

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KALP ve DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

AÇIK KALP CERRAHİSİNDE KULLANILAN KAN VE BRETSCHNEIDER HTK KARDİYOPLEJİ SOLÜSYONLARININ MİYOKARD KORUMASINDAKİ ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr.OKAN DERİCİOĞLU

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2015

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KALP ve DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

AÇIK KALP CERRAHİSİNDE KULLANILAN KAN VE BRETSCHNEIDER HTK KARDİYOPLEJİ SOLÜSYONLARININ MİYOKARD KORUMASINDAKİ ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr.OKAN DERİCİOĞLU

UZMANLIK TEZİ

Doç.Dr.KORAY AK

TEZ DANIŞMANI

İSTANBUL 2015

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Önsöz	i
Özet	ii
İngilizce Özet (Abstract)	iv
Simgeler ve kısaltmalar	vi
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Miyokard Metabolizması ve Kasılma Fizyolojisi	7
2.2.1. Kardiyak Miyosit Yapısı	7
2.2.2. Aksiyon Potansiyeli ve Kasılma	11
2.3. İskemi-Reperfüzyom Hasarı	13
2.4. Apoptoz	18
2.5. Miyokar Koruma Yöntemleri	22
2.5.1. Non-Karidyoplejik Teknikler	22
2.5.2. Kardiyoplejik Teknikler	22
2.5.3. Kardiyopleji Solüsyonları	24
2.5.4. Hipotermi	26
3. Gereç ve Yöntem	27
3.1. Hasta Seçimi	28
3.2. Çalışma Protokolü	29
3.3. Anestezi	31
3.4. Cerrahi Yöntem	31
3.5. Biyokimyasal Değerlendirme	32
3.6. Histopatolojik Değerlendirme	33
3.7. İstatiksel Değerlendirme	35
4. Bulgular	36
5. Tartışma	52
6. Sonuç	59
7. Kaynaklar	60

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince hem iyi bir cerrahın hem de gerçek bir bilim insanının nasıl olması gerektiğini öğrendiğim ve bu tez çalışmasının planlanma, yürütülme ve yazılma aşamalarında büyük emeği olan değerli hocam Doç. Dr. Koray Ak'a; sadece bilimsel ve cerrahi bilgi becerileri ile değil bir doktor, bir baba, bir insan olarak da her zaman bana ilham kaynağı olmuş, ömür boyu örnek alacağım ve izinden yürümeye çalışacağım değerli hocam Prof. Dr. Sinan Arsan'a, kliniğimizde birçok yeniliğin öncüsü olarak yeni cerrahi yöntemleri öğrenmemizi sağlayan, yenilikçi vizyonuyla bir kalp cerrahının kendini her daim güncel tutması gerektiğini bize aşılayan değerli hocam Prof. Dr. C.Selim İsbir'e, yaptığı çalışmalarla dünya genelinde birçok kalp cerrahının ilgiyle takip ettiği, kısa süreliğine de olsa beraber çalışabilme şerefine eriştiğim değerli hocam Prof. Dr. Adnan Çobanoğlu'na ve desteklerinden ötürü Yrd. Doç. Dr. Yaşar Birkan'a ve Op. Dr. S.Serdar Kutay'a; kliniğe başladığım ilk günden itibaren omuz omuza çalıştığım ve birçok deneyiminden faydalandığım Op. Dr. Özgür Gürsu, Op. Dr. Maher Aljodi ve aramızdan hiç beklenmedik bir zamanda ayrılarak hepimizi yarım bırakan Dr. Ahmet Güler'e; her zaman iyi birer dost olarak gördüğüm Op. Dr. M.Emre Elçi ve Op. Dr. Gözde Tekin'e; beraber çalışmaktan çok keyif aldığım, bir çok nazıma katlamış olan Dr. Elif Demirbaş ve Dr. Anar Hamidov'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamdaki dokuların incelenmesi aşamasında bana çok yardımcı olan hocalarım Doç. Dr. Zeynep Doğusan ve Doç. Dr. Ahmet Midi'ye ve verilerin istatistiklerinin hesaplanmasında gece gündüz demeden yardımıma koşan Uzm. Dr. Egemen Cebeci'ye teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan, sevgisi ve desteğini her an içimde hissettiğim sevgili eşim Dr. Aslıhan Dericioğlu'na ve bu yoğun koşuşturma içinde asla istediğim kadar vakit ayıramadığım, yaşama sevincim, dünya tatlısı kızım Yağmur'a; bugünlere gelmemde en az benim kadar emeği olan çok sevgili babam Dr. Orhan Dericioğlu ve canım annem Füsun Dericioğlu'na, en zor zamanda bile beraber gülebiliğim en yakın dostum, kardeşim Dr. Volkan Dericioğlu'na hep yanımda oldukları için ne kadar teşekkür etsem azdır.

Dr.Okan Dericioğlu
Nisan 2015, İstanbul

AÇIK KALP CERRAHİSİNDE KULLANILAN KAN KARDİYOPLEJİSİ VE BRETSCHNEIDER HTK SOLÜSYONLARININ MİYOKARD KORUMASINDAKİ ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

AMAÇ: 4:1 Kan:St.Thomas II kardiyopleji solüsyonu ile Bretschneider HTK solüsyonlarının miyokard koruması üzerindeki etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

HASTALAR VE YÖNTEM: Elektif açık kalp cerrahisi uygulanan 40 hasta dahil edilmiştir. Hastalar iki gruba ayrılmıştır; grup 1 (n=20, KK): miyokard koruması amacıyla tekrarlayan soğuk 4:1 kan kardiyoplejisi kullanılan ve grup 2 (n=20, CS): tek doz soğuk Bretschneider HTK solüsyonu kullanılan hastalar. Tüm hastalarda sistemik kandan, preoperatif ve postoperatif 6, 24, ve 48. saatlerde Laktat, CK-MB ve Troponin I düzeyleri değerlendirilmiştir. Aort kros klemp öncesi ve sonrası koroner sinüsten CK-MB, Troponin I ve Laktat çalışılmıştır. Kros klemp öncesi ve sonrasında sol ventrikül miyokard dokusu alınmış ve ışık mikroskopisi ile iskemi-reperfüzyon hasarının belirteçleri semikantitatif olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca Hoecsht 33342 floresan boyama ve TUNEL yöntemi ile apoptotik indeks araştırılmıştır.

BULGULAR: Hastaların ortalama yaşları 59.07±14.3'tür ve %10' u (n=4) kadındır. Demografik parametreler açısından iki grup benzerdir. İntraoperatif ve erken postoperatif klinik parametre ve mortalite (n=0) açısından iki grup arasında fark tespit edilememiştir. CS grubunda, kros klemp sonrası CK-MB ve postoperatif 6. saatte bakılan Troponin I değerlerindeki artış KK grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. (p=0,008 ve p=0,04). CS grubunda, kardiyopulmoner baypas sırasında ortalama en düşük hematokrit diğer gruba kıyasla anlamlı derecede düşüktü (%20.1±4.5 ve %25.3±3.4, p=0.02). Benzer şekilde CS grubunda diğer gruba kıyasla hem intraoperatif (1.6±0.9 Ü ve 0.2±0.5 Ü, p=0.001) hem de total kan transfüzyon miktarında (2.5±1.3 Ü ve 1.4±1, p=0.01) anlamlı derecede artış tespit edilmiştir. Histopatolojik olarak, CS grubunda diğer gruba kıyasla kros klemp sonrası sadece hücresel ödem anlamlı derecede fazla tespit edilirken (p=0.019), apoptotik hücre indeksi açısından gruplar arası fark tespit edilememiştir.

SONUÇ: Kan kardiyoplejisi ve Bretschneider HTK solüsyonlarının miyokard üzerindeki etkileri benzerdir. Ancak Bretschneider HTK solüsyonu, hemodilüsyona, intraoperatif anemiye ve buna bağlı artmış transfüzyon miktarına sebep olmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kardiyopleji, iskemi-reperfüzyon hasarı, apoptoz, miyokard koruması, açık kalp cerrahisi

COMPARISON OF THE EFFICACY OF BRETSCHNEIDER'S HTK SOLUTION AND COLD BLOOD CARDIOPLEGIA SOLUTION ON MYOCARDIAL PROTECTION IN CARDIAC SURGERY

AIM: We compare the efficacy of 4:1 Blood:St.Thomas II and Bretschneider HTK solutions in myocardial protection.

PATIENTS AND METHOD: 40 patients undergoing elective open heart surgery were included into the study. Patients were asserted into two groups according to myocardial protection strategy; group 1: patients (n=20, KK group) who had repeated (every 20 minute) cold 4:1 Blood: St.Thomas II cardioplegia solution and group 2: those (n=20) who had single dose cold Bretschneider HTK cardioplegia solution for myocardial protection during aortic cross clamping. Systemic blood samples from all patients were collected preoperatively, before induction, at the postoperative 6th, 24th and 48th hours for analyses of Lactate, Creatinin Kinaz (CK)-MB and Troponin I levels in all patients. Blood samples from coronary sinus were collected before aortic cross clamping and after removal of cross clamp for analyses of CK-MB, Troponin I and Lactate levels. Moreover, left ventricular myocardial tissue samples were collected before aortic cross clamping and after removal of cross clamp. Histopathological markers of ischemia reperfusion injury such as vacuolization, edema, inflammatory cell infiltration and degenerative nuclear alterations were studied under light microscopy. Apoptosis index was evaluated via TUNEL method and Hoecsht 33342 flouresence staining.

RESULTS: Mean age was 59.07±14.3 and 10% of patients were female (n=4). There were no differences in intraoperative and early postoperative clinical parameters and mortality (n=0) between two groups. In CS group the increase in CK-MB levels after cross clamping and postoperative 6th hour Troponin I levels were significantly higher than KK group (p=0.008 and p=0.04 respectively). The mean lowest hematocrit level during cardiopulmonary bypass in CS group was significantly lower than KK group (20±4.5% and 25.3±1.4%, p=0.01). Increased cellular edema after cross clamping in CS group was the only significant histopathological finding (p=0.019) whereas there was no statistical difference between apoptotic index of both groups.

CONCLUSION: None of the myocardial protective effects of blood cardioplegia and Bretschneider HTK solution cardioplegia are superior to each other. Intraoperative anemia caused by hemodilutional effect and as a result, increased demand for blood transfusion are disadvantages of Bretschneider HTK solution.

KEYWORDS: Cardioplegia, ischemia-reperfusion injury, apoptosis, myocardial protection, cardiac surgery

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACT : Aktive pıhtılaşma zamanı

AIF : Apoptoz indükleyici faktör

APAF : Apoptotik Proteaz Aktive edici Faktör

ATP : Adenozin 5'-trifosfat

AF : Atriyal fibrilasyon

AVR : Aort kapak replasmanı

BAK : Bcl-2 Antagonist Killer

BAX : Bcl-2 Associated X protein

Bcl-2 : B-hücreli lenfoma-2

CAD : Kaspazla aktive deoksiribonükleaz

CK-MB : Kreatinin Kinaz-MB

Da : Dalton

DAG : Diaçilgliserol

DNA : Deoksiribonükleik asit

EF : Ejeksiyon fraksiyonu

Hct : Hematokrit

HTK : Histidin-Triptofan-Ketoglutarat

İABP : İntraaortik balon pompası

ICAD : Kaspazla aktive deoksiribonükleaz inhibitörü

KABC : Koroner arter baypas cerrahisi

KPB : Kardiyopulmoner baypas

mV : Milivolt

mmHg : Milimetre civa

mmol : Milimol

ml/kg :Mililitre/kilogram

mEq/L :Miliekuvalan/L

mmol/L : Milimol/Litre

mOsm/L	: Miliosmol/Litre
MI	: Miyokard enfarktüsü
MLC	: Miyozin hafif zincir
MVR	: Mitral kapak replasmanı
MyBP-C	: Miyozin bağlayıcı protein-C
NO	: Nitrik oksit
PKC	: ProteinKinaz C
Rb	: Retinablastom
İRH	: İskemi-reperfüzyon hasarı
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SR	: Sarkoplazmik retikulum
Trop.I	: Troponin I
TUNEL etiketleme	: Terminal deoksiribonükleotidil transferaz aracılı dUTP nick sonu
TEE	:Transözofageal Ekokardiyografi
VF	: Ventriküler fibrilasyon
VSD	: Ventriküler Septal Defekt

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Açık kalp cerrahisi uygulanan hastalarda, planlanan cerrahi onarımın gerçekleştirilebilmesi için kansız ve hareketsiz bir ortamın sağlanması önemlidir. Bunu sağlamak için operasyon sırasında kalbin geçici bir süre ile durdurulması gerekir. Bu işlem *kardiyopleji* olarak isimlendirilir. Kardiyopleji için koroner sisteme birçok farklı içerikte kardiyopleji solüsyonu verilerek kalbin diyastolik safhada durdurulması amaçlanmaktadır. Oluşturulan elektif arest sırasında gelişen miyokard iskemisi ve sonrasında gelişebilecek olan iskemi-reperfüzyon hasarı kardiyopleji uygulamasının en önemli istenmeyen etkileri olup henüz tam olarak çözümlenememiştir. Kardiyoplejiye bağlı gelişen miyokardiyal iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarı kalp cerrahisi uygulanan hastalarda en önemli mortalite ve morbidite sebebi olmaya devam etmektedir. Bu sorunu engellemek veya en az seviyeye indirgemek için değişik kardiyopleji solüsyonları ve bu solüsyonlara eşlik eden yardımcı yöntemler geliştirilmiştir. Genel olarak kardiyopleji oluşturmak amacıyla potasyum iyonundan zengin kristalloid solüsyonlar kullanılmaktadır. Kardiyopleji solüsyonu olarak, yalnız kristalloidler ve yardımcı elementler içeren solüsyonlar ile daha fizyolojik özelliklere sahip, yüksek potasyum içerikli kan ile hazırlan kan kardiyoplejisinin miyokardı korumada birbirlerine üstünlüklerinin olup olmadığı konusu, literatürde halen tartışmalı bir konudur. Kardiyopleji solüsyonunun veriliş ısısı da miyokardın iskemiye maruz kaldığı dönemde metabolizmanın optimal düzeyde devam etmesini sağlayan önemli unsurlardan birisidir. Ayrıca hazırlanan solüsyonun krebs siklusu elemanları, aminoasitler, fizyolojik tampon görevi gören maddeler gibi substratlar ile zenginleştirilmesi iskemik hasarı azaltan diğer yöntemler arasında sıralanabilir. Oluşturulan elektif arest sırasında, alınan tüm bu koruyucu önlemlere rağmen, kadiyopleji süresince gelişen iskemiye bağlı miyokardda meydana gelen hasar tam olarak engellenemeyen bir sorun olmaya devam etmektedir. Bununla beraber aort klempinin kaldırılmasıyla tekrar perfüze olan miyokardda ortaya çıkan iskemi-reperfüzyon hasarının, iskeminin yarattığı hasardan çok daha fazlasına neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenlerden dolayı açık kalp cerrahisinde miyokard korunması popülaritesini halen korumakta olan bir konudur.

Bu çalışmanın amacı, dünya genelinde ve kliniğimiz rutininde sıkça kullanılan iki farklı kardiyopleji solüsyonunun (4:1 Kan kardiyoplejisi (4 kan/1 St.Thomas II) ve Bretschneider HTK (Histidin-Triptofan-Ketoglutarat)) miyokard korumasındaki etkinliklerinin klinik, biyokimyasal belirteçler ve histoplatolojik düzeyde araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Dr.Ludwig Reh'in 1896'da kalp yaralanmasıyla gelen bir hastanın hayatını, miyokardına üç dikiş koyarak kurtarması ile başlayan kalp cerrahisi tarihi, 1916'da Mc Lean'in heparini bulması ve ardından Dr.John Gibbon'un 1953'te tasarladığı ilk kalp-akciğer makinasıyla büyük hız kazanmıştır (1). Aynı tarihlerde C.Walton Lillehei ve arkadaşları 'kontrollü kros sirkülasyon' adıyla yeni bir teknik geliştirmişlerdir. Bu teknikte aynı kan grubuna sahip aile bireyi ile hastanın arteriyel ve venöz sistemleri birbirlerine bağlanmakta ve bu sayede hastaya operasyon sırasında gerekli dolaşım desteği sağlanarak gereken cerrahi prosedür uygulanabilmekteydi. Lillehei ilk defa 1954'te ventriküler septal defekti (VSD) bulunan bir çocukta başarılı bir şekilde bu ameliyatı gerçekleştirmiş ve 1954-1955 yılları arasında bu teknikle aralarında dünyada ilk defa VSD kapatılması ve Fallot tetralojisine yönelik tam düzeltme operasyonları dahil olmak üzere 45 hastalık bir seri operasyon gerçekleştirmiştir (2,3). Yine 1955'te, Mayo Clinic'te John W.Kirklin ve arkadaşları, Gibbon'un kalp-akciğer makinesinden yola çıkarak geliştirdikleri kardiyopulmoner baypas (KPB) pompası ile bir dizi VSD kapatılması ve Fallot tetralojisi tam düzeltme operasyonlarını başarı ile gerçekleştirerek KPB pompasının kalp cerrahisinde yaygın olarak kullanımının önünü açmışlardır (4). Daha sonra KPB altında gerekli cerrahi prosedürün uygulanabilmesi için kalbin durdurulması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Bunun için 1950'li yıllarda ekstrakorporel dolaşım sırasında aort kanülünün proksimaline konulan kros klemp ile kalp iskemik bırakılarak arest olması sağlanmakta ve sonrasında kros klemp kaldırılarak kalbin reperfüze olması ve tekrar çalışması beklenmekte idi. 1970'li yıllara kadar yaygın bir şekilde kabul görmüş olan bu yöntem, Cooley'in kalpte geri dönüşümsüz bir sertlik ile masif subendokardiyal nekroz oluşumunu (*stone heart*) tarif etmesi ile kullanımı son bulmuştur (5).

Kardiyopulmoner baypas sırasında, miyokardın metabolik ihtiyacını azaltmak, cerrahi sahanın görüntüsünü iyileştirmek ve bu sayede cerrahi işlemin

uygulanışını kolaylaştırmak için kalbin elektif olarak potasyumla durdurularak diyastolik arest sağlanması ilk olarak 1955 yılında Melrose ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (6). Fakat başlangıçta uygulanan çok yüksek potasyum miktarı ciddi miyokard hasarına neden olması üzerine bu solüsyonu uygulamaktan vazgeçmişlerdir. Lam ve arkadaşları, elektif kardiyak arest oluşturmak için asetilkolin kullanmış, fakat etki süresi çok kısa olduğu için bu uygulama rutin kullanımda yer almamıştır (7). Yine 1950'lerin ortalarında Sealy, VF'ye karşı geliştirmeye çalıştığı, potasyum, magnezyum ve neostigmin içeren bir solüsyonun hipotermi ile birlikte elektif kardiyak arest oluşturmada kullanılabileceğini göstermiştir. Bununla beraber ilk defa "*kardiyopleji*" terimi Sealy tarafından kullanılmıştır (8). 1960'lı yıllarda, Holscher, Bretschneider ve Kirsch tarafından Almanya'daki kalp merkezlerinde kardiyopleji solüsyonları üzerine yoğun çalışmalar yapılmış ve çeşitli kimysallar eklenerek daha güvenli kardiyak arest sağlayan solüsyonlar geliştirilmeye çalışılmıştır. Sonrasında *Bretschneider HTK solüsyonu* olarak da bilinen, çok bileşenli kardiyopleji solüsyonu birçok merkezde rutin olarak kullanılmaya başlanmıştır. 1975'te Gay ve Ebert, daha önce Melrose tarafından geliştirilen hiperkalemik solüsyondaki potasyum konsantrasyonunu azaltarak birçok problemi ortadan kaldırdıklarını gösteren çalışmalar yayınlamışlardır (9). Shumway, aortik klemple eş zamanlı olarak perikardiyal boşlukta soğuk serum sirkülasyonu ile miyokard koruması için topikal hipoterminin önemini ortaya koymuştur (10). Bigelow, Lindsay, Greenwood 1950'de ve Shumway, Lower 1959'da miyokard korumasında hipoterminin önemini ortaya koymuşlardır (10, 11). Yapılan deneysel çalışmalarda hipotermi ile metabolizma yavaşlatılmış olsa bile enerji üretiminin devam etmesi gerekliliği gösterilmiştir (12,13). Multidoz kristalloid kardiyoplejinin 1976'da rutin kullanılmaya başlamasının ardından 1978'de Gerald Buckberg ve arkadaşlarının; kalsiyum, potasyum, pH ve ozmolaritede yaptıkları değişiklikler ile hazırladıkları soğuk kan kardiyoplejisi solüsyonlarının kullanılmaya başlanması miyokard korunmasını daha da geliştirmiştir (14). Buckberg yaptığı çalışmalar ile kardiyopleji solüsyonu olarak "kan" kullanarak ve bu kanı glutamat, aspartat ve benzeri diğer bileşenlerle zenginleştirirek miyokard korunması konusunda büyük gelişmelere öncü olmuştur. St. Thomas Hastanesi'nden David Hearse ve Mark Braimbridge ise; kristalloid kardiyoplejinin içeriğinin Bretschneider ve Kirsch

solüsyonları gibi intraselüler içerikli değil ekstraselüler içerikli olması gerektiği yönünde çalışmalar yapmışlar ve ilerleyen yıllarda bu çalışmalar ile St.Thomas Hastanesi solüsyonlarını geliştirmişlerdir (15). Bretschneider, 1980'lerde düşük konsantrasyonda potasyum içeren kristalloid solüsyonunun hipotermi ile birlikte kullanılması gerektiğini gösteren çalışmalar yapmıştır (16). Bundan sonraki yıllarda artık kardiyopleji solüsyonlarının gerekliliğinden çok, içeriği tartışılmaya başlanmış olup bu tartışma halen güncelliğini korumaktadır.

Operasyon sırasında miyokardı korumak ve hareketsiz bir ortam sağlamak için kullanılan diğer alternatif yöntemler ise; kardiyopleji solüsyonu kullanmadan uygulanan yöntemler olup, bunlar; *ventriküler fibrilasyon (VF) ile aralıklı kros klemp* ve *sistemik hipotermi ile fibrilatuar kardiyak arest* olarak sıralanabilir. Fakat zaman içinde VF'nun hem subendokardiyal kan akımını azalttığı hem de miyokardın oksijen tüketimini arttırdığı gösterilmiş ve fibrilasyonun sanıldığı kadar güvenli bir yöntem olmadığı saptanmıştır. Günümüzde bazı cerrahlar kısa süreli operasyonlar için hipotermi altında fibrilasyonu halen kullanmaktadır. Buckberg yaptığı bir çalışmada, 1 saat süre ile fibrile edilen özellikle hipertofik kalplerde ciddi düzeyde miyokardda iskemik hasar oluştuğunu gösterdiğinden birçok cerrah için artık geçerliliğini kaybetmiş bir yöntem olarak kabul görmektedir (17).

Tablo 1: Miyokard korumasında yapılan yeniliklerin kronolojik sırayla incelenmesi

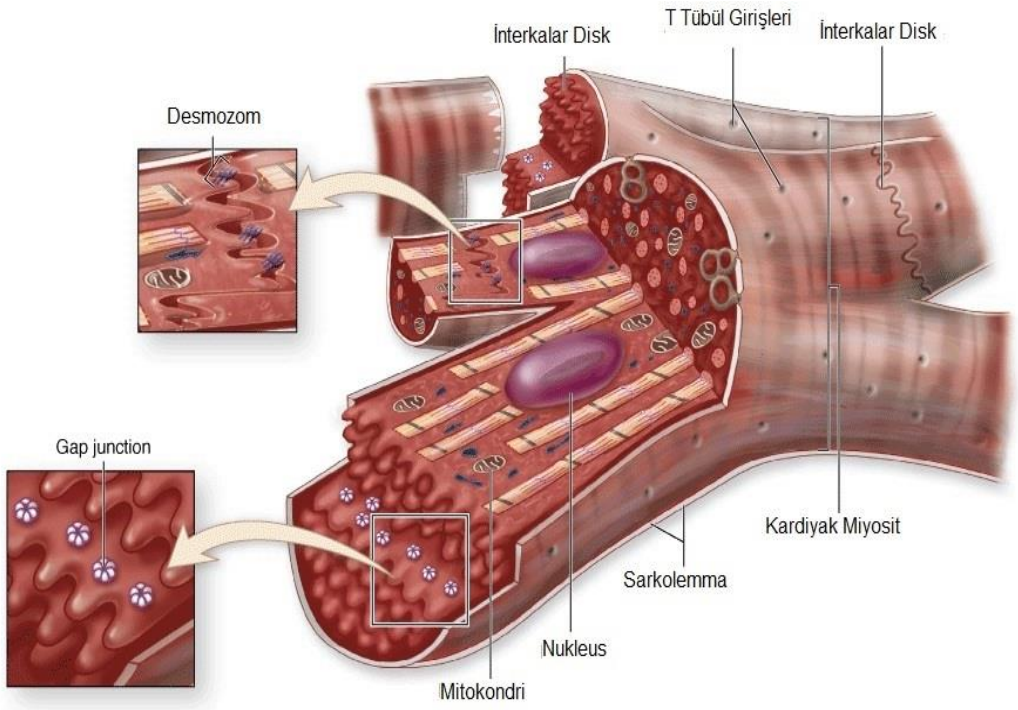
Yıl	Referans	Yenilik
1950	Bigelow WG	Köpekler üzerinde kalp cerrahisinde hipotermi ile ilgili ilk çalışmalar
1953	Swan H	İnsanda hipotermik arest (26ºC) ile kansız bir ortamda operasyon yapılabileceğini gösterdi
1955	Melrose DG, Bental HH	Köperklerde, geri döndürülebilen kimyasal arest konseptini tanıttı
1956	Lillehei CW	Hipotermik kristalloid kardiyopleji uygulanışını koroner arter kanülasyonu ile detaylandırdı
1957	Sealy, Lam CR	"Kardiyopleji" teriminin ilk kullanılmaya başlanması
1958	Gerbode F, Melrose DG	İnsanda kardiyak arest oluşturmak için potasyum sitrat kullanıldı
1960	Mc Farland JA	Melrose'un potasyumlu arestine karşın aralıklı aortik oklüzyon ve koroner arter perfüzyonuyla miyokard korumasını geliştirdi
1964	Bretschneider H	Kalbi durdurmak için düşük sodyumlu, kalsiyum içermeyen, prokain içeren bir solüsyon geliştirdi
1964	Sondergaard KT	İlk olarak Bretscheider solüsyonunu klinikte rutin kullanmaya başladı
1973	Gay WA, Ebert PA	Potasyumla indüklenen kardiyoplejiyi savundular: Potasyumlu solüsyonla bir köpeğin kalbinde 60 dakika arest oluşturarak, hücresel hasar gelişmediğini gösterdiler
1974	Tyers WA	Hayvanlarda, soğuk kan infüzyonu ile miyokard dokusunu 4ºC'nin altında tutarak 90 dakika boyunca iskemik hasardan korunduğunu gösterdi
1975	Hearse DJ	St.Thomas No I olarak bilinen solüsyonu geliştirdi
1975	Braimbridge MV	St.Thomas solüsyonunun klinikte rutin ilk kullanımı
1979	Buckberg GD	İlk defa koroner arterlere potasyum infüzyonu için kan kullanımı
1984	Akins CW	Koroner revaskülarizasyon için kardiyopleji olmadan hipotermik fibrilatuar arest tekniğini kullandı
1986	Murray CE	Kısa süreli iskemi ve reperfüzyon periyotları ile kalbin daha uzun iskemik periyotlara karşı dayandığını gösterdi
1991	Lichtenstein SV, Salerno TA	Sıcak kan kardiyoplejisinin sürekli infüzyonu ile iyi klinik sonuçlar alındığını gösterdiler

2.2. Miyokard Metabolizması ve Kasılma Fizyolojisi

Yetersiz miyokard koruması, kalp cerrahisinde başarılı cerrahi tekniğe rağmen peroperatif ve postoperatif erken dönem mortalite ve morbiditenin en önemli nedeni olmaya devam etmektedir. Oluşturulan arest sırasında gelişen bu hasarı en aza indirmek için miyokarda sunulan enerji ile miyokardın gereksinim duyduğu enerji arasındaki hassas dengenin her dönemde korunması çok önemlidir. Miyokard korumasında sağlanan gelişmeler, kardiyak fizyoloji, metabolizma ve iskemi reperfüzyon hasarı mekanizmalarının anlaşılması ile sağlanmıştır.

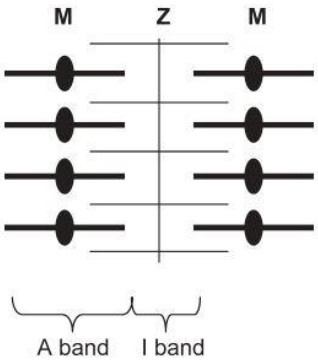
2.2.1. Kardiyak miyosit yapısı

Her kardiyak miyosit, sarkolemma adı verilen hücre membranıyla sarılı olup bir nükleus ve kasılma için gerekli ATP'yi üreten bol miktarda mitokondriye sahiptir. İskelet kasındaki gibi kardiyak miyositler de kontraktil proteinler olan aktin (ince filament) ve miyozin (kalın filament) filamentlerini ve bağlayıcı proteinler olan troponin ve tropomiyozin içerirler. Bu miyofilamentlerin oluşturduğu Z-bandı, sarkoplazmik retikulum ile sarılmış durumdadır. Ayrıca kardiyak miyositleri çaprazlayan transvers tübüller (T tübüller), iskelet kasındakinin aksine Z bandını çaprazlarlar. T tübüllerin lümeninde, miyositi çevreleyen ekstraselüler sıvı devamlılık gösterir ve bu sayede aksiyon potansiyeli T tübül boyunca yayılır. Komşu kardiyak miyositler birbirlerine *interkalar disk (Diskus interkalaris)* adı verilen ve sadece kalp kasına özgü bağlantılarla sıkıca bağlıdır. Buna ek olarak membranlar birbirlerine *desmozom* adı verilen sıkı bağlantılar ile tutunurlar. Bu sıkı bağlantılar sayesinde bir miyositteki kontraksiyon diğerine hızlı bir şekilde iletilir. Ayrıca *Gap junction* adı verilen düşük rezistanslı yolaklar ile de bir hücredeki uyarı diğerine kolayca yayılır.



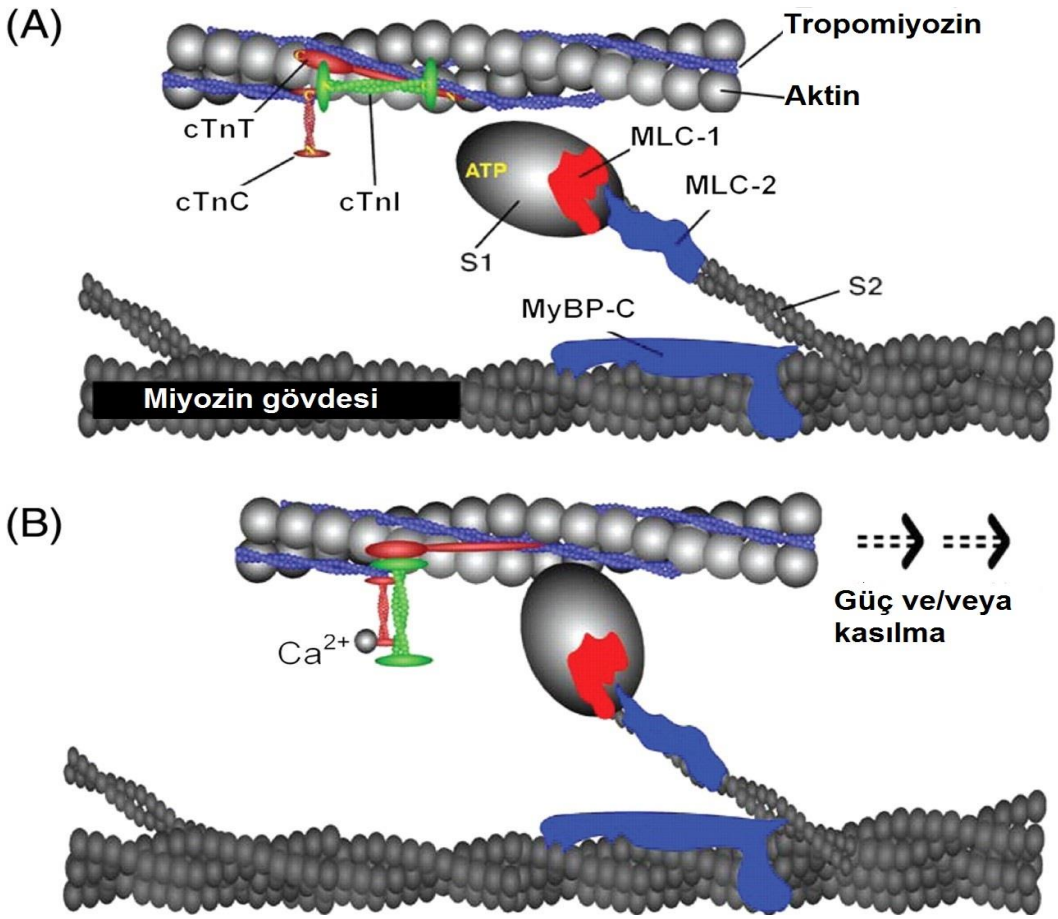
Şekil 2.1 Kardiyak miyosit yapısı

Kardiyak miyositler, kasılan ve uyarı oluşturan (pacemaker) hücreler olmak üzere iki gruba ayrılır. Kasılmayı sağlayan miyositler, geniş stabil bir istirahat membran potansiyeline ve uzun bir plato fazına sahipken pacemaker hücreler kısa ve unstabil bir istirahat membran potansiyeline sahiptir. Spontan olarak depolarize olabilirler ve bu sayede kalpte intrinsik uyarı oluşturabilirler. Pacemaker hücreler sinoatriyal ve atrioventriküler nodda yoğunlaşmış olarak bulunurlar.



Şekil 2.2: Miyositlerdeki A, I ve Z bantlarının şematik gösterimi

Kas kasılması için kayan filament modeli, kalın ve ince filamentlerin boylarının kasılma ve gevşeme boyunca sabit kalmasına dayanır. Aktivasyon sırasında aktin filamentleri A bandına doğru itilir (Şekil 2.2). Kasılma sırasında A bandının uzunluğu sabit kalırken, I bandı kısalır ve Z bantları birbirine doğru hareket eder. Miyozin, molekül ağırlığı 500.000 Da olan kompleks, asimetrik bir proteindir. Uç kısmında globüler bir parçaya (baş kısmı) ve 1500 nm uzunluğunda çubuk şeklinde bir gövdeye sahiptir. Globüler yapıya sahip baş kısmı, aktin ve miyozin molekülleri arasında köprüler oluşturur ve ATPaz aktivitesine sahiptir. Kalın miyofilament, baş kısmı dışarıda kalacak şekilde yaklaşık 300 adet yanyana polarize şekilde dizilmiş miyozin gövdelerinden oluşur. Dış kısımda kalan miyozin başları aktin ile etkileşerek kasılmayı ve güç oluşturmayı sağlarlar. İnce filament daha büyük bir molekül olan tropomiyozin etrafında çift sarmal yapı oluşturan iki aktin molekül zinciri içerir. Düzenleyici proteinlerden (Troponin C, I ve T) oluşan gruplar bu filament boyunca düzenli aralıklarla yerleşmişlerdir. (Şekil 2.3) Miyozinin aksine aktin molekülünün intrinsik enzimatik aktivitesi yoktur. Fakat ATP ve kalsiyum ile beraber miyozine geri dönüşümlü olarak bağlanır. Ca^{2+} iyonu, miyozin ATPaz enzimini aktifleştirerek ATP'yi yıkar ve kasılma için gerekli olan enerjiyi sağlar. Miyozin ATPaz aktivitesi, aktin-miyozin çapraz köprülerinin oluşum hızını ve bunun sonucu olarak da kas kontraksiyonunun hızını belirler. Dinlenme halinde iken tropomiyozin bu etkileşimin gerçekleşmesini engeller. Titin, miyozini Z bandına bağlayan, esnek, miyofibriler yapıda büyük bir moleküldür. Gerilmesi kalbe elastikiyet kabiliyeti vermektedir (18).

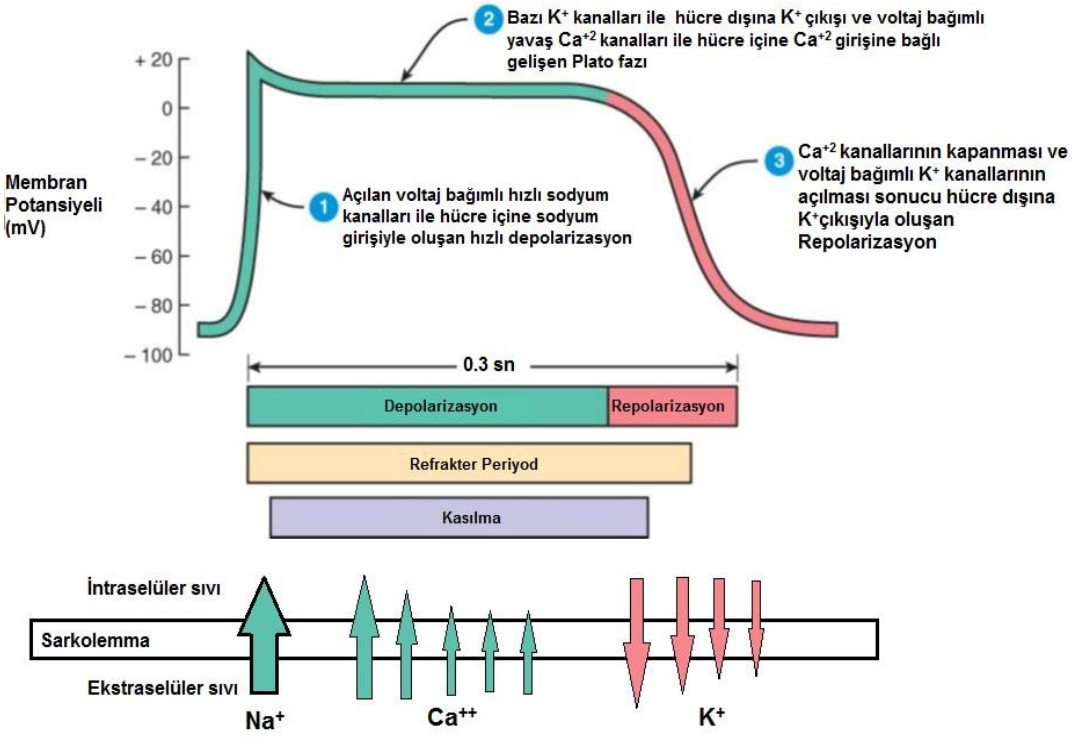


Şekil 2.3 Diyastol (A) ve sistol (B) sırasında kardiyak sarkomer; A: İnce filament aktin, tropomiyozin ve troponin komplekslerinden oluşur. (Troponin T:cTnT, C:cTnC ve I:cTnI) Globuler baş kısmı (S1), menteşeli uç kısım (S2) ve bir gövde bölümüne sahip asimetrik miyozin kompleksinden oluşmaktadır. Miyozinin S1 kısmı ATP'yi hidrolize eden ve aktine bağlanmayı sağlayan bölgelere sahiptir. Miyozin molekülündeki her bir uç kısım bir çift miyozin hafif zinciri ile etkişleşim halindendir. Miyozin hafif zincirleri, esansiyel hafif zincir (MLC-1) ve düzenleyici hafif zincirden (MLC-2) oluşmaktadır. MyBP-C (Miyozin bağlayıcı protein-C). B: cTnC'ye kalsiyum bağlanması Troponin-Tropomiyozin kompleksinde yapısal yeniden düzenlenme başlatır. Tropomiyozinin hareketi aktin üzerindeki miyozin bağlanma noktalarının açığa çıkmasını sağlar. Böylelikle çapraz köprü oluşumunu mümkün kılar. Bu da kuvvet oluşumu ve sarkomerin kısalması ile sonuçlanır (18).

2.2.2. Aksiyon potansiyeli ve kasılma

Kalpte sistol ve diyastol sarkolemmada bulunan, depolarizasyon ve repolarizasyonu tetikleyerek aksiyon potansiyeli oluşturan iyon kanalları sayesinde gerçekleşmektedir. Hızlı sodyum kanalları, yavaş kalsiyum-sodyum kanalları (L tipi kalsiyum kanalı veya yavaş kalsiyum kanalı da denmektedir), yavaş ve voltaj bağımlı potasyum kanalları, kardiyak miyosit aksiyon potasinyelinde başrolde olan kanallardır. Kardiyopleji solüsyonları bu iyon kanalları üzerinden etkilerini göstererek farmakolojik arest sağlamaktadır.

Kalp kasındaki aksiyon potansiyeli, iskelet kasından farklı olarak uzun bir plato fazına sahiptir. Plato fazını oluşturan ana etken ise yavaş kalsiyum-sodyum kanallarıdır. Uyarı ile "hızlı" sodyum kanalları 1/1000 saniye açık kalarak hücre içerisine sodyum girişini sağlarken, "yavaş" kalsiyum-sodyum kanalları 1/10 saniye açık kalarak bu süre içerisinde büyük miktarlarda kalsiyum ve sodyum iyonunun hücre içine akışını sağlarlar. Bu akış, uzun süreli bir depolarizasyon sağlayarak kardiyak miyositlerdeki plato fazını oluşturur. (Şekil 2.4) Ayrıca miyokardda, iskelet kasından farklı olarak sarkoplazmik retikulumdan salınan kalsiyum ile değil, plato evresinde hücre içine giren kalsiyum iyonları sayesinde kasılma başlatılır. Yine iskelet kasından farklı olarak, aksiyon potansiyelinin başlamasından hemen sonra kardiyak miyosit membranındaki potasyum geçirgenliği beşte bir oranında azalır. Bu sayede pozitif yüklü potasyum iyonlarının hücre dışına çıkışı önemli derecede azalır ve aksiyon potansiyeli voltajının, erkenden istirahat düzeyine dönmesi engellenir. 300 milisaniyenin sonunda yavaş kalsiyum-sodyum kanallarının kapanmasıyla hücre içine kalsiyum ve sodyum iyon akışı dururken membranın potasyum geçirgenliği hızla artar. Hücrelerin membran potansiyeli potasyum kaybına bağlı olarak hızla istirahat dönemine döner ve böylece aksiyon potansiyeli son bulur (19,20). (Şekil 2.4)



Şekil 2.4: Kalp kasında aksiyon potansiyeli

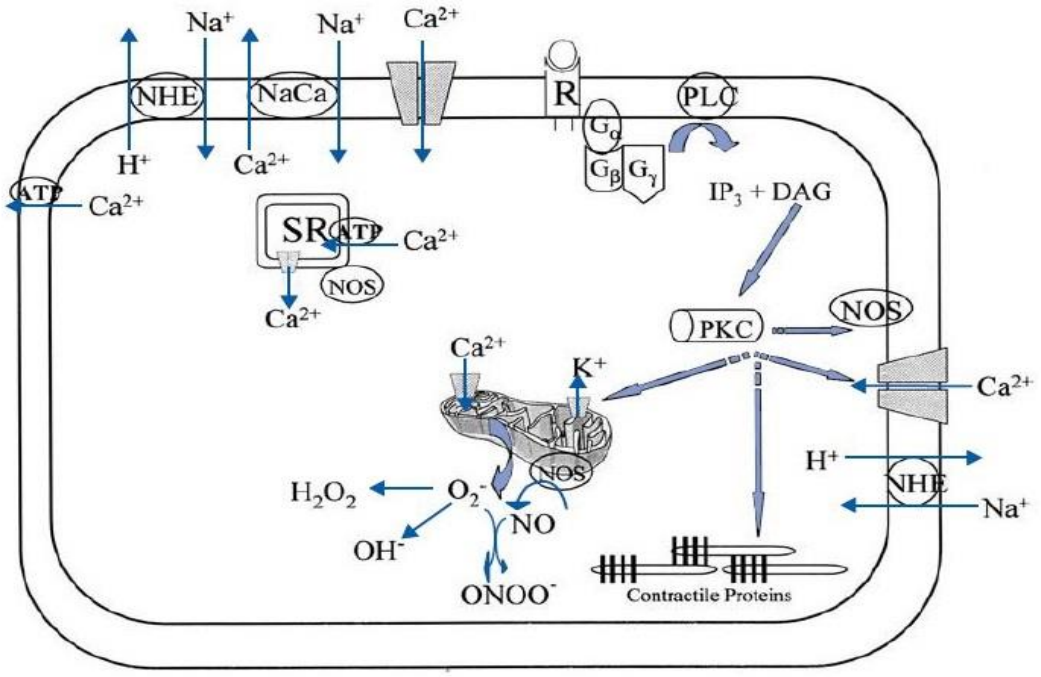
2.3. İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Perfüzyonun bozulması sonucu dokunun oksijenden ve gerekli diğer maddelerden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi ile hücre hasarına ve ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuda hem hücrenin rejenerasyonu hem de toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için perfüzyonun yeniden sağlanması gerekir. Ancak, beklenin aksine reperfüzyonun dokuda oluşturduğu hasarın iskemi ile oluşan hasardan çok daha ciddi olduğu gösterilmiştir (21). Reperfüzyon döneminde ortaya çıkan bu hasarda, hücreye oksijen girişi ile tetiklenen serbest oksijen radikali (SOR) oluşumu, hücre içi kalsiyum yükünün artışı, endoteliyal ve mikrovasküler disfonksiyon başta olmak üzere birçok karmaşık mekanizma rol oynamaktadır. Bu hasarın oluşmasında SOR oluşumu, polimorf nüveli lökositlerin aktivasyonu, sitokin ve eikanozoidlerin salınımında artış ve kompleman sisteminin aktivasyonu başlıca rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en duyarlı olan hücresel yapılar ise; membran lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit (DNA) molekülleridir (22).

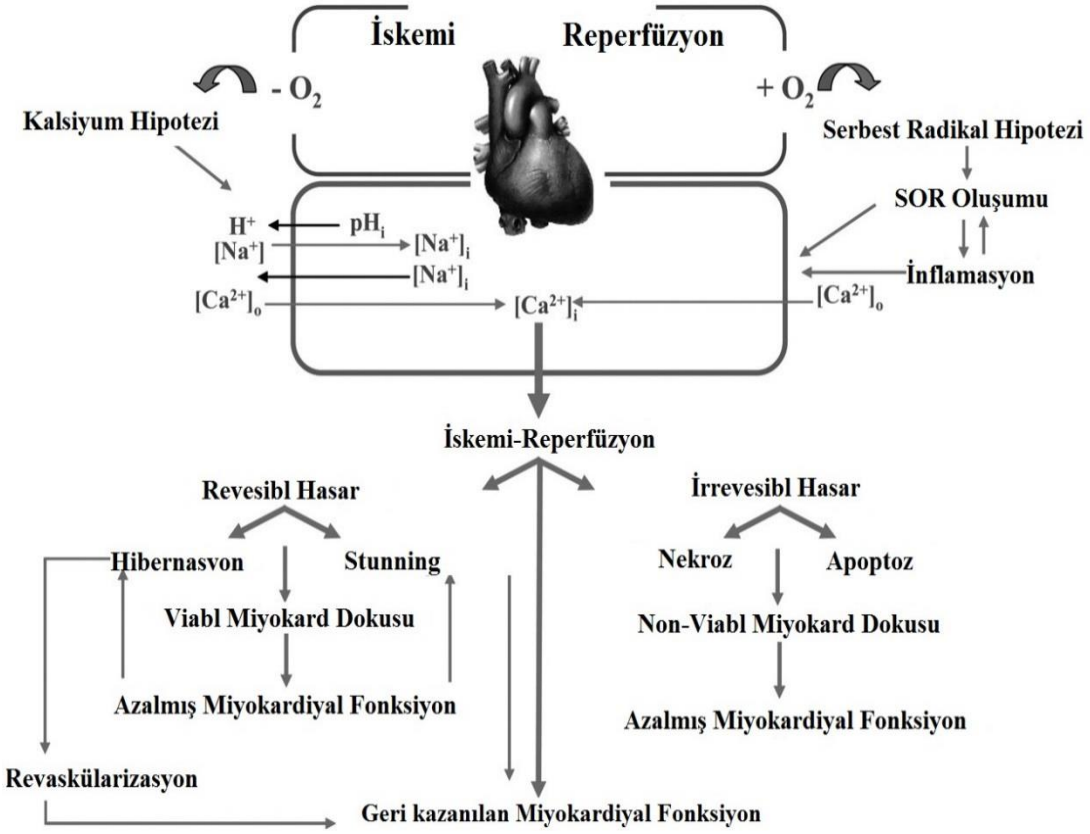
Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile oksidatif fosforilasyon ve buna bağlı olarak adenozin 5'-trifosfat (ATP) gibi yüksek enerjili fosfat bileşikleri sentezi azalır ya da tamamen durur. Hücrede enerji depolarının boşalması ile membranda bulunan sodyum-potasyum ATPaz pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içindeki sodyum ve kalsiyum iyon konsantrasyonları artar. Hücre içindeki kalsiyum iyon konsantrasyonunun kontrolsüz artışı hücre için sitotoksiktir. Yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuar sitokinlerin ve lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzim yapımında azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı daha da dayanıksız kılar (23 - 25).

Hücredeki protein yapılar, oluşan SOR ile doğrudan etkileşime girerek hasara uğramaktadır. Metionin, sistein gibi terminal sülfidril grubu bulunduran aminoasitler ve triptofan, tirozin, histidin gibi aromatik aminoasitler, oksidasyondan en çok etkilenen moleküllerdir. Bu proteinlerin fonksiyonları, sekonder ve tersiyer

yapılarında oksidasyon sonucu oluşan değişiklikler nedeniyle etkilenmektedir. Enzim veya reseptör görevi gören membran proteinleri, özellikle serbest radikal modifikasyonlarına duyarlı oldukları için önemli hücresel işlevler ve membran fonksiyonları bozulur (26). SOR, çoklu doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidazların ve hidroperoksitlerin oluşumuna yol açar. Bu ajanlar sarkolemmaya zarar vererek membran bağımlı enzim sistemlerini bozarlar (27). Ayrıca SOR, hücrelerdeki nükleik asitlerin oksidasyonuyla dolaylı yoldan ya da DNA hasarı ile doğrudan hücredeki apoptotik mekanizmaların tetiklenmesine yol açabilmektedir.



Şekil 2.5: İskemi-reperfüzyon hasarının 2 ana etkeni olarak sayılan Ca^{2+} hemostazı ve SOR oluşumu intraselüler mekanizmalarca düzenlenir. İskemi süresince intraselüler Ca^{2+} iyonu, istirahat dönemindeki normal sitozolik Ca^{2+} konsantrasyonunu sağlayan, sarkolemmada ve sarkoplazmik retikulumda (SR) bulunan enerji bağlımlı Ca^{2+} pompalarının çalışmamasına bağlı olarak artar. Ayrıca çeşitli G protein-kenetli reseptörlerin (alfa ve beta adrenerjik reseptörler vb.) aktivasyonuyla stimule olan fosfolipaz-C (PLC) mekanizması ile hücre içi Ca^{2+} artar. Bu yolakla oluşan İnositol trifosfat (IP_3)'da SR gibi hücre içi depolardan Ca^{2+} salınımını artırır. Fosfolipaz-C üzerinden oluşan Diaçilgliserol (DAG)'de ProteinKinaz C'nin (PKC) Ca^{2+} bağımlı ve bağımsız izoformlarını aktive eder. PKC ise, Ca^{2+} konsantrasyonu ve metabolizmasını regüle eden bir çok enzim ve Ca^{2+} duyarlı kontraktil protein fosforilasyonunda rol alır. Sodyum-Hidrojen pompası (NHE), intraselüler H^+ ile ekstraselüler Na^+ iyonu değişimini sağlar ve artmış hücre içi Na^+ kosantrasyonuna bağlı olarak sodyum-kalsiyum pompasının (NaCa) ters çalışmasına neden olabilir. Reperfüzyonda ortaya çıkan SOR (Süperoksit anyonu (O_2^-), Hidroksil anyonu (OH^-) ve Hidrojen peroksid (H_2O_2)) çeşitli protein (Ca^{2+} pompaları, SR Ca^{2+} kanalları, kontraktil proteinler vb.) oksidasyonu ile hasara neden olmaktadır. Süperoksit anyonu ise sarkolemmadaki veya mitokondrideki nitrik oksit (NO) ile birleşerek peroksinitrit ($OONO^-$) gibi diğer reaktif nitrojen bileşiklerini oluşturarak iskemi-reperfüzyon hasarında rol alır (28).



Şekil 2.6: Kalp dokusu üzerine iskemi reperfüzyon hasarı etkisi

SOR'a bağlı gelişen endotel disfonksiyonu mikrovasküler hasarla sonuçlanır. Yine SOR nedeniyle artan enflamatuvar mediatörler ve adezyon molekülleri, trombosit ve nötrofil aktivasyonuna neden olur. Aktive olmuş nötrofiller disfonksiyonel endotelle temas ettiklerinde hasarlı bölgeye giderek artan nötrofil göçüyle sonuçlanan zincirleme bir reaksiyon başlatırlar. Yapılan son çalışmalarda nötrofil aktivasyonu ve infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptoz derecesi arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir (29). Bunlara ek olarak, SOR endotel tarafından üretilen nitrik oksiti baskılamaktadır (30). Tüm bu etkilerin sonucunda, iskemi sonrasında reperfüze olan miyokard dokusunda gelişen koroner vazokonstrüksiyon reperfüze olan bölgeye kan akımının mikrovasküler düzeyde sınırlanmasına hatta durmasına neden olur ve buna *"no-reflow"* fenomeni adı verilir (27).

İskemik miyokard dokusunda anaerobik metabolizmaya bağlı olarak laktik asit (laktat) üretimi ortaya çıkmaktadır. Reperfüzyondan sonra bu üretimin devam ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (31). Bu konu, aerobik yolun devreye girmesinin, reperfüzyona rağmen, geciktiğinin bir göstergesi olarak postoperatif ventrikül disfonksiyonu ve aritmi açısıdan önem taşımaktadır.

Kardiyoplejik arest sonrası ortaya çıkan miyokard nekrozu ilk olarak 1967'de Morales ve arkadaşları tarafından tarif edilmiştir (32). Miyokardda gelişen iskemi-reperfüzyon hasarı (İRH), apoptoz, nekroz ve Türkçe'de sersemleme olarak tarif edilen *miyokardiyal stunning* ile sonuçlanabilir. '*Stunned miyokard'* kavramı 1980'lerde ortaya konulmuş olup, miyokardiyal hücrelerin iskemi sonucunda nekroz olmaksızın ya da yapısal hasar gelişmeksizin fonksiyon kaybettiğini tariflemektedir. Bu fonksiyon kaybı birkaç saat ile birkaç güne kadar uzayabilmektedir (33).

Güncel miyokard koruma tekniklerinin temel amacı, farklı mekanizmalar ile miyokard hasarına neden olan farmakolojik arestin istenmeyen etkilerini yok etmek ya da en aza indirmektir.

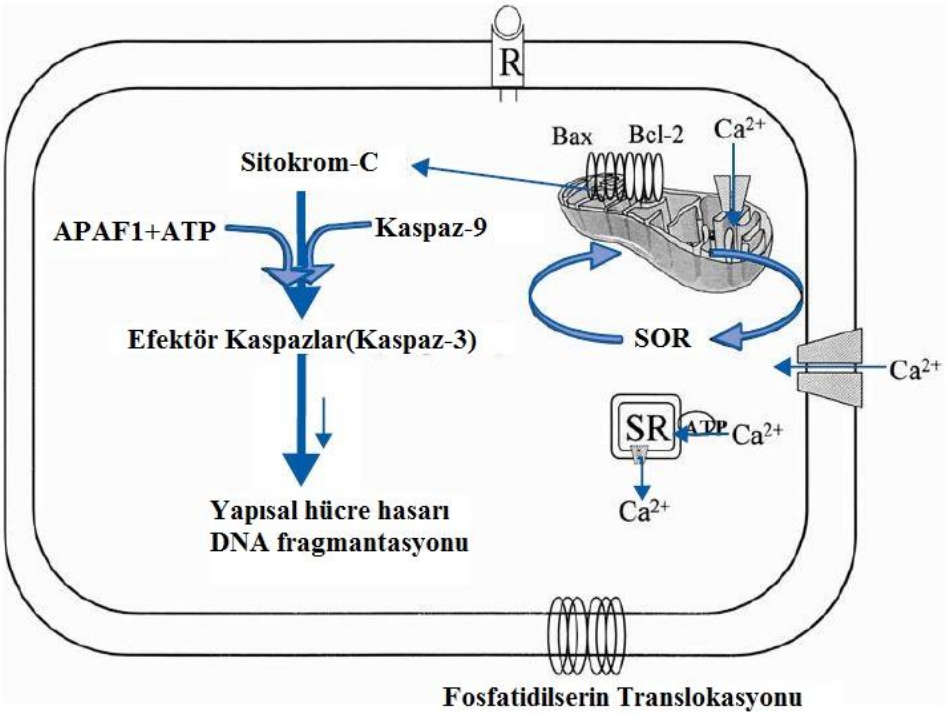
2.4. Apoptoz

Apoptoz terimi, Yunanca kökenli olup bir çiçeğin yapraklarını sonbaharda dökmesi anlamına gelmektedir. İlk defa İskoçyalı araştırmacılar Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972 yılında kullanılmış ve canlı dokulardaki hücre azalmasından sorumlu olan, yapısal, özgün bir hücre ölüm tipi olarak tanımlanmıştır (34). Nekrozdan farklı olarak apoptozda; planlanmış, belli mediatörler ile intrinsik olarak veya İRH gibi çeşitli etmenlerle dışarıdan indüklenen, gerçekleşmesi için ATP gereken ve gerçekleştiğinde komşu hücreyi etkilemeyen, enflamatuvar yanıt oluşturmayan programlanmış hücre ölümüdür. Apoptozun temel işlev ve amacı embriyonal gelişim, başkalaşım ve doku atrofisi sırasında organizmaya şekil vermek, organizmanın toplam hücre sayısını düzenlemek, tümör hücreleri, virüsle kontamine olmuş hücreler ve geri dönüşümsüz hasara uğramış hücreler gibi istenmeyen hücreleri ortadan kaldırmak ve bunlara karşı savunma oluşturmaktır. Genetik kontrol ile hücre içinden tetiklenebileceği gibi; iyonize radyasyon, ilaçlar, mekanik travmalar, viral/bakteriyel enfeksiyonlar, iskemi sonrası reperfüzyon ve buna bağlı gelişen oksidatif hasar gibi dış etmenlerle de tetiklenebilmektedir. Apoptoz mekanizmasında artma ile oluşan durumlarda nörodejenaratif hastalıklar veya viral hepatitlerdeki organ yetmezliği gibi tablolar ortaya çıkarken; azalması ile oluşan durumlarda ise otoimmün lenfoproliferatif hastalıklar ve maligniteler ortaya çıkmaktadır.

Apoptozu indükleyen (p53, BAX, BAK vb.) ve baskılayan (Bcl-2, c-Abl, Rb vb.) birçok protein, gen ve mekanizma olmakla beraber, apoptozda temel olarak *Kaspaz (Sistein-aspartat spesifik proteaz)* sistemi rol almaktadır. Kaspazlar sistein proteazlarıdır ve aspartik asitten sonraki peptid bağını kırarlar. Günümüze dek 14 kaspaz izoformu keşfedilmiş olup bunlar üç kategoride incelenmektedir: Başlatıcı kaspazlar (Kaspaz 8 ve 9), efektör kaspazlar (Kaspaz 3, 6, 7) ve enflamatuvar kaspazlar (diğerleri). Kaspaz aktivitesi proteolitik kaskad yoluyla gerçekleşir. (Şekil 2.7) Kaspazlar, inaktif iki prokaspazın yan yana gelmesi ve hidrolizi sonucunda aktive olur (35, 36). Kaspaz aktivasyonu ile apoptozun en özgün yönü olan DNA

fragmentasyonu gerçekleşir. DNA internükleozomal bölgelerden yaklaşık 180-200 baz çifti boyutunda parçalanır. Apoptotik hücrelerde görülen diğer bir önemli değişiklik ise; normalde plazma membranının iç yüzeyinde bulunan fosfatidilserin'in erken evrede memranın dış yüzeyine doğru yer değiştirmesidir. "*Fosfatidilserin translokasyonu*" apoptotik hücrenin komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmasını sağlamaktadır (37).

Gerek intrinsik gerekse ekstrinsik nedenlerle apoptozu tetikleyen yolların kesiştiği ortak nokta mitokondridir. Reperfüzyon sonucunda gelişen mitokondriyal hasar ile apoptotik mekanizmalar tetiklenmektedir. *Sitokrom c*, mitokondri iç membranında bulunan elektron transport zincirinin bir proteinidir. Yapılan çalışmalarla, sitokrom c'nin mitokondriden sitoplazmaya salınmasının, hücrede geri dönüşümsüz bir apoptoz sürecine girildiğinin göstergesi olduğu anlaşılmıştır. Sitokrom c, mitokondriden *AIF (Apotosis Inducing Factor)* ile birlikte sitoplazmaya salınır ve burada sitoplazmik bir protein olan *APAF-1'e (Apoptotic Protease Activating Factor)* bağlanarak onu aktive eder. APAF-1 aktivasyonuyla inaktif olan prokaspaz-9 aktif hale gelir. Aktif kaspaz 9 efektör kaspazlardan prokaspaz-3'ü aktive eder. Aktif kaspaz 3, *ICAD*'ı *(Inhibitor of caspase-activated deoxyribonuclease)* inaktive eder ve *CAD (Caspase-activated deoxyribonuclease)* serbestleşerek aktif hale gelir ve bu da apoptozun karakteristik bulgularından olan, kromatin yoğunlaşmasına ve internükleozomal DNA fragmentasyonuna neden olur (36).



Şekil 2.7: Kardiyak miyositte İskemi-reperfüzyon hasarı ile tetiklenen apoptoz mekanizması. Apoptozun intrinsik yolla tetiklenmesinden başlıca sorumlu tutulan mediatörler; iskemi ve reperfüzyon ile hücre içinde aşırı miktarda biriken Ca^{+2} iyonu ve reperfüzyon ile oluşan serbest oksijen radikalleridir (SOR). İskemi-reperfüzyona bağlı gelişen metabolik değişiklikler ve glutatyon gibi endojen antioksidanların azalması, mitokondriyal elektron transport zincirinde artmış elektron kaçağına ve mitokondriyal SOR oluşumuna neden olur. Mitokondriyal Ca^{+2} taşıyıcısı, artan sitozolik Ca^{+2} iyonunu tamponlayabilse bile artmış mitokondriyal Ca^{+2} iyonu SOR oluşumuna neden olur. Bununla beraber SOR oluşumu intraselüler Ca^{+2} iyonunda artışa neden olarak hücreyi bir kısır döngüye sokar. Bcl-2 ve Bax gibi yakın ilişkili proteinler apoptozun aktivasyonu ya da inaktivasyonunda rol alır. Bcl-2, mitokondriden sitokrom-c salınımını ya da doğrudan Bax gibi proapoptotik proteinleri inhibe ederek etki gösteren anti-apoptotik bir proteindir. Bax proteinin ise sitozolden mitokondri membranına yer değiştirerek apoptozu tetiklediği düşünülmektedir. Apoptozun başladığını gösteren iki erken gösterge; miyosit membranına fosfatidilserin translokasyonu ve mitokondirden sitokrom-c salınımıdır (38).

Miyokard dokusunda apoptoz kavramı, İRH ve apoptozu saptama konusunda hücresel ve moleküler düzeyde yapılan araştırmalar ile yeni tedavi seçenekleri bulunması ve miyokard koruma yöntemlerinin geliştirilmesi açısından popüler bir konu olmaya devam etmektedir. 1994 yılında yapılan bir çalışmada, iskemi sonrası reperfüze edilmiş tavşan kalbinde, apoptotik DNA fragmentasyonunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, normal tavşan kalbinde (kontrol grubunda) ve sadece iskemiye maruz kalmış (reperfüze edilmemiş) tavşan kalbinde apoptoz gelişmediği de gösterilmiştir (39). Sonraki yıllarda yapılan birçok benzer çalışmada iskemi sonrası reperfüzyonun apoptozu tetiklediği gösterilmiştir.

Apoptozu saptamada morfolojik görüntüleme yöntemleri, immunohistokimyasal yöntemler, biyokimyasal yöntemler ve moleküler biyoloji yöntemleri gibi birçok farklı yöntem kullanılabilmektedir. Işık mikroskobisi ile kullanılan Hematoksilen veya Giemsa boyama hem maliyet hem de kolaylık açısından tercih edilen bir yöntemdir. Deneyimli bir araştırmacı tarafından düzgün yapılmış bir boyama ile hücrenin apoptotik safhada olup olmadığı nukleus morfolojisine göre rahatça anlaşılabilmektedir. Floresan mikroskopisi gibi daha gelişmiş yöntemler apoptozu göstermede oldukça etkilidir. Hoechst 33342 boyası ile boyanan dokularda normal nükleus ile fragmante DNA'ya sahip nükleuslar kolayca ayırt edilebilmektedir. Ayrıca "Terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUTP nick sonu etiketleme" kısaca TUNEL olarak bilinen yöntem ile apoptoz dokularda in situ olarak gösterilebilmektedir.

2.5. Miyokard Koruma Yöntemleri

2.5.1.Non-kardiyoplejik teknikler

"*Fibrilasyonlu aralıklı kros klemp";* açık kalp cerrahisiyle beraber kullanılmaya başlanmış ilk yöntemlerden biri olmakla beraber bazı merkezlerde uygulanmaya halen devam edilmektedir. Günümüzde "orta derecede hipotermik perfüzyon (30-32°C) ile fibrilasyonlu aralıklı kros klempleme" olarak da bilinmektedir. Bu teknik ile koroner arter baypas ameliyatları nispeten hareketsiz bir ortamda uzun iskemik periyotların yol açtığı metabolik durumlardan kaçınılarak uygulanabilmektedir. Bonchek ve ark. 1992'de yayınladıkları 3000 hastalık ve Raco ve ark. 2002'de yayınladıkları 800 hastalık serilerde, bu yöntemin koroner arter baypas cerrahisi uygulanan hastalarda miyokardı korumada güvenilir bir yöntem olduğunu göstermeye çalışmışlardır (40,41).

"Sistemik hipotermi ve elektif fibrilatuvar arest" yöntemi diğer bir non-kardiyoplejik tekniktir. Bu yöntemde temel olarak sistemik hipotermi (<28°C), elektif fibrilatuar arest ve 80-100mmHg basıncında sistemik perfüzyon uygulanır. Bu yöntemin dezavantajları revaskülarizasyon sırasında koroner akımın devam etmesine bağlı cerrahi konforun düşük olması ve ventriküler fibrilasyona bağlı artan kas tonusu nedeniyle cerrahın görüntü için kalbe istediği pozisyonu verememesidir. Ayrıca hava embolisi riski nedeniyle kardiyak boşukların açıldığı prosedürler için uygun bir yöntem değildir.

2.5.2. Kardiyoplejik teknikler

Kardiyopleji solüsyonları çeşitli kimyasal içerikleri sayesinde kalpte hızlı bir diyastolik arest sağlamak, iskemi ve sonrasındaki reperfüzyon döneminde miyokardı gelişebilecek hasara karşı korumak üzere tasarlanmıştır. Genel olarak iki ana gruba ayrılmaktadır: Kristalloid kardiyopleji solüsyonları ve kan kardiyoplejisi solüsyonları. Kristalloid solüsyonlar ise intraselüler ve ekstraselüler olarak iki gruba

ayrılmaktadır. İntraselüler solüsyonlar düşük miktarda veya hiç sodyum ve kalsiyum iyonu içermez iken ekstraselüler solüsyonlar yüksek sodyum, kalsiyum ve magnezyum oranına sahiptirler. Her iki grup da yüksek potasyum konsantrasyonuna (10-40mmol/L), tamponlama için bikarbonata (10-20mmol/L) ve dengede bir osmolariteye (300-390 mOsm/L) sahiptirler. Kristalloid solüsyonlar genel olarak soğuk (4-20 ^{o}C) şekilde uygulanmaktadır.

İlk olarak 1979'da Buckberg tarafından ortaya konan, kanın kardiyopleji solüsyonu olarak kullanılmaya başlanması miyokard korumasında yeni bir dönem açmıştır (42). Kardiyopulmoner baypas sırasında alınan otolog hasta kanı ve yüksek potasyum konsantrasyonuna sahip kristalloid solüsyon karışımı ile elde edilen kan kardiyoplejisinin birçok avantajı olduğu gösterilmiştir. Fakat kristalloid kardiyopleji solüsyonlarına benzer şekilde kan kardiyoplejisi birçok merkezde farklı şekillerde hazırlanmaktadır. En sık kullanılan kan/kristalloid oranı 8:1, 4:1 ve 2:1 şeklindedir. Ayrıca, *"minipleji"* olarak da bilinen, dilüe edilmeden (çok az miktarda kristalloid solüsyon içeren) yapılan kan kardiyoplejisinin de miyokardı korumada etkin bir yöntem olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (43). Kan kardiyoplejisinin avantajlarını sıralayacak olursak;

- Oksijenize bir ortam sağlamaktadır.
- Aralıklı verilmesi sayesinde arest haldeki kalbin tekrar oksijenlenmesini sağlamaktadır.
- Yüksek miktarlarda kardiyopleji gereken durumlarda hemodilüsyonu sınırlandırır.
- Çok yüksek tamponlama kapasitesine sahiptir.
- İdeal osmotik özelliklere sahiptir.
- Elektrolit ve pH bakımından fizyolojiktir.
- Birçok endojen antioksidan içerir ve serbest radikalleri yıkar.
- Diğer solüsyonlara göre hazırlaması daha basittir.

2.5.3. Kardiyopleji solüsyonları

Günümüz kalp cerrahisinde, miyokard koruması için kardiyopleji solüsyonları ile uygulanan farmakolojik arest; solüsyonun içeriği, veriliş şekli ve ısısı bakımından halen tartışmalı bir konu olmakla beraber, en yaygın kullanılan ve en geçerli yöntem olmaya devam etmektedir. İyi bir kardiyopleji solüsyonundan beklenen özellikler hızlı bir diyastolik arest sağlaması, reperfüzyon hasarını sınırlandırması ve geri dönüşümsüz miyokard hasarını engelleyecek güçlü kardiyoprotektif etkiye ve hızla geri döndürülebilir etkilere sahip olmasıdır. İlk olarak kullanılmaya başlanan hiperkalemik ekstraselüler kardiyopleji solüsyonları, yukarıda sayılan kriterleri büyük ölçüde karşılamaktadır. Ancak benzer güvenlik profiline sahip, miyokard koruması açısından daha avantajlı alternatifler geliştirilmeye çalışılmıştır.

Hiperkalemik solüsyonlar ile sağlanan ekstraselüler sıvıdaki potasyum konsantrasyonu artışı, normal değeri -85 mV olan istirahat membran potansiyelinin bir miktar depolarize olmasını sağlar. Bu sayede daha az negatif yeni bir istirahat membran potansiyeli oluşur. Bu yeni istirahat membran potansiyeli seviyesinin kaç milivolt olacağı, ekstraselüler potasyum yoğunluğuyla doğrudan ilişkilidir. Ekstraselüler potasyum yoğunluğu, yaklaşık 10 mmol/L olduğunda membran potansiyeli -65 mV seviyesine gelir ve hızlı sodyum kanalları inaktive olur. Böylece aksiyon potansiyelinin başlaması engellenir. Ekstraselüler potasyum yoğunluğu yaklaşık 30 mmol/L olduğunda membran potansiyeli -35 mV seviyesine gelir. Bu seviyede kalsiyum kanalları aktive olur ve hücre içine yoğun kalsiyum girişi gerçekleşir. Bu durum hücre içinde aşırı kalsiyum birikimine neden olur ve bu doğrudan hücre hasarı ve iskemi reperfüzyon hasarıyla ilişkilidir. Bu nedenle hiperkalemik solüsyonlarda kullanılabilecek ekstraselüler potasyum yoğunluğunun oldukça dar bir güvenlik aralığı vardır. Hiperkalemik bir solüsyon olan St.Thomas II solüsyonunda bu nedenle güven aralığının tam ortasına denk gelecek şekilde 16mmol/L potasyum bulunmaktadır.

Hiperkalemiyle oluşturulan depolarize arestin alternatifi polarize ya da hiperpolarize aresttir. Bu yolla hedeflenen, iyonik denge bozukluğundan kaçınarak enerji tüketimini azaltmaktır. Polarize arest oluşturmakta kullanılan en önemli yöntem hipokalsemidir. Ekstraselüler sıvıdan kalsiyumun tamamen çıkarılması,

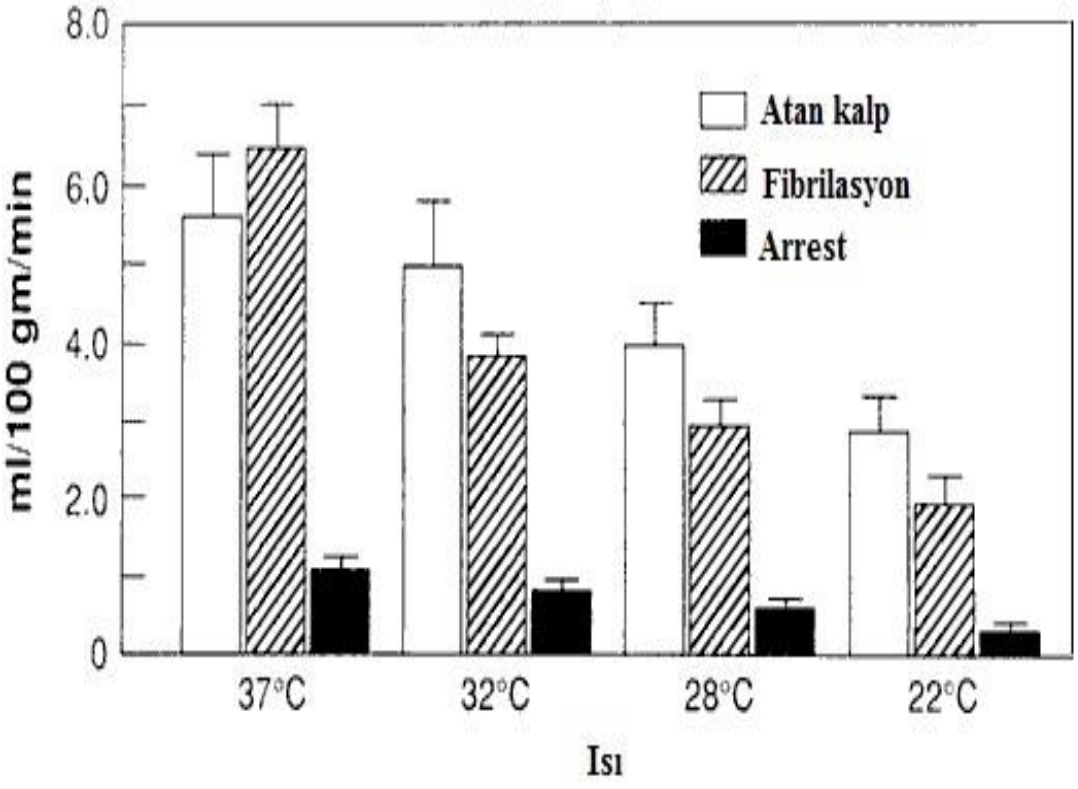
yavaş kalsiyum kanallarından hücre içine kalsiyum girişini etkin biçimde önlemektedir. Böylece sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımı gerçekleşmez ve uyarılma-kasılma bağlantısı kırılmış olur (44). Ancak hiç kalsiyum iyonu içermeyen bir kardiyoplejik solüsyon, kalsiyum-sodyum kanalları aracılığıyla kalsiyum atılımına ve sodyum yüklenmesine neden olur. Bunun sonucunda reperfüzyon sırasında tepkisel olarak aşırı kalsiyum yüklenmesi olur ve miyokardial hücre hasarı meydana gelir. Buna "*kalsiyum paradoksu"* denir (45). Buna karşın, Bretschneider HTK solüsyonu gibi kalsiyum içermeyen kardiyopleji solüsyonları da mevcuttur. Bu solüsyon, düşük miktarda sodyum (15mmol/L) ve üretim aşaması gereği eser miktarda kalsiyum iyonu içermektedir. Solusyondaki eser miktarda kalsiyum, düşük miktarda sodyum, yüksek miktarda magnezyum konsantrasyonu ve solüsyonun hipotermik kullanımı (4-8°C) ile gelişebilecek kalsiyum paradoksuna karşı koruyucu özellik sağlanmaktadır (46). Sodyum konsantrasyonunun düşük olması, aksiyon potansiyelinin başlangıcındaki hızlı sodyum akımını zayıflatır ve böylece membran potansiyeli istirahat membran potansiyeli değerine yakın durur. Bu polarize aresti sağlayan bir diğer faktördür.

Yapılan bazı çalışmalarda, St.Thomas solüsyonu ile Bretschneider HTK solüsyonu karşılaştırılmış; St.Thomas solüsyonu bütün ısı değerlerinde yeterli koruma sağlarken, Bretschneider HTK solüsyonunun kardiyoprotektif etkisinin yalnızca hipotermik olarak verildiği durumda ortaya çıktığı saptanmıştır (47). Wisconsin Ünivesitesi solüsyonu da kalsiyum içermeyen bir diğer intraselüler kardiyopleji solüsyonu olup aynı şekilde bu solüsyonun da kardiyoprotetif etkisini gösterebilmesi için hipotermik olarak verilmesinin önemini gösteren çalışmalar yapılmıştır (48).

İyonik konsantrasyonun yanı sıra kardiyoplejik solüsyonlara eklenen bazı maddeler ile hücre koruyucu etkinliğin arttırılması hedeflenmektedir. Bretschneider HTK solüsyonundaki histidin tampon görevi görürken, triptofan memran stabilizasyonunda rol oynamaktadır. Ketoglutaratın ise reperfüzyon aşamasında yüksek enerji üretimini sağladığı gösterilmiştir (49).

2.5.4. Hipotermi

Hipoterminin organ korumasındaki temel etkisi hücrelerin bazal metabolik hızında ve oksijen talebinde azalma sağlamasıyla gerçekleşir. Ancak hipotermi ne kadar derin olursa olsun metabolizmayı hiçbir zaman sıfıra indiremez. Hipotermi tek başına miyokard oksijen tüketimini %10 düşürürken, kardiyak arest ile kombine edildiğinde bu oran %97'ye varmaktadır (50). Hücrelerin canlılığını kardiyak arest ve hipotermi altında dahi sürdürebilmesi ve hücre bütünlüğünün korunabilmesi için bazal bir enerjiye gereksinimleri bulunmaktadır. Ayrıca hipotermi ile miyokard oksijen tüketimindeki azalmanın, en büyük kısmının 34ºC ile 28ºC arasında meydana geldiğini ve miyokardın daha fazla soğutulmasının, oksijen tüketimini daha fazla düşürmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (51-53).



Şekil 2.8: Şemada kalbin çalışma durumu ve ısısına bağlı miyokardiyal oksijen tüketimi gösterilmektedir. Sıcaklık ne olursa olsun miyokard arest durumda oksijen tüketimi belirgin derecede azalmaktadır (52).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi (MÜTF) Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi kliniğinde Ocak 2014 – Ocak 2015 tarihleri arasında KPB kullanılarak açık kalp cerrahisi uygulanan toplam 40 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmamızda, kalp cerrahisinde miyokard koruması amacıyla rutin olarak kullanılan soğuk Kan kardiyoplejisi (4:1) ile Bretschneider HTK solüsyonlarının birbirlerine üstünlüklerin araştırılması planlanmış ve bu doğrultuda hastalar klinik ve histopatolojik parametrelerle değerlendirilmiştir. Çalışma için etik kurul onayı Acıbadem Üniversitesi Etik Kurulundan alınmıştır. (Karar no:ATADEK-2015/3/12)

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

Alet	Marka
Mekanik Ventilasyon Cihazı	Siemens Maquet Servo-i Ventilator, US
Ekokardiyografi	Philipis Matrix Echocardiograhy System, Eindhoven, Netherlands
Transözofageal Ekokardiyografi	Philips HDX11, Bothell, WA, USA
NIRS(Near infrared Spectroscopy)	Covidien, USA
Kardiyopulmoner Baypas Pompası	Sorin S5 Roller Pump, Sorin Group, Italy
Oksijenatör	Dideco Comapctflo Evo Phisio, Sorin Group, Italy
Kan gazı ölçüm cihazı	ABL 700, Radiometer, Copenhagen
Işık mikroskobu	Olympus BX41, Japan
Polarize mikroskop	Olympus CX31, Japan

Tablo 3.2 Çalışmada kullanılan kitler

Kitler	Marka
TdT in situ DAB Apoptosis Detection Kit TUNEL Based	Trevigen, Inc. 8405 Helgerman Gaithersburg, USA
Hoechst 33342 Flureceint DNA Stain	Tocris Bioscience, Tocris House, Bristol, United Kingdom
Troponin I	Beckman Coulter , US
CK-MB	Beckman Coulter , US

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya Ocak 2014 – Ocak 2015 tarihleri arasında MÜTF Kalp ve Damar Cerrahisi kliniğinde KPB kullanılarak ilk kez açık kalp cerrahisi uygulanan, elektif koşullarda opere edilen ve aort klemp süresi uzun olan (50 dakika ve üzerinde) taplam 40 hasta dahil edilmiştir. Hastalara ait preoperatif, intraoperatif ve postoperatif veriler, hastanemizde kullanılan veritabanı sisteminden elde edilmiştir. Çalışmaya, koroner arter baypas cerrahisi (KABC), kapak replasmanı (aort ve mitral), KABC + kapak replasmanı ve büyük damar cerrahisi yapılan hastalar dahil edilmiştir. Hastalarda kardiyopleji seçimi (Kan kardiyoplejisi ya da Bretschneider HTK) operatörün tercihine göre yapılmıştır.

Çalışma dışı bırakılma kriterleri:

- Acil koşullarda opere edilen,
- Daha önce açık kalp cerrahisi yapılmış,
- Ejeksiyon fraksiyonu (EF) % 50'nin altında olan,
- Son 1 yıl içerisinde malignite tanısı konmuş,

- Preoperatif aktif enfeksiyonu bulunan,
- Preoperatif böbrek hastalığı tanısı bulunan (preop. kreatin >1.3 mg/dl yada kreatin klerensi <80 ml/dk),
- Preoperatif karaciğer hastalığı tanısı bulunan,
- Yakın zamanda (<2 hafta) miyokard enfarktüsü (MI) geçirmiş olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

3.2. Çalışma Protokolü

Çalışmaya dahil edilen hastalar kullanılan kardiyopleji solüsyonuna göre iki gruba ayrılmıştır; Grup 1 (n=20, KK grubu): 4:1 oranında Kan kardiyoplejisi kullanılan ve grup 2 (n=20, CS grubu): Bretschneider HTK (Custodiol® HTK, Alshach-Hahnlein, Germany) solüsyonu kullanılan hastalardan oluşmakta idi. KK grubundaki hastalarda 4:1 kan kardiyoplejisi, 4 birim kan ve 1 birim St.Thomas II (Plegisol®, Baxter, Chicago, USA) şeklinde hazırlandı. Bu solüsyon içerisine ilave potasyum eklenerek potasyum konsantrasyonu 16 mEq/lt olacak şekilde ayarlanmaktadır. Kros klemp sonrası kardiyopleji indüksiyonu, pompadan 0-4 ºC ısıda 15 ml/kg dozunda aort kökünden nonselektif ya da selektif olarak koroner ostiumlardan yapıldı. Kardiyopleji nonselektif olarak 100 mmHg, selektif olarak 60 mmHg basınçta verildi. Sonrasında kardiyopleji idamesi rutin olarak her 20 dakikada bir antergrad olarak 10 ml/kg dozundan tekrarlandı. CS grubunda, kros klemp sonrası kardiyopleji indüksiyonu pompadan 0-4 ºC ısıda 20 ml/kg dozunda aort kökünden nonselektif ya da selektif olarak koroner ostiumlardan tek doz olarak yapıldı. Kardiyopleji iki dakika boyunca 100 mmHg, sonrasında 50 mmHg basınçta toplam 2-6 dakika süreyle verildi. Kros klemp süresince ikinci doz uygulaması, kardiyopleji verildikten sonra elektriksel aktivitenin kaybolmaması ya da belli bir süreden sonra tekrar ortaya çıkması durumları dışında uygulanmamıştır. Her iki grupta kullanılan kardiyopleji solüsyonlarının içerikleri Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3. Kullanılan kardiyopleji solüsyonlarının içerikleri

İçerik	Kan:St.Thomas II (4:1)	Custodiol
Na^+ (mmol/L)	118-120	15
K^+ (mmol/L)	16	9
Mg^{2+} (mmol/L)	1,6	4
Ca^{2+} (mmol/L)	0,3-0,5	0.015
$NaHCO_3$	18	-
Histidin	-	198
Triptofan (mmol/L)	-	2
Ketoglutarat	-	1
Mannitol (mmol/L)	-	20
pH	7,35-45	7,02 – 7,20
Osmolarite (mOsm/L)	320-340	310

Her iki gruptaki hastalardan koroner sinüse yerleştirilen retrograd kardiyopleji kateteri aracılığı ile KPB sırasında kros klemp öncesi (t_1) ve kros klemp kaldırıldıktan hemen sonra (t_2) kan alınmış ve bu örneklerde Laktat, Kreatinin Kinaz (CK)-MB ve Troponin I çalışılmıştır. Tüm hastalardan preoperatif (t_1), postoperatif 6.(t_2), 24.(t_3) ve 48.saatlerde (t_4) sistemik kandan laktat, CK-MB ve Troponin I değerleri çalışılmıştır.

Ayrıca her iki grupta, sol ventrikül vent kateteri yerleştirilen yerden kros klemp yerleştirmeden önce ve kros klemp kaldırıldıktan sonra KPB'dan çıkmadan hemen önce miyokard doku örneklemesi yapılmış ve %10'luk nötral tamponlu formaldehit içerinde saklanıp rutin patolojik örneklendirilme için patoloji bölümüne gönderilmiştir.

3.3. Anestezi

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara aynı anestezi protokülü uygulanmıştır. İntravenöz damar yolunun açılmasının ardından 0.05 mg/kg midazolam ile sedasyon sağlandı. Premedikasyonun ardından sol, sağ ya da her iki radiyal artere yerleştirilen kanül ile invaziv arteryel basınç monitorizasyonu sağlandı. Anestezi indüksiyonu için 4-6 mg/kg pentotal, 0.1 mg/kg midazolam, 3 μg/kg fentanil, 0.1 mg/kg veküronyum bromür kullanıldı. Entübasyon sonrası sağ internal juguler vene 7,5-8 F santral venöz kateter yerleştirildi. Anestezi idamesi için 10 μg/kg/saat fentanil ve 2 mg/kg/saat propofol infüzyonu ve 45 dakika aralılarla 0.05 mg/kg veküronyum bromür ve 0.08 mg/kg midazolam kullanıldı. Ayrıca end-tidal konsantrasyonu % 0,5 – 8 olacak şekilde sevofluran kullanıldı. Ventilasyon, basınç kontrol modunda, tepe hava yolu basıncı 30 cmH_2O'dan yüksek olmayacak ve 8-10 ml/kg tidal volüm oluşturacak şekilde oksijen - hava karışımı ile sağlanmıştır. Hastalar rutin olarak operasyon bitiminde entübe şekilde kardiyovasküler cerrahi yoğun bakım ünitesine alınmıştır.

Anestezi indüksiyonu sonrası tüm hastalarda transözofageal ekokardiyografi (TEE) (Philips, Bothell, WA, USA) probu yerleştirlmiş ve intraoperatif kardiyak fonksiyonlar takip edilmiştir. Ayrıca operasyon sırasında tüm hastalarda frontal korteks oksijen satürasyon takibi NIRS (near infrared spectrophotometry, Covidien,USA) monitorizasyonu ile yapılmıştır.

3.4. Cerrahi Yöntem

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara standart median sternotomi uygulanmıştır. Perikardın açılmasının ardından 300 ünite/kg standart heparin ile sistemik antikoagülasyon sağlandı. Aktive pıhtılaşma zamanı (ACT) 400-650 sn arasında tutuldu. Arteriyel ve venöz kanülasyon ile KPB başlatıldı. Operasyon sırasında sol kalp boşluklarının vent edilmesi, sol ventrikül apeksine yerleştirilen kanül ile yapıldı. Tüm hastalarda sağ atriumdan koroner sinüse retrograd kardiyopleji kateteri yerleştirildi. Tüm hastalarda KPB için aynı roller pompa (Sorin S5 roller pump,

Sorin Group, Italy) ve oksijenatör (Dideco compactflo Evo Physio, Sorin Group, Italy) kullanılmıştır. Pompa prime solüsyonu, KPB sırasında hematokrit değeri ortalama %25 olacak şekilde Ringer Laktat ve %20 mannitol kullanılarak hazırlanmıştır. Belirtilen hematokrit değerini sağlamak amacıyla gerekli durumlarda eritrosit süspansiyonu prime solüsyonuna eklenmiştir. Tüm hastalarda prime solüsyonu içerisine sodyum bikarbonat (50 mEq/lt) ve heparin eklenmiştir (10000 Ü/lt). Kardiyopulmoner baypas sırasında ortalama arter basıncı 60 mmHg olacak şekilde KPB akımı sağlanmıştır. Hastalara, uygulanacak cerrahi prosedüre göre internal soğutma ve blanket ile yüzey soğutması uygulanmıştır. Sistemik ısı KPB sırasında 20 – 32 ^{o}C arasında tutulmuştur. Aort kros kemp sırasında tüm hastalarda miyokard koruması amacıyla topikal hipotermi soğuk serum fizyolojik kullanılarak sağlanmıştır. Isınma süresinde tüm hastalarda rutin olarak hemofiltrasyon yapılmış ve hematokrit değeri %25 civarında tutulmuştur.

Hastaların 37 ^{o}C'ye kadar ısıtılması ve ortalama arter basıncının normal seviyelere dönmesiyle KPB'tan çıkılmıştır. İnotropik destek, gerekli KPB desteği ve volüm replasmanına rağmen sistolik arter basıncı 90 mmHg'nın altında olan ve TEE'de bölgesel ya da global kasılma kusuru olan hastalara başlanmıştır. İnotropik ajan seçiminde ilk tercih Dopamin, sonrasında Noradrenalin ve/veya Adrenalin olarak kullanılmıştır. Farmakolojik destek yanıtı yetersiz olan hastalarda intraaortik balon pompası (IABP) kullanılmıştır. Protamin sülfat ile heparin nötralize edilerek uygun ACT değeri elde edilmiş (<120 sn) ve hastalar dekanüle edilmiştir. Operasyonunun devamı standart olarak tamamlanmıştır.

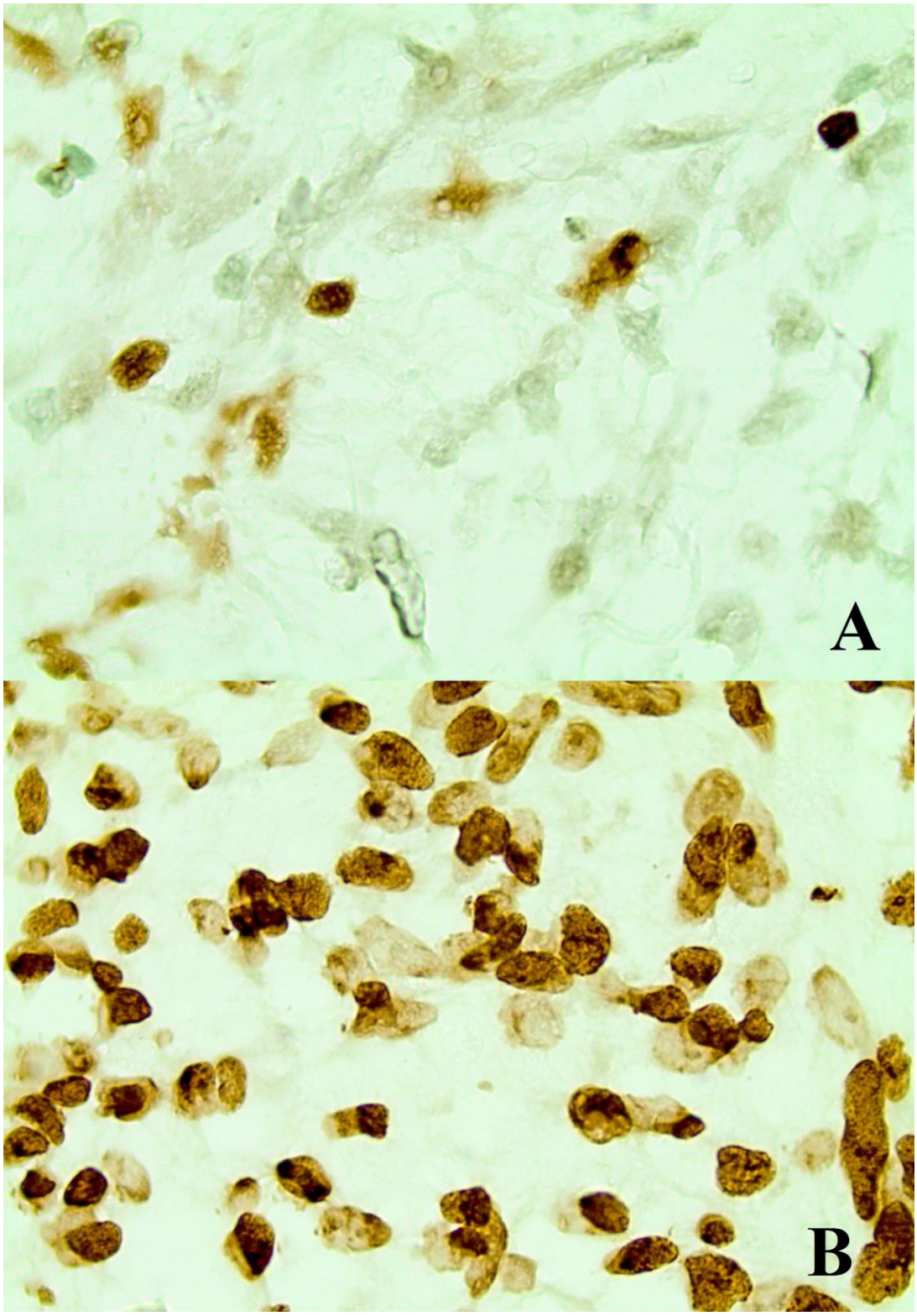
3.5. Biyokimyasal Değerlendirme

Sistemik ve koroner sinüsten alınan kan örneklerinde Troponin I ve CK-MB tayini hastanemiz biyokimya laboratuvarında Beckman Coulter (USA) kitleri ile gerçekleştirilmiştir. Sistemik ve koroner sinüsten alınan kan gazı örneklerinin tayini ABL 700 (Radiometer, Copenhagen) cihazı ile gerçekleştirimiştir.

3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Aort kros klemp öncesi ve sonrası sol ventrikül doku örnekleri patoloji bölümü arşivinden parafin bloklar şeklinde temin edilmiştir. Dokulardan önce 2 mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eosin, PAS (Periyodik Asit Shift) ve Retikülin boya ile boyanarak ışık mikroskobunda tek bir patolog tarafından incelenmiştir. Preparatlar hücre içi vaküolizasyon, vaküol boyutu, hücresel ödem, enflamatuvar hücre infiltrasyonu, glikojen içeriği ve nükleer dejenerasyon derecesi açısından semikantitatif olarak (0=Yok, 1= Hafif, 2= Orta, 3= Ciddi hasar) değerlendirilmiştir.

Daha sonra dokulardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak TACS® 2 TdT-DAB In Situ Apoptosis Detection Kit (Trevigen®, Gaithersburg, USA) ile TUNEL yöntemi (Terminal transferase mediated ddUTP Nick End Labeling) kullanılarak apoptoz araştırılmıştır. Yöntem uygulanırken ürün kataloğunda yer alan uygulama protokolü esas alınmış ve pozitif kontroller ile kitin apoptotik hücreleri gösterdiği doğrulanmıştır (Şekil 3.1). TUNEL uygulanan dokular Olympus BX41 ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Ayrıca apoptotik hücreler doğrulanması amacıyla dokulardan alınan 2 mikron kalınlığındaki kesitlerde Hoechst 33342 floresan boyama yapılarak Olympus CX31 florensan mikroskop altında incelenmiştir. İncelenen dokulardaki apoptotik nükluesların normal nukleuslara oranı "*apoptotik indeks"* olarak değerlendirilmiştir. Apoptotik indeksin belirlenmesi amacıyla her bir preperattan 40X büyütme altında ortalama 20 alanda hücre nükleusu sayılmıştır. İntertisyel ve iltihabi hücreler dikkate alınmamıştır.



Şekil 3.1 A: Aynı kit ile boyanan pozitif kontrol dokusu (kolon), **B:** Kit içeriğinde bulunan TACS-Nuclease® (Trevigen) enziminin kontrol dokusuna uygulanmasıyla tüm hücre çekirdeklerinde oluşan DNA hasarı gösterilmektedir.

3.7. İstatiksel değerlendirme

Çalışmada kullanılan sürekli değişkenler ortalama ve standart sapma (SD) olarak ifade edilirken kategorik değişkenler frekans ve oran değerleri olarak belirtilmiştir. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi ve Chi Square testi kullanılırken grup içi karşılaştırmalar için Wilcoxon testi kullanılmıştır. Korelasyon hesabı için Pearson katsayısı kullanılmıştır. Sonuç olarak p değerinin 0,05'in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tüm veri analizleri SPSS istatistik yazılımı versiyon 20.0.0 kullanılarak yapılmıştır (SPSS, Chicago, IL, USA).

4.BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hastalara ait demografik ve preoperatif veriler Tablo 4.1 görülmektedir. Çalışmaya dahil edilen hastaların ortalama yaşları 59,0±14,3 (19-79 yıl) ve kadın cinsiyet tüm hastaların %10'nu (n=4) oluşturmakta idi. Her iki grup demografik ve diğer preoperatif veriler açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Tablo 4.1 Demografik ve preoperatif değişkenler

	KK Grubu(n=20)	CS Grubu(n=20)	p
Yaş (yıl)	61,5±14,7	56,6±13,9	0,480
Cinsiyet (K/E)	2/18	2/18	0,701
BMI (cm/m^2)	27,6±4,7	27,5±4,6	0,967
EF (%)	58,8±6,9	61,0±5,4	0,439
Hipertansiyon (n)	13	10	0,143
Hiperlipidemi (n)	12	10	0,456
Diabetes Mellutus (n)	11	9	0,440
KOAH (n)	11	10	0,705
Euroscore (%)	1,23±0,41	1,1±0,42	0,533
Preop. Hct (%)	34,7±4,7	35,1±4,3	0,787

Çalışmaya dahil edilen hastaların yapılan operasyonlara göre dağılımları Tablo 4.2' de verilmiştir. Hastaların büyük çoğunluğuna izole koroner arter baypas operasyonu uygulanmış olup bununla beraber kombine, koroner + kapak, koroner + aort kökü ve asendan aort ile arkus aortaya yönelik operasyonlar uygulanmıştır. İki hastaya Bental prosedürüne ek olarak Frozen Elephant Trunk işlemi uygulanmış ve bu hastalarda total sirkülatuar arest (TCA) kullanılmıştır.

Tablo 4.2 Yapılan operasyonların gruplara göre dağılımı*

Operasyon	KK Grubu	CS Grubu	Toplam (n=40)
İzole KABC			
KABCX3	6	8	14
KABCX4	6	6	12
KABC + Kapak			
Mitral anülopasti	1	0	1
Triküspit anüloplasti	0	1	1
KABC + Aort cerrahisi			
Bental	1	1	2
İzole Asendan Aort Replasmanı	1	1	2
Reduction Aortoplasti	0	1	1
İzole Kapak			
AVR + MVR + Triküspit anüloplasti	1	0	1
İzole Aort Cerrahisi			
Asendan Aort Replasmanı	1	0	1
Aort kökü cerrahisi			
Bental	2	1	3
Bental + Frozen Elephant Trunk	1	1	2

*KABC:Koroner Arter Baypas Cerrahisi, AVR: Aort Valv Replasmanı, MVR:Mitral Valv Replasmanı

Çalışmaya dahil edilen hastalarda intraoperatif ve postoperatif döneme ait verileri Tablo 4.3'de verilmiştir. Her iki grup arasında operasyon süresi, kros klemp, KPB süresi ve uygulanan hipoterminin derecesi açısından istatiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Operasyon sırasında verilen kardiyopleji miktarları açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir.

Tablo 4.3 Hastaların ortalama operatif verileri

	KK Grubu	CS Grubu	p
Operasyon süresi (saat)	5,5±0,7	5,6±0,9	0,724
KPB Süresi (dakika)	130±33	110±32	0,115
Kros klemp süresi (dakika)	79±23	69±20	0,289
Kardiyopleji miktarı (ml)	1426±351	1593±218	0,117
Hipotermi (ºC)	29,67±2,76	29,60±2,77	0,733

Grupların kros klemp öncesi ve sonrası koroner sinüsten alınan kan değerlerine bakıldığında; CS grubunda koroner sinüs pH değerlerindeki düşüşün KK grubuna göre anlamlı olduğu görülmektedir. (Tablo 4.4)

Tablo 4.4 Kros klemp öncesi ve sonrası pH değerleri

	Kros Klemp Öncesi	Kros Klemp Sonrası	p*
KK Grubu	7,37±0,4	7,32±0,07	0,01
CS Grubu	7,34±0,4	7,15±0,14	0,001
p**	0,09	***0,001***	

*Wilcoxon test, **Mann-Whitney U test

Grupların kros klemp öncesi ve sonrası koroner sinüsten bakılan Laktat değerlerindeki yükselmenin, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (Tablo 4.5).

Tablo 4.5 Kros klemp öncesi ve sonrası Laktat değerleri

	Kros Klemp Öncesi	Kros Klemp Sonrası	p*
KK Grubu	1,28±0,4	1,87±0,8	0,01
CS Grubu	1,31±0,6	2,29±0,81	0,001
p**	0,770	0,134	

*Wilcoxon test, **Mann-Whitney U test

Benzer şekilde grupların kros klemp öncesi ve sonrası koroner sinüsten bakılan Troponin I değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6 Kros klemp öncesi ve sonrası Troponin I değerleri

	Kros Klemp Öncesi	Kros Klemp Sonrası	p*
KK Grubu	0,13±0,13	0,97±1,27	0,01
CS Grubu	0,25±0,24	1,35±0,83	0,001
p**	0,119	0,125	

*Wilcoxon test, **Mann-Whitney U test

Koroner sinüsten alınan CK-MB değerleri incelendiğinde, kros klemp sonrası CS grubunda KK grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek CK-MB değerleri tespit edilmiştir (p=0.008). (Tablo 4.7)

Tablo 4.7 Kros klemp öncesi ve sonrası CK-MB değerleri

	Kros Klemp Öncesi	Kros Klemp Sonrası	p*
KK Grubu	3,4±1,8	12,6±11,8	0,01
CS Grubu	5,5±2,6	21,0±12,8	0,001
p**	0,06	***0,008***	

*Wilcoxon test, **Mann-Whitney U test

Sistemik kan değeleri incelendiğinde; postoperatif 6. saatte bakılan Troponin I değerleri CS grubunda KK grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek iken (p=0,04) 24. ve 48. saatlerde bakılan Troponin I değerlerinde iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.8) Postoperatif dönemde bakılan CK-MB ve Laktat değerlerinde her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir (Tablo 4.9 ve 4.10)

Tablo 4.8 Postoperatif Troponin I değerleri

	Postop 6.saat	Postop 24.saat	Postop 48.saat	P*
KK Grubu	4,11±3,48	8,2±7,0	3,58±3,49	0,001[a] 0,012[b]
CS Grubu	7,31±7,37	11,1±8,5	9,4±23,5	0,001[a] 0,164[b]
P**	***0,04***	0,285	0,233	

*Wilcoxon test, **Mann-Whitney U test
a:Postop. 6. ile 24. saat, b:Postop. 24. ile 48.saat

Tablo 4.9 Postoperatif CK-MB değerleri

	Postop 6.saat	Postop 24.saat	Postop 48.saat	P*
KK Grubu	39,6±26,7	35,7±34,9	15,6±14,2	0,112[a] 0,001[b]
CS Grubu	48,6±25,1	49,4±44,1	18,1±14,6	0,363[a] 0,002[b]
P**	0,221	0,09	0,507	

*Wilcoxon test, **Mann-Whitney U test
a:Postop. 6. ile 24. saat, b:Postop. 24. ile 48.saat

Tablo 4.10 Postoperatif Laktat değerleri

	Postop 6.saat	Postop 24.saat	Postop 48.saat	P*
KK Grubu	3,21±2,1	1,46±0,5	1,1±0,2	0,112[a] 0,001[b]
CS Grubu	2,7±1,4	1,38±1,0	1,17±0,6	0,363[a] 0,002[b]
P**	0,405	0,114	0,507	

*Wilcoxon test, **Mann-Whitney U test
a:Postop. 6. ile 24. saat, b:Postop. 24. ile 48.saat

Kardiyopulmoner baypas sırasında bakılan ortalama en düşük hematokrit değerleri incelendiğinde; CS grubunda KK grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük hematokrit değerleri tespit edilmiştir (Tablo 4.11).

Tablo 4.11 KPB sırasında ortalama en düşük hematokrit değerleri

	KPB sırasında
KK Grubu	25,3±3,4
CS Grubu	20,1±4,5
p	***0,02***

Benzer şekilde CS grubunda diğer gruba kıyasla hem intraoperatif (p=0.001) hemde total kan transfüzyon miktarında (p=0.01) anlamlı derecede artış tespit edilmiştir. Total kan ürünü transfüzyon miktarı, CS grubunda KK grubana kıyasla anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir (p=0.02) (Tablo 4.10 ve 4.11).

Tablo 4.10 İntraoperatif kan ve kan ürünü transfüzyonu

	KK Grubu	CS Grubu	P*
ES	0,2±0,5	1,6±0,9	***0,001***
TDP	2,1±1,2	2,7±1,4	0,43
TS	1,02±0,8	1,2±1,1	0,37

Tablo 4.11 Total kan ve kan ürünü transfüzyonu

	KK Grubu	CS Grubu	P*
ES	1,4±1,1	2,5±1,3	***0,01***
TDP	2,0±1,2	2,7±1,2	0,43
TS	1,06±0,8	1,6±1,5	0,37
Toplam	4,46±2,1	6,8±2,6	***0,02***

Postoperatif takiplerde; KPB'den ayrılma sırasında introp intiyacı, atriyal ve ventriküler aritmi ve diğer parametreler açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. (Tablo 4.12) Erken dönemde mortalite görülmemiştir. CS grubunda bir hasta kanama nedeniyle postoperatif erken dönemde revizyona alınmıştır. KK grubunda bir hastada operasyon sonrası erken dönemde VF gelişmesi nedeniyle defibrilasyon uygulanmıştır. Postoperatif 7 günden uzun süren yatışlar uzayan yatış olarak kabul edilmiştir. Hastalarda görülen uzayan yatış nedenleri; atriyal fibrilasyon, iskemik serebrovasküler olay, akut böbrek yetmezliği, pnömoni ve yara yeri enfeksiyonu olarak belirlenmiştir. Uzayan yatışı bulunan hastaların dağılımları Tablo 4.13'de verilmiştir.

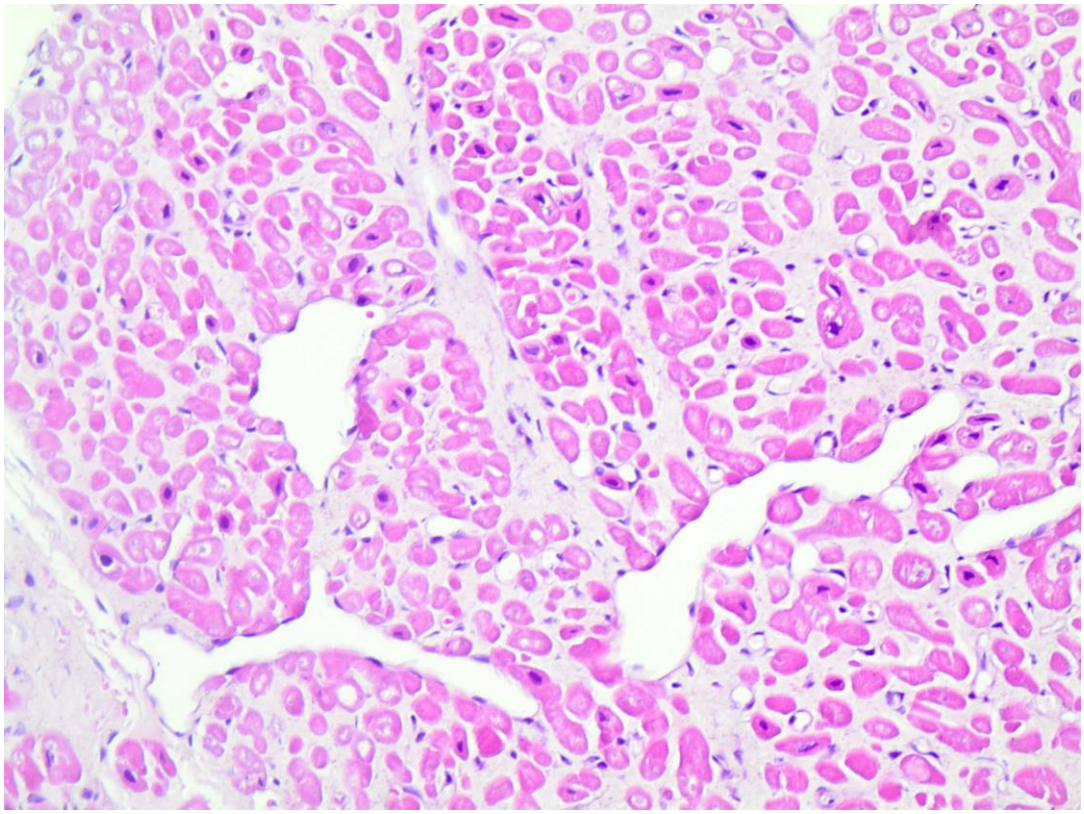
Tablo 4.12 Postoperatif takip verileri

	KK Grubu	CS Grubu	p
İABP desteği n (%)	1 (%6,7)	2(%13,3)	0,500
Postoperatif inotrop n(%)	8(%53,3)	7(%46,7)	0,715
İnotrop ihtiyacı (%) **düşük doz** **orta** **yüksek**	 %26,7 %20 %6,7	 %26,7 %13,3 %6,7	 0,97 0,431 0,97
Ventilatör desteği (saat)	8,8±1,9	12,2±3,1	0,212
Mediastinal drenaj (ml)	750±250	800±350	0,414
Kan ve kan ürünü transfüzyonu (Ünite)	4,46±2,1	6,8±2,6	***0,02***
Peroperatif MI	1	2	0,401
Atriyal aritmi	1	0	0,536
Ventiküler aritmi	1	0	0,536
Akut böbrek yetmezliği	1	0	0,536
Serebrovasküler olay	1	0	0,536
Yoğun bakım süresi (saat)	42,4±38,6	48,5±42,2	0,614
Taburculuk (gün)	7,6±3,7	7,8±3,2	0,456

Tablo 4.13 Postoperatif uzayan yatış nedenleri ve hasta dağılımları

	KK Grubu	CS Grubu	p
Atriyal fibrilasyon	1	0	0,536
Ventriküler fibrilasyon	1	0	0,536
İskemik serebrovasküler olay	1	0	0,536
Akut böbrek yetmezliği	1	0	0,536
Pnömoni	0	2	0,354
Yara yeri enfeksiyonu	1	1	0,836

Histopatolojik sonuçlar incelendiğinde, ışık mikroskopik değerlendirmede kros klemp öncesi vaküoler değişiklik saptanmazken kros klemp sonrasında her iki grupta da vakuoler değişiklikte anlamlı artış saptanmasına rağmen gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 4.14). Hücresel ödem açısından karşılaştırıldığında, KK grubunda klemp öncesi ve sonrası arasında anlamlı artış saptanmazken, CS grubunda kros klemp sonrası örneklerde öncesine kıyasla anlamlı düzeyde artış bulunmuştur (Tablo 4.15) Benzer şekilde CS grubunda işlem sonrası enflamatuvar hücre infiltrasyonunda anlamlı artış saptanmış olmakla beraber gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Tablo 4.16) Her iki grupta ve gruplar arasında glikojen içeriği açısından anlamlı düşüş saptanmamıştır (Tablo 4.17). Yine grup içi ve gruplar arasında dejeneratif nükleus değişikliği bakımından anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 4.18).

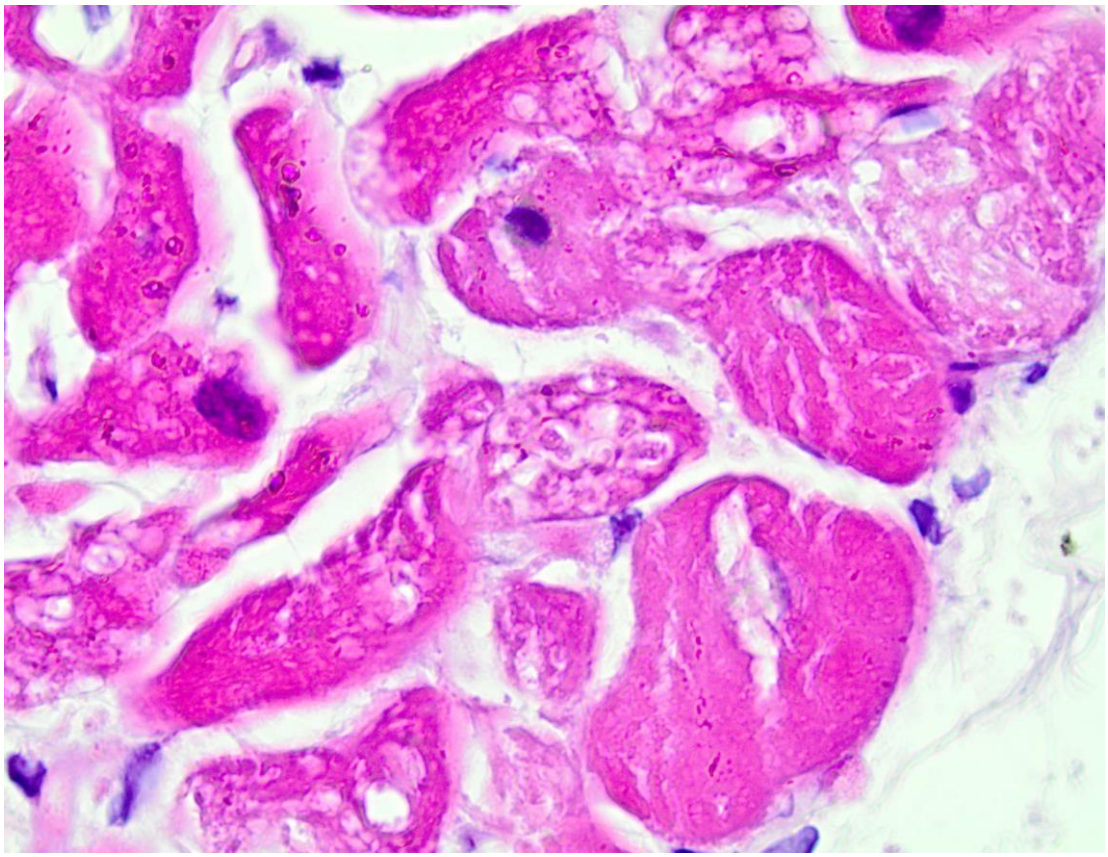


Şekil 4.1: CS grubundaki bir hastaya ait preparatta, kardiyomiyositlerde tespit edilen yaygın vaküolizasyon (Hematoksilen & Eosin, 20X)

Tablo 4.14 Vaküoler değişiklik

	İşlem öncesi	İşlem sonrası	p*
KK Grubu	0	6 (%40)	*0,014*
CS Grubu	0	9 (%60)	*0,003*
p**	1	0,273	

*Wilcoxon test, **Chi square test

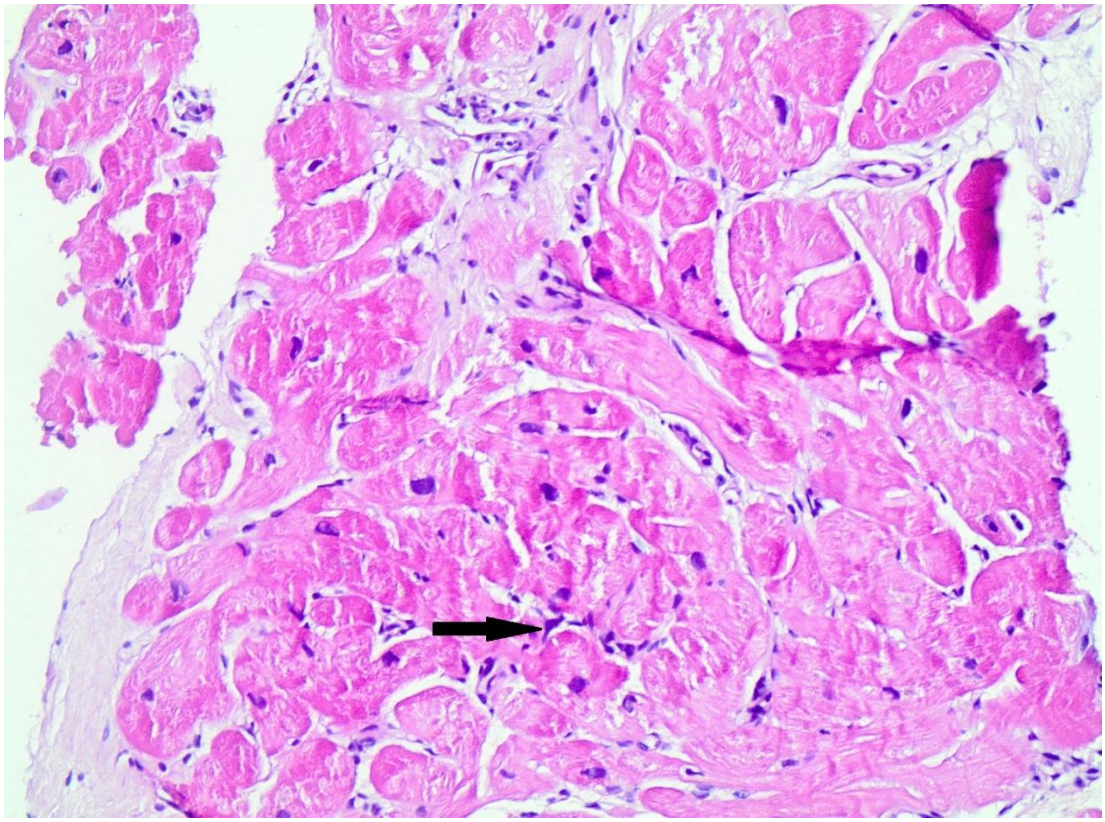


Şekil 4.2: CS grubundaki bir hastaya ait preparatta tespit edilen vaküolizasyon ve hücresel ödem (Hematoksilen & Eosin, 100X).

Tablo 4.15. Hücresel ödem

	İşlem öncesi Ödem	İşlem sonrası	p*
KK Grubu	0	Hafif 1 (%6,7) Ciddi 3 (%20)	0,059
CS Grubu	0	Hafif 8 (%53,3) Ciddi 2 (%13,3)	***0,003***
p**	1	***0,019***	

*Wilcoxon test, **Chi square test

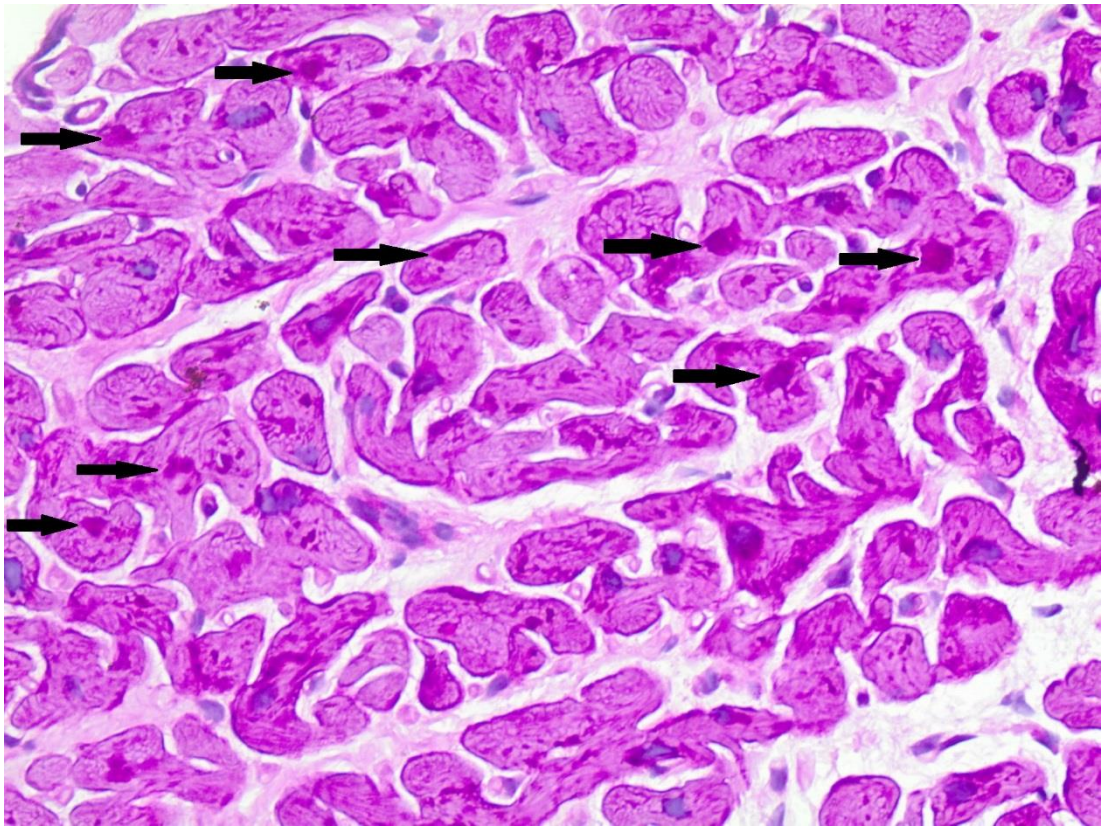


Şekil 4.3: CS grubundaki bir hastaya ait preparatta enflamatuvar hücre infiltrasyonları (Hematoksilen & Eosin, 20X).

Tablo 4.16. Enflamatuvar hücre infiltrasyonu

	İşlem öncesi	İşlem sonrası	p*
KK Grubu	0	3 (%20)	0,083
CS Grubu	0	4 (%26,7)	***0,046***
p**	1	0,666	

*Wilcoxon test, **Chi square test

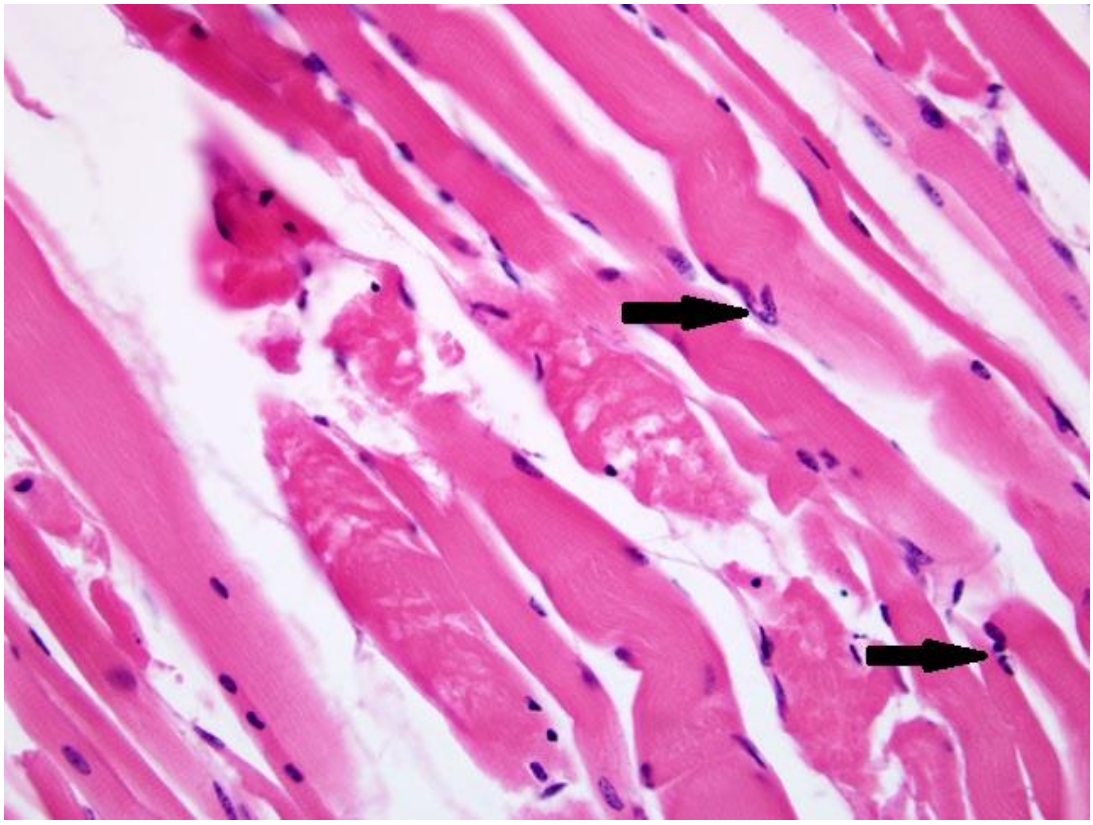


Şekil 4.4: KK grubundaki bir hastaya ait kardiyomiyositlerde glikojen içeriği (PAS, 40X).

Tablo 4.17. Hücresel glikojen içeriği

	İşlem öncesi	İşlem sonrası	p*
KK Grubu	0	3 (%20)	0,083
CS Grubu	0	2 (%13,3)	0,157
p**	1	0,624	

*Wilcoxon test, **Chi square test



Şekil 4.5: KK grubunda bir hastaya ait preparatta kardiyomiyositlerdeki nukleer dejenerasyonlar (Hematoksilen & Eosin, 40X).

Tablo 4.18. Dejeneratif nükleer değişiklik

	İşlem öncesi	İşlem sonrası	p*
KK Grubu	5 (%33,3)	5 (%33,3)	1
CS Grubu	3 (%20)	6 (%40)	0,083
p**	0,341	0,705	

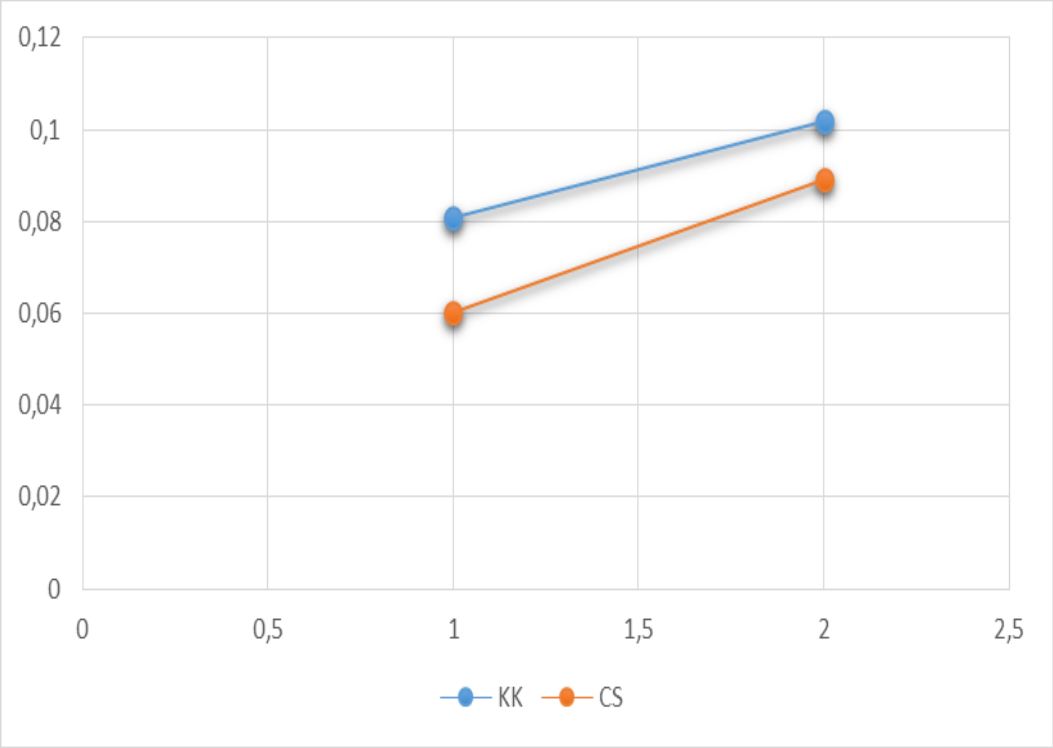
*Wilcoxon test, **Chi square test

Tüm hastaların incelenen preparatlarında ortalama 2733±831 hücre sayılmış olup ortalama apoptotik hücre sayısı 2,1±0,8 ve ortalama apoptotik indeks 0,071±0,026 olarak bulunmuştur. Kros klemp sonrası her iki grupta da öncesine kıyasla apoptotik indekste istatistiksel olarak anlamlı artış olmakla beraber gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4.19)

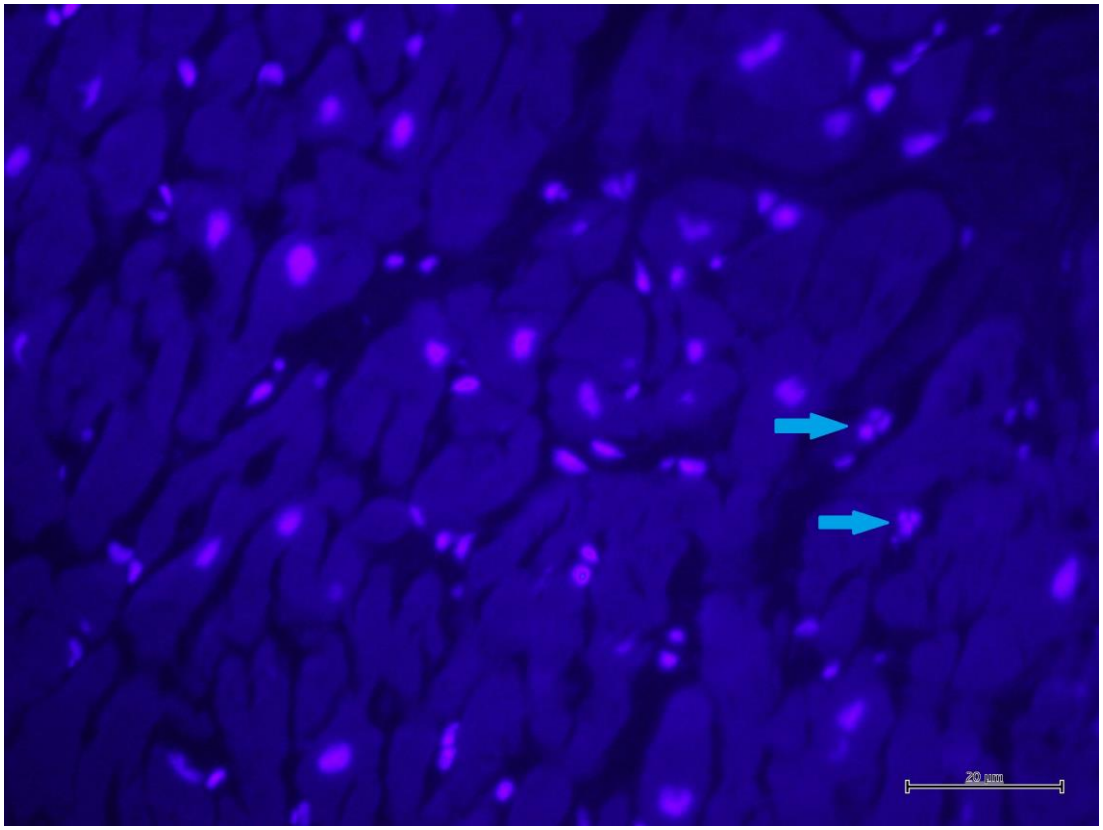
Tablo 4.19. Apoptotik indeks değerleri

	İşlem öncesi	İşlem sonrası	p*
KK Grubu	0,081±0,021	0,102±0,019	*0,001*
CS Grubu	0,060±0,027	0,089±0,045	*0,001*
p**	0,051	0,417	

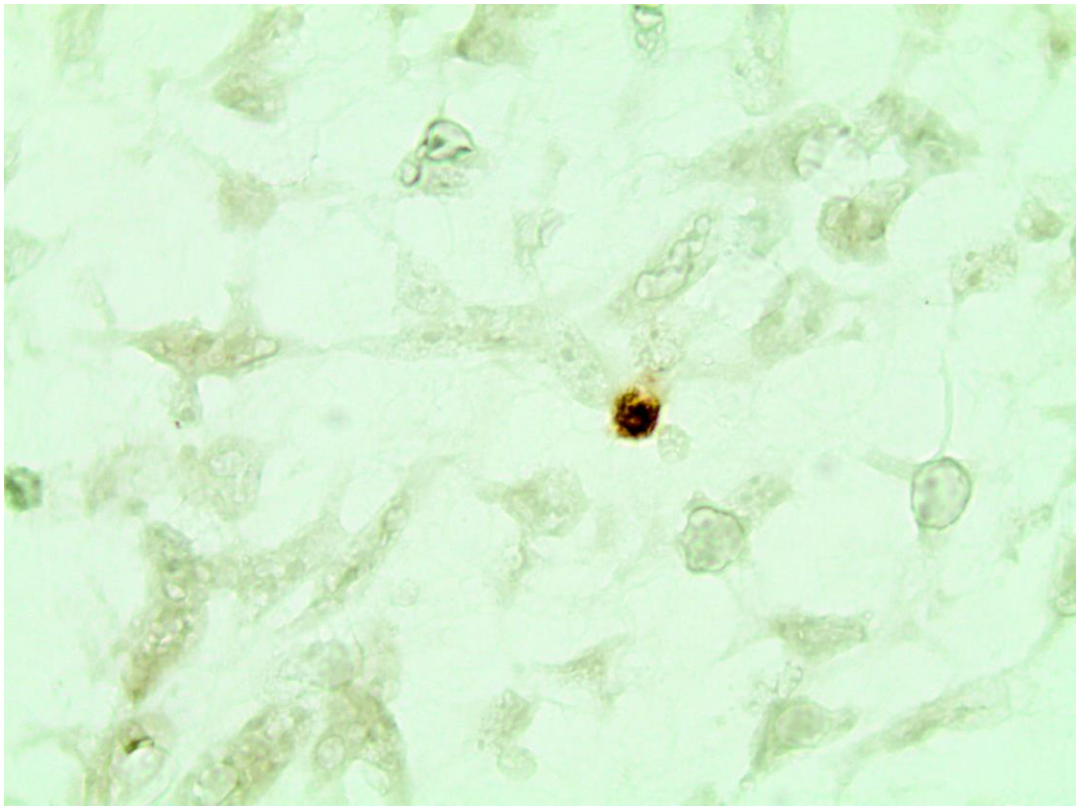
*Wilcoxon test, **Chi square test



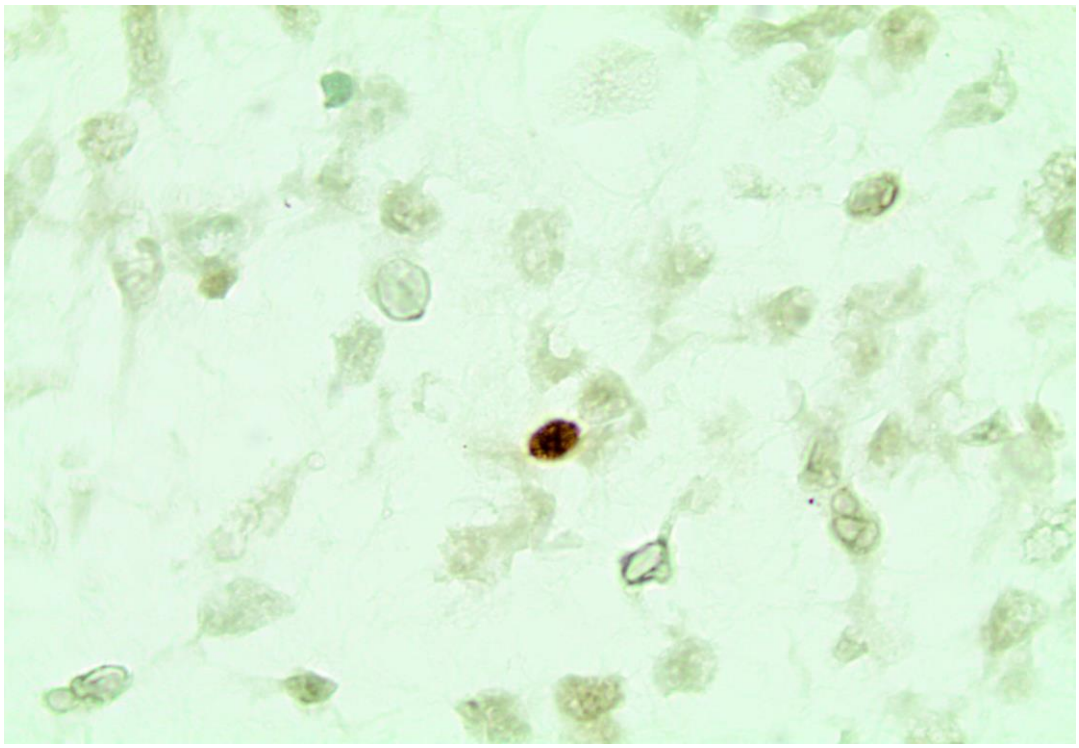
Şekil 4.6 : Grupların kros klemp öncesi ve sonrası ortalama apoptotik indeks garfiği



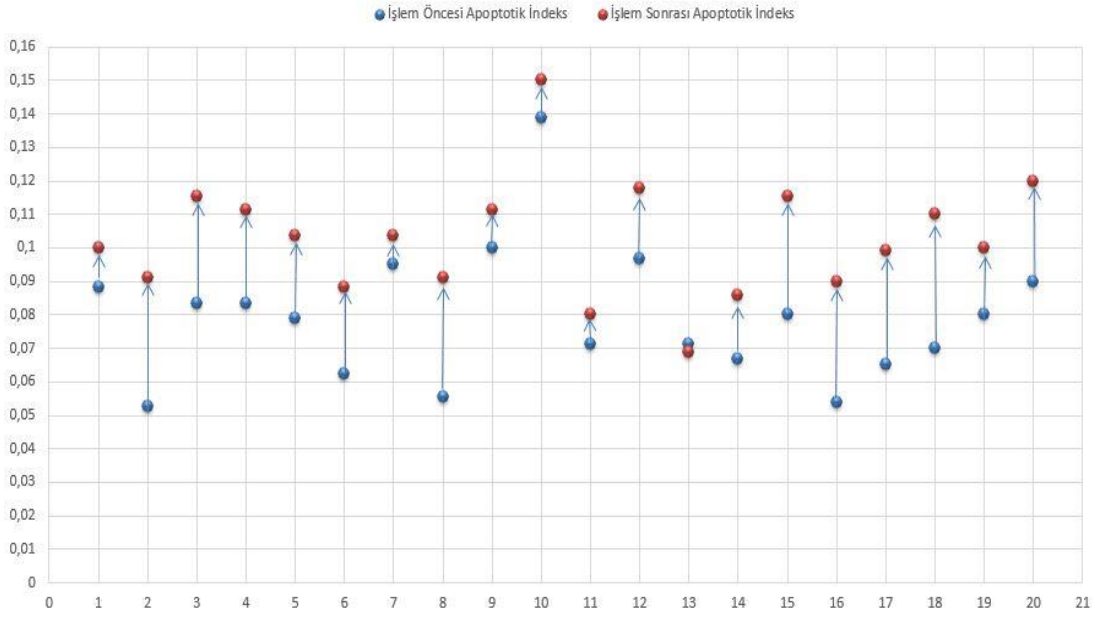
Şekil 4.7 KK grubunda bir hastaya ait preparatta Hoechst 33342 floresan boyama ile gösterilen fragmente DNA görüntüsü (Hoechst 33342 boyama, 40x büyütme)



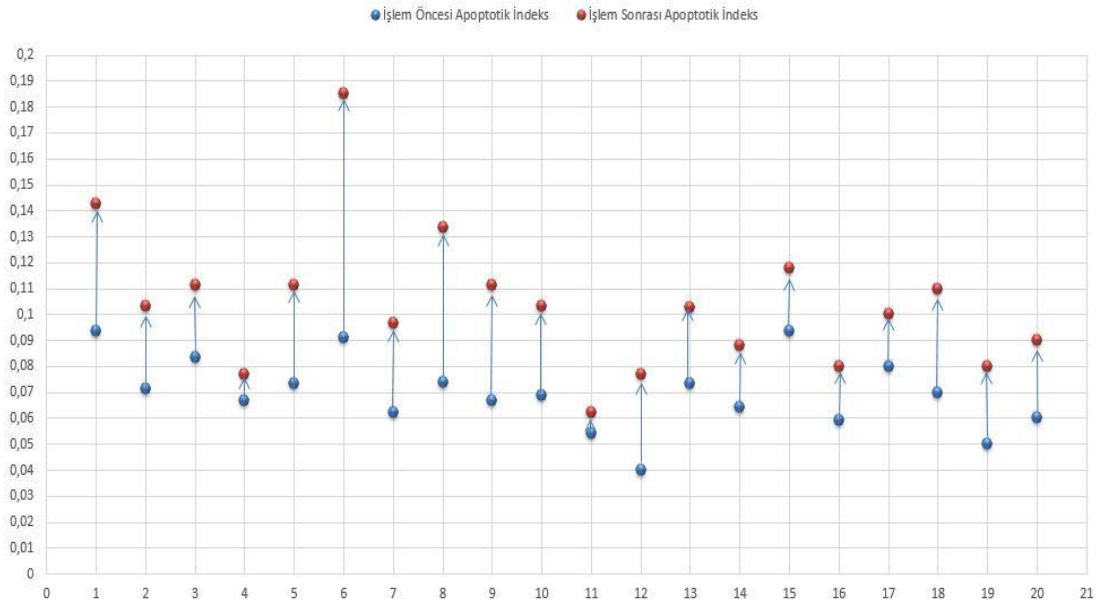
Şekil 4.8: KK grubunda bir hastaya ait preparatta TUNEL pozitif tespit edilen apoptotik nükleus (TUNEL yöntemi, 100X).



Şekil 4.9: CS grubunda bir hastaya ait preparatta TUNEL pozitif tespit edilen apoptotik nükleus (TUNEL yöntemi, 100X).



Şekil 4.9: KK grubundaki hastaların apoptotik indeks artış şeması



Şekil 4.10: CS grubundaki hastaların apoptotik indeks artış şeması

TARTIŞMA

Açık kalp cerrahisinde başarılı cerrahi tekniğe rağmen mortalite ve morbiditeyi belirleyen en önemli faktör miyokard korumasıdır. Kardiyopulmoner baypasın rutin kullanıma girmesiyle başlayan modern kalp cerrahisi, kardiyopleji ile kardiyak arest sağlanması ve hareketsiz bir alanda cerrahi yapılabilmesiyle büyük bir yol katetmiştir. Kardiyoplejik solüsyonlarla oluşturulan elektif kardiyak arest, miyokard koruması için günümüzde halen en geçerli ve en sık kullanılan yöntem olmaya devam etmektedir. Ancak, verilecek solüsyonun içeriği, veriliş yolu, sıklığı ve sıcaklığı bakımından halen bir fikir birliği oluşturulamamış olup farklı merkezlerden bildirilen farklı bir çok görüş mevcuttur. Literatürde, kullanılan çeşitli kardiyopleji solüsyonlarının miyokard korumasında birbirlerine üstünlüklerinin olup olmadığı ile ilgili birçok klinik ve deneysel çalışma yapılmış fakat elde edilen sonuçlar bu solüsyonların birbirlerine karşı anlamlı derecede üstün olmadığını göstermiştir. Kan ve kristalloid solüsyonlarının karşılaştırılığı çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen doku düzeyinde (iskemi-reperfüzyon hasarı ve apoptotik belirteçler) çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır (54-57). Çalışmamızın amacı özellikle aort kros klemp süresi uzun olan dolasıyla miyokard hasarı gelişme riski yüksek hastalarda, 4:1 Kan kardiyoplejisi ve Bretschneider HTK solüsyonlarının miyokard korumasındaki etkinliklerini klinik, biyokimyasal belirteçler ve doku düzeyinde apoptotik göstergeler kullanarak araştırılmasıdır.

Soğuk kristalloid kardiyopleji solüsyonları miyokard koruması amacıyla tek ya da multi doz şeklinde antegrad veya sürekli retrograd olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. 1990'lı yılların başlarından itibaren, iskemi-reperfüzyon hasarı sonucunda miyokard dokusundaki apoptotik aktivitenin artışını gösteren çalışmalar yapılmış ve bir çok solüsyonun miyokardı korumadaki etkinlikleri karşılaştırılmıştır (58, 59). Aebert ve arkadaşlarının 1997 yılında yayınladıkları bir çalışmada, elektif KABC uygulanan 30 hastada St.Thomas II (n=10), Bretschneider HTK (n=10) ve Hamburg (n=10) solüsyonları karşılaştırılmıştır. Her üç solüsyonunda miyokard korumasında benzer düzeyde etkili olduğu gösterilmiştir. Kardiyopulmoner baypas

öncesi ve reperfüzyon sonrası alınan atriyal doku örnekleri miyokard hasarı açısından Isı Şok Protein (HSP)-70 ve c-fos, c-jun gibi protoonkogenler, Northern blot ve TUNEL yöntemleri ile incelenmiştir. Bu çalışmada, üç farklı kristalloid kardiyopleji solüsyonunun da reperfüzyon sonrası apoptotik belirteçlerde artışı engellemediği gösterilmiş ancak miyokard koruması açısından gruplar arası anlamlı bir fark bulunmadığı sonucuna varılmıştır (60).

Demmy ve arkadaşlarının 2008 yılında yayınladıkları çok merkezli prospektif çalışma soğuk multi doz St.Thomas II ve tek doz Bretschneider HTK solüsyonlarını karşılaştıran vaka sayısı bakımından günümüze kadar yapılmış en geniş kapsamlı yayındır. Doku düzeyinde iskemi-reperfüzyonla ya da apoptozla ilgili herhangi bir belirteç çalışılmamıştır. Çalışmada, 136 KABC uygulanmış hastanın, postoperatif CK-MB, Troponin I, kardiyak output, EKG değişiklikleri, inotrop düzeyleri, hastane ve yoğun bakım kalış süreleri ve mortalite oranları karşılaştırılmıştır. CK-MB ve Troponin I seviyeleri, St.Thomas II solüsyonu grubunda küçük bir farkla daha düşük olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçla, St.Thomas II solüsyonunun multidoz olarak verilmesinin daha fazla koruyucu etkiye sahip olabileceğini vurgulanmıştır. Diğer parametreler açısından istatiksel olarak iki solüsyonun birbirlerine üstünlüğü gösterilememiştir (61).

Kardiyopleji olarak tamamen ya da değişik oranlarda kan kullanılmasının bir çok araştırmacı tarafından miyokard korumasında yeni bir dönem açtığı kabul edilmektedir. Kan kardiyoplejisi, soğuk, izotermik (tepid) ya da normotermik olarak verilebilmektedir. Trescher ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kan kariyoplejisi ısısının miyokard korumasındaki etkinliğini açık kalp cerrahisi yapılan 2200 yetişkin üzerinde retrospektif olarak araştırmışlardır. Bu çalışmada kan kardiyoplejisi ısısının, (normotermik veya soğuk) miyokard belirteçleri ve klinik parametreler dikkate alındığında miyokard koruması açısından önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir (62).

Jun Feng ve ark.'nın 2004 yılında yayınladıkları çalışmada, tavşan kalplerinde normotermik kan kardiyoplejisi ile soğuk kristalloid kardiyoplejiyi karşılaştırmıştır. Arest öncesi, 30 dakikalık kardiyoplejik arestin ardından ve 30 dakikalık reperfüzyonunun sonrasında alınan miyokard doku örneklerinde kaspaz-3, fosforile-

Bad ve Bcl-2 gibi apoptotik belirteçler bakılmıştır. Ayrıca eksize edilen tavşan kalplerinde in-vitro olarak endotel hasarını göstermek için mikrovasküler düzeyde "no-reflow" fenomeni karşılaştırılmıştır. Reperfüzyon sonrası sol ventrikül output basınçları da karşılaştırılmış ve tüm parametrelerde kan kardiyoplejisinin kristalloid kardiyoplejiye üstün olduğu sonucuna varılmıştır (63). Münch ve arkadaşlarının yapmış olduğu deneysel bir çalışmada, tepid kan kardiyoplejisi ile soğuk kristalloid kardiyopleji solüsyonlarının etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada iki solüsyon arasında hemodinamik ve kardiyak enzimler açısından önemli bir fark bulunamamış ancak kan kardiyopleji grubunda baypas sonrası kontraktilitenin daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır (64).

Braathen ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları çalışmada, koroner arter hastalığı ve/veya ek başka kapak hastalığı bulunmayan izole ileri aort stenozlu 80 hastada soğuk kan kardiyoplejisi ile soğuk kristalloid kardiyoplejiyi (St.Thomas II) karşılaştırmışlardır. Çalışmada her iki solüsyon da soğuk olarak koroner ostiumlardan antegrad olarak verilmiş ve her 20 dakikada bir tekrar edilmiştir. Postoperatif bakılan CK-MB ve Troponin T seviyeleri, kristalloid solüsyon kullanılan gruptaki tüm hastalarda anlamlı derecede yüksek saptamışlar ve aort kapak replasmanı uygulanacak hastalarda soğuk kan kardiyoplejisinin miyokard korumasında daha üstün olduğunu savunmuşlardır (65). James ve ark.'larının yaptıkları 14 farklı çalışmanın derlemesinde, Bretschneider HTK solüsyonu ile kan kardiyoplejisinin miyokard korumasındaki etkinliklerini araştırmışlardır. Sonuç olarak klinik ve diğer parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmadığını öne sürmüşlerdir (66).

Günday ve ark.'larının yayınladıkları çalışmada, St.Thomas II solüsyonu ve kan kardiyoplejisi kullanılan toplam 100 hastanın, intraoperatif en düşük hematokrit değerleri, intraoperatif ve postoperatif transfüzyon ihtiyaçları açısından karşılaştırmışlardır. Kristalloid kardiyopleji kullanılan grupta intraoperatif en düşük hematokrit değerleri anlamı derecede daha düşük olduğunu ve buna bağlı olarak da hem intraoperatif hem de postoperatif transfüzyon ihtiyacının anlamlı dercede daha fazla olduğunu saptamışlardır. Sonuç olarak hemodilüsyonu ve artmış transfüzyon miktarının, yoğun bakım ve hastane yatış süresini uzattığını savunmuşlarıdır (67).

Çalışmamızda da benzer şekilde, Bretschneider HTK solüsyonu kullanılan grupta intraoperatif en düşük hematokrit seviyesi istatiksel olarak anlamlı derecede daha düşük saptanmış ve hem intraoperatif hem de postoperatif transfüzyon ihtiyacının anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Bu problemi koroner sünüse yerleştirilen kanül ile antegrad olarak verilen solüsyonun KPB sistemine karışmadan geri alınması ile önlenebileceği çeşitli çalışmalarda vurgulanmıştır. Çalışmamızda Bretschneider HTK grubunda artmış kan ve kan ürünü transfüzyonuna bağlı bir komplikasyon tespit edilmemiştir. Ancak literatürde kardiyak cerrahi yapılan hastalarda kan transfüzyonunun artmış peroperatif morbidite ve mortalite ile ilişkisi bir çok çalışmada gösterilmiştir (68). Çalışmamızda hasta sayısının az olmasının, artmış kan transfüzyonlarına bağlı gelişebilecek multi organ düzeyindeki komplikasyonları maskeleyen en önemli unsur olduğunu düşünmekteyiz.

Kardiyopleji solüsyonlarının içeriği gibi veriliş yolu da önemli bir tartışma konusudur. 2011 yılında Markus Malmberg ve ark.'larının yaptıkları bir çalışmada, ileri aort stenozu nedeniyle aort kapak replasmanı uygulanan 15 hastada antegrad (n=7) ve retrograd (n=8) yolla kardiyopleji uygulanmasının ardından miyokard dokusundaki apoptotoz oranlarını karşılaştırmıştır. Koroner arter hastalığı bulunan hastalar çalışma dışında tutulmuş, kardiyopleji solüsyonu olarak yine soğuk kan kardiyoplejisi kullanımıştır. Kardiyak arest öncesi ve reperfüzyon sonrası alınan miyokardiyal örneklerde TUNEL yöntemiyle ve kaspaz aktivitesi bakılarak apoptotik indeksler incelenmiş, retrograd yolla kardiyopleji uygulanan grupta miktar olarak daha fazla solüsyon verilmesine rağmen antegrad gruba göre daha yüksek oranda apoptotik aktivite saptanmıştır. Bununla beraber her iki grupta bakılan CK-MB, Troponin I açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (69). Bu çalışma göstermektedir ki kardiyopleji içeriği gibi veriliş yoluda miyokard korumasında önemli bir konudur. Çalışmamıza sadece antegrad yolla kardiyopleji verilen hastalar dahil edilmiştir.

Scrascia ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 112 acil ve elektif torakal aort cerrahisi yapılan ve miyokard koruması için Bretschneider HTK (n=54) ve kan kardiyoplejisi (n=58) kullanılan hastaların verilerini retrospektif olarak incelemişlerdir. İki grup arasında atriyal ve ventriküler aritmilerin sıklığı, inotrop

desteği ve düşük kardiyak debi açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Fakat kros klemp süresi 160 dakikanın üzerinde olan vakalarda Troponin I düzeyinin kan kardiyoplejisi kullanılan grupta daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durumu, solüsyonların miyokardı benzer şekilde korumasına rağmen kros klemp süresinin uzadığı durumlarda Bretschneider HTK solüsyonunun içeriğindeki histidinin asidik metabolitleri tamponladığını ve böylece anaerobik glikolizin devam etmesine olanak sağlamasına bağlamışlardır (70). Çalışmamız hasta sayısı ve ortalama kros klemp süresi açısından bu çalışmaya kıyasla daha az sayıda hasta ve daha düşük klemp süresine sahip olsada klinik parametreler açısından benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yukarıda bahsedilen çalışmanın aksine çalışmamızda Bretschneider HTK grubunda kros klemp sonrası koroner sinüsten alınan kan örneklerinde diğer gruba kıyasla daha düşük pH değerleri tespit edilmiştir. Bu bulgu, Bretschneider HTK solüsyonu içerisinde bulunan Histidinin kros klemp sırasında oluşan asidozu yeterli derecede tamponlamadığını düşündürmektedir. Bretschneider HTK solüsyonu asidotik bir kardiyopleji solüsyonu olup çalışmamızda bu grupta koroner sinüs kan örneklerinde tespit edilen asidozun buna bağlı olduğu düşünülmüştür. Ancak Bretschneider HTK solüsyonunun miyokard asiditesi üzerindeki etkisinin net olarak anlaşılabilmesi için doku içi pH değerlerinin ölçülmesi gereklidir.

Başka bir çalışmada Careaga ve arkadaşları, Bretschneider HTK (n=15) solüsyonu ile St.Thomas II solüsyonunun bir modifikasyonunu (n=15) randomize prospektif klinik bir çalışmada karşılaştırmışlardır. Bretschneider HTK solüsyonu kullanılan grupta aritmi, inotrop desteği ihtiyacı ve yoğun bakım kalış sürelerini anlamlı olarak düşük bulmuşlardır (71). Benzer çalışmalarda Bretschneider solüsyonu, tamponlayıcı olarak histidin, membran stabilizatörü olarak triptofan ve reperfüzyonda yüksek enerji üretimini sağlayan ketoglutarat gibi maddelerle zenginleştirildiğinden dolayı St.Thomas gibi sadece kadiyak areste yönelik solüsyonlar karşısında üstün gibi gözükmekle birlikte St.Thomas gibi solüsyonlarla hazırlanan kan kardiyoplejisine karşı belirgin bir üstünlük gösterilememiştir. Bunun nedeni, kristolloid solüsyonların içeriği ne kadar zenginleştirilirse zenginleştirilsin kan kardiyoplejisi gibi bir solüsyon oluşturulamaması olduğu söylenebilir.

Yukarıda bahsedilen çalışmalardan da görüleceği üzere kan kardiyoplejisi ve kristalloid kardiyopleji solüsyonlarının etkinliklerinin karşılaştırılması ve sonuçları üzerinde halen fikir birliğine varılamamış bir konu olmaya devam etmektedir. Birçok çalışmadaki farklı sonucun, kardiyopleji uygulama yöntemlerinin; veriliş yolu, ısısı, süresi, tekrarı, içeriği gibi birçok farklı kombinasyonlarının olmasına ve seçilen hasta gruplarının yeteri kadar homojenize edilememesine bağlı olduğu düşünülebilir.

İskemi gibi patolojik bir strese maruz kalan hücrelerde ölüm ve sağ kalım arasında hassas bir denge söz konusu olup bu dengeden sorumlu mediatörler mitokondriden salınan pro-apoptotik Bax ve anti-apoptotik Bcl-2 proteinleri ile beraber kaspaz proteinleridir (72). Tetiklenen apoptotik süreç, 12 ile 24 saat arasında tamamlanmakta fakat hücrede izlenebilen morfolojik değişiklikler ilk 1 saat içerisinde ortaya çıkmaktadır (73). Apoptozun aksine nekroz, şiddetli, geri dönüşümsüz ve ciddi enflamatuvar yanıta neden olan bir hücre ölüm şeklidir. Nekroza bağlı gelişen enflamatuvar yanıt nedeni ile komşu sağlam hücrelerde de apoptotik mekanizmalar tetiklenebilmektedir (74). Bu nedenle yeterli miyokard koruması sağlanamayan hastalarda meydana gelen hasarın, tespit edilebilen hasardan çok daha fazla olacağı akılda tutumalıdır. Ayrıca kardiyoplejik arest oluşturulmadan da yalnızca kardiyopulmoner baypasa karşı gelişen enflamatuvar yanıt nedeniyle apoptotik mekanizmaların tetiklendiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Birdi ve arkadaşlarının yayınladıkları bir çalışmada, KBP ile KABC uygulanmış hastalardan postoperatif 1., 6. ve 12. saatlerde alınan sistemik kan örneklerinden oluşturulan endoteliyal hücre kültürlerinde apoptotik hücrelerin tespit edildiği gösterilmiştir (75). Buna ek olarak, yapısal hasar oluşmadığı halde fonksiyon kaybı olarak tariflenen miyokard sersemlemesinin benzer şekilde enflamatuvar yanıta bağlı geliştiğini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur (76).

Elektif iskemik kardiyak arest ve reperfüzyon sonucunda kardiyomiyositlerde apoptoz mekanizmalarının tetiklendiği bir çok çalışmada gösterilmiştir. Ramlawi ve arkadaşları, 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada kros klemp süresi ortalama 60 dakika olan ve KABC uygulanan 6 hastadan kros klemp öncesi ve sonrası atriyal doku örnekleri almışlar ve bu dokularda immünohistokimyasal ve histolojik

yöntemler ile apoptotik belirteçler araştırmışlardır (77). Kardiyopleji solüsyonu olarak 4:1 oranında hiperkalemik kristalloid solüsyon ile hazırlanan soğuk kan kardiyoplejisi kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda, kardiyak arest öncesi apoptotik hücre yüzdesi %0,325 iken reperfüzyon sonrası bu oran %1,55 olarak saptanmış ve istatiksel olarak anlamlı artış olduğu gösterilmiştir. Korun ve arkadaşlarının yapmış olduları bir çalışmada açık kalp cerrahisi yapılan pediatrik yaş grubundaki hastalarda St.Thomas II ve Bretschneider HTK solüsyonlarının kros klemp sonrası miyokardiyal apoptozisi ve hücresel proliferasyonu arttırmadığını göstermişlerdir (78). Bizim çalışmamızda apoptotik indekste, kros klemp sonrası doku örneklerinde her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı derecede artış olduğu gösterilmiştir. Literatürde bazı çalışmalarda aort kros klemp uygulaması sonrası miyokard hücrelerinde apoptozun tetiklenmediği iddia edilsede farklı çalışmalarda apoptoz tayini için farklı belirteçlerin ve kitlerin kullanılmasının bu tür farklılıkları doğurduğunu düşünmekteyiz.

Atriyal ve ventriküler kas dokularının, yapıları ve fonksiyonları gereği iskemi gibi stres durumlarına karşı farklı şekilde etkilendiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Ruifork ve arkadaşları, koroner arter baypas cerrahisi yapılan ve çalışmaya dahil edilen tüm hastalarda kardiyopleji oluşturmak için St.Thomas II solüsyonu kullandıkları çalışmada, hastalardan kros klemp öncesinde ve sonrasında aldıkları sağ atriyum ve sol ventrikül dokularını apoptoz açışından karşılaştırmışlardır. Kros klemp sonrası alınan ventriküler dokularında, kros klemp öncesine göre daha yüksek oranda apoptoz saptanmışken, atriyal dokularda böyle bir fark saptamamışlardır. Miyokard hasar belirteçleri ve apoptoz araştırılması açısından ventrikül dokusunun atriyal dokuya göre daha duyarlı olduğunu ortaya koymuşlardır (79). Çalışmamızda da incelenen ventrikül dokularında apoptotik indeks artışı açısından gruplar arasında anlamlı fark olmamasına rağmen her iki grupta, kros klemp öncesi ve sonrası karşılaştırıldığında apoptotik indekste anlamlı artış olduğu görülmüştür. Ruifork ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kros klemp süresi ile apoptotik hücre sayısı arasında sınırda anlamlı pozitif korelasyon saptamalarına rağmen bizim çalışmamızda kros klemp süresi ile apoptotik indeks arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

SONUÇ

Sonuç olarak, çalışmamızda açık kalp cerrahisi yapılan hastalarda soğuk Kan kardiyoplejisi ile Bretschneider HTK solüsyonlarının miyokard koruması üzerindeki etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Her iki kardiyopleji solüsyonunun miyokard koruması açısından anlamlı olarak farklı olmadığı görülmüştür. Bretschneider HTK solüsyonu kullanılan hastalarda KPB sırasında daha ciddi hemodilüsyon ortaya çıkmış ve bu grupta transfüzyon oranlarını arttırmıştır. Literatür bilgisi ve çalışmamızın sonuçları dikkate alındığında, Bretschneider HTK solüsyonu ile soğuk Kan kardiyoplejisinin miyokard koruması açısından birbirlerine üstünklükleri bulunmamaktadır. Bretschneider HTK solüsyonu kullanılan hastalarda tek doz verildikten sonra uzun süre kardiyopleji verilmemesi ve böylece yapılan cerrahi işlemin kesintiye uğramaması bir avantaj olarak karşımıza çıkmasına rağmen maliyetinin kan kardiyoplejisine kıyasla yüksek olması bilinmesi gereken önemli bir dezavantajdır.

KAYNAKLAR:

1. Gibbon JH Jr. Application of mechanical heart and lung apparatusin caridac surgery. Minn Med 1954;37,171-85
2. Lillehei CW, Cohen M, Warden HE. The result of direct vision closure of ventriculer septal defecets in eight patients by means of controled cross circulation. Surg Gynecol Obstet 1955;101:446-66
3. Lillehei CW, Cohen M, Warden HE. The direct vision intracardiac correction of congenital anomalies by controlled ceoss circulation. Surgery 1955;38:11-29
4. Kirklin JW, DuShane JW, Patrick RT. Intracardiac surgery with the aid of mechanical pump-oxygenator system(Gibbon type): Report of eight cases.Mayo Clinic Proc 1955;30:201-6
5. Cooley DA, Ruel GJ, Wukasch DC. Ischemic contracture of the heart:"Stone heart". Am J Cardiol, 1972;29:575
6. Melrose DG, Dreyer B, Bentall HH, Baker JBE. Elective cardiac arrest. Lancet, 1955;2:21
7. Sergeant CK, Geoghegan T, Lam CR. Further studies in induced cardiac arrest using the agent acetylcholine. Surg Forum 1957; 7:254-7
8. Sealy WC, Young WG Jr, Brown I, et al. Potassium, magnesium and neostigmine for controlled cardioplegia. Arch Surg 1958;77:33-8
9. Gay WA. Potassium induced cardioplegia. Ann Thorac Surg, 1975; 20:95
10. Shumway NE, Lower RR. Hypothermia for extended period of anoxic arrest. Surg Forum 1959;10:563-6
11. Allen BS,Buckberg GD, Rosenkranz ER, at al. Topical hypothermia in patients with coronary disease. J Thorac Cardiovasc. Surg. 1992; 104:626 - 31
12. Beyersdorf F, Allen BS, Buckberg GD. Myocardial protection withh integrated blood cardioplegia. Advanced Therapy in Cariac Surgery; Franco KL, Verrier ED, editors. BC Decker Inc, Hamilton-London-St. Louis 1999;pp:38-50
13. Weisel RD, Lipton IH, Lyall RN, Baird RJ. Cardiac metabolism and performance following cold potassium cardioplegia. Circulation, 1978;58:1217

14. Follette DM, Fey KH, Steed DL, Foglia RP, Buckberg GD. Reducing reperfusion injury with hypocalcemic, hyperkalemic, alkalotic blood during reoxygenation. Surg Forum 1978;29:284-6

15. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV. Cellular protection during myocardial ischemia: the development and characterization of a procedure for the induction of reversible ischemic arrest. Circulation. 1976; 54:193-202.

16. Bretschneider JH. Myocardial protection. J Thorac cardiovasc Surg, 1980;28:295
17. Bukberg GD. Myocardial protection during adult cardiac operations. Glenn's Thoracic and Cardiovascular Surgery. Fifth Editon, Volume II, Appleton&Lange, 1995;pp:1417-41

18. Tombe, *J Biomech* 2003;36:721–730

19. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. Nature. 2002 Jan 10;415:198-205.

20. Guyton AC. Circulatory Physiology 2nd. Editon Philadelphia: WB Saunders, 1973

21. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992; 72: 65-83.

22. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. Acta Univ Carol Med Monogr 1990; 137:1-53.

23. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. Annu Rev Med 1991; 42: 225-246.

24. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. Free Radic Res Commun 1989;7: 255-64.

25. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. Ann Neurol 1992; 32: S33-42.

26. Kilgore KS, Lucchesi BR. Reperfusion injury after myocardial infarction: The role of free radicals and the inflammatory response. Clin Biochem, 1993; 26: 359-370.

27. Verma S, Fedak PW, Weisel RD, Butany J, Rao V, Maitland A, Li RK, Dhillon B, Yau TM. Fundamentals of reperfusion injury for the clinical cardiologist. Circulation. 2002 21;105:2332-6.

28. Lawrence HC, Robert MM, Salik J,RobertDL Cardiac Surgery in the Adult-3rd Edition; 444-463.

29. Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. Cardiovasc Res 2004; 61:481-497.

30. Granger DN. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. Microcirculation. 1999 6;167-78.

31. Rao V, Ivanov J, Weisel RD, Cohen G, Borger MA, Mickle DA. Lactate release during reperfusion predicts low cardiac output syndrome after coronary bypass surgery. Ann Thorac Surg. 2001;71:1925-30.

32. Morales AR, Fine G, Taber RE. Cardiac surgery and myocardial necrosis. Arch Pathol. 1967;83:71-9.

33. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. Circulation. 1982;66:1146-9.

34. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging imlications in tissue kinetics. Br J Cancer. 1972;26:239-57.

35. Kaufmann SH, Hengartner MO. Proframmed cell death: alive and well in the new millenium. Trends Cell Biol 2001;11:526-34.

36. Roy N, Cardone MH. The caspases: consequential cleavage. In: Jacobson MD, McCarthy N, editors. Apoptosis: the molecular biology of programmed cell death. Oxford: Oxford University Press; 2002. p.93-135

37. Vermes I, Haanen C, Steffens-Nakken H, Reutelingsperger C. A novel assay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V. J Immunol Methods. 199517;184:39-51.

38. Lawrence HC, Robert MM, Salik J,RobertDL Cardiac Surgery in the Adult-3rd Edition; 444-463

39. Gottlieb RA, Burleson KO, Kloner RA, et al: Reperfusion injury induces apoptosis in rabbitcardiomyocytes. J Clin Invest 1994; 94:1621.

40. Bonchek LI, Burlingame MW, Vazales BE, et al: Applicability of non-cardioplegic coronary bypass to high-risk patients: Selection of patients, technique, and clinical experience in 3000 patients. J Thorac Cardiovasc Surg 1992; 103:230.

41. Raco L,Mills E,Millner RJ: Isolated myocardial revascularization with intermittent aortic cross-clamping: Experience with 800 cases. Ann Thorac Surg 2002; 73:1436;1439.

42. Bukberg GD. Myocardial protection during adult cardiac operations. Glenn's Thoracic and Cardiovascular Surgery. Fifth Editon, Volume II, Appleton&Lange, 1995;pp:1417-41

43. Velez DA,Morris CD, Budde JM, et al: All-blood (miniplegia) versus dilute cardioplegia in experimental surgical revascularization of evolving infarction. Circulation2001;104:I-296.

44. Chambers DJ, Fallouh HB. Cardioplegia and cardiac surgery: pharmacological arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion.PharmacolTher. 2010;127:41-52.

45. Zimmerman AN, Daems W, Hulsmann WC et al. Morphologica changes of heart muscle caused by successive perfusion with calcium-free and calcium-containing solutions (calcium paradox) Cardiovasc Res 1967;1:201–209

46. Piper H.M. The calcium paradox revisited: An artefact of great heuristic value. Cardiovascular Research 45 2000; 123-127

47. Jynge P, Hearse DJ, Braimbridge MV. Myocardial protection during ischemic cardiac arrest. A possible hazard with calcium-free cardioplegicinfusates. J ThoracCardiovasc Surg. 1977;73:848-55.

48. Amrani M, Ledingham S, Jayakumar J, Allen NJ, Rothery S, Severs N, Yacoub M. Detrimental effects of temperature on the efficacy of the University of Wisconsin solution when used for cardioplegia at moderate hypothermia. Comparison with the St. Thomas Hospital solution at 4 degrees C and 20 degrees C. Circulation. 1992 ;86:II280-8.

49. Careaga G, Salazar D, Téllez S, Sánchez O, Borrayo G, Argüero R. Clinical impact of histidine-ketoglutarate-tryptophan (HTK) cardioplegic solution on the perioperative period in open heart surgery patients.Arch Med Res. 2001;32:296-9.

50. Mauney MC, Kron IL. The physiologic basis of warm cardioplegia. Ann Thorac Surg 1995; 60: 819- 23.

51. Chocron S, Kaili D, Yan Y, et al. Intermediate lukewarm (20C) antegrade intermittent blood cardioplegia compared with cold and warm blood cardioplegia. J Thorac Cardiovasc Surg 2000;119: 610- 6.

52. Buckberg GD, Brazier JR, Nelson RL, Goldstein SM, McConnell DH, Cooper N. Studies of the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. The adequately perfused beating, fibrillating and arrested heart. J Thorac Cardiovasc Surg 1977; 73: 87-94.

53. Hayashida N, Ikonomidis JS, Weisel RD, Shirai T, Ivanov J, Carson SM. The optimal cardioplegic temperature. Ann Thorac surg 1994; 58:961-71.

54. Careaga G, Salazar D, Téllez S, Sánchez O, Borrayo G, Argüero R. Clinical impact of histidine-ketoglutarate-tryptophan (HTK) cardioplegic solution on the perioperative period in open heart surgery patients. Arch Med Res. 2001;32:296-9.

55. Aarsaether E, Stenberg TA, Jakobsen, Busund R. Mechanoenergetic function and troponin T release following cardioplegic arrest induced by St Thomas' and histidine-tryptophan-ketoglutarate cardioplegia--an experimental comparative study in pigs. Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2009;9:635-9.

56. Kober IM, Obermayr RP, Brüll T, Ehsani N, Schneider B, Spieckermann PG. Comparison of the solutions of Bretschneider, St. Thomas' Hospital and the National Institutes of Health for cardioplegic protection during moderate hypothermic arrest.EurSurg Res. 1998;30:243-51.

57. Arslan A, Sezgin A, Gultekin B, Ozkan S, Akay T, Uguz E, Tasdelen A, AslamaciS. Low-dose histidine-tryptophan-ketoglutarate solution for myocardial protection. Transplant Proc. 2005;37:3219-22

58. Schmitt JP, Schröder J, Schunkert H, Birnbaum DE, Aebert H. Role of apoptosis in myocardial stunning after open heart surgery. Ann Thorac Surg. 2002;73:1229-35.

59. Ruifrok WT, Westenbrink BD, de Boer RA, den Hamer IJ, Erasmus ME, Mungroop HE, Epema AH, Voors AA, van Veldhuisen DJ, van Gilst WH. Apoptosis during CABG surgery with the use of cardiopulmonary bypass is prominent in ventricular but not in atrial myocardium.Neth Heart J. 2010;18:236-42.

60. Aebert H, Cornelius T, Dietrich E. Birnbaum, Andreas V. Siegel, Gunter A.J. Riegger, Heribert Schunkert. Induction of early immediate genes and programmed cell death following cardioplegic arrest in human hearts. European Journal of Cardio-thoracic Surgery 12;261–267

61. Demmy TL, JE Molina, HB Ward, et al. Custodiol versus Plegisol: A phase 3 multicentre myocardial protection study.Int J Angiol 2008;17:149-153.

62. Trescher K, Gleiss A, Boxleither M, Dietl W, Kassal H, Holzinger C, Podesser BK. Short-term clinical outcomes between intermittent cold versus intermittent warm blood cardioplegia in 2200 adult cardiac surgery patients. J Cardiovasc Surg, 2015 Epub.

63. Jun Feng, MD, PhD, Cesario Bianchi, MD, PhD, Jianyi Li, MD, and Frank W. Sellke, MD. Improved Profile of Bad Phosphorylation and Caspase 3 Activation After Blood Versus Crystalloid Cardioplegia. Ann Thorac Surg Vol. 77,2004, p1384–1389

64. Münch F, Purbojo A; Keelermann S, Janssen C, Cesnjevar RA, RüfferA. Improved contractility with tepid modified full blood cardioplegia compared with cold crystalloid cardioplegia in a piglet model. Eur J Cardiothorac Surg. 2014 : 440

65. Braathen B, Tonnessen T. Cold blood cardioplegia reduces the increase in cardiac enzyme levels compared with cold crystalloid cardioplegia in patients undergoing aortic valve replacement for isolated aortic stenosis. J Thorac Cardiovasc. Surg. 2010 139:874-80

66. J.James B., Edelman, Michael S., Dunne B., Matzelle S., Murphy M. Joshi P., Yan T. Wilson M., Bannon P., Valley M., Passage J. Custodiol for myocardial protection and preservation: a systematic review. Ann Cardiothorac Surg. 2013 2;728

67. Günday M., Bingöl H. Is crystalloid cardioplegia a strong predictor of intra-operative hemodilution?, J Cardiothorac Surg. 2014 27;9:23

68. Spiess BD. Transfusion of blood products affects outcome in cardiac surgery. Semin Cardiothorac Vasc Anesth. 2004;8:267-81

69. Vahasilta T, Malmberg M, Saraste A., Kuttila K., Savunen T.Cardiomyocyte apoptosis after antegrade and retrograde cardioplegia during aortic valve surgery. Ann Thorac Surg. 2011;92:1351-7.

70. Scrascia G, Guida P, Rotunno C, De Palo M, Mastro F, Pignatelli A, de Luca Tupputi Schinosa L, Paparella D. Myocardial protection during aortic surgery: comparison between Bretschneider-HTK and cold blood cardioplegia. Perfusion. 2011;26:427-33.

71. Careaga G, Salazar D, Téllez S, Sánchez O, Borrayo G, Argüero R. Clinical impact of histidine-ketoglutarate-tryptophan (HTK) cardioplegic solution on the perioperative period in open heart surgery patients. Arch Med Res. 2001;32:296-9

72. Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP, Wilcox JN, Shearer S, Ronson RS, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death.Cardiovasc Res. 2000;45:651-60.

73. Saraste A. Morphologic criteria and detection of apoptosis. Herz 1999;24:189–95.

74. Schmitt JP, Schröder J, Schunkert H, Birnbaum DE, Aebert H. Role of apoptosis in myocardial stunning after open heart surgery. Ann Thorac Surg. 2002;73:1229-35.

75. Birdi I, Angelini GD, Bryan AJ. Biochemical markers of myocardial injury during cardiac operations. Ann Thorac Surg 1997;63:879–84

76. Bolli R, Hartley CJ, Rabinovitz RS. Clinical relevance of myocardial stunning. Cardiovasc Drugs Ther 1991;5:877–90.

77. Ramlawi B, Feng J, Mieno S, Szabo C, Zsengeller Z, Clements R, Sodha N, Boodhwani M, Bianchi C, Sellke FW. Indices of apoptosis activation after blood cardioplegia and cardiopulmonary bypass. Circulation. 2006;114:I257-63.

78. Korun O., Özkan M, Terzi A, Aşkın G., Sezgin A., Aşlamacı S. The comparison of the effects of Bretschneider's histidine-tryptophan-ketoglutarate and conventional crystalloidcardioplegia on pediatric myocardium at tissue level. Artif Organs. 2013;37:76-81

79. Ruifork WT, Westenbrink BD, de Boer RA, den Hamer IJ, Erasmus ME, Mungroop HE, Epema AH, Voors AA, van Veldhuisen DJ, van Gilst WH. Apoptosis during CABG surgery with the use of cardiopulmonary bypass is prominent in ventricular but not in atrial myocardiumNeth Heart J. 2010;18:236-42.