

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

**KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA  
MICRO-RNA DEĞİŞİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tülay AYDIN**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Mustafa GÖZ**

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fonu Saymanlığı tarafından 18140  
Proje numarası ile desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA  
2019**

T. C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

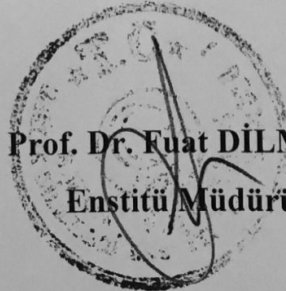
**Tülay Aydın**' in hazırladığı “**KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA MICRO-RNA DEĞİŞİMİ**” başlıklı çalışması **11/06/2019** tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek **Kalp Damar Cerrahisi** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

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

**ÜYE**  
**Dr. Öğr. Ü. Nazım Kankılıç**  
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Kalp Damar Cerrahisi A.D. Dalı Öğretim Ü.

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

Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun **20.06/2019** tarih ve **2019/10/03** sayılı kararıyla onaylanmıştır.

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

## TEŐEKKÖR

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, Dr. Öğr. Üyesi Nazım Kankılıç'a Harran Üniversitesi perfüzyonistlerine, tez çalışmam boyunca bana yardımcı olan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Tülay AYDIN

2019

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	i
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	iv
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	v
<b>KISALTMALAR VE SİMGELER</b> .....	vi
<b>ÖZET</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Kardiyopulmoner Bypass ve Tarihçesi .....	3
2.2. Kalp Akçğer Makinesi (Heart-Lung Machine) .....	5
2.3. Kardiyopulmoner Bypass Sistem Elemanları ve Çalışma Prensibi.....	5
2.4. Kardiyopulmoner Bypass Elemanları .....	7
2.4.1. Pompa .....	7
2.4.2. Isı Değıştirici .....	8
2.4.3. Filtreler .....	9
2.4.4. Oksijenetör .....	9
2.4.5. Tüp Set .....	10
2.4.6. Venöz Rezervuar .....	10
2.4.7. Aspirasyon Sistemleri .....	11
2.4.8. Kanüller .....	11
2.4.9. Primer Solüsyon .....	12
2.5. Koroner Arter Bypass Greft Ameliyatı ve Enflamasyon .....	12
2.5.1. Enflamasyon Tipleri .....	13
2.5.2. Enflamasyon Sistemik Belirtileri .....	14
2.6. Kodlamayan RNA'lar.....	16
2.6.1. mikroRNA (miRNA).....	17
miRNA'ların Genel Özellikleri .....	17
miRNA'ların Tarihçesi .....	17
miRNA Biyogenezi ve Çalışma Prensibi .....	18

2.6.1.4. miRNA'ların İşlevleri.....	20
2.7. Kalp Yetmezliği ve miRNA İlişkisi .....	21
2.8. miRNA-34a .....	22
2.9. miRNA-15a/16a .....	22
2.10. miRNA-320a .....	22
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>24</b>
3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	24
3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler .....	24
3.3. Kan Plazmasının Eldesi.....	25
3.4. Plazmada miRNA İfade Düzeyi için mikroRNA İzalasyonu .....	25
3.5. Plazmada miRNA İfade Düzeyi için miRNA'dan cDNA Eldesi.....	26
3.6. Plazmada miRNA ifade düzeyi için elde edilen cDNA'lardan kalite ve miktar tayini .....	27
3.7. Plazmada miRNA İfade Düzeyi için qRT-PCR (real time-PCR, eş zamanlı-PCR) .	27
3.8. Plazmada miRNA İfade Düzeyi için miRNA Primer Seçimi .....	29
<b>4. BULGULAR ve SONUÇLAR.....</b>	<b>30</b>
4.1. miRNA-15a Analizi .....	30
4.2. miRNA-34a Analizi .....	31
4.3. miRNA-320a Analizi .....	32
<b>5.TARTIŞMA .....</b>	<b>33</b>
<b>6.KAYNAKLAR .....</b>	<b>37</b>
<b>7.EKLER.....</b>	<b>47</b>
7.1.Etik Kurul.....	47
7.2.Tez orjinallik raporu.....	49
7.3.Turnitin Raporu.....	50
7.4.Tez Veri Giriş Formu.....	51

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 2.1.</b> Kalp Akçğer Makinesi.....	5
<b>Şekil 2.2.</b> Ekstrakarporal Dolaşım Devresi.....	6
<b>Şekil 2.3.</b> miRNA biyogenezi .....	20
<b>Şekil 4.1.</b> miRNA-15a Analizi.....	30
<b>Şekil 4.2.</b> miRNA-34a Analizi.....	31
<b>Şekil 4.3</b> miRNA-320a Analizi.....	32

## TABLolar DİZİNİ

### Sayfa No

<b>Tablo 2.1.</b> Kardiyopulmoner Bypass Elemanları .....	7
<b>Tablo 3.1.</b> miRNA'dan cDNA Eldesi için Bileşenler ve Miktar Tayini .....	27
<b>Tablo 3.2</b> miRNA İfade Düzeyi için qRT-PCR Bileşenlerinin Oranları.....	28
<b>Tablo 3.3.</b> miRNA İfade Düzeyi için qRT-PCR Tepkime Koşulları .....	28
<b>Tablo 3.4.</b> Hsa miScript Primer Assaylerin 5' ve Ticari Katalog Numaraları .....	29

## 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>	: İnférieur 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 MICRO-RNA DEĞİŞİMİ

Tülay AYDIN

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

Açık kalp ameliyatlarının kansız ve hareketsiz olarak uygulanabilmesi için kalp akciğer makinesi kullanılmaktadır. Hastadan alınan venöz kan kalp akciğer makinesine alınıp oksijenlendikten sonra tekrar hastanın aort damarından dolaşıma dönmesi sağlanmaktadır. Bizim yaptığımız bu çalışmamızdaki amacımız kardiyopulmoner bypassın mir-34a, miR-15a, miR-320a ekspresyonu üzerine etkisi araştırmak

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

Çıkan sonuçlara göre mir-34a, miR-15a, miR-320a ameliyat öncesine göre ameliyat esnasında gen ekspresyonu artmakta ve operasyon sonrası bu değerler azalmaktadır.

Litaratürde bu değerler çalışılmamış olup diğer çalışmalara yön gösterici olacağı kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Kardiyopulmoner bypass, mir-34a, miR-15a, miR-320a

## **ABSTRACT**

### **MICRO-RNA CHANGE DURING CARDIOPULMONARY BYPASS**

**Tülay AYDIN**

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

Heart-lung machine is used to perform open heart surgery without blood and motion. The venous blood taken from the patient is taken to the heart lung machine and after oxygenation, the patient is allowed to return to the circulation from the aorta. The aim of this study is to investigate the effect of cardiopulmonary bypass on the expression of miR-15a, miR-320a and miR-15a.

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, miR-15a, miR-15a, miR-320a increased gene expression during surgery compared to preoperative period and these values decreased after the operation.

These values are not studied in literature and we believe that other studies will be a guide.

**Keywords:** Cardiopulmonary bypass, miR-34a, miR-15a, miR-320a

# 1. GİRİŞ

Kalp ve damar hastalıkları son 50 senedir insanların yaşam ve beslenme alışkanlıklarındaki değişim ile eskiye oranla artış göstermektedir. Bu durum bununla ilgilenen bilim dallarında gelişmeyi tetiklemekte hem medikal hemde girişimsel işlemlerde kalp damar hastalıklarının tedavileri olanakları da de her gün daha iyiye giderek ilerleme kaydetmektedir. Buna rağmen halen Kalp ve Damar hastalıkları dünya üzerinde ciddi mortalite ve morbidite nedenlerinin başında gelmektedir.(1)

Kalp Damar Hastalıklarında tedavi yöntemleri medikal, girişimsel işlemler ve açık kalp ameliyatı olarak sınıflandırılmaktadır.(2) Açık kalp ameliyatlarının yapılabilmesi için günümüzde halen kalp akciğer makinesi ve buna bağlı ekipmanlar ile sağlanmaktadır.(3) Kalp akciğer makinesinin çalışma prensibi akciğer ve kalbi devre dışı bırakılarak hareketsiz ve kansız bir ortamda cerrahi operasyon yapabilmeyi mümkün kılmıştır. Kanül veya kanüllerle venöz kanın setler aracılığıyla hastadan alınması kalp akciğer makinesine toplanıp oksijenlendikten ve karbondioksitinden arındırıldıktan sonra tekrar hastanın aort damarı veya perifer arter yoluyla dolaşıma dönmesi ile sağlanmaktadır. Sağlanan bu dolaşıma ekstra korporeal dolaşım işlemede kardiyopulmoner bypass denmektedir.

Ekstra korporeal dolaşımda ana problem kan damar dışına çıkıp yabancı yüzeylerle temas etmesidir. Yabancı yüzeylerle temas halinde olan kan, dokularda ve immün sistemde farklılıklara neden olmakta ve bu aşamada immün sistem aktive olmaktadır.(3)

Genel olarak, enflamatuar aktivasyon koruyucu bir gözetim mekanizmadır; Bununla birlikte, enflamatuar yanıt üzerindeki kontrol kaybı, sistemik inflamasyonla sonuçlanabilir. İmmün sistemin aktifleşmesinin rol alan diğer etmenler kalp akciğer makinesinin etkilerine ek cerrahi travma, iskemi repüfüzyo ve hipotermi de sayılabilir. trombositlerin pıhtılaşma sürelerini kısaltır ve pıhtı (tromboz) oluşumunu kolay hale getirebilmektedir. Bu durum kalp damar sisteminde çok ciddi sorunlara yol açabilir.

Kardiyopulmoner bypass süresinin uzamasıyla birlikte hastaya verilen intravenöz sıvılar, kalp akciğer makinesinin prime solusyonu ve uzayan pompa süresince verilen sıvılar kandaki hemogram parametrelerinde hemotokrit değerinin düşmesine ve kanamanın artmasına yol açmaktadır.(6) Hemotokrit değerindeki bu düşüş postoperatif dönemde drenaj miktarında artışa ve dolayısıyla per-operatif ve post-operatif dönemde kan ve kan ürünleri kullanımında artışa sebep olmaktadır. Pompa süreleri gözönünde bulundurulduğunda süreyle orantılı olarak hastanede kalış süreleri de uzamaktadır.

Kardiyopulmoner bypass birçok komplikasyonu beraberinde getirebilen bir cerrahi operasyondur. Biz bu çalışmamızda peroperatif dönemde yapılan girimşimlerin postoperatif sonuçlarını değerlendirip komplikasyonların en aza indirilmesine katkıda bulunmayı hedefledik.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kardiyopulmoner Bypass ve Tarihçesi

Açık kalp ameliyatlarında operasyon sahasında kalp sahasının görüşünün sağlanabilmesi ve yapılacak cerrahinin güvenle yapılabilmesi için kalbin ve akciğerin görevlerinin ameliyat süresince durdurulması gerekmektedir. Kalbin kanı vücuda ejsiyonunun görevini ve akciğerde gerçekleşen oksijen ve karbondioksit alışverişini, vücut dışında ameliyat süresince kalp-akciğer makinesi olarak adlandırılan cihazla yapılması olayına kardiyopulmoner bypass veya ekstrakorporeal dolaşım adı verilmektedir.

Kalp-akciğer makinası fikrinin ortaya atılması 19. Yüzyıl sonlarında başlamıştır. Bundan önce 1813 yılında Gallois suni dolaşımı oluşturan ilk düşüncelerini formüle etmiş (1), 1848-1858 yılları arasında Brown-Séguard, havayla kanı karıştırarak "oksijenli" kan elde etmeyi başarmış ve izole edilmiş memelilerin beyin perfüzyonu ile nörolojik etkinlik amacı güderek perfüzyon solüsyonundaki kanın önemini bilimle paylaşmışlardır (2). Von Schröder, 1882'de, bubble oksijenatörün ilk prototipini tasarlayarak venöz kan ile dolu bir kaptaki hava odasındaki kabarcıklar yardımıyla oksijenden fakir olan kanı, oksijenden zengin kana dönüştürmüştür (3). 1885'de Von Frey ve Gruber ince bir film tabakasını dönen bir silindir içine yerleştirerek üzerinden akmasıyla gaz alışverişinin temin edildiği bir kan pompası tarif etmişlerdir. Jacobi 1895'de kanı, izole edilen ve mekanik olarak havalandırılan hayvan akciğerinden geçirmiştir (4). Bu bilimsel araştırmaların arasında 1900'de Landsteiner'in tarafından ABO kan grubu tayinin keşfi önem arz etmektedir (5). 1926'da Rusya'da SS Brunkhonenko ve S Tchetchuline tarafından köpek akciğeri ve piston görevi gören iki pompalama aleti kullanarak yeni bir alet oluşturmuşlardır. Bu işlemde ilk olarak organ perfüzyonunda deney hayvanının kafasını gövdelerinden ayırarak daha sonra da tüm vücudunu perfüze etmek için kullanmışlardır (6). Kalp-akciğer makinesinin çalışması için kanın koagüle olacağından antikoagülasyon gereksinimi hasıl olmuştur. 1915'te bir tıp öğrencisi olan Jay McLean tarafından heparin keşfi bu durumu bertaraf etmek için

önemli bir dönüm noktası olmuştur (7). John Hopkins Üniversitesi'nde çalışan McLean, bir fosfatidilinin (cuorin) kan koagülasyonunu önlediğini ortaya koymuştur (8). Sonuçlar 1916'da bildirilmiş, 1920'deki hayvan deneylerinde antikoagülan olarak heparinin etkili bir antikoagülan olduğunu bilim dünyası ile paylaşılmıştır. Heparinin keşfi ve koagülasyonun önlenmesi bir ekstrakorporeal dolaşım sisteminin çalışması olarak sağlamış ve bu konudaki çalışmalara hız kazandırmıştır. Dr. John H. Gibbon Jr. ekstrakorporeal dolaşım için 1937 yılında bir kedi kullanarak bu alanda ilk çalışmasını yapmıştır. Bu deneysel çalışmada kedinin akciğere giden pulmoner arterini klemplemiş ve ekstrakorporeal dolaşımı saplayan bir devre kullanmıştır. Kedinin bu aşamada kalp ve akciğer fonksiyonlarının devam ettiğini saptamıştır (10). 2. Dünya Savaşı bu ve benzeri çalışmalara engel olmuştur. Savaş sonrasında ekstrakorporeal dolaşım ile ilgili çalışmalara devam eden Gibbon bir bilgisayar şirketinden destek gelmiş cihazın gelişmesine olanak sağlamıştır (11). Dr. John Gibbon kalp-akciğer makinası ile ilk olarak 6 Mayıs 1953'te 18 yaşındaki bir kadın hastada ASD kapatılmasında uygulamış ve ekstrakorporeal dolaşım ilk olarak hasta bir bireyde açık kalp ameliyatında kullanılmıştır (12). Bu başarılı uygulamanın ardından ardışık dört hastada başarısız olması geliştirmiş olduğu sistemin eleştirilmesine sebep olmuştur. C. Walton Lillehei ve arkadaşları 1954 yılında kalp ameliyatları için hasta olan bireyin anne ve babasının biyolojik akciğer olarak görevi gördürerek kontrollü kros-sirkülasyon tekniğini uygulamışlar, fakat mortalitenin fazla olması bu tekniğide kısıtlamıştır (13). Kalp akciğer makinasının başarılı bir şekilde seri kullanımının raporları 1955'te Mayo Klinik'te Dr. John Kirklin ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır (14). Bu gelişmeden sonra ağırlıklı olarak oksinatörler gelişimi olmuş ve 1937'de Gibbon ardından 1948'de Bjork tarafından film oksijenatörler tasarlanmıştır. 1950'de De Wall, 1956'da Ryg-Kyvsgraad bubble oksijenatörler; 1960'da Bramson ve 1963'te Bodell tarafından membran oksijenatörler piyasaya kazandırılmıştır. Günümüze kalp akciğer makinasında membran oksijenatör tercih edilerek operasyonlar gerçekleştirilmektedir (15). Gelişimini 50 yılda tamamlayan bu cihaz sayesinde günümüzde açık kalp cerrahisi başarıyla gerçekleştirilmektedir.

## 2.2. Kalp-Akciğer Makinesi (Heart-Lung Machine)

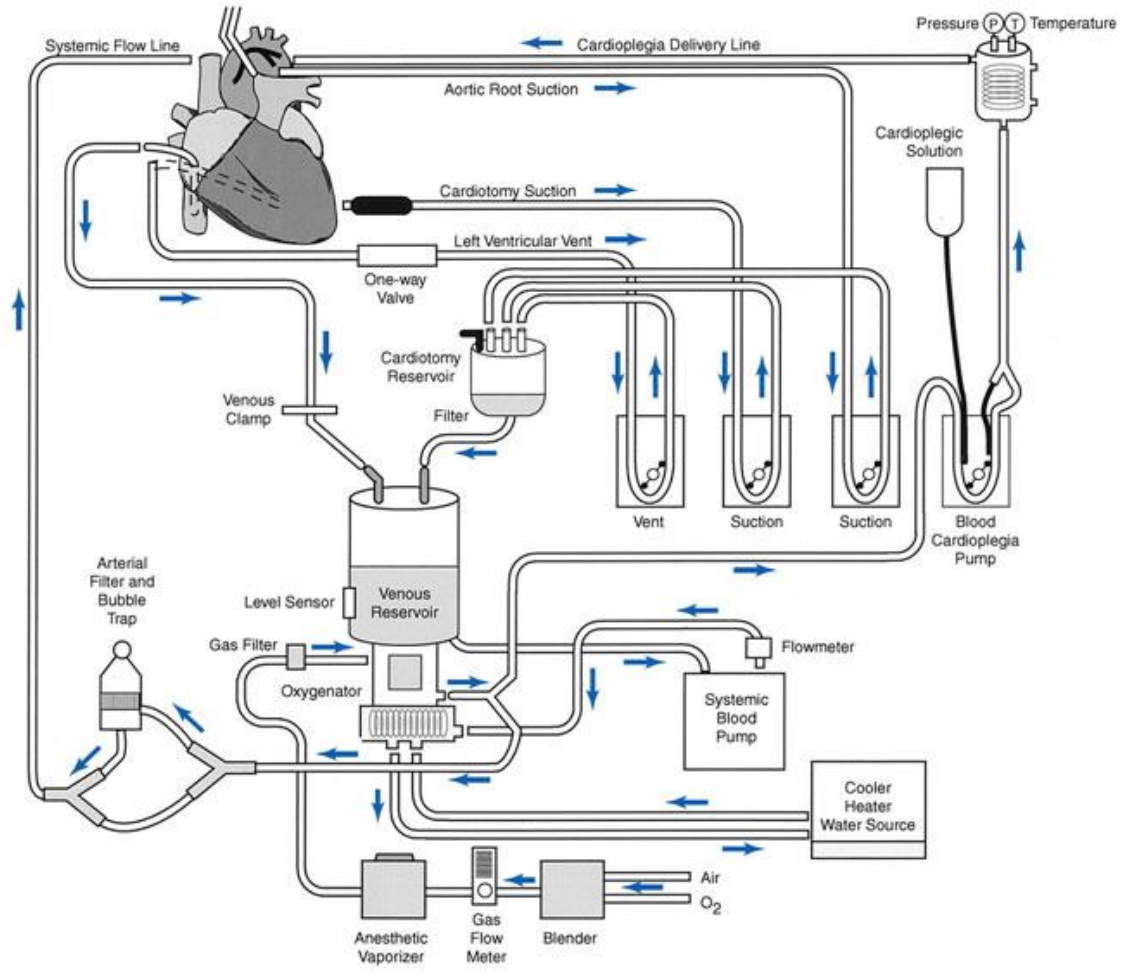
Kalp akciğer makinesi (Heart-Lung Machine) oluşturan ana komponentler; pompa, venöz rezervuar, arteriyel ve venöz kanül, oksijenatör, arteriyel filtre ve ısı değiştiricidir. Cihazın birçok komponent ve devre elamanlarının görevi santral bir venden (süperior vena kava, inferior vena cava, sağ atrium vb.) rezervuara toplanan kanın oksijenlendirilip karbondioksitten arındırılması ve bir partikül filtresinden geçirilerek arteriyel sistem (aort, femoral arter, aksiler arter vb.) aracılığıyla vücuda geri döndürülmesidir.



Şekil 2.1. Kalp Akciğer Makinesi

## 2.3. Kardiyopulmoner bypass sistem elemanları ve çalışma prensibi

İlk başarılı kalp ameliyatını John Gibbon yapmış, ekstrakorporal dolaşım sayesinde kalp ve akciğer fonksiyonlarının vücut dışında devam ettirilebileceğini kanıtlamıştır. Ancak bu yöntem nonfizyolojiktir ve vücudun savunma reaksiyonunu tetikleyen bir süreçtir, Ersayın (2).



**Şekil 2.2** Ekstrakorporal dolaşım (Extracorporeal Circulation Systems) devresi

Halen devam eden çalışmalar ekstrakorporal dolaşım sistemi kullanılarak, düşük risk ve mükemmel klinik sonuçlar elde etmeye yöneliktir. KPB' a bağlı morbidite ve mortalitenin minimize edilmesi amacıyla KPB sistemin kendisinde ve komponentlerinde iyileştirilmeler yapılmış ve bunların birçoğu kullanıma girmiştir (5).

Heparinize edilen hastanın sağ atriyum veya vena kavalına yerleştirilen venöz kanüller yerçekimini kullanarak dolaşımdaki venöz kanı kardiyotomi rezervuarında toplar. Pompanın itici gücü kullanılarak kan, oksijenatörde karbondioksitten arındırılıp, oksijenlendirilerek, hastanın asendan aortasına yerleştirilen arteriyel kanül ile aortaya pompalanır. Aortaya pompalanan kanın kalbe gitmesini önlemek için kross klemp konur. Kalbi diyastolde durduracak kardiyopleji solüsyonları verilir; bu sıvı koroner arterler vasıtasıyla kalbe dağılır ve miyokardı korur, Günaydın (12). Kardiyolojik



solüsyonlar, potasyum yönünden zengin kimyasal solüsyonlardır. Bu solüsyonlar diyastol sırasında hızlı bir şekilde kardiyak arrest sağlayıp, iskemi döneminde miyokardın oksijen tüketimini azaltarak, iskemi-reperfüzyon hasarına karşı miyokardı korur, Şenay (13).

Kalpdeki onarım bittikten sonra, hava çıkartılır ve kross klemp alınır. Hemodinamik parametreler uygun olduğunda KPB sonlandırılır, dekanülasyon yapılır. Heparinin etkisi protamin ile ortadan kaldırılır. KPB elemanları Tablo 2.1.'de gösterilmiştir, Ersayın (2).

**Tablo 2.1. Kardiyopulmoner Bypass Elemanları**

<b>Oksijenatör</b>	Oksijen- Karbondioksit değişimi
<b>Venöz rezervuar</b>	Venöz kanın toplanması
<b>Isı değiştirici</b>	Hastanın ısıtılması- soğutulması
<b>Gaz- FIO<sub>2</sub> blender</b>	Basıncılı hava ve oksijenin karıştırılması
<b>Arteriyel pompa</b>	Kanın sirkülasyonu için gereken enerjinin sağlanması
<b>Kanüller</b>	Hasta ve KPB sistemi arasında bağlantı-geçiş
<b>Tubing set</b>	Kanüller ve KPB sistemi arasında bağlantı-geçiş
<b>Arteriyel filtre</b>	$\geq 40\mu$ partikül ve hava kabarcıklarının tutulması
<b>Kardiyopleji uygulaması</b>	Diyastolik arrest ve miyokard koruması
<b>Kardiyotomi succer</b>	Ortamdaki kanın kardiyotomi rezervuarına transferi
<b>Kardiyak vent</b>	Kalbin dekomprese edilmesi
<b>Prime solüsyon</b>	Sitem havasının çıkarılması (de-airing)

## **2.4. Kardiyopulmoner Bypass Elemanları**

### **2.4.1. Pompa**

Kalp operasyonlarında kalbin görevini üstlenen pompa rezervuara yerçekim etkisi ile gelen venöz kanı ivme kazandırarak oksijenatöre oradanda hastaya gönderme işlemini yapar. Pompalar devamlı akımlı (non-pulsatil) veya kesintili akımlı (pulsatil)

pompa olarak kullanılmaktadır (11-13). Bu işlevi gerçekleştiren üç tip pompa bulunmaktadır. Bunlar roller, impeller ve sentrifugal kan pompasıdır.

**Roller pompalar:** İki başlı olup geniş kalın bir tüpün (polivinil, silikon veya latexten yapılmış) ana pompa dönen başlık kısmını birbiri ardına sıkıştırması ile kanın ileri atılması prensibi ile çalışır. Bu şekilde continue bir akım sağlanır. Roller pompalarda dikkat edilmesi gereken bir nokta var. Başlık bölgesinde hava oluşumu. Eğer oklüzyon yeterli değilse geri kaçış, hatlarda yırtılma oluşabilir. Roller pompalar güvenilir ve ucuzdur.(23,24). Perfüzyonistin seviyeyi iyi takibi gerekli yoksa hastaya hava gönderilir.

**Sentrifugal pompa:** Elektromanyetik alanda dönen kinetik bir pompadır. Sentrifugal pompa geri basınç oluşumaması ve gaz embolisi oluşturmaması yönünden daha avantajlıdır.

**İmpeller pompa:** Hızla dönen koniler yada bıçaklar yardımıyla çalışır.

**Pulsatil akım:** Pulsatil akımda mikrodolaşıma ek enerji aktarım vardır. Ekstra kinetik enerji kanın şekilli elemanlarını taşır ve vücut perfüzyonunu sağlar.

#### 2.4.2. Isı Değiştirici (Heat Exchanger)

Kardiyopulmoner bypass sırasında ısı kontrolü vücut ısısının düşürülmesi ve yükseltilmesine olanak sağlar. Vücut ısısının düzenlenmesi hücresel metabolizmanın kontrolünü sağlar. Isı değiştirici makinasının içinde 1-42°C arasında su dolaşmaktadır. Kardiyopulmoner bypassda genellikle orta derecede (25-28°C) hipotermi altında uygulanmaktadır. Bazı kliniklerde normotermi (32-36°C) kullanılmaktadır. Dolaşan kan ısı 40,5°C'nin üzerinde ısıtılırsa kan komponentleri hasar görür bu yüzden buna dikkat edilmesi gerekir. Soğuma ısınmadan daha hızlı gerçekleşir (25).

Isı değiştiriciler ile yetişkinlerde 30-36,5°C arasında her dakikada 1-1,5°C düşüş sağlanabilir. Soğuma hızı planlanan ısı değeri düştükçe yavaş seyreder. Isınma sağlanmasında her 1°C artış için 3-4 dakika süre olmalıdır. Arter hattı ile venöz hat

arasındaki ısı farkı yetişkinlerde 10°C'yi, çocuk hastalarda 8-9°C'yi geçmesi halinde proteinler denatüre olur, eritrositlerde hemoliz artar ve mikroemboliler oluşabilir (26).

### 2.4.3. Filtreler

Ekstrakorporal dolaşımda hava ve partikül embolileri en önemli komplikasyonlardan biridir. Bu partiküller cerrahi sahadan aspire edilen yağ, kemik parçaları veya prime solüsyonu ile dolaşıma karışan yabancı cisimler olabileceği gibi aktive edilen trombosit kümeleri de olabilir (27). Filtreler bunları sistemden süzen bölümlerdir.

Kardiyopulmoner Bypass devrelerinde kullanılan filtreler iki çeşit olup tarama ve derinlik filtreleri olarak adlandırılır. Tarama filtreleri arteryel hatta kullanılmak amacıyla dizayn edilmiş dokuma polyesterden veya naylondan yapılmıştır filtrelerdir, yüksek akıma direnç yaratmadan hem hava hem de partiküllü mikroembolileri kan elemanlarına zarar vermeden yakalamak için elverişlidir. Derinlik filtreleri genelde rezervuar içinde konumlandırılır ve paketlenmiş fiberden veya porlu köpükten yapılmıştır (28).

### 2.4.4. Oksijenatörler

Oksijenatörler kanı geniş bir yüzeye ulaştırarak oksijen ile temasını artırmayı amaçlar. Bu şekilde kan oksijenlenir ve en önemlisi bu sırada kanın hemolizi engellenir ve kanın geri kalan şekilli elemanlarının zarar görmesi azaltılır. Yani oksijenatör normal insan akciğerlerinin bir benzeri olarak tasarlanmıştır. Oksijenatörler iki çeşit olup Buble oksijenatörler ve membran oksijenatörler olarak adlandırılır. Günümüzde yaygın olarak bubble oksijenatörler tercih edilmektedir.

**Bubble oksijenatörler:** Oksijenatör içerisinde küçük hava kabarcıkları, kan sistemi içerisinde küçük hollerden geçer. Bu oluşturulan sistemde oksijen direkt olarak venöz kanla difüzyon alanında karşılaşır. Yani bubble oksijenatörler de oksijen direkt olarak venöz kanla sahada karşılaşarak gaz alışverişi gerçekleşir. Bu sistemin istenmeyen

durumları ise özellikle seresi uzayanekstrakorporeal dolaşımında kanın şekilli elemanlarının zarar görmesidir. Yapılan çalışmalarda eğer KPB 2 saatten daha az sürecek ise oksijenatörler arasında farklılık olmadığı saptanmıştır.(29,30)

**Membran Oksijenatör:** Membran oksijenatörlerde çalışma prensibi direkt olarak kan ile gaz birbiriyle temas etmeden ince bir membran üzerinde difüzyon mekanizması çalışmakta ve oksijen ve karbondioksit alışverişi oluşmaktadır. Buda oksijen ve karbondioksitin alışverişinin birbirinden bağımsız bir şekilde oluşmasına olanak sağlar ( 29,30).

**Gaz Transferi:** Bir gazın basıncı membranın iki tarafında farklı olması ile sağlanır. Basıncın yüksek olduğu kısımdan düşük olduğu kısma doğru gaz geçişine olanak verir.

#### 2.4.5. Tüp Set

Ekstrakorporela dolaşım için kalp akciğer makinasını oluşturan komponentlerin birbiriyle ve hasta ile bağlantısını sağlayan boru sistemine tüp set denir. Bu amaçla kullanılan malzemeler ve hat sistemi silikon olarak üretilir. Bu malzemelerin kanla teması olacağından kana travmayı en aza indirecek özellikte zararsız olması gerekmektedir. Bu yüzden toksik ve pirojenik olmayan yapıda olması istenir. Gazla steril olan şeffaf yapıda kollebe olmayacak şeffaf olmalıdır.

#### 2.4.6. Venöz Rezervuar

CPB (Kardiyopulmoner bypass) cihazının rezervuarı, kanı genellikle sağ atrium yoluyla konulan bir ya da iki venöz kanülden alır. Kan, venöz rezervuara yer çekiminin etkisi ile akar. Venöz basınç normalde çok düşük olduğundan kanı rezervuara iten güç hasta ve rezervuar arasındaki yükseklik ile doğru; kanül ve tüplerin direnci ile ters orantılıdır. Cihaz çalıştırıldığında bir sifon etkisi yaratır. Venöz tüplere hava girmesi bir kilit etkisi (air lock) yaratıp kan akımını engelleyebilir. Belirli bir seviyenin altına düşmesi halinde ana pompaya hava gidebileceğinden rezervuardaki seviyenin takibi kritik önem taşır.

### 2.4.7. Aspirasyon Sistemleri

CPB sırasında kanın ventriküllerde toplanmasını engellemeye yöneliktir. Aspirasyon hattı, ventrikülden kanı toplayarak, filtre edilmiş kardiyotomi rezervuarına iletir. Aspirasyon esnasında debrisler oluşacağından filtre kullanmak zorunludur (31).

### 2.4.8. Kanüller

Tüp set vasıtasıyla oksinetör, rezervuar ve hasta arasında bağlantı sağlamaktadır. Birçoğu işlem esnasında kanülün kendi üzerine bükülmesini engellemek için metak bir sarmalla desteklenmiştir. Kardiyopulmoner bypassın sağlanması için kullanılan kanüller arter ve venöz olarak ayrılır. İstenilen debinin sağlanması amacıyla kullanılacak kanüllerin çapları hastanın vücut yüzey alanına (BSA) göre hesaplanarak ayarlanır.

**Venöz Kanül:** Kardiyopulmoner bypassın sağlanması için hastadaki venöz kanın bir veya daha fazla kanülle yer çekiminin etkisiyle rezervuara ulaşmasını sağlar. Hatların içerisinde hava embolisi olmaması için tamamının kan ve sıvı ile doldurulması gerekmektedir. Kalp boşlukları veya sağ boşluklar açılmayacaksa tek kanül sağ atriyuma veya özellikle sağ kalp boşluklarının açılacağı ameliyatlarda ayrı ayrı vena kavalara yerleştirilir. Kanüllerin çeşitlerine göre düz ve eğri uçlu tek kanül yerleştirilmelerinde two stage kanül adını alır.

**Arteriyel kanül:** Rezervuardan oksijenatöre ulaştırılan kanın sistemik dolaşıma aort veya büyük damarlar ile ulaştırılmasını sağlarlar. Aort dışında siteme yönlendirilecek ana damarlar; aksiler arter ve femoral arter gibi periferik arterlere veya torasik aorta ve abdominal aorta kullanılabilir. Kanülün iç çeperinin çapına göre basınç farklılık gösterir. Eğer istenilen çaptan düşük çaplı kanül kullanılırsa istenmeyen yüksek basınç farkı, türbülans ile kaviteye meydana getirir. Özellikle çocuk hastalarda, iç dış çap oranı yüksek kanül kullanılmalıdır. Uç kısmı açılı veya düz yapıda olabilir. Kardiyopulmoner bypass boyunca sitemik arteriyel kan basıncı ve perfüzyon basınçları kontrol edilmelidir.

#### **2.4.9. Prime Solüsyon**

Ekstrakorporeal dolaşım başlamadan kalp-akciğer cihazına bağlanan tubing set oksijenatör ve rezervuar sitemlerinin tamamının havadan arındırılması ve tamamen kapalı bir sistem olması gerekmektedir. Havanın tamamının tahliyesi için kullanılan sıvıya başlangıç veya prime solüsyonu ismi verilir. Prime solüsyon için kalp cerrahisinin ilk başlangıcında taze tam kan heparinize edilmiş şekliyle kullanılmıştır. Fakat kan kullanımına bağlı gelişen komplikasyonlar ve çok miktarda kan temini ihtitacının olması nedeniyle günümüzde sadece infant ve derin anemisi olanlar dışında kullanılmamaktadır (31).

Prime solüsyonu şu özelliklere sahip olması gerekir. Kan pH değeri eşit veya yakın olan, iyon içeriği kan plazma değerlerinde olan, hemodilüsyona oluşturan dengeli elektrolit solüsyonlarıdır. Ekstarkorporeal dolaşım sırasında kristalloid ve kolloid solüsyonlar kullanılabilir (32).

Kliniklerin kullandığı prime solüsyonlar, kristalloid veya kristalloid-kolloid kombinasyonlarıdır. Kristalloid prime solüsyonu laktatlı ringer solüsyonlarıdır. Kristalloid-kolloid prime solüsyonları ise %6'lık hidroksietil nişasta eklenmiş ya da %5-25 albumin laktatlı ringer solüsyonlarıdır (33).

#### **2.5. Koroner Arter Baypas Greft Ameliyatı ve Enflamasyon**

Enflamasyon, vaskülerize canlı dokunun zedelenmeye karşı verdiği yanıttır. Doğal immunité olarak da adlandırılan enflamasyon, mikrobiyel enfeksiyon ya da doku hasarının başlattığı düzenli bir süreçtir. Enfeksiyon, antijenik uyarı veya doku hasarı sonucu meydana gelen enflamasyonun meydana gelme nedeni mikroorganizma veya irritanları eradike edip doku tamirini hızlandırmaktır. Aşırı enflamasyon ise, doku hasarı, organ disfonksiyonu ve ölüme neden olabilmektedir. Enflamasyon bölgesinde dilate kapillere eritrosit dolması sonucu kızarıklık (rubor), damar dışında sıvı birikmesi sonucu şişlik (tumor), eksuda oluşumu sonucu olan ödemin sinir uçlarına basıncı nedeniyle oluşan ağrı (dolor), ödem ve ağrı nedeni ile fonksiyon kaybı (functio leasa),

kan akımındaki artışa bağlı olarak da ısı artışı (calor) meydana gelmektedir. Enflamasyonda etkili hümmoral ve hüccresel faktörler mevcuttur. Bunlardan bir veya bir kaçını enflamasyon oluşumunu tetikleyebilmektedir (36-40).

### 2.5.1. Enflamasyon Tipleri

**Akut Enflamasyon Yanıtı:** Akut enflamasyon mikrobiyolojik ajanlar (bakteriyel, fungal, viral, parazitik vb), iskemi, travma, ısı hasarı, iyonize edici radyasyon, kimyasal ve immünolojik hasar ve immün reaksiyonlar (hipersensitivite reaksiyonları) nedeni ile oluşmaktadır. Akut enflamasyon yanıtta zedelenme alanlarına lökositlerin ve plazma proteinlerinin ulaşabilmesini sağlamaktadır. Polimorfonükleer (PMNL) lökositler özellikle nötrofiller rol oynamaktadır. Akut enflamasyon iyileşme, kronik, iltihap, skarlaşma ve fibrozis ile son bulmaktadır (48,54,56,58).

**Subakut Enflamasyon Yanıtı:** Akut enflamasyon gibidir. Ancak süre biraz daha uzamaktadır. Örneğin; Enfektif endokardit gibi (35-40).

**Kronik Enflamasyon Yanıtı:** Zor inatçı enfeksiyonlar (mikobakteriler, Treponema, pallidum, bazı virüs ve mantarlar), immün kaynaklı enflamatuar hastalıklar (hipersensitivite hastalıkları), potansiyel toksik ajanlar nedeni ile oluşmaktadır. Bunun sonucunda hücre çoğalmasında artış (fibroblastik çoğalma) görülmektedir. Mononükleer lökositler (MNL) özellikle lenfosit ve plazma hücreleri rol oynamaktadır. Skarlaşma, deformite ve kalıcı doku hasarı meydana gelmektedir. Zedeleyici etkenlerin ısrarla devam etmesi veya iyileşme süreçlerinde bozukluklar nedeniyle akut enflamasyon kronik enflamasyona dönüşebilmektedir (35-40).

Aktif hale gelen organizmada enflamasyonu başlatırken ilerlemesi halinde o zaman sistemik enflamasyon ve bunun semptomları görülmeye başlar. Bu ise 3 sonuç ortaya çıkarılabilir bunlar; sistemin uyarını nötr hale getirmesi (iyi); sistemin uyarını sınırlaması, apse formasyonu (kötü); ve sistemin tamamının enflamasyon olması sonucu multipl organ yetmezliği ve ölüm (çok kötü) ile sonuçlanabilir (35-40).

### 2.5.2. Enflamasyon Sistemik Belirtileri

**Akut Faz Yanıtları:** Akut faz yanıtları, enflamasyonun başladığı saatlerde başlayıp enflamasyonun azalmasına ya da ortadan kalkmasına kadar devam etmektedir. Buna bağlı olarak uykuya eğilim, iştahsızlık, negatif nitrojen dengesi, iskelet kas proteinlerinin yıkımı, çeşitli plazma proteinlerinde oluşan değişiklikler olmaktadır. Aynı zamanda eritrosit sedimentasyon hızında (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) artış, lökositoz, taşikardi, solunum sayısında artış, vücut ısısında artma, bulantı, kusma, üşüme, titreme, kilo kaybı, kuvvet azlığı, isteksizlik ve halsizlik gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır (34-38).

**Vücut Isısında Artma:** Canlı (mikroorganizma) veya cansız patojenik etkenlere karşı savunma yöntemi olarak çok hücreli organizmalarda ısı artışı gelişmektedir. Bu artış, bir mikroorganizmanın yaşamasını ve çoğalmasını doğrudan engelleyebilmektedir. Fagositoz, lökosit migrasyonu, lenfosit transformasyonu da dahil birçok immünolojik yanıtın artmasını sağlamaktadır. Ekzojen pirojenler (mikroorganizmalar) ve endojen pirojenler [Tümör nekroz faktör-TNF, interleukin (IL)-1-6, İnterferon] vücut ısısındaki artıştan sorumlu olmaktadır (34-38).

**Periferik Kanda Şekli Elemanların Sayısı:** Anemi ve lökositoz enfeksiyon ve enflamasyona verilen akut bir yanıt olup, birçok bakteriyel ve viral hastalıkta olabilmektedir. Lenfopeninin nedeni protein, enerji malnütrisyonu (nonenfeksiyöz) olup bazı virüsler (HIV, rubeola, Poliovirus, suçiçeği) lenfositleri enfekte ederek yıkımını artırmaktadır. Monositoz genellikle akut bakteriyel ve viral enfeksiyonlarda görülürken, kronik enflamasyondada olabilmektedir. Atopik hastalıklarda, parazitozlar, bakteriyel ve viral enfeksiyonların iyileşme döneminde hafif eozinofili gelişebilmektedir. Bazofil ve mast hücreleri erken hipersensitizasyon reaksiyonu, kronik enflamatuvar ve immünolojik yanıtta rol almaktadır (34-38). Ortaya çıkan bu belirtilerden sonra bazı laboratuvar analizleri yapılması gerekmektedir. Enflamasyon belirlemede sık kullanılan belirteçler; CRP, prokalsitonin, sedimentasyon hızı, lökosit, nötrofil ve lenfositlerdir (41-43). **CRP:** Kardiyovasküler risk profilini belirlemek üzere istenilen birkaç testten biridir. CRP



seviyeleri vücutta bir enfeksiyon olduğunu gösterir. Ortalama 4,9 mg/L' nin altında olması beklenmektedir (44-46).

**Prokalsitonin:** Hiperkalsemiye yanıt olarak tiroid C hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Son yıllarda enfeksiyonu belirlemede kullanılmaktadır (42). CRP' ye göre yarılanma ömrü daha kısa olduğu bilinmektedir. Prokalsitonin düzeyinde, viral enfeksiyonlar ve sistemik immünolojik hastalıklarda belirgin bir artış görülmemektedir. Prokalsitonin bakteriyel enfeksiyonlara özgü olduğu kabul edilmektedir (47).

**Beyaz Kan Hücreleri (Lökosit):** Akyuvarlar sistemik kan dolaşımında bulunup genelde savunma hücreleri olarak görev yaparlar ve sayıları değişkenlik gösterebilir. Akyuvarların normal sayısı 5.000-10.000/mm<sup>3</sup>'dür. 10000/mm<sup>3</sup> üzerinde olan değerler yükseldiği ifade eder (34,41).

**Nötrofil:** Nötrofiller, beyaz kan hücrelerinin bir elemanı olup sistemik olarak enfeksiyonu bertaraf etmek için çalışırlar. Sayısının azalması nötropeni olup vücudun enfeksiyona açık hale gelmesi demektir. Özellikle fırsatçı enfeksiyonlar için olanak sağlar (34,41). Nötrofil sayısı erişkin bir bireyde mikrolitrede 1.700'den daha az olmasıdır. Nötrofil sayısı azalmasıyla göreceli olarak insanların enfeksiyon ve bulaşıcı hastalıklara yakalanma oranlarında artış meydana getirir (48-52).

**Lenfosit:** Lenfosit de bir akyuvar üyesidir. Lenfositler kanda miktarı genelde lokosit miktarının % 20 ile % 55'i arasında bir değerde bulunur. Kanda dolaşan lenfositler, mikroskop altında incelendiğinde alyuvarlardan biraz daha büyük görünürler (52).

Enflamasyon belirteçleri cerrahi, enfeksiyon, travma ve miyokard infarktüsü sonrasında yükselmektedir. Enflamatuar yanıtta enflamasyon belirteçleri ameliyattan hemen sonra yükselir ve hızla normal seviyelerine dönmektedir. IL-6 ve sitokin seviyeleri ameliyattan sonra 4-24 saatte yükselir ve 48 saatte normale dönmektedir.

IL-6' ya yanıt olarak üretilen CRP ameliyat sonrası 24-48 saat sonra yükselir ve 7 günde normal seviyelerine dönmektedir (44-46).

## 2.6. Kodlamayan RNA'lar

İnsan genomunun %65' inin transkribe olduğu tahmin edilmesine rağmen bugün için %2' den azının proteine çevrildiği bilinmektedir. Komplementer DNA (cDNA) kütüphanelerinin sistematik sekanslanması ve transkriptom çalışmaları, tüm transkribe olan RNA' ların en azından yarısının protein kodlamayan RNA molekülleri olduğunu göstermiştir. (53-54)

Proteine çevirisi olmayan işlevsel bir RNA molekülü olan Kodlamayan RNA non-coding RNA' nın kısaltması olan ncRNA olarak isimlendirilirler. Çok kullanılmayan diğer adları ise şu şekildedir; functional RNA (fRNA; işlevsel RNA) non-messenger RNA (nmRNA; mesajcı olmayan RNA), non-protein-coding RNA (npcRNA; protein kodlamayan RNA), small nonmessenger RNA (snmRNA; küçük mesajcı olmayan RNA' dır. Bu RNA' nın yazıldığı DNA dizileri RNA geni veya kodlamayan RNA geni olarak adlandırılır.

Yaygın işlevi olan kodlamayan RNA' lar arasında, taşıyıcı RNA, ribozomal RNA birçok farklı işlevleri olan kodlamayan RNA da vardır. Bunlar small nuclear RNA (snRNA); RNA transkriptlerin işlenmesinde ve intronların uzaklaştırılmasında, small nucleolar RNA (snoRNA); rRNA' nın olgunlaşmasında, piwi interacting RNA (piRNA); transfer mRNA (gametogeneziste ve tmRNA); ribozomların kırık mRNA' lardan arındırılmasında, small interfering RNA (siRNA) ve microRNA (miRNA) ise gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol alırlar (55).

İnsan genomunda kodlamayan RNA' ların sayısı bilinmemektedir, ancak yakın zamanda transkriptomik ve biyoinformatik çalışmalar ile binlerce kodlamayan RNA' nın varlığı bilinmektedir (56,57).

## 2.6.1. mikroRNA (miRNA)

### miRNA' ların Genel Özellikleri

MikroRNA' lar, genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir (58). MikroRNA, fonksiyon olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan, yaklaşık olarak 18-24 nükleotit uzunluğunda tek iplikçikli bir RNA molekül çeşitidir .

miRNA' lar gen ekspresyonunu transkripsiyon sonrası (post-transkripsiyonal) bir mekanizma ile regüle ederler. Her bir miRNA kendi moleküler işlevini hedef mesajcı RNA' lara (mRNA) ya tam yada kısmi şekilde bağlanarak mRNA' nın translasyonunun inhibisyonuna ve/veya bu mRNA' nın kesilmesine neden olur, bu da protein üretiminin baskılanmasına yol açar. Bilinen miRNA' lar hücre boyutunda organizmaların her yerinde eksprese olurken, bir kısmında embriyonik gelişim zamanında dokuya özgü ekspresyon özelliği gösterirler. miRNA' ların ekspresyonun yaklaşık % 60' ı bağımsız olurken, %15' i kümeler şeklinde ve % 25' i de intronlarda eksprese olurlar (55).

### miRNA' ların Tarihçesi

Bilinen ilk mikroRNA, 1993 yılında Lee ve çalışma arkadaşları tarafından Victor Ambros laboratuvarında keşfi yapılmış (59) , fakat mikroRNA terimi ilk olarak 2001 yılından sonra kullanılmıştır (60). Lee ve arkadaşları bu keşiflerinde bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*' ı gen içeriği bakımından taramışlar, lin-4 olarak isimlendirilen genin hiçbir protein kodlamamasına karşın 22 nükleotit uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiğini bildirmişlerdir (59). Lin-4' ün hedefe özgü translasyonel inhibisyona sebep olması gelişme sırasında gen düzenlenmesinde yeni bir mekanizma olabileceği varsayılmıştır. Reinhart ve arkadaşları 2000 yılında *C.elegans*' ta 22 nükleotit uzunluğunda, let-7 olarak isimlendirilen, canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir mikroRNA keşfetmişlerdir (61). Let-7' nin içinde insanların

bulunduğu türler arasında korunduğu (62), let-7' nin önemli bir biyolojik fonksiyonu olduğu fikri düşünülmüştür.

Bunu takip eden yıllarda lin-4 ve let-7' ye benzeyen yeni küçük RNA molekülü, çok hücreli bütün organizmalarda keşfedilmiştir ve mikroRNA' lar olarak adlandırılmıştır (63). Bitki, hayvan ve insan genomunda miRNA' ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir.

En son yayınlanan miRBase' e (miRNA' ların dizileri ve farzedilen hedefleri ile ilgili bilgi veren bir database) göre (Sürüm 19; Ağustos 2012), hayvanlar, bitkiler ve virüsler gibi değişik türlerde 25.141 miRNA ve sadece *Homo sapiens'* te 1.600 prekürsör, 2.042 matür miRNA tanımlanmıştır (64).

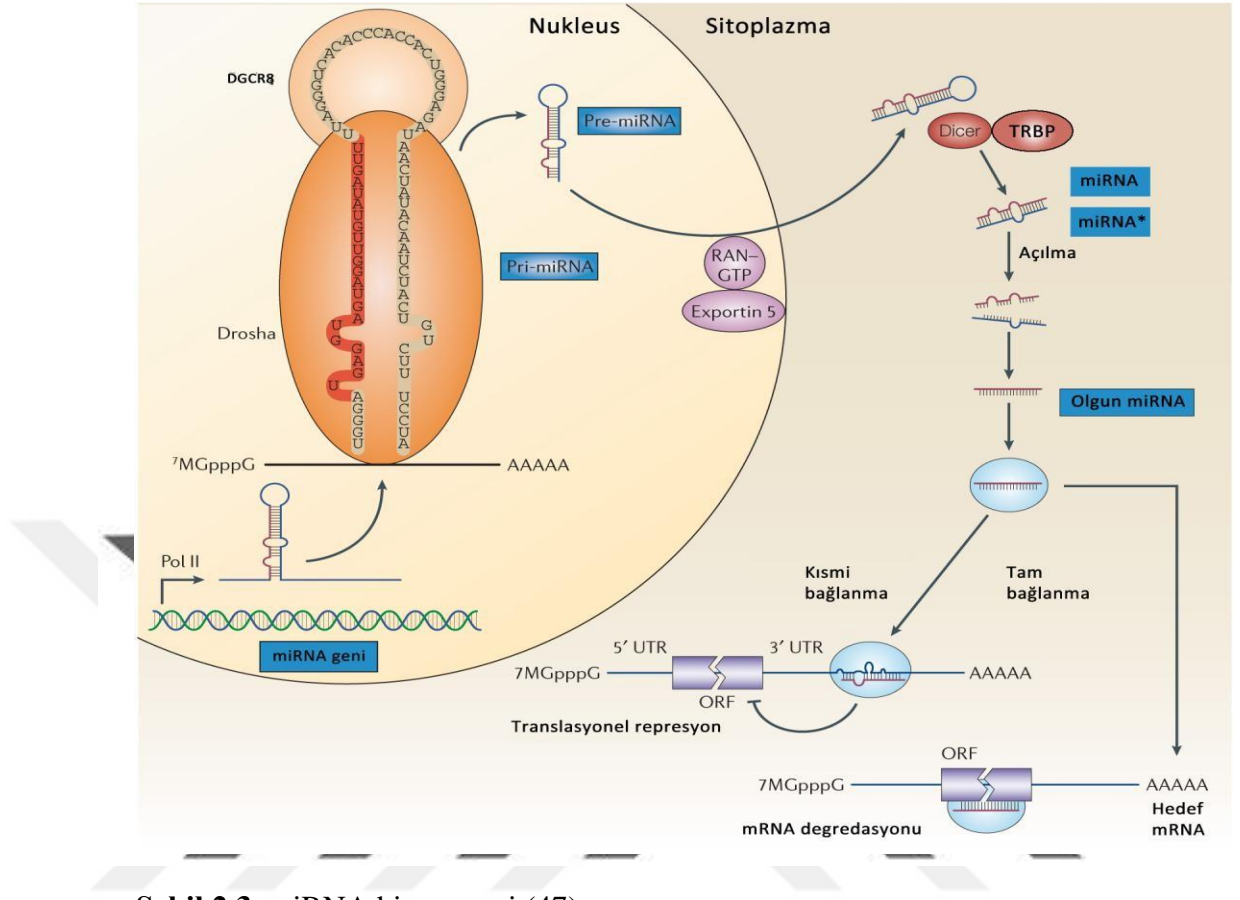
Her miRNA, birçok mRNA' yı hedefleyebilir ve direkt veya dolaylı olarak binlerce proteinin ekspresyonunu kontrol edebilir, bu da tek bir miRNA' nın değişiminin bile önemli biyolojik sonuçlar doğurabileceğini gösterir.

### **miRNA Biyogenezi ve Çalışma Prensibi**

İnsanlarda miRNA' lar pri-miRNA adı verilen 1 kb' dan daha büyük diziler halinde transkribe olurlar ve 5' cap ve 3' poliA kuyrukları vardır (65,66). pri-miRNA transkriptleri iki adımlı bir süreçten geçerek olgun ve işlevsel miRNA haline gelirler [, (Şekil 2.3). İlk adım nükleusta meydana gelir ve bir RNAz III olan Drosha ve çift zincirli RNA bağlama proteini olan DGCR8 (DiGeorge sendromu kritik bölge geni 8) tarafından gerçekleştirilir (67,68). Drosha pri-miRNA' nın her iki ipliğini de keserek pre-miRNA adı verilen yaklaşık 70 nükleotid uzunluğunda sap ilmik formunda öncül molekülü oluşturur (68,69). Bu pre-miRNA' lar nükleer transport reseptörü ekspresyon (Exp-5-Ran transport reseptör ailesinin bir üyesi) ve nükleer protein RanGTP aracılığıyla nükleustan sitoplazmaya taşınır (70,71). Son adımda bir RNAz III enzimi olan Dicer ve bir çift zincirli RNA bağlama proteini olan TRBP (HIV-1 transaktivasyonu edici cevap oluşturan RNA bağlama proteini) tarafından pre-miRNA' nın sap-ilmik formunun bittiği bölgelerden kesilir (72,73). Sonuçta yaklaşık 22 nükleotid boyunda çift

iplikli yapıda bir molekül oluşur. Dicer enzimi; helikaz domaini, DUF 283 domain, PAZ (Piwi, Argonaute- Zwilli) domaini ve RNAaz III domaini olmak üzere üç domain içerir. miRNA dubleksleri, helikaz enzimi tarafından olgun miRNA' ya dönüştürülür. Bu molekülün bir ipliği miRNA, diğer ipliği ise pre-miRNA' nın diğer eşlenik kolundan türeyen dizidir. Çift iplikli RNA molekülü daha sonra RISC (RNAindüklü susturma kompleksi) adı verilen protein kompleksine yüklenir (74). RISC, çift ipliğin açılmasıyla aktive olur. miRNA molekülü ve RISC hedef mRNA' lara yönlendirken, açılmış çift iplikli yapının diğer ipliği degrade olur (75, 76). miRNA' lar hedef mRNA' ları ile farklı canlı türlerine ait aynı miRNA ailesinde yüksek oranda korunmuş ve tohum adı verilen 6-8 nükleotidlik bir bölge aracılığı ile etkileşirler (77). Hedef ile miRNA' nın tohum dizisi (miRNA' nın 5' ucunun 2 ve 8. nükleotitleri) arasında eşleniklik olması hedefin belirlenmesi açısından çok önemlidir (78). miRNA' lar hedef mRNA' ya kısmi veya tam eşleniklik göstererek bağlanabilirler.

Hedef mRNA' nın translasyona uğramayan 3' UTR bölgesi (-3' untranslated region) ile miRNA tohum dizisi arasındaki eşlenikliğin seviyesi, miRNA' nın hedefini hangi seviyede ve nasıl baskılayacağını belirler (79). miRNA' ların hedef mRNA üzerinde bağlanma bölgeleri genellikle 3' UTR' dedir, ama 5' UTR' yi veya ORF' u (açık okuma çerçevesi) hedef aldıkları durumlarda da gen ifadesi baskılanır. Eğer eşleniklik çok yüksek seviyede ise RISC hedef mRNA' ları degrade eder. Ayrıca bu durumda hedef mRNA' nın bozulumu da gerçekleşebilir. RISC' e yüklenmiş miRNA' lar aracılığı ile mRNA' ların poliA kuyruklarının ve 5'-cap yapılarının yok edilip mRNA bozulumunun tetiklendiği belirlenmiştir (80). PoliA kuyruklarının ve 5' cap yapılarının yok olması sonucunda kararlılıkları azalan mRNA' lar hücrel enzimler tarafından parçalanır. Genellikle memelilerde görüldüğü gibi eğer eşleniklik daha az ise, hedef mRNA' dan protein oluşumu baskılanır (81,82). Bu olayın mekanizması tam olarak belirlenememiş olsa da hedef genin mRNA seviyesi artarken, protein seviyesinin değişmediği, dolayısıyla da baskılamanın translasyonel seviyede gerçekleştiği gösterilmiştir (83,84). Birçok çalışmada translasyonel seviyede düzenlemenin, translasyonun başlangıcında gerçekleştiği belirlenmiştir (85,82). miRNA-RISC kompleksinin çeşitli transkripsiyon faktörleri ile etkileşerek protein translasyonunun başlangıç ve uzama aşamalarını engelliyor olması muhtemel gözükmektedir.



**Şekil 2.3.** miRNA biyogenezi (47)

### miRNA' ların İşlevleri

In vivo çalışmalarda sitokinleri, büyüme faktörlerini, transkripsiyon faktörlerini, pro-apoptotik, anti-apoptotik proteinleri içeren kritik sinyal moleküllerinin regülasyonu aracılığı ile miRNA' ların gelişim (86), bağışıklık, nöronal fonksiyon, proliferasyon (87), diferansiyasyon (88) apoptoz (89) ve metabolizma (90) ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çeşitli kanserlerde birçok onkogen ve tümör supresörlerin ekspresyonunu regüle ederek önemli rol oynayan miRNA' ların anormal ekspresyon gösterdiği bilinmektedir. İlk olarak bazı miRNA' ların bu süreçleri tek bir hedef geni baskılayarak düzenledikleri belirlenmiş olsa da zamanla birçok miRNA' nın tek başına birden fazla hedef geni baskılayabildiği anlaşılmıştır (91,92).

miRNA' lar bir mRNA molekülüne bir antisens bütünleme ile bağlanarak mRNA' nın negatif regülasyonu aracılığıyla post-transkripsiyonal seviyede gen ekspresyonunu regüle ederler. miRNA' ların çok küçük RNA molekülleri olduğu gerçeği göz önüne alındığında bir miRNA' nın 100 farklı mRNA' yı hedefleyebildiği ve regüle edebildiği kabul edilmiştir. On binden fazla mRNA' nın bu mekanizma ile direkt olarak regüle edildiğine inanılmaktadır (93-96). Bu yüzden, organ morfolojisinde, bilateral asimetride, stres yanıtında, metabolizmada, hücre proliferasyonunda ve apoptozda yer alan çeşitli hücresel fonksiyonların ve yolların regülasyonunda miRNA' ların yer aldığı gerçeği sürpriz değildir (97).

miRNA' ların işlevsel önemlerinin tam olarak anlaşılabilmesi ve tanı veya tedavi amaçlı kullanımlarının gerçekleştirilmesi için hedeflerine nasıl bağlandıklarının ve gen ifadelerini farklı seviyelerde nasıl düzenlediklerinin belirlenmesi gerekmektedir.

## **2.7. Kalp Yetmezliği ve miRNA İlişkisi**

Kalp yetmezliğine sebep olabilecek kardiyak hipertrofi, fibrozis, aritmi ve koroner arter hastalığı gibi bozuklukların patolojisinde miRNA' lar çeşitli çalışmalarla araştırılmış ve ilgili bozukluklarda belirgin artan veya azalan miRNA' lar tespit edilmiştir. Bu çalışmaların çoğu hayvan deneylerinden elde edilmiştir ve klinik araştırmalara öncü olmuştur (98).

2009 yılında yapılan çalışmada sol ventrikül destek cihazı planlanan son dönem kalp yetmezliği hastalarının tedavi öncesi ve sonrası miRNA düzeyleri, sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmıştır. Sonuçta ilginç olarak bazı miRNA' lar cihaz tedavisi sonrası normalize olmuştur. Bu sonucun miRNA' ların kullanışlı bir miyokardiyal toparlanma belirteci olabileceği belirtilmiştir (99). Daha sonra klinik pratiğe yönelik diğer bir çalışmada, nefes darlığı ile tetkik edilen ve kardiyak ve kardiyak dışı dispne tanısında yardımcı olabilecek miRNA' lar araştırılmıştır.

Çalışılan miRNA' lardan özellikle miR-423-5p' nin tanıda güçlü bir belirteç olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca aynı molekülün NYHA sınıfı ve BNP değerleri ile

korelasyon gösterdiği saptanmıştır (100). Başka bir çalışmada da, kalp yetmezliği hastaları ve normal bireyler arasında bazı miRNA'ların düzeylerinin farklı olduğu saptanmıştır (101). En yeni yayınlardan olan, Yaron Goren ve arkadaşlarının çalışmasında ise, yaklaşık 186 adet miRNA, 30 sağlıklı birey ve 30 kalp yetmezliği hastasında karşılaştırılmıştır. miR-423-5p, miR-320a, miR-22 ve miR-92b gibi bazı miRNA'lar belirgin olarak kalp yetmezliği hastalarının dolaşımında daha fazla saptanmıştır (102).

### **2.8. miR-34a**

miR-34a 1p36 bölgesinde yerleşik bir protein kodlamayan küçük RNA molekülüdür. Genomik bölgesine göre bakıldığında, protein kodlamayan transkripsiyon birimlerindeki mikroRNAlara örnektir. İki ekzondan oluşur ve promotor bölgesinde p53 bağlanma bölgesi taşır (103).

### **2.9. miR-15a / miR-16a**

Hsa-miR15/16 miRNA ailesi tümör baskılayıcı olarak etki gösteren dört üye içerir. Bu üyeler hsa-miR15a/miR16-1 ve hsa-miR15b/miR16-2 olmak üzere iki farklı küme halinde organize olmuşlardır. Hsa-miR15a/miR16-1 miRNA'ları kromozom 13q14.3 bölgesine (*DLEU2* geninin intronuna) lokalize iken bu miRNA'ların öncülleri olan hsa-miR15b/miR16-2 miRNA'ları kromozom 3q26 bölgesine (*SMC4* geninin intronuna) lokalizedir. Hsa-miR-15a, hsa-miR-16-1 ve *BCL2* mRNA ları arasında yapılan homoloji analizleri; her iki miRNA'nın 5' ucundaki ilk dokuz nükleotidin *BCL2* cDNA'sındaki 3279-3287 arasındaki bazlara komplementer olduğunu açığa çıkarmıştır. Bu komplementerlik ayrıca 3q26 da yer alan ve bu miRNA ların öncülleri olan hsa-miR-15b ve hsa-miR-16-2'de de tanımlanmıştır (104).

### **2.10. miR-320a**

Moleküler biyolojide mir-320 microRNA kısa bir RNA molekülüdür. MicroRNA'lar diğer genlerin ekspresyon seviyelerini birkaç mekanizma ile düzenler.



MiR-320'nin biyolojik oluşumu, kanonik Mikroişlemciye bağılı miRNA'lardan farklıdır. Pre-miR-320 doğrudan bir öncü microRNA firkete şeklinde kopyalanır ve bu nedenle bir 5 'm7G kapağı içerir.



### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinin Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 04.01.2018 tarih, 01 nolu oturum ve 26 nolu 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. Plazmada miRNA İfade Düzeyi İçin mikroRNA İzolasyonu

Plazmada mikroRNA 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. Bu sırada numunelere numaralandırma yapıldı.
2. Numunelerin üzerine numune miktarının 5 katı kadar QIAzol Lysis Reagent eklendi (200 µl 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. Üzerine 3.5 µl miRNeasy Serum/Plazma spike kontrol eklendi ( $1.6 \times 10^8$  'e dilüe edilerek kullanılır).
5. Örneğin başlangıç hacmi kadar üzerine kloroform eklenip (örn. 200 µl örnek için 200 µl kloroform eklenir). 15 sn. iyice vortekslendi.
6. Oda sıcaklığında 2-3 dk. inkübe edilip, 15 dk.  $12,000 \times g$  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 eklenip (600 µl üst faz için 900 µl %100 etanol eklenir) iyice pipetaj yapıldı.
9. 700 µl örnek 2 ml.'lik spin kolona aktarılarak, kapağı kapalı bir şekilde oda sıcaklığında 8000 x g'de 15 sn. santrifüj edildi. Toplama tüpündeki sıvı dökülerek bu işlem örnek bitene kadar tekrarlandı.
10. Örneğin tamamını spin kolondan geçirdikten sonra alt kısım yine döküldü. Üzerine 700 µl RWT buffer spin kolona eklenerek, kapağı kapalı bir şekilde oda sıcaklığında 8000 x g'de 15 sn. 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 2 ml.'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. En son aşamada filtre atılıp, eppendorf tüplerin kapakları kapatıldı ve elde edilen alıştırma materyalimiz -80 °C'de muhafaza edildi.

### **3.5. Plazmada miRNA İfade Düzeyi için miRNA'dan cDNA Eldesi**

miRNA'dan cDNA eldesi için ticari olarak temin edilen Qiagen miScript Reverse Transcription (RT) Kit II (Hilden, Almanya, Cat No./ID: 218161) kullanılarak kullanılmıştır. Çalışma aşamaları kitin içinde yazılı olan prosedürlere göre gerçekleştirilmiştir. Bunun için aşağıdaki çalışma sırası takip edilmiştir.

1. Aşağıda bulunan cDNA için bileşenler ve miktarları aşağıda belirtilenlere göre RT toplam karışım buz üzerinde hazırlanıp, RNA'nın miktarı 20 µl hacim içerisinde 200 ng/µl olacak şekilde ayarlandı.
2. İzole edilen RNA, RT karışımı içeren her bir tüpe eklendi ve kısa süreliğine buz üzerinde bekletildi.

- 37 °C’de 60 dk, 95 °C’de 5 dk olan tepkime koşullarına göre RT-PCR yapıldı.
- Sonrasında cDNA miktarları 50 ng/μl olacak şekilde ayarlanıp, qRT-PCR için kullanıma hazır hale getirildi.
- cDNA’ların kullanım ömrünü uzatmak için -80 °C’de muhafaza edildi.

**Tablo 3.1.** miRNA’dan cDNA eldesi için bileşenler ve miktarları tablosu

<b>Bileşenler</b>	<b>Tepkime Hacmi</b>
5x miScript HiSpec tamponu	2 μl
10x miScript Nükleik asit karışımı	1 μl
miScript Reverse Transcriptase Mix	1 μl
RNaz içermeyen su	Değişken (ör: 6-x eklenir)
Kalıp RNA	Değişken (ör: x hacmi bulunur)
<b>Toplam Hacim</b>	<b>10 μl</b>

### **3.6. Plazmada miRNA İfade Düzeyi için Elde Edilen cDNA’lardan Kalite ve Miktar Tayini**

İfade analizi deneyleri öncesi elde edilen cDNA örneklerinin miktarlarını, kalitesini belirlemek ve 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 mikroRNA cDNA’sı için 50 ng/μl’e çekildi.

### **3.7. Plazmada miRNA ifade düzeyi için qRT-PCR (real time-PCR, eş zamanlı-PCR)**

qRT-PCR için tepkime bileşenleri Qiagen miScript SYBR Green PCR (Cat No./ID: 218073) kiti kullanılarak hazırlandı. Eş zamanlı PCR reaksiyonu için Rotor Gene 6000 Real-Time PCR Machine (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) cihazı kullanıldı. Çalışma için kullanılacak hacimler aşağıda belirtilen tepkime hacimlerine göre kullanıldı.

**Tablo 3.2.** miRNA ifade düzeyleri için qRT-PCR bileşenlerin oranları

<b>Bileşenler</b>	<b>Hacim</b>
2x QuantiTect SYBR Green PCR Toplam Karışım	6.25 µl
10x miScript Universal Primer	1.25 µl
10x miScript Primer Assay (ilgili miRNA primer)	1.25 µl
RNaz içermeyen su	3.125 µl
Kalıp cDNA (50ng/ul'den alındı. Sonuç 5 ng/µl)	0.63 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>12.5 µl</b>

Buz üzerinde tepkime bileşenleri hazırlandı ve uygun tüplere cDNA'lar ile dağıtılıp, qRT-PCR Rotor-Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazına yüklendi. Aşağıda belirtilen qRT-PCR tepkime koşullarına göre tespit işlemleri gerçekleştirildi.

**Tablo 3.3.** miRNA ifade düzeyleri için qRT-PCR tepkime koşulları

<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Zaman(dk)</b>	
95	15	
94	15	} 40 döngü
55	30	
70	30	

### 3.8. Plazmada miRNA ifade düzeyi için miRNA primer seçimi

Çalışmada 3 adet hsa miScript Primer Assay'ler (miR-34a-5p, miR-320a ve miR-15a-5p) ticari olarak Qiagen (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya, ürün kodu: 218300) firmasından temin edilmiştir. Kullanılan hsa miScript Primer Assaylerin 5' ucu ve ticari katalog numaraları aşağıda gösterilmiştir.

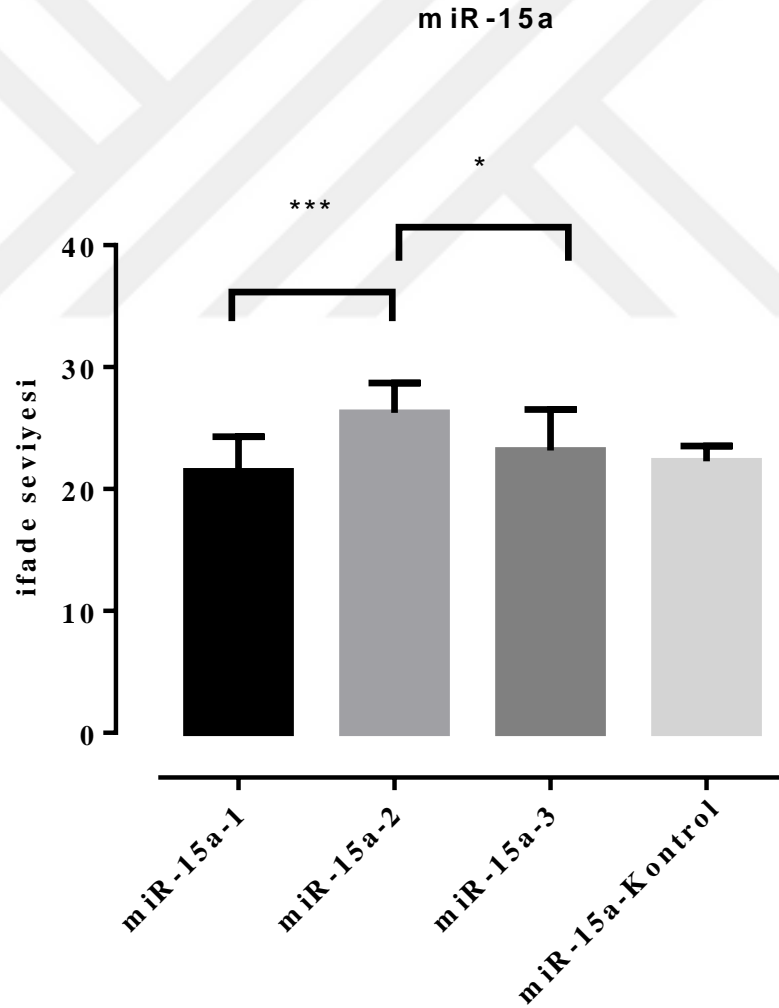
**Tablo 3.4.** Hsa miScript Primer Assaylerin 5' ve ticari katalog numaraları

Primer assay	5'ucu	Cat. No.
miR-34a-5p	5'UGGCAGUGUCUUAGCUGGUUGU	MS00003318
miR-320a	5'AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA	MS00014707
miR-15a-5p	5'UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUG	MS00003178

## 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. miR-15a Analizi

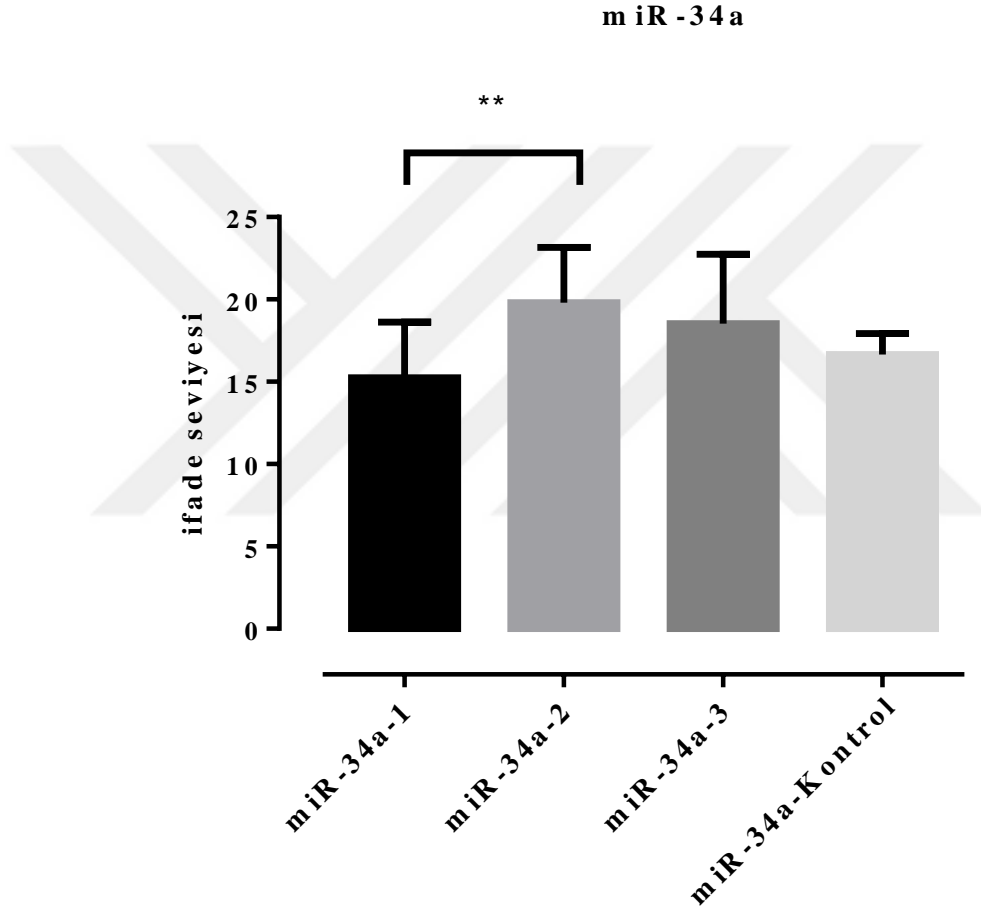


Şekil 4.1. miR-15a Analiz Grafiği



Ameliyat öncesi (1) ve sırasındaki (2) gruplar kıyaslandığında, ameliyat sırasındaki miR-15a ekspresyonunda anlamlı bir artış olduğu bulundu ( $p<0,001^{***}$ ). Ameliyat sonrası ve sonrasında (3) alınan örnek grupları kıyaslandığında ise ameliyat sırasında miR-15a ekspresyonunda anlamlı bir azalış olduğu tespit edildi ( $p<0,05^*$ ).

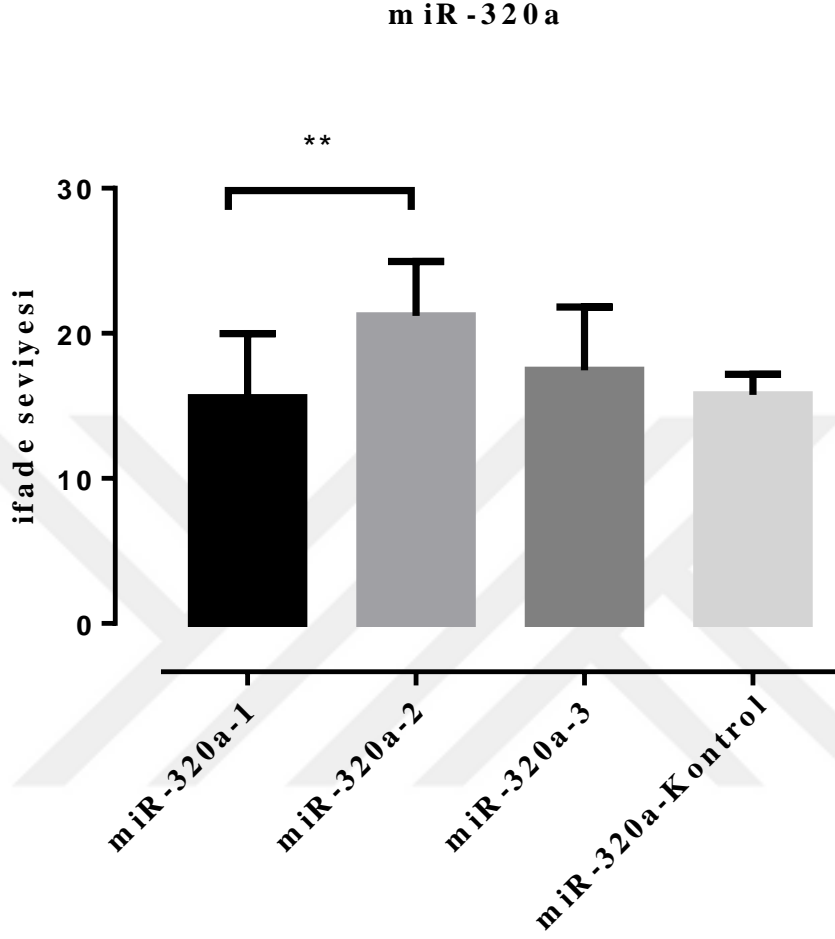
#### 4.2. miR-34a Analizi



**Şekil 4.2.** miR-34a Analiz Grafiği

Ameliyat öncesi (1) ve sırasında (2) alınan örnek gruplarında miR-34a ekspresyonu kıyaslandığında, ameliyat sırasında miR-34a ekspresyonunda anlamlı bir artış olduğu bulundu ( $p<0,01^{**}$ ).

### 4.3. miR-320a Analizi



**Şekil 4.3.** miR-320a Analiz Grafiği

Ameliyat öncesi (1) ve sırasında (2) alınan örnek gruplarında miR-320a ekspresyonu kıyaslandığında, ameliyat sırasında miR-320a ekspresyonunda anlamlı bir artış olduğu bulundu ( $p < 0,01^{**}$ ).

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda bakılan miR-34a, miR-15a, miR-320a operasyon öncesine göre işlem esnasında alınan örneklerde gen ekspresyonlarının arttığı ve işlem sonrasında yani kardiyopulmoner bypass sonlandıktan sonra ise işlevinin azaldığı izlenmiştir.

Micro RNA ile ilgili yapılmış birçok çalışma mevcuttur. iskemik son şartlandırma, miR-1, miR-21 ve downregülasyon efektörlerini düzenleyebilir ve valvüler kalp ameliyatı uygulanan hastalarda apoptozun gerçek manada zayıflamasına neden olduğu gösterilmiştir (105).

Yapılan rat modellerinde oluşturulan derin sirkülatuar arrest MiR-29c rolü araştırılmış ve MiR-29c' nin inhibisyonu, peroksizom proliferatör aktive edilmiş reseptör gama koaktivatörü 1-alfa yolu boyunca uzun süreli derin hipotermi dolaşım durması ile indüklenen nörolojik yaralanmaları hafiflettiği izlenmiştir (106).

Miyokardiyal iskemi reperfüzyon modelindeki çalışmada Han ve arkadaşları Kardiyopulmoner bypass ile miyokard iskemik reperfüzyon hasarının kaninlerin sol ventrikül miyokardında mir-499 ekspresyon seviyesinin düşmesine neden olduğunu bu da açık kalp cerrahisi sırasında mir-499'un kalp korumasında potansiyel bir terapötik hedef olacağını bulmuşlardır (107).

Sullo ve arkadaşları ise Pediatrik kalp cerrahisi hastalarında mikro-parçacıklar ve mikro-RNA'ların ekspresyon paternleri çocuklarda ölçülebilir ve potansiyel olarak akut böbrek hasarı riski altındaki hastaların tabakalaşması için bir araç olarak kullanılabileceğini düşünmüşlerdir (108).

Miyokard hasarı ve korunması ile ilgili en çarpıcı araştırmada dolaşımdaki mikro-RNA-208a, -208b ve -499, ameliyat sonrası miyokard hasarı ve iyileşmesi için kalp

ameliyatı geçiren çocukların plazmasında tespit edilebilir ve izleme ve tahmin için yeni biyobelirteçler olarak hizmet edebilir sonucuna varılmıştır (109).

Andrea ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada coroner bypass ameliyatı sonrası miyokard hasarı belirteci olan troponin değerleri ile Plazma miR-133a ve miR-499 incelemiştir. Plazma miR-133a ve miR-499 konsantrasyonları ve miyokard hasarı belirteci postoperatif troponin I konsantrasyonları arasında güçlü bir ilişki vardı. Artmış miyokardiyal miR-133a ve miR-423-5p ifadesi, değişmemiş miR-1 ve miR-499 ifadesi ile birlikte, bu miRNA'ların zarar görmüş hücrelerden aktif salımlarından kaynaklandığı öngörülmüştür (110).

Yang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada cardiopulmoner bypass sonrası gelişen akut akciğer hasarlı hastalardan alınan kan örneklerinden yapılan çalışmada öncülük eden micro RNA araştırılmıştır. Sonuçta miR-320, alveoler epitel hücrelerinin aşağı-regüle edici SIRT1 vasıtasıyla yaralandığı CPB sonrası Akut akciğer hasarına aracılık edebileceği öngörülmüştür (111).

Benzer çalışmada Li ve arkadaşları cardiopulmoner bypassın akut akciğer hasarı ile ilişkili MiR-21'in up regülasyonu PCR ile doğrulandı. CPB'de potansiyel hedef genleri PIK3CG, PTGS2, ACE ve IL6R ürünlerinin ekspresyonunda artışlarla ilişkilendirilen miR-127, miR-145 ve miR-204 seviyelerinde down regülasyon gözlemledik. Bu sonuçlar ile CPB'nin domuz yavrusu akciğerlerde ekspresyon miRNA'da ciddi akciğer hasarı ve dinamik değişikliklere neden olduğu gösterilmiş. Ayrıca, miRNA seviyelerindeki ve hedef gen ifadesindeki değişiklikler bir CPB kaynaklı patogenezi anlamak için temel oluşturmuştur ifadesi kullanılmıştır (112).

Kardiyopulmoner bypass sonrası gelişen Atrial Fibrilasyonla ilgili yapılan çalışmada SIRT1 proteinini regüle eden miRNA 199a ekspresyonu'nun azalması Atrial

Fibrilasyon gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Bu verilere göre, kardiyak cerrahi öncesi ölçülen miRNA 199a, POAF'ı öngörmede kullanışlı bir biyobelirteç olabileceği küçükbuzcu ve arkadaşları tarafından öngörülmüştür (113).

Mukai ve arkadaşları kardiyopulmoner bypass öncesi ve sonrası trombositlerdeki micro RNA değişikliği araştırmışlardır. Dolaşımdaki trombositlerdeki birkaç mikroRNA'nın ifadeleri, kardiyopulmoner baypas öncesi ve sonrası arasında önemli ölçüde değiştiği görülmüş. Mir-10b ve mir-96'nın aşırı ifadeleri, glikoprotein 1b ve vezikülle ilişkili zar proteini 8 messenger RNA'nın yanı sıra proteini de azalttığı ve muhtemelen trombosit defektine yol açtığını düşünmüşlerdir (114).

Abu Halim ve arkadaşları kalp yetmezliğinin varlığında micro RNA tanımının olduğu fakat konjenital kalp hastalıklarında operasyon sonrası gelişen kalp yetmezliğinin varlığını araştırmışlar. Sonuçta konjenital kalp hastaların sağ atriyum dokusundaki miRNome'un genel değişimlerini tanımladıklarını belirtmişler. Diferansiyel olarak değiştirilmiş miRNA'lar, değiştirilmiş miRNA'ların kalp yetmezliğinin düzenlenmesinde ve özellikle CPB'den sonra moleküler fonksiyonunun daha iyi anlaşılması için iyi bir temel oluşturduğu sonucuna varmışlardır (115).

Saddic ve arkadaşları iskemi durumunda oluşan değişiklikler ve tedavi sürecindeki değişiklikleri araştırmış ve şu sonuca varmışlardır. Gen zenginleştirme çalışmaları mRNA hedefleri kardiyovasküler hastalık, hücre ölümü ve metabolizması ile ilişki gösterdi. Bu miRNA'lara ve down regülasyon hedeflerine müdahale eden terapötikler, iskemik durumun neden olduğu hasarı hafifletmek için yeni mekanizmalara yol açabileceğini miR-339-5p and miR-483-3p ve miR-139-5p üzerinden göstermişlerdir (116).

Mazzone ve arkadaşlarının yapmış olduğu pilot çalışmada Serum ve idrar konsantrasyonları hipoksik olarak düzenlenmiş miR-210 ve hemolizle ilişkili miR-16 CPB kullanılarak yapılan kalp cerrahisinde off-pump'a göre artış gösterdiği bulunmuş. Bu moleküller, kalp ameliyatı sırasında kalp, kırmızı hücre ve böbrek hasarı ciddiyetini belirtmekte yardımcı olabilirler kanaatine varmışlardır (117).

Mir-34a, bir tümör baskılayıcı olarak işlev görür ve bu miRNA'nın işlendiği konakçı genin düzensizliği veya kaybı, birçok hücre tipinde kanser ilerlemesi ile ilişkilidir (118-119). Ayrıca miR-34a apoptosiz mekanizmasında rol aldığı ve Parkinson hastalarında BCL2 geni üzerinden gösterilmiştir (120). Hepatotektomi uygulanan hastalarda hepatosit profresyonunda da rol aldığı görülmüş (121). miR-34a 'lar, gen ekspresyonunu modüle eden kodlamayan küçük RNA'lardır ve miRNA genlerindeki varyantlar, iskemik inmenin (IS) patogenezinde rol oynadığını göstermişlerdir (122). Pickering ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada osteoporotik kırılma ve abdominal aort kalsifikasyonunda mir-34a bakılmış ve anlamlı bulunulmamıştır (123).

Mir-15a ile ilgili çalışmalarda ise alerjik rinitte rol aldığı (124) ve Adrenoreseptör beta 2 üzerinden rol aldığı, gastrik kanser gelişimi ve metastazında (125), karaciğer kanser ilerlemesinin izleminde (126), hipofiz kanseri ve troid kanseri gibi kanserlerin gelişiminde çalışılmıştır (127-128).

Mir-320a ile ilgili yapılan çalışmalarda kardiyak olarak aort kapak değişiklikleri ve aort diltasyonunda anlamlı değişiklikler saptanmıştır (129). Kardiyomyopatide çalışılmış ve aritmi ile ilişkilendirmeye çalışılmış fakat anlamlı sonuç elde edilememiş (130). ST elevasyonlu miyokard infarktüsünde çalışılmış ve anlamlı bulunmuştur (131).

Bizim çalışmamızda miR-34a, miR-15a, miR-320a' nın literatür taramasında kardiyopulmoner bypass ile ilgili yayın olmaması ve her üç gen ekspresyonunun operasyon esnasında artış göstermesi anlamlı olarak kabul edilmiştir. Literatür ışığında yeni çalışmalara gerek duymakla beraber diğer gen ekspresyonlarının çalışılmasına ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

- 1.Clowes GHA. Bypass of the heart and lungs with an extracorporeal circulation. Surgery of the chest. 2nd ed. Philadelphia: Saunders, 1969. s. 45-56
- 2.Litwak, Robert S. The growth of cardiac surgery: historical notes. Cardiovasc Clin 1971;3(2):5-50.
- 3.Johnson SL. The history of cardiac surgery. Baltimore: Johns Hopkins Press 1970; 1896-1955.
- 4.Jacobi C. Ein betrag zur technik der kunstlichen durchblutung uberlebender organe. Arch Exp Pathol 1895;36(5):330-48.
- 5.Bordley J, Harvey AM. Two centuries of American medicine. Med Hist 1978; 22(1): 95–6.
- 6.Punjabi PP, Taylor KM. The science and practice of cardiopulmonary bypass: From cross circulation to ECMO and SIRS. Glob Cardiol Sci Pract 2013;2013(3):249-60.
- 7.McLean J. The discovery of heparin. Circulation 1959;19(1):75-8.
- 8.McLean J, Hugh G, Cuorin WJ. Biochemical Journal, 1920;14(5):615-7.
- 9.Best CH. Preparation of heparin and it's use in the first clinical cases. Circulation 1959;19(1):79-86.
- 10.Gibbon JH. Artificial maintenance of circulation during experimental occlusion of pulmonary artery. Archives of Surgery 1937; 34(6): 1105-31.
- 11.Miller BJ. Laboratory work preceding the first clinical application of cardiopulmonary bypass. The Annals of thoracic surgery 2003;76(6):2203-09.
- 12.Gibbon JH Jr. Application of mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. Minn Med 1954;37(3):171-85.
- 13.Lillehei C, Cohen M, Warden H, Varco R. The direct vison intracardiac correction of congenital anomalies by controlled cross circulation. Surgery 1955;38(1):11-29.
- 14.Kirklin JW, DuShane JW, Patrick RT, Donald DE, Hetzel PS, Harshbarger H, et al. İntracardiac surgery with the aid of a mechanical pump-oxygenator: Report of eight cases. Mayo Clin. 1955;30(10):201-6
- 15.Yalçınbaş YK, Sarioğlu T. Pedyatrik kardiyopulmoner bypass ve miyokard korunması, Ed, Paç M., Akçevin A., Aka AS., Büket S., Sarioğlu T., Kalp ve damar cerrahisi 2. Cilt, 2. Baskı Ankara. MN Medikal&Nobel 2013: 695-1710.

16. Ersayın Kantaş H. Eksrakorporeal Dolaşımın Perfüzyon Prensipleri. Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Surgery. Special Topics 2012;4(2):6-13.
17. Ak K. Kardiyopulmoner Bypass ve Optimal Koşulları. Kalp ve Anestezi. 1. Baskı. Ankara. Intertıp Yayınevi. 2015:121-40.
18. Günaydın S, Yılmaz S. Eksrakorporeal Devrelerin Dizayn ve Temel Prensipleri. Ekstrakorporeal Dolaşım. 1. Baskı. Ankara. Eflatun Yayınevi. 2008:183-93.
19. Şenay Ş, Alhan C. Kardiyopleji Çeşitleri ve Kardiyopleji Verme Teknikleri. Ekstrakorporeal Dolaşım. 1. Baskı. Ankara. Eflatun Yayınevi. 2008: 221-34.
20. Leschinsky BM, Zimin NK. Centrifugal blood pump: A brief analysis: development of new designs. Perfusion 1991;6(2):115-21.
21. Besntein EF, Gleason LR. Factors influencing hemolysis with roller pumps. Surgery. 1967;61(3):432-42.
22. Wright G. Hemodynamic analysis could resolve the pulsatile blood flow controversy. Ann Thorac surg 1994;58(4):1199-28.
23. Davies LK. Hypothermia: physiology and clinical use. Cardiopulmonary Bypass. Baltimore. Williams & Wilkins. 1993: 140.
24. Kirklin JW, DuShane JW, Patrick RT, Donald DE, Hetzel PS, Harshbarger HG, et al. Intracardiac surgery with the aid of a mechanical pumpoxygenator system (Gibbon type): report of eight cases. Proc Staff Meet Mayo Clin 1955; 30(10): 201.
25. Davies LK. Hypothermia: physiology and clinical use. Cardiopulmonary Bypass. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993: 180.
26. Sarıbülbül O. Kalp Akciğer Makinası – Ekstrakorporeal Dolaşım. Kalp ve Damar Cerrahisi. Birinci baskı. İstanbul. Çapa Tıp Kitabevi. 2004: 1047-74.
27. Boztepe Derici Ü, Altok Reis K. Hiperhomosisteinemi ve kronik böbrek yetmezliği. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2002;1(3):129-34.
28. Hammon JW. Extracorporeal Circulation. Cardiac Surgery in the Adult. 3rd Edition. McGraw-Hill. Pennsylvania. USA. 2008: 349-414.
29. Pearson DT. Gaz exchange; bubble and membrane oxygenators. Semin Thorac Cardiovasc Surg 1990; 2(1):313-9.
30. Clark RE, Beauchamp RA, Magrath RA, Brooks JD, Ferguson TB, Weldon CS. Comparison of bubble and membrane oxygenators in short and long term perfusions. J Thorac Cardiovasc surg 1979;78(5):655-66.



31. Tiryakioğlu O, Yıldız G, Vural H, Goncu T, Özyazıcıoğlu A, Yavuz Ş. Hydroxyethyl starch versus Ringer solution in cardiopulmonary bypass prime solutions (a randomized controlled trial). *J Cardiothorac Surg* 2008; 3(1): 45.
32. Esener Z. Klinik anestezi. Kardiyopulmoner bypass, ekstrakorporeal dolaşım. 2. Baskı. İstanbul. Logos Yayıncılık. 1997: 293.
33. DiNardo JA. Cardiopulmonary Bypass. *Cardiopulmoner Bypass in Anesthesia for Cardiac Surgery*. 2nd Edition, Appleton. Lange. 2002: 277-320.
34. İsbir S. Sistemik Antiinflatuar Yanıt. Ekstrakorporeal Dolaşım. Eflatun Yayınevi. Ankara. 2008: 52.
35. Dereli Y. Koroner Arter Bypass Greft Cerrahisi Sonrası Sistemik İnflatuar Yanıt Sendromu İnsidansını Azaltmada Statinlerin Etkinliğinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi Konya 2009.
36. Kuzu M. Sistemik İnflatuar Reaksiyon Sendromu ve Peritonitin Fizyopatolojisi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları 2014.
37. Çelebiođlu B, Özer E. Kardiyopulmoner By-Pass ve Sistemik İnflatuar Yanıt. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004;35(1):18-26.
38. Laffey j, Boylan J, Cheng D. The Systemic Inflammatory Response to Cardiac Surgery. *Anesthesiology* 2002;97(1):215-52
39. Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ, Lotto AA, Pittis AA, Angelini GD. Inflammatory Response after Coronary Revascularization with or without Cardiopulmonary Bypass. *Ann Thorac Surg* 2000;69(4):1198-204.
40. Aydın MS, Hazar A, Koçarslan A, Küçük A, Kaya Z, Yüce HH, et al. Oxidative Stress and Inflammation are Increased in First Five Days in Coronary Artery Bypass Surgery Patients A Prospective Study. *Acta Medica Mediterranea* 2013;29(2):269-74.
41. Blake GJ, Ridker PM. Novel Clinical Markers of Vascular Wall Inflammation. *Circ Res* 2001;89(9):763-71.
42. Schuetz P. Procalcitonin: A New Biomarker For The Cardiologist. *Int J Cardiol* 2016;223:390-397.
43. İriz E. Açık Kalp Cerrahisi Esnasında Aktive Olan Sistemik İnflamasyon Cevabının Organ Fonksiyonlarına Etkileri ve Güncel Tedavi Yöntemleri. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi* 2004;4: 231-235.
44. Okamura Y. Is C-Reactive Protein a Predictor of Perioperative Events Before Coronary Artery Bypass? *Circulation Journal* 2009;73(5):818-9.

45. Abanonu GB. Koroner Arter Hastalığı Majör Risk Faktörleri ve C-Reaktif Proteinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi İstanbul 2005.
46. Biancari F, Lahtinen J, Lepojarvi S, Rainio P, Salmela E, Pokela R, et al. Preoperative C-Reactive Protein and Outcome After Coronary Artery Bypass Surgery. *Ann Thorac Surg* 2003;76(6):2007-12.
47. Aslan Ö, Demir M, Atay A, Köseğlü MH, Kaya M. Prokalsitonin ve C-Reaktif Protein Düzeyleri Arasındaki Korelasyon. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2011;9(2): 61-66.
48. Ay D, Erdolu B, Yumun G, Aydın U, Demir A, Tiryakioğlu O, ve ark. Comparing the Effectiveness of Neutrophil/lymphocyte Ratio as a Mortality Predictor on Middle and Advanced Age Coronary Artery Bypass Graft Patients. *North Clinical journal* 2014;1(2):95-100.
49. Ünal EU, Durukan BD, Özen A, Kubat E, Kocabeyoğlu SS, Yurdakök O, et al. Neutrophil/lymphocyte ratio as a mortality predictor following coronary artery bypass graft surgery. *Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2013;21(3):588-593
50. Dikey İ. Akut ve Kronik Subdural Kanamalı Hastalarda Nötrofil/Lenfosit Oranı ve Ortalama Trombosit Hacminin Değerlendirilmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi* 2013;14(4):23-30.
51. Aygün F, Özülkü M, Günday M. NLR Son Zamanlarda Kardiyolojik Olay Belirtecidir, CABG Sonrası Mortalite için Prediktör Olabilir mi? *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2016;14(1):17-22.
52. Kargın S, Çakır M, Gündeş E, Yavuz Y, Esen H, İyisoy S, ve ark. Gastrointestinal Stromal Tümörlerde Prognozun Belirlenmesinde Preoperatif Nötrofil Lenfosit Oranın Etkisi. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 2015;31(2):61-4.
53. Ambros V, Chen X. The regulation of genes and genomes by small RNAs, *Development* 2007;134(9):1635-41.
54. Wiemer EA. The role of microRNAs in cancer: no small matter. *Eur J Cancer* 2007;43(10):1529-1544.
55. Costa FF. Non-coding RNAs: new players in eukaryotic biology. *Gene* 2005;357(2):83-94.
56. Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, Guigó R, Gingeras TR, Margulies EH, et al. Identification and analysis of functional elements in 1Y of the human genome by the ENCODE pilot Project. *Nature* 2007;447(7146):799-816

57. Washietl S, Pedersen JS, Korbelt JO, Stocsits C, Gruber AR, Hackermüller A, et al. Structured RNAs in the ENCODE selected regions of the human genome. *Genome Res* 2007;17(6):852-64.
58. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev* 2009;28(3-4):369-78.
59. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993;75(5):843-54.
60. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA World. *Science* 2001;294(5543):797-9.
61. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000;403(6772):901-6.
62. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller T, et al. Heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000;408(6808):86-9.
63. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001;294(5543):853-8.
64. Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res* 2008;36(1):154-8.
65. Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA* 2004;10(12):1957-66.
66. Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J* 2002;21(17):4663-70.
67. Han J, Lee Y, Yeom KH, Kim YK, Jin H, Kim VN. The Drosha/DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev* 2004;18(24):3016-27.
68. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003;425(6956):415-9.
69. Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6(5):376-85.
70. Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of premiRNAs. *RNA* 2004;10(2):185-91.

71. Lund, E, Güttinger S, Calado, A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004;303(5654):95-8.
72. Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, Norman J, Cooch N, Nishikura K, et al. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature* 2005;436(7051):740-4.
73. Ketting RF, Fischer SE, Bernstein E, Sijen T, Hannon GJ, Plasterk RH. Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. Elegans*. *Genes Dev* 2001;15(20):2654-9.
74. Bushati N, Cohen SM. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007;23:175-205.
75. Hammond SM, Bernstein E, Beach D, Hannon GJ. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells. *Nature* 2000;404(6775):293-6.
76. Schwarz DS, Hutvagner G, Du T, Xu Z, Aronin N, Zamore PD. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell* 2003;115(2):199-208.
77. Karginov FV, Conaco C, Xuan Z, Schmidt BH, Parker JS, Mandel G, et al. A biochemical approach to identifying microRNA targets. *Proc Natl Acad Sci* 2007;104(49):19291-6.
78. Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell* 2003;115(7):787-98.
79. Hutvagner G, Zamore PD. A microRNA in a multiple-turnover RNAi enzyme complex. *Science* 2002;297(5589):2056-60.
80. Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc Natl Acad Sci* 2006;103(11):4034-9.
81. Petersen CP, Bordeleau ME, Pelletier J, Sharp PA. Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells. *Mol Cell* 2006;21(4):533-42.
82. Wang B, Love TM, Call ME, Doench JG, Novina CD. Recapitulation of short RNA-directed translational gene silencing in vitro. *Mol Cell* 2006; 22(4):55360.
83. Olsen PH, Ambros V. The *lin-4* regulatory RNA controls developmental timing in *Caenorhabditis elegans* by blocking LIN-14 protein synthesis after the initiation of translation. *Dev Biol* 1999;216(2):671-80.
84. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. Elegans*. *Cell* 1993; 75(5):855-62.

85. Humphreys DT, Westman BJ, Martin DI, Preiss T. MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly(A) tail function. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102(47):16961-6.
86. Karp X, Ambros V. Encountering microRNAs in cell fate signaling. *Science* 2005;310(5752):1288-9.
87. Cheng AM, Byrom MW, Shelton J, Ford LP. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis. *Nucleic Acids Res* 2005;33(4):1290-7.
88. Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* 2004;303(5654):83-6.
89. Xu P, Guo M, Hay BA. MicroRNAs and the regulation of cell death. *Trends Genet* 2004; 20(12):617-24.
90. Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature* 2004;432(7014):226-30.
91. Baek D, Villén J, Shin C, Camargo FD, Gygi SP, Bartel DP. The impact of microRNAs on protein output. *Nature* 2008;455(7209):64-71.
92. Selbach M, Schwanhäusser B, Thierfelder N, Fang Z, Khanin R, Rajewsky N. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature* 2008;455(7209):58-63.
93. Brennecke J, Stark A, Russell RB, Cohen SM. Principles of microRNA-target recognition. *PLoS Biol* 2005;3(3):85.
94. Cowland JB, Hother C, Grønbaek K. MicroRNAs and cancer. *APMIS* 2007;115(10):1090-106.
95. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005;120(1):15-20.
96. Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 2005;433(7027):769-73.
97. Ambros V. MicroRNA pathways in flies and worms: growth, death, fat, stress, and timing. *Cell* 2003;113(6):673-6.
98. Ono K, Kuwabara Y, Han J. MicroRNAs and cardiovascular diseases. *FEBS Journal* 2011;278 (1):1619–33.

99. Matkovich SJ, Van Booven DJ, Youker KA, Torre-Amione Get Diwan A, Eschenbacher WH, et al. Reciprocal regulation of myocardial microRNAs and messenger RNA in human cardiomyopathy and reversal of the microRNA signature by biomechanical support. *Circulation* 2009;119(9):1263–71.
100. Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, de Windt LJ, Van der Wal AC, Kok WE, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure. *Circ Res* 2010;106(6):1035–9.
101. Fukushima Y, Nakanishi M, Nonogi H, Goto Y, Iwai N. Assessment of plasma miRNAs in congestive heart failure. *Circ J* 2011;75(2):336–40.
102. Goren Y, Kushnir M, Zafir B, Tabak S, Lewis BS, Amir O. Serum levels of microRNAs in patients with heart failure. *European Journal of Heart Failure* 2012;14(2):147–54.
103. Tarasov V, Jung P, Verdoodt B, Lodygin D, Epanchintsev, A, Mensen A, et al. Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively parallel sequencing. *Cell Cycle* 2007;6(13):1586-93.
104. Calin GA, Croce CM. MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale. *Cancer Res* 2006;66(15):7390-4.
105. Gao Y, Huang R, Chen R, Li J, Luo W. Ischemic postconditioning altered microRNAs in human valve replacement. *J Surg Res* 2016;200(1):28-35.
106. Wang Y, Gu T, Shi E, Yu L, Wang C, Zhang Y et al. Inhibition of microRNA-29c protects the brain in a rat model of prolonged hypothermic circulatory arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015;150(3):675-84.
107. Qin H, Chen GX, Liang MY, Rong J, Yao JP, Liu H, et al. The altered expression profile of microRNAs in cardiopulmonary bypass canine models and the effects of mir-499 on myocardial ischemic reperfusion injury. *J Transl Med* 2013;11(2):154.
108. Sullo N, Mariani S, JnTala M, Kumar T, Woźniak MJ, Smallwood D, et al. An Observational Cohort Feasibility Study to Identify Microvesicle and Micro-RNA Biomarkers of Acute Kidney Injury Following Pediatric Cardiac Surgery *Pediatr Crit Care Med.* 2018;19(9):816-30.
109. Bolquier Y, Nevo-Caspi Y, Salem Y, Vardi A, Mishali D, Paret G. Micro-RNA-208a, -208b, and -499 as Biomarkers for Myocardial Damage After Cardiac Surgery in Children. *Pediatr Crit Care Med* 2016;17(4):e193-7.
110. Engler A, Dreja F, Köberle S, Thielmann M, Peters J, Frey UH. Establishment of an easy and straight forward heparinase protocol to analyse circulating and

- myocardial tissue micro-RNA during coronary artery-bypass-graft surgery. *Sci Rep* 2018;8(1):1361.
111. Yang K, Gao B, Wei W, Li Z, Pan L, Zhang J, et al. Changed profile of microRNAs in acute lung injury induced by cardio-pulmonary bypass and its mechanism involved with SIRT1. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(2):1104-15.
112. Li W, Ma K, Zhang S, Zhang H, Liu J, Wang X, et al. Pulmonary microRNA expression profiling in an immature piglet model of cardiopulmonary bypass-induced acute lung injury. *Artif Organs* 2015;39(4):327-35.
113. Küçükbuçcu S, Koroner Arter Bypass Cerrahisi Sonrası Görülen Atriyal Fibrilasyon Gelişiminin Kardiyak Sırt 1 Proteini, Mikro Rna 195 Ve 199A İle İlişkisi. İstanbul 2016.
114. Mukai N, Nakayama Y, Ishi S, Ogawa S, Maeda S, Anada N, et al. Changes in MicroRNA Expression Level of Circulating Platelets Contribute to Platelet Defect After Cardiopulmonary Bypass. *Crit Care Med* 2018;46(8):761-7.
115. Abu-Halima M, Poryo M, Ludwig N, Mark J, Marsollek I, Giebels C, et al. Differential expression of microRNAs following cardiopulmonary bypass in children with congenital heart diseases. *J Transl Med* 2017;15(1):117.
116. Saddic LA, Chang TW, Sigurdsson MI, Heydarpour M, Raby BA, Shernan SK, et al. Integrated microRNA and mRNA responses to acute human left ventricular ischemia. *Physiol Genomics* 2015;47(10):455-62.
117. Mazzone AL, Baker RA, McNicholas K, Woodman RJ, Michael MZ, Gleadle JM. Circulating and Urinary miR-210 and miR-16 Increase during Cardiac Surgery Using Cardiopulmonary Bypass - A Pilot Study. *J Extra Corpor Technol* 2018;50(1):19-29.
118. Yang G, Fu Y, Lu X, Wang M, Dong H, Li Q. miR-34a regulates the chemosensitivity of retinoblastoma cells via modulation of MAGE-A/p53 signaling. *Int J Oncol* 2019;54(1):177-87.
119. Liu X, Luo X, Wu Y, Xia D, Chen W, Fang Z, et al. MicroRNA-34a Attenuates Paclitaxel Resistance in Prostate Cancer Cells via Direct Suppression of JAG1/Notch1 Axis. *Cell Physiol Biochem* 2018;50(1):261-76.
120. Shanesazzade Z, Peymani M, Ghaedi K, Nasr Esfahani MH. miR-34a/BCL-2 signaling axis contributes to apoptosis in MPP(+)-induced SH-SY5Y cells. *Mol Genet Genomic Med* 2018;6(6):975-81.
121. Mai EH, Lei T, Li SQ, Hu PG, Xu T, Jia FX, et al. MiR-34a affects hepatocyte proliferation during hepatocyte regeneration through regulating Notch/HIF-1 $\alpha$  signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019;23(8):3503-11.

122. Wei GJ, Yuan MQ, Jiang LH, Lu YL, Liu CH, Luo HC, et al. A Genetic Variant of miR-34a Contributes to Susceptibility of Ischemic Stroke Among Chinese Population. *Front Physiol* 2019;10:432.
123. Pickering ME, Millet M, Rousseau JC, Croset M, Szulc P, Borel O, et al. Selected serum microRNA, abdominal aortic calcification and risk of osteoporotic fracture. *PLoS One* 2019;14(5):1-15.
124. Wang L, Lv Q, Song X, Jiang K, Zhang J. ADRB2 suppresses IL-13-induced allergic rhinitis inflammatory cytokine regulated by miR-15a-5p. *Hum Cell* 2019;32(3):306-315
125. Zare A, Alipoor B, Omrani MD, Zali MR, Malekpour Alamdari N, Ghaedi H. Decreased miR-155-5p, miR-15a, and miR-186 Expression in Gastric Cancer Is Associated with Advanced Tumor Grade and Metastasis. *Iran Biomed J* 2019;23(5):338-43.
126. Wang S, Zhang S, He Y, Huang X, Hui Y, Tang Y. HOXA11-AS regulates JAK-STAT pathway by miR-15a-3p/STAT3 axis to promote the growth and metastasis in liver cancer. *J Cell Biochem* 2019;120(9):15941-51.
127. D'Angelo D, Mussnich P, Sepe R, Raia M, Del Vecchio L, Cappabianca P. RPSAP52 lncRNA is overexpressed in pituitary tumors and promotes cell proliferation by acting as miRNA sponge for HMGA proteins. *J Mol Med* 2019;97(7):1019-32.
128. Li D, Hao S, Zhang J. Long non-coding RNA UCA1 exerts growth modulation by miR-15a in human thyroid cancer TPC-1 cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2019;47(1):1815-22.
129. Gallo A, Agnese V, Coronello C, Raffa GM, Bellavia D, Conaldi PG, et al. On the prospect of serum exosomal miRNA profiling and protein biomarkers for the diagnosis of ascending aortic dilatation in patients with bicuspid and tricuspid aortic valve. *Int J Cardiol* 2018;273:230-6.
130. Sommariva E, D'Alessandra Y, Farina FM, Casella M, Cattaneo F, Catto V, et al. MiR-320a as a Potential Novel Circulating Biomarker of Arrhythmogenic CardioMyopathy. *Sci Rep* 2017 6;7(1):4802.
131. Jakob P, Kacprowski T, Briand-Schumacher S, Heg D, Klingenberg R, Stähli BE, et al. Profiling and validation of circulating microRNAs for cardiovascular events in patients presenting with ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J* 2017;38(7):511-5.





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



Sayı : 74059997-050.04.04  
Konu : Karar

Sayın Prof. Dr. Mustafa GÖZ  
Anabilim Dalı Başkanı

Yürütücüsü olduğunuz “ **Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Micro-Rna Değişimi**” başlıklı çalışmaya ilişkin Kurulumuzun 04.01.2018 tarih, 01 nolu oturum ve 26 nolu kararı yazımız ekinde gönderilmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

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


Ek:1 Adet

HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
Etik Kurul Kararı

TARİH : 04.01.2018  
OTURUM : 01  
SAAT : 13:00

18/01/26

**Karar:** Üniversitemiz Tıp Fakültesi Kalp damar cerrahisi Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mustafa GÖZ'ün yürütücüsü olduğu " **Kardiyopulmoner Bypass sırasında Micro-Rna Değişimi**" başlıklı çalışmaya Etik Kurul onayı verilmesine Oy birliğiyle karar verilmiştir.

  
ASLI GİBİDİR  
Yrd. Doç. Dr. Hakkın ÇELİK  
Etik Kurul Raportörü



T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

**Öğrencinin**

Numarası :165309003  
Adı, Soyadı :Tülay Aydın  
Anabilim Dalı (Bölümü) :Kalp Damar Cerrahisi  
Programı :  Yüksek Lisans  Doktora  
Tezin Adı: Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Micro-RNA Değişimi

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Micro-RNA Değişimi çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam 46 sayfalık kısmına ilişkin, 25/07/2019 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı %18'dir.

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 alıntıların 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. 25/07/2019

**Tezi Hazırlayan Öğrencinin**

Adı-Soyadı: Tülay Aydın

İmzası:

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım. 25/07/2019

**Danışmanın**

Unvanı-Adı-Soyadı: Prof. Dr. Mustafa ÖZ

İmzası:

# Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme konu: 25-Tem-2019 10:27 +03  
 NUMARA: 1154851396  
 Kelime Sayısı: 7245  
 Gönderildi: 1

Benzerlik Endeksi

**%18**

**Kaynağa göre Benzerlik**

Internet Sources: %8  
 Yayınlar: %3  
 Öğrenci Ödevleri: %14

**KARDİYOPULMONER BYPASS  
 SIRASINDA MICRO-RNA  
 DEĞİŞİMİ** Tülay Aydın  
 tarafından

3% match (06-Kas-2018 tarihli öğrenci

ödevleri)

[Submitted to Istanbul Medipol Üniversitesi on 2018-11-06](#)

1% match (09-Oca-2016 tarihli internet)

<http://www.readperiodicals.com/201101/2337090541.html>

1% match (07-Kas-2018 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Istanbul Medipol Üniversitesi on 2018-11-07](#)

1% match (10-Kas-2015 tarihli internet)

<http://www.ejmanager.com/mnstemps/81/81-1335535194.pdf>

1% match (01-Ağu-2008 tarihli internet)

<http://med.cu.edu.tr/anestezi/anestezinot/kardiyov2.htm>

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

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

1% match (22-May-2018 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2018-05-22](#)

1% match (07-Kas-2016 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Selçuk Üniversitesi on 2016-11-07](#)

1% match (12-Nis-2017 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Sakarya University on 2017-04-12](#)

1% match (05-Kas-2014 tarihli internet)

[http://tr.wikipedia.org/wiki/Kodlamayan\\_RNA](http://tr.wikipedia.org/wiki/Kodlamayan_RNA)

1% match (30-Eki-2018 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2018-10-30](#)

< 1% match (16-Tem-2019 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Ataturk Universitesi on 2019-07-16](#)

< 1% match (24-May-2019 tarihli internet)

<http://acikerisim.selcuk.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/10206/478965.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

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

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

< 1% match (21-May-2016 tarihli internet)

T.C  
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
ULUSAL TEZ MERKEZİ

## TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10280789
Yazar Adı / Soyadı	TÜLAY AYDIN
T.C.Kimlik No	36100853758
Telefon	5054850159
E-Posta	tulay.aydin1@saglik.gov.tr
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA MICRO-RNA DEĞİŞİMİ
Tezin Tercümesi	MICRO-RNA CHANGE DURING 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	
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	45
Tez Danışmanları	PROF. DR. MUSTAFA GÖZ
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	

07.08.2019

İmza: 