

T. C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
PERFÜZYONİST YETİŞTİRME PROGRAMI

**KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA
HOMOSİSTEİN, VİTAMİN B12 VE FOLİK ASİT
SEVİYELERİNİN DEĞİŞİMİ VE BİRBİRLERİ İLE
OLAN İLİŞKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice Bilge AÇIK

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mustafa GÖZ

ŞANLIURFA

2014

T. C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
PERFÜZYONİST YETİŞTİRME PROGRAMI

**KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA
HOMOSİSTEİN, VİTAMİN B12 VE FOLİK ASİT
SEVİYELERİNİN DEĞİŞİMİ VE BİRBİRLERİ İLE
OLAN İLİŞKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice Bilge AÇIK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mustafa GÖZ

Bu tez, HR.Ü Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 13088 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2014

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Hatice Bilge AÇIK' ın hazırladığı “Kardiyopulmoner Bypass sırasında Homosistein, Vitamin B12 ve Folik Asit seviyelerinin değişimi ve birbirleri ile olan ilişkilerinin incelenmesi” konulu çalışma, 13/06/2014 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Perfüzyonist Yetiştirme Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Mustafa GÖZ (Danışman)

Harran Üniversitesi

BAŞKAN

Yrd. Doç. Dr. Aydemir KOÇARSLAN

Harran Üniversitesi

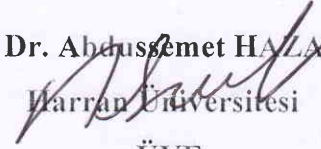
ÜYE



Doç. Dr. Abdussemet HAZAR

Harran Üniversitesi

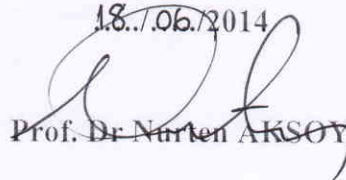
ÜYE



ONAY

18.06.2014

Prof. Dr. Nürten AKSOY



Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜRLER...

Yüksek lisans eğitimim süresince ilgi, bilgi ve deneyimlerini bizden eksik etmeyen saygıdeğer hocam Anabilim Dalı Başkanımız ve Tez Danışmanım sayın Doç. Dr. Mustafa Göz'e...

Eğitimime katkılarından dolayı kıymetli hocalarım sayın Doç. Dr. Abdussemmed Hazar, Yrd. Doç. Dr. M. Salih Aydın ve Yrd. Doç. Dr. Aydemir Koçarslan'a...

Enstitü Müdürümüz, Etik Kurul Başkanımız, Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Nurten Aksoy başta olmak üzere tüm Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarımıza...

Tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve yazılması aşamalarında büyük emek harcayan, Urfa'daki en büyük destekçim, Abican'ım, sayın Öğr. Gör. Reşat Dikme ve çok sevdiğim ailesine...

Çalışmamın belirlenmesinde ve verilerin istatistiksel analizinde büyük katkıları olan dost insan Öğr. Gör. Abdullah Taşkın ve değerli eşi Seyhan Taşkın'a...

Başta Latif Bey olmak üzere tüm Biyokimya Laboratuvarı personeline...

Urfa'ya gelmeme vesile olan manevi ablam Şenay Üskül ve akıl hocam Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Ahmet Dinçoğlu'na...

Yüksek lisans eğitimime birlikte başladığım ve birlikte bitirdiğim geleceğin Perfüzyonistleri Esin Akça ve Mustafa Türkmenoğlu'na...

Urfa'daki yıllarımı geçirdiğim, bana iki yıl boyunca aile ortamı sağlayan cankuşlarıma...

Yüksek Lisans Eğitimime devam etmeme vesile olan, maddi manevi desteğini bir gün olsun esirgemeyen, engin tecrübeleriyle hep yol göstericim olan canım abim Anestezi Uzm. Dr. Mehmet Eren Açık'a...

Hayatımın her anında desteklerini hissettiğim, büyük fedakarlıklar göstererek bu günlere gelmemi sağlayan, varlıklarından güç aldığım, canım annem ve babama...

Hayatıma anlam katan, ömürlük yarime, gönül eşime...

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hatice Bilge Açık

Mayıs, 2014

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL DİZİNİ.....	iv
TABLO DİZİNİ.....	v
SİMGE ve KISALTMALAR.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kardiyopulmoner Bypass (CPB).....	4
2.1.1. Kardiyopulmoner Bypass Tarihçesi.....	4
2.1.2. Kardiyopulmoner Bypass Sisteminin Komponentleri.....	7
2.1.2.1. Kanüller.....	9
2.1.2.1.1. Venöz Kanüller.....	9
2.1.2.1.2. Arteriyel Kanüller.....	9
2.1.2.1.3. Kardiyopleji Kanülleri.....	9
2.1.2.2. Venöz Rezervuar.....	10
2.1.2.3. Pompa.....	10
2.1.2.4. Oksijenatör.....	10
2.1.2.5. Isı Değiştiriciler.....	11
2.1.2.6. Emici Sistemler (suction).....	12
2.1.2.7. Vent Sistemi.....	12
2.1.2.8. Filtreler.....	12
2.2. Homosistein.....	13
2.2.1. Homosisteinin Genel Özellikleri.....	13
2.2.2. Homosisteinin Metabolizması.....	13
2.2.3. Hiperhomosisteinemi.....	15
2.2.4. Endotel Fonksiyon Bozukluğu.....	17
2.2.5. Pıhtılaşma Faktörlerindeki Değişiklikler.....	18

2.2.6. Reaktif Oksijen Türleri ve Lipid Peroksidasyonu.....	18
2.2.7. Trombosit Adezyon Anormallikleri.....	18
2.2.8. Adenozin Üretiminde Azalma.....	19
2.3. Vitamin B12.....	19
2.3.1. Vitamin B12 Genel Özellikleri.....	19
2.3.2. Vitamin B12 Molekül Yapısı.....	20
2.3.3. Vitamin B12 Metabolizması.....	22
2.4. Folik Asit.....	24
2.4.1. Folik Asitin Genel Özellikleri.....	24
2.4.2. Folik Asit Molekül Yapısı.....	25
2.4.3. Folik Asit Metabolizması.....	26
3. MATERYAL VE METOD.....	27
3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	27
3.2. Örneklerin Hazırlanması.....	27
3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	27
3.4. Homosistein Düzeyinin Ölçülmesi.....	28
3.5. Vitamin B12 Düzeyinin Ölçülmesi.....	28
3.6. Folik Asit Düzeyinin Ölçülmesi.....	28
3.7. İstatistiksel Analizler.....	29
4. BULGULAR.....	30
5.TARTIŞMA SONUÇ.....	36
6.KAYNAKLAR.....	42

Şekil 1. Mayo-Gibbon tipi ekstrakorporal devresi ve John Kirklin'in Mayo Klinik'teki gençlik dönemi	5
Şekil 2. Kalp akciğer makinesinin kalbe bağlanma şekli.	8
Şekil 3. Metiyonin Homosistein ve Sistein aminoasitlerinin kimyasal yapısı	13
Şekil 4. Homosistein Metabolizması	14
Şekil 5. Homosisteinin vasküler hasar oluşturma mekanizmaları	17
Şekil 6. Vitamin B12 molekül yapısı	22
Şekil 7. Homosisteinden metiyonin sentezlenmesi	22
Şekil 8. Metilmalonil CoA'nın süksinil CoA'ya dönüşümü	23
Şekil 9. Folik asitin yapısı	25
Şekil 10. Gruplar arasında vitamin B12 düzeylerinin fark, dağılım ve standart sapmaları	33
Şekil 11. Gruplar arasında Folik asit düzeylerinin fark, dağılım ve standart sapmaları	34
Şekil 12. Gruplar arasında Homosistein düzeylerinin fark, dağılım ve standart sapmaları	35

TABLO DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Homosistein düzeylerini etkileyen ve hiperhomosisteinemiye neden olan faktörler	16
Tablo 2. Hiperhomosisteineminin şiddetine göre sınıflandırılması ve etiyolojisi	16
Tablo 3. Grupların vitamin B12, folik asit ve homosistein düzeyleri	30
Tablo 4. Ameliyat öncesi korelasyon tablosu	32
Tablo 5. Protamin sonrası korelasyon tablosu	32

SİMGELER ve KISALTMALAR

KPB	: Kardiyopulmoner Bypass
VSD	: Ventrikuler septal defekt
MTHFR	: Metilentetrahidrofolat redüktaz
MS	: Metiyonin sentaz
CBS	: Sistatyonin beta sentaz
BHMT	: Betain homosistein metil transferaz
NO	: Nitrik oksid
TM	: Trombomodülin
Ox-LDL	: Okside LDL
Kd	: Kilodalton
THF	: Tetrahidrofolat
CNCbI	: Siyanokobalamin
OHCbI	: Hidroksikobalamin
AdoCbI	: Adenozilkobalamin
MeCbI	: Metilkobalamin
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
Hcy	: Homosistein
HH	: Hiperhomosisteinemi

ÖZET

KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA HOMOSİSTEİN, VİTAMİN B12 VE FOLİK ASİT SEVİYELERİNİN DEĞİŞİMİ VE BİRBİRLERİ İLE OLAN İLİŞKİLERİNİN İNCELENMESİ

Hatice Bilge AÇIK

Kalp Damar Cerrahisi Yüksek Lisans Tezi

Kardiyopulmoner bypass'ta (KPB) hastanın kalbi ve akciğeri belli bir süre durdurulmakta, bu organların yerine kalp akciğer makinesi kullanılmaktadır. KPB ile hastadan kanül ve tüp setlerle alınan kan bu cihazdan geçirilip oksijenlendirildikten sonra tekrar hastanın dolaşımına geri verilmektedir. KPB sırasında kan damar dışına çıkarak vasküler endotelden farklı yapay materyal yüzeylerden geçmektedir. Yapay yüzeylerden dolayı kandaki ve metabolizmadaki değişim neticesinde plazmada bulunan birçok parametre değişmektedir. Değişen parametreler arasında homosistein, vitamin B12 ve folik asit bulunmaktadır. Yapılan çalışmamızda KPB sırasında homosistein, vitamin B12 ve folik asit parametrelerinin değişimlerine bakılarak birbirleri ile olan ilişkileri araştırılmıştır.

Çalışmamıza çeşitli sebeplerden dolayı KPB ile ameliyat edilen 30 hasta seçildi. Hastalardan ameliyat öncesi, pompaya giriş, kross klemp sonrası ve protamin verilmesi sonrası olmak üzere dört farklı zamanda kan örnekleri alınarak çalışma grubu oluşturuldu. Serum vitamin B12 ve folik asit düzeyi kemilüminesans yöntemi ile homosistein düzeyi ise kolorimetrik yöntem ile çalışıldı.

Çalışma sonucuna göre; pompaya girişte homosistein, vitamin B12 ve folik asit düzeyi prime solüsyondan dolayı sayısal olarak düşerken; pompa girişinden kross klemp sonrasına kadar homosisteinde anlamlı artış olmuş, folik asit düzeyinde artış olmamış, vitamin B12 oranındaki artış ise homosistein kadar olmamıştır. Bu durum Vitamin B12 ve Folik asit düzeyi ile serum homosistein konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon göstermiştir.

Kross klemp sonrasında protamin sonrasına kadarki dönemde homosistein seviyesinde düşüş olmasına rağmen, Vitamin B12 ve folik asit seviyesinde yükselmeler

olmuştur. Bu yükseklik homosisteinin Vitamin B12 ve folik asit ile negatif ilişkisine destek olmaktadır.

Perfüzyon süresi uzadıkça artan inflamatuvar yanıt ve kullanılan ilaçlar ile homosistein seviyesinde değişimlere neden olmuş fakat bu etkileşimlerin homosistein, Vitamin B12 ve folik asit düzeyi ile ilişkisi istatistiksel olarak gösterilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Kardiyopulmoner Bypass, homosistein, vitamin B12, folik asit



ABSTRACT

THE REVIEW OF THE CHANGE IN HOMOCYSTEINE, VITAMIN B12 AND FOLIC ACID LEVELS, AND THEIR RECIPROCAL RELATIONSHIP DURING CARDIOPULMONARY BYPASS

Hatice Bilge AÇIK

A Master Thesis of Cardiovascular Surgery Department

In cardiopulmonary bypass (CPB) the patient's heart and lungs are stopped for a certain period of time, the heart-lung machine is used instead of these organs. By CPB, blood is taken from patients with the sets with cannulas and tubes, after it passed through the device and oxygenated, again returned to the patient's circulation. During CPB, the blood goes beyond vessels, and passes through artificial material surface different from vascular endothelial. Due to artificial surfaces and changes in metabolism and blood, many parameters in plasma varies. Of varying parameters homocysteine, vitamin B12 and folic acid are also included. In this study, we investigated the change in homocysteine, vitamin B12 and folic acid parameters and their relationship with each other during CPB.

In our study, 30 patients, who underwent surgery with cardiopulmonary bypass for various reasons, were selected. Four groups were formed and blood samples were taken from patients at four different times; prior to surgery, the pump inlet, after cross clamp and after the administration of protamine. Serum vitamin B12 and folic acid levels was studied by chemiluminescence method, homocysteine levels was studied by the colorimetric method.

According to the study results; vitamin B12 and folic acid levels numerically decreased due to the prime solution at the pump inlet; homocysteine levels increased significantly but folic acid levels did not increase from the pump inlet until after the cross clamp; the increase in the rate of vitamin B12 had not been up of that homocysteine. This situation showed a negative correlation with vitamin B12 and folic acid levels of serum homocysteine concentrations.

In the period after protamine administration and after cross clamp, there was a decrease in the level of homocysteine , although there have been increased levels of vitamin B12 and folic acid. This elevation of homocysteine with vitamin B12 and folic acid also supports a negative relationship.

Because of the increased perfusion time, and so increased inflammatory response and drugs led to changes in the level of homocysteine, but no statistical relationship with these interactions has been shown in homocysteine, vitamin B12 and folic acid levels.

Keywords: Cardiopulmonary bypass, homocysteine, vitamin B12, folic acid



1.GİRİŞ ve AMAÇ

Kardiyak cerrahinin yapılmasını olanaklı kılan kardiyopulmoner bypass sırasında kalp ve akciğer devre dışı kalmakta, bunların yerine pompa ve oksijenatörden oluşan kalp akciğer makinesi kullanılmaktadır. Cerrahi sahadan kanül ve tüp setlerle alınan kan bu cihazdan geçirilip oksijenlendirildikten sonra tekrar hastanın aort damarından sistemik dolaşıma geri verilmektedir. Bu dolaşıma *ekstrakorporal dolaşım*, yapılan işleme de *Kardiyopulmoner Bypass* denilmektedir.

Ekstakorporal dolaşım sırasında kan vücut dışına çıkmakta ve vasküler endotelden farklı yapay materyal yüzeylerle temas halinde kalmaktadır. Temas sırasında ve sonrasında metabolizmada, kanda, dokularda ve immün sistemde değişiklik olmaktadır. Yabancı olarak algılanan yüzeylerden dolayı spesifik (immün) ve non spesifik (inflamatuvar) yanıtlar oluşmaktadır. Non endotel yüzeylerden dolayı kandaki ve metabolizmadaki değişim neticesinde plazmada bulunan birçok parametre de değişmektedir. Bu parametreler arasında homosistein, vitamin B12 ve folik asit de bulunmaktadır.

Metiyonin metabolizması sırasında oluşan ve sülfür içeren bir aminoasit olan homosistein;

Transsülfürasyon veya remetilasyon yollarından birini kullanarak metabolize olur. Remetilasyon yolunda; homosisteinden, metiyoninin yeniden sentezi iki farklı yolla gerçekleşir. (2,3,4) Kısa ve uzun yol şeklinde metabolize olan homosistein uzun yolda 5-metiltetrahidrofolatın bir metil grubu, kobalamin (vitamin B12) bağımlı enzim olan metiyonin sentetaz (MS) aracılığı ile homosisteine aktarılarak metiyonin oluşturulurken diğer taraftan da tetrahidrofolat meydana gelir. Oluşan tetrahidrofolat tekrar 5-10 metilentetrahidrofolata dönüşür.

Homosistein düzeyi; metobolizmadaki bozukluklar (enzim defektleri gibi), kronik hastalıklar, vitamin ve beslenme eksiklikleri, kişisel özellikler (yaş, cinsiyet vb.) ve bazı ilaçlardan etkilenmektedir.

Homosisteinin 5-15 mmol/L düzeyi normal olarak kabul edilmekte ve 16 mmol/L üzerindeki değerler hiperhomosisteinemi olarak kabul edilmektedir (6). Artmış plazma

homosistein düzeyi hiperhomosisteinemiye ve dolayısıyla homosisteinüriye neden olmaktadır. Artan plazma homosistein düzeyi, arteriyal ve venöz trombozis, stroke, miyokardiyal infarktüs ve kronik renal yetersizlik gibi birçok hastalık için önemli risk faktörüdür.

Ayrıca hiperhomosisteinemi inme (stroke-felç) oluşumunda önemli bir risk faktörü olarak görülmektedir (1,2,7,13). Kardiyopulmoner bypass'ın yan etkileri arasında inme olduğundan homosistein seviyesi önem arz etmektedir.

Vitamin B12 ve folik asit homosistein metabolizması için koenzim görevi görmekte olup homosistein düzeylerini etkilemektedir. Normal kişilerde serum vitamin B12 ve folat konsantrasyonları ile plazma homosistein konsantrasyonu arasında negatif bir ilişki olup;

Vitamin B12 ve folik asit eksikliğinde hiperhomosisteinemi oluşmakta; artan homosistein düzeyi ise folik asit alınımı ile normal seviyelere çekilebilmektedir (5,10,12).

Homosisteinin kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olduğu ve her 5 mmol/L'lik artışın kardiyovasküler hastalık riskini erkeklerde 1.35, kadınlarda ise 1.42 kat arttırdığı bildirilmiştir (5,8,10,11).

Artmış homosistein konsantrasyonunun normal seviyelere çekilmesine yönelik uygulamalar, altta yatan nedenlere göre değişmesine rağmen, bu yönde en etkili madde folik asittir (5,9).

Folik asidin vitamin B12 ile birlikte veya tek başına kullanımı plazma homosistein seviyesini düşürebilmektedir. Folik asit, vitamin B12 ile birlikte kullanılırsa, plazma homosistein seviyesini %32, tek başına kullanılırsa %25 oranında düşürmektedir.

Bu nedenle birçok hastalık için risk faktörü olan ve kardiyovasküler hastalıklarda plazma homosisteinindeki artışın nedeninin araştırılması ve normal düzeylere çekilmesi sağlık açısından önem taşımaktadır.

Bu projede kardiyovasküler cerrahiye olanaklı kılan kardiyopulmoner bypass yönteminde homosistein seviyesi incelenecek olup, folik asit ve vitamin B12 ile ilişkisi irdelenecektir. Kardiyopulmoner bypass sırasında kullanılan cihaz ve tüp setler prime sıvısı ile doldurulmakta ve bu durum kandaki parametrelerde ani düşüşler yaratmaktadır. Yapılacak olan bu çalışmada homosistein, vitamin B12 ve folik asit parametrelerinin düşüşü ve

sonrasındaki değişiminin nasıl olacağı konusunda araştırma yapılarak birbirleri ile olan bağlantıları araştırılacaktır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1 Kardiyopulmoner Bypass (CPB)

2.1.1 Kardiyopulmoner Bypass Tarihçesi

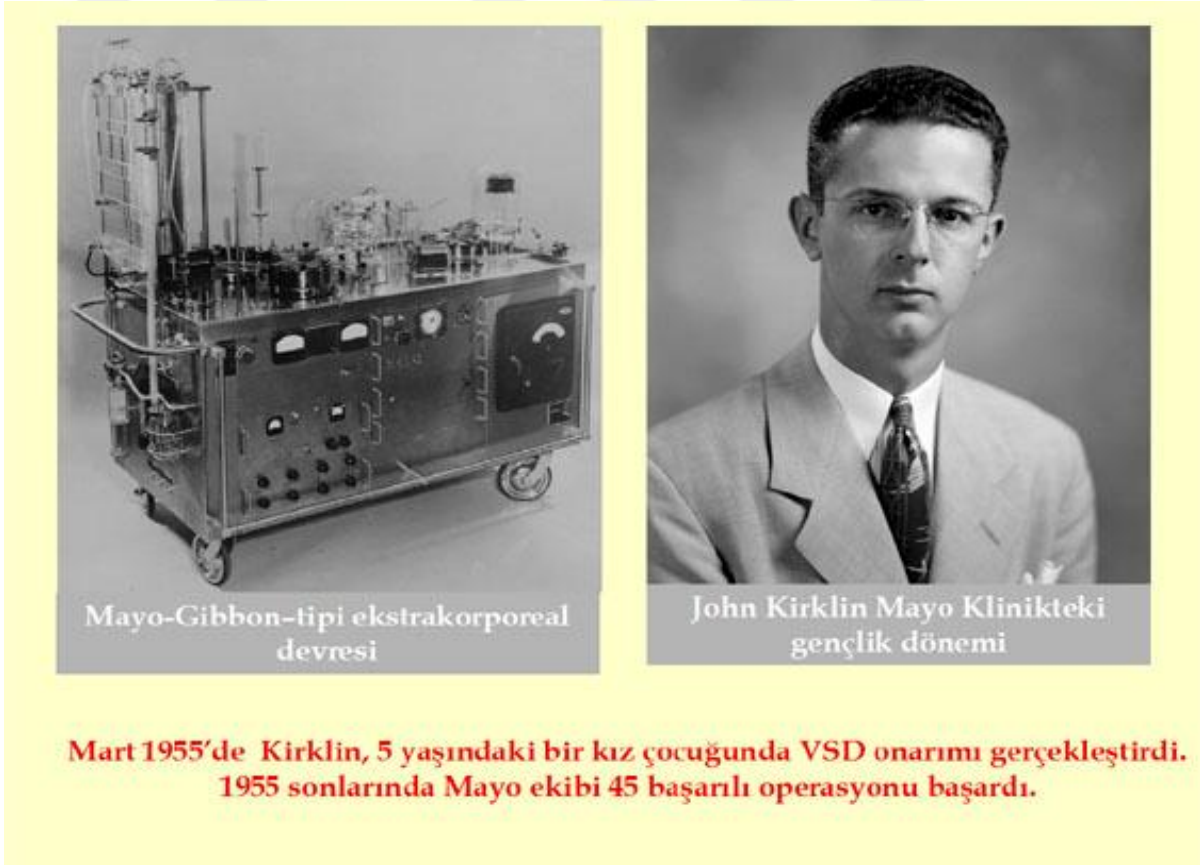
Kalp tüm organlar içinde en son müdahale edilen organ olmuştur. Kalbi ruhun makinesi olarak belirten, yaşayan ve ölen en son organ olarak ifade eden Ambrose Pare'nin bu sözlerinden tam üç asır sonra bile kalbe müdahale etmek olanaksız olarak düşünülmüştür. Kalp cerrahisinin başlaması 20. Yüzyılın başlarına kadar gecikmiştir. Kalbin dokunulmaması gereken bir organ olduğu düşünüldüğünden, kalp hastalıklarının cerrahi tedavisi çok uzun süre hiç uygulanmamış ve kalp yaralanmalarına bile müdahale edilmemiştir (14).

Kalp cerrahisinde kalp akciğer makinesinin bulunması ve geliştirilmesi ile kardiyopulmoner bypass kullanılmaya başlanmış ve açık kalp cerrahisinin uygulanmasına olanak sağlanmıştır.

Kardiyopulmoner bypass ile ilgili ilk gelişme 1916 yılında tıp fakültesi öğrencisi Jay Mclean tarafından heparinin bulunmasıyla başlamıştır. Heparinin bulunması özellikle ekstrakorporal dolaşım konusunda önemli adımlar atılmasına sebep olmuştur. İlk kez heparin ile antikoagülasyonun sağlanması 1935 yılında Alexis Carrel ve Charles Lindberg'in bir kedinin tiroid bezini 18 gün boyunca perfüze edebildikleri bir cihaz geliştirmeleri ile sağlanmıştır (15).

John Gibbon, genç bir doktorken 1930 yılında masif pulmoner emboli nedeniyle ölen bir hastasından esinlenerek ekstrakorporal dolaşım konusuna ilgi duymuştur. Uzun yıllar bu konu ile ilgili çalışmalarına devam etmiş, II. Dünya Savaşı'nın araya girmesi ile çalışmalarına ara vermek zorunda kalsa da 6 Mayıs 1953'de IBM ile beraber tasarladıkları kalp akciğer makinesi yardımıyla genç bir bayan hastada atrial septal defekt onarımını KPBY yardımı ile başarılı bir şekilde gerçekleştirebilmiştir. Aynı tarihlerde C. Walton Lillehei ve ark. "kontrollü kros-sirkülasyon" adıyla yeni bir teknik geliştirmişlerdir. Bu teknik, aynı kan grubuna sahip bir aile bireyi ile hastanın arteriyel ve venöz sistemlerini birbirlerine bağlamakta, hastaya operasyon sırasında gerekli dolaşım desteğini sağlayarak ameliyat gerçekleştirmektedir. Lillehei ilk defa 26 Mart 1954'de ventriküler septal defekti (VSD) olan

bir çocukta başarılı bir şekilde bu ameliyatı gerçekleştirmiş ve 1954 - 1955 yılları arasında bu teknikle aralarında dünyada ilk defa VSD kapatılması ve fallot tetralojisine yönelik total korreksiyon operasyonları da olmak üzere 45 hastalık bir seri operasyonu gerçekleştirmiştir. Bu ameliyatlardaki yüksek komplikasyon oranları nedeni ile Lillehei bu teknikten bir süre sonra vazgeçmiştir. Aynı tarihlerde Mayo Clinic'te John W Kirklin ve ark. Gibbon-IBM benzeri bir kalp akciğer makinesini modifiye ederek açık kalp operasyonlarına başlamışlardır. Kirklin ve ark. dünyada ilk defa kalp akciğer makinesi kullanarak VSD ve Fallot tetralojisi total korreksiyon ameliyatlarını başarı ile gerçekleştirmiş ve açık kalp ameliyatlarının klinikte yaygın olarak kullanımının önünü açmışlardır (15).



Şekil 1. Mayo-Gibbon tipi ekstrakorporeal devresi ve John Kirklin'in Mayo Klinik'teki gençlik dönemi

Kardiyopulmoner bypass sistemlerinde en önemli faktörlerden olan oksijenatörlerin gelişimi ise 1885 yılında geliştirilen disk oksijenatörlere kadar gitmektedir. Von Frey ve Gruber tarafından kanın bir disk etrafında döndürülerek atmosfer basıncı altında difüzyonunun sağlanması prensibine göre çalışan düzenek, oksijenatörlerin gelişimini başlatmıştır. İlk tasarlanan oksijenatörlerde dönme sırasında kan elemanları zarar görmekte ve kısa zaman içinde oksijenatör içinde pıhtı oluşmaktaydı. Daha sonra 1920 ve 1930'lu yıllarda Brukhonenko ve John Gibbon daha uyumlu oksijenatörleri tasarlamak için çalışmışlardır. Brukhonenko köpeklerin akciğer dokusunu kullanırken; Gibbon fiçi şeklinde, direkt olarak kan ile gazların temas halinde olduğu bir oksijenatör kullanmıştır. Gibbon tasarladığı bu oksijenatör ile bir kediyi 25 dakika süre ile perfüze etmiştir. İlk defa 1953 yılında Gibbon'un çalışmaları kardiyopulmoner bypass operasyonuna olanak veren bir cihazın tamamlanmasıyla başarıya ulaşmıştır. Bu cihazda oksijenatör, yerleşik film tipiydi ve kan paslanmaz çelik levhalardan akarken oksijen kana difüze oluyordu. İlerleyen yıllarda kan ve havanın teması prensibi ile çalışan oksijenatörlerin zararları anlaşılmaya başlanmış ve daha az travmatik olan membran oksijenatörler geliştirilmiştir. İlk membran yapay akciğer Willem Kolff tarafından 1955 yılında geliştirilmiştir. Bu sistemlerin yeniden kullanılması için temizliğinin çok uzun sürmesi 1956 yılında ilk defa tek kullanımlık membran oksijenatörlerin geliştirilmesine neden olmuştur. İlk erken yapay akciğerlerde kısmen geçirgen olmayan homojen polyethylene veya teflon membranlar kullanılmıştır. 1960'lı yıllarda silikon lastik ve 1970'li yıllarda hollow fiber membranlar piyasaya sürülmüştür. Daha sonraki yıllarda düşük kütle dirençli mikroporlu hollow fiber membranların geliştirilmesi oksijenatör tasarımlarının kökten değişmesine neden olmuştur. Günümüzde kullandığımız oksijenatörlerde de tipik olarak ekstraluminal akım yöntemi kullanılmaktadır. Kan, gazla dolu hollow fiber bölgenin dışından akmakta ve bu sayede difüzyon sağlanmaktadır. Kısa süreli operasyonlarda tercih edilen bu sisteme karşılık uzun süreli yaşam desteği gereken durumlarda ise homojen membranların kullanıldığı oksijenatörler tercih edilmektedir (16,17).

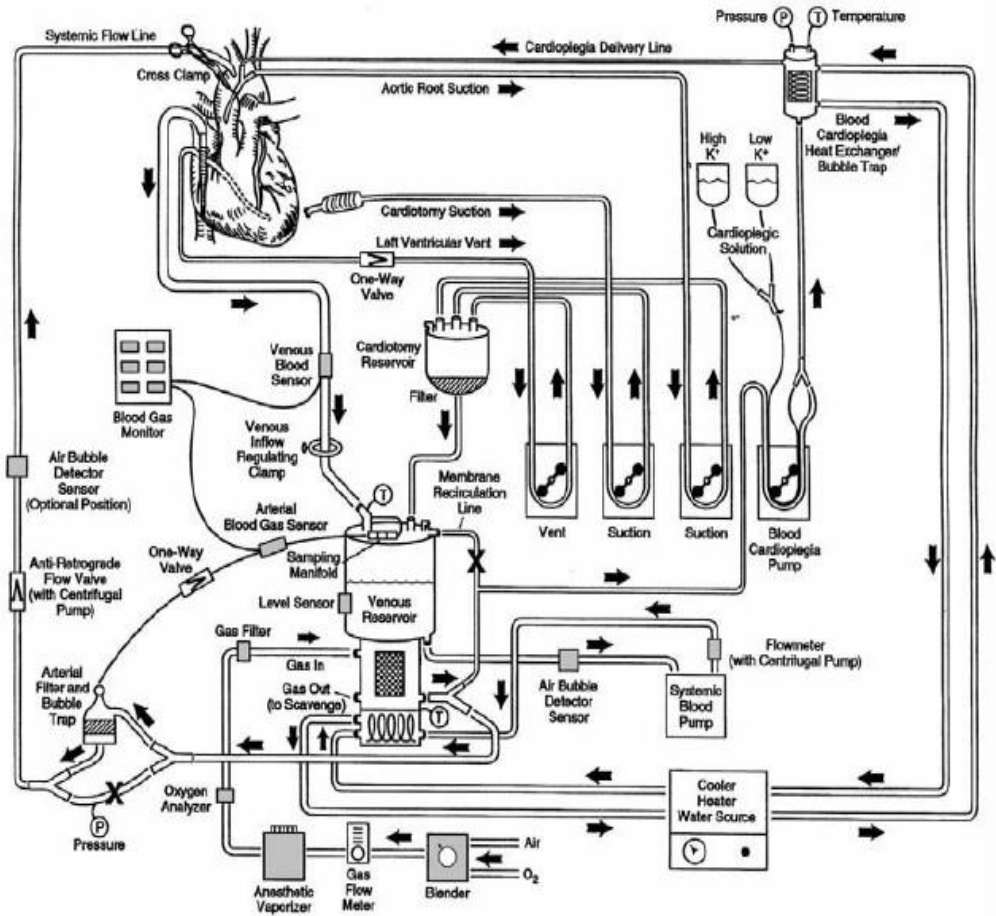
2.1.2 Kardiyopulmoner Bypass Sisteminin Komponentleri

Kardiyopulmoner Bypass, Kalp Akciğer Makinesi olarak isimlendirilen bir cihaz tarafından gerçekleştirilir. Cihazın ana prensibi; hastadan alınan kanın bir rezervuara toplanması, oksijenize edilip bir filtreden geçirilerek tekrar hastaya geri döndürülmesidir.

Kalp Akciğer Makinesinin temel komponentleri şunlardır;

- Kalpten veya büyük venlerden kanı toplayan venöz kanüller,
- Oksijenlenmiş ve filtre edilmiş kanı hastanın arteriyel sistemine ulaştıran arteriyel kanüller,
- Venöz kanüllerden ve diğer emici sistemlerden gelen kanın toplandığı bir venöz rezervuar,
- Kalbin pompa görevini üstlenen bir pompa,
- Kanın oksijenlenmesini sağlayan bir oksijenatör,
- Kanın soğutulup ısıtılmasını sağlayan bir ısı değişirici makine (heat exchanger),
- Cerrahi sahadaki kanın aspire edilmesini ve yeniden sisteme kazandırılmasını sağlayan emici bir sistem (suction) ,
- Kalp odalarındaki kanın boşalmasını ve kalbin dekomprese edilmesine imkan veren bir diğer emici sistem (vent) ,
- Sisteme karışma ihtimali olan partiküllerin temizlendiği bir filtre sistemi,
- Sistem işleyişinin ve kanül basınçlarının takip edildiği bir monitör sisteminden oluşur.

Kalp akciğer makinesinin bu ana yapıları dışında birçok yardımcı sistemleri de bulunur. Sistemden kan örnekleri alınabilmesi ve bazı ilaçların verilebilmesini sağlayan çeşitli hatlar vardır. Kalbin durdurulması için gerekli olan kardiyopleji solüsyonu kalp akciğer makinesi ile verilmektedir. Ayrıca cerrahi sahadan çekilen dilüe kandaki kan elemanlarının yıkayıp konsantre edilmesi ve bir filtreden geçirilerek hastaya geri verilmesini sağlayan bazı sistemler (cell saver sistemi) de kalp akciğer makinesinin komponentleri arasında sayılabilir.



Şekil 2. Kalp akciğer makinesinin kalbe bağlanma şekli.

2.1.2.1 Kanüller

2.1.2.1.1 Venöz Kanüller

Venöz kanüller genellikle sağ atriuma direkt olarak koyulan veya femoral, iliak, juguler ven yoluyla sağ atriuma ulaştırılan kanüllerdir. Sağ atriuma olan venöz dönüşü perfüzyon devresine naklelerler. Venöz kanüllerdeki kan akımı sadece yer çekimi etkisiyle gerçekleşmekte, ilave emici güç kullanılmamaktadır. Bu sebeple hastadan venöz kanüllerle alınan kan, hastadan daha alçakta bulunan rezervuara sifonaj yoluyla drene edilmektedir. Yerçekimi etkisiyle çalışan bu kanüllerin çapı arttıkça direnç azalır ve sağladıkları kan akımı artar.

2.1.2.1.2 Arteriyel Kanüller

Arteriyel kanüller genellikle asendan aortaya yerleştirilmekle birlikte alternatif kanülasyon yerleri femoral, iliak ve aksiller arterler veya desendan torasik ya da abdominal aortadır. Arteriyel kanüllerin büyüklüğü hastanın vücut yüzeyine göre hesaplanır. İnternal çapı 6-24 F arasındadır ve internal çapa göre basınç farkı değişir. Dar kanüller kullanıldığında akım, yüksek basınç farkları, türbülans ve kavitasyon yaratır.

2.1.2.1.3 Kardiyopleji Kanülleri

Kalbi diastolde durdurmak için kullanılan kardiyopleji sıvısının verilmesi için kullanılan kanüllerdir. Kalbe iki yolla verilebilir; Retrograd kardiyopleji kanülü sağ atrium yoluyla koroner sinüse yerleştirilir. Kanülün ucunda kanın geri gelmesini engellemek için şişirilen bir balon mevcuttur. Antegrad kardiyopleji kanülü ise aort içerisine yerleştirilen kısa iğne uçlu kanüllerdir. Buradan kardiyopleji aort köküne verilir.

2.1.2.2. Venöz Rezervuar

Venöz hattan ve emici sistemden gelen kan rezervuara iletilir. Böylece heparinlenmiş kan tekrar kazanılır ve kan kaybı önlenmiş olur. Venöz hattan kan yer çekimi etkisiyle rezervuara doğru akar. Venöz rezervuarların kapasitesi yaklaşık 3000-5000 cc olup sert ‘‘hard shell’’ ya da yumuşak polivinil-polikarbonat ‘‘soft shell’’ yapıdadır. Sert olanlar ile volüm ölçümü, prime eklenmesi ve venöz havanın çıkarılması daha kolaydır. Yumuşak yapıdakiler ise silikon köpük önleyici içermediğinden masif hava emboli riskini ve kanın şekilli elemanlarının aktivasyonunu azalttığı için daha avantajlıdır. Genellikle hava embolisini önlemek için rezervuarda volüm belli bir seviyenin altına indiğinde veya arteriyel hat içinde hava saptandığında alarm veren sistemler vardır. Ama en önemli görev her koşulda perfüzyoniste düşmektedir.

2.1.2.3 Pompa

Venöz sistemden gelen ve venöz rezervuarda toplanan kanı belli bir basınçta ve akım hızında oksijenatöre, oradan da arteriyel sisteme ulaştırarak kalbin görevini geçici olarak üstlenen yapılardır. Ayrıca ameliyat sahasındaki kanın tekrar aspire edilerek dolaşıma katılmasına, sol ventrikülün dekomprese edilmesine ve kardiyoplejinin gönderilerek koroner arterlerin perfüze edilmesine olanak sağlar.

Günümüzde üç çeşit pompa kullanılmaktadır:

1. Döner (roller) pompa
2. İmpeller pompa
3. Sentrifugal pompa

2.1.2.4 Oksijenatör

Kardiyopulmoner Bypass sırasında kanın oksijenlenmesini sağlayan ünitelerdir. İlk yapılan oksijenatörlerde kanın oksijenasyonu kanın ince bir tabaka halinde geniş bir yüzeye yayılması ve üstüne oksijen üflenmesiyle gerçekleşmekteydi. Bunların disk, silindir ve tel kafes şeklinde tipleri vardı.

Günümüzde kullanılan oksijenatörler ise iki tiptir:

➤ Hava kabarcıklı (buble) oksijenatör: Bu oksijenatörlerde meydana getirilen küçük hava kabarcıkları, kan içindeki küçük hollerden geçer. Oksijen venöz kanın içine direkt verilir ve kanda binlerce küçük oksijen kabarcığı meydana gelir. Gaz değişikliği, oluşan bu her bir kabarcığın etrafındaki ince film tabakası ile elde edilir. Kabarcığın içine karbondioksit, kana ise oksijen difüze olur. Daha sonra bu kabarcıklar köpüklenmeyi önleyici bir ajan tarafından temizlenir.

➤ Membran oksijenatör: Günümüzde en çok kullanılan tiptir. Bu tip oksijenatörlerde direkt bir kan-gaz teması meydana gelmez, ince bir membran boyunca oksijen ve karbondioksit değişimi yapılır. Bu değişimin esas belirleyicileri oksijen ve karbondioksinin kandaki eriyirliği ve difüze olabilirliği ile membrandaki parsiyel basınç farklarıdır. Gaz değişimi bu 2-5 m²'lik yapay tabakada olur. İnsan alveollerine en çok benzeyen tiptir.

2.1.2.5 Isı Değiştiriciler

KPB sırasında özellikle santral sinir sistemi ve kalp olmak üzere organların metabolik gereksinimlerini azaltmak için sistemik hipotermi uygulanması ve operasyon sonunda ise hastanın yeniden ısıtılması gerekmektedir. Isıtıcı-soğutucu ünitesi ile kontrol edilen soğuk ve sıcak su ısı değiştiriciden geçirilerek vücut ısısı ayarı yapılmaktadır. Cihaz içerisinde 1 ila 42 derece arasında su gezinir. Soğuma ile her 10 °C de metabolizma %50 yavaşlar, iskemik hasar azalır (22).

Hipotermi derinliğine göre dört gruba ayrılır; hafif (35-32°C), orta dereceli (32-28°C), derin (28-18°C) ve çok derin (18-14°C) olmak üzere. Orta dereceli hipotermi rutin kardiyak cerrahide en sık kullanılan hipotermi şeklidir. Avantajları metabolik ihtiyaçların ısı ile azalması ve soğuk kardiyopleji ile kalp kası arasındaki ısı farkının az olmasından dolayı kardiyak iskeminin güvenli olmasıdır (23).

2.1.2.6 Emici Sistemler (suction)

Cerrahi alandaki görüşü engelleyen kanamaların toplanmasında ve sisteme dahil edilmesinde kullanılırlar. Emici gücün ve akımın sürekli ayarlanması, hava ve partiküllerin sistem dışında tutulması önemlidir. Trombosit hasarına ve kaybına sebebiyet veren en önemli faktördür. Aspire edilen kan miktarı ile hasara uğrayan trombosit miktarı orantılıdır.

2.1.2.7 Vent Sistemi

Kardiyopulmoner Bypass sırasında miyokardın gerilip iskemiye maruz kalmaması için sol kalbin drene edilmesi amacıyla yapılır. Aynı zamanda dolaşan kanla kalbin ısınması ve elektriksel aktivitenin başlaması da engellenmiş olur. Sol kalpten havanın uzaklaştırılması da yine bu sistemle yapılır. Vent sistemi asendan aort, sol atrium, pulmoner arter veya doğrudan ventriküle konulan bir kanül ile yapılır.

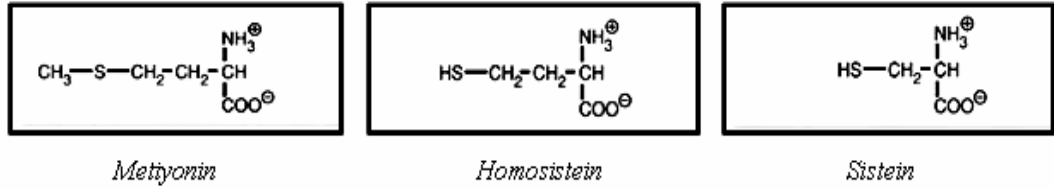
2.1.2.8 Filtreler

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 (24). Filtreler bunları sistemden süzen bölümlerdir. Kardiyopulmoner Bypass devrelerinde kullanılan filtreler, tarama ve derinlik filtreleri olarak ikiye ayrılır. Tarama filtreleri dokuma polyesterden ve naylondan yapılan tanımlanmış boyutta porlar içeren filtrelerdir, hem hava hem de partiküllü mikroembolileri yüksek akıma direnç yaratmadan ve kan elemanlarına zarar vermeden yakalamak için elverişlidir. Derinlik filtreleri ise paketlenmiş fiberden ya da porlu köpükten yapılmıştır ve genellikle venöz rezervuar içerisinde kullanılır (18).

2.2. Homosistein

2.2.1 Homosisteinin Genel Özellikleri

Homosistein, esansiyel bir aminoasit olan metiyoninden sistein sentezi sırasında meydana gelen bir ara üründür. Bir sülfhidril grubu taşımasından dolayı bu iki aminoaside benzerlik gösterir ve sisteine benzerliğinden dolayı homosistein olarak isimlendirilmiştir (19). İlk kez 1932 yılında Butz ve du Vigneaud tarafından tanımlanmıştır (20). Sülfür içeren bir aminoasit olan homosistein, tiyol bileşiklerinin metabolik yollarında merkezi rol oynamaktadır (21,22).

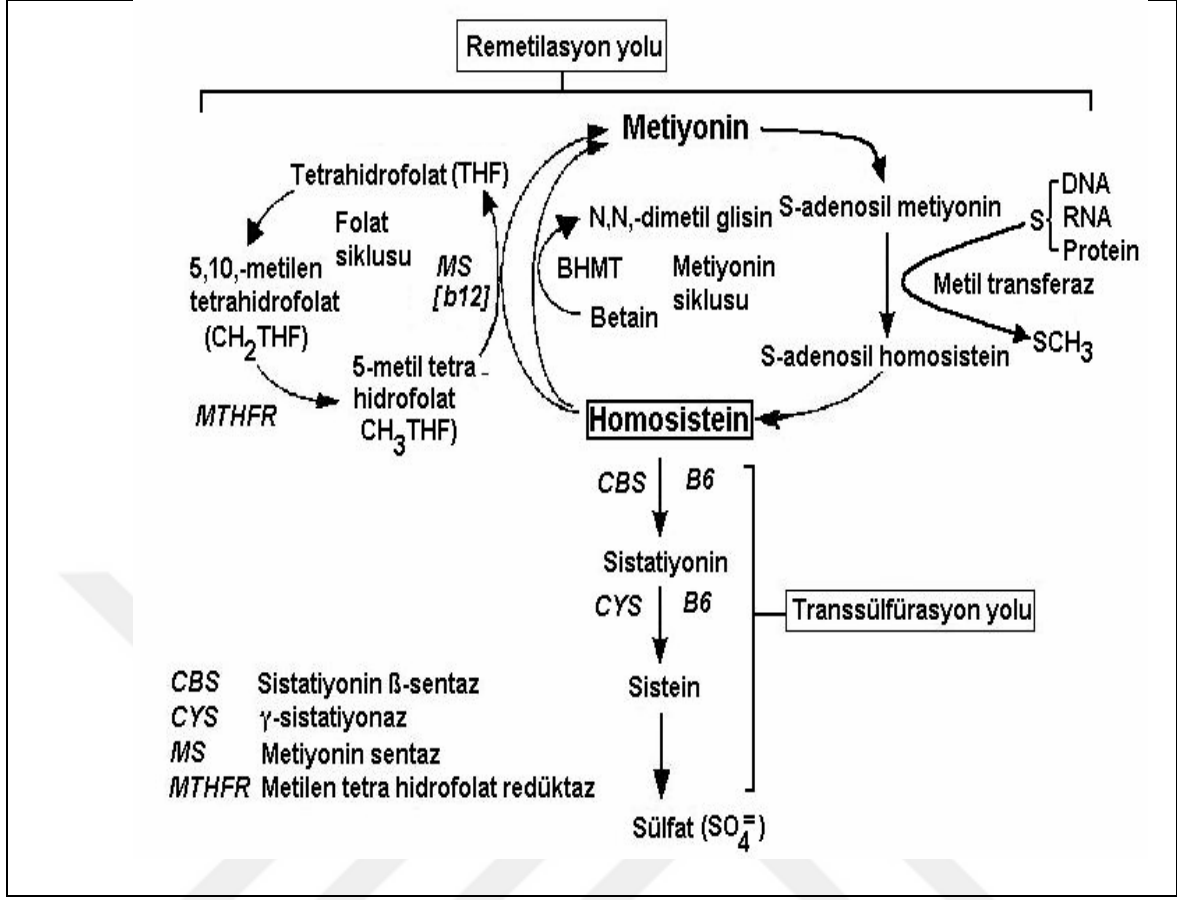


Şekil 3. Metiyonin Homosistein ve Sistein aminoasitlerinin kimyasal yapısı

2.2.2. Homosisteinin Metabolizması

Homosistein dolaşımında %80-90 oranında proteine bağlı, %5-10 oranında Homosistein-sistin ve disülfid-homosistein formunda, sadece % 1 oranında serbest homosistein halinde bulunmaktadır. Vücuttaki ihtiyaç durumuna göre iki yolla metabolize olur; transsülfüre olarak sisteine; remetile olarak da metiyonine dönüştürülür.

Homosistein metabolizmasında 3 enzim ve 3 vitamin rol oynar. Bu enzimler; metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), metiyonin sentaz (MS), sistatyonin beta sentaz (CBS) enzimleridir. Vitaminler ise Folik asit, B6 ve B12 vitaminleridir. Homosistein, B6 vitamini varlığında sistatyonin beta sentaz (CBS) enzimi ile transsülfürasyon reaksiyonu sonucunda sisteine, B12 ve folik asit varlığında remetilasyon reaksiyonu ile metiyonin sentaz (MS) enzimi yolu ile metiyonine dönüştürülür. Remetilasyon için gerekli metil kaynağı ise folik asittir. Yani metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi B6 vitamini varlığında metilen tetrahidrofolattan sağlanır.(30)



Şekil 4. Homosistein Metabolizması (103)

Metiyonin düzeyinin fazla veya az olmasına göre Homosistein remetilasyon ya da transsülfürasyon olarak iki yolla metabolize edilir. Vücuda protein alımının düştüğü durumlarda remetilasyonun iki yolundan biriyle homosistein metabolize edilir. Karaciğerde homosisteinin büyük kısmı, metil kaynağı olarak betaini kullanıp metiltransferaz aracılığı ile remetilize edilir (25) Diğer dokuların çoğunda ise N⁵-metiltetrahydrofolat metil kaynağı olarak kullanılıp, metiyonin sentaz aracılığı ile homosistein remetilize edilir (25). Bu metil kaynağının oluşumu da besinlerle alınan N⁵-N¹⁰ metilentetrahydrofolata bağlıdır. Ayrıca Vitamin B12, metiyonin sentaz (MS) in temel kofaktörüdür.

Metiyonin fazlası olduğu durumlarda veya sistein sentezi gerektiği durumlarda homosistein bu kez transsülfürasyon yoluna girer (25). Burada homosistein serin ile birleşerek vitamin B6'ya bağımlı sistatyonin beta-sentaz (CBS) enzimi aracılığı ile irreversibl olarak

sistatyonine dönüşür. Sistatyonin daha sonra sisteine hidrolize edilir. Bu da glutatyona dönüşerek veya ileri aşamada sülfata metabolize edilerek idrarla atılır.

Fizyolojik şartlar altında homosisteinin çok az bir kısmı %1'i idrarla atılmaktadır.(31,32) Homosisteinin önemli bir kısmı proksimal tübülde geri emildiği için böbrekler homosistein atılımından çok metabolizmasıyla ilgilidir (33,34).

Yaşa bağlı olarak homosistein plazma seviyesi hafif artma eğilimi gösterir. Östrojen, total homosistein konsantrasyonunu beslenme ve kas kitlesinden bağımsız olarak düşürdüğü için, erkeklerde homosistein kadınlara göre 1 mmol/L daha yüksek olabilir (5,35).

2.2.3 Hiperhomosisteinemi

Plazma homosistein düzeyi standardize edilememiş olmakla birlikte, genellikle 5-15 µmol / l düzeyi normal kabul edilmekte (36,37) ve 16 µmol/l üzerinde hiperhomosisteinemi olarak değerlendirilmektedir. Her iki cinsiyette yaş ile artış göstermekte, yaşın yanı sıra enzimlerdeki konjenital eksiklik veya metabolizma sırasında reaksiyonlarda görev alan folik asit, vitamin B12 ve B6'nın yetersizliğine bağlı olarak plazma homosistein düzeyleri de değişken Hcy konsantrasyonlarına katkıda bulunmaktadır (6,21,38,39,47). Hiperhomosisteinemiye sebep olan faktörler (36,40) ve hiperhomosisteineminin şiddeti (41,42,43,44) aşağıda tablo şeklinde gösterilmiştir.

Tablo 1: Homosistein düzeylerini etkileyen ve hiperhomosisteinemiye neden olan Faktörler

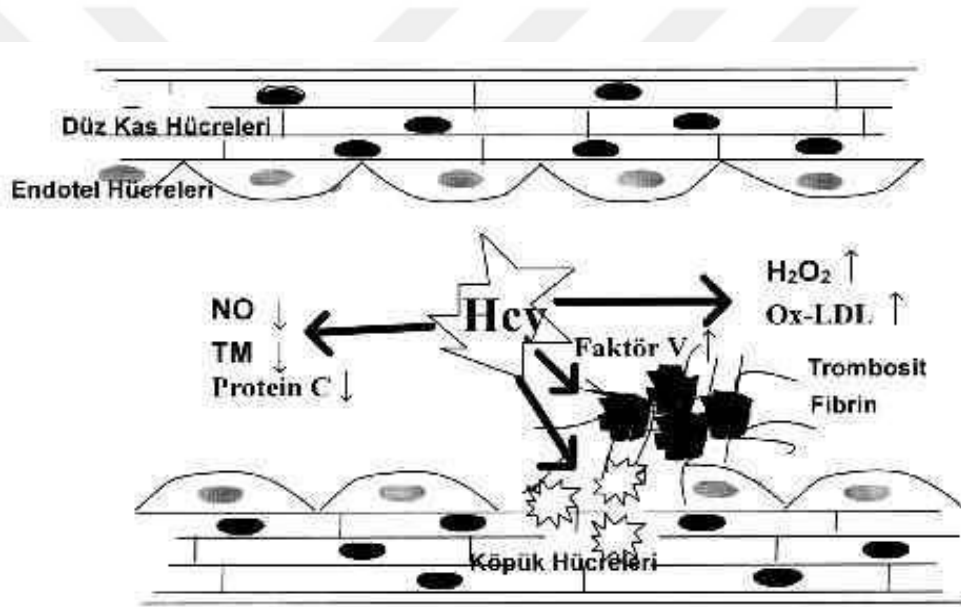
<u>Metabolizmadaki Genetik Bozukluklar</u>	<u>Kişisel Özellikler</u>
CBS eksikliği MTHFR eksikliği MS eksikliği	İleri yaş Erkek cinsiyet Sigara kullanımı Fiziksel inaktivite Menapoz
<u>Kronik Hastalıklar</u>	<u>İlaçlar</u>
Kronik Böbrek yetmezliği Akut lenfoblastik lösemi Diyabet	Metotreksat (dihidrofolat redüktaz inhibitörü) Fenitonin ve karbamezapin (folat antagonistleri) Nitröz oksit (vitamin B12 antagonisti) 6-azouridin triasetat (vitamin B12 antagonisti)
<u>Vitamin Yetersizliği ve Beslenme Bozuklukları</u>	
Vitamin B12 Folat Vitamin B6	

Tablo 2: Hiperhomosisteineminin şiddetine göre sınıflandırılması ve etiyojisi

	Plazma homosistein ($\mu\text{mol/L}$)	Etiyojisi
Şiddetli form	>100	Sistasyonin sentaz eksikliği Metilentetrahidrofolat redüktaz (MR) eksikliği Minör genetik defektli veya defeksiz Beslenme yetersizliği
Orta form	31-100	B12 vitamini metabolizmasındaki defekten kaynaklanan Metiyonin sentetaz eksikliği MR'ın heterozigot olması Genetik defektlerin interalellik kombinasyonu Genetik defektli veya defeksiz beslenme yetersizliği
Hafif form	16-30	Genetik defektlerin interalellik kombinasyonu Genetik defektli veya defeksiz beslenme yetersizliği

Homosisteinin plazma seviyesinin önemli derecede yüksekliği, başlıca inme oluşumu, arteriyel ve venöz trombozis, miyokardiyal infarkt ve kronik renal yetersizliği için önemli bir risk oluşturmaktadır (42,45,46).

Hiperhomosisteinemi vücutta birçok zararlı etkilere de yol açmaktadır. Bunlardan bazıları arasında serbest radikaller gibi davranıp endotel hasarı oluşturması ve bu olayın sonucunda da trombosit aktivasyonu, pıhtılaşma faktörlerinin modifikasyonu, trombüs oluşumu gibi koagulasyonu artırıcı etkiler meydana getirmesi, biyolojik membranlarda oksidasyon yapması, LDL oksidasyonu yaparak ateroskleroza artırıcı etkiler ortaya çıkarması sayılabilmektedir (47).



Şekil 5. Homosisteinin vasküler hasar oluşturma mekanizmaları (50).

2.2.4. Endotel Fonksiyon Bozukluğu

Endotel, antitrombotik özelliklere sahip, damar duvarına tutunmayı önleyen, vasküler hemostazı düzenleyen önemli bir organdır. Sigara, hiperlipidemi, hipertansiyon, hiperglisemi, gibi risk faktörlerinin endotel fonksiyonlarını bozarak ateroskleroz oluşumuna sebep olduğu belirtilmiştir (70). Çalışmalarda, homosisteine bağlı aterosklerozda endotel hasarı olan bölgelerde trombosit birikimi ve trombositten zengin trombüs oluşumu gözlenmiştir.

Homosisteinin arterlerin yüzeyindeki endotel hücrelerinde hasara sebep olduğu ve endotel hücre fonksiyonlarını bozduğu düşünülmektedir. Normal bir endotel hücrenin fonksiyonları şunlardır: vasküler tonus ve permeability, koagülasyon ve fibrinoliz arasındaki dengeyi, subendotelial matriksin içeriğini, lökositlerin ekstrasvazasyonunu (damar dışına sızmasını) ve vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu (artışını) düzenlemektir (51).

2.2.5. Pıhtılaşma Faktörlerindeki Değişiklikler

Hiperhomosisteinemi (HH) pıhtılaşma yolunun çeşitli basamaklarını etkileyerek ve doğal antikoagulanların etkisini engelleyerek pıhtılaşma eğilimi yapar. Homosistein, faktör V, X ve XII'nin aktivitelerini hızlandırıp, protein C'nin aktivasyonunu baskılayarak, endotelin normal antitrombotik özelliğini değiştirir. Aynı zamanda, endotelde trombomodulin ve heparin sülfat salınımını baskılayarak, doku plazminojen aktivatörleri salınımını uyarır ve antitrombin III aktivitesinin azalmasına yol açar. Böylece protrombotik bir ortam yaratarak trombin oluşumunu hızlandırır. Tüm bu olaylar tromboembolik olaylara uygun bir zemin oluşturur (71).

2.2.6 Reaktif Oksijen Türleri ve Lipid Peroksidasyonu

Homosisteinin sülfhidril grubunun oksidasyonu ile hidrojen peroksit gibi serbest radikaller açığa çıkar ve buna bağlı gelişen oksidatif stresin, direkt olarak endotel hücrelerinde hasar oluşturduğu böylece LDL oksidasyonuna neden olduğu rapor edilmiştir (72, 73).

2.2.7. Trombosit Adezyon Anormallikleri

Hiperhomosisteinemi, trombosit aktivasyonunu ve adezyonunu (birleşme) arttırarak da trombüs oluşumuna yol açabilir (52). Harker ve arkadaşları, subendotelial matriksin, homosistein bağımlı endotel hasarına maruz kaldığını ve bu durumun ilerlemesiyle trombosit aktivasyonuna yol açtığını belirtmişlerdir (53).

2.2.8. Adenozin Üretiminde Azalma

1. Vasküler tonus (damar kasılması) üzerine doğrudan ve dolaylı etki yaparlar. Doğrudan etki ile vazodilatasyon (damar genişlemesi) yapar. Dolaylı etki olarak da renin salınımını inhibe ederek anjiotensin II ve norepinefrin gibi güçlü vazokonstriktörlerin (damar büzücü) sentezini bloke ederek etki eder (49).

2. Adenozin negatif inotrop (kasılma gücünü artıran), kronotrop (hız değiştiren) ve dronotrop etki göstererek kalbi korur (49).

3. Adenozin trombosit agregasyonunu güçlü bir biçimde önler (49).

4. Adenozin önemli bir antienflamatuar ajan olarak rol oynar (54). Nötrofillerin aktivasyonunu engeller ve nötrofiller aracılığı ile oluşan endotel hasarına karşı damarları korur. Ayrıca makrofaj ve monositlerde TNF-a üretimini önler (55). Ayrıca nötrofillerde oluşan lökotrien sentezini ve araşidonik asid salınımını baskılar (56).

5. Adenozin, vasküler hücre çoğalması ve lümenin düzenlenmesinde önemli rol oynar (57).

2.3. Vitamin B12

2.3.1. Vitamin B12 Genel Özellikleri

Kobalamin olarak da bilinen Vitamin B12, ilk kez 1948 yılında Dr. E. Lester Smith tarafından karaciğerden izole edilmiştir (58). En son bulunan vitamin olan Vitamin B12 suda eriyen, molekül ağırlığı 1,3 Kd olan, merkezinde kobalt atomunun bulunduğu, karmaşık korrin halkasından oluşan kırmızı renkli ve çeşitli türevleri olan bir vitamindir (59).

Vitamin B12 DNA sentezi, metiyonin sentezi, metil malonik asitten suksinil Co-A dönüşümü gibi birçok biyokimyasal reaksiyonda rol alır. Erişkinlerde günlük ihtiyaç 2.4 µg iken, hamilelerde 2.6-2.8 µg'dır. Karaciğerde depolanması ve enterohepatik siklus nedeniyle eksikliğine ait klinik bulgular genellikle 5-10 yıllık bir süre sonunda anlaşılabilir.

Vitamin B12 mikroorganizmalar tarafından sentezlenir ve esas kaynağı bakteriyel sentezdir. Vitamin B12 özellikle hayvansal kaynaklı proteinlerden sağlanır, sebzelerde ise çok az bulunur. Böbrek, karaciğer ve kalp vitamin B12 yönünden çok zengindir; diğer kaslar, deniz ürünleri, yumurta, peynir ve süt ise daha az vitamin B12 içerir (62).

Vitamin B12'nin en önemli fonksiyonu, hücrelerin bölünmesi ve çoğalması için gerekli olan DNA yapımını sağlamaktır. B12 vitamin eksikliğine en duyarlı olan sistemler, çoğalma hızının en yüksek olduğu hematopoetik ve gastrointestinal sistemlerdir. B12 vitamini hematopoetik hücrelerin ve bağırsak epitel hücrelerinin normal şekilde çoğalması, gelişmesi ve bölünmesi için önemli bir faktördür (69).

Vitamin B12 tetrahidrofolat (THF) üretimi için de önemlidir. THF ve türevleri ise DNA sentezi için gereklidir. Son önemli etkisi ise santral sinir sistemi ve periferik sinir sistemindeki bazı nöronların normal yapı ve fonksiyonlarını sürdürmelerini sağlamasıdır (69).

2.3.2. Vitamin B12 Molekül Yapısı

B12 vitamini 3 bölümden oluşur.

1) Korrin Halka Yapısı= Bir adet kobalt (Co) atomu ve onu çevreleyen indirgenmiş 4 adet pirol halkasının bulunduğu çekirdek kısmını oluşturur. Korrin adı verilen bu yapı, hemoglobinin porfirin halka yapısına benzerlik gösterir. Beşgen halka yapısına sahip olan buradaki pirol halkasından ikisi, hemoglobinden farklı olarak metan köprüsü olmadan direkt olarak birbirine bağlanmıştır. Pirol halkalarının tepe noktasında bulunan 4 azot atomu, 90 derecelik bağlarla ortadaki kobalta bağlanmıştır. Pirol halkaları aynı düzlem üzerindedir. Korrin halkasının merkezindeki kobalt, +1 değerlikli ise koenzim yeşil renkli, kobalt +2 değerlikli ise koenzim turuncu renkli ve kobalt +3 değerli ise koenzim kırmızı renklidir. Korrin kısmı 5 aminolevulinik asitten, hemoglobindeki porfirin sentezine benzer şekilde sentezlenmektedir. Simetrik ve karmaşık yapısı ile hemoglobini çağrıştırır. Hemoglobinde merkezde yer alan demir yerine, Vitamin B12'de kobalt bulunur (63).

2. İkinci kısım düzlemin altında kalır ve hem kobalt atomuna hem de fosfatlı bir zincir yardımı ile pirol halkalarından birine bağlı bulunan, nükleotid grubudur. Bu grup tipik bir nükleotid değildir ve a-N-glikozidik bağı ile riboza bağlanmış bazik bir madde olarak 5,6 dimetilbenzimidazol içerir (63).

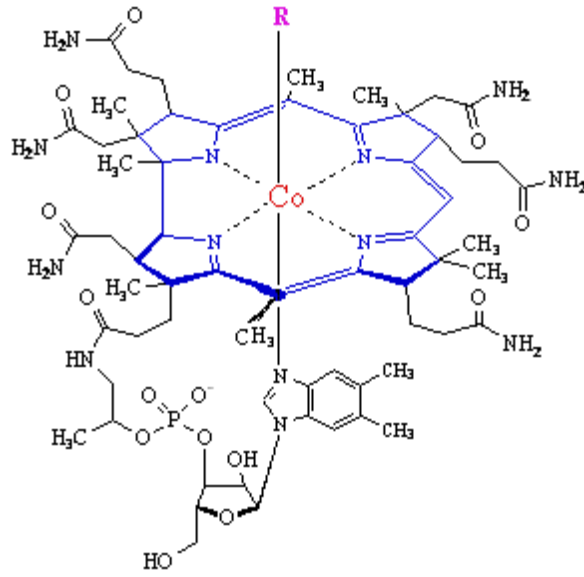
3. Düzlemin üstünde ise koordinasyon tipi bağlarla bağlanmış olan, ufak ek (R) grubu bulunmaktadır. Ancak vitamin etkisi için, bu son grup şart olmamakla beraber, B12

vitamininin isimlendirilmesi bu gruba göre yapılmaktadır. Bu gruptan yoksun olan kısma, kobalaminler adı verilir. Bu sözcük giderek artan bir şekilde B12 vitamini ile eşanlı kullanılmaktadır (63).

Kobalta bağı (R) grubuna göre B12 vitamini dört gruba ayrılır (60, 63).

- a) Siyanokobalamin (CNCbI)= İlk bulunan B12 vitamin türevidir. Vücut sıvılarında ve hücrelerde çok az bulunur. R grubu olarak siyanür (CN) grubu bulunur, yapısındaki siyanid ayrılmadan insan vücudu için aktif bir vitamin değildir. Stabil bir bileşik olduğundan ilaç olarak kullanılır ve B12 vitamininin ticari preparatıdır.
- b) Hidroksikobalamin (OHCbI)= R grubu olarak hidroksil grubu (OH) bulunur. Vücutta en fazla bulunan B12 vitamin türevidir. Fakat ilaç olarak kullanıldığında, transkobalamin-hidroksikobalamin (TC-OHCbI) kompleksine karşı antikor geliştiği gösterilmiştir. Aktif koenzim türlerinin prekürsörüdür (61).
- c) Adenozilkobalamin (AdoCbI)= R grubu olarak 5'deoksiadenozil grubu bulunur. Hücrelerde aktif koenzim fonksiyonu görür. Işığa temasla bozulmakta fakat in vitro olarak daha stabil kobalamin şekillerine dönüşebilmektedir.
- d) Metilkobalamin (MeCbI)= R grubu olarak metil grubu (CH₃) bulunur. İnsan plazmasındaki B12 vitamininin %70 'i MeCbI şeklindedir. AdoCbI gibi vücutta aktif koenzim fonksiyonu görür.

Siyanokobalamin en stabil form olduğundan, ilaç olarak en sık kullanılan kobalamin formudur. Hidroksikobalamin ise gıdalarda bulunur. Siyanokobalamin ve Hidroksikobalamin, dokulardaki hücre sitoplazmasında; Metilkobalamin'e ve mitokondrilerde; Adenozilkobalamin'e kolaylıkla dönüştürülür. Sitoplazmik redüktaz enzimi CbI-Co⁺³ ün CbI-Co⁺²'ye ve mitokondriyal kobalamin redüktaz enzimi CbI-Co⁺² 'nin CbI-Co⁺¹ 'e indirgenmesini sağlar (61,63,64).

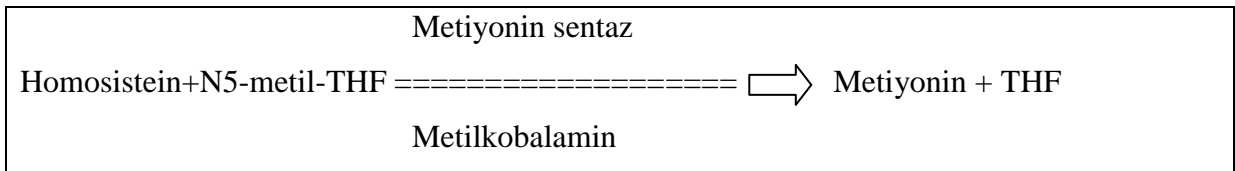


Şekil 6. Vitamin B12 molekül yapısı

2.3.3. Vitamin B12 Metabolizması

İnsanlarda koenzim olarak Vitamin B12'ye bağımlı iki enzimatik reaksiyon görülür. İlki homosisteinden metionin sentezlenmesi, ikincisi metilmalonil CoA'nın suksinil CoA'ya çevrilmesidir.

Birinci Reaksiyon = Metiyonin sentaz enzimi aracılığıyla, homosisteinden metiyonin aminoasiti sentez edilir. Sitoplazmada gerçekleşen bu reaksiyon için koenzim olarak Metilkobalamin gereklidir. Bu reaksiyonda aynı zamanda folat koenzimi (N5 metiltetrahidrofolat) (5-metil THF) da gerekli olduğundan önemlidir.

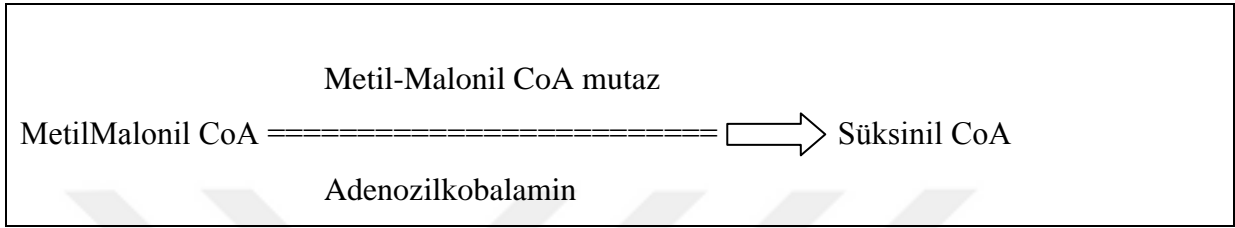


Şekil 7. Homosisteinden metiyonin sentezlenmesi

Bu reaksiyon insanlarda metiyoninin tekrar sentezi için ana yoldur. Bu reaksiyon bozulduğu zaman metiyoninin plazma seviyeleri düşer ve buna bağlı olarak gelişme geriliği

meydana gelir. Hem folat hem de kobalamin eksikliğinde bu reaksiyon kesintiye uğradığından megaloblastik anemi ile sonuçlanabilecek ciddi bozukluklar ortaya çıkar (61, 65,66).

İkinci Reaksiyon= Propiyonat katabolizmasında ilk basamaktır. Burada metilmalonil CoA'nın süksinil CoA'ya dönüşümü meydana gelir. Bu reaksiyonu Metil-malonil CoA mutaz enzimi katalize eder ve Adenozilkobalamin koenzim olarak iş görür (67,68).



Şekil 8. Metilmalonil CoA'nın süksinil CoA'ya dönüşümü

Kobalamin bağımlı her iki reaksiyon da, iki tane toksik materyalin plazma seviyelerini azaltır.

- 1) Vasküler endotel hasarı ile ilişkili olan homosistein
- 2) Metabolik asidoza neden olabilen metilmalonil CoA'dır.

2.4. Folik Asit

2.4.1. Folik Asitin Genel Özellikleri

Adını yaprak anlamına gelen “folium”dan alan folik asit, suda eriyen B grubu vitaminlerinden olup, ilk olarak Mitchell ve arkadaşları tarafından 1941 yılında ıspanak yapraklarından keşfedilmiştir (74).

Folik asit, homosistein metabolizmasında çok önemli bir yere sahip olup, homosisteinin metiyonine dönüşümünde, vitamin B12 ile birlikte remetilasyon basamağında görev almaktadır.

Yetişkinlerde folik asit ihtiyacı günlük 400 µg'dır. Gebelik ve emzirme süresince bu ihtiyaç 400-800 µg'a çıkar (74).

Folik asit, birçok besinde özellikle yeşil yapraklı sebzelerde bulunmaktadır. Besinlerde poliglutamil şeklinde bulunan folik asitler, ince bağırsak epitelinde bulunan karboksipeptidaz enzimi yardımıyla parçalanarak serbest folik asit şeklinde ince bağırsakların üst kısımlarında (proksimal jejunumda) emilir, aktif transport ile hücre içine alınır ve enterohepatik dolaşıma katılır. Karaciğerde de MTHF (metiltetrahidrofolat) şeklinde depolanır (75).

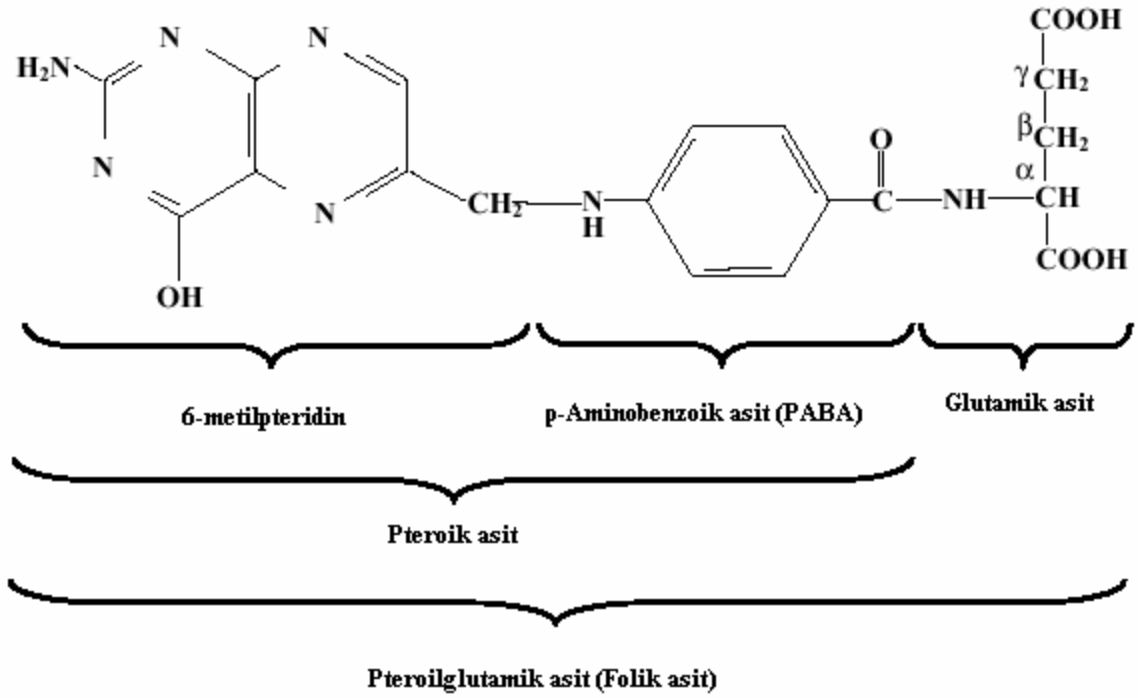
Folik asitin insan serumunda bulunan aktif formu, metiltetrahidrofolattır (78). Özellikle iki önemli metabolik siklusta görevlidir. Bunlardan ilki, DNA sentezi için gerekli olan pürin ve timidin üretimi, diğeri ise SAM (S-Adenozil metiyonin) sentezinde metil grubu vericisi olmasıdır.

Folik asit eksikliğinde; büyümede yavaşlama, sınırlarda yıpranma, iştahsızlık, hazımsızlık, kısırlık ve megaloblastik anemi görülmektedir. Ayrıca folik asit eksikliğinde DNA sentez bozukluğuna bağlı olarak kan ve gastrointestinal sistem gibi hızlı proliferasyon (çoğalma) gösteren dokularda klinik belirtiler görülmekte, intraselüler folik asit seviyelerinin düşmesi ile mutasyonlarda artış ve hatalı kodlanma sonucu kanser riskinde artış görülebilmektedir (79). Metilasyon siklusundaki bozulmanın etkisi ise daha az belirgin olmakla birlikte metilasyon reaksiyonlarının gen ekspresyonu ve regülasyonunda, hücre sinyal mekanizması ve normal nörolojik fonksiyonlarda önemlidir (79).

2.4.2. Folik Asit Molekül Yapısı

Kimyasal yapısı oldukça karmaşık olan folik asit, p-aminobenzoik asite bağlanmış 2-amino-4-hidroksi-pteridin (pteroik asit)'den ve sayısı 1-9 arasında değişkenlik gösteren glutamik asitten meydana gelir (77). İndirgenmiş formları ise dihidrofolat ve tetrahidrofolat olarak adlandırılır.

P-aminobenzoik asitin amino grubuna 5. ve 10. Pozisyonlarda bağlanan tek karbon atomlarına göre metil (-CH₃), metilen (-CH₂-), formil (-CHO), forminino (-CHNH) ve metinil (-CH-) olarak farklı metabolik formlarda bulunabilirler. Bu formlar arasında indirgenme-yükseltgenme reaksiyonları ile birbirlerine dönüşebilmektedir.



Şekil 9. Folik asitin yapısı

2.4.3. Folik Asit Metabolizması

Besinle alınan folik asitin poliglutamat formu absorbe edilmeden önce pterilpoliglutamat hidrolaz (glutamat karboksipeptidaz) tarafından monoglutamat formuna dönüştürülür. Dihidrofolat redüktaz ve tetra hidrofolat redüktaz enzimleri ile indirgenen bu monoglutamat formu ince bağırsağın üst kısmı olan proksimal jejunumdan aktif transportla emilir. Emilimi gerçekleştiren folik asit spesifik karaciğer enzimleri ile formil, metil ve forminino gibi tek karbon gruplarını içeren THF'a indirgenirler. Böylece THF'ın bir kısmı oluşan folik asit türevleri ile çeşitli enzimlerin koenzim grubunu oluştururken, diğer kısmı ise 10-formil THF'ın 10-formil tetrahidrofolat-dehidrogenaz enzimi ile formil gruplarının yükseltgenmesiyle CO₂, H₂O ve THF dönüşümünde rol oynar. Oluşan folik asit türevlerinin en önemlileri N5-N10-metil THF, N5-metil THF ve N5-formil THF'tır.

5-metil THF, folik asitin plazmada bulunan aktif formudur (78, 79, 80) ve hücre içinde metiyonin sentazın katalizlediği, kobalamin ihtiyacı olan bir reaksiyonla tetrahidrofolata dönüşür.

Tetrahidrofolat, DNA sentezi ve hücre bölünmesinde önemli olan pürin ve pirimidinin biyosentez aşamasında rol oynar. DNA sentezindeki bu önemli rolünden başka 5,10 metiltetrahidrofolat ile bazı nükleik asitler, lipitler, proteinler, hormonlar gibi farklı işlevleri olan yapıların metilasyonu için metil grupları temin eder (81). Metiltransferazlar, DNA gibi birçok substratın metilasyonunda görevli olan enzimlerdir (82). Birçok metiltransferaz enzim reaksiyonunda da olduğu gibi metil donörü olarak rol oynayan S-adenozilmetiyonin'e metil grubu transfer ederek S-adenozilhomosistein oluşturur. S-adenozilhomosistein ise hidrolize olarak homosistein'i oluşturur. Homosistein de indirgenerek veya katabolize olarak sistatyoninden sisteine ve sonunda da sülfat ve pirüvata dönüşür. Alternatif olarak homosistein'in karbon sülfür yapısına metil grubu eklenip metiyonine dönüşerek de hücre içinde kalabilir.

3. MATERİYAL METOD

3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmamızda Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi polikliniğine çeşitli sebeplerden dolayı başvuran ve kardiyopulmoner bypass cerrahisi ile ameliyat edilecek olan 17 erkek ve 13 kadın toplam 30 hasta seçildi. Bu hastalardan ameliyat öncesi, pompaya (kalp akciğer makinesi) giriş, kross klemp sonrası ve protamin verilmesi sonrası olmak üzere dört farklı zamanda kan örnekleri jelsiz çalışma tüpüne tam kan olarak alındı. Çalışma grubu yaş ortalaması $54,92 \pm 14,41$, vücut kitle indeksleri $25,44 \pm 5,24$ bulundu.

3.2. Örneklerin Hazırlanması

Hastalardan alınan bu dört farklı zamandaki kan örnekleri 5000 rpm de 10 dk santrifüj edildikten sonra serum kısmı eppendorf tüplerine alınıp -80°C de derin dondurucuda saklandı. Yeterli sayıda numune elde edildiğinde numuneler çözülerek otoanalizör cihazında ticari kitler kullanılarak serum Vitamin B12 düzeyi ve serum Folik asit düzeyi Kemilüminesans yöntemi ile, serum Homosistein düzeyi ise Kolorimetrik yöntem ile ölçülecektir.

3.3. Kullanılan Araç Gereçler

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda rutin olarak kullanılan cihazlardan yararlanılmıştır. Laboratuvarda var olan donanım aşağıdaki şekildedir.

1. Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
2. Derin Dondurucu (New Brunswick Scientifici, Model C54285)
3. ± 4 Soğutuculu Dolap (Uğur)
4. Siemens Immulate 2000[®]
5. Siemens ADVIA Centaur[®] XP
6. Otomatik Pipetler
7. Reaksiyon Tüpleri

3.4. Homosistein Düzeylerinin Ölçülmesi

Örneklerin içerdiği homosistein düzeyleri Siemens marka ticari kitlerle Immulate 2000 hormon otoanalizöründe kemilüminesans yönteme göre çalışılmıştır. Sonuçlar kit prospektüsünde belirtildiği gibi hesaplanmış ve sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak ifade edilmiştir.

3.5. Vitamin B12 Düzeylerinin Ölçülmesi

Örneklerin içerdiği Vitamin B12 düzeyleri Siemens marka ticari kitlerle, Siemens ADVIA Centaur XP hormon otoanalizöründe kemilüminesans yönteme göre çalışılmıştır. Sonuçlar kit prospektüsünde belirtildiği gibi hesaplanmış ve sonuçlar pg/mL olarak ifade edilmiştir.

3.6. Folik Asit Düzeylerinin Ölçülmesi

Örneklerin içerdiği Folik asit düzeyleri Siemens marka ticari kitlerle, Siemens ADVIA Centaur XP hormon otoanalizöründe kemilüminesans yönteme göre çalışılmıştır. Sonuçlar kit prospektüsünde belirtildiği gibi hesaplanmış ve sonuçlar ng/mL olarak ifade edilmiştir.

3.7. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS Versiyon 11.5 (SPSS Inc. Chicago USA) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Grupların ortalamaları arasındaki farkın önemi *One-Way ANOVA* testi ile karşılaştırılmıştır. Parametreler arasındaki ilişki Pearson korelasyon analizi ile araştırılmıştır. $p < 0.05$ 'den küçük değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Tablo 3. Grupların vitamin B12, folik asit ve homosistein düzeyleri

	Ameliyat Öncesi (n=30)	Pompaya Giriş (n=30)	Kross Klemp Sonrası (n=30)	Protamin Sonrası (n=30)	<i>p</i>
Vitamin B12, pg/ML	206.30 ± 64.76 ^{a***,b***,c***}	108.03 ± 35.75 ^{c**}	128.53 ± 38.43	141.33 ± 39.21	<0,001
Folik Asit, ng/ML	10.04 ± 2.89 ^{a***,b***}	6.53 ± 1.84 ^{c***}	6.53 ± 1.95 ^{d***}	9.02 ± 2.83	<0,001
Homosistein, µmol/L	14.40 ± 4.48 ^{a***,b***,c***}	7.63 ± 2.30 ^{d*}	9.44 ± 2.62	9.15 ± 2.55	<0,001

Ortalama ± Standart Sapma

- a. Ameliyat Öncesi ile Pompaya Giriş arasında fark vardır.
- b. Ameliyat Öncesi ile Kross Klemp Sonrası arasında fark vardır.
- c. Ameliyat Öncesi ile Protamin Sonrası arasında fark vardır.
- d. Pompaya Giriş ile Kross Klemp Sonrası arasında fark vardır.
- e. Pompaya Giriş ile Protamin Sonrası arasında fark vardır.
- f. Kross Klemp Sonrası ile Protamin Sonrası arasında fark vardır.

* p < 0,050

** p < 0,010

*** p < 0,001

Tablo 3’de de görüleceği gibi B12 düzeyleri gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmuştur. Ameliyat öncesi ile Pompaya giriş, Kros Klemp Sonrası ve Protamin Sonrası B12 düzeyleri karşılaştırıldığında, serum örneklerinin içerdiği B12 düzeyleri diğer gruplara göre yüksek ve istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p < 0,001$). Pompaya giriş ile protamin sonrası serum örneklerinin B12 düzeyleri karşılaştırıldığında serum örneklerinin içerdiği B12 düzeyi düşük ve orta düzeyde anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.010$).

Serum örneklerinin içerdiği Folik asit düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Ameliyat Öncesi ile Pompaya giriş, Kros Klemp Sonrası Folik asit düzeyleri karşılaştırıldığında, serum örneklerinin içerdiği folik asit düzeyi diğer gruplara göre yüksek ve istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Pompaya giriş Folik asit düzeyleri Protamin sonrası folik asit düzeylerine göre düşük ve ileri düzeyde ilişki saptanmıştır ($p < 0,001$). Aynı şekilde Kross klemp sonrası Folik Asit düzeyleri ile Protamin sonrası folik asit düzeyleri karşılaştırıldığında düşük ve ileri düzeyde anlamlı bir fark olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0,001$).

Tablo 3’e tekrar baktığımızda Homosistein düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,001$). Ameliyat öncesi ile Pompaya giriş, Kros Klemp Sonrası ve Protamin Sonrası Homosistein düzeyleri karşılaştırıldığında, serum örneklerinin içerdiği Homosistein düzeyleri diğer gruplara göre yüksek ve istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p < 0,001$). Pompaya giriş Homosistein düzeyleri Kross Klemp sonrası homosistein düzeylerine göre düşük ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,050$).

Tablo 4: Ameliyat Öncesi Korelasyon Tablosu

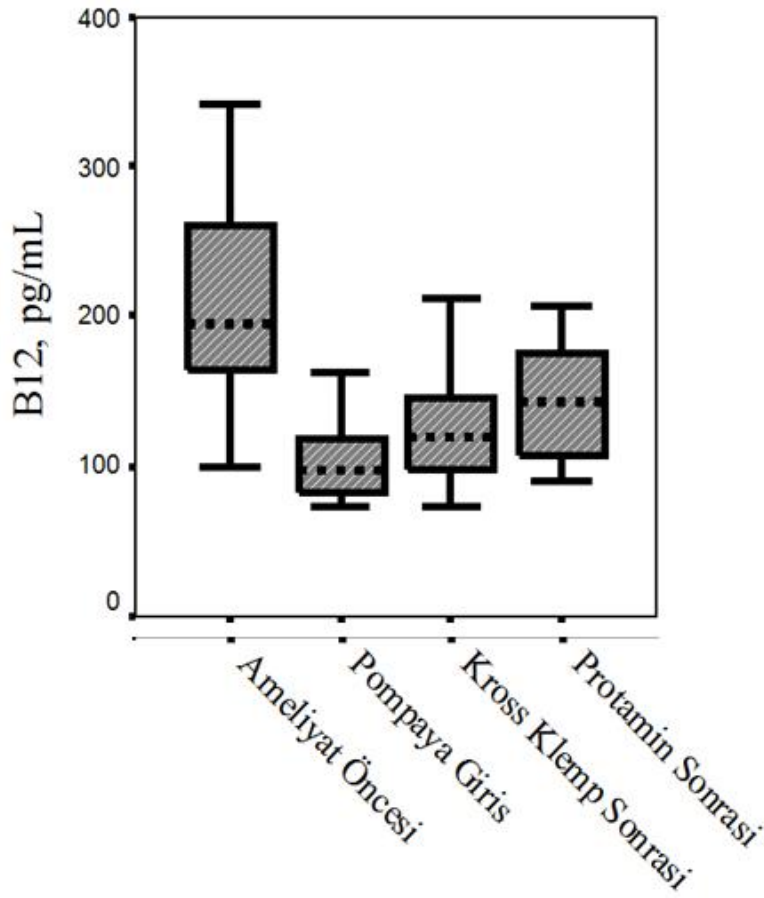
		Folik Asit	Homosistein
Vit			
B12	<i>r</i>	,534	-,472
	<i>p</i>	,002	,008
Folik			
Asit	<i>r</i>		-,356
	<i>p</i>		,054

Ameliyat Öncesi testler arasındaki korelasyona bakıldığında, B12 ve Folik Asit düzeyleri arasında pozitif, B12 ve Homosistein düzeyleri arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur (Sırasıyla $r=0,534$ $p:0,002$ - $r= -0,472$ $p:0,008$). Folik Asit ve homosistein düzeyleri arasında negatif bir ilişki saptanmıştır fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($r= -0,356$ $p:0,054$)

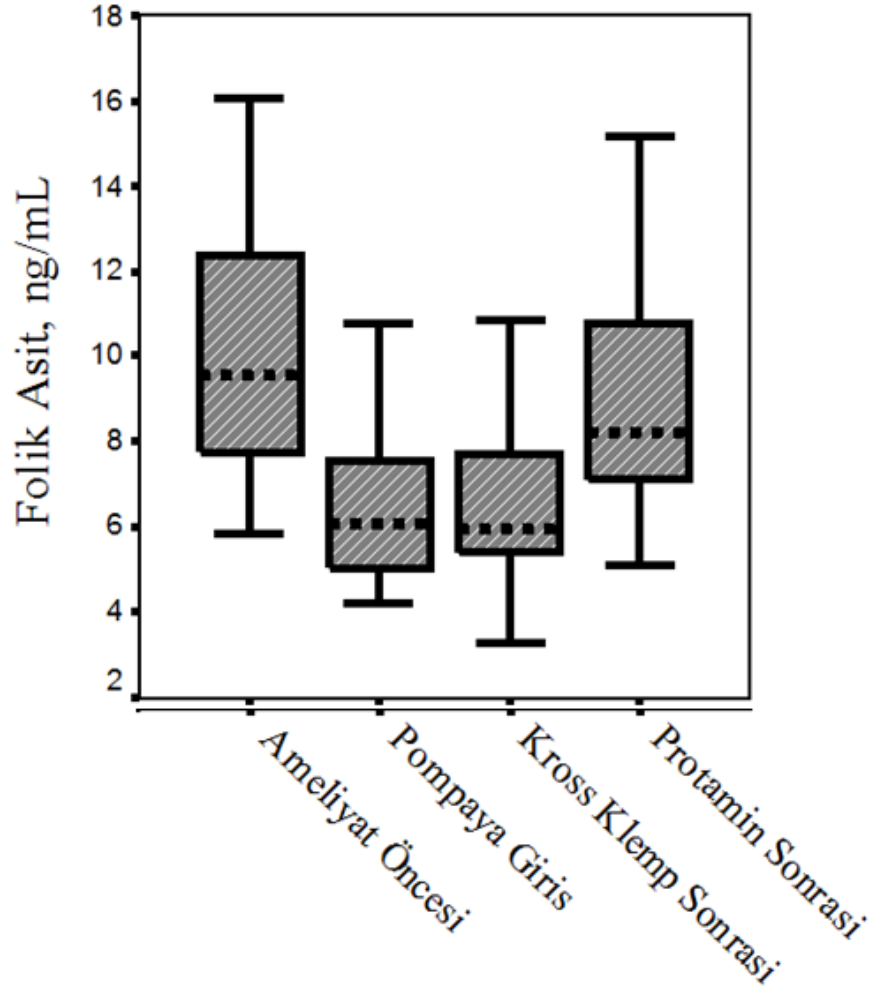
Tablo 5: Protamin Sonrası Korelasyon Tablosu

		Folik Asit	Homosistein
Vit			
B12	<i>r</i>	-,055	-,062
	<i>p</i>	,772	,744
Folik			
Asit	<i>r</i>		-,241
	<i>p</i>		,199

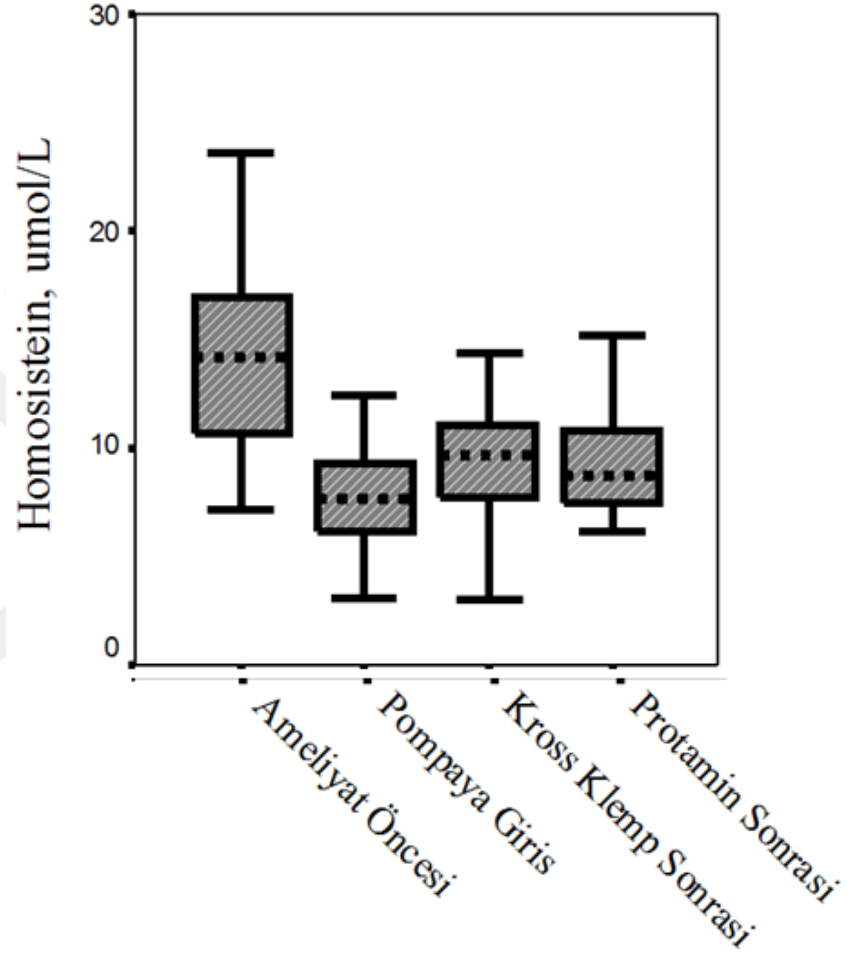
Protamin sonrası testler arasındaki korelasyona bakıldığında, B12 ile Folik Asit ve Homosistein düzeyleri arasında negatif bir korelasyon bulunmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. (Sırasıyla $r = -0,055$ $p:0,772$ $r = -0,062$ $p:0,744$). Folik Asit ve homosistein düzeyleri arasında negatif bir ilişki saptanmıştır fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($r = -0,241$ $p:0,199$)



Şekil 10. Gruplar arasında vitamin B12 düzeylerinin fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 11. Gruplar arasında Folik asit düzeylerinin fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 12. Gruplar arasında Homosistein düzeylerinin fark, dağılım ve standart sapmaları

5. TARTIŞMA-SONUÇ

Kardiyovasküler hastalıklarda risk faktörleri arasında hiperlipidemi, diabetes mellitus, sigara ve hipertansiyon gibi belli başlı faktörler dışında serum homosistein yüksekliği bağımsız bir risk faktörüdür. Bu tür hastalıklarda risk artışı, homosistein aracılı endotel hücre disfonksiyonuna bağlı olarak artış göstermektedir (83, 84).

Homosistein ile ilgili olarak Clark ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, periferik vasküler hastalığı olanların %28'inde, serebrovasküler hastalığı olanların %42'sinde, koroner arter hastalığı olanların %30'unda yüksek homosistein seviyesi saptanmış ve homosistein yüksekliğinin kardiyovasküler hastalık açısından önemli bir risk faktörü olduğu ortaya çıkarılmıştır (85).

Homosisteinürinin, Vitamin B12 ve folik asit ile ilişkisi ortaya konduğundan beri homosistein yüksekliğinin, artmış koroner arter hastalığı, periferik arter hastalığı, inme ve venöz tromboembolik hastalık riski ile ilişkilerini gösteren çalışmalarda hızlanma olmuştur. Bu çalışmalara ek olarak kardiyovasküler hastalığa sahip olanlarda, yüksek homosistein düzeyleriyle birlikte daha yüksek perioperatif morbidite ve mortalite oranları görülmektedir. (86) Bununla birlikte, önceki çalışmalar, yüksek homosistein düzeylerinin, uzun dönem takiplerde risk artışına neden olduğunu göstermiştir (87).

Kilmer McCully tarafından 1969 yılında yapılan çalışmaya göre, farklı teşhisler konulan metabolik hastalıkları olan hastalarda, homosistinüri ve damarlarda ileri derecede aterosklerotik değişiklikler olmuştur. Yapılan çalışmada hastaların ortak yönlerinin yüksek serum homosistein düzeyleri olduğunu ve bu olgunun arteriyel hasara neden olabileceğini ileri sürülmüştür (88).

1990 yılında Kilmer McCully 1969 yılındaki görüşünü kanıtlamak için ayrıntılı bir çalışma yapmıştır. Bunun için 194 vakalık otopsi serisini incelemeye almış ve bu çalışmada, ateroskleroza yol açtığı bilinen risk faktörlerinin oranını araştırmıştır. Yapılan bu çalışmada vakaların %74'ünde kolesterol düzeyleri normal olmasına rağmen, ateroskleroz düzeylerinde artış olduğunu tespit etmiştir (89). McCully, homosistein-tiyolakton ve kolesterol bileşiği verdiği hayvanlarda, damar duvarında aterosklerotik lezyonlar ve lipid birikimleri tespit etmiştir. Moleküler düzeyde de elastik doku hasarı, miyointimal hücre hiperplazisi, kollajen birikimi ve kalsifikasyon geliştiğini göstermiştir (90).

Koroner arter bypass cerrahisinde ekstrakorporal dolaşım günümüzde hala standart perfüzyon tekniği olup, bu tekniğin kullanılmasında faydalar kadar zararlarda olabilmektedir. Kardiyovasküler hastalıkların cerrahi tedavisinde kullanılan kardiyopulmoner bypass sisteminde başta kalp olmak üzere önemli organlarımız iskemiyeye maruz kalmakta ve bundan dolayı da kardiyopulmoner bypass sonrasında iskemik inme olabilmektedir.

66 hastayı kapsayan iskemik inme geçirmiş bir çalışmada, serum homosistein ve lipoprotein a düzeylerinin, iskemik inme açısından birbirinden bağımsız birer risk faktörü olduğu ortaya çıkmıştır (91).

Kardiyopulmoner bypassın zararlı etkilerinde homosistein seviyesi önemlidir. Homosistein yüksekliğinin bu organ veya sistemlere zararları; kalp, santral sinir sistemi-nörolojik-psikiyatrik sorunlar, akciğer, böbrek, gastrointestinal sistemdir.

Yüksek homosistein seviyesi, son dönem böbrek hastalığı (SDBH) ve buna bağlı kardiyovasküler komplikasyonlarda kritik role sahiptir. Yapılan çalışmalarda, SDBH'na öncülük eden glomerüler hücre hasarı ve fibrolizise direk etki edebileceğine dair önemli bulgular bulunmaktadır.

Prathapasinghe ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada homosisteinin, renal iskemi reperfüzyon hasarındaki zararlı etkisini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada iskemi-reperfüzyonun, homosistein metabolizmasını bozarak plazma ve böbrekte birikmesine neden olduğu belirtilmiştir. Yüksek homosistein düzeylerinin, iskemi-reperfüzyon öncülü lipid peroksidasyonu ile apoptotik ve nekrotik hücre ölümüne katkıda bulunduğu ortaya konulmuş ve bu bulgulara dayanarak, homosistein metabolizmasının regülasyonunun, böbrekleri iskemi-reperfüzyon hasarından korumada fayda sağlayabileceği sonucuna varmışlardır (92).

Remetilasyon ve Transsülfürasyon olarak iki yolla metabolize edilen Homosisteinin Remetilasyon siklusunda, homosisteine, metionin sentazın katalizlediği bir reaksiyonla metil grubu eklenerek metionin oluşur. Vitamin B12 bu reaksiyonda kofaktör olarak rol oynar. Bu reaksiyon için metil vericisi N5-metil-tetrahidrofolat'dır (N5-metil-FH4) ve N5,N10-metiltetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) tarafından katalizlenir. MTHFR, folik asit bağımlı bir enzimdir. Metionin ortamda fazla miktarda veya sistein sentezi gerekliyse, homosistein transsülfürasyon yoluna girer (93). Homosistein, vitamin B6 bağımlı bir enzim olan sistationin β -sentetaz (SBS) enziminin katalizlediği reaksiyonla serin ile birleştirilerek sistationin oluşturulur. Sistationin de yine vitamin B6 bağımlı bir enzim olan γ -sistationaz ile

serine ve α -ketobütirata metabolize edilir. Oluşan sistein, proteinlerin ve glutatyon yapısına katılır. Sülfata dönüşerek glikozaminoglikanların sentezinde kullanılır veya idrarla atılır.

Yüksek homosistein seviyelerine sahip vakaların büyük bir kısmında vitamin eksiklikleri vardır. Bu maddeler homosistein metabolizmasında rol oynadıklarından, eksikliklerinde hafif, orta ve nadiren de ağır düzeyde yüksek homosistein seviyesi görülmektedir (93,94).

Yaptığımız çalışmada kardiyopulmoner bypass öncesindeki homosistein, vitamin B12 ve folik asit seviyeleri kardiyopulmoner bypassa girildikten sonra yaklaşık %50 oranında azalmaktadır. Bunun en temel sebebi prime solüsyondur. Prime solüsyon kullanmamızın amacı kardiyopulmoner bypass devresine aktarılacak hatlardaki havayı dışarı çıkartmaktır. Temelde prime solüsyonlar için kristalloid ve kolloid sıvılar kullanılmaktadır. Kristalloid sıvıların başlıcaları dextroz, isoloyte, ringer ve mannitol, kolloid sıvıların başlıcaları ise; albümin, dextran, jelatin ve hidroksi etil starc tır. Erişkin hastalar için 1.2-1.5 litre dengeli prime solüsyonu kullanılır. Çocuk hastalar için daha az prime volüm kullanılır. Formül yardımıyla istenilen hematokrit ve prime volüm hesaplanmaktadır. Ayrıca prime solüsyonun içine gerekli olan ilaçlar, kan ve heparin de eklenir. Hastaya verilmeden önce de prime volüm resirküle edilir ve filtre edilerek partiküller ve hava çıkarılır. Prime solüsyonunun kullanım amacı; hematokriti düşürmek ve hipotermi sırasında viskoziteyi düşürerek mikroperfüzyonu artırmaktır. Yapılan çalışmamızda kullanılan prime solüsyon miktarları değiştiğinden homosistein, Vitamin B12 ve folik asit seviyesindeki değişimlerin farklı olduğunu gördük.

Prime solüsyonun fazla kullanılmasıyla oluşan derin hemodilüsyon oranlarına (hematokrit %18'in altında olması) bağlı olarak Vitamin B12 ve folik asit seviyelerindeki düşüş homosisteindeki düşüşten daha fazla olduğundan dolayı, homosisteinin zararlı etkileri ile multi-organ yetmezlikleri görülebilmektedir.

Yapılan çalışmamızda pompa girişinden kross klemp sonrasına kadar homosisteinde anlamlı artış olmasına rağmen; folik asit düzeyinde artış olmamış, Vitamin B12 oranındaki artış ise homosistein kadar olamamıştır. Bu durum şunu göstermektedir ki; Vitamin B12 ve folik asit düzeyi ile kan homosistein konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon vardır. Ayrıca perfüzyon süresi uzadıkça artan inflamatuvar yanıt homosistein seviyesini artırmıştır. İnflamatuvar yanıtın artması ve stres ile artan homosisteinin zararları arasında vasküler hasarda etkili mekanizmalar aşağıda sıralanmıştır (95, 96, 97, 98).

- NO üretiminde düşme
- Reaktif oksijen radikallerinin üretiminde yükselme
- Plazma antioksidan aktivitesinde azalma
- Doku faktörlerinin üretiminde artma
- Heparin sülfat salınımında azalma
- Faktör V, X ve XII aktivasyonunda artma
- Fibrinojen düzeyinde artma
- Vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyon artışı
- Lipid peroksidasyonunda artma

Azalan folik asit ve Vitamin B12 seviyesine bağlı olarak artan homosistein seviyesi, endotel fonksiyonunu bozmakta ve bundan dolayı NO salınımının azalmasına neden olmaktadır. Yüksek homosistein seviyesi aynı zamanda, antitrombinin endotel hücrelerine olan affinitesini azaltır. Bundan dolayı homosistein, koagülasyon inhibisyon mekanizmalarında kısıtlayıcıdır.

Bu mekanizmalar, endotel tabakasının tromboza olan rezistansında ve NO'in vazodilatör etkisinde azalmaya neden olurlar. Benzer olarak, KPB esliğinde yapılan kardiyak operasyonlarda da, trombinin aşırı salınımına, NO sentezinin azalmasına ve protein C ve doku faktörlerinin azalmasına bağlı olarak, pıhtılaşmaya yatkınlık görülmektedir (99, 100).

Buna dayanarak, yüksek homosistein düzeyinin bu hastalarda, koagülasyona yatkınlığı daha da arttırabileceği söylenebilir (102). Kardiyak cerrahi sonrası trombotik komplikasyonların, preoperatif yüksek homosistein seviyeleri varlığında artması, güncel çalışmaların, yüksek homosisteinli hastalarda antikoagülan tedavi rejimlerinin kullanımını ortaya atmasına neden olmuştur.

Ek olarak, homosistein aynı zamanda, plazma ve doku adenozin düzeylerini azaltarak, kardiyovasküler hastalık riskinde artışa neden olmaktadır (101).

Ranucci ve arkadaşları tarafından yapılan 531 hastalık çalışmada, kardiyopulmoner bypass ile kardiyak cerrahi geçiren hastalar homosistein düzeylerine göre gruplara ayrılarak Demografik veri ve ek hastalık dağılımları incelemiştir. Vaka sonrası veriler incelendiğinde; homosistein düzeyi yüksek olan gruplarda ekstübasyon süresi, Mİ ve tromboembolik olay sayısında belirgin artış olduğunu göstermişlerdir. Aynı şekilde KPB perfüzyon sürelerindeki artışın, homosistein düzeyi ile korelasyon gösterdiği gösterilmiştir.

Yapılan çalışmamızda kross klemp sonrasında protamin sonrasına kadarki dönemde homosistein seviyesinde düşüş olmasına rağmen, Vitamin B12 ve folik asit seviyesinde yükselmeler olduğunu gördük. Bu yükseklik homosisteinin Vitamin B12 ve folik asit ile negatif ilişkisine destek olmaktadır.

Kardiyopulmoner bypass sırasında perfüzyon sürelerindeki artışın, homosistein düzeyi ile korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan çalışmamızda pompaya giriş ile birlikte homosistein seviyesinde düşme olmakta fakat perfüzyon süresinin artması ile birlikte homosistein seviyesinin de arttığını gözlemledik. Özellikle kardiyopulmoner bypass uygulanan hastalarda, yüksek homosistein seviyeleri ile birlikte artmış perioperatif morbidite ve mortalite riski ortaya koymuşlardır (101).

Yapılan çalışmalarda perioperatif veriler incelendiğinde, homosistein yüksek olan KPB hastalarında perfüzyon süresine ek olarak yoğun bakım kalış sürelerinde de belirgin artış olduğu tespit edilmiştir. Kardiyopulmoner bypassta Vitamin B12 ve folik asit metabolizmasını etkileyen anestezi ilaçları, kaogülasyon ilaçları, antibiyotikler, kalp ritmini veya kan basıncını ayarlayan ilaçların yanında methotraxate, fenitoin, teofilin gibi diğer ilaçlar serum homosistein düzeyini arttırdığı bilinmektedir. Bundan dolayı yaptığımız çalışmada ilaçlar dikkate alınmadığından bu yönde başka çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen veriler istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen homosisteinin, Vitamin B12 ve folik asitin birbirleriyle olan ilişkilerinin kardiyak cerrahide kullanılan kardiyopulmoner bypass sisteminde major komplikasyonlar için risk faktörü olarak değerlendirilmesini destekleyecek ileri çalışmalar gerekmektedir.

SONUÇLAR

Kardiyopulmoner bypass yöntemiyle kardiyovasküler cerrahi geçiren hastalarda, pompaya girişte homosistein, Vitamin B12 ve Folik asit düzeylerinin prime solüsyondan dolayı sayısal olarak düştüğü gözlemlendi.

Pompa girişinden kross klemp sonrasına kadar homosisteinde anlamlı artış olmasına rağmen; folik asit düzeyinde artış olmadı, Vitamin B12 oranındaki artış ise homosistein kadar olmadı. Bu durumda Vitamin B12 ve Folik asit düzeyi ile serum homosistein konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon olduğu görüldü.

Kross klemp sonrasında protamin sonrasına kadarki dönemde homosistein seviyesinde düşüş olmasına rağmen, Vitamin B12 ve folik asit seviyesinde yükselmeler olduğu görüldü. Bu yükseklik homosisteinin Vitamin B12 ve folik asit ile negatif ilişkisine destek oldu.

Perfüzyon süresi uzadıkça artan inflamatuvar yanıt ve kullanılan ilaçlar ile homosistein seviyesinde değişimlere neden olduğu görüldü fakat bu etkileşimlerin homosistein, Vitamin B12 ve folik asit düzeyi ile ilişkisi istatistiksel olarak gösterilemedi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların geçerliliğinin doğrulanması açısından, daha geniş hasta grupları ile tekrarlanmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.



6. KAYNAKLAR

1. Engbersen AMT, Franken DG, Boers GHJ, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet* 1995; 56:142-50.
2. Fattal-Valevski A, Bassan H, Korman SH, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency: Importance of early diagnosis. *J Child Neuro* 1999; 15:39-543.
3. Cumming AM, Olujohungbe A, Keeney S, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism in patients with homozygous sickle cell disease and stroke. *Br J Haematol* 1999; 107:569-71.
4. Markus HS, Ali Nadira, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J. A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke* 1997; 28:1739-43.
5. Sucu M, Karadere A, Toprak N. Homosistein ve kardiyovasküler hastalıkları. *Türk Kardiyol Dern Arş.* 2001; 29:181-90.
6. Utku U, Çelik Y. Serebrovasküler hastalıklar. In: Balkan S, ed. Ankara: Güneş Kitapevi Ltd Şti; 2002.p.49-61.
7. Hademenos J, Lberts MJ, Awad I, et al. Advances in the genetics of cerebrovascular diseases and stroke. *Neurology* 2001; 56:997-1008.
8. Tice JA, Ross E, Coxson PG, Rosenberg I. Costeffectiveness of vitamin therapy to lower plasma homocysteine levels for the prevention of coronary heart disease effect of grain fortification and beyond. *Jama* 2001; 286(8):22-9.
9. Jacques P, Bostom AG, Williams RR, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996; 93:7-9.
10. Schmitz C, Lindpainter K, Verhoef P, et al. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. *Circulation* 1996; 94:1812-4.
11. Fallon UB, Ben-Shlomo Y, Elwood P, et al. Homocysteine and coronary heart disease in the caerphilly cohort. *Heart* 2001; 85:153-8.
12. Dekou V, Whincup P, Papacost O, et al. The effect of C677T and A1298C polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene on homocysteine levels in elderly men and women from the British region heart study. *Atherosclerosis* 2001;154:659-66.

13. Kostulas K, Crisby M, Huang WX, et al. A Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in ischaemic stroke and in carotid artery stenosis, Euro J Clin Invest 1998; 28:285-9.
14. Solak H, Görmüş N. Ekstrakorporeal Dolaşım. Nobel Tıp Kitabevleri. 2005; ISBN.975-420-417-9
15. Stephenson Larry W. History of Cardiac Surgery. Ed: Cohn LH, Cardiac Surgery in the Adult.2008; 3rd Edition, pp.3-28, McGraw-Hill, Pennsylvania, USA.
16. Dorson W.J. and Loria J.B. Heart Lung Machines. Webster's Encyclopaedia of Medical Devices and Instrumentation. Wiley 3: 1998; 1440-1457.
17. Gaylor JDS. Membrane Oxygenators: Current Developments in Design and Application. Journal of Biomedical Engineering 10: 1988; 541-47.
18. Hammon JW. Extracorporeal Circulation. Ed: Cohn LH, Cardiac Surgery in the Adult. 2008; 3rd Edition, pp.349-414, McGraw-Hill, Pennsylvania, USA.
19. Hoffbrand AV, Weir DG. Historical review. British Journal of Haematology 2001;113:579-589.
20. Challem J, Doldy V. Homocysteine the secret killer. Keats Publishing, Inc. New Canaan. 1997; 165-168.
21. Dikmen M. Homosistein Metabolizması ve Hastalıklarla İlişkisi. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2004; 24:645-652.
22. Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase in vascular disease, neural tube defects and colon cancer. Chapter 6, Europharma, SA, 1998 (<http://www.boehringer-ingelheim.es/workshop-methionina/anglesa/cap6.htm>)
23. Green R, Jacobsen DW: Clinical implications of hyperhomocysteinemia. In Folate in Health and Disease, 1995; pp.75-122
24. Boztepe Derici Ü, Altok Reis K. Hiperhomosisteinemi ve kronik böbrek yetmezliği. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi I(3). 2002; 129-134.
25. Finkelstein JD: The metabolism of homocysteine: pathways and regulation . Eur J Pediatr 1998; 157 (suppl 2): S40-4
26. Stamm EB, Reynolds RD. Plasma total homocyst(e)ine may not be the most appropriate index for cardiovascular disease risk. J Nutr 1999; 129: 1927-1930.
27. Miner SES, Evrovsky J, Cole DEC. Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: an update. Clin Biochem 1997; 30:189-201.

- 28.** Nelen WLDM, Blom HJ, Thomas CMG, Steegers EAP, Boers GHJ, Eskes TKAB. Metylenetetrahydrofolate reductase polymorphism affects the change in homocysteine and folate concentrations resulting from low dose folic acid supplementation in women with unexplained recurrent miscarriages. *Nutrition Org* 1998; 128:1336.
- 29.** Schwartz SM, Siscovick DS, Malinow R, Rosendaal FR. Myocardial infarction in young women in relation to plasma total homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation* 1997; 96:412-7.
- 30.** Cotter AM, Molloy AM, Scott JM, Daly SF. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: A risk factor for the development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 781-5.
- 31.** Sigit I.J. Hages M., Brensing K.A., Frotscher U., Pietrzif K., Bregman K., et al. Lütjohann D: Total plasma homocysteine and related amino acids in end stage renal disease (ESRD) patients measured by gas chromatography-mass spectrometrycomparison with the abbott Imx homocysteine assay and the HPLC method. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2001; 39:681-690.
- 32.** Guttormsen A.B., Ueland P.M., Svarstad E., Refsum H. et al. Kinetic basis of hyperhomocystenemia in patients with chronic renal failure. *Kidney Int.*, 1997; 52:495-502,
- 33.** Bostom A., Brosnon J.T., Hall B., Nadeau M.R., Selhub J. et al. Net uptake of plasma homocysteine by the rat kidney in vivo. *Atherosclerosis*, 1995; 116:59-62
- 34.** Van Guldener C., Danker A.J., Jacobs C., Teerlink T., de Meer K., Stehouwer C.D. et al. No net renal extraction of homocysteine in fasting humans. *Kidney Int.*, 1998; 54:166-169
- 35.** Lindgren A, Brattstrom L, Norrving B, Hultberg B, Andersson A, Johansson BB. Plasma homocysteine in the acute and convalescent phases after stroke. *Stroke* 1995; 26:795-800.
- 36.** Sachdev P. Homocysteine and neuropsychiatric disorders *Revista Brasileira de Psiquiatria Rev. Bras. Psiquiatr.* 2004; 26 (1): 1516- 4446.
- 37.** Jacobsen D.W.: Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin. Chem.* 1998; 44:1833 -1843,
- 38.** Ueland P., Refsum H., Stabler S., Malinow M., Anderson A., Allen R. et al. Total homocysteine in plasma and serum: Methods and clinical applications. *Clin. Chem.* 1993; 39: 764 -1779,
- 39.** Jacobsen D., Gatautis V., Green R. et al. Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma. Sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects. *Clin. Chem.* 1994;40: 873- 881
- 40.** Zafrilla P, Mulero J, Xandri JM, Santo E, Caravaca G, Morillas JM., et al. Oxidative stress in Alzheimer patients in different stages of the disease *Curr Med Chem.* 2006;13(9):1075-83.

- 41.**A. Coppen, S. Chaudhry and C. Swade, Folic acid enhances lithium prophylaxis, *J. Affect. Disord.* 10 1986;1, pp. 9–13.
- 42.** Daly SF, Molloy AM, Mills JL, et al. The influence of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase genotypes on enzyme activity in placental tissue. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106:1214 -8.
- 43.** Howard VJ, Sidea EG, Newman GC, et al. Changes in plasma homocyst(e)ine in the acute phase after stroke. *Stroke* 2002; 33: 473- 8.
- 44.** Jacobsen D.W.: Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin. Chem.* 1998; 44:1833 -1843,
- 45.** Reis RP, Azinheira J, Reis HP, et al. Homocysteinaemia after methionine overload as a coronary artery disease risk factor: Importance of age and homocysteine levels. *Coronary Artery Disease* 1995; 6:851 -6.
- 46.** Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N et al. Novel risk factor for systemic atherosclerosis. *Jama* 2001; 285:2481 -5.
- 47.** Lindgren A, Brattstrom L., Israelson B., et al. Homocystein and cystein: Determinants of plasma levels in middle- aged and elderly subjects. *J Intern Med* 1994; 263, 633-41.
- 48.** Brönstrup A., Pietrzik K. Low dose B vitamin intervention in elderly individuals: Extent of homocysteine plazma reduction and association with vitamin and genotype status tor thermolabile methylene tetrahydrotblate reductase (MTHFR). *Neth J* 1998; Med 2, 19.
- 49.** Riksen NP, Rongen GA, Blom HJ, Russel FGM, Boers GH J, Smits P. Potential role for adenosine in the pathogenesis of the vascular complications of hyperhomocysteinemia. *Cardiovascular Research* 2003; 59:271-276.
- 50.** Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest* 1996; 98: 5-7.
- 51.** De Jong SC, van den Berg M, Rauwerda JA, Stehouwer CDA. Hyperhomocysteinemia and atherothrombotic disease. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24: 381-385.
- 52.** Dardik R, Varon D, Tamarin I, Zivelin A, Salomon O, Shenkman B, Savion N. Homocysteine and MemiÇoğulları R. ve Ak□ay F. 48 *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* oxidized low-density lipoprotein enhance platelet adhesion to endothelial cells under flow conditions: distinct mechanisms of thrombogenic modulation. *Thromb Haemostasis* 2000; 83:338-344.
- 53.** Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, Ross R. Homocystinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. *N Engl J Med* 1974; 291: 537-543.
- 54.** Ohta A, Sitkovsky M. Role of G-protein-coupled receptors in down regulation of inflammation and protection from tissue damage. *Nature* 2001; 414:916-920.

- 55.** Sajjadi FG, Takabayashi K, Foster AC, Domingo RC, Firestein GS. Inhibition of TNF- α expression by adenosine: role of A3 adenosine receptors. *J Immunol* 1996; 156: 3435-3442.
- 56.** Flamand N, Boudreault S, Picard S et al. Adenosine, a potent natural suppressor of arachidonic acid release and leukotriene biosynthesis in human neutrophils. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 588-594.
- 57.** Burnstock G. Purinergic signaling and vascular cell proliferation and death. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 364-373.
- 58.** Smith EL, Fantes KH, Ball S, Waller JG, Emery WB, Anslow WK, et al. B12 vitamins (cobalamins). I. Vitamins B12c and B12d. *Biochem J*. 1952 Nov;52(3):389- 95.
- 59.** Coşkun T. B12 Vitamini, *Katkı Pediatri Dergisi*. 2003; 25:419-33.
- 60.** Kaplan L.A, Pesce A.J, Kazmierczak S.C. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. Fourth Edition.2003; 744-749.
- 61.** Lee GR, Herbert V. Nutritional factors in the production and function of erythrocytes. In:Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, editors.*Wintrobe's Clinical Hematology*. Baltimore:Williams&Wilkins, 1999; 228-66.
- 62.** Dündar S. Megaloblastik anemiler, İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S Editörler. İç Hastalıkları. Bölüm 10. Hematolojik hastalıklar, 2. Baskı. Ankara. Güneş Kitabevi 2003; 1795-1799.
- 63.** Kayaalp SO: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji; Antianemik ilaçlar II: Megaloblastik anemilere karşı kullanılan ilaçlar. Sekizinci basım, Hacettepe –Taş Kitabevi, 2.cilt, Ankara, 1998; s:1580-1588.
- 64.** Herbert V: Vitamin B12; plant sources, requirements and assay. *Am J Clin Nutr* 1988; 48:852-858.
- 65.** Lanzkowsky P: *Manual of pediatric hematology and oncology*. (3th ed), Academic Press; New York 1999; pp 51-72.
- 66.** Whitehead VM, Rosenblatt DS, Cooper BA: Megaloblastic anemia. In. Nathan DG, Orkin SH, Nathan and Oski's *Hematology of Infancy and Childhood*. (15th ed) W.B.Saunders Co: Philadelphia 1998, pp 385–415.
- 67.** Morrow G. A new variant of methylmalonic acidemia: defective coenzyme apoenzyme binding in cultured fibroblasts. *Clin Chim Acta* 1978; 85:76.
- 68.** Retey J. Methylmalonyl-CoA mutase. In Dolphin D (ed): *B12 Biochemistry and Medicine*. Vol 2.New York, Jhon Wily & Sons, 1982, pp 357-380.

- 69.** Öner T. Sağlıklı yenidoğanlarda ve annelerinde Vitamin B12 eksikliğinin sıklığı. Uzmanlık Tezi. İstanbul 2008.
- 70.** Aksoy M, Akdemir İ ve ark. Homosistein düzeyi yüksek olan koroner arter hastalarında, tedavi ile plazma homosistein düzeyinde sağlanan düşmenin vasküler endotel fonksiyonu ve myokardın iskemi yükü üzerine etkisi, Türk Kardiyoloji Derneği Arsivi 2000; 28: 28-41.
- 71.** Mcdowell IFW, Long D. Homocysteine and endothelial dysfunction: A link with cardiovascular disease. J Nutr 2000;130:3695-725.
- 72.** Friedman G, Goldschmidt N, Friedlander Y, Ben-Yehuda A, Selhub J, Babaey S et al. A common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: association with plasma total homocysteine and folate concentrations. J Nutr.1999; 129(9): 1656-61.
- 73.** Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia. J Clin Invest 1996; 98: 5-7.
- 74.** Wintrobe , M.M.,Clinical Hematology, 8th ed., Lea. & Febiger, Philadelphia 1981; 137-141p, 587-590p
- 75.** Prasad, P.D., Leibach, F.H. and Ganapathy, V.,Transplacental transport of water-soluble vitamins, Trophoblast Research, 11, 1998; 243-257p.
- 76.** Zhang, G.F., Storozhenko, S., Straeten, D.V. and Lambert, W.E.,Investigation of the extraction behavior of the main monoglutamate folates from spinach by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, Journal of ChromatographyA,2005; 1078, 59-66p.
- 77.** Rosenblatt, D., Inherited Disorders Of Folate Transport And Metabolism, In The Metabolic And Molecular Bases Of Inherited Disease (7th Ed), Edited By Scriver Cr, Beaudet Al, Sly Ws, Vale D. Mcgraw-Hill Book Co. 1995; 3111-3128.
- 78.** Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. Connecticut: Appleton and Lange 1991; 557-8.
- 79.** Montgomery R, Dryer RL, Conway TW, Spector AA. Biochemistry: A case oriented approach. St Louis: CV Mosby Company, 1983; 612-3.
- 80.** Davis RE, Niool DJ. Folicacid. Int J Biochem 1988; 20:133-9.
- 81.** Klee GG. Cobalamin and Folate Evaluation: Measurement of Methylmalonic Acid and Homocysteine vs Vitamin B12 and Folate. Clinical Chemistry 2000; 46: 1277-83.
- 82.** Molloy AM. Folate and homocysteine interrelationships including genetics of the relevant enzymes. Curr Opin Lipidol. 2004; 15(1): 49-57.
- 83.** Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. N Engl J Med 1997;337:230-6.

- 84.** Sakurabayashi T, Fujimoto M, Takaesu Y, Haginoshita S, Goto S, Aoike I, et al. Association between plasma homocysteine concentration and carotid atherosclerosis in hemodialysis patients. *Jpn Circ J* 1999; 63:692-6.
- 85.** Clarke R, Daly L, Robinson K : Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324:1149-1155
- 86.** Ranucci M, Ballotta A, Frigiola A, Boncilli A, Brozzi S, Costa E, Mehta RH: Pre-operative homocysteine levels and morbidity and mortality following cardiac surgery. *Eur Heart J* 2009; 30:995–1004
- 87.** Nygård O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM Farstad M, Vollset SE: Plasma Homocysteine Levels and Mortality in Patients with Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 1997; 337:230-237
- 88.** McCully KS: Vascular pathology of homocysteinemia: Implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Amer J Pathol* 1969; 56:111-128
- 89.** McCully KS: Atherosclerosis, serum cholesterol and homocysteinemia theory: A retrospective study of 194 consecutive autopsies. *Am J Med Sci* 1990; 299:217-221
- 90.** McCully KS, Ragsdale BD: Production of arteriosclerosis by homocysteinemia. *Am J Pathol* 1970; 61: 1-11
- 91.** Dhamija RK, Gaba P, Arora S, Kaintura A, Kumar M, Bhattacharjee J: Homocysteine and lipoprotein (a) correlation in ischemic stroke patients. *J Neurol Sci* 2009; 281:64-68
- 92.** Prathapasinghe GA, Siow YL, O K: Detrimental role of homocysteine in renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292:1354-1363
- 93.** J. Auer, R. Berent, B. Eber: Homocysteine: a novel risk factor in vascular disease. *Coronary Health Care* 2001; 5:89-99
- 94.** Medical Biochemistry, N. V. Bhagavan, Fourth Edition, Sayfa: 354-356
- 95.** Chao CL, Kuo TL, Lee YT: Effects of methionine-induced hyperhomocysteinemia on endothelium-dependent vasodilation and oxidative status in healthy adults. *Circulation* 2000; 101:485-490
- 96.** Outinen PA, Sood SK, Liaw PC, Sarge KD, Maeda N, Hirsh J, Ribau J, Podor TJ, Weitz JI, Austin RC: Characterization of the stressinducing effects of homocysteine. *Biochem J* 1998; 332:213-221
- 97.** Jakubowski H: Metabolism of homocysteine thiolactone in human cell cultures. Possible mechanism for pathological consequences of elevated homocysteine levels. *J Biol Chem* 1997; 272:1935-1942

- 98.** Loscalzo J: The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest* 1996; 98:5-7
- 99.** Ranucci M, Frigiola A, Menicanti L, Ditta A, Boncilli A, Brozzi S: Postoperative antithrombin levels and outcome in cardiac operations. *Crit Care Med* 2005; 33:355-360
- 100.** Ranucci M, Ditta A, Boncilli A, Cotza M, Carboni G, Brozzi S, Bonifazi C, Tiezzi A: Determinants of antithrombin consumption in cardiac operations requiring cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 2004; 19:47- 52
- 101.** Chen YF, Li PL, Zou AP: Effect of Hyperhomocysteinemia on Plasma or Tissue Adenosine Levels and Renal Function. *Circulation* 2002; 106:1275-1281
- 102.** Ranucci M, Ballotta A, Frigiola A, Boncilli A, Brozzi S, Costa E, Mehta RH: Pre-operative homocysteine levels and morbidity and mortality following cardiac surgery. *Eur Heart J* 2009; 30:995–1004
- 103.** Temel İ, Ozerol E. Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2002; 9:149-57.