

T.C.

BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Ömer GÖKTEKİN

**KORONER ARTER BYPASS CERRAHİSİ SONRASI GÖRÜLEN ATRİYAL
FİBRİLASYON GELİŞİMİNİN KARDİYAK SIRT 1 PROTEİNİ, MİKRO RNA 195 VE
199a İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Sıtkı KÜÇÜKBUZCU

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Aylin Hatice YAMAÇ

İSTANBUL

2016

ÖNSÖZ-TEŞEKKÜR

Koroner arter bypass cerrahisi sonrası atriyal fibrilasyon gelişme riskinin yüksek olması ve buna sekonder hastaların hastanede kalış süresi, mortalite ve morbiditesi artmıştır. Bilimsel gelişmeler ışığında yeni yapılan gen çalışmalarını dikkate alarak Yrd. Doç. Dr. Aylin Hatice YAMAÇ ile birlikte tez konusu belirledik. Operasyon sonrası atriyal fibrilasyon gelişimi ile SIRT1 proteini ve regülasyonunda rol oynayan mikroRNA' lar arasındaki ilişkinin açığa çıkarılmasının, atriyal fibrilasyonun tedavisinde faydalı olacağına kanaat getirdik. Bir yıla yakın sürede yapılan bu prospektif çalışmada emeği geçen Prof. Dr. Ülkan KILIÇ, biyolog Özlem GÖK, biyolog Çilem ERCAN' a, ayrıca tezin her aşamasında yardımını aralıksız sürdüren tez hocam Yrd. Doç. Dr. Aylin Hatice YAMAÇ'a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Asistanlığım süresince yardımını hiçbir zaman bizden esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ömer GÖKTEKİN, Prof. Dr. Hüseyin UYAREL, Doç. Dr. Ahmet BACAKSIZ ve diğer öğretim üyesi hocalarıma teşekkür ederim. Ayrıca bu yoğun asistanlık eğitimim süresince her zaman yanımda olan değerli eşim Esra KÜÇÜKBUZCU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Sıtkı KÜÇÜKBUZCU

ÖZET

Giriş: Koroner arter bypass greft cerrahisi (KABG) sonrası gelişen atriyal fibrilasyon (AF) hayatı tehdit edici potansiyele sahip bir komplikasyondur. Postoperatif AF (POAF) tespit edilen hastaların kardiyak dokusunda antioksidan özelliği olan kardiyoprotektif SIRT1 protein ekspresyonu artmıştır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, SIRT1 protein düzeyini regüle eden kardiyomiyosit spesifik mikro RNA'lar (miRNA), SIRT1 proteini ve POAF gelişimi arasındaki ilişkiyi inceleyen veriler yetersizdir.

Gereç ve Yöntem: KABG yapılan ve 'aortik kross klemp' öncesi sağ atriyal apendiksten biyopsi alınan 63 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar postoperatif dönemden itibaren taburcu olana kadar 24 saatlik ritm holter ile monitörize edilip POAF (n= 20) ve sinüs ritmi (n= 43) olarak 2 gruba ayrılmıştır. Doku homojenizasyonu sonrasında miRNA'lar izole edilerek, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile miRNA 199a ve mirRNA 195 ekspresyonları ölçüldü. SIRT1 protein düzeyi Western Blot metodu ile analiz edildi.

Bulgular: POAF grubunda miRNA 199a ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktü (0.7 ± 0.3 vs 1.2 ± 0.7 ; $p = 0.02$). Ayrıca miRNA 199a ile POAF arasında negatif korelasyon tespit edildi ($p= 0.02$). MiRNA 195 ile POAF arasında korelasyon saptanmadı. POAF gelişen hastaların doku örneklerinde SIRT1 protein ekspresyonu anlamlı olarak daha fazla tespit edildi ($p < 0.001$).

Sonuç: SIRT1 proteinini regüle eden miRNA 199a ekspresyonu'nun azalması POAF gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Bu verilere göre, kardiyak cerrahi öncesi ölçülen miRNA 199a, POAF'ı öngörmede kullanışlı bir biyobelirteç olabilir.

Anahtar kelimeler: Postoperatif atriyal fibrilasyon, SIRT1, mikro RNA.

ABSTRACT

Background: Postoperative atrial fibrillation (POAF) is a potentially life-threatening complication after coronary artery bypass graft (CABG) surgery. The expression of the cardioprotective SIRT 1 protein with its antioxidant activity is increased in cardiac tissue of patients suffering from POAF. So far, information is lacking about the relationship between SIRT1 regulating micro RNAs (miRNAs), SIRT 1 protein and the occurrence of POAF.

Methods: A total of 63 patients undergoing CABG were recruited and biopsies were obtained from the right atrial appendage before aortic cross-clamping. Postoperative, all patients were rhythm-monitored until discharge and randomized to POAF (n=20) or sinus rhythm (n=43). The expression of the micro RNAs miRNA199a and miRNA195 was quantified by Real Time PCR. SIRT 1 protein was detected by Western Blot analysis.

Results: The relative expression of miRNA199a in the POAF group was significantly decreased compared to the control group (0.7 ± 0.3 vs 1.2 ± 0.7 ; $p = 0.02$). MiRNA 199a was inversely correlated with the occurrence of POAF. There was no correlation between miRNA 195 and POAF. Accordingly, SIRT 1 protein was significantly induced in tissue probes of patients with POAF ($p < 0.001$).

Conclusion: Altered expression of the SIRT 1 protein regulating miRNA 199A in human atrial tissue was found to be related to the occurrence of POAF, indicating its usefulness as a biomarker for cardiac surgery management.

Keywords: Postoperative atrial fibrillation, SIRT1, micro RNA.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ-TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR (Alfabetik sırayla)	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
TABLO DİZİNİ	xi
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. ATRİYAL FİBRİLASYON	1
1.2. TANIMI:.....	1
1.3. PATOFİZYOLOJİ:	1
1.4. ATRİYAL FİBRİLASYON NEDENLERİ:	2
1.5. ATRİYAL FİBRİLASYONUN SINIFLANDIRILMASI:	4
1.6. SEMPTOMLAR:	5
1.7. TANI VE LABORATUVAR:	5
1.8. AYIRICI TANI:	6
2. ATRİYAL FİBRİLASYON TEDAVİSİ.....	7
2.1. VENTRİKÜLER HIZIN KONTROLÜ:.....	8
2.2. SİNÜS RİTMİNİN SAĞLANMASI VE İDAMESİ:	8
2.3. TROMBOEMBOLİNİN ÖNLENMESİ	11

3.	KORONER ARTER BYPASS SONRASI AF GELİŞİMİ	13
3.1.	KARDİYOPULMONER BYPASS.....	13
3.2.	KPB'İN VUCUTTA MEYDANA GETİRDİĞİ DEĞİŞİKLİKLER.....	13
3.3.	POSTOPERATİF AF GELİŞİMİ VE NEDEN OLAN RİSK FAKTÖRLERİ	15
4.	SİRTUİN PROTEİNİ VE MİKRO RNA'LARIN İŞLEVLERİ	17
4.1.	Sirtuin Gen Ailesi:	17
4.2.	SIRT 1:.....	17
4.3.	Mikro RNA'lar ve görevleri.....	19
5.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
5.1.	Hastalar	20
5.2.	Transtorakik Ekokardiyografi.....	20
5.3.	Laboratuvar Tetkikleri	21
5.4.	Koronar arter bypass graft cerrahisi	21
5.5.	postoperatif yoğun bakım ünitesi ve servis takibi	22
5.6.	Doku parçalarının alınması ve saklanması	22
5.7.	RNA izolasyonu, Reverse Transkriptase ve Real Time PCR.....	22
5.7.1.	Real Time PCR protokolü.....	24
5.7.2.	RNA İzolasyonu:	25
5.7.	3. MiRNA Konsantrasyonlarının Ölçülmesi ve Hesaplanması:.....	26

5.7.4. MiRNA'nın Reverse Transkriptaz İle Çevrimi:	27
5.7.5. Real Time PCR:	28
5.8 SIRT1 Protein analizi ve Western Blot	29
5.9. İstatistiksel Analiz	31
6. BULGULAR	32
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	41
8. KAYNAKLAR	44

KISALTMALAR (Alfabetik sırayla)

ACE Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim

ADP Adenozin Difosfat

AF Atriyal Fibrilasyon

AKS Akut Koroner Sendrom

ARB Anjiyotensin Reseptör Blokörü

AV Atriyoventriküler

DDC Doğru Akım Kardiyoversiyon

EF Ejeksiyon fraksiyonu

EKG Elektrokardiyografi

EKO Ekokardiyografi

FDA U.S. Food and Drug Administration

FKBP5 FK506 Binding Protein 5

GİA Geçici İskemik Atak

HIF1 α Hipoksi Inducible Faktör 1

HSP90 Heat-Shock Protein 90

İABP İntraaortik Balon Pompası

KABG Koroner arter baypas greftleme

KAH Koroner Arter Hastalığı

KOAH Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

KPB Kardiyopulmoner Bypass

KY Kalp Yetmezliği

LA Sol Atriyum

LİMA Left İnternal Mammarial Arter

MI Miyokard İnfarktüsü

NAD Nikotinamid Adenin Nükleotid

NYHA New York kalp Cemiyeti Sınıflaması

PHD2 Polihidroksilaz 2

POAF Postoperatif Atriyal Fibrilasyon

RCA Sağ Koroner Arter

SİR2 Silent Mating Type İnförmatıon Regülatıon -2

SR Sinüs Ritmi

SV Sol ventrikül

SVP Santral Venöz Basınç

TAFI68 TATA kutu bağlayıcı protein bağlantılı faktör I 68

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: POAF gelişen ve gelişmeyen hastaların kardiyak dokusundaki MiRNA 199a

Ve 195' in ekspresyon profilleri38

Şekil 2: POAF gelişen ve gelişmeyen hastaların kardiyak dokusundaki SIRT1 ve

GAPDH protein ekspresyonu40

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. AF'ye yatkınlık oluşturan faktörler	3
Tablo 2. Atriyal fibrilasyon tedavi seçenekleri	7
Tablo 3. AF tedavisinde kullanılan başlıca antiaritmik ilaçlar	10
Tablo 4. Kalp cerrahisi sonrası ortaya çıkan atriyal fibrilasyon için risk faktörleri	16
Tablo 5. RNA izolasyonu, Reverse transkriptase ve Real Time PCR için kullanılan malzemeler ve cihazlar	23
Tablo 6. MiRNA'nın reverse transkriptaz ile çevrimi için gerekli malzemeler	27
Tablo 7. MiRNA'nın Reverse Transkriptaz İle Çevrimi İçin İnkübasyon koşulları	28
Tablo 8. Real Time PCR İçin Gerekli Malzemeler	29
Tablo 9. Real Time PCR İçin İnkübasyon Koşulları	29
Tablo 10. İki hasta grubunun demografik özellikleri	33
Tablo 11. İki hasta grubunun ekokardiografik verileri	34
Tablo 12. Hasta gruplarının kan parametreleri	35
Tablo 13. Hastaların Operasyon sırasındaki parametreleri	36
Tablo 14. Operasyon sonrası klinik seyir	37
Tablo 15. POAF gelişimi ve diğer parametreler arasındaki korelasyon analizi	39

1. GENEL BİLGİLER

1.1. ATRİYAL FİBRİLASYON

Atriyal fibrilasyon (AF) en sık görülen süregen supraventriküler taşiaritmidir. Gelişmiş ülkelerde AF'nin genel toplumdaki tahmini prevalansı %1,5-2'dir ve bu hastalığa sahip hastaların ortalama yaşı giderek artmaktadır (1). 65 yaş üstü görülme sıklığı %10'a kadar çıkmaktadır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada AF prevalansı 40-59 yaş grubunda %0.16; 60 yaş üzerinde %2.16 olarak bildirilmiştir (2). AF gelişen hastalar; artmış inme, hastanede kalış süresi, morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Bu aritmi, inme riskinde beş kat, konjestif kalp yetersizliği insidansında üç kat ve sinus ritmi (SR) olanlara göre ise 2 kat artmış mortalite ile ilişkilidir. AF'li hastalarda hastaneye yatışlar da oldukça sıktır. Bu aritmi modern toplumda önemli bir kardiyovasküler sorundur ve tıbbi, sosyal ve ekonomik yönleri gelecek dekatlarda daha da artacağı öngörülmektedir (3). Özellikle SR olanlara göre tedavi edilmeyen AF hastalarında 2 kat mortalite artışının olması AF'nin ne kadar ciddiye alınması gerektiğini göstermektedir.

1.2. TANIMI:

AF etkili atriyal kasılma olmaksızın tamamen düzensiz, dakikada 300-600 arasında atriyal depolarizasyonla karakterize, elektrokardiyogramda (EKG) küçük, düzensiz ve değişken atriyal amplitüd ve morfolojiye sahip bir aritmi çeşididir. AF'de p dalgaları bulunmaz, fibrilatuvar 'f' dalgası adı verilen atriyal depolarizasyona 100-180 arasında düzensiz ventriküler yanıt oluşmaktadır (4).

AF'de ventrikül hızı atriyoventriküler elektrofizyolojik özelliklerine, vagal ve sempatik tonusa ve ilaç etkisine bağlıdır (5). AF tek başına veya diğer aritmilerle (sık olarak atriyal flutter, atriyal taşikardi v.b) beraber olabilir. AF olan hastada düzenli ventriküler hız varsa nodal veya ventriküler kaçışlı kalp bloğu düşünülmelidir. Eğer ventriküler hız 180'in üzerinde ise aksesuar yolun olduğu düşünülmelidir (6).

1.3. PATOFİZYOLOJİ:

AF'nin patofizyolojisi, AF'nin başlamasını ve devamını etkileyen anatomik ve fizyolojik faktörler arasındaki etkileşime bağlıdır. Patofizyolojik olarak bu etkenler sol atriyal fibrozis,

pulmoner ven dilatasyonu ve azalmış atriyal kontraktileteye neden olmaktadır. Bu da hücresele düzeyde amormal intraselüler kalsiyum tutulumu, atriyal miyolizis, konneksin downregülasyonu ve sempatik uyarıda değişimle sonuçlanır. Yapısal değişiklikler olarak kas dokusu ve lokal ileti arasında elektriksel disosiyasyon oluşmaktadır. Sonuçta oluşan bu elektroanatomik substrat AF oluşmasına neden olan çok sayıda mikroreentran devrelerin oluşmasına neden olmaktadır (4).

Patofizyolojik olarak pulmoner venlerin AF'nin tetiklenmesinde ve devam etmesinde rolü olduğu görüşü savunulmaktadır. 1962'de Moe ve arkadaşları tarafından öne sürülen eski modelde AF'nin oluşması ve devam etmesinde sol atriyumda pulmoner venlerin çevresinde olan, artmış otomatisite ve çok sayıda reentran dalgacıkların yer aldığı fokal mekanizmayı desteklemektedir. Yeni modelde AF'nin devamı için atriyal substrat durumları dahil etmiştir. Bu; otomatik tonus, ilaçlar, atriyal basınç ve katekolamin düzeyleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir. AF oldukça karmaşık bir aritmidir, bu model basitçe anlaşılmasında bize kavramsal alt yapı sağlamaktadır (4).

1.4. ATRIAL FİBRİLASYON NEDENLERİ:

AF hem kardiyak ve hem de kardiyak olmayan hastalıklara bağlı gelişebilmekle birlikte herhangi bir hastalık olmaksızın da görülebilir (Tablo 1).

AF'nin nedenleri farklı şekilde de sınıflandırılabilir:

- **AF'nin geri dönüşlü nedenleri:** AF alkol alımı, cerrahi girişim, elektrik çarpması, miyokard infarktüsü (MI), perikardit, miyokardit, hipertroidi, pulmoner hastalıklar, metabolik ve elektrolit bozukları gibi geçici akut nedenlere bağlı oluşabilir. Bu durumlarda genellikle altta yatan neden düzeltildikten sonra AF ortadan kalkmaktadır.
- **Kalp hastalığı ile ilişkili olan AF:** Valvüler kalp hastalığı, kalp yetmezliği (KY), koroner arter hastalığı (KAH) ve hipertansiyon (HT) başlıca sayılan nedenlerdendir. Ayrıca dilate ve hipertrofik kardiyomyopati, doğumsal kalp hastalığı ve atriyal septal defekt gibi nedenlerde sayılabilmektedir.

TABLO 1. AF'ye yatkınlık oluşturan faktörler

Elektrofizyolojik anormallikler
• Otomatisite artışı (fokal AF)
• İleti anormalliği
Atriyal basınç artışı
• Mitral ya da triküspid kapak hastalığı
• Miyokard hastalığı
• Semilunar kapak anormallikleri
• Sistemik ya da pulmoner hipertansiyon
• İntrakardiyak tümörler ya da trombüsler
• Koroner arter hastalığı
Atriyal iskemi
Enflamatuar ya da infiltratif atriyal hastalık
• Perikardit
• Amiloidos
• Miyokardit
• Yaşa bağlı atriyal fibrotik değişiklikler
İlaçlar
• Alkol, Kafein
Endokrin bozukluklar
• Hipertiroidi
• Feokromositom
Otonom Tonus değişiklikleri
• Parasempatik aktivite artışı
• Sempatik aktivite artışı
Atrium duvarında ya da komşu dokularda birincil ya da metastatik hastalık
Postoperatif
• Kardiyak, pulmoner ya da özofageal
Doğumsal kalp hastalığı
Nörojen
• Suparaknoid hemoraji
• Hemorajik olmayan majör inme
İdiyopatik
Ailesel AF

'Koroner Arter Bypass Cerrahisi sonrası atriyal fibrilasyon gelişimine neden olan risk faktörleri'. Dr. Oya Karakaş, Uzmanlık Tezi, 2008.

- **Otonom etkiler:** Otonom sinir sistemi, özellikle duyarlı kişilerde adrenerjik veya vagal aktivitenin artması yolu ile AF atağının başlamasına neden olabilir. Emosyonel stres gibi sempatik aktivitenin arttığı durumlar veya vagal tonus artışı AF'nin başlatıcısı olabilir.
- **Obezite:** AF gelişmesindeki mekanizmanın sol atriyal dilatasyona bağlı olduğu düşünülmektedir (7,8).
- **İdiopatik:** Paroksimal AF vakalarının yaklaşık %30'u, persistan AF'nin %20'si altta yatan herhangi bir hastalığın gösterilemediği genç hastalardan oluşmaktadır (9).
- **Postoperatif gelişen AF:** Cerrahi işlem sonrası gelişen AF'yi tanımlamaktadır. Genel cerrahi, plastik cerrahisi veya herhangi bir cerrahi branşların yaptığı operasyonlar sonrası gelişse de en çok kalp cerrahisi sonrası postoperatif gelişmektedir. AF özellikle kapak cerrahisi sonrası, en çok da mitral kapak cerrahisi sonrası %30-50' e kadar geliştiği bildirilmektedir (10). AF atakları genellikle operasyondan sonra ilk 7 gün içinde, en çok 2. ve 3. gün görülmektedir. Daha önce atriyal aritmi öyküsü olmayan hastaların çoğunda sinüs ritmine dönüş sağlanmaktadır.

1.5. ATRIAL FİBRİLASYONUN SINIFLANDIRILMASI:

AF için birçok sınıflandırma sistemi tanımlanmıştır. Genel olarak en çok kabul gören sınıflandırma aşağıdaki gibidir.

- **Akut AF:** Geçici veya reversibl nedenle ilişkili ilk AF atağını tarif eder.
- **Rekürren - Paroksimal AF:** Eğer bir hastada 2 veya daha fazla AF epizodu görülürse rekürren AF, eğer kendiliğinden sonlanırsa paroksimal AF olarak isimlendirilir.
- **Persistan – Uzun Süreli Persistan AF:** Eğer AF kendiliğinden sonlanmaz ve 7 günden uzun süre devam ederse persistan AF, 1 yıldan uzun süre sonunda sonlanırsa uzun süreli persistan AF olarak isimlendirilir.
- **Kalıcı AF:** Elektriksel ve kimyasal kardiyoversiyonla sonlandırılmayan, hekimin ve hastanın AF'yi kabul ettiği durumda kalıcı AF den bahsedilir.

- **İdiyopatik AF:** Altta yatan kardiyovasküler hastalık ve hastanın yaşı göz önünde bulundurulmadan AF'nin orjininin bilinmemesidir.
- **Lone AF:** Altta yatan klinik veya ekokardiyografik kardiyovasküler hastalık (HT da dahil) öyküsü olmadan olan AF'yi tanımlar.

Akut MI, postoperatif cerrahi sonrası, perikardit, miyokardit, hipertroidi, ve metabolik ve elektrolit bozukluklarına bağlı gelişen AF'ye sekonder AF denir. Bu durumlarda AF birincil sorun değildir ve çoğu zaman altta yatan hastalığın çözümüyle AF sona erer.

1.6. SEMPTOMLAR:

Tüm aritmilerde olduğu gibi AF'de de klinik çok değişken olabilir. Hastalar tamamen asemptomatik olabilmekle beraber kalp yetmezliğinin alevlenmesi, hemodinaminin bozulması veya şok durumuna kadar değişen yelpazede semptomlar olabilir. Başlıca semptomlar; çarpıntı, fenalık hissi, yorgunluk, nefes darlığı, baş dönmesi, bayılma hissi, terleme olarak sayılabilir. Daha nadir olarak, hastalar hemodinamiyi bozan şikâyetlerle de başvurabilir. Örneğin; pulmoner ödem, senkop, hipotansiyon ve inme. Hastaneye başvuran yeni tromboembolik inme vakalarının %10-40'ının AF olduğu bildirilmektedir.

1.7. TANI VE LABORATUVAR:

AF tanısı elektrokardiyogram (EKG) ve 12 derivasyonlu ritim holter ile konur. EKG 'de küçük, düzensiz ve değişen amplitüd ve morfolojiye sahip ritm görülür. 350-600 hızında atriyal depolarizasyon dalgaları (f), yaklaşık olarak 100-180 arasında düzensiz ventriküler cevap oluşturur.

AF kuşkusu olan her hastaya EKG çekilmeli, aritmi paterninin paroksizmal olabileceği göz önünde olarak ritim holter ile taranmalıdır. AF tanısı konulan hastaların aritmi paternleri değerlendirilmeli, nedenleri saptanmalı, etyoloji araştırılmalı ve AF ye yönelik kardiyak ve kardiyak olmayan nedenler araştırılmalıdır.

Fizik muayenede (FM), düzensiz nabız, düzensiz venöz pulsasyon, 1. kalp sesinin şiddetinde değişkenlik ve daha önce 4. kalp sesi alınmışsa kaybolması AF'yi düşündürür.

Değerlendirme süresince en az bir kez tiroid, böbrek, karaciğer fonksiyon testleri ile hemogram ve serum elektrolitleri istenmelidir (11).

Ekokardiyografi (EKO); AF tanısı almış hastaların ilk değerlendirilmesinde önemli bilgiler sağlar. EKO ile kalp kapak hastalığının varlığını, atriyum ve ventrikülerin çaplarını ve fonksiyonlarını ayrıca eş zamanlı pulmoner hipertansiyonu saptamak adına önemlidir. AF'ye bağlı sistemik komplikasyonları öngörmeye prognostik araç olarak da kullanılabilir ve antitrombotik tedaviye başlama kararının verilmesinde yardımcı olmaktadır. Artmış tromboembolik riskin öngördürücüleri arasında mitral darlığı, sol atriyal genişleme, sol ventrikül sistolik fonksiyonunda azalma, sol atriyum veya sol atriyal apendiskte spontan kontrast (duman) yada trombüs kanıtı bulunmaktadır.

Altta yatan kardiyak iskemiyi saptamak için egzersiz testi yapılabilir. İnvaziv tetkiklerin rutin değerlendirmede sınırlı rolü vardır.

1.8. AYIRICI TANI:

AF'nin ayırıcı tanısında; multifokal atriyal taşikardi (MAT), sık prematür atriyal atımlar ve otomatik atriyal taşikardiden ayırt edilmelidir. MAT'de en az üç farklı morfolojiye sahip P dalgalarıyla ayırt edilir. AF'de ventriküler cevap düzensizdir, eğer AF'si olan hastada düzenli ventrikül cevap varsa, nodal veya ventriküler kaçışlı kalp bloğu düşünülmez. Eğer ventriküler cevap 180 atım/dk üzerinde ise, aksesuar yolun olduğu akla gelmelidir. Atriyal flutter'da ise düzenli p dalgaları vardır, atriyal hız yine 350-600 arasında, ventriküler cevap 100-180 arasında değişir. Atriyal flutter ve AF aynı tedavi ve riskleri içerdiğinden tedavi ve uygulamaları aynıdır.

2. ATRİYAL FİBRİLASYON TEDAVİSİ

AF hastalarının tedavisinde 3 hedef vardır.

- 1- Ritim kontrolü ve idamesi
- 2- Ventriküler hızın kontrolü
- 3- Tromboembolinin önlenmesi

AF'de başlangıç olarak hız kontrolü mü yoksa ritim kontrolü mü yapılacağı tedavi açısından temel stratejidir. Kalp hızı kontrolü planlanıyorsa sinüs ritmine döndürme düşünülmeyip, ventriküler hız denetimi planlanır. Ritim kontrolünde ise sinüs ritmine döndürmek için tedavi stratejisi belirlenir. Her ne plan yapılırsa yapılsın hız kontrolü ve ritim kontrolü arasında mortalite ve inme riski açısından bir fark olmadığı bildirilmiştir (12,13).

Tablo 2. Atriyal fibrilasyon tedavi seçenekleri

A. Ritim kontrolü

- Kardiyoversiyon
- Antiaritmik ilaçlar
- Cerrahi tedavi (Maze prosedürü)
- AF ablasyonu

B. Ventrikül hızı kontrolü

- Farmakolojik tedavi
- AV düğüm ablasyonu ve pacemaker implantasyonu
- AV düğüm modifikasyonu

AF saptanan herhangi bir unstabil hastada tedavi seçeneği acil DDC (doğru akım kardiyoversiyon)'dir. Unstabil kavramı semptomatik olan (göğüs ağrısı, pulmoner ödem) ve hemodinamik olarak stabil olmayan hastaları kapsamaktadır.

2.1. VENTRİKÜLER HIZIN KONTROLÜ:

Ventriküler hız kontrolü atriyoventriküler (AV) noddan geçen iletiyi yavaşlatan ilaçlarla kontrol edilir.

- a. Beta-blokörler,** etkisi hızlı başlar, hem oral hem intravenöz (IV) formları mevcuttur. Kısa yarılanma ömrüne sahiptir. Bu ilaçların azalmış sistolik fonksiyonu olanlarda ve kalp yetmezliği olanlarda dikkatli kullanılmaları gerekir. Metoprolol, esmolol, propranololün IV formlarının etkisi 5 dakikada başlar. Amiodaron beta-blokör özelliği olan antiaritmik ilaçtır, hız kontrolü ve ritm kontrolünde de kullanılabilir.
- b. Kalsiyum kanal blokörleri,** verapamil ve diltiazemin hem IV hem de oral formları mevcuttur. IV formlarının etkisi hızlı başlayıp kısa etkilidir. Uzun salınımlı oral formları bulunmaktadır.
- c. Dijitaller,** grubundan digoksin hız kontrolü için uzun zamandır kullanılmaktadır. Etkisinin başlaması yavaştır (1-4 saat). Uzun yarılanma ömrüne sahiptir (36-48 saat). Digoksin ideal olarak sol ventrikül fonksiyonu azalmış hastalarda veya beta-blokör veya kalsiyum kanal blokörlerine kontraendikasyonun olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Genellikle beta-blokör ve kalsiyum kanal blokörü ile kontrol altına alınamayan hastalarda ilave ilaç olarak kullanılır.
- d. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri,** sol atriyal basıncı azaltarak ve atriyal yeniden şekillenmeyi engelleyerek AF insidansını ve AF rekürrensini azaltmaktadır.
- e. Statinler,** kardiyoversiyon sonrası AF rekürrens riskini azalttığı gösterilmiştir. Altta yatan mekanizma tam olarak anlaşılammış olsa da antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerine bağlı olduğu düşünülmektedir (14).

2.2. SİNÜS RİTMİNİN SAĞLANMASI VE İDAMESİ:

Asemptomatik hastalarda sinüs ritminin sağlanması veya hız kontrolü yapılmasının karşılaştırılması konusu tartışmalıdır. Yakın zamanda yapılan AFFIRM (Atrial Fibrillation Follow-up Investigation of Rhythm Management) çalışmasında asemptomatik AF'si olan

hastalarda iki tedavi stratejisi karşılaştırılmış. Bir grup sinüs ritmi sağlanımı için farmakolojik tedavi ve gerektiğinde DDC yapılmış. Bir grupta da sadece ventriküler hız kontrolü yapılmıştır. Her iki grupta antikoagülasyon tedavisi almış, iki grup arasında sağ kalım ve embolik olay açısından fark saptanmamıştır.

2.2.1. DDC: EKG'de R dalgasının algılanması yoluyla kalbe intreksek aktiviteyle eş zamanlı senkronize elektriksel şok verilir. Sinüs ritmi sağlanmasında oldukça başarılıdır. Sedasyon altında ve kardiyak monitörizasyon ve hemodinamik monitörizasyon altında yapılmalıdır.

2.2.2. Farmakolojik kardiyoversiyon: antiaritmik ajanlar kullanılmaktadır. Atrial fibrilasyonun farmakolojik kardiyoversiyonunda kullanılan ajanlar tablo 3 de gösterilmektedir.

Antiaritmik ilaçlar geniş yelpazede olmakla birlikte AF tedavisinde kullanılanlar başlıca ele alınacaktır.

- **Propafenon:** Sınıf 1C antiaritmik ajanlar içerisinde yer alır. Beta-blokör özelliği de bulunmaktadır. IV formunun yanında oral formu da mevcuttur.
- **Amiadaron:** Vaughan Williams sınıflamasındaki dört grubun özelliğini de taşımasına rağmen sınıf III antiaritmik ajanlar içerisinde yer alır. Klinikte en çok kullanılan ajandır. Çok uzun yarılanma ömrü (120 gün) olması nedeniyle tektir. Kalp yetmezliği ve yapısal kalp hastalığı durumlarında da kullanılabilen yegane ilaçtır. AF tedavisinde oldukça etkili olmasına rağmen, yan etki profili bakımından karaciğer, akciğer, tiroid ve gözler başta olmak üzere organ toksisitesi bulunmaktadır. Amiadaron ile tedavi edilecek hastalarda karaciğer fonksiyon testleri, akciğer fonksiyon testleri, oftalmolojik muayene, tiroid fonksiyon testleri ve kan testleri yapılarak hem ilk başvuruda hem de takiplerde kontrol edilmelidir.
- **Sotalol:** Beta-blokör özelliği de bulunan sınıf III antiaritmik ajandır. Beta-blokör özelliğinin olması, ilaca tolerans ve kalp yetmezliğinin kötüleşmesi açısından dikkatli kullanılmalıdır.
- **Flekainid:** Nörolojik yan etki insidansı düşük olan ve iyi tolere edilen sınıf 1C antiaritmik ajanlar sınıfındadır. Oral ve IV formu mevcuttur.

Tablo 3. AF tedavisinde kullanılan başlıca antiaritmik ilaçlar

İlaç	Uygulama	Doz	Yan Etkiler
Propafenon	O	450-600 mg	Hipotansiyon, hızlı
	İV	1.5-2mg/kg/10-20dk içinde infüzyon	ventrikül yanıtı atriyal flutter, proaritmi
Amiodaron	O	Total 10 gr olacak şekilde bölünmüş dozlar halinde hastanede 1.2-1.8gr/gün, hastane dışında 600-800 mg/gün, idame 200-400 mg/gün	Hipotansiyon, bradikardi, torsades de pointes, hipertiroidi, hipotiroidi, hepatotoksisite, fotosensitivite, pulmoner fibrosis , korneal deposit oluşumu
	İV	5-7mg/kg/30-60 dk içinde infüzyonu takiben 1.2-1.8gr iv/gün total 10gr doz tamamlandıktan sonra 200-400mg/gün idame	
İbutilid	İV	1mg/10 dk içinde infüzyon, gerekirse 1 mg tekrar	QT uzaması, torsades de pointes
Dofetilid	O	2X125-500mcg	QT uzaması, torsades de pointes, renal yetmezlikte doz ayarlanması gerekir
Flekainid	O	200-300mg	Hipotansiyon, hızlı ventriküler cevaplı atriyal flutter, proaritmi
Kinidin	İV	1.5-3.0mg/kg/10-20dk içinde infüzyon	Hipotansiyon, QT uzaması, torsade de pointes, Gİ etkiler, nörolojik yan etkiler
	O	Bölünmüş dozlar halinde 750-1500mg/6-12 saatte, genellikle hız azaltıcı ilaçla kombine	

'Koroner Arter Bypass Cerrahisi sonrası atriyal fibrilasyon gelişimine neden olan risk faktörleri'. Dr. Oya Karakaş, Uzmanlık Tezi, 2008.

- **Dofetilid:** Sınıf III antiaritmik ajanlardandır. Miyokard enfarktüsü ve kalp yetmezliği geçirenlerde onay almıştır. Renal disfonksiyon varlığında, bu ilaç proaritmi riskini arttığı için kullanılmamalıdır.
- **Kinidin:** Gastrointestinal, hematolojik ve nörolojik yan etkilerinden dolayı artık çok tercih edilmeyen sınıf I antiaritmik ajandır.
- **Vernakalant:** Kimyasal kardiyoversiyon için Avrupa'da yeni onay almış yalnız FDA tarafından henüz onay almamış sınıf III antiaritmik ajandır. AF'yi sinüs ritmine çevirmede amiodaronadan daha güçlü bir ajandır. Vernakalant; sistolik kan basıncı 100 mmhg altı, ciddi aort darlığı, kalp yetmezliği, son bir ay içerisinde akut miyokard enfarktüsü veya QT süresi uzun olanlarda kullanımı kontraendikedir.

2.2.3. Maze prosedürü ve AF ablasyonu: AF'nin tedavisinde kür elde edilen iki girişimsel yaklaşım mevcuttur: Biri perkütan yaklaşım biri de cerrahi (maze protokolü) yaklaşımdır. AF ablasyonu uygun hastalarda giderek artan popüleriteye sahip olmaktadır. AF ablasyonu için uygun hastalar antiaritmik tedavinin başarısız veya tolere edilememiş olması, korunmuş sol ventrikül sistolik fonksiyonları ve sol atriyum boyutunun genişlememiş olması sayılabilir. Başarı oranı %90'a yakın, %5-10 arasında da nüks bildirilmiştir. Tecrübeli merkezlerde ve seçilmiş hastalarda başarı oranı daha da artmaktadır.

Ventriküler hızın kontrol edilemediği yada kontrolün bradikardi ile kısıtlandığı hastalarda, antiaritmiklere veya hız kontrolü için kullanılacak ilaçlara kontraendikasyon gelişen hastalarda AV nod ablasyonu ve kalıcı pace maker planlanabilir.

2.3. TROMBOEMBOLİNİN ÖNLENMESİ

AF'si olan hastalarda inme gelişme ihtimali risk faktörlerine göre değişmekle beraber ortalama yılda %1.8 - 18,2 arasında değişmektedir ve antikoagülasyon kullanmayan hastalarda ise inme riski beş kat artmıştır (15). İnme gelişen hastaların her altısından birinde AF gözlenmiştir. AF öyküsü olması inmenin daha ağır gideceğinin ve tekrarlama riskinin arttığını gösterir.

AF'si olan hastalarda tromboembolizmin gelişimini önlemek için antitrombotik tedavi kullanılmasına ilişkin güncel öneriler sadece lone AF veya antitrombotik ajanlara kontraendikasyon olan hastalar dışındaki tüm AF'si olan hastalara antitrombotik ajan verilmesini önermektedirler. AF'si olan hastalarda en yüksek inme riski ile ilişkili faktörler, daha önce

tromboembolizm öyküsü (inme, geçici iskemik atak, sistemik emboli) ve romatizmal mitral kapak darlığıdır. İnme için orta risk faktörleri; 65 yaş üzeri olmak, KAH, kadın cinsiyet, hipertansiyon, diyabetes mellitus, konjestif kalp yetmezliğini içermektedir (16). Yüksek riskli olanlarda veya orta risk faktörü olanlarda vitamin k antagonisti veya dabigatran, apiksaban ve rivaroksaban kullanımı önerilmektedir. Düşük risk faktörü olan veya risk faktörü olmayan hastalarda aspirin 81-325 mg kullanımı veya antikoagülsüz klinik izlem önerilmektedir.

Randomize klinik çalışmalardan elde edilen veriler sonucu birçok klinik skorlama sistemi geliştirilmesine rağmen en çok kabul gören CHA2DS2 - VASc skorlama sistemidir. Bu skorlama sisteminde bakılan parametreler sırayla; kalp yetmezliği, hipertansiyon, yaş, diyabet, inme veya geçici iskemik atak öyküsü, vasküler hastalık, kadın cinsiyettir. Bu sistemde 75 yaş üstü ve daha önce inme veya geçici iskemik atak (GİA) geçirmek 2 puan, diğerleri 1 puandır. Hastanın aldığı puana göre tedavi şekli değişmektedir. 2 puan ve üzeri alan hastalarda antikoagülasyon yapılmalıdır; vitamin k antagonisti (varfarin) veya dabigatran, apiksaban, rivaroksaban kullanılarak. 1 puan alanlarda klavuzlarda varfarin veya aspirin 75-325 mg hekim tercihine göre verilmelidir. Risk faktörü olmayanlarda ise aspirin 75-325 mg veya ilaçsız izlem hekim tercihine bırakılmıştır. Antikoagülan başlamadan önce kanama riski hesaplanmalıdır. Antikoagülan tedavi altında kanama riskini değerlendirmek üzere basit bir skorlama sistemi kullanılmaktadır. HAS-BLED (hipertansiyon, anormal böbrek ve karaciğer fonksiyonları, inme öyküsü, kanama öyküsü, labil INR, 65 yaş üstü olmak, alkol/ilâç). Bu sistemde üç ve üzeri puan olması yüksek riski göstermektedir ve antikoagülan başlanmadan önce dikkatli olunmalı, risk faktörlerini azaltmaya yönelik değerlendirme ve yaklaşım önerilir. Sonuç olarak hastalarda tromboemboli riskini hesaplarken kanama riski de göz önünde bulundurulmalıdır.

3. KORONER ARTER BYPASS SONRASI AF GELİŞİMİ

3.1. KARDİYOPULMONER BYPASS

Kardiyovasküler cerrahide işlem güvenliğinin sağlanması ve güvenliğinin artırılması amacıyla kalp ve akciğer fonksiyonlarının geçici bir süre ile kalp akciğer makinası adı verilen cihaz yoluyla sağlanması işlemine kardiyopulmoner bypass (KPB) denir.

Açık kalp cerrahisinde KPB'nin amacı öncelikle sistemik hemostazı sağlamaktır. KPB'ın bileşenleri kanın depolandığı, venöz kanla gelen kabarcıkların açığa çıktığı venöz rezervuar, kanın oksijenlendiği ve karbondioksitin elimine edildiği oksijenetör, sistemik ısının ayarlandığı ısı ayarlayıcısı, sirkülasyonu sağlamak amacıyla arteriyel pompa ve tüm bu dolaşımın güvenli ve steril ortamda gerçekleşmesini sağlayan standart tüp setlerinden oluşmaktadır. Ana prensip santral bir venden alınan kanın venöz rezervuara toplanması, toplanan kanın oksijenize edilmesi ve filtreden geçirilerek arteriyel sisteme verilerek vücuda geri verilmesi işlemidir.

3.2.KPB'IN VUCUTTA MEYDANA GETİRDİĞİ DEĞİŞİKLİKLER

KPB sırasında vücutta birçok fizyolojik değişim meydana gelir. Ekstrakoporeal dolaşımda, kanın fizyolojik olmayan ortamlarda sirkülasyonu sonucu kanın şekilli elemanları, trombositler, pıhtılaşma faktörleri ve birçok proteinler zarar görür. Endotel içermeyen KPB hatlarıyla temas sonucu aktive olan kompleman, sitokin ve nötrofiller aktive olur ve perivasküler ödemi artırır. KPB esnasında etkilenen vazoaaktif maddeler hücresel düzeyde de değişiklikler yaparak hücre hasarına, miyokardiyal kontraktilitede azalmaya, vasküler rezistansta bozulma gibi birçok değişiklik oluştururlar. Uzamış pompa süresine maruziyet ise enflamatuvar yanıtın artmasına ve bunlara bağlı oluşan bir dizi değişiklik sonucu da end-organ hasarına neden olmaktadır.

Klinik olarak renal, hematolojik, nörolojik, pulmoner ve gastrointestinal sistem (GİS) fonksiyonları olmak üzere birçok sistemin etkilendiğini görürüz. Kalp cerrahisi sonrası görülen mortalite ve morbiditenin en önemli etkeni perioperatif miyokard hasarıdır. KPB süresince, anormal perfüzyon kompozisyonu, inkomplet revaskülarizasyon, dirençli ventriküler fibrilasyon, yetersiz miyokard perfüzyonu, koroner emboli, grefte bağlı problemler, katekolaminlerin aktivasyonu ve reperfüzyon hasarı miyokard hasarının başlıca sebebidir. Perioperatif miyokard

infarktüsü, geçici sol ventrikül disfonksiyonu, düşük kardiyak output sendromu ve postoperatif aritmiler gelişebilir.

Hastanın sahip olduğu risk faktörlerine ek olarak KPB ve operasyonda hastaya uygulanan işlemlerin tümü akciğer hasarına yol açmaktadır. Akciğerler pompa hatlarının yol açtığı temas aktivasyonu sonucu kanda oluşan enflamatuar cevaba maruz kalır. Bu da perivasküler permeabilite artışı ve ödeme yol açar. Alveolar sürfaktanın düzeyleri değişir ve atelektaziye eğilimi arttırır. Sigara kullanımı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), obezite, atelektaziye meyli arttırmaktadır. Bazı olgularda pompa akciğeri dediğimiz interstisyel ödem, atelektazi ve alveolar ödemden oluşan akut solunum yetmezliğinin bir şeklidir.

KPB'nin böbrek fonksiyonlarına etkileri başlıca, operasyonda düşük perfüzyon akımına maruziyet, hipotansiyon, nöromediatörlere maruziyet, perioperatif sıvı dengesinde bozulmaya bağlı ortaya çıkmaktadır. Preoperatif renal disfonksiyon en önemli risk faktörü olmasına rağmen saydığımız faktörlere bağlı olarak akut tübüler nekroz gelişme ihtimali artmaktadır. KPB'ın ciddi komplikasyonlarından olup mortalite artmıştır. Araştırmalarda KPB sonrası renal disfonksiyon gelişme ihtimali %30, diyaliz gerektirecek ciddi böbrek yetmezliği ihtimali % 1 düzeyindedir (17).

KPB sonrası beyinde etkilenen organlardan biridir. Nörolojik komplikasyonlar ileri yaş, karotis arter hastalığı, aortta aterosklerotik plak varlığında daha yüksek görülür. KPB sonrası inme sıklığı % 1-5 arasında görülmektedir (18). İnme görülen olayların çoğundan embolik olaylar ve cerrahi kanülasyon ve manüplasyonlar sorumludur.

KPB sonrası GİS komplikasyonları % 1-2,6 arasında görülür. Bunlardan başlıcaları GİS kanaması, mezenter iskemi, intestinal obstrüksiyonlar ve pankreatittir. Postoperatif ülsere bağlı meydana gelen GİS kanamaları KPB'ın direk etkisinden ziyade stres ve eşlik eden etkenlere bağlı oluşmaktadır.

KPB sonrası bağışıklık sisteminde zayıflık oluşur, bu lenfosit sayısının azalması, T hücre fonksiyonlarında azalma ve makrofajların antijen sunma yeteneğinde azalmaya bağlanmıştır. Bu yüzden enfeksiyon ve postoperatif sepsis açısından dikkatli olunmalı ve gereken önlemler alınmalıdır.

Ayrıca KPB sonrası kanamaya meyil artar. Hipotermiye bağlı komplikasyonlar gelişebilir. Enflamatuar yanıtın artmasına ve diğer birçok nedene bağlı çeşitli komplikasyonlar gelişebilir.

KPB sonrası mortalitenin başlıca nedeninin miyokard hasarı olduğundan bahsetmiştik, buna bağlı meydana gelen düşük ejeksiyon fraksiyonu, düşük kardiyak debi ve kardiyak iskemi başlıca postoperatif ritim bozukluklarına sebep olmaktadır. Bunlardan ventriküler aritmilerden en çok görüleni ventriküler erken vurular (VEV), genellikle yaşamı tehdit etmeyen adrenerjik aktivitenin arttığı yada metabolik ve elektrolit bozukluklarına bağlı gelişebilir. Ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyon ise hayatı tehdit eden ciddi ritim bozukluğudur. Altta yatan elektrolit bozuklukları, koroner iskemi veya perioperatif infarktüse bağlı meydana gelir. Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun (EF) %40'ın altında olması da ventriküler aritmileri kolaylaştıran faktörlerdendir.

KPB sonrası en sık gelişen ritim bozukluğu AF' dir.

3.3.POSTOPERATİF AF GELİŞİMİ VE NEDEN OLAN RİSK FAKTÖRLERİ

KPB sonrası en sık gelişen ritim bozukluğu AF; kardiyak cerrahi sonrası %20-50 arasında değişen oranlarda görülür. Postoperatif AF genellikle ölümcül değildir. Ancak ciddi bir morbidite artışına (kalp yetmezliği, inme gibi) neden olur ayrıca yoğun bakım ünitesinde yatış süresinin uzamasına, tıbbi harcamaların artışına ve mortalite artışına neden olmaktadır. En çok gelişme riski kapak operasyonu (en çok mitral kapak) sonrası görülmekle birlikte bütün açık kalp operasyonları sonrası risk artmıştır. Genellikle ilk 5 gün içinde gelişmesine rağmen en çok 2. ve 3. günler görülmektedir. Perioperatif risk faktörleri arasında başlıca yaş, AF öyküsü, KOAH, valvüler hastalık, atriyal genişleme, kalp yetmezliği, beta-blokör ve ACE inhibitörlerinin kesilmesi bulunmaktadır (19).

AF etyolojisinde çok sayıda mikroreentran devreler rol oynamaktadır. AF'nin başlatıcı mekanizmaları ve devam ettirici mekanizmaları arasında farklılıklar olduğu giderek daha çok kabul görmektedir. Cerrahiye giden hastalarda olan hipertansiyon, kalp yetmezliği, kapak hastalığı, kardiyomiyopati, koroner arter hastalığı gibi hastalıklar AF gelişmesi için zemin hazırlarken, cerrahi sırasında ve sonrasında artan adrenerjik tonüs artışı, enflamasyon, perikardiyotomi, atriyum ve ventrikülün iskemisi, elektrolit anormallikleri AF'nin tetiklenmesi ve devam etmesini kolaylaştırmaktadır. Cerrahi sırasında ve sonrasında inotropik ajanlara maruz kalınması da kolaylaştırıcı etmenler arasındadır (20).

Tablo 4. Kalp cerrahisi sonrası ortaya çıkan atriyal fibrilasyon için risk faktörleri

	Güçlü risk faktörleri	Diğer risk faktörleri
Cerrahi Öncesinde	İlerlemiş yaş (52) Erkek cinsiyet Önceden AF(19, 52, 60) KOA KKY Romatizmal kalp hastalığı Zemin kalp hızı>100/dk Düşük EF Beta bloker almama Artmış P dalga süresi Önceden digoksin kullanımı(19)	HT Önceden kalp cerrahisi Angina Kronik böbrek yetmezliği İnme öyküsü Sigara öyküsü Periferik damar hastalığı Artmış P dispersiyonu Proksimal aort ateroskleroza İnotrop kullanımı
Cerrahi Sırasında	Pulmoner venöz “venting” Bikaval venöz kanülasyon Uzamış aort “cross-clamp” zamanı Kapak cerrahisi Hiperadrenerjik durum	Miyokard iskemisi/infarktüsü Kanülasyon travması Hipomagnezemi(62) Hipokalemi(63) Uzayan KPB zamanı Kardiyopleji tipi LV apikal “venting”
Cerrahi Sonrasında	Beta blokerin kesilmesi(61) Vazopresör ajan kullanımı Artmış P dispersiyonu	Miyokard iskemisi/infarktüsü Enflamasyon/perikardit Pnömoni İnotrop ajan kullanımı Uzamış ventilasyon “Pacing” gereksinimi

‘Koroner Arter Bypass Cerrahisi sonrası atriyal fibrilasyon gelişimine neden olan risk faktörleri’. Dr. Oya Karakaş, Uzmanlık Tezi, 2008.

4. SİRTUİN PROTEİNİ VE MİKRO RNA'LARIN İŞLEVLERİ

4.1. Sirtuin Gen Ailesi:

İlk mayada keşfedilen sirtuin gen ailesinin, protein deasetilasyonu ve adenozin difosfat (ADP) - ribozil transferaz faaliyeti gösteren proteinler olduğu saptanmıştır (21). İlk olarak *saccharomyces cerevisiae* mayasında tanımlanmış, daha sonra *drasophila melanogaster* ve *caenorhabditis mayalarında* da gösterilmiştir (22). 1999 da Roy Frye tarafından SİR2 (Silent Mating Type Information Regulation -2) hayat üyesi olarak sirtuin gen ailesi tanımlanmış (23). Memelilerde 7 adet SIRT 1-7 tanımlanmıştır. Nikotinamid adenin nükleotid (NAD) + bağımlı katalitik alanını saran N-terminal ve C-terminal zincirlerinin boyları sirtuinler arasında farklılık göstermektedir. SIRT1, SIRT6, SIRT7 ağırlıklı olarak çekirdekte, SIRT2 sitoplazmik, SIRT3, SIRT4, SIRT5 daha çok mitokondride bulunmaktadır. SIRT1 en dayanıklı deasetilaz aktivitesi gösterirken, SIRT5 zayıf deasetilaz etkisi göstermekte, SIRT2,SIRT3, SIRT4, SIRT6 ise mono - ADP ribozil transferaz etkisiyle deasetilaz etkisi göstermektedir. (24,25,26)

SIRT ailesinin etki mekanizması başlıca gen ifadesinin düzenlenmesi ve kromatin şekillendirilmesidir. Histonların deasetilasyonu yoluyla etki ederek kromatin yoğunlaşması (heterokromatin), böylelikle gen ifadesinin baskılanması ve kromatin şekillenmesini sağlar (27). Üç histon deasetilaz sınıfı mevcuttur, sirtuin gen ailesi sınıf III histon deasetilazdır (27). Memeli sirtuinleri insan metabolizması, kanser, yaşlanma, hücre yaşamı da dahil olmak üzere birçok hücresel işlevi etkilediği gösterilmiştir.

4.2. SIRT 1:

Yedi memeli sirtuininden, hücre yaşamı ve apoptozisin de dahil olduğu birçok ara ürünü ile en yaygın bilinen ve çalışılan SIRT1 proteindir. SIRT1 geni 10. kromozomun kısa kolunda lokalizedir (10p37.5) ve 9 hekson, 8 intron içermektedir. Toplam 33721 bazdan meydana gelen bu genin kodladığı protein sirtuin proteini olup sınıf 3 histon deasetilaz sınıfındadır (PUBMED, gene). Bu protein epigenetik olarak gen susturulması, DNA onarımı, rekombinasyon, yaşlanmanın regülasyonu, transkripsiyon faktörlerinin uyarılması, hücre hemostazı ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde görev alır (28).

SIRT1'in başlıca etkisi histon deasetilaz olmasına rağmen histon olmayan birçok hedefi vardır. TAFI68'i (TATA kutu bağlayıcı protein bağlantılı faktör I 68) deasetilize edip, RNA polimeraz I aracılığı ile transkripsiyonun baskılanmasına aracılık eder, ayrıca SIRT1 p300'ü deasetilize ederek inhibe eder. Böylece p300, sınırlayıcı transkripsiyon faktörünü engellenerek hücre metabolizması ve farklılaşmasında görev almış olur (29,30).

SIRT1, hücre proliferasyonu ve apoptozunun düzenlemesindeki mekanizma p53 ve Ku70 üzerinden gerçekleşir. SIRT1; p53'ün lizin aminoasitinden deasetilize ederek transkripsiyonel etkinliği azaltır, oksidatif strese ve DNA hasarına karşı programlı hücre ölümünü baskılar (31,32). DNA onarım faktörü olan Ku70'i deasetilize ederek apoptozis üzerine etki eder (33). Böylece SIRT1 apoptoza neden olan stresi düşürerek ve DNA onarımını düzenleyerek vucutta birçok mekanizmayı etkilemektedir (34). SIRT1'in yaşamı uzatıcı rolü olduğuna dair birçok çalışma yapılmıştır. Farelerin kalbinde artan SIRT1 aktivitesi sonucunda kalbin yaşlanması gecikmiş, apoptozis ve oksidatif stresin engellendiği gösterilmiştir (35).

SIRT1 insan vücudunda yağ dokuda adipogenez ve lipogenez, pankreasta Beta hücrelerinin korunumu ve insülin sekresyonu, karaciğerde yağ metabolizması, glukoneogenez ve lipid profilleri, akciğerde inflamasyon, iskelet kasında yağ asiti düzenlenmesi, beyinde nörodejenerasyon ve kalpte inflamasyon ve kardiyoprotektin ile ilişkili bir proteindir. Ayrıca, yapılan çalışmalar SIRT1 proteininin, endotelial nitrik oksid sentezinin (eNOS) artmasına ve dolayısıyla endotelial yaşlanmanın da azalmasına neden olduğunu ortaya konmuştur.

SIRT1'i kalori kısıtlaması, egzersiz (36), kırmızı üzüm (37), resveratrol (38), kuersetin ve proantosiyanidin (39) gibi bitkisel içerikler aktive etmektedir. Sigara, soğuğa maruz kalma (40), melatonin, nikotinamid (41) ve oksidatif stres gibi faktörler proteinin inhibe olmasına neden olmaktadır. Yoğun bir oksidatif stres yükü oluşturan akut koroner sendromlarda SIRT1 mRNA oranlarının düştüğü gözlenmiştir (42). Bunun dışında SIRT1 protein ekspresyonu elektif koroner bypass cerrahisi uygulanan hastaların koroner arterlerinden alınan endotel hücrelerinde düşük oranda saptanmıştır (43). Bu sonuçlar SIRT1 protein miktarının koroner arter hastalığının ilerlemesinde rol oynadığını göstermektedir (44).

4.3. Mikro RNA'lar ve görevleri

Protein ekspresyonunda mikro RNA'ların (miRNA) önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Mikro RNA'lar küçük, protein kodlamayan ve gen ifadesinin negatif düzenleyicisi olan RNA parçacıklarıdır. Kodlamayan RNA'lar gelişim, farklılaşma, hücre çoğalması ve apoptoz gibi önemli biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol alır. Son yıllarda yoğunlaşan çalışmalarda, başta kanser olmak üzere pek çok hastalığın etyopatogenezinde miRNA'larla ilgili işlev bozukluklarının yer aldığı gösterilmiştir. Bazı kanser türleriyle ilişkilendirilen miRNA'ların kanserli dokudaki ifade düzeylerinin ölçülmesiyle kanser prognozu ile ilgili bilgi sağlanabilmekte ve miRNA'lar bu şekilde tümör belirteci olarak kullanılabilir (45). Kardiyak patofizyolojide de miRNA'ların önemli rol oynadığını biliyoruz. En son bir çalışmada miR-25'in kalp kasında kalsiyum iyonu aktivitesini düzenleyen SERCA2a geninin blokajından sorumlu olduğu ve bu yolla kalp yetmezliğine sebebiyet verdiği ortaya çıkarıldı (46). MiR150 overekspresyonunun ise farelerde kalp krizine bağlı hasarı azalttığı kanıtlanmıştır (47).

Kardiyak SIRT1 proteininin miRNA düzeyindeki regülasyonunda miRNA'ların önemi iki *in vitro* çalışmayla gösterilmiştir: kardiyomiositlerde palmitat, miRNA 195 aracılığı ile SIRT1 protein ekspresyonunu inhibe etmiş ve apoptoza yol açmıştır (47). Başka bir kardiyak miRNA olan miRNA 199a, SIRT1'in ve aynı şekilde kardiyoprotektif olan HIF1-alpha proteinlerinin ekspresyonunu inhibe etmiştir (48). Bu iki miRNA'nın koroner arter hastalığı ile bağlantısını gösteren *in vitro* yada *in vivo* bir çalışma henüz yapılmamıştır.

Yakın bir zamanda yapılan bir çalışmada AF'li olan romatizmal kapak hastalarının sağ atriyal appendiks dokusunda SIRT1 protein düzeyleri sinüs ritminde olan hastalara göre daha yüksek saptanmıştır. Aynı zamanda AF'li hastalarda, oksidatif stres marker düzeyleri sinüs ritmi olan hastalara göre daha yüksek saptanmıştır. Kardiyoprotektif olan SIRT1 proteininin reaktif olarak AF'li hastalarda yükseldiği ve oksidatif stresi kompanse etmek için ekspresyonunun arttığı düşünülmektedir (49).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Hastalar

Bu prospektif klinik çalışmaya Aralık 2014 ile Temmuz 2015 tarihleri arasında BezmiAlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi (BAVÜTFH) Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalına başvuran, çalışmaya dahil edilme/dışlanma kriterlerini karşılayan, çalışmayı kabul ederek aydınlatılmış onamı alınan, 35-80 yaşları arasında erişkin koroner arter bypass graft cerrahisi geçirecek ve sinüs ritminde olan 63 hasta dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri: Koroner anjiyografi yapıp, koroner arter hastalığı (KAH) tanısı konulan, CABG kararı alınan ve sinüs ritminde olan 35-80 yaş arasındaki hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Dışlanma kriterleri: AF veya AF hikayesi olan, onkolojik ve hematolojik hastalık öyküsü olan, immün supresif ilaç kullanan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmaya alınan tüm hastaların yaşı, cinsiyeti, kilosu, boyu, vücut kitle indeksi (BMI; kg/m²), New York kalp cemiyetinin fonksiyonel kapasite sınıflaması (NYHA), sigara kullanımı, ailede KAH öyküsü, hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi, miyokard infarktüsü, inme, kronik böbrek yetmezliği, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), karotis ve periferik arter hastalığı öyküsü ve hastanın preoperatif kullandığı ilaçlar kayıt altına alındı.

5.2. Transtorasik Ekokardiyografi

Transtorasik ekokardiyografik inceleme, hastaneye yatışından sonra Kardiyoloji polikliniğinde Philips HD11 Ultrasound System (Philips Medical Systems, Advanced Technology Laboratories, Bothell, Washington, ABD) ve Philips Envisor C HD (Philips Medical Systems, Andover, MA, ABD) model ekokardiyografi cihazları ve 3.5 mHZ transduser kullanılarak transtorasik yaklaşımla EKG eşliğinde sol lateral dekübitus pozisyonunda yapıldı. Tüm ölçüler alınırken güncel kılavuzların tavsiye ettiği kriterler göz önünde bulunduruldu (50). Standart parasternal uzun eksen görüntülerden sol atriyum, aort çapı, duvar kalınlıkları, sol ventrikül sistol ve diyastol sonu çapları ölçüldü. Apikal dört ve iki

boşluk görüntülerden sol ventrikül sistol ve diyastol sonu volümleri, ejeksiyon fraksiyonu (SVEF) modifiye Simpson metodu ile ölçüldü. Renkli akım görüntüleme yöntemi kullanılarak kapak yetmezlikleri ve devamlı akım (CW) Doppler kullanılarak triküspid yetmezliği üzerinden tahmini sistolik pulmoner arter basıncı bulundu. Standart ekokardiyografik değerlendirme sonrası modifiye Simpson metodu kullanılarak mitral kapak açılmasından hemen önce maksimal ve minimal sol atriyal hacim ölçüldü. Atriyal volümler tüm hastalarda vücut yüzey alanına (VYA) göre düzeltildi ve sol atriyal hacim indeksi belirlendi.

5.3. Laboratuvar Tetkikleri

Hastaların kalp damar cerrahi servisine yatışında venöz kanları alınarak BAVÜTFH Biyokimya laboratuvarında Cobas C 6000 ve 8000 cihazlarıyla (Roche Diagnostics Ltd. Rotterez, İsviçre) serum glukoz, üre, kreatinin, sodyum (Na⁺), potasyum(K⁺), tiroid stimulan hormon (TSH), kolesterol seviyeleri; Hematoloji laboratuvarında, Sysmex XT 1800i Automated Hematology Analyzer (Sysmex Corporation, Chuo-ku, Kobe, Japonya) cihazı ile plazma hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), trombosit (Plt), beyaz küre (WBC) değerleri ölçüldü.

5.4. Koroner arter bypass graft cerrahisi

Hastalar ameliyathaneye alındıktan sonra EKG, pulse oksimetre ile mönitörize edildi. Periferik arteriyal yoldan tansiyon monitörizasyonu sağlandı, santral venöz kateter (SVP) ve idrar sonrası takıldı. Hasta anestezi tarafından entübasyonu yapıldıktan sonra ventilasyon cihazına bağlandı.

Sternotomi sonrası aort ve sağ atrium kanülasyonunu takiben KPB' a girildi. KPB' da pompa ve membran oksijenitör kullanıldı. Heparinizasyon yapıldı. Pompa ısısı ayarlandı.

Operasyon sırasında; left internal mammarial arter (LİMA) kullanımı, toplam greft kullanımı ve sağ koroner arter (RCA) kullanımı, pompa ısısı, operasyon sırasında intraaortik balon pompası (İABP) ve inotrop ajan kullanımı, kardiyopulmoner bypas süresi, 'cros clamp' süresi kaydedildi. Operasyon sonrası hasta entübe halde kalp damar cerrahisi yoğun bakım ünitesine transfer edildi.

5.5. postoperatif yoğun bakım ünitesi ve servis takibi

Hasta operasyon sonrası entübe halde cerrahi yoğun bakım ünitesine alınarak mekanik ventilatöre bağlandı. Hastaya EKG elektrodları takılarak sürekli EKG monitörizasyonu yapıldı. Pulse oksimetre ile saturasyon takibi, SVP ile sıvı balansı takibi ve arter monitörizasyonu ile tansiyon takipleri yapıldı. Hastanın takibinde kan gazı ve klinik takibi yapılarak extübasyon koşulları sağlandıktan sonra, entübasyon sonlandırıldı.

Postoperatif yoğun bakım ünitesi takibinde; inotropik ajan kullanımı, İABP kullanımı, entübasyon süresi, yoğun bakımda kalış süresi ve hastanede kalış süresi kayıt edildi. Ayrıca postoperatif entübasyon, inme, mediastenit ve her türlü enfeksiyon gelişimi kaydedildi.

Hastalar operasyon sonrası yoğun bakım ünitesine alınır alınmaz 6 derivasyonlu Medko medikal 24 saatlik ritim holter cihazına bağlandı. Hastalara 5 gün boyunca aralıksız holter kaydı yapıldı. Holter sonuçları kardiyoloji polikliniğinin holter bölümünde okundu. Postoperatif AF gelişimi değerlendirilerek, geliştiği gün ve süresi kayıt altına alındı.

Klinik takibine göre yoğun bakım endikasyonu kalkan hastalar kalp damar cerrahisi servisine transfer edildi. Hastalara 6 saat ara ile nabız ve arteriyal tansiyon takibi yapıldı. Holter kayıtları taburculuk tarihine kadar aralıksız alındı.

5.6. Doku parçalarının alınması ve saklanması

Kardiyopulmoner bypass sırasında venöz dönüş için rutin sağ atrium apendiksi yoluyla kanülasyon yapılmaktadır. Apendikse kese ağzı dikişi konulduktan sonra apendiksin ucu rezeke edilip, venöz kanül konuldu. Sağ atriyum apendiksinden rezeke edilen doku örneği alınıp, cryo tüplere konulduktan sonra kuru buz içerisinde transfer edilerek – 80 °C dolaplarda saklandı.

5.7. RNA izolasyonu, Reverse Transkriptase ve Real Time PCR

Çalışma yapılacağı zaman -80 °C'den çıkarılan dokular, kuru buz içine alındı. Bu projede Real Time PCR (qRT-PCR) ve Western Blot teknikleri çalışılması planlandığından dokular hassas terazide tartılarak kuru buz üzerinde iki parçaya bölündü. Real Time PCR

çalışması yapılacak dokular RINO tüplerine aktarıldı ve bu işlemi takiben Real Time PCR işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 5. RNA izolasyonu, Reverse Transkriptase ve Real Time PCR için kullanılan malzemeler ve cihazlar

SIRA NO	MALZEME/CIHAZ ADI	MARKA	KATALOG NO
1	mirVana miRNA Isolation Kit with Phenol	Life Technologies	AM1560
2	TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit	Life Technologies	4366596
3	TaqMan MicroRNA Assay (ID 002107)	Life Technologies	4427975
4	TaqMan MicroRNA Assay (ID 002304)	Life Technologies	4427975
5	TaqMan MicroRNA Assay (ID 001095)	Life Technologies	4427975
6	TaqMan Universal Master Mix II with UNG	Life Technologies	4440044
7	MicroAmp Optical Adhesive Film	Life Technologies	4360954
8	MicroAmp Optical 96-well Reaction Plate	Applied Biosystems	N8010560
9	Acid Phenol:Chloroform	Life Technologies	AM9720
10	RNase Zap	Life Technologies	AM9782
11	Absolute Ethanol	Sigma	32221
12	Stainless Steel Balls	Next Advance	SSB16
13	Steril Mikrosantrifüj Tüpü (RINO tüpleri)	Next Advance	1-800-738-1681
14	1,5 ml'lik Mikrosantrifüj Tüpü	Santacruz	sc-200271
15	0,5 ml'lik Mikrosantrifüj Tüpü	Santacruz	sc-200269
16	0,2 ml'lik PCR tüpü	Santacruz	sc-205898-1
17	15 ml'lik Santrifüj Tüpü	Isolab	S.078.02.002.050
18	50 ml'lik Santrifüj Tüpü	Isolab	S.078.02.004.050
19	Örnek Saklama Kutusu	Santacruz	sc-200200-1
20	Pipet	Gilson	DFL10ST, DF30ST, DF100ST, DF200ST,

			DF1000ST
21	Mikrosantrifüj Tüp Rack	Santacruz	sc-200207
22	15 ve 50 ml'lik Santrifüj Tüp Rack	Santacruz	sc-201744
23	0,2 ml'lik PCR Tüp Rack	Starlab	E2396-5240
24	0,1-10 µl Pipet Ucu	Gilson	F171101
25	2-30 µL Pipet Ucu	Gilson	F171303
26	10-100 µl Pipet Ucu	Gilson	F171403
27	2-200 µl Pipet Ucu	Gilson	F171301
28	100-1000 µl Pipet Ucu	Gilson	F171703
29	Soğutmalı Santrifüj Cihazı	Beckman Coulter	22R (367187)
30	Kuru Blok Isıtıcı	Techne	FDB02DD
31	Ultra saf su cihazı	Millipore	Direct-Q 8UV
32	PCR Cihazı	Applied Biosystems, Veriti	9902
33	Real Time PCR Cihazı	Applied Biosystems	7500
34	Nanospektrofotometre	Implen	P330
35	Vorteks	Stuart	SA8
36	Hassas Terazı	Ohaus	EX124
37	Spin	Cleaver Scientific	C1301P-230V
38	-20°C Dondurucu	Siemens	
39	+4°C Buzdolabı	Siemens	
40	-80°C Derin Dondurucu	Thermo Scientific	
41	Bullet Blender Storm 24	Next Advance	BBY24M-CE
42	Kuru Buz Cihazı	Thermosafe	

5.7.1. Real Time PCR protokolü

Dokular (yaklaşık 50 mg) homojenize edildi ve RNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen RNA örneklerinin kantitatif ölçümleri yapıldıktan sonra tüm RNA örneklerinin konsantrasyonları 2 ng/µl olacak şekilde eşitlendi. MiRNA Reverse Transkriptaz Kit ile çevrimi yapıldı. Bu çalışmada endojen kontrol olarak RNU43; referans örnek (kalibratör)

olarak ise koroner arter hastalığı olmayan selektif mitral kapak replasmanı operasyonu geçiren bir hastanın örneği kullanıldı. Real Time PCR yöntemiyle mikroRNA 195 ve 199a'nın doku düzeyinde ekspresyonu analiz edildi.

5.7.2. RNA İzolasyonu:

1. Çalışma başlamadan önce çalışma tezgahı dahil çalışmada kullanılacak tüm malzemeler RNase Zap ile temizlendi.
2. Soğutmalı santrifüj açıldı ve sıcaklığı 10 °C'ye ayarlandı.
3. Kuru blok ısıtıcının sıcaklığı 95 °C'ye ayarlandı.
4. Tüm çalışmalar buz üzerinde ve mirVana miRNA Isolation Kit kullanılarak yapıldı.
5. Kiti kullanmaya başlamadan önce 1,5 ml'lik ependorf rackına steril 1,5 ml'lik ependorf tüpleri yerleştirildi ve soğutuldu.
6. miRNA Wash Solution 1'e 21 ml ve Wash Solution 2/3'e 40 ml Absolute Ethanol eklendi.
7. İçerisinde dokuların bulunduğu RINO tüpleri de önceden soğutulmuş ependorf rackına yerleştirildi.
8. RINO tüplerine çalışılacak örnekle aynı miktarda (1:1 oranda) bead eklendi.
9. Her bir dokunun ağırlığının 10 katı kadar Lysis Binding Buffer eklendi.
10. RINO tüplerinin kapakları sıkıca kapatıldı ve Bullet Blender Storm cihazına dengeli bir şekilde yerleştirilerek homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi (hız:6 ve süre: 5 dakika). Homojenizasyonu tam olarak yapılamayan dokular, ikinci kez homojenize edildi (hız: 8 ve süre 3 dakika).
11. RINO tüplerine, homojenatın 1/10 kadar miRNA Homogenate Additive eklendi ve tüpler 3 kere 5-10 saniye aralıklarla vortekslenerek 10 dakika inkübe edildi.
12. Her bir tüpteki lizat, 1,5 ml'lik önceden soğutulmuş ependorf tüplerine aktarıldı.
13. Tüplerin üzerine her bir lizat miktarı kadar (1:1 oranda) Acid Phenol eklendi.
14. Tüpler 45 saniye vortekslendi ve bu işlemi takiben 14.000 rcf'de 5 dakika santrifüj edildi.
15. Her bir tüpün üst fazı önceden soğutulmuş 1,5 ml'lik ependorf tüpüne aktarıldı. Bu aşamada örnek başına 100 µl olacak şekilde Elution Buffer hazırlanarak kuru blok ısıtıcıya yerleştirildi.

16. Her bir üst fazın üzerine üst fazın 1,25 katı kadar Absolute Ethanol eklendi ve tüpler alt üst edilerek (yaklaşık 10 kez) içindeki sıvıların karışması sağlandı.
17. Her bir tüpteki solüsyon, filtreli kolon tüplerine aktarıldı ve tüpler 1 dakika buzun üzerinde bekletildikten sonra 10.000 rcf'de 20 saniye santrifüj edildi.
18. Toplama tüplerinin içerisindeki sıvı boşaltıldı ve filtreli kolonlar tekrar toplama tüplerine yerleştirildi.
19. Tüplerde kalan solüsyon olması durumunda ikinci kez aynı işlemler (16. ve 17. stepler) tekrarlandı.
20. Her bir tüpe miRNA Wash Solution 1'den 700 µl eklendi ve tüpler 10.000 rcf'de 15 saniye santrifüj edildi.
21. Toplama tüplerinin içerisindeki sıvı boşaltıldı ve filtreli kolonlar tekrar toplama tüplerine yerleştirildi.
22. Her bir tüpe Wash Solution 2/3'den 500 µl eklendi ve tüpler 10.000 rcf'de 15 saniye santrifüj edildi.
23. Toplama tüplerinin içerisindeki sıvı boşaltıldı ve filtreli kolonlar tekrar toplama tüplerine yerleştirildi.
24. Her bir tüpe Wash Solution 2/3'den 500 µl eklendi ve tüpler 10.000 rcf'de 1 dakika santrifüj edildi.
25. Toplama tüpleri atıldı ve filtreli kolonlar temiz toplama tüplerine yerleştirildi.
26. Her bir kolonun üzerine 100 µl önceden ısıtılan Elution Buffer eklendi ve oda ısısında 3 dakika inkübe edildi.
27. Tüpler 14.000 rcf'de 35 saniye santrifüj edildi.
28. Tüpler buza alındı ve filtreli kolonlar atıldı. Böylece RNA izolasyonu işlemi tamamlandı ve elde edilen RNA örnekleri toplama tüplerinde muhafaza edildi.

5.7.3. MiRNA Konsantrasyonlarının Ölçülmesi ve Hesaplanması:

İzole edilen RNA örneklerinin konsantrasyonları Nanospektrofotometre (Implen) cihazı kullanılarak ölçüldü. Tüm RNA örneklerinin konsantrasyonları 2 ng/µl olacak şekilde hesaplama yapılarak eşitlendi. Geriye kalan RNA örnekleri alikotlanarak -80 °C'ye yerleştirildi.

5.7.4. MiRNA'nın Reverse Transkriptaz İle Çevrimi:

1. PCR cihazı (Veriti) açıldı ve kullanıma hazır hale getirildi.
2. Tüm çalışmalar buz üzerinde ve Taqman MicroRNA Reverse Transcription Kit kullanılarak gerçekleştirildi.
3. Kiti kullanmaya başlamadan önce steril 1,5 ml'lik ependorf tüpleri (karışım solüsyonunu hazırlamak için) ve 0,2 ml'lik PCR tüpleri (çevrim işlemi için) buz üzerinde soğutuldu.
4. Kite bulunan malzemeler kullanılarak karışım solüsyonları hazırlandı (Tablo 5). Hazırlanan solüsyonlar 1-3 saniye vortekslendi ve spin işlemi yapıldı.
 - a. Her bir bölgeye spesifik primerler kullanıldı.
5. Karışım solüsyonları her bir tüpe 10 µl gelecek şekilde konulduktan sonra her bir tüpe 5 µl önceden konsantrasyonu 2 ng/µl'ye eşitlenen RNA örnekleri eklendi. Böylece her bir tüpte total hacim 15 µl oldu.
6. PCR tüpleri 1-3 saniye vortekslendi ve spin işlemi yapıldı.
7. Tüpler önceden protokolü sisteme girilmiş ve kaydedilmiş PCR cihazına yerleştirildi ve cihaz çalıştırıldı (Tablo 6).
8. İnkübasyon işlemi bittikten sonra miRNA Reverse Transkriptaz Ürünleri -20 °C'ye yerleştirildi.

Tablo 6. MiRNA'nın reverse transkriptaz ile çevrimi için gerekli malzemeler

Malzemeler	Her bir tüp için birim miktar (µl)
ddH ₂ O	4,16
10X Reverse Transcription Buffer	1,5
100 mM dNTPs (with dTTP)	0,15
RNase Inhibitor (20 U/µl)	0,19
Multiscribe Reverse Transcriptionase (50 U/µl)	1,00
5X Reverse Transcription Primer	3,00
RNA	5

Tablo 7. MiRNA'nın Reverse Transkriptaz İle Çevrimi İçin İnkübasyon Koşulları

İnkübasyon Koşulları	16°C.....30'
	42°C.....30'
	85 °C5'
	4 °C.....∞

5.7.5. Real Time PCR:



1. Real Time PCR cihazı açıldı ve kullanıma hazır hale getirildi.
2. Tüm çalışmalar buz üzerinde ve Master Mix (with UNG) ile her bir bölgeye spesifik Assayler kullanılarak gerçekleştirildi.
3. Çalışmaya başlamadan önce steril 1,5 ml'lik ependorf tüpleri (karışım solüsyonunu hazırlamak için) ve plate buz üzerinde soğutuldu.
4. Ultra saf su, Master Mix ve Assayler kullanılarak karışım solüsyonları hazırlandı (Tablo 1). Hazırlanan solüsyonlar 1-3 saniye vortekslendi ve spin işlemi yapıldı.
5. Karışım solüsyonları her bir kuyucuğa 18,67 µl gelecek şekilde konulduktan sonra her bir kuyucuğa 1,33 µl miRNA reverse transkriptaz ürünleri eklendi. Böylece her bir kuyucuktaki total hacim 20 µl oldu. Örnekler double olarak ve önceden düzenlenmiş plate dizaynına göre yüklendi.
6. Yükleme işlemi bittikten sonra plate, bir kapatıcı ile (plate cover) uygun şekilde (bir applicator yardımı ile) kapatıldı ve 5-15 saniye spin işlemi yapıldı.
7. Plate, protokolü önceden sisteme girilmiş ve kaydedilmiş Real Time PCR cihazına yerleştirildi ve cihaz çalıştırıldı (Tablo 6).

8. İnkübasyon işlemi bittikten sonra sonuçlar excel ve pdf olarak kaydedilerek analizi yapıldı.

Tablo 8. Real Time PCR İçin Gerekli Malzemeler

Malzemeler	Her bir kuyucuk için birim miktar (µl)
ddH ₂ O	7,67
Taqman Universal Master Mix II with UNG	10
Taqman miRNA Assay (20X)	1
miRNA Reverse Transkriptaz Ürünü	1,33

Tablo 9. Real Time PCR İçin İnkübasyon Koşulları

İnkübasyon Koşulları	
	50°C.....2' 95°C.....10' 95°C15'  60°C.....1'  40 siklüs

5.8 SIRT1 Protein analizi ve Western Blot

Kardiyak dokular homojenize edildikten sonra, her iki gruptan 8 hastanın dokusu pooling yapılarak, Bradford metodu ile dokulardaki protein konsantrasyonları saptanmıştır. Her gruptan 40 µg protein içeren örnekler SDS çözültü ile karıştırılıp Western Blot analizi için SDS-PAGE jeline yüklendi. Elektroforetik yükleme aşağıda belirtildiği gibi yapıldı:

1. Örnek yüklendikten hemen sonra sistem kapatıldı ve elektrotlar bağlandı.
2. Örnekler ayırıcı jele girinceye kadar düşük akımda 100 Volt gerilim uygulandı.

3. Örnek ayırıcı jele geçtikten sonra ise gerilim 150-200 Volt'a çıkarıldı.
4. İlk denemelerde voltaj değişimleri izlendi ve not alındı.
5. Brom fenol mavisi jelin alt ucuna varınca akım kesildi ve jel tanktan uzaklaştırıldı.

Semi-Dry Protein Transferi için aşağıda belirtilen adımlar izlendi:

1. Transferde kullanılacak membran metanol ile doyuruldu.
2. 3MM filtre kağıtları transfer tamponu ile ıslatıldı.
3. 2 adet 3MM filtre kağıdı en alta yerleştirilerek, üzerine membran koyuldu.
4. Membran üzerine, jel yerleştirildikten sonra, diğer iki 3MM filtre kağıtları koyuldu.
5. Bu aşamalar sırasında arada hava kabarcığı kalmamasına dikkat edildi.
6. Kapaklar kapatıldıktan sonra 15 Volt'a 50 dakika süreyle transfer gerçekleştirildi.

Transfer yapıldıktan sonra bloklama işlemine geçildi:

1. Transfer sonrası proteinleri bağlanmış olan membran 1.5 saat %5'lik süt tozu ve %0.1'lik Tween 20 içeren PBS çözeltisi (bloklama çözeltisi) içinde çalkalamaya bırakıldı.
2. Bu süre sonunda membran 3 kez %0.1'lik Tween 20 içeren PBS çözeltisi ile 5 dakika süre ile yıkandı.

Birincil antikor ile inkübasyon yapıldı.

Kullanılan antikorlar: 1. SIRT1- (rabbit polyclonal antibody, Millipore). 2. GAPDH- primary antibodies (rabbit monoclonal antibody, Cell Signaling).

1. Membran bloklama çözeltisi içinde dilüe edilmiş birincil antikor ile inkübe edildi. Inkübasyon süresi her antikor için ayrı olarak belirlendi.
2. Bu süre sonunda membran 3 kez %0.1'lik Tween 20 içeren PBS çözeltisi ile 5 dakika süre ile yıkandı.

İ. İkincil antikor ile inkübasyon

1. Membran bloklama çözeltisi içinde dilüe edilmiş horseradish peroksidaz bağlı ikincil antikor ile 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi.
2. Bu süre sonunda membran 3 kez %0.1'lik Tween 20 içeren PBS çözeltisi ile 5 dakika süre ile yıkandı.

Son olarak ECL ile görüntüleme yapıldı. İkincil antikora bağlı bulunan horseradish peroksidaz enzimi, ECL çözeltisi içinde bulunan Lumigen PS-3 substratını katalizledi. Bu reaksiyon sonucu açığa çıkan luminol ışığa yol açarak Western blota özel filmler ile saptandı.

5.9. İstatistiksel Analiz

İstatiksel analizler standard software package (SPSS 18 for Windows; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapılmıştır. Hastaların klinik ve demografik özellikleri, mikro RNA ve SIRT 1 protein düzeyleri arasındaki fark Student's t-test ile analiz edilmiştir. Pearson's korelasyon analizi SIRT1 protein ekspresyonu ve diğer parametreler arasındaki ilişkiyi göstermek için yapılmıştır.

6. BULGULAR

Çalışmamıza Aralık 2014 ile Temmuz 2015 tarihleri arasında koroner arter bypass cerrahisi geçirecek sinüs ritminde olan 63 hasta (%79.3 erkek; yaş aralığı 35-80) dahil edilmiştir. Postoperatif AF (POAF) gelişen 20 (%31.7) hasta, POAF gelişmeyen 43 (%68.7) tespit edilmiştir.

Bu iki hasta grubunun demografik özellikleri Tablo 10'da özetlenmiştir.

Tablo 10: İki hasta grubunun demografik özellikleri

	POAF (N=43)	Non-POAF (N=20)	p
Yaş	60.3 ± 9.1	59.4 ± 9.1	n.s
Erkek cinsiyet oranı (%)	15 (75)	35 (81.4)	n.s
Sigara öyküsü (%)	15 (75)	33 (76.8)	n.s
Ailede KAH öyküsü (%)	16 (80)	37 (86)	n.s
Hipertansiyon (%)	10 (50)	21 (48.8)	n.s
Diyabetes mellitus (%)	12 (60)	24 (55.8)	n.s
Dislipidemi (%)	5 (25)	21 (48.8)	n.s
BMI (kg/m ²)	28.96 ± 4.9	29.28 ± 4.9	n.s
MI öyküsü (%)	4 (20)	18 (41.9)	n.s
İnme öyküsü (%)	0 (0)	4 (9.3)	n.s
Karotis arter hastalığı (%)	2 (10)	1 (2.3)	n.s
Periferik arter hastalığı (%)	0 (0)	1 (2.3)	n.s
Kalp yetmezliği (%)	0 (0)	4 (9.3)	n.s
KOAH (%)	1 (5)	5 (11.6)	n.s
Böbrek yetmezliği (%)	1 (5)	4 (9.3)	n.s
NYHA Fonksiyonel sınıfı ≥ II (%)	0 (0)	4 (9.3)	n.s

İstatiksel hesaplamalar Student's t-test ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma (SS) ile belirtilmiştir. *p<0.05. POAF= postoperatif atriyal fibrilasyon. N= hasta sayısı. N.s. = anlamlı değil. KAH: Koroner arter hastalığı, BMI: Beden kitle indeksi, MI: Miyokard infarktüsü, KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, NYHA: New York Kalp Cemiyeti.

POAF varlığına göre olguların yaş ve cinsiyet dağılımları arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (n.s).

Sigara içimi ve ailede KAH öyküsü olması POAF varlığına göre hastalar arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir (n.s).

BMI her iki hasta grubunda hafif yüksek seyretmesine rağmen, gruplar arasında istatiksel olarak bir fark yoktur (n.s).

Bunun dışında hipertansiyon, diyabetes mellitus, dislipidemi, karotis arter hastalığı, periferik arter hastalığı, kalp yetmezliği, inme öyküsü ve MI geçirme öyküsü dağılımları her iki grupta benzerdir (n.s).

POAF gelişen ve gelişmeyen iki grubun preoperatif bakılan ekokardiyografik verileri Tablo 11’de özetlenmiştir.

Tablo 11: İki hasta grubunun ekokardiyografik verileri

	POAF (N=43)	Non-POAF (N=20)	p
Preop. LA çapı (mm)	40.9 ± 3.8	40.4 ± 3.6	n.s
Preop LA volümü (ml)	51.04 ± 24.05	57.88 ± 23.09	n.s
Preop LA volüm indeksi (ml/m ²)	27.34 ± 14.89	30.60 ± 11.80	n.s
Preop. LVEF (%)	59.25 ± 8.79	54.25 ± 13.23	n.s

İstatiksel hesaplamalar Student’s t-test ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma (SS) ile belirtilmiştir. *p<0.05. POAF= postoperatif atriyal fibrilasyon. N= hasta sayısı. N.s. = anlamlı değil. Preop: Preoperatif, LA: Sol atriyum, LVEF: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu.

Preoperatif bakılan LA çapı, LA volümü ve LA volüm indeksi POAF gelişen ve gelişmeyen hasta gruplarında benzer saptanmıştır (n.s).

Preoperatif bakılan ejeksiyon fraksiyonlarında her iki grup arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (n.s).

İki hasta grubunun preoperatif laboratuvar değerleri Tablo 12’de özetlenmiştir.

Tablo 12: Hasta gruplarının kan parametreleri

	POAF (N=43)	Non-POAF (N=20)	p
Glukoz (mg/dl)	154.05 ± 89.07	164.97 ± 79.73	n.s
TSH (mmol/l)	2.28 ± 1.5	1.77 ± 1.36	n.s
Hematokrit (%)	42.01 ± 5.14	41.33 ± 6.21	n.s
WBC (x10 ³ /ml)	8.99 ± 2.4	9.33 ± 2.77	n.s
Serum Potasyum (mmol/l)	4.33 ± 0.4	5.26 ± 0.56	n.s
Kreatinin (mg/dl)	0.93 ± 0.51	1.01 ± 0.81	n.s
CRP (mg/dl)	4.86 ± 2.80	6.83 ± 3.90	n.s

İstatiksel hesaplamalar Student's t-test ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma (SS) ile belirtilmiştir. *p<0.05. POAF= postoperatif atriyal fibrilasyon. N.s= anlamlı değil. TSH: Tiroid stimulan hormon, CRP: C reaktif protein, WBC: White blood cells.

Tablo 12'de görüldüğü üzere bakılan laboratuvar parametrelerinden glukoz, TSH, hematokrit, serum potasyum, kreatinin ve CRP değerleri her iki hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (n.s).

Operatif parametrelerin iki grup arasındaki karşılaştırılması Tablo 13'de gösterilmiştir.

Tablo 13: Hastaların Operasyon sırasındaki parametreleri

	POAF group (n= 20)	Non-POAF group (n= 43)	p
Toplam operasyon süresi (dk)	91.90 ± 31.26	87.83 ± 24.74	n.s
Aortik kross klemp Süresi (dk)	49.10 ± 20.25	46.06 ± 15.88	n.s
Inotropik ajan kullanımı	2 (20 %)	1 (2.3 %)	n.s
IABP kullanımı	2 (20 %)	0	0.035*
Pompa ısısı °C	31.0 ± 0.87	29.46 ± 2.44	0.085
Toplam greft sayısı	3.43 ± 1.31	3.42 ± 0.82	n.s
LIMA kullanımı	19 (95 %)	43 (100%)	n.s
RCA greft kullanımı	11 (55 %)	30 (69.8%)	n.s

İstatiksel hesaplamalar Student's t-test ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma (SS) ile belirtilmiştir. *p<0.05. POAF= Postoperatif atriyal fibrilasyon. N= hasta sayısı. N.s. = anlamlı değil. LIMA: Left internal, mammary arter, RCA: Rihgt koroner arter.

Hastaların total operasyon süresi, 'cross clamp süresi', inotropik ajan kullanımı ve pompa ısısı arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (n.s).

Her iki grup arasında operasyonda kullanılan toplam greft sayısı, LIMA kullanımı ve RCA greft kullanımı açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (n.s).

Postoperatif dönemdeki klinik seyir ve gelişen komplikasyonlar tablo 14'de gösterilmiştir

Tablo 14: Operasyon sonrası klinik seyir

	POAF group (n= 20)	Non-POAF group (n= 43)	p
Mekanik ventilasyon süresi (saat)	7.0 ± 3.1	7.27 ± 3.6	n.s
İnotropik ajan kullanımı	2 (% 10)	4 (% 9.3)	n.s
IABP kullanımı , n	2 (% 10)	0	0.035*
Tekrar entübasyon	1 (% 5)	0	n.s
Mediastenit	0	2 (% 4.6)	n.s
İnme	1 (% 5)	0	n.s
MI	0	0	n.s
Enfeksiyon gelişimi	0	2 (% 4.6)	n.s
Yoğun bakımda kalış süresi (saat)	34.85 ± 22.70	31.63 ± 24.45	n.s
Hastanede kalış süresi (gün)	7.70 ± 7.71	6.72 ± 3.26	n.s
Böbrek yetmezliği (%)	0	1 (% 2.3)	n.s
Ölüm (%)	0	0	n.s

İstatiksel hesaplamalar Student's t-test ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma (SS) ile belirtilmiştir. *p<0.05. POAF= postoperatif atriyal fibrilasyon. N= hasta sayısı. N.s. = anlamlı değil. IABP: İntraaortik balon pompası.

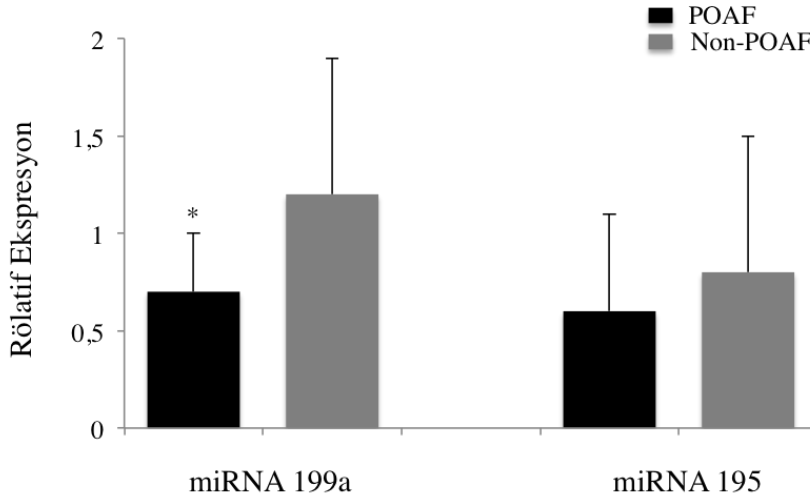
POAF grubunda IABP iki hastada kullanılmış olup, POAF gelişmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlılık göstermiştir (p=0.035).

Ventilasyon süresi her iki grup arasında benzer seyretmiştir (n.s). Postoperatif yoğun bakımda kalış süresi ve postoperatif toplam hastanede kalış süresi POAF gelişen ve gelişmeyen hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir (n.s).

Postoperatif dönemde gelişen mediastenit, yara yeri enfeksiyonu, inme, MI, böbrek yetmezliği ve ölüm, POAF gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir (n.s).

Dokudan elde edilen MiRNA düzeylerinin POAF ve POAF gelişmeyen grupta karşılaştırılması Şekil 1’de gösterilmiştir.

Şekil 1: MiRNA 199a ve 195’in iki hasta grubundaki ekspresyon profilleri



İstatiksel hesaplamalar Student’s t-test ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma (SS) ile belirtilmiştir. *p<0.05. POAF= postoperatif atriyal fibrilasyon.

Sağ atriyum apendiksinden alınan dokuda bakılan miRNA 199a düzeyleri POAF gelişen grupta POAF gelişmeyen gruba göre istatiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır (POAF 0.77 ± 0.27, Non- POAF 1.11 ± 0.69, p= 0.022). MiRNA 195 düzeyi POAF gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında istatiksel olarak anlamlılık göstermemiştir (POAF 0.64 ± 0.28, Non-POAF 0.85 ± 0.44, p= 0.055).

POAF gelişimi ve diğer parametreler arasındaki korelasyon Tablo 15’ da gösterilmiştir.

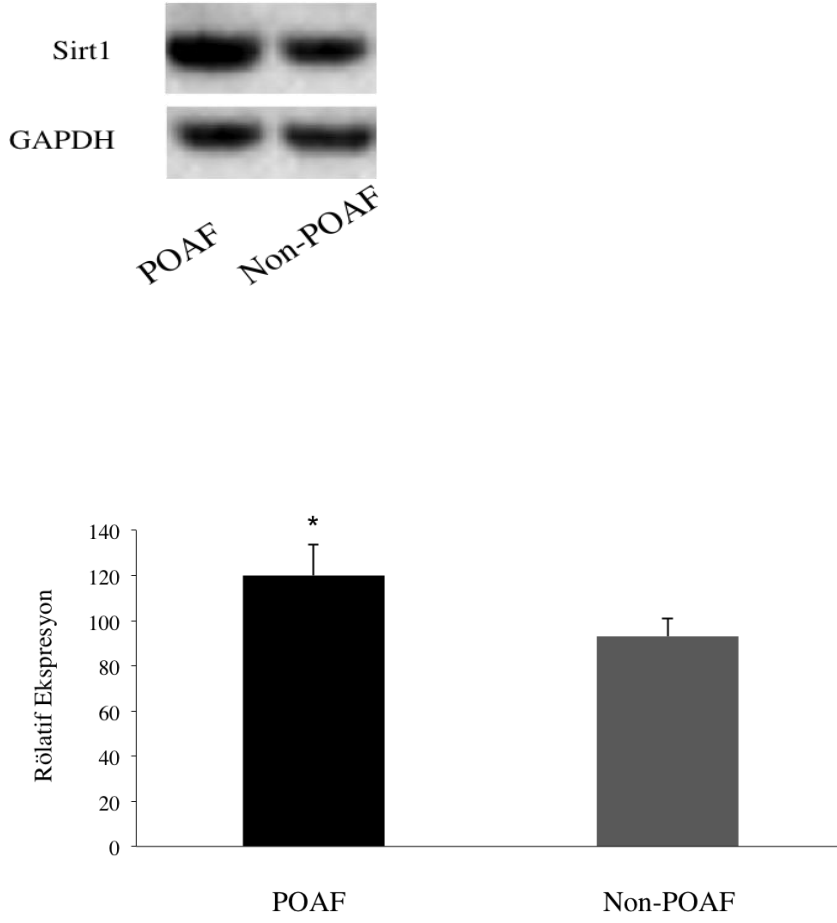
Tablo 15: POAF gelişimi ve diğer parametreler arasındaki korelasyon analizi

	r	p
Yaş	0.47	0.72
BMI	0.03	0.82
Preop. Potasyum	0.09	0.46
Preop. TSH	0.17	0.19
Toplam operasyon süresi	0.07	0.58
Aortic cross clamp süresi	0.08	0.52
Pompa ısısı	0.36	0.085
IABP	0.17	0.19
Total graft sayısı	0.008	0.96
LIMA kullanımı	- 0.21	0.12
RCA graft kullanımı	- 0.35	0.09
Yoğun bakım kalış süresi	0.06	0.62
LVEF	0.37	0.07
LA volüm indeksi	0.19	0.46
Mir 199a	- 0.29	0.022*
Mir 195	- 0.24	0.055

İstatiksel hesaplamalar Student's t-test ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değer \pm standart sapma (SS) ile belirtilmiştir. * $p < 0.05$.

POAF gelişimi ve miRNA 199a düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı ters korelasyon saptandı ($r = -0.29$, $p = 0.022$). MiRNA 195 ile POAF gelişimi arasında ise ters korelasyon görüldü, fakat istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($r = -0.24$, $p = 0.055$). Yaş, BMI, TSH, potasyum, total operasyon süresi, aortic cross clamp süresi, pompa ısısı, İABP kullanımı, total greft sayısı, LIMA kullanımı, RCA greft kullanımı, ICU kullanımı, LVEF, LA volüm indeksi ve POAF gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Şekil 2: POAF gelişen ve gelişmeyen hastaların kardiyak dokusundaki SIRT1 ve GAPDH protein ekspresyonu



İstatiksel hesaplamalar Student's t-test ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değer \pm standart sapma (SS) ile belirtilmiştir. * $p < 0.05$.

Her iki grupta sekiz hastanın doku örnekleri pooling sonrası Western Blot metodu ile analiz edilmiştir. SIRT1 protein düzeyi POAF grubunda POAF gelişmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p < 0.001$).

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması ile koroner arter bypass cerrahisi (KABG) sonrası gelişen atriyal fibrilasyon ile SIRT1 protein düzeyi ve bu proteinin regülasyonunda rol oynayan mikro RNA' lar 195 ve 199a`nın arasındaki ilişki araştırılmıştır.

KABG operasyonu sonrası en sık gelişen komplikasyonlardan biri olan POAF'nin %20-50 arasında görüldüğü bilinmektedir. Postoperatif AF (POAF) gelişimi yoğun bakım gereksinimi, hastanede kalış süresi, embolik komplikasyonlar, morbidite ve mortaliteyi arttırması sebebiyle üzerinde hassasiyetle durulması gereken bir durumdur. POAF gelişiminin patofizyolojisine yönelik birçok faktörler ortaya konulsa da moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılamamaktadır.

POAF ile ilişkili olan ileri yaş (51,52), gen polimorfizmi (53), kronik kalp yetmezliği, KOAH, KBY, diyabetes mellitus, romatizmal kalp hastalığı (54-57), daha önce geçirilmiş açık kalp ameliyatı, metabolik sendrom, obezite (58-60) gibi risk faktörleri saptanmıştır.

Bunun dışında, ileri derecede sağ koroner arter darlığı (61), artmış sol atriyal çap (62), yüzeysel EKG' de P dalgası süresinin uzaması (>116 ms) (63,64), ameliyat öncesi kan transfüzyonu (65), uzun süreli mekanik ventilasyon, atriyal iskemi, hipopotasemi (66) ve hipomagnezemi (67) POAF gelişiminde bağımsız olarak rol oynamaktadırlar.

Aortic kross-klemp ve KABG sürelerinin POAF gelişimi ile ilişkisinde çelişkili veriler olmakla beraber net bir sonuç yoktur (68).

AF' nin gelişim mekanizmasına bakıldığında ise, aşağıdaki anatomik, elektriksel ve moleküler bulgular göze çarpar: Atriyal dilatasyon, hipertrofi ve fibrozis (69), postoperatif gelişen enflamasyon (70,71), elektriksel remodeling (efektif refrakter döneminin artması) (72,73), otonomik imbalans (74,75) ve artmış oksidatif stres (76).

Atriyal fibrilasyonun oluşma mekanizmasında rol oynayan faktörler daha çok ameliyat sırasında yada sonrasında devreye girdiği için, ameliyat öncesi bakılabilecek daha spesifik bir biyobelirteç belirlenmesi AF profilaksisi için önem kazanacaktır.

Bu bağlamda kardiyak dokudaki protein ekspresyonunu ve dolayısıyla dokunun fenotipini, yani anatomik ve biyolojik özelliklerini belirleyen mikro RNA (miRNA) analiz çalışmaları yapılmıştır.

Günümüze kadar yapılan birkaç mikro RNA çalışması AF'nin gen profili hakkında önemli bilgiler kazandırmıştır (77-80). Ancak bu çalışmalar atriyal remodelingi tamamlanmış olan

kronik AF hastaları üzerinde durmuştur. Dolayısıyla kronik AF hastalarında görülen moleküler değişimler remodelinge bağlı olarak gerçekleşmiştir. Buna karşılık bizim çalışmamızda postoperatif akut AF gelişimi ele alındı. Yani AF'nin patofizyolojisinde remodeling gelişmeden erken ve spesifik miRNA-Protein etkileşiminin gösterilmesini hedefledik.

Çalışmamızda POAF gelişen hastalarda miRNA 199a'nın istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görülmüştür (Şekil 1).

Daha önce yapılan çalışmalarda miRNA 199a'nın KABG sonrası görülen akut AF'nin patogeneğinde rol oynadığı gösterilmiştir; yapılan transkriptom analizinde miRNA 199a'nın akut AF'li hastalarının apendiks dokularında disregüle olduğu kanıtlanmıştır (81). Ek olarak miRNA 199a ve FKBP5 proteinin birbirleriyle etkileştiği görülmüştür. FKBP5 veya FK 506'yı bağlayan protein 5; co-şaperon aktivitesi olan peptidopropil cis-trans izomerazıdır (82). Bu protein ayrıca heat-shock protein 90 (HSP90) ile etkileşip hücre içi sinyal iletişiminde ve mikrotübül stabilizasyonunda rol oynamaktadır (83). Steroid hormon reseptörlerinin regülasyonu, kanser hücrelerinde apoptozun engellenmesi, Akt protein yollarının inhibe edilmesi FKBP5'in kalp dışı organ sistemlerindeki bilinen diğer görevlerindedir (84-85). FKBP5'in bir diğer görevi de ISOC kanalları içerisinde hücreye kalsiyum akışını engellemektir (82).

MiRNA 199a'nın regüle ettiği diğer önemli bir protein kardiyoprotektif olan SIRT1'dir. Çalışmamızda miRNA 199a AF'li hastalarda düşük saptanırken, SIRT1 protein ekspresyonu ciddi olarak artış göstermiştir (Şekil 1, 2).

Benzer olarak başka çalışmalarda, MiRNA 199a düzeyinin artması, endojen SIRT1 protein konsantrasyonunu %50 oranında azaltmıştır, miRNA 199a ekspresyonun 'knockdown' yöntemi ile azalması, SIRT1 protein düzeylerini 2,2 katına çıkarmıştır (86).

Patolojik bir etken olan, doku düzeyindeki hipoksi ya da iskemi, kardiyomiyositlerindeki miRNA 199a'nın düzeyini azaltmış, SIRT1'i ise arttırmıştır. Akabinde, SIRT1 proteini polihidroksilaz 2 (PHD2) enzimini inhibe eder ve HIF-1 α transkripsiyon faktörü böylelikle stabilize olur. Bu durum, hipoksinin zararlarına karşı hücrelerin korunmasını sağlayan SIRT1 ve HIF-1a mekanizmasının esas düzenleyicisinin miRNA 199a olduğunu göstermektedir (86).

Hastalık düzeyinde incelendiğinde, SIRT1'in AF (87) ve KAH (88) gelişiminde önemli rol oynadığı gösterilmiştir.

SIRT1 proteini bir sınıf III histon deasetilaz olup, hücreleri oksidatif strese karşı korur ve DNA'nın stabilizasyonu sağlar (86). Kardiyovasküler sistemde SIRT1 aktivasyonunun metabolik ve stres yanıtı mekanizmaları üzerinden birçok koruyucu etkisi vardır. Ayrıca SIRT1 vasküler hemostazda, anjiyogenezde ve endotel disfonksiyonunda belirleyici rol oynadığı gösterilmiştir (89,90). SIRT1 eNOS (endotelial nitrik oksit sentetaz) ve nitrik oksit sentezini arttırarak endotel dilatasyonu indükler ateroskleroza önler (91). SIRT1 protein düzeyinin AF'si olan hastaların kardiyak dokularında, KAH olan hastaların ise kanlarında yüksek olduğu saptanmıştır (87,88).

Hastalığa bağlı SIRT1 düzeyinin artmasının, AF ve KAH'ın patogenezinde rol oynayan oksidatif stresin kompanse etmek için olduğu düşünülmektedir. AF ve KAH gelişiminde rol oynayan risk faktörleri benzerlik göstermektedir. Hipertansiyon, diyabet, ileri yaş, KABG olan hastalarda sistemik oksidatif stres markerları yüksek seyretmektedir (92). AF'de ve AF'yi indükleyen risk faktörlerinde kardiyak miyofibriler proteinin ve membran lipitlerinin oksidasyonunun arttığı görülmüştür (93-95).

Kardiyak dokudaki oksidasyonun sistemik oksidasyon marker düzeylerini yükselttiği mi, ya da sistemik oksidasyonun kardiyak oksidasyona yol açtığı mı belli değildir, ancak oksidatif stres ile AF'nin ilişkisi açıktır. Hipotezimize göre, kardiyak iskemi oksidatif strese yol açmakta, buna bağlı miRNA 199a inhibe edilmekte ve SIRT1 proteini, oksidatif stres hasarını azaltmak için, kompensatuvar olarak artmaktadır.

Sun ve ark. AF hastalarında dokudaki SIRT1 düzeylerinin yüksek olması dışında, oksidatif stres belirteci olan malondialdehit, metalotionein ve superoksit dismutaz oranlarının arttığını tespit etmiştir (87).

MiRNA 199a ve 195 aynı dokuda üretilip aynı proteini inhibe ettikleri halde miRNA 195 ile POAF arasından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. miRNA 195, SIRT1 ve Bcl-2 üzerinden ROS (reaktive oxygen species) gelişiminde rol oynamaktadır (96). Bunun dışında mi195 kardiyak hipertrofi (97) ve aort anevrizması (98) gelişiminde aktiftir. MiRNA 199'a karşı, miRNA 195 hipoksi ve kardiyak iskemiye bağlı regüle edilmemektedir. Dolayısıyla POAF gelişiminde iskemi/oksidatif stres sonucu miRNA 199a/SIRT1 mekanizmasının önemli bir rol oynadığını söyleyebiliriz.

8. KAYNAKLAR

1. Focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation (2012).s.2722
2. Onat A. Eriřkinlerimizde kalp hastalıkları prevelansı, yeni koroner olaylar ve kalpten ölüm sıklığı. TERKHARF alışması verileri. A. Onat, Editör. İstanbul: Ohan matbaacılık; 2000.s.16-23.
3. Focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation (2012).s.2722-2723
4. Brian P. Griffin. Topol. Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Güneş Tıp Kitabevleri; 2014.s.425
5. Prystowsky EN, Katz AM. Atrial fibrillation. In: Textbook of Cardiovascular Medicine. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998:1661.
6. Brian P. Griffin. Topol Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Güneş Tıp Kitabevleri; 2014.s.426
7. Frost L, Hune LJ, Vestergaard P,. Overweight and obesity as risk factors for atrial fibrillation or flutter: the Danish Diet, Cancer, and Health study. Am J Med 2005;118:489-95.
8. Wang TJ, Parise H, Levy D, et al. Obesity and the risk of new-onset atrial fibrillation. JAMA 2004;292:2471-7.
9. Levy S, Maarek M, Coumel P, et al. Characterization of different subsets of atrial fibrillation in general practice in France:the ALFA study. The College of French Cardiologist. Circulation 1999;99:3028-35.
10. Almassi GH, Schowalter T, Nicolosi AC, et al. atrial fibrillation after cardiac surgery: a major morbid event? Ann Surg 1997; 226-501.
11. Krahn AD; Klein GJ, Kerr CR, et al. How useful is thyroid function testing in patientswith recent-oncet atrial fibrillation? The Canadian Registry of Atrial Fibrillation Investigators. Arch Intern Med 1996;156:2221-4.

- 12.** Cooper HA, Bloomfield DA, Bush DE, et al. Relation between achieved heart rate and outcomes in patients with atrial fibrillation(from the Atrial Fibrillation Follow-up Investigation of Rhythm Management(AFFIRM) Study). *Am J Cardiol* 2004;93:1247-
- 13.** Van Gelger IC, Hagens VE, Bosker HA, et al. A comparison of rate control and rhythm control in patients with recurrent persistent atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2002;347:1834-40.
- 14.** Brian P. Griffin. *Topol Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Güneş Tıp Kitabevleri;* 2014.s.427
- 15.** Tuman KJ, McCarthy RJ, Najafi H, Ivankovich AD. Differential effects of advanced age on neurologic and cardiac risks of coronary artery operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 104. 1510, 1992.
- 16.** Brian P. Griffin. *Topol Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Güneş Tıp Kitabevleri;* 2014.s.428
- 17.** Mangano CM, Hill L, Cartwright CR, Hindman BJ. Cardiopulmonary bypass and the anesthesiologist. In: Kaplan JA ed. *Cardiac anesthesia. Philadelphia, WB Saunders Company,* 1999: 1061-1100.
- 18.** Tuman KJ, McCarthy RJ, Najafi H, Ivankovich AD. Differential effects of advanced age on neurologic and cardiac risks of coronary artery operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 104. 1510, 1992.
- 19.** Brian P. Griffin. *Topol Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Güneş Tıp Kitabevleri;* 2014.s.442
- 20.** JayamVKS, Flaker GC, Jones JW. Atrial fibrillation after coronary by-pass: etiology and pharmacologic prevention. *Cardiovasc Surg* 2002;10:351-8.
- 21.** Bitterman KJ, Anderson RM, Cohen HY, Latorre-Esteves M, Sinclair DA. Inhibition of silencing and accelerated aging by nicotinamide, a putative negative regulator of yeast sir2 and human SIRT1. *J Biol Chem* 2002; 277: 45099-107.
- 22.** Klar AJ, Fogel S, Macleod K. MAR1-a Regulator of the HMa and HMalpha Loci in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 1979; 93: 37-50.

- 23.** Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochem J* 2007; 404: 1-13.
- 24.** North BJ, Marshall BL, Borra MT, Denu JM, Verdin E. The human Sir2 ortholog, SIRT2, is an NAD⁺-dependent tubulin deacetylase. *Mol Cell* 2003; 11: 437-44.
- 25.** Haigis MC, Mostoslavsky R, Haigis KM, et al. SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic beta cells. *Cell* 2006; 126: 941-54.
- 26.** Shi T, Wang F, Stieren E, Tong Q. SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes. *J Biol Chem* 2005; 280: 13560-7.
- 27.** Prozorovski T, Schulze-Topphoff U, Glumm R, Baumgart J, Schroter F, Ninnemann O, et al. Sirt1 contributes critically to the redox-dependent fate of neural progenitors. *Nature cell biology*. 2008; 10(4):385-94.
- 28.** Cakir I, Perello M, Lansari O, Messier NJ, Vaslet CA, Nillni EA. Hypothalamic Sirt1 regulates food intake in a rodent model system. *PLoS One*. 2009; 4(12):e8322.
- 29.** Muth V, Nadaud S, Grummt I, Voit R. Acetylation of TAF(I)68, a subunit of TIF-IB/SL1, activates RNA polymerase I transcription. *Embo J* 2001; 20: 1353-62.
- 30.** Bouras T, Fu M, Sauve AA, et al. SIRT1 deacetylation and repression of p300 involves lysine residues 1020/1024 within the cell cycle regulatory domain 1. *J Biol Chem* 2005; 280: 10264-76.
- 31.** Vaziri H, Dessain SK, Ng Eaton E, et al. hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell* 2001; 107: 149-59.
- 32.** Beato M, Klug J. Steroid hormone receptors: an update. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 225-36.
- 33.** Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ, et al. Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science* 2004; 305: 390-2.
- 34.** Brunet A, Sweeney LB, Sturgill JF, et al. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science* 2004; 303: 2011-5.

- 35.** Alcendor RR, Gao S, Zhai P, et al. Sirt1 regulates aging and resistance to oxidative stress in the heart. *Circ Res* 2007; 100: 1512-21.
- 36.** Suwa M, Nakano H, Radak Z, Kumagai S. Endurance exercise increases the SIRT1 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha protein expressions in rat skeletal muscle. *Metabolism*. 2008; 57(7):986-98.
- 37.** Mukherjee S, Lekli I, Gurusamy N, Bertelli AA, Das DK. Expression of the longevity proteins by both red and white wines and their cardioprotective components, resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol. *Free Radic Biol Med*. 2009; 46(5):573-8.
- 38.** Yu W, Fu YC, Zhou XH, Chen CJ, Wang X, Lin RB, Wang W. Effects of resveratrol on H₂O₂-induced apoptosis and expression of SIRT1 in H9c2 cells. *J Cell Biochem*. 2009; 107(4):741-7.
- 39.** Lee YA, Cho EJ, Yokozawa T. Protective effect of persimmon (*Diospyros kaki*) peel proanthocyanidin against oxidative damage under H₂O₂-induced cellular senescence. *Biol Pharm Bull*. 2008; 31(6):1265-9
- 40.** Arunachalam G, Yao H, Sundar IK, Caito S, Rahman I. SIRT1 regulates oxidant- and cigarette smoke-induced NOS acetylation in endothelial cells: Role of resveratrol. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010; 393(1):66-72.
- 41.** Imai S, Kiess W. Therapeutic potential of SIRT1 and NAMPT-mediated NAD biosynthesis in type 2 diabetes. *Front Biosci*. 2009; 14:2983-95.
- 42.** Hu Y1, Wang L, Chen S, Liu X, Li H, Lu X, Yang X, Huang J, Gu D. Association between the SIRT1 mRNA Expression and Acute Coronary Syndrome. *J Atheroscler Thromb*. 2014 Oct 23.
- 43.** Kao CL1, Chen LK, Chang YL, Yung MC, Hsu CC, Chen YC, Lo WL, Chen SJ, Ku HH, Hwang SJ. Resveratrol protects human endothelium from H₂O₂-induced oxidative stress and senescence via Sirt1 activation. *J Atheroscler Thromb*. 2010; 17(9):9709.
- 44.** Breitenstein A, Wyss CA, Spescha RD, Franzeck FC, Hof D, Riwanto M, Hasun M, Akhmedov A, von Eckardstein A, Maier W, Landmesser U, Lüscher TF, Camici GG. Peripheral blood monocyte Sirt1 expression is reduced in patients with coronary artery

disease. PLoS One. 2013; 8(1):e53106.

45. Bodur E, Demirpence E. Kodlamayan RNA'lar ve gen susturumu. Hacettepe Tıp Dergisi 2010; 41:82-89.

46. Wahlquist C, Jeong D, Rojas-Muñoz A, Kho C, Lee A, Mitsuyama S, van Mil A, Park WJ, Sluijter JP, Doevendans PA, Hajjar RJ, Mercola M. Inhibition of miR-25 improves cardiac contractility in the failing heart. Nature. 2014; 508(7497):531-5.

47. Liu Z, Ye P, Wang S, Wu J, Sun Y, Zhang A, Ren L, Cheng C, Huang X, Wang K, Deng P, Wu C, Yue Z, Xia J. MicroRNA-150 Protects the Heart from Injury by Inhibiting Monocyte Accumulation in a Mouse Model of Acute Myocardial Infarction. Circ Cardiovasc Genet. 2014 Dec 2. pii: CIRCGENETICS.114.000598.

48. Zhu H, Yang Y, Wang Y, Li J, Schiller PW, Peng T. MicroRNA-195 promotes palmitate-induced apoptosis in cardiomyocytes by down-regulating Sirt1. Cardiovasc Res. 2011; 92(1):75-84.

49. Sun XL, Bu PL, Liu JN, Wang X, Wu XN, Zhao LX. Expression of SIRT1 in right auricle tissues and the relationship with oxidative stress in patients with atrial fibrillation. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. 2012;28(9):972-4.

50. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group. Eur J Echocardiogr 2006; 7:79-108.

51. Aranki SF, Shaw DP, Adams DH, Rizzo RJ, Couper GS, Vander Vliet M, et al. Predictors of atrial fibrillation after coronary artery surgery.current trends and impact on hospital resources. Circulation. 1996;94:390-7.

52. Mathew JP, Parks R, Savino JS, Friedman AS, Koch C, Mangano DT, et al. Atrial fibrillation following coronary artery bypass graft surgery: Predictors, outcomes, and resource utilization. MultiCenter study of perioperative ischemia research group. JAMA. 1996;276:300-6.

- 53.** Liu L, Zhang L, Liu M, Zhang Y, Han X, Zhang Z. GRK5 Polymorphisms and Postoperative Atrial Fibrillation following Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *Sci Rep.* 2015;5:12768.
- 54.** Mathew JP, Fontes ML, Tudor IC, Ramsay J, Duke P, Mazer CD, et al. A multicenter risk index for atrial fibrillation after cardiac surgery. *JAMA.* 2004;291:1720–9.
- 55.** Creswell LL, Schuessler RB, Rosenbloom M, Cox JL. Hazards of postoperative atrial arrhythmias. *Ann Thorac Surg.* 1993;56:539–49.
- 56.** Banach M, Rysz J, Drozd JA, Okonski P, Misztal M, Barylski M, et al. Risk factors of atrial fibrillation following coronary artery bypass grafting: A preliminary report. *Circ J.* 2006;70:438–41.
- 57.** Benjamin EJ, Levy D, Vaziri SM, D’Agostino RB, Belanger AJ, Wolf PA. Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. the framingham heart study. *JAMA.* 1994;271:840–4.
- 58.** Zacharias A, Schwann TA, Riordan CJ, Durham SJ, Shah AS, Habib RH. Obesity and risk of new-onset atrial fibrillation after cardiac surgery. *Circulation.* 2005;112:3247–55.
- 59.** Echahidi N, Mohty D, Pibarot P, Despres JP, O’Hara G, Champagne J, et al. Obesity and metabolic syndrome are independent risk factors for atrial fibrillation after coronary artery bypass graft surgery. *Circulation.* 2007;116(Suppl 11):I213–9.
- 60.** Mendes LA, Connelly GP, McKenney PA, Podrid PJ, Cupples LA, Shemin RJ, et al. Right coronary artery stenosis: An independent predictor of atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery. *J Am Coll Cardiol.* 1995;25:198–202.
- 61.** Manning WJ, Gelfand EV. Left atrial size and postoperative atrial fibrillation: The volume of evidence suggests it is time to break an old habit. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48:787–9.
- 62.** Steinberg JS, Zelenkofske S, Wong SC, Gelernt M, Sciacca R, Menchavez E. Value of the P-wave signal-averaged ECG for predicting atrial fibrillation after cardiac surgery. *Circulation.* 1993;88:2618–22.
- 63.** Buxton AE, Josephson ME. The role of P wave duration as a predictor of postoperative atrial arrhythmias. *Chest.* 1981;80:68–73.

- 64.** Koch CG, Li L, Van Wagoner DR, Duncan AI, Gillinov AM, Blackstone EH. Red cell transfusion is associated with an increased risk for postoperative atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg.* 2006;82:1747–56.
- 65.** Wahr JA, Parks R, Boisvert D, Comunale M, Fabian J, Ramsay J, et al. Preoperative serum potassium levels and perioperative outcomes in cardiac surgery patients. multicenter study of perioperative ischemia research group. *JAMA.* 1999;281:2203–10.
- 66.** England MR, Gordon G, Salem M, Chernow B. Magnesium administration and dysrhythmias after cardiac surgery. A placebo-controlled, double-blind, randomized trial. *JAMA.* 1992;268:2395–402.
- 67.** Aranki SF, Shaw DP, Adams DH, Rizzo RJ, Couper GS, Vander Vliet M, et al. Predictors of atrial fibrillation after coronary artery surgery. current trends and impact on hospital resources. *Circulation.* 1996;94:390–7.
- 68.** Khan A, Moe GW, Nili N, Rezaei E, Eskandarian M, Butany J, Strauss BH. The cardiac atria are chambers of active remodeling and dynamic collagen turnover during evolving heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(1):68-76.
- 69.** Ishii Y, Schuessler RB, Gaynor SL, Yamada K, Fu AS, Boineau JP, et al. Inflammation of atrium after cardiac surgery is associated with inhomogeneity of atrial conduction and atrial fibrillation. *Circulation.* 2005;111:2881–8.
- 70.** Tselentakis EV, Woodford E, Chandy J, Gaudette GR, Saltman AE. Inflammation effects on the electrical properties of atrial tissue and inducibility of postoperative atrial fibrillation. *J Surg Res.* 2006;135:68–75.
- 71.** Zipes DP. Electrophysiological remodeling of the heart owing to rate. *Circulation.* 1997;95:1745–8.
- 72.** Van Wagoner DR, Pond AL, Lamorgese M, Rossie SS, McCarthy PM, Nerbonne JM. Atrial L-type Ca²⁺ currents and human atrial fibrillation. *Circ Res.* 1999;85:428–36.
- 73.** Nattel S. Ionic determinants of atrial fibrillation and Ca²⁺ channel abnormalities: Cause, consequence, or innocent bystander? *Circ Res.* 1999;85:473–6.

- 74.** 17. Schauerte P, Scherlag BJ, Patterson E, Scherlag MA, Matsudaria K, Nakagawa H, et al. Focal atrial fibrillation: Experimental evidence for a pathophysiologic role of the autonomic nervous system. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2001;12:592–9.
- 75.** Bettoni M, Zimmermann M. Autonomic tone variations before the onset of paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation.* 2002;105:2753–9.
- 76.** Maisel WH, Rawn JD, Stevenson WG. Atrial fibrillation after cardiac surgery. *Ann Intern Med.* 2001;135:1061–73.
- 77.** Lu, Y. et al. MicroRNA-328 contributes to adverse electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation* 122, 2378–2387 (2010).
- 78.** Xiao, J. et al. MicroRNA expression signature in atrial fibrillation with mitral stenosis. *Physiol. Genomics* 43, 655–664 (2011).
- 79.** Cooley, N. et al. Influence of atrial fibrillation on microRNA expression profiles in left and right atria from patients with valvular heart disease. *Physiol. Genomics* 44, 211–219 (2012).
- 80.** Nishi, H. et al. Impact of microRNA expression in human atrial tissue in patients with atrial fibrillation undergoing cardiac surgery. *PLoS ONE* 8, e73397 (2013).
- 81.** Chiang DY, Zhang M, Voigt N, Alsina KM, Jakob H, Martin JF, Dobrev D, Wehrens XH, Li N. Identification of microRNA-mRNA dysregulations in paroxysmal atrial fibrillation. *Int J Cardiol.* 2015;184:190-7.
- 82.** Cioffi DL, Hubler TR, Scammell JG. Organization and function of the FKBP52 and FKBP51 genes. *Curr Opin Pharmacol.* 2011;11(4):308-13.
- 83.** Schülke JP, Wochnik GM, Lang-Rollin I, Gassen NC, Knapp RT, Berning B, Yassouridis A, Rein T. Differential Impact of Tetratricopeptide Repeat Proteins on the Steroid Hormone Receptors. *PLoS One.* 2010; 5(7): e11717.
- 84.** Romano S, D'Angelillo A, Pacelli R, Staibano S, De Luna E, Bisogni R, Eskelinen EL, Mascolo M, Cali G, Arra C, Romano MF. Role of FK506-binding protein 51 in the control of apoptosis of irradiated melanoma cells. *Cell Death Differ.* 2010;17(1):145-57.
- 85.** Pei H, Li L, Fridley BL, Jenkins GD, Kalari KR, Lingle W, Petersen G, Lou Z, Wang L. FKBP51 affects cancer cell response to chemotherapy by negatively regulating Akt. *Cancer*

Cell. 2009;16(3):259-66.

- 86.** Rane S, He M, Sayed D, Vashistha H, Malhotra A, Sadoshima J, Vatner DE, Vatner SF, Abdellatif M. Downregulation of miR-199a derepresses hypoxia-inducible factor-1alpha and Sirtuin 1 and recapitulates hypoxia preconditioning in cardiac myocytes. *Circ Res.* 2009; 10;104(7):879-86.
- 87.** Alcendor RR, Gao S, Zhai P, Zablocki D, Holle E, Yu X, Tian B, Wagner T, Vatner SF, Sadoshima J. Sirt1 regulates aging and resistance to oxidative stress in the heart. *Circ Res.* 2007;100(10):1512-21.
- 88.** Hsu CP, Zhai P, Yamamoto T, Maejima Y, Matsushima S, Hariharan N, Shao D, Takagi H, Oka S, Sadoshima J. Silent information regulator 1 protects the heart from ischemia/reperfusion. *Circulation* 2010;122(21):2170-82.
- 89.** Sun XL, Bu PL, Liu JN, Wang X, Wu XN, Zhao LX. Expression of SIRT1 in right auricle tissues and the relationship with oxidative stress in patients with atrial fibrillation. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* 2012;28(9):972-4.
- 90.** Kilic U, Gok O, Bacaksiz A, Izmirli M, Elibol-Can B, Uysal O. SIRT1 gene polymorphisms affect the protein expression in cardiovascular diseases. *PLoS One.* 2014; 28;9(2):e90428.
- 91.** Potente M, Ghaeni L, Baldessari D, Mostoslavsky R, Rossig L, Dequiedt F, Haendeler J, Mione M, Dejana E, Alt FW, Zeiher AM, Dimmeler S. SIRT1 controls endothelial angiogenic functions during vascular growth. *Genes Dev.* 2007; 21:2644–58.
- 92.** Sovari AA, Dudley SC. Jr. Reactive oxygen species-targeted therapeutic interventions for atrial fibrillation. *Front Physiol.* 2012;3:311.
- 93.** Mihm MJ, Yu F, Carnes CA, Reiser PJ, McCarthy PM, Van Wagoner DR, Bauer JA. Impaired myofibrillar energetics and oxidative injury during human atrial fibrillation. *Circulation.* 2001;104:174–180.
- 94.** Schnabel R, Blankenberg S. Oxidative stress in cardiovascular disease: successful translation from bench to bedside? *Circulation.* 2007;116(12):1338-40.
- 95.** De Vecchi E, Pala MG, Di Credico G, Agape V, Paolini G, Bonini PA, Grossi A, Paroni R. Relation between left ventricular function and oxidative stress in patients undergoing bypass surgery. *Heart.* 1998;79:242–247.

- 96.** Zhu H, Yang Y, Wang Y, Li J, Schiller PW, Peng T. Micro RNA-195 promotes palmitate-induced apoptosis in cardiomyocytes by downregulating Sirt1. *Cardiovasc. Res.* 2011; 92, 75–84.
- 97.** You XY, Huang JH, Liu B, Liu SJ, Zhong Y, Liu SM. HMGA1 is a new target of miR-195 involving isoprenaline-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Biochemistry (Mosc).* 2014;79(6):538-44.
- 98.** Zampetaki A, Attia R, Mayr U, Gomes RS, Phinikaridou A, Yin X, Langley SR, Willeit P, Lu R, Fanshawe B, Fava M, Barallobre-Barreiro J, Molenaar C, So PW, Abbas A, Jahangiri M, Waltham M, Botnar R, Smith A, Mayr M. Role of miR-195 in aortic aneurysmal disease. *Circ Res.* 2014;115(10):857-66.