danışman

Prof.Dr.Zekiye Sultan ALTUN
Üye

Doç.Dr.Orhan KALEMCİ
Üye (Topl.Katılmadı)

Vet.Hekim Adnan SERPEN
Üye

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin başvuru formunda bold karakter kullanılacak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.

Gündem No/ Toplantı No/Yıl : 02/14/2018
Toplantı Tarihi : 24 Temmuz 2018

Sayın, Prof.Dr.Sadık Kıvanç METİN
DEÜ Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

25/2017 Protokol No'lu; yürütücüsü olduğunuz "Sıçanlarda Miyokard İskemi/Reperfüzyon Modelinde St.Thomas ve Del Nido Kardiyopleji Solüsyonlarının Etkinliğinin Karşılaştırılması" isimli; Merve Serin, Osman Yılmaz, Kemal Baysal, Ayşe Semra Koçtürk, Belgin Sert Serdar ve Tuğba Erkmen'in araştırmacı olduğu, 21 Adet Wistar Albino verildiği projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilen projede gönderilen belgeler incelenerek bilgi edinilmiştir.
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı
(Araştırmacı)

Prof.Dr.Ali Necati GÖKMEN
Başkan Vekili

Prof.Dr.Safiye AKTAŞ
Üye (Topl.Katılmadı)

Prof.Dr. Hatice Nur OLGUN
Üye

Prof.Dr.Gülşin OKTAY
Üye

Prof.Dr.Güney KIRKIM
Üye

Prof.Dr.Türkan ERTAY
Üye (Topl.Katılmadı)

Prof.Dr.Pembe UYGUN KEŞKİNOĞLU
Danışman

Prof.Dr.Nergiz BURMUŞ
Üye

Prof.Dr.Zekiye Sultan ALTUN
Üye (Topl.Katılmadı)

Doç.Dr.Nermin Nüket GÖÇMEN MAS
Üye

Doç.Dr.Orhan KALEMCI
Üye

Z. Kınan
Zehra KINAM
Üye

Vet.Hekim Adnan SERPEN
Üye

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin başvuru formunda **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.

8.2.Özgeçmiş

Adı Soyadı	Merve Serin
TC Kimlik No	10165186198
Doğum Yılı:	1989
Yazışma Adresi:	Aydın Devlet Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Ameliyathane
Telefon:	0 (532) 562 92 46
Faks:	
e-posta:	merveserin06@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
TR	Ankara Üniversitesi	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Perfüzyon	Tezsiz Yüksek Lisans	2016
TR	Gazi Üniversitesi	Fen Fakültesi	Biyoloji	Lisans	2012

AKADEMİK/MESLEKTE DENEYİM

Kurum/Kuruluş	Ülke	Şehir	Bölüm/Birim	Görev Türü	Görev Dönemi
Aydın Devlet Hastanesi	TR	Aydın	Kalp ve Damar Cerrahisi	Perfüzyonist	2016-