

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA**  
**NUCLEAR FACTOR ERYTHROİD 2-**  
**RELATED FACTOR 2 (NRF2), TÜMOR**  
**NEKROZ FAKTÖR ALFA PROTEİN (TNF- $\alpha$ ),**  
**HEME OXYGENASE-1 (HO-1) DEĞİŞİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Yusuf AYIKGÖZ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Mehmet Salih AYDIN**

**ŞANLIURFA**  
**2019**

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA  
NUCLEAR FACTOR ERYTHROİD 2-  
RELATED FACTOR 2 (NRF2), TÜMOR  
NEKROZ FAKTÖR ALFA PROTEİN (TNF-  $\alpha$ ),  
HEME OXYGENASE-1 (HO-1) DEĞİŞİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Yusuf AYIKGÖZ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Mehmet Salih AYDIN**

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fonu Saymanlığı tarafından 18112  
Proje numarası ile desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA  
2019**

T. C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

**JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI**

Yusuf Ayıkgöz' ün hazırladığı **KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA NUCLEAR FACTOR ERYTHROİD2-RELETED FACTOR 2 (NRF2), TÜMOR NEKROZ FACTÖR ALFA PROTEIN (TNF-A), HEME OXYGENASE-1 (HO-1) DEĞİŞİMİ**" başlıklı çalışması 11/06/2019 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek **Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**BAŞKAN**  
**Prof. Dr. Mustafa GÖZ**  
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Kalp Damar Cerrahisi A.D. Öğretim Üyesi

**ÜYE**  
**Doç. Dr. Mehmet Salih Aydın**  
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Kalp Damar Cerrahisi A.D. Dalı Öğretim Ü.

**ÜYE**  
**Doç. Dr. Aydemir Koçarslan**  
Kahramanmaraş Sütcü İmam Ün. Tıp Fakültesi  
Kalp Damar Cerrahisi A.D. Öğretim Üyesi

Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 20.10/2019 tarih ve 2019/10/02..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ**  
**Enstitü Müdürü**



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi ve desteğini esirgemeyen başta danışman hocam Prof. Dr. Mustafa GÖZ olmak üzere Doç. Dr. Mehmet Salih AYDIN'a, Harran Üniversitesi perfüzyonistlerine, tez çalışmam boyunca bana yardımcı olan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Yusuf AYIKGÖZ



# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
TABLolar DİZİNİ .....	v
KISALTMALAR VE SİMGELER .....	vi
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	viii
1.GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Kardiyopulmoner Bypass ve Tarihçesi .....	3
2.2. Kardiyopulmaner Bypass Ekipmanları .....	6
2.2.1. Venöz Rezervuar .....	7
2.2.2. Pompa .....	8
2.2.3. Oksijenetör .....	11
2.2.4. Filtreler .....	13
2.2.5. Kanüller .....	14
2.2.6. Isı Değiştirici .....	15
2.2.7. Tüp Set .....	15
2.3. Kardiyopulmaner Bypass Çalışma Prensipleri .....	16
2.4. Kardiyopulmaner Bypass'ın İstenmeyen Etkileri .....	17
2.4.1. Arteriyel ve Venöz Kanülasyonuna Bağlı Komplikasyon ve Sorunlar .....	17
2.4.2. Kalp Akciğer Pompasının Kendisine ait Komplikasyonlar .....	18
2.4.3. Vucut ve Sistemler üzerine Olumsuz Etkiler .....	18
2.5. Kardiyopulmaner Bypass'ın Sırasında Oluşan Oksidatif Stres .....	22
2.5.1. Oksidatif stres Oluşturan Etmenler .....	23
2.5.2. Antioksidan Savunma Sistemleri .....	24
2.6. Hem Oksijenaz (HO-1) .....	25
2.7. Nükleer Faktör E2 İlişkili Faktör 2 .....	28
2.7.1. Nrf 2 ile Oksidatif Stres İlişkisi .....	29
2.7.2. Nrf 2, HO-1, Sinyal Yolu .....	30
2.8. TNF- $\alpha$ .....	31

<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	35
3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	35
3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler.....	35
3.3. Kan Plazmasının Eldesi.....	36
3.4. Nrf 2, HO-1, TNF- $\alpha$ Gen İfade Düzeyi İçin Total RNA (mRNA) İzalasyonu.....	36
3.5. Nrf 2, HO-1, TNF- $\alpha$ Gen İfade Düzeyi mRNA'dan cDNA Eldesi.....	37
3.5.1.Nrf 2, HO-1, TNF- $\alpha$ Gen İfade Düzeyi İçin Plazmada Elde Edilen cDNA'lardan Kalite ve Miktar Tayini.....	38
3.6. Plazmada Nrf 2, HO-1 ve TNF- $\alpha$ Gen İfade Düzeyi İçin PCR Protokolü.....	39
<b>4. BULGULAR ve SONUÇLAR</b> .....	40
4.1. TNF- $\alpha$ Analizi.....	40
4.2. NRF-2 Analizi.....	41
4.3. HO-1 Analizi.....	42
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	43
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	46
<b>7. EKLER</b> .....	56
EK-1.Etik Kurul.....	56
EK-2.Orjinallik Beyan Raporu.....	57
EK-3.Turnutin.....	58
EK-4.Tez Veri Giriş Formu.....	59

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1.Kardiyopulmoner Cihazı Ekipmanları.....	6
Şekil 2.2.Venöz Rezervuar .....	7
Şekil 2.3.Pompalar .....	8
Şekil 2.4.Roller Pompa .....	9
Şekil 2.5.Santrifugal Pompa .....	10
Şekil 2.6.İmpeller Pompa.....	11
Şekil 2.7.Membran Oksijenatör .....	12
Şekil 2.8.Arteriel Filtreler .....	13
Şekil 2.9.Tüp Set.....	16
Şekil 2.10.Kardiyopulmoner Bypass Devresi .....	17
Şekil 2.11.Hem Oksijenaz Reaksiyonu .....	26
Şekil 2.12.Nrf 2 / HO-1 Sinyal Yolağı .....	31
Şekil 2.13.TNF- $\alpha$ Aktifleştirmesi ve Reseptör Bağlanması Sonrası Sinyalizasyon Aşamaları .....	32
Şekil 2.14.TNF- $\alpha$ Homotrimerik Yapısı .....	33
Şekil 2.15.TNF- $\alpha$ Reseptör Sonrası Sinyal Basamakları.....	34
Şekil 4.1.TNF- $\alpha$ Analiz Grafiğı .....	40
Şekil 4.2.NRF-2 Analiz Grafiğı .....	41
Şekil 4.3.HO-1 Analiz Grafiğı .....	42

## TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

<b>Tablo 3.1.</b> mRNA'dan cDNA eldesi için revers transkriptaz PCR reaksiyon karışımı .....	38
<b>Tablo 3.2.</b> mRNA'dan cDNA eldesi için reaksiyon karışımı.....	38
<b>Tablo 3.3.</b> Nrf 2, HO-1 ve TNF- $\alpha$ ifade düzeyi için qRT-PCR bileşenleri.....	39
<b>Tablo 3.4.</b> Nrf 2, HO-1 ve TNF- $\alpha$ İçin eş zamanlı PCR ayarları .....	39
<b>Tablo 3.5.</b> Kullanılan primer dizileri.....	39





## KISALTMALAR VE SİMGELER

<b>CPB</b>	: Kardiyopulmoner Bypass
<b>MPV</b>	: Mean Platelet Volüm
<b>Total CPB</b>	: Total Kardiyopulmoner Bypass
<b>Parsiyel CPB</b>	: Parsiyel Kardiyopulmoner Bypass
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Karbondioksit
<b>SVC</b>	: Süperior Vena Kava
<b>IVC</b>	: İnferior Vena Kava
<b>PO<sub>2</sub></b>	: Parsiyel Oksijen Basıncı
<b>PCO<sub>2</sub></b>	: Parsiyel Karbondioksit Basıncı
<b>Hct</b>	: Hemotokrit
<b>Lt</b>	: Litre
<b>Aptt</b>	: Aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı
<b>PTZ</b>	: Protrombin zamanı
<b>ACT</b>	: Aktive edilmiş pıhtılaşma zamanı
<b>INR</b>	: Uluslararası nötralleştirilmiş oran

## ÖZET

### KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA NUCLEAR FACTOR ERYTHROİD 2-RELATED FAKTÖR 2 (NRF2), TÜMOR NEKROZ FAKTÖR ALFA PROTEİN (TNF- $\alpha$ ), HEME OXYGENASE-1 (HO-1) DEĞİŞİMİ

Yusuf AYIKGÖZ

**Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Perfüzyon Teknolojisi, Yüksek Lisans Tezi**

Açık kalp ameliyatlarının yapılabilmesi için kalp akciğer makinesi kullanılmaktadır. Kalp akciğer makinesi sayesinde hastanın akciğerleri ve kalbi devre dışı bırakılarak hareketsiz ve kansız bir ortamda cerrahi operasyon yapabilmek mümkün hale geliyor. Kanül ve setler aracılığıyla hastadan alınan kan kalp akciğer makinesine alınıp oksijenlendikten sonra tekrar hastanın aort damarından dolaşıma dönmesi sağlanmaktadır. Bizim yaptığımız bu çalışmamızdaki amacımız kardiyopulmoner bypass (CPB) nuclear factor erythroid2-releted faktör 2 (nrf2), tümör nekroz faktör alfa (tnf- $\alpha$ ), heme oxygenase-1 gen ekspresyonu üzerine etkisi.

Ocak 2018 - Haziran 2018 tarihleri arasında elektif şartlarda açık kalp cerrahisi uygulanan 15 hasta çalışmaya dâhil edildi. Çalışmaya katılan 15 hastadan preoperatif ve operasyon esnasında ve operasyon sonrası 24 saat alınan kanlarda çalışma yapıldı.

Çıkan sonuçlara göre TNF- $\alpha$ , Nrf2, HO-1 ameliyat öncesine göre ameliyat esnasında gen ekspresyonu artmakta ve operasyon sonrası bu değerler azalmaktadır.

Litaratürdeki kan çalışmaları ile korele olan gen ekspresyonu bir sonraki çalışmalar için yön gösterici olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Kardiyopulmoner bypass, nuclear factor erythroid 2-releted faktör 2, tümör nekroz faktör alfa protein, heme oxygenase-1

## **ABSTRACT**

### **NUCLEAR FACTOR ERYTHROID 2-RELATED FACTOR 2 (NRF2), TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA PROTEIN (TNF- $\alpha$ ), HEME OXYGENASE-1 (HO-1) CARDIOPULMONARY BYPASS**

**Yusuf AYIKGÖZ**

**Department of Cardiovascular Surgery, Perusion Tecnology, Master's Thesis**

The heart lung machine is used to perform open heart surgeries. Thanks to the heart lung machine, the patient's lungs and heart are disabled and surgical operation can be performed in a still and bloodless environment. The blood taken from the patient through the cannula and the sets is taken into the lung machine and then oxygenated again and the patient is returned to the circulation from the aorta. The aim of this study is to determine the effect of cardiopulmonary bypass (CPB) on nuclear expression erythroid2-related factor 2 (nrf2), tumor necrosis factor alpha (tnf- $\alpha$ ), heme oxygenase-1 gene expression.

Fifteen patients who underwent open heart surgery under elective conditions between January 2018 and June 2018 were included in the study. Fifteen patients who participated in the study were operated preoperatively and 24 hours after the operation and after the operation.

According to the results, TNF- $\alpha$ , Nrf2, HO-1 increased gene expression during the operation and decreased these values after the operation.

Gene expression, which correlates with the blood studies in the literature, will be a guide for further studies.

**Keywords:** Cardiopulmonary bypass, nuclear factor erythroid 2-related factor 2, tumor necrosis factor alpha protein, heme oxygenase-1

# 1. GİRİŞ

Kardiyopulmoner Bypass (KPB) günümüzde açık kalp ameliyatının rutininde kalbe ait yapılacak ameliyatlarda kullanılan bir cihazdır. Cihazın ana çalışma mekanizması kanın fizyolojik olmayan ve vücut dışı dolaşım ile sağlanması mantığı ile çalışmasıdır. Endotel içermeyen hatlar, gaz ve zerrecik embolileri ve shear stresi (kayma gerilmesi) içeren akım değişiklikleriyle tüm teknik gelişmelere ve gittikçe artan tecrübelerle rağmen bütün doku ve organlara yıkıcı etki yapmaktadır.

KPB sırasında uygulanan rezistans değişiklikleri ve nonfizyolojik akım organ perfüzyonunu etkiler. Bu zararlı etkiler başta ana sistemler olmak üzere ki bunlar santral sinir sistemi, kalp, akciğer, böbrek, gastrointestinal sistem ve endokrin sistemleridir. Bunun dışında en önemli ve görünürde hemen tespit edilen hemogram parametreleri ve kanama pıhtılaşma profilleri üzerinedir. Bunun ana sebebi kanın non fizyolojik yabancı materyallerde dolaşması ve heparin uygulanmasıdır. Bunların birçoğu vücut savunma sistemlerini aktive etmekte ve savunma parametrelerini tüketmektedir ve bu yapılan çalışmalarda en az 5 gün sürdüğü izlenmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda hemogram alt parametrelerinin birçoğunun çalışıldığı görülmüştür.

Bizim bu çalışmamızda hastadan ekstra bir girişim yapılmaksızın sadece ameliyat esnasında ve operasyon sonrası 7 gün bakılan kan değerinde Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (Nrf2), Tümör Nekroz Faktör Alfa Protein (Tnf- $\alpha$ ), Heme Oxygenase-1 (HO-1) değerlerine bakılması amaçlanmaktadır. Oksidatif strese karşı oluşan savunma sisteminin Nrf2 eksenli olduğu kabul edilmektedir. Nrf2'nin yapılan deneysel çalışmalarla diyabet başta olmak üzere serebral iskemi, kanser, nörodejenerasyon, ateroskleroz ve çok sayıda diğer inflamatuvar durumlar için koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Normal şartlar altında, Nrf2 sitoskeleton-ilişkili protein olan Keap1 tarafından sitoplazmada alıkonulmaktadır. Tnf- $\alpha$  proteini, Nrf2 ubiquitinasyonu ve proteazomol yıkımını sağlayarak, Nrf2 negatif düzenleyicisi olarak görev yapmaktadır. Nrf2 yüksek ekspresyonunun, reaktif oksijen türlerine karşı hücrel savunmada önemli rolleri olan NAD(P)H, kinon oksidoredüktaz (NQO1), glutatyon S-transferaz (GST), hem oksijenaz-1 (HO-1) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi ARE bağımlı antioksidan enzimlerin ekspresyonunu arttırdığını rapor edilmiştir. Bu

Çalışmamızdaki ana amaç kardiyopulmoner bypass sırasında ve sonrasında bu değişiklikleri tespit edip bilim çevresi ile paylaşmaktır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kardiyopulmoner Bypass ve Tarihçesi

Kalbin işlevini ve oksijen-karbondioksit değişiminin vücudun dışında belirli bir süre ile ‘kalp-akciğer makinesi’ adı verilen bir makine ile gerçekleştirilmesi olayına KPB veya EKD (Ekstrakorporeal Dolaşım) denir. Açık kalp cerrahisi oksijenlenmiş kanın ve pompanın fizyolojik organ perfüzyonunun ihtiyaçlarını karşılayabilecek en uygun şekilde düzenlenmesini gerektirir. İlk suni Kardiyopulmoner bypass makinesi Frey ve Gruber tarafından 1885’de yapılmıştır. John Gibbon “kalp-akciğer makinesinin” (Ekstrakorporeal dolaşım) ilk başarılı kullanımını 1953 yılında gerçekleştirmiştir (1).

Kardiyopulmoner bypass cihazı, açık kalp cerrahisi ameliyatının yapılmasına ciddi bir imkân sağlayan modern tıbbın en önemli icatlarından biridir. EKD’de kan ve kanın ihtiva ettiği komponentler yabancı madde ve yüzeylerle temas etmektedir. EKD sonrası kardiyak, pulmoner, serebral ve renal fonksiyonlarda ciddi patolojik bozukluklar ile belirgin koagulopatiler gözlenmiştir. Bunlarla beraber, vücutta ateş, kapiller permeabilitede artış, interstisyel sıvı birikimi ve lökositozla seyreden sistemik inflamatuvar yanıt saptanmıştır (2). Yapılan çalışmalarda EKD sırasında meydana gelen kompleman sistemi aktivasyonunun cerrahi sonrası birçok etkisinden sorumlu olduğunu belirtmektedirler(3).

Fallot Tetralojisi(TOF), en sık gözlenen siyanotik konjenital kalp hastalığıdır (SKKH). Konjenital kalp hastalıkları arasında yaklaşık olarak %9,4 oranında görülür (4). ABD’de yılda yaklaşık 3000 yeni vaka tanısı koyulmaktadır (5). İlk olarak Fransız hekim Dr. Etienne Fallot tarafından 1888’de tanımlanmıştır (4). İlk cerrahi girişim Alfred Blalock’un Johns Hopkins Üniversitesi’nde sistemik dolaşım ile pulmoner dolaşım arasına yaptığı şanttır (6). İlk kalp içi cerrahi müdahale Lillehei ve Varco tarafından Minnesota Üniversitesi’nde 1954’te yapılmıştır (7). Sağ ventrikül çıkım darlığı (SVÇD), darlık derecesi hastanın siyanoz derecesini belirlemektedir (8).

Geçtiğimiz yüzyılda fizyologlar izole organların perfüzyonuyla ilgilenmiş ve bu amaçla kanda oksijenle karbondioksitin yer değiştirmesini sağlayacak bir yöntem geliştirme ihtiyacı duymuşlardır. Von Frey ve Gruber 1885’de dönen bir silindir içine yerleştirilen ince bir film üzerinden geçmesiyle gaz değişiminin elde edildiği bir pompa tarif etmişlerdir (9).

1895’de Jacobi kanı, çıkarılmış ve mekanik bir yöntemle oksijenlendiren bir hayvan akciğerinden geçirmiştir (10). 1926’da Rusya’da SS Brunkhonenko ve S Tchetchuline hayvan akciğeri ve iki pompa kullanarak bir cihaz geliştirmişler ve bu makineyi ilk olarak organ dolaşımında daha sonra da deneğin tüm perfüzyonunu sağlamak için kullanmayı denemişler (11). Kardiyopulmoner bypass cihazının gerektirdiklerinden en önemlisi antikoagülasyondur. Bu amaçla kullanılan ‘Heparin’ 1915’te henüz bir tıp öğrencisi olan Jay McLean tarafından bulunmuştur (12). Sonuçlar 1916’da bildirilmiş, 1920’de yapılan deneyde denekler üzerinde heparinin etkili bir antikoagülan olduğu gösterilmiştir (13).

John Gibbon’un Kardiyopulmoner bypass cihazının geliştirilmesine olan katkıları herkesten daha fazla olmuştur. Bu yöndeki ilk fikir 1931’de masif pulmoner embolisi olan bir hastanın başında ortaya çıkmıştır (14). Kanın venöz sistemden alınıp bir cihazda oksijen ve karbondioksitin değişiminin sağlanacağı daha sonra bir pompa vasıtasıyla sistemik arteriyel dolaşıma tekrar katılmasını sağlayacak olan sistemin fikri ‘kalp-akciğer cihazı’nın temeli olarak doğmuştur. Gibbon’un çalışmaları bunu takip eden 20 yıl boyunca Massachusetts General Hospital’da sürmüştür. Gibbon ilk kez 1937’de hayatın devamının yapay bir kalp ve akciğer sistemi ile devam ettirilebileceğini bildirmiştir (15). Gibbon’ın çalışmaları II. Dünya Savaşının çıkmasıyla durmuştur. Bu sürede J Jongbloed Hollanda’da, Clarence Crafoord İsveç’te, Mario Dogliotti İtalya’da ve Clarence Dennis Minnesota’da Kardiyopulmoner bypass cihazı üzerine çalışmalar yapmışlardır (16). Clarence Dennis 1951’de KPB cihazını klinikte ilk kez kullandı (17). Büyük kalbi olan ASD’li 6 yaşındaki bir kız çocuğu başarıyla KPB makinesine bağlandı. Ameliyat zorlukla gerçekleştirilmiş olsa da hasta kan kaybı ve cerrahi nedenle oluşan triküspid stenozu sebebiyle kaybedildi. Bu ameliyatta ‘Kardiyopulmoner bypass makinesi’nin başarılı bir şekilde çalıştığı görüldü. Ağustos 1951’de Mario Digliotti, KPB cihazı’nı büyük bir mediastinum tümörünün çıkarılması esnasında kullandı (18).

Parsiyel bypass (1 L/dk) ile tümör başarıyla çıkarıldı. Digliotti makinesini hiçbir zaman insanlarda ameliyat amaçlı kullanmadı. Forrest Dodrill, pompasını 1952'de sol bypass için kullanmış ve 50 dakika boyunca sol ventrikülü devre dışı bırakarak mitral kapak ameliyatını ilk olarak başarıyla yapmıştır (19). Daha sonra Dodrill bu cihazı 16 yaşındaki pulmoner stenozlu bir çocukta kullandı ve ilk başarılı sağ kalp ameliyatını gerçekleştirdi (20).

II. Dünya Savaşı'nın sona ermesiyle John Gibbon araştırmalarına devam etmiş ve IBM işbirliğiyle temelde ilk cihazına benzeyen bir KPB cihazı yapmıştır (21). Gibbon'ın köpeklerde yaptığı deneylerde mortalite oranı %80 iken bu oran zamanla düşmüştür. İlk vakası 15 yaşında, ASD'si olan bir kız olmuş fakat ameliyatta ASD bulunamamış ve hasta kaybedilmiştir. Daha sonra yapılan otopside geniş bir Patent Duktus Arteriyosuz (PDA) bulunmuştur. Sonraki hastası yine ASD'si olan 18 yaşında genç bir kızdır ve ASD Mayıs 1953'te başarılı bir operasyon ile kapatılmıştır (22). Bundan sonraki iki hastayı kaybedince Gibbon çalışmalarını durdurmuştur. Bu sıralarda C Walton Lillehei University of Minnesota'da kontrollü 'cross-sirkülasyon' adı verilen yeni bir teknik üzerinde yoğunlaşmaktaydı. Bu teknikte amaç bir köpeğin perfüzyonunu belirli süre için diğer bir köpeğin perfüzyonu ile desteklemektir. Bu tekniğe, sağlıklı bir insanın tehlikeye atılması konusunda yoğun bir eleştiri yağmuru gelmiş fakat yine de o zamanki KPB cihazlarıyla alınan kötü sonuçlar bu yöndeki ilerlemeyi cesaretlendirmiş ve ilk olarak Mart 1954'te VSD'si olan 1 yaşındaki bir çocuk ameliyat edilmiştir. Ancak ameliyattan sonraki 10. günde akciğer enfeksiyonu sebebiyle hasta kaybedilmiştir (23). Otopsi sonucunda da VSD'nin kapalı olduğu bildirilmiştir. 1955'te Lillehei VSD, Fallot tetralojisi ve atrioventriküler kanal defektleri dâhil 32 hastayı ameliyat etmiş ve yayınlamıştır. Temmuz 1955'te cross-sirkülasyon sistemine DeWall ve Lillehei tarafından icat edilen bir 'bubble oksijenatör' ilave edilerek yeniden geliştirilmiştir. cross-sirkülasyon tekniği bundan sonra kullanılmamıştır (24). O zamanda 5 Mart 1955'te JW Kirklin açık kalp ameliyatlarını Mayo Clinic'te başlattı (25). Gibbon-IBM makinesi üzerine geliştirdikleri bir KPB cihazını kullanmışlardır. Bu cihazın kullanıldığı birçok ameliyat başarılı olarak sonuçlanmıştır. Bu yıllarda Kirklin ve Lillehei dünyada KPB cihazını kullanarak yaptıkları ameliyatlara ile hem birer düşman hem de iyi birer dost olmuşlardır. 1956 yılında artık birçok cerrahi grup açık kalp ameliyatlarını çekinmeden başlatmışlardır. Artık günümüzde kalp-akciğer cihazı

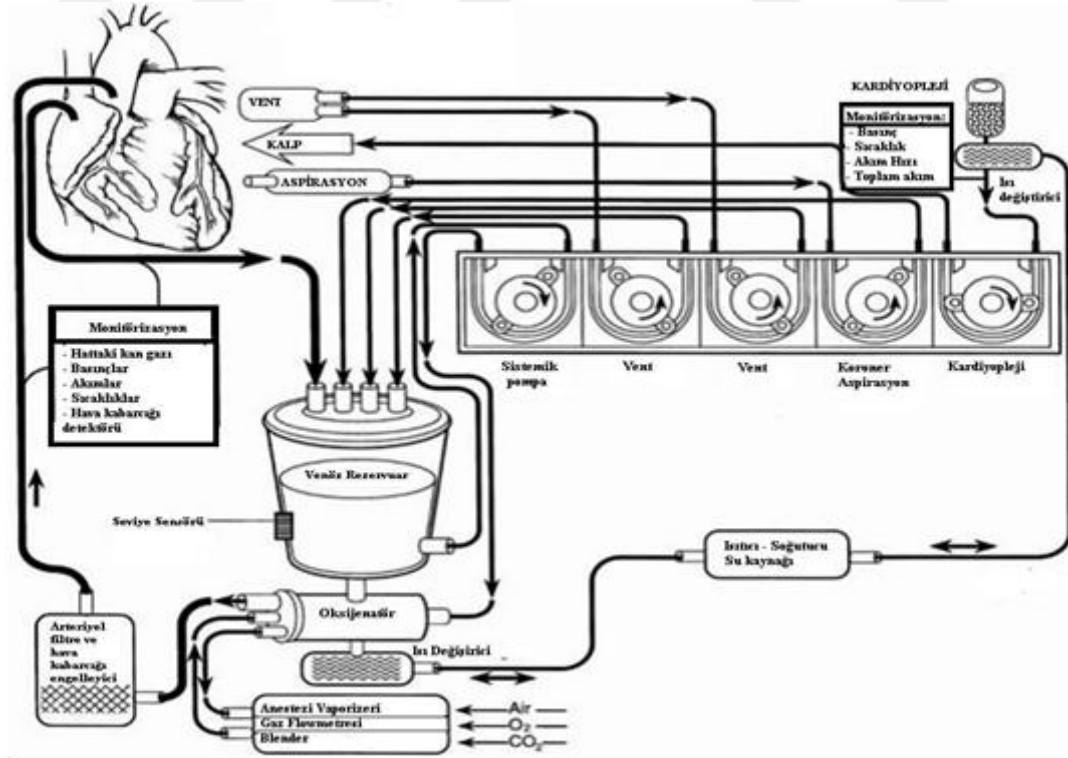


kullanılarak binlerce ameliyat yapılmaktadır. Bununla birlikte mortalite bazı ameliyatlarda %1 e yaklaşacak kadar azalmıştır.

## 2.2. Kardiyopulmoner Bypass Ekipmanları

Kalp Akciğer Makinesinin temel bileşenleri (Şekil 1) :

- a) Venöz Rezervuar
- b) Oksijenatör
- c) Kanüller
- d) Venöz Kanüller
- e) Arteriyel Kanüller
- f) Isıtıcı-Soğutucu
- g) Tüp Set
- h) Filtreler
- i) Pompa Kafası



Şekil 2.1. Kardiyopulmoner Cihazı Ekipmanları (26).

KPB makinesine birçok ilave sistem eklenebilir. Sistemde bazı ilaçların eklenebilmesi ve kan örneği alımı için harici hatlar mevcuttur. Aynı zamanda cerrahi alandan emme kuvveti yardımı ile çekilen dilue olmuş kan elemanlarının, yıkanıp bir filtreden geçirilerek süzülen kanın hastaya tekrar verilmesini sağlayan sistemler (cell saver sistemi) de KPB makinesi donanımlarından sayılabilir (26).

### 2.2.1. Venöz Rezervuar

Bir veya birkaç kanül aracılığıyla sağ atriumdaki ya da vena kava superior (VCS) ve vena kava inferiordaki (VCI) kanın toplandığı kısımdır. Drenaj hidrostatik basınç gradiyentine bağlı olarak değişebilir. Bu yüzden KPB makinesinin seviyesi ameliyat masası seviyesinin altında olmalı ve bu sayede hidrostatik basınç farkını artırmalıdır.

Rezervuar sistem kan, sıvı ve ilaç vermek için de kullanılır. Ayrıca rezervuarın belirli bir seviyenin altına düşmemesi gerekir; şayet düşerse ana pompaya hava girmesi muhtemel olduğundan kritik olan seviyenin takibi gerekir (27) (Şekil 2).



Şekil 2.2. Venöz Rezervuar (27).

### 2.2.2. Pompa

Ameliyatlarda kalp görevi üstlenen pompa yer çekimi etkisiyle gelen venöz kanı oksijenatöre sonra da hastaya gönderir. Pompalar daimi akım sağlayan(nonpulsatil) ya da kesintili akımlı (pulsatil) şekillerde olabilmektedirler (28). KPB süresince oksijenatör akciğer görevi görürken pompa da kalp görevi görür. Pompanın görevi venöz sistemden yer çekimin etkisi ile venöz rezervuara gelen kanı oksijenatörde oksijenlendirip arter hattı ile dolaşıma basınç ile pompalamaktır. Ayrıca ameliyat sahasındaki kanı aspire, kalbi dekomprese etmek ve kardioplejik solüsyonu vermek için de ek pompa başlıklarıyla beraber kullanılmaktadır. İdeal bir pompada bulunması gereken özellikler; kanın şekilli ve şekilsiz komponentlerine travmatize edici etkisinin olmaması, hayati organların perfüzyonunu en az minimum seviyede sağlayabilmesi, hava ve partikül emboli riskini engelleyebilmesi, kullanımının kolay ve kullanılabilir süresinin uzun olmasıdır. Bununla birlikte arzu edilen bütün bu özellikleri bir arada bulunduran bir pompa mevcut değildir (29). Kalp cerrahisinde 3 tip pompa başlığı kullanılmaktadır. Bu pompalar: roller pompa, sentrifugal ve impeller pompasıdır (Şekil 3).

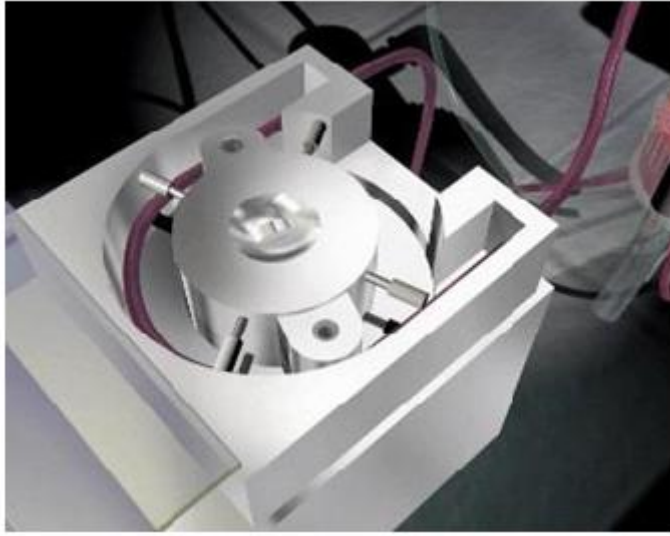


Şekil 2.3. Pompalar (29).

#### Roller Pompa

KPB’de kullanılan roller pompaların pompa tasarımında küçük değişiklikler içeren pek çok marka ve model mevcuttur ve hepsinin çalışma prensibi aynıdır. KPB cihazında ana konsül üzerinde bu tip pompa başlıklardan birkaç tane vardır ve bir tanesi arteryel pompa olarak; diğerleri aspirator, vent ve kardiopleji için kullanılmaktadır.

Pompanın akım hızı tüpün çapı ve devir sayısı ile bağımlı olup tüpün çapı büyüdükçe devir sayısı azalmaktadır. Bu tip pompalardaki pompa başlığının devir sayısı ile eritrosit hasarı arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. Bunun yanında KPB uygulamalarında oluşan hemolizin çoğunluğundan, usulüne uygun kurulmuş olan arteryel pompa başlığının değil aspirator ve vent hatlarındaki hava yüzey etkileşiminin sorumlu olduğu bildirilmektedir (30). Oklüzyon ayarı iyi yapılmamış olan pompalarda devir sayısına bağlı olarak hemoliz miktarı artış gösterebilir (31).



**şekil 2.4.** Roller pompa (32)

Roller pompalar dirençten bağımsız çalışırlar, yani önlerindeki direnci dikkate almadan pompalama faaliyetlerini devam ettirebilirler. KPB cihazında arteryel pompanın önündeki direnç; arteryel hat filtresine, hatların uzunluğuna, arter kanlne ve hastanın damar direncine bağlıdır. Pouseuille kanuna göre; akıma karşı en büyük direnç, akımın en dar olduğu yerde yani arter kanülünün ucunda olmaktadır. KPB esnasında arteryel pompanın önündeki bu basınç daima kontrol edilmelidir. Arter hattı için normal değer olarak 100-350 mmHg olarak belirlenebilir. Arteryel hatta katlanma ya da istemsiz klemeleme gibi durumlar hat basıncını ani olarak yükseltir ve bir basınç sensörü mevcut değilse hatlar yırtılabilir. Kanülasyon sırasında kanül ucu intimaya dayanabilir ve sonucunda ya arter hattında direnç oluşturur ya da diseksiyona sebep olabilir. Bu nedenle kanülasyon sonrası düşük flow ile kontrol edilmelidir (32).

## Santrifugal Pompa

KPB’de kullanılan bir diğer pompa tipi santrifugal pompadır. Santrifugal pompanın çalışma prensibi, pompa konsülünde bir mıknatısla elektromanyetik kuvvet oluşturarak bunu pervaneye ya da pompa başlığındaki polikarbonatla kaplı koniye iletmek ve kan akımını sağlamaktır. Santrifugal pompalar basınca duyarlı çalışırlar. Kan akımı direnç ile ters orantılıdır yani kan akımı direnç ile uyumludur ve emniyet oluşturur. Dirençteki anormal artış durumlarda pompadan kana iletilen kuvvet hattın yırtılmasına engel olacaktır. Kalp damar cerrahisine 1977’de giren santrifugal pompaların rutin KPB’de kullanımı gittikçe artmaktadır. Santrifugal pompalar bilhassa uzun süreli KPB uygulamalarında tercih edilirken günümüzde birçok neonatal merkezlerinde akciğer fonksiyon bozukluklarının tedavisi ve kardiyak destek sağlamak maksadıyla ekstrakorporal membran oksijenasyon (ECMO) cihazlarında da kullanılmaktadır (33).



Şekil 2.5. Santrifugal Pompa (33).

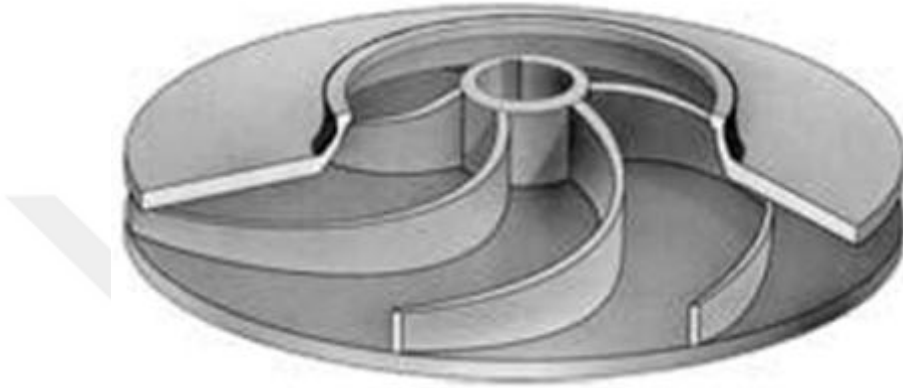
Santrifugal pompanın roller pompaya göre üstünlükleri:

- Kan elemanlarının daha az travmasının olması,
- Hatlara daha az darbe yapması,
- Prime volumünün az olması sebebiyle hava çıkarması ve kurulmasının kolay olması,
- Orta derece basınçla yüksek kardiyak output sağlaması,
- Hava ve partikül emboli riski az olması

- f) Pompanın ana konsülüne gerek olmadığı için taşınma kolaylığının olması şeklinde bildirilmektedir (34).

### **İmpeller Pompa**

İmpeller pompalar sürekli dönen çarklar yardımıyla çalışır, böylece çarklar kanı hızlı bir şekilde çevirir ve kan pompanın çıkışına doğru yollar (35).



**Şekil 2.6.** İmpeller pompa (35).

### **2.2.3. Oksijenatörler**

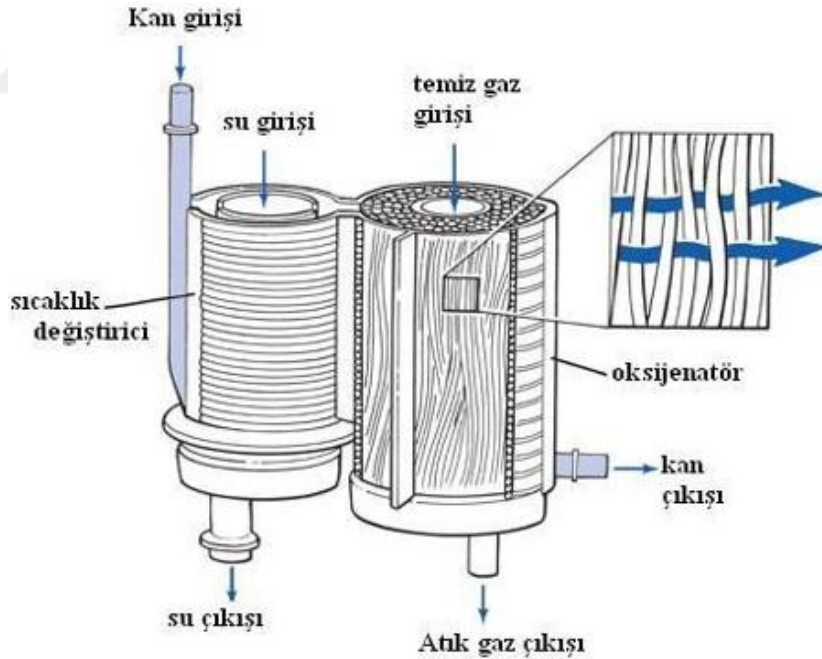
Oksijenatörlerdeki amaç kanı geniş bir yüzeye yaymak ve oksijenle temasını sağlamaktır. Bu şekilde kanın oksijenlenmesi sağlanır. Bu sırada en önemli işlev kanın hemolizini engellemek ve kanın şekilli elemanlarının zarar görmesini engellemektir. Yani oksijenatör kısaca akciğerlerin işlevini yerine getirmektedir. Oksijenatörleri Membran oksijenatörler ve Bubble oksijenatörler olmak üzere ikiye ayırabiliriz. Günümüzde membran oksijenatörler kullanılmaktadır (36)

### **Bubble Oksijenatörler**

Oksijenatörlerde, hava kabarcıkları kan içindeki küçük boşluklardan geçer. Bu sistemde oksijen direkt oksijensiz kanla düfüzyon alanında karşılaşır. Yani bubble oksijenatörde oksijen direkt olarak venöz kanla sahada karşılaşır. Dezavantajları ise özellikle uzun süren KPBZ'lerinde kanın şekilli komponentlerinin zarar görmesidir. KPB'nin iki saatten daha az süreceği ameliyatlarda oksijenatörler için farklılık bulunmamaktadır (37).

## Membran Oksijenatör

Membran oksijenatörlerde gaz ve kan teması olmaz, ince bir membran üzerinde oksijen ve karbondioksit geçişi olur ve sistem karbondioksitin uzaklaştırılmasını sağlar. Membran oksijenatörde oksijen-karbondioksit değişiminin esas belirleyicileri kandaki çözünürlükleri ve difüzyon katsayıları ile membrandaki kısmi basınç farklarıdır. Bu oksijenatörde kan daha az zarar görür. Karbondioksit ve oksijenin değişimleri birbirlerinden bağımsız olmaktadır. Böylece gaz oranı yükseltilerek kanın oksijenlenmesi etkilenmeden karbondioksit elemi artırabiliriz. Karıştırıcı yardımıyla %100 oksijen yerine kuru hava ve oksijen karışımı kullanılabilir. Böylece oksijenin kısmi basıncı daha kontrol edilebilir hale gelir. Akciğerin oksijenin değişim yüzey alanına (100 m<sup>2</sup>) ne kadar çok benzerlik sağlanabilirse, membran oksijenatörlerdeki gazın kana geçişindeki basınç azalabilecek ve kan travması, inflamatuvar yanıt ve komplikasyonlar o derecede azalacaktır (38).



Şekil 2.7. Membran Oksijenatör (38).

#### 2.2.4. Filtreler

Açık kalp cerrahisi sırasında kanın damar endoteli dışında bir yüzeye teması sonucu başlayan olaylar trombositlerin agregasyonuna ve pıhtı oluşumuna yol açarak emboli nedeni olurlar. Ayrıca sisteme mediastinal aspirasyon yoluyla giren yağ partikülleri ve denatüre protein partikülleri de mikroembolilere sebep olabilirler (39).



Şekil 2.8. Arteriel Filtreler (40).

Bu mikroembolilerin önlenmesi için filtre sistemleri kullanılmaktadır. Filtre sistemleri gaz mikroembolileri ile birlikte yağ, fibrin gibi parçacıklı mikroembolileri yüksek direnç oluşturmadan yakalamak için kullanılır. Kardiyopulmoner bypass devrelerinde kullanılan filtreler, derin ve tarama filtreleri olmak üzere iki çeşittir. Derin filtreler, paketlenmiş fiberden ya da porlu köpükten yapılırlar. Tarama filtreleri ise dokuma polyesterden veya naylondan yapılan standart boyutta porlar bulduran filtrelerdir. Filtreler arteriyel hat, venöz rezarvuvar ve gaz hattı gibi birçok yerde bulunabilir. Tarama filtreleri, mikroembolilerin arteriyel dolaşımdan geçerek hastanın dolaşımına girmesini önler. Arteriyel hat filtresi hava embolisini yakalamada efektiftir, dolayısıyla kardiotomi emici rezervuar mikrofiltre sistemleri ile birlikte rutin olarak kullanılmaktadırlar. Bu filtreler ile yakalanan hava sistemden çıkarılır.



Bu filtrelerin uzayan KPB vakalarında gaz filtrasyon kapasiteleri zaman içinde düşer ve kanın şekilli elemanlarına zarar vermeye başlarlar. Ayrıca pompalama süresinin uzaması durumunda bu filtrelerin tıkanabileceği düşünülerek tüp set üzerinde bu filtreleri bypass edecek bir hat bulundurulması gerekir (40).

### **2.2.5. Kanüller**

Kanüller, KPB cihazı ve hastanın damar sisteminin birbirine bağlanmasını sağlarlar. Kanülasyonun amacı, venöz hatla oksijensiz kanı rezervuara alıp pompa yardımıyla oksijenatörde oksijenlendirip arteriyel kanülasyon ile hastanın sistemik dolaşımını devam ettirmektir. Kullanım yerlerine ve işlevine göre arteriyel kanül venöz kanül, kardiyopleji kanülü gibi çeşitlidirler.

#### **Venöz Kanül**

Venöz kanüller, hastanın oksijensiz kanını venöz sistemden ekstrakorporal sisteme yer çekimi kuvveti ile rezervuara toplar. Kanülasyon bölgesi cerrahi tekniğe göre farklılıklar gösterir. Sağ atriya tek two-stage kanül ile kanülasyon, bikaval yöntemi ile süperiyor vena kava ve inferiyor vena kavaya eğri ve düz kanüllerle kanülasyon ve düz uzun kanül ile femoral kanülasyon yapılabilir. Konjenital vakalarda two-stage kanülasyon çok az kullanılır.

#### **Arteriyel Kanül**

Arteriyel kanül ise oksijenlenmiş kanı sistemik dolaşıma göndermek için kullanılır. Arteriyel kanüllerin boyutu, cerrahi prosedüre, kullanılacak yere göre değiştirilebilir. Genellikle asendes aortaya innominate arterinin 2-3cm altına(yetişkin) kanüle edilir. Farklı olarak, femoral arter kanülasyon, aksiller kanülasyon, desenden aorta kanülasyonu gibi cerrahi işlemlere göre de farklılıklar gösterir. Kanül boyu hastanın BSA'sına göre seçilmektedir.

### **2.2.6. Isı Değiştirici (Heat Exchanger)**

Isı değiştiriciler kardiyopulmoner bypass sırasında ısı kontrolü yapmak için önemlidir. Vücut ısısının ve buna bağlı olarak metabolizma hızının kontrol edilmesini sağlar. Isı değiştiricilerinin içinde sıcaklığı 1-42°C arasında değişen su dolaşır. EKD de genellikle orta derece sıcaklık (25-28°C) kullanılır. Yani hipotermi için kullanılır. Kan 40,5°C'nin üzerinde ısıtılması durumunda kan komponentleri hasar görür. Hastadan kanın girdiği ve çıktığı yerlerdeki ısı farklarından dolayı soğuması ısınmasından daha hızlı olur (41).

Sıcaklık değiştiricileriyle yetişkinlerde 30–36,5°C arasında dakikada 1–1,5°C düşüş sağlanabilir. Soğuma hızı ısı düştükçe yavaşlar. Isınma sırasında ise 1°C 3-4 dakika süresinde olmalıdır. Arteriyel hat ile venöz hat arasındaki ısı farkı erişkinlerde 10°C'yi, çocuklarda 8-9°C'yi aşarsa proteinler denatüre olur, eritrositlerin sıvı absorbe etmesi ile hemoliz artar ve mikroemboliler oluşabilir (41).

### **2.2.7. Tüp Set**

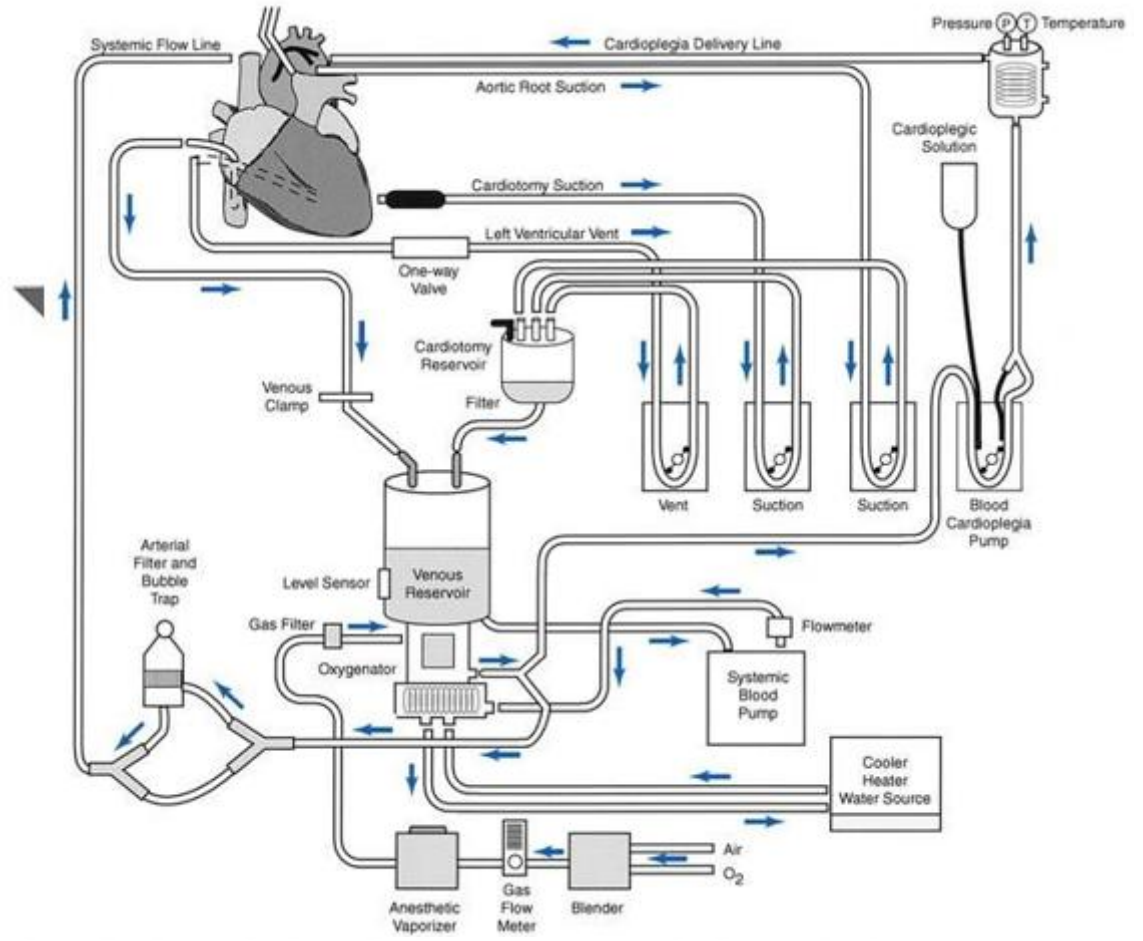
KPB cihazı ile ameliyat masası arasında bağlantıyı sağlamak için hazırlanmış sistemlerdir. Sistemler farklı çaplarda ve farklı duvar kalınlıklarında olabilirler. Silikon veya PVC malzemelerden üretilirler. Tüp set hastanın BSA'sına göre seçilir. Hatlar olabildiğince kısa tutulmalıdır. Böylece kan daha az yabancı yüzey ile etkileşime girmiş ve daha az zarar görmüş olur. Tüp set içinde, pompa baş hattı, venöz hattı, arter hattı, aspirator hatları, gaz hattı, hızlı prime hattı, arteriyel filter ve farklı boylarda konektörler mevcuttur.



**Şekil 2.9.** Tüp Set

### **2.3. Kardiyopulmoner Bypass Çalışma Prensibi**

Kardiyopulmoner bypass cihazının çalışma prensibi Şekil 2.10'da gösterildiği gibi, venöz kan, yer çekimi etkisiyle ya da vakum sistemi ile süperior vena kava (SVC) ve inferior vena kavaya (IVC) bikaval venöz kanülasyonla veya sağ atriyuma konulan tek kanül ile bağlanarak rezervuara drene olur. Burada kan yapay bir akciğer (bubble membran veya oksijenatör) boyunca hareket eder ve genelde roller pompa ya da santrifugal pompa yardımıyla asendan çıkan aorta yerleştirilmiş bir kanül yoluyla arteriyel sisteme pompalanarak geri döner. Kan bu esnada bir ısı değiştirici cihaz yardımıyla sistemde döndürülerek istenilen vücut ısısı değerine ulaşılır. Vücudun ihtiyacı olan perfüzyon bu yolla temin edilmiş olur.



Şekil 2.10. Kardiyopulmoner Bypass Devresi

## 2.4. Kardiyopulmoner Bypassın İstenmeyen Etkileri

Membran oksijenatör, hava ve filtre dedektörlerinin kullanımıyla gelişebilecek komplikasyonlar minimuma indirilmesine rağmen KPB'nin nonfizyolojik olmasından dolayı komplikasyon ihtimalini tamamen ortadan kaldırmak mümkün değildir. KPB'nin etkisi hastanın heparinizasyonundan sonra kanülasyonu ile başlar ve kalp-akciğer pompasından ayrılmasının ardından reperfüzyon döneminde devam eder (42).

### 2.4.1. Arteriyel ve Venöz Kanülasyona Bağlı Komplikasyonlar ve Sorunlar

Arter kanülasyonu sebebiyle gelişmesi muhtemel komplikasyonlar ateroemboli, kanülün uygunsuz yerleştirilmesi, arter yaralanması, kanama, arteriyel hatta yüksek basınç oluşması, diseksiyon, yetersiz veya fazla serebral perfüzyondur (42). Kardiyopulmoner bypass'da venöz kanülasyonu esnasında sinoatriyal düğüm hasarı

meydana gelebilir. Bu durum geçici ileti bozukluklarına sebep olabileceği gibi beraberinde kalıcı atriyum pili gerektirecek kalıcı ileti bozukluklarını da getirebilir. Sağ atriyal apendiksin kanülasyonu sırasında sıkışma nedeniyle sağ koroner arter hasar görebilir ve safen ile bypass gerekebilir (42).

İnferiyör kanülün fazla ilerletilmesi hepatik ven dönüşünü bozarak işlem sonrası hepatik fonksiyonlarda bozulma meydana sebep olabilir. Süperiyör kanülün fazla ilerletilmesi sonucu ise üst vücut bölgesinin venöz dönüşü bozularak serebral ödeme ve işlem sonrası nörolojik sorunlara neden olabilir (43).

#### **2.4.2. Kalp-Akciğer Pompasının Kendisine Ait Komplikasyonlar**

Bu komplikasyonlar genel olarak şunlardır;

- a. Masif hava yolu embolisi,
- b. Oksijenatör arızasına bağlı hipoksi gelişir.
- c. Elektrik arızalarına bağlı pompanın durması ile dolaşım yetmezliği gelişir.

#### **2.4.3. Vücut ve Sistemler Üzerine Olan Olumsuz Etkiler**

##### **Kalp Üzerine Olan Etkiler**

Açık kalp cerrahisinde, kros klemp sırasında oluşan miyokard iskemisi, reperfüzyon hasarı, inflamatuvar ve pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu KPB sonrası kardiyak fonksiyonlarda bozulmanın sebeplerinden sayılabilir. Reperfüzyon esnasında nötrofiller membran atak kompleks (MAC)-1 adezyon reseptörleri aracılığıyla kalp kas hücrelerine ve endotel hücrelerine yapışırlar böylece kardiyak disfonksiyon ve miyokard sıvı birikimi görülür. Kardiyak disfonksiyonda kullanılan iki terim '*hibernasyon*' ve '*stunning*'dir. Hibernasyon, uzun süreli azalmış kan akımına bağlı sol ventrikülün dinleniminde oluşan fonksiyon bozukluğudur. Stunning ise iskemik bölgede perfüzyonun tekrardan sağlanması sonrasında nekroz olmaksızın miyokard disfonksiyonu olmasıdır (44, 45).

Stunning nedenleri arasında

- Serbest oksijen radikallerinin salınımı,
- Sarkoplazmik retikulum disfonksiyonu, -Mitokondrilerde yetersiz enerji üretimi,
- Myoflamentlerin kalsiyuma azalmış duyarlılığı,
- Kalsiyum artışı,
- Ekstrasellüler kollajen matriks hasarı.
- Miyokardiyal laktat düzeyi arrest sırasında yetersiz miyokard korumasının göstergesidir (46)

### **Akciğerler Üzerine Olan Etkiler**

Akciğer KPB'de en çok hasar gören organların başında yer alır. Postoperatif mikro atelektaziler görülebileceği gibi akut respiratuvar distress sendromu gibi çok ciddi klinik tablolar da ortaya çıkabilir. KPB işlemi esnasında prime solüsyonu sebebiyle plazmanın onkotik basıncı düşmektedir. Bu durum akciğerlerde interstisyel aralıkta sıvı birikimine neden olur. Pompaya albumin eklenerek bu problem aşılabılır.

Kardiyopulmoner bypass tip II alveol hücrelerinin sayısını azaltır ve buna bağlı sürfaktan yapımı da azalır. Düşük sürfaktan değerleri postoperatif atelektazilerin gelişiminde rol oynar (47).

Özellikle KPB süresi 150 dakikayı geçtiğinde KPB'nin akciğer üzerine olan etkisi hemorajik şok ve endotoksemi gibi olur. Bu durumdan dolayı bu akciğerlere "şok akciğeri" denilmektedir (48).

### **Böbrekler Üzerine Olan Etkiler**

Kardiyopulmoner bypass, renin, katekolaminler, anjiyotensin ve antidiüretik hormon (ADH) seviyelerinde artış görülmesine sebep olur. Preoperatif renal disfonksiyonu bulunanlarda postoperatif yetmezlik daha sık görülür ve özellikle serum kreatinini 2,5 gr/dl'yi aştığında görülür (49).

## **Nörolojik Sistem Üzerine Olan Etkiler**

Açık kalp cerrahisi sonrası görülen nörolojik komplikasyonlar iki grup altında incelenebilir. Tip I hasarı inme, geçici iskemik atak, stupor ve koma oluşturur. Tip II nörolojik hasarda ise entellektüel fonksiyonlarda bozukluk, konfüzyon, ajitasyon, oryantasyon bozukluğu, hafıza kaybı, nöbet ve kognitif bozukluk görülmektedir (50).

## **Gastrointestinal Sisteme Etkiler**

Mukoza bariyerinin bütünlüğünün bozulmasıyla bakteriyel translokasyon, sepsis ve multiorgan yetmezliği oluşabilir. Karaciğer enzimleri işlem sonrası dönemde hafifçe yükselebilir. KPB da karaciğerde enzim yükselmesiyle seyreden ve mortalitesi yüksek olan bir diğer komplikasyon da akut fulminant hepatittir. Mide veya duodenum mukoza ülserleri de daha çok strese bağlıdır (51).

## **Endokrin Sistem Üzerine Etkiler**

Kardiyopulmoner bypassda hipotermi ve kanın yabancı yüzeylerle teması nedeniyle kortizol, katekolaminler, prostoglandin (PG)'ler, kompleman sistem elemanları, insülin ve diğer birçok hormon dolaşıma istenmeyen miktarda salınır. Sol ventrikül disfonksiyonu olan koroner arter hastalarında, eksojen T<sub>3</sub>'e olumlu yönde yanıtlar alınmıştır; eksojen T<sub>3</sub> verilen hasta grubunda inotrop ihtiyacı verilmeyen gruba göre daha az bulunmuştur. KPB'nin hipotermi evresinde insülin cevabı azalırken, ısınma sırasında artmaya başlar, glukagon salınımı artar ve hiperglisemi meydana gelir (52).

**Katekolaminler:** KPB'nin başında kan sıvı hacminin artışına bağlı olarak azalır. Hipotermi ile epinefrin ve norepinefrin düzeyleri artış gösterir. Vazokonstriktör etkilerinden dolayı kan basıncı artışına, kardiyak debi ve böbrek fonksiyonlarında bozulmaya neden olurlar (53).

**Kortizol:** KPB sırasında metabolik strese yanıt olarak artar. Kortizol artışını postoperatif 48. saate kadar devam ettirir (54).

**Vazopressin (Antidiüretik Hormon: ADH):**KPB'nin özellikle başlangıç aşamasında salgılanması artar. Vazokonstriktör etkisi nedeniyle internal torasik arterde vazospazma yol açtığı gösterilmiştir (55).

**Natriüretik peptid sistem:** Natriüretik peptid sistem (NPS); kalp kökenli Atriyal Natriüretik Peptid (ANP) ve Beyin Natriüretik Peptid (BNP) ile endotelial duvar orjinli C-tip natriüretik peptid (CNP)'den oluşur. ANP atriyal distansiyona cevap olarak salınır. BNP düzeyleri sol ventrikül fonksiyonları ile yakın ilişkilidir. KPB ile BNP düzeylerinde artış meydana gelir (56).

**Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi:** Plazma renin seviyesi KPB sırasında ve sonrasında artar. Reninin artması ile anjiyotensinojen Ang I'e, Ang I de anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) ile Ang II'ye dönüşür. Ang II vazokonstriktör etkisinin yanında adrenal bezlerden aldosteron salınımını da artırır ve sonuçta bu da böbrek distal tübüllerden sodyum (Na<sup>+</sup>) emiliminin artırır (53). KPB sırasında pulsatil akımın, pulsatil olmayan akıma göre plazma renin düzeyini daha az artırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (57).

### **Hematolojik Sistem Üzerine Olan Etkiler**

Kardiyopulmoner bypass'ın dolaşım sistemi üzerine yarattığı en önemli sonuç hemolizdir. Hemoliz hatlardan geçerken kanın zarar görmesi ve perikard bölgesinden plazminojen ihtiva eden kanın aspire edilmesiyle oluşur. Hatlardaki akımın fizyolojik laminer akım halindedeki sürmesi hemolizi azaltır (58).

Kardiyopulmoner bypass sırasında hemoliz yaratan diğer yapılar filtreler ve oksijenatörlerdir. Özellikle prime sıvısına konulan kanın filtreden geçirilmesi hemolize sebep olur (58).

Heparin kullanımına rağmen KPB sırasında pıhtılaşma mekanizması da aktive olur. KPB sırasında tüketim, kan sıvı hacminin artışı, pompa devrelerinde birikim ve denatürasyondan dolayı pıhtılaşma faktörlerinde bir miktar azalma olur. Kanın şekilli elemanlarından trombositler de eritrositler gibi etkilenecek lökopeni ve fonksiyon bozukluğa yol açabilir(59).



Hipotermi, kompleman ve serotonin gibi maddeler trombosit aktivasyonuna sebep olabilir. Aktive trombositlerden güçlü bir vazokonstrüktör ajan ve trombosit agonisti olan tromboxan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) salınır. TxA<sub>2</sub> trombosit hemostazında ve SIRS'ta rol oynar (59).

Uzun süren KPB, glikoprotein IIb/IIIa inhibitörleri ve antitrombosit ilaç kullananlarda trombosit bozukluğu daha fazladır. KPB'deki trombosit sayısındaki azalma miktarı ise %30-50 civarındadır. KPB sonrası kanama sürüyor ve trombosit disfonksiyonu muhtemelse daha yüksek trombosit içeren trombosit süspansiyonu verilebilir. KPB sırasında pıhtılaşma önleyici sistem de aktif hale gelir. Trombin ile uyarılan endotel hücrelerinde doku plazminojen aktivatörü (t-PA) ortaya çıkar. Cerrahi sonrası kanamalarda bu pıhtılaşma önleyici mekanizmanın da rolü vardır (59).

Kardiyopulmoner bypass sırasında nötrofiller; miyeloperoksidaz, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit gibi pek çok enzim ve sitotoksik ürün salgılar. Bu maddeler kapiller geçirgenlikte ve interstisyel ödemde artışa sebep olur (59). Endotel hücreler trombomodulin, protein S ve heparan sülfat yanında NO ve ET1 gibi vazoaaktif maddeler ile t-PA salgılanır. KPB ile prostasiklin konsantrasyonları artış gösterirken KPB'nin sonlarına doğru azalır (59).

## **2.5. Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Oluşan Oksidatif Stress**

Kardiyopulmoner bypass sırasında kan endotelial olmayan yüzeylerde temas halinde olduğundan zarar görmektedir. Temas yüzeyi artıkça nonendotelial yüzeye geçen kan miktarındaki hasar'da buna bağlı olarak artar. En hassas yüzey ise büyük bir kan miktarının gaz değişimine verildiği oksijenlenme yüzeyidir. Nonbiyolojik yüzeylerin kan üzerinde doğrudan ve dolaylı etkileri vardır. Oksidatif stres oluşan bu etkilerde önemli bir yer tutar. Oksidatif stresin başlamasında; nötrofiller, katekolaminler, kompleman sistemi, aktive nötrofillerden salınan sitokinler, serbest oksijen radikalleri, endotel hasarı, kallikrein kaskadı, endotoksin salınması gibi durumlar da rol almaktadır.

### 2.5.1. Oksidatif Stress Oluşturan Etmenler

Nonpulsatil akım

Kanın endotelyal olmayan yüzeylerde temas halinde olması

Kros klemp ile kalbin kan akımının kesilmesi

Anestezi ilaçları

Miyokard hasarı

Kompleman sistemi

Reperfüzyon

Fizyolojik şartlarda vücutta oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidan savunma mekanizması sürekli bir denge durumundadır. Yoğun ROS üretimi ya da antioksidan savunmanın azalması, biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açarak oksidatif strese yol açar. Oksidatif süreçler mitokondriyal enerji kapasitesini azaltarak sonucunda hücrenin öleceği bir dizi olayı başlatır. Kardiyak cerrahi esnasında neredeyse tüm hastalarda bir miktar miyokard hasarı oluşur. CPB sırasında aortik kros klemp, koroner kan akımını durdurur. Emniyetli bir kros klemp süresini tayin etmek zordur ve bittabi 120 dakikayı aşan CPB süreleri arzu edilmez. Bypass sırasında miyokardiyal iskemi, kros klemp'den önce ya da daha sonra gelişebilir. Arteriyel basınç düşmesi, koroner embolizm (trombus, platelet, hava, yağ veya Ca) ve kalbin aşırı cerrahi manüplasyonu (koroner damarların kompresyonuna veya distansiyonuna neden olarak) bu durumun gelişmesine etkili olabilir. İskemi, yüksek enerjili fosfat tüketimine ve hücre içi Ca birikimine yol açar. Ca, kontraktil proteinler üzerine etki ederek enerji tüketimini daha da artırır. CPB sırasında normal hücresel bütünlüğün bozulmaması, enerji ihtiyacının azaltılmasına ve yüksek enerjili fosfatların kaybolmamasına bağlıdır. Koroner kan akımı kesildiğinde, hücre yağ asidi oksidasyonu yerine kreatin fosfat kullanarak anaerobik metabolizmayı temel enerji yolu olarak kullanır. Fakat bunlar da hızla tükenir ve gelişen hızlı asidoz da glikolizi sınırlar. Ayrıca kalpdışı dolaşım miyokard sıvı birikimini artırır. Bu patolojinin gelişiminde inflamasyon mediyatörlerin aktive olmasının da önemi vardır. Bu mediyatörler değişik yollarla aktive hale gelerek, trombositleri, nötrofilleri ve damar endotelini etkileyerek hidrojen peroksit, miyeloperoksidaz ve elastaz gibi bazı enzimleri salgılar ve miyokard hasarına yol açarlar. İskemi sonrası ani reperfüzyonla yaşayan hücrelerde tekrar aerobik

metabolizma görülmesi ve hücrelerin kurtulması görülmüştür. Dokuda reaktif hiperemi gelişmekte ve bununla birlikte ortaya çıkan substratlar dolaşımında % 400-600 oranında artış göstermektedir. Bu durum reperfüzyonun ilk 5 dakikasında gelişmekte ve daha sonra azalmaktadır. Bu dönem içinde serbest O<sub>2</sub> radikalleri' de ortaya çıkmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarı olarak bilinen bu olayın iskemik dokunun yeniden oksijenlenmesi ile ilişkili olduğu belirtilmekte ve hasarın oluşumunda serbest oksijen radikallerinin (SOR) rol aldığı düşünülmektedir (60,61) . İn vitro ve in vivo çalışmalarda iskemik miyokarda moleküler oksijenin tekrardan görülmesi serbest oksijen radikallerinin oluşumuna sebep olduğu görülmüştür (62,63). Serbest oksijen radikallerinin nötrofillerce üretilip, iskemi-reperfüzyon sırasında endotel hasarına sebep oldukları görülmüştür (62,63). Serbest radikallerin etki etmesi ve hücre zarının tahribi "Yağların Oksidasyonu" veya "Oksidatif Hasar" olarak adlandırılır.

### **2.5.2. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve sebep oldukları hasarı engellemek amacıyla vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir bunlar: ‘antioksidan savunma sistemleri’ veya kısaca ‘antioksidanlar’ olarak bilinirler. Antioksidanlar, zincir kırıcı etkiyle ve/veya serbest oksijen radikallerini toplayıcı etkisiyle lipid peroksidasyonunu engeller. Antioksidanlar, endojen kaynaklı (doğal) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba görülebileceği gibi serbest radikalın meydana gelmesini önleyenler ve mevcut olanları etkisizleştirenler olarak da ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim olan ve enzim olmayanlar olarak da ayrılabilirler. Hücrelerin hem sıvı komponentinde hem de membranda bulunabilirler.

### **Antioksidan Etki Mekanizmaları**

Antioksidanlar dört farklı şekilde etki eder:

**1- Toplayıcı etki (scavenging etki) :** Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denir. Antioksidan enzimler bu tipte etki gösterirler.

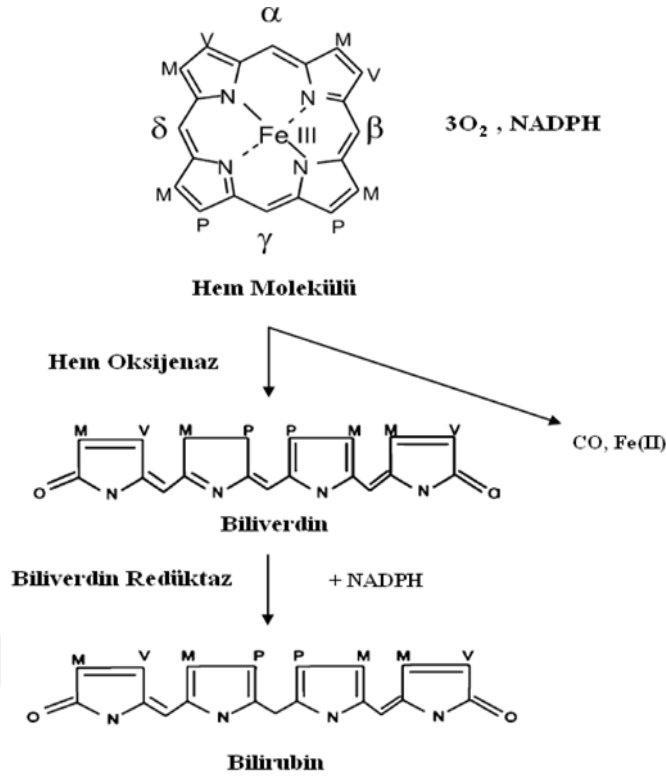
**2. Bastırıcı etki (quencher etki) :** Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ve inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki denir. A vitamini ve flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

**3- Onarıcı etki (repair etki):** Lipit, protein ve DNA gibi yapılarda oluşmakta olanbiyolojik moleküler hasarı rejenere ederler.

**4- Zincir kırıcı etki (Chain breaking etki) :** Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini ve mineraller zincir kırıcı özellik gösterirler.

## **2.6. Hem Oksijenaz (HO-1)**

Hem oksijenaz (HO), hem molekülünü safra pigmentlerinden biliverdin'e katalize eden bir enzimdir. Reaksiyon esnasında, hem molekülünün  $\alpha$ -methen köprüsündeki karbon atomu, karbon monoksit (CO) olarak, demir ise +2 formunda salınmaktadır (64). Hem oksijenaz enzim aktivitesi için bu reaksiyonda oksijen ve NADPH'a ihtiyaç duymaktadır (65). Reaksiyon sonucu oluşan biliverdin, biliverdin redüktaz enzimi ile bilirubin'e dönüşür (Şekil 11) (66).



**Şekil 2.11.** Hem oksijenaz reaksiyonu (66).

Hem oksijenazın tanımlanmış üç izoformu bulunmaktadır. Bunlardan HO-2 ve HO-3 sabit (yapısal) olarak eksprese edilen, HO-1 ise indüklenebilen formudur. Isı şok proteini 32 (HSP-32) olarak ta bilinen HO-1, 32 kDa, HO-2 36 kDa ve HO-3, 33 kDa molekül ağırlıklarına sahiptirler (Mainer ve Panahian, 2001). Normal şartlarda birçok hücrede HO-1 protein ekspresyonu düşük düzeyde seyrederken, HO-2 düzeyi dalak, böbrek, karaciğer ve sinir sisteminin dâhil olduğu bir çok doku ve organda sabit miktarda bulunur. HO-1 ve HO-162 iki farklı genin ürünleridirler. Buna ek olarak amino asit dizileri (%43 oranında homoloji) ve biyokimyasal nitelikleri bakımından birbirlerinden farklıdır. HO-1’de sistein grubu bulunmazken, HO-2’de ise sistein-prolin grupları bulunur (68,69). Aynı reaksiyonları katalize eden HO-1 ve HO-2’in reaksiyonlarda kullandıkları substrat, kofaktör ve koenzim aynıdır. Farklılıklar, Km değerleri, termostabiliteleri ve immünoreaktiviteleri arasındadır (70,71). HO-1, karaciğer, dalak, pankreas, bağırsak, böbrek, kalp, retina, akciğer, prostat, beyin, deri ve endotelial hücrelerde eksprese edilir (72).

Tenhunen ve arkadaşları (1969) hem oksijenazların, ağırlıklı olarak hücrelerin mikrozomal fraksiyonunda, ya da düz endoplazmik retikulumda lokalize olduklarını bildirmişlerdir. Ancak daha sonra, HO-1 hücrenin diğer kompartmanlardaki varlığı tespit edilmiştir. HO-1'in biliverdin redüktaz enzimi ile birlikte endotelial hücrelerin plazma membranında yer alan kaveolalarda bulunduğu tespit edilmiştir. Kaveolada kompartmanlaşmış HO-1'in kaveola aracılı sinyal kaskadı ile hücrel korumada önemli rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (73). Yapılan başka bir çalışmada, HO-1 fraksiyonunun karaciğer mitokondrisinde yine biliverdin redüktaz ile birlikte mitokondriyal hem metabolizması ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini modüle ettiği bildirilmiştir. Mitokondrideki lokalizasyonu, nörodejeneratif bozukluklarda olduğu gibi artan mitokondriyal ROS'a karşı HO-1 koruyucu etkisi olarak açıklanmaktadır (74). Hipoksi ya da diğer uyaranlara maruz kalması sonucu C-terminali kesilmiş bir biçimde HO-1'in çekirdekte lokalize olduğu tespit edilmiştir. C-terminalinden yoksun HO-1'in nükleer lokalizasyonu, enzim aktivitesi ve dolayısıyla sitoprotektif etkisinin azaldığı, buna ek olarak, aktivatör protein 1'in (AP-1) dahil olduğu oksidatif stres cevabını oluşturan transkripsiyon faktörlerini aktive ettiği bildirilmiştir. Oksidatif stresin varlığında, HO-1 proteinin nükleer lokalizasyonu, sitoprotektif etki sağlanması için önemli bir sinyal yolağıdır (75). HO-1 indüksiyonu, mitojen aktive eden protein kinaz (MAPK), fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K), tirozin kinaz, ve protein kinaz A, C, G yi içeren farklı protein fosforilasyon kaskadlarının aktivasyonu ile gerçekleşir. MAPK kaskadı hücrel stres ile aktif olmaktadır (76). HO-1 geninin en önemli transkripsiyonel düzenleyicisi Nrf2 dir. Nrf2, antioksidan, sitoprotektif ve antiinflamatuvar genlerin pozitif düzenleyicisidir (77,78). Nrf2, HO-1 17 transkripsiyonunu artırır. Bach1 ile Nrf2 arasında HO-1 transkripsiyonunun baskılanması için bir rekabet söz konusudur (79). Normal şartlarda Nrf2 sitoplazmada "Kelch-like ECH-associated protein 1" (Keap1) proteini ile bağlı halde bulunur. Çekirdek içine transloke olduğu zaman HO-1 düzeyi artar (80,81). Hücreler oksidatif strese maruz kaldıklarında Nrf2 sitoplazmada bağlı olduğu Keap1'den ayrılarak çekirdek içine transloke olur ve hedef genine bağlanarak transkripsiyonu uyardığı gösterilmiştir (82). HO-1'in faydalı etkileri, hem molekülünün biyolojik aktivite ile parçalanması sonucu oluşan yan ürünlerin aracılığı ile gerçekleşmektedir. HO-1'in antioksidatif etkisi biliverdin ve bilirubin aracılığı ile gerçekleştiği bildirilmiştir (83).

## 2.7. Nükleer Faktör E2 İlişkili Faktör 2

Nükleer faktör E2 ilişkili faktör 2 (Nrf2), elektrofiller, ksenobiyotiklerin, ağır metaller, UV radyasyon ve stres gibi birden fazla uyaranlar tarafından aktive edilen bir transkripsiyon faktörüdür (84). Transkripsiyon faktörü, genlerin transkripsiyonunu kısa DNA dizilerine bağlanarak, genetik bilginin DNA'dan RNA'ya akışını pozitif yada negatif olarak düzenlediği bilinen, spesifik proteinlerdir (85). Ökaryotlarda transkripsiyon işlemi için tanıma noktası olarak görev yapan ve kontrol ettikleri genin başında yer alan nükelotit dizilerine promotor bölge adı verilir. Promotor bölge, transkripsiyonun başlangıcını ve yönünü tayin eden bölgedir. Ökaryotlarda, DNA'nın açılıp transkripsiyona hazır hale gelmesinin ardından promotor bölgeye transkripsiyon faktörleri ve RNA polimeraz II enziminin bağlanması sonucu transkripsiyon kompleksi oluşmaktadır (86). Oluşan bu kompleksle transkripsiyonun başlaması ve düzenlenebilmesi için, genin içinde yer alan ve çok yakın olan cis-acting DNA dizilerinin (cis-acting elements) ve transkripsiyonun uyarılmasında görev aldığı bilinen ve DNA ya dışarıdan bağlanan trans-acting protein (trans-acting elements) faktörlerinin ilişki halinde olmaları gerekmektedir (87). Var olan trans-acting faktörler, promotor bölge üzerindeki cis-acting düzenleyici dizilerini etkilemek suretiyle RNA polimeraz II enziminin bağlanması ve transkripsiyonun başlamasını kolaylaştırır. Transkripsiyonun başlamasını kontrol etmek için var olan proteinler birden fazla genin ekspresyonundan sorumlu olabilmektedir. Ayrıca sorumlu oldukları genlerin ekspresyonlarını pozitif ya da negatif yönde etkileyebilmektedir (86). Normal yaşam boyunca, sürekli olarak serbest radikallere maruz kalan hücreler için karşı antioksidan savunma mekanizmalarının önemi büyüktür. Hücreler bu mekanizmalarda Faz I ve Faz II olarak adlandırılan enzim sistemlerini kullanırlar. Sinir hücreleri esas olarak Faz II ve antioksidan enzimleri (glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon transferaz, glutatyon peroksidaz) kullanarak kendilerini korurlar (88).

Nükleer faktör E2 ilişkili faktör 2, cap'n'collar (CNC) benzeri lösün fermuar domainine sahip CNC transkripsiyon faktör ailesinin bir üyesidir (89,90). Nükleer faktör eritroid 2, p45 ve p18 altbirimlerinden oluşan bir heterodimerik 14 proteindir. Cap'n'collar transkripsiyon faktör ailesinin bilinen diğer üyeleri ise Nrf1, Nrf3, p45,

BACH1 ve BACH2 dir. DNA ya bağlanma ve lösün fermuar domainleri yüksek homoloji göstermelerine rağmen farklı biyolojik rollere sahiptirler. Ayrıca bu faktörler, CNC domainleri vasıtasıyla küçük Maf proteinleri ile dimerize olurlar ve DNA ya bağlanırlar. Küçük Maf proteinleri ile kompleks oluşumu transkripsiyonun regülasyonu için gereklidir. Nrf2, antioksidan ve faz II detoksifikasyon enzimlerinin ekspresyonunu düzenler (84). Nrf2, özellikle detoksifikasyon reaksiyonlarının gerçekleştiği dokularda oldukça fazla eksprese edilir. Beyin, akciğer, mesane, böbrek, karaciğer, ovaryum, makrofajlar ve eritrositleri de içeren birçok dokuda Nrf2, hücrel savunma mekanizmasının en önemli düzenleyicisidir (90). Nrf2, aktivasyonunun oksidatif strese karşı hücre koruma da en önemli koordinasyon yollarından biri olduğu bildirilmektedir (91). Nrf2 sistemi, reaktif oksijen türleri, egzoz gazları, inflamasyon, kalsiyum bozukluğu, UV ve sigara dumanının toksik etkilerinden dokuların korunmasında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (92).

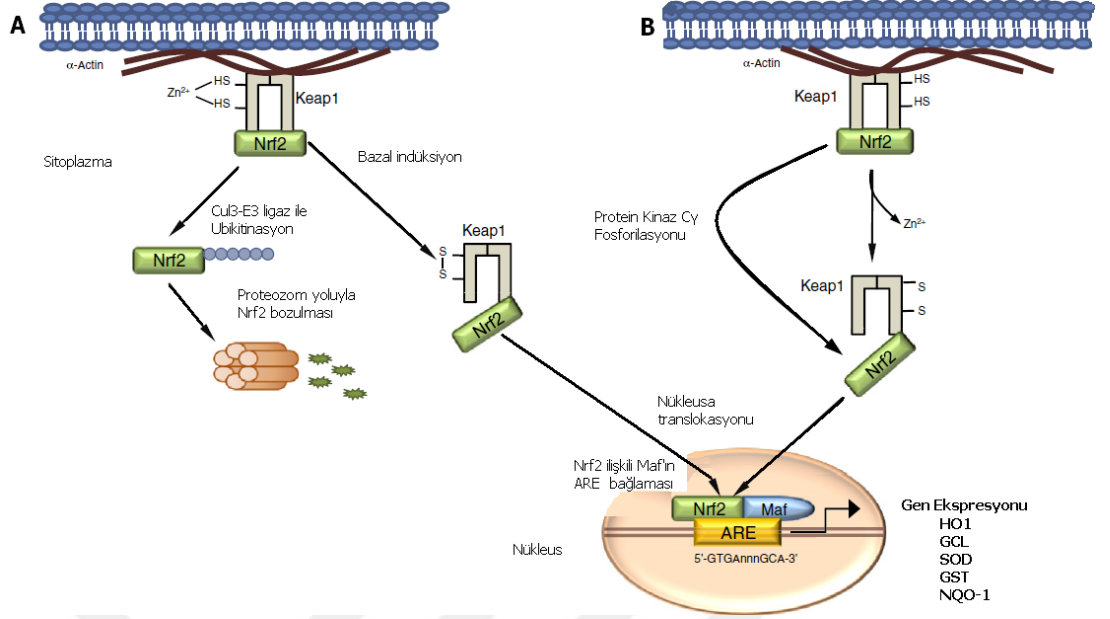
### **2.7.1. Nrf2 ile Oksidatif Stres İlişkisi**

Oksidatif stres diyabetik nöropati patofizyolojisinde önemli bir role sahiptir. Oksidatif strese karşı oluşan savunma sisteminin Nrf2 eksenli olduğu kabul edilmektedir (91,93). Bu durumun dayanak noktasını diyabetik nöropati patofizyolojisi ile Nrf2 yolağı arasındaki ilişki oluşturmaktadır. Nrf2'nin yapılan deneysel çalışmalarla diyabet başta olmak üzere serebral iskemi, kanser, nörodejenerasyon, ateroskleroz ve çok sayıda diğer inflamatuvar durumlar için koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (91-96). Nrf2'nin, beyin de oluşan oksidatif stres ve inflamasyona karşı korumada rolünün olduğu saptanmıştır. Astrositlerde Nrf2 yüksek ekspresyon düzeyleri ile oksidatif stres etkilerinden nöronları koruduğu tespit edilmiştir (94). Nrf2, diyabet ve diyabetle ilişkili komplikasyonlarda önemli bir hedef olarak ortaya konmuştur. Diyabette, Nrf2 ve HO-1 ekspresyon düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir. Retina ganglionlarında Nrf2 nöroprotektif etkileri sahip olduğu gösterilmiştir (97). Streptozotosinin neden olduğu Pankreas  $\beta$ -hücrelerindeki hasarın sülforafan tedavisi ve Nrf2 aşırı ekspresyonu ile engellendiği bildirilmiştir (98).



### 2.7.2. Nrf2/HO-1 Sinyal Yolağı

Nrf2, oksidatif strese karşı hücre sel savunma mekanizmasına ait en önemli elemanlardan biri olduğu bildirilmiştir (88-91). Normal şartlar altında, Nrf2 sitoskelet-ilişkili protein olan Keap1 tarafından sitoplazmada alıkonulmaktadır (99). Keap1 proteini, Nrf2 ubiquitinasyonu ve proteazomol yıkımını sağlayarak, Nrf2 negatif dzenleyicisi olarak görev yapmaktadır (88-100). Reaktif oksijen turleri Keap1'den Nrf2 nin ayrışmasına neden olur. Nrf2, Keap1 baskılayıcısından ayrılınca, çekirdeğe transloke olur ve küçük Maf (sMaf) proteini ile heterodimer oluşturmaktadır. Nrf2-sMAF dimeri daha sonra hücre savunma mekanizmasında görev alan birçok genin promotor bölgesinde bulunan antioksidan yanıt elementine (ARE) bağlanır ve aktivasyonunu sağlar (101). Nrf2 yüksek ekspresyonunun, reaktif oksijen turlerine karşı hücre sel savunmada önemli rolleri olan NAD(P)H, kinon oksidoredüktaz (NQO1), glutatyon S-transferaz (GST), hem oksijenaz-1 (HO-1) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi ARE bağımlı antioksidan enzimlerin ekspresyonunu arttırdığını rapor edilmiştir (92-103). Hem oksijenaz 1'in oksidatif hasara karşı anahtar savunma mekanizmalarından birini oluşturduğu diyabette henüz açıklanamayan mekanizmalar aracılığı ile endotel disfonksiyonu, apoptozisi ve süperoksit oluşumunu azalttığı bildirilmektedir (104,105).

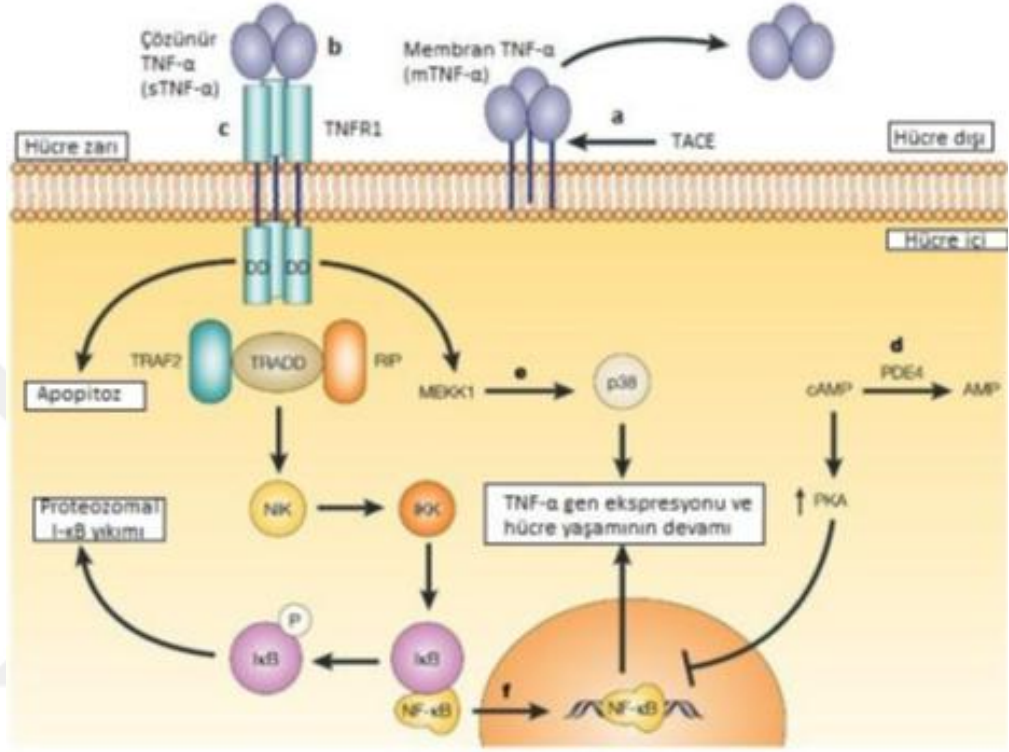


**Şekil 2.12.** Nrf2/HO-1 sinyal yolağı. (A. Normal şartlar altında: Nrf2, Keap1 tarafından sitoplazmada alıkonur. B. Oksidatif stres arttığında: Nrf2, Keap1 baskılayıcısından ayrılarak nükleusa transloke olur ve ilgili sMaf proteinleri ile heterodimer oluşturur. Oluşan bu heterodimer ARE'ye bağlanarak hücrel savunmada önemli rolleri olan NAD(P)H, kinon oksidoredüktaz (NQO1), glutatyon S-transferaz (GST), hem oksijenaz-1 (HO-1) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırmaktadır. Nrf2: Nükleer faktör E2 ilişkili faktör 2; Keap1: Kelch like-ECH-associated protein 1; ARE: Antioksidan yanıt elementi) (104,105)

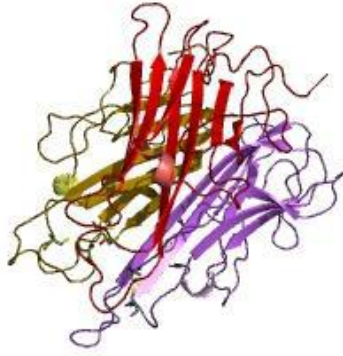
## 2.8. TNF- $\alpha$

TNF- $\alpha$  birçok fonksiyonu olan proinflamatuvar polipeptid yapıda bir sitokindir. Kaşektin olarak da anılmaktadır. Beutler, 1985'te endotoksine maruz kalan hücrelerce üretilen ve kaşeksiye sebep olan bir molekül tespit etmiş ve buna 'kaşektin' adını vermiştir (106). 1986'da Caput, kaşektin ve TNF- $\alpha$ 'nın aynı molekül olduğunu belirmiştir (107). TNF- $\alpha$ 'nın immün cevapları ve antitümör etkileri tetikleme yanında lipid metabolizması, koagülasyon, insülin direnci, endotelial fonksiyon ile farklılaşma ve apoptoz süreçlerinde önemli rolü vardır. Makrofaj ve lenfosit başta olmak üzere çeşitli savunma hücrelerinde ve somatik hücrelerde sentezlenir. TNF- $\alpha$  prohormon

olarak membranla bütünleşmiş haldedir. Uyarılara yanıt olarak membrana bağlı mTNF, TNF dönüştürücü enzim (TACE) tarafından yıkılır ve olgun, çözümlü form sTNF oluşur (Şekil 13).



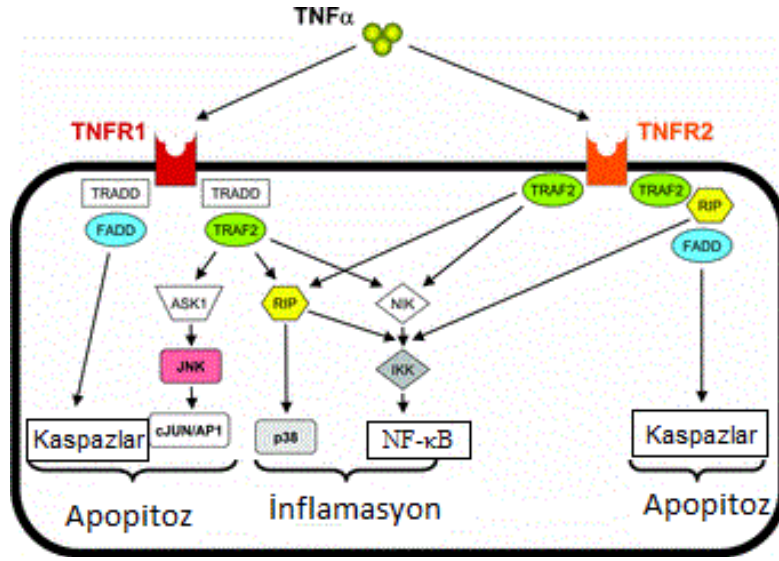
Şekil 2.13. TNF- $\alpha$  aktifleştirilmesi ve reseptör bağlanması sonrası sinyalizasyon aşamaları (108).



**Şekil 2.14.** TNF- $\alpha$  homotrimerik yapısı (108).

TNF- $\alpha$  normalde kanda düşük miktarlarda bulunmaktadır. TNF sentez ve salınmasını uyaran birçok faktör vardır. Uyarı sonucu yarım saat içinde TNF- $\alpha$  salgılanması başlar ve 90-120 dk arasında en üst seviyeye ulaşır. Dört saat içinde de düzeyi IL-1 ve IL-6 ile inhibe edilmesi sonucu belirgin olarak düşer. Gram pozitif bakteriler, virüsler, parazitler, mantarlar, kompleman aktivasyon ürünleri, sitokinler ve TNF- $\alpha$ 'nın kendisi salınımı uyarır (110). Sepsis, kanser ve romatolojik hastalıklarda seviyesi belirgin şekilde yükselir. Yüksek dozda TNF- $\alpha$  enjeksiyonu da septik şoka neden olmaktadır.

TNF- $\alpha$ 'nın fonksiyon göstermesi için bağlandığı reseptör aileleri vardır. Molekül ağırlıklarına göre isimlendirilmiş en önemli 2 adet reseptörü p55 reseptörü (TNFR1) ve p75 reseptörüdür (TNFR2). Her ikisi de kasta eksprese edilmektedir. Reseptör-ligand bağlanması ile postreseptör kompleks sinyal basamakları aktivasyonu başlatılır (110). Bu yollar hücre tipine göre farklılık gösterirler. TNFR1 birçok biyolojik etkinin başlamasından ayrıca kas katabolizması ve kontraktıl disfonksiyonundan sorumlu ana reseptördür (111). TNF- $\alpha$ 'nın reseptörü TNFR1 ile birleşmesi sonucu önemli proteinler içeren (TRADD, TRAF2, RIP, FADD) proksimal reseptör kompleksinin oluşumu başlar (Şekil 13-14). TNF- $\alpha$ 'nın reseptörü ile bağlanması ile tetiklenen en az 3 önemli sinyal yolağından bahsedilebilir. Birinci yolak, Fas ile ilişkili ölüm bölgesi (FADD) aracılı olarak kaspazları tetikleyerek 20 apoptoza yol açmaktadır. İkinci yolak Jun-N-terminal kinazları (JNK) ve transkripsiyon faktörü AP-1'i aktive ederek yine apoptoza yol açar. Üçüncü yolak TNF- $\alpha$  transkripsiyonu kontrolündeki ana mediatör olan ve inflamasyona da katkıda bulunan NF- $\kappa$ B'yı aktive eder (Şekil 13-15).



Şekil 2.15. TNF- $\alpha$  reseptör sonrası sinyal basamakları (110).

TNF- $\alpha$  gen transkripsiyonu, transkripsiyon faktörleri, protein kinazlar, protein fosfatazlar, kaspazlar yanında reaktif oksijen ürünleri (ROS), reaktif nitrojen ürünleri (RNS) ve mitokondrial proteinler ile de ilişkilidir.

TNF- $\alpha$ 'nın aktif homotrimerik yapısı hücre zarına füzyon yaparken sodyum girişine de neden olur. Bu da membran potansiyellerine katkıda bulunur. Ayrıca hücre içi kalsiyum düzeylerine de etki ederek azaltır. Trombomodülin üretimini azaltarak endotel hücresindeki antikoagülan etkinliğini engeller ve ekstrinsik yoldan pıhtılaşmayı başlatır. Plazminojen aktivatörlerini de azaltarak pıhtılaşma önleyici etkiyi engeller. Tüm bu olaylarla beraber yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC) olayı meydana gelir.

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinin Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 04.01.2018 tarih, 01 nolu oturum ve 25 nolu onay numarası ile onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı.

#### **3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması**

Çalışma, prospektif olarak, Ocak 2018 - Haziran 2018 tarihleri arasında, Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda, izole KPB kullanılarak koroner bypass ameliyatı yapılan erişkin hastalarda planlandı.

#### **3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler**

1. Buzdolabı (-80 0C ve -20 0C)
2. Santrifüj cihazı
3. Nanodrop cihazı (NanoDrop 2000c, Thermo Scientific, ABD)
4. Roche LightCycler 480 II Real Time PCR System
5. Qiagen RNeasy Mini Kit (katalog no: 74104)
6. Qiagen RT2 First Strand Kit (katalog no: 330404)
7. 0,5-10 µl pipet ucu
8. 1-200 µl pipet ucu
9. 100-1000 µl pipet ucu
10. Qiagen RT2 FAST SYBR Green/ROX PCR Master mix (katalog no: 330620)
11. Qiagen RT2 qPCR Primer Assay (200 rxn) (katalog no: 330001)
12. 1,5 ml DNase RNase free mikrosantrifüj tüpü
13. 0,2 ml DNase RNase free mikrosantrifüj tüpü
14. 15 militrelik falkon tüpü
15. Cloroform
16. Qiazol

### 3.3. Kan Plazmasının Eldesi

KPB yöntemi ile koroner bypass cerrahisine alınan hastalarda kardiyopulmoner bypass öncesinde ve sonrasında kan alınarak antikoagülanlı (heparinli) steril tüplere konuldu. Kan alınan tüp hemen buz dolu kabın içine aktarılarak laboratuvara ulaştırıldı. Daha sonra steril tüp 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj aşamasından sonra süpernatant kısım olan plazma RNase-free tüpe (ependorf tüp) alınarak çalışılmak üzere -80 de saklandı. Çalışma için yeterli hastadan kan plazması toplandıktan sonra qRT-PCR çalışmaları gerçekleştirildi.

### 3.4. NRF-2, HO-1 ve TNF- $\alpha$ Gen İfade Düzeyi İçin Plazmada Total RNA (mRNA) İzolasyonu

Plazmada mRNA izolasyonu için üretici firmanın çalışma prosedürü takip edilmiş olup aşağıdaki sıraya göre işlemler gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada ticari adı Qiagen (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) miRNeasy Serum/Plasma Kit (Cat No./ID: 217184) olan izolasyon kiti kullanılmıştır. Kitin iş akış şemasına göre prosedür aşağıdaki gibidir.

1. -80'den alınan plazma örneklerinin erimesi beklendi ve numaralandırma yapıldı.
2. Örneğimizin 5 katı kadar QIAzol Lysis Reagent eklendi (200  $\mu$ l örnek için 1ml QIAzol Lysis Reagent eklenir). Elde edilen karışım vortekslendi.
3. Karışım oda sıcaklığında (15°C- 25°C) 5 dakika homojenize olması için inkübe edildi.
4. 3.5 $\mu$ l miRNeasy Serum/Plazma spike kontrol (1.6x10<sup>8</sup> 'e dilüe edilerek kullanılır) eklendi.
5. Örneğin başlangıç hacmi kadar kloroform eklenip (örn. 200  $\mu$ l örnek için 200  $\mu$ l kloroform eklenir). 15 sn. iyice vortekslendi.
6. Oda sıcaklığında 2-3 dk. İnkübe edilip, 15 dk. 12,000 x g 4°C'de santrifüj edildi.
7. Santrifüj sonrası oluşan üç fazdan en üstteki faz pipetle alınarak yeni bir tüpe aktarıldı.
8. Alınan üst fazın 1.5 katı kadar %100 etanol (600  $\mu$ l üst faz için 900  $\mu$ l %100 etanol eklenir) eklenip iyice pipetaj yapıldı.

9. 700 µl örnek 2 ml'lik spin kolona aktarılarak, kapağı kapalı bir şekilde 8000 x g'de 15 sn. ve oda sıcaklığında santrifüj edildi. Toplama tüpteki sıvı dökülerek bu işlem örnek bitene kadar tekrarlandı.
10. Örneğin tamamını spin kolondan geçirdikten sonra alt kısım yine döküldü. 700 µl RWT buffer spin kolona eklenerek, kapağı kapalı bir şekilde 8000 x g'de 15 sn. ve oda sıcaklığında santrifüj edildi.
11. 500 µl RPE buffer spin kolona eklenerek, kapağı kapalı bir şekilde 8000 x g'de 15 sn. ve oda sıcaklığında santrifüj edildi.
12. 500 µl %80 etanol spin kolona eklenerek, kapağı kapalı bir şekilde 8000 x g'de 2 dk. ve oda sıcaklığında santrifüj edildi.
13. Yıkama işlemi bittikten sonra 2ml.'lik toplama tüpü değiştirilerek ağzı açık bir şekilde en yüksek hızda santrifüj edildi.
14. 2ml.'lik toplama tüpü atılarak filtre 1.5 ml'lik eppendorf tüplere alındı ve filtre üzerine 14 µl RNase-free su eklendi. Kapağı kapalı bir şekilde en yüksek hızda ve oda sıcaklığında 1 dk. santrifüj edildi.
15. Filtre atılıp, eppendorf tüplerin kapakları kapatılarak çalışma zamanına kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

### **3.5. NRF-2, HO-1 ve TNF- $\alpha$ Gen İfade Düzeyi İçin Plazmada mRNA'dan cDNA Eldesi**

Elde edilen total RNA içindeki mRNA'yı cDNA'ya çevirmek için RT<sup>2</sup> First strand kit (RT<sup>2</sup> HT First Strand Kit, Qiagen, GmbH, Hilden, Almanya, Cat No./ID: 330411) kullanıldı. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan Revers Transkriptaz PCR reaksiyon karışımının içerikleri Tablo 1'de belirtilen şekilde hazırlandı.



**Tablo 3.1.** mRNA'dan cDNA eldesi için Revers Transkriptaz PCR reaksiyon karışımı

<b>Bileşenler</b>	<b>Miktar</b>
RNA	25 ng-5 ug
Buffer GE	2 ul
RNase-free water	Total 10 ul olacak şekilde ayarlandı.

Kitin iş akış şemasına göre aşağıdaki prosedür takip edildi.

1. Ön karışım dikkatlice karıştırılarak 42 °C'de 5 dk inkübe edildi. Ardından 1 dk soğuk blok üzerinde tutularak Tablo 3.2'de belirtilen karışım hazırlanarak cDNA sentezi gerçekleştirildi.

**Tablo 3.2.** mRNA'dan cDNA eldesi için reaksiyon karışımı

<b>Bileşenler</b>	<b>Miktar</b>
Revers Transkriptaz	6 ul
RNase-free water	4 ul

- 2 Bir önceki basamakta elde edilen karışım üzerine ikinci basamak için hazırlanan karışım (her bir örnek için 10 ul) eklenerek homojen hale getirildi.
- 3 42 °C'de 15 dk ve 95°C'de 5 dk olacak şekilde PCR yapılarak total cDNA elde edildi. Sonra elde edilen cDNA -20 °C'de saklandı.

### **3.5.1. NRF-2, HO-1 ve TNF- $\alpha$ Gen İfade Düzeyi İçin Plazmada Elde Edilen cDNA'lardan Kalite ve Miktar Tayini**

İfade analizi deneyleri öncesi elde edilen cDNA örneklerinin miktarlarını ve kalitesini belirlenmek, tüm örnekleri aynı yoğunlukta reaksiyona tabi tutmak amacıyla spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Kalite ve miktar tayini Thermo Scientific Multiskan Spectrophotometer System (Waltham, Massachusetts, ABD) cihazı kullanılarak yapıldı. İfade analizi deneyleri öncesi örneklerden elde edilen cDNA miktarları mRNA cDNA'sı için 50 ng/ $\mu$ l'e çekildi.

### 3.6. Plazmada NRF-2, HO-1 ve TNF- $\alpha$ Gen ifade Düzeyi İçin PCR Protokolü

NRF-2, HO-1 ve TNF- $\alpha$  gen ifade düzeyi ölçümü için plazmada PCR protokolü için Aşağıdaki Tablo 3.4'e göre rutin PCR karışımı hazırlandı ve prosedürü uygulandı.

**Tablo 3.3.** NRF-2, HO-1 ve TNF- $\alpha$  ifade düzeyi için qRT-PCR bileşenleri

Bileşenler	Hacim( $\mu$ l)
RT <sup>2</sup> SYBR Green Mastermix	5
F Primer (10 $\mu$ M)	0.3
R Primer (10 $\mu$ M)	0.3
RNaz/DNaz içermeyen su	3.9
cDNA (50 ng)	0,5
<b>Total</b>	<b>10</b>

Hazırlanan karışım 9.5  $\mu$ l olacak şekilde uygun tüplere dağıtılarak, her örneğe ait cDNA, eş zamanlı PCR ön karışımı içeren her tüpe eklendi ve aşağıda belirtilen PCR koşullarında çalışma gerçekleştirildi.

**Tablo 3.4.** NRF-2, HO-1 ve TNF $\alpha$  için eş zamanlı PCR ayarları

	Sıcaklık (°C)	Süre (sn)	
Enzim aktivasyonu	95	10 dk	
Denatürasyon	95	15 sn	} 40 döngü
Primer bağlanması/uzama	60	60 sn	

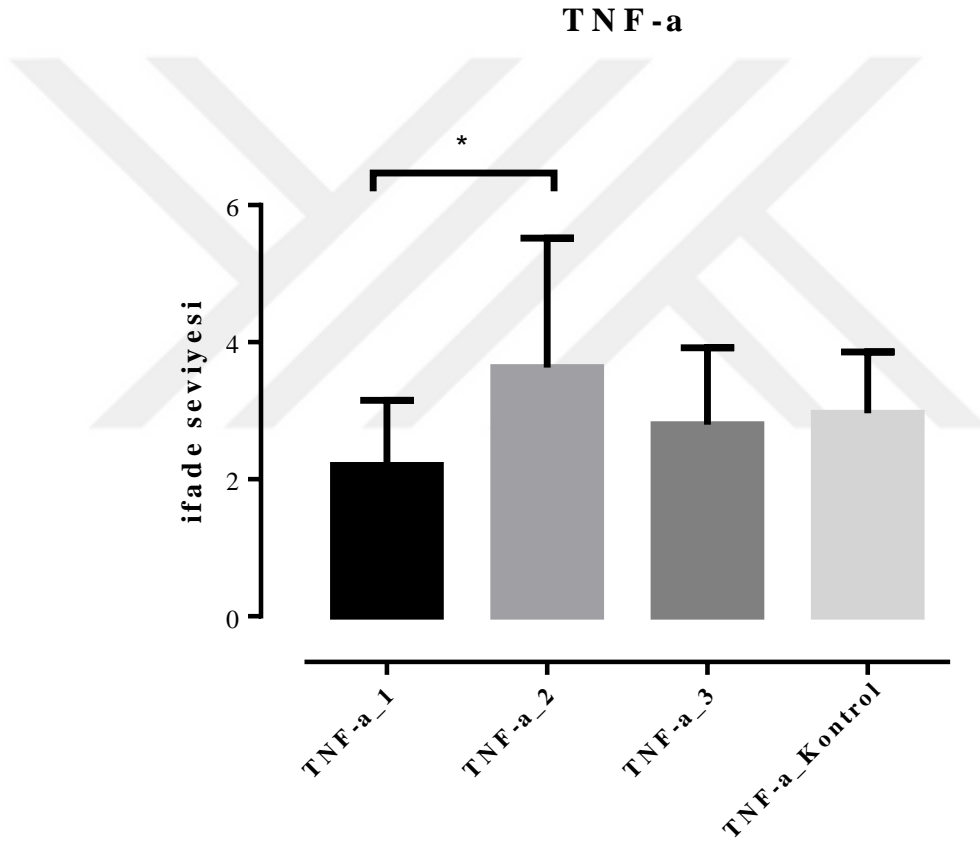
**Tablo 3.5.** Kullanılan Primer Dizileri

Primer	İleri dizi	Geri dizi
NRF-2	TTCGGCTACGTTTCAGTCAC	TCACTGTCAACTGGTTGGGG
HO-1	ACTGCGTTCCTGCTCAACAT	GGGGGCAGAATCTTGCACTTT
TNF- $\alpha$	CACAGTGAAGTGCTGGCAAC	GATCAAAGCTGTAGGCCCCA
GAPDH	CCTGACCTGCCGTCTAGAAA	TGGGTGTCGCTGTTGAAGTC

## 4. BULGULAR ve SONUÇLAR

Verilerin normal dağılıma uygunluk analizi Shapiro-Wilk testi ile yapıldı ve normal dağılım gösteren gruplar için ( $p>0,05$ ) Student T testi kullanılırken, normal dağılım göstermeyen ( $p<0,05$ ) iki grup kıyaslandığında Mann Whitney U testi, üç grup kıyaslandığında ise one-way Anova testi yapılarak gruplar arası anlamlılık çalışıldı.

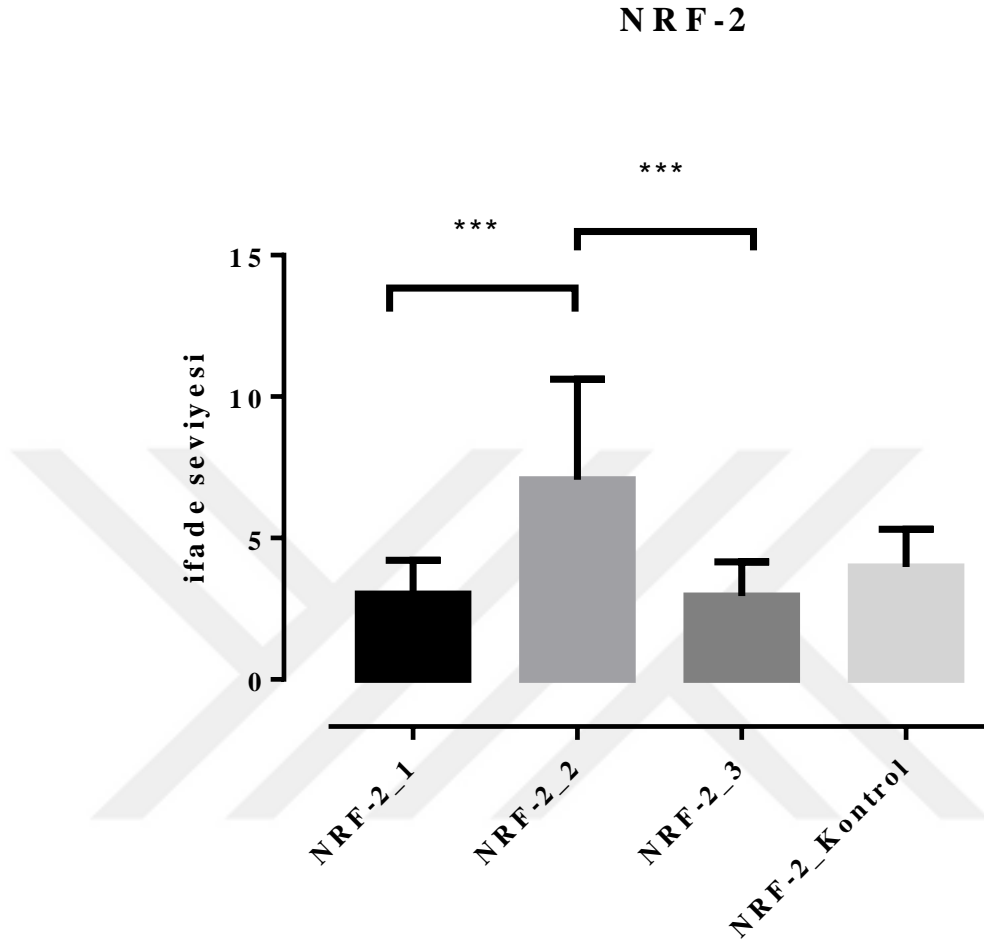
### 4.1. TNF- $\alpha$ Analizi



Şekil 4.1. TNF- $\alpha$  analiz grafiği

Ameliyat öncesi (1) ve sırasında (2) alınan örnek gruplarında TNF-a ekspresyonu kıyaslandığında, ameliyat sırasında TNF- $\alpha$  ekspresyonunda anlamlı bir artış olduğu tespit edildi ( $p<0,05^*$ ).

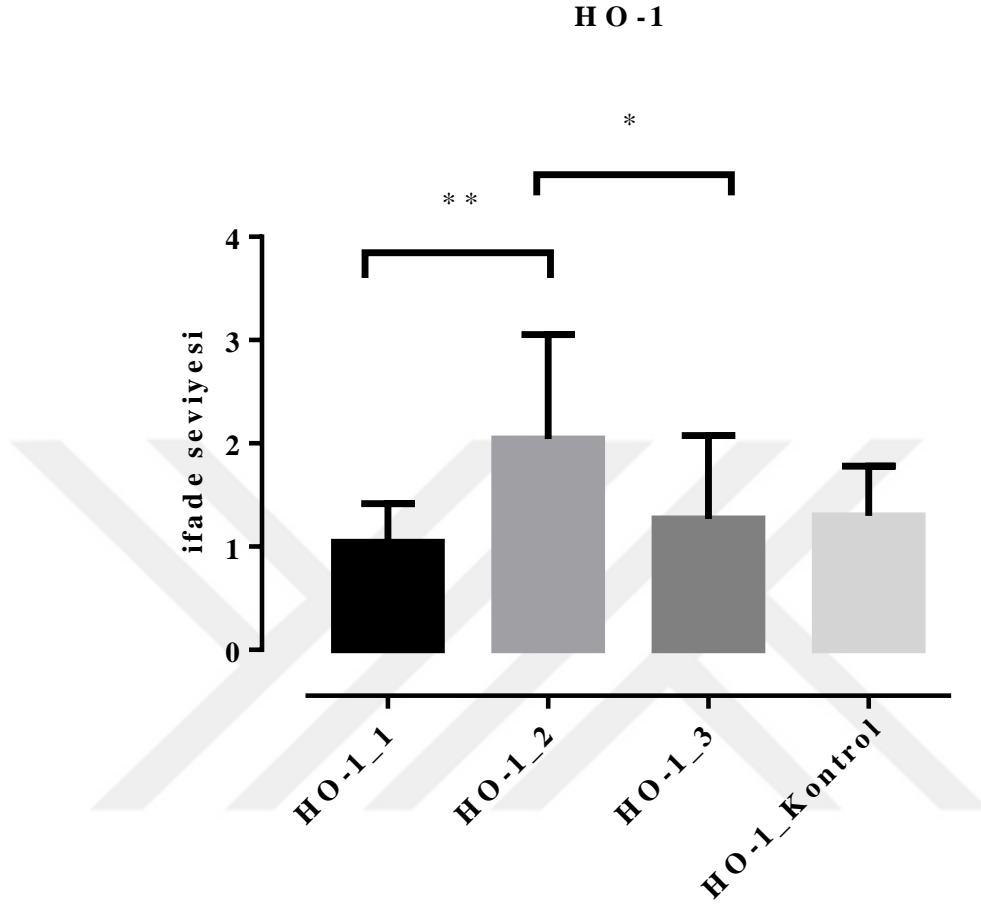
## 4.2. NRF-2



**Şekil 4.2.** NRF-2 analiz grafiği

Ameliyat öncesi (1)ve sırasında (2) alınan örnek gruplarında NRF-2 ekspresyonu kıyaslandığında, ameliyat sırasında alınan örneklerde anlamlı bir artış olduğu bulundu ( $p<0,001^{***}$ ). Ameliyat sırasında ve sonrasında (3) alınan örnek grupları kıyaslandığında ise ameliyat sonrasında NRF-2 ekspresyonunda anlamlı bir azalış olduğu tespit edildi ( $p<0,001^{***}$ ).

### 4.3. HO-1 Analizi



**Şekil 4.3.** HO-1 analiz grafiği

Ameliyat öncesive sırasında alınan örnek gruplarında HO-1 ekspresyonu kıyaslandığında, ameliyat sırasında alınan örneklerde anlamlı bir artış olduğu bulundu ( $p < 0,01^{**}$ ). Ameliyat sırasında ve sonrasında (3) alınan örnek grupları kıyaslandığında ise ameliyat sonrasında HO-1 ekspresyonunda anlamlı bir azalış olduğu tespit edildi ( $p < 0,05^{*}$ ).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmamızda Tnf- $\alpha$ , Nrf2 ve HO-1 normal kan seviyesinin ölçümünde eliza yöntemi kullanılmadı. Değerler gen ekspresyonu yapılarak kardiyopulmoner bypass öncesi, sırası ve sonrasında kontrol gruplarına göre değişiklikler değerlendirilerek elde edilmiştir. Çıkan sonuçlara göre Tnf- $\alpha$ , Nrf2, HO-1 ameliyat öncesine göre ameliyat esnasında gen ekspresyonu artmakta ve operasyon sonrası bu değerler azalmaktadır.

Kalp cerrahisinde sistemik enflamatuvar yanıt plazma proteinleri (komplemanlar, pıhtılaşma ve fibrinoliz) ve kan hücrelerini (nötrofiller, monositler /makrofajlar ve lenfositler) aktive ederek oksidatif strese neden olur. Kardiyopulmoner bypass sırasında kanın ekstrakorporeal dolaşımında olmasında birçok pro-enflamatuvar molekülün oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir. Sistemik enflamatuvar yanıt ve iskemi-reperfüzyon periyodu serbest oksijen radikllarının oluşumunu tetiklemekte ve bu durum hücre hasarı doku hasarı ve organ fonksiyon kaybına neden olmaktadır (112). Bu cevap abartılıysa, miyokard fonksiyon bozukluğu dâhil olmak üzere solunum yetmezliği, böbrek ve nörolojik fonksiyon bozukluğu, kanama bozuklukları, değişmiş karaciğer fonksiyonu ile önemli morbidite ve mortaliteye yol açar (113).

Tnf- $\alpha$ 'nın immün cevapları ve antitümör etkileri tetiklemesi yanında lipid metabolizması, koagülasyon, insülin direnci, endotelyal fonksiyon ile farklılaşma ve apoptoz süreçlerinde önemli rolü vardır. Makrofaj ve lenfosit başta olmak üzere çeşitli savunma hücrelerinde ve somatik hücrelerde üretilir. Gram pozitif bakteriler, virüsler, parazitler, mantarlar, kompleman aktivasyon ürünleri, sitokinler ve TNF- $\alpha$ 'nın kendisi salınımı uyarır. Sepsis, kanser ve romatolojik hastalıklarda seviyesi belirgin şekilde yükselir. Tnf- $\alpha$  ile ilgili yapılan çalışmalarda kardiyopulmoner bypass sonrasında düştüğü tespit edilmiştir. Song ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada çocuk kalp ameliyatlarından sonra düştüğü tespit edilmiştir (114). Chang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kardiyopulmoner bypass esnasında Tnf- $\alpha$  arttığı izlenmiştir (115)

Tnf- $\alpha$  ile ilgili yapılan çalışmalara korele olarak bizim çalışmamızda Tnf- $\alpha$  nın gen ekspresyonunun ameliyat sırasında arttığı gözlenmiş ve sonrasında düştüğü izlenmiş olup çalışmalarla benzerlik göstermesidir.

Çalışmamızda Nrf-2 operasyon esnasında artmış ve sonrasında azalmıştır. Ma ve arkadaşlarının yaptığı deneysel rat çalışmasında cpb esnasında verilen hiperoksi sıvısının etkisi araştırılmış. Hiperoksi sıvısının koruyucu rolünün, CPB ile indüklenmiş bir sıçan modelinde, Nrf2-antioksidan cevap elemanı sinyal yolu yoluyla oksidatif stresi düzenleyebileceğini göstermiştir. Buda göstermektedirki stres esnasında Nrf-2 yolağı aktive olmaktadır (116).

Bir diğer çalışma olan song ve arkadaşları deneysel olarak ratlarda yaptığı çalışmada hidrojen zengin solusyon ile oluşturulan iskemide n koruduğunu bulunmuş ve Hcl sonrasında Bcl A 2, AQP - 1, AQP - 4, p - Akt, HO - ve Nrf2 düzeyleri anlamlı olarak artmıştır. Bax ve caspaz ase 3 ekspresyon seviyeleri CPB sonrasında anlamlı derecede azalmıştır. HRS tedavisi, miyokard hücrelerinin viyabilitesini önemli ölçüde arttırmış, miyokard hücre apoptoz oranını ve CPB grubuna kıyasla MDA ve LDH salınımını azaltmıştır. HRS tedavisinin koruyucu etkisini tersine çeviren bir PI3K inhibitörü (LY294002) ortaya çıktı. HRS'nin CPB - ile indüklenen miyokard hasarını hafiflettiği, CPB tedavisinin ardından AQP - 1 ve AQP - 4 ekspresyonunu bastırıldığı ve miyokard hücrelerini PI3K / Akt sinyal yolu yoluyla koruduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada Nrf-2 kan düzeyinebakılmasına rağmen iskemi esnasında yükseldiği gösterilmiştir (117).

Nrf-2 bizim çalışmamızda gerçek insan modelinde bakılmış. Kan düzeyleri değilde gen ekspresyonuna bakılarak litaratüre denk ameliyat esnasında arttığı ve sonrasında düştüğü gözlenmiştir. Çalışmayı değerli kılan yan gen ekspresyonunun insan modelinde bakılmasıdır.

Nrf2 ile HO-1 arasındaki ilişki daha öncesinde de litaratürde tanımlanmıştır. Nrf2 yüksek ekspresyonunun, reaktif oksijen türlerine karşı hücrel savunmada önemli rolleri olan NAD(P)H, kinon oksidoredüktaz (NQO1), glutatyon S-transferaz (GST), hem oksijenaz-1 (HO-1) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi ARE bağımlı antioksidan enzimlerin ekspresyonunu arttırdığını rapor edilmiştir (92-103). Hem oksijenaz 1'in

oksidatif hasara karşı anahtar savunma mekanizmalarından birini oluşturduğu diyabette henüz açıklanamayan mekanizmalar aracılığı ile endotel disfonksiyonu, apoptozisi ve süperoksit oluşumunu azalttığı bildirilmektedir

HO-1 kardiyopulmoner bypass esnasında ölçümü akut böbrek yetmezliğinin değerlendirilmesinde bakılmış. Magyar ve arkadaşları bu kolerasyonu göstermişlerdir. CBP'den 24 saat sonra ikinci HO-1 patlamasının birleşmesi, CBP uygulanan hastalarda AKI'nın nedensellik arasındaki ayrımın yapılmasına yardımcı olabilir, böylece hastanın belirlenmesi ve yönetimini yardımcı olabilir sonucuna varmışlardır (118).

Bir diğer çalışmada Propofol ve izofluran'ın hemodinamik ve kardiyopulmoner baypas cerrahisinde inflamatuvar yanıt üzerine etkisini araştıran Sayed ve arkadaşları (119) şu sonuca varmışlardır. CPB'de propofol kullanımı, izoflordan daha az ters bir inflamatuvar profil ve HO-1'in arttırılmış bir yukarı regülasyonu ile ilişkilidir. Bu, propofolün anti-enflamatuvar aktiviteye sahip olduğu hipotezini destekler. Bu çalışmada ana etki olarak HO-1 bakılmış ve bunun üzerinden anti enflamatuvar etki belirlenmiştir.

Shi ve arkadaşları bir flavone glikozid olan enteral baicalin, sıçanlarda kardiyak cerrahiye bağlı akut böbrek hasarının göstergelerini azalttığını Nrf-2 HO-1 yolağı üzerinden göstermişlerdir. Baicalin, IL-18 ve iNOS ekspresyonunu bastırdı ve Nrf2 / HO-1 yolunu aktive ettiği bulmuşlardır.

Yapılan bütün çalışmalarda kardiyopulmoner bypass bir stres oluşturmakta ve oksidatif mekanizma artma eylemine girmektedir. Litaratürde buna benzer çalışmalar bulunmaktadır. Değerler gen ekspresyonu yapılarak kardiyopulmoner bypass öncesi, sırası ve sonrasında kontrol gruplarına göre değişiklikler değerlendirilerek elde edilmiştir. Çıkan sonuçlara göre Tnf- $\alpha$ , Nrf2, HO-1 ameliyat öncesine göre ameliyat esnasında gen ekspresyonu artmakta ve operasyon sonrası bu değerler azalmaktadır. Bu durum antioksidan mekanizmanın çalıştığını göstermektedir. Bu çalışmadan sonra yapılacak çalışmalarda antioksidan mekanizmaların çalıştığı aşikâr olup bunun litaratürde kan değeri olartak yeteri kadar olduğu izlenmekte ama gen ekspresyonu açısından diğer antioksidan mekanizmaların neler olduğu bakılabilir.



## 6. KAYNAKLAR

1. McGiffin DC, Kirklin KI. Cardiopulmonary Bypass for Cardiac Surgery. In: Sabiston DC, Spencer FC. Surgery the Chest. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p.1256-71.
2. Bigi L, Ghelli N, Menghini A, Panzani I. Design and Principles of the Extracorporeal Circuit. In Techniques in Extracorporeal Circulation. Butterworth-Heinemann Lancaster; 1992. p.33-41.
3. Reed CC, Stafford TB. Cardiopulmonary Bypass. 2nd ed. Houston, Texas: Medical Press Inc; 1985. p.375-83.
4. Fallot E. Contribution a Lanatomie Pathologique de la Maladie Bleue (Cyanotic Cardiaque). Marseille méd 1888; 25: 77-138.
5. Murphy JG, Gersh BJ, Mair DD, Fuster V, McGoon MD, Ilstrup DM, et al. Long-term Outcome in Patients Undergoing Surgical Repair of Tetralogy of Fallot. New England Journal of Medicine 1993; 329(9):593-99.
6. Blalock A, Taussig HB. The Surgical Treatment of Malformations of The Heart. In Which There is Pulmonary Stenosis or Pulmonary Atresia. Journal of the American Medical Association 1945; 128(3):189-202.
7. Lillehei CW, Cohen M, Warden HE, Read RC, Aust JB, DeWall RA, et al. Direct Vision Intracardiac Surgical Correction of the Tetralogy of Fallot, Pentalogy of Fallot, and Pulmonary Atresia Defects: Report of First Ten Cases. Annals of Surgery 1995; 142(3):418.
8. Hirsch JC, Mosca RS, Bove EL. Complete Repair of Tetralogy of Fallot in the Neonate: Results in the Modern Era. Annals of Surgery 2000; 232(4):508.
9. Von Frey M, Gruber M. Untersuchungen Uber den Stoffwechsel Isolierter Organe. Ein Respirations-apparat fur Isolierte Organe. Virchows Arch Physiol 1885; 9:519.
10. Jacoby C. Ein Beitrag zur Technik der Künstlichen Durchblutung Überlebender Organe. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 1895; 36(5):330-48.
11. Brukhonenko S, Tchetchuline S. Experiences Avec la Tete Isolee du Chien. J Physiol Pathol Gen 1929; 27:31-45.
12. Johnson SL. The History of Cardiac Surgery, 1896–1955. Baltimore: Johns Hopkins Press; 1970. p.121.

13. Best CH. Preparation of Heparin and Its Use in the First Clinical Cases. *Circulation* 1959; 19(1):79-86.
14. Gibbon JH Jr. The Gestation and Birth of an Idea. *Phila Med* 1963; 59:913.
15. Gibbon JH. Artificial Maintenance of Circulation During Experimental Occlusion of Pulmonary Artery. *Archives of Surgery* 1937; 34(6):1105-1131.
16. Johnson SL. *The History of Cardiac Surgery, 1896–1955*. Baltimore: Johns Hopkins Press; 1970. p.145.
17. Dennis C, Spreng Jr DS, Nelson GE, Karlson KE, Nelson RM, Thomas JV, et al. Development of a Pump-oxygenator to Replace the Heart and Lungs an Apparatus Applicable to Human Patients and Application to One Case. *Annals of Surgery* 1951; 134(4):709.
18. Dogliotti AM. Clinical Use of the Artificial Circulation With a Note on Intra-arterial Transfusion. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital* 1952; 90(2):131.
19. Dodrill FD, Hill E, Gerisch RA. Temporary Mechanical Substitute for the Left Ventricle in Man. *Journal of the American Medical Association* 1952; 150(7):642-44.
20. Dodrill FD, Hill E, Gerisch RA, Johnson A. Pulmonary Valvuloplasty Under Direct Vision Using the Mechanical Heart for a Complete By-pass of the Right Heart in a Patient With Congenital Pulmonary Stenosis. *The Journal of Thoracic Surgery* 1953; 26(6):584-94.
21. Johnson SL. *The History of Cardiac Surgery, 1896–1955*. Baltimore: Johns Hopkins Press; 1970. p.143.
22. Gibbon JA. Application of a Mechanical Beart and Lung Apparatus to Cardiac Surgery. *Minnesota Med* 1954; 37:171.
23. Lillehei CW, Cohen M, Warden HE, Ziegler NR, Varco RL. The Results of Direct Vision Closure of Ventricular Septal Defects in Eight Patients by Means of Controlled Cross Circulation. *Surgery Gynecology and Obstetrics* 1955; 101(4):446-66.
24. Lillehei CW. Historical Development of Cardiopulmonary Bypass. *Cardiopulmonary Bypass* 1993; 1:26.
25. Kirklin JW, DuShane JW, Patrick RT, Donald DE, Hetzel PS, Harshbarger H, et al. Intracardiac Surgery With the Aid of a Mechanical Pump-oxygenator System (Gibbon Type) Report of Eight Cases. In *Proceedings of the Staff Meetings*. *Mayo Clinic* 1955; 10(30):201-06.

26. Us MH, Pekediz A, Öza, E, İnan K, Duran E, Öztürk YÖ. Influence of Cell-Saver Use On Postoperative Hematologic Paramereters. *Koşuyolu Kalp Dergisi* 2000; 4(2):110-14.
27. Leschinsky BM, Itkin GP, Zimin NK. Centrifugal Blood Pumps a Brief Analysis Development of New Designs. *Perfusion* 1991; 6(2):115-21.
28. Wright G. Hemodynamic Analysis Could Resolve the Pulsatile Blood Flow Controversy. *The Annals of Thoracic Surgery* 1994; 58(4):1199-1204.
29. Bigi L, Ghelli N, Menghini A, Panzani I. Design and Principles of the Extracorporeal Circuit. In *Techniques in Extracorporeal Circulation* 1992:33-41.
30. Reed CC, Stafford TB. *Cardiopulmonary Bypass*. 2nd Edition. Houston TX: Texs Medical Press; 1985. p.375-83.
31. Wear RPIT. Another Argument in Favor of Arterial Line Filtration. *The Journal of Extra-Corporeal Technology* 1980; 12(2).
32. Stammers AH. *Extracorporeal Devices and Related Technologies*. Cardiac Anesthesia. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999. p.1018.
33. Curtis JJ, Walls JT, Schmaltz RA, Boley THERESA, Landreneau RODNFY, Nawarawong, WEFRACHAI. Prognosis of Hospital Survivors After Salvage from Cardiopulmonary Bypass With Centrifugal Cardiac Assist. *ASAIO Transactions* 1990; 36(3):552-4.
34. Driessen JJ, Franssen G, Rondelez L, Schelstraete E, Gevaert L. Comparison of the Standard Roller Pump and a Pulsatile Centrifugal Pump for Extracorporeal Circulation During Routine Coronary Artery Bypass Grafting. *Perfusion* 1991;6(4):303-11.
35. Kirklin JW, DuShane JW, Patrick RT, Donald DE, Hetzel PS, Harshbarger H, et al. Intracardiac Surgery With the Aid of a Mechanical Pump-oxygenator System (Gibbon Type) Report of Eight Cases. In *Proceedings of the Staff Meetings*. Mayo Clinic 1955; 10(30):201-6.
36. Pearson DT. Gas Exchange Bubble and Membrane Oxygenators. In *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1990; 4(2):313.
37. Clark RE, Beauchamp RA, Magrath RA. Comparison of Bubble and Membrane Oxygenators in Short and Long Perfusions. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979:78555.
38. Edmunds JL, Ellison N, Colman RW, Niewiarowski S, Rao A K, Addonizio JV, et al. Platelet Function During Cardiac Operation Comparison of Membrane and Bubble Oxygenators. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1982; 83(6):805-12.

39. Hammon JW. Extracorporeal Circulation. Cohn LH, Cardiac Surgery in the Adult. 3rd Edition. Pennsylvania: McGraw-Hill; 2008. p.349-414.
40. Davies LK. Hypothermia Physiology and Clinical Use. In Gravlee GP, Davis RF, Utley JR. Cardiopulmonary Bypass. Baltimore: Williams & Wilkins; 1993. p.140.
41. Sarıbülbül O. Açık kalp Makinası ve Ekstrakorporeal Dolaşım. Duran E editör. Kalp ve Damar Cerrahisi. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004. p.1047-74.
42. Gibbon JH. Application of Mechanical Heart and Lung Apparatus in Cardiac Surgery. Minn Med 1954; 37:17.
43. Sarıbülbül O. Açık kalp Makinası ve Ekstrakorporeal Dolaşım. Duran E editör. Kalp ve Damar Cerrahisi. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004. p.1047-74.
44. Önem G, Baltalarlı A. Ekstrakorporeal Dolaşım Teknikleri Ekstrakorporeal Dolaşım Komplikasyonları, Kalp ve Akciğer Pompasıyla İlgili Acil Sorunlar. Demirkılıç U editör. Ekstrakorporeal Dolaşım. Ankara: Eflatun Yayınevi; 2008. p.391-408.
45. Del Balzo UH, Levi R, Polley MJ. Cardiac Dysfunction Caused by Purified Human C<sub>3a</sub> Anaphylotoxin. Proc Natl Acad Sci 1985; 82:886-890.
46. Velthuis H, Jansen PG, Oudemans-van Straaten HM, Sturk A, Eijnsman L, Wildevuur CR. Myocardial Performance in Elderly Patients After Cardiopulmonary Bypass is Suppressed by Tumor Necrosis Factor. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 1995;110(6):1663-69.
47. Marban E. Myocardial Stunning and Hibernation. The Physiology Behind the Colloquialisms. Circulation 1991; 83(2):681-88.
48. Bolli R. Mechanism of Myocardial Stunning. Circulation 1990; 82(3):723-38.
49. 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. The Annals of Thoracic Surgery 2001; 71(6):1925-30.
50. Ratfil NB. Pulmonary Injury Secondary to Extracorporeal Circulation an Ultrastructural Study. J Thorac Cardiovasc Surg 1973); 65:425-32.
51. Durmaz I, Büket S, Atay Y, Yağdı T, Özbaran M, Boğa M, et al. Cardiac Surgery With Cardiopulmonary Bypass in Patients With Chronic Renal Failure. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 1999; 118(2):306-15.

52. Tang AT, Alexiou C, Hsu J, Sheppard SV, Haw MP, Ohri SK. Leukodepletion Reduces Renal Injury in Coronary Revascularization a Prospective Randomized Study. *The Annals of Thoracic Surgery* 2002; 74(2):372-77.
53. Ghosh S, Roberts N, Firmin RK, Jameson J, Spyt TJ. Risk Factors for Intestinal Ischaemia in Cardiac Surgical Patients. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2002; 21(3):411-16.
54. Kehlet H. Surgical Stress the Role of Pain and Analgesia. *British Journal of Anaesthesia* 1989; 63(2):189-195.
55. Dönmez A, Kaya H, Haberal A, Kutsal A, Arslan G. The Effect of Etomidate Induction on Plasma Cortisol Levels in Children Undergoing Cardiac Surgery. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 1998; 12(2):182-85.
56. Mammen EF, Koets MH. Washington BC, Wolk LW, Brown JM, Burdick M, et al. Hemostasis Changes During Cardiopulmonary Bypass Surgery. In *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. Thieme Medical 1985; 3(11):281-92.
57. Khuri SF, Valeri CR, Loscalzo J, Weinstein MJ, Birjiniuk V, Healey NA, et al. Heparin Causes Platelet Dysfunction and Induces Fibrinolysis Before Cardiopulmonary Bypass. *The Annals of Thoracic Surgery* 1995; 60(4):1008-14.
58. Cosgrove DM. Should Coronary Arteries With Less Than Fifty Percent Stenosis be Bypassed. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1981; 82:520-30.
59. Okoshi T, Soldani G, Goddard M, Galletti PM. Very Small-diameter Polyurethane Vascular Prostheses With Rapid Endothelialization for Coronary Artery Bypass Grafting. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1993; 105(5):791-95.
60. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen Radicals and Human Disease. *Annals of Internal Medicine* 1987; 107(4):526-45.
61. McCord JM. Oxygen-derived Free Radicals in Postischemic Tissue Injury. *New England Journal of Medicine* 1985; 312(3):159-63.
62. Rikans LE, Hornbrook KR. Lipid Peroxidation, Antioxidant Protection and Aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1997; 1362(2-3):116-27.
63. Jaruga P, Zastawny TH, Skokowski J, Dizdaroglu M, Olinski R. Oxidative DNA Base Damage and Antioxidant Enzyme Activities in Human Lung Cancer. *FEBS Letters* 1994; 341(1):59-64.

64. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. Microsomal Heme Oxygenase Characterization of the Enzyme. *Journal of Biological Chemistry* 1969; 244(23):6388-94.
65. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The Enzymatic Conversion of Heme to Bilirubin by Microsomal Heme Oxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1968; 61(2):748-55.
66. Tenhunen R, Ross ME, Marver HS, Schmid R. Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Dependent Biliverdin Reductase. Partial Purification and Characterization. *Biochemistry* 1970; 9(2):298-303.
67. Maines MD, Panahian N. The Heme Oxygenase System and Cellular Defense Mechanisms. In *Hypoxia*, Boston: Springer; 2001. p.249-72.
68. Rotenberg MO, Maines MD. Isolation, Characterization and Expression in *Escherichia Coli* of a cDNA Encoding Rat Heme Oxygenase-2. *Journal of Biological Chemistry* 1990; 265(13):7501-06.
69. Cruse I, Maines MD. Evidence Suggesting That the Two Forms of Heme Oxygenase are Products of Different Genes. *Journal of Biological Chemistry* 1988; 263(7):3348-53.
70. Maines MD, Trakshel GM, Kutty RK. Characterization of Two Constitutive Forms of Rat Liver Microsomal Heme Oxygenase. Only One Molecular Species of the Enzyme is Inducible. *Journal of Biological Chemistry* 1986; 261(1):411-19.
71. Maines MD, Trakshel GM. Differential Regulation of Heme Oxygenase Isozymes by Sn-and Zn-protoporphyrins Possible Relevance to Suppression of Hyperbilirubinemia. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression* 1992; 1131(2):166-74.
72. Exner M, Minar E, Wagner O, Schillinger M. The Role of Heme Oxygenase-1 Promoter Polymorphisms in Human Disease. *Free Radical Biology and Medicine* 2004; 37(8):1097-1104.
73. Kim HP, Wang X, Galbati F, Ryter SW, Choi AM. Caveolae Compartmentalization of Heme Oxygenase-1 in Endothelial Cells. *The FASEB Journal* 2004; 18(10):1080-89.
74. Converso DP, Taillé C, Carreras MC, Jaitovich A, Poderoso JJ, Boczkowski J, et al. HO-1 is Located in Liver Mitochondria and Modulates Mitochondrial Heme Content and Metabolism. *The FASEB Journal* 2006; 20(8):1236-38.

75. Lin Q, Weis S, Yang G, Weng YH, Helston R, Rish K, et al. Heme Oxygenase-1 Protein Localizes to the Nucleus and Activates Transcription Factors Important in Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry* 2007; 282(28):20621-20633.
76. Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme Oxygenase-1/carbonmonoxide from Basic Science to Therapeutic Applications. *Physiological Reviews* 2006; 86(2):583-650.
77. Motohashi H, Yamamoto M. Nrf2–Keap1 Defines a Physiologically Important Stress Response Mechanism. *Trends in Molecular Medicine* 2004; 10(11):549-57.
78. Levonen AL, Inkala M, Heikura T, Jauhiainen S, Jyrkkänen HK, Kansanen E, et al. Nrf2 Gene Transfer Induces Antioxidant Enzymes and Suppresses Smooth Muscle Cell Growth In Vitro and Reduces Oxidative Stress in Rabbit Aorta In Vivo. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2007; 27(4):741-47.
79. Sun J, Hoshino H, Takaku K, Nakajima O, Muto A, Suzuki H, et al. Hemoprotein Bach1 Regulates Enhancer Availability of Heme Oxygenase-1 Gene. *The EMBO Journal* 2002; 21(19):5216-24.
80. Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, et al. Keap1 Represses Nuclear Activation of Antioxidant Responsive Elements by Nrf2 Through Binding to the Amino-terminal Neh2 Domain. *Genes and Development* 1999; 13(1):76-86.
81. Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, O'Connor T, Yamamoto M. Keap1 Regulates Both Cytoplasmic- nuclear Shuttling and Degradation of Nrf2 in Response to Electrophiles. *Genes to Cells* 2003; 8(4):379-91.
82. Dinkova Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN, Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, et al. Direct Evidence That Sulfhydryl Groups of Keap1 are the Sensors Regulating Induction of Phase 2 Enzymes That Protect Against Carcinogens and Oxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2002; 99(18):11908-11913.
83. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an Antioxidant of Possible Physiological Importance. *Science* 1987; 235(4792):1043-46.
84. Zhang DD. Mechanistic Studies of the Nrf2-Keap1 Signaling Pathway. *Drug Metabolism Reviews* 2006; 38(4):769-89.
85. Latchman DS. Transcription Factors an Overview. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 1997; 29(12):1305-12.

86. Klug WS, Cummings MR. Concepts of Genetics. 8. Baskı. İstanbul: Palme Yayıncılık; 2011.
87. Ham J, Steger G, Yaniv M. How Do Eukaryotic Activator Proteins Stimulate the Rate of Transcription by RNA Polymerase II?. FEBS Letters 1992; 307(1):81-86.
88. Kobayashi M, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 Regulation of Cellular Defense Mechanisms Against Electrophiles and Reactive Oxygen Species. Advances in Enzyme Regulation 2006; 46:113-40.
89. Itoh K, Tong KI, Yamamoto M. Molecular Mechanism Activating Nrf2-Keap1 Pathway in Regulation of Adaptive Response to Electrophiles. Free Radical Biology and Medicine 2004; 36(10):1208-13.
90. Surh YJ, Kundu JK, Na HK. Nrf2 as a Master Redox Switch in Turning on the Cellular Signaling Involved in the Induction of Cytoprotective Genes by Some Chemopreventive Phytochemicals. Planta Medica 2008; 74(13):1526-39.
91. Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, Gencoglu H, Ulas M, Atalay M, et al. The Effects of Chromium Picolinate and Chromium Histidinate Administration on NF- $\kappa$ B and Nrf2/HO-1 Pathway in the Brain of Diabetic Rats. Biological Trace Element Research 2012; 150(1-3):291-96.
92. Lee JM, Johnson JA. An Important Role of Nrf2-ARE Pathway in the Cellular Defense Mechanism. BMB Reports 2004; 37(2):139-43.
93. Negi G, Kumar A, Sharma SS. Melatonin Modulates Neuroinflammation and Oxidative Stress in Experimental Diabetic Neuropathy Effects on NF-  $\kappa$ B and Nrf2 Cascades. Journal of Pineal Research 2011; 50(2):124-31.
94. Innamorato NG, Rojo AI, García Yagüe AJ, Yamamoto M, De Ceballos ML, Cuadrado A. The Transcription Factor Nrf2 is a Therapeutic Target Against Brain Inflammation. The Journal of Immunology 2008; 181(1):680-89.
95. Tanaka N, Ikeda Y, Ohta Y, Deguchi K, Tian F, Shang J, et al. Expression of Keap1-Nrf2 System and Antioxidative Proteins in Mouse Brain After Transient Middle Cerebral Artery Occlusion. Brain Research 2011; 1370:246-53.
96. Ungvari Z, Bagi Z, Feher A, Recchia FA, Sonntag WE, Pearson K, et al. Resveratrol Confers Endothelial Protection via Activation of the Antioxidant Transcription Factor Nrf2. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 2010; 299(1):18-24.
97. Koriyama Y, Chiba K, Yamazaki M, Suzuki H, Ichiro Muramoto K, Kato S. Long- acting Genipin Derivative Protects Retinal Ganglion Cells from Oxidative Stress Models In Vitro and In Vivo Through the Nrf2/antioxidant Response Element Signaling Pathway. Journal of Neurochemistry 2010; 115(1):79-91.



98. Song MY, Kim EK, Moon WS, Park JW, Kim HJ, So HS, et al. Sulforaphane Protects Against Cytokine-and Streptozotocin-induced  $\beta$ -cell Damage by Suppressing the NF- $\kappa$ B Pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2009; 235(1):57-67.
99. Kim J, Cha YN, Surh YJ. A Protective Role of Nuclear Factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in Inflammatory Disorders. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 2010; 690(1-2):12-23.
100. Furukawa M, Xiong Y. BTB Protein Keap1 Targets Antioxidant Transcription Factor Nrf2 for uUbiquitination by the Cullin 3-Roc1 Ligase. *Molecular and Cellular Biology* 2005; 25(1):162-71.
101. Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell Survival Responses to Environmental Stresses via the Keap1-Nrf2-ARE Pathway. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* 2007; 47:89-116.
102. Chen XL, Dodd G, Thomas S, Zhang X, Wasserman MA, Rovin BH, et al. Activation of Nrf2/ARE Pathway Protects Endothelial Cells from Oxidant Injury and Inhibits Inflammatory Gene Expression. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2006; 290(5):1862-70.
103. Keum YS, Owuor ED, Kim BR, Hu R, Kong ANT. Involvement of Nrf2 and JNK1 in the Activation of Antioxidant Responsive Element (ARE) by Chemopreventive Agent Phenethyl Isothiocyanate (PEITC). *Pharmaceutical research* 2003; 20(9):1351-56.
104. Abraham NG, Li M, Vanella L, Peterson SJ, Ikehara S, Asprinio D. Bone Marrow Stem Cell Transplant Into Intra-bone Cavity Prevents Type 2 Diabetes Role of Heme Oxygenase-Adiponectin. *Journal of Autoimmunity* 2008; 30(3):128-35.
105. Bao W, Song F, Li X, Rong S, Yang W, Zhang M, et al. Plasma Heme Oxygenase-1 Concentration is Elevated in Individuals With Type 2 Diabetes Mellitus. *PLoS One* 2010; 5(8):12371.
106. Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, et al. Identity of Tumour Necrosis Factor and the Macrophage-secreted Factor Cachectin. *Nature* 1985; 316(6028):552.
107. Caput D, Beutler B, Hartog K, Thayer R, Brown Shimer S, Cerami A. Identification of a Common Nucleotide Sequence in the 3'-untranslated Region of mRNA Molecules Specifying Inflammatory Mediators. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1986; 83(6):1670-74.
108. Palladino MA, Bahjat FR, Theodorakis EA, Moldawer LL. Anti-TNF- $\alpha$  Therapies the Next Generation. *Nature Reviews Drug Discovery* 2003; 2(9):736.

109. Idriss HT, Naismith JH. TNF $\alpha$  and the TNF Receptor Superfamily Structure- function Relationship. *Microscopy Research and Technique* 2000; 50(3):184-95.
110. Liu ZG, Hsu H, Goeddel DV, Karin M. Dissection of TNF Receptor 1 Effector Functions JNK Activation is Not Linked to Apoptosis While NF- $\kappa$ B Activation Prevents Cell Death. *Cell* 1996; 87(3):565-76.
111. Cohen J. The Immunopathogenesis of Sepsis. *Nature* 2002; 420(6917):885.
112. Melek FE, Baroncini LAV, Repka JCD, Nascimento CS, Pr coma DB. Oxidative Stress and Inflammatory Response Increase During Coronary Artery Bypass Grafting With Extracorporeal Circulation. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery* 2012; 27(1):61-65.
113. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Inflammatory Response to Cardiopulmonary Bypass Mechanisms Involved and Possible Therapeutic Strategies. *Chest* 1997; 112(3):676-92.
114. Song ST, Bai CM, Zhou JW. Serum TNF-  $\alpha$  Levels in Children With Congenital Heart Disease Undergoing Cardiopulmonary Bypass A Cohort Study in China and a Meta- analysis of the Published Literature. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2017;31(6):22112.
115. Chang RW, Luo CM, Yu HY, Chen YS, Wang CH. Investigation of the Pathophysiology of Cardiopulmonary Bypass Using Rodent Extracorporeal Life Support Model. *BMC Cardiovascular Disorders* 2017; 17(1):123.
116. Ma X, Hu B, Zou C, Han A, Xu Z, Zhang T, Yu W. The Effects of Hyperoxia Liquid Regulate Cardiopulmonary Bypass-induced Myocardial Damage Through the Nrf2-ARE Signaling Pathway. *Molecular Medicine Reports* 2018; 18(2):2342-48.
117. Song D, Liu X, Diao Y, Sun Y, Gao G, Zhang T, et al. Hydrogen-rich Solution Against Myocardial Injury and Aquaporin Expression via the PI3K/Akt Signaling Pathway During Cardiopulmonary Bypass in Rats. *Molecular Medicine Reports* 2018; 18(2):1925-38.
118. Magyar A, Wagner M, Thomas P, Malsch C, Schneider R, St rk S, et al. HO-1 Concentrations 24 Hours After Cardiac Surgery are Associated With the Incidence of Acute Kidney Injury a Prospective Cohort Study. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease* 2019;12:9.
119. Sayed S, Idriss NK, Sayyed HG, Ashry AA, Rafatt DM, Mohamed AO, Blann AD. Effects of Propofol and Isoflurane on Haemodynamics and the Inflammatory Response in Cardiopulmonary Bypass Surgery. *British Journal of Biomedical Science* 2015; 72(3):93-101.



T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Tıp Fakültesi Dekanlığı  
Etik Kurul Başkanlığı



Sayı : 74059997-050.04.04  
Konu : Karar

Sayın Doç. Dr. M.Salih AYDIN  
Öğretim Üyesi

Yürütücüsü olduğunuz "**Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (Nrf2), Kelch-like Ech-Associated Protein 1(keap1) Heme Oxygenase-1(Ho-1) Değişimi**" başlıklı çalışmaya ilişkin Kurulumuzun 04.01.2018 tarih, 01 nolu oturum ve 25 nolu kararı yazımız ekinde gönderilmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

**e-imzalıdır**  
Prof. Dr. Zehra YILMAZ  
Kurul Başkanı

Ek:1 Adet

Evrak Tarih ve Sayısı: 29/01/2018-E.4347

HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
Etik Kurul Kararı

TARİH : 04.01.2018  
OTURUM : 01  
SAAT : 13:00

18/01/25

**Karar:** Üniversitemiz Tıp Fakültesi Kalp damar cerrahisi Anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Mehmet Salih AYDIN ' nın yürütücüsü olduğu " **Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (Nrf2), Kelch-like Ech-Associated Protein 1(keap1) Heme Oxygenase-1(Ho-1) Değişimi**" başlıklı çalışmaya Etik Kurul onayı verilmesine Oy birliğiyle karar verilmiştir.

ASLI GİBİDİR  
Yrd. Doç/Dr. Hakım ÇELİK  
Etik Kurul Raportörü



T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

**Öğrencinin**

Numarası :165309001  
Adı, Soyadı :Yusuf Ayıkgöz  
Anabilim Dalı (Bölümü) :Kalp Damar Cerrahisi  
Programı : Yüksek Lisans  
Tezin Adı: **KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA NUCLEAR FACTOR ERYTHROİD 2-RELATED FACTOR 2 (NRF2), TÜRÖR NEKROZ FAKTÖR ALFA PROTEİN (TNF- $\alpha$ ), HEME OXYGENASE-1 (HO-1) DEĞİŞİMİ**

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen **KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA NUCLEAR FACTOR ERYTHROİD 2-RELATED FACTOR 2 (NRF2), TÜRÖR NEKROZ FAKTÖR ALFA PROTEİN (TNF- $\alpha$ ), HEME OXYGENASE-1 (HO-1) DEĞİŞİMİ** çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam 55 sayfalık kısmına ilişkin, 19/8/2019 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı %16'dır.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından kabul edilen lisansüstü orijinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığını ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, blok şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntılarım bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağını gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden her hangi birisinin yer almadığını, etik ihlal tespiti halinde, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca, diplomamın iptal edilmesini kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. 19/8/2019

**Tezi Hazırlayan Öğrencinin**

Adı-Soyadı: YUSUF AYIKGÖZ

İmzası:

Yukarıda yer alan raporun ve beyanım doğruluğunu onaylarım. 19/08/2019

**Danışmanın**

Unvanı-Adı-Soyadı: Doç. Dr. M. Salih AYDIN

İmzası:

## Turnitin Orjinallik Raporu

İşleme konu: 19-Ağu-2019 08:53 +03  
 NUMARA: 1161324950  
 Kelime Sayısı: 8797  
 Gönderildi: 1

Benzerlik Endeksi  
**%16**

Kaynağa göre Benzerlik  
 İnternet Sources: %12  
 Yayınlar: %1  
 Öğrenci Ödevleri: %8

KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA  
 NUCLEAR FACTOR ERYTHROİD2-RELETED  
 FACTOR 2 (NRF2), TÜMOR NEKROZ FACTÖR  
 ALFA PROTEİN (TNF-A), HEME OXYGENASE-1  
 (HO-1) DEĞİŞİMİ Yusuf Ayıkgöz tarafından

3% match (05-Haz-2016 tarihli internet)

<http://tanjujildon.tr.gg/A%C7IK-KALP-CERRAH%26%23304%3BS%26%23304%3B.htm>

2% match (09-Kas-2015 tarihli internet)

[http://pharmacy.erciyes.edu.tr/ckfinder/userfiles/files/bitirmeler/B%C3%BC%C5%9Fra\\_Karaca\\_Tez.pdf](http://pharmacy.erciyes.edu.tr/ckfinder/userfiles/files/bitirmeler/B%C3%BC%C5%9Fra_Karaca_Tez.pdf)

1% match (28-Nis-2016 tarihli internet)

[http://www.egeklunikleritjpdergisi.com/wp-content/uploads/2014/07/ege\\_klinikleri\\_2012\\_01.pdf](http://www.egeklunikleritjpdergisi.com/wp-content/uploads/2014/07/ege_klinikleri_2012_01.pdf)

1% match (20-Ara-2017 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Kahramanmaraş Sütcü İmam University on 2017-12-20](#)

1% match (19-Ağu-2015 tarihli internet)

<http://acikerisim.istanbulbilim.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11446/233/Binder1000.pdf?sequence=1>

1% match (14-May-2016 tarihli internet)

<http://library.cu.edu.tr/tezler/8341.pdf>

1% match (29-Kas-2018 tarihli internet)

<https://studylibr.com/doc/1553113/tc-uluda%C4%9F-%C3%BCniversitesi-t%C4%B1p-fak%C3%BCitesi-kalp-ve-damar-cerrah...>

1% match (15-Ara-2015 tarihli internet)

<http://acikerisim.aku.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11630/3948/194200.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

1% match (17-May-2015 tarihli internet)

[http://www.tayfunguler.com/Nonweb\\_files/Anestezi/cardiac\\_anesthesia/Kardiyak\\_cerrahide\\_anestezi.htm](http://www.tayfunguler.com/Nonweb_files/Anestezi/cardiac_anesthesia/Kardiyak_cerrahide_anestezi.htm)

1% match (12-Kas-2018 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University on 2018-11-12](#)

< 1% match (04-Mar-2016 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Inonu University on 2016-03-04](#)

< 1% match (26-Şub-2018 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey \(TUBITAK\) on 2018-02-26](#)

< 1% match (27-Haz-2015 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Ege Üniversitesi on 2015-06-27](#)

< 1% match (23-Oca-2019 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Ankara University on 2019-01-23](#)

< 1% match (02-Haz-2015 tarihli internet)

[http://maycalistaylari.comu.edu.tr/maycalistaylari/phocadownload/userupload/lise2/Danisman/Birsen\\_Demirata\\_Ozturk.pdf](http://maycalistaylari.comu.edu.tr/maycalistaylari/phocadownload/userupload/lise2/Danisman/Birsen_Demirata_Ozturk.pdf)

< 1% match (30-Tem-2016 tarihli internet)

<https://www.mysciencework.com/publication/show/docosahexaenoic-acid-inhibition-of-inflammation-is-partially-via-cross-talk-between-nrf2-heme-oxygenase-1-and-ikk-nf-kb-pathways>

< 1% match (17-Haz-2019 tarihli internet)

<https://paperzz.com/doc/5036977/tc-trakya-%C3%BCniversitesi-fen-bilimleri-enstit%C3%BCs%C3%BC>

< 1% match (17-Kas-2017 tarihli internet)

<http://ir.lib.uth.gr/bitstream/handle/11615/44469/12894.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

< 1% match (22-May-2019 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University on 2019-05-22](#)

< 1% match (22-Mar-2017 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Istanbul University on 2017-03-22](#)

< 1% match (13-Kas-2011 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to St. Francis High School on 2011-11-13](#)

< 1% match (02-Nis-2017 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Istanbul University on 2017-04-02](#)

< 1% match (05-Şub-2019 tarihli internet)

[https://mafiaadoc.com/2em-abstract-book\\_5c19844e097c47453e8b4629.html](https://mafiaadoc.com/2em-abstract-book_5c19844e097c47453e8b4629.html)

< 1% match (06-Kas-2017 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Istanbul University on 2017-11-06](#)

< 1% match (08-Oca-2007 tarihli internet)

T.C  
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
ULUSAL TEZ MERKEZİ

## TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10279791
Yazar Adı / Soyadı	YUSUF AYIKGÖZ
T.C.Kimlik No	66769192950
Telefon	5448987439
E-Posta	ysf2012@hotmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA NUCLEAR FACTOR ERYTHROİD2RELETED FACTOR 2 (NRF2), TÜMOR NEKROZ FACTÖR ALFA PROTEIN (TNF-A), HEME OXYGENASE-1 (HO-1) DEĞİŞİMİ
Tezin Tercümesi	NUCLEAR FACTOR ERYTHROID2-RELATED FACTOR 2 (NRF2), TUMOR NECROS FACTOR ALPHA (TNF-A), HEME OXYGENASE-1 (HO-1) CARDIOPULMONARY BYPASS
Konu	Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi = Thoracic and Cardiovascular Surgery
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı
Bilim Dalı	Perfüzyon Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	55
Tez Danışmanları	DOÇ. DR. MEHMET SALİH AYDIN
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	

27.08.2019

İmza:.....