

**T.C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MALİGN PERİKARD EFÜZYONUNDA PROTEOMİKS ANALİZİ VE MALİGNİTE
İLE İLİŞKİLİ PROTEİN PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

Dr. Sabiye Yılmaz

(Kardiyoloji uzmanlık tezi)

Kocaeli 2009

**T.C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MALİGN PERİKARD EFÜZYONUNDA PROTEOMİKS ANALİZİ VE MALİGNİTE
İLE İLİŞKİLİ PROTEİN PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

Dr. Sabiye Yılmaz

(Kardiyoloji uzmanlık tezi)

**Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Dilek Ural
Yrd. Doç. Dr. Murat Kasap**

**Kardiyoloji A.D. Başkanı:
Prof. Dr. Dilek Ural**

**Etik Kurul Karar Tarihi: 03.02.2009
Sayı: AEK 3/12 Proje no: 24**

Kocaeli 2009

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi gördüğüm süre boyunca modern, huzur ve saygı dolu bir klinikte çalışma ortamı sağlayan, Kardiyoloji alanında günümüzde kullanılan yenilikleri uygulama imkanı tanıyan, bilimsel tartışmalara açık bir ortamda yetişmeme katkısı olan değerli hocam, Kardiyoloji Anabilim Dalı kurucumuz, eski rektörümüz ve Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız merhum **Prof. Dr. Baki KOMSUOĞLU**'na

Asistanlık eğitimimde büyük emeği geçen, bilgi ve tecrübelerini her zaman bizlerle paylaşan, tez danışmanın ve tez çalışmam boyunca yardımını esirgemeyen değerli hocam, Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı **Prof. Dr. Dilek URAL**'a

Asistanlık eğitimim süresince tecrübe ve bilgilerini paylaşan hocalarım; **Prof. Dr. Ertan URAL, Doç. Dr. Ahmet VURAL, Doç. Dr. Ayşen AĞIR AĞAÇDİKEN, Doç. Dr. Göksel KAHRAMAN, Doç. Dr. Güliz KOZDAĞ, Yrd. Doç. Dr. Tayfun Şahin, Yrd. Doç. Dr. Teoman KILIÇ ve Yrd. Doç. Dr. Ulaş BİLDİRİCİ**'ye

Tez çalışmamda gösterdikleri ilgi ve yardımlar için Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi **Yrd. Doç. Dr. Murat KASAP**'a

Birlikte geçirdiğimiz eğitim süresince gösterdikleri sevgi, saygı ve sabır için Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda görevli tüm asistan arkadaşlarıma ve Anabilim Dalı çalışanlarına, materyal toplamamda bana yardımcı olan Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı hocalarına ve asistan arkadaşlarıma saygılarımı sunarım.

Başta sevgili eşim **Murat YILMAZ**'a ve ailemin tüm üyelerine hayatımın her anında gösterdikleri destek ve sabır için teşekkür ederim.

Dr. Sabiye Yılmaz

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER	i
SİMGELER VE KISALTMALAR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
1. AMAÇ VE KAPSAM	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Perikard Anatomisi ve Fizyolojik işlevleri	2
2.2. Perikardın fizyolojik işlevleri	4
2.2.1. Kalp hastalığında normal perikardın pasif rolü	7
2.3. Perikard hastalıkları	8
2.3.1. Perikarditler	8
2.3.1.1. Akut perikardit	8
2.3.1.1.1. Etiyoloji; Epidemiyoloji	8
2.3.1.1.2. Klinik Özellikler	11
2.3.1.1.3. Fizik muayene	12
2.3.1.1.4. Tanı Testleri	12
2.3.1.1.4.1. Elektrokardiyografi	13
2.3.1.1.4.2. Laboratuvar testleri	15
2.3.1.1.4.3. Göğüs Radyografisi	16
2.3.1.1.4.4. Ekokardiyografi	17
2.3.1.1.5. Ayırıcı tanı	17
2.3.1.1.6. Doğal seyir ve tedavi	18
2.3.1.1.7. Akut Perikardit komplikasyonları	21
2.3.2. Perikardiyal efüzyonlar	21
2.3.2.1. Fizyopatoloji ve etiyoloji	22
2.3.2.2. Hemodinami	24
2.3.2.3. Semptomlar	27
2.3.2.4. Fizik muayene	27
2.3.3. Kardiyak tamponad	27
2.3.3.1. Fizyopatoloji ve etyoloji	28
2.3.3.2. Semptom ve bulgular	31
2.3.3.3. Laboratuvar	34
2.3.3.4. Elektrokardiyografi	34
2.3.3.5. Radyoloji	35
2.3.3.6. Ekokardiyografi	37
2.3.3.7. Kardiyak kateterizasyon	44
2.3.3.8. Perikardiyoskopi	44

2.3.4.	Kronik perikardiyal efüzyon	45
2.3.5.	Malign Perikardiyal Efüzyon	47
2.3.6.	Tedavi Yaklaşımları	49
2.3.6.1.	Perikard Aspirasyonu (Perikardiyosentez)	53
2.4.	Proteomiks	58
2.4.1.	Proteom Analizinde Kullanılan Genel Strateji	58
2.4.2.	Kıyaslamalı proteomiks çalışmalarının amacı	59
2.4.3.	Proteomiksin Uygulama Alanları	60
3.	GEREÇLER VE YÖNTEM	62
3.1.	Örneklerin Toplanması ve Hazırlık	62
3.2.	Protein çözeltilerinin hazırlanması	62
3.2.1.	TCA-Aseton çöktürmesi	63
3.2.2.	Albümin indirgeme işlemi-Aurum serum protein mini kit protokolü	63
3.2.3.	Üst faz sıvıların temizleme işlemi	64
3.2.4.	Protein miktarının belirlenmesi	64
3.2.6.	Protein Standard Eğrisinin Çizilmesi	65
3.3.	Proteomiks analizinde kullanılan jel ve solüsyonlar	66
3.3.1.	%12 SDS Yürütme jeli	66
3.3.2.	Yürütme jeli yapımında kullanılan solüsyonlar	66
3.3.3.	Rehidrasyon solüsyonu	66
3.3.4.	Yürütücü solüsyon (TGS)	67
3.3.5.	Sabitleştirici, Boyama ve Boya Uzaklaştırıcı Solüsyonlar	67
3.4.	İki Boyutlu Jel Elektrofrezisi (2D Gel Elektrofrezisi)	67
3.4.1.	Birinci Boyut: İzoelektrik fokuslama (IEF)	67
3.4.2.	İkinci Boyut: Protein Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE)	69
3.5.	Görüntüleme ve analiz	71
4.	BULGULAR	72
4.1.	Hasta özellikleri ve laboratuvar verileri	72
4.2.	Perikardiyal sıvıların proteomiks analizi	74
4.2.1.	Hasta ve kontrol grubunun 2-D jel protein spotları	75
4.2.2.	Protein spotlarının karşılaştırılması	77
4.2.3.	İnsan plazma protein haritası verileri ile protein spotlarının karşılaştırılması	83
5.	TARTIŞMA	86
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	95
7.	ÖZET	97
8.	ABSTRACT	99
9.	KAYNAKLAR	101

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADA	: Adenozin deaminaz
AFP	: Alfa-fetoprotein
ANA	: Antinükleer antikor
SP-A	: Akciğer sürfektan protein A
ASO	: Antistreptolizin O antikoru
BMG	: Beta- mikroglobülin
BSA	: Bovine serum albumin
BT	: Bilgisayarlı tomografi
Ca 125	: Karbonhidrat antijen 125
Ca 19-9	: Karbonhidrat antijen 19-9
Ca 15-3	: Karbonhidrat antijen 15-3
C3, C4	: Kompleman 3, Kompleman 4
CEA	: Karsinoembriyonik antijen
CK MB	: Kreatin kinaz miyozin
CMW	: Sitomegali virüs
CRP	: C reaktif protein
DM	: Dermatomiyozit
DTT	: Dithiothreitol
EBV	: Epstein barr virüs
EKG	: Elektrokardiyografi
ELISA	: Enzim linked immunosorbent assay
ESI-MS	: Electrospray Ionisation Mass Spectrometry
ESR	: Eritrosit sedimentasyon hızı
FMF	: Ailesel Akdeniz ateşi

FA : Femoral arter

H-FABP : Heart – tip sitoplazmik fatty asit binding protein

HPLC : Yüksek performans likit kromatografisi

HIV : Human immundeficiency virüs

IPG strip : İmmobilized PH gradient

IEF : İzoelektrik odaklama

LDH : Laktat dehidrogenaz

LV : Sol ventrikül

MALDI-ToF: Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight

MI : Miyokard infarktüsü

MRI : Manyetik rezonans görüntüleme

µL : Mikrolitre

ml : Mililitre

ND-PAGE : Non denatüre edici page

NSAİD : Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç

PAN : Poliartritis nodosa

PCWP : Pulmoner kapiller veç basıncı

PM : Polimyozit

proMMP-9 : Matriks metalloprotein-9 proenzimi

PSDMALDI- MS : Post Source Decay

PEDF : Pigment epitelyal-derived faktör

RA : Romatoid artrit

RV : Sağ ventrikül

RCAS1 : Çözülebilir Reseptör –bağlayıcı kanser antijen

SC5b- 9 : Çözülebilir terminal kompleks

SDS : Sodyum dodesil sülfat

SDS- PAGE : Denatüre edici page

SELDI-TOF : Surface Enhanced Laser Desorption Ionization

SLE : Sistemik lupus eritematozus

TNF : Tümör nekroz faktör alfa

TPA : Doku polipeptid antijen

TSH : Troid stimüle edici hormon

TEMED : N'-tetramethyl-ethylenediamine

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1: Kalp çıkartıldıktan sonra büyük damarların çıkış yerleri yakınında perikard kıvrımı.	4
Şekil 2 üst: Normal insan perikard dokusunda invitro ortamda gerimle gerilme arasındaki ilişki.	6
Şekil 2 alt: Perikard basınç-hacim eğrisi.	6
Şekil 3: Akut perikarditte evre I EKG örneği.	14
Şekil 4: Akut perikarditte evre III EKG örneği.	15
Şekil 5: PA Akc grafisi.	16
Şekil 6: Perikardın basınç-hacim eğrisi.	25
Şekil 7: Kardiyak tamponadlı hastalarda perikardiyosentez öncesi (A) ve sonrasında (B), femoral arter (FA), sağ atriyum (RA) ve perikard basıncı.	29
Şekil 8: A-Kardiyak tamponadada inspirasyon sırasında sağ ventrikül hacminin artışı ile interventriküler septumun sola doğru yöneliminin şematik görüntüsü. B- Kardiyak tamponadada respirasyon belirteci- aortik ve sol ventrikül basıncının izleri	30
Şekil 9: Kardiyak tamponadada QRS kompleksinin alternansını gösteren EKG	35
Şekil 10: Büyük perikardiyal efüzyonlu bir hastanın ön-arka akciğer radyografisi	36
Şekil 11: Mitral protez kapağı olan bir hastada parasternal uzun eksen M-mod görüntülerinde perikard efüzyonu	37
Şekil 12: Kalbi çevreleyen, büyük çaplı perikard efüzyonunun ekokardiyogramı	39
Şekil 13: İki boyutlu ekokardiyografide perikard efüzyonunun parasternal kısa eksen görüntüsü	39
Şekil 14: İki boyutlu ekokardiyografide perikard efüzyonunun apikal dört boşluk gör.	40
Şekil 15: İki boyutlu ekokardiyografide perikard efüzyonunun parasternal uzun eksen görüntüsü	40
Şekil 16: Perikardiyal tamponad olgularında sağ ve sol ventrikül diyastolik akımlarının şematik görüntüsü.	41
Şekil 17: Perikardiyal tamponad olgularında pulmoner ven ve sol ventrikül diyastolik akımlarının şematik görüntüsü.	42
Şekil 18: Perikardiyal tamponadı olan bir hastada M-mod ve PW-Doppler ekokardiyografi görüntüleri.	42

Şekil 19: Bradford metodu ile hazırlanmış protein standart eğrisi	65
Şekil 20: 2D Gel Elektroforez sistemi.	69
Şekil 21: A:Protein emdirilmiş poliakrilamit jelin Coomassie mavisi ile boyanması, B:SDS-PAGE jelin boyadan arındırılmasından sonraki görüntüsü	70
Şekil 22: Melanie 7 programı kullanılarak 2-D jellerdeki protein spotlarının işaretlenmesi	74
Şekil 23: Hastalarda 2-D jel elektroforezinde elde edilen protein spotları	75
Şekil 24: Kontrol grubunda 2-D jel elektroforezinde elde edilen protein spotları	76
Şekil 25: Hasta ve kontrol grubundan iki hastanın birbiri ile karşılaştırılması	82
Şekil 26 A-B-C: Tanımlanmış insan plazma protein spotları	83
Şekil 27: Görsel olarak malign perikard sıvısının insan plazma proteini ile karşılaştırıldığında saptanan proteinler	84
Şekil 28: Hasta 5 ve kontrol 4 nolu hastaların 2-D jel protein haritasının karşılaştırılması	85
Şekil 29: CRP' leri eşit olan Hasta 2 ve kontrol 4'ün 2-D jel protein haritası	85

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1: Akut Perikardit Nedenleri	9
Tablo 2: Eksüda ve transüda ayrımında modifiye Light kriterleri	23
Tablo 3: Perikardiyal efüzyonda hemodinamik özellikler	26
Tablo 4: Perikard tamponadının ekokardiyografik bulguları	43
Tablo 5. Kronik perikard efüzyonunun nedenleri	45
Tablo 6: Hasta ve kontrol grubunun klinik karakteristik özellikleri ve laboratuvar bulguları	73
Tablo 7: Malign perikard sıvılarında protein spotlarının moleküler ağırlıklarına göre gruplandırılması	76
Tablo 8: Kontrol perikard sıvılarında protein spotlarının moleküler ağırlıklarına göre gruplandırılması	77
Tablo 9: Melanie 7 programı ile hastaların birbirleri ile karşılaştırılması	78
Tablo 10: Melanie 7 programı ile kontrol grubunun birbirleri ile karşılaştırılması	79
Tablo 11: Hasta ve kontrol grubunun hep birlikte Melanie 7 programı ile karşılaştırılması	80
Tablo 12: Hasta ve kontrol grubundan iki hastanın birbiri ile karşılaştırılması	82

1. AMAÇ VE KAPSAM

Perikardiyal sıvı başlıca plazmanın ultrafiltrasyonu ile oluşur ve normal miktarı 15-50 ml kadardır. Perikardiyal boşlukta normalden fazla sıvı toplanması ile perikard efüzyonu meydana gelir. Çeşitli lokal ve sistemik hastalıklar perikardiyal efüzyona neden olabilir veya perikardiyal efüzyon idiyopatik olup, herhangi bir semptom yaratmadan yavaşça birikebilir (1). Akut perikardit oluşturan tüm nedenler perikardiyal sıvı birikimi yapabilir. Fazla miktarda sıvı oluşumu maligniteler, tüberküloz perikardit, üremi, miksödem, vaskülitler, bağ dokusu hastalıkları ve parazitozda görülür (2,3,4,5).

Malign perikardiyal efüzyonlara genel otopsilerde %1-4, kanserli hasta otopsilerinde %15-30 oranında rastlanmaktadır (6,7). En sık olarak akciğer kanseri (%30), meme kanseri (%23), lenfomalar ve lösemilere rastlanmaktadır (8). Pek çok tümörlü olguda genel olarak prognoz düzelmiş olmasına rağmen perikardiyal efüzyonların yüksek oranda tekrarlama (%40) ve tamponad gelişiminin ani ölüm nedeni olması, malign efüzyonların tedavisini önemli hale getirmiştir. Perikardiyal tutulumu gösteren semptom ve bulgular primer veya sekonder malign kalp hastalığının ilk bulgusu olabilir (9). Ancak çok daha sık olarak ilerlemiş kanserlerde ortaya çıkmaktadır. Bu hastalarda başka organ sistemlerinde eşlik eden metastazların varlığı nedeniyle yaşam beklentisi genellikle kısadır. Malign perikardiyal efüzyonda tipik olarak üç tedavi yaklaşımı uygulanmaktadır: perikardiyosentez ve intraperikardiyal skleroterapi, perkütan balon perikardiyotomi ve subksifoid perikardiyotomi veya torakoskopik perikardiyal pencere oluşturulması gibi cerrahi yöntemler (10).

Proteomiks, özellikle postgenomik dönemde bir hücre, doku veya biyolojik sıvıların protein profillerinin araştırılmasında bir anahtar teknoloji olarak karşımıza çıkmaktadır. Proteom, bir organizma, doku veya hücrede herhangi bir anda bulunan proteinlerin tümünü ifade eder. Proteomun analiz edilmesi olarak da kısaca tanımlanabilen “proteomiks” ifadesi ise pratikte, geniş çaplı protein ayırma ve tanımlama tekniklerinin kullanılması ile yapılan proteom çalışması olarak tanımlanmaktadır. Hastalıkların tanımlanması ve tedavi geliştirmede yaygın olarak kullanılan genetik tekniklere ek olarak gelişen proteomiks teknikler araştırmacılar için büyük bir umut ışığı olmuştur. Proteomiks çalışmalarının gen çalışmalarına ek olarak sunduğu avantajlardan en önemlileri vücut sıvılarında, hücrelerde ve doku biyopsilerinde diyagnostik ve prognostik hastalık belirteçlerinin tanımlanmasına ve yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesine olanak sağlamasıdır. Ayrıca genetik yatkınlık gösteren hastalıkların tanımlanması doğru bir genetik teste gereksinim duyduğu kadar fenotipin de doğru saptanmasını gerektirir. Çünkü bir organizmadaki proteom genomdan farklı olarak daha

dinamiktir ve organizmanın bulunduğu koşula (örneğin patolojik durum) ve zamana bağlı olarak değişebilir.

Kronik perikardiyal efüzyonlar bazı klinik durumlarda önemli morbidite ve mortalite nedeni olabilmektedirler. Etyolojisinin çeşitliliği nedeniyle tanı ve tedavi yaklaşımlarında önemli farklılıklar vardır. Perikardiyal efüzyonlarda klinik görünüm, tanı yöntemleri ve farklı tedavi yaklaşımlarının iyi bilinmesi büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmadaki amacımız akciğer kanserli hastalarda gelişen perikard efüzyonundaki protein içeriğinin proteomiks analizi ile tanımlanması ve malignite ile ilişkili olabilecek yeni bir belirteç proteinin varlığının araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Perikard Anatomisi ve Fizyolojik İşlevleri

Perikard kalbin ve büyük damarların kök kısımlarının etrafını çevreleyen koni şeklinde bir yapı olup, iç kısımda visseral ve dışta pariyetal perikard olmak üzere iki katmandan oluşur (11,12). Orta mediastende, sternum ile 2.-6. kıkırdak kaburgalar arasında, 5.-8. torakal omurların ön tarafında yer alır. Sağda sternumun 1-1,5 cm kadar sağına, solda ise 5. interkostal aralıkta orta hattın 7-9 cm soluna uzanır. Yan kısımlar kıkırdak kaburgalar, plevra ve akciğerlerin ön kenarları ile örtülüdür.

Perikard yukarıda aort kökünün yaklaşık 6 cm üzerinde arkus aortaya, sinoatriyal nodun birkaç santimetre üzerinde vena kava superior ile pulmoner venlere uzanarak bu damarların adventisyası ile kaynaşır. Superior ve inferior pulmoner venlerin üzerinden geçerek vena kava inferiora ulaşır. Vena kava inferiorun çevresinde yüzük gibidir, ancak bu damarı sarmaz ve yine bu bölgede diyafragma yapışır. Sol atriyuma pulmoner venlerin girdiği yerde atriyoventriküler sulkusun üst kısmında yapışır. Sol atriyum arka duvarı perikardın dışında kalmaktadır.

Perikard mediyasten içinde komşu dokulara ligamanlar aracılığıyla gevşek bir şekilde bağlanır. Taban kısmı diyafragmanın sentrum tendineum'una kaynaşmıştır. Önde sternumun arka yüzüne ligamentum sternopericardiaca aracılığıyla bağlanır. Arka yüzünü omurlara bağlayan bağlara da ligamentum pericardacovertebrales adı verilir. Bu bağlar solunum fazı ve vücudun postüründen bağımsız olarak kalbin göğüs boşluğu içinde oldukça sabit bir şekilde kalmasını sağlar.

Visseral perikard kalbin epikard yüzeyine gevşek bir bağ dokusu ile yapışık tek katlı mezotel hücreleri içeren seröz bir membrandan ibarettir. Visseral perikard büyük damarların çıkış yerinde geriye doğru kıvrılarak kesintiye uğramaksızın pariyetal perikardın iç yaprağını oluşturmaktadır. Kalbin yüzeyini örten kısmına lamina visceralis veya epikardiyum, pariyetal perikardın iç yüzeyini kaplayan kısma ise lamina parietalis adı verilir. Perikardın dış kısmını oluşturan pariyetal perikard (pericardium fibrosum) fibröz bir doku olup, visseral perikard ve pariyetal plevraya oranla daha kalın bir zardır. Pariyetal perikard kalınlığı yaklaşık 0,8-2,5 mm arasında değişmektedir. Pariyetal perikard büyük ölçüde aselüler olup hem kollejen hem de elastin lifler içermektedir. Bu iki katman arasında perikard boşluğu bulunmaktadır.

Aorta ve trunkus pulmonalis, visseral perikard tarafından ortak olarak sarılmışlardır. Fibröz perikard kesildiği zaman parmak aorta ve turunkus pulmonalisin arkasına sokulabilir. Atriyumlar ve süperior vena kavanın önünde, proksimal çıkan aorta ve pulmoner arterin arkasında kalan perikard boşluğuna transvers sinus, sol atriyum ve dört pulmoner venin arkasında kalan ters U şeklindeki boşluğa oblik sinus (cul de sac, Haller çıkması) adı verilir.

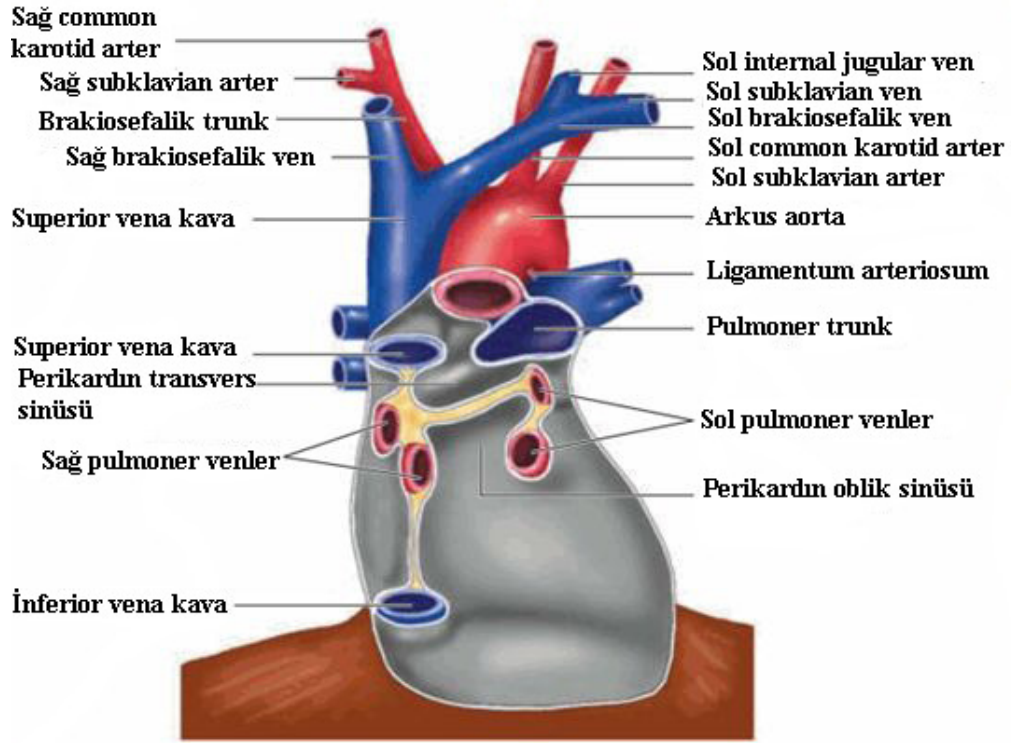
Perikard yaprakları arasında normal olarak 15-50 ml seröz perikard sıvısı bulunur. Bu sıvı kan plazmasının bir ultrafiltratıdır (13). Perikardiyal sıvıdaki protein konsantrasyonu plazma protein konsantrasyonundan daha düşüktür. Ancak albümin, plazmada fazla bulunması ve transmembran geçişinin kolay olması nedeni ile perikardiyal sıvıda rölatif olarak fazladır. Perikardiyal sıvının elektrolit konsantrasyonu plazma ile benzerdir, sıvı osmolaritesi plazma osmolaritesinden biraz daha azdır (14,15). Perikard sıvısının miktarı ve iyon dengesi visseral perikardın mezotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan 1 mikron genişliğinde ve 3 mikron yüksekliğindeki mikrovilliler tarafından düzenlenir (16).

Perikardı besleyen ana arterler, arteria torasica internanın dalları olan arteria perikardiakofrenica ve arteria muskulofrenikadır. Ayrıca bronşiyal, özofajiyal ve üst frenik arterlerden de ince dallar alır. Lamina visseralis koroner damarlardan beslenir. Venleri vena azigosa, ayrıca vena perikardiakofrenika ve vena torasica interna'ya açılır.

Pariyetal perikard ve içini döşeyen lamina pariyetalis nervus frenikus tarafından innerve olur. Visseral perikardda sinir bulunmaz. Bu nedenle perikard kökenli ağrılar pariyetal yapraktan kaynaklanır, nervus frenikus tarafından iletilir ve sternumun arkasında hissedilir. Vagal lifler ise özofajiyal pleksustan kaynaklanır. Perikardın ayrıca sempatik sinirleri de mevcuttur.

Pariyetal perikardın lenfatikleri ön ve arka mediastinal nodlara, visseral perikardın lenfatikleri süperfisyal pleksus ile trakeal ve bronşiyal mediastinal nodlara drene olur. Perikardiyal lenfatikler subepikardiyal alandan mediastinal nodlara sıvıyı drene ederler,

buradan da lenf, duktus torasikus aracılığıyla venöz sisteme boşalır. Mezotel hücreleri ve mikrovillileri sıvının temizlenmesini sağlarlar.



Şekil 1: Kalp çıkartıldıktan sonra büyük damarların çıkış yerleri yakınında perikard kıvrımı. Vena kava ve damarların perikard boşluğu içinde olduğuna dikkat edin. (Alıntı Johnson D [ed]: The pericardium. In Standring S, et al (eds): Gray's Anatomy, St. Louis, Mosby, 2005, pp 995-996.)

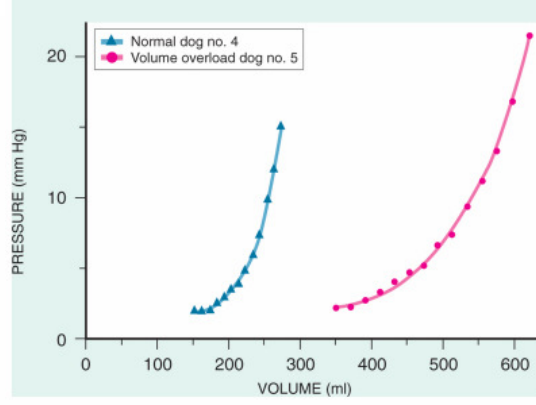
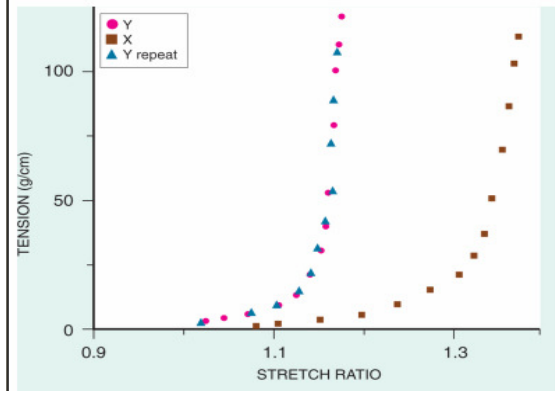
2.2. Perikardın fizyolojik işlevleri

Perikardiyektomi herhangi bir olumsuz sonlanıma neden olmamakla birlikte normal perikard da işlevseldir. Perikardın başlıca işlevleri aşağıdaki gibi özetlenebilir (17,18,19):

- 1) Perikardı bağlayan ligamanlar kalbi anatomik olarak yerinde tutarak vücut pozisyonundaki değişiklikler sırasında aşırı hareket etmesini önler.
- 2) Perikard kalp ile çevre dokular arasındaki sürtünmeyi azaltır. Kaygan perikard sıvısı aracılığıyla kalbin çalışması sırasında sürtünmeyi asgari düzeye indirir, içinde rahat hareket edebileceği bir ortam oluşturur.

- 3) Komşu organlardaki enfeksiyon ve malignansilerin kalbe yayılmasına karşı bir bariyer oluşturur.
- 4) Kalp üzerindeki hidrostatik basınçların dağılımını dengeler. Negatif basınç sayesinde ventrikül sistoli sırasında atriumlara kan doluşu kolaylaştırır
- 5) Kalbin aşırı dilatasyonunu önler. Bu işlevi özellikle sağ kalp boşlukları gibi duvarları ince olan bölgeler için daha önemlidir.
- 6) Mezotel hücrelerinden büyük miktarda prostasiklin (PGI₂) ve diğer maddelerin salgılanması ile sempatik nöral düzenleme, kalp kontraktilesi ve koroner vazodilatasyonda rol oynar (19).
- 7) Her iki ventrikül arasında diyastolik coupling'i sağlar. Ventriküllerin diyastolik doluş sırasında birbirleriyle etkileşmesine neden olur.
- 8) Perikard oldukça iyi innerve olur. Ayrıca mekano ve kemoreseptörler ile frenik afferentleri de taşır (18). Bu reseptörlerin işlevleri tam olarak anlaşılmamış olmasına rağmen perikard ve epikardın veya her ikisinin irritasyonundan kaynaklandığı düşünülen reflekslerin oluşumunda ve perikarda ağrı uyarılarının taşınmasında rol oynamaktadır.

Normal perikardın en iyi tanımlanmış işlevi kalp hacmini kısıtlayıcı etkisidir (20). Bu işlev perikard dokusunun mekanik işlevlerini yansıtmaktadır (21). Pariyetal perikard lastiğe benzer bir gerim gücüne sahiptir. Fizyolojik ve daha düşük kalp hacimlerine karşılık gelen düşük gerimlerde doku oldukça esnektir (Şekil 2A). Hacimdeki ani ve büyük artışlarda perikard içi basınç hızla artar ve perikard daha fazla gerime direnç gösterir. Bu geçişin olduğu perikard gerim-zorlanma noktası, fizyolojik kalp volümlerinin üstünde olasılıkla kollajen demetlerinin düzleşmesine bağlı gerimlere karşılık gelmektedir. Aynı zamanda perikard kesesi oldukça düşük bir rezerve sahiptir ve perikard içindeki hacim belli bir eşik değere ulaştıkça perikard daha fazla genişleyemez ve içindeki basınç ani yükselme gösterir ve bu basınç kalp odacıkları içine iletilir (Şekil 2B). Perikard basınç-volüm ilişkisinin eğri kalıbı kritik efüzyon düzeyine erişildiğinde oldukça küçük miktarlarda ilave sıvı artışları perikard içi basınçlarda büyük artışlara neden olur ve kalp fonksiyonlarını belirgin etkiler. Aksine tamponad hastalarında az miktarda sıvının alınması bile çarpıcı iyileşmelere yol açabilmektedir.



A

B

Şekil 2A: Normal insan perikard dokusunda invitro ortamda gerimle gerilme arasındaki ilişki. Doku birbirine 90 derece açıyla etki eden yönde (X, Y) gerilmiştir. Oldukça düz seyir izlerken birden dik duruma geçen traseyle belirlenen esnek olmayan bir ilişki. Başka bir deyişle gerimle gerilme arasındaki ilişki gerilmenin yönüne bağlıdır.

Şekil 2B: Perikard basınç-hacim eğrisi. Solda normal bir kalpte sağda ise kronik hacim yüklenmesi olan bir kalpte perikard içi hacim artışı ile perikard içi basınç önce fazla değişmez iken hacim artışının devam etmesi ile birlikte hızla bir yükselme gösteriyor.

(Üstte, Lee M-C, Fung YC, Shabetai R, LeWinter MM'dan alıntı: Biaxial mechanical properties of the human pericardium and canine comparisons. Am J Physiol 22:H75, 1987; Bottom, From Freeman G, LeWinter M: Pericardial adaptations during chronic cardiac dilation in dogs. Circ Res 54:294, 1984.)

Perikard basınç-volüm ilişkisi normal perikardın kalp volümünü kısıtlayabildiğini düşündürmektedir. Perikardın kalp yüzeyini etkileme gücü dolusu anlamlı derecede sınırlayabilmektedir. İntrakaviter dolum basıncı bileşeni ise perikard basıncının geçiş dönemini temsil etmektedir. Değişik kalp volümlerinde doğrudan perikard kesesi içindeki basınç ölçülerek perikard basınç-volüm ilişkisi belirlenmiştir. Bu amaçla özel olarak iki yüzey arasında temas basıncını ölçmek üzere tasarlanmış cihazlar kullanılmaktadır (4). Bu çalışmalar özellikle normal kalp volümünün üst sınırı aşıldığında belirgin bir temas basıncının varlığını göstermektedir. Sol kalbe göre dolum basıncı normalde daha düşük olan sağ kalp için temas basıncı orantısız olarak daha çok önem taşımaktadır. Bu çalışmaların bir bölümünde perikard basıncının gerçekte sağ kalp dolum basıncına hemen hemen eşit olduğu saptanmıştır (4,16). Bazı yazarlara göre sağ kalp için yine daha önemli olmakla birlikte bu basınç o kadar yüksek değildir (4).

Normal perikard diyastolün etkileşimine veya intrakaviter dolum basıncının komşu kalp odacıklarına iletimine de katkıda bulunmaktadır. Örneğin sağ ventrikül diyastol basıncının bir bölümü interventriküler septumdan sol ventriküle geçer ve sol ventrikül diyastol basıncına katkıda bulunur. Varlığı sağ ventrikül intrakaviter basıncı artırdığı gibi normal perikard diyastol etkileşimini de güçlendirmektedir. O halde kalp volümü fizyolojik erim üstüne çıktığında perikard giderek artan oranda intrakaviter dolum basınçlarına dıştan temas basıncı nedeniyle doğrudan ve artan diyastol etkileşimi nedeniyle dolaylı olarak katkıda bulunur.

2.2.1. Kalp hastalığında normal perikardın pasif rolü

Kalp odacıkları hızla genişlediğinde perikardın kısıtlayıcı ve diyastol etkileşimine etkisi belirgin derecede artabilir ve hem kalp tamponadı hem de konstriktif perikardite benzeyen bir hemodinamik tabloya yol açar. En sık görülen örneği genellikle sol ventrikül alt duvar infarktüsüyle birlikte akut sağ ventrikül miyokard infarktüsüdür (MI) (22). Bu durumda kalbin sağ tarafı hızla genişleyerek toplam kalp volümü perikardın rezerv volümünü aşar. Perikard kısıtlaması ve etkileşimde artış sonucu sol ve sağ dolum basınçları yüksek düzeylerde eşitlenir. Sistemik venöz basınçta inspirasyonda artış (Kussmaul belirtisi) ve paradoks nabız gözlenebilir. Benzer hemodinamik etkilere akut akciğer embolisi ve subakut mitral yetersizliğinde de rastlanmaktadır. Sol atriyumun geniş ölçüde perikard dışı lokalizasyonda olduğu ve daha kalın duvarlı sol ventrikülün sağ ventrikül gibi akut genişlemediği için saf sol ventriküler MI'da bu çeşit hemodinamik değişikliklerin görülmemesi dikkat çekicidir.

Dilate kardiyomyopati veya regürjitan kapak hastalıkları gibi nedenlerle oluşan kronik kardiyak dilatasyonda normal perikardın rezerv volümünü çok aşan kalp volümleri görülebilir. Buna rağmen aşırı kısıtlayıcı etkilere genellikle rastlanmamaktadır. Bu gözlem perikardın kalp volümündeki belirgin uyum sağlamak için kronik adaptasyona maruz kaldığını işaret etmektedir. Deneysel kronik aşırı volüm yüklenmesinde perikard basınç-volüm eğrisi sağa doğru kayıp eğimi azalmakta, artan perikard yüzey alanına göre daha uyumlu hale gelmekte, sol ventrikül diyastolik basınç-volüm ilişkisi daha az etkilenmektedir. Bu nedenle kronik gerime yanıt olarak perikard dokusunda belirgin bir büyüme saptanır. Tipik olarak tamponada neden olmayan yavaş birikimli perikard efüzyonlarında da benzer etkilerin oluşması mümkündür.

2.3. Perikard Hastalıkları

Perikard hastalıkları; doğumsal perikard hastalıkları (perikardın doğumsal yokluğu), perikard kistleri ve perikarditler şeklinde sınıflandırılabilir.

2.3.1. Perikarditler

Perikardit perikard kesesinin inflamatuvar hastalığıdır. İnflamatuvar değişiklikler çok çeşitli nedenler sonucunda oluşabileceği için, klinik tablo da etiyolojiye bağlı olarak farklılıklar arz eder (23) (Tablo 1). Farklı etiyolojiler arasında en sık görülenler idiyopatik, enfeksiyöz (bakteri, virus, mantar ve parazitlere bağlı), hipersensivite reaksiyonları (kollajen doku hastalıkları, postmiyokardiyektomi sendromu, postinfarktüs sendromu, bazı allerjik hastalıklar) ve metabolik hastalıklar seyrinde oluşan perikarditlerdir.

İnflamatuvar perikarditler klinik olarak akut veya kronik bir seyir gösterebilir. Bu nedenle klinik seyirlerine göre akut (<6 hafta), subakut (>6 hafta-6ay) ve kronik perikardit (>6ay) olmak üzere üç grupta incelenirler (24,25).

2.3.1.1. Akut perikardit

2.3.1.1.1. Etiyoloji; Epidemiyoloji

Akut perikardit altı haftadan daha uzun süreli olmayan çeşitli hastalıklarda ortaya çıkan perikardiyumun inflamasyonuna denir (23) (Tablo 1) . Perikardite neden olan durum veya etkene bağlı olarak inflamasyonun özellikleri ve klinik seyri değişiklikler gösterir. Ancak olguların çoğu idiyopatiktir ve rutin tanısal testlerle herhangi bir özel etiyolojinin saptanmadığı perikardit durumunu ifade etmektedir (4,5,21,26).

Tablo 1- Akut Perikardit Nedenleri
İdiyopatik (75-80%)
Enfeksiyonlar Viral (Coxsackie A9, B1-4, Echo 8, EBV, CMV, Varicella, Rubella, HIV, Parvo B19, İnfluenza, Adenovirus, Hepatit B, Kabakulak, Kızamık) Bakteriyel: (Pnömonokok, meningokok, streptokok, gonokok, hemophilus, treponema pallidum, borreliosis, chlamydia, tuberculosis) Fungal: Candida, histoplazma Paraziter: Entameba histolytica, echinococcus, toxoplasma Mikoplazma Riketsiya Spiroketal
Neoplastik Primer: Mezotelyoma, sarkoma Sekonder: Akciğer, meme, mide ve kolon karsinomları, lökoma ve lenfoma, melanom, sarkom ve diğer
İmmün-İnflamatuar Bağ dokusu hastalığı: SLE, RA, vaskülit, skleroderma, DM/PM, Reiter, FMF (Ailesel akdeniz ateşi), Wegener hastalığı, PAN, Sarkoidoz, Crohn hastalığı/ Ülseratif kolit/ Çöliak hastalığı, Whipple hastalığı , Behçet hastalığı, poliarteritis nodoza İlaça bağlı: Procainamide, INH, hidralazine, siklosporin Hipersensivite reaksiyonları: Postperikardiyotomi sendromu Postmiyokardiyal infarktüsü sendromu (Dressler sendromu-akut miyokard infarktüsünün ilk haftasında – perikarditis epistenocardica) Romatizmal ateş Otoreaktif perikardit İlaçlar: Procainamid, hidralazin, izoniazid, penisilin, metiserjit, minoksidil, fenitoin, kromolin, dantrolen, daunorubisin
Travma Direk delici ve künt yaralanmalar, özafagus perforasyonu, kalp ameliyatı, kateterizasyon veya pacemaker implantasyonu sırasında perforasyon
Metabolik nedenler Böbrek yetersizliği (üremi- viral, toksik, otoimmün, diyaliz perikarditi) Miksödem (seröz, kolesterolden zengin perikard efüzyonu) Addison hastalığı Diyabetik ketoasidoz Kolesterol perikarditi Gebelik Gut Hipoalbuminemi
Radyasyon (mediastinal radyoterapi)
Koroner anjiyoplasti, implante edilebilir defibratörler, kalp pilleri
Doğumsal Kistler, perikardın doğumsal yokluğu
Komşu organ hastalıkları Akut miyokard infarktüsü (P. epistenokardica- transmural MI sonrası 1-5. günler) Miyokardit (epimiokarditis) Aort anevrizması (diseksiyon) Pnömoni Akciğer infaktı Özofagus hastalıkları Kalp yetersizliğinde hidroperikardiyum Paraneoplastik perikardit Disseke anevrizma
Chylopericardium

Kuşkusuz çok sayıda tanı konmamış olgu varlığı nedeniyle akut perikarditin toplu insidansını belirlemek zordur. Otopsi serilerinde sıklığı yaklaşık %1 olarak saptanmıştır (4,5).

Perikardit acil servise non-iskemik göğüs ağrısı ile gelen hastaların %5'inde ve elektrokardiyografide ST yüksekliği saptanan hastaların %1'inde nispeten yaygın görülen bir hastalık olmasına rağmen kesin olarak sıklığını gösteren bir çalışma yoktur (5,27). Akut olguların yüzde kaçının idiyopatik perikardit oluşturduğu belli değildir. Toplum demografileri, viral enfeksiyonların prevalansındaki bölgesel ve mevsimsel değişiklikler de insidansı etkilemektedir. Ancak akut perikardit olgularının %80-90'nının idiyopatik olduğu tahmin edilmektedir (4,5,21,26). Hastaneye yatışı gerektiren perikardit hastalarının yüzdesi daha düşüktür ve genç, daha önce sağlıklı hastalarda hastaneye yatış oranı daha yüksektir. Tüberküloz perikardit akut perikardit nedeni olmasına rağmen daha çok kronik semptomlar vermektedir. Bakteriyel perikardit de akut perikard inflamasyonu belirti ve bulguları ile ortaya çıkabilmesine rağmen daha çok perikard efüzyonu, sepsis, pnömoni gibi tipik enfeksiyon tablosu kliniğe hakimdir. Transmüral MI'den 24-72 saat sonra epikard-MI sınırında lokal inflamasyonun neden olduğu perikardit ve Dressler sendromunun neden olduğu gecikmiş perikardit de sık görülmektedir. Trombolitikler ve miyokard revaskülarizasyonun ortaya çıkışı ile insidansı düşmüştür. Bu istisnalarla akut perikarditin etiyolojik tanılarının dağılımı zamanla çok az değişmiştir. Aksine perikard efüzyonu ve konstriksiyonun epidemiyolojisi belirgin derecede değişmiştir.

Perikardın patolojik görünümü altta yatan nedene ve inflamasyonun şiddetine bağlı olarak değişir. Hastalarda perikardiyal efüzyon ya hiç yoktur veya klinik anlamlılık oluşturmayacak miktardadır. Perikard efüzyonunun eşlik etmesi halinde seröz, serö-fibrinöz veya fibrinöz, pürülan veya süpüratif perikardit olmak üzere sıvının karakterine göre 3 grup altında toplanır.

Seröz Perikardit: Perikard boşluğunda toplanan sıvı hücreden fakirdir. Mezotel hücrelerinden salınan ince bir eksüda sıvısı vardır. İdiyopatik perikarditlerde ve diğer nedenlere bağlı akut perikarditlerin başlangıcında görülen inflamatuvar yanıt seröz perikardit şeklindedir.

Serö-fibrinöz ve Fibrinöz Perikardit: Perikarditli hastalarda en sık gözlenen morfolojik patterndir. Perikard sıvısında protein içeriği ve fibrinojen yüksektir. Fibrinojen fibrine dönüşebilir. Makroskopik olarak kaba ve pürtüklü bir görüntüsü olduğu için “tereyağlı ekmek” görüntüsü olarak da tanımlanmıştır. Her iki perikard yaprakçığı kalınlaşarak yapışıklıklar oluşturur. Çoğu zaman sekel bırakmaz ancak skar dokusu oluşturup konstriktif perikardite yol açabilir.

Pürülan veya Süpüratif Perikardit: Sıklıkla bakteriyel enfeksiyon ajanlarına bağlı oluşan yoğun inflamatuvar bir yanıttır. Seröz zarlar eritemli ve yüzeyle pürülan eksüda ile kaplıdır. Sıvının hücre sayısı fazladır.

Hemorajik Perikardit: Perikardiyal inflamasyona kanamanın eşlik etmesi durumunda görülür.

Komplike olmamış akut perikarditin fizyopatolojisi karmaşık değildir. Belirti ve bulguların tümü perikard inflamasyonu sonucu oluşmaktadır. Olguların küçük bir bölümü komplikedir. Ayrıca bazı oldular myokarditle ilişkilidir (4,5,26). Eşlik eden myokardit çoğu zaman yalnızca biyolojik belirteçlerin (kreatin kinaz, troponin I) salınımı ile belirti verse de bazen klinik açıdan belirgin miyokard disfonksiyonu oluşabilir (28,29).

2.3.1.1.2. Klinik Özellikler

Perikardite neden olan durum veya etkene bağlı olarak inflamasyonun özellikleri ve klinik seyri değişiklikler gösterir. Viral veya bakteriyel perikarditlerde semptomlar belirgin iken, üremik veya tüberküloz perikarditler daha yavaş seyirlidir. Tipik semptomlar, göğüs ağrısı, çarpıntı ve nefes darlığıdır.

Ağrı; perikard, frenik sinirler, komşu plevra ve epikardiyal sempatik sinirlerin enflamasyonuna bağlıdır. Göğüs ağrısı oldukça şiddetli, bıçak saptanır gibi, bazen de künt ve sıkıştırıcı olabilmektedir. Niteliği değişmekle birlikte sıklıkla keskin ve hemen hemen her zaman plöratik ağrı şeklindedir. Perikardiyal ağrı tipik olarak hızla başlar, derin nefes alma, öksürme, yutma ve sırt üstü yatma ile artar, oturunca ve öne doğru eğilince azalır. Retrosternal bölgede, sol prekordiyal alanda, epigastrium veya batında sol üst kadrana lokalize olabilir. Bazen trapezeus kemerine yayılım gösterebilir ve perikard irritasyonu için patognomik kabul edilebilir (30). Perikardın alt üçte biri frenik sinirle innerve olduğundan ağrı sol kola ve boyuna yayılabilir. Ağrı saatler ve günler boyunca sürebilir.

Ayrıca perikardın bronşlara, reküran laringeal sinire ve özofagusa bası yapması sonucu nefes darlığı, öksürük, ses kısıklığı ve yutma güçlüğü gibi semptomlar da ortaya çıkabilir. Altta yatan nedene bağlı ateş, miyalji gibi bulgu ve semptomlar ortaya çıkabilir. Perikarditteki ateş genellikle 39°C'den düşük seyredir. Ancak yaşlılarda ateş olmayabilir, hatta böbrek yetersizlikli hastalar hipotermik olabilir. Sistemik reaksiyonun diğer semptomları ateş yükselmesine eşlik eden üşüme, titreme ve halsizliktir. Spesifik etyolojik tanı ipuçları için hasta öyküsünü dikkatlice gözden geçirmek önemlidir.

2.3.1.1.3. Fizik muayene

Akut perikarditli hastada tam bir fizik muayene yapmak, spesifik etiyolojik tanıları araştırmak ve gelişebilecek komplikasyonları erken tanımak adına önemlidir.

Komplike olmamış akut perikardit hastaları çoğunlukla huzursuz, kaygılı görünmekte ve yüksek ateş, sinüs taşikardisi saptanabilmektedir. Karakteristik muayene bulgusu prekardiyal frotman olarak adlandırılan, tüm perikardiyum üzerinde duyulabilen gıcirtılı bir sürtünme sesidir. Enflamatöz serozal yüzeylerin birbirine sürtünmesi nedeniyle oluşur. Ancak her zaman duyulmayabilir. Kuru perikarditlerde ve akut perikarditlerin başlangıç ve bitiş evrelerinde perikard yapraklarının birbirine sürtünmesi sonucu duyulur. Efüzyon gelişince sürtünme kaybolduğu için duyulmaz. Akut perikarditin patognomonik bulgusu olan frotman, inflamasyonun düzelmesi ile ortadan kalkar. Uzun süre frotman duyulması kronikleşme lehine bir bulgu olabilir. Efüzyonlu perikarditlerde ayrıca kalp sesleri hafiflemiş veya uzaktan gelir gibi duyulur.

Frotman en sık sternum sol kenarı ve apeks arasında duyulur ancak her yerde duyulabilir. En iyi öne doğru eğildiği ve nefesini tuttuğu sırada steteskopun diyaframı göğüs duvarına sıkıca bastırılarak duyulur. Soluk alıp verme ile genellikle etkilenmez, soluk tutulduğunda plevral frotmanın kaybolması ve perikardiyal frotmanın aynı şekilde duyulmaya devam etmesi ile birbirinden ayrılır. Klasik frotman ventrikül sistolü, erken diyastol dolumu ve atriyum kasılmasına tekabül eden üç bileşenden ibaret olup kar üzerinde yürüme sesine benzetilebilir. Ancak bu üç komponent her zaman bir arada olmayabilir. Olguların üçte birinde sadece ventrikül sistolü ve diyastolü sırasında, %10 olguda ise sadece ventrikül sistolü sırasında frotman duyulur. Frotmanın şiddeti saatler içinde değişebilir, geçici olarak veya aniden özellikle sıvı toplanması ile kaybolabilir.

2.3.1.1.4. Tamı Testleri:

Klinik olarak perikardit tanısı göğüs ağrısı, EKG'de ST segment elevasyonu ve kalp oskültasyonunda perikardiyal frotman duyulması ile konulur. Perikarditli hastalarda etiyoloji; öykü ve fizik muayene ışığında, tanısal testlerle aydınlatılmaya çalışılır.

2.3.1.1.4.1. Elektrokardiyografi:

Akut perikardit tanısında elektrokardiyografi en önemli laboratuvar testidir. EKG bulguları normal, nonspesifik veya perikardite özgü tipik bulgular şeklinde olabilir. Tipik EKG değişiklikleri dört evrede incelenir (9).

Evre I: aVR, V1 ve V2 haricinde tüm derivasyonlarda konkav ST segment elevasyonu ve PR segment depresyonu (aVR’de PR elevasyonu).

Evre II erken faz: ST junction bazale döner, PR depresedir (10).

Evre II geç faz : T dalgası progresif olarak düzleşir ve negatifleşir (ST düzleşince).

Evre III: Yaygın T dalga negatifliği.

Evre IV: EKG tamamen normale döner.

I. Evre: İlk bulgu PR segmentinin çökmesidir (10). Semptomların başlangıcından itibaren ilk 24-48 saat içerisinde gelen hastaların %70’den fazlasında görülür ve atriyal miyokarditin göstergesi olarak kabul edilir. ST segmentinin konkav elevasyonu birinci evrenin tipik EKG bulgusu olup semptomların başlamasından yaklaşık 24 saat sonra ortaya çıkar ve 9 gün kadar sürer (Şekil 3). DI, DII, aVL, aVF ve V3-6 derivasyonlarda konkav ST segment elevasyonu saptanırken, aVR’de her zaman, V1’de çoğunlukla ve V2’de de bazen ST segment depresyonu izlenir. ST segment elevasyonu erken repolarizasyon ile karışabilir veya miyokard infarktüsünü taklit edebilir. Ancak perikarditte daha yaygın ve daha çok derivasyonda görülen tutulum nedeniyle akut perikardit ile transmural iskemi arasında ayırım yapmak genellikle zor değildir. Erken repolarizasyonda bulgular hemen normale dönmez, J noktası elevasyonu genellikle önemsiz, ST elevasyonu QRS bitiminin hemen sonunda ve J noktası ile birlikte dir. Eğer V6’ da J noktası T dalgasının %25 ‘inden daha fazla eleve ise perikardit ile uyumludur. Bu evrede T dalgaları pozitif yöndedir (21,26).

II. Evre: Erken döneminde ST segmentindeki elevasyon geriler ve ST segmenti izoelektrik hatta döner. PR segmenti hala deprese olabilir. T dalgası pozitif yöndedir. Geç dönemde T dalgasında düzleşme ve negatifleşme görülür.

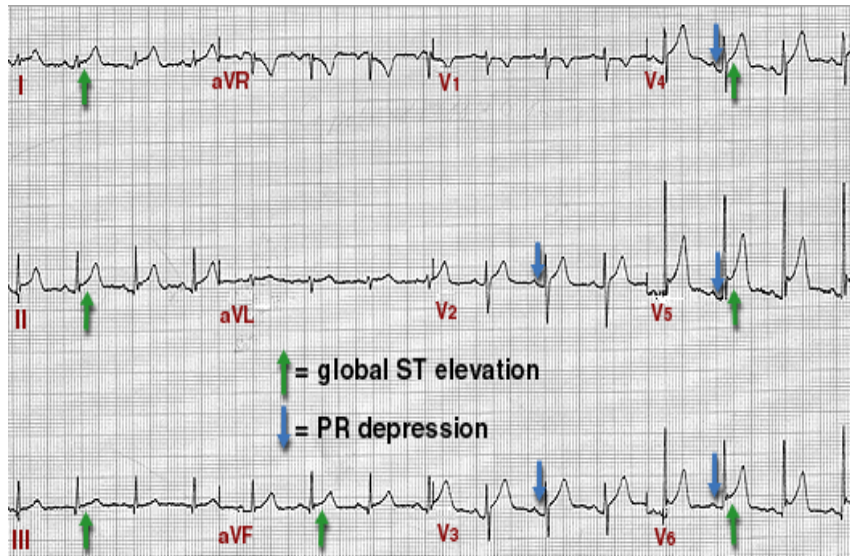
III. Evre: ST ve PR segmenti izoelektrik hattadır. Yaygın T dalgası negatifliği vardır (Şekil 4). Miyokardiyal iskemi, biventriküler yüklenme, miyokardit ile karışabilir. Bu

evredeki değişiklikler haftalarca sürebilir. Perikarditte T negatifliği ST segmenti bazale döndükten sonra oluşur ve Q dalgası yoktur.

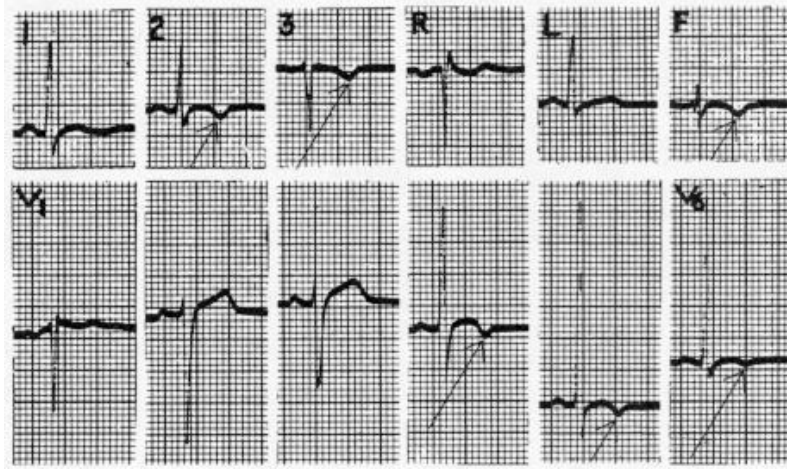
IV. Evre: EKG perikardit öncesi haline döner. Bazı hastalarda EKG günler veya haftalar sonra normale dönse de genellikle T dalga düzleşmesi ve negatifliği sabit kalır ve evre IV fazı göremeyiz.

Aşırı sıvı artışı olan perikarditlerde voltaj düşüklüğü ve bazen elektriksel alternans (EKG deki QRS komplekslerinin, P ve T-U dalgalarından bazılarının yüksek bazılarının ise kısa olması) görülebilir, perikardiyal efüzyonun aşırı olduğunun göstergesidir.

Günümüzde akut perikarditin aspirin ve nonsteroid antiinflamatuvar (NSAI) ilaçlarla etkili tedavisinin mümkün olması nedeni ile pürülan perikardit olguları dışında sadece ilk evre EKG değişiklikleri izlenmektedir (31). Akut perikardit sırasında aritmik olaylar gözlenebilir (32,33). En sık görülen aritmiler supraventriküler taşikardi ve atriyal fibrilasyondur. Atriyovenriküler bloklar ve ventrikül erken atımları daha nadir rastlanan ritim ileti bozukluklarıdır. Aritmik olayların etyopatogenezinde perikarditten ziyade eşlik eden miyokardit sorumludur. Kronik perikarditlerde ise T düzleşmesi veya negatifliği, voltaj düşüklüğü ve sıklıkla atriyal fibrilasyon gibi aritmi bulguları olabilmektedir. Klinik genellikle 1-2 hafta içinde geriler ancak EKG değişiklikleri haftalar hatta aylarca devam edebilir.



Şekil 3: Akut perikarditte evre I EKG örneği. aVR hariç tüm derivasyonlarda yaygın konkav ST segment yükselmesi ve PR depresyonu



Şekil 4: Akut perikarditte evre III EKG örneği. Yaygın T negatifliği.

2.3.1.1.4.2. Laboratuvar testleri

Perikarditli hastalarda neden araştırırken, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), CRP, LDH, periferik yayma ve lökosit formülü gibi inflamasyon belirteçleri, üre, kreatinin, elektrolitler, CK MB, troponin gibi miyokardiyal lezyon belirteçleri ve özel testler (TSH, T3, T4, ASO, antiDNAaz-B, boğaz kültürü, Paul-Bunnell, soğuk agglutinler, mikoplazma, RF, ANA, antiDNA, immün kompleks ve kompleman düzeyleri, balgam sitolojisi ve kültürü, tüberkülin deri testi, Mantoux testi, fungal presipitinler) başlıca başvuru laboratuvar testleridir.

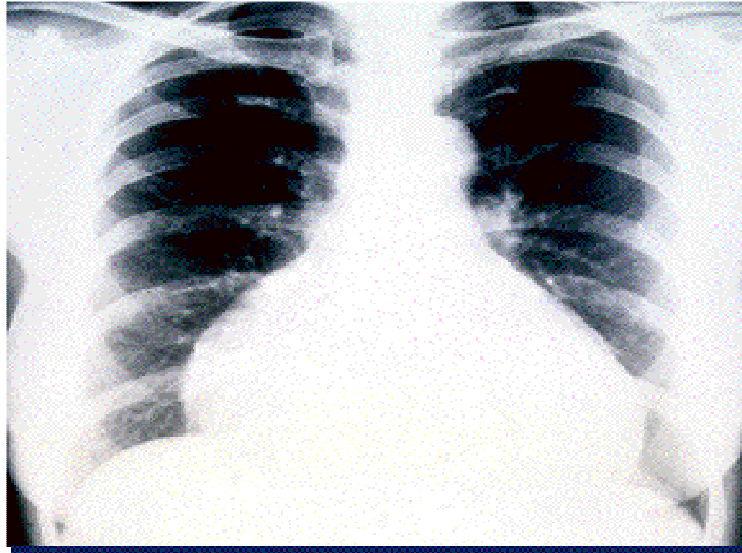
Akut idiyopatik perikarditte orta derecede tipik olarak 11.000-13.000/ml düzeyinde lökositoz görülmektedir. Anlamli derecede daha yüksek düzeyler başka etiyolojilerin varlığı konusunda uyarıcı olmalıdır. Lökopeni nadirdir ve eşlik eden hastalık sırasında oluşan kemik iliği depresyonunun göstergesidir. Eritrosit sayılarının normal olması gerektirir, anemi de başka etiyolojileri düşündürür. Akut idiyopatik perikarditte ESR ancak orta düzeyde yükselmiş olmalıdır. ESR'nin olağanüstü yüksek değerleri otoimmün hastalıklar, tüberküloz veya malignensiye işaret edeceğinden akut perikarditte ESR makul bir tarama testidir.

Miyokardit veya MI kanıtı olmayan akut perikarditli hastalarda kardiyak enzimlerin (CK MB, troponin) yükselebileceği gösterilmiştir (28,29). Bu hastalarda asemptomatik miyokarditin yüksek insidansla akut perikardit tablosuna eşlik ettiğini göstermektedir.

Miyokard hasar biyolojik belirteçleri yükselmiş hastalarda hemen her zaman ST segment yüksekliğinin mevcut olduğu görülmektedir. Biyolojik belirteçleri yükselmiş hastalarda başka bir kaygı nedeni de daha sonra perikardite neden olan asemptomatik MI'dır. Patolojik Q dalgalarının eşlik ettiği infarkt geçiren hastalarda sık sık post MI perikardit oluşmaktadır.

2.3.1.1.4.3. Göğüs Radyografisi:

Komplike olmamış akut perikardit olgularında göğüs radyografisi genellikle normaldir. Perikard efüzyonunun miktarına bağlı olarak kalp gölgesi normal veya normalden geniş olabilir. Kalp gölgesinin genişlemesi için en az 250-300 ml perikardiyal sıvı birikimi gereklidir. Effüzyonlu perikarditlerde tipik çadır manzarası veya yere konmuş su torbası görünümü olabilir. Ayırıcı tanıda hipertrofi ve dilatasyona bağlı kalp genişlemeleri düşünülmelidir. Tüberküloz, malignensi gibi durumlarda bazen radyografi nedene yönelik ipuçları verebilir. Ara sıra olasılıkla viral bazen mikoplazma enfeksiyonları ile ilişkili akciğer infiltratları veya plevra efüzyonları görülmektedir. Perikarditli hastaların %25' inde pleural efüzyon gelişir ve kalp yetersizliğinin aksine sıvı genellikle sol taraftadır. Pulmoner vasküler konjesyon birlikte ağır miyokardit olduğuna işaret edebilir. Konstriktif perikarditlerde ise temiz akciğer alanları, normal veya hafif artmış kalp silüeti, perikardda kalsifikasyon olabilir.



Şekil 5: PA Akciğer grafisi. Masif perikardiyal efüzyon ve artmış kalp silüeti

2.3.1.1.4.4. Ekokardiyografi

Akut idiyopatik perikarditli hastaların çoğunda ekokardiyografi normaldir. Akut perikarditin perikard efüzyonu ve/veya perikard kalınlaşması dışında özel bir bulgusu yoktur (34). Ekokardiyografide perikard kalınlığının artması perikardın ekojenitesinin artması ile kendini gösterir. Ancak normal perikardın da ekojenitesi fazla olduğu için sadece ekojeniteye bakarak perikard kalınlaşması kararı vermek güçtür. Akut idiyopatik perikarditte küçük efüzyonlar oldukça sık görülmekte olup kaygı nedeni değildir. Orta derecede ve daha geniş efüzyonlar daha nadir görülmekte olup idiyopatik perikardit dışında bir tanıya işaret edebilir. Perikard efüzyonu varsa bası belirtileri, kalınlaşma varsa konstriksiyon oluşturup oluşturmadığı incelenmelidir.

2.3.1.1.5. Ayırıcı Tanı

Göğüs ağrısının ayırıcı tanısında bir çok hastalık göz önünde bulundurulmalıdır. Perikardit ile en çok karıştırılan tanılar pnömoni veya plörezi ile birlikte pnömoni, pulmoner emboli veya enfarktüs, kostokondrit ve gastroözofajiyal reflü hastalığını içerir. MI ve iskemisi karışabilecek diğer tanılardır ve klinik ve EKG ile ayırıcı tanı yapılabilir de bazen koroner anjiyografi gerekebilir. Ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulması gereken diğer tanılar aort diseksiyonu, intraabdominal süreçler, pnömotoraks ve deri lezyonları belirmeden önce herpes zoster ağrısı sayılabilir.

Anginal ağrıdan ayırmada şu özellikler yararlı olabilir: Perikardit ağrısı iskemik ağrılara göre daha uzun sürelidir. Ağrı keskin bir ağrı şeklinde hissedilir. Pozisyon ve öksürük ile şiddeti değişir, vazodilatatör tedaviye yanıt vermez. İskemik ağrılar ise genellikle daha kısa süreli, keskin nitelikte olmaktan çok sıkıntı veya baskı hissi tarzında olan, pozisyon veya öksürmekle şiddeti değişmeyen ve vazodilatatör tedaviye kısmen yanıtı ağrılardır. Pulmoner emboli ve plörezideki ağrı ise daha ziyade yan ağrısı şeklindedir ve EKG değişiklikleri perikardittekinden farklıdır.

Fizik muayenede duyulan frotman sesinin çeşitli üfürümlerle, plevra frotmanı ile, pulmoner emboli, pacemaker sürtünme sesi ve akut hipertiroidi (Means-Lerman sesi) ile ayırt edilmesi gerekir. Özellikle monofazik perikard frotmanı sadece sistolde duyulur ve sistolik üfürümlerden ayırımı güç olabilir.

EKG bulguları iskemik kalp hastalıkları, özellikle akut miyokard infarktüsü veya bir normal EKG varyantı olan erken repolarizasyon paterni ile karışabilir. Ancak iskemik nedenli EKG değişiklikleri birbirleri ile ilişkili derivasyonlarda, perikardite bağlı EKG değişiklikleri ise aVR dışında hemen tüm derivasyonlarda ortaya çıkar. Akut miyokard infarktüsünde infarkt alanının karşısındaki bölgede resiprok ST segment çökmeleri patognomoniktir, perikarditte ise resiprok değişiklikler görülmez.

2.3.1.1.6. Doğal Seyir ve Tedavi

Akut perikardit tedavisine ilişkin geniş çaplı, güncel terapötik çalışmalar yapılmamış olması nedeniyle yerleşik tedavi klavuzu mevcut değildir.

Akut perikardit tedavisi spesifik etiyolojinin tanımlanmasına ve semptomların azaltılmasına yöneliktir. Altta yatan hastalık tedavi edilmelidir. Akut idiyopatik perikardit hastalarının %70-90'ında önemli komplikasyon veya nöks izlenmez ve kendi kendini sınırlayabilir (4,5,21,26,35). Buna göre laboratuvar verileri tanıyı destekliyorsa NSAİ'ler ile semptomatik tedaviye başlanmalıdır. Herhangi bir steroid olmayan anti-enflamatuvar ilaç kullanılabilirse de ibuprofen yan etkisinin azlığı, koroner kan akımına olumsuz etkilerinin olmaması ve doz aralığının genişliği nedeniyle sıklıkla tercih edilen bir ilaçtır. İlaç iki hafta boyunca günde üç kez 600-800 mg dozlarda verilir ve ağrı geçerse kesilir. Çoğu bu rejime tamamen yanıt verir ve başka ilave tedaviye gerek duyulmaz (4,5,21,26,35). Sadece ufak efüzyonları olan ve tedaviye yanıt veren hastaların hastaneye yatırımları gerekmez (22,35). Başlangıçta iyi yanıt vermeyen, geniş efüzyonları olan veya etyolojileri idiyopatik perikardit olmayan hastalar ilave gözlem, tanısal testler ve gerektiğinde tedavi için hastaneye yatırılmalıdır.

NSAİ'lere yavaş veya yetersiz yanıt veren, ciddi ağrı ve dirençli semptomlara sahip hastalara kısa süreli kortikosteroid tedavisi başlanabilir. Kortikosteroidler doz azaltılarak kesilmeli ve tedavinin sonuna doğru NSAİ veya kolşisin eklenmelidir. Prednizon günde 60 mg dozlarda 2 gün verildikten sonra bir hafta içinde yavaş yavaş kesilir. NSAİ ilaçlara yanıtızsızlık durumunda genellikle kolşisin tercih edilmektedir çünkü kortikosteroidlerin relapsları arttırdığına inanılmaktadır (5,22,35). Kolşisin aynı zamanda NSAİ ilaçlara alternatif başlangıç tedavisi olabilir (36,37).

Tekrarlayan perikardit veya steroid bağımlılığında NSAİ kullanımından 48 saat sonra cevap yoksa, NSAİ ile birlikte veya başlangıç tedavisi için kolşisin de önerilmiştir (46,47,48). Kolşisinin tavsiye edilen tedavi dozu bir veya iki gün 2-3 mg oral yükleme sonrasında günde

1 mg idame şeklindedir (36,37). İbuprofen-kolşisin kombinasyonunun da 1-3 gün süre kullanılması yeterli olabilir. Erken dönemde tekrarlama riski olan hastalarda tedaviye 7-14 gün devam edilebilir (36,37). Tüm NSAİ ilaçlar gastrik yan etki yapabileceği için misoprostol veya diğer mukozal koruyucuları eklemek yararlı olabilir.

Perikardit geçirmiş hastalar olayın tekrarlama veya restriktif perikardit gelişmesi riskine karşı izlenmelidir. Perikard inflamasyonu olguların %15-32'sinde tekrarlayabilir. Rekürren perikardit birçok olguda idiyopattir. İlaç dozunun azaltılması sırasında veya ilaç kesildikten sonra rekürrens görülebilir. Rekürren perikardit tedavisinde kolşisin 1 mg/gün en az 1 yıl süreyle kullanılmalıdır. Kolşisin iyi tolere edilir, hastaların bir kısmında gastrointestinal yan etkiler oluşsa da tedavinin kesilmesini gerektirmez. NSAİ veya kolşisin tedavisine rağmen tekrarlayan perikardiyal ağrıları olan veya kolşisini tolare edemeyen hastaların tedavisi problemlidir. Kısa süreli prednison tedavisi uygulanabilir ancak mümkünse uzun süreli tedaviden kaçınılmalıdır. Azotiyoprin veya siklofosfomid gibi nonsteroid immünosüpresif ilaçlar diğer bir alternatiftir ancak bu ilaçlarla yayımlanmış deneyim oldukça sınırlıdır (38). Tedavisi çok zor olgularda bu ilaçlarla düşük dozda sürdürülen tedavi, aralıklı veya sürekli kortikosteroid kullanımına ihtiyacı azalttığı gibi yan etkileri de daha azdır.

Pürülan perikarditte tedavinin esasını cerrahi drenaj ve sistemik uygun antibiyotik verilmesi oluşturur. Hasta protez kapak hastası gibi antikoagülan kullanmak zorunda olan bir kişi ise yakın gözlem altında heparin kullanabilir.

Tüberküloz perikardit tedavisinin amacı yalnızca semptomları gidermek değil, aynı zamanda restriksiyona gidişi engellemektir. Antitüberküloz tedavide sıklıkla ilk 2 ayda isoniazid, rifampisin, pirazinamid, etambutolden oluşan dörtlü ilaç kullanılır (39,40). Sonraki 4 aylık dönemde tedaviye isoniazid ve rifampisin ile devam edilir. Geçmiş yıllarda restriksiyona gidişi engellemek amacıyla steroidler çeşitli araştırmalarda denenmiş ancak kesin bir olumlu sonuç elde edilememiştir. Yine de semptomların düzelmesini hızlandırmak, hem rekürrensi hem de mortaliteyi azaltmak için steroid tedavisi önerilmektedir. İlk 4 haftalık sürede 60 mg/gün prednison veya eşdeğeri başlanır. Sonraki 4 haftada doz 30 mg/gün, 2 haftada 15 mg/gün ve son 1 haftada 5 mg/güne düşürülerek kesilir. Ancak antitüberküloz tedavi ve steroid kullanımına rağmen restriksiyon gelişebileceği unutulmamalıdır. Antitüberküloz tedaviye rağmen efüzyon devam ederse veya kronik tamponad gelişirse erken dönemde perikardiyektomi yapılmalıdır. Ayrıca tüberkülozun neden olduğu restriktif perikarditin optimum tedavisi perikardiyektomidir.

Akut miyokard infarktüsü sırasında oluşan perikarditin tedavisinde tercih edilen tedavi aspirindir (41). Dozu 160-325mg/gün olarak verilebilir. Bazı hastalarda dozunun yükseltilmesi, 2-5 gün süre ile 4 saatte bir 650 mg kullanılması gerekebilir. Diğer NSAİ ilaçlarda miyokard alanının incelenmesi ve rüptür riski söz konusu olabilir. İbuprofen koroner kan akımı artırması nedeni ile tercih edilebilecek bir ilaçtır. Dressler sendromunda ise hastalar hastaneye yatırılarak tamponad gelişme riskine karşı izlenmelidir. Yatak istirahatının yanı sıra NSAİ ilaçlar verilmelidir. Tekrarlaması durumunda kısa süreli kortikosteroid tedavisi gerekebilir.

Açık kalp cerrahisi sonrası oluşan perikardit NSAİ ilaçlar veya kortikosteroidlerle yapılacak bir tedaviye çok çabuk yanıt verir. Erken dönemde gelişen tamponad acil bir durumdur ve genellikle torakotomi ve drenaj gerektirir.

Postperikardiyotomi sendromunda tedavide aspirin veya başka bir NSAİ ilaca 48 saat içerisinde yanıt alınır. Kolşisin kullanımının da postperikardiyotomi sendromunda yararlı olabileceği ve bu sendromun oluşmasını önleyebileceğini düşündüren çalışmalar mevcuttur (42). Tedaviye 10 gün süre ile devam edilmelidir. Semptomları ciddi olan ve standart tedaviye yanıt vermeyen hastalarda kortikosteroidler yararlı olabilir.

Üremik perikardit tek başına diyaliz endikasyonudur. Böbrek hastalığının genel tedavi prensipleri uygulanan hastalarda 10-15 gün içinde efüzyon kaybolur. Yoğun diyaliz programı ile hastaların ≥ 85 'inde klinik düzelme sağlanır. Yoğun diyaliz etkili olmadığı zaman NSAİ ve sistemik kortikosteroid başarılı olabilir. Perikarditin ve perikard efüzyonunun klinik bulguları geriliyorsa hasta idame diyaliz tedavisine alınır. Perikard sıvısı artıyorsa ve tamponad belirtileri görülüyorsa sıvının drenajı, perikarda pencere açılması veya perikardiyektomi gerekir.

Ciddi hipotiroidi vakalarında asit ve plevral efüzyon gibi perikardiyal efüzyon da gelişebilir. Tiroid hormon replasmanı ile efüzyon geriler. İnflamatuar barsak hastalıklarında tedavide aspirin ve diğer NSAİ ilaçlar ve kortikosteroidler verilir. Steroid tedavisi olguların %80'ine uygulanmaktadır (43). Bağı dokusu hastalıklarında da altta yatan hastalığın tedavisi esastır. Genellikle steroid tedavisi uygulanır. Tamponad gelişirse drenaj, konstriksiyon gelişirse perikardiyektomi yapılır.

Asendan aorta diseksiyonunda perikardiyal efüzyon hastaların %17-45'inde ve otopsi vakalarının %48'inde bulunur. Aort diseksiyonu klinik serilerinde CT, MR veya ekokardiyografi ile saptanan perikardiyal tamponad tip I diseksiyonlarda %17-33, tip II diseksiyonda %18-45 ve tip III diseksiyonda %6 görülür. Perikardiyosentez kontrendikedir,

kanama riskini arttırır ve diseksiyonun genişlemesine neden olur. Cerrahi acilen yapılmalıdır (4, 44).

2.3.1.1.7. Akut Perikardit Komplikasyonları

Akut perikarditin komplikasyonları tekrarlayan perikardit, perikardiyal efüzyon ve kardiyak tamponad, restriktif perikardittir. Akut perikardit tanısı konulan hastaların %5'inden azında orta derecede veya daha büyük efüzyonlar saptanır ve önemli efüzyonlar spesifik etiyoloji varlığını düşündürür. Akut perikardit atağından sonra restriktif perikardit gelişme ihtimali tam bilinmemekle birlikte oldukça düşüktür. Miyokardit perikarditin bir komplikasyonu değildir, ancak eşlik eden bir durumdur.

2.3.2. Perikardiyal Efüzyonlar

Perikardiyal boşlukta normalden fazla sıvı toplanması ile oluşur. Çeşitli lokal ve sistemik hastalıklar perikardiyal efüzyona neden olabilir veya perikardiyal efüzyon idiyopatik olup, herhangi bir semptom yaratmadan yavaşça birikebilir (1). Akut perikardit oluşturan tüm nedenler perikardiyal sıvı birikimi yapabilir. Fazla miktarda sıvı oluşumu maligniteler, tüberküloz perikardit, üremi, miksödem, vaskülitler, bağ dokusu hastalıkları ve parazitozlarda görülür (2,3,4,5).

Ayrıca perikardite neden olabilecek inflamatuvar süreç, örneğin; radyasyon sonrası veya ilaca bağlı, perikard efüzyonuna neden olabilir. Kalp cerrahisinden sonra erken dönemde efüzyon oluşabilir ancak nadiren tamponada sebep olur ve birkaç hafta içinde tamamen ortadan kalkar. Perienfarktüs veya perikardit sırasında kullanılan antikoagülanlar perikard efüzyonuna ve tamponad oluşmasında rol alabilir. Ciddi dolaşım yetersizliği olan hastalarda hafif-orta transüda vafında efüzyon olabilir. Künt ve delici travma, MI sonrası sol ventrikül serbest duvar rüptürü, perkütan kardiyak işlemler veya cihaz takılması sonrası perikardiyal kese içine kanama olabilir. Retrograt kanama aort diseksiyonu sonrası ölümlerin en önemli nedenidir. Masif kronik perikardiyal efüzyon oldukça nadirdir ve daha ciddi hastalığa işaret eder. Akut idiyopatik perikardit ile ilgili büyük efüzyonlar nadir bulunmasına rağmen perikarditlerin bu formu tamponad olgularının büyük oranından sorumludur. Rutin diagnostik incelemeler ile herhangi bir neden saptanamayan geniş, semptomatik perikard efüzyonlarının %20' sinden öncesinde tanı almamış, ilk klinik ortaya çıkışı perikard efüzyonu olan malignensiler sorumludur (45). Geçtiğimiz yıllarda ülkemizde Kabukçu ve arkadaşları (46)

tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada 50 perikardiyal efüzyon ve tamponadlı hastanın etiyojileri incelenmiş ve en sık nedenin neoplazi (%30) olduğu, bunu sırasıyla üremi (%22), idiyopatik (%20), viral (%10) ve diğer nedenlerin izlediği saptanmıştır (47,48).

2.3.2.1. Fizyopatoloji ve Etiyoloji

Perikardiyal sıvı başlıca plazmanın ultrafiltrasyonu ile oluşur ve normal miktarı 15-50 ml kadardır. Visseral perikardı oluşturan mezotelyal hücreler tarafından üretilir, pariyetal ve visseral perikard yaprakları arasındaki perikardiyal kavitede birikir. Üretim ve resorbsiyon arasındaki denge bozulduğunda perikardial efüzyon oluşmaya başlar (49,50).

Perikardiyal efüzyon oluşumunun etyolojisinde enflamatuar ve nonenflamatuar süreçler rol oynar. Artmış kapiller permeabilite (örn; hipotiroidi), plazma ve perikard arasında artmış kapiller hidrostatik basınç (örn; konjestif kalp yetersizliği), azalmış plazma onkotik basıncı (örn; siroz ve nefrotik sendrom) varlığında oluşan efüzyonlar transüda karakterindedir. Drenajda lenfatik obstrüksiyon olduğunda oluşan lenfatik sıvı birikimi (örn; malignensi ve tüberküloz) yüksek miktarlarda protein içeren eksüda vasfında perikardiyal efüzyonun birikmesinde rol oynar. Eksüda oluşumunun başlıca nedeni inflammatuar eksüdasyonun serozanın, özellikle lenfatikler ve venlerin resorbsiyon kapasitesini aşmasıdır. Bunun dışında venöz ve lenfatik sistem inflamasyon nedeni ile tıkanmış veya efüzyonun basısı ile daralmış da olabilir. İnflamatuar efüzyonlar özellikle visseral perikard tarafından oluşturulur ve sitokin, TNF ve interlökin gibi maddelerin lokal yapımı söz konusudur. Tüberküloz perikarditte kazeifiye granülomalar ve fibrozis oluşurken, malign perikardiyal efüzyonlarda perikard tümör hücreleri ile infiltre olur.

Eksüda ile transüda ayırımında modifiye Light kriterleri kullanılır (51), (Tablo 2). Perikard sıvısının protein konsantrasyonu serum protein miktarının yarısından fazla, LDH miktarı 200 U/lt'den veya serum LDH'nın %60'ından daha fazla ise eksüda tanısı konur. Eksüdaların kolesterol miktarı 45 mg/dl'den fazladır.

Eksüda karakterinde sıvı	Transüda karakterinde sıvı
Sıvı bulanık, buzlu cam görünümünde, pürülan veya hemorajiktir, fibrin iplikçikleri içerebilir	Sıvı berrak, bazen saman sarısı rengindedir
Dansite >1015	Dansite <1015
PH<7,3	PH >7,3
Protein > 3g/dl (sıvı/serum >0,5)	Protein < 3g/dl (sıvı/serum <0,5)
LDH>200mg/dl (sıvı/serum >0,6)	LDH<200mg/dl (sıvı/serum <0,6)
Glukoz: 77,9±41,9mg/dl	Glukoz (serum ile aynı 96±50,7mg/dl civarında)
Kolesterol içeriği artmıştır, >45mg/dl	kolesterol içeriği azalmış
Eritrosit >100000/mm ³ , lökosit >1000/mm ³	Eritrosit <100000/mm ³ , lökosit <1000/mm ³

Tablo 2: Eksüda ve transüda ayırımında modifiye Light kriterleri

Bir çok akut iltihaplar, malignensiler, üremi, travma ve koagülasyon anormallikleri ise kanla karışık efüzyon oluşturur. Kanama miktarı aşırı olmadıkça visseral perikardın fibrinolitik ve antikoagülan özellikleri ve kalbin hareketi ile kan defibrine olur ve hemen her zaman kanın sıvı şekilde kalması sağlanır. Perikard kesesi içinde pıhtı varlığı kanamanın ciddi olduğunun göstergesidir. Bu durumda yapışıklıkların oluşma riski artmakta ve tedavi genellikle cerrahi yöntemlerle yapılmaktadır. Hemoperikardiyum'un nedenleri yıllar içerisinde önemli değişiklik göstermiştir. 1960'lı yıllarda hemoperikardiyumun en sık nedeni sifiliz veya diseksiyon nedeni ile aortanın rüptürü iken günümüzde iyatrojenik nedenler (açık kalp cerrahisi, kateterizasyon, kalp pili implantasyonu vb.), maligniteler ve miyokard infarktüsü ön plana çıkmıştır (52). Subakut ve kronik hemoperikardiyum ise idiyopatik, travma, kanama diyatezi veya vasküler anomalilere bağlı olabilir.

Fazlaca kolesterol içeren sarımsı perikard sıvısı miksödemde, vena kava superior sendromunda veya şiloperikardiyumla sonuçlanan lenfatik drenaj anormalliklerinde oluşmaktadır (53-58).

Kolesterol perikarditinde sıvı bol miktardadır. Rengi bulanık, kahverengi, sarı, turuncu, pembe ve altın ile boyanmışa benzer görünümündedir. Hafif hemoraji ve lökosit birikimi olabilir. Dansitesi hemen daima 1020'nin üzerindedir. Kolesterol içeriği kan kolesterolüne yakın bazen daha fazladır. Miksödeme bağlı sıvılarda kolesterol içeriği genellikle serumdan düşüktür. Tüberküloz, romatoid artrit ve travmatik hemoperikardium gibi diğer nedenlere bağlı kolesterol perikarditinde kolesterol düzeyinin 500 mg/dl'ye ulaşması sık bir durumdur. Perikard genellikle kalın, skarlı, fibrin ve sarı nodüller içermektedir. Konstriktif perikardit gelişme riski az değildir. Tedavide perikard drenajı, perikard rezeksiyonu ve altta yatan hastalığın tedavisi gereklidir.

Şiloperikardiumda sıvı süt görünümünde, elektrolit, protein, glikoz ve kolesterol içeriği kan serumuna benzer özelliktedir. Sıvı içinde şilomikronlar mevcuttur. Şiloperikardiumun nedenleri neoplaziler, özellikle lenfanjiyomatöz hamartom, kistik higrom veya perikard ile duktus torasikus arasında anormal bağlantılardır. Bazı olgularda kalp veya göğüs cerrahisi sonrasında lenfatik kanallar zedelenmiş ise şiloperikardium gelişebilir. Şiloperikardiumda efüzyon genellikle bol ve kroniktir, ama konstrüksiyona gidiş nadirdir. Tanı bilgisayarlı tomografi ile konabilir. Tedavide yağdan fakir diyet, perikard drenajı, duktus torasikusun bağlanması ve perikarda pencere açılması önerilir.

Perikardiyal efüzyondan sorumlu iltihabi olay visseral ve pariyetal perikard kalınlaşmasına yol açarak konstriktif perikarditin gelişmesi ile sonuçlanabilir. Bazen efüzyon, kalınlaşmış ve hareket yeteneği azalmış perikardla çevrili olarak devam edebilir.

2.3.2.2. Hemodinami

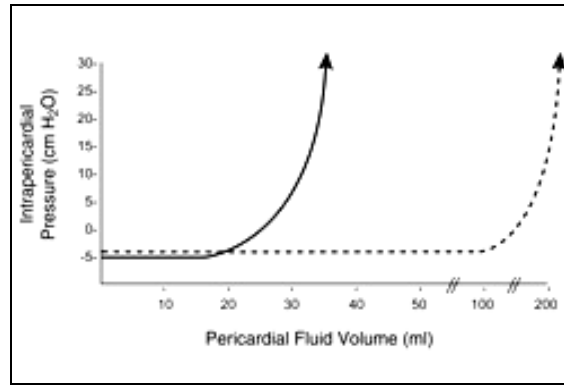
Perikard efüzyonunun klinik olarak sessiz mi kalacağını yoksa kalbe bası belirtileri mi oluşturacağını üç faktör belirler: 1) toplanan sıvının miktarı, 2) sıvının toplanma hızı, ve 3) perikardın kompliyansı.

Sağlıklı perikardda normal basınç-volüm ilişkisi 150-200 ml kadar volüm artışlarında yavaş ve yatay bir basınç yanıtıyla karakterizedir. Bu düzeyden sonra intraperikardiyal volümdeki minimal bir artışa hızla artan bir basınç yanıtı oluşmaktadır (Şekil 6). Bu durum pariyetal perikardın elastin komponentinin distansibilitesini yansıtmaktadır. Bununla birlikte perikardiyal efüzyon haftalar / aylar içinde yavaş olarak gelişirse basınç-volüm ilişkisi sağa

kayar, daha yatay bir seyir izler ve perikard daha esnek hale gelir (Şekil 6)(16). Böylece perikard boşluğunda intraperikardiyal basınçlarda belirgin artış olmadan 2 lt kadar sıvı toplanabilir (23).

Göğüs travmalarında veya aort diseksiyonunda olduğu gibi ani intraperikardiyal hemorajilerde perikard sıvı hacmi hızla artarsa ciddi kardiyak bası belirtileri ortaya çıkar. Ayrıca toplanan sıvı miktarı fazla olmasa bile perikard dokusu sertleşmiş ve kompliyansı azalmış ise perikard içi basınç çok artabilir. Bu durum perikard tümörlerinde veya fibrozisinde gözlenir.

Sonuç olarak klinik tablonun oluşumunda efüzyonun miktarı kadar toplanma hızı ve perikard kompliyansıda önemli rol oynamaktadır.



Şekil 6: Perikardın basınç-hacim eğrisi. Solda normal bir kalpte sağda ise kronik hacim yüklenmesi olan bir kalpte perikard içi hacim artışı ile perikard içi basınç önce fazla değişmez iken hacim artışının devam etmesi ile birlikte hızlı bir yükselme gösteriyor.

Hemodinamik etkilerine göre perikardiyal efüzyonlar dört kategoride incelenir (48);

1. Hemodinamik olarak önemsiz efüzyonlar.
2. Hemodinamik olarak önemli ancak kompanse efüzyonlar.
3. Hemodinamik olarak şiddetli ve maksimal kompanse edilebilir efüzyonlar.
4. Hemodinamik olarak şiddetli ve dekompanse edilebilir efüzyonlar.

<p>Önemsiz efüzyonlar</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Boyun venleri normal 2- Kan basıncı, kalp hızı, solunum sayısı normal ve perfüzyon iyi 3- Ekokardiyografide efüzyon var ancak kalp boşluklarına bası yok
<p>Hemodinamik olarak önemli, kompanse efüzyonlar</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. CVP yüksek 2. Hafif pulsus paradoksus, hipotansiyon ve taşikardi yok 3. Perfüzyon iyi 4. Efüzyon ile beraber hafif sağ ventriküle bası
<p>Hemodinamik olarak şiddetli ve maksimal kompanse aktifasyonlu efüzyonlar</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. CVP yüksek 2. Belirgin pulsus paradoksus 3. Hipotansiyon yok ve yeterli perfüzyon 4. Ekokardiyografide kalp boşluklarına bası var
<p>Hemodinamik olarak şiddetli ve dekompanse efüzyonlar</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. CVP yüksek 2. Taşikardi, taşipne 3. Pulsus paradoksus ile beraber hipotansiyon 4. Kalp boşluklarına bası ve yüzen kalp

Tablo 3: Perikardiyal efüzyonda hemodinamik özellikler

Kalbin hemodinamiğini bozmayan perikard efüzyonları hemen daima asemptomatiktir. Olağan rutin ekokardiyografi pratiğinde yaklaşık hastaların %10 kadarında rastlanmaktadır (54). Hızlı gelişen efüzyon kalbe bası ve tamponad kliniğine yol açar. Hastalar hafif bir sıkıntıdan belirgin dispne, akciğer ödemi hatta sirkuluar kollapsa kadar giden bir yelpazede olabilirler. Kalp tamponadının klasik triadı; 1935 yılında Beck tarafından hipotansiyon, yüksek juguler venöz basınç ve kalp seslerinin derinden gelmesi olarak tanımlanmıştır. Ancak Beck triadı olguların ancak üçte birinde görülebilmektedir (55). Erken tamponad taşikardi, taşipne ve dispne, boyun venöz basınç trasesinde x inişinde artış ve y inişinin kaybolması ile saptanabilen yüksek venöz basınç ve hafif kardiomegaliyle karakterizedir. İspiriyumda sistolik kan basıncının 10 mmHg'dan fazla düşmesi olarak tanımlanan pulsus paradoksus akut olguların yaklaşık üçte ikisinde (%77) görülebilmektedir (55).

2.3.2.2. Semptomlar

Perikardiyal efüzyon belirti vermeyebilir veya esas hastalığın klinik bulguları tabloya hakim olabilir. İntraperikardiyal basınç kalbin doluşunu engelleyecek derecede yükselirse aşağıda tartışacağımız şekilde kardiyak tamponadın klinik semptomları açığa çıkar. Bazı ilişkisiz nedenlerden dolayı göğüs radyografisi alındığında oldukça büyük, asemptomatik kronik efüzyonlara rastlanabilir ve hemodinamik olarak önemsiz büyük efüzyonlarda spesifik etiyojiler genellikle bulunmaz (1).

Hızlı gelişen efüzyonlarda muhtemelen pariyetal perikardın gerilmesine bağlı prekordiyal ağrı vardır. Ağrı bıçak gibi saplanıcı, bazen künt ve sıkıştırıcı özelliindedir. Lokalize edilmesi zorluk gösterebilir. Sıvı miktarı çok fazlaysa etraf dokulara bası belirtileri ortaya çıkabilir. Öksürük trakea ve bronşlara, ses kısıklığı laringeal sinire basıya bağlı oluşabilir. Özefagus basısı ile disfaji gelişebilir. Karın ağrısı ve bulantı hepatic ve venöz konjesyona bağlı olabilir.

2.3.2.3. Fizik Muayene

Spesifik etiyojiler için ipuçları taşıdığından perikardiyal efüzyonlu hastalarda dikkatli bir fizik muayene önemlidir. Az miktardaki perikardiyal efüzyonda spesifik fizik muayene bulgusu saptanmaz. Tamponad gelişmemişse nabız ve kan basıncı normaldir. İnflamatuvar efüzyonlarda sıvı miktarı çok fazla değil ise frotman duyulabilir. Fazla miktardaki perikardiyal efüzyonun klasik bulguları, prekordiyal bölge matitesinde artma, perküsyonla kalp matitesi sınırlarında genişleme, apeks vurularının elle hissedilememesidir. Kalp sesleri derinden gelir. Klinik bulgu olarak Bamberger-Pins-Ewart belirtisi önemlidir; bol miktarda sıvı birikimi söz konusu ise sol skapula altında efüzyona bağlı akciğer dokusunun kompresyonu ile matite alınır. Bu klasik bulgular masif efüzyon olmadığı sürece pek anlaşılabilir ve kardiyomegali yapan diğer nedenler de aynı bulguları verebilir. Buna ilaveten bronşiyal kompresyon nedeni ile tubuler nefes sesleri, sol aksilla veya sol yanda duyulabilir.

2.3.3. Kardiyak Tamponad

Perikardiyal efüzyon kalp odacıklarına baskıyla hacimlerini küçülterek kalp debisini düşürmeye başladığı anda klinik açıdan kritik önem taşır.

Perikard içi sıvının basıncındaki artış kalbin diyastolik doluşunu engelleyecek olursa kardiyak tamponad belirtileri ortaya çıkar. İntrakardiyak basınçlarda artma, atım hacmi ve kalp debisinde düşme meydana gelir. Bunun için sıvı artımının basınç artışı yapacak şekilde kritik bir noktaya ulaşması gerekir. Perikard tamponadının oluşması için; 1) efüzyon perikard boşluğunun yedek hacmini doldurmalı, 2) pariyetal perikardın gerilme kapasitesini, ve 3) sağ kalbi dolduran venöz kan miktarı artışını aşmalıdır.

2.3.3.1. Fیزیopatoloji ve etiyoloji

Kardiyak tamponad hemodinamik olaylar sürecidir. Perikard efüzyonunun perikard tamponadına ilerlemesinin üç fazı olduğu kabul edilmektedir (56):

Faz 1 – Perikard basıncı hafifçe artmış (~5-10 mmHg) ama sağ ve sol ventrikül diyastolik basınçlarına belirgin etki yapmamaktadır. Yine de her iki ventrikülün basıncı normalden fazladır.

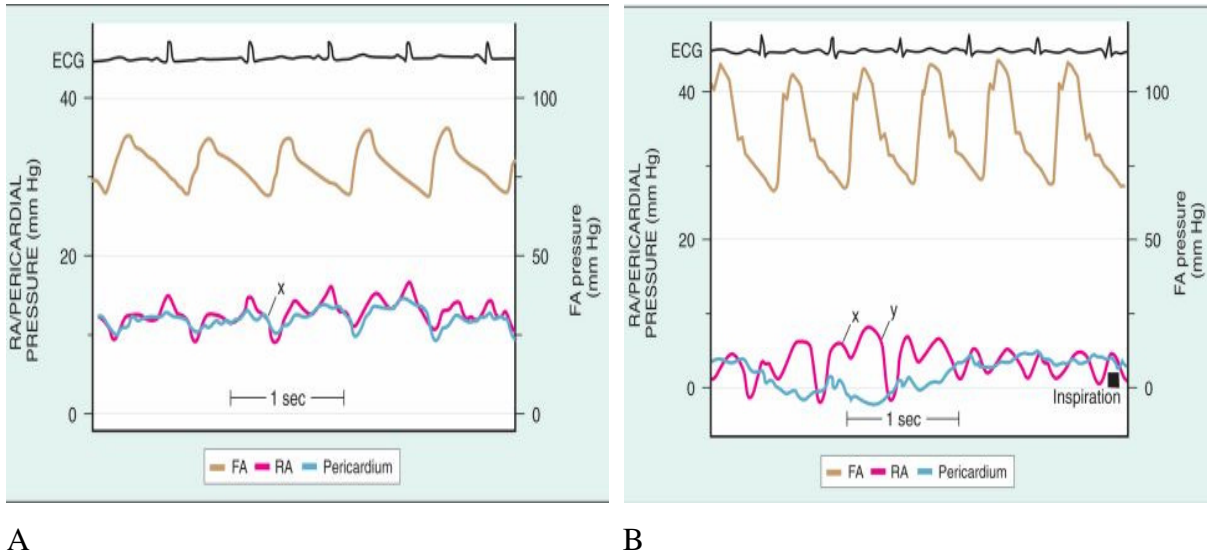
Faz 2 – Perikard basıncı ile sağ ventrikül diyastolik basıncı yüksektir ve birbirlerine eşitlenmiştir, ancak sol ventrikül basıncından düşüktür.

Faz 3 – Perikard ile sağ ve sol ventrikül diyastolik basınçları eşitlenmiştir.

Normal koşullarda intraperikardiyal basınç (0-5 mmHg) subatmosferik olup intraplevral basınca eşittir ve inspirasyon ile azalır. Perikardiyal volüm arttıkça intraperikardiyal basınç artar, azaldıkça azalır. İspirasyon ile plevral basınçtaki azalma sonucu perikardiyal basınç, sağ atiyum (RA), sağ ventrikül (RV), pulmoner kama basıncı (PCWP) ve sistemik arter basıncı hafif azalır. Bununla beraber intraperikardiyal basınç sağ atriyal basınçtan daha fazla düşer ve bu yüzden sağ kalp doluşunu ve boşalmasını arttırır. Her iki sağ kalp boşluğu intratorasik olmasına karşın, sistemik venöz sistem plevra dışıdır. Azalan intraperikardiyal basınç sistemik venlerden sağ atriya doluşu arttırır. Sonuçta sağ kalp doluşu ve debisi artar. Plevral basınç sol kalp ve pulmoner venlere eşit dağıldığı için solunumla pulmoner venlerden sol ventrikül doluşu minimal olarak değişir. Bu nedenle normal şartlarda transmitral diyastolik doluş basıncı ve LV doluşu solunum siklusu sırasında çok değişmese de atım hacmi ve aort sistolik basıncı inspirasyonla 10-12 mmHg düşer (48).

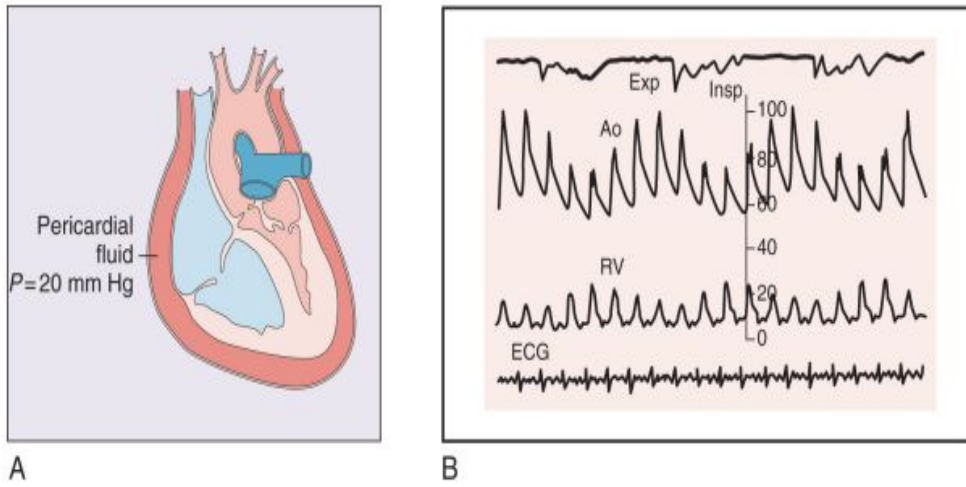
İnteraperikardiyal basınç artışı ya perikard yaprakları arasına sıvı birikimi, yada perikard tabakalarının sertleşmesi (konstriktif perikardit) sonucu meydana gelir (48-53). Perikard içindeki hacim belli bir eşik değere ulaşıncaya perikard daha fazla genişleyemez ve içindeki basınç ani yükselme gösterir. Yüksek perikard basıncına bağlı sağ kalp hacmi sol

kalp hacminden daha fazla düşüş gösterir. Tamponadde tesbit edilen atriyal ve ventriküler diyastolik kollaps genellikle daha ince duvarlı olan kalbin sağ kısmı ile sınırlandırılmıştır. Perikard kesesinde sıvı toplanması sırasında sağ kalp atriyal ve ventriküler diyastolik basınçları kademeli olarak artar ve ciddi tamponadde perikard kesesindeki basınca benzer şekilde tüm kalp boşluklarının diyastolik basınçları eşitlenir. Tipik olarak bu basınç 15-20 mmHg'dır (Şekil 7). Perikard içindeki negatif basıncın kaybolması ventriküllerin genişlemesini bozar ve diyastolik dolum azalır. Bu da kalp boşluklarının küçülmesine, diyastolik kompliyansın azalmasına, kalp odacıklarının transmural dolum basınçlarının düşmesine neden olur. Sonuç olarak küçük diyastol sonu ventrikül hacmi küçük atım hacmine neden olur. Kontraktilitede kompanse edici artıştan dolayı sistolik sonu hacmi düşerse de atım hacmini normale döndürmek için yeterli değildir.



Şekil 7: Kardiyak tamponadlı hastalarda perikardiyosentez öncesi (A) ve sonrasında (B), femoral arter (FA), sağ atriyum (RA) ve perikard basıncı. Perikardiyosentezden önce hem RA hemde perikard basıncı 15 mmHg civarındadır. Perikardiyosentezden önce x eğiminin bulunmasını rağmen y eğiminin bulunmamasına dikkat ediniz. Perikardiyosentez FA basıncında dikkat çekici bir artışa ve RA basıncında dikkat çekici bir düşüşe neden olmuştur. İnspirasyon sırasında perikard basıncı negatif hale gelir.

Perikard tamponadının bir başka özelliği ventriküllerin dolumunun birbirine ileri derecede bağımlı hale gelmesidir (ventricular interdependence). Bir ventrikülün doluşundaki artma kalp boşlukları daha fazla genişleyemeyeceği için interventriküler septumun diğer ventrikülün tarafına itilmesine, dolayısı ile hacmi küçülen ventrikülün doluşunun iyice azalmasına neden olur. Solunumsal değişiklikler bu olayı daha da belirgin hale getirir (57). İnterventriküler septum inspirasyon sırasında abartılı şekilde sola doğru kayar, sol ventrikül hacmi daha da azalır (Şekil 8A-B).



Şekil 8: A-Kardiyak tamponadda inspirasyon sırasında sağ ventrikül hacminin artışı ile interventriküler septumun sola doğru yöneliminin şematik görüntüsü. B-Kardiyak tamponadda respirasyon belirteci-aortik ve sol ventrikül basıncının izleri. Paradoksal nabıza ve işaretlere dikkat. Sağ ve sol basınçların solunum sırasında faz değişimlerinin 180 derece tersi. Ao: Aortik basınç, Exp: Ekspirasyon, İns: İspirasyon, RV: Sağ ventrikül basıncı (Kaynak Shabetai R: The Pericardium. New York, Grune & Stratton, 1981, p 266.)

Kalp boşluklarının diyastolik dolumunun azalması sistemik ve pulmoner venöz basıncı artırır. Sistemik venöz basınçtaki artış sağ kalp yetersizliği, pulmoner venöz basınçtaki artış ise pulmoner konjesyon bulgularına yol açar. Ek olarak ventrikül dolumunun azalması ise atım hacmi de azalacağı için kalp debisi düşer. Doku perfüzyonu ileri derecede bozulursa şok tablosu gelişir.

Perikardit yapan tüm nedenler; özellikle maligniteler, viral veya idiyopatik perikarditler, bakteriyal-fungal ve insan immün yetersizlikle ilişkili enfeksiyonlar, tüberküloz perikardit, üremik perikardit, miksödem ve travmatik perikarditler kalp tamponadına yol açabilir.

2.3.3.2. Semptom ve Bulgular

Tamponadlı hastalar kalp debisi düşüklüğüne bağlı nefes darlığı, halsizlik, baş dönmesi ve bazen senkoptan yakınabilirler, göğüs ağrısı olabilir. Perikard sıvısı fazla olan vakalarda masif efüzyondakine benzer semptomlar gelişebilir.

Hastaların çoğunda dispne, taşipne ve taşikardi vardır. Hastalar sıklıkla huzursuz ve soluk görünümündedir. Claude S. Beck tarafından tanımlanan ve hipotansiyon, venöz dolgunluk ve kalp seslerinde azalmadan (sessiz kalp) oluşan triad tamponad için tipiktir. Tamponad semptomları ani başlayabilir. Erken evrede azalan atım hacmi kompanzasyon mekanizmalarının devreye girmesine neden olur ve normal kan basıncının devamına izin vermesine rağmen genellikle hipotansiyon saptanır. Nörohormonal sistem aktivasyonu kontraktilite artışı, taşikardi ve vazokonstriksiyona neden olur. Kalp hızını düşürücü ilaçlar kullanılmamışsa, hipotiroidi, üremik perikardit, ileti bozukluğu ve preterminal dönemdeki paradoksal bradikardik refleks mevcut değilse genellikle kural olarak taşikardi gözlenir. Düşük kalp debisi derecesi ile orantılı olarak ekstremiteler, burun ve kulak uçları soğuk ve bazen siyanozedir. Şok, taşipne, terleme, duyusal azalma ve esneme görülebilir. Sağ kalp dolununun bozulmasına bağlı olarak hepatomegali ve karaciğer kapsülünün gerilmesine bağlı karında üst kadran ağrısı, asit, yine kardiyak debinin azalmasına bağlı olarak hipotansiyon, renal yetersizlik, mezenterik iskemi, göğüs ağrısı, şuur bozulması, koma görülebilir. Periferik ödem, hepatomegali, asit ve plevral efüzyon daha çok kronikleşmiş olguların fizik muayene bulgularıdır.

Santral venöz basınç artmasına bağlı venöz dolgunluk önemli bir fizik muayene bulgusudur. Ağır hipovolemisi bulunan hastalarda, tamponada rağmen boyun venlerinde dolgunluk gözlenmeyebilir (alçak-basınç tamponadı). Ayrıca santral venöz basıncın dalga formu da değişir. Normalde venöz kan geri dönerken ki sürece uygun venöz basınç dalga formunun x ve y eğimleri artar. Sağ atriyal y inişi triküspit kapak açıldığında, kan kalbi henüz terk etmeden başlar. Tamponadda kan kalbe giremeyebilir ve y inişi kaybolur. Tam tersi x eğimi ventrikül ejeksiyonu sırasında ortaya çıkar, kan bu anda kalbi terk ettiği için venöz içe akış normalde artabilir ve x inişi artar. Yani santral venöz basınç 10 mmHg'yı aşınca ventriküler boşalmaya bağlı sistolik intraperikardiyal basınç azalışı ile ani ve keskin bir x inişi ile beraber pandiyastolik rezistansı gösteren azalmış y inişi sıklıkla saptanır. Özellikle taşikardili yatan hastalarda y inişinin kaybını fark etmek güç olabilir.

Ciddi sol ventrikül yetersizliği, pulmoner emboli veya başka nedenlere bağlı pulmoner hipertansiyonun neden olduğu sağ kalp yetersizliği, sağ ventrikül miyokard infarktüsü tamponad kliniğine benzer şekilde hipotansiyon, şok, yükselmiş jugüler venöz basıncına neden olup karışıklığa sebebiyet verebilir.

Tamponadda konstriktif perikarditin aksine sistemik venöz geri dönüşte normal inspiratuar artış devam eder. Bunun sunuğunda inspirasyonda sistemik venöz basınçta normal düşüş bulunur. Sonuç olarak konstriktif perikarditli hastalarda sıklıkla saptanan Kussmaul belirtisine tamponadlı hastalarda pek rastlanmaz.

Perikard tamponadının klasik bulgularından biri olan pulsus paradoksus sistolik arteryel basınçta inspiryum sırasında anormal azalmayı yansıtır. Kussmaul tarafından 1873 yılında tanımlanan bu belirti normalde mevcut olan arteryel basınçtaki inspiratuar azalmanın abartılı olarak oluşmasıdır. Normalde ekspiryum ve inspiryum arasında sistolik kan basıncında 2-6 mmHg, derin inspiryumda ise 10 mmHg'ye varan oynamalar görülebilir. Normal inspiryum sırasında kan basıncının 10 mmHg'dan fazla düşmesi pulsus paradoksus olarak tanımlanır. Buradaki 'paradoks' nabız vuruları kaybolduğu halde, kalp seslerinin duyulmaya devam etmesidir.

Pulsus paradoksus ventrikül hacimlerinin ileri derecede azaldığının ve kalp boşluklarında diyastolik basınçların eşitlendiğinin göstergesidir. Oluşum mekanizmasında rol oynayan faktörler şunlardır:

- İspiryum sırasında intratorasik basınçta azalma ve pulmoner venöz göllenme vardır. Sol atriyumda kanın dönüşü azalır. İntraperikardiyal basınç artışı sol atriyum ve sol ventrikülü de etkileyerek kan doluşunu daha da sınırlar. Böylece aortik akım ve sistolik kan basıncı azalır.
- Perikard sıvı ve basıncındaki artış her iki ventrikülün diyastolik doluşunu engeller. Bu inspiryum sırasında sağ ventrikül doluşu lehine işler. İspiryum sırasında venöz dönüş artacağından sağ ventrikül hacmi artarak interventriküler septum sola doğru itilir.
- Ekspiryumda ise sağ ventrikül hacmi azalır, akciğerlerde göllenmiş olan kan sol kalbe döner ve kalp debisi artırılır.

İspiryumdaki kan basıncı azalması 20 mmHg'dan fazla ise pulsus paradoksus nabız muayenesi ile belirlenebilir. Yatan hastanın karnı inspiryum sırasında yükselirken nabızı zayıflar veya bazen tamamen kaybolur. Kan basıncındaki azalma daha hafif düzeyde ise pulsus paradoksusun varlığı doğrudan kan basıncının ölçülmesi ile gösterilir. Kan basıncı hem inspiryumda hem ekspiryumda ayrı ayrı ölçülür. İspiryumdaki ölçümede çok derin inspirasyon yaptırılmamalıdır. Tansiyon aletinin kesesi sistolik kan basıncının 15 mmHg

üzerine çıkartılarak ilk sistolik vurular duyulana kadar yavaşça indirilir. İlk sistolik vuruların duyulduğu aşamada kese şişili tutularak oskültasyona devam edilir ve bazı vuruların duyulduğu bazılarının ise kaybolduğu saptanır. Kese boşaltılmaya devam edilerek tüm sistolik vuruların duyulabildiği kan basıncı değeri tespit edilir. İlk vuruların duyulduğu sistolik kan basıncı ile tüm vuruların duyulabildiği kan basıncı arasındaki fark pulsus paradoksusun şiddetini gösterir.

Pulsus paradoksus sadece kalp tamponadına özgü bir bulgu değildir. Ağır konjestif kalp yetersizliği, sol ventrikül hipertrofisi, ağır pulmoner emboli, akut astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, tansiyon pnömotoraks, konstriktif perikardit, restriktif kardiyomiyopati, trakeal bası, sağ ventrikül infarktüsü, hemorajik şok ve diğer hipotansiyon yapan durumlarda da görülebilir.

Bunun yanında diyastolik basınçta, hacminde veya her ikisinde birden artışların önceden varolduğu durumlarda tamponad bir paradoksal atım gerçekleşmeden de oluşabilir. Örneğin hipovolemi, atriyal septal defekt, ileri aort yetersizliği, ciddi sağ ventrikül hipertrofisi bulunan ve sol ventrikül diyastolik basıncı yüksek olan, postoperatif dönemde perikard tamponadı gelişen veya perikardiyal yapışıklıkları olan hastalarda pulsus paradoksus olmaksızın tamponad bulunabilir (2,58). Aort diseksiyonu ile oluşan perikardiyal kese içine retrograd kanama sonucu ölümcül kardiyak tamponad kliniği oluşur ve gelişen aort yetersizliğine bağlı pulsus paradoksus saptanmayabilir.

Ciddi tamponadda sol ve sağ dolum basınçları 15-20 mmHg olarak tanımlandırılmasına karşın, bazı durumlarda tamponad intrakaviter dolum basıncından daha düşük seviyede oluşabilir. Bu durum düşük basınçlı tamponad olarak olarak adlandırılır (2,58). Kalp boşluklarına bası genellikle görülmez. Ekokardiyografi Doppler tetkiki ile transvalvüler akım değişikliklerinin respirasyon ile saptanması, bu efüzyonların potansiyel olarak anlamlı olduğunu gösterir. Bu amaçla 500-1000 ml sıvı verilerek hemodinamik ölçümler ve respiratuar transvalvüler akım değişiklikleri tekrar incelenir (47,48). Önceden varolan ve daha önce ciddi bir sonuç ortaya çıkaracağı düşünülmeyen efüzyon kan hacminde bir düşüş olduğunda düşük basınçlı tamponada neden olabilir. Bu şartlarda makul ölçüde yükselmiş perikardiyal basınç atım hacmini riske edici düzeyde transmural dolum basıncını düşürebilir. Venöz basıncı sadece makul oranda yükselmiş veya normal ise tanı kuşkuya yer bırakmaz. Kan kaybı ve dehidratasyonlu, hemodiyaliz sırasında hipotansiyon belirtileri gösteren hastalarda hemodiyaliz sırasında düşük basınçlı tamponad gözlemlenebilir. Efüzyonlu hastalara diüretiklerin uygulanması sırasında da tamponad kliniği gelişebilir. Tüberküloz veya maligniteler gibi ciddi sistemik hastalıklarda hipovolemi gelişmiş ise düşük

basıncılı tamponad görülebilir (56). Bu durumlarda hasta zayıftır, efor dispnesi tanımlar. Fizik muayenede normotansiftir, hafif juguler ven dolgunluğu vardır, ancak pulsus paradoksus saptanmaz.

Kronik hipertansiyonu olan kardiyak tamponadlı hastalarda fizik muayenede pulsus paradoksus saptandığı halde kan basıncı yüksek olabilir (60). Bu kişilerde kan basıncını fazla düşürmek tamponad bulgularını artırır, dolayısı ile bu gibi bir uygulamadan kaçınılmalıdır.

2.3.3.3. Laboratuvar

Perikardiyal efüzyonda etiyojijiyi aydınlatmaya yönelik kan tetkikleri akut perikarditlere yaklaşımla aynı şekildedir. Her ne kadar perikardiyal sıvının analizi hayal kırıklığı yaratsa da etiyojijik araştırma için dikkatli bir şekilde sıvının analizi yapılmalıdır (4,47,48,61). Perikard sıvısı elde edilmiş ise etiyojijinin aydınlatılması için istenebilecek laboratuvar tetkikleri şunlardır:

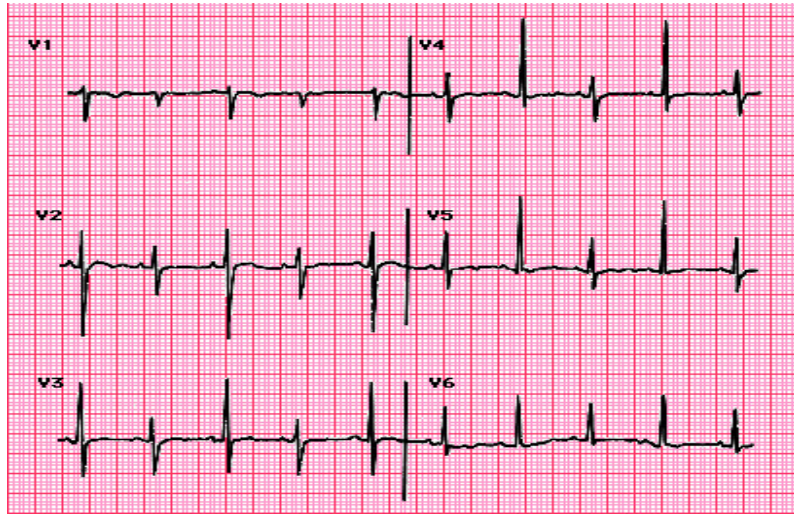
a) Rutin Tetkikler: Hematokrit ve hücre sayımı, glikoz, laktat dehidrojenaz ve protein düzeyi, bakteriyel enfeksiyonlar için 3 kan kültürü ile beraber perikardiyal sıvının aerop ve anaerop kültürü, gram boyaması, tüberkülozdan şüpheleniliyorsa PCR analizi, mikobakteri kültürü, ADA, IF-gama ve perikardiyal lizozim, Ziehl-Nielsen boyaması, idiyopatik ve viral perikardit ayırıcı tanısında kardiyotropik virüsler için PCR incelemesi, yapılabiliyorsa viral kültürler, malign perikardiyal efüzyonlardan şüpheleniliyorsa sitolojik inceleme yapılmalıdır.

b) Olası Tanıya Yönelik Ek Tetkikler: İmmunolojik tetkikler, romatoid faktör, antinükleer antikor, kantitatif kompleman düzeyi, kolesterol, hücre kümelerinin patolojik inceleme, neoplastik hastalıklardan şüpheleniliyorsa tümör belirteçleri (CEA, AFP, CA 125, CA 72-4, CA 15-3, CA 19-9) bakılmalıdır. Reaktif mezotelyoma ve adenokarsinomayı ayırmak için CEA, vimentin ve epitel membran antijen boyaması yapılmalıdır (4).

2.3.3.4. Elektrokardiyografi

Perikard efüzyonunun ve tamponadın karakteristiği olan EKG anormallikleri düşük voltaj, nonspesifik ST-T değişikliği (%59-63) ve QRS kompleksinin elektriksel alternansdır (%10)(49-54)(Şekil 9). Düşük voltaj amfizem, infiltratif miyokard hastalığı, pnömotoraksın da dahil olduğu pek çok diğer klinik durumlarda da görülebilen nonspesifik bir bulgudur.

Elektriksel alternans gerçekte özgül olmasına karşın tamponadlı büyük perikard efüzyonları için duyarlılığı oldukça azdır. Hem P dalgaları hem de QRS komplekslerinin katıldığı "total elektriksel alternans" tamponad lehine olup geniş efüzyon içerisinde kalbin "swinging" hareketini yansıtmaktadır, kalbin geniş perikard efüzyonu içinde anterior-posterior salınımı nedeni ile oluşur. Ventriküler tip elektriksel alternans kalp yetersizliği ve tansiyon pnömotoraksta da görülebilmektedir. Bazı hastalarda kalbin rotasyonuna bağlı sağ eksen sapması ve sağ ventrikül hipertrofisi bulunabilir. Son dönemde bradikardi ve elektromekanik dissosiasyon görülebilir. Kronik efüzyonlarda miyokard basısı nedeni ile atrofi veya skar dokusu oluşmuş ise düşük voltaj bulguları kalıcı olabilir.



Şekil 9: Kardiyak tamponadta QRS kompleksinin alternansını gösteren elektrokardiyogram

2.3.3.5. Radyoloji

Perikardiyal efüzyonun miktarına bağlı olarak kalp silüeti normal veya normalden geniş olabilir. Kalp gölgesinin genişlemesi için en az 250-300 ml perikardiyal sıvı birikimi gerekmektedir. Efüzyonlu perikarditlerde, kalp gölgesi global olarak büyür ve tipik çadır manzarası veya yere konmuş su torbası görünümü olabilir. Kalp gölgesinin sol kenarı muntazam veya konveks görünürken, sağ kardiyofrenik açı genellikle 90 derecenin altına iner. Akciğer sahaları genellikle temizdir, bazen venöz konjesyon belirtileri vardır. Sol plevral efüzyon sıklıkla radyografide perikardiyal efüzyona eşlik eden bir bulgu olarak saptanabilir.

Ayrıca normal bir göğüs radyogramı olmasının perikardiyal efüzyonun varlığını ekarte ettirmeyeceği akılda tutulmalıdır.

Perikard efüzyonunun radyolojik bulgularını kalp yetersizliğinde ayırmak güç olabilir. Ancak kalp yetersizliğinde plevral efüzyon solda değil sağda daha fazla oranda birikir. Manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve bilgisayarlı tomografik inceleme (BT) transtorasik ekokardiyografinin (TTE) yetersiz kaldığı küçük lokalize efüzyonlarda ya da izole bir kalp boşluğunu komprese eden hematoma varlığında veya TTE'nin teknik olarak yapılamadığı durumlarda kullanılabilir. Ayrıca perikard kalınlığı ve intraperikardiyal kitlelerin tesbitinde kullanılabilir. Ancak bu yöntemlerin acil durumlarda kullanımları teknik olarak zordur ve güvenli değildir. MRI incelemede ekokardiyografi ile kıyaslandığında efüzyonlar daha geniş görünmektedir (15,62). Yine TTE teknik olarak yetersiz kaldığında transözofajiyal ekokardiyografi yararlı olabilir.

Ayrıca radyoizotop tetkiklerden faydalanılabilir. Ancak klinik uygulamada en kolay ve yol gösterici teknik ekokardiyografidir. Son yıllarda elle taşınabilir ekokardiyografi cihazlarının klinik kullanımının yaygınlaşması acil koşullarda da perikard efüzyonunun tanısına olanak sağlamıştır (63-68).

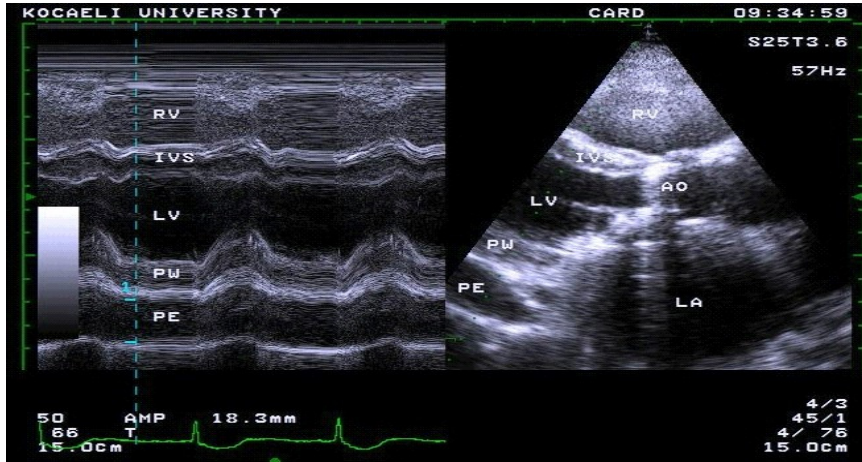


Şekil 10: Büyük perikardiyal efüzyonlu bir hastanın ön-arka akciğer radyografisi. (Kaynak Kabbani SS, LeWinter M: Cardiac constriction and restriction. In Crawford MH, DiMarco JP [eds]: Cardiology. St. Louis, Mosby, 2001, pp 5, 15.5.)

2.3.3.6. Ekokardiyografi

Kolay ulaşılabilirliği ve uygulama kolaylığı nedeniyle özellikle efüzyon veya tamponattan şüphelenildiğinde, perikard sıvısının tespitinde en duyarlı ve özgül tanı yöntemidir. Ekokardiyografi ile 15 ml' den fazla perikard sıvısı birikimi görülebilir (64).

Normal olgularda visseral ve pariyetal perikard tek veya birbirine paralel iki çizgi halindedir. Bu iki paralel çizgi arasında perikard sıvısı ekosuz bir alan şeklinde izlenir. Bu alan çok küçüktür ve normal perikard sıvısı taşır. Perikard efüzyonu M-mod ekokardiyografide pariyetal ve visseral perikard arasında parlak bir ayırım olarak görünür (Şekil 11). Ekosuz alanın boyutu ile sıvı miktarı doğrudan ilişkilidir. Çok az miktarlardaki efüzyon sadece sol ventrikül arkasında ve sadece sistol esnasında saptanır. Lateral, apikal ve anterior bölgede bulunmaz. Perikard efüzyonu arttıkça sağ ventrikülün önünde de görülmeye başlar. Orta miktarda efüzyon varlığında sıvı lateral, apikal ve anterior bölgelerde de görülmeye başlar.



Şekil 11: Mitral protez kapağı olan bir hastada parasternal uzun eksen M-mod görüntülerinde sol ventrikül arkasında orta miktarda (18mm) sıvı toplanması.

Perikard sıvısının tam miktarını ölçebilen kesin bir M-mod yöntemi yoktur. Yine de ekokardiyografi ile perikard efüzyonunun miktarı şu şekilde değerlendirilebilir. Az miktarda sıvıda sistol ve diyastolde ekosuz alanın çapı 10 mm'den azdır, orta miktarda sıvıda ekosuz alanın çapı en azından sol ventrikül arkasında 10-20 mm arasındadır. Eğer perikard yaprakları arasında ekodan arınmış bölge 20 mm ve üzerinde ise fazla miktarda perikard sıvısı mevcuttur. Perikard sıvısının sol atriyumun arkasında görülmesi de sıvının çok miktarda olduğunun göstergesidir.

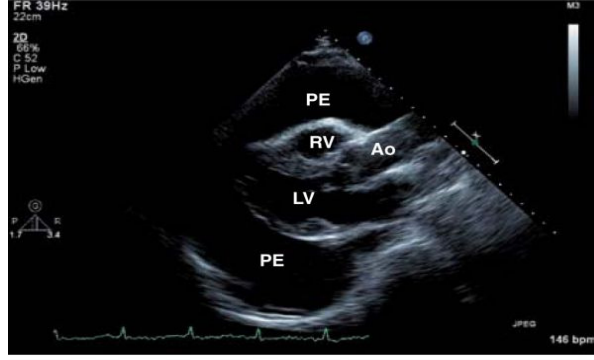
Yakın zamanda iki-boyutlu ekokardiyografi ile perikard sıvısının hacimini tahmin etmede antero-posterior perikard kesesi çapının da kullanılabileceği bildirilmiştir (65). Bu yöntemde sağ ventrikülün önünde ve sol ventrikülün arkasında sıvı olan hastalarda perikard kesesinin en geniş çapı ölçülür. Anteroposterior perikard kesesi çapının ≥ 12 cm olması %88 pozitif ve %83 negatif prediktivite ile ≥ 650 ml üzerindeki perikard sıvısı hacmini öngördürür.

Ekokardiyografi ile perikard kalınlığı ölçülebilir, epikardiyal yüzeyde fibrin birikimi veya perikard boşluğu içinde fibrin bantları veya yapışıklıklar gözlenebilir. Bu bulgu perikard sıvısının belirgin bir inflamasyon veya kanama sonucunda oluştuğunu düşündürür. Fibröz bantlar viral perikarditler dahil çeşitli etiyolojilere bağlı perikarditlerde görülebilmekle birlikte, tüberküloz perikarditte nispeten daha sık oluşur (66). Fibröz bantların varlığında perikard sıvısının perikard boşluğundaki hareketi engellenir veya sıvı lokülasyona uğrar.

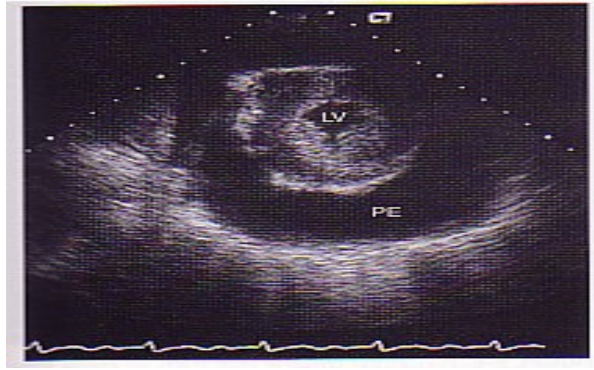
Son yıllarda özellikle perikard kalınlığının ölçülmesinde, metastazların ve pıhtının saptanmasında daha hassas olması nedeni ile transtorasik ekokardiyografinin yanında transözofajiyal ekokardiyografiden de yararlanılmaktadır. Ancak sıvı miktarının belirlenmesinde transözofajiyal ekokardiyografi transtorasik kadar duyarlı değildir. Yine perikard sıvısı bazı hastalarda lokal veya lokuledir. Bu durum kalp cerrahisi veya travma sonrası oluşan perikard sıvılarında daha sık gözlenir. Bazen bu hastalarda az miktarda sıvı dahi hemodinamik bozulmaya yol açacağı için lokal bir efüzyonun saptanması klinik açıdan önemlidir. Özellikle postoperatif erken dönemde (<72 saat) gelişen ve hemodinamiyi etkileyen efüzyonlarda transtorasik ekokardiyografi sıvı birikimini göstermede yetersiz kalabilir. Bu gibi durumlarda transözofajiyal ekokardiyografi ile tetkik yapılmalıdır (67).

Efüzyon sadece sağ ventrikül önünde ise efüzyon ile epikardiyal yağ yastığı arasında ayırıcı tanı yapmak gerekir. Epikardiyal yağ yastığında genellikle ekodan arınmış alanın içerisinde çeşitli dansiteler de bulunmaktadır. Gerekli durumlarda ayırıcı tanı bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme ile de yapılabilir.

İki boyutlu ekokardiyografide perikard sıvısı genellikle sol ventrikül arka kısmında, özellikle atriyoventriküler bileşkede daha belirgindir. Parasternal uzun eksen, parasternal kısa eksen, apikal ve subkostal görüntülerin alınması sıvının hangi kalp boşluklarının etrafını çevrelediğini belirlemeye yarar (Şekil 12, 13, 14).

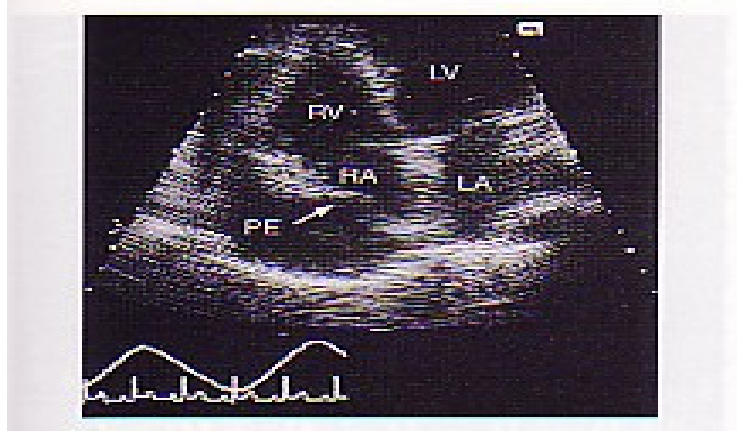


Şekil 12: Kalbi çevreleyen, büyük çaplı perikard efüzyonunun ekokardiyogramı. (Kaynak Kabbani SS, LeWinter M: Cardiac constriction and restriction. In Crawford MH, DiMarco JP [eds]: Cardiology. St. Louis, Mosby, 2001, pp 5, 15.5.)



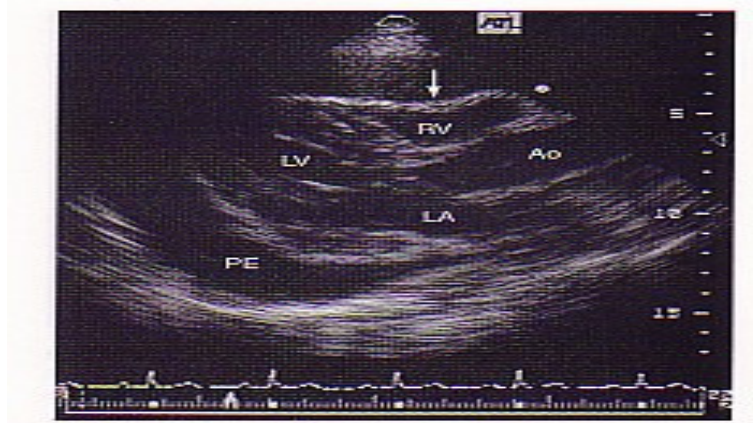
Şekil 13: İki boyutlu ekokardiyografide parasternal kısa eksen görüntüsü, kalbi çevreleyen perikard efüzyonu.

Ekokardiyografide perikard içi basınç sağ atriyum basıncını geçince sağ atriyum serbest duvarına bası belirtileri ortaya çıkar. Sağ atriyum duvarı ince bir yapı olduğu için tamponad fizyolojisi olmadanda sağ atriyuma bası olabilir. Tamponadın en erken belirtisi ventriküler diyastolün erken dönemlerinde negatif transmural sağ atriyum basıncı oluşması sonucunda sağ atriyuma bası olmasıdır (Şekil 14)(68). Bu sırada vena kava superior diyastolik akımı ters döner, triküspit ve mitral kapak erken diyastolik hızları azalır. Tamponad ilerledikçe transmural sağ atriyum basıncı hem erken hem geç diyastolde, hem de sistolün izovolümetrik kontraksiyon aşamasında negatifleşir. Kalp debisinin belirgin şekilde azaldığı hipotansif kalp tamponadında ise ventrikül sistolü sırasında azalmış transmural sağ atriyum basıncı vena kava süperiordan gelen kan akımının azalmasına neden olur. Ciddi hipotansif tamponadda ventrikül doluşu daha ziyade atriyal kasılma sırasında gerçekleşir.



Şekil 14: İki boyutlu ekokardiyografide apikal dört boşluk görüntüsü, sağ atriyum arkasında sağ atriyuma bası yapan perikard efüzyonu.

Perikard içi basıncı sağ ventrikül diyastolik basıncını geçince sağ ventrikülde özellikle çıkış yolunda da bası belirtileri görülmeye başlar (69). Sağ ventrikül basısı en iyi parasternal uzun eksen görüntülerinde veya subkostal görüntülerde izlenir (Şekil 15). Sağ ventrikül hipertrofisi olan veya sağ ventrikül kompliyansı artmış hastalarda bası belirtileri ortaya çıkmayabilir (70,71). Pulmoner hipertansiyon, soldan sağa şantlar veya sağ ventrikül iskemisi bası belirtilerinin görülmeyebileceği klinik durumlara örnektir. Yanlış pozitif sonuçlar ise özellikle hipovolemili hastalarda ortaya çıkar (69).

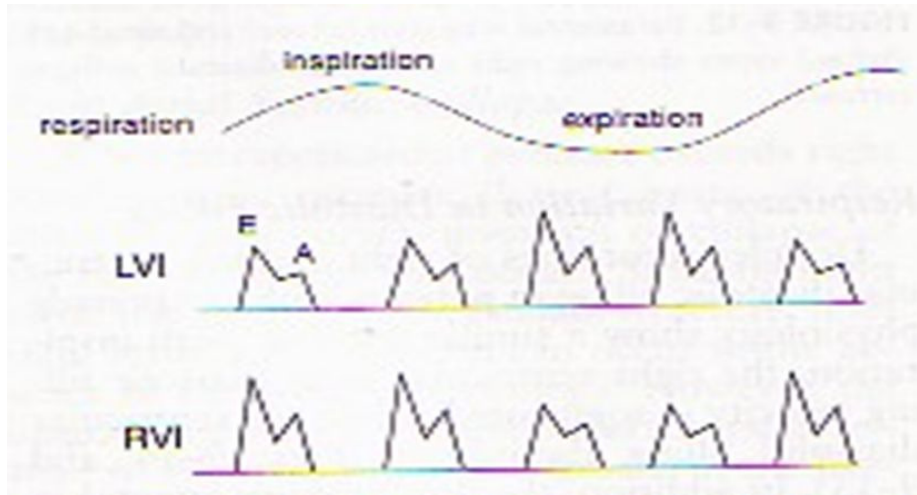


Şekil 15: İki boyutlu ekokardiyografide parasternal uzun eksen görüntüsü, sağ ventrikül önünde ve sol ventrikül arkasında sağ ventriküle bası yapan perikard efüzyonu.

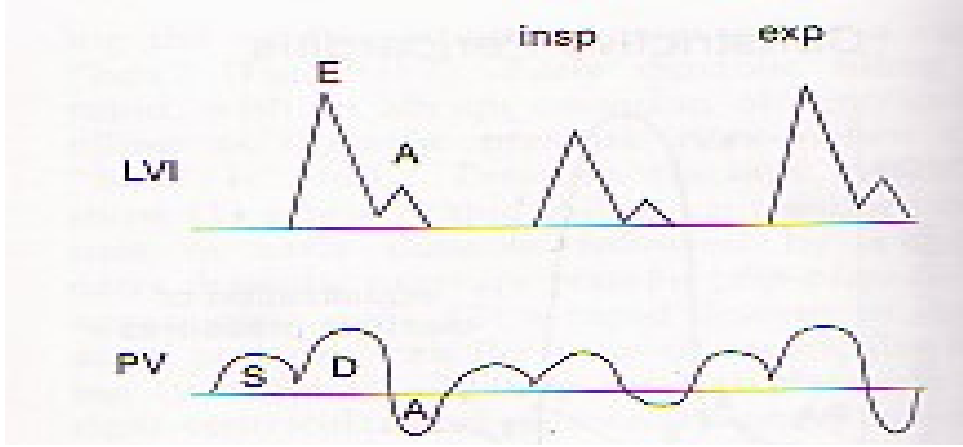
Kalp tamponadının önemli bulgularından bir diğeri kalbin perikard boşluğunda çalkalanır tarzda hareketidir. Bu bulgu perikard sıvısının aşırı miktarda olduğu hastalarda gözlenir (72). M-mod ekokardiyografi ile çalkalanma esnasında mitral kapakta yalancı prolapsus hareketi gözlenebilir (pseudo mitral valve prolapse) (73).

Kalp tamponadı ve paradoksal nabız bulunan olgularda ekokardiyografide sağ ve sol ventrikül hacimlerinin solunumla resiprokal değiştiği gözlenir (74). Apikal dört boşluk görüntüde inspiryum ile sağ ventrikülün hacmi genişler, septum sol ventriküle doğru kayar, ekspiryumda ise sağ ventrikül hacmi küçülür ve septum normal pozisyonuna döner. Perikard tamponadı olan hastalarda mitral ve triküspid doluş akımları da benzer solunumsal değişiklikler gösterir (75). İnspiryum ile triküspid diyastolik akım hızlarında artma, sol ventrikül doluş akımlarında yavaşlama, ekspiryumda ise tersi triküspid diyastolik akım hızlarında azalma, sol ventrikül doluş akım hızlarında artma gözlenir (Şekil 16-18). İnspiryum sırasında pulmoner akım hızının arttığı, aort akım hızının ise azaldığı görülür. Süperior vena kava ve inferior vena kavada dolgunluk, inferior vena kavanın >22 mm olması ve >%50 inspiratuar kollaps göstermesi tamponadın diğer bulgularıdır. Ekspiryum ile sol ventrikül doluş akımlarında, pulmoner ven sistolik ve diyastolik akımlarında ve ters atriyal kontraksiyon akımında artma izlenir (Şekil 17).

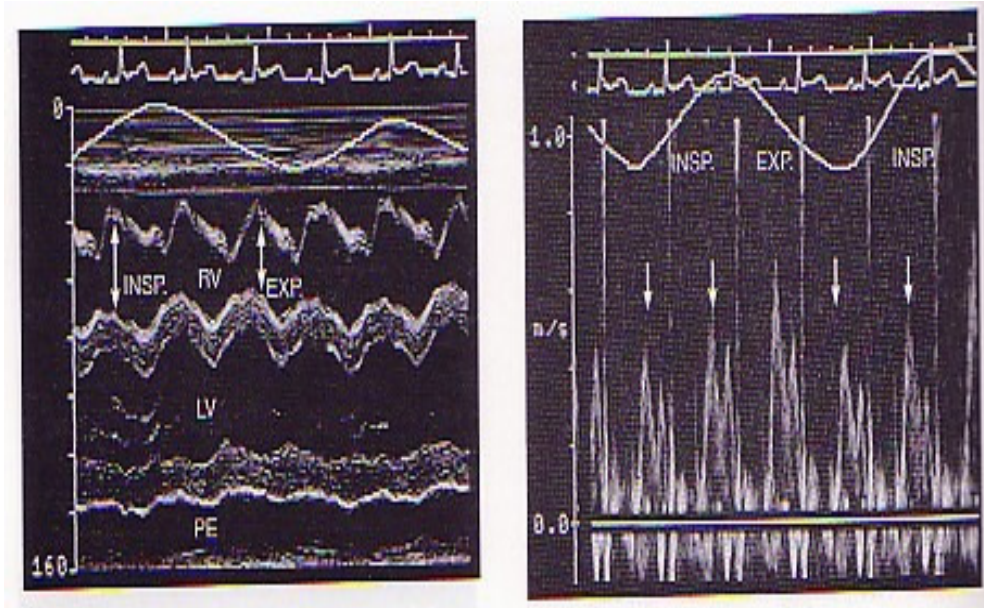
Perikard tamponadının ekokardiyografik bulguları aşağıda tablo 4’te özetlenmiştir.



Şekil 16: Perikardiyal tamponad olgularında sağ ve sol ventrikül diyastolik akımlarının şematik görüntüsü. İnspiryum ile triküspid diyastolik doluş akımlarında artma, sol ventrikül doluş akımlarında yavaşlama, ekspiryumda ise tersi bulgular gözlenir.



Şekil 17: Perikardiyal tamponad olgularında pulmoner ven ve sol ventrikül diyastolik akımlarının şematik görüntüsü. Ekspiryum ile sol ventrikül doluş akımlarında, pulmoner ven sistolik ve diyastolik akımlarında ve ters atriyal kontraksiyon akımında artma izlenir.



Şekil 18: Perikardiyal tamponadı olan bir hastada M-mod ve PW-Doppler ekokardiyografi görüntüleri. PW-Doppler ekokardiyografide mitral kapak akımında inspiyum ve ekspiryum sırasında ventrikül doluş hızındaki değişiklikler.

Tablo 4: Perikard tamponadının ekokardiyografik bulguları**M-mod ve iki boyutlu ekokardiyografi**

- Efüzyon miktarı fazla olanlarda sıvı içinde yüzen kalp görünümü
- Sağ atriyum serbest duvarında geç diyastolik kollaps
- Sağ ventrikülde erken diyastolik kollaps
- Sağ ventrikül çapında azalma ve sağ ventrikül çıkış yolu genişliğinin ≤ 7 mm olması
- İspirasyonla sağ ventrikül çapında artma ve sol ventrikül çapında azalma
- Sol atriyal kollaps
- Mitral ve triküspid kapakta psödoprolaps
- Mitral sistolik öne hareket
- Aort ve pulmoner kapaklarda midsistolik kapanma
- Paradoksal septal hareket, sol ventrikül serbest duvarında paradoksal hareket
- Sol ventrikül arka duvarının psödoparadoks hareketi
- Süperior vena kava ve inferior vena kavada dolgunluk, inferior vena kavanın >2.2 cm olması ve $<50\%$ inspiratuar kollaps göstermesi

PW- Doppler ekokardiyografi

- İspirasyonla mitral kan akımında $>15\%$ azalma, EF eğim hızında azalma ve alternans, izovolümik relaksasyon zamanında uzama, PW-Doppler'de mitral akım hızında belirgin azalma
- İspiryumda triküspid akım hızlarında $>50\%$ artma
- Ekspiryum ile hepatik ven sistolik ve diyastolik akımlarında azalma ve ters atriyal kontraksiyon akımında artma

Perikard tamponadına ait ekokardiyografi bulguları arasında en duyarlı olan sağ atriya diyastolik basıdır. Bir çalışmada duyarlılığı %100 olarak bulunmuştur (76). Buna karşılık özgüllüğü düşüktür (%33). Aynı çalışmada PW-Doppler bulgularında mitral akımında diyastolik erken doluş hızının inspiyum ile $>22\%$ azalmasının tamponad tanısı için duyarlılığı %77, özgüllüğü %80, triküspid akımı erken doluş hızının inspiyum ile $>30\%$ artmasının duyarlılığı %50, özgüllüğü %69 ve pulmoner akım hızının inspiyum ile $>25\%$ artmasının duyarlılığı %87 ve özgüllüğü %85 olarak saptanmıştır.

Son yıllarda doku Doppler ekokardiyografinin klinik kullanıma girmesi ile tamponad tablosundaki hastalarda mitral annulus E' hızında incelenmiş ve kontrol grubuna göre E' hızının düşük olduğu gözlenmiştir. (75) Mitral kapak akımının aksine anulusta E' hızında solunumsal değişiklikler izlenmemiş, perikardiyosentez sonrası E' hızı artmıştır.

2.3.3.7. Kardiyak kateterizasyon

Ekokardiyografinin klinik kullanımının yaygınlaşması ile tamponad tanısında kalp kateterizasyonuna başvurma oranı giderek azalmıştır. Günümüzde kalp tamponadında kardiyak kateterizasyonun yeri gerekli durumlarda tanıyı doğrulamak, perikard efüzyonunun hemodinamik bulgularını saptamak, eşlik eden hemodinamik anormallikleri ve koroner arter hastalığını belirlemektir.

Kateterizasyonda sağ atriyal basınçta artış, “x” inişinde belirginleşme ve “y” inişinde azalma veya kaybolma tipiktir. İntraperikardiyal ve sağ atriyal basınçlar eş zamanlı kaydedildiğinde, her ikisi de yükselmiş ve eşitlenmiştir (Şekil 7). İnspirasyon ile her ikisinde de artma gözlenir. Sağ ventrikül mid-diyastolik basıncı, pulmoner kapiller tıkalı basıncı, sol ventrikül diyastolik basıncı da intraperikardiyal basınca eşitlenmiştir ve basınç genellikle 10-30mmHg civarında olup aralarındaki fark 4-5 mmHg kadardır. Ancak konstriktif perikarditte saptanan “dip ve plato” konfigürasyonundaki sağ ventrikül trasesi tamponadda saptanmaz. Kardiyak tamponad sırasında intrakardiyak volümler azalır, atım hacmi ve kalp debisi düşer, kardiyak output azalır, sistemik vasküler rezistans artar (4,47,48,61,77).

Tamponad ile konstriktif perikardit birbirleri ile karıştırılabilir. Bu nedenle konstriktif perikardit ve perikardiyal tamponad tanısında eş zamanlı sağ ve sol kalp hemodinamik çalışmaları yararlı olabilir. Konstriksiyon varsa sağ ve sol ventrikül basınçları atmış ve genellikle eşit değerlerde, aradaki fark 5 mmHg’ dan daha az bulunur. Sağ atriyal basınç trasesinde Kussmaul bulgusu ve dik X ve Y çöküntüleri görülebilir. Sağ ve sol ventrikül basınç traselerinde klasik karakök işareti bulgusu, erken diyastolik dip ve onu takip eden plato olur. Benzer bulgular bazen restriktif kardiyomiyopatide de olabilir.

2.3.3.8. Perikardiyoskopi

İkiyüz mililitrenin altındaki efüzyonlarda güvenli bir şekilde perikardiyosentez yapmak çok mümkün değildir. Ancak perikardiyoskopik cihazlar ile perikardiyal sıvı olmasa bile perikard incelenebilmektedir (78,79). Başlangıçta ameliyathanede fiberoptik fleksibl bronkoskop veya endoskop ile perikardiyotomi yardımıyla perikard doğrudan gözlenebilmekte ve biyopsi alınabilmekte iken, yeni geliştirilen perikardiyoskopik cihazlar ile işlem kateter laboratuvarında, lokal anestezi eşliğinde ve perkütan girişimle uygulanabilmektedir. Perikardiyoskopi perikardın direkt görüntülenmesine izin verdiği için intraperikardiyal depozitler veya şüphelenilen alanlardan biyopsi imkanı sağlamaktadır.

Perikardiyoskopi ile anterior, posterior ve inferior bölgedeki pariyetal perikard ile epikard incelenebilmekte ve böylece subksifoid pencere ile görülebilen alandan daha geniş bir alan izlenebilmektedir. Ayrıca özellikle malign perikardiyal efüzyonlarda perikardiyal kavitenin tam anlamıyla temizlenebilmesiyle rekürrens oranları da azalmakta, intraperikardiyal kemoterapötik veya sklerozan ajanların daha iyi bir şekilde uygulanmasına olanak sağlamaktadır.

2.3.4. Kronik Perikardiyal Efüzyon

Herhangi bir perikard hastalığına bağlı olarak en az üç ay süreyle fazla miktardaki sıvının devam etmesi kronik perikardiyal efüzyon olarak tanımlanır. Kronik perikard efüzyonlarının nedenleri Tablo 5’de özetlenmiştir (80).

Tablo 5. Kronik perikard efüzyonunun nedenleri
Konjestif kalp yetersizliği
Kronik romatizmal kalp hastalığı, obstrüktif kardiyomiyopati, kor pulmonale gibi kalp hastalıkları
Hipoalbuminemi
Bağ dokusu hastalıkları (romatoid artrit, skleroderma, dissemine lupus eritematozus)
Neoplaziler (atriyal mikson, fibroma, mezotelyoma, sekonder tümörler)
Kronik enfeksiyonlar (tüberküloz, fungi, parazitler)
Miksödem
Radyoterapi sonrası
Travmalar
Kolesterol perikarditi
Kronik böbrek yetersizliği (üremi ve hemodiyaliz)
Şiloperikardium, lenfoperikardium
İlaça bağlı efüzyonlar (prokainamid, hidralazin)
Postperikardiyotomi sendromu
Postmiyokard infarktüsü sendromu
Bilinmeyen

Sıvı toplanması çok yavaş olduğundan sıklıkla semptom vermez. Bazen tanı konduğunda perikardiyal sıvı miktarı 3-4 litreye ulaşmış olabilir. Kronik yavaş gelişen perikard efüzyonlarında semptomlar geniş efüzyonun çevre yapılara yapmış olduğu basınç etkisiyle ilişkilidir. En sık tanımlanan yakınmalar iştahsızlık (%90), akciğerlere bası ve restriktif tip solunum fonksiyon bozukluğu sonucu dispne (%78), bronşiyal basıya bağlı öksürük (%47), ve dolgunluğa bağlı göğüs ağrısıdır (%27) (81). Daha az olarak özefajiyal basıya bağlı disfaji, diafragma, frenik ve/ya vagal sinir basısı sonucu hıçkırık, reküran laringeal sinir basısına bağlı ses kısıklığı görülebilir.

Fiziksel bulgular arasında en sık sinuzal taşikardi (%50), juguler venöz dolgunluk (%45), hepatomegali ve periferik ödem (%35) görülmektedir (81). Kalp seslerinin derinden gelmesi, göğüs perküsyonunda apikal vurunun ötesine uzanan matite alınması, pulmoner raller ile sol skapula altında matite, solunum seslerinde azalma ve bronşiyal solunum sesi alınması olarak bilinen Bomberger-Pins-Evarts belirtisi daha az görülen bulgulardır (81). Pulsus paradoksus akut olaylarda %77 hastada görülürken kronik olguların ancak %30 kadarında görülmektedir (81). Ayrıca hipovolemi varlığında venöz dolgunluk olmayabilir. Rölatif hipovolemi varlığında düşük basınçlı tamponad olarak bilinen hemodinamik dekompanzasyon gelişebilir.

EKG semptomatik kronik perikard efüzyonlu hastaların %90'dan fazlasında patolojiktir, ancak bulgular nonspesifiktir. Düşük voltaj ve ST-T değişikliklerine sık rastlanırken (%59-63), elektriksek alternans nadirdir (%0-10).

Göğüs radyogramında kardiomegali bulunabilir ancak perikard efüzyonu için duyarlı ve özgül bir radyoloji bulgusu yoktur. Tanı ekokardiyografi ile konur. Kronik perikard efüzyonu hipotiroidi veya kollajen doku hastalıklarında olduğu gibi kronik bir hastalığa bağlı olarak yavaş gelişmiş ise altta yatan hastalığın tedavisinin yapılması yeterlidir. Buna karşılık hastaların birçoğunda tanı ve tedavi amacıyla perikardiyosentez gerekir. Perikardiyal sıvının karakteri altta yatan hastalığa özgüdür. Perikardiyal dokuda akut değişiklikler yoktur ve yapışıklıklar ile fibrotik değişiklikler gösterebilir. Bazen de kistik oluşumlar izlenebilir.

Perikardiyosentez sonrasında efüzyonun tekrarlama riski vardır ve ani perikard tamponadı gelişebilir (82). Büyük miktarda perikard efüzyonunun tekrar toplanması durumunda skleroza tedavi veya perikardiyektomi yapılabilir.

2.3.5. Malign Perikardiyal Efüzyon

Perikard tümörleri üç tiptir: (1) primer perikard tümörleri, (2) metastazlar sonucu oluşan sekonder perikard tümörleri ve (3) başka bir bölgedeki maligniteye eşlik eden neoplastik olmayan perikard efüzyonları.

Malign hastalıklarda kalp tutulumu en sık perikard hastalığı şeklindedir. Perikardın metastatik tümörleri primer tümörlerinden yaklaşık 40 kat daha fazla görülür. Başlıca perikard hastalıkları ise malign perikard efüzyonu, kalp tamponadı ve konstriktif perikardit olmak üzere üç tiptir. Malign perikard efüzyonu perikard boşluğunda akut veya kronik sıvı toplanması olarak tanımlanır ve perikarda malign yayılmanın en sık belirtisidir. Malign perikardiyal efüzyonlara genel otopsilerde %1-4, kanserli hasta otopsilerinde %15-30 oranında rastlanmaktadır (6,7,83). Onkolojik hastalarda perikard efüzyonu sadece metastatik yayılıma bağlı olmayıp, radyoterapi ve kemoterapötikler nedeni ile de oluşmuş olabilir. Hastalarda immunsupresyon olduğu için viral, bakteriyel ve fungal etiyolojiler de unutulmamalıdır. Pek çok tümürlü olguda genel olarak prognozun düzelmiş olmasına rağmen perikardiyal efüzyonların yüksek oranda tekrarlaması (%40) ve tamponad gelişiminin ani ölüm nedeni olması, malign efüzyonların tedavisini önemli hale getirmiştir. Perikardiyal tutulumu gösteren semptom ve bulgular primer veya sekonder malign kalp hastalığının ilk bulgusu olabilir (9). Ancak çok daha sık olarak ilerlemiş kanserlerde ortaya çıkmaktadır. Bu hastalarda başka organ sistemlerinde eşlik eden metastazların varlığı nedeniyle yaşam beklentisi genellikle kısadır.

Perikarda metastaz yapan tümörler arasında akciğer (%30) ve meme kanseri (%20)(8), lenfoma ve lösemiler başta gelmekte ve tüm nedenlerin %80'ini oluşturmaktadır. Bunların yanında GIS tümörleri, sarkomlar, AIDS' e bağlı Kaposi sarkomunda perikardiyal tutulum görülür. Direkt yayılım akciğer, göğüs duvarı, özofagus tümörleri, lenfoma ve malign mezotelyomadan meydana gelir. Hematojen veya lenfatik yolla yayılım ise meme kanseri, malign melanom, pankreas ve mide kanserlerinde görülür. Solid tümörler perikardın yanında miyokardı da tutabilirler.

Perikardın metastatik tümörleri sıklıkla klinik bulgu vermez, ama bazı olgularda malign hastalığın ilk bulgusu da olabilirler. Tipik akut perikardit kliniği görülebilir. Birçoğunda lokal sitokin üretimi olur, bu da perikard inflamasyonu ile ilişkilidir. Malign perikardiyal efüzyonlar, perikard boşluğunda toplanan sıvının miktarı ve sıvının kardiyak boşluklar üzerine uyguladığı basınca göre değişken klinik özellikler içeren bir klinik tablodur. Sıvının toplanma hızı ve perikardiyal boşluğun esnekliği hemodinamik etkileri ve

semptomların ortaya çıkmasını belirleyen en önemli faktörlerdir. Malign perikardiyal efüzyona ait semptomların başlangıcı belirgin olmayabilir. Pek çok hastada büyük efüzyonlar bile asemptomatiktir. Tamamen asemptomatik olan vakalar yanı sıra nefes darlığı, göğüs ağrısı, öksürük, ses kısıklığı, hıçkırık, bulantı, karın ağrısı ve anksiyete yakınmaları olabilir. Semptomatik hastalarda kalp sesleri zor işitilebilir, juguler venöz basınçta artma, arteriyel nabız basıncında artma, taşikardi, pulsus paradoksus tespit edilebilir. Aşırı perikardiyal sıvı kalbin diyastolde dolusunu engeller, başlangıçta taşikardi ve artmış kardiyak kontraktilite sonuçta kardiyak debide azalma ve hemodinamik bozulmaya yol açar. Hızlı gelişen vakalarda az miktarda bir sıvı (<200 ml) tamponada yol açabilirken yavaş gelişenlerde çok fazla sıvının (>2000 ml) birikmesi gerekir.

Sekonder neoplazilerde perikard efüzyonu bol miktardadır, seröz veya hemorajik eksüda niteliğindedir ve intraperikardiyal kanama ile tamponada neden olabilir. Bazı tümörler yapışıklıklar oluşturarak efüzyonlu-konstriktif perikardit tablosu ile bulgu verebilir. Bilinen malignitesi olan kişilerde perikardiyal maligniteden şu durumlarda şüphelenilir: (1) büyük veya tekrarlayan efüzyonlar, (2) yüksek venöz basınçlı refrakter kalp yetersizliği, (3) vena kava superior sendromu veya (4) açıklanamayan hepatomegali, nefes darlığı, ortopne, açıklanamayan göğüs ağrısı ve nonproduktif öksürük perikard tutulumunu akla getirmelidir.

Tanı perikard efüzyonları bölümünde geçen görüntüleme yöntemleri ile konabilir. Epikardiyal biyopsi alınması, sitoloji ve immunohistokimyasal çalışmalar metastazın teşhisinde özgül ve duyarlı tetkiklerdir. Perikardiyal sıvıdan kültürler (bakteri ve mikobakteri) ve mikrobiyolojik boyama (gram ve asite rezistan boya) yapılmalıdır.

Malign perikard efüzyonunun çeşitli tedavi yöntemleri vardır (84). Bu yöntemlerden hangisinin seçileceğine malignitenin evresi, semptomların ciddiyeti ve efüzyonun etiyojisine göre karar verilir. Daha önceden tedavi görmemiş ve efüzyonu fazla miktarda olmayan hastalarda kemoterapi ile efüzyonun gerilemesi beklenebilir. Son evre tümörlerde semptomlar da ciddi ise hızlı müdahale yapılmalı ve hastanın rahatlatılması önem kazanmalıdır. Bu aşamada perikardiyosentez yararlı olsa da etkisi kısa sürelidir ve olguların %20-90'ında sıvıda tekrarlama görülebilir. Prognozu nispeten iyi olan hastalarda daha uzun süreli çözümler için drenaj kateteri takılması ve perikard boşluğuna çeşitli sklerozan ilaçların uygulanması yararlı olabilir. Bu amaçla denenen sklerozan ilaçlar nitrojen mustard, 5-fluorourasil, metotreksat, radyoaktif altın ve fosfordur. Ancak sklerozan ilaçlarla göğüs ağrısı ve miyelosupresyon görülebilir. Ciddi yan etkisi olmadan oldukça iyi sonuçlar veren diğer sklerozan ilaçlar tetrasiklin, doksisisilin, bleomisin ve interferondur.

Malign perikard efüzyonları cerrahi yöntemlerle de tedavi edilebilir. En sık başvuru olan yöntemler subksifoid perikardiyal pencere açılması, torakoskopi ile perikardiyoplevral pencere açılması ve torakoskopi ile perikardiyektomidir.

Malign perikard tutulumunun prognozu etiyojideki malign hastalıkla ilişkilidir. Tamponad gelişen hastalarda sağkalım süresi 4 ay ile 1 yıl arasında değişir. Solid tümörlerde beklenen yaşam süresi yaklaşık 6 ay iken lenfomalarda 15 aya kadar uzar.

2.3.6. Tedavi Yaklaşımları

Perikardiyal efüzyonda tedavi etiyojik nedene yöneliktir. Rutin tetkikler ile etiyojinin saptanamadığı hastalarda perikardiyosentezle alınan sıvının kültür ve analizlerinin yapılması gerekir. Ancak tek başına perikard sıvısının incelenmesi tanı koymada yeterli olmayabilir. Bu nedenle beraberinde açık perikard biyopsisi yapılması etiyojinin belirlenmesi ve tedavinin yönlendirilmesi açısından önemlidir. Lokalize efüzyonlarda açık cerrahi veya torakoskopik drenaj kullanılır.

Tedavi amaçlı perikardiyosentez perikard tamponadı, hemoperikardium veya piyoperikardium olmadığı sürece gerekli değildir. Efüzyonun miktarı çok fazla ise komşu dokulara bası belirtilerini düzeltmek amacıyla perikardiyosentez yapılabilir.

Hafif perikardiyal efüzyonlarda asemptomatik bir hastada ekokardiyografide 10 mm'den az efüzyonlar özellikle yaşlı hastalarda daha fazla (>%15) görülen rastlantısal bir bulgu olabilir. Bu hastalarda ileri invaziv çalışmalara ve tedaviye gerek yoktur. Ekokardiyografik izlemde bulguların stabil seyrettiği olgularda periyodik izlem yeterlidir (85).

Konservatif tedavide semptomların ve efüzyonun giderilmesi, nükslerin önlenmesi amaçlanır. Hafif-orta düzeydeki efüzyonlarda tedavi denenebilir. Bunlar genellikle akut idiyopatik viral perikarditler ve kronik tekrarlayan perikarditlerin akut ataklarıdır. NSAİ ilk seçilecek ilaçlar olup aspirin (2gr/gün), endometasin, ibuprofen önerilmektedir. Yanıt alınamayan olgularda steroidler; prednison 60-80 mg/gün 5-7 gün sonra azaltılarak kesilecek şekilde verilebilir. Kronik idiyopatik tekrarlayan perikarditlerin tedavi ve profilaksisinde kolşisin 1-2 mg/gün oldukça etkilidir (14,15).

Orta ve geniş efüzyonlu hastaların tedavisinde fikir birliği yoktur. Asemptomatik geniş efüzyonlarda klinik tamponad yoksa drenaj tartışmalıdır. Bazı müellifler tanısal ve terapötik yararları nedeniyle perikardiyotomiyle drenaj önermektedirler. Ancak bu girişimlerin riski düşük olsa bile bazı ciddi komplikasyonları olması nedeniyle kesin diagnostik bilgi edinme ya

da tamponad olasılığından kaçınma dışında yapılmaması tavsiye edilmektedir. Bu görüş perikardiyal diagnostik prosedürlerin tanısasal yararının düşük olması (%7) ve konservatif tedaviyle olguların büyük çoğunluğunun (%95) iyileştiğini bildiren bir çalışmayla destek bulunmaktadır (86). Bu grupta perikardiyosentez ve cerrahi drenaj endikasyonları olarak; tipik tamponad kliniğinin varlığı, pürülan perikardit veya tüberküloz perikarditi şüphesinin varlığı ve yüksek tamponad olasılığı nedeniyle idiyopatik kronik geniş perikard efüzyonları sayılabilir.

İdiyopatik kronik geniş perikardiyal efüzyonların üç aydan uzun sürdüğü olgularda prognoz çok iyi değildir. Çeşitli çalışmalarda bu grup hastalarda ani beklenmeyen tamponad riski %29-37 olarak bildirilmektedir (85,86). Bu grup hastalarda konservatif medikal tedavinin özellikle kortikosteroidlerin yararlı olmadığı bildirilmektedir. Tamponadı tetikleyen faktörler kesin olarak bilinmemekle birlikte; hipovolemiler, paroksizmal taşikardiler ve akut perikardit atakları sayılabilir. Bu grup hastalarda tamponad riskinin yüksek olması nedeniyle asemptomatik olsalar bile elektif perikardiyosentez ve drenaj yapılmalıdır. Bu hastaların yaklaşık üçte birinde perikardiyosentez efüzyonun tamamen giderilmesiyle tedavi edici olmaktadır. Tekrarlayanların çoğunluğunda ikinci bir perikardiyosentez ile tam iyileşme sağlanabilmektedir. Bu grupta asemptomatik olsalar bile ikinci kez perikardiyosentez yapılmasına rağmen efüzyonun tekrarladığı olgularda cerrahi drenaj ve geniş anterior perikardiyektomi önerilmektedir (82).

Perikard tamponadı söz konusu ise, hangi sebeple ortaya çıkmış olursa olsun, hayatı tehdit edici bir durum olduğundan süratle ve etkili bir şekilde tedavi edilmesi gereken gerçek bir kardiyak acil durumdur. Hasta yoğun bakım ünitesinde monitorize edilerek yatak istirahatına alınmalı ve oksijen tedavisi uygulanmalıdır. Yeterli önyükün sağlanması önemli olduğundan, diüretikler, nitratlar gibi önyüğü azaltan ilaçlar ve ACE inhibitörlerinden kaçınılmalıdır. Bacakları yükseltme veya kan, plazma, izotonik sodyum klorür ve dekstran gibi hacim genişleticiler verme hipovolemik hastalarda perikardiyosentez yapıncaya kadar hemodinamik destek sağlayabilir (88). Hipovolemi yoksa sıvı verilmesi herhangi bir klinik düzelmeye sağlamaz, hatta tamponad bulgularını kötüleştirir. Periferik direnci artıran ilaçların da klinik yararları kısıtlı olup tamponad sırasında endojen sempatik aktivite artmış olduğu için genellikle ek yarar sağlamaz. Perikardiyosentez yapıncaya kadar verilebilecek ilaçlar isoproterenol, norepinefrin, dobutamin gibi kan basıncını ve kan akımını destekleyici ilaçlardır. Metabolik asidoz varsa tedavi edilmelidir. Bu şekilde asidozun miyokardiyal depresan etkisi önlenmiş olur ve medikal tedaviye daha iyi yanıt alınır. Solunumu

desteklemek için pozitif-basınçlı mekanik ventilasyon uygulanmasından kaçınılmalıdır, çünkü bu uygulama venöz dönüşü iyice azaltabilir.

Tamponad tedavisinin esasını, perikardiyosentez veya perikardiyal pencere ile sıvının drenajını sağlamak oluşturur. Hangi tedavi yönteminin seçileceğine hastanın klinik durumuna göre karar verilir. Klinik durumu çok kötü olan ve acil müdahale gerektiren hastalarda tercih perkütan iğne aspirasyonudur (89). Ancak yaralanmalarda olduğu gibi ciddi perikardiyal kanama, ventrikül anevrizması rüptürü veya aort diseksiyonu gibi durumlarda kanın pıhtılaşması nedeni ile iğne ile perikardiyosentez mümkün olmayabilir. Dahası bu hastalarda kanama tamponadın basısı sayesinde yavaşlamış veya durdurulmuş olabilir ve perikardiyosentez ile kanama tekrar başlayabilir. Perikardiyosentezin cerrahi yöntemle yapılması mortaliteyi ve kanama komplikasyonunu azaltır. Drenaj tam olmalı ve gerekirse perikard boşluğu içerisinde bir kateter veya tüp bırakılarak süresi uzatılmalıdır. Malignitelere olduğu gibi dirençli durumlarda perikardiyektomi gerekebilir veya tetrasiklin, minosiklin, lokal bir anesteziyle verilen bleomisin veya diğer skleroizanlar ile perikard kavitesi oblitere edilebilir (90). Obliteratif yapışıklar sağlamak için ilaç uygulamak yerine tüp drenajının süresi uzatılarak da yapışıklık oluşturulabilir.

Neoplastik perikardiyal efüzyonlara tipik olarak üç tedavi yaklaşımı uygulanmaktadır: perikardiyosentez ve intraperikardiyal skleroterapi, perkütan balon perikardiyotomi ve subksifoid perikardiyotomi veya torakoskopik perikardiyal pencere oluşturulması gibi cerrahi yöntemler (10).

Malign perikardiyal efüzyonlarda terapötik perikardiyosentez hem tanı hemde tedavi için kullanılabilir. Yerleştirilen kateter perikardiyal alanda 3-5 gün kalır. Bu süre içinde infeksiyon gelişimini önlemek için IV antibiyotik verilmelidir. İntraperikardiyal tedavi tümör tipine göre uygulanır, örneğin akciğer kanserine sekonder olanda sisplatin, meme kanserine sekonder perikardiyal metastazda thiotepa en etkilidir. Tetrasiklinler, bleomisin veya Thiotepa-trietilen fosfonamide ile perikardiyal boşluğun sklerozisi (perikardiyodesis) yapılabilir. Tetrasiklin ya da doksisisiklin 500, 1000 mg 20 ml saline solüsyonu ile perikardiyal boşluğa verilir. Katetere 1-2 saat klemp konur. İşlem drenaj 20 ml/gün altına ininceye kadar tekrarlanabilir. 30 gün içinde nüks olmaması başarı kabul edilir. Etkinliği %90-100 ile çok yüksek bulunmuştur (91). En önemli yan etkiler arasında şiddetli göğüs ağrısı, ateş ve atrial aritmiler sayılabilir (92). Bleomisin 10-20 mg 10-20 ml saline içinde perikarda verilir. 1-2 saatlik klemp konur. Başarı şansı %71'dir. Ancak göğüs ağrısı gibi yan etkilerinin olmaması nedeniyle tercih edilmektedir (93). Thiotepa-trietilen fosfonamide perikardiyosentezden sonra 1, 3, 5 günlerde 15 mg/50 ml saline içinde intraperikardiyal olarak verilir. Sitostatik

olması ve yan etkilerinin azlığı nedeniyle seçilecek skleroterapi ajanı olarak kabul edilmektedir (8).

Sklerozan tedavi yaklaşımları, malign ve tekrarlayan efüzyonların tedavisinde popülerite kazanmış etkili bir prosedür olmasına karşın fibrozise sekonder restriktif perikardit hala uzun dönem sürüde ciddi bir komplikasyondur. Bu amaçla en sık olarak tetrasiklin, doksasiklin, bleomisin ve thiotepa kullanılmıştır. Ayrıca mitomisin-c, radyoaktif maddeler, OK-432, nitrogen mustard, quinacrine, cis-platin, interferon ve aklarubicin'de başarıyla kullanılmıştır.

Aynı şekilde malign perikardiyal efüzyonlarda cerrahi hem tanı hem de tedavi amacı ile yapılabilir (10). Cerrahi yaklaşımların çoğu olguda genel anestezi gerektirmesi ve bu hastalarda genel anesteziden genellikle kaçınılması, ayrıca cerrahi ve balon perikardiyotomilerin tümörün vücut boşluklarına yayılımını kolaylaştırması nedeniyle perikardiyosentez ve intraperikardiyal skleroterapiler bu hastalarda ilk seçilecek tedavi yaklaşımı olmalıdır (94,95).

(a) Subxiphoid perikardiyotomi: Torakotomi yapmadan perikardiyal boşluğun dışarı drenajını sağlar ve lokal anestezi altında yapılabilir. Bir çok merkez tarafından tercih edilen yöntem olup, rekürrens oranı %6-12 dir;

(b) Perikardiyal pencere: Onkolojik yönden iyi prognoz beklenen hastalar ve genel anestezi ile cerrahi uygulanabilecek hastalar için plevra-perikardiyal pencere açılması yöntemi seçilecek uygun tedavi yaklaşımıdır. Torakotomi gerektirir ve perikard plevral boşluğa drene olur. Bu işlemin komplikasyon oranı düşüktür fakat rekürrens oranı perikardiyektomiden yüksektir.

(c) Perikardiyektomi: Bu işlemde perikardiyumun çoğu alınır. Rekürrens oranı çok düşüktür, ancak mortalite ve morbiditesi yüksektir. Bu nedenle seçilmiş hastalar dışında kullanımı sınırlıdır. Restriktif perikardite sekonder tamponad için seçilecek en iyi tedavi yöntemidir.

Malign perikardiyal efüzyonların tedavisinde esas amaç malignitenin tedavisi olup kemoterapi ve hemoterapi gibi spesifik tedavilere hemen başlanmalıdır. Kemoterapi ile tamponadın erken palyasyonu nadirdir. Lösemi, lenfoma ve meme kanserinde kullanılabilir. İntraperikardiyal radyonüklid uygulaması ile olumlu sonuçlar alınmış olsa da radyoaktivite ile ilgili lojistik problemden dolayı kullanılmamaktadır. Lenfoma ve lökoma gibi radyosensitif tümörlü hastalarda malign perikardiyal efüzyonun kontrolünde radyasyon tedavisi çok etkilidir (%93). Fakat radyoterapinin kendisi miyokardit ve perikardite neden olabilir (96). Seçilmiş vakalarda 2 hafta süre ile günde 200-250 rad eksternal radyoterapinin etkin olduğu

bildirilmektedir. İntraperikardiyal p32 kolloid 185-370 MBq verildiğinde %95 dolayında bir başarı sağlar (37). Ancak radyoaktif materyal ile çalışmanın potansiyel riskleri ve zorlukları nedeniyle bu yöntemler pek kullanılmamaktadır (23).

Sonuç olarak kronik perikard efüzyonlarının tedavisinde seçilecek yöntem ve zamanlama altta yatan hastalığa, klinik tablonun şiddetine ve prognoza göre planlanmalıdır. Konservatif tedavi, ekokardiyografi kılavuzluğunda perikardiyosentez, perkütan kateter drenaj, sklerozan tedaviler, radyoterapi, perkütan balon perikardiyotomi, cerrahi tedavi yöntemleri, subksifoid perikardiyal pencere, kamera yardımlı laparoskopik perikardiyostomi kronik perikardiyal efüzyonların tedavisinde kullanılan tedavi yöntemidir.

Perikard Aspirasyonu (Perikardiyosentez)

Perikard aspirasyonu hem tanı hem de tedavi amacıyla yapılır. Tanısal amaçla yapılırsa sıvının biyokimyasal analizleri, mikroskopik incelemesi ve kültürü yapılarak etiolojinin saptanmasında yardımcı olur. Tedavi edici amaçla ise genellikle tamponadlı hastalarda uygulanır. Tamponadlı acil durumdaki hastalarda hayat kurtarıcı olarak uygulanan bu tekniğin doktorlar tarafından iyi bir şekilde bilinmesinde yarar vardır.

İğne ile fazla miktardaki efüzyonlara kolaylıkla ulaşılabilir ancak az miktardaki efüzyonlara (kalbin ön yüzünde 5 mm'den az efüzyonlar) ulaşmak oldukça zordur ve kalp dokularına penetrasyon ve laserasyon gibi komplikasyonlar gelişebilir. Bundan başka püy gibi koyu sıvıları veya pıhtılı sıvıları aspire etmek güç olabilir.

Körlemesine yapılmasındansa ekokardiyografi ve bilgisayarlı tomografi gibi görüntüleme teknikleri kılavuzluğunda yapılan perikardiyosentez işlemi hem daha etkili olmakta hem de komplikasyon riskini oldukça azaltmaktadır (97,98). Ekokardiyografi kılavuzluğunda yapılan perikardiyosentezde anterior ve inferior bölgede sıvının en fazla toplandığı bölge belirlenmeli ve işlem buradan gerçekleştirilmelidir. Ekokardiyografi kılavuzluğunda yapılan perikardiyosentezde perikardiyumun herhangi bir bölgesinden ponksiyon yapılabilir. Sadece sternumun her iki tarafında 2,5 cm'lik mesafede bulunan internal mammalian arterlerin alanından uzak durulmalıdır.

Perikard aspirasyonu için gerekli ortam ve kullanılan başlıca yollar şunlardır: Perikardiyosentez yapılacak mekanda resüsitasyon ve monitorizasyon için gerekli ekipman bulunmalı, işlem sırasında oluşabilecek aritmiler, kardiyak dekompanseasyon ve ciddi kanama gibi olaylar monitorizasyon ile izlenmelidir. İşlemin kateter laboratuvarında floroskopi altında

uygulanması en güvenli yöntemdir. Herhangi bir komplikasyon olasılığına karşı hastanın kan grubunun bilinmesinde yarar vardır.

İşlem için kullanılan gereçler şunlardır:

- Perikard aspirasyonu için yapılan özel kateter iğnesi veya 16-18 No'lu lomber ponksiyon iğnesi,
- Stopcock,
- 50 ve 20 ml'lik enjektör,
- Lokal anestezi madde ve iğnesi,
- Gazlı bez, eldiven, delikli örtü, antiseptik solüsyon,
- Klemp (timsah ağızlı olması ve ucunun EKG bağlanmasına elverişli bulunması),
- İğne ile EKG derivasyonunu birbirine tutturmak için ara kablo.

Perikarda girmek için standart bir intrakardiyak iğne veya plastik kanülle kaplı 5-6 inç uzunluğunda iğne kullanılır. İğne EKG monitörüne bağlanmalıdır. İğnenin ucu ara bir kablo ile EKG kablosunun göğüs derivasyonlarını çeken koluna bağlanır. EKG kablosunun diğer uçları normal yerlerine yerleştirilir. Göğüs derivasyonuna yerleştirilen iğne girilecek bölgedeki deriye değdirilirse yaklaşık olarak V₂ derivasyonu elde edilir. İğne perikarddan geçip ventrikül yüzeyine değerse QRS kompleksleri aniden değışir ve ST segment yükselmesi ve ventrikül prematüre atım görülür. İğne ucu atriyuma dokunursa P dalgasının şekli değışir ve atriyal prematüre atım ortaya çıkar. Ekokardiyografi kılavuzluğunda perkütan perikardiyosentez en doğru yaklaşımdır. İki boyutlu ekokardiyografi ile en fazla sıvı birikiminin transdusere en yakın olduğu yerden uzaklık ölçülerek lokal anesteziyle girişim yapılır (96). Ekokardiyografi kılavuzluğunda mortalite %0, morbidite %4 iken kör perikardiyosentezde mortalite %0-6, morbidite %7-50 bulunmuştur. Kör perikardiyosentez tekniği daha yüksek komplikasyon ve mortalite oranları nedeniyle acil durumlar dışında kullanılmamalıdır (94).

İşlem, hastaya toraksla alt ekstremiteler 30-45⁰ açı yapacak şekilde pozisyon verilerek yapılır. Çift antiseptik kullanarak girişim yapılacak bölge temizlenir. Delikli kompres ve steril örtüler yerleştirilir. Anestezi madde önce deriye daha sonra derialtı dokusuna ilerletilerek subkütan dokuların anestezisi sağlanır.

İşlem ekokardiyografi eşliğinde yapılmayacaksa mandrenli iğne subksifoid alandan sol omuza doğru cilt ile 30 derecelik açı yapacak şekilde sol omuza doğru ilerletilir. Veya ponksiyon iğnesi ekokardiyografide sıvının en fazla olduğu perikard bölgesine doğru

ilerletilir. İğnenin ilerletilmesi sırasında kesinlikle ani hareketlerden kaçınılmalıdır. İğne ilerletilirken zaman zaman aspire edilerek kontrol edilmelidir. Perikard delindiğinde iğnenin sert bir cisimden geçtiği hissedilir. Sıvı gelmezse iğne geri çekilerek yönü değiştirildikten sonra tekrar ilerletilir. İlk etapta genellikle 50 ml sıvı alınır. Bu sıvının alınması genellikle tamponadın hemodinamik değişikliklerine düzeltir. Daha sonra 100-200 ml sıvı alınır ve basınç ölçümleri tekrarlanır (99). İlk anda 100-200 ml sıvının alınması hemodinaminin düzelmesi için yeterlidir. Kardiyovasküler dengenin yeniden kurulmasına izin verecek şekilde sıvının kademe kademe boşaltılması nadir bir komplikasyon olan "akut sağ ventrikül dilatasyonu ve kollaps" gelişimini önleyecektir. Kateterin ucu plastik bir torbaya bağlanıp sıvının yavaşça ve tamamen boşaltılması sağlanır. Bu arada perikard boşluğuna hava girmemesine dikkat edilmelidir. Uzun süreli drenaj gerekliliğinde, pürülan veya karsinomatöz efüzyonlarda veya intraperikardiyal aralıklı ilaç kullanılması gerektiğinde kateter uzun süreli içeride bırakılabilir ancak heparinize sıvı ile kateter zaman zaman yıkanmalıdır (99).

Kateter laboratuvarında floroskopi altında yapılan işlemlerde bir rehber tel ponksiyon iğnesi aracılığıyla perikard boşluğuna sokulur. Daha sonra pigtail kateter tel vasıtasıyla perikard içine yerleştirilir. Kateterin ucuna üç yollu stopcock bağlanır. Stopcock'a eğer basınç transduseri bağlanırsa intraperikardiyal basınç ölçülebilir. Ayrıca sağ kalp kateterizasyonu yapılarak perikardiyosentezle sağ atriyal basıncıdaki değişiklikler izlenebilir. Sağ atriyum ve perikard içi basınç düşmesi ile birlikte arter basıncında artış olması, pulsus paradoksusun düzelmesi tamponadın ortadan kalktığını gösterir (Şekil 3). Perikardiyal basınç sıfırın altına inmemişse ya transdüserde bozukluk vardır veya lokal efüzyon hala devam etmektedir. Eğer perikardiyal basınç uygun seviyeye inmesine rağmen sağ atriyal basınç hala yüksek seyrediyorsa efüzif-konstrüktif perikardit tanısı düşünülmelidir.

Perikardiyosentezi takiben efüzyonun tekrar edip etmediğini değerlendirmek için hemodinamik monitorizasyona devam edilmeli (tercihen 24 saat) ve ekokardiyografi tekrarlanmalıdır. Ekokardiyografik olarak tekrar sıvı birikimi tesbit edilmiyor ise ve 24 saat içinde aspire edilen sıvı miktarı <25 ml olunca perikardiyal kateter geri çekilir. Kateter çekildikten sonra periyodik olarak birkaç defa ekokardiyografi yapılmalıdır. Büyük efüzyonlar yavaş ve uzun periyotta boşatılmalı, ancak süre mümkünse 48 saati geçmemelidir. Çünkü süre uzadıkça enfeksiyon riski artar.

Aort diseksiyonu gibi bazı durumlarda perikardiyosentez kontrendikedir (4). Bu gibi durumlarda cerrahi girişim iyi bir seçenektir. Perikardiyosentezin rölatif kontrendikasyonları arasında pıhtılaşma bozuklukları, antikoagulan tedavi, trombostopeni (<50,000/mm³), küçük,

posterior ve loküle efüzyonlar, akut travmatik hemoperikardiyum, pürülan perikardit sayılabilir.

Perikardiyosentezin başarı şansı ve güvenliği sıvı miktarı ve lokalizasyon ile yakından ilişkilidir. Sıvı miktarı fazla ise perikardiyosentez başarı şansı yüksek ve komplikasyon riski azdır. Düşük efüzyonlarda komplikasyonlar daha sık görülür. Kumadin alanlarda perikardiyosenteze bağlı komplikasyon riski artar. Bu nedenle eğer mümkünse INR düzeyi normale döndüğünde işlem yapılmalıdır. Eğer INR yüksek ve acil perikardiyosentez gerekiyorsa taze donmuş plazma verilerek işlem yapılmalıdır (4,47,48,58,74). Ekokardiyografi veya floroskopi altında girişim yapılması komplikasyon sıklığını azaltmaktadır.

Perikardiyosentez işlemi sırasında gelişebilecek başlıca komplikasyonlar kalp boşluklarının veya epikardiyal damarların perforasyonu, aritmiler, pnömotoraks ve çok nadiren mide, dalak veya kolon perforasyonudur. Epikardiyal venlerin, sağ atriyum ve sağ ventrikülün perforasyonu oldukça tehlikelidir. Bu yapılar ince olmaları nedeni ile bol miktarda kanayarak hemoperikardiuma, perikardiyal tamponadın kötüleşmesi ve sirkülatuar kollapsa neden olabilir. Sol ventrikülün perforasyon olmadan basit perforasyonu nadir değildir ancak iyi tolere edilir. İğne ventrikül miyokardını deldiğinde çok ciddi kanama meydana gelmesi bile refleks hipotansiyon meydana gelebilir. İşlemin herhangi bir aşamasında hipotansiyon gelişebileceği için atropinin el altında hazır bulundurulması gereklidir. Kateter, kılavuz teli ve iğneye bağlı mekanik irritasyon sonucu ventriküler veya atriyal aritmiler meydana gelebilir. Ayrıca internal mammarial arter füstülleri, akciğer ödemi ve pürülan perikardite de rastlanabilir (4,47,48,61,77,99).

Perikard efüzyonlarında nüks oranlarının oldukça yüksek (%50) olması nedeniyle (6-8F/60cm) bir pigtail kateterin yerleştirilmesi ile perkütan kateter drenajı önerilmektedir. Perikardiyosentez ve uzatılmış kateter drenajı malign ve tekrarlayan efüzyonların tedavisinde güvenli ve etkin bir yöntem gibi görünmektedir. Kateter perikardda 72 saatten daha uzun süre bırakıldığında bile enfeksiyon riskinde anlamlı bir artış saptanmamıştır (23,94).

Eğer iğne ile perikarddan sıvı alınamazsa özellikle tamponadlı olgularda açık perikardiyotomi ve biyopsi uygulanabilir. Ksifoidal bölgeden, dördüncü interkostal aralıktan plevra kavitesine girmeden veya tam torakotomi yapılarak işlem uygulanabilir. Tamponad vakalarında açık yaklaşımla plevraperikardiyal pencere açarak etkili bir dekompresyonu uygulayan klinikler de mevcuttur. Bu yolla parsiyel perikardiyektomi de yapılarak tamponadın oluşması engellenir. Ayrıca lokal efüzyonlarda da açık cerrahi pencere açılması

uygundur. Transtorasik yaklaşımda sıvının tekrar toplanma oranı azalır ancak bu yöntemde daha yüksek morbidite eşlik eder.

Perkütan balon perikardiyotomi cerrahi perikardiyal pencereye alternatif olup daha az invazivdir. Balon perikardiyotomide başarı oranı yüksek, komplikasyon oranı düşüktür. İntravenöz sedasyon ve lokal anesteziyle kateter laboratuvarında yapılan bu girişim şiddetli göğüs ağrısına rağmen genellikle iyi tolere edilir. Başarı oranı %92 olarak bildirilmiştir (100). Kısa yaşam beklentisi olan kanserli ve büyük malign perikard efüzyonları olan hastalara, hemodinamik instabilitesi olanlara, cerrahi riskin yüksek olduğu hastalara ve tekrarlayan tamponad durumlarında önerilmektedir (89). Perkütan balon perikardiyotomi büyük plevral efüzyonların meydana gelmesine neden olabilir. Çoğu hastada işlemden 24-48 saat sonra sol plevral efüzyon gelişir ve olguların çoğunda spontan kaybolur. Torasentez ve göğüs tüpü yerleştirilmesi ancak %15 hastada gerekir.

Cerrahi yaklaşımlar kronik perikardiyal efüzyonların tedavisinde hala sağlam ve güvenilir yöntemler olarak yerini korumaktadır. Ayrıca alınan perikard biyopsisi tanıya yardımcı olmaktadır. Cerrahi yaklaşım özellikle epanşmanlı konstruktif hastalıkta, kronik tekrarlayan perikardit ve tekrarlanan perikardiyosentezlere rağmen nükseden efüzyonlarda uygulanmaktadır.

Subksifoid perikardiyal pencere tekniği: Lokal anestezi altında vertikal insizyonla görerek perikardiyal biyopsi alınması, pencere oluşturulması ve dren konarak işlemin tamamlanması şeklinde tanımlanan yöntemin % 3-12 oranında başarısızlık ihtimali vardır (56).

Kamera yardımcı torakoskopik perikardiyektomi tekniği: Bir torakoskopun sol ya da sağ hemitoraksa yerleştirilmesiyle plevra ve perikardın makroskobik olarak görülmesi, patolojik yerlerden biyopsi alınması ve uygun yerden pencere açılmasına olanak sağlayan bu teknik tanı ve tedavide oldukça yararlıdır.

Mediyan sternotomi veya sol anterior torakotomi tekniği: Özellikle konstriktif perikardiyal hastalıkta ve pürülan perikardit olgularında tercih edilen yöntemdir. Diğer yöntemlerle sonuç alınamayan olgularda parsiyel ya da komplet perikardiyektomi yapılabilir.

2.4. PROTEOMİKS

İnsan Genom Projesi ("Human Genome Project"), DNA'nın moleküler yapısının Watson ve Crick tarafından 1953 yılında açıklanmasından tam 50 yıl sonra tamamlanmıştır. Elde edilen veriler, insanoğluna yeni ufuklar sunarken, birçok farklı projelerin de başlamasına neden olmuştur (101,102). Diğer taraftan, insan genom projesi ile elde edilen bilgilerin çoğu ham bilgilerdir. Bu bilgilerin özellikle klinik çalışmalara uygulanması, yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ve tüm bilim dallarında atılımı sağlayacak neden sonuç ilişkilerinin tanımlanması için yeni bazı bilgilere ihtiyaç vardır. Halen hücrede birçok molekülün nerede, hangi koşullar altında sentezlendiği bilinmemekte ve tüm doğal gerçekliği yansıtacak protein moleküllerinin rolleri açıklanamamaktadır. Bu nedenle, günümüzde proteomiks, genomiks ve transkriptomiks gibi farklı bilim dalları doğmuştur (103-104). Proteomiks, biyoloji, biyoinformatik ve protein biyokimyasını içeren disiplinler arası bir bilim dalıdır.

Genomun tüm protein komplementlerini (proteom) çalışan bilim dalı Proteomiks olarak adlandırılmaktadır. Proteomiks ve proteom terimleri Marc Wilkins ve arkadaşlarınca 1990'larda türetilmiştir. Bu kelimeler tüm bir organizmadaki tüm genlerin koleksiyonlarını ifade eden genomiks ve genom kelimelerinin yansımalarıdır. Proteomiks, çok genel anlamı ile RNA-protein ilişkisini açıklamaya çalışan, hücre ve dokuları oluşturan proteinlerin ifade bulmaları sırasındaki post-transkripsiyonal modifikasyon ve translasyon sırasında oluşan değişiklikler ile ilgilenen bir bilim dalıdır (104). Hücrede gerçekleşen posttranslasyonel modifikasyonlar normal ve patolojik dokulardaki farklılıkları belirler ve proteinde görülen post-modifikasyonların tümünün bilgisini protein kodlayan bölgelerdeki genomik bilgi tek başına veremez. Bu nedenlerle, genomik çalışmalar her zaman nihai protein ekspresyonu hakkında doğru bilgiler sağlayamaz iken yapılan proteom çalışmaları, genomik analizlerle belirlenemeyecek şekilde pek çok farklı yoldan gerçekleşen hastalık patolojisini ve fenotipini ortaya koyabilmektedir.

2.4.1. Proteom Analizinde Kullanılan Genel Strateji

Proteomiks ile proteom ve onun komponentlerinin karakterizasyonu işi pratikte yapılabilmektedir. Proteom analizi için ilk adım örnek hazırlığı yapılmalıdır. Tüm hücre ve doku özütlelerinde proteinlerin analizleri amacıyla örnek hazırlanmasındaki ana problem; bunların farklı moleküler kütle, yük, izoelektrik nokta ve çözünürlüğe sahip olmalarıdır.

Ayrıca bu aşamada örnek karmaşıklığının azaltılması da önemlidir. Bu nedenle örneğe ve hedefe göre örnek hazırlığının optimizasyonu iyi bir ayırma için gereklidir.

Proteom analizinde ikinci adım analitik protein ayırma teknolojisidir. Analitik protein ayırma teknolojisinde önce kompleks protein karışımlarını belli proteinlere ya da protein alt gruplarına ayırarak basitleştirir. Daha sonra örnekler arasında karşılaştırma yapılarak protein düzeylerindeki farklılıklar belirlenir. Proteinlerin ayırma araştırıcısına analizi için spesifik proteinleri hedeflemesini sağlar. Protein ayırmanın yapılabilmesi için iki tip metodoloji mevcuttur. Bunlardan ilki sıvı fazda ayırma yapıldığı metoddur (105-107) İkinci metod ise proteomikte altın standart olup sıklıkla tercih edilen 2D (iki boyutlu) jel elektroforez metodudur. Bununla birlikte diğer protein ayırma teknikleri 1D jel elektroforezi, poliakrilamid jel elektroforezi [1. SDS- PAGE (denatüre edici page) ve 2.ND-PAGE(non denatüre edici page), HPLC (yüksek performans likit kromatografisi), kapiler elektroforez, izoelektrik odaklama ve kromatografik yöntemlerdir (105-107).

Ayrıştırılmış örneklerin analizi, Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight (MALDI-ToF), Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS), PSDMALDI-MS (Post Source Decay) ve SELDI-TOF (Surface Enhanced Laser Desorption Ionization) yöntemleri ile yapılır. Kütle spektrumu ve kromatogram verileri alınan örnekler için veri tabanında tarama yapılmakta ve belirli olasılıklarla protein eşleştirmeleri elde edilmektedir. MALDI-TOF ile protein bilgisine ulaşıp proteinin adı konulduktan sonra, ESI-MS için kullanılan Q-TOF ile amino asit dizilimlerine ulaşılarak proteinlerin primer amino asit dizileri aydınlatılabilmektedir. Veri tabanları üzerinden kimliği belirlenmiş olan proteinler değerlendirilerek farklı tedavi dozlarına yanıt, tedavi edilen ve edilmeyen bireylerdeki protein haritaları veya farklı hastalıkları taşıyan vakalar ile kontrol grupları arasında fark doğrudan ve en güvenilir şekilde ortaya koyulmaktadır (105-107).

Kısacası proteomiks analizinde kullanılan genel strateji (1) Ekstraksiyon, solübilizasyon, ön-fraksiyonlama, DNA'nın uzaklaştırılması, yaygın bulunan proteinlerin uzaklaştırılması gibi teknikleri içeren örnek hazırlığı. (2) Protein ve/veya Peptitlerin tanımlanması (İdentifikasyonu) ve elektroforeze dayalı tekniklerin kullanımı.

2.4.2. Kıyaslamalı proteomiks çalışmalarının amacı:

Klinik proteomiks çalışmalarında temel amaç, farklı hastalıklara ait özgün biyobelirteçlerin ortaya konması ve bunun tanı testi olarak kullanılmasıdır. Bu teknoloji, serum ve idrar gibi ürünlerde kolaylıkla uygulanabilir. Ancak, biyokimyasal mekanizmaların

karmaşıklığı nedeni ile, bir çok hastalıkta tek bir biyolojik belirteç ile sonuca ulaşamamaktadır. Bu nedenle hastalık progresyonu sırasında ortaya çıkan moleküllerin çalışılmasında, çoklu belirteç panellerinin veya proteomiks panellerinin çalışılması giderek önem kazanmaktadır (108,109).

Bu nedenle kıyaslamalı proteomiks çalışmalarının amacı: Normal biyolojik süreçlerin ve hastalıkların altında yatan mekanizmaların tanımlanması (inflamasyon, erken renal veya hepatik yetersizlik, beslenme bozuklukları ve toksikoloji), vücut sıvılarında, hücrelerde veya doku biyopsilerinde diyagnostik ve prognostik hastalık belirteçlerinin tanımlanması, hastalık progresyonunun izlenmesi ve sub-klasifikasyonu, yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesi, vücut sıvı örneklerinin veya doku biyopsilerinin orijinlerinin belirlenmesi, sıvı, hücre veya dokularda protein fenotiplerinin ve post-translasyonel modların belirlenmesi (Apolip.A ve J, haptoglobin), immünooglobulin klonlarının araştırılması genetik otoimmün, enfeksiyonel veya neoplastik hast. Örn; MS, Hemolitik anemi, Lyme has.,B-hepatit, Limfoproliferatif hastalıklar) olarak tanımlanabilir.

2.4.3. Proteomiksin Uygulama Alanları

Günümüzde pratikte dört temel uygulamayı kapsamaktadır. Bunlar: (1) mining (örnekteki proteinlerin tümü), (2) protein ekspresyon profili, (3) protein network haritalaması, (4) protein modifikasyon haritalamasıdır.

- 1) Mining: Bir örnekteki proteinlerin olabildiğince tümünün tanımlanabilmesi çabasıdır. Miningde işaret edilen; gen ekspresyonu dikkate alınmadan direk olarak proteomu katologlamaktır.
- 2) Protein ekspresyon profili: Organizmanın ya da hücrenin belirli bir durumdaki (diferansiyasyon, gelişme durumu veya hastalık durumu gibi) ya da bir ilaç, kimyasal veya fiziksel uyarıcı ile karşılaşmadaki fonksiyonu gibi belirli örneklerdeki proteinlerin tanımlanmasıdır. Ekspresyon profili aslında miningin özelleşmiş formudur. Yaygın olarak belirli bir sistemin iki durumunun karşılaştırılmasında farklı analizler olarak uygulanabilir. Örneğin normal ve hastalıklı hücre veya dokular bir durum diğeriyle karşılaştırılarak proteinlerin farklı ekspresyonları belirlenebilir. Bu bilgiler hastalıklarda ilaç terapilerinin potansiyellerinin tespiti anlamında müthiş bir çekiciliğe sahiptir.

- 3) Protein network haritaları: Yaşayan sistemlerde hangi proteinlerin birbirleriyle etkileşimde olduklarını belirleyen proteomiks yaklaşımlarıdır. Birçok protein fonksiyonlarını diğer proteinler ile etkileşerek ortaya çıkarır. Bu etkileşimler, sinyal transdüksiyon yolu ve kompleks biyosentetik veya degradasyon yolları gibi proteinlerin fonksiyonel networklerinin fonksiyonlarını belirleyen etkileşimlerdir. Birçoğu bireylerle, pürifiye proteinlerle ve yeast two hybrid sistemleri ile yapılan in vitro çalışmalarla elde edilen protein–protein etkileşimlerinden öğrenilmiştir. Proteomiks yaklaşımlar çoklu protein komplekslerinin komponentlerinin tanımlanmasında da kullanılmaktadır. Çoklu kompleksler hücrede sinyal transdüksiyon yolunda devreye girmektedir.
- 4) Protein modifikasyonlarının haritalanması: Proteinlerin nasıl ve nerde modifiye olduklarının belirlenmesi işidir. Birçok yaygın posttranslasyonel modifikasyon proteinlerin hedefleme, yapı, fonksiyon ve turnoverini yönetir. Buna ilaveten birçok çevresel kimyasal, ilaçlar endojen kimyasallar reaktif elektrofollere yol açarak proteinleri modifiye ederler. Analitik yöntemlerin çeşitliliği modifiye proteinler ve modifikasyonların doğasının tanımlanmasını geliştirmiştir. Modifiye proteinler antikolar ile (spesifik fosforlanmış aminoasid rezidüleri için) tespit edilebilir fakat her protein için antikor mevcut değildir. Ayrıca, spesifik modifikasyonun kesin sekans bölgesi ve türü bilinemez. Proteomiks yaklaşımları posttranslasyonel modifikasyonlar hakkında en güvenilir ve geniş bilgiyi verir.

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması ve Hazırlık

Çalışmaya 2005-2009 yılları arasında perikard efüzyonu nedeni ile Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kardiyoloji Kliniğine başvuran ve tanı veya tedavi amacı ile ekokardiyografi eşliğinde perikardiyosentez işlemi uygulanan hastalar alındı. Perikard efüzyonunun etiyojisi klinik değerlendirme, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve patolojik analiz ve görüntüleme yöntemleri ile belirlendi. Perikard efüzyonunun akciğer malignitesine bağlı olduğu saptanan hastalar çalışma grubuna alındı.

Kontrol grubu herhangi bir ek hastalığı olmayan ve Kocaeli Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi kliniğine koroner arter bypass cerrahisi (CABG) amacı ile başvuran kişilerden seçildi. Kapak hastalığı, kalp yetersizliği olan veya yakın zamanda akut koroner olay geçirmiş hastalar dışlandı. Perikard sıvısı örnekleri operasyon öncesinde perikard açıldığı sırada alındı. Hasta ve kontrol grubundaki katılımcıların özellikleri Tablo 5 ve 6' da belirtilmiştir.

Çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Etik kurul tarafından AEK3-12 sayılı 24 nolu proje olarak kabul edildi. Bu çalışmaya dahil edilen hastalar kardiyak tamponad kliniği ile koroner yoğun bakım ünitesinde takip edilen, acil perikardiyosentez uygulanması gereken, daha öncesinde akciğer biyopsi sonucu ile akciğer kanseri tanısı konulmuş ve bilgilendirilmiş onay formu alınmış hastalardır. Kontrol grubu hastaları ise onay formu alınmış elektif CABG uygulanan hastalardan oluşmuştur.

3.2. Protein çözeltilerinin hazırlanması

Elde edilen perikard sıvı örnekleri KOÜTF Klinik Araştırmalar Biriminde, antikoagülasyon uygulanmamış steril tüplerde -80 °C'de saklandı. Örnekler buz üzerinde çözüldükten sonra 20 dakika 15000 xg de 4°C' de santrifüj edildi. Çöken hücreler ve üst faz sıvı ayrıldı. Çalışmanın iki aşamalı yapılmasına ve hem çöken hücrelerden hem de üst faz sıvıdan proteomiks çalışılmasına karar verildi.

İlk aşamada çöken hücreler PBS ile yıkandıktan sonra homojenizatör ile altı döngü halinde herbir döngü 30 sn olacak biçimde 250 µl MPER tamponu (Pierce Inc., USA) içerisinde parçalandı. Parçalanmış hücrelerin kalıntılarını protein çözeltilerinden ayırmak için işlenmemiş protein çözeltisi 15000 xg de 20dk 4°C'de santrifüj edildi ve üst faz temiz bir tüpe aktarıldı. Bu faz işlenmemiş proteinleri içeren fazdır. İşlenmemiş protein çözeltileri iki

boyutlu jel elektroforezine uygun saflıkta olmadıklarından dolayı, tuzları ve diğer uygun olmayan maddeleri uzaklaştırmak için proteinler TCA- Aseton ile çöktürerek saflaştırıldı.

İkinci aşamda sıvı fazın analizinden önce detayları aşağıda belirtilen Aurum serum protein mini kit kullanılarak sıvı içerisindeki albümin indirgenmesi yapıldı. Elde edilen indirgenmiş sıvıdan tuzları ve diğer uygun olmayan maddeleri uzaklaştırmak için detayları aşağıda verilen 2D clean up kiti (BioRad, USA) kullanıldı.

3.2.1. TCA-Aseton çöktürmesi

Çöken hücrelerden elde edilen işlenmemiş protein çözeltileri iki boyutlu jel elektroforezine uygun saflıkta olmadıklarından dolayı, tuzları ve diğer uygun olmayan maddeleri uzaklaştırmak için proteinler çöktürerek saflaştırıldı. Çöktürme kısaca şöyle yapıldı. Her bir örneğin hacimce dörtte biri kadar TCA örneklere eklendi ve 10 dk 4°C'de bekletildi. Tüpler mikrosantrifüjde 14000 xg de 5dk santrifüj edildi ve çöken proteinlerden sıvı kısım dikkatli bir şekilde ayrıldı. Protein çökeltileri 200 µL aseton ile yıkandıktan sonra mikrosantrifüjde 14000 xg de 5dk santrifüj edildi. Bu işlem iki kez tekrarlandı. Sonrasında asetonu uzaklaştırmak için proteinler 10 dakika oda sıcaklığında kurutuldu. Çökelek 250 µL, rehidrasyon tamponu içerisinde çözüldü ve protein konsantrasyonu belirlendi (10ml ReadyPrep rehidration tampon 8M urea, %0,2(w/v) Bio-Lye 3/10 ampholytes, %2 CHAPS, 50 Mm dithiothreitol (DTT) ve Bromophenol Blue).

3.2.2. Albümin indirgeme işlemi-Aurum serum protein mini kit protokolü

Çalışılan örneklerin içerisinde ağırlıklı olarak albümin bulunması ve bulunan bu albüminin düşük seviyede bulunan proteinleri bloke etme ihtimaline karşılık örneklerden albümin uzaklaştırması yapıldı. Bu amaçla aurum serum mini kit (BioRad, USA) kullanıldı.

Kolon hazırlığı: Dibe çöken reçineleri ayırmak için serum protein kolonu test tüpünde 5 dakika bekletildikten sonra kolonun altındaki tıpası ayrıldı, kolon test tüpüne tekrar yerleştirildi ve yer çekimi ile akım başladı. 1ml serum protein bağlayıcı tampon ile kolon iki kez yer çekimi akımı kullanılarak yıkandı. Sonrasında kolon boş 2 ml toplayıcı tübe yerleştirildi, reçin yatağını kurutmak için 20 sn, 10000 xg de santrifüj edildi. Kolonun altına sarı tıpası yerleştirilip kolon temiz test tüpüne konuldu.

Örnek bağlayıcı ve arındırma–temizleme: Ayrı bir tüpte, 60 µL üst faz sıvı 180 µL serum protein bağlayıcı tampon ile dilüe edilerek örnek hazırlandı. 200 µL dilüe üst faz sıvısı kolondaki reçin yatağının üzerine konuldu. Beşer dakika aralarla 3 kez kolon vorteksledi.

Arındırılmış örneğin toplanması: Kolon altındaki sarı tıpa çıkarılıp kolon vorteksledikten sonra 20 sn 10000 xg de santrifüj edildiler ve toplanan protein fraksiyonları toplama tüpüne alındı. Aynı toplama tüpünü kullanılarak 200 µL serum protein bağlayıcı tampon ile kolon yıkandıktan sonra 20 sn 10000 xg de santrifüj edildi ve toplanan protein fraksiyonlarını toplama tüpüne alınıp protein kolonundan ayrıştırıldı.

3.2.3. Üst faz sıvıların temizleme işlemi

Perikard sıvıları içerdikleri tuzlar ve diğer interferan ajanlar nedeni ile işlenmeden iki boyutlu jel elektroforezinde kullanılamazlar. Bu nedenle perikard sıvısı içerisindeki proteinler 2D clean up kitinden (Bio-Rad, USA) faydalanılarak temizlendi.

Albüminden indirgenmiş 100 µL örnek 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne alındı. Üzerine 300 µL çöktürücü ajan 1 eklenip vorteksledi, 15 dakika bekletildi. Sonra 300 µL çöktürücü ajan 2 eklenip vorteksledi, 12000 xg' de 5 dk santrifüj edildi. Üst kısım atıldı, alttaki çökelti tekrar santrifüj edildikten sonra 40 µL yıkama solusyonu 1 konuldu. 5 dk 12000 xg' de santrifüj edildi. Üst kısım atıldı, çökelti 25 µL distile su ile yıkandı. Sıvı uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml yıkama solusyonu 2 eklendi, 30 dk -20 derecede bekletildi.

Albüminden indirgenmiş, temizleme işlemi yapılmış üst faz örnekleri de, TCA aseton çöktürme işlemi yapıldıktan sonra 250 µL İEF rehidrasyon tamponu içerisinde çözüldü. (10 ml ReadyPrep rehidration tampon 8M urea, %0,2(w/v) Bio-Lye 3/10 ampholytes, %2 CHAPS, 50 Mm dithiothreitol (DTT) ve Bromophenol Blue). Daha sonra 17 cm lik IPG (Ph 3-10) striplerine 300 µL örnek volüm eklendi ve emdirildi.

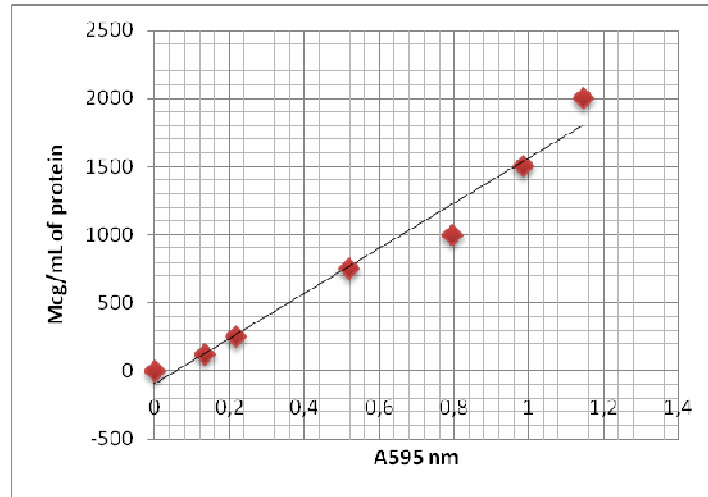
3.2.4. Protein miktarının belirlenmesi

İşlenmemiş protein çözeltileri içerisindeki protein miktarı iki farklı yöntem kullanılarak belirlendi. Eğer örnekler betamerkaptoetanol, DTT (Ditiotreitil), PBT (Tributilfosfayn) içeriyorsa Lowry protein assay metodu, içermiyorsa Bradford dye binding assay metodu kullanıldı. Her iki yöntem de Bio-Rad firmasının ticari olarak satılan kitler aracılığı ile uygulandı. Lowry metodu (RCDC protein assay, Bio-Rad, USA) kalorimetrik bir metod olup protein ile alkalın bakır tartarat çözeltisinin ve folin ajanının reaksiyonuna

dayanılarak değerlendirilir. Renk oluşumu tirozin ve triptofan ile çok az miktarda sistein ve histidinin katkıları ile olur. Oluşan mavi renk 750 nm’de spektrofotometre yardımı ile okunur ve bir standart aracılığı ile miktara çevrilir. Bradford metodu proteinlerin asidik ortamda Coomassie Brilliant mavisi ile vermiş olduğu reaksiyona dayanır. Spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda absorban ölçümü yapıldıktan sonra elde edilen absorban değerleri standart BSA çözeltilerinin absorbanları ile karşılaştırılarak ve dilüsyon faktörü de göz önüne alınarak protein miktarı hesaplanır.

3.2.5. Protein Standard Eğrisinin Çizilmesi

Saf Bovin serum albumin proteini örneklerdeki protein miktarlarının belirlenmesinde kullanıldı. Şekil 19’da Bradford metodu için hazırlanmış standart eğri verilmiştir. Lowry metodu ile hazırlanan eğride benzer şekildedir. Protein standardı olarak 0,2–2 mg/ml arasında beş adet hazırlanan bovine serum albumin (BSA) dilüsyonları ile 595 nm dalga boyunda ölçülen absorbanlar kullanılarak lineer grafikler elde edildi ve bu eğriler kullanıldı.



Şekil 19: Bradford metodu ile hazırlanmış protein standart eğrisi

3.3. Proteomiks analizinde kullanılan jel ve solüsyonlar

3.3.1. %12 SDS Yürütme jeli:

Destek ortam olarak genellikle poliakrilamid jeller tercih edilmektedir. Poliakrilamid jel ile yapılan elektroforez, örneklerin daha iyi ayrılmasını sağlar. Çünkü ayırma hem moleküler hem de elektroforetik mobilitelere dayanır. Poliakrilamid jeller, minimum protein adsorpsiyonu, hızlı analize olanak sağlanması, kolay hazırlanması, boyama, kopyasını alabilme ve gözenek büyüklüğünün ayarlanabilir olması gibi birçok avantaja sahiptir (110,111).

2D gel elektroforezinde proteinlerin yürütülmesinde kullanılan poliakrilamid yürütme jeli (% 12) hazırlamak için aşağıdaki karışım hazırlandı (Laemmli, 1970).

Saf su	:3,50 ml
0.5 M Tris.Cl pH 6.8	:2,5 ml
% 30 Akrlamid/bisakrlamid	:4 ml
% 10 SDS	:100 µl
% 10 APS	:50 µl
TEMED	:5 µl

3.3.2. Yürütme jeli yapımında kullanılan solüsyonlar:

Akrlamid – bisakrlamid (% 30) hazırlamak için 29,2 g akrilamid, 0,8 g bisakrlamid tartılıp 100 ml saf suda çözüldü. Filtre edildi ve +4 °C’de saklandı.

Amonyum persülfat (APS) (% 10) hazırlamak için 1 g APS tartılıp 10 ml saf suda çözüldü. Filtre edildi ve +4 °C’de saklandı.

Sodyum dodesil sülfat (SDS) (%10) hazırlamak için 1 g SDS tartılıp 10 ml saf suda çözüldü ve oda sıcaklığında saklandı.

Ticari olarak satılan N,N,N', N'-tetramethyl-ethylenediamine (TEMED) kullanıldı (Sigma, USA).

3.3.3. Rehidrasyon solüsyonu:

10 ml ReadyPrep rehidration tampon 8M urea, %0,2(w/v) Bio-Lye 3/10 ampholytes, %2 CHAPS, 50 Mm dithiothreitol (DTT ve Bromophenol Blue) içerir.

3.3.4. Yürütücü solüsyon (TGS):

25 Mm Tris, 192mm glycine , %0,1 SDS, Ph: 8,3

3.03gm Tris base, 14.4 gm glycine, 1 gm SDS, 1l su ile hazırlanır.

3.3.5. Sabitleştirici, Boyama ve Boya Uzaklaştırıcı Solüsyonlar:

Sabitleştirici solüsyon için 40 ml metanol ve 10 ml asetik asit karıştırılarak su ile 100 ml'ye tamamlandı. Sabitleştirici solüsyonun içerisine 0,25 g Coomassie mavisi eklenerek boyama solüsyonu hazırlandı.

3.4. İki Boyutlu Jel Elektrofrez (2D Gel Elektrofrez)

Protein miktarları belirlenen örneklerin 2D gel elektrofrez aşağıda tarif edildiği gibi yapıldı.

3.4.1. Birinci Boyut: İzoelektrik fokuslama (IEF):

2D jel elektrofrezinde 1. boyuttaki amaç kompleks proteinlerin izoelektrik noktalarına göre odaklamaktır.

Bu yöntemin temeli, izoelektrik pI değeri ortamın pH değeri ile uyuşmayan bir proteinin ortam içinde sürekli hareket edeceği ilkesine dayanır. Klasik elektrofrezden farklı olarak izoelektrik odaklamada, proteinlerin ayrıştığı mesafeler, ortamdaki pH gradyanına bağlıdır (110). Bu pH gradyanını oluşturan moleküllere amfolitler denir. Amfolitler, molar kütleleri 300-1000 g/mol aralığında olan poli-aminoasitlerdir (111). Bu moleküller, proteinler gibi bir izoelektrik noktaya (pI) sahip oldukları için bu noktalarda net elektrik yükleri sıfırdır. Bir proteinin çözünürlüğü pI noktasında minimum olduğu ve protein molekülü bu pH'de net bir yük taşımadığı için elektrik alanında hareket edemez. Sonuç olarak amfolitler poliakrilamit jellere katılarak, pH 3-10 arasında bir pH gradyeni oluşturulabilir.

Birinci boyutta ilk aşamada hücre çökelti örnekleri için pasif rehidrasyon işlemi yapıldı. İzoelektrik odaklamada 7 cm'lik IPG stripleri (Ph 3-11 ReadyStrip) kullanıldı. Rehidrasyon tamponu ile muamele edilen her bir örnekten 169 µg protein içeren 125 µl' lik protein çözeltileri rehidrasyon tabakasına koyuldu (Şekil 20A-B). IPG stripler '+' kutup sol tarafa gelecek şekilde dikkatli bir şekilde tabaka içindeki örneklerin üzerine yerleştirildi.

Rehidrasyon sırasında 1. saat sonunda örneğin buharlaşmasını önlemek için üzerlerine 2-3 ml mineral yağı ilave edildi ve yaklaşık 16 saat rehidrasyon işlemine devam edildi.

Rehidrasyon işleminden sonra izoelektrik odaklamaya geçildi. Mineral yağdan arıtılmış IPG stripler '+' kutup sol tarafa gelecek şekilde PROTEAN IEF odaklama tabakasına alındı ve üzerlerine 2-3 ml taze mineral yağ koyuldu. IPG strip artan voltaj programı ile birlikte 20 °C' de adım adım yürütüldü (250 volt: 20 dk, 4000volt: 2 saat lineer, 4000volt: 2,5 saat, hızlı ve toplamda 14 kilowatt/saat gücünde) (Şekil 20A-B).

İkinci aşamada 17 cm' lik IPG striplere emdirilmiş olan üst faz sıvı örnekleri çalışıldı. 17 cm lik IPG stripleri -80 °C' de saklandığı için rehidrasyon işlemine geçilmeden önce her bir stripe ekilibrasyon (denkleştirme) işlemi uygulandı. Stripler önce 15 dk equilibration tampon 1 (6 M üre, 0,375 M Tris-HCL, Ph 8,8, %2 SDS, %20 gliserol, %2 (w/v) DTT) ile muamele edildi. Daha sonra 15 dk equilibration tampon 2 (6 M üre, 0,375 M Tris-HCL, Ph 8,8, %2 SDS, %20 gliserol, %2,5 (w/v) iodoacetamid) ile muamele edildi. Denkleştirme işleminden sonra rehidrasyon tampon ile muamele edilen her bir örnekten 300 µl' lik protein çözeltileri PROTEAN IEF tabaksına koyuldu. IPG stripler '+' kutup sol tarafa gelecek şekilde tabaka içindeki örneklerin üzerine yerleştirildi ve aktif rehidrasyon işlemi yapıldı. Rehidrasyon sırasında 1. saat sonunda örneğin buharlaşmasını önlemek için üzerlerine 2-3 ml mineral yağı ilave edildi ve yaklaşık 16 saat rehidrasyon işlemine devam edildi.

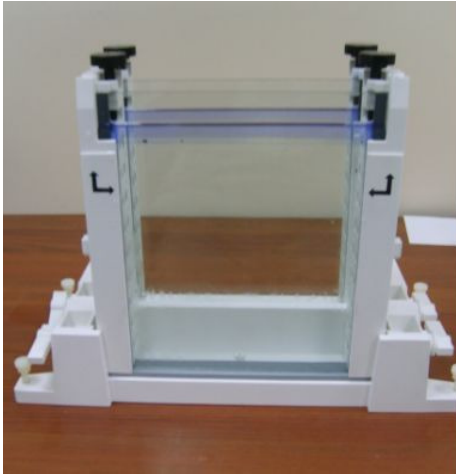
Rehidrasyon işleminden sonra izoelektrik odaklamaya geçildi. IPG strip artan voltaj programı ile birlikte 20 °C' de adım adım yürütüldü (250 volt: 20 dakika, 10000 volt: 2,5 saat lineer, 10000 volt: hızlı ve toplamda 40000 kilowatt/saat gücünde ortalama 7 saat).



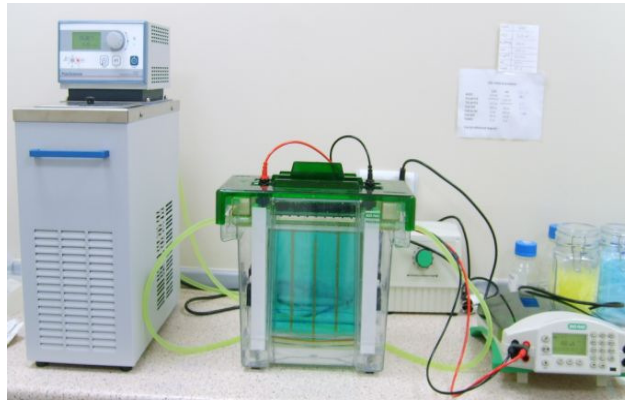
A



B



C



D

Şekil 20: 2D Gel Elektroforez sistemi. **A:** İzoelektrik fokuslamada (IEF) kullanılan rehidrasyon tabakası, **B:** IEF cihazı, **C:** Cam yükleme jel plakaları, **D:** SDS-PAGE yürütme tankı

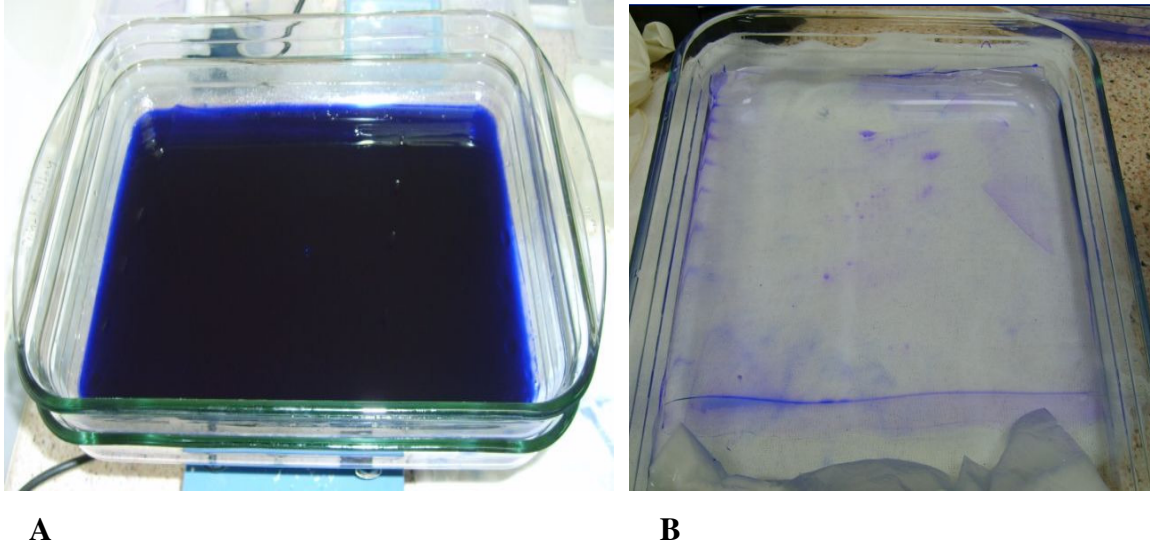
3.4.2. İkinci Boyut: Protein Jel Elektroforezi (SDS-PAGE):

Mobilite, moleküllerin hem yüklerine hem de boyutlarına bağlıdır. Protein moleküllerinin yükleri eşit ise mobilite sadece büyüklüğe bağlı olacaktır. Eğer proteinlerin disülfid bağları MET (β -Merkapto etanol) aracılığı ile kırıldıktan sonra elektroforez uygulanırsa, proteinlerin molekül ağırlıkları hesaplanabilir (112). Protein moleküllerinin sodyum dodesil sülfat (SDS) ile muamelesi sonucu polipeptit zincirlerinin ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıları parçalanır (113). Ayrıca deterjan, proteinin hidrofobik bölgelerine bağlanarak, proteinlerin doğal yüklerini maskeler. Sonuçta, polipeptit zincirlerinde sabit bir yük/kütle oranına sahip tek bir yapı ortaya çıkar. SDS-polipeptit kompleksi, SDS ile

hazırlanmış bir jele konulduğunda ortamdaki hızını belirleyen temel etken molekül kütlelidir. Elektrik alan sadece filtrasyon olayının itici gücü görevini yapar.

2D jel elektroforezin 2. boyutunda IPG stripler poliakrilamit jel üzerinde yürütülerek moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırıldılar.

7 cm'lik ve 17 cm'lik iki ucu açık dikdörtgen cam plakalar arasına yükleme jeli üstten 1 cm boşluk kalacak şekilde döküldü. Üst yüzeyi 2 mm yüksekliğe kadar su ile doyurulmuş izopropanol pipet ile eklendi. Jel polimerize olduktan sonra n-bütanol saf su ile uzaklaştırıldı. Kurutma kâğıdı ile cam plakalar arası temizlendi (Şekil 20C). Polimerize olan jel rezervuar tanka yerleştirildi. IPG stripler yürütücü solüsyonda 1-2 dakika bekletildikten sonra jel üzerine yerleştirildi ve arada boşluk kalmaması için agaroz solüsyonu eklendi. Tank yürütücü solüsyon ile doldurularak 7 cm IPG striplerdeki proteinler SDS PAGE' de 1.0 mm kalınlıktaki jelde 180 voltta, 60 dk yürütüldü. Yürütme sonunda jel cam plakalardan çıkarıldı. Jel 30 dk sabitleştirici solüsyonda yıkandıktan sonra Coomassie mavisi içeren boyama solüsyonunda 2 saat bekletildi ve daha sonra distile su ile yıkandı. 17 cm' lik IPG striplerdeki proteinler 48 voltta 7 saat yürütüldü (Şekil 20D). Yürütme sonunda jel cam plakalardan çıkarıldı, 2 saat sabitleştirici solüsyonda yıkandıktan sonra Coomassie mavisi içeren boyama solüsyonunda 2 saat bekletildi ve daha sonra distile su ile yıkandı (Şekil 21).



Şekil 21: A:Protein emdirilmiş poliakrilamit jelin Coomassie mavisi ile boyanması, B:SDS-PAGE jelin distein edilmesinden sonraki görüntüsü

3.5. Görüntüleme ve Analiz

İlk olarak 10 malign perikardiyal efüzyon ile 10 kontrol perikard sıvı örneklerinin çökelti kısmı ile çalışıldı. Birinci boyutta ilk aşamada pasif rehidrasyon işlemi, ardından aktif rehidrasyon işlemi ile izoelektrik odaklamada 7 cm' lik IPG stripleri (Ph 3-11 ReadyStrip) kullanıldı. Sonrasında stripler poliakrilamit jelde yürütüldü. Elde edilen jeller Melanie programı kullanılarak tarandı. Ancak belirgin protein spotları elde edilemedi.

İkinci aşamada 5 malign perikardiyal efüzyon ile 5 kontrol perikard sıvı örneklerinin üst faz sıvı kısmı çalışıldı. 17 cm' lik IPG stripler (Ph 3-10 ReadyStrip) ile proteinlerin moleküler ve izoelektrik noktalarına göre daha iyi ayrıştırılması sağlandı. Boyanan jeller image scanner ve labscan 3.00 yazılımı ile tarandı. Görüntü analizi Melanie 7 Viewer programı ile yapıldı. 2-D jel haritasındaki protein spotları öncelikle görsel olarak değerlendirildi ve upregülasyona veya downregülasyona uğrayan proteinler saptandı. Proteinlerin tanımlanabilmesi için data analiz metodu halihazırda bulunmadığından proteinler tanımlanamadı. Ancak Melanie 7 programı ile her bir jeldeki protein spotları işaretlendi ve birbirleri ile karşılaştırıldı. Perikardiyal efüzyonun plazmanın ultrafiltrasyonu sonucu oluştuğu düşünülerek, yine görsel olarak, perikardiyal efüzyondaki protein spotları normal insan plazmasının 2-D jelindeki protein spotları ile moleküler ağırlıklarına göre karşılaştırıldı. (İnsan plazma protein profili, Swiss-Prot/TrEMBL website: http://www.expasy.ch/swiss-2dpage/viewer&map=PLASMA_HUMAN&ac=all adresinden elde edilmiştir.)

4. BULGULAR

4.1. Hasta Özellikleri ve Laboratuvar Verileri

Çalışmaya başlangıçta 19 perikardiyal efüzyon örneği dahil edildi. Örnekler iki gruba ayrıldı. Hasta grubu 9 malign perikardiyal efüzyonu içerirken (akciğer kanseri: 4 adenokarsinom, 3 küçük hücreli, 1 yassı epitel hücreli, 1 büyük hücreli, 1 iğsi hücreli) kontrol grubu olarak koroner arter hastalığı nedeni ile CABG uygulanan 10 kişinin perikard sıvısı alındı. Malign efüzyonlu hastaların hepsi erkekti ve ortalama yaş $47,4 \pm 7,92$ yıl bulundu. Kontrol grubu hastaları 8 erkek, 2 bayandan oluşmaktaydı ve yaş ortalaması $63 \pm 7,7$ yıl bulundu. Malign perikardiyal sıvılar hemorajik ve eksüda karakterinde iken, kontrol grubu sıvıları seröz vasıftaydı.

Malign perikardiyal efüzyonlu hastaların ejeksiyon fraksiyonu korunmuş ve koroner arter hastalığı risk faktörleri olarak yalnızca sigara mevcuttu. Çalışma tamamlandığında malign efüzyonlu üç hasta eksitus olmuştu. Kontrol grubu olarak aldığımız koroner arter hastalığı grubunda 4 hastanın sol ventrikül sistolik fonksiyonları hafif derecede azalmışken bir hastanın sistolik fonksiyonları korunmuştu, ancak hiçbir hastada kalp yetersizliği semptomları bulunmamaktaydı. Kontrol grubu hastalarından ikisinin öyküsünde ST elevasyonsuz MI, birinde kararsız angina pectoris ve ikisinde sadece kararlı angina pectoris tanıları vardı. DM, HT, sigara gibi koroner arter hastalığı risk faktörleri bulunan bu grupta CABG öncesi başka bir sistemik hastalık yoktu. Her iki grubun da renal fonksiyonları korunmuştu.

İlk aşamada perikard sıvıları santrifüj edilerek dibe çöken hücrelerden çalışıldı. 7cm'lik IPG stripler kullanılarak 2D jel elektroforezi yapıldı. Ancak elde edilen jellerden yeterli protein spotları elde edilemedi. Çökelti kısmında hücrelerin çeşitliliği ve sekrete edilen proteinlerden çok hücre içi ve hücre yapısındaki proteinlerin ağırlıklı olarak saptanabileceği düşünülerek 2D jel elektroforez işleminin perikard sıvısının üst faz kısmından çalışmasına karar verildi.

İkinci aşamada çalışmaya 5 malign perikardiyal efüzyonlu (Akc Ca: 4 adenokarsinom, 1 büyük hücreli) ve 5 kontrol toplam 10 hasta dahil edildi. Malign efüzyonlu hastaların hepsi erkekti ve ortalama yaş $47,4 \pm 7,92$ yıl bulundu. Kontrol grubu hastaları ise 4 erkek, 1 bayandan oluşmaktaydı ve yaş ortalaması $63,4 \pm 7,7$ yıl bulundu. Malign perikardiyal sıvılar hemorajik ve eksüda karakterinde iken, kontrol grubu sıvıları seröz vasıftaydı.

Hasta ve kontrol grubunun klinik karakteristik özellikleri ve laboratuvar bulguları Tablo 6'da gösterilmiştir.

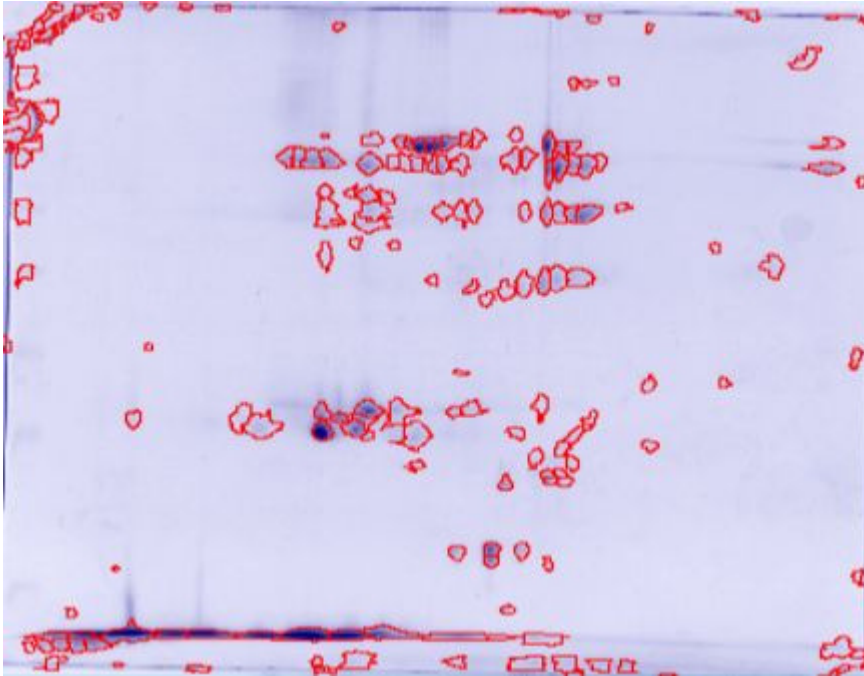
Hasta	Yaş	Cins	Tanı	Efüzyon özelliği	CRP mg/dl	Trop	Ca125 u/mL	Ca15-3 u/mL	Ca19-9 u/mL	CEA ng/mL	AFP lu/mL	Kre mg/dl	EF
Hasta Grubu													
1	34	E	Adeno Ca	H, e	5,12	-	71,8	42	80,7	18,5	1,35	0,9	65
2	48	E	Adeno Ca	H,e	3,64	-	200,4	47	3,08	229	3,04	0,9	62
3	50	E	Adeno Ca	H,e	7,30	-	301,7	31,98	2101	3,62	1,90	0,8	64
4	50	E	Büyük Hüc.Ca	H, e	29,9	-	1434	183,3	4637	6,88	1,47	0,6	60
5	55	E	Adeno Ca	H, e	9,92	-	304	19,47	1,05	2,34	0,930	0,8	60
Kontrol Grubu													
1	55	E	KAH Kararsız	S, e	1,2	-	-	-	-	-	-	1,1	60
2	58	E	KAH NSTEMI	S, t	1,23	4,6	-	-	-	-	-	0,9	30
3	64	E	KAH NSTEMI	S, t	-	-	-	-	-	-	-	1	35-40
4	65	E	KAH	S, t	3,35	-	-	-	-	-	-	1,2	40-45
5	75	K	KAH	S, t	-	2,1	-	-	-	-	-	0,9	50

Tablo 6: Hasta ve kontrol grubunun klinik karakteristik özellikleri ve laboratuvar bulguları (E: erkek, K: kadın, H: hemorajik, e:eksüda, S: seröz, t: transüda, EF: ejeksiyon fraksiyonu, Kre: Kreatinin, Trop: troponin, CRP: C reaktif protein (referans aralığı: 0-0,8), Ca 125: Karbonhidrat antijen 125 (referans aralığı: 1,9-35u/ml), Ca 15-3: Karbonhidrat antijen 15-3 (referans aralığı: 0-25u/ml), Ca 19-9: Karbonhidrat antijen 125 (referans aralığı: 0-34u/ml), CEA: Karsinoembriyonik antijen (referans aralığı: 0-6,2 ng/ml), AFP: Alfa fetoprotein (referans aralığı: 0,5-5 lu/ml).

Çalışmaya dahil edilen malign perikardiyal efüzyonların laboratuvar verileri retrospektif tarandı. Malign efüzyonlar kendi aralarında tümör belirteçleri açısından değerlendirildiğinde CA 125' in (462 ± 551 u/mL) tüm hastalarda belirgin olarak artmış olduğu görüldü. CA 15-3 (64 ± 67 u/mL) beş hastanın dördünde ılımlı bir artış gösterirken, CA 19-9 (1364 ± 2037 u/mL) ve CEA (52 ± 99 u/mL) beş hastanın üçünde artmış saptandı. Bu tümör belirteçlerindeki artışlar büyük hücreli akciğer kanserli hastada adenokarsinomlu hastalardan daha belirgindi. AFP tüm hastalarda normal bulundu. CRP değerleri tüm malign efüzyonlarda artmış olarak bulundu ($11,1\pm 10,7$ mg/dl). Kontrol grubu hastalarının 3 tanesinde CRP seviyesi bakılmıştı ve CRP seviyesindeki artış daha ılımlıydı ($1,9\pm 1,2$ mg/dl). Bu veriler ışığı altında özellikle CA 125 olmak üzere CA 19-9 ve CEA' nin akciğer kanseri nedenli malign perikardiyal efüzyonlarda tanı ve prognozda kullanılabilecek tümör belirteçi olarak düşünülebile de hasta sayısının çok az olması ve bu gibi tümör belirteçlerinin özgül olmayıp başka inflamatuvar olaylarda da artış gösterebileceği unutulmamalıdır.

4.2. Perikardiyal Sıvıların Proteomiks Analizi

2-D jel elektroforezinde elde edilen protein spotlarının görüntü analizi Melanie 7 programı kullanılarak yapıldı. Her bir hasta ve kontrol grubunun 2-D jel haritasındaki protein spotları öncelikle görsel olarak değerlendirildi ve upregülasyona veya downregülasyona uğrayan proteinlerin varlığı araştırıldı. Proteinlerin tanımlanabilmesi için gerekli olan cihaz, görüntüleme sistemi ve analiz programı halihazırda bulunmadığından proteinler tanımlanamadı. Ancak ücretsiz olarak Swiss-PROT tarafından kullanıma sunulan Melanie 7 programı ile her bir jeldeki protein spotları işaretlendi ve birbirleri ile karşılaştırıldı (Şekil 22). Son olarak perikardiyal efüzyonun plazmanın ultrafiltrasyonu sonucu oluştuğu düşünülerek, yine görsel olarak, perikardiyal efüzyondaki protein spotları normal insan plazmasının 2-D jel elektroforezinde tanımlanmış hazır protein spotlarının data verileri ile moleküler ağırlıklarına göre karşılaştırıldı (İnsan plazma protein profili, Swiss-Prot/TrEMBL website: http://www.expasy.ch/swiss-2dpage/viewer&map=PLASMA_HUMAN&ac=all adresinden elde edilmiştir).



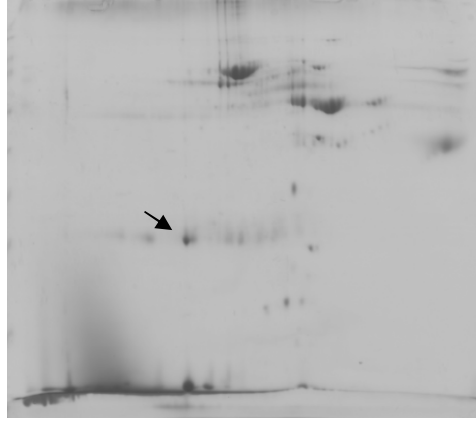
Şekil 22: Melanie 7 programı kullanılarak 2-D jellerdeki protein spotlarının işaretlenmesi

4.2.1. Hasta ve kontrol grubunun 2-D jel görüntüleri ve elde edilen protein spotları

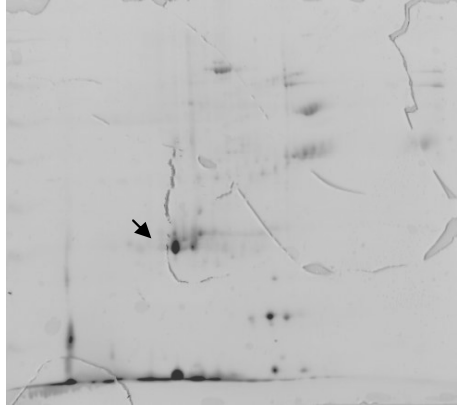
Elde edilen 2-D jeller görsel olarak değerlendirildiğinde malign efüzyonlarda daha çok sayıda protein spotu görüldü. Protein spotları birbirlerine benzerdi ve belli bölgelerde yoğunluk artmıştı (Şekil 22,23).



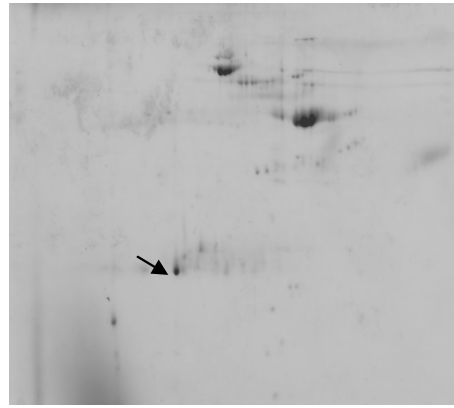
Hasta 1



Hasta 2



Hasta 3

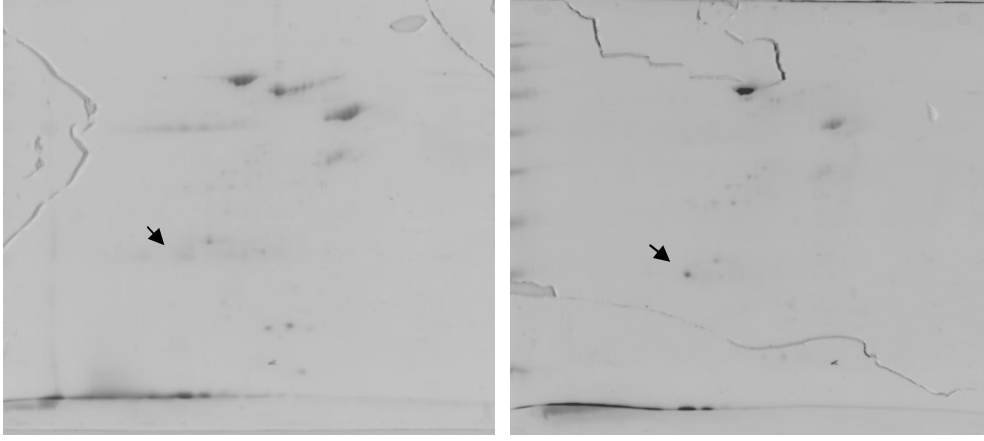


Hasta 4



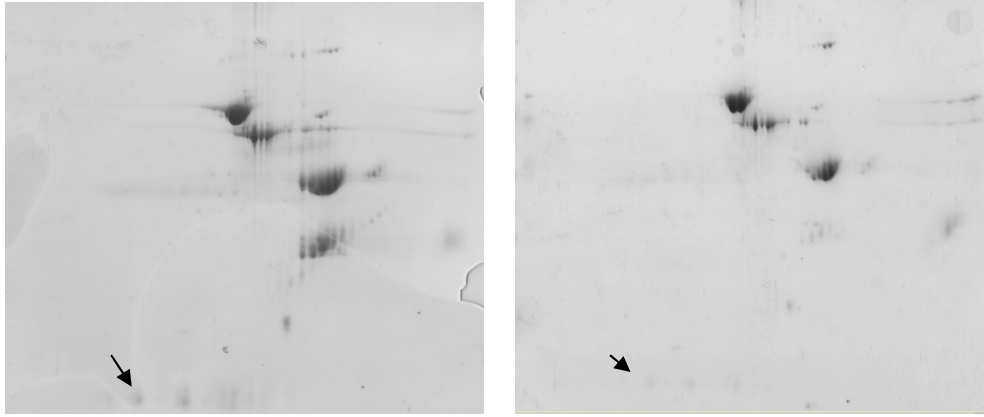
Hasta 5

Şekil 23: Hastalarda 2-D jel elektroforezinde elde edilen protein spotları



Kontrol 1

Kontrol 3



Kontrol 4

Kontrol 5

Şekil 24: Kontrol grubunda 2-D jel elektroforezinde elde edilen protein spotları

Protein spotları yine görsel olarak moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırıldığında proteinlerin birçoğunun moleküler ağırlığının benzer olduğu saptandı (Tablo 7).

Moleküler ağırlık (Kd)	Hasta 1 spot sayısı	Hasta 2 spot sayısı	Hasta 3 spot sayısı	Hasta 4 spot sayısı	Hasta 5 spot sayısı
10-15 bin	8	4	9	4	4
15-25 bin	14	9	19	10	16
25-35 bin	11	11	16	12	13
35-40 bin	9	5	12	4	7
40-55 bin	12	19	15	15	14
55-70 bin	17	29	12	15	28
70-100 bin	12	19	15	28	14
100-130 bin	4	11	2	14	2
Toplam	87	101	100	92	98

Tablo 7: Malign perikard sıvılarında protein spotlarının moleküler ağırlıklarına göre gruplandırılması

Moleküler ağırlık (Kd)	Kontrol 1 spot sayısı	Kontrol 3 spot sayısı	Kontrol 4 spot sayısı	Kontrol 5 spot sayısı
10-15 bin	1			
15-25 bin	7	4	7	6
25-35 bin	3	3	5	6
35-40 bin	3	9	2	2
40-55 bin	9	4	17	16
55-70 bin	9	4	15	18
70-100 bin	5	3	19	8
100-130 bin	2	3	14	6
Toplam	39	30	75	62

Tablo 8: Kontrol perikard sıvılarında protein spotlarının moleküler ağırlıklarına göre gruplandırılması.

Melanie 7 programı ile her bir hasta ve kontrol grubunun saptanmış protein spotlarının listesi ekte verilmektedir.

4.2.2. Protein spotlarının karşılaştırılması

Malign perikard sıvıları Melanie 7 programı kullanılarak kendi aralarında karşılaştırıldı. Görsel olarak aynı bölgelerde sinyal artışı olmasına rağmen o bölgelerdeki protein yapıları daha farklıydı (Tablo 9). Tüm hasta grubunda yalnızca 3 protein spotu bire bir benzerdi (Match ID 6-10-26).

"Match ID"	"Central Tendency"	"Dispersion"	"Coef. Variation"	"1.hasta"	"2.hasta"	"3.hasta "	"4.hasta"	"5.hasta"
3	0.517262	0.848795	1.64094	0.0330463	""		0.36028	""
4	0.156717	0.124405	0.793821	0.202097	""		0.0581723	0.359196
6	1.07996	0.787419	0.729116	2.25118	0.185319	1.44281	0.216235	1.30427
7	0.542984	0.351274	0.646933	1.05061	0.453598	0.449336	""	0.76138
8	0.0517912	0.0438218	0.846125	0.0863557	""			""
9	0.193121	0.117957	0.610797	0.124562	0.336542	0.249832	0.254667	""
10	3.00302	1.6922	0.563498	5.24954	1.17531	3.85605	0.884905	3.84929
11	0.502358	0.364393	0.725365	0.770016	""	0.993985	0.193336	0.554451
12	0.140324	0.226054	1.61095	0.118621	""		""	""
13	0.163093	0.218611	1.34041	0.146298	""		0.082931	""
15	0.0802644	0.0998609	1.24415	0.228439	""	0.172883	""	""
16	0.0778796	0.0988842	1.26971	0.153461	""	0.235937	""	""
17	0.0685357	0.0866203	1.26387	0.137525	""	0.205153	""	""
19	0.24631	0.36036	1.46303	0.927451	""		""	""
20	0.151717	0.18605	1.22629	0.364507	""		""	""
21	0.197016	0.260508	1.32227	0.127869	0.155071	0.702141	""	""
22	0.237751	0.389707	1.63914	""	""	1.01314	0.095087	""
23	0.114721	0.109826	0.95733	0.293358	0.120312		""	""
24	0.103387	0.141608	1.36968	0.0199758	""		0.0442984	""
25	0.171139	0.18692	1.09221	0.0700848	0.331023		""	""
26	1.96542	1.16616	0.593342	0.460464	4.02715	1.78932	2.07553	1.4746
27	0.159499	0.151094	0.947307	0.163316	""	0.234675	""	0.399502
28	0.0950747	0.161167	1.69517	0.0615038	""		""	""
29	0.629766	0.748496	1.18853	1.96034	""	0.25141	""	0.937075
30	0.456351	0.571981	1.25338	0.452148	""	0.282774	""	1.54683
31	0.243349	0.244742	1.00573	0.178368	""	0.408149	""	0.630228
32	1.03934	0.944573	0.908818	0.482156	2.48674	0.41953	""	1.80829
35	0.105963	0.0733087	0.691831		0.0768505		""	""
36	0.444076	0.633061	1.42557	0.151848			""	""
46	0.0783518	0.0961292	1.22689	""	""	0.186891	""	0.204868
47	0.154813	0.149492	0.965626	""	0.113462	0.314464	""	0.346141
48	0.235973	0.191487	0.811481	""	0.30448	0.516716	0.0419874	0.31668
49	0.419855	0.501786	1.19514	""	""	1.08966	0.033999	0.97562
50	0.201686	0.234442	1.16241	""	""	0.589054	0.0625863	0.35679
51	0.225721	0.270508	1.19842	""	0.209685		""	0.181567
52	0.128563	0.138427	1.07672	""	""		0.0495945	
53	0.426492	0.26042	0.610608	""	0.444934	0.574629	0.331578	0.78132
54	0.212013	0.281373	1.32715	""	""	0.701398	""	0.358666
55	0.599169	0.785968	1.31176	""	""	1.05283	""	1.94301
56	0.279366	0.342152	1.22475	""	""	0.698079	""	0.698751
57	0.148606	0.245478	1.65188	""	""	0.111062	""	0.631966
58	0.296859	0.314394	1.05907	""	0.126709	0.43256	0.0727394	0.852284
59	0.229498	0.267106	1.16387	""	""	0.47958	0.0449686	0.62294
60	0.243742	0.272111	1.11639	""	0.154326	0.335974	""	0.728408
61	0.12231	0.188252	1.53913	""	0.0448079	0.494779	""	0.0719658
63	0.896452	1.28721	1.43589	""	""	0.957155	0.154245	3.37086
75	0.0432465	0.0358908	0.829914	""	0.0782731	0.0776107	0.0603485	""
76	0.112095	0.173412	1.54701	""	0.112726	0.447748	""	""
77	0.134594	0.205669	1.52808	""	0.53095	0.142018	""	""
78	0.230342	0.31141	1.35195	""	0.367348		""	""
80	0.112787	0.212815	1.88688	""	0.025994		""	""
81	0.188135	0.316131	1.68034	""	0.128113	0.812561	""	""
82	0.749432	0.982763	1.31134	""	2.4289	1.31826	""	""
83	0.0783304	0.0971771	1.2406	""	0.220316	0.171336	""	""
87	0.107289	0.161762	1.50773	""	""	0.417392	0.119052	""
88	0.105036	0.133079	1.26699	""	""	0.316469	0.208708	""
89	0.0234791	0.0308538	1.31409	""	""	0.076379	0.0410168	""

Tablo 9: Melanie 7 programı ile hastaların birbirleri ile karşılaştırılması

Kontrol grubu hastaları kendi aralarında Melanie 7 programı ile karşılaştırıldı. Bir hastanın jel görüntüsü Coomasia ile iyi boyanamadığından değerlendirilmeye alınmadı. Görsel olarak protein spotlarının benzer olmasına rağmen tanımlanan proteinlerde farklılıklar vardı (Tablo 10). Tüm kontrol grubunda yalnızca 3 protein spotu bire bir benzerdi. (Match ID

5,25,27). Kontrol grubu arasında ST elevasyonsuz MI tanısı ile CABG uygulanan iki hastanın protein sayı ve yapısı birbirlerine daha fazla benzerlik gösteriyordu. KAH grubunda kalp yetersizliği semptomları olmamasına rağmen 4 hastanın ejeksiyon fraksiyonu (EF) düşükken (%43±12) bir hastanın EF'si korunmuştu. Ancak EF'si düşük ve korunmuş hasta arasında görsel olarak protein spotları arasında fark yoktu.

Match ID	Central Tendency	Dispersion	Coef. Variation	1.kontrol	3.kontrol	4.kontrol	5.kontrol
0	0.0888046	0.0972491	1.09509			0.233665	0.121553
2	0.0999232	0.100568	1.00646			0.183763	0.21593
3	0.0365595	0.0375275	1.02648			0.0611427	
4	0.498446	0.779854	1.56457			1.8451	
5	0.446861	0.413432	0.92519	0.100384	0.0528578	1.0762	0.558006
9	0.300233	0.322882	1.07544			0.768473	0.432458
10	0.102577	0.129077	1.25834			0.31596	0.0943493
13	0.643863	0.807166	1.25363	0.202842		2.02551	0.347104
14	0.873003	0.852673	0.976712			1.94842	1.46788
15	0.622233	0.646583	1.03913			1.49304	0.995887
16	1.6708	1.49553	0.895097		0.7572	3.95815	1.96786
17	0.0333413	0.0383205	1.14934			0.0399684	0.0933967
18	0.132108	0.106606	0.806966			0.191752	0.272801
19	0.339733	0.361822	1.06502			0.855517	0.503414
20	0.800248	0.848897	1.06079			1.19992	2.00107
21	0.152089	0.152153	1.00042			0.29797	0.310388
22	0.222872	0.246191	1.10463			0.593649	0.297841
23	1.74818	1.75626	1.00462			3.73428	3.25843
24	0.327141	0.286193	0.874833			0.247029	0.274583
25	1.1212	0.578952	0.516369	1.544	1.59124	1.19557	0.153983
26	1.20662	1.05312	0.872789	0.966866		2.89853	0.961076
27	5.31107	3.68489	0.693813	1.52641	1.86104	9.90744	7.94938
28	0.237975	0.253524	1.06534				0.352316
29	0.055388	0.0632143	1.1413			0.153862	0.0676898
30	0.113348	0.135115	1.19203				0.122696
35	0.212761	0.257685	1.21115	0.21993			
36	0.0145229	0.0152981	1.05338			0.0358453	
37	0.0808044	0.117581	1.45513			0.282405	
39	0.295702	0.354831	1.19996	0.31404			
40	0.70221	0.676822	0.963846	0.435575	0.554639	1.81862	
41	0.0467508	0.0482924	1.03297	0.0763833			
42	0.0612778	0.0378587	0.617821	0.0631441	0.101226	0.0807414	
43	0.0535542	0.0558971	1.04375	0.129755		0.0844622	
44	0.759644	0.789199	1.03891	1.21671		1.82187	
46	0.283629	0.293971	1.03646	0.457959		0.676558	
47	0.0513708	0.0518969	1.01024	0.113166		0.0923174	
49	0.0675017	0.0693679	1.02765		0.112401	0.157605	
50	2.11495	3.44519	1.62897		0.383782	8.07603	
51	0.159801	0.172305	1.07825		0.228468	0.410735	
52	0.306834	0.468046	1.5254		0.113828	1.11351	
53	0.159774	0.236408	1.47963			0.0731321	
54	0.081824	0.0837232	1.02321			0.188724	

Tablo 10: Melanie 7 programı ile kontrol grubunun birbirleri ile karşılaştırılması

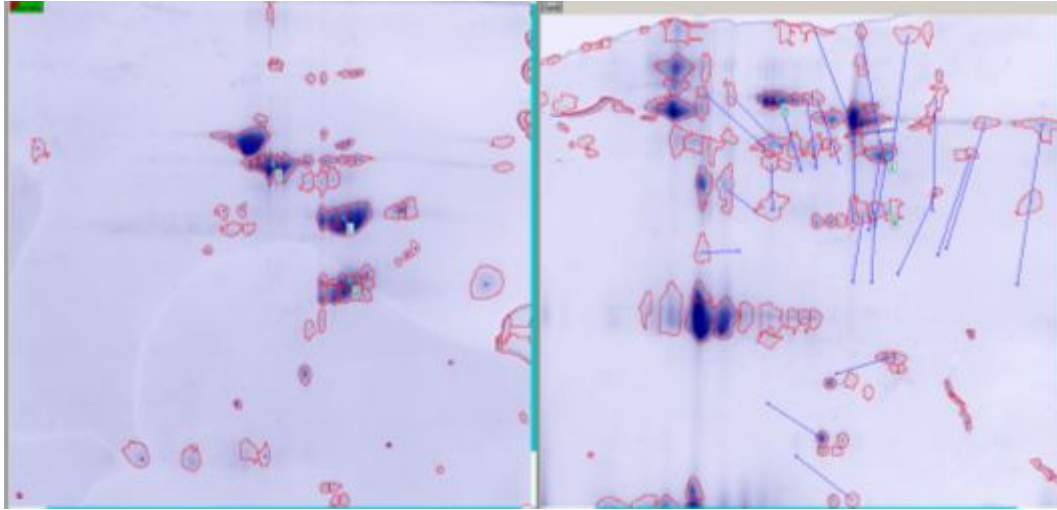
Hasta ve kontrol grubu hep birlikte Melanie 7 programı ile karşılaştırıldı ve hepsinde birlikte bulunan protein spotu görülmedi (Tablo 11).

ID	Central Tendency	Dispersion	Coef. Variation	Hasta 1	Hasta 2	Hasta 3	Hasta 4	Hasta 5	Kontrol 1	Kontrol 3	Kontrol 4	Kontrol 5
0	0.0698135	0.136361	1.95321	0.075474		0.114102						0.438745
1	0.0966242	0.141414	1.46355			0.283669				0.370019		
2	0.0519586	0.0788692	1.51792						0.21993			
3	0.0678444	0.174073	2.56576									0.558006
5	0.0542717	0.127924	2.35709									0.0791484
6	0.238183	0.319894	1.34306	0.150922	0.827838							0.432458
7	0.0515717	0.097423	1.88908			0.203416						
9	0.326181	0.332152	1.0183	0.133852	0.146037	0.693019		0.737455			0.873853	0.351418
10	0.034678	0.0506396	1.46028			0.1143					0.124151	0.0736504
11	0.248134	0.33357	1.34431	0.0415676		0.983949		0.630831			0.391729	0.185133
13	0.126539	0.227939	1.80134		0.661886							
14	0.0311241	0.0622442	1.99987			0.18672						0.0933967
15	0.0633324	0.102167	1.61319			0.128312	0.131292					0.310388
16	0.766103	1.30814	1.70753		4.20181	0.378059	0.503993	1.60954				0.201532
17	0.419024	0.631223	1.50641	0.083781	0.99498	0.281579	0.233842	0.175969				2.00107
18	1.20038	2.85561	2.37893			0.0961272			1.544			9.16329
19	3.21313	3.38997	1.05504	2.33533	4.93073	0.122923	0.533698	1.61224	1.52641		9.90744	7.94938
20	0.16876	0.268364	1.59021				0.126277				0.111972	
21	0.0299902	0.0364974	1.21698			0.062892		0.0902722	0.0342518			0.0824961
24	0.0291494	0.0634742	2.17755								0.200077	
26	0.035112	0.0799994	2.27841								0.0611427	
28	0.0776388	0.122798	1.58166			0.156814	0.0771217		0.39272			
29	0.0853223	0.165339	1.93781		0.102955							
31	0.352144	0.593977	1.68674	0.0617013	0.203483	1.33129						
32	0.0522238	0.0841693	1.6117			0.251287		0.134264			0.0844622	
33	0.288453	0.32768	1.13599	0.294047		0.291273		0.930801		0.7572	0.322753	
34	0.189042	0.310583	1.64293			0.945658		0.307283			0.448435	
35	0.489105	0.611813	1.25088		1.77244	0.077788	0.921763	0.238126			1.19557	
38	0.0243079	0.0284454	1.17021			0.0504717			0.050192		0.0757691	
40	0.0989023	0.141672	1.43245								0.248962	
41	0.120523	0.14365	1.19188						0.0667596		0.0731321	
43	0.0249108	0.0417253	1.67499						0.0212572			
44	0.344579	0.756479	2.19537			0.7109						
45	0.139194	0.304179	2.18529	0.237836		0.974098						
49	0.833314	1.85647	2.22781		5.98621		0.198677					
50	0.0636146	0.138268	2.17352			0.136956						

52	0.701757	0.839884	1.19683		2.53932	0.585678	0.255831	0.564261	1.81609	0.554639		
53	0.197562	0.330739	1.6741	0.144865	0.394534		0.0324505					
54	0.119099	0.223458	1.87624			0.323812		0.684199				
55	0.3131	0.512396	1.63653		0.133523	0.105853		1.67203	0.522709	0.383782		
61	0.0390924	0.0861801	2.20452			0.272622				0.0792098		
62	0.0622207	0.117523	1.88881			0.314314				0.245672		
63	0.0335837	0.0646223	1.92422							0.119059		
64	0.317305	0.816886	2.57445			0.1262				0.10566		
65	0.0350792	0.0422774	1.2052			0.0580446	0.103799	0.0526432		0.101226		
66	0.100581	0.180179	1.79137			0.205975	0.130172			0.569085		
68	0.0528007	0.100581	1.90493		0.277792							
70	0.242089	0.427433	1.7656		1.27156	0.185899		0.721341				
71	0.1802	0.381715	2.11829		1.1907	0.4311						
72	0.0724293	0.135514	1.87098		0.3223	0.329564						
74	0.0885855	0.182147	2.05617		0.558954							
75	0.825062	1.82465	2.21153		5.89022	1.09733		0.43801				
77	0.0270449	0.0393265	1.45412		0.0246636		0.0373926					
78	0.0836642	0.108685	1.29906	0.101413	0.150444	0.176973		0.324147				
79	0.0242832	0.056869	2.34191		0.0367066							
82	0.5728	1.48683	2.59572				0.216607					
84	0.0546928	0.08356	1.52781	0.11485		0.136914	0.24047					
88	0.0383725	0.0573552	1.49469				0.0750662	0.153802				
89	0.106559	0.183508	1.72212	0.0187397		0.412241	0.045442	0.482608				
91	0.0130609	0.024595					0.052825					
100	0.0750467	0.140472	1.8718			0.328108		0.347313				
101	0.38531	1.05103	2.72774					3.35644				
102	0.152275	0.406575	2.67001					1.30059				
103	0.113609	0.234283	2.06219					0.720315				
104	0.080479	0.151819	1.88645					0.320797				
105	0.0750246	0.140359	1.87083			0.338385		0.336836				
106	0.0800259	0.164505	2.05564			0.215503		0.50473				
107	0.210389	0.545367	2.59218			0.145964		1.74754				
109	0.14774	0.274252	1.85632	0.12355		0.858747		0.347362				
115	0.0890613	0.170961	1.91959	0.319553								
117	0.231131	0.436577	1.88887	1.16779		0.912386						
119	0.0751555	0.171495	2.28187	0.129907								
120	0.0233319	0.0438069	1.87756	0.0971327		0.112854						

Tablo 11: Hasta ve kontrol grubunun birlikte Melanie 7 programı ile karşılaştırılması

Tüm hastaların karşılaştırılmasında ortak bir protein spotu saptanamadığından hasta ve kontrol grubunun birer üyesi karşılaştırıldı (Hasta 1 ve Kontrol 4) (Şekil 25). Her iki hastada 23 tane protein spotu ortak bulundu (Tablo 12).



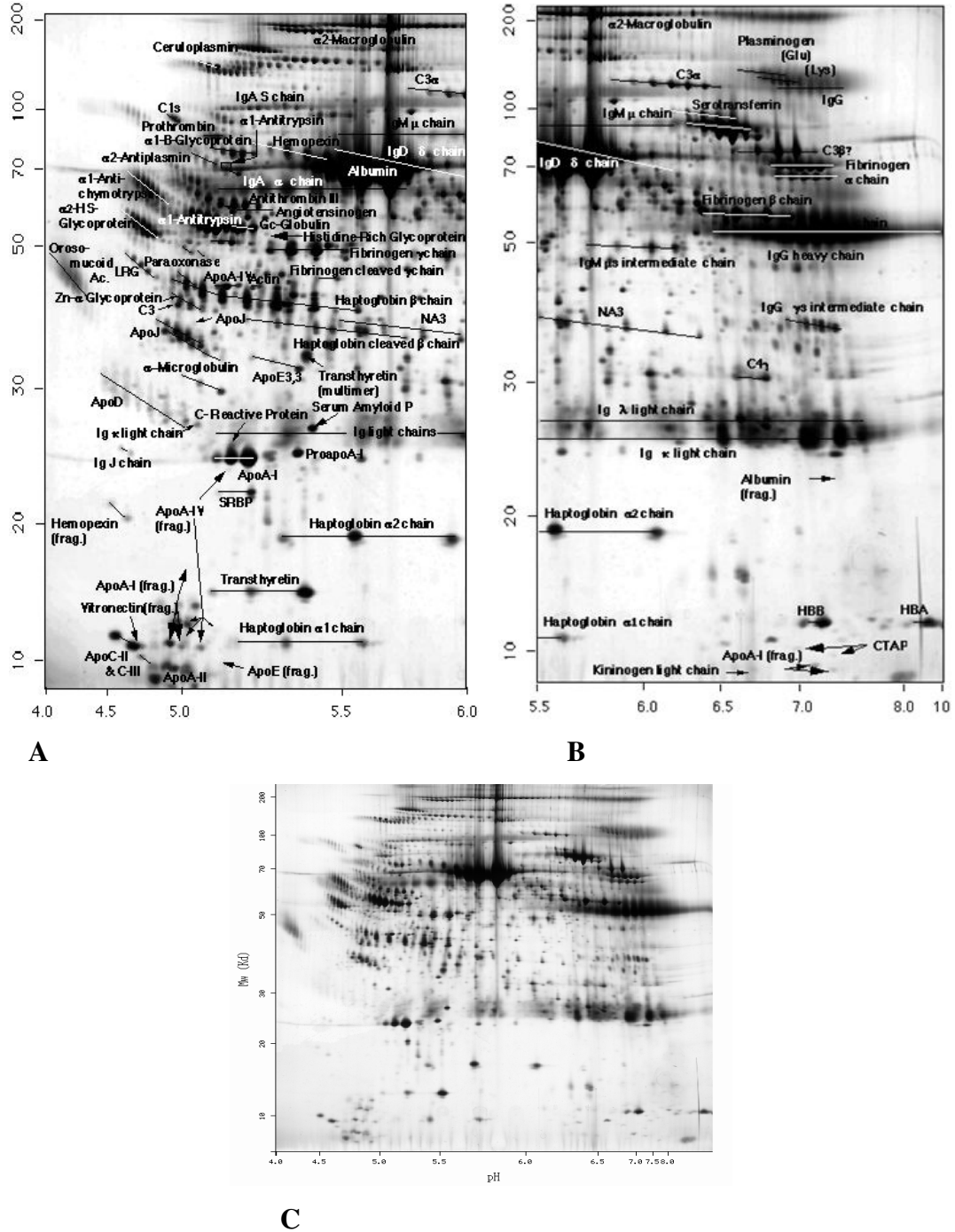
Şekil 25: Hasta ve kontrol grubundan iki hastanın birbiri ile karşılaştırılması

"Match ID"	"Central Tendency"	"Dispersion"	"Coef. Variation"	"Hasta 1"	"Kontrol 4"
1	4.28532	3.41428	0.79674	7.6996	0.871035
2	0.153345	0.0826449	0.538948	0.0706998	0.23599
4	0.399888	0.0889547	0.222449	0.310933	0.488842
5	0.436345	0.325594	0.746185	0.110751	0.761939
7	0.521234	0.393365	0.75468	0.127869	
9	1.15765	0.790223	0.682607	0.367432	1.94788
10	0.252231	0.232256	0.920804	0.0199758	0.484487
11	0.0739701	0.0124664	0.168532	0.0615038	0.0864365
12	0.102546	0.0270538	0.26382	0.1296	0.0754923
13	0.116179	0.0369912	0.318398	0.15317	0.0791878
14	1.00918	0.548711	0.543722	0.460464	1.55789
15	1.50798	0.512305	0.33973	0.995672	2.02028
17	0.250563	0.113944	0.454752	0.364507	0.136619
18	0.131714	0.0403127	0.306063	0.172026	0.091401
19	0.439605	0.109065	0.248097	0.33054	0.54867
20	1.6311	1.51696	0.930023	0.114139	3.14806
21	0.211266	0.0997085	0.471957	0.111558	0.310974
22	0.199136	0.0341734	0.171608	0.164963	0.233309
23	2.05694	1.48713	0.722982	0.569808	3.54407
24	0.109599	0.0347561	0.31712	0.0748431	0.144355
25	0.218542	0.129001	0.590279	0.0895414	0.347543
26	0.168951	0.0221045	0.130834	0.146847	0.191056
27	7.30035	7.2001	0.986268	0.100251	14.5004
28	0.154613	0.070715	0.457366	0.225328	0.0838984

Tablo 12: Hasta ve kontrol grubundan iki hastanın birbiri ile karşılaştırılması

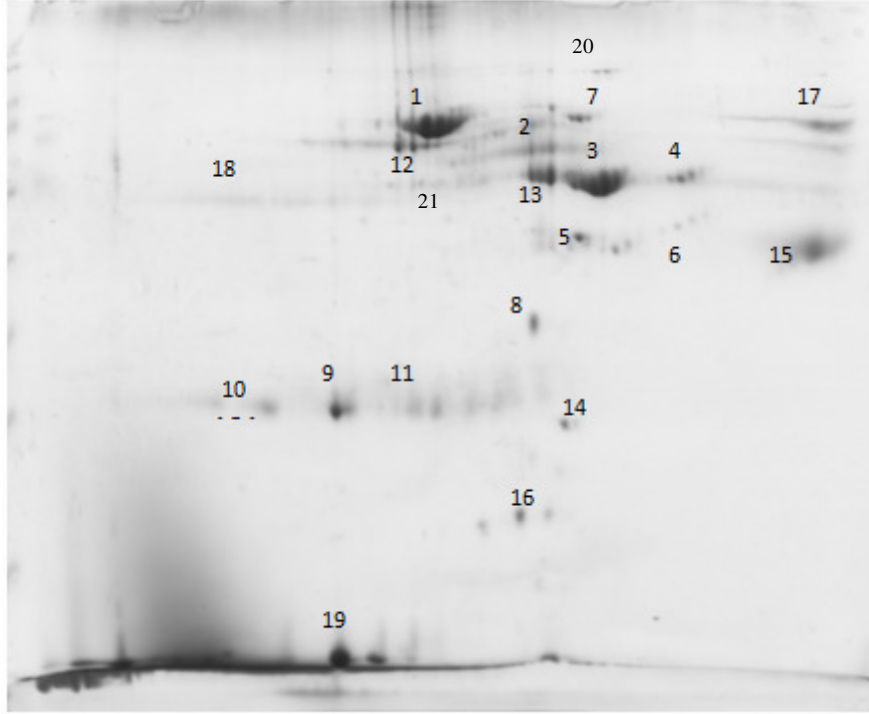
4.2.3. Tanımlanmış olan insan plazma protein haritası data verileri ile elde edilen protein spotlarının karşılaştırılması

Tanımlanmış olan insan plazma protein haritası data verilerinde 626 spot ve 69 protein girdisi belirtilmiştir (Swiss-Prot/TrEMBL website: <http://www.expasy.ch/ch2dothergifs/publi/plasma-acidic.gif> ve [plasma-basic.gif](http://www.expasy.ch/ch2dothergifs/publi/plasma-basic.gif)) (Şekil 26 A-B-C).



Şekil 26 A-B-C: Tanımlanmış insan plazma protein spotları, A: asidik, B: bazik (Swiss Prot/TrEMBL website)

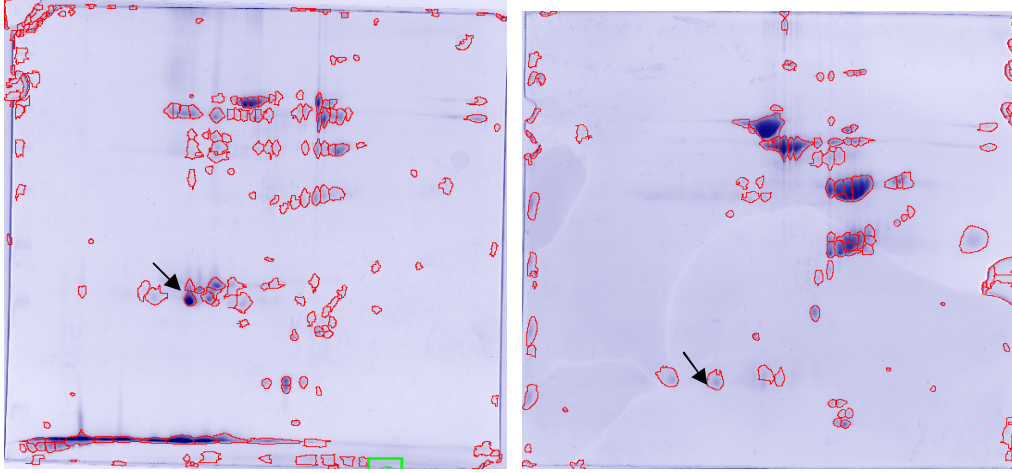
Perikard sıvısında plazma ultrafiltrasyonundan oluştuğu düşünülerek perikard sıvılarından elde edilen protein spotları ile insan plazma protein haritası görsel olarak karşılaştırıldı. Tüm hastalarda ağırlıklı olarak saptanan protein spotlarının kabaca albümin 1, fibrinojen gama zincir ve fragmanları, Ig ağır zincir, Ig orta zincir, Ig G, plazminojen, kompleman 3 alfa, C3, kompleman prekürsörleri, apolipoproteinler, anjiyotensinojen, CRP, transtretin, haptoglobülin, antitrombin 3, globülin bölgelerine denk geldiği görüldü.



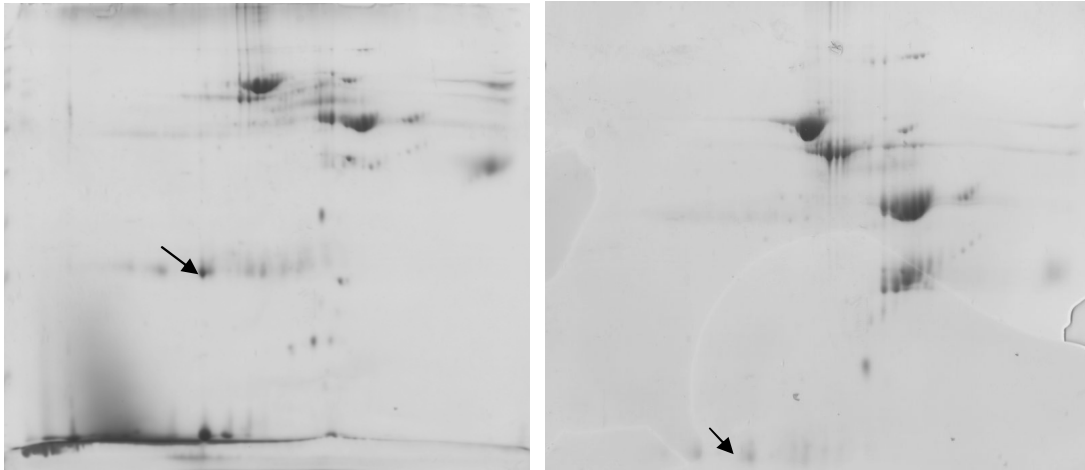
Şekil 27: Görsel olarak malign perikard sıvısının insan plazma proteini ile karşılaştırıldığında saptanan proteinler (1-albümin, 2- Ig D gama chain, 3- fibrinojen B zincir, 4- fibrinojen alfa zincir, 5- IgM hafif zincir, 6- IgG ağır zincir, 7- serotransferrin, 8- NA3, 9- CRP, 10- Ig J zincir, 11- Apo A1, 12- antitrombin 3, 13- glikoprotein ,14- haptoglobülin, 15- Ig ağır zincir, 16- transtretin, 17- Ig ağır zincir gama, 18- C3, 19- Apo A2, 20- plazminojen, 21- fibrinojen gama zincir).

Malign efüzyonlardaki protein spotları kendi aralarında ve hasta grubu ile görsel olarak karşılaştırıldığında tüm malign perikard sıvılarında yaklaşık 25 bin Kd moleküler ağırlığındaki protein spotunda anlamlı sinyal artışı mevcuttu (Şekil 23,24,28). Bu protein spotu insan plazma protein haritası data verileri ile görsel olarak karşılaştırıldığında CRP bölgesine denk gelmekteydi (Şekil 26). Çalışmaya dahil edilen hastaların serum CRP düzeylerinin kontrol grubunun serum CRP düzeylerinden daha yüksek olması bu bölgedeki

ekspresyonu artmış spotun CRP olma olasılığını arttırmaktaydı. Ancak kontrol grubundaki 4 nolu hastanın CRP düzeyi (3,36 mg/dl) hasta grubundaki 2 nolu hastanın CRP düzeyi (3,64 mg/dl) ile benzer olmasına rağmen malignite hastasında sinyal artışı daha fazlaydı (Şekil 29). Ayrıca hasta grubu içinde en yüksek CRP seviyesine sahip olan 4 nolu (29,9 mg/dl) hastadaki sinyal artışı en yüksek değildi. Tüm bu veriler ışığında bakıldığında bu bölgede yeni bir protein olabileceği düşünülebilir (Şekil 23).



Şekil 28: Hasta 5 ve kontrol 4 nolu kişilerin 2-D jel protein haritası ve ekspresyonu artmış olan protein spotu görülmektedir.



Hasta 2

Kontrol 4

Şekil 29: CRP' leri eşit olan Hasta 2 ve kontrol 4'ün 2-D jel protein haritası ve hasta grubunda ekspresyonu artmış olan protein spotu görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmamızda yeni literatürler ışığında perikardiyal efüzyon tanı ve tedavisinde proteomiks tekniğini gözden geçirmeyi amaçladık. Elde ettiğimiz 2-D jel görüntülerinden malign perikardiyal efüzyonlarda daha fazla sayıda protein salındığı ve bu proteinlerin plazma ve serumda tanımlanan proteinlere benzer olduğu görüldü. Bu spotlar insan plazma protein data verileri ile yine görsel olarak karşılaştırıldığında ekspresyonu artmış proteinlerin yeni proteinler olmaktan çok, akut faz yanıtı proteinleri olduğu saptandı. Tüm hastalarda ağırlıklı olarak saptanan protein spotlarının kabaca albümin, fibrinojen ve fragmanları, Ig ağır zincir, Ig orta zincir, Ig G, plazminojen, kompleman 3alfa, C3, komplemen prekürsörleri, apolipoproteinler, anjiotensinojen, CRP, transtretin, haptoglobülin, antitrombin 3 ve globülin bölgelerine denk geldiği görüldü. Özellikle yaklaşık 25 bin Kd moleküler ağırlığındaki protein spotunun yoğunluğunun daha fazla artmış olduğu ve bu bölgenin de görsel olarak karşılaştırıldığında CRP bölgesine karşılık geldiği düşünüldü. Nitekim serum biyokimya örneklerinde de CRP düzeyi malignite grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti.

Kontrol grubu olarak aldığımız koroner arter hastalarından ST elevasyonsuz MI geçiren iki kişinin 2-D jel elektroforez görüntülerinden elde edilen protein spot sayısı diğer kontrol grubu hastalarına göre daha fazlaydı. Spot görüntüleri görsel olarak malign perikardiyal efüzyonlardan elde edilen protein spotlarına daha çok benzemekteydi. Bu hastalarda da iskemi ve reperfüzyonun yarattığı oksidatif stres ile inflamatuvar belirteçler ve akut faz reaktanlarını artmış olabilir.

Biyolojik sıvılardan elde edilen proteinlerin artmış sekresyonu kadar salınımı azalmış protein spotunu da tanımlamak önemli olabilir. Bizim çalışmamızda da saptanan proteinlerin yeni bir biyobelirteç olma olasılığının düşük olmasına rağmen bu proteinlerin KAH grubunda olmaması ayırıcı tanı ve belki de olası ilaç tedavisi için yol gösterici olabilir.

Perikard efüzyonlarında klinik görünüm, tanı yöntemleri ve farklı tedavi yaklaşımlarının iyi bilinmesi büyük önem arz etmektedir. Etiyolojisinin çeşitliliği nedeniyle tanı ve tedavi yaklaşımlarında önemli farklılıklar vardır. Perikard efüzyonlarının tedavisi de etiyolojiye göre şekillenmektedir. Akut semptomatik efüzyonlarda seçilecek yöntem ekokardiyografi kılavuzluğunda perikardiyosentez olmalıdır. Kronik efüzyonlarda etiyolojik neden tedavi yaklaşımında belirleyici rol oynamaktadır. Malign efüzyonlarda perikardiyosentez ve sklerozan tedavi, radyasyon tedavisi tercih edilen yaklaşımlardır. Bunun

yanında kronik tekrarlayan efüzyonlarda balon perikardiyotomi, pürülan ve tüberküloz etiyojilerinde cerrahi yöntemler uygun yaklaşımlar olmaktadır.

Patolojik durumlarda perikardiyal sıvı artışı transüda, eksüda ya da miks tipte olabilir. Sıvının eksüda veya transüda ayrımının yapılması etiyojinin ortaya konmasına yardımcı olabilir. Yüksek protein içeren eksüdatif efüzyonlar transüda efüzyonlarından daha ciddi bir hastalığa işaret eder (inflamatuar veya malign hastalıklar). Albümin ve antitripsin gibi plazmada bol bulunan proteinler kapillerden ultrafiltrasyon ile transüda sıvıda bulunabilirken, alfa 2 mikroglobülin, haptoglobülin, immünglobülin, fibrinojen, komplemanlar, lipoprotein ve kollajen gibi yüksek moleküler ağırlıklı proteinler sadece kapiller permeabilitenin arttığı eksüdatif perikard efüzyonlarında saptanır (114,115).

Genel strateji içinde tanısal amaçlı perikardiyosentez veya biyopsi, tedaviye yanıt vermeyen veya konvansiyel yöntemlerle tanı konulamamış seçilmiş olgularda, pürülan perikarditte, yüksek olasılıkla malignensilerde önerilir. Tedavi amacıyla da kardiyak tamponad kliniği ile gelen hastalarda hemen uygulanması gereken, hayati önemi olan bir uygulamadır. Nedeni belli olmayan 231 perikardiyal efüzyonlu hastada yapılan bir çalışmada perikardiyosentez ve perikardiyal biyopsinin tanısal değeri incelenmiştir (116). Bu çalışmada toplam olarak olguların ancak %14'ünde bu iki yöntemle tanı konulabilmiştir. Oysa tedavi amacıyla uygulandığı tamponadlı hastalarda tanısal oran %39-54' e çıkmıştır. Dolayısıyla perikard sıvısının analizi hastalık etiyojisinin belirlenmesinde değerli olsa da, klinik kullanımda yararı –mevut biyokimyasal yöntemlerle- sınırlıdır.

Malign perikardiyal efüzyonlara genel otopsilerde %1-4, kanserli hasta otopsilerinde %15-30 oranında rastlanmaktadır (6,7). En sık olarak akciğer kanseri (%30), meme kanseri (%23), lenfomalar ve lösemilere rastlanmaktadır (8). Pek çok tümörlü olguda genel olarak prognoz düzelmiş olmasına rağmen perikardiyal efüzyonların yüksek oranda tekrarlaması (%40) ve tamponad gelişiminin ani ölüm nedeni olması, malign efüzyonların tanı ve tedavisini önemli hale getirmiştir. Perikardiyal tutulumu gösteren semptom ve bulgular primer veya sekonder malign kalp hastalığının ilk bulgusu olabilir (9). Ancak çok daha sık olarak ilerlemiş kanserlerde ortaya çıkmaktadır. Bu hastalarda başka organ sistemlerinde eşlik eden metastazların varlığı nedeniyle yaşam beklentisi genellikle kısadır.

Akciğer kanserlerine kardiyak tutulum nadir değildir. Otopsi serilerinde %15-35 arasında kardiyak metastaz bildirilmiştir (8). Perikardiyal tutulum genellikle en sık olan yerdir ve semptomlar geliştiğinde genellikle çok geç kalınmıştır. Akciğer kanserli hastalarda malign perikardiyal efüzyon genellikle hastalığın ileri dönemlerinde karşımıza çıkmasına rağmen sıvının sitolojik incelemesi genellikle negatiftir.

Daha önce tanı almamış ve ilk perikardiyal tamponad kliniği ile başvuran hastalardaki malign hastalık prevalansı bilinmemektedir (117). Mehmet Kabukçu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmaya perikardiyal tamponad kliniği ile başvuran 50 hasta dahil edilmiş, hastaların %30'unda malign perikardiyal efüzyon saptanmıştır. Malign efüzyonlu hastaların %22' sinde tamponad sırasında neden olarak kanser bilinirken, hastaların %8' inde perikardiyal tamponad hastalığın ilk bulgusu olarak ortaya çıkmıştır (118).

Dokuda hastalığa özgül moleküler değişiklikler diagnostik doğruluğun artmasına yardımcı olur. Proteinlerin direk görüntülenmesi kanserli hastalarda klinik kullanımda faydalı olabilir. Hastalığın metastazlar oluşmadan erken safhalarda yakalanması için şu anki belirteçlerden daha duyarlı ve özgül belirteçlere ihtiyaç vardır.

Biyolojik belirteç araştırmalarında yeni bir teknik olan Proteomiks, özellikle postgenomik dönemde bir hücre, doku veya biyolojik sıvıların protein profillerinin araştırılmasında bir anahtar teknoloji olarak karşımıza çıkmaktadır.

Proteomiks teknolojisi ile sağlık ve hastalık gibi farklı koşullarda bulunan hücre, doku ve vücut sıvılarındaki proteinlerin birbirleri ile ilişkileri, yapı ve fonksiyonları sistematik olarak incelenmekte ve nicel (kantitatif) analizleri yapılmaktadır (119). Klinik proteomiksin pratikte kullanımı günümüzde geçerli olan çok sayıda onaylanmış FDA (Food and Drug Administration) protein belirteçleri ve tedavi edici hedeflerin varlığı ile önemini vurgulamaktadır (120). AGA (American Gastroenterological Association) tarafından yayımlanan Gelecek Yönelimler Kurul Raporu (Future Trends Committee Report) şu anki genomik temelli yaklaşımların ilerleyişinde ve hastalık patogenezinin anlaşılmasında esas adım olarak proteomiks teknolojilerinin ortaya çıkışını vurgulamıştır (121).

Son yıllarda, bu teknoloji biyolojik belirteçlerin (biyomarker) tanımlanmasında kullanılmaya başlanmıştır. Biyolojik belirteçler, bir biyolojik sistemin fizyolojik durumunu yansıtır. Bu durum hastalık süresince değişebilir (122). Bu nedenle biyolojik belirteçler birçok hastalığın teşhis ve tedavisinde önemli rol oynamaktadır. Kanser belirteçleri biyolojik belirteçlerin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Örneğin, gastrointestinal kanserde CEA, CA 19-9 ve CA 72-4 gibi serumda ölçülen belirteçler %20-60 duyarlılıkta ölçülebilmektedir (123-127). Bu tür belirteçlerin duyarlılık düzeyi diğer kanser türleri içinde yüksek değildir. Bundan dolayı, birçok kanser olmayan hastada yanlış-pozitif sonuç alınabilmektedir. Tümöre çok daha duyarlı ve tümörün varlığını özgül olarak gösteren belirteçlere ihtiyaç bulunmaktadır.

Klinik proteomiksin diğer hedefleri arasında hastalık yinelenmesinin erken dönemde saptanmasını sağlayacak biyolojik belirteçlerin belirlenmesi ve bunların diyagnostik görüntüleme ile nasıl birlikte kullanılacağına anlaşılması sayılabilir. Bunlara ek olarak klinik

proteomiks hastanın tedaviye beklenen yanıtı açısından bireysel tedavi yöntemlerinin uyarlanmasına yardımcı olabilir. Yüksek verimli ve otomatize proteomiks teknolojilerinin gelişmesi, proteomiksin standart klinik uygulamalarda gerçekleştirilmesi zorunlu olan çok sayıda klinik örneğin eş zamanlı olarak çalışılmasına da imkân vermektedir.

Biyolojik belirteç araştırma çalışmalarında izlenen basamaklar beş aşamada özetlenebilir; klinik soruyu tanımlama ve kontrol-hasta gruplarının seçimi olmak üzere araştırmanın tasarlanması aşaması, hasta ve kontrol gruplarında farklı eksprese olan proteinleri ve moleküler ağırlıklarını doğru saptama aşaması olan buluş aşaması (aday belirteçlerin belirlenmesi), daha geniş sayıda hasta ve kontrol grupları kullanarak prediktif değeri en iyi biyolojik belirteçleri bulma aşaması olan validasyon aşaması, biyolojik belirteç proteinin eldesi ve purifikasyonu aşamalarını içeren tanımlama aşaması ve geçerliliği onaylanmış biyolojik belirteçler ile kantitatif testlerin geliştirilmesi aşamaları ile test geliştirme aşamasıdır. Ancak bu çalışma sonuçların tekrarlanabilirliği ve güvenilirliği gibi bazı sınırlamalar sonuçların klinikte uygulanmasını zorlaştırmaktadır. Bu sorunların ortadan kaldırılması için geniş çaplı proteomiks araştırmalara hız verilmeli ve bulunan biyolojik belirteçlerin geçerliliği sağlanmalıdır.

Biyolojik belirteçler, kanser tedavisinde de anlamlı gelişmelere yol açmaktadırlar. Örneğin, yumurtalık kanserinde görülen ve hastalık sırasında gen anlatımı (expression) yaklaşık %30 artan HER2/neu proteini, bir membran proteinidir. Bu artış, HER-2 kinaz aktivasyonu ile mitojenik sinyal iletimi ve hücre çoğalmasıyla sonuçlanmaktadır. HER2/neu'a karşı hazırlanan bir monoklonal antikor (Herceptin; Genentech, Inc., San Francisco, Calif., USA), HER2/neu epitopu gen anlatımına sahip olan hastaların tedavisinde kullanılmaktadır (128).

Eldeki mevcut verilere göre proteomiks analizinin plevral, peritoneal, perikardiyal sıvılar gibi biyolojik sıvılarda çeşitli hastalıklar ile çalışıldığı birkaç araştırma vardır. Örneğin; plevral efüzyonun protein analizinde matriks metalloprotein-9 proenzimin (proMMP-9) intraplevral enflamasyon ve hasarlanmada yeni, duyarlı ve erken belirlenen bir belirteç olarak plevral inflamatuvar olaylarda monitorizasyonda faydalı olabileceği bildirilmiştir (129). Düşük komplemen seviyelerinin (C3, C4) romatoid artritli hastalarda gösterildiği birkaç çalışma vardır. C3, C4 romatoid artritte düşüken tüberküloz ve malign efüzyonlarda yüksektir. C4d/C4 ise romatoid artritte yüksektir. Romatoid artrit için daha belirgin prediktör çözülebilir terminal kompleks (SC5b-9) artışı ve düşük C4 seviyeleridir (130).

Malign efüzyonları benign efüzyonlardan ayırmak için çeşitli biyokimyasal parametreler ve tümör belirteçleri tanımlanmıştır. Bu parametreler CEA (karsinoembriyonik antijen), AFP (alfa fetoprotein), adenozin deaminaz (ADA) , ferritin, beta-mikroglobülin (BMG), asit solubl glikoprotein, doku polipeptid antijen (TPA), CYFRA 21-1, CA 125 dir (131-132). Akciğer kanserlerinin neden olduğu perikardiyal efüzyon ile çalışılmış herhangi bir çalışma yoktur ancak plevral efüzyonlarla çalışılmış ve birkaç biyobelirteç gösterilmiştir. Malign plevral efüzyonlarda CYFRA 21-1 küçük hücre dışı akciğer kanserinde özellikle skuamoz hücreli karsinomda tanı ve takipte önemli bir serum belirteçi olarak bulunmuştur. CYFRA 21-1'in spesifitesi CEA'den daha fazladır (128). Malign plevral efüzyonların tanısında CYFRA 21-1 güvenilir bir belirteç olmasına rağmen onkogen tarafından sentezlenen HER-2/neu protein adenokarsinomlarla ilişkili plevral efüzyonlarda daha yüksek sensitiviteye sahiptir.

Malign efüzyonlarda elde edilen farklı proteinler hücre proliferasyonu, büyüme ve farklılaşmada rol oynuyor olabilirler. Bu proteinlerin bazıları akut faz yanıtı proteindir ve akciğer kanseri gelişiminde etkili olmaktadır. Hsieh ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada pigment epitelyal-derived faktör (PEDF) ve fibrinojen prekürsörlerinin akciğer adenokarsinomlarda transuda sıvılardan daha fazla salındığını göstermişlerdir (133). Bard ve arkadaşları malign plevral efüzyonlarda birkaç yeni protein tanımlamışlardır; sorting-nexin, trombospondin 2, B-cell translocation gene 1, PEDF (134).

Tüberküloz plevral efüzyona neden olan major enfeksiyöz nedendir. ADA ve CRP seviyeleri oldukça yüksektir (135-136). Çözünür FasL (sFasL) apoptoziste önemli rol oynar ve Tbc perikarditte artmıştır. Son çalışmalar sFasL nin akciğer adenokarsinomunda da arttığını göstermiştir.(137) Akciğer sürfaktan protein-A (SP-A), CEA malign plevral efüzyonlarda sıklıkla kullanılan tümör belirteçleridir (131). Solubl reseptör-binding kanser antijen (RCAS1) konsantrasyonu adenokarsinoma ait plevral efüzyonlarda malign olmayan plevral efüzyonlardan belirgin olarak yüksektir.

Klinik çalışmalarda perikardiyal efüzyon BT, MR, USG ile araştırılmıştır. Literatürde şu ana kadar perikardiyal efüzyonun proteomiks profili ile ilgili yapılmış bir çalışma mevcuttu. Bu çalışmada 3 tüberküloz hastası 3 KAH'sı ile karşılaştırılmıştı. Çalışmada tbc perikardiyal efüzyonda 11 adet farklı protein ekspresyonu saptanmıştı ve bunların 7 tanesi upregülasyona uğrarken, 4 tanesi downregülasyona uğramıştı. Bu proteinler içinde fibrin beta, fibrinojen prekürsör, fibrinojen gama zinciri, PEDF, beta aktin varyant, haptoglobülin prekürsör, complement C3, alfa-1-mikroglobülin, GSHPx3 prekürsör olarak tanımlanan proteinlerdi. PEDF en etkili doğal antianjiyogenik faktördür. Tbc perikardiyal efüzyonlarda

azalmış olarak saptanmıştı. Son araştırmalarda PEDF'nin duktal pankreatit adenokarsinom, hepatoselüler karsinom ve prostat tümörlerinde prognozda belirgin prediktör değeri olduğu gösterilmiştir (138-139).

Fibrinojen, haptoglobülin, kompleman C3 gibi bazı akut faz reaktanları da tbc perikardiyal efüzyonda artmış olarak saptanmıştır (128,130,140-144). Akut faz yanıtı infeksiyon, travma, immunolojik/alerjik reaksiyonlar, cerrahi girişim, hipoksi, yanık, malign hastalık gibi bir uyaran varlığında yanıt veren hücrelerden (polimorf nüveli lökositler, antijen sunan hücreler ve endotel) açığa çıkan sitokinlerle bir takım eş zamanlı ya da birbirini izleyen reaksiyonların gelişmesi ile karakterize olayları (inflamasyon, koagulasyon, kompleman aktivasyonu, endotel aktivasyonu) kapsar. Bir akut faz yanıtının gelişmesine yol açan uyaranlar doku hasarına yol açarlar. İnflamasyonun başlangıcını takiben 1-2 saat içerisinde sitokin salınımı olur ve takiben karaciğerde bazı proteinlerin sentezi etkilenir. Doku hasarı geliştiğinde özellikle serum fibrinojen, serum amiloid A proteini ve C-reaktif protein (CRP) miktarı artar. Akut faz yanıtının ölçülmesi doku hasarı varlığının belirlenmesi için kullanılabilir iyi bir veridir; ayrıca inflamasyonun yaygınlığı ve derecesi, tedavi sonrası akıbet hakkında da bilgi verici olabilir. Akut faz yanıtının ölçülmesine yönelik olarak sıklıkla CRP miktarı tayin edilir.

Klinik biyobelirteçler malign efüzyonların saptanmasında olduğu kadar diğer sistemik, inflamatuvar hastalıkların tanı, tedavi ve takibinde de önemlidir.

Yeni çalışmalar ile çeşitli kalp hastalıklarında bazı maddelerin perikardiyal sıvıdaki konsantrasyonları pek çok patofizyolojik mekanizmaların anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Kalp yetersizliğinde atriyal natriüretik faktör ve brain natriüretik faktörün perikardiyal sıvıda yaklaşık 12 kat fazla bulunması bu faktörlerin kalp yetersizliğinde otokrin ya da parakrin bir faktör olarak patofizyolojik bir rol oynadığını düşündürmektedir (5,145). BNP diyastol sonu basınç ve hacim artışına bağlı olarak ventrikülden salınır. KKY tanısı; ciddiyeti, tedavinin etkinliği, prognoz öngördürücüdür ve NYHA ile paraleldir. N terminal pro B-tip Natriüretik peptidin (NT pro BNP), MI sonrası ve DKY nedeni ile hastaneye yatan hastalarda prognostik değeri gösterilmiştir. Kalp yetersizliğinde prognozun belirlenmesinde ve tedaviden fayda gören hasta grubunun saptanmasında kullanılan bir parametredir (146). Kronik iskemik kalp yetersizliğindeki endotelin 1 düzeyleri myokardiyal hasar ile ilişkilidir. ET1 sisteminin uzun süreli aktivasyonu sol ventrikül disfonksiyonu ve KY gelişiminde önemli rol oynar. Fonksiyonel kapasite ve yetmezliğin derecesi ile paralel olarak artığı gösterilmiştir.

Kararsız anginada ICAM-I, VCAM-I, e-selektin gibi adezyon moleküllerinin ve interlökin 6 ve 8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin perikard sıvısındaki yüksek düzeyleri koroner arter hastalıkları ile inflamasyon ilişkisini desteklemektedir. Yine bu hastalarda perikard sıvısında noradrenalin yüksekliği iskemik kalp kasında hasarlanma ve aritmilerin gelişiminden norepinefrinin sorumlu olduğu savını desteklemektedir. Sol ventrikül hipertrofisi ve remodeling oluşumundan sorumlu olduğu düşünülen angiotensin-II düzeylerinin bu hastaların perikard sıvısında düşük düzeyde bulunması kardiyomiyosit hipertrojisinden angiotensin-II'nin direkt sorumlu olmadığını düşündürmektedir. İskemik kalp hastalıklarında asit ve basic fibroblast growth faktörler, vasküler endotelial growth faktör, hepatositik growth faktör gibi çeşitli anjiojenik faktörlerin perikardiyal konsantrasyonları anlamlı düzeyde artmıştır. Bu faktörlerin kollateral damar gelişimini uyardıkları bilinmektedir. Perkütan veya cerrahi revaskülarizasyonun yapılamadığı hasta gruplarında tıkalı damarlarda kollateral gelişimini uyarmak için intraperikardiyal "basic fibroblast growth" faktör uygulamaları perikardı yeni terapötik girişimlerin adresi haline getirmektedir (5,145).

Ege ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada, postmiyokardiyal infarkt sonrası perikard efüzyonunda CRP ve LDH seviyelerinin arttığını göstermişlerdir. Sağlıklı kişilerde ve kararlı angina pectorise sahip kişilerde bazal CRP seviyeleri kardiyovasküler olaylar için bağımsız risk faktörü olarak gösterilmiştir. Akut MI sonrası CRP seviyeleri artmaktadır ve olumsuz sonuçlarla ilişkilidir (147). Laurier ve arkadaşları perikardiyal efüzyonlardaki artmış CRP konsantrasyonlarının diğer ölümcül kardiyak olaylarda da artabileceğini göstermişlerdir. Perikardit sırasında artmış CRP seviyelerinin myokardiyal nekroz gelişimi sonucu olabileceği ileri sürülmektedir. Heart-tip sitoplazmik fatty asit binding protein (H-FABP), AMI'nın erken teşhisinde duyarlı ve özgül bir belirteç olarak rapor edilmiştir. Tambara ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada H-FABP 24 saat içinde perikardiyal sıvıda ölçülmüş ve AMI hastalarında ve myokardiyal iskemisi olan hastalarda belirgin yüksek saptanmıştır. Böylece H-FABP yalnızca MI'da değil myokardiyal zararlanma ile ilişkili ciddi myokard iskemilerinde de artmış saptanmıştır. Ancak hala H-FABP'nin myokardiyal iskeminin erken tanısında kullanımı ile ilgili klinik çalışmaya ihtiyaç vardır (148).

Ca125 yüksek molekül ağırlıklı bir glikoprotein olup mezotelyal hücreler tarafından üretilmektedir. Yüksek sensivitesine karşın, düşük spesifitesi nedeniyle tümör belirteçi olarak kullanımını sınırlar. Altta yatan etiyolojiden bağımsız malign-benign etiyolojili serozal sıvı artışı ile serum Ca125 düzeyleri arasında ilişki olduğu birçok klinik çalışmada gösterilmiştir. Bu serozal boşluklardaki sıvı varlığının mezotel hücrelerinde Ca125 salınımını stimüle ettiğini düşündürür. Ca125'in jinekolojik malignensiler, kolorektal Ca, meme Ca, Akc Ca,

hepatoselüler karsinom, pankreas Ca, intrakraniyal cerrahilerde artmış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca Ca125 nefrotik sendrom, KBY, KKY'nde de artar. KY'inde Ca 125 ile ilişkisini ilk Nagele ve arkadaşları çalışmışlardır. Kalp transplantasyonu için değerlendirdikleri hastalarda Ca 125 düzeyinin artmış olduğunu ve Ca125 düzeyinin NYHA fonksiyonel sınıf ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Transplantasyon sonrası Ca125 normale dönmüştür. Ayrıca medikal tedavi ile de klinik tabloları stabilize olan hastalarda Ca125 düzeyleri azalmış, klinik durumu kötüleşen hastalarda Ca125 artmıştır (149). Fonksiyonel sınıf yükseldikçe Ca 125 düzeyleri daha yüksek saptanmıştır. 6±3 aylık takipte mortalite ve kötüleşen kalp yetersizliği ile hospitalizasyonu içeren birleşik son noktaya ulaşma oranı Ca125 >35u/mL olanlarda %26 iken Ca125<35u/mL olanlarda %12,5 saptanmıştır. Bu çalışma yüksek Ca125 düzeylerinin kısa dönem kötü prognozu predikte ettiğini göstermiştir (150). Çalışmalarda Ca125'in ejeksiyon fraksiyonu ile korale olmadığı ve dilate KMP'de iskemik KMP'ye göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Sağ kalp yetersizliği ve asit varlığında Ca125 daha yüksek saptanmıştır. Ca125'in plevral efüzyonu olan kalp yetersizlikli hastalarda, efüzyonu olmayan kalp yetersizlikli hastalardan daha yüksek olduğu gösterilmiştir (151).

Çalışmanın Sınırlılıkları

Çalışmada maligniteli hastalarda düzeyi artmış bulunan proteinlerin kesin isimlendirilmesi yapılamamış, fonksiyon ve varlığı ile ilgili net bir karara varılamamış olsa da bu veriler malign perikardiyal efüzyonlarda total protein proteomiks analizinin genişletilerek devam edilmesini destekler.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada malign perikard efüzyonlarında Ca125'in tüm hastalarda belirgin olarak artmış olduğu görüldü. Ca 15-3 beş hastanın dördünde ılımlı bir artış gösterirken, Ca 19-9 ve CEA beş hastanın üçünde artmış saptandı. Bu tümör belirteçlerindeki artışlar büyük hücreli akciğer kanserli hastada adenokarsinomlu hastalardan daha belirgindi. AFP tüm hastalarda normal bulundu. Bu veriler ışığı altında özellikle başta Ca 125 olmak üzere Ca 19-9 ve CEA'nin akciğer kanseri nedeniyle malign perikardiyal efüzyonlarda kullanılabilirlik tümör belirteçi olarak düşünülebilse de hasta sayısının çok az olması, kontrol grubu ile karşılaştırılmaması ve bu gibi tümör belirteçlerinin özgül olmayıp başka inflamatuvar olaylarda da artış gösterebileceği unutulmamalıdır.

Akut faz reaktanı olan CRP değerleri tüm malign efüzyonlarda artmış olarak bulundu. Kontrol grubu hastalarının 3 tanesinde CRP seviyesi bakılmıştı ve CRP seviyesindeki artış daha ılımlıydı.

Çalışmamızda malign perikardiyal efüzyonlarda daha fazla sayıda protein spotu elde edildi. Görsel olarak bakıldığında hasta ve kontrol grubunda bazı bölgelerdeki protein spotlarının yoğunluğunun belirgin farklı olduğu görüldü. Bu spotlar insan plazma protein data verileri ile yine görsel olarak karşılaştırıldığında ekspresyonu artmış proteinlerin ağırlıklı olarak akut faz reaktanı proteinler olduğu saptandı. Tüm hastalarda ağırlıklı olarak saptanan protein spotlarının kabaca albümin, fibrinojen ve fragmanları, Ig ağır zincir, Ig orta zincir, Ig G, plazminojen, kompleman 3alfa, C3, kompleman prekürsörleri, apolipoproteinler, anjiyotensinojen, CRP, transtretin, haptoglobülin, antitrombin 3 ve globülin bölgelerine denk geldiği görüldü.

Melanie 7 programı ile protein spotları işaretlendiğinde hasta ve kontrol grubunda kendi içinde ve birbirleri ile protein ekspresyonunun farklılık gösterdiği görüldü. Tüm malign efüzyonlarda 3 protein spotunun birebir aynı olduğu saptandı. Yine görsel olarakta 2-D jel görüntüleri değerlendirildiğinde malign efüzyonlarda belirgin olarak yoğunluğu artan yaklaşık 25 bin Kd moleküler ağırlığındaki protein spotuna rastlandı.

Kontrol grubu hastalarının da protein ekspresyonu farklılık göstermekteydi. Ancak kontrol grubundaki hastalarımızdan iki tanesi ST elevasyonsuz MI sonrası CABG uygulanan hastalardı. Bu iki hastanın protein sayısı ve yapısı birbirine daha çok benzerdi.

Hasta ve kontrol grubu birlikte karşılaştırıldığında ortak bir protein saptanmadı. Ancak hasta ve kontrol grubunun birer üyesi karşılaştırıldığında (Hasta 1 ve kontrol 4) her iki hastada 23 tane protein spotu ortak bulundu (Tablo 12).

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılmış ilk klinik proteomiks çalışmasıdır. Şu ana kadar malign perikard efüzyonları ile yapılmış bir proteomiks çalışması yoktur. Bu çalışmadaki amacımız akciğer kanserli hastalarda gelişen perikard efüzyonundaki protein içeriğinin proteomiks analizi ile tanımlanması ve malignite ile ilişkili olabilecek yeni bir belirteç proteinin varlığının araştırılmasıdır.

Çalışmada elde edilen 2-D jel elektroforezi protein spotlarının tanımlanması spektrofotometre ile yapılamamıştır. Karşılaştırmalar öncelikle Melani 7 programı ile protein spotları belirlendikten sonra daha çok görsel olarak yapılmıştır. Malign perikardiyal efüzyonlarda daha fazla proteinin salındığı ve bu proteinlerin plazma ve serumda bulunan proteinlerle benzer olduğu görülmüştür. Saptanan proteinlerin yeni bir biyobelirteç olma olasılığının düşük olmasına rağmen bu proteinlerin KAH grubunda olmaması belki de olası ilaç tedavisi için yol gösterici olabilir. Çalışmada bu proteinlerin isimlendirilmesi yapılamamış, fonksiyon ve varlığı ile ilgili net bir karar birliğine varılamamış olsa da bu veriler malign perikardiyal efüzyonlarda total protein proteomiks analizinin genişletilerek devam edilmesini destekler. Sonuç olarak bu çalışma malign perikardiyal efüzyonlarda proteomiks analizinden yararlanarak protein profilinin çalışılabileceğini kanıtlamıştır. Bu proteinler, proteomiks veri tabanındaki proteinlerden farklı salınan proteinlerin belirlenebilmesi için değerlidir ve gelecekte malign efüzyonlardan yeni bir biyobelirteç taramasında kullanılabilirler.

7. ÖZET

Amaç: Perikard boşluğunda normalden fazla sıvı toplanması ile perikardiyal efüzyon oluşur. Perikard efüzyonlarının en önemli nedenlerinden birisi malignitelere, bunların başında da akciğer kanserleri yer almaktadır. Etiyolojisinin çeşitliliği nedeniyle tanı ve tedavi yaklaşımlarında önemli farklılıklar vardır. Proteomiks, özellikle postgenomik dönemde bir hücre, doku veya biyolojik sıvıların protein profillerinin araştırılmasında bir anahtar teknoloji olarak karşımıza çıkmaktadır. Proteomiks analizi efüzyondaki protein profillerinin tanımlanmasında, hastalığın mekanizmasının proteine dayalı araştırılmasında, tanı için yeni bir biyobelirteç keşfinde ve ilaç tedavisi için yeni hedeflerin belirlenmesinde güçlü bir araçtır.

Bu çalışmadaki amacımız akciğer kanserli hastalarda gelişen perikard efüzyonundaki protein içeriğinin proteomiks analizi ile tanımlanması ve malignite ile ilişkili olabilecek yeni bir belirteç proteinin varlığının araştırılmasıdır.

Materyal-Metod: Perikard sıvı örnekleri kardiyak tamponad kliniği ile Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Koroner Yoğun Bakım Ünitesine yatırılan hastalardan, ekokardiyografi eşliğinde yapılan perikardiyosentez işlemi ile alındı. Kontrol grup hastalarının sıvıları ise koroner arter bypass cerrahisi (CABG) sırasında Kocaeli Üniversitesi KDC tarafından intraoperatif olarak perikardın açılması sırasında alındı. Örnekler -80°C’de saklandı. 2-D jel elektroforezinde birinci boyutta izoelektrik odaklama ile proteinler izoelektrik noktalarına göre ayrıldıktan sonra ikinci boyutta moleküler ağırlıklarına göre ayrıldı. Elde edilen jeller Coomassie boyası ile boyanarak protein spotları açığa çıkarıldı. Görüntü analizi Melanie 7 Viewer programı ile yapıldı. 2-D jel haritasındaki protein spotları öncelikle görsel olarak değerlendirildi ve upregülasyona veya downregülasyona uğrayan proteinler saptandı. Proteinlerin tanımlanabilmesi için data analiz metodu halihazırda bulunmadığından proteinler tanımlanamadı. Ancak Melanie 7 programı ile her bir jeldeki protein spotları işaretlendi ve birbirleri ile karşılaştırıldı. Perikardiyal efüzyondaki protein spotları normal insan plazmasının 2-D jelindeki protein spotları ile moleküler ağırlıklarına göre karşılaştırıldı.

Bulgular: Malign perikardiyal efüzyonlarda daha fazla proteinin salındığı ve bu proteinlerin plazma ve serumda bulunan proteinlerle benzer olduğu görülmüştür. Saptanan proteinlerin yeni bir biyobelirteç olma olasılığının düşük olmasına rağmen bu proteinlerin KAH grubunda olmaması belki de olası ilaç tedavisi için yol gösterici olabilir. Çalışmada bu proteinlerin isimlendirilmesi yapılamamış, fonksiyon ve varlığı ile ilgili net bir karar birliğine varılamamış olsa da bu veriler malign perikardiyal efüzyonlarda total protein proteomiks analizinin genişletilerek devam edilmesini destekler.

Sonuç: Proteomiks ile belirlenen tümör hücrelerinin salgıladığı proteinler tümör yükünü ve tedaviye verdiği cevabı gösterebilir ve gelecekte güçlü ve ümit verici tümör belirteçi olabilir. Tanı, tedavinin belirlenmesi ve prognoz tayininde kullanılabilir. Proteomiks alanında her geçen gün gelişmeler artmaktadır, daha güçlü data analiz programları geliştirilmektedir. Bu gelişmeler altında gelecekte sensitivitesi ve spesifitesi artmış bir protein biyobelirteçi bulunabilecektir.

Literatürde perikardiyal efüzyonun proteomiks analizini içeren birkaç çalışma vardır. Proteomiks alanındaki son ilerlemeler bariz olsa da, şu anki çalışmalarla hastalıkların tanısında yeni, özgül bir belirteç ve tedavinin bireyselleştirilmesinde yeni moleküler bir hedef bulma amacına henüz ulaşamamıştır. Proteomiks çalışmalarında saptanan hedef molekülün klinik kullanımda yeterli salınabilmesi lazımdır. Ayrıca sıvılarda protein konsantrasyonlarındaki dinamik değişkenlik, sıvıların analizinde devam eden bir problemdir.

Anahtar kelimeler : Proteomiks, perikard efüzyonu, malign

8. ABSTRACT

Objective: If excess fluid in pericardial space accumulates pericardial effusion occurs. The most important reason for pericardial effusion is malignancies, especially lung cancer. Diagnostic and management approach may vary due to the etiological variety. Proteomics analysis is an important key for the especially postgenomic period of cell, tissue and biological fluid protein profiles research. Proteomics analysis maybe a strong tool for the pericardial effusion protein profiles description, research of disease mechanisms via proteins and discovery of novel biomarkers for diagnosis.

In this study, we aimed to analyze the protein content of pericardial effusions in patients with lung cancer with proteomics analysis in order to find a novel biomarker.

Materials and Methods: Pericardial effusions of cardiac tamponad patients were taken with echocardiographically guided pericardiocentesis. Pericardial fluid of the control group was obtained from patients who underwent CABG surgery. Specimens were kepted at -80°C until analysis. In 2-D gel electrophoresis, for the first dimension with isoelectric focusing proteins were leaved according to the isoelectric points. After that, for the second dimension they were leaved according to the molecular weights. Obtained gels were stained with Coomasia stain and protein spots displayed. Image analyses were made by Melanie Viewer program. Protein spots in the 2-D gel map were evaluated visually. Upregulation and downregulation of proteins were evaluated. For the protein description we did not have data analyze method, for this reason proteins could not be described. Protein spots in each gel were marked with Melanie 7 program and they were compared with each other. Protein spots in pericardial effusions were compared with normal human plasma 2-D gel protein spots according to their molecular weights.

Findings: We found higher protein content in malign pericardial effusions and the upregulated proteins were similar to serum plasma proteins. Identified proteins may be not a novel biomarker but these proteins were not found in CAD group. Because of this, presence of these proteins in only malignancy patients can be a guide for differential diagnosis and medical therapy. In our study we did not precisely identify these proteins but these data strengthen the need for protein proteomics analyses in malign pericardial effusions.

Conclusion : Proteins which can be analyzed with proteomics display tumor load and response to treatment. These proteins can be used for diagnosis, treatment modalities and prognostic analysis. Developments increase in proteomics field and data analyse programs are

improved. With these improvements more sensitive and specific protein biomarkers can be discovered.

In the literature there are very few studies for proteomics analysis of pericardial effusions. Advance in proteomics analyses is apparent but present studies do not produce novel, specific biomarkers. Target molecule that will be found in proteomics analyses has to be released adequately in clinical settings. Dynamic variability of protein concentration in fluid is another continuing problem for fluid analyses.

Key words : Proteomics, pericardial effusion, malignancy

9. KAYNAKLAR

1. Golland S, Caspi A, Malnick S, et al. Idiopathic chronic pericardial effusion. *N Engl J Med* 2000; **342**:1449-50.
2. Hoit BD. Management of effusive and constrictive pericardial heart disease. *Circulation* 2002; **105**:2939-42.
3. Little WC, Freeman GL. Pericardial disease. *Circulation* 2006; **113**:1622-32.
4. Maisch B, Seferović PM, Ristic AD, et al. Guidelines on the diagnosis and management of pericardial diseases executive summary; the Task Force on the Diagnosis and Management of Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2004; **25**:587-610.
5. Troughton RW, Asher CR, Klein AL. Pericarditis. *Lancet* 2004; **363**:717-27.
6. Wilkes JD, Fidias P, Vaickus L, Perez RP. Malignancy-related pericardial effusion. 127 cases from the Roswell Park Cancer Institute. *Cancer* 1995; **76**:1377-87
7. Girardi LN, Ginsberg RJ, Burt ME. Pericardiocentesis and intrapericardial sclerosis: effective therapy for malignant pericardial effusions. *Ann Thorac Surg* 1997; **64**:1422-7.
8. Martinoni A, Cipolla CM, Civelli M, Cardinale D, Lamantia G, Colleoni M, DeBraud F, Susini G, Martinelli G, Goldhirsh A, Fiorentini C. Intrapericardial treatment of neoplastic pericardial effusions. *Herz* 2000; **25**:787-93.
9. Galve E, Permanyer-Miralda G, Tornos MP, Oller G, Roma F, Soler-Soler J. Self-limited acute pericarditis as initial manifestation of primary cardiac tumor. *Am Heart J* 1992; **123**:1690-2.
10. Shepherd FA. Malignant pericardial effusion. *Curr Opin Oncol* 1997; **9**:170-4.
11. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi*. 5. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi; 2001; 12-13.
12. Dere F. *Anatomi Atlası ve Ders kitabı*. 5. baskı. Adana: Nobel Tıp Kitabevi; 1999; 806-7.
13. Spodick DH. *Physiology of the normal pericardium: Functions of the pericardium*. Spodick DH. *The pericardium. A Comprehensive Textbook*. New York Decker 1997; 15-16.
14. Kabbani SS, Le Winter M. *Pericardial disease*. Crawford MH, Di Marco JP.(eds). Cardiology. London, Mosby International 2001; **p5-15**:1-8.
15. Troughton RW, Asher CR, Klein AL. Pericarditis. *Lancet* 2004; **363**:717-27.
16. Spodick DH. *Pericardial diseases*. Braunwald E, Zipes DP, Libby P.(eds). Heart Disease. Philadelphia, WB Saunders, 2001. **p**.1838-48.

17. Roberts TG, Lilly LS. *Diseases of the Pericardium*. LS Lilly (ed). Pathophysiology of heart disease. Pennsylvania, Williams&Wilkins, 1998. pp. 289-301.
18. Kostreva DR, Pontus SP. Pericardial mechanoreceptors with phrenic afferents. *Am J Physiol* 1993; **264**: H1836-46.
19. Miyazaki T, Pride HP, Zipes DP. Prostaglandins in the pericardial fluid modulate neural regulation of cardiac electrophysiological properties. *Circ Res* 1990; **66**:163-75.
20. O'Rourke RA, Dell'Italia LJ. Diagnosis and management of right ventricular myocardial infarction. *Curr Probl Cardiol* 2004; **29**:6-47.
21. Spodick DH. Acute pericarditis: current concepts and practice. *JAMA* 2003; **289**:1150-3.
22. Imazio M, Demichelis B, Parrini I, Giuggia M, Cecchi E, Gaschino G, Demarie D, Ghisio A, Trincherro R. Day-hospital treatment of acute pericarditis: A management program for outpatient therapy. *J Am Coll Cardiol* 2004; **43**:1042-6.
23. Karam N, Patel P, deFilippi C. Diagnosis and management of chronic pericardial effusions. *Am J Med Sci* 2001; **322**:79-87.
24. Goyle KK, Walling AD. Diagnosing pericarditis. *Am Fam Physician* 2002; **66**:1695-702.
25. Nogue O, Millaire A, Porte H, de Groote P, Guimier P, Wurtz A, Ducloux G. Pericardioscopy in the etiologic diagnosis of pericardial effusion in 141 consecutive patients. *Circulation* 1996; **94**:1635-41.
26. Lange RA, Hillis LD. Clinical practice. Acute pericarditis. *N Engl J Med* 2004; **351**:2195-202.
27. Brady WJ, Perron AD, Martin ML, Beagle C, Aufderheide TP. Cause of ST segment abnormality in ED chest pain patients. *Am J Emerg Med* 2001; **19**:25-8.
28. Brandt RR, Filzmaier K, Hanrath P. Circulating cardiac troponin I in acute pericarditis. *Am J Cardiol* 2001; **87**:1326-8.
29. Imazio M, Demichelis B, Cecchi E, Belli R, Ghisio A, Bobbio M, Trincherro R. Cardiac troponin I in acute pericarditis. *J Am Coll Cardiol* 2003; **42**:2144-8.
30. Spodick DH. Acute, clinically noneffusive ("dry") pericarditis. *The Pericardium: A Comprehensive Textbook*. New York, Marcel Decker, 1997, 94-113.
31. Spodick DH. Acute pericarditis: current concepts and practice. *JAMA* 2003; **289**:1150-3.
32. Spodick DH. Arrhythmias during acute pericarditis. A prospective study of 100 consecutive cases. *JAMA* 1976; **235**:39-41.
33. Spodick DH. Frequency of arrhythmias in acute pericarditis determined by Holter monitoring. *Am J Cardiol* 1984; **53**:842-5.

34. Pericardial Disease. In: Otto C. *Textbook of Clinical Echocardiography*. 3.edition. W. B. Saunders Company 2004; 247-8.
35. Artom G, Koren-Morag N, Spodick DH, Brucato A, Guindo J, Bayes-de-Luna A, Brambilla G, Finkelstein Y, Granel B, Bayes-Genis A, Schwammenthal E, Adler Y. Pretreatment with corticosteroids attenuates the efficacy of colchicine in preventing recurrent pericarditis: a multi-centre all-case analysis. *Eur Heart J* 2005; **26**:723-7.
36. Imazio M, Bobbio M, Cecchi E, Demarie D, Pomari F, Moratti M, Ghisio A, Belli R, Trincherò R. Colchicine as first-choice therapy for recurrent pericarditis: results of the CORE (COLchicine for REcurrent pericarditis) trial. *Arch Intern Med* 2005; **165**:1987-91.
37. Imazio M, Bobbio M, Cecchi E, Demarie D, Demichelis B, Pomari F, Moratti M, Gaschino G, Giammaria M, Ghisio A, Belli R, Trincherò R. Colchicine in addition to conventional therapy for acute pericarditis: results of the COLchicine for acute PERicarditis (COPE) trial. *Circulation* 2005; **112**:2012-6.
38. Marcolongo R, Russo R, Laveder F, Noventa F, Agostini C. Immunosuppressive therapy prevents recurrent pericarditis. *J Am Coll Cardiol* 1995; **26**:1276-9.
39. Horsburgh CR, Feldman S, Ridzon R. Practice guidelines for the treatment of tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2000; **31**:633–9.
40. Sehulster L, Chinn RY; CDC; HICPAC. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Recomm Rep* 2003; **52**:1-42.
41. Ryan TJ, Antman EM, Brooks NH, Califf RM, Hillis LD, Hiratzka LF, Rapaport E, Riegel B, Russell RO, Smith EE 3rd, Weaver WD, Gibbons RJ, Alpert JS, Eagle KA, Gardner TJ, Garson A Jr, Gregoratos G, Ryan TJ, Smith SC Jr. 1999 update: ACC/AHA guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Acute Myocardial Infarction). *J Am Coll Cardiol* 1999; **34**:890-911.
42. Finkelstein Y, Shemesh J, Mahlab K, Abramov D, Bar-El Y, Sagie A, Sharoni E, Sahar G, Smolinsky AK, Schechter T, Vidne BA, Adler Y. Colchicine for the prevention of postpericardiotomy syndrome. *Herz* 2002 ;**27**:791-4.
43. Hinterreiter M, Allinger S, Punzengruber C, Knoflach P. Pericarditis complicating ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 1995; **1**:198–201.
44. Spodick DH. Acute cardiac tamponade. *N Engl J Med* 2003; **349**: 684-90.

45. Ben-Horin S, Bank I, Guetta V, Livneh A. Large symptomatic pericardial effusion as the presentation of unrecognized cancer: a study in 173 consecutive patients undergoing pericardiocentesis. *Medicine (Baltimore)* 2006; **85**:49-53.
46. Kabukcu M, Demircioğlu F, Yank E, Basarici I, Ersel F. Pericardial tamponade and large Pericardial effusions causal factors and efficacy of percutaneous catheter drainage in 50 patients. *Tex Heart Inst J* 2004; **31**(4):398-403.
47. Hoit BD, Faulx MD. *Disease of the pericardium*. In: Alexander RW, Schlan RC, Fuster V, editörs. Hurst' s the heart. 11th ed., New York: McGraw-Hill 2004:1977-2000.
48. Goldstein JA Cardiac tamponade, constrictive pericarditis, and restrictive cardiomyopathy. *Curr Probl Cardiol* 2004; **29**:503-67.
49. Ege T, Us MH, Cikirikcioglu M, Arar C, Duran E. Analysis of C-reactive protein and biochemical parameters in pericardial fluid. *Yonsei Med J* 2006; **47**:372-6.
50. Oyama J, Shimokawa H, Morita S, Yasui H, Takeshita A. Elevated interleukin-1beta in pericardial fluid of patients with ischemic heart disease. *Coron Artery Dis* 2001; **12**:567-71.
51. Burgess LJ, Reuter H, Taljaard JJ, Doubell AF. Role of biochemical tests in the diagnosis of large pericardial effusions. *Chest* 2002; **121**:495-9.
52. Atar S, Chiu J, Forrester JS, Siegel RJ. Bloody pericardial effusion in patients with cardiac tamponade: is the cause cancerous, tuberculous, or iatrogenic in the 1990s? *Chest* 1999; **116**:1564-9.
53. Fernandes F, Vieira GS, Arteaga E, Ianni BM, Pêgo- Fernandes P, Mady C. Cholesterol pericarditis. A specific but rare cause of pericardial disease. *Arq Bras Cardiol* 2001; **76**:391-4.
54. Abadoğlu O, Osma E, Uçan ES, Cavdar C, Akkoç N, Küpeliöğlu A, Akbaylar H. Behçet's disease with pulmonary involvement, superior vena cava syndrome, chyloptysis and chylous ascites. *Respir Med* 1996; **90**:429-31.
55. Allan LK, Craig RA. Diseases of the pericardium, restrictive cardiomyopathy and diastolic dysfunction. Topol EJ.(ed). *Textbook of Cardiovascular Medicine*. Philadelphia, Lippincott Williams Wilkins, 2002.p.614-16.
56. Guberman BA, Fowler NO, Engel PJ, Gueron M, Allen JM. Cardiac tamponade in medical patients. *Circulation* 1987; **64**:633-40.
57. Klein LW. Diagnosis of cardiac tamponade in the presence of complex medical illness. *Crit Care Med* 2002; **30**:721-3.
58. Shaver JA, Reddy PS, Curtiss EI, Ziady GM, Reddy SC. Noninvasive/invasive correlates of exaggerated ventricular interdependence in cardiac tamponade. *J Cardiol* 2001; **37** (Suppl 1):71-6.

59. Hayes SN, Freeman WK, Gersh BJ. Low pressure cardiac tamponade: diagnosis facilitated by Doppler echocardiography. *Br Heart J* 1990; **63**:136-40.
60. Brown J, MacKinnon D, King A, Vanderbush E. Elevated arterial blood pressure in cardiac tamponade. *N Engl J Med* 1992; **327**:463-6.
61. LeWinter MM, Kabbani S. Pericardial Diseases. Edi. Braunwald E *Textbook of Cardiovascular Medicine*. 7th edn. WB Saunders Company, Philadelphia 2005: 1757-1759.
62. Mulvagh SL, Rokey R, Vick GW 3rd, Johnston DL. Usefulness of nuclear magnetic resonance imaging for evaluation of pericardial effusions, and comparison with two-dimensional echocardiography. *Am J Cardiol* 1989; **64**:1002-9.
63. Gorcsan J. Utility of hand-carried ultrasound for consultative cardiology. *Echocardiography* 2003; **20**:463-9.
64. ACC/AHA guidelines for the clinical application of echocardiography. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Assessment of Diagnostic and Therapeutic Cardiovascular Procedures (Subcommittee to Develop Guidelines for the Clinical Application of Echocardiography). *J Am Coll Cardiol* 1990; **16**:1505-28.
65. Mager A, Birnbaum Y, Adler Y, Imbar S, Strasberg B, Battler A. The anteroposterior pericardial sac diameter measured by echocardiography correlates with the volume of pericardial effusion and with effort dyspnea. *Eur J Echocardiogr* 2005; **6**:358-62.
66. Cherian G, Uthaman B, Habashy AG, Salama AL, George S. Large pericardial effusion: the differentiation of tuberculous from chronic idiopathic effusion. *J Assoc Physicians India* 2003; **51**:880-3.
67. Price S, Prout J, Jaggar SI, Gibson DG, Pepper JR. 'Tamponade' following cardiac surgery: terminology and echocardiography may both mislead. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; **26**:1156-60.
68. Cohen ML. Experimental cardiac tamponade: correlation of pressure, flow velocity, and echocardiographic changes. *J Appl Physiol* 1990; **69**:924-31.
69. Klopfenstein HS, Cogswell TL, Bernath GA, Wann LS, Tipton RK, Hoffmann RG, Brooks HL. Alterations in intravascular volume affect the relation between right ventricular diastolic collapse and the hemodynamic severity of cardiac tamponade. *J Am Coll Cardiol* 1985; **6**:1057-63.
70. Plotnick GD, Rubin DC, Feliciano Z, Ziskind AA. Pulmonary hypertension decreases the predictive accuracy of echocardiographic clues for cardiac tamponade. *Chest* 1995; **107**:919-

71. Chandraratna PA. Echocardiography and Doppler ultrasound in the evaluation of pericardial disease. *Circulation* 1991; **84 (3 Suppl)**:1303-10.
72. Martinez-Lopez JI. ECG of the month. The swinging heart. Electrical alternans. *J La State Med Soc* 1990; **142**:5-8.
73. Vignola PA, Pohost GM, Curfman GD, Myers GS. Correlation of echocardiographic and clinical findings in patients with pericardial effusion. *Am J Cardiol* 1976; **37**:701-7.
74. Hoit BD, Show D. The paradoxical pulse in tamponade: mechanisms and echocardiographic correlates. *Echocardiography* 1994; **11**:477-87.
75. Leeman DE, Levine MJ, Come PC. Doppler echocardiography in cardiac tamponade: exaggerated respiratory variation in transvalvular blood flow velocity integrals. *J Am Coll Cardiol* 1988; **11**:572-8.
76. Materazzo C, Piotti P, Meazza R, Pellegrini MP, Viggiano V, Biasi S. Respiratory changes in transvalvular flow velocities versus two-dimensional echocardiographic findings in the diagnosis of cardiac tamponade. *Ital Heart J* 2003; **4**:186-92.
77. Robb JF, Laham RJ. Profiles in pericardial disease. *Grossman's Cardiac Catheterization, Angiography, and Intervention*. Edi. Baim DS. 2006:725-743.
78. Maisch B, Ristic AD, Rupp H, Spodick DH. Pericardial access using the PerDUCER and flexible percutaneous pericardioscopy. *Am J Cardiol* 2001; **88**:1323-6.
79. Seferović PM, Ristić AD, Maksimović R, Tatić V, Ostojić M, Kanjuh V. Diagnostic value of pericardial biopsy: improvement with extensive sampling enabled by pericardioscopy. *Circulation* 2003; **107**:978-83.
80. Karam N, Patel P, deFilippi C. Diagnosis and management of chronic pericardial effusions. *Am J Med Sci* 2001; **322**:79-87.
81. Press OW, Livingston R. Management of malignant pericardial effusions and tamponade. *JAMA* 1987; **257**:1088-92.
82. Sagrista-Sauleda J, Angel J, Permanyer-Miralda G, Soler-Soler J. Long-term follow-up of idiopathic chronic pericardial effusion. *N Engl J Med* 1999; **341**:2054-9.
83. Scott RW, Garvin CF. Tumors of the heart and pericardium. *Am Heart J* 1939; **17**:431-436.
84. Retter AS. Pericardial disease in the oncology patient. *Heart Disease* 2002; **4**:387-91.
85. Soler-Soler J, Sagristà-Sauleda J, Permanyer-Miralda G. Management of pericardial effusion. *Heart* 2001; **86**:235-40.

86. Mercé J, Sagristà-Sauleda J, Permanyer-Miralda G, Soler-Soler J. Should pericardial drainage be performed routinely in patients who have a large pericardial effusion without tamponade? *Am J Med* 1998; **105**:106-9.
87. Sagristà-Sauleda J, Angel J, Sánchez A, Permanyer-Miralda G, Soler-Soler J. Effusive-constrictive pericarditis. *N Engl J Med* 2004; 350:469-75.
88. Aikat S, Ghaffari S. A review of pericardial diseases: clinical, ECG and hemodynamic features and management. *Cleve Clin J Med* 2000; **67**:903-14.
89. Allen KB, Faber LP, Warren WH, Shaar CJ. Pericardial effusion: subxiphoid pericardiostomy versus percutaneous catheter drainage. *Ann Thorac Surg* 1999; **67**:437-40.
90. Martinoni A, Cipolla CM, Civelli M, Cardinale D, Lamantia G, Colleoni M, DeBraud F, Susini G, Martinelli G, Goldhirsh A, Fiorentini C. Intrapericardial treatment of neoplastic pericardial effusions. *Herz* 2000; **25**:787-93.
91. Shepherd FA, Morgan C, Evans WK, Ginsberg JF, Watt D, Murphy K. Medical management of malignant effusion by tetracycline sclerosis. *Am J Cardiol* 1987; **60**:1161-6.
92. Lashevsky I, Ben Yosef R, Rinkevich D, Reisner S, Markiewicz W. Intrapericardial minoksiklin sclerosis for malignant pericardial effusion. *Chest* 1996; **109**:1452-4.
93. Liu G, Crump M, Goss PE, Dancy J, Shepherd FA. Prospective comparison of the sclerosis agents doxycycline and bleomycin for the primary management of malignant pericardial effusion and cardiac tamponade. *J Clin Oncol* 1996; **14**:3141-7.
94. Tsang TS, Seward JB, Barnes ME, Bailey KR, Sinak LJ, Urban LH, Hayes SN. Outcomes of primary and secondary treatment of pericardial effusion in patients with malignancy. *Mayo Clin Proc* 2000; **75**:248-53.
95. Maher EA, Shepherd FA, Todd TJ. Pericardial sclerosis as the primary management of malignant effusion and cardiac tamponade. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; **112**:637-43.
96. Hankins JR, Satterfield JR, Aisner J, Wiernik PH, McLaughlin JS. Pericardial window for malignant pericardial effusion. *Ann ThoracSurg* 1980; **30(5)**:465-71.
97. Tsang TS, Enriquez-Sarano M, Freeman WK, Barnes ME, Sinak LJ, Gersh BJ, Bailey KR, Seward JB. Consecutive 1127 therapeutic echocardiographically guided pericardiocenteses: clinical profile, practice patterns, and outcomes spanning 21 years. *Mayo Clin Proc* 2002; **77**:429-36.
98. Lindenberger M, Kjellberg M, Karlsson E, Wranne B. Pericardiocentesis guided by 2-D echocardiography: the method of choice for treatment of pericardial effusion. *J Intern Med* 2003; **253**:411-7.

99. Palacios IF. Pericardial Effusion and Tamponade. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 1999; **1**:79-89.
100. Ziskind AA, Pearce AC, Lemmon CC, Burstein S, Gimple LW, Herrmann HC, McKay R, Block PC, Waldman H, Palacios IF. Percutaneous balloon pericardiectomy for the treatment of cardiac tamponade and large pericardial effusions: description of technique and report of the first 50 cases. *J Am Coll Cardiol* 1993; **21**:1-5.
101. Peltonen L, McKusick VA. Genomics and medicine. Dissecting human disease in the postgenomic era. *Science* 2001; **291**:1224-9.
102. Güran Ş. Hastalıklara yeni bir tanı yaklaşımı: protein-çip teknolojisi. *Gülhane Tıp Dergisi* 2005; **47**:243-245.
103. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of Cell*. 4th ed. New York: Garland Science, 2002.
104. Chapman K. The ProteinChip Biomarker System from Ciphergen Biosystems: a novel proteomics platform for rapid biomarker discovery and validation. *Biochem Soc Trans* 2002; **30**:82-7.
105. Marko-Varga G. Proteomics principles and Challenges. *Pure Appl Chem* 2004; **76**:829-837.
106. Biberoglu G. Kütle Spektrometresi ve Tıp Alanında Kullanımı. *T Klin J Med Sci* 2003; **23**:491-498.
107. Moore CA, Khoury MJ, Bradley LA. From genetics to genomics using gene-based medicine to prevent disease and promote health in children. *Semin Perinatol* 2005; **29**:135-43.
108. Washburn MP, Wolters D, Yates JR 3rd. Large-scale analysis of the yeast proteome by multidimensional protein identification technology. *Nat Biotechnol* 2001; **19**:242-7.
109. Weber K, Pringle JR, Osborn M. Measurement of molecular weights by electrophoresis on SDS-acrylamide gel. *Methods Enzymol* 1972; **26**:3-27.
110. Reisner AH, Nemes P, Bucholtz C. The use of Coomassie Brilliant Blue G250 perchloric acid solution for staining in electrophoresis and isoelectric focusing on polyacrylamide gels. *Anal Biochem* 1975; **64**:509-16.
111. Anderson NG, Anderson NL. Analytical techniques for cell fractions. XXI. Two-dimensional analysis of serum and tissue proteins: multiple isoelectric focusing. *Anal Biochem* 1978; **85**:331-40.
112. Laemmli UK, Favre M. Maturation of the head of bacteriophage T4. I. DNA packaging events. *J Mol Biol* 1973; **80**:575-99.
113. Andrews A.T. Electrophoresis. *Oxford Science publication* 1995: 93-110.

114. Spodick D H. *The Pericardium: A Comprehensive Textbook*. Marcel Dekker, New York, NY 1997.
115. Davidson B, Nielsen S, Christensen J, Asschenfeldt P, Berner A, Risberg B, Johansen P. The role of desmin and N-cadherin in effusion cytology: a comparative study using established markers of mesothelial and epithelial cells. *Am J Surg Pathol* 2001; **25**:1405-12.
116. Permanyer-Miralda G, Sagristá-Sauleda J, Soler-Soler J. Primary acute pericardial disease: a prospective series of 231 consecutive patients. *Am J Cardiol* 1985; **56**:623-30.
117. García Vázquez E. Cardiac tamponade as clinical manifestation of neoplastic process: presentation of 11 cases and review of the literature. *An Med Interna* 2000; **17**: 25-8.
118. Kabukcu M, Demircioglu F, Yanik E, Basarici I, Ersel F. Pericardial tamponade and large pericardial effusions: causal factors and efficacy of percutaneous catheter drainage in 50 patients. *Tex Heart Inst J* 2004; **31**:398-403.
119. Srinivas PR, Srivastava S, Hanash S, Wright GL Jr. Proteomics in early detection of cancer. *Clin Chem* 2001; **47**:1901-11.
120. National Institutes of Health and Food and Drug Administration Clinical Proteomics Program Databank. <http://home.ccr.cancer.gov/ncifdaproteomics/ppatterns.asp>.
121. Lazaridis KN, Juran BD; American Gastroenterological Association. American Gastroenterological Association future trends committee report: the application of genomic and proteomic technologies to digestive disease diagnosis and treatment and their likely impact on gastroenterology clinical practice. *Gastroenterology* 2005; **129**:1720–52.
122. Wulfkühle JD, Liotta LA, Petricoin EF. Proteomic applications for the early detection of cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; **3**:267-75.
123. Nakajima K, Ochiai T, Suzuki T, Shimada H, Hayashi H, Yasumoto A, Takeda A, Hishikawa E, Isono K. Impact of preoperative serum carcinoembryonic antigen, CA 19-9 and alpha fetoprotein levels in gastric cancer patients. *Tumour Biol* 1998; **19**:464-9.
124. Ishigami S, Natsugoe S, Hokita S, Che X, Tokuda K, Nakajo A, Iwashige H, Tokushige M, Watanabe T, Takao S, Aikou T. Clinical importance of preoperative carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 levels in gastric cancer. *J Clin Gastroenterol* 2001; **32**:41-4.
125. Tocchi A, Costa G, Lepre L, Liotta G, Mazzoni G, Cianetti A, Vannini P. The role of serum and gastric juice levels of carcinoembryonic antigen, CA19.9 and CA72.4 in patients with gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998; **124**:450-5.
126. Yalçintepe Güneştutar L, Cantürk Rodop M. New Approaches in Electrophoresis. *Sigma* 2009; **27**:151-60.

127. Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost* 2005; **3**:1894–904.
128. Hung TL, Chen FF, Liu JM, Lai WW, Hsiao AL, Huang WT, Chen HH, Su WC. Clinical evaluation of HER-2/neu protein in malignant pleural effusion-associated lung adenocarcinoma and as a tumor marker in pleural effusion diagnosis. *Clin Cancer Res* 2003; **9**:2605-12.
129. Kotyza J, Pesek M, Puzman P, Havel D. Progelatinase B/matrix metalloproteinase-9 proenzyme as a marker of pleural inflammation. *Exp Lung Res* 2004; **30**:297-309.
130. Salomaa ER, Viander M, Saaresranta T, Terho EO. Complement components and their activation products in pleural fluid. *Chest* 1998; **114**:723-30.
131. Shijubo N, Honda Y, Fujishima T, Takahashi H, Kodama T, Kuroki Y, Akino T, Abe S. Lung surfactant protein-A and carcinoembryonic antigen in pleural effusions due to lung adenocarcinoma and malignant mesothelioma. *Eur Respir J* 1995; **8**:403-6.
132. Aoe K, Hiraki A, Maeda T, Murakami T, Yamazaki K, Sugi K, Takeyama H. Soluble receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells in pleural fluid: a potential diagnostic marker for malignant pleural effusion. *Chest* 2004; **126**:1195-7.
133. Hsieh WY, Chen MW, Ho HT, You TM, Lu YT. Identification of differentially expressed proteins in human malignant pleural effusions. *Eur Respir J* 2000; **28**:1178-85.
134. Bard MP, Hegmans JP, Hemmes A, Luider TM, Willemsen R, Severijnen LA, van Meerbeeck JP, Burgers SA, Hoogsteden HC, Lambrecht BN. Proteomic analysis of exosomes isolated from human malignant pleural effusions. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; **31**:114-21.
135. Segura RM. Useful clinical biological markers in diagnosis of pleural effusions in children. *Paediatr Respir Rev* 2004; **5**:S205-12.
136. Pettersson T, Ojala K, Weber TH. Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *Acta Med Scand* 1984; **215**:299-304.
137. Garcia-Pachon E, Soler MJ, Padilla-Navas I, Romero V, Shum C. C-reactive protein in lymphocytic pleural effusions: a diagnostic aid in tuberculous pleuritis. *Respiration* 2005; **72**:486-9.
138. Tyers M, Mann M. From genomics to proteomics. *Nature* 2003; **422**:193-7.
139. Fujii K, Nakano T, Kawamura T, Usui F, Bando Y, Wang R, Nishimura T. Multidimensional protein profiling technology and its application to human plasma proteome. *J Proteome Res* 2004; **3**:712-8.

140. Schlesinger LS, Bellinger-Kawahara CG, Payne NR, Horwitz MA. Phagocytosis of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by human monocyte complement receptors and complement component C3. *J Immunol* 1990; **144**:2771-80.
141. Araujo Z, González N, de Cubeddu L, Ziegler RC, de Waard JH, Giampietro F, Garzaro D, Pujol FH, de Serrano NC, de Saboin AG. Levels of complement C3 and C4 components in Amerindians living in an area with high prevalence of tuberculosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; **101**:359-64.
142. Wester L, Fast J, Labuda T, Cedervall T, Wingårdh K, Olofsson T, Akerström B. Carbohydrate groups of alpha1-microglobulin are important for secretion and tissue localization but not for immunological properties. *Glycobiology* 2000; **10**:891-900.
143. Bierl C, Voetsch B, Jin RC, Handy DE, Loscalzo J. Determinants of human plasma glutathione peroxidase (GPx-3) expression. *J Biol Chem* 2004; **279**:26839-45.
144. Weisel JW. Fibrinogen and fibrin. *Adv Protein Chem* 2005; **70**:247-99.
145. Fujita M, Komeda M, Hasegawa K, Kihara Y, Nohara R, Sasayama S. Pericardial fluid as a new material for clinical heart research. *Int J Cardiol* 2001; **77**:113-8.
146. Bettencourt P, Azevedo A, Pimenta J, Friões F, Ferreira S, Ferreira A. N-terminal-pro-brain natriuretic peptide predicts outcome after hospital discharge in heart failure patients. *Circulation* 2004; **110**:2168-74.
147. Oyama J, Shimokawa H, Morita S, Yasui H, Takeshita A. Elevated interleukin-1beta in pericardial fluid of patients with ischemic heart disease. *Coron Artery Dis* 2001; **12**:567-71.
148. Tambara K, Fujita M, Miyamoto S, Doi K, Nishimura K, Komeda M. Pericardial fluid level of heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein (H-FABP) is an indicator of severe myocardial ischemia. *Int J Cardiol* 2004; **93**:281-4.
149. Nägele H, Bahlo M, Klapdor R, Schaeperkoetter D, Rödiger W. CA 125 and its relation to cardiac function. *Am Heart J* 1999; **137**:1044-9.
150. D'Aloia A, Faggiano P, Aurigemma G, Bontempi L, Ruggeri G, Metra M, Nodari S, Dei Cas L. Serum levels of carbohydrate antigen 125 in patients with chronic heart failure: Relation to clinical severity, hemodynamic and Doppler echocardiographic abnormalities, and short-term prognosis. *J Am Coll Cardiol* 2003; **41**:1805-11.
151. Turk HM, Pekdemir H, Buyukberber S, Sevinc A, Camci C, Kocabas R, Tarakcioglu M, Buyukberber NM. Serum CA 125 levels in patients with chronic heart failure and accompanying pleural fluid. *Tumour Biol* 2003; **24**:172-5.