



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**BRETSCHNEIDER HTK VE KONVANSİYONEL KRİSTALOİD  
KARDİYOPEJİNİN MYOKARD ÜZERİNE ETKİLERİNİN DOKU  
DÜZEYİNDE KARŞILAŞTIRMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Oktay Korun**

**ANKARA, 2011**



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**BRETSCHNEIDER HTK VE KONVANSİYONEL KRİSTALOİD  
KARDİYOPEJİNİN MYOKARD ÜZERİNE ETKİLERİNİN DOKU  
DÜZEYİNDE KARŞILAŞTIRMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Oktay Korun**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yrd.Doç.Dr. Murat Özkan**

**ANKARA, 2011**

## ÖZET

Kardiyoplejik arrest günümüzde en yaygın kullanılan myokard koruma stratejilerinden biridir. Rutin kullanımda olan çok sayıda farklı kardiyopleji solüsyonu vardır. Bu solüsyonların myokardial koruma açısından birbirine olan üstünlüğü günümüzde halen tartışılmakta olan bir konudur. Bu çalışmada “Myokardial koruma için histidin-triptofan-ketoglutarat (HTK) solüsyonu kullanıldığında konvansiyonel kardiyoplejiye göre daha az iskemik hasar oluşacaktır” hipotezinin araştırılması planlanmıştır

Çalışma Başkent Üniversitesi Kalp ve Damar Cerrahisi Bölümü’nde doğumsal kalp hastalığı nedeniyle ameliyat edilen 32 hasta üzerinde yapılmıştır. İlk 16 hastaya St. Thomas solüsyonunun bir modifikasyonu olan konvansiyonel kristaloid kardiyopleji verilmiş (KK grubu), sonraki 16 hastaya HTK solüsyonu (HTK grubu) verilmiştir. Hastaların ekokardiografik ölçümleri ve postoperatif laboratuvar değerleri klinik parametreler olarak değerlendirmeye alınmıştır. Her hastadan kardiyoplejik arrest öncesi ve sonrası olmak üzere 2 adet sağ ventrikül biyopsisi alınmıştır. Bu dokular histopatolojik olarak kaspaz – 3 antijeni kullanılarak apoptoz açısından ve Ki-67 antijeni kullanılarak hücre proliferasyonu açısından incelenmiştir.

Sonuçta iki grup arasında klinik parametreler ve doku düzeyinde apoptoz indeksi ve proliferasyon indeksi için yapılan karşılaştırmada istatistiksel fark saptanmamıştır. İşlem sonrası alınan biyopsilerdeki apoptoz indeksi KK grubunda aort klemp zamanıyla korele iken HTK grubunda böyle bir korelasyon saptanmamıştır. Bunun yanında karaciğer fonksiyon testlerinin özellikle postoperatif 1.gün ölçülen değerlerinin tüm gruplarda aort klemp zamanıyla korele olduğu görülmüştür. Ancak postoperatif 2.gün KK grubunda bu korelasyon devam ederken HTK grubunda ortadan kalkmaktadır.

Hem apoptotik indeks, hem de postoperatif 2.gün karaciğer fonksiyon testlerinin, aort klemp süresiyle olan korelasyonunun iki grup arasında farklı olması HTK lehine bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Buna karşın aort klemp süresi şu anki çalışmadaki düzeylerde yapılan cerrahide iki solüsyon arasındaki farkın kliniğe yansımaları belirgin değildir.

**Anahtar Kelimeler:** Kardiyopleji; Apoptoz; Miyokardial Reperfüzyon Hasarı; Kardiyak Cerrahi Girişimler

## ABSTRACT

### **The Comparison of the Effects of Bretschneider HTK and Conventional Crystalloid Cardioplegia on Myocardium at Tissue Level**

Cardioplegic arrest is one of the most common myocardial protection strategies. A wide variety of cardioplegic solutions are routinely being used. There is an ongoing discussion about the relative effectiveness of these solutions considering myocardial protection. This study aims to investigate the hypothesis “The use of histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) cardioplegia leads to decreased ischemic damage on myocardium compared with the use of conventional crystalloid cardioplegia.”

The study population was 32 patients operated in Başkent University Department of Cardiovascular Surgery for congenital heart diseases. The former 16 patients received conventional crystalloid cardioplegia (KK group) which is a modification of St. Thomas solution while the latter 16 patients received HTK solution (HTK group). The echocardiographic measurements and the laboratory values of the patients were taken as the clinical variables. Right ventricular biopsies were taken from every patient before and after cardioplegic arrest. These biopsies were histopathologically examined for apoptosis using caspase – 3 antigen and cell proliferation using Ki-67 antigen.

The statistical analysis revealed no significant difference between the 2 groups regarding the clinical variables, apoptotic indices and proliferation indices. The apoptotic indices in the post-cardioplegic arrest biopsies were correlated with aortic clamp time in the KK group but not in the HTK group. Liver function tests on postoperative day 1 were positively correlated with aortic clamp time in both groups. On postoperative day 2 this correlation sustained in the KK group and ceased in HTK group.

The difference in the correlation of apoptotic indices and liver function tests between the groups is accepted as a supportive finding for HTK solution. However it can be postulated that when the aortic clamp times are similar to those in the present study the clinical manifestation of the difference between the two solutions would not be significant.

**Keywords:** Bretschneider Cardioplegic Solution; St. Thomas’ Hospital Cardioplegic Solution; Apoptosis; Myocardial Reperfusion Injury; Cardiac Surgical Procedures

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tarihçe .....	2
2.2. İskemi – Reperfüzyon Hasarı .....	3
2.3. Apoptoz.....	5
2.4. Soğuk Kristaloid Kardiopleji.....	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	13
3.1. Çalışmada Kullanılan Alet ve Kitler.....	13
3.2. Araştırma Grupları.....	13
3.3. Anestezi Protokolü.....	16
3.4. Cerrahi Yöntem ve Perfüzyon Protokolü .....	16
3.5. Kardiyopleji Solüsyonları .....	17
3.6. Klinik Parametreler.....	18
3.7. Biyopsilerin Alınması.....	18
3.8. Histolojik Değerlendirme .....	18
3.9. İstatistiksel Değerlendirme .....	20
4. BULGULAR .....	21
5. TARTIŞMA.....	31
6. SONUÇ.....	40
7. KAYNAKLAR.....	42

## KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

1. ACT	Aktive pıhtılaşma zamanı
2. AIF	Apoptoz indükleyici faktör
3. ALT	Alanin aminotransferaz
4. AST	Aspartat aminotransferaz
5. ATP	Adenozin trifosfat
6. BUN	Kan üre nitrojen
7. CAVSD	Komplet atrioventriküler septal defekt
8. CK-MB	Kreatin kinaz MB
9. DNA	Deoksiribonükleik asit
10. EF	Ejeksiyon fraksiyonu
11. FK	Fraksiyonel kısalma
12. HTK	Histidin-triptofan-ketoglutarat
13. ISEL	In – situ end labeling
14. KK	Konvansiyonel kristaloid kardiyopleji
15. LAD	Sol ön inen koroner arter
16. PARP	PoliADP riboz polimeraz
17. PAVSD	Parsiyel atrioventriküler septal defekt
18. TOF	Fallot tetralojisi
19. TUNEL	Terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUTP nick sonu etiketleme
20. VSD	Ventriküler septal defekt

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Myokardiyal bir lifin aksiyon potansiyeli.....	9
Şekil 2.2 Membran potansiyelinin -60 mV ile -20 mV arasında olduğu dönemde sodyum kanallarının bir kısmı açık kaldığı için “pencere” akımı oluşur. ....	10
Şekil 3.1 Hastaların hariç tutulma kriterlerine göre dağılımı.....	15
Şekil 3.2 İmmünohistolojik örnekler .....	19
Şekil 4.1 Postoperatif 2. gün ölçülen AST değerleri ile aort klemp zamanları arasındaki korelasyon grafiği.....	27
Şekil 4.2 Postoperatif 2. gün ölçülen ALT değerleri ile aort klemp zamanları arasındaki korelasyon grafiği.....	28
Şekil 4.3 İşlem sonrası apoptotik indeks değerleri ile aort klemp zamanları arasındaki korelasyon grafiği.....	30

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1 Hariç tutulma kriterleri.....	14
Tablo 3.2 Kullanılan kardiyopleji solüsyonlarının içeriği.....	17
Tablo 4.1 Preoperatif veriler (EF: ejeksiyon fraksiyonu, FK: fraksiyonel kısalma) .....	21
Tablo 4.2 Hastaların yapılan ameliyatlara göre dağılımı .....	22
Tablo 4.3 Hastaların postoperatif klinik sonuçlarına göre dağılımı .....	23
Tablo 4.4 Operatif veriler .....	24
Tablo 4.5 Preoperatif ve postoperatif ventrikül fonksiyonlarının karşılaştırması .....	24
Tablo 4.6 Postoperatif laboratuvar değerleri ve yoğun bakım takip süresi .....	25
Tablo 4.7 Pearson korelasyon analizi p değerleri .....	26
Tablo 4.8 Apoptotik indeks ve proliferasyon indeksi değerlerinin karşılaştırması.....	29



# 1. GİRİŞ

Kalp ameliyatlarının büyük çoğunluğunun yapılabilmesi için kalbin durdurulması ve aortaya klemp konması gereklidir. Aortanın klempli olduğu süre içinde vücut dolaşımı kardiyopulmoner bypass yoluyla sağlanır. Kaval venlere konan kanüller yoluyla kalp akciğer pompasına alınan kan, oksijenlendirilerek aort klempinin distaline istenen basınçla verilir. Aortaya klemp konduğu dönemde kalp iskemik kalır. Bu iskeminin kalp fonksiyonlarını olumsuz etkilememesi adına myokardial koruma başlığı altında pek çok yöntem tanımlanmıştır. En sık kullanılan myokardial koruma stratejilerinden biri kalbi soğutmak ve diastolik arrest halinde tutmaktan oluşmaktadır. Bu şekilde bazal metabolizma yavaşlamakta, kalbin oksijen tüketimi azalmakta ve sonuç olarak iskekiye toleransı artmaktadır.

Kalbi diastolde durdurmak için kullanılan solüsyonların genel ismi “kardiyopleji”dir. Kardiyopleji solüsyonlarıyla ilgili olarak dünyada bir standardizasyon mevcut değildir. İçeriği farklı olan pek çok kardiyopleji solüsyonu mevcuttur. Kliniğimizde rutin olarak kullanılmakta olan solüsyon St. Thomas Hastanesi solüsyonunun bir modifikasyonudur. Bu yazı içinde bu solüsyondan konvansiyonel kristaloid kardiyopleji olarak söz edilecektir. Günümüzde kullanımda olan bir diğer kardiyopleji solüsyonu da Bretschneider histidin-triptofan-ketoglutarat (HTK) solüsyonudur. Bretschneider HTK solüsyonu organ nakli ameliyatlarında organ perfüzyon solüsyonu olarak da yaygın kullanımda olan bir solüsyondur. Bu solüsyonun St. Thomas Hastanesi solüsyonu benzeri bir solüsyona, klinik sonuçları açısından üstünlük gösterdiğini öne süren çalışmalar mevcuttur. (1, 2)

Bu çalışmada “Myokardial koruma için Bretschneider HTK solüsyonu kullanıldığında konvansiyonel kristaloid kardiyoplejiye göre daha az iskemik hasar oluşacaktır” hipotezinin araştırılması planlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

Kalp cerrahisinin tarihçesi kardiyopulmoner bypass ve myokardial koruma stratejilerinin tarihçesiyle paralellik gösterir. On dokuzuncu yüzyılın ikinci yarısından itibaren kanın ekstrakorporeal oksijenasyonu ile ilgili çalışmalara rastlamak mümkündür. Ancak modern anestetik ve cerrahi yöntemlerin gelişiminden sonra bu konudaki çalışmalar da hız kazanmıştır. Kardiyopulmoner bypassın geliştirilmesinde John Gibbon'ın rolü büyüktür. John Gibbon oksijenatörlerle ilgili çalışmalarına 1930'ların sonlarında Boston'da başlamıştır. (3) Aynı dönemde başka merkezlerde de paralel çalışmalar sürdürülmüştür. Clarence Dennis ve arkadaşları 1940'ların sonlarından itibaren Minnesota Üniversitesi'nde çalışmalarını sürdürmüşlerdir. Dennis ve arkadaşları 1951'de kardiyopulmoner bypass kullanarak bir kalp ameliyatı yapmışlardır. Atrial septal defekt tanısıyla başlanan ameliyatın sonucunda tanının aslında parsiyel atrioventriküler septal defekt olduğu görülmüştür. Ölüm nedenini ön planda tanıdaki hataya ve diğer dış faktörlere bağlamakla beraber, yazarlar kardiyopulmoner bypass cihazının performansından memnun kaldıklarını belirtmişlerdir. (4) John Gibbon 1953'te genç bir kadın hastanın atrial septal defektini kapatarak tarihteki ilk kardiyopulmoner bypass kullanılarak yapılan başarılı kalp ameliyatını gerçekleştirmiştir. (5) Gibbon'ın kullandığı oksijenatörden yola çıkarak, Mayo Clinic'te de John Kirklin'in önderliğinde Mayo-Gibbon oksijenatörü geliştirilmiştir. Kardiyopulmoner bypass ve pompa oksijenatörü kullanılarak ameliyat edilmiş ilk hasta serisi 1955 yılında Kirklin ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. (6) Aynı dönemde Walton Lillehei ve arkadaşları da, başka bir insanı oksijenatör olarak kullanma esasına dayanan "cross-circulation" kavramını ortaya atarak, bu yöntemle yaptıkları açık kalp ameliyatları serilerini yayınlamışlardır. (7)

Kardiyopulmoner bypass altındayken kalbin perfüze edilmesi yönünde ilk özel yöntem 1956'da Lillehei ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Yazarlar aortanın klempe olduğu dönemde kalbin perfüze olabilmesi için koroner sinüsü kanüle ederek oksijenatörden gelen kanın bir kısmını buradan retrograd olarak koroner sisteme vermişlerdir. (8) Hufnagel ve arkadaşları 1961 yılında miyokardı korumak için derin kardiyak soğutma kavramını ortaya atmışlardır. Bu yöntemle kalbi korumak için aort

klemp süresi boyunca kalbin etrafında slaş haline getirilmiş buz bulundurulmakta ve kalbin soğuk tutulması sağlanmaktadır. (9)

İskemik hasarı azaltmak için kalbin elektromekanik aktivitesini tamamen durdurmak kavramı 1950'li yıllarda ortaya atılmıştır. Bu dönemde kardiyopleji olarak Melrose solüsyonu kullanılmıştır. Hoelscher, Spieckman, Bretschneider ve Kirsch, kardiyopleji kavramının gelişmesinde öncü olan isimlerdir. (10). Sondergaard 1967'de Bretschneider solüsyonunu, ve Kirsch ve Rodewald 1972'de Kirsch solüsyonunu klinikte kullanmışlardır. (11) Yüksek potasyum içerikli kardiyopleji ile ilgili ilk çalışmalar 1973'te Gay ve Ebert tarafından (12) ve 1977'de Roe ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. (13) Bu çalışmalardan da ilham alan St. Thomas Hastanesi'nden David Hearse ve Mark Braimbridge, kristaloid kardiyoplejinin içeriğinin Bretschneider ve Kirsch solüsyonları gibi intraselüler içerikli değil ekstraselüler içerikli olması gerektiği yönünde çalışmışlardır. Circulation dergisinde 1976'da yayınlanan çalışmalarında, sıçan kalbi üzerinde değişik kardiyopleji içeriklerini denemişlerdir. İlerleyen yıllarda bu çalışma temel alınarak St. Thomas Hastanesi solüsyonları geliştirilmiştir. (14) Sonuç olarak, 1980'li yıllara gelindiğinde kalp cerrahisinde kardiyopleji kullanımının gerekliliğiyle ilgili bir tartışma kalmamıştır. Bunun yerine, kullanılacak olan kardiyoplejinin içeriği tartışılmaya başlanmıştır ve bu tartışma güncelliğini korumaktadır. Öne çıkan alternatifler şunlardır: (a) sodyum, magnezyum ve prokain içeriği yüksek olan Bretschneider solüsyonu, (b) Ringer solüsyonuna potasyum, magnezyum ve prokain eklenmesiyle oluşturulan St. Thomas Hastanesi solüsyonu, (c) magnezyum ve prokain içermeyen potasyumdan zengin solüsyonlar. (15) Kan kardiyoplejisi kavramı ise 1979'da Buckberg tarafından ön plana çıkarılmıştır. (16)

## **2.2. İskemi – Reperfüzyon Hasarı**

Myokardın iskemik kaldığı dönemde iskemiye bağlı ve sonrasında reperfüzyona bağlı myokard hasarı oluşur. Myokardial hasar myokardial stunning, apoptoz ya da myokardial nekroz şeklinde kendini gösterebilir.

Kardiyopulmoner bypass ve kardiyoplejik arrest sonrası gelişen myokardial nekroz ilk olarak Taber ve arkadaşları tarafından 1967'de saptanmıştır. Taber'in çalışmasında, açık kalp ameliyatı sonrası düşük kardiyak output sendromu görülen 16 hastanın

myokardial dokuları postmortem incelenmiş ve hepsinde myokardial mikroenfarktlar saptanmıştır. (17) Myokardial stunning kavramı ise 1982'de Braunwald tarafından gündeme getirilmiştir. Stunning, iskemi sonucunda nekroz olmaksızın myokardial hücrelerin geçici fonksiyon kaybı olarak tanımlanabilir. Stunning, birkaç saatten birkaç güne kadar değişen süreyle devam edebilir. Önemli olan stunninge uğrayan hücrelerin herhangi bir yapısal hasara uğramamış olmasıdır. (18) Bunun yanında apoptoz kavramı, programlı hücre ölümünü ifade eder. Bu kavramın giderek artan şekilde myokardial iskemik hasar ve iskemi reperfüzyon hasarı patofizyolojisinde sözü geçmektedir.

Hasara bağlı ölen hücrelerin önemli bir bölümü hem nekroz hem de apoptoz özellikleri gösterebilir. Ancak iskemi süresi uzadıkça myokard dokusunda enfarkt, nekroz daha belirgin hale gelir. Aynı zamanda reperfüzyona bağlı patolojik süreç; membran yıkımı, deoksiribonükleik asit (DNA) yıkımı, sitoliz ve enflamasyonla kendini gösterir. Bütün bu mekanizmaların ortak ismi reperfüzyon hasarıdır. Reperfüzyon hasarı patogenezinde rol oynayan temel mekanizmalar serbest oksijen radikalleri, hücre içi kalsiyum yükünün artışı, endotelial ve mikrovasküler disfonksiyon ve myokard metabolizmasındaki değişimdir. (19)

İskemi sonrası moleküler oksijenin dokuya sunulması sonucu moleküler oksijen redüksiyona uğrar ve serbest oksijen radikalleri oluşur. Bolli ve arkadaşlarının 1989 yılında yaptığı çalışmayla superoksit anyonu, hidroksil radikalleri ve peroksinitrit gibi potent oksijen radikallerinin reperfüzyonun ilk dakikalarında oluştuğu ve reperfüzyon hasarında önemli rol oynadığı deneysel olarak gösterilmiştir. (20) Serbest oksijen radikalleri, çoklu doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidazların ve hidroperoksitlerin oluşumuna yol açar. Bu ajanlar da sarkolemaya zarar verir ve membran bağımlı enzim sistemlerini bozarlar. (19)

Mikrovasküler hasar oluşumu serbest oksijen radikallerine bağlı endotel hücre disfonksiyonuyla başlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca enflamatuar mediatörlerin ve adezyon moleküllerinin oluşumunu da artırır. Bu durum trombosit ve nötrofil aktivasyonuna neden olur. Aktive olmuş nötrofiller disfonksiyonel endotelle temas ettiklerinde hasarlı bölgeye nötrofil göçüyle sonuçlanan zincirleme bir reaksiyon başlar. Bunların yanı sıra, serbest oksijen radikalleri endotel tarafından üretilen nitrik oksiti de baskılar. (21) Bu olayların sonucunda koroner vazokonstriksiyon gelişerek reperfüze olan

bölgeye kan akımının sınırlanmasına “no reflow” fenomeni denir. (19)

İskemi ve reperfüzyon, intraselüler kalsiyum artışına neden olmaktadır. Bu geçici kalsiyum yükünün myokardiyal stunningin sebeplerinden biri olabileceği ilk olarak Kusuoka ve arkadaşları tarafından öne sürülmüştür. Kusuoka, izole izovolümik gelincik kalplerinde Langendorff tekniğiyle yaptığı çalışmada kalpleri 15 dakika global iskemi ve reperfüzyona maruz bırakmıştır. Sonuç olarak maksimal kalsiyum bağımlı basınçta ve kalsiyum duyarlılığında azalma saptanmıştır. (22) Sonraki dönemde yapılan çalışmalarda, bu etkinin L-tipi kalsiyum kanallarından artmış sarkolemal kalsiyum girişine ya da sarkoplasmik retikulumda meydana gelen kalsiyum döngüsündeki değişikliklere bağlı olabileceği görülmüştür. (23)

İskemi nedeniyle myokard metabolizmasında bazı değişiklikler olmaktadır. Örneğin, anaerobik myokard metabolizması nedeniyle laktat üretimi olduğu bilinmektedir. Rao ve arkadaşları tarafından 2001 yılında yapılan bir çalışmada, laktat üretiminin reperfüzyon sırasında da devam ettiği gösterilmiş ve bu da normal aerobik metabolizmanın devreye girmesinde bir gecikme olarak yorumlanmıştır. (24) Merante ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kronik hipoksi altında kalmış hücrelerin piruvat dehidrogenaz, sitokrom - c oksidaz, suksinat sitokrom – c redüktaz, süksinat dehidrogenaz ve sitrat sintaz aktivitelerinde azalma olduğu saptanmıştır. (25) Ayrıca, bu azalmış aktivite reperfüzyondan sonra 30 dakika boyunca aynı şekilde devam etmektedir. Bu sonuçlar reperfüzyondan sonra da sebat eden anaerobik metabolizmanın postoperatif ventrikül disfonksiyonunda önemli olabileceğini işaret etmektedir.

İskemi – reperfüzyon hasarının pek çok farklı mekanizma sonucu ortaya çıkabileceği görülmektedir. Güncel myokard koruma stratejilerinin temel amacı, serbest oksijen radikalleri oluşumunu azaltmak, kalbin endojen antioksidan mekanizmalarını harekete geçirmek ve hücre içi kalsiyum birikimini önlemek yönündedir. (15)

### **2.3. Apoptoz**

İskemi sonucu apoptoz başlamış olan bir hücre grubunda stresin devam etmesiyle süreç bozularak membran bütünlüğü etkilenebilir ve nekroz gelişebilir. Sonuçta, ortaya çıkan enflamatuar reaksiyon da hasarı arttıracaktır. Bu nedenle, apoptozun erken evreleri iyi bir

tedavi hedefi olarak düşünölmektedir.

Apoptoz kavramı ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından özel bir hücre ölümü şekli olarak ortaya atılmıştır. (26) Doku kinetiği açısından düşünöldüğünde apoptoz, mitoz bölünme sonucu hücre çoğalmasını dengeleyen mekanizmadır. Ancak apoptoz mekanizmasının regölasyonunun bozulduğu durumlar bazı hastalıkların patofizyolojisinde uzun süredir suçlanmaktadır. Apoptozun artışı, nörodejeneratif hastalıkların gelişimine ve viral hepatitte olduğu gibi organ yetmezliği ve atrofisine neden olabilir. Apoptozun azaldığı durumda ise, malign, otoreaktif, enfekte hücrelerin ortadan kaldırılmasında yetersizlik olabilir. Sonuçta neoplazi, otoimmünite, viral direnç ve konjenital malformasyonların gelişimine ortam oluşabilir. Apoptoz temel olarak kaspaz aktivasyonu, buna bağı protein yıkımı ve internökleozomal DNA fragmantasyonu sonucunda gerçekleşen hücre ölümüdür. (27)

Myokardial dokuda apoptoz ile ilgili çalışmalar 1990'lı yıllarda öne çıkmıştır. Gottlieb ve arkadaşlarının 1994 yılında yaptıkları bir çalışmada iskemi sonrası reperfüze edilmiş tavşan kalplerinde apoptozun bir göstergesi olan internökleozomal DNA fragmantasyonu olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada normal tavşan kalplerinde ve sadece iskemiye maruz kalmış (reperfüze edilmemiş) tavşan kalplerinde apoptoz gelişmediği de gösterilmiştir. (28) Fliss ve arkadaşları ise 1996'da sıçan kalplerinde iskemi ve iskemi – reperfüzyon durumlarında apoptozun zamanlamasını araştırmışlardır. Bu çalışmada 2,25 saat boyunca iskemik kalan kalplerle 45 dakika oklüzyon sonrası 1 saat reperfüze edilen kalpler apoptoz göstergeçleri açısından karşılaştırılmıştır. Apoptoz göstergesi olarak in – situ end labeling (ISEL) ve DNA fragmantasyonu kullanılmıştır. Her iki grupta da apoptoz göstergeçlerinde artış saptanmış ancak reperfüze edilen gruptaki artışın sadece iskemiye maruz kalan gruba göre daha belirgin olduğu görölmüştür. (29) Konuyla ilgili bir diğör deneysel çalışma da, 2000 yılında Zhao ve arkadaşları tarafından köpekler üzerinde yapılmıştır. Kalplerden 57'si 7 saat iskemiye maruz bırakılırken, 58 kalp 1 saat iskemiye takiben 6 saat reperfüze edilmiştir. Sonuçta iskemi – reperfüzyon grubunda apoptoza uğrayan hücre sayısında belirgin artış görölürken, yalnız iskemiye maruz kalan grupta böyle bir artış görölmemiştir. (30)

Kardiyoplejiye bağı iskemi reperfüzyon hasarını belgelemek üzere yapılmış ilk insan çalışmalarından biri ise 1997 yılında Aebert ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Koroner arter bypass cerrahisi yapılan 30 hasta üzerinde yapılan bu çalışmada kardiyopleji

solüsyonu olarak 10 hastaya St. Thomas II solüsyonu, 10 hastaya Bretschneider solüsyonu ve 10 hastaya da Hamburg solüsyonu kullanılmıştır. Kardiyopulmoner bypass öncesi, kardioplejik arrest sonrası ve reperfüzyon sonrası sağ atrial doku örnekleri alınmıştır. Northern blot ile protoonkogenlerin ekspresyonunun kardioplejik arrest ve reperfüzyonu takiben arttığı gösterilmiştir. Ayrıca yine kardioplejik arrest ve reperfüzyon sonrasında apoptozun da arttığı ve bu artışın subendokardiyal dokuda daha belirgin olduğu gösterilmiştir. (31) Benzer bir çalışma da, 2002 yılında Schmitt ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Koroner bypass cerrahisi yapılan 11 hasta üzerinde yapılan çalışmada kardiopleji solüsyonu olarak tüm hastalarda Kirsch solüsyonunu ve Bretschneider solüsyonu bir arada kullanılmıştır. Kardiyopulmoner bypass öncesinde ve sonrasında sağ atrial doku örnekleri alınarak apoptoz açısından incelenmiştir. Bunun yanında pulmoner arter kateteri yerleştirilerek işlem öncesi ve sonrası pulmoner kapiller kama basıncı ve pulmoner arter basıncı ölçülmüş ve ayrıca termodilüsyon yöntemiyle kardiyak indeks hesaplanarak kaydedilmiştir. Sonuçta bu hasta grubunda da açık kalp cerrahisi sonrası apoptoz geliştiği gösterilmiş ve ayrıca apoptozdaki artışın kardiyak kontraktilitedeki azalmayla korelasyon gösterdiği saptanmıştır. (32)

Sodha ve arkadaşları 2008'de domuzlar üzerinde hidrojen sulfidin kardiyoprotektif etkisini test etmişlerdir. Sol ön inen koroner arteri (LAD) 60 dakika oklüde edildikten sonra 120 dakika reperfüze edilmiş domuzlara reperfüzyon boyunca hidrojen sulfid ya da plasebo verilmiş ve iki grup apoptoz açısından karşılaştırılmıştır. Eksojen sulfidin apoptozu azaltmak konusunda etkin olduğu sonucuna varılmıştır. (33)

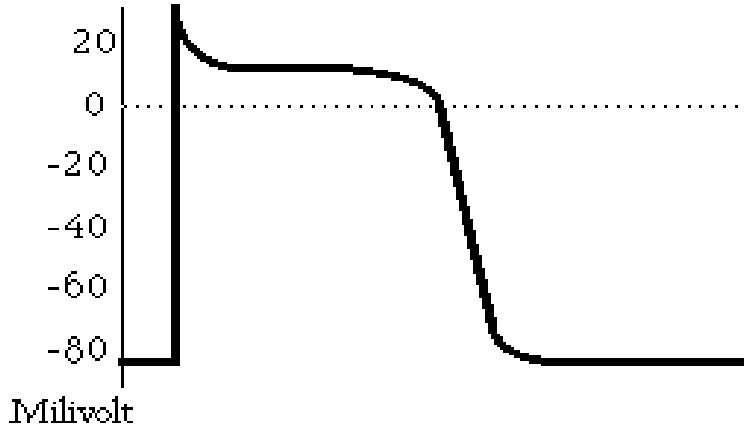
Apoptoz konusunda daha önce yapılan insan çalışmalarının sağ atrium dokusu üzerinde yapıldığından hareketle Ruifork ve arkadaşları 2010 yılında ventrikül ve atrium dokularını apoptoz açısından karşılaştırmışlardır. St. Thomas solüsyonunun kullanıldığı çalışmada kardiopleji öncesi ve sonrası sağ atriumdan ve sol ventrikülden biyopsiler alınmış ve apoptoz açısından incelenmişlerdir. Sonuçta ventrikül dokusunda apoptoza uğrayan hücre sayısında belirgin artış gözlenirken atrium dokusunda anlamlı artış görülmemiştir. Yazarların bu konudaki yorumu; atrium dokusuna kıyasla ventrikül dokusunun bu tip değişiklikleri gözlemek için daha hassas olabileceği ve kardioplejinin koruyucu etkilerini gösterebilmek için daha kullanışlı olabileceği yönünde olmuştur. (34)

## 2.4. Soğuk Kristaloid Kardiopleji

Kardiyoplejik arrest günümüzde en yaygın kullanılan myokard koruma stratejilerinden biri olarak önemini korumaktadır. Kardiyoplejik arrest myokardial oksijen ve adenozin trifosfat (ATP) tüketimini büyük ölçüde azaltmaktadır. (35)

Kardiyak arrestin indüklenmesi için uyarılma-kasılma ilişkisindeki çeşitli basamaklar hedeflenmektedir. Dinlenim membran potansiyelinin sağlanması ön planda potasyum gradienti olmak üzere selektif iyonik membran geçirgenliği yoluyla sağlanabilmektedir. Myositlerin dinlenim membran potansiyeli  $-85$  mV civarında olup potasyumun denge potansiyeline yakındır. Uyarılma sırasında, dışardan ya da içeriden gelen bir uyarıyla membran, aksiyon potansiyelini tetiklemek üzere hızla depolarize olur. Bu durum membran üzerindeki çeşitli iyon kanalları ve pompalarının aktivasyonunun net sonucudur. Hızlı sodyum kanalları, L tipi kalsiyum kanalları ve çeşitli potasyum kanalları bu kanallardan birkaçıdır. Bu kanalların hepsi voltaj-kapılıdır ve myokardial arrest indüklemek için farmakolojik hedefler bunlardır. Tipik bir myokardial aksiyon potansiyeli Şekil 2.1'de görülmektedir. Aksiyon potansiyelinin başlangıcında sodyum kanallarının açılmasıyla membran potansiyeli hızla  $+20$  mV'a depolarize olur. Membran potansiyeli  $-40$  mV civarına ulaştığında L tipi kalsiyum kanalları açılır ve kalsiyumun hücre içine girmesi sağlanır. Aksiyon potansiyelinin plato fazında depolarize membran potansiyelinin süregelen olmasını sağlayan budur. Plato fazında potasyumun hücre dışına doğru olan geçirgenliğinde de bir miktar azalma olmakla birlikte dışarı doğru potasyum akımı, içeri doğru kalsiyum ve sodyum akımını dengelemektedir. Plato fazında L tipi kalsiyum kanalları tarafından sağlanan hücre içi kalsiyum artışı, sarkoplazmik retikulum üzerindeki intraselüler kalsiyum kanallarını aktive eder. Bu intraselüler kalsiyum kanalları aynı zamanda ryanodin reseptör kompleksi adı verilen bir oluşumun parçasıdır. Ryanodin reseptör kompleksinin aktivasyonu sarkoplazmik retikulum içindeki hücre içi kalsiyum depolarının sitoplazmaya salınmasını sağlar. Bu süreç kalsiyum bağımlı kalsiyum salınımı olarak isimlendirilmektedir. Uyarılmaya bağlı myofilaman kasılmasını başlatan da bu sitozolik kalsiyum artışıdır. Sitozolik kalsiyum konsantrasyonundaki bu artış L tipi kalsiyum kanallarının kapanmasına neden olur. Potasyum kanallarının aktivasyonu sonucu membran potansiyeli hızla dinlenim seviyesine döner. (36, 37)





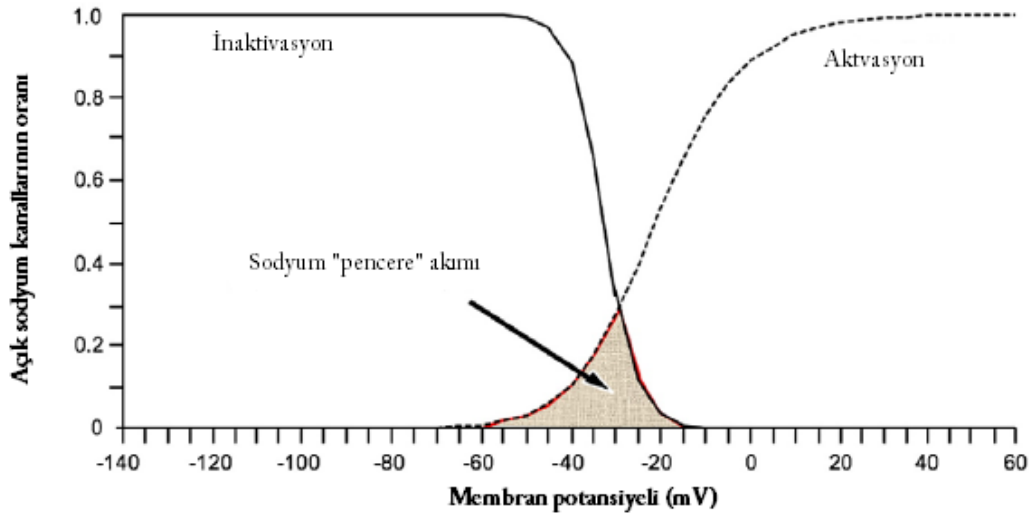
Şekil 2.1. Myokardiyal bir lifin aksiyon potansiyeli

Myokardiyal arresi farmakolojik olarak indüklemek için uyarılma – kasılma bağlantısı zincirinin iyonik mekanizmaları hedef alınmaktadır. Bu etki temel olarak iki kategoride incelenebilir. İlk grup hızlı sodyum kanallarını hedef alarak aksiyon potansiyelinin başlamasını önleyen ajanları; ikinci grup ise kalsiyumla aktive olan mekanizmaları hedef alarak kasılmayı önleyen ajanları kapsamaktadır. (37)

Hızlı sodyum kanallarının engellenebilmesinin bir yolu dinlenme membran potansiyelinin, hızlı sodyum kanallarının aktivasyon eşliğinden uzaklaştırılmasıdır. Bunun için ekstraselüler hiperkalemi (St. Thomas Hastanesi solüsyonu) yaratılarak bir miktar depolarizasyon sağlanabilir ya da potasyum kanal açıcılar kullanılarak (pinasidil, adenosin) hiperpolarizasyon oluşturulabilir. Diğer bir yöntem ise sodyum kanallarının doğrudan bloke edilmesidir. Bu amaçla kullanılan ajanlar tetrodotoksin, lidokain, prokain ve esmololdür. Kalsiyumla aktive olan mekanizmaların inhibe edilmesi için kullanılacak yöntemler hipokalsemi (Bretschneider HTK solüsyonu), sarkolemal kalsiyum kanallarının doğrudan blokajı (yüksek magnezyum, diltiazem, verapamil, esmolol) ve doğrudan myofilaman inhibisyonudur (2,3 butanedion monoksim). Bu yöntemlerin yanı sıra hem aksiyon potansiyelini hem de myosit kontraksiyonunu önleyebilecek yöntemler de (esmolol gibi) mevcuttur. (37)

Ekstraselüler potasyum artışı normal değeri -85 mV olan dinlenme membran potansiyelinin bir miktar depolarize edilmesini sağlar. Böylece daha az negatif yeni bir dinlenme potansiyeli oluşur. Bu yeni seviyenin tam olarak kaç milivolt olacağı, ekstraselüler potasyum yoğunluğuna doğrudan bağlıdır. Ekstraselüler potasyum yoğunluğu

yaklaşık 10 mmol/L olduğunda membran potansiyeli -65 mV seviyesinde olur. Bu seviyede voltaj kapılı sodyum kanallarının inaktivasyonu başlar ve böylece aksiyon potansiyelinin başlaması engellenir. Ekstraselüler potasyum yoğunluğu yaklaşık 30 mmol/L olduğunda membran potansiyeli -35 mV seviyesinde olur. Bu seviyede kalsiyum kanalları aktive olur ve hücre içine yoğun kalsiyum girişi gerçekleşir. Bu durum hücre içinde aşırı kalsiyum birikimine neden olur ve iskemi reperfüzyon hasarıyla ilişkilidir. Bu nedenle hiperkalemik solüsyonlarda kullanılacak ekstraselüler potasyum yoğunluğunun oldukça dar bir güvenlik aralığı vardır. St. Thomas Hastanesi solüsyonlarında kullanılan potasyum yoğunluğu da 1 numaralı solüsyon için 20 mmol/L ve 2 numaralı solüsyon için 16 mmol/L olup, bu güvenlik aralığının tam ortasına gelmektedir. Ancak bu voltaj aralığında dışarı doğru devam eden sürekli bir sodyum akımı vardır. Şekil 2.2’de görüldüğü gibi bunun nedeni hızlı sodyum kanallarının aktivasyonunu ve inaktivasyonunu yöneten eğrilerin kesişmesidir. Bu akıma “pencere” akımı denir. (38) Buna ek olarak -50 mV civarında başlayan bir süregen sodyum akımı da myokard hücresinin bu anormal gradientine katkıda bulunur. (39) Myokard hücresi bu bozuk gradienti enerji bağımlı transmembran pompalar yoluyla düzeltmeye çalışırken kritik enerji depolarını tüketmektedir. (40) Bu durum myokardın yetersiz iyileşmesine neden olabilir. Hiperkalemik kardiyoplejik solüsyonların bu nedenle optimal myokard koruması sağlayamayabileceği düşünülmektedir.



Şekil 2.2 Membran potansiyelinin -60 mV ile -20 mV arasında olduğu dönemde sodyum kanallarının bir kısmı açık kaldığı için “pencere” akımı oluşur. (37)

İyi bir kardiyopleji solüsyonundan beklenen belli özellikler vardır. Öncelikle bir kardiyopleji solüsyonu diastolik arresti hızla indükleyebilmelidir. Bu şekilde myokard hücrelerinin ATP tüketimi azaltılmaktadır. Bunun yanında kardiyopleji solüsyonunun kardiyoprotektif etkisi önemlidir. Reperfüzyon hasarını sınırlandırmalı ve geri dönüşsüz hasarı geciktirmelidir. İşlem bittikten sonra hastayı kardiyopulmoner bypasstan rahatlıkla ayırabilmek için kardiyoplejinin etkisinin hızla geri döndürülebilir olması da başka bir hayati faktördür. Bütün bunlar gerçekleşirken myokarda herhangi bir toksik etkisi olmamalıdır. Hiperkalemik kardiyopleji bu kriterleri büyük ölçüde karşılamaktadır. Buna karşın benzer güvenlik profiline sahip olup myokardial koruma açısından daha avantajlı olan alternatifler üzerinde çalışılmaktadır. Hiperkalemiyle oluşturulan depolarize arrestin bir alternatifi polarize ya da hiperpolarize arrestin indüklenmesidir. Bu yolla hedeflenen iyonik denge bozukluğundan kaçınarak enerji tüketimini daha da azaltmaktır. Polarize arrest oluşturmada kullanılan önemli bir yöntem hipokalsemidir. (37)

Ekstraselüler sıvıdan kalsiyumun tamamen çıkarılması L tipi kalsiyum kanallarından hücre içine kalsiyum girişini etkin biçimde önler. Böylece sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum bağımlı kalsiyum salınımı gerçekleşmez ve uyarılma kasılma bağlantısı kırılmış olur. (36) Ancak kalsiyum içermeyen bir kardiyoplejik solüsyon sodyum kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyum atılımına ve sodyum yüklenmesine neden olabilir. Bunun sonucunda reperfüzyonda tepkisel olarak aşırı kalsiyum yüklenmesi olur ve myokardial hasar gerçekleşir. Buna kalsiyum paradoksu denir. Buna karşın kalsiyum içermeyen bazı kardiyoplejik solüsyonlar mevcuttur. Bretschneider solüsyonu da bunlardan biridir ancak bu solüsyonun içinde düşük sodyum (12mmol/L) ve prokain (7,4 mmol/L) de vardır. Düşük sodyum, yüksek magnezyum ve solüsyonun hipotermik kullanımı kalsiyum paradoksuna karşı koruyucudur. Gerçekte bu solüsyonların içinde eser miktarda kalsiyum bulunmaktadır ki bu da kalsiyum paradoksuna karşı koruyucudur. Sodyum konsantrasyonunun düşük olması, aksiyon potansiyelinin başlangıcındaki hızlı sodyum akımını zayıflatır ve böylece membran potansiyeli, dinlenim membran potansiyeli değerine yakın durur. Bu da polarize arresti sağlayan bir diğer faktördür. Jynge ve arkadaşları 1977 ve 1978 yıllarında yaptıkları çalışmalarda St. Thomas Hastanesi solüsyonu ile Bretschneider solüsyonunu karşılaştırmışlardır. (41) St. Thomas Hastanesi solüsyonu ile bütün ısı değerlerinde yeterli koruma sağlanırken Bretschneider solüsyonu yalnızca hipotermi durumunda kardiyoprotektif bulunmuştur. Wisconsin Üniversitesi solüsyonu bir diğer intraselüler organ koruma solüsyonudur ve kalsiyum içermemektedir.

Ancak Armani ve arkadaşlarının çalışmasında bu solüsyonun kardiyak koruma için infüzyon ısısına ve saklama ısısına duyarlı olduğu gösterilmiştir. (37, 42)

İyonik konsantrasyonun yanı sıra kardiyoplejik solüsyonlara eklenen bazı katkı maddeleriyle etkinliğin artırılması hedeflenmektedir. Bretschneider HTK solüsyonun içerdiği histidin, triptofan ve ketoglutarat buna örnek teşkil eder. Histidin tampon görevi görürken, triptofan membran stabilizasyonunda rol oynamaktadır. Ketoglutarat ise reperfüzyon aşamasında yüksek enerji üretimini teşvik etmektedir. (1)



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışmada Kullanılan Alet ve Kitler

<b>Alet</b>	<b>Marka</b>
Mekanik ventilasyon cihazı	Siemens KION Anesthesia System, Siemens Medical Systems, Danvers, MA, USA
Ekokardiografi	Siemens Acuson Sequoia, C256, Siemens Medical Solutions USA, Inc., Mountain View, CA, USA
Kardiyopulmoner bypass	
Pompa	Cobe Computerised Perfusion Systems, Cobe Cardiovascular, Inc., Sorin Group, USA
Oksijenatör	D901 Lilliput 1, Sorin Group Italia S.R.L., Italy
Tubing sistemi	Pediatric Perfusion Tubing Systems, Sorin Group Italia S.R.L., Italy
Kanüller	Medtronic, DLP, Medtronic, Inc., MN, USA

<b>Kit</b>	<b>Marka</b>
Kaspaz - 3 kiti	rabbit polyclonal antibody-9661S, Cell Signaling, Beverly, MA, USA
Ki-67 kiti	Mouse anti-Ki-67 antigen, Invitrogen Ltd., UK

#### 3.2. Araştırma Grupları

Çalışma “Başkent Üniversitesi Klinik Araştırma İlkeleri”ne uygun olarak yürütülmüştür. Hastalar üzerinde yapılan işlemler için Başkent Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınmıştır (karar tarihi: 12/08/2011, karar sayısı: 11/126, proje no: 11/159). Çalışma bu onaydan sonra başlatılmıştır.

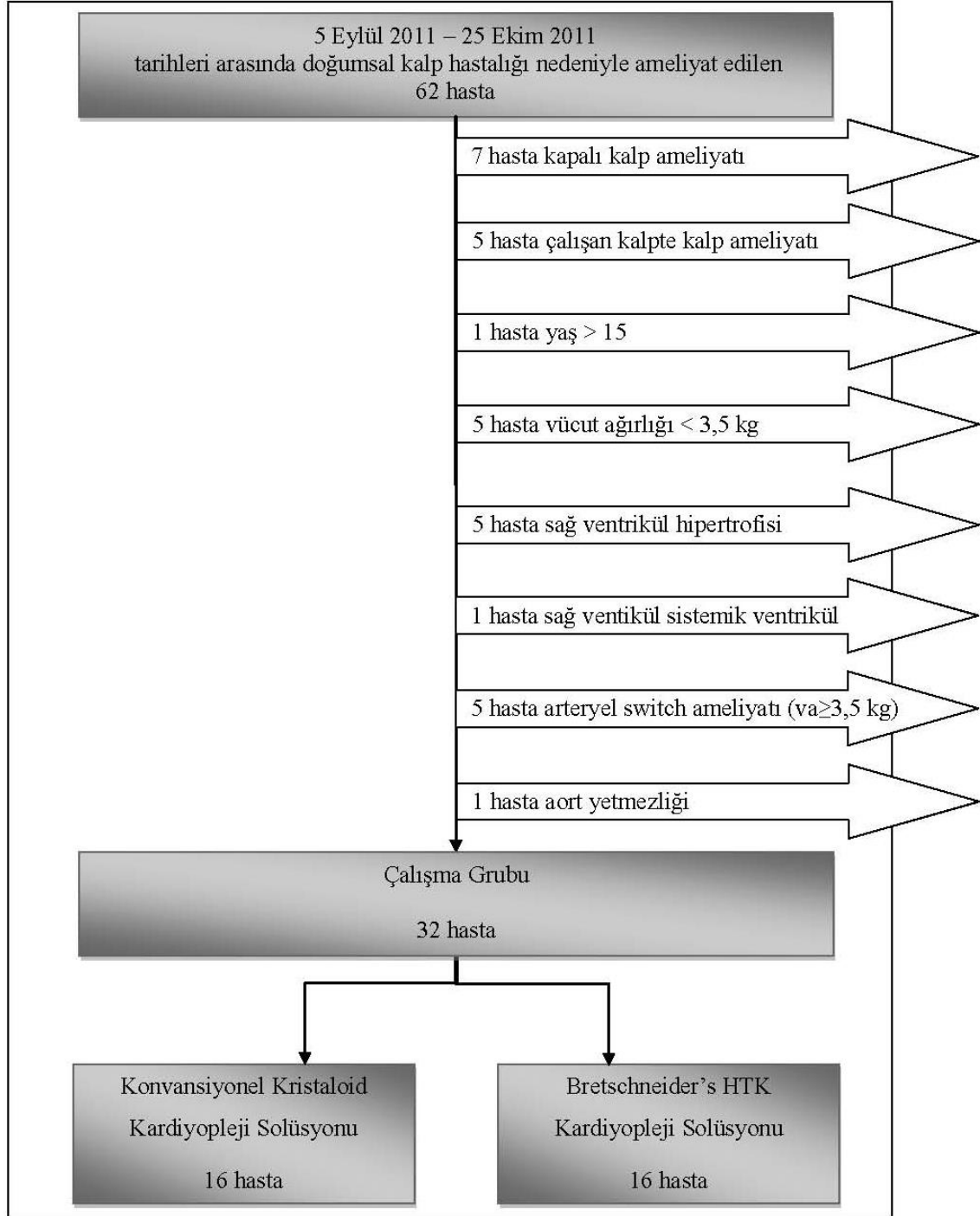
Çalışma Başkent Üniversitesi Kalp ve Damar Cerrahisi Bölümü'nde doğumsal kalp hastalığı nedeniyle ameliyat edilen hastalar üzerinde yapılmıştır. Çalışmanın biyoistatistik ön değerlendirmesi yapılmıştır. Her bir grupta yer alması gereken birey sayısı 16 olmak üzere toplam örneklem genişliği 32 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak 64 adet biyopsi incelenmiştir. Bu durumda beklenen güç değeri 0,817827 olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya 5 Eylül 2011 tarihinde başlanmıştır. Çalışmadan hariç tutulma kriterlerine sahip olmayan ve çalışmaya katılmayı kabul eden, kardiyopulmoner bypass ve kardiyoplejik arrest altında ameliyat edilen tüm hastalar aydınlatılmış onam imzalatılarak çalışmaya dahil edilmiştir. Hariç tutulma kriterleri Tablo 3.1'de görülmektedir. İlk 16 hastaya konvansiyonel kristaloid kardiyopleji verilmiş, sonraki 16 hastaya Bretschneider HTK solüsyonu verilmiştir. Konvansiyonel kristaloid kardiyopleji grubu KK, Bretschneider grubu ise HTK grubu olarak kodlanmıştır. Çalışma 25 Ekim 2011 tarihinde 32 biyopsinin tamamlanmasıyla sonlandırılmıştır.

Tablo 3.1 Hariç tutulma kriterleri

Hariç Tutulma Kriterleri
Yaş > 15
Vücut ağırlığı < 3,5 kg
Sağ ventrikül hipertrofiyle seyreden olgu
Sağ ventrikülün sistemik ventrikül olması
Arteriyel switch ameliyatı
Aort yetmezliği

Grupların yaş ve vücut ağırlığı açısından daha homojen dağılmasını sağlayabilmek amacıyla bu değişkenler hariç tutulma kriterlerine dahil edilmiştir. Myokard biyopsileri sağ ventrikülden alındığı için sağ ventrikül hipertrofiyle seyreden ya da sağ ventrikülün sistemik ventrikül olduğu olgular çalışmadan hariç tutulmuştur. Kliniğimizde arteriyel switch ameliyatlarında rutin olarak Bretschneider HTK solüsyonu kullanılmaktadır. Bu nedenle randomizasyonu bozabileceği düşünülerek bu hastalar da çalışmadan hariç tutulmuştur. Son olarak, aort yetmezliği olan hastalar da çalışmadan hariç tutulmuştur. Bu hastalarda kardiyopleji selektif olarak verildiği için standardizasyonun bozulabileceği düşünülmüştür.

Çalışmanın yürütüldüğü 5 Eylül 2011 ve 25 Ekim 2011 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği'nde 62 hasta doğumsal kalp hastalığı nedeniyle ameliyat edilmiştir. Bu hastaların hariç tutulma kriterlerine göre dağılımı Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Hastaların hariç tutulma kriterlerine göre dağılımı

### **3.3. Anestezi Protokolü**

Tüm hastalarda aynı anestezi protokolü uygulanmıştır. Premedikasyon olarak ameliyattan yarım saat önce 0,1 mg/kg oral midazolam ve 1 mg/kg hidrokisizin hidroklorür verilmiştir. Ameliyathaneye alınan hastalar 5 kanallı EKG ve nabız okimetresi ile monitörize edildikten sonra sevofluran ile anestezi indüksiyonu yapılmıştır. Periferik venöz yol açıldıktan sonra 50 mcg/kg fentanil, 0,1 mg/kg midazolam ve 0,1 mg/kg veküronyum bromür kullanılmıştır. Anestezi idamesi için ise 10 mcg/kg/saat fentanil, 0,2 mg/kg/dk midazolam infüzyonu ve end-tidal konsantrasyonu % 0,5 – 8 olacak şekilde sevofluran kullanılmıştır. Ventilasyon, basınç kontrol modunda, tepe hava yolu basıncı 20 cmH<sub>2</sub>O'dan yüksek olmayacak ve 6-8 ml/kg tidal volüm oluşturacak şekilde oksijen - hava karışımı ile sağlanmıştır. Radyal arter ya da femoral artere konulan bir kanül ile kan basıncı invaziv takip edilmiştir. Tüm hastalara santral venöz kanülasyon yapılmıştır.

### **3.4. Cerrahi Yöntem ve Perfüzyon Protokolü**

Tüm hastalar aynı cerrahi ekip tarafından ameliyat edilmiştir. Median sternotomiye takiben hastalara 3 mg/kg heparin yapılmış ve aktive pıhtılaşma zamanı (ACT) düzeyine göre gerekli görüldüğü durumda doz arttırılmıştır. ACT düzeyinin 450 saniyenin üzerinde olması kardiyopulmoner bypass için yeterli kabul edilmiştir. Aorta, superior vena kava, inferior vena kava ve aort kökü kanüle edilmiştir. Kullanılan kanüllerin boyutu vücut yüzey alanına göre belirlenmiştir. Kardiyopulmoner bypass için roller pompa kullanılmıştır. Pompa prime solüsyonu hastanın hematokrit değeri % 26 – 28 olacak şekilde laktatlı Ringer solüsyonu, taze donmuş plazma, eritrosit süspansiyonu ve heparin kullanılarak hazırlanmıştır. Hastaların önceden hesaplanan kardiyak indeksi temel alınarak pompa akım hızı belirlenmiştir. Ortalama arteryel basınç hastanın yaşına göre 45 – 55 mmHg olacak şekilde ayarlanmıştır. Hastalar 28 – 30 °C'ye soğutulmuştur. Hipotermi için su blanketi ve kardiyopulmoner bypass kullanılmıştır. Kardiyopulmoner bypass süresince alfa – stat pH stratejisi kullanılmıştır. Soğuma tamamlandıktan sonra kalbin üzerine slaş buz haline getirilmiş serum fizyolojik dökülerek ventrikül fibrilasyonu sağlanmıştır. Ventrikül fibrilasyonu sırasında sağ atrium açılarak interatrial septum yoluyla sol ventrikül venti konmuştur. Daha sonra aort klempini konarak aort köküne önceden 0 – 4 °C'ye soğutulmuş kardiyopleji solüsyonu verilmiştir. Verilen kardiyopleji koroner sinüsten



dışarıya aspire edilmiştir. Kardiyopleji verildikten sonra intrakardiyak işlem yapılmıştır. Hastaların hiçbirine tekrarlayan kardiyopleji dozu verilmemiştir. Kros klemp süresince ortalama kan basıncı stabil kalacak şekilde vazodilatör infüzyonuna başlanmıştır. İntrakardiyak işlemin tamamlanmasının ardından sol ventrikül venti çıkarılarak interatrial septumdaki defekt kapatılmıştır. Bu aşamada aort kökündeki kardiyopleji kanülü, pompa aspiratörüne bağlanarak kalpten hava çıkarılmıştır. Bunu takiben sağ atriotomi kapatılmış ve aort klemp kaldırılmıştır. Bu aşamada tüm hastalara 5-10 mcg/kg/dk dopamin infüzyonu başlanmıştır. Ortalama arteriyel basınç stabil olacak şekilde aşamalı olarak perfüzyondan ayrıldıktan sonra hasta dekanüle edilmiştir. Cerrahi kanama kontrollerinin tamamlanmasının ardından protamin ile heparin antagonize edilmiştir. Kanama kontrolünü takiben drenler ve pacemaker telleri yerleştirilmiş ve ameliyat sonlandırılmıştır.

### 3.5. Kardiyopleji Solüsyonları

Hastalar iki gruba ayrılmıştır. İlk 16 hastaya 30 ml/kg konvansiyonel kardiyopleji (KK grubu), ikinci 16 hastaya ise 50 ml/kg Bretschneider HTK solüsyonu (HTK grubu) verilmiştir. Kullanılan kardiyopleji solüsyonlarının içeriği Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2 Kullanılan kardiyopleji solüsyonlarının içeriği

İçerik	KK	HTK
Na (mmol/L)	154	15
Cl (mmol/L)	179	50
K (mmol/L)	25	10
Ca (mmol/L)	5	-
Mg (mmol/L)	-	4
Ketogluterat (mmol/L)	-	1
Triptofan (mmol/L)	-	2
Histidin (mmol/L)	-	180
Mannitol (mmol/L)	-	30
Histidin – HCl (mmol/L)	-	18
Dekstroz (gr/L)	2	-
NaHCO <sub>3</sub> (mmol/L)	25	-
Ozmolarite (mOsm/L)	345	330

Konvansiyonel kardiyopleji solüsyonu kliniğimizde serum fizyolojik içine belirli yoğunlukta elektrolitler karıştırılarak hazırlanmıştır. Bretschneider HTK solüsyonu olarak ise Custodiol kullanılmıştır.

### **3.6. Klinik Parametreler**

Tüm hastalara ameliyat öncesi ve ameliyattan sonraki 1 hafta içinde ekokardiografi yapılmıştır. Hastaların ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve fraksiyonel kısalma (FK) parametreleri kaydedilmiştir. Ayrıca hastaların ameliyat günü ve postoperatif 1.gün bakılan kan üre nitrojen (BUN) ve kreatinin seviyeleri ve ameliyat günü, postoperatif 1.gün ve postoperatif 2.gün bakılan aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri de kaydedilmiştir. Hastaların yoğun bakımda kalış süreleri saat cinsinden değerlendirmeye alınmıştır.

### **3.7. Biyopsilerin Alınması**

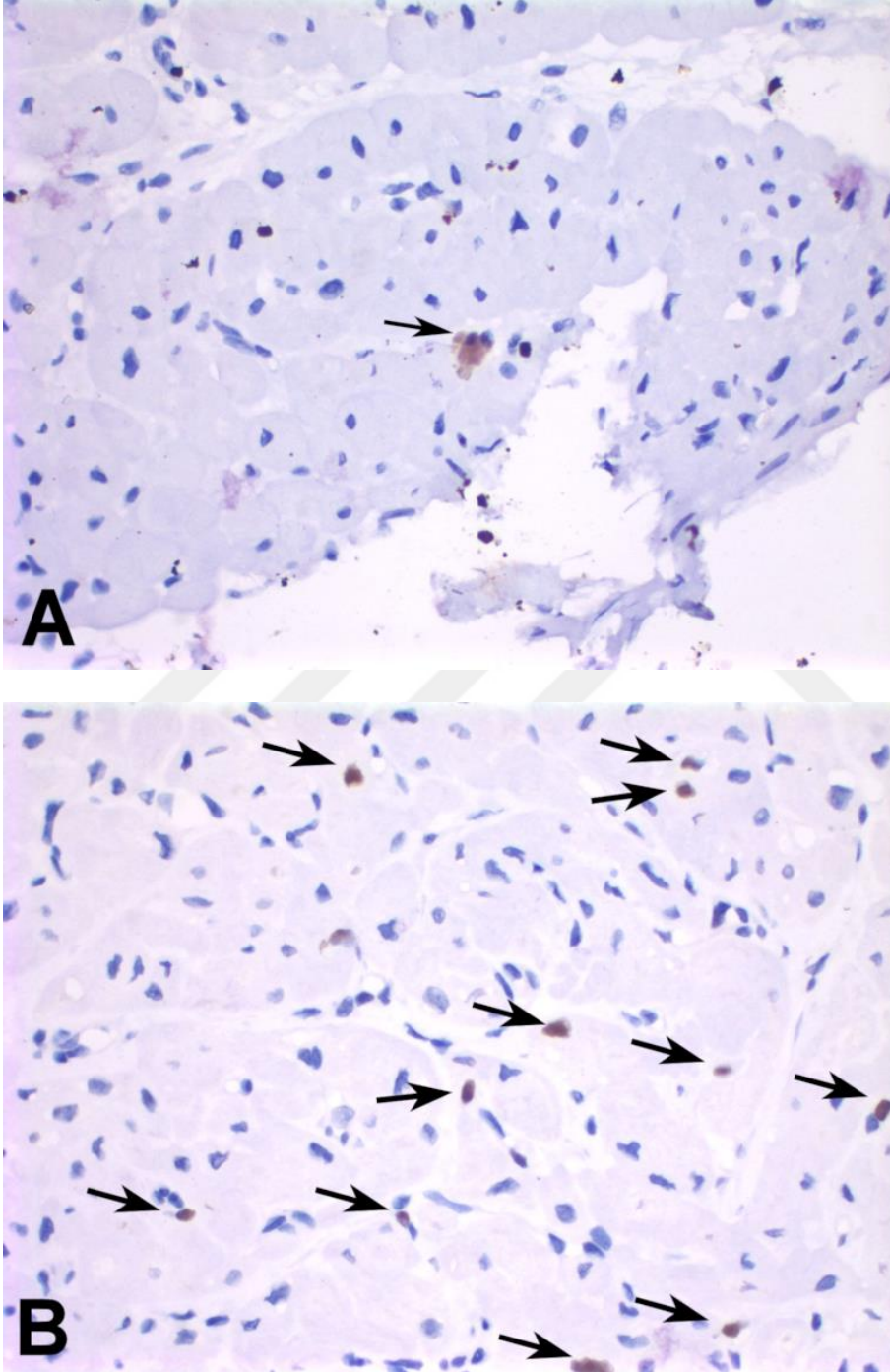
Her hastadan kardiyopulmoner bypass başlamadan hemen önce bir adet ve aort klempini kaldırıldıktan yarım saat sonra bir adet olmak üzere iki adet sağ ventrikül biyopsisi alınmıştır. Böylece 32 hastadan toplam 64 biyopsi alınmıştır. Biyopsiler 18 Gauge tru-cut biyopsi iğnesi kullanılarak sağ ventrikül ön duvarından alınmıştır. Biyopsi alınan yerler 5-0 polipropilen sütür materyali kullanılarak dikilmiş ve kanama kontrolü aşamasında tekrar kontrol edilmiştir. Biyopsi alınması sırasında herhangi bir komplikasyon yaşanmamıştır.

Alınan biyopsi materyallerinin perikardiyal kısmı yön belirlemek amacıyla çini mürekkebiyle işaretlenmiştir. Biyopsi materyalleri 24 saat boyunca %4 formaldehit solüsyonu içinde bekletildikten sonra parafin ile bloklanarak biriktirilmiştir.

### **3.8. Histolojik Değerlendirme**

Tüm hastalardan biyopsi alınması bittikten sonra biriktirilmiş olan biyopsi materyalleri tek bir seansta kaspaz - 3 ve Ki-67 antijeni için boyanmıştır. Uzunlukları 0,3 – 1,2 cm arasında değişen 0,1 cm kalınlığında tru-cut biyopsi örneklerinden 5 mikron kalınlığında ortalama 2'şer kesit alınarak incelenmiştir. Vaka başına ortalama 20 büyük büyütme

alanında (40x) yapılan sayımlarda pozitiflik gösteren myosit yüzdesi hesaplanmıştır. Kaspaz – 3 için sitoplazmik ve perinükleer boyanma ve Ki-67 için nükleer boyanma dikkate alınmıştır. İşlem sonrası alınan dokularda kaspaz – 3 ve Ki-67 için immünohistolojik örnekler Şekil 3.2’de görülmektedir.



(A) Kaspaz – 3’e ait sitoplazmik ve perinükleer boyanma. (B) Ki-67’ye ait nükleer boyanma

Şekil 3.2 İmmünohistolojik örnekler

Apoptotik çekirdek sayısının toplam hücre sayısına oranının yüzdesi “apoptotik indeks” olarak değerlendirilmiştir. Ki-67 ile proliferasyon gösteren hücrelerin sayısının toplam hücre sayısına oranının yüzdesi “proliferasyon indeksi” olarak değerlendirilmiştir. İnterstisyel ve iltihabi hücreler dikkate alınmamıştır. Ki-67 proliferasyon indeksleri ve kaspaz - 3 apoptotik indeksleri, en yüksek oldukları alan esas alınarak hesaplanmıştır.

### **3.9. İstatistiksel Değerlendirme**

Sonuçlar, aksi belirtilmediği sürece aritmetik ortalama  $\pm$  standart deviasyon olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki ortalamalar bağımsız örneklem t testi, grup içi ortalamalar ise eşleştirilmiş örneklem t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Korelasyon hesabı için Pearson katsayısı kullanılmıştır. Sonuç olarak p değerinin 0,05'in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tüm veri analizleri SPSS istatistik yazılımı versiyon 17.0.0 kullanılarak yapılmıştır. (SPSS, Chicago, IL, USA)

#### 4. BULGULAR

Konjenital kalp hastalığı nedeniyle açık kalp ameliyatı yapılmış toplam 32 hastadan oluşan bu popülasyonda hastalar KK ve HTK gruplarına eşit sayıda randomize edilmiştir. Hastaların preoperatif verilerinin karşılaştırması Tablo 4.1’de görülmektedir. Hastalar yaş, vücut ağırlığı ve cinsiyet gibi demografik verilerin yanı sıra preoperatif son ekokardiografilerinde ölçülmüş olan EF ve FK değerleri açısından da karşılaştırılmıştır. İki grup arasında preoperatif veriler açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.1 Preoperatif veriler (EF: ejeksiyon fraksiyonu, FK: fraksiyonel kısalma)

	KK	HTK	p değeri
Yaş (ay)	32,2 ± 40,6	46,6 ± 39,1	0,31
Vücut ağırlığı (kg)	11,7 ± 10,2	15,0 ± 9,9	0,36
Cinsiyet (♀/♂)	8/8	11/5	0,47
Preoperatif EF(%)	67,6 ± 7,1	69,0 ± 6,2	0,54
Preoperatif FK(%)	36,2 ± 6,4	37,5 ± 4,9	0,50

Çalışmaya alınan hastaların yapılan ameliyatlara göre dağılımı Tablo 4.2’de verilmiştir. Yapılan ameliyatların KK grubunda 2 ve HTK grubunda 2 olmak üzere toplam 4 tanesi reoperasyondur. Reopere eden hastalar arasında KK grubunda olanlardan birine önceden arteriyel switch ameliyatı yapılmış olup takipte pulmoner stenoz gelişmiştir. Çalışmaya, bu nedenle yapılan pulmoner arter plasti ameliyatıyla dahil edilmiştir. Diğer hastaya ise önceden Fallot tetralojisi (TOF) ve komplet atrioventriküler septal defekt (CAVSD) tamiri yapılmış olup takipte rezidüel ventriküler septal defekt (VSD) ve mitral yetmezlik gelişmiştir. Bu hasta da çalışmaya rezidüel VSD kapatılması ve mitral plasti ameliyatıyla dahil edilmiştir. HTK grubundaki reoperasyon yapılmış hastalardan biri önceden CAVSD tamiri yapılmış diğeri de önceden parsiyel atrioventriküler septal defekt (PAVSD) tamiri yapılmış hastalardır. Bu hastaların ikisinde de takipte sol atrioventriküler

kapak yetmezliği gelişmiştir. Çalışmaya CAVSD tamiri yapılmış olan hasta MVR, PAVSD tamiri yapılmış olan hasta ise mitral plasti ameliyatıyla dahil edilmiştir.

Tablo 4.2 Hastaların yapılan ameliyatlara göre dağılımı<sup>(\*)</sup>

Yapılan ameliyat	KK	HTK	Toplam
APW tamiri	1	0	1
ASD kapatılması	3	2	5
CAVSD tamiri	1	0	1
DSM rezeksiyonu	0	1	1
DSM rezeksiyonu, VSD kapatılması	0	1	1
Mitral plasti	0	1	1
Mitral kapak replasmanı	1	1	2
PAVSD tamiri	1	1	2
Pulmoner arter plasti	2	0	2
TAPVC tamiri	1	0	1
VSD kapatılması	4	8	12
VSD kapatılması, AK tamiri	0	1	1
VSD kapatılması, mitral plasti	1	0	1
VSD kapatılması, pulmoner arter plasti	1	0	1
Toplam	16	16	32

<sup>(\*)</sup> AK: aort koarktasyonu, APW: Aorto-pulmoner pencere, ASD: atrial septal defekt, CAVSD: komplet atrioventriküler septal defekt, DSM: diskret subaortik membran, PAVSD: parsiyel atrioventriküler septal defekt, TAPVC: total anormal pulmoner venöz konneksiyon, VSD: ventriküler septal defekt.

Çalışmaya dahil edilen hastalar arasında postoperatif erken dönemde morbidite görülmemiştir. Erken dönem mortalite görülen 1 hasta vardır. Bu hasta KK grubunda olup, 5 aylık, 4,4 kg ağırlığında bir kız hastadır. CAVSD tamiri yapılan hastanın ameliyatında herhangi bir komplikasyon olmamıştır. Düşük doz pozitif inotropik destekle yoğun bakıma alınan hastanın postoperatif ekokardiografisinde hafif mitral yetmezliği dışında herhangi bir olumsuz bulgu saptanmamıştır. Ameliyat günü ani kardiyak arrest gelişen hasta kardiyopulmoner resüsitasyona yanıt vermemiştir. Eksitus nedeni pulmoner hipertansif kriz olarak kabul edilmiştir. Bu durumun çalışmanın seyrini olumsuz etkilemeyeceği düşünülmüştür. Bu nedenle hasta çalışmadan hariç tutulmamıştır. Hastaların postoperatif klinik sonuçlarına göre dağılımı Tablo 4.3'te görülmektedir. Bu sonuçlar açısından kıyaslandığında iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.3 Hastaların postoperatif klinik sonuçlarına göre dağılımı

	KK	HTK	p değeri
Kanama revizyonu	0	0	-
Pacemaker ihtiyacı	0	0	-
Böbrek yetmezliği	0	0	-
Serebrovasküler olay	0	0	-
Ventriküler fibrilasyon	0	0	-
Kardiyak arrest	1	0	0,31
Ölüm	1	0	0,31

Hastaların ameliyat sırasındaki aort klemp süresi, kardiyopulmoner bypass süresi ve kardiyopulmoner bypass süresince sağlanan ısı gibi operatif verileri Tablo 4.4'de görülmektedir. Bu parametreler açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.4 Operatif veriler

	KK	HTK	p değeri
Aort klemp süresi (dk)	50,0 ± 26,2	40,9 ± 20,7	0,29
Kardiopulmoner bypass süresi (dk)	70,5 ± 30,2	65,3 ± 25,7	0,60
Isı (°C)	29,1 ± 1,4	29,5 ± 2,0	0,54

Hastaların postoperatif birinci hafta içinde yapılan ekokardiografilerinde ölçülen EF ve FK değerlerinin ortalamaları her iki grup için ayrı ayrı hesaplanarak karşılaştırılmıştır. KK grubu için EF %61,3 ± 10,1 ve FK %31,9 ± 6,4; HTK grubu için ise EF %65,2 ± 10,0 ve FK %34,8 ± 7,3 olarak hesaplanmıştır. İki grup karşılaştırıldığında EF ve FK için anlamlı fark saptanmamıştır (p değeri sırasıyla 0,28 ve 0,25). Bunun dışında preoperatif ve postoperatif EF ve FK değerleri de her bir grup için ayrı ayrı olmak üzere karşılaştırılmıştır. Sonuçlar Tablo 4.5'te görülmektedir. Eksitus olan hastanın postoperatif ekokardiografi verileri olmadığı için preoperatif verileri de eşleştirilmiş örneklem t – testi ortalamalarına dahil değildir. Bu nedenle Tablo 4.5'te görülen preoperatif EF ve FK ortalamaları önceden belirtilenlerden farklıdır. Her iki grupta da preoperatif ve postoperatif EF ve FK arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.5 Preoperatif ve postoperatif ventrikül fonksiyonlarının karşılaştırması

		Preoperatif EKO	Postoperatif EKO	p değeri
KK	EF (%)	67,9 ± 7,3	61,3 ± 10,1	0,13
	FK (%)	36,5 ± 6,5	31,9 ± 6,4	0,15
HTK	EF (%)	69,0 ± 6,2	65,2 ± 10,0	0,11
	FK (%)	37,5 ± 4,9	34,8 ± 7,3	0,15



Hastaların postoperatif BUN, kreatinin, AST, ALT değerleri ve yoğun bakım kalış sürelerinin karşılaştırması Tablo 4.6’da görülmektedir. Bu parametreler açısından karşılaştırıldığında 2 grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.6 Postoperatif laboratuvar değerleri ve yoğun bakım takip süresi

	KK	HTK	p değeri
Ameliyat günü BUN (mg/dL)	10,1 ± 4,5	12,6 ± 3,4	0,80
Ameliyat günü Kreatinin (mg/dL)	0,44 ± 0,07	0,48 ± 0,07	0,20
Postop 1. gün BUN (mg/dL)	12,1 ± 4,4	15,1 ± 5,5	0,11
Postop 1. gün Kreatinin (mg/dL)	0,41 ± 0,07	0,43 ± 0,12	0,56
Ameliyat günü AST (IU/L)	102,6 ± 67,5	95,3 ± 52,8	0,73
Ameliyat günü ALT (IU/L)	28,8 ± 44,6	16,0 ± 5,7	0,27
Postop 1. gün AST (IU/L)	140,7 ± 103,2	131,1 ± 79,3	0,77
Postop 1. gün ALT (IU/L)	33,8 ± 58,8	19,5 ± 6,2	0,34
Postop 2. gün AST (IU/L)	80,7 ± 62,9	69,6 ± 53,2	0,62
Postop 2. gün ALT (IU/L)	26,0 ± 38,1	18,2 ± 9,4	0,43
Yoğun bakım süresi (saat)	54,6 ± 44,4	86,8 ± 152,1	0,42

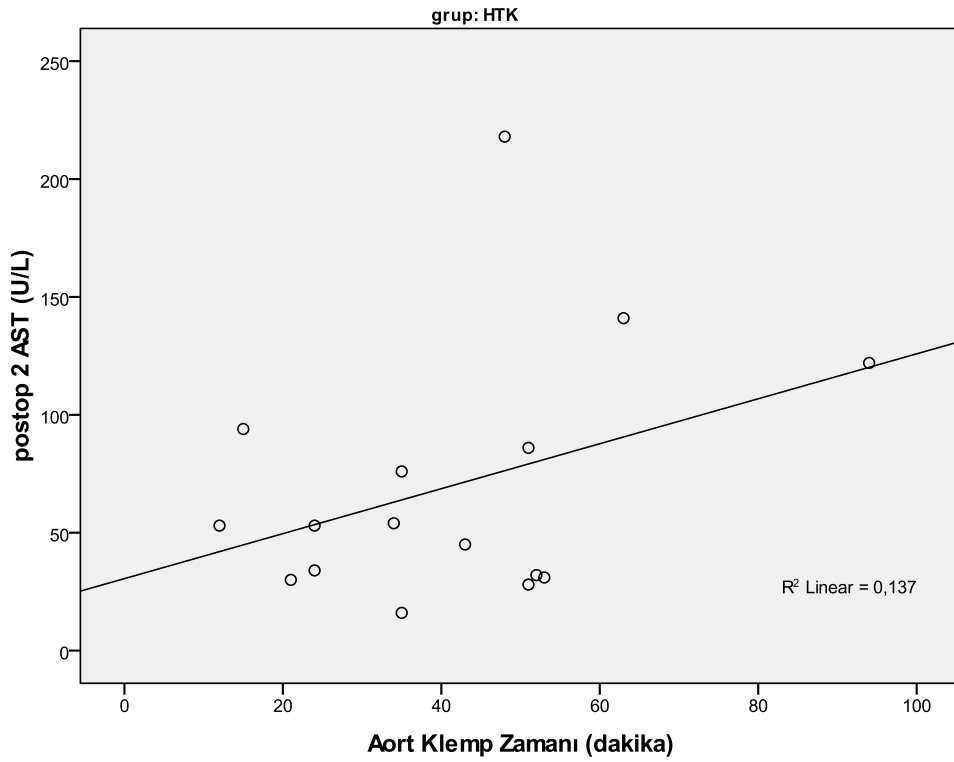
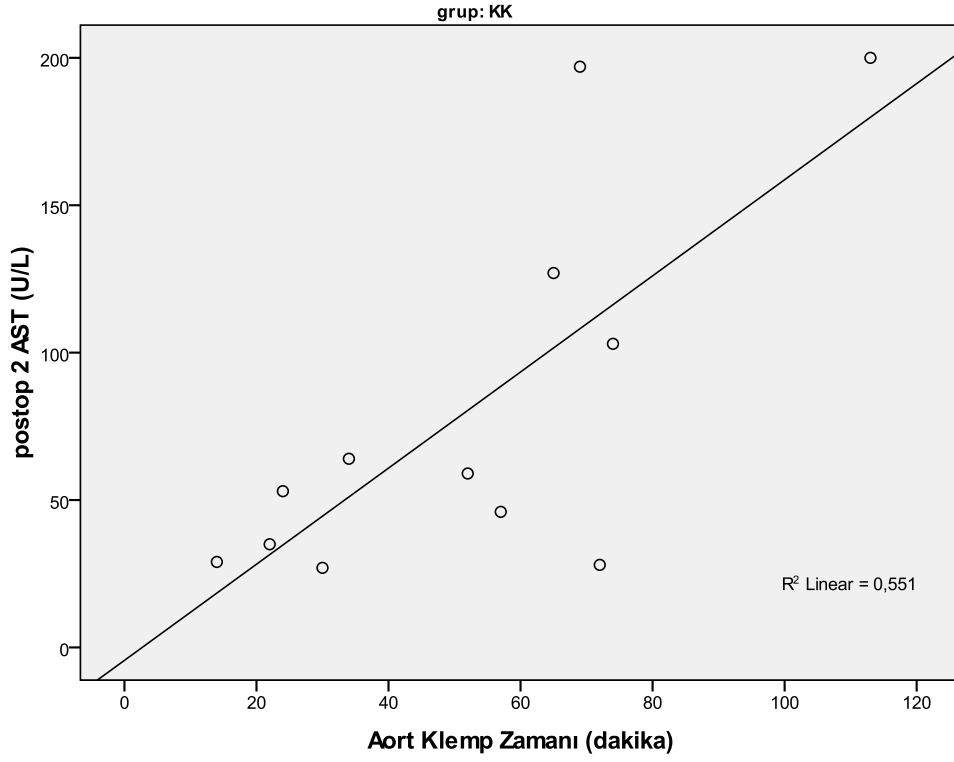
Hastaların postoperatif parametreleri ile aort klemp ve kardiyopulmoner bypass süreleri Pearson korelasyon katsayısı kullanılarak her bir grup için ayrı ayrı analiz edilmiştir. Bu korelasyon analizlerinin p değerleri Tablo 4.7’de görülmektedir.

Tablo 4.7 Pearson korelasyon analizi p değerleri (\*)

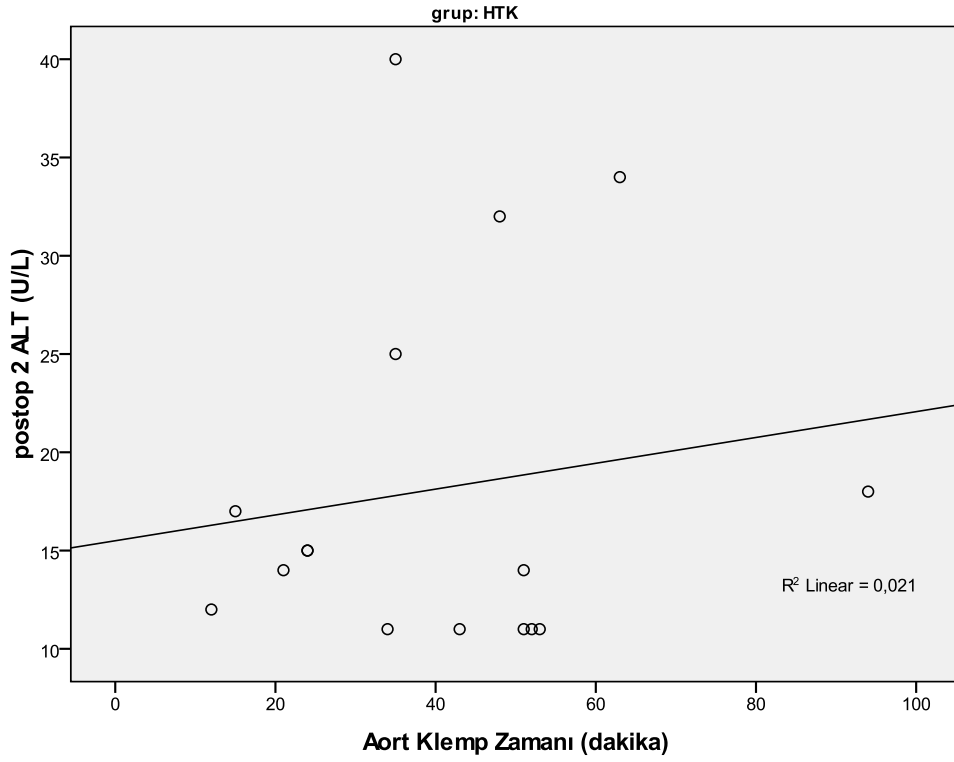
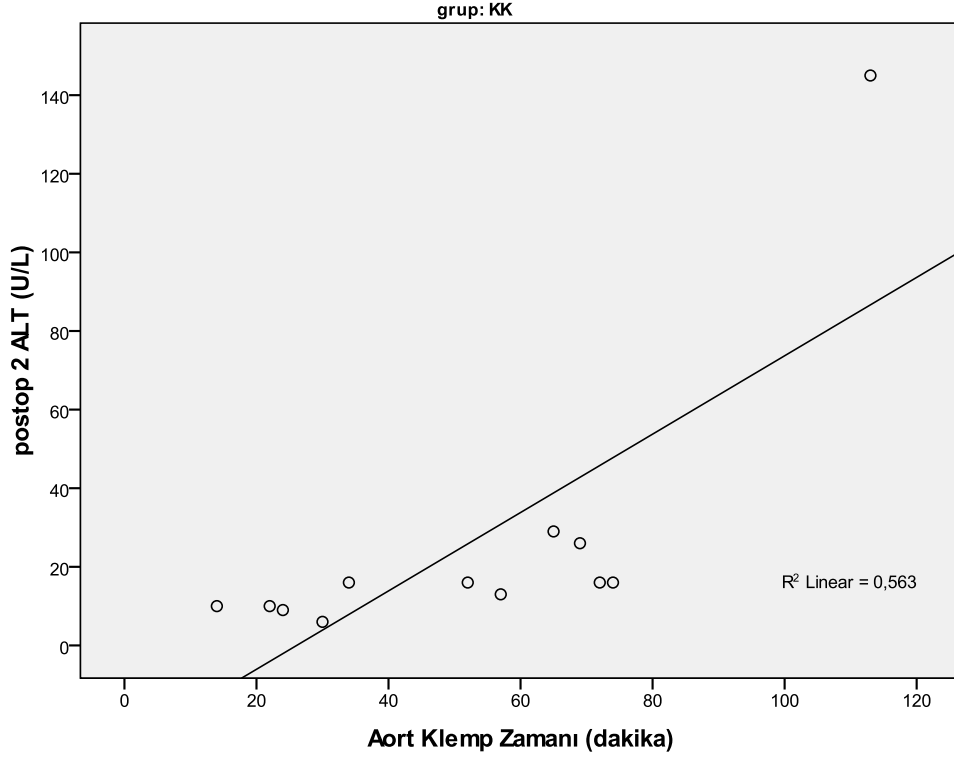
	Aort Klemp Zamanı		KPB Zamanı	
	KK	HTK	KK	HTK
Ameliyat günü BUN	0,00*	0,22	0,00*	0,24
Ameliyat günü Kreatinin	0,12	0,18	0,08	0,16
Postop 1. gün BUN	0,14	0,12	0,12	0,19
Postop 1. gün Kreatinin	0,13	0,02*	0,06	0,06
Ameliyat günü AST	0,01*	0,10	0,02*	0,05*
Ameliyat günü ALT	0,00*	0,23	0,00*	0,24
Postop 1. gün AST	0,00*	0,01*	0,00*	0,03*
Postop 1. gün ALT	0,00*	0,01*	0,00*	0,03*
Postop 2. gün AST	0,01*	0,16	0,01*	0,13
Postop 2. gün ALT	0,01*	0,59	0,00*	0,27
Yoğun bakım süresi	0,21	0,50	0,21	0,37
Postop 1. hafta EF	0,63	0,65	0,84	0,72
Postop 1. hafta FK	0,51	0,58	0,71	0,71

Tabloda görüldüğü gibi ameliyat günü BUN, ameliyat günü AST ve ALT, postoperatif 2. gün AST ve ALT seviyeleri konvansiyonel kristaloid kardiyopleji grubunda aort klemp süresiyle korelasyon gösterirken Bretschneider HTK grubunda böyle bir korelasyon saptanmamıştır. Lineer korelasyon grafikleri Şekil 4.1’de ve Şekil 4.2’de görülmektedir

(\*) İstatistiksel olarak anlamlı değerler \* ile işaretlenmiştir. KPB: Kardiyopulmoner bypass



Şekil 4.1 Postoperatif 2. gün ölçülen AST değerleri ile aort klemp zamanları arasındaki korelasyon grafiği



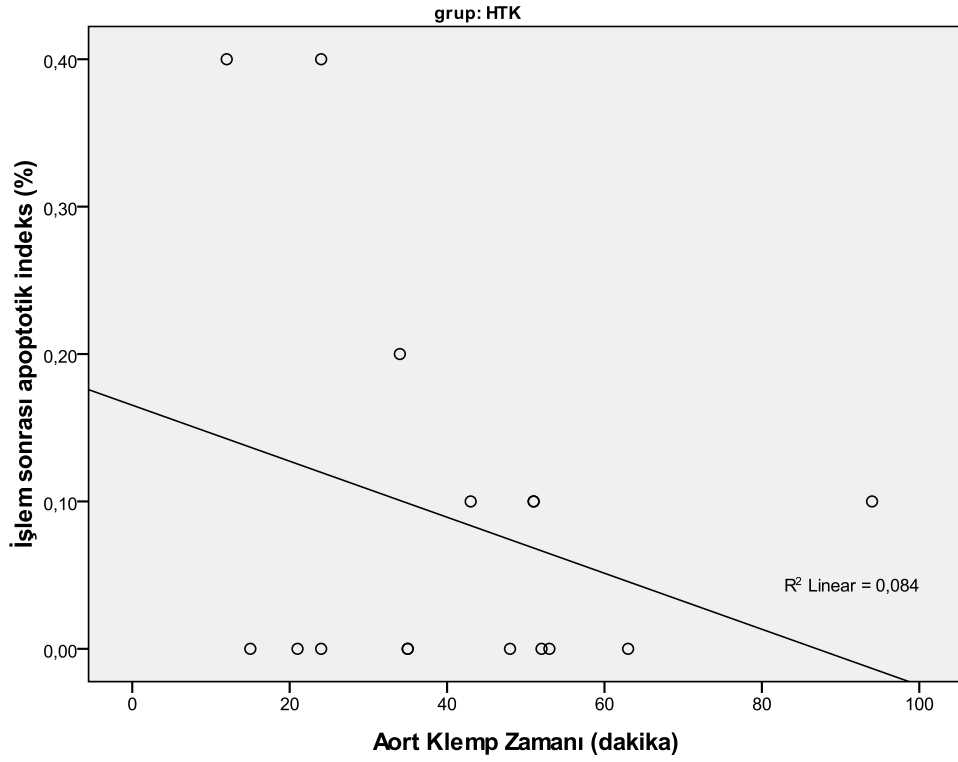
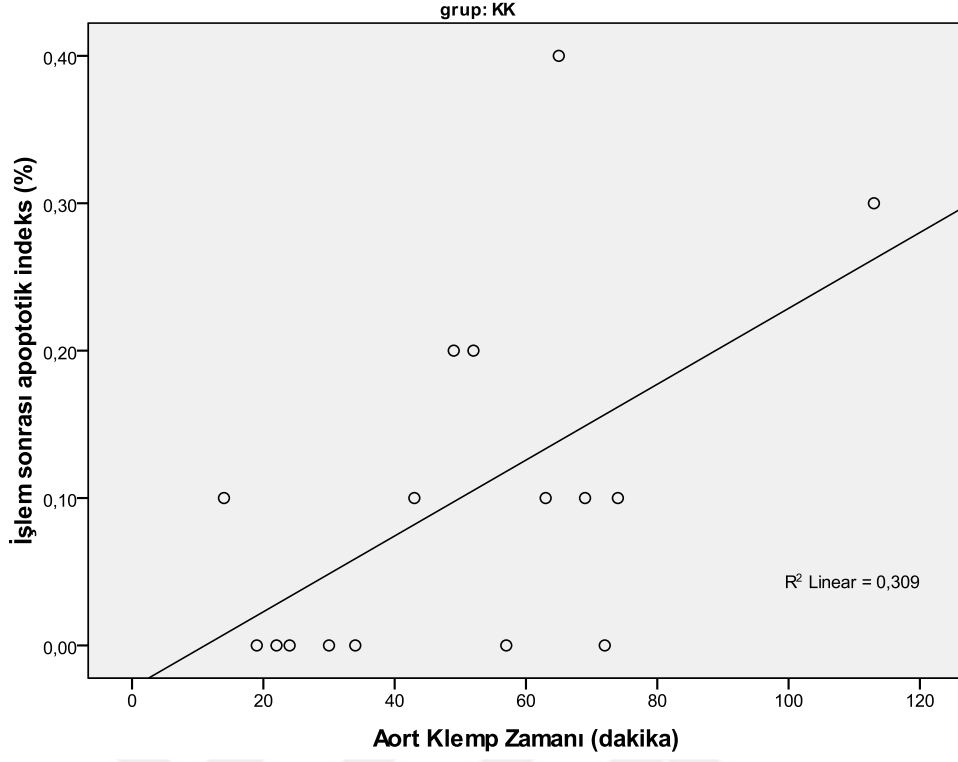
Şekil 4.2 Postoperatif 2. gün ölçülen ALT değerleri ile aort klemp zamanları arasındaki korelasyon grafiği

Sağ ventrikül biyopsileri histopatolojik olarak incelenmiştir. Bu dokularda kaspaz – 3 antijeniyle boyanan apoptotik hücreler ve Ki-67 antijeniyle boyanan proliferatif hücreler sayılmıştır. Apoptotik hücre sayısının ve proliferasyon gösteren hücre sayısının toplam hücre sayısına oranının yüzdesi apoptotik indeks ve proliferasyon indeksi olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasında apoptotik indeks ve proliferasyon indekslerinin ortalamalarının karşılaştırması Tablo 4.8’de görülmektedir. İşlem öncesi ve işlem sonrası apoptotik indeks ve proliferasyon indeksi açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Apoptotik indeksin işlem öncesi ve işlem sonrası değerleri her grup için ayrı ayrı karşılaştırılmıştır. Her iki grupta da anlamlı fark saptanmamıştır (p değerleri; KK: 0,33, HTK: 0,38). Proliferasyon indeksi için de aynı karşılaştırma yapılmış ve uyumlu sonuç alınmıştır (p değerleri; KK: 0,74, HTK: 0,22).

Tablo 4.8 Apoptotik indeks ve proliferasyon indeksi değerlerinin karşılaştırması

	KK	HTK	p değeri
İşlem öncesi apoptotik indeks (%)	0,07 ± 0,07	0,06 ± 0,09	0,83
İşlem sonrası apoptotik indeks (%)	0,10 ± 0,12	0,09 ± 0,14	0,79
İşlem öncesi proliferasyon indeksi (%)	0,12 ± 0,11	0,14 ± 0,29	0,75
İşlem sonrası proliferasyon indeksi (%)	0,13 ± 0,14	0,09 ± 0,18	0,45

Grupların apoptotik indeks ve proliferasyon indeksi değerlerinin aort klemp süresiyle korelasyonu analiz edilmiştir. Her iki grupta da işlem öncesi apoptotik indeks (p değerleri; KK: 0,46, HTK: 0,34) ve proliferasyon indeksi (p değerleri; KK: 0,57, HTK: 0,74) değerleri, aort klemp süresiyle korele değildir. Buna karşın işlem sonrası apoptotik indeks değerleri ile aort klemp süresi arasında KK grubunda anlamlı korelasyon saptanmış (p: 0,03) ancak HTK grubunda korelasyon saptanmamıştır. (p: 0,28) Lineer korelasyon grafikleri Şekil 4.3’te görülmektedir. İşlem sonrası proliferasyon indeksi değerleri ile aort klemp süresi arasında her iki grupta da korelasyon saptanmamıştır. (p değerleri; KK: 0,58, HTK: 0,54)



Şekil 4.3 İşlem sonrası apoptotik indeks değerleri ile aort klemp zamanları arasındaki korelasyon grafiği

## 5. TARTIŞMA

Açık kalp cerrahisinde başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden biri myokard korumasıdır. Kardiyoplejik arrest, açık kalp cerrahisinin tarihçesiyle paralellik gösterir biçimde gelişimini sürdüren bir myokard koruma stratejisidir. Kardiyopulmoner bypassın klinikte kullanımının ilk yıllarından itibaren farklı kardiyopleji solüsyonları geliştirilerek daha iyi myokardial koruma sağlamak amaçlanmıştır. Yaklaşık 60 yıldır devam etmekte olan bu çalışmaların sonucunda farklı kardiyopleji solüsyonlarının myokardial koruma açısından birbirlerine olan üstünlüğüyle ilgili tartışma güncelliğini korumaktadır.

Günümüzde en yaygın kullanımda olan kristaloid kardiyopleji solüsyonlarından biri St. Thomas Hastanesi solüsyonudur. Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi'nde kullanılmakta olan kristaloid kardiyopleji solüsyonu, St. Thomas Hastanesi solüsyonunun bir modifikasyonudur. HTK solüsyonu ise organ nakli cerrahisinde de öne çıkan, yaygın kullanımdaki bir diğer kardiyoplejik solüsyondur. St. Thomas Hastanesi solüsyonu ile HTK solüsyonunu myokardial koruma açısından karşılaştıran çok sayıda deneysel ve klinik çalışma önceden yapılmıştır. (1, 2, 43, 44) Çalışmaların sonuçları birbirinden farklılık göstermektedir ve literatürde bu konuda bir fikir birliği yoktur.

Myokardial dokuda apoptoz kavramı 1990'lı yıllarda gündeme gelmiştir. İskemi reperfüzyon hasarına bağlı apoptotik aktivite artışı deneysel ve klinik çalışmalarla gösterilmiştir. (29, 30, 31, 32, 34, 45) Ayrıca myokardiyal hasar sonucu hücrel proliferasyonun da apoptoza paralel arttığı saptanmıştır. (46) Ancak farklı kardiyopleji yöntemlerinin doku düzeyindeki etkilerini karşılaştırmak için apoptozun ve hücrel proliferasyonun incelendiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. İki kardiyopleji solüsyonunun myokardial korumadaki etkinlikleri arasındaki, klinik çalışmalara tam olarak yansımayan olası bir farkı gösterebilmek için, apoptoz ve hücrel proliferasyon göstergeçlerinin faydalı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmanın temel dayanak noktası budur.

Hasta popülasyonu konjenital kalp hastalığı nedeniyle açık kalp ameliyatı geçiren pediyatrik yaş grubundaki hastalardan oluşmaktadır. Kardiyopleji solüsyonlarını karşılaştıran çalışmaların önemli kısmı erişkin hastalar üzerinde yapılmıştır. Ancak pediyatrik ve erişkin myokardı, substrat metabolizması, glikojen içeriği, insülin duyarlılığı ve enzimatik aktivitesi açısından farklılık göstermektedir. (47) Bu nedenle erişkin hastalar

üzerinde yapılmış olan çalışmaların sonuçları pediatrik yaş grubuna tam olarak uygulanamayabilir. Pediatrik hasta popülasyonu üzerinde St. Thomas solüsyonu ve HTK'nın etkilerini karşılaştıran saptayabildiğimiz tek çalışma 2008 yılında Liu ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır (48) ve kardiyoplejik solüsyonların etkilerini klinik veriler açısından karşılaştırmaktadır. Bu nedenle pediatrik yaş grubunda doku düzeyinde yapılan şu anki çalışmanın literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

Çalışmada kliniğimizde kullanılmakta olan konvansiyonel kristaloid kardiyopleji solüsyonuyla, ticari olarak elde edilmiş Bretschneider HTK solüsyonu karşılaştırılmıştır. Çalışmanın birincil sonuç parametresi doku düzeyinde yapılan karşılaştırmalardır. Çalışmada sağ ventrikül ön yüzünden kardiyoplejik arrest öncesi ve sonrası alınan doku örnekleri apoptoz ve hücresel proliferasyon açısından incelenmiştir. Yapılan karşılaştırma sonucunda iki grup arasında apoptotik indeks ve proliferasyon indeksleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Bu noktadan hareketle karşılaştırılan iki solüsyonun myokardial koruma açısından birbirinden farklı olmadığı düşünülebilir. Ancak işlem öncesi ve işlem sonrası apoptotik indeksler ve proliferasyon indeksleri arasında da anlamlı fark saptanmamıştır. Bu bulgu kardiyoplejik arrestin myokardial dokuda apoptozu arttırmadığı yönündedir ki bu da literatürle çelişmektedir.

Literatürde kardiyoplejik arreste bağlı apoptotik aktivite artışını gösteren iki önemli çalışma Ramlawi ve arkadaşları (45) ve Ruifrok ve arkadaşları (34) tarafından yayınlanmıştır. Ramlawi ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınlanan yazılarında aort klemp süresi ortalama 60 dakika olan 6 koroner arter bypass cerrahisi vakasından aort klemp öncesi ve sonrasında sağ atrium ve iskelet kası örnekleri alınmıştır. Kullanılan kardiyopleji solüsyonu kan kardiyoplejisidir. Dokular çeşitli apoptoz belirteçleri açısından karşılaştırılmıştır. Bu belirteçlerden total ve modifiye kaspaz – 3, Bcl-2, Bad, apoptoz indükleyici faktör (AIF) ve poliADP riboz polimeraz (PARP) aktivitesine immünblot yöntemiyle bakılmıştır. Bunun yanında apoptotik hücrelerin belirlenmesi için terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUTP nick sonu etiketleme (TUNEL) ile boyanmış preparatlar şu anki çalışmada olduğu gibi histolojik olarak incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda TUNEL dahil tüm göstergelerde kardiyoplejik arrest sonrası anlamlı artış saptanmıştır. Apoptotik hücre yüzdesi kardiyopleji öncesi ortalama %0,325 iken kardiyopleji sonrası %1,55 bulunmuştur. Bu sonuçlar şu anki çalışmanın sonuçlarından farklıdır.



Ruifrok ve arkadaşlarının 2010 yılında yayınladıkları çalışmada koroner bypass ameliyatı yapılmış hastaların kalplerinden iskemi öncesinde, sırasında ve sonrasında sağ atrium ve sol ventrikül dokularından tru-cut biyopsiler alınmış ve bu dokular apoptoz açısından incelenmiştir. (34) Apoptoz belirteci olarak kaspaz – 3 ve TUNEL kullanılmıştır. Kardiyopleji solüsyonu olarak tüm hastalarda St. Thomas solüsyonu kullanılmıştır. Ortalama aort klemp süresi 46 dakikadır. Sonuç olarak aortik klemp sonrası alınan ventriküler biyopsilerde, kardiyopulmoner bypass başlangıcında alınan biyopsilere göre daha yüksek oranda apoptoz görülürken, atrial biyopsilerde böyle bir fark saptanmamıştır. Ayrıca ventriküler biyopsilerin apoptotik aktivitesiyle hastaların aort klemp süreleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Ruifrok ve arkadaşlarının çalışmasında ventrikül biyopsileri sol ventrikülden alınmıştır. Ancak şu anki çalışmada daha güvenli olacağı düşünülerek biyopsiler sağ ventrikülden alınmıştır. Ruifrok'un çalışmasında ventriküler biyopsilerde kardiyoplejik arrest öncesi ve sonrası doku örnekleri arasında apoptoz açısından anlamlı fark saptanmasına karşın şu anki çalışmada böyle bir fark saptanmamıştır.

Hem Ruifrok hem de Ramlawi'nin çalışmalarında hasta popülasyonu koroner arter hastalarından oluşmaktadır ve hastaların tümü erişkindir. Şu anki çalışmada hiçbir hastanın iskemik kalp hastalığı yoktur ve hastaların tümü pediatrik yaş grubundadır. İskemik kalp hastalarında apoptotik aktivitenin pediatrik hastalara göre daha yoğun olduğuna yönelik bir kanıt olmamakla birlikte bu, araştırmaya açık bir konudur. Şu anki çalışmanın Ruifrok ve Ramlawi'nin çalışmalarından farklı sonuçlanmış olmasının hasta popülasyonlarındaki farklılığa bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ancak bu çalışmaların sonuçları kendi içlerinde irdelendiğinde bir başka çelişkili durum daha göze çarpmaktadır. Ramlawi'nin çalışmasında sağ atrium dokusunda apoptotik aktivite artışı gösterilmiş olmasına karşın Ruifrok'un çalışmasında sağ atrium dokusunda bu artış gösterilememiştir. Ramlawi ve Ruifrok'un hasta popülasyonlarının birbiriyle benzerlik göstermesine karşın farklı sonuçlara ulaşmış olmalarının da farklı kardiyopleji solüsyonu kullanılmış olmasına ve farklı aort klemp süresine bağlı olduğu öne sürülebilir. Yine de bu bulgu histopatolojik yöntemle bakılan apoptotik aktivitenin farklı gözlemciler arası değişkenlik gösterebileceği kuşkusunu doğurmaktadır.

Bu çalışmada apoptotik indeks ve proliferasyon indekslerinin işlem öncesi ve işlem sonrası değerleri arasında farklılık gösterilememiş olması çalışmanın non iskemik kalp hastaları üzerinde yapılmış olmasıyla açıklanabilir. Yine de bu durum gruplar arasında fark saptanamamış olması bulgusunun güvenilirliğini düşürmektedir. Bu nedenle iki grup arasındaki karşılaştırma başka bir veriye dayandırılmalıdır. Çalışmanın bir diğer önemli bulgusu apoptoz indekslerinin aort klemp süresiyle olan korelasyonudur. Kardiyoplejik arrest sonrası doku örneklerindeki apoptotik indeks KK grubunda aort klemp süresiyle korelasyon göstermektedir. HTK grubunda ise böyle bir korelasyon saptanamamıştır. Bu bulgu Ruifrok'un çalışmasıyla uyumludur. Ayrıca işlem öncesi alınan örneklerde her iki grupta da korelasyon saptanamamış olması bu bulgunun güvenilirliğini arttırmaktadır. Sonuç olarak doku düzeyinde yapılan incelemelerden çıkan sonucun net olmamakla birlikte HTK lehine olduğu düşünülmüştür.

Çalışmada değerlendirilen ikincil sonuç parametreleri klinik verilerdir. Çalışmanın sonucunda iki grup arasında postoperatif ekokardiografik ölçümler, laboratuvar değerleri ve yoğun bakımda kalış süresi açısından istatistiksel fark saptanamamıştır. Karaciğer fonksiyon testlerinin özellikle postoperatif 1.gün bakılan değerlerinin tüm gruplarda aort klemp zamanıyla korole olduğu görülmüştür. Ancak postoperatif 2.gün bakılan AST ve ALT değerleri için KK grubunda bu korelasyon devam ederken HTK grubunda ortadan kalkmaktadır. Bu durum gruplar arasında apoptotik indekslerin aort klemp süresiyle korelasyonları açısından saptanmış olan farklılığa paralellik göstermektedir. Ancak kullanılan kardiyopleji solüsyonu ile karaciğer fonksiyonları arasında saptanan bir bağlantının rastlantısal olup olmadığını bilebilmek için olası sebepler irdelenmelidir.

Kardiyoplejinin dışarıya aspire edilmediği bir cerrahi sistemde kardiyoplejik solüsyona bağlı bir hepatotoksisiteden söz edilebilir. Ancak şu anki çalışmada tüm vakalarda kardiyoplejinin tümü dışarıya aspire edilmiştir. Ayrıca dikkat edilmesi gereken bir diğer konu da şudur ki AST ve ALT düzeylerinin ortalamaları açısından gruplar arasında fark saptanamamış olmasına karşın aort klemp süresiyle korelasyon açısından bir farklılık söz konusudur. Bir diğer olası açıklama da kardiyopulmoner bypass süresiyle ilişkili olabilir. Aort klemp süresi uzadıkça kardiyopulmoner bypass süresi de uzamaktadır. Aort klemp süresiyle karaciğer enzimleri arasındaki korelasyonun aslında rastlantısal olduğu ve kardiyopulmoner bypass süresinin uzamasına bağlı karaciğer hasarını yansıttığı savunulabilir. Ancak AST ve ALT değerlerinin kardiyopulmoner bypass süresiyle

korelasyonuna bakıldığında postoperatif 2.günde yine 2 grup arasında farklılık görülmektedir. Bu durum da karaciğer enzim yüksekliğinin myokard fonksiyonuyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmada myokard fonksiyonunu gösteren esas bulgular ekokardiyografik EF ve FK ölçümleridir. İki grup arasında EF ve FK ölçümleri açısından fark saptanmadığı gibi bu değerlerin aort klemp zamanıyla herhangi bir korelasyonu da gösterilememiştir. Ancak unutulmamalıdır ki burada değerlendirmeye alınan EF ve FK ölçümleri postoperatif 1.haftada yapılmış olan ölçümlerdir. Postoperatif erken dönemde gelişen stunninge bağlı geçici bir ventrikül fonksiyon bozukluğu bu ölçümlere yansımamış olabilir. Sonuç olarak karaciğer enzimlerinin her iki grupta da aort klemp süresiyle korele olarak yükseldiği ancak postoperatif 2.günde KK grubunda yüksek kalırken HTK grubunda düştüğü gösterilmiştir. Bu bulgunun postoperatif erken dönemde gelişen stunningin KK grubunda daha uzun sürdüğü için ortaya çıkmış olduğu yorumu yapılabilir. Bu bulgu apoptotik indeksle de paralellik gösterdiği için anlam kazanmaktadır. Ancak kesin bir yargıya varabilmek için ileriki çalışmalarda erken dönem myokard fonksiyonu da ölçülerek karaciğer enzimleriyle olan korelasyonuna bakılabilir.

Pediyatrik yaş grubunda Bretschneider HTK ve St. Thomas Hastanesi solüsyonlarını karşılaştıran önceki çalışma 2008 yılında Liu ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. (48) Bu noktada Liu'nun çalışmasının bulgularıyla şu anki çalışmanın bulgularının karşılaştırılması önemlidir. Çalışmada toplam 118 hasta retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hastalar; 63 hasta HTK, 55 hasta ise St. Thomas olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Bretschneider HTK solüsyonu tek doz olarak, St. Thomas Hastanesi solüsyonu ise tekrarlayan dozlarda kullanılmıştır. Aort klemp zamanı 90 dakikadan uzun olan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Sonuç olarak HTK grubunda aortik klemp zamanı ve mortalite anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Mortalite açısından HTK lehine saptanan fark şu anki çalışmada saptanmamıştır. Bu durum Liu'nun çalışmasında tüm hastaların aort klemp süresinin 90 dakikadan uzun olmasıyla açıklanabilir. Liu'nun çalışmasında ortalama aort klemp süresi HTK grubunda 172,5 dakika ve St. Thomas grubunda 194,2 dakika olarak bildirilmiştir. Bu süreler şu anki çalışmanın sürelerine göre oldukça yüksektir. Bu noktadan hareketle uzun klemp sürelerinde HTK'nın koruyuculuğunun daha belirgin hale geldiği düşünülebilir. Bu görüşü destekleyen bir çalışma 2011 yılında Scarscia ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır.

Scrascia ve arkadaşlarının 112 elektif ya da acil torasik aort olgusu üzerinde retrospektif olarak yaptıkları incelemede 54 hasta Bretschneider HTK solüsyonu ve 58 hasta soğuk kan kardiyoplejisi almıştır. (49) İki grup arasında; atriyal ya da ventriküler aritmilerin sıklığı, inotrop desteği ve düşük kardiyak debi sendromu sıklığı açısından fark saptanmamıştır. Buna karşın aort klemp süresinin 160 dakikanın üzerinde olduğu vakalarda troponin – I düzeyi kan kardiyoplejisi grubunda daha yüksek bulunmuştur. Yazarlar bu sonucu her iki kardiyopleji yönteminin de benzer şekilde myokardı korumasına rağmen aort klempinin uzadığı durumlarda HTK'nın kan kardiyoplejisine üstünlük gösterebileceği yönünde yorumlamışlardır. Yazarlara göre HTK'nın bu üstünlüğü içerdiği histidinin, uzamış klemp süresinde oluşan asidik metabolitleri ortamdaki uzaklaştırarak anaerobik glikolizin devam etmesine olanak sağlamasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca ketoglutarat, oksidasyon için uygun ortam oluşturarak myokardial korumaya katkı sağlamaktadır. Scrascia'nın çalışması HTK ile kan kardiyoplejisini karşılaştırmaktadır. Ancak kan kardiyoplejisi de St. Thomas solüsyonu gibi hiperpotasemi yoluyla kardiyak arrest sağlamakta ve ayrıca histidin, triptofan ve ketoglutarat içermemektedir. Bu açıdan Scrascia'nın çalışmasının sonucu şu anki çalışmanın sonuçlarını yorumlamak için kullanılabilir.

Bu aşamaya kadar olan tartışmada genel olarak birkaç fikir üzerinde durulmuştur. Öncelikle şu anki çalışmanın doku düzeyinde ve klinik bulguları HTK lehine gibi görünmektedir. Ancak mortalite açısından fark gösterilememiştir. Aynı solüsyonları pediatrik hasta grubu üzerinde karşılaştıran Liu ve arkadaşlarının çalışmasında (48) HTK kullanılan grupta mortalite düşük bulunmuştur. Bu da HTK'nın uzun aort klemp süresi olan popülasyonlarda koruyuculuğunun daha belirgin olduğu görüşünü destekler niteliktedir. Literatürde iki solüsyon karşılaştırıldığında HTK lehine görüş bildiren bir diğer çalışma da Careaga ve arkadaşlarına aittir.

Careaga ve arkadaşları 2001 yılında Bretschneider HTK solüsyonu ile St. Thomas Hastanesi solüsyonu benzeri bir solüsyonu karşılaştıran prospektif, randomize bir klinik çalışma yayınlamışlardır. (1) Toplam 30 hasta, 15'er hastalık iki gruba randomize edilmiştir. Toplam 11 hastaya koroner arter bypass cerrahisi, 14 hastaya kapak cerrahisi, 1 hastaya koroner arter bypass cerrahisi ile birlikte kapak cerrahisi ve 4 hastaya konjenital kalp ameliyatı yapılmıştır. Aort klemp süreleri HTK grubunda 62,2 dakika ve St. Thomas grubunda 66,6 dakika olarak bildirilmiştir. Sonuç olarak HTK verilen grupta aritmi

insidansı, inotrop destek ihtiyacı ve yoğun bakımda kalış süresi anlamlı düşük bulunmuştur. Bu çalışma hasta sayısı ve aort klemp süresi açısından şu anki çalışmaya benzerlik göstermektedir. Buna karşın yoğun bakımda kalış süresi açısından Careaga'nın çalışmasında iki grup arasında fark saptanmış ancak şu anki çalışmada böyle bir fark saptanmamıştır. Yoğun bakımda kalış süresinin kardiyoplejiden bağımsız pek çok etkenle değişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Şu anki çalışmayla karşılaştırıldığında Careaga'nın hasta popülasyonu yaş açısından daha heterojendir ve iskemik kalp hastalığı olan hastalar da içermektedir.

Bu aşamada HTK ve St. Thomas solüsyonları arasında fark saptanmamış bir çalışmaya da değinilmelidir. Bretschneider HTK ile Başkent Üniversitesi Hastanesi'nde kullanılmakta olan konvansiyonel kristaloid kardiyoplejiyi karşılaştıran bir çalışma 2005 yılında kliniğimizden yayınlanmıştır. (44) Erişkin hasta grubu üzerinde yapılan bu çalışma prospektif randomize bir çalışmadır. Koroner arter bypass cerrahisi yapılan hastalar, her biri 21 hastadan oluşan 2 gruba randomize edilmiş, gruplardan birine Bretschneider HTK solüsyonu, diğerine ise konvansiyonel kristaloid kardiyopleji verilmiştir. Verilen kardiyopleji dozu 10 – 15 mL/kg olup yaygın kullanılmakta olan dozdan düşüktür. Grupların ortalama aort klemp süreleri sırasıyla 33,9 dk ve 36,2 dakikadır. Gruplar arasında serum kreatin kinaz MB (CK-MB), troponin – I seviyeleri ve koroner sinüsten alınan laktat ve malondialhid seviyeleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Bu çalışmada hasta popülasyonunun koroner arter bypass cerrahisi yapılan hastalardan oluşması nedeniyle myokard koruması primer hastalığın (koroner arter hastalığı) düzeyinden ve seyrinden etkilenmiş olabilir. Bu da çalışmanın sonuçları etkilemiş olabilir. Şu anki çalışmada da aynı kardiyoplejik solüsyonlar karşılaştırılmıştır. Ancak çalışma grubu doğumsal kalp hastalığı nedeniyle ameliyat olan pediyatrik yaş grubu hastalardır ve böylece üzerinde çalışılmakta olan myokard, iskemik bir myokard değildir. Ayrıca şu anki çalışmadaki aort klemp süreleri de önceki çalışmaya kıyasla uzundur ve myokard hasarı değerlendirildiği için bu da şu anki çalışma adına bir avantajdır. Bunun yanında önceki çalışma düşük doz kardiyoplejinin etkilerini karşılaştırmaktadır. Şu anki çalışmanın ise böyle bir amacı yoktur ve kullanılan kardiyopleji dozu rutin olarak kullanılmakta olan dozdur. Sonuç olarak önceki çalışmanın sonuçları, şu anki çalışmanın sonuçlarını yorumlarken kullanmak için uygun olmayabilir.

HTK solüsyonunun St. Thomas solüsyonuna göre avantajlı olabileceği görülmektedir. Bu durumun sebebini HTK'nın içerdiği histidin, triptofan ve ketoglutarat'a bağlamak mümkündür. Histidin tampon görevi görürken, triptofan membran stabilizasyonunda rol oynamaktadır. Ketoglutarat ise reperfüzyon aşamasında yüksek enerji üretimini teşvik etmektedir. (1) Bunun yanında iki solüsyonun kardiyoplejik arrest sağlama mekanizmaları da farklılık göstermektedir. Hiperkalemiyle oluşturulan kardiyak arrestin mekanizması depolarizasyondur. Hiperkalemi, normalde -85 mV olan dinlenme membran potansiyelini -65 ile -35 mV arasındaki bir seviyeye çeker. Böylece aksiyon potansiyelinin başlangıcı engellenmiş olur. Ancak bu voltaj aralığında dışarı doğru devam eden sürekli bir sodyum akımı vardır. Bu akıma "pencere" akımı denir. (38) Buna ek olarak -50 mV civarında başlayan bir süreğen sodyum akımı da myokard hücrelerinin bu anormal gradientine katkıda bulunur. (39) Myokard hücresi bu bozuk gradienti enerji bağımlı transmembran pompalar yoluyla düzeltmeye çalışırken kritik enerji depolarını tüketmektedir. (40) Bu durum myokardın yetersiz iyileşmesine neden olabilir. Buna karşın HTK solüsyonu düşük kalsiyum ve sodyum konsantrasyonu sayesinde membran potansiyelinin, dinlenme membran potansiyeli değerine yakın durmasını sağlar. Bu şekilde oluşturulan polarize arrest ile hiperkalemik solüsyonun dezavantajından kaçınılabileceği düşünülmektedir.

Bu tartışmayı destekleyen bir deneysel çalışma Kober ve arkadaşları tarafından 1998 yılında yayınlanmıştır. Bretschneider HTK, St. Thomas Hastanesi ve National Institutes of Health solüsyonlarını karşılaştıran bu çalışma (43) eksize edilmiş sıçan kalpleri üzerinde yapılmıştır. Çalışmada reperfüzyon sırasında ve sonrasında HTK ile korunmuş olan kalplerde koroner akımın diğer solüsyonlarla korunmuş kalplere göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca myokardiyal ATP depolarının da HTK ile daha iyi korunduğu gösterilmiştir. Bunun yanında kardiyak output açısından gruplar arasında fark saptanmamıştır.

Sonuçta HTK solüsyonu konvansiyonel kristaloid kardiyoplejiye göre avantajlı gibi görünmektedir. Şu anki çalışmanın sonucunda da doku düzeyinde ve klinik sonuçlarda saptanan farklar anlamlı kabul edilmiştir. Literatürde de aort klemp süresi arttıkça HTK lehine bulguların belirginleştiği yönünde veriler vardır.

Bu çalışmanın amacı aort klemp süresine bağlı hasarı iki farklı kardiyopleji solüsyonu arasında karşılaştırmaktır. Buna karşın çalışılan hasta grubu aort klemp süresi

kısa bir hasta grubudur. Bu düzeyde aort klemp sürelerinde literatürde de farklı kardiyopleji solüsyonları arasında belirgin bir fark saptanamamıştır. İleriki çalışmalarda daha uzun aort klemp süresi olan hastalarla çalışılarak olası bir farklılık daha belirgin hale getirilebilir. Bunun yanında hasta popülasyonu, hariç tutulma kriterleri kullanılarak homojenize edilmeye çalışılsa da geniş bir tanı spektrumundaki hastaları içermektedir. İleriki çalışmalarda daha homojen gruplarla çalışmak daha net sonuçlar verebilir. Ayrıca bu çalışmadaki hasta sayısı apoptoz ve proliferasyon indeksleri arasında karşılaştırma yapmaya uygun olarak seçilmiştir. Mortalite kıyaslamasını güvenilir olarak yapabilmek için daha büyük bir hasta popülasyonu ile çalışılması uygun olacaktır.



## 6. SONUÇ

Konvasiyonel kristaloid kardiyopleji ve Bretschneider HTK solüsyonlarının kardiyoprotektif etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada iki grup arasında postoperatif ekokardiografik parametreler, laboratuvar parametreleri ve yoğun bakımda kalış süresi açısından istatistiksel fark saptanmamıştır. Karaciğer fonksiyon testlerinin özellikle postoperatif 1.gün bakılan değerlerinin tüm gruplarda aort klemp zamanıyla korele olduğu görülmüştür. Ancak postoperatif 2.gün bakılan AST ve ALT değerleri için KK grubunda bu korelasyon devam ederken HTK grubunda ortadan kalkmaktadır. Doku düzeyinde kaspaz – 3 ile bakılan apoptoz indeksi ve Ki-67 ile bakılan proliferasyon indeksi için yapılan karşılaştırmada da istatistiksel fark saptanmamıştır. İşlem sonrası apoptotik indeks KK grubunda aort klemp süresiyle korelasyon göstermekte ancak HTK grubunda korelasyon göstermemektedir. Bu çalışmadan yapılan çıkarımlar şu şekilde özetlenebilir.

1. Bu çalışmada grupların aort klemp sürelerinin ortalamaları 50 dakika ve 40,9 dakikadır. Bu aort klemp sürelerinde iki solüsyon arasında ne klinik ölçütler açısından ne de doku düzeyinde anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak hem apoptotik indeks, hem de postoperatif 2.gün AST ALT düzeylerinin, aort klemp süresiyle olan korelasyonunun iki grup arasında farklı olması HTK lehine bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.
2. Literatürde bu iki solüsyonun karşılaştırıldığı deneysel çalışmalar HTK lehine sonuç bildirmektedir. Ancak klinik çalışmalara bakıldığında HTK lehine sonuçların yanında, iki solüsyon arasında fark olmadığını belirten sonuçlar da vardır.
3. İki solüsyon ayrı ayrı kan kardiyoplejisiyle karşılaştırıldığında ortaya çıkan net sonuç HTK'nın 160 dakika üzerindeki aort klemp sürelerinde kan kardiyoplejisinden daha iyi olduğu yönündedir. Daha düşük klemp sürelerinde belirgin bir fark saptanmamıştır. Şu anki çalışmanın HTK lehine olan mevcut verileri desteklediği düşünülmüştür.
4. Bu çalışma konjenital kalp cerrahisinde St. Thomas Hastanesi ve Bretschneider HTK solüsyonlarını apoptoz açısından karşılaştıran ilk çalışma olması açısından özellik taşımaktadır.
5. Myokard dokusunda apoptoz araştıran önceki çalışmalarda apoptotik indeks değerleri



bu çalışmadan daha yüksek çıkmıştır. Ancak önceki çalışmalar koroner arter hastaları üzerinde yapılmıştır. Konjenital kalp cerrahisi hastalarında apoptotik indeksin ve proliferasyon indeksinin güvenilirliği üzerine ileri çalışmalar gerekli olabilir.

6. Eldeki veriler ışığında özellikle aort klemp süresinin uzun olması öngörülen vakalarda HTK kullanımı konvansiyonel kristaloid kardiyoplejiye göre daha iyi bir alternatif olarak düşünülebilir. Aort klemp süresi şu anki çalışmadaki düzeylerde yapılan cerrahide iki solüsyon arasındaki farkın kliniğe yansması belirgin değildir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Careaga G, Salazar D, Téllez S, Sánchez O, Borrayo G, Argüero R. Clinical impact of histidine-ketoglutarate-tryptophan (HTK) cardioplegic solution on the perioperative period in open heart surgery patients. *Arch Med Res.* 2001 Jul-Aug;32(4):296-9.
2. Aarsaether E, Stenberg TA, Jakobsen Ø, Busund R. Mechanoenergetic function and troponin T release following cardioplegic arrest induced by St Thomas' and histidine-tryptophan-ketoglutarate cardioplegia--an experimental comparative study in pigs. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2009 Oct;9(4):635-9.
3. Kouchoukos NT, Blackstone EH, Doty DB, Hanley FL, Karp RB. Hypothermia, circulatory arrest and cardiopulmonary bypass. *Kirklin/Barratt Boyes Cardiac Surgery. Third Edition.* Philadelphia, Churchill Livingstone. 2003 Vol 1, 66-130.
4. Dennis C, Spreng DS Jr, Nelson GE, Karlson KE, Nelson RM, Thomas JV, Eder WP, Varco RL. Development of a pump-oxygenator to replace the heart and lungs; an apparatus applicable to human patients, and application to one case. *Ann Surg.* 1951 Oct;134(4):709-21.
5. Gibbon JH Jr. Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minn Med.* 1954 Mar;37(3):171-85.
6. Kirklin JW, Dushane JW, Patrick RT, Donald DE, Hetzel PS, Harshvarger HG, Wood EH. Intracardiac surgery with the aid of a mechanical pump-oxygenator system (gibbon type): report of eight cases. *Proc Staff Meet Mayo Clin.* 1955 May 18;30(10):201-6.
7. Warden HE, Cohen M, Read RC, Lillehei CW. Controlled cross circulation for open intracardiac surgery: physiologic studies and results of creation and closure of ventricular septal defects. *J Thorac Surg.* 1954 Sep;28(3):331-41.
8. Lillehei CW, Dewall RA, Gott VL, Varco RL. The direct vision correction of calcific aortic stenosis by means of a pump-oxygenator and retrograde coronary sinus perfusion. *Dis Chest.* 1956 Aug;30(2):123-32.
9. Hufnagel CA, Conrad PW, Schanno J, Pifarre R. Profound cardiac hypothermia. *Ann Surg.* 1961 May;153:790-6.
10. Kouchoukos NT, Blackstone EH, Doty DB, Hanley FL, Karp RB. Myocardial management during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Kirklin/Barratt Boyes Cardiac Surgery. Third Edition.* Philadelphia, Churchill Livingstone. 2003 Vol 1, 131-162.
11. Kirsch U, Rodewald G, Kalmár P. Induced ischemic arrest. Clinical experience with cardioplegia in open-heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1972 Jan;63(1):121-30.
12. Gay WA Jr, Ebert PA. Functional, metabolic, and morphologic effects of potassium-induced cardioplegia. *Surgery.* 1973 Aug;74(2):284-90.

13. Roe BB, Hutchinson JC, Fishman NH, Ulliyot DJ, Smith DL. Myocardial protection with cold, ischemic, potassium-induced cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1977 Mar;73(3):366-74.
14. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV. Cellular protection during myocardial ischemia: the development and characterization of a procedure for the induction of reversible ischemic arrest. *Circulation.* 1976 Aug;54(2):193-202.
15. Mentzer RM, Jahania MS, Lasley RD. Myocardial protection. *Cardiac Surgery In the Adult (Cohn LH).* Third Edition. New York, McGraw-Hill Medical. 2008 Vol 1, 443-464
16. Buckberg GD. A proposed "solution" to the cardioplegic controversy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1979 Jun;77(6):803-15.
17. Morales AR, Fine G, Taber RE. Cardiac surgery and myocardial necrosis. *Arch Pathol.* 1967 Jan;83(1):71-9.
18. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation.* 1982 Dec;66(6):1146-9.
19. Verma S, Fedak PW, Weisel RD, Butany J, Rao V, Maitland A, Li RK, Dhillon B, Yau TM. Fundamentals of reperfusion injury for the clinical cardiologist. *Circulation.* 2002 May 21;105(20):2332-6.
20. Bolli R, Jeroudi MO, Patel BS, DuBose CM, Lai EK, Roberts R, McCay PB. Direct evidence that oxygen-derived free radicals contribute to postischemic myocardial dysfunction in the intact dog. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 Jun;86(12):4695-9.
21. Granger DN. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation.* 1999 Sep;6(3):167-78.
22. Kusuoka H, Porterfield JK, Weisman HF, Weisfeldt ML, Marban E. Pathophysiology and pathogenesis of stunned myocardium. Depressed Ca<sup>2+</sup> activation of contraction as a consequence of reperfusion-induced cellular calcium overload in ferret hearts. *J Clin Invest.* 1987 Mar;79(3):950-61.
23. Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *Ann Thorac Surg.* 1999 Nov;68(5):1898-904.
24. Rao V, Ivanov J, Weisel RD, Cohen G, Borger MA, Mickle DA. Lactate release during reperfusion predicts low cardiac output syndrome after coronary bypass surgery. *Ann Thorac Surg.* 2001 Jun;71(6):1925-30.
25. Merante F, Mickle DA, Weisel RD, Li RK, Tumiaty LC, Rao V, Williams WG, Robinson BH. Myocardial aerobic metabolism is impaired in a cell culture model of cyanotic heart disease. *Am J Physiol.* 1998 Nov;275(5 Pt 2):H1673-81.
26. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972 Aug;26(4):239-57.

27. Haunstetter A, Izumo S. Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease. *Circ Res*. 1998 Jun 15;82(11):1111-29.
28. Gottlieb RA, Burleson KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest*. 1994 Oct;94(4):1621-8.
29. Fliss H, Gattinger D. Apoptosis in ischemic and reperfused rat myocardium. *Circ Res*. 1996 Nov;79(5):949-56.
30. Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP, Wilcox JN, Shearer S, Ronson RS, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death. *Cardiovasc Res*. 2000 Feb;45(3):651-60.
31. Aebert H, Cornelius T, Birnbaum DE, Siegel AV, Riegger GA, Schunkert H. Induction of early immediate genes and programmed cell death following cardioplegic arrest in human hearts. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1997 Aug;12(2):261-7.
32. Schmitt JP, Schröder J, Schunkert H, Birnbaum DE, Aebert H. Role of apoptosis in myocardial stunning after open heart surgery. *Ann Thorac Surg*. 2002 Apr;73(4):1229-35.
33. Sodha NR, Clements RT, Feng J, Liu Y, Bianchi C, Horvath EM, Szabo C, Sellke FW. The effects of therapeutic sulfide on myocardial apoptosis in response to ischemia-reperfusion injury. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008 May;33(5):906-13.
34. Ruifrok WT, Westenbrink BD, de Boer RA, den Hamer IJ, Erasmus ME, Mungroop HE, Epema AH, Voors AA, van Veldhuisen DJ, van Gilst WH. Apoptosis during CABG surgery with the use of cardiopulmonary bypass is prominent in ventricular but not in atrial myocardium. *Neth Heart J*. 2010 May;18(5):236-42.
35. Buckberg GD, Brazier JR, Nelson RL, Goldstein SM, McConnell DH, Cooper N. Studies of the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. I. The adequately perfused beating, fibrillating, and arrested heart. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1977 Jan;73(1):87-94.
36. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*. 2002 Jan 10;415(6868):198-205.
37. Chambers DJ, Fallouh HB. Cardioplegia and cardiac surgery: pharmacological arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion. *Pharmacol Ther*. 2010 Jul;127(1):41-52.
38. McAllister RE, Noble D, Tsien RW. Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres. *J Physiol*. 1975 Sep;251(1):1-59.
39. Saint DA. The role of the persistent Na(+) current during cardiac ischemia and hypoxia. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2006 May;17 Suppl 1:S96-S103.
40. Hiraoka M. Metabolic pathways for ion homeostasis and persistent Na(+) current. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2006 May;17 Suppl 1:S124-S126.
41. Jynge P, Hearse DJ, Braimbridge MV. Myocardial protection during ischemic cardiac

- arrest. A possible hazard with calcium-free cardioplegic infusates. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1977 Jun;73(6):848-55.
42. Amrani M, Ledingham S, Jayakumar J, Allen NJ, Rothery S, Severs N, Yacoub M. Detrimental effects of temperature on the efficacy of the University of Wisconsin solution when used for cardioplegia at moderate hypothermia. Comparison with the St. Thomas Hospital solution at 4 degrees C and 20 degrees C. *Circulation.* 1992 Nov;86(5 Suppl):II280-8.
  43. Kober IM, Obermayr RP, Brüll T, Ehsani N, Schneider B, Spieckermann PG. Comparison of the solutions of Bretschneider, St. Thomas' Hospital and the National Institutes of Health for cardioplegic protection during moderate hypothermic arrest. *Eur Surg Res.* 1998;30(4):243-51.
  44. Arslan A, Sezgin A, Gultekin B, Ozkan S, Akay T, Uguz E, Tasdelen A, Aslamaci S. Low-dose histidine-tryptophan-ketoglutarate solution for myocardial protection. *Transplant Proc.* 2005 Sep;37(7):3219-22
  45. Ramlawi B, Feng J, Mieno S, Szabo C, Zsengeller Z, Clements R, Sodha N, Boodhwani M, Bianchi C, Sellke FW. Indices of apoptosis activation after blood cardioplegia and cardiopulmonary bypass. *Circulation.* 2006 Jul 4;114(1 Suppl):I257-63.
  46. Ozdemir BH, Sezgin A, Haberal M. Apoptosis and proliferation of cardiomyocytes and interstitial mononuclear cells: association with rejection and macrophage infiltration. *Transplant Proc.* 2009 Sep;41(7):2890-2
  47. Sinha P, Zurakowski D, Jonas RA. Comparison of two cardioplegia solutions using thermodilution cardiac output in neonates and infants. *Ann Thorac Surg.* 2008 Nov;86(5):1613-9.
  48. Liu J, Feng Z, Zhao J, Li B, Long C. The myocardial protection of HTK cardioplegic solution on the long-term ischemic period in pediatric heart surgery. *ASAIO J.* 2008 Sep-Oct;54(5):470-3.
  49. Scrascia G, Guida P, Rotunno C, De Palo M, Mastro F, Pignatelli A, de Luca Tuppiti Schinosa L, Paparella D. Myocardial protection during aortic surgery: comparison between Bretschneider-HTK and cold blood cardioplegia. *Perfusion.* 2011 Sep;26(5):427-33.