

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

**KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA OLUŞAN
OKSİDATİF STRES VE
DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Reşat DİKME

DANIŞMAN
Prof.Dr.M.Halit ANDAÇ

ŞANLIURFA

2007

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

**KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA OLUŞAN
OKSİDATİF STRES VE
DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Reşat DİKME

DANIŞMAN
Prof.Dr.M.Halit ANDAÇ

Bu tez, HR.Ü Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 783 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2007

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Reşat DİKME' nin hazırladığı “Kardiyopulmoner Bypass sırasında oluşan oksidatif stres ve DNA hasarının araştırılması ” konulu çalışma, 19.06.2007 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalında Perfüzyonist Yetiştirme Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M.Halit ANDAÇ

Harran Üniversitesi

BAŞKAN

Yrd. Doç. Dr. Zeynep BAYSAL

Harran Üniversitesi

ÜYE

Doç. Dr. Zeynep ŞİMŞEK

Harran Üniversitesi

ÜYE

ONAY

...../...../2007

Prof. Dr Zeki ZIYLAN.....

Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi ve desteğini esirgemeyen başta danışman hocam ve bölüm başkanımız Prof. Dr. M. Halit ANDAÇ olmak üzere Prof. Dr. Özcan EREL, Prof Dr. Abdurrahim KOÇYIĞIT , Öğr.Gör.Hakim ÇELİK, Yüksek Lisans öğrencisi Nebiye DONİ, ekonomik destekte bulunan HÜBAK'a ve Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışan elamanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kardiyopulmoner Bypass.....	4
2.1.1. Total ve Parsiyel Kardiyopulmoner Bypass.....	4
2.1.2. Kardiyopulmoner Bypasssta Tarihçe.....	5
2.2. Kardiyopulmoner Bypass Sistemine Genel Bakış.....	6
2.2.1. Kardiyopulmoner Bypass Devreleri.....	6
2.2.1.1. Venöz ve Arteriyel Hatlar (Devre Elemanları).....	9
2.2.1.2. Venöz Rezervuar.....	10
2.2.1.3. Pompa.....	11
2.2.1.4. Oksijenatörler.....	12
2.2.1.5. Isı Değiştiriciler (Heat Exchanger).....	14
2.2.1.6. Vent Ve Kardiyotomi Rezervuarı.....	14
2.2.1.7. Aspirasyon Sistemleri.....	15
2.2.1.8. Filtreler.....	15
2.2.1.9. Ultrafiltratörler.....	15
2.2.1.10. Kardiyopleji Sistemi.....	16
2.2.2. Kardiyopulmoner Bypasssta Kullanılan Prime Solüsyon.....	16
2.3. Perfüzyon İdaresi.....	17
2.3.1. Kardiyopulmoner Bypass Öncesi Dönem (Prebypass Dönemi).....	18
2.3.1.1. Antikoagülasyon.....	20
2.3.1.2. Kanülasyon.....	21
2.3.2. Kardiyopulmoner Bypass Dönemi (Bypassa Başlama).....	22
2.3.2.1. Akım ve Basınç.....	23
2.3.2.2. Monitörizasyon.....	23
2.3.2.3. Sıcaklık.....	24
2.3.2.4. Miyokardın Korunması.....	25
2.3.2.5. Kardiyopleji.....	26
2.3.2.6. Ventilasyon.....	28

2.3.2.7. Solunum Gazlarının Kontrolü.....	29
2.3.2.8. Anestezi.....	30
2.3.2.9. Serebral Koruma.....	30
2.3.3. Kardiyopulmoner Bypass'ın Sonlandırılması.....	31
2.3.4. Kardiyopulmoner Bypass Sonrası Dönem.....	36
2.3.4.1. Antikoagülasyonun Sonlandırılması.....	36
2.3.5. Postoperatif Dönem.....	37
2.4. Hastanın Kardiyopulmoner Bypassa Yanıtı.....	37
2.4.1. Sistemik Damar Direnci.....	38
2.4.2. Tüm Vücut Oksijen Tüketimi.....	38
2.4.3. Karışık Venöz Oksijen Düzeyleri.....	38
2.4.4. Metabolik Asidoz.....	39
2.4.5. Katekolamin Yanıtı.....	39
2.5. Kardiyopulmoner Bypassın Hasar Etkileri.....	40
2.5.1 Kardiyopulmoner Bypassa Hasar Oluşturan Etmenler.....	40
2.5.1.1. Kanın Anormal Olaylarla Karşılaşması.....	41
2.5.1.2. Kompleman Aktivasyonu.....	43
2.5.1.3. Mikrovasküler Geçirgenlikte Değişikler.....	43
2.5.1.4. Serbest Oksijen Radikalleri.....	43
2.5.2. Kardiyopulmoner Bypassa Etkilenen Organlar.....	44
2.5.2.1. Akciğerdeki Sonuçlar.....	44
2.5.2.2. Böbreklerdeki Etkiler (Renal Disfonksiyon).....	44
2.5.2.3. Nörolojik Etkiler.....	45
2.5.2.4. Hematolojik Etkiler.....	45
2.5.2.5. Kompleman Sistemine Etkiler.....	46
2.5.2.6. Endokrin Sistemdeki Etkiler.....	47
2.5.2.7. Karaciğerde Etkiler.....	47
2.5.2.8. Gastrointestinal Etkiler.....	47
2.5.2.9. Miyokardiyal Etkiler.....	48
2.6. Kardiyopulmoner Bypass ve İmmün Yanıt.....	49
2.7. Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Oluşan Oksidatif Stres ve DNA Hasarı.....	50
2.8. SERBEST RADİKALLER.....	53

2.8.1. Reaktif Oksijen Türleri.....	53
2.8.1.1. Süperoksit Radikalleri ($O_2^{\cdot-}$).....	54
2.8.1.2. Hidroksil Radikalleri (OH^{\cdot}).....	55
2.8.1.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	55
2.8.1.4. Hipoklorik Asit ($HOCl$).....	56
2.8.1.5. Singlet O_2 ($O_2^{\uparrow\downarrow}$).....	56
2.8.2. Reaktif Nitrojen Türleri (NO , NO_2 , NO^+ , NO^-).....	56
2.8.3. Başlıca Serbest Radikal Oluşum Kaynakları.....	57
2.8.3.1. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları.....	58
2.8.3.1.1. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi.....	57
2.8.3.1.2. Endoplazmik Retikulum.....	58
2.8.3.1.3. Redoks Döngüsü.....	58
2.8.3.1.4. Araşidonik Asit Metabolizması.....	59
2.8.3.1.5. Fagositoz.....	59
2.8.3.1.6. Otoksidasyon.....	60
2.8.3.1.7. Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları.....	60
2.8.3.2. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları.....	60
2.8.4. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri.....	61
2.8.4.1. Lipitlere Etkileri.....	61
2.8.4.2. Proteinlere Etkileri.....	61
2.8.4.3. Karbonhidratlara Etkileri.....	61
2.8.4.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri.....	62
2.9. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	63
2.9.1. Endojen Antioksidanlar.....	64
2.9.2. Ekzojen Antioksidanlar.....	64
2.9.3. Antioksidan Etki Mekanizmaları.....	64
2.9.4. Total Antioksidan Durum (TAD).....	64
3. MATERYAL VE METOD.....	66
3.1. Örneklerin Hazırlanması.....	66
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	66
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	67
3.4. Alkali Tek Hücre Elektropherez (Comet Assay) Yöntemi İle DNA Hasarı Tayini...67	

3.4.1. Yöntemin Prensipleri.....	67
3.4.2. Yönteminin Uygulanışı.....	68
3.4.3. Slaytların Hazırlanması.....	68
3.4.4. Lizis.....	68
3.4.5. Elektforez Tamponu.....	69
3.4.6. Elektforezde Yürütme.....	69
3.4.7. Nötralizasyon.....	69
3.4.8. Boyama.....	69
3.4.9. Analiz.....	69
3.5. Protein Oksidasyonu.....	70
3.6. Plazma Lipit Peroksidasyonu Ölçümü.....	71
3.7. Total Antioksidan Kapasite.....	71
3.8. Total Oksidan Seviye.....	71
3.9. Oksidatif Stres İndeksi.....	72
3.10. Yapılan İstatistiksel Analizler.....	72
4. BULGULAR.....	73
5. TARTIŞMA SONUÇ.....	81
6. KAYNAKLAR.....	87

ŞEKİLLER**Sayfa**

Şekil 1. Kardiyopulmoner bypassta kullanılan kalp akciğer makinasının hastaya bağlanma şekli.	7
Şekil 2. Kalp akciğer makinasının kalbe bağlanma şekli.	8
Şekil 3. Kardiyopulmoner bypassta kullanılan kalp akciğer makinasının devre elamanları	10
Şekil 4. Membranlarda olan gaz transferi	13
Şekil 5. Kanın anormal dış etkenlere bağlı olarak hasarlanma mekanizması	42
Şekil 6. Oksidatif DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların fleuresan mikroskop altındaki görüntüleri.	69
Şekil 7. Total oksidan seviye değişimi	76
Şekil 8. Total Antioksidan Kapasite değişimi	77
Şekil 9. Oksidatif stres değişimi	78
Şekil 10. DNA hasarı değişimi	79
Şekil 11. Mononükleer lökosit DNA hasarı ile oksidatif stres indeks seviyeleri arasındaki ilişkinin dağılımı	80

TABLolar	Sayfa
Tablo 1. Klasik bir kardiyoplejik solüsyonun içeriği	27
Tablo 2. CPB sonrası hemodinamik alt gruplar	33
Tablo 3. Oksijen türevi bileşikler	53
Tablo 4. Hasta gruplarında fiziksel değerlerin karşılaştırılması	72
Tablo 5. Hastalarda DNA hasarı ve Oksidan/Antioksidan parametrelerin karşılaştırılması	74
Tablo 6. DNA hasarı ve Oksidan / Antioksidan parametreler arasındaki ilişki düzeyleri	75

Simgeler ve Kısaltmalar

CO-Kardiyak Output

CI- Kardiyak İndeks

SBP-Sistolik Arteriyel Kan Basıncı

DPB- Diastolik Arteriyel Kan Basıncı

MAP-Ortalama Arteriyel Kan Basıncı

PAS-Pulmoner Arteriyel Sistolik Basıncı

PAD-Pulmoner Arter Diastolik Basıncı

MPAP-Ortalama Pulmoner Arter Basıncı

PCWP-Pulmoner Kapiller Saplama Basıncı

CVP- Santral Venöz Basıncı

SVR-Sistemik Vasküler Direnç

PVR-Pulmoner Vasküler Direnç

SV-Atım Völümü

HR-Kalp Hızı

Wt-Ağırlık

CPB-Kardiyopulmoner Bypass

TAK- Total Antioksidan Kapasite

TOS- Total Oksidatif Stres

(TAD)- Total Antioksidan Durum

OSİ- Oksidatif Stres İndeksi

TAO- Total Antioksidan

TAOSS- Total Antioksidan Savunma Sistemleri

SOD- Süperoksit Dismutaz

(O²⁻)- Süperoksit Radikalleri

(OH)- Hidroksil Radikalleri

(H₂O₂)- Hidrojen Peroksit

(HOCl)- Hipoklorik Asit

(O₂^{↑↓})- Singlet O₂

GST-Glutatyon- S – Transferaz

GSH-PX- Glutatyon Peroksidaz

GSH- Redükte Glutasyon
CAT- Katalaz
NADPH- Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleoatit Fosfat
UDP- Glukoronil Transferaz-
EEG- Elektro Ensefalografi
IABCP- İntra Aortik Balon Kontrpulsasyon
ACT- Aktive Pıhtılaşma Zamanı
Ph- Asit-Baz Oranı
PO₂-Parsiyel Oksijen Basıncı
PCO₂-Parsiyel Karbondioksit Basıncı
MDA- Malonildialdehid
H₂ O₂- Hidrojen Peroksit
H₂SO₄- Sülfürik Asit
O₂ - Oksijen
AT-III- Antitrombin 3
DNA- Deoksiriboz Nükleik Asit
Se- Selenyum
LAD-Sol İnen Ön Arter
A-V –Atrio-Ventriküler
S-A- Sino- Atrial
(COP)- Kolloid Ozmotik Basıncı
SPHB- Serbest Plazma Hemoglobini
BMI- Boy-Kitle İndeksi
Ss- Standart Sapma
(DTPA)- Dietilentriamin Penta Asetat

ÖZET

KARDİYOPULMONER BYPASS SIRASINDA OLUŞAN OKSİDATİF STRES VE DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI

Reşat DİKME

Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Yüksek Lisans Tezi

Kardiyopulmoner bypass (CPB), kalbin pompa fonksiyonunun ve akciğerin gaz değişim fonksiyonunun geçici olarak hastanın damar sistemine bağlanan bir pompa oksijenatörle sağlandığı sistemdir. Kardiyopulmoner bypass ile oluşan yan etkiler; kan pıhtılaşma bozuklukları, kırmızı kan hücreleri ve plazma proteinlerinde ekstrakorporeal sistemden geçerken oluşan bozukluklar ve kanın yabancı yüzeylere temasıyla değişik vazoaktif ve biyolojik aktif maddelerin salınımıdır. Bu olaylar immün yanıtın başlamasını tetikler. İmmün yanıtın başlaması ve/veya sürmesinde; katekolaminler, nötrofiller, kompleman sistemi, sitokinler, iskemi reperfüzyon sürecinde açığa çıkan serbest oksijen radikalleri, endotel hasarı ve endotoksin etkilidir. Arıca kanın fizyolojik olmayan ortamlarda sirkülasyonu nedeniyle şekilli kan elemanları, trombositler, pıhtılaşma faktörleri ve ilgili kan proteinleri hasar görür ve oksidatif stres oluşur.

Kardiyopulmoner bypass sırasında miyokard belli bir süre içinde perfüze edilememekte, dolayısıyla miyokard global iskemik hasara maruz kalmaktadır. Miyokard'da oluşan bu hasara temelde reperfüzyon sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri ve oksidatif stres neden olmaktadır.

Serbest radikaller reperfüzyonun ilk dakikaları içinde salgılanmaktadır. Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hatta hücre ölümlerine yol açar. Hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçebildiğinden DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna neden olur. DNA hidroksil radikallerinin oluşturduğu hasarlara karşı oldukça hassastır. Serbest radikaller ve oksidatif stres DNA zincirinin kırılmasına hem de bazların hidroksilasyonuna neden olabilir. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür.

Bu çalışmaya çeşitli sebeplerden dolayı kardiyopulmoner bypass cerrahisi ile ameliyat olan toplam 25 hasta dahil edildi. Bu hastalardan kardiyopulmoner bypass öncesinde, pompa (kalp akciğer makinesi) giriş esnasında, kros klemp'in konulması sırasında, kros klemp'in çıkarılması sırasında ve kardiyopulmoner bypass sonrasında olmak üzere her hastadan 5 tüp kan alınarak çalışma gurubu oluşturuldu. Daha sonra toplanan kanlardan total oksidatif stres (TOS), total antioksidan kapasite (TAK), oksidatif stres indeksi (OSİ=total Oksidatif Stress (TOS) / total antioksidan kapasite (TAK) şeklinde bölünerek) ve periferal mononükleer lökosit DNA hasarı Commet Assay (single cell gel electrophoresis) yöntemi ile çalışıldı.

Bu çalışma sonucu: kardiyopulmoner bypass sırasında, oksidatif stres indeksinin DNA hasarını artırdığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kardiyopulmoner bypass, Kalp akciğer makinesi, DNA oksidasyonu, Serbest radikaller, Oksidatif stres, Protein oksidasyonu, Lipit peroksidasyonu

ABSTRACT

INVESTIGATING THE OXIDATIVE STRESS AND DNA DAMAGE IN PATIENTS EXPOSED TO CARDIOPULMONARY BYPASS SURGERY

Reşat DİKME

Thoracic and Cardiovascular Surgery Department of Master Tezz

Cardiopulmonary bypass is a technique that temporarily takes over the function of the heart and lungs while the surgery is performed on the heart. It involves the diversion of the blood from the heart and lungs through a heart-lung machine and return of oxygenated blood to the aorta. During cardiopulmonary bypass many side effects like coagulation defects, secretion of different vasoactive and biologic active components during the contact of the blood to foreign surfaces, the defects of the red blood cells and plasma proteins which are damaged in extracorporeal circulation can be seen. These events trigger off the immune response. Catecholamines, neutrophils, complement system, cytokines, free oxygen radicals that occurred during ischemia-reperfusion, endothelium damage and endotoxin are influential for the starting and continuation of immune response. In addition, blood circulates in non-physiological settings. This causes the damage of blood elements, platelets, coagulation factors, blood proteins and then oxidative stress occurs.

Myocardium can not be perfused during cardiopulmonary bypass. Consequently, myocardium is exposed to global ischemia. Free oxygen radicals and oxidative stress which occurred during reperfusion, cause myocardium damage.

Free radicals have secreted at the first minutes of reperfusion. DNA attacks of free radicals cause mutations and also cell deaths. Hydrogen peroxide can pass through the membranes and attain to DNA and it causes to cell disfunction. DNA is relatively sensitive against damages which are occurred by hydroxyl free radicals. Free radicals and oxidative stress can break DNA chain and cause hydroxylation of some of them. Consequently, DNA is a molecule that can be easily damaged. Twenty five sufferers who had cardiopulmonary surgery were enrolled in this study. Before cardiopulmonary surgery, during connection of the heart-lung machine (pump), during using of the cross clamp and after the extracting of the cross clamp, 5 tubes of blood samples were withdrawn per patient and a working group was obtained. Total oxidative stress (TOS), total antioxidant capacity (TAC), Oxidative stress index (OSI). ($OSI = \text{total oxidative stress} / \text{total antioxidant capacity}$) and peripheral mononuclear leucocyte DNA damage were determined by using Commet Assay (single gel electrophoresis).

Patients who are exposed to cardiopulmonary bypass are exposed to oxidative stress and DNA damage. All these findings show that oxidative stress increase DNA damage.

Keywords: Cardiopulmonary bypass, Heart-lung machine, DNA oxidation, Free radicals, Oxidative stress, Protein Oxidation, Lipid peroxidation.

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Açık kalp cerrahisinin uygulanabilmesi için kalbin ve akciğerlerin fonksiyonlarının durdurulması ve kalbin içindeki kanın boşaltılması gerekmektedir. Bu ameliyat sırasında kalbin ve akciğerlerin fonksiyonları vücut dışında Kalp Akciğer Makinesi olarak isimlendirilen bir cihaz tarafından sağlanır. Kardiyopulmoner bypass (CPB), kalbin pompa fonksiyonunun ve akciğerin gaz değişim fonksiyonunun geçici olarak hastanın damar sistemine bağlanan bir pompa oksijenatörle sağlandığı sistemdir. Ekstrakorporeal dolaşım da denilen bu sistem kalpten gelen venöz kandan karbondioksit alınıp oksijen ilave edilerek geniş bir artere geri gönderen bir sistemdir. CPB tam olarak sağlandığında, ekstrakorporeal donanım hem sürkülasyonu hem de ventilasyonu sağlar. Ancak bu yöntem, kan akımı sıklıkla nonpulsatil ve normale göre düşük basınçlı olduğundan nonfizyolojiktir.

Kardiyopulmoner bypass sırasında bazı organ ve sistemlerde geçici disfonksiyon olmakla birlikte CPB kalp cerrahisinde vazgeçilmez hale gelmiştir. Halen kullanılan kardiyopulmoner bypass tekniğine bağlı olarak çeşitli organ ve dokularda farklı boyutlarda fonksiyon bozuklukları meydana gelmesine rağmen bu teknik günümüzde kardiyak patolojilerin cerrahisini olanaklı kılan, ve çoğu zaman alternatifi olmayan bir yöntemdir.

CPB (Kardiyopulmoner Bypass) devresi şu parçalardan meydana gelmektedir. Arteriyel ve venöz hatlar, Venöz rezervuar, Pompa, Oksijenatör, Isı değiştirici, Vent ve Kardiyotomi rezervuarı, Aspirasyon Sistemleri, Filtreler, Ultrafiltrasyon Filtresi ve Kardiyopleji sistemi.

Kan, yerçekimi etkisiyle kalp-akciğer makinesine drene olur. Burada yapay bir akciğer boyunca hareket eder (bubble veya membran oksijenatör) ve genellikle bir roller ya da sentrifugal pompa vasıtasıyla asandan aortaya yerleştirilmiş bir kanül yoluyla arteriyel sisteme pompalanarak geri döner. Kardiyopulmoner bypassta hasta kanının aktif olarak ısıtılması ve soğutulması yoluyla sistemik hipotermi elde etmek için ısı değiştiriciler kullanılır.

Sağlam insanlarla karşılaştırıldığında pek çok fizyolojik değişken CPB sırasında dışarıdan kontrol altındadır. Bu değişkenler tüm sistemik kan akımını (kalp debisi), input basınç dalgasını, sistemik venöz basıncını, pulmoner venöz basıncını, ilk perfüzyonun hematokritini ve kimyasal birleşimini, arteriyel oksijen ve karbon dioksit düzeylerini ve perfüzyonun ve hastanın ısını içerir.

Kardiyopulmoner bypass ile belirli sayıda az ya da çok yan etkiler oluşur. Bu yan etkiler kan pıhtılaşma bozuklukları, kırmızı kan hücreleri ve plazma proteinlerinde ekstrakorporeal sistemden geçerken oluşan bozukluklar ve kanın yabancı yüzeylere temasıyla değişik vazoaktif ve biyolojik aktif maddelerin salınımıdır.

Açık kalp cerrahisi tekniği gereği ameliyat süresince tüm vücut organları vücut dışındaki bir pompa yardımıyla perfüze edilirken sadece miyokardın kendisi bu süre içinde perfüze edilememekte, dolayısıyla global iskemik hasara maruz kalmaktadır. Teknik açıdan başarılı olarak gerçekleşen kalp ameliyatlarını takiben görülen mortalite ve morbiditenin en önemli sebebi işte bu miyokardiyal, özellikle de subendokardiyal hasardır.

Bu hasara temelde reperfüzyon sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri ve oksidatif stres neden olmaktadır. Serbest radikal, dış orbitalinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron taşıyan, yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Kardiyopulmoner bypass sırasında uygulanan nonpulsatil akım fizyolojik olmadığından birçok organın perfüzyon oranı ve miktarı bu işlemde etkilenmektedir. Gerek heparinizasyon ve heparin nötralizasyonu, gerekse kanın fizyolojik olmayan ortamlarda sirkülasyonu nedeniyle şekilli kan elemanları, trombositler, pıhtılaşma faktörleri ve ilgili kan proteinleri hasar görür ve oksidatif stres oluşur. Bu hasar sonucu kanama, hemoliz, hatta dissemine intravasküler koagülasyon gibi çok ciddi komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir.

Kardiyak cerrahi sonrası başlayan immün yanıt, organ disfonksiyonu ile birlikte postoperatif mortalite ve morbiditeyi etkilemektedir. Yenidoğanlarda ve pediatrik hasta grubunda, erişkinlere göre daha belirgin bir yanıt söz konusudur. Bu yanıtın başlaması ve/veya sürmesinde; Katekolaminler, Nötrofiller, Kompleman sistemi, Sitokinler, İskemi reperfüzyon sürecinde açığa çıkan Serbest Oksijen Radikalleri, Endotel hasarı ve Endotoksin etkilidir.

CPB'de (Kardiyopulmoner Bypass) İnflamasyona bağlı hücre hasarına ait teorilerin pek çoğunun temeli n6trofil ve l6kosit aktivasyonuna dayanır. N6trofil aktivasyonu serbest oksijen radikallerinin, intrasel6ler proteazların ve araşidonik asit metabolitlerinin salınmasına neden olur. Bu 6r6nler gibi, makrofaj ve trombositlerden açığa çıkanlar, doku hasarı ve DNA hasarına neden olur. Serbest radikaller; h6crelerin genetik kodunu içinde taşıyan, h6crenin 6retimini ve b6y6mesini sağlayan n6kleik asitleri (DNA), oksidatif stres adlı kimyasal işlemlerle hasara uğratarak h6cre 6l6m6n6 artırır.

Serbest oksijen radikalleri DNA'yı etkileyerek h6crede mutasyon meydana getirirler. Sitotoksik etki, b6y6k oranda n6kleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlar ile kolayca reaksiyona girer. Aktif olmuş n6trofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçip h6cre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, h6crede fonksiyon bozukluğuna ve hatta h6cre 6l6m6ne neden olabilir. Bu y6zden DNA, serbest oksijen radikallerinin kolay zarar verdiği 6nemli bir hedeftir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda da CPB nin oksidatif stresi de artırdığı g6sterilmiştir. Ancak, CPB oluşturduğu oksidatif stres ve DNA hasarı ile aralarında bir ilişkinin olup olmadığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılacak olan bu çalışmada, kardiyopulmoner bypass sırasında oluşan oksidatif stres ve DNA hasarını araştırarak bunlar arasındaki ilişkiye açıklık getirilmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kardiyopulmoner Bypass (CPB)

Her ameliyatta olduğu gibi kalp ameliyatlarında da ameliyat sahasının kansız ve hareketsiz olması gereklidir. Ancak kalbin boşluklarının kanla dolu olması ve bizzat kendisinin vücuda kanı pompalaması nedeniyle, vücudun ihtiyacı olan kan dolaşımı başka bir mekanizma ile sağlanamadığı sürece ameliyat edilecek kalbin durdurulması ve kandan arındırılması mümkün olmayacaktır. Çünkü kan dolaşımı durduğunda öncelikle beyin hücreleri en fazla 5 dakika gibi kısa bir zaman içinde ölmektedir.

Açık kalp cerrahisinin uygulanabilmesi için kalbin ve akciğerlerin fonksiyonlarının durdurulması ve kalbin içindeki kanın boşaltılması gerekmektedir Böyle ameliyatlar sırasında kalbin ve akciğerlerin fonksiyonları vücut dışında Kalp Akciğer Makinası olarak isimlendirilen bir cihaz kullanılarak yapılır. Basit manada kalp-akciğer makinesi veya kardiyopulmoner bypass (CPB) kalp ve akciğerin normal fonksiyonu olan pompalama ve ventilasyon görevini geçici olarak yapan aygıtlardır (27,28).

Kardiyopulmoner bypassın primer fonksiyonu kalbe gelen tüm venöz kanın CPB devresinde toplanarak venöz kandan karbondioksit alınıp, oksijen verilerek kanın tekrar sistemik arteriyel dolaşıma geri verilmesidir. Kardiyopulmoner baypasta kullanılan Kalp Akciğer Makinasının; gaz değişimi için akciğerin, sirkülasyona gerekli enerjiyi sağlamak için de kalbin fonksiyonunu yerine getirmesi gerekir.

Kardiyopulmoner bypass Total bypass ve Parsiyel baypas olmak üzere ikiye ayrılır.

2.1.1.Total ve Parsiyel Kardiyopulmoner Bypass

Kalbe gelen tüm sistemik venöz kanın tutulması ve CPB devresinde toplanarak hastaya geri dönmesi **Total CPB**; sistemik venöz kanın yalnızca bir kısmının tutularak CPB devresinde toplanması ise **Parsiyel CPB** adını alır.

Parsiyel CPB sırasında sistemik venöz dönüşün kalan kısmı sağ atriyuma döner ve bu kan sağ ventriküle ve gaz değişiminin yapıldığı pulmoner yatağa gider daha sonra sol atriyuma ve sol ventriküle dönerek sistemik dolaşıma katılır.

Parsiyel CPB'nin etkili olabilmesi için

-Kalp atıyor ve ejekte ediyor olmalıdır.

-Akciğerler ventile edilmelidir.

Total CPB en iyi şekilde ya superior vena kava ve inferior vena kavanın her ikisinin direkt kanülasyonu ya da sağ atriyumdan iki aşamalı tek bir venöz kanül kullanımı yoluyla kurulur. Parsiyel CPB bu kanülasyon teknikleriyle venöz drenaj hattının klempenmesi ve CPB devresine dönen kanın kısmen engellenmesi yoluyla oluşturulabilir.

2.1.2 Kardiyopulmoner Bypassa Tarihçe

20 Mayıs 1953 tarihinde John Gibbon tarafından mitral stenozlu genç bir kadının cerrahi tedavisinde CPB kullanılması ile ekstrakorporeal sirkülasyonun uzun zamandır başarılması güç bir hedefi gerçekleştirilmiş oldu. Uzun laboratuvar çalışmalarından sonra kalp-akciğer makinesinin yardımı ile ilk başarılı intrakardiyak operasyonu gerçekleştirdi; vaka kısa zaman sonra infeksiyondan kaybedildi (46). Maalesef bunu diğer cerrahi grupların başarısız girişimleri takip etti (28,73).

John Kirklin, Mayo Klinikte 1955 yılında, Gibbon'un kalp-akciğer makinasının modifiye edilmiş bir modelini iki ay içinde sekiz hastalık bir seride kullanarak, geçerli bir araç olduğunu gösterdi.(46,67). Kalp cerrahisi ve CPB'nin tarihçesi göstermektedir ki bu hayat kurtaran teknolojinin geliştirilmesi üç farklı evrede gerçekleştirilmiştir:

1950' lilerde kalp cerrahları ekstrakorporeal sirkülasyonu tedavi edilemeyen konjenital kalp hastalıklarının tedavisinde kullanmışlardır. Dünyadaki çoğu cerrahi grup 1955'in sonunda kendi yapımları olan kalp-akciğer makineleri ile intrakardiyak tamirler yapmaya başladılar (67). On yılın sonlarında konjenital kalp hastalıklarındaki yığılmanın cerrahi

müdahalelerle erimesi sonucunda yeni bir aşamaya ulaşılmış oldu: valvuler kalp hastalıkları. 1960'ların başlarında Dr. Starr ve Dr. Edwards prostetik valvi başarıyla tanımladılar. Son olarak, popülasyonun yaşlanmasıyla beraber koroner arter bypass cerrahisinde ekstrakorporeal desteğin önemi arttı.

Bugünkü düzeye gelene dek disposable bubble oksijenatörler, non-blood priming, pulsatil by-pass, sentrifugal pompalar, membran oksijenatörler, mikro filtrasyon ve kardiyopulmoner perfüzyonistler gibi ilerlemeler kaydedildi. Bu zaman aralığının uzun olmasının başlıca sebebi heparinin bulunması, kan gruplarının keşfi, modern anestezinin gelişmesi ile doğru orantılıdır (113).

2.2.Kardiyopulmoner Bypass Sistemine Genel Bakış

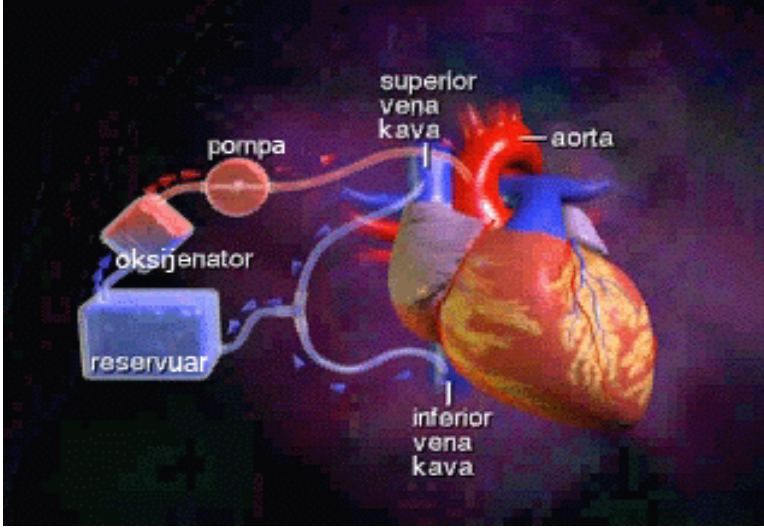
Kardiyopulmoner bypass Kalp Akciger Makinası olarak isimlendirilen bir cihaz tarafından sağlanır. Bu cihaz esas itibariye akciğerlerin fonksiyonunu üstlenen bir oksijenatör ve kalbin fonksiyonunu üstlenen bir pompadan ibarettir. İlerleyen teknoloji ile birlikte bu cihazlar günümüzde olabildiğince gelişmiştir. Halen kullanılmakta olan sistemlerde, akım hızları, akım miktarı, kanın ısısı, kan gazı değerleri, hatta kan elektrolit değerleri sürekli olarak monitörize edilebilmekte ve istenilen şekilde ayarlanabilmektedir.

2.2.1 Kardiyopulmoner Bypass Devreleri

CPB (Kardiyopulmoner bypass) devresi şu parçalardan meydana gelmektedir.

- Arteriyel ve venöz hatlar (Devre Elemanları)
- Venöz rezervuar
- Pompa
- Oksijenatör
- Isı Değiştirici (Heat Exchanger)

Şekil 2. Kalp akciğer makinasının kalbe bağlanma şekli.



Kalp akciğer makinesinin devresi kanın içinden geçmesi için bir yol oluşturan disposabl hatları göstermektedir. Ana devre venöz kanül, rezervuara gelen hat, oksijenatör ve hastaya geri dönen arterial hatlardan oluşur. Devreye yardımcı olan elemanlar ise vent, aspiratörler, kardiopleji verme aparatlarıdır. Perfüzyon devreleri merkezlere göre değişebilmekle birlikte ana elemanlar aynıdır

Devreleri oluştururken güvenlik en önemli unsurdur. Kullanılmakta olan devreler de devamlı olarak kontrol edilmelidirler. Basitlik en önemli güvenlik tedbiridir. Devreler ne kadar basit olursa o kadar az kaza ihtimali olur. Devrelere eklenen eleman ne kadar az olursa, komplikasyon o kadar az olur. Bazı fonksiyonların yerine getirilebilmesi için belirli parçaların mutlaka devrelerde olması gerekmektedir. Bununla birlikte bu gereksinimleri komplikasyonları arttırmadan karşılamak gerekmektedir.

Güvenlik, tasarımın tüm aşamalarının karşılanmasını gerektirmektedir. Devreye eklenen bazı elemanlar korunmayı artırmak içindir. Arteriyel filtreler ve bypas öncesi filtreler güvenliği arttıran unsurlardır. Monitor imkanları da hastanın güvenliğini sağlamak için devrelere eklenebilen kritik elemanlardır. Bu monitorizasyon cihazları arteriyel basınç hattı, arter ve venöz saturasyon göstergeleri ve devamlı hematokrit göstergeleridir. Düşük seviye

dedektörü ve hava kabarcığı dedektörleri de devreye eklenmesi gerekli olan güvenlik elemanlarıdır. Pompa; bubble oksijenatör kullanıldığında oksijenatörden sonra, membran oksijenatör kullanıldığında ise önce yer alır. Kardiyopulmoner bypasssta hasta kanının aktif olarak ısıtılması ve soğutulması yoluyla sistemik hipotermi elde etmek için ısı değiştiriciler gereklidir. Isı değiştirici bobinler oksijenatörden önce yerleştirilmiştir.

2.2.1.1 Venöz ve Arterial Hatlar(Devre Elemanları)

Venöz hat: İç çapı 1/2'' olan ve venöz kanülleri venöz rezervuara bağlayan hattır. Hastadan alınan kan yerçekimi etkisiyle hastadan daha alçakta bulunan bir rezervuara sifonaj yoluyla drene edilir.

Arterial Pompa hattı: İç çapı 3/8'' olan ve dönen pompada venöz rezervuar çıkışından pompa başlığı vasıtasıyla oksijenatörün venöz girişine gelen hattır.

Arterial çıkış hattı: İç çapı 3/8'' olan ve oksijenatörün arteryel çıkışından arteryel filtreden önceki Y konektöre gelen hattır.

Arterial Filtre: İç çapı 3/8'' olan ve parçacıklar ve hava için engel oluşturan yapıdır.

Arterial hat: İç çapı 3/8'' olan ve arterial filtreyi arter kanüle bağlayan yapıdır.

Aspiratörler ve vent hatları: İç çapı 1/4 '' olan hat olup bu hatlar pompa aspiratörleri, aort kökü venti ile sol ventrikül veya pulmoner vent için kullanılır.

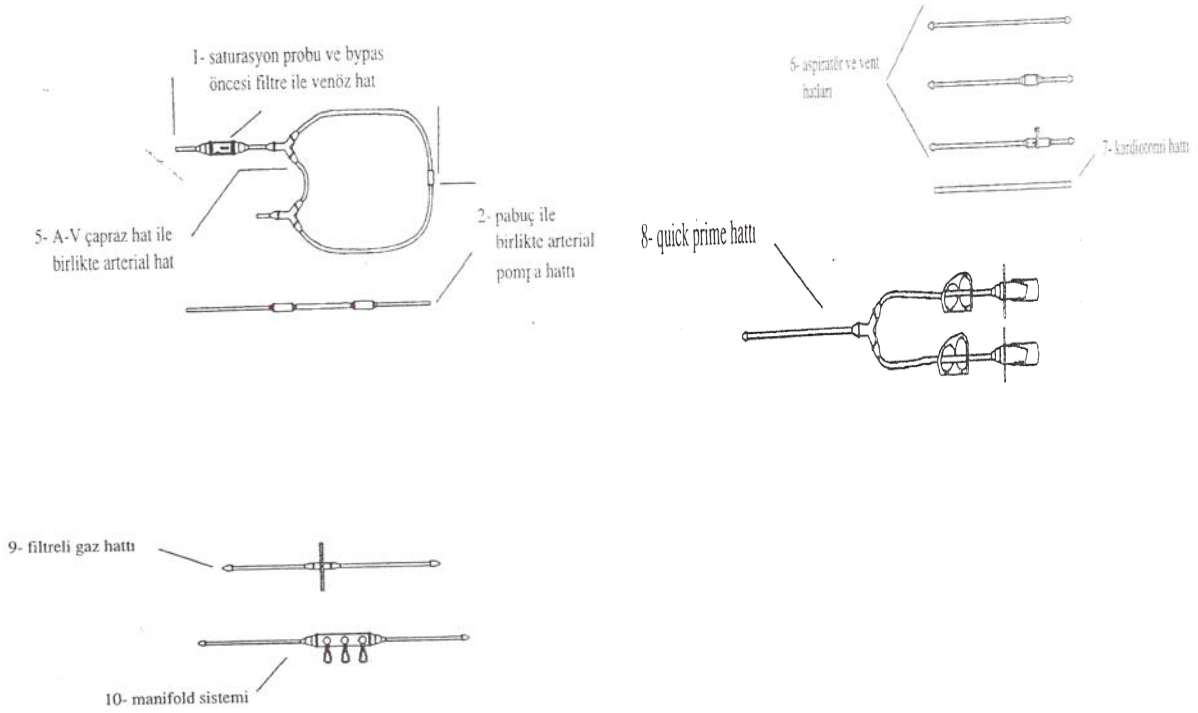
Kardiotomi hatları: İç çapı 3/8'' olan ve kardiotomi rezervuarı ile venöz rezervuarı birbirine bağlayan hattır.

Quick prime hattı: İç çapı 3/8'' veya 1/4 '' olan prime işlemi için ya da bypass sırasında devrelere hızlı bir şekilde volüm eklemek için kullanılan hattır.

Manifold sistemi: Arter ve venöz kan alma yerlerine konan üç yada dört adet üçlü musluktan oluşan sistemdir.

Kardiyopleji verme sistemleri: Kalbi durdurmak için kullanılan solüsyonları kalbe enjekte etmek için kullanılan sistemlerdir.

Şekil 3. Kardiyopulmoner bypassta kullanılan kalp akciğer makinasının devre elamanları



2.2.1.2. 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.

2.2.1.3.Pompa

CPB (Kardiyopulmoner Bypass) makinalarında pulsatil olmayan akım sağlayan iki tip pompa kullanılmaktadır. Bu pompalar roller pompa ve sentrifugal kan pompasıdır.

Roller pompalar: Çift başlıdır, döner başlıkları vardır. Geniş kalın bir tüpün, ana pompa odacığında sıkıştırılması ile kanın ileri doğru atılması sağlanır. Böylece kesintisiz nonpulsatil akımı sağlar. Roller pompa güvenli, ucuz ve kullanımı kolaydır. Çıkış hattında direnç olmadıkça ileri doğru olan akım etkilenmez. (24,67).

Sentrifugal pompa: Kinetik bir pompadır. Yapay girdap prensibi ile çalışır. Elektromanyetik alanda dönen bir koni vardır. Bunun dönmesi ile oluşan merkezkaç kuvveti kanı sirküler olarak dönmeye zorlar ve ileri doğru iter.

Pulsatil akım: Pulsatil akımda mikrodolaşıma ek enerji aktarımı söz konusudur. Vücut dışı dolaşım devresine ve hastaya bu enerjinin aktarımı asıl sorunu oluşturur. Bu ekstra kinetik enerji

- Eritrositlerin taşınmasına yardımcı olur,
- Kapiller perfüzyonu artırır,
- Lenfatik fonksiyona yardımcı olur,
- Hücrel metabolizmaya olumlu etkisi sözkonusudur,
- Nöroendokrin yanıtın azalmasını sağlar.

Perivasküler interstisyel sıvıda pulsasyonların oluşturduğu küçük şokların oksijen ve diğer substratların difüzyonunu arttırdığı, lenfatik formasyonu artırırken böylece ödem gelişmesinin azaldığı söylenmektedir. Mikrovasküler etkilerin organ kan akımı ve oksijenizasyonunu arttırdığı varsayılmaktadır ancak henüz anlamlı fark saptayan çalışmalara rastlanmamıştır.

Öte yandan pulsatil akım, daha pahalıdır, daha komplikedir, daha geniş arteryel kanül gereksinimi vardır, daha yüksek velosite hemolize neden olur, trombosit hasarı ve damar travması riski yüksektir.

2.2.1.4. Oksijenatörler

Kan, yerçekiminin etkisiyle venöz rezervuarın tepesinden oksijenatörün içine akar. CPB devresinde akciğerin gaz değişim fonksiyonunu sağlamak üzere tasarlanmıştır. Oksijenatörler, kanın basınç altında pompalandığı bir sistemin parçası olmalarına rağmen atmosfere açıktırlar. Öylelikle tüm gaz değişimi atmosferik basınçta oluşur. Günümüzde bubble oksijenatörler ve membran oksijenatörler olmak üzere iki tip kullanılmaktadır.

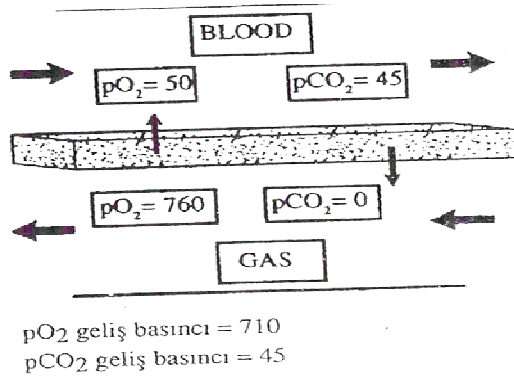
Bubble oksijenatörler: Bubble oksijenatörlerde oluşturulan küçük hava kabarcıkları, kan içindeki küçük hollerden geçer. Kabarcıklar ne kadar küçük, kanla temas yüzeyi ne kadar büyük olursa kan/gaz arasındaki dengelenme o kadar fazla olur. Kandaki bu kabarcıklar daha sonra köpüklenmeyi önleyen bir ajan (yükü bir silikon polimer) tarafından temizlenir. Oksijenasyon; temas yüzeyine (kabarcık büyüklüğü ve sayısı), oksijen konsantrasyonu ve kanın oksijenasyon kolonundan geçiş süresine bağlıdır. CO₂ eliminasyonu doğrudan gaz akımı ile orantılı olup genellikle problem oluşturmaz. Arteriyel O₂ basıncı, temperature göre düzeltilecekse gaz karışımına CO₂ ilave edilebilir. Bubble oksijenatörler genelde membran oksijenatörlerden daha ucuzdur ve daha çok kullanılır. Gaz değişimi her bir bubble etrafında oluşan ince film tabakasında olur. Karbondioksit bubble içine diffüze olur O₂ ise kana geçer. Karbondioksit plazmaya oksijenden 20 kez daha hızlı difüze olur (67). Major dezavantajları ise özellikle uzun süren bypasslarda kanın şekilli elemanlarının travmaya maruz kalmasıdır. CPB'nin 2 saatten daha az süreceği operasyonlarda iki tip oksijenatör arasında klinik açıdan farklılık yoktur

Membran Oksijenatör: Direkt bir kan-gaz teması olmadan ince bir membran boyunca oksijen sunumunu ve karbondioksit uzaklaştırılmasını sağlar. Membran boyunca oksijen ve karbondioksit değişiminin esas belirleyicileri oksijen ve karbondioksitin kandaki erirliği ve difüze olabilirliliği ile membrandaki parsiyel basınç farklarıdır. Kan daha az travmatize olur. Oksijen ve karbondioksit değişimi birbirinden bağımsızdır. Bu nedenle gaz akımı arttırılarak oksijenizasyon etkilenmeden karbondioksit eliminasyonu arttırılabilir. %100 O₂ yerine oksijen-hava karışımı kullanılır. Bu da oksijenin parsiyel basıncının daha etkili kontrolünü sağlar. Akciğerin kan-gaz değişim alanına (100 m²) ne kadar yaklaşılabirirse

membran oksijenatörlerdeki kan-gaz değişiminde basınç azalabilecek ve kan travması ve diğer komplikasyonlar minimuma indirilebilecektir (25). Ekstrakorporeal sirkülasyon esnasında kanın ozonlanmasının trombosit aktivasyonu ve gaz değişim hızına etkileri hayvan deneylerinde araştırılmıştır. Yeni nesil oksijenatörlerde kullanılması araştırma aşamasındadır (6).

Gaz Transferi : Membranlarda olan gaz transferi membranın geçirgenliğine ve gazın basıncına bağlıdır. Geliş basıncı ölçülebilen bir özelliktir. Belirli bir gazın membranın iki tarafındaki basınçları farklıdır. Bu basınç sayesinde daha yüksek basınç olan bir yerden daha az basınç olan bir yere doğru gaz geçişi sağlanmaktadır.

Şekil 4. Membranlarda olan gaz transferi



Kan oksijen değerlerini ölçme formülleri

$$\text{Oksijen kapasitesi} = 1,34 \times \text{Hgb} + 0,003 \times \text{pO}_2$$

$$\text{Oksijen içeriği} = 1,34 \times \text{Hgb} \times \% \text{ saturasyon} + 0,003 \times \text{pO}_2$$

$$\text{Oksijen saturasyonu (\%)} = \frac{\text{oksijen içeriği}}{\text{oksijen kapasitesi}}$$

$$\text{Oksijen tüketimi} = \text{kardiak output (L/dak)} \times (\text{aO}_2 \text{ içeriği} - \text{v O}_2 \text{ içeriği}) \times 10$$

2.2.1.5. Isı Değiştiriciler (Heat Exchanger)

CPB sırasında sistemik ve özellikle de serebral oksijen tüketimini azaltmak ve aort klempisi sırasında miyokard hipotermisini sürdürmeye yardımcı olmak için sistemik hipotermiden faydalanılır. CPB sırasında genellikle orta derecede (25-28 °C) hipotermi

kullanılır. Isı değiştiriciler genellikle CPB devresinde oksijenatörden önce yerleştirilmişlerdir. Çünkü kan sıcaklığındaki artışla gazların kandaki eriyebilirlikleri azalmaktadır. Bu düzenleme ile tekrar ısınma sırasında oluşabilecek sistemik gaz mikroembolisi riski düşer. Kan 42 °C nin üzerinde ısıtılırsa kan proteinleri hasar görür. Kanın hastadan ayrıldığı ve girdiği yerdeki ısı farkından dolayı soğuma genelde ısınmadan hızlı olur. Yetişkinde soğuma esnasında ısı dakikada 0.7-1.5 °C azalır. Isınma esnasında ise dakikada 0.2-0.5 °C artar (24).

2.2.1.6. Vent ve Kardiyotomi Rezervuarı

Venting CPB 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. Cerrahi sahanın kandan temizlenmesi, özellikle kollateral akımı artmış konjenital olgularda sağladığı diğer bir yarardır. Sol kalpten havanın tahliyesi de bu yolla sağlanır. Venting asandan aort, sol atrium, pulmoner arter veya doğrudan ventriküle yerleştirilen bir kanül ile yapılabilir.

CPB devresinde bulunan iyi bir kan koruma kaynağıdır. Yeterli çekimi sağlamak için döner başlıklı pompa kullanılır. Toplanan kan filtreli bir kardiyotomi rezervuarının ardından venöz rezervuara ya da direkt filtre içeren bir venöz rezervuara gider. Sıklıkla CPB başlamadan önce kanül yerleşimi sırasında kullanılır. CPB esnasında kanın travmatize olmasının en büyük sorumlusu olarak görülür. Kanın perikard yüzeyi ile teması, trombosit ve lökosit agregasyonunda rol oynamakla beraber, travmatize olmasının esas nedeni, hava ve kanın eş zamanlı olarak aspirasyonudur. Kardiyotomi aspiratörü, CPB başlamadan önce kanül yerleşimi sırasında kullanılır. Kardiyotomi veya venöz rezervuara pıhtı gitmemesi için, kullanımı öncesinde yeterli heparinizasyon sağlanmış olmalıdır.

2.2.1.7 Aspirasyon Sistemleri

CPB sırasında kanın ventriküllerde toplanmasını engellemeye yöneliktir. Aspirasyon hattı, ventrikülden kanı toplayarak, filtre edilmiş kardiyotomi rezervuarına, oradan venöz

rezervuara ya da direkt olarak filtre içeren venöz rezervuara iletir. Aspirasyon esnasında debrisler oluşacağından filtre kullanmak zorunludur (26).

2.2.1.8 Filtreler

Hava ve partiküllü (kemik, doku, yağ parçacıkları) mikroembolileri, kan elemanlarına zarar vermeden (ve akıma yüksek direnç yaratmadan) yakalamak için kullanılmaktadır. Filtreler, venöz rezervuar içinde, arteriyel hat üzerinde ve daha birçok yerde olabilir. Tarama filtreleri, sıklıkla devrenin arteriyel kısmında kullanılarak embolilerin arteriyel dolaşıma geçmesini önlemeyi amaçlar. Polyester ağdan yapılmıştır. Hem hava ve hemde partiküllü mikroembolileri yüksek akıma direnç yaratmadan ve kan elemanlarına zarar vermeden yakalamak için uygundur. Derinlik filtreleri, paketlenmiş dakron liflerden oluşmuştur. Zaman içinde havayı filtre etme yeteneğini kaybeder, kan elemanlarına daha fazla zarar verir. Kardiyotomi rezervuarlarının çoğunda, derinlik ve tarama filtreleri kombinasyonları kullanılır.

2.2.1.9 Ultrafiltratörler

CPB devresindeki fazla sıvıyı uzaklaştırıp hemokonsantrasyon oluşturmak amacıyla kullanılırlar. Bu yöntem, kontrollü bir sıvı ve elektrolit çekişi sağlarken, özellikle pediatrik yaş grubunda hastanın hematokrit değerinin yükseltilmesinde ultrafiltrasyon yöntemi yeterli olamayabileceğinden, modifiye ultrafiltrasyondan faydalanılır. Bu yöntem, enflamatuar mediyatörleri uzaklaştırarak, klinik prognozu etkileyebilir. Modifiye ultrafiltrasyon CPB'tan ayrıldıktan sonra gerçekleştirilen bir yöntemdir.

2.2.1.10 Kardiyopleji Sistemi

Antegrad (aortik kanül) ve Retrograd (koroner sinus kanülasyonu) olmak üzere iki yolla verilebilir. Çoğunlukla pompadan soğuk (+4 °C) olarak verilir. Ayrıca ılık ve normotermik

olarak verilebilir. Amaç kardiyak aktiviteyi durdururken iskemik dönemde, miyokarda yeterli substratların sağlanmasıdır.

2.2.2 Kardiyopulmoner Bypassda Kullanılan Prime Solüsyon

Kardiyopulmoner bypassda hemodilüsyon için kullanılan solüsyona prime solüsyon denir. Hemodilüsyon kanın uygun bir sıvı ile sulandırılması işlemidir. Hemodilüsyon sayesinde seyreltilen kan; ekstrakorporeal sistemde, özellikle açık kalp ameliyatlarında dokular içinde daha az visköz biçimde dolaşır. Perfüzyonistler CPB sırasında bir çok solüsyon kullanırlar. Prime solüsyonları hematokrit, fibrinojen, kolloid ozmotik basınç ve sıvıların vücut bölümlerinde dağılımını etkilerler. Ekstraselluler (hücre dışı) ve intraselluler (hücre içi) sıvının dağılabileceği bölümlerdir. Prime solüsyonu önce intravasküler sahaya girmektedir. Sıvıların değişik yerlerde hareketini etkileyen bir çok faktör bulunmaktadır.

Hemodilüsyon için kullanılacak prime solüsyon için dikkat edilecek hususlar vardır.

A-Hemodilüsyon miktarını tayin etmek: Bu cerrahi ekibin minimum olarak kabul ettiği hematokrit seviyesine göre dir. İyi tolare edilebilir hematokrit değeri 20-25 arasındadır. Hastaya anestezi ile verilen sıvı miktarı ve ekstrakorporeal dolaşım başlayana kadar hastanın çıkardığı idrar miktarı da organizmada hemodilüsyonu değiştiren nedenlerdendir.

B-Sıvının ozmolaritesi: Seçilecek sıvı ile kan aynı ozmolaritede yani izotonik olmalıdır. Aksi takdirde örneğin; hiposmolar bir sıvı ile ileri derecede hemoliz ve intravasküler sıvının süratle intertisyuma kaçmasına sebep olabilir.

C-Elektrolitler: İnvasküler kullanılabilen bütün sıvılardaki elektrolit miktarları bu sıvıların üzerinde belirtilmiş olup buna göre kolayca hesaplanabilirler.

Genellikle kandan fakir prime solüsyonları tercih edilir (ağır anemi dışında). Böylece normovolemik hemodilüsyon oluşur. CPB'da sistemik hipotermi ile birlikte hemodilüsyonun da bazı avantajları olduğu tesbit edilmiştir. Sistemik hipotermide viskozitede artış olur. Hemodilüsyonsa, eritrosit kütleleriyle beraber viskoziteyi de azaltır. Yine sistemik

hipotermi total vücut oksijen tüketimini azaltır, Hemodilüsyon da eritrosit kütlesi ile birlikte oksijen taşıma kapasitesi ve oksijen sunumunu azaltır.

Prime solüsyonu olarak, kristalloid ya da kristalloid-kolloid solüsyonların birbirine üstünlüğü olmadığı gösterilmiştir. Kristalloid prime genellikle laktatlı ringer solüsyonları ile olup, kristalloid-kolloid prime, ya %5-%25 albumin ya da %6 hidroksietil nişasta (HES) eklenmiş laktatlı ringer solüsyonlarıdır.

Prime bileşeni olarak HES kullanımının, klinikte ihmal edilebilir PT uzaması ve trombosit sayısında azalma yaptığı gösterilmiştir. Albumin eklenen prime solüsyonlarının idrar hacmini azalttığı ve CPB'da serbest su klirensinin azalması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Kolloidli solüsyonların kullanımı, maliyeti çok artırmaktadır. Tampon olarak bikarbonat, ayrıca böbrek koruyucu olarak mannitol konur. Heparin de pompa prime'nin bir komponentidir.

2.3. Perfüzyon İdaresi

Vakanın hazırlanması yapılacak işlemlerin gözden geçirilmesiyle başlar. İşleme hazırlanmak için operasyon tipinin (koroner arter bypass (CABG) veya atrial septal defekt (ASD) gibi) ne olduğu bilinmelidir. Operasyonun tipi kullanılacak devre ve cihazları belirlemektedir. Ayrıca hastanın durumu da özel cihazlar gerektirebilir. Vakaya girmeden önce hastanın dosyası gözden geçirilmeli, hastanın boy, kilosu, geçirilmiş ameliyat öyküsü, genel fizik durumu, nörolojik bozuklukları, karotis yetmezliği, kan hastalıkları, akciğer fonksiyonu, alerjileri ve perfüzyonu etkileyebilecek diğer faktörler kontrol edilmelidir. Hematokrit, trombosit sayısı, fibrinojen düzeyi, kreatinin, albümin, elektrolit düzeyleri ve soğuk aglütininlerin varlığı yönünden laboratuvar değerleri incelenmelidir. Birçok ihtimal mevcut olabilir. Pompada prime için kan gerekli midir?. Serum albümini düşük olup ilave albümin gerektirir mi.? Ultrafiltratör gerekli mi.? Hasta pompada kullanılan ilaçlara alerjik midir.? Özel teknik gerektiren anatomik bozukluk var mıdır.? Bu sayılan etmenler mutlaka kontrol edilmelidir.

2.3.1.Kardiyopulmoner Bypass Öncesi Dönem (Prebypass Dönemi)

İndüksiyon ve anesteziyi takiben, cerrahi sahanın hazırlanması, cildin boyanması ve örtülmesi gibi işlemlerin yapıldığı, uyarının minimal olduğu bir dönem gelir ki bu dönem sıklıkla hipotansiyon ile birlikte dir. Bunu yoğun cerrahi stimülasyon ve beraberinde taşikardi ve hipotansiyon izler. Bu dönemde, cilt insizyonu, sternotomi, sternal retraksiyon, perikardın açılması ve aortik diseksiyon önemli uyarılardır. Anestezik ajan, bu olaylara göre titre edilir.

Sternal retraksiyon veya perikardiyumun açılması sırasında vagal uyarı ile ciddi bradikardi ve hipotansiyon oluşabilir. Bu tür bir yanıt, beta-bloker veya verapamil alan olgularda daha ciddi olabilir. Derin anestezi altındaki hastalarda göğsün açılması takiben kardiyak outputta progressif bir azalma sıklıkla görülür. CO'taki azalma, olasılıkla normalde negatif olan intratorasik basıncın atmosferik basınca eşitlenmesine bağlıdır intravenöz sıvı verilmesi ile CO'daki bu azalma kısmen düzeltilebilir.

Bypass öncesindeki dönemde miyokard iskemisi her zaman değil ama sıklıkla taşikardi, hipertansiyon veya hipotansiyon ile birlikte dir. 1-2 µg/kg/dk dozda nitrogliserin infüzyonu, iskemik episodların insidensini azaltılmada tartışmalı olmakla birlikte yararlı olabilir.

Kardiyopulmoner bypass öncesi kontrol listesi

- Hasta bilgisinin pompa bilgisayarına girilmesi
- Oksijenatör tutucusunun doğru yerde ve güvenilir olması
- Pompa devresi hatlarının kıvrım yapmadan güvenli olması
- Luer bağlantılarının sıkılığı
- Gaz hatlarının bağlantıları
- Gaz hatlarının kaçırması ve kaynağa kadar tıkanma olmaması
- Gaz kaynağı, karıştırıcının çalışıyor olması
- Gaz çıkış kapağı ve güvenliğinin varsa tıkalı olmaması

- Elektrik bağlantılarının iki tarafta sağlam olması
- Güç kaynağının olması
- Elle çevirme kranklarının olması
- Işık kaynağının olması
- Su bağlantıları
- Su ısıtıcı soğutucusunun çalışıyor olması
- Primerden önce oksijenatör kaçak için kontrol edilmeli
- Roller pompada oklüzyon ayarı
- Arterial filtrenin prime yapılması
- Uygun ısıda kardioplejik sistemin prime yapılması
- Gerekli kardioplejiye ilaç eklenmesi
- Pompada aspiratör ve ventlerin doğru yönde yerleştirilmesi
- Vent valvinin doğru yönde olması
- Basınç transducerlerinin kalibrasyonu
- Stopcockların uygun şekilde kapatılması
- Prime için gereken ilaçların eklenmesi
- Seviye dedektörünün çalışması
- Bubble dedektörünün çalışması
- Basınç alarmı ile cihazı kapatan sistemin çalışması
- Isı problemlerinin bağlantıları
- Oksijen analizörlerinin kalibrasyonu
- Hatlardaki sensörlerin kalibrasyonu
- Malzemelerin ve yedeklerin kontrolü

2.3.1.1. Antikoagülasyon

Kanülasyon yapılmadan ve bypass'a geçilmeden önce yeterli antikoagülasyon yapılması şarttır. Akut dissemine intravasküler koagülasyonu ve pompada pıhtı formasyonunu önlemek amacıyla CPB başlamadan önce antikoagülasyon sağlanmış olmalıdır. Yetersiz antikoagülasyonun belirgin sonucu, kanülasyon sırasında kanüllerde, CPB başladığında oksijenatör de trombüs oluşumu, CPB sona erdiğinde de belirgin damar içi pıhtılaşmadır. CPB için klinikte kullanılan tek antikoagülan heparindir. Kardiyopulmoner baypas kuvvetli bir trombotik stimulustur. Heparin koagülasyon döngüsünün sonlarına yakın etki gösterir ve herhangi bir basamakta artan enzimatik reaksiyon serisini suprese etmekte yetersizdir. Bu yetersizlik sonucunda kardiyopulmoner baypas esnasında kuvvetli serin-proteaz üretimi olur (95). Heparin etkisini AT-III'e bağlanarak gösterir. Santral bir venden veya cerrah tarafından direkt kalbe (genellikle de sağ atriuma) uygulanır. Genellikle aortaya kanülasyon amacıyla pursestring süturları konulurken 300-400 ünite/kg heparin uygulanır. Bazı cerrahlar heparini sağ atriuma doğrudan vermeyi tercih ederler. Heparin anestezi tarafından verilecekse mutlaka bir santral hattan verilmeli ve 3-5 dk sonra ACT ölçülmelidir. Antikoagülasyon takibi, en hızlı ACT ölçümleri ile olur. 450 sn ve üzerinde, pompaya girmeye izin verilebilir. ACT kontrolleri her 30-45 dakikada bir tekrarlanmalı, yetersiz antikoagülasyon varlığında ek doz heparin (100 ü/kg) uygulanmalıdır.

Heparine rezistans görülebilir; AT-III seviyesi azalan yaşlılar ve trombositozlu hastalar, AT-III eksikliği, enfektif endokardit, intrakardiyak trombüs, şok, gebelik, oral kontraseptifler, düşük grade'li DIC, streptokinaz kullanımı durumlarıdır. AT-III eksikliği kanıtlanmış hastalara TDP (AT-III deposudur) uygulanması veya iki ünite tane donmuş plazma verilmesini takiben yeterli antikoagülasyon sağlanacaktır. Heparin protaminle birleşince kompleman aktivasyonu için önemli bir stimulustur. Protamin reaksiyonu sonucunda; kan basıncının düşmesi ve sağ kalp basınçlarının yükselmesi olabilmektedir. (47).

2.3.1.2. Kanülasyon

Arteriyel Kanülasyon

Kalp ameliyatlarında CPB uygulanacağı zaman genelde asandan aorta doğrudan kanüle edilir. Önce arteriyel (aort) kanülü yerleştirilir. Bu venöz kanül sırasında oluşabilecek

bir hemodinamik sorun halinde, hızla pompaya girilmesini sağlar. (istisna; asandan aort anevrizması olan hastalar ve daha önce desenden aort ile sol pulmoner arter arasında Potts anastomuzu yapılmış femoral arterden kanüle edilir). Arteriyel akımın asandan aortaya girmesinin femoral arterle kıyaslanması tartışmalıdır. Çoğu çalışmada, serebral kan akımı da dahil olmak üzere, yerel kan akımlarının her iki yöntemde değişmediği gösterilmiştir. Aort kakülü innominat arter proksimaline cerrahi olarak kabul edilebilecek bir yere yerleştirilir ve brokiyosefalik damara yada ağzına girmemesi için kısa bir kanül kullanılır. Aort kanülü yerleştirilmesi esnasında, sistolik kan basıncı 120 mmHg ve altında, MAP 80 mmHg olmalıdır. Bu amaçla vazodilatör kullanımı (nitroprussid ya da nitrogliserin) gerekebilir. Hava kabarcıklarının çıkması konusunda, dikkatli olunmalıdır.

Venöz kanülasyon

Sistemik venöz dönüşün pompaya alınması için genelde vena kava ya da sağ atrium kanüle edilir. Bebeklerde ve çocuklarda metal uçlu venöz kanüller kullanılarak her vena kavaya ayrı ayrı sokulur. Özellikle sağ atrium ve sağ ventrikül çalışmak için uygundur. Hangi kanülasyon yöntemi kullanılırsa kullanılsın, kanüllerin iç çapları geniştir ve gerçek ebatları hasta için en fazla akım hesaplanarak bulunur.

Kalp içi Aspirasyon (Suction) Aygıtları

Açılan kalpten gelen kanı toplamak için emme hatlarına gerek vardır. Venöz dönüşün bir parçası olan bu kan miktarı aynı zamanda kalbi de (özellikle sol ventrikülü) komprese eder.

Özetle, prebypass hazırlık listesinde,

1-Antikoagülasyon (heparin uygulanması ve gereken ACT düzeyinin sağlanması)

2-Arteriyel kanülasyon

3-Venöz kanülasyon

4-Varsa, pulmoner arter kateterinin geri çekilmesi

5-Monitör ve damar yollarının kontrolü (yeniden sıfırlama, idrar torbasının boşaltılması)

6-TEE (Transözefagual ekokardiyoğrafi) freeze modunda, skop nötral/kilitsiz konumda

7 -Ek medikasyon (nöromusküler ajan, anestezi, analjezik, amnestikler)

8-Baş ve boyun muayenesi (renk, simetri, venöz dönüşün değerlendirilmesi, pupillerin değerlendirilmesi) yer alır.

2.3.2.Kardiyopulmoner Bypass Dönemi (Bypassa Başlama)

Kanüller uygun şekilde yerleştirilip tespit edildikten sonra, ACT yeterli ve perfüzyonist hazır ise CPB başlatılır. Önce venöz ardından arteriyel kanüllere konulan klempler kaldırılır ve CPB başlatılır. Pompa rezervuarına yeterli venöz dönüşün sağlanması çok önemlidir. Normalde rezervuarın seviyesi yükselir ve CPB pompasının akımı giderek arttırılır. Eğer venöz dönüş iyi değilse (rezervuarda seviye azalıyorsa), pompadaki prime solüsyon hızla azalır ve sisteme hava girebilir. Kanüller; pozisyonlarının uygunluğu, klempe olup olmadığı, kink yapıp yapmadığı ve hava kilidinin varlığı yönünden yeniden kontrol edilmelidir. Böyle bir durumda problem çözümleninceye dek pompa akımı yavaşlatılmalıdır. Rezervuara volüm (kan veya kolloid) eklenmesi gerekli olabilir. Full (Tam) CPB ile kalp büyük ölçüde boşalır, boşalmaması veya giderek distansiyon gelişmesi venöz kanüllerde problem olduğunu veya aortik regürjitasyonu gösterir.

2.3.2.1.Akım ve Basınç

Pompa akımı 2-2.5 L/dk/m²'ye yükseltilirken sistemik arter basıncı da yakından takip edilir. CPB'in başlangıcında sistemik arter basıncı birden düşer. 30-40 mmHg'ya dek düşmesi pek de nadir değildir. Bu azalmanın hemodilüsyona, kan viskozitesinde ve sistemik vasküler

rezistansta gelişen akut azalmaya bağlı olduğu düşünülmektedir. Hipoterminin sağlanmasıyla kan viskozitesi yeniden yükselerek kan basıncının artmasına katkıda bulunur.

Kan basıncındaki düşüş aşırı ise (<30mmHg) ve ısrar ediyorsa, bir aortik diseksiyon aranmalı, eğer tespit edilirse CPB geçici olarak durdurulmalı ve aorta, distalden yeniden kanüle edilmelidir. Diğer nedenler arasında; venöz dönüşün iyi olmaması, pompa fonksiyon bozukluğu veya basınç transdüser hatası yer alır. Aortik kanül innominat arter içinde ise bu kez sağ radyal arterde ciddi hipertansiyon oluşabilir. CPB sırasında pompa akımı, SVR ve kan basıncı arasında aşağıdaki gibi bir ilişki vardır;

$$\text{Ortalama arter basıncı} = \text{Pompa akımı} \times \text{SVR (Sistemik Vasküler Direnç)}$$

CPB (Kardiyopulmoner Bypass) süresince yeterli kan basıncının sürdürülmesi, pompa akımı ve sistemik vasküler rezistansın manüplasyonu ile sağlanır. Bazı tartışmalar olmakla birlikte pek çok merkezde 2-2.5 L/dk/m² akım ve 50-80 mmHg ortalama arter basıncı sağlanmasına çalışılır. Akım gereksinimi genellikle vücudun santral sıcaklığı ile ilişkilidir. Orta derecedeki (20-25°C) bir hipotermide, serebral kan akımının yeterli olduğu kabul edilir. Gerekirse SVR, fenilefrin veya metoksamin ile yükseltilir. Yüksek sistemik arteriyel basınçlar (> 150 mmHg) tehlikelidir ve aortik diseksiyona, serebral hemorajiye yol açabilir. Genellikle ortalama arter basıncı 100 mmHg'yi aştığında pompa akımı azaltılabilir ve oksijenatörün gaz girişine izofluran eklenebilir. Hipertansiyon hala ısrar ediyorsa nitroprussid gibi bir vazodilatatör kullanılır. Genç hastalarda herhangi bir organ yetersizliği olmadan düşük akım kullanılmasında problemlerle karşılaşılmamıştır (3).

2.3.2.2. Monitörizasyon

CPB (Kardiyopulmoner Bypass) sırasında ilave monitorizasyon parametreleri arasında, pompa akım hızı, venöz rezervuar seviyesi, arteriyel hat basıncı, kan sıcaklığı ve oksijen saturasyonu yer alır. Arter hattından ph, PCO₂ ve PO₂ 'yi ölçebilecek sensörler bulunmaktadır. Kan gaz basınçları ve ph, doğrudan ölçümlerle de doğrulanmalıdır. Hipoksemi yokken, miks venöz oksijen saturasyonunun düşük olması ve progressif bir metabolik asidozun varlığı, pompa akım hızının yetersiz olduğunu gösterir.

Bypass süresince, arteryel hattın basıncı, sistemik arteryel basınçtan (radyal veya aortik) sık olarak daha yüksektir. Aradaki farkı; aort kanülünün ufak ağzı, arteryel hattın ve arteryel filtrenin varlığı izah eder. Ayrıca, arteryel hatta oluşabilecek problemlerin tespiti için de bu hattın basıncının monitorizasyonu önemlidir. Hattaki basıncın 300 mmHg'nın üzerine çıkması, arteryel filtrenin tıkanıp, arteryel hatta obstrüksiyon ya da aortik diseksiyon olduğunu gösterir. CPB sırasında yineleyen ACT ve potasyum ölçümleri zorunludur. Bypass başladıktan hemen sonra ve izleyen her 20-30 dakikada bir ACT ölçülmelidir. Soğuma, sıklıkla heparinin yarılanma ömrünü ve etkisini uzatır. Hematokrit genellikle %20-25 arasında tutulur. Pompa rezervuarına eritrosit ilavesi gerekebilir. Serum potasyumundaki ciddi artışlar, furosemid ile tedavi edilir.

2.3.2.3.Sıcaklık

CPB sistemik hipotermi ile yapılır. Sistemik hipotermi sistemik oksijen tüketimini azaltır. Serebral hipotermi de serebral oksijen tüketimini azaltır. Oksijen tüketimindeki azalmalar oksijen sunumundaki azalmaların tolare edilebilmesini sağlar.

1-Hafif hipotermi 32 – 35 °C,

2-Orta dereceli hipotermi 26 – 31 °C,

Vücut ısısında 10 °C'lik azalma O₂ tüketimini %50 azaltır. Kardiyopulmoner baypas esnasında orta derecede hipotermi avantajları vardır. Oksijen tüketimi azalır, laktat üretimi ve metabolik asidoz olmadan akım miktarı azaltılabilir. 28°C'nin altında flow miktarı dakikada m² başına 1.6 litre olarak 2 saatten fazla güvenle kullanılır (16,21,43).

3-Derin hipotermi 20 – 25° C,

4-Çok derin (ileri derecede) hipotermi < 20° C'dır.

Nazofarengal ısı 20°C nin altında ise bu derin hipotermidir. Derin hipotermi ve düşük akım miktarı (0.5 l/m²/dak.) veya sirkülatuar arrest sıklıkla aortik ark anevrizma ameliyatları, infandaki kompleks konjenital kalp lezyonlarının tamiri gibi beyin kan akımı kesildiğinde

kullanılır. Şayet sirkülatuar arrest 20 dakikanın üzerinde devam ederse perfüzyonla soğutmaya ilaveten baş çevresine buz paketleri konulabilir (93). Retrograd serebral perfüzyon (serebropleji) ve total vücut retrograd perfüzyonu torasik aorta operasyonlarında beyni koruyucu ilave tekniktir. Bu iki teknik de derin hipotermide kullanılır. Retrograd serebral perfüzyon superior vena kavadan yapılır ve 25 mmHg basınç altında soğuk kan perfüze edilir. Total vücut retrograd perfüzyonu ayrı kaval kateterle 30 mmHg basıncın altında 13-15°C'de 300-500 ml/dak akım miktarı ile yapılır.(16,21,42,81). Isı problemleri rektuma, mesaneye, özofagusu yerleştirilir. Nazofarenks probu ve timpanik problemler de beyin ısısını takip etmeye yarar.

Normotermide 1,8-2,2l/dak/m² akım hızı kullanılırken, hipotermide pompa akım hızı azaltılır. Hafif hipotermide 60 – 70 mmHg, orta dereceli hipotermide 50 – 60 mmHg, derin hipotermide 40 – 50 mmHg, ileri hipotermide ise 30 – 40 mmHg MAP değerleri perfüzyon için yeterli olmaktadır. CPB esnasında MAP (Ortalama Arteriyel Kan Basıncı) değerlerinin kontrolü SVR değişikliklerinin kompanse edilmesi ile ayarlanır. Alfa adrenerjik agonist uygulaması ile SVR'nin yükselmesi (fenilefrin, metoksamin, norepinefrin), gerektiğinde narkotikler, volatil anestetikler ve direkt etkili vazodilatatörler uygulaması ile (nitroprussid, trimetofan) SVR'nin düşürülmesi sağlanır. Pompaya ilk giriş anında dağılım hacminin ani büyümesini kompanse etmek için ek doz analjezik, amnestik ve nöromusküler kas gevşetici uygulanır. Metabolizma hipotermi ile yavaşladığından anestetik ihtiyacı da azalır.

2.3.2.4.Miyokardın Korunması

Kardiyak cerrahi sırasında hemen hemen tüm hastalarda bir miktar miyokard hasarı gelişir. Bununla birlikte, uygun koruma tekniklerinin kullanımı ile bu hasar genelde reversibl özellik kazanır. Miyokard hasarı anestezi ve cerrahi tekniğe bağlı olabilirse de, sık olarak CPB sırasında suboptimal miyokardiyal korumaya bağlıdır. En önemli faktör miyokardın O₂ gereksinimi ve sunumu arasındaki dengenin bozulması olup sonuçta sellüler iskemi, hasarlanma veya ölüm meydana gelir. New York Heart Association'a göre IV. sınıfta yer alan olgular ile ventrikül hipertrofisi veya ciddi koroner arter hastalığı olanlar yüksek risk taşırlar

Miyokardın yetersiz korunması, bypassın sonunda düşük kardiyak output, miyokard iskemisi veya kardiyak aritmiler ile kendini gösterir.

CPB (Kardiyopulmoner baypas) sırasında aortik kros klemp, koroner kan akımını tamamen durdurur. Emniyetli bir kros klemp süresini tayin etmek zor olsa da 120 dk'dan daha uzun CPB süreleri arzu edilmez. Bypass sırasında miyokardiyal iskemi, kros klemp'den önce veya sonra da görülebilir Düşük arteryel basınçlar, koroner embolizm (trombüs, platelet, hava, yağ veya Ca) ve kalbin aşırı cerrahi manüplasyonu (koroner damarların kompresyonuna veya distansiyonuna neden olarak) buna katkıda bulunabilir. Ciddi koroner obstrüksiyonunun distalinde kalan miyokard sahaları en büyük riski taşırlar. İskemi, yüksek enerjili fosfat tüketimine ve intrasellüler Ca birikimine yol açar. Ca, kontraktıl proteinler üzerine etkisi ile enerji tüketimini daha da artırır. CPB sırasında normal hücresel bütünlüğün sürdürülmesi, enerji gereksiniminin azaltılmasına ve yüksek enerjili fosfatların korunmasına bağlıdır. Koroner kan akımı kesildiğinde, yağ asidi oksidasyonu bozulur ve kreatin fosfat ile anaerobik metabolizma hücrenin başlıca enerji kaynağı haline gelir. Ne yazık ki bunlar da hızla tükenir, gelişen hızlı asidoz da glikolizi sınırlar. Enerji substratlarını tazelemek ve arttırmak için glikoz veya glutamat infüzyonları kullanılabilirse de hücresel enerji gereksinimini minimize indirmek amacıyla miyokardın korunması daha önemlidir. Bu iş, sistemik ve topikal (buzlu su) hipotermi ve potasyum kardiyoplejisi ile sağlanır (Miyokardın sıcaklığının 10-15°C arasında olması arzu edilir). Hipotermi, bazal metabolik O₂ tüketimini azaltırken, potasyum kardiyoplejisi de elektriksel ve mekanik aktiviteyi sağlayan enerji tüketimini ortadan kaldırır. VF (Ventriküler Fibrilasyon) ve distansiyon kardiyak hasarın önemli nedenleridir. Fibrilasyon, miyokardın O₂ tüketimini ikiye katlarken distansiyon, hem O₂ gereksinimini artırır hem de subendokardiyal kan akımını bozarak oksijen sunumunu azaltır. Miyokard hasarına katkıda bulunan diğer olası faktörler, inotrop kullanımı ile aşırı dozda kalsiyum uygulanmasıdır.

2.3.2.5.Kardiyopleji

Kalbin sıcaklığı 28°C'nin altına indiğinde sıklıkla ventriküler fibrilasyon oluşur. Fibrilasyon, yüksek enerjili fosfatları hızla tüketeceğinden ve miyokardın korunmasını tehlikeye sokacağından fibrilasyon oluştuğunda hızla kardiyopleji oluşturulmalıdır. Miyokardın elektriksel aktivitesini durdurmakta en yaygın olarak kullanılan yöntem, potasyumdan zengin kan veya kristaloid kullanılmasıdır. Kardiyoplejik solüsyon perfüzyonist

tarafından roller pompa kullanılarak da verilebilir veya anestezi tarafından basınçla verilebilir (15). Kardiyopleji, aortik kanülün proksimalinden aortun klempe edilmesinden sonra kros klemp ile aort kapağı arasında kalan aortaya batırılan ufak bir kanül ile kardiyopleji solüsyonunun infüze edilmesi ile sağlanır. Alternatif olarak aorta açılıp koroner ağzlarından doğrudan uygulanması da mümkündür. Aorta kroner bypass cerrahisi sırasında kardiyopleji solüsyonu, distal anastomozun tamamlanmasını takiben greft yoluyla da verilebilir. Ciddi koroner obstrüksiyon varlığında koroner sinüse yerleştirilen bir kateter yardımıyla retrograd kardiyopleji de uygulanabilir.

Kardiyopleji uygulamasının ardından ekstrasellüler K^+ konsantrasyonunda oluşan artış, transmembran potansiyeli azaltır (daha negatif yapar). Bu da depolarizasyon sırasına normal Na^+ akışını bozar, yükselme hızını, amplitüdünü ve peş peşe gelen aksiyon potansiyellerinin iletimini azaltır. Sonuçta, sodyum kanalları tamamen inaktive olur. Aksiyon potansiyelleri kaybolur ve kalp diyastolde durur. Kardiyoplejinin süratle yıkanması ve miyokardın ısınması nedeniyle soğuk kardiyoplejinin genellikle 20-30 dk'da bir yinelenmesi gerekir. Bu yıkanma; nonkolateral koroner kan akımının (interkostal arterlerin dallarından kanlanan perikardiyal damarlardan) sürmesine bağlıdır. Ayrıca yineleyen kardiyoplejik dozları anaerobik metabolizmayı inhibe edip aşırı metabolit yapımını önleyerek miyokardın korunmasına yardımcı olur. Desendan aortadaki daha sıcak kana temas ettiği için posterior ventriküler duvarın korunması daha zor olur.

Tablo 1. Klasik bir kardiyoplejik solüsyonun içeriği

K^+	20-40 mEq/L
Na^+	110-120 mEq/L
Cl^-	110-120 mEq/L
Ca^{++}	0,7 mEq/L
Mg^{++}	15 mEq/L
Glikoz	28 mmol/L
HCO_3	27 mmol/L

Solüsyonun kompozisyonu klinikten kliniğe değişmekte ise de esansiyel elementler genellikle benzerdir. K^+ konsantrasyonu 50 mEq/L'nin altında tutulur, aksi takdirde

miyokardın enerji gereksiniminde paradoksal bir artışa ve K^+ akümülyasyonuna neden olunabilir. İskemi, intrasellüler Na^+ içeriğini arttırdığından kardiyoplejideki Na^+ miktarı, plazmadakinden düşük tutulur. Sellüler bütünlüğün korunması için bir miktar Ca^{++} 'nın hücre içine aşırı miktarda girişini engellemek için de Mg^{++} gereklidir. Asit metabolitlerin aşırı yapımını engellemek için bir baz (sıklıkla bikarbonat) kullanılır. Alkalik perfüzetlerin daha iyi miyokardiyal koruma sağladıkları da bildirilmiştir. Alternatif olarak histidin ve trometamin kullanılabilir. Diğer komponentler; sellüler ödemi kontrol etmek amacıyla hipertonic bir ajan (mannitol), membran stabilize edici etkisi nedeniyle glukokortikoidler, prostasiklin (antiplatelet etkisi için) ve Ca-kanal blokerleri veya beta-adrenerjik blokerler (metabolik gereksinimi düşürmek için) olabilir.

Enerji substratı olarak glikoz, glutamat veya aspartat kullanılabilir. Taşıyıcı olacak kristaloid mi yoksa kan mı kullanılmalı sorusunun yanıtı açık değildir. En azından bazı yüksek riskli hastalarda kan ile daha iyi sonuçlar alındığına dair veriler bulunmaktadır. Oksijenlenmiş kanın taşıyıcı olarak kullanılması kristaloidlere kıyasla oksijen fazlalığı olması nedeniyle yararlı olabilir. Ciddi obstrüksiyonun olduğu alanlara (ki bunlar en çok ihtiyaç duyan alanlardır.) kardiyoplejik ulaşamayacağından bazı cerrahlar, kardiyoplejiyi koroner sinüs yoluyla retrograd da uygulamaktadırlar. Aşırı K^+ , bypassın sonunda elektriksel aktivitenin başlamaması, AV ileti bloğu, zayıf kontraktile ile sonuçlanabilir. Persistan sistemik hiperkalemi oluşabilir. Ca^{++} uygulaması bunu kısmen dengeleyebilirse de aşırı Ca^{++} da miyokard hasarı oluşturabilir. Kalpten kardiyoplejik temizlendikçe genellikle miyokard performans düzelir.

2.3.2.6.Ventilasyon

Yeterli pompa akımı sağlanana ve kalbin kanı ejekte etmesi durana kadar ventilasyon sürdürülür. Full CPB'in sağlanmasından kısa bir süre sonra sol ventrikülün enjekte ettiği volüm, çok düşük bir seviyeye iner. Ventilasyonun bu dönemden önce sonlandırılması, pulmoner kan akımının devam ediyor olması nedeniyle sağdan sola şanta ve hipoksemiye neden olabilir. Bazı merkezlerde, ventilasyon durdurulur, postoperatif pulmoner komplikasyonları azaltmak amacı ile ufak bir PEEP (5 cmH₂O) ve düşük bir oksijen akımı sürdürülür. Bazı merkezlerde ise tüm gaz akımı durdurulur veya sadece düşük bir gaz akımı

(1-2 L/dk) sürdürülür. Kalp tekrar kan ejekte etmeye başladığında ise ventilasyon yeniden başlatılır.

2.3.2.7.Solunum Gazlarının Kontrolü

Kardiyopulmoner Bypass süresince sık aralıklar ile kan gazları kontrol edilmeli, oksijenasyon ve ventilasyonun yeterliliği sağlanmalıdır. Asit-baz dengesi ve elektrolitler de sık aralıklar ile olarak ölçülmelidir. Hipotermik CPB sırasında arteriyel karbondioksit basıncına göre düzeltilip düzeltilmemesi gerektiğine dair tartışmalar sürmektedir. Tartışmanın kaynağı, hipotermi ile birlikte gaz eriyirliğinin artıyor olmasıdır. Sonuç olarak, total gaz içeriği (kapalı bir sistemde) değişmemekle birlikte, kanın sıcaklığı düştükçe gazın parsiyel basıncı da azalmaktadır. Problem, arteriyel CO₂ basıncı yönünden çok önemlidir. Çünkü PaCO₂ , arteriyel pH ve serebral kan akımını belirlemektedir. Plazma bikarbonat konsantrasyonu değişmediğinden arteriyel CO₂ basıncındaki herhangi bir azalma pH'yı artırır ve kanı daha alkalik yapar. 37°C de pH'sı 7.40, PaCO₂ 'i 40 mmHg olan kan, 25°C'ye soğutulduğunda PCO₂ değeri 23 mmHg'ye düşerken pH'sı 7.60'a yükselir.

Normalde hastanın ısı dikkate alınmaksızın alınan kan örneği, ölçüm yapılmadan önce kan gazı analizörü tarafından 37 °C'ye kadar ısıtılır. Bu yöntem "alfa-stat" yöntemi olarak anılır. Eğer temperatüre göre düzeltilmiş bir okuma yapılacak ise cihaz, hastanın sıcaklığındaki gaz basıncı ve pH'yi değerlendirmek için bir tablo kullanır. Gaz basınçlarının temperatüre göre düzeltilmesi ve hipotermi sırasında PO₂ 'nın 40 mmHg, pH'nın da 7,40'ta tutulması için çaba sarfedilmesine "pH-stat" düzenlemesi denilir. Bu tür bir düzenlemede hipotermik CPB sırasında oksijenatöre giren gaz akımına sıklıkla CO₂ ilave edilir. Böylece total kan CO₂ içeriği artar. Bu koşullarda serebral kan akımının oksijen tüketiminden ziyade CO₂ basıncı ve ortalama arter basıncına bağlı olduğu bildirilmiştir

Hipotermi sırasında gaz basınçlarında temperatüre göre düzeltme yapılmaması yöntemi (alfa-stat) giderek daha sık kullanılmaktadır. Bu yaklaşımın temeli, hipotermi durumunda da normal protein fonksiyonunun, normal intrasellüler elektro nötraliteye (protein yüklerinin dengesine) bağlı olduğudur. Fizyolojik pH'da, bu yükler başlıca histidinin imidazol halkası üzerindedir. Ayrıca, temperatur azaldıkça Kw (suda çözünme katsayısı) da

azalmaktadır. Bu nedenle düşük sıcaklıklarda, aköz solüsyonların elektro-nötralitesi, $[H^+]=[OH^-]$ olduğunda daha düşük $[H^+]$ ve daha yüksek bir pH'ya karşı gelir. Bu nedenle hipotermik koşullarda “alkaloz” $[OH^-]>[H^+]$ olmasını gerektirmez sadece H^+ konsantrasyonunda azalmayı yansıtır. Hipotermik CPB'ta a stat yönteminin kullanılması, kanın total CO_2 içeriği ve elektro nötralitesi değişmediğinden, oksijenatöre CO_2 ilavesi gerekliliğini ortadan kaldırır. pH stat yönteminin aksine a stat yöntemi ile serebral kan akımı oto regülasyonunun ve miyokardiyal korunmanın daha iyi olduğu gösterilmiştir. Teorik ve gözleme dayanan farklılıklara rağmen iki yöntemin hastanın prognozunu farklı yönde etkilediklerine dair kesin kanıtlar bulunmamaktadır.

2.3.2.8. Anestezi

Hipoterminin kendisi genellikle anesteziktir, ancak CPB sırasında özellikle ısınma döneminde, farkında olma komplikasyonu da sıktır. CPB sırasında anestezi ajanı verilmemesi, yüzeysel anestezie ve sonuçta farkında olmaya yol açabilir(35,36). Hipertansiyon sıklıkla gelişir ve kas gevşeticilerin etkisi geçmişe hasta kımıldayabilir. CPB sırasında ilave kas gevşetici ve anestezi ajanları gereklidir. Oksijenatöre düşük doz bir volatil ajan (izofluran) ilave edilebilir. Ancak genellikle rezidüel miyokardiyal etkisinden kaçınmak amacıyla bypass sonlandırılmadan önce inhalasyon anestezisi uygulanması kesilir (4,13,14,110). Bu sırada ilave opioid dozları veya ufak dozda benzodiazepinler daha çok tercih edilir. Pek çok klinisyen, yeniden ısınma başladığında bir benzodiazepin (midazolam, 5-10 mg) uygular (13,14).

2.3.2.9. Serebral Koruma

Kardiyopulmoner Bypass'ı takiben nörolojik komplikasyonlar %40'lara ulaşabilir. Ancak pek çok olguda geçici nöropsikiyatrik disfonksiyondan (hafif kognitif ve entellektüel değişikliklerden deliryum ve organik beyin sendromlarına kadar) ibarettir. Stroke gibi daha ciddi komplikasyonlar ise oldukça seyrek görülür. Nörolojik komplikasyonlara eşlik eden faktörler arasında intrakardiyak (valvüler) girişimler, ileri yaş, önceden mevcut serebrovasküler hastalıklar yer alır. Nörolojik defisitlerin pek çoğunda embolik olaylar sorumlu iseler de serebral hipoperfüzyonun katkısı henüz açık değildir. Tartışmalı olmakla

beraber bypasstan önce veya bypass sırasında profilaktik tiyopental infüzyonu uygulamasının intrakardiyak operasyonların neden olduğu nörolojik defisitlerin ciddiyetini ve insidensini azalttığı gösterilmiştir. Ancak böyle bir uygulama, CPB'nin sonlandırılma aşamasında inotropik destek gereksinimini arttırabilir.

Özetle; Bypassa iken kontrol listesi

- Uygun hızda kan akımı
- Arteriyel kan basıncının normal olması
- Uygun akım ve konsantrasyonda oksijenin başlatılması
- Oksijen saturasyonlarının normal olması
- Hastanın arteriyel basıncının 50-90 mmHg olması
- Uygun ısı olması
- Pıhtılaşma durumunun uygun olması.

2.3.3. Kardiyopulmoner Bypass'ın Sonlandırılması

Kardiyopulmoner Bypass'ın sonlandırılması için bazı işlemlerin yapılmış, bazı koşulların yerine getirilmiş olması gerekir: (1) yeniden ısınma tamamlanmış olmalıdır, (2) kalpten ve bypass greftlerinden hava çıkarılmış olmalıdır, (3) aortik kros klemp kaldırılmış olmalıdır, (4) akciğerlerin ventilasyonu başlatılmış olmalıdır. Cerrahın yeniden ısınmanın ne zaman başlatılacağına ilişkin kararı önemlidir; buna geç karar vermesi durumunda yeniden ısınmanın tamamlanması uzayacak, erken karar vermesi durumunda ise hipotermi koruyucu etkisi erken sonlanacaktır. Hızlı bir yeniden ısınma; iyi perfüze olan organlar ile periferik vazokonstrikte organlar arasında sıklıkla büyük sıcaklık gradiyentine neden olur, bu da daha sonra dengelenmeye bağlı olarak santral sıcaklığın yeniden düşmesi ile sonuçlanır. Bu sırada bir vazodilatör ilacın (nitroprussid veya nitrogliserin) kullanılması, yeniden ısınmayı daha hızlı ve homojen yaparak büyük sıcaklık gradiyentlerini azaltır. Ayrıca, yeniden ısınmanın hızlı olması kan akımındaki gazların eriyirliğini azaltacağından hava

kabarcıklarının oluşmasına neden olabilecektir. Yeniden ısınma döneminde kalpte fibrilasyon gelişirse, hemen defibrile edilmelidir. Akciğerlerin inflasyonu, sol kalbe kan dönüşünü sağlayarak pulmoner damarlarda sıkışan havanın da çıkarılmasını kolaylaştırır. Transözofageal ekokardiyografi, intrakardiyak havanın tespitinde yararlı olur. Akciğerlerin yeniden şişirilebilmesi, normal hava yolu basınçlarının üzerine çıkılmasını gerektirir. Bu durum bazen internal mamariyan arter greftini rahatsız edebilir.

CPB'dan ayrılabilmek için genel kurallar şunlardır:

-Santral vücut sıcaklığı en azından 37 °C olmalıdır.

-Stabil bir ritim (tercihen sinüs) oturmuş olmalıdır. Bazen AV pacing gerekli olabilir. AV blok ısrar ediyorsa, serum K⁺ düzeyi ölçülmelidir. Hiperkalemi varsa; kalsiyum, NaHCO₃ veya glikoz-insülin ile tedavi edilmelidir.

-Kalp hızı yeterli olmalıdır (genellikle 80-100 vuruş/dk.). Yavaş kalp hızı genellikle hızlı olmasından daha büyük bir problemdir ve pacing ile tedavi edilmelidir. Bazı olgularda izoproterenol gerekli olabilir. Supra-ventriküler taşikardi ise genellikle kardiyoversiyon gerektirir.

-Laboratuvar değerleri kabul edilebilir sınırlar içinde olmalıdır. Anlamlı asidoz ve hiperkalemi tedavi edilmeli; Hct, %22-25 arasında olmalıdır.

-% 100 oksijen ile yeterli ventilasyon başlatılmış olmalıdır.

-Tüm monitörler yeniden kalibre edilmiş olmalıdır.

CPB (Kardiyopulmoner bypass) dan ayrılma

Kardiyopulmoner Bypass'ın sonlandırılması; sistemik arter basıncı, ventrikül doluş volümleri ve basınçları ve CO değerlendirilerek yavaş yavaş yapılmalıdır. Santral aortik basınç sıklıkla ölçülür ve radyal arter basıncı ile korale olup olmadığı kontrol edilir. Ventriküler volüm ve kontraktilite gözle değerlendirilirken doluş basınçları; santral venöz, pulmoner arter ve sol atrium kateterleri ile doğrudan ölçülebilir. CO, termodilüsyon ile

ölçülür. TEE de odacıkların volümleri, kontraktiliteleri ve valvüler fonksiyon hakkında değerli bilgiler verir.

Ayrılma: Önce vena kava etrafındaki teyp kaldırılır ve daha sonra venöz dönüş hattı yavaş yavaş klempe edilir. Çalışan kalp dolmaya başladıkça ventriküler ejeksiyon da başlar. Arteriyel basınç yükseldikçe de pompa akımı yavaş yavaş azaltılır. Venöz hat tamamen oklüde edildiğinde ve arteriyel basıncın yeterli olduğuna karar verildiğinde (>80-90 mmHg) pompa akımı durdurulur ve hasta değerlendirilir. Bu sırada hastalar, aşağıdaki dört gruptan birisi içinde yer alır.

Tablo 2. CPB sonrası hemodinamik alt gruplar

	Grup I (Normal)	Grup II (Hipovolemi)	Grup III (Pompa yetersizliği)	Grup IV (Hiperdinamik)
Doluş basınçları	Düşük	Düşük	Normal, yüksek	Düşük
Kan basıncı	Normal	Düşük	Düşük, normal	Düşük
Kardiyak output	Normal	Düşük	Düşük	Yüksek
SVR	Normal	Yüksek	Yüksek	Düşük
Tedavi	Yok	Volüm	İnotrop, niprus, IABP	Vazokonstriktör

Ventrikül fonksiyonu iyi olan olgular, genellikle iyi bir kan basıncı ve kardiyak output oluştururlar ve CPB'dan hemen ayrılabilirler. Hiperdinamik hastalar da CPB'dan hızla ayrılabilir, bu hastalar CPB'dan çıkışta düşük bir SVR, iyi bir kontraktilite ve doluş basınçlarına ve düşük bir kan basıncına sahiptirler. Tanı, CO ölçümü ile konulabilir.

Hipovolemik olgular, ventrikül fonksiyonu normal olan olgular ile bir miktar bozulmuş olan olgulardan oluşur. Miyokardiyal fonksiyonu iyi korunmuş olgular, aort kanülünden verilen 100 ml bolus pompa kanına iyi yanıt verirler. Her bolus ile kan basıncı ve CO yükselir ve giderek daha stabil hale gelir. Bu hastaların çoğu, LV dalış basıncı 10-15 mmHg'nın altında iken iyi bir kan basıncı ve CO değerini koruyabilirler. Volüm infüzyonu ile kan basıncı veya CO değerleri yükselmeyip doluş basınçları 10-15 mmHg'yı asmakta olan olgularda, ventrikül fonksiyonundan bozulmadan kuşkulandırılmalıdır.

CPB'dan çıkışta tembel, zayıf kontraksiyon gözlenen kalp giderek distandü olmaya başlar (pompa yetersizliği). Bu olgularda, CPB'a yeniden girilirken inotrop destek başlatılır. SVR yüksek ise, nitroprusid ile afterloadun azaltılmasına çalışılır. Hasta; atlanmış bir iskemi (greftin kink yapması, koroner vazospazm), valvüler disfonksiyon, şant veya RV yetersizliği yönünden yeniden değerlendirilmelidir. Tanıda TEE yardımcı olabilir. Eğer inotrop ve afterload azaltılması yetersiz kalırsa , intra aortik balon kontrapulsasyon (IABCP) başlatılır ve yeniden CPB'dan ayrılma (weaning) denenir. IABCP' un etkinliği, önemli ölçüde balonun inflasyon ve deflasyonun zamanlamasının uygun olup olmamasına bağlıdır. Afterloadu azaltmak için LV ejeksiyonundan hemen önce maksimum balon deflasyonu sağlanmalıdır.

Inotrop, miyokardın oksijen gereksinimini arttırdığından bypasstan çıkışta rutin olarak kullanılmamalıdır. Kalsiyumun da rutin kullanımı, benzer şekilde iskemik zararlanmaya ve koroner spazma (özellikle operasyon öncesinde kalsiyum kanal blokeri alan olgularda) neden olabilir. Sık kullanılan inotrop ve vazopressörler Tablo-3'de verilmiştir. Dobutamin ve dobutamin bunlar arasında en sık kullanılanlardır. Dobutamin, dopamin'in aksine doluş basınçlarını arttırmaz ve daha az taşikardi oluşturur. Öte yandan, sadece dopamin (düşük dozlarda) renal kan akımını düzeltir. Amrinon, selektif bir fosfodiesteraz tip III inhibitörü olup anlamlı arteriyel ve venodilatör özellikleri olan kuvvetli bir inotropdur. Diğer inotropların aksine miyokardın oksijen gereksinimini arttırmadığı kabul edilir, çünkü kalp hızını doğrudan arttırmaz, LV afterloadunu azaltır. Amrinon ve katekolamin kombinasyonu, sinerjistik inotrop etki gösterir. Klinik olarak epinefrin de potent inotropdur ve diğerleri yetersiz kaldığında sıklıkla etkili olur, düşük dozlarda agonist etkisi barizdir.

Özetle, **By-pass'tan ayrılmaya hazırlık listesi** şöyledir:

1. Hava tahliyesi tamamlanmalı

2. Isıtma tamamlanmalı

Nazofarengal ısı 36 – 37⁰ C

Rektal/mesane ısı 35 – 37⁰ C

3. Anestezi derinliği ve kas gevşemesi sağlanmalı

4. Kardiyak hız ve ritm stabil olmalı (gerekliyse pace-maker kullanılmalı)

5. Perfüzyon basınçları ısıya uygun düzeyde olmalı

6. Metabolik parametreler

Arteriyel pH, pO₂, pCO₂ normal sınırlarda olmalı, Hct : % 20 – 25 olmalı, K⁺ 4.0 – 5.0 mEq/l olmalı, yeterli iyonize kalsiyum

7. Monitorizasyon gözden geçirilmeli

Transducer'lar yeniden sıfırlanmalı, TEE (eğer varsa) freeze modundan çıkarılmalı

8. Respirasyon ve ventilasyon

Atelektaziler açılmalı, akciğerler ekspanse edilmeli, pnömotoraks olup olmadığı değerlendirilmeli, torasik kaviteledeki rezidüel sıvı drene edilmeli, ventilasyon % 100 O₂ ile sağlanmalı

9. IV sıvılar yeniden başlamalı

10. İnotrop – vazopressör – vazodilatör preparatlar hazır olmalı

11.EKG kabul edilebilir durumda olmalıdır.

Sonuç olarak; tüm aşamalar, gözden geçirildi ve tamamlandı ise by-pass'dan çıkılabilir. CPB kademeli olarak venöz hattın klemplenmesi ve bu yolla rezervuara venöz dönüşün engellenmesi ile sonlandırılır. Eş zamanlı olarak perfüzyonist arteriyel pompanın hızını yavaşlatır. Böylece arteriyel kanül yoluyla hastaya kademeli olarak kan verilmiş olur. Venöz rezervuardaki kan hacmi işlem ilerledikçe düşer. PCWP, CVP, kalbin gözle incelenmesi ve TEE ile yeterli preload sağlandığına karar verilirse transfüzyon sonlandırılır.

2.3.4.Kardiyopulmoner Bypass Sonrası Dönem

Bypass sonrası dönemde; kanama kontrolü yapılır. Antikoagülasyon sonlandırılır ve göğüs kapatılır. Kanamanın, özellikle kalbin posterior yüzünden gelen kanamanın kontrolü kalbin kaldırılmasını gerektirdiğinden ciddi hipotansiyon nedeni olabilir. Operatör, hipotansiyonun ciddiyeti ve süresi hakkında yapılmalıdır. Önce atriyal kanüller çıkarılır, aortik kanül ise pompada kalan kanın hızla verilmesine olanak sağlamak için bir süre daha yerinde bırakılır. Pek çok olguda bypassın sonlandırılmasının ardından ilave kan replasmanı gerekli olur. Kan kolloid ve kristaloid uygulaması, dalış basınçları ve bypass sonrası Hct değerlerine göre yönlendirilir. % 27-30 civarında bir Hct'e ulaşılması uygun olur. CPB rezervuarında kalan kan, aortik kanül (eğer hala yerinde ise), bir sell-saver cihazı veya intravenöz olarak hastaya verilebilir. Sık ventriküler ektopiler, lidokain veya prokainamid ile tedavi edilmelidir. Bu sırada görülecek ventriküler fibrilasyona dönüşebilir.

2.3.4.1.Antikoagülasyonun Sonlandırılması

Hemostazın yeterli olduğuna karar verildiğinde hasta da stabil ise, protamin ile heparinin etkisi geri döndürülür. Genellikle her 100 ü heparin için 1-1.3 mg protamin uygulanır. Protaminin yeterliliği, ACT tayini ile kontrol edilmelidir. 50 100 mg ilave protamin bazan gerekebilir. Aşırı dozda verildiğinde protamin'in kendisinin de antikoagülan özelliği (heparinin 1/100'ü kadar) vardır. Protamin uygulaması, allerjik veya idiyosenkrazik reaksiyonlara bağlı gibi görülen çeşitli hemodinamik problemlere neden olabilir. Yavaş uygulandığında genellikle bu etkiler minimal iken bazan akut sistemik vazodilatasyona bağlı hipotansiyon ve anlamlı pulmoner hipertansiyon oluşabilir. Protamin içeren insülin kullanan diyabetiklerde protamin uygulaması ile allerjik reaksiyonların oluşma riski artar (71).

Bypassı takiben ısrar eden kanamalar genellikle uzun sürmüş (> 2 saat) bypasstan sonra görülür ve multifaktöryeldir. Kanayan sahaların yetersiz cerrahi kontrolü, heparinin yetersiz antagonizması, reheparinizasyon, trombositopeni, platelet disfonksiyonu, atlanmış preoperatif hemostatik defektler, ya da yeni oluşan defektler sorumlu olabilir. Protamin uygulamasından sonra ACT, kontrol değerine dönmeli, gerekiyorsa ilave protamin yapılmalıdır. Heparin etkisi yeterli olarak geri döndürüldükten sonra bile reheparinizasyon (heparin rebound) gelişebilir. Bu durum, heparinin protaminden ayrılıp yeniden periferik

kompartmana ya da periferde bağlı bulunan heparinin santral kompartmana dönüşü ile oluşabilir. Yeterli cerrahi hemostaza ve normal bir ACT değerine rağmen sızıntılar devam ediyorsa, trombositopeni veya trombosit fonksiyon bozukluğu düşünölmelidir. Her ikisi de CPB'in bir komplikasyonudur. Trombosit sayısını, 40.000, 60.000 / μ L üzerine çıkarmak amacıyla trombosit infüzyonu gerekli olabilir. Kalitatif trombosit defektlerini düzeltmek amacıyla desmopressin (DDAVP) kullanılabilirse de etkinliğine ilişkin araştırmalar henüz yeterli sayıda değildir. Nadiren dissemine intravasköler koagölöpati ve fibrinoliz ile karşılaşılabılır. Tanı; fibrinojen, PT ve PTT seviyesinin tayini ile konulur. Bu olgularda, taze donmuş plazma veya kriyopresipitat kullanılabilir. Aminokaproik asit, aprotinin veya traneksamik asit de bazı olgularda elektif olabilir.

2.3.5.Postoperatif Dönem

Hastaya, cerrahinin tipine ve kliniğin tercihine bağlı olarak postoperatif dönemde 2-24 saat süreyle mekanik ventilasyon uygulanır. İlk bir kaç saat süreyle dikkat, hemodinamik stabilite ve postoperatif kanamanın monitörizasyonuna sarfedilmelidir. Bir hemostatik defekt olmadıkça, ilk 2 saatte 250-300 ml/saati aşan drenaj olması (göğüs tüpünden) sıklıkla cerrahi reeksplorasyon gerektirir. 100 ml/saati aşan drenajlara da özel bir dikkat sarfedilmesi gerekir. Yeterli drenaj uygulanamamış kanama, kardiyak tamponada neden olabileceğinden acilen göğsünün açılmasını gerektirir.

Hipertansiyon, sık görölen bir postoperatif problemdir ve kanamayı ya da miyokardiyal iskemiye arttırmaması için acilen tedavi edilmelidir. Bu amaçla kullanılabilir en iyi ajan nitro-gliserindir. Daha uzun etkili ilaçlar veya beta adrenerjik blokerler, ventriköl fonksiyonu iyi olan olgularda daha uygun olabilir. Sıvı replasmanı, doluş basınçlarına göre yönlendirilmelidir. Pek çok hastada operasyonu takib eden saatlerde volüm gereksinimi devam eder. İntraoperatif diüretiklere bağlı olarak hipokalemi sıklıkla gelişir ve potasyum replasmanı gerektirir.

2.4.Hastanın Kardiyopulmoner Bypassa Yanıtı

Hastanın kardiyopulmoner bypassa yanıtı karmaşıktır. Bu yanıtlardan bir kısmı ameliyat sırasında bir kısmı da ameliyattan sonra olur. Ameliyat sırasında kolayca tanınan durumları beş başlık altında inceleyebiliriz.

2.4.1. Sistemik Damar Direnci

Normotermik ya da hafifçe hipotermik CPB'de, sistemik damar direnci aniden düşer. Sonra CPB süresince dereceli olarak artar. Hastadan hastaya sistemik damar direnci ve perfüzyon sırasında sistemik arteriyel kan basıncı çok değişiklik gösterir. Koroner arter hastaları CPB sırasında, özellikle yüksek damar direnci geliştirmek eğilimindedirler. Kardiyopulmoner bypass sırasında derin hipotermi olduğunda, sistemik damar direnci normotermik ya da hafif derecede hipotermik bypasstan daha fazla düşer.

Kardiyopulmoner bypass sırasında sistemik damar direncine farmakolojik müdahale çok tartışılmıştır. Normotermik ya da hafif hipotermik CPB sırasında arteriyel kan basıncı 55 mm Hg'nın altına düştüğünde, beyin kan akımının istenenden çok daha az olduğu öne sürülmüştür. Isıtma sırasında birkaç dakikadan uzun bir süre düşük kalırsa, cerrah farmakolojik olarak sistemik damar direncini ve böylece arteriyel kan akımını artırmaktadır. Böylece koroner kan akımı daha yeterli hale gelmektedir. Perfüzyon akım hızını ısıtma sırasında artırmak, arter basıncını artırmakta etkisizdir. Kardiyopulmoner bypassın bu döneminde sistemik damar direnci çok yükselirse, ortalama arteriyel kan basıncı 100 mm Hg'nın üzerine çıkar; cerrahlar, farmakolojik olarak, basıncın bu düzeyin altında tutulması gereği ne inanmaktadırlar.

2.4.2. Tüm Vücut Oksijen Tüketimi

Kardiyopulmoner bypass sırasında VO_2 temelde perfüzyon akım hızı ve hastanın ısısı ile belirlenir ise de, hastanın biyolojik yanıtı da bir etkendir. Bu olayın tam niteliği henüz bilinmemektedir.

2.4.3. Karışık Venöz Oksijen Düzeyleri

Karışık venöz oksijen düzeyleri perfüzyon akım hızının değişkenlerine bağlı ise de

perfüzatın hemoglobin konsantrasyonu ve arteriyel oksijen basıncı ile de ilgilidir ve hastanın VO_2 'ye yanıtına bağlıdır. Ayrıca VO_2 'yi etkileyen 2,3-difosfogliserat (kırmızı kan hücrelerinde) ve pH gibi kısmen kontrol edilebilen değişkenlere de bağlıdır. Bu ilişkiler Fick denklemi ile ifade edilir.

Mikrodolaşımın çoğunun perfüze olduğu bilindiğinde, karışık venöz oksijen düzeyleri ortalama doku oksijen düzeyini yansıtır. Böylece CPB sırasında karışık venöz oksijen düzeyleri kısmen normal (PVO_2 30 ile 40 mm Hg, SV m %60 ile 70) ve VO_2 kısmen normale, doku oksijen düzeyleri kısmen normaldir ve tam vücut perfüzyonu hastanın metabolik gereksinimini karşılar.

2.4.4. Metabolik Asidoz

Temelde laktik asidemiden oluşan metabolik asidoz, CPB de dahil olmak üzere, sistemik kan akımını akut olarak azaltır. Kardiyopulmoner bypass kullanılarak yapılan ameliyatlarda kan laktat konsantrasyonunda önemli bir artış vardır; fakat önerilen perfüzyon akımları sağlandığında bu konsantrasyon 5 mmol/l'yi aşmaz.

2.4.5. Katekolamin Yanıtı

Dolaşımdaki katekolaminlerin CPB'ye yanıtı pek çok grup tarafından araştırılmış ve sonuçlar tartışmalı olarak alınmıştır. Günümüzde CPB sırasında bol miktarda epinefrin salgılandığı bilinmektedir (birincil olarak adrenal medulladan). Kardiyopulmoner bypass başlangıcından hemen sonra plazma epinefrin düzeyleri yükselir ve CPB'den sonra düşer. Norepinefrin düzeyleri ameliyattan hemen sonra hipertansiyon gelişen hastalarda yükselir. Bu yükselme genel sempatik sinir sistemi deşarjına bağlıdır. Artan kan norepinefrin düzeyleri CPB sırasında akciğerlerden geçen kan akımında azalmaya bağlıdır; çünkü norepinefrin, temelde akciğerde inaktive olur.

2.5.Kardiyopulmoner Bypassın Hasar Etkileri

Kardiyopulmoner Bypass modern tıbbın harikalarından biridir CPB yapılan hastalarda bir dereceye kadar zarar oluşmaktadır. Ayrıca bypass süresi uzadıkça zarar ortaya çıkma ihtimali de artmaktadır (17). Membran oksijenatörler, arteriyel filtreler, hava dedektörleri ve diğer yenilikler yıllardan beri ciddi zararların miktarını azaltmıştır ve yeni yapılan cihazlar da hastaların güvenliğini arttırmaya devam etmektedirler. CPB 'nin zararlı etkilerini azaltmak için olabilecek hasarları anlamak önemlidir. Perfüzyonistin amacı tanımlanabilen zarar verici durumların ortaya çıkması halinde hastayı normal fizyolojik durumuna geri döndürmektir. Çoğu hastada durum normal olmasına karşın, bazı hastalarda olumsuz durumlar görülebilmektedir. En ağır biçimde CPB'ye bu yan etki postperfüzyon sendromu adını alır ve az yada çok akciğer disfonksiyonu klinik bulgularını içerir. Renal disfonksiyon, anormal kanama diyatezi, enfeksiyona meyil interstisyel sıvı artışı ve lökositoz, ateş, vazokondriksiyon ve hemoliz görülebilir. Ayrıca oksidatif stres adlı kimyasal işlemlerle genetik materyal DNA hasara uğratılarak hücre ölümünü artırılmaktadır.. Yapılan bazı araştırmalar sonucunda bu etkilerin incelenen temel mekanizmalar olmadan da var olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak hem önleme hem de tedavi ampirik kalmaktadır.

2.5.1 Kardiyopulmoner Bypassa Hasar Oluşturan Etmenler

- 1-Kanın anormal olaylarla karşılaşması
- 2-Arterial kan akımı örneklerini bozması
- 3-Yetersiz miyokard perfüzyonu
- 4-Serbest oksijen radikalleri
- 5-Oksidatif stres
- 6-DNA hasarı
- 7-Katekolaminler

8-Aortik kros klemp

9-İlaçlar

10-Reperfüzyon

11-Embolizm

12-Ventriküler distansiyon

13-İnflamatuar yanıt

14-Kompleman aktivasyonu

15-Bypass süresinin uzunluğu

16-Mikrovasküler geçirgenliğinde değişiklikler

Hasar oluşturan etmenlerden bazı başlıklar.

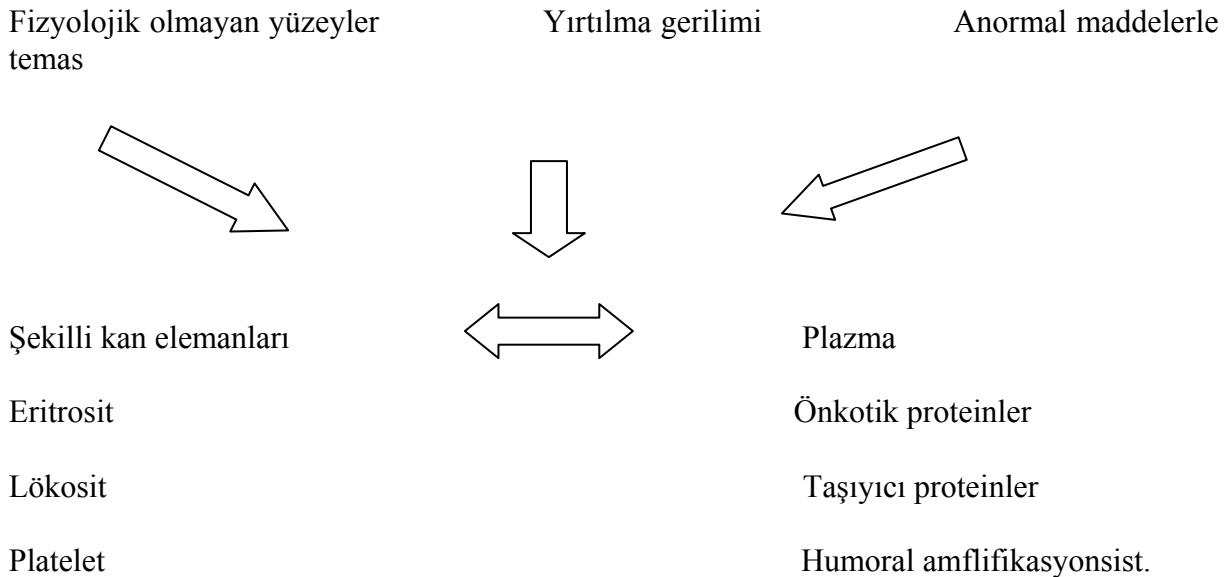
2.5.1.1.Kanın Anormal Olaylarla Karşılılaşması

Kardiyopulmoner bypass sırasında kan üzerindeki nonbiyolojik etkiler endotelial olmayan yüzeylerde temasta olmak, shear stresine maruz kalmak, kabarcık, fibrin partikülleri ve platelet agregatları gibi anormal maddelerle temas etmektir. Diğer bir etki ise temas yüzeyi artıkça nonendotelial yüzeye değen kan miktarındaki hasarın artmasıdır. Böylece en hassas yüzey, büyük bir kan miktarının gaz değişimine verildiği oksijenlenme yüzeyidir. Kabarcık, disk, screen oksijenatörde non biyolojik yüzey gazdır. Membran oksijenatörlerde yüzey genellikle membrandır.Ancak yapılan çalışmalar; hava mikrokabarcıklarının zar yüzeyine yapışma eğiliminde olduğunu ve non biyolojik yüzeyin düşünüldüğünden daha karmaşık bulunduğunu göstermiştir. Diğerleri ısı değiştiricisinin biyolojik olmayan yüzeyleri, çeşitli köpük alıcı, kabarcık alıcı ve filtre aygıtlarıdır. Kanın rezervuarlardaki, tüpler ve kanüllerdeki yüzeyi ufaktır ve daha az kritik olarak değerlendirilir. Nonbiyolojik yüzeylerin “plateletler” doğrudan ve dolaylı etkileri vardır. Böylece, plateletler embolize olur, platelet

sayıları azalabilir ve yapışma ve agregat özelliklerinde aynı anda azalma meydana gelir. Kanın biyolojik olmayan yüzeylere maruz kalması, beyaz kan hücreleri üzerinde birtakım etkilere sahiptir. fakat kesilme stresi en önemli etkidir. "Taşıyıcı proteinler" kanın nonbiyolojik yüzeylere temas etmesiyle hasara uğrar. Taşıyıcı gammaglobülinler yabancı yüzeylerde özellikle kan-gaz değişim yüzeyinde denatüre olur (70).

Şekil 5. Kanın anormal dış etkenlere bağlı olarak hasarlanma mekanizması

Kanın anormal dış etkenlere bağlı olarak hasarlanma mekanizması



(Koagülasyon, fibrinolizin, komplemen)

Koagülasyon faktörleri tüketimi+Platelet hasarı-----Kanama

Lökosit hasarı-----Ateş

Lökosit+Platelet aracılı endotel hasarı-----Ödem

Bradikinin-----Vazokonstriksiyon

Platelet ve fibrin mikroembolisi-----Organ disfonksiyonu

2.5.1.2.Kompleman Aktivasyonu

Vücutun immünolojik hasara, enfeksiyonlara ve travmaya yanıtının temelini oluşturan etkilerden birisi dolaşımdaki glikoproteinlerdir. Kompleman aktivasyonunda iki yol vardır. Klasik yol, genelde antijen-antikor interaksyonu ile başlar, diğer yol olan properdin yolu kanın yabancı yüzeylere teması ile başlar. Kompleman şelalesi bir kez aktive olunca güçlü "anafilatoksinlerin" üretimiyle sonuçlanır. Bunlar C3a, C4a ve C5a olarak adlandırılır ve damar geçirgenliğini artırır, düz kas kontraksiyonuna neden olur, beyaz hücre kemotaksisine aracılık eder, beyaz kan hücreleriyle agregasyonu ve enzim salınımını kolaylaştırır (15). Kompleman aktivasyonu CPB'siz ameliyatlarda da görülmekle birlikte, aktivasyonun boyutu CPB ile olduğundan çok daha azdır (15,41,68). Sonuçta; Kompleman aktivasyonu, bazofil ve mast hücre uyarımı kapiller permeabiliteyi artırarak vazodilatasyona neden olur (60,17).

2.5.1.3. Mikrovasküler Geçirgenlikte Değişikler

Kalp ameliyatlarından sonra ekstravasküler sıvı artışındaki artışın doğrudan CPB süresine bağlı olduğu yapılan bazı çalışmalarla ortaya çıkmıştır. Royston ve arkadaşları (1985), Tc^{99m} ile işaretlenmiş dietilentriamin-penta-asetat (DTPA) ile yaptıkları çalışmada, CPB'de akciğer alveoler-kapiller bariyerinin geçirgenliğinin arttığını gösterdiler (102).

2.5.1.4.Serbest Oksijen Radikalleri

Oksijenden türeyen radikaller; krosklampli iskemik dönemde ve reperfüzyon un erken dönemlerinde oluşan oksijenin değişikliğe uğramış molekülleridir. Reperfüzyon safhası tam krosklempin kaldırıldığı ve kalbe yeniden kan akımının başladığı zamandır. Oluşan kimyasal reaksiyon oksijen molekülünün dış yörüngesine tek bir elektronun eklenmiş olmasıdır. Sonuçta oluşan serbest oksijen radikalleri birçok şekilde zararlı etkiye sebep olurlar. Bu radikallerin hücre membranında ve miyokardda hasar yaptıkları gösterilmiştir. Bu radikallerin sonucu olarak kalpte birçok zararlı etkilerinin olduğu ortaya çıkmaktadır. Etkiler arasında aritmiler de görülmektedir.

Kardiopleji solüsyonunun düzenlenmesindeki amaçlardan biri de radikalleri zararsız hale getirecek koruyucuları yapmaktır. Mevcut koruyucuların sonuçları koruyucu etkilerine

göre değerlendirilir. Yine de birçok araştırmacı kardioplejiye SOD (Süperoksit Dismutaz), MPG, katalaz, allopurinol veya oksipurinor, gibi koruyucuların eklenmesinin yararlı olacağını düşünmektedirler.

2.5.2 Kardiyopulmoner Bypassa Etkilenen Organlar

2.5.2.1 Akciğerdeki Sonuçlar

Akciğerlerde oluşan hasar CPB'nin en sık hasarıdır. Cerrahi insizyona bağlı olarak göğüs duvarının bütünlüğü ve mekaniği bozulmaktadır. Solunum membranlarının kalınlığı sadece 6 mikrondur. Akciğerlerin bypas yapılmasındaki etki kendisini anormal fizyolojik koşullarla karşı karşıya bırakmaktadır. Pompa süresi uzadıkça akciğerde bozukluk olma ihtimali artmaktadır. Akciğerler ayrıca; pompa hatlarının yol açtığı temas aktivasyonuna bağlı kanda oluşan İnflamatuvar cevaplara da özellikle maruz kalmaktadır. C3a ve C5a' nın kompleman aktivasyonu lökositlerin aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu da nötrofillerden proteolitik enzimler ve serbest oksijen radikallerinin salınmasıyla akciğerlerde lökoembolizasyona sebep olur. Pompa akciğeri (interstisyel ödem, atelektazi ve alveol içi ödem ile konjesyon olan akciğerler) akut solunum yetmezliğinin bir şeklidir. Akciğerlerde kapillerlerden kaçığa yol açan artmış damar geçirgenliği kompleman aktivasyonunun, nötrofil araşidonik asit metabolitleri ve diğer faktörlerin sonucunda ortaya çıkmaktadır.(102). Hemodilüsyona bağlı olarak kolloid ozmotik basınçta (COP) azalma da interstisyel pulmoner ödemin oluşmasına katkıda bulunabilir. Pulmoner damarların aşın dolması sıvı birikimiyle sonuçlanan hidrostatik basınç artışına sebep olabilir.

Atelektazi, kollabe olan akciğer, kalp cerrahisinden sonraki sık bir durumdur. Akciğerler bypas sırasında değişmiş bir durumda bulunmakta (sönmüş, sabit şişirilmiş ya da aralıklı şişirilme) bu da atelektaziye katkıda bulunmaktadır. Hipotermiye bağlı frenik sinir hasarı da pulmoner disfonksiyona neden olabilir.

2.5.2.2.Böbreklerdeki Etkiler (Renal Disfonksiyon)

Bypastan sonra böbreklerde bozulma nispeten sık rastlanan bir olaydır. Yaklaşık olarak kardiak outputun %25'i böbreklere gönderilmektedir. Bypasa bağlı olarak ortaya çıkan dilüsyona bağlı endokrin değişiklikler de böbrek fonksiyonunu azaltabilir. Böbreklerin hasarlı

eritrositleri ve bypas hatlarında hasar görmüş diğer elemanları da filtre etmesi gerekebilir. Eritrositlerin harabiyeti (hemoliz) hemoglobinin plazmaya salınmasına sebep olur. Bu da hemoglobin silindirlerine yol açabilir. Serbestleşen hemoglobin miktarı çok fazla olursa böbrek filtre edilen hemoglobini reabsorbe edemez ve hemoglobinuri ortaya çıkar. Akciğerlerde olduğu gibi postop yetmezliğin en iyi göstergesi preoperatif kötü renal fonksiyondur. Uzamış bypass süresi ve pompa prime'ına fazla miktarda albumin eklenmesi böbrek fonksiyonlarına kötüleştirici yönde etki eder.(1)

2.5.2.3.Nörolojik Etkiler

CPB sonrasında bir miktar nörolojik bulguya rastlanabilmektedir. Bunlar genellikle minimal bulgular olup devam eden bir soruna yol açmazlar. Bununla birlikte vakaların ufak bir yüzdesinde de olsa ciddi kalıcı hasarlar ortaya çıkabilir. Kalıcı olan hasarlar genellikle embolik bir olayın sonucunda (serebrovasküler olay, felç) olmaktadır (109). Beyindeki emboli hava, kan pıhtısı, yağ, aterom, kalsifik döküntüler veya hatlardaki döküntülerin arterleri tıkaması ve beynin etkilenen bölgesine oksijen gitmemesi sonucunda olmaktadır. Hava embolisi öncelikle hızlı erimeyen azot yüzünden olmaktadır. Bu da pompa hatlarının yüksek oranda eriyebilen CO₂ ile flush (yıkama) yapılmasının sebebidir. Hava embolisinin göstergeleri felç, kardiak aritmiler ve ventrikül disfonksiyonu olmasıdır. Bu olayların üçte ikisi intraoperatif olarak meydana gelmekte ve diğer vakalarda da postopda oluşmaktadır. Birçok nörolojik hasarın sebebi olarak kanülasyon ve aortanın klemplenmesine bağlı emboli düşünülmektedir.(70)

2.5.2.4.Hematolojik Etkiler

Hastanın kanının perfüzyon hatlarına temas etmesi ve sistemik heparinizasyonun uygulanması kanda ve pıhtılaşma özelliklerinde değişikliklere sebep olur. Postoperatif dönemde hastada plazma serbest hemoglobinin olması bypasta eritrositlerin harabiyetini gösterir. Prime solusyon ile dilüsyon yapılması da kanı etkileyen diğer bir önemli faktördür.

Perfüzyonistler tekrar operasyona alınıp CPB'a girilen hastalarda kan ürünlerinin kullanılabilmesine dikkat etmelidirler. Postoperatif kanama kalp cerrahisinde sık rastlanan bir komplikasyondur. Postoperatif kanama dolayısıyla tekrar ameliyathaneye alınan hasta oranı % 5 kadar yüksek olabilmektedir. Pıhtılaşmayı etkileyen daha önceden mevcut hastalıklar ya da aspirin gibi bazı ilaçlar kalp cerrahisinde özellikle risk taşımaktadırlar. Karaciğer hastalığı, üremi ve diğer hastalıklar hastayı pıhtılaşma bozukluğu ile karşı karşıya bırakabilirler. Heparinin nötralize edilemediği hastalarda bu da postop kanamanın sebebi olabilir. CPB 'den sonra heparinin tam olarak nötralize edilmesi kanamayı önlemek için önemlidir. Heparinin nötralize edilmesinde bir şüpheli durum varsa ilave protamin yapılması da gerekli olabilir. Trombosit fonksiyon bozukluğu bypassın dilüsyonel etkisiyle veya kanın hava ve pompa hatlarındaki diğer materyallerle temasına bağlı olarak ortaya çıkabilir. Yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC) bypass sonrası nadir rastlanan bir durumdur. Bu ciddi hastalıkta pıhtılaşma faktörleri uygun olmayan şekilde harcanmakta ve sistemik kanamalar ortaya çıkmaktadır. Pompa hatlarına temas sonucunda fibrinoliz ortaya çıkar. Heparin fibrinolizi inhibe eder ve önemli komplikasyonları engellemek için uygun düzeyde aktive edilmiş pıhtılaşma zamanını sürdürmek gereklidir.

2.5.2.5.Kompleman Sistemine Etkiler

Kompleman sistemi infeksiyonlara ve yabancı cisimlere karşı antikorlara bağlanarak işlev gören karmaşık yapıları proteinlerdir. Ciddi allerjik reaksiyonlar kompleman sistemini de ilgilendirebilirler. Kompleman proteinleri birbirine ardışık olarak reaksiyona girerler ve birçok immün cevabı ortaya çıkarırlar. Kompleman sisteminin uygun olmayan şekilde aktivasyonu hastaya zarar verebilir. Damar geçirgenliğini arttıran, ödem, düz kas kasılmalarına yol açan anaflatoksinler ortaya çıkabilir. Beyaz kan hücrelerinin inflamasyon yerine gitmelerini sağlayan, lizozomal enzimlerin ve dokuların zarar veren toksik serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına yol açan kemotaktik faktörler de oluşabilmektedir.

Otoimmün hemolitik anemi gibi vakalarda olduğu gibi eritrositler de kompleman aktivasyonu sonucunda parçalanabilirler. Bypass devreleri de belli ölçüde kompleman aktivasyonuna sebep olmaktadır. C3a ve C5a anaflatoksinlerinin oluşması nötrofillerin damar duvarına göç etmesine sebep olmaktadır. Araşidonik asit metabolitleri de salınmakta ve damar geçirgenliğinin artmasına sebep olmaktadır. Bu da akciğerlerde kapillerlerden

kaçağa yol açmaktadır.

2.5.2.6.Endokrin Sistemdeki Etkiler

CPB, plazmadaki hormon ve vazoaktif maddelerin düzeylerindeki artışla belirginleşen majör bir stres yanıt oluşturur. Hipotermi, hemodilüsyon, nonpulsatil akım; insülin, prostoglandin, renin ve katekolaminlerin salınımını provoke eder. CPB'ye cevap olarak T₃ azalır. T₃ bazı ekipler tarafından bypass normal şekilde çıkması sağlanamayan hastalar için kullanılmaktadır. Bypassa geri dönüldüğünde verilmekte ve başarılı olunursa iyileşme döneminde de devam edilmektedir.

İnsulin pankreas tarafından artmış glikoz seviyesine cevap olarak salınan bir hormondur. İnsulin glikoz metabolizmasını ve yağ, karbonhidratlar ile proteinler için gerekli olan diğer olayları düzenler. Glikozun hücre içine taşınması insülin tarafından sağlanır. Hipotermik bypass sırasında insülin cevabı azalır ve glikoz düzeyi yükselir. Isınma safhasında ise insülin cevabı artmaktadır. Hiperglisemi bypass sonlandırıldıktan sonra bir- iki saat daha sürmektedir.

2.5.2.7.Karaciğerde Etkiler

Milton Hersey Tıp Merkezinde yapılan çalışmalarda bypass sırasında pompa akımının en az 2,2 L/m²/dak olması halinde karaciğerde. oksijen tüketiminin sürdüğü gösterilmiştir. Bypass sonrasında karaciğer enzimleri genellikle artmıştır ve muhtemel karaciğer hasarını gösterebilirler. Diğer organlarda olduğu gibi, uzamış bypass süresi hasarın artmasına yol açmaktadır. Bazı hastalarda cerrahiden sonra sarılık olabilmektedir. Bu, karaciğer hasarının sonucunda olabileceği gibi kan verilmesine ya da kanda travmaya bağlı aşırı bilirubinden de kaynaklanabilir. Bu sarılık genellikle sınırlı kalmakta ve bir hafta içinde geçmektedir.

2.5.2.8.Gastrointestinal Etkiler

En sık bildirilen gastrointestinal komplikasyonlar gastrointestinal hemoraji, intestinal obstrüksiyon ya da perforasyon, bilier traktus hastalıkları, mezenterik iskemi, pankreatitdir.

Risk faktörleri hastanın yaşı, uzamış by-pass ve kros klemp süresi, reoperasyon, düşük kardiyak outputdur. (vazopressör ya da intraaortik balon pompası kullanımı gerektiren durumlar.)

2.5.2.9.Miyokardiyal Etkiler

Kardiyopulmoner bypass sırasında etkilenen en önemli hasarlardan biri miyokard hasarıdır. Bu hasara neden olan etmenler; yetersiz miyokard perfüzyonu, ventriküler distansiyon, ventriküler kollaps, koroner embolizm, katekolaminler, aortik kros klemp ve reperfüzyon sayılabilir.

CPB 'nin Zararlı Etkilerinin Özeti

Akciğerlerde; Atektazi, hücreler arası sıvı artışı, azalmış surfaktan üretim, lökosit embolizasyonu.

Böbreklerde; Glomerülasyon hızının azalması, böbreklerde emboli, böbrek yetmezliği.

Nörolojik etkiler; Serebral emboli, serebral kan akımının azalması, serebral kanama, felç, geçici yetmezlikler.

Hematolojik etkiler; Heparin rebound 'una bağlı pıhtılaşma bozukluğu Azalmış trombosit sayısı ve fonksiyonunda azalma, hematokrit azalması, serum elektrolitlerinde azalma

Kompleman sistemi; C3a ve C5a anaflatoksinlerinin oluşması, araşidonik asit metabolitlerinin sağınımı, serbest oksijen radikallerinin salınımı

Endokrin etkiler; Katekolamin artışı, ADH (vazopressin) artışı, renin. angiotensin ve aldosteron düzeylerinin anışı acth azalması, T₃ tiroid uyarıcı hormonun azalması, insulin cevabının azalması ve kan glikozunun artması.

Karaciğer; Karaciğer enzimlerinin artması, sarılık

2.6. CPB (Kardiyopulmoner Bypass) ve İmmün Yanıt

Kardiyak cerrahi sonrası başlayan immün yanıt, organ disfonksiyonu ile birlikte postoperatif mortalite ve morbiditeyi etkilemektedir. Yenidoğanlarda ve pediatrik hasta grubunda, erişkinlere göre daha belirgin bir yanıt söz konusudur. Bu yanıtın başlaması ve/veya sürmesinde katekolaminler, nötrofiller, kompleman sistemi, aktiflenen nötrofillerden salıverilen sitokinler, iskemi-reperfüzyon sürecinde açığa çıkan serbest oksijen radikalleri, endotel hasarı, kallikrein kaskadı, endotoksin salıverilmesi rol almaktadır. Proenflamatuvar sitokinler olarak adlandırılan TNF , IL1, IL6, IL8 açık kalp cerrahisi sonrası sistemik enflamatuvar yanıtın tanısında sıklıkla kullanılmaktadır. IL10 ise CPB'tan 2saat sonra yükselmeye başlayan antienflamatuvar bir sitokindir. Prokalsitonin artışı postoperatif morbidite ile bir korelasyon göstermekle beraber, şüpheli veya belgelenmiş enfeksiyon varlığında daha yüksek düzeylere çıkmaktadır.

Olayın tetiklenmesinde şu etkenlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir:

- Sistemik heparinizasyon
- Vücut dışı dolaşımında yabancı yüzeylerle temas
- Splanknik hipoperfüzyon
- Akut dilüsyonel anemi
- Perfüzyon basıncı ve akım değişiklikleri
- Akciğerlerin dolaşım dışı kalması
- Farklı kan elemanlarının ve kaskadlarının aktiflenmesi

Trillium biopasif yüzeylerin; inflamatuvar cevabı, kan kaybını ve transfüzyon ihtiyacını azalttığı son çalışmalarda gösterilmiştir. Bu biopasif yüzeylerin klinik yararı elde edilememekle birlikte biyokimyasal sonuçlara etkisi olduğu gösterilmiştir (36).

2.7.Kardiyopulmoner Bypass sırasında oluşan oksidatif stres ve DNA hasarı

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

Oksidatif stres oluşturan etmenler

Nonpulsatil akım

Kanın endotelial olmayan yüzeylerde temas halinde olması

Kros klemp ile kalbin kan akımının kesilmesi

Anestezik ilaçlar

Miyokard hasarı

Kompleman sistem

Reperfüzyon

Fizyolojik şartlarda insan vücudunda oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidan defans bir denge halindedir. Yoğun ROS üretimi ya da antioksidan defansın azalması, biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara yol açarak oksidatif strese neden olur. Oksidatif süreçler mitokondriyal enerji kapasitesinde azalma yoluyla hücrenin sonuç olarak ölümüne yol açabilecek bir dizi olayı başlatır. Kardiyak cerrahi sırasında hemen hemen tüm hastalarda bir miktar miyokard hasarı gelişir. CPB sırasında aortik kros klemp, koroner kan akımını tamamen durdurur. Emniyetli bir kros klemp süresini tayin etmek zor olsa da 120 dk'dan daha uzun CPB süreleri arzu edilmez. Bypass sırasında miyokardiyal iskemi, kros klemp'den önce veya sonra da görülebilir Düşük arteryel basınçlar, koroner embolizm (trombüs, platelet, hava, yağ veya Ca) ve kalbin aşırı cerrahi manüplasyonu (koroner damarların kompresyonuna veya distansiyonuna neden olarak) buna katkıda bulunabilir. İskemi, yüksek enerjili tosfat tüketimine ve intrasellüler Ca birikimine yol açar. Ca, kontraktıl proteinler üzerine etkisi ile enerji tüketimini daha da artırır. CPB sırasında normal hücresel bütünlüğün sürdürülmesi, enerji gereksiniminin azaltılmasına ve yüksek enerjili fosfatların korunmasına bağlıdır. Koroner kan akımı kesildiğinde, yağ asidi oksidasyonu bozulur ve kreatin fosfat ile anaerobik metabolizma hücrenin başlıca enerji kaynağı haline gelir. Ne yazık ki bunlar da hızla tükenir, gelişen hızlı asidoz da glikolizi sınırlar. Ayrıca ekstrakorporeal dolaşım miyokard ödemi artırır. Bu patolojinin gelişiminde proinflamatuvar mediyatörlerin aktivasyonunun önemi vardır. Bu medyatörler değişik yollarla aktive olarak nötrofilleri, trombositleri ve damar endotelini etkileyerek hidrojen peroksit, miyeloperoksidaz ve elastaz gibi enzimleri salgılar ve miyokard hasarı geliştirirler.

İskemi sonrası ani reperfüzyonla yaşayan hücrelerde tekrar aerobik metabolizmaya geçiş ve hücrelerin “kurtulması” görülmüştür. Dokuda reaktif hiperemi gelişmekte ve bunu sonucu olarak ortaya çıkan substratlar dolaşımında % 400-600 oranında artmaktadır. Bu etki

reperfüzyonun ilk 5 dakikasında görülmekte ve daha sonra giderek azalmaktadır. Bu dönem içinde serbest O₂ radikalleri' de ortaya çıkmaktadır. İskemi- reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan bu fenomenin iskemik dokunun yeniden oksijenlenmesi ile ilişkili olduğu bildirilmekte ve hasarın oluşumundan serbest oksijen radikalleri (SOR) sorumlu tutulmaktadır (22,80) . İn vitro ve in vivo çalışmalarda iskemik miyokarda moleküler oksijenin yeniden ulaşmasının serbest oksijen radikalleri oluşumuna yol açtığı görülmüştür (22,80). Serbest oksijen radikallerinin nötrofiller tarafından üretilip, iskemi-reperfüzyon esnasında endotel hasarına sebep oldukları tespit edilmiştir (93,103). Serbest radikal saldırısı ve hücre zarının tahribatı "Yağların Oksidasyonu" veya "Oksidatif Zarar" olarak adlandırılır.

DNA hidroksil radikallerinin oluşturduğu hasarlara karşı oldukça hassastır: hem DNA zincirinin kırılmasına hem de bazların hidroksilasyonuna neden olabilir. Serbest radikallerin reperfüzyonun ilk beş dakikası içinde salgılandığı bilinmektedir. Serbest O₂ radikalleri proteinlerle, fosfolipidlerle ve tiollerle çok hızlı reaksiyona girerler. Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hatta hücre ölümlerine yol açar. Hidroksil radikalleri bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girerler. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür.

İskemi-reperfüzyon ve oksidatif stres kardiyomiyositlerin ciddi hasarına yol açıp apoptozis ve nekroza neden olabilir. Apoptozis, morfolojik olarak kromatin kondenzasyonu ve biyokimyasal olarak DNA'nın parçalanmasıyla karakterizedir. Nekrozis ise, hücrelerin geri dönüşümsüz ölümü ile karakterizedir. Nekroziste hücre membranının bütünlüğü tam olarak kaybolmuştur (58). Apoptozis bir "hücre intiharı" olarak da adlandırılır. Nekrozdan farkı, apoptozis birkaç zincir reaksiyonu sonucu ortaya çıkar ve enerji ihtiyacı olan bir süreçtir. Apoptozis, iskemiden çok iskemi-reperfüzyon hasarının sonucu olarak ortaya çıkar (42).

2.8.Serbest Radikaller

Kuantum kimyasına göre ancak iki elektron bir bağın yapısına girebilir. Ayrıca iki elektronun ters dönüş doğrultusunda olması gerekir. Yani yukarıya doğru dönen bir elektronun eşi aşağıya doğru dönen bir elektrondur. Elektron çiftleri oldukça kararlıdır ve insan vücudunun neredeyse tüm elektronları elektron çifti halinde bulunur.

Bir bağ koptuğunda elektronlar ya birlikte kalır (ikisi de bir atoma katılır) ya da ayrılırlar (biri bir atoma, diğeri diğerine). Eğer birlikte kalırlarsa oluşan atom bir iyon olur, fakat ayrılırlarsa serbest radikaller oluşur. Bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronları ayıkıp işlerine engel olurlar. Ancak serbest radikaller bazı metabolik olaylar için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel olarak işlev görmektedirler. Bununla birlikte zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur.

2.8.1. Reaktif Oksijen Türleri

Tablo 3. Oksijen türevi bileşikler

<u>Radikaller</u>	<u>Radikal Olmayanlar</u>
Hidroksil (HO \cdot)	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Alkoksil (RO \cdot)	Singlet Oksijen (O ₂)
Peroksit (ROO \cdot)	Ozon
Superoksit (O ₂ \cdot^-)	Hipoklorid
Nitrik oksit (NO \cdot)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO ₂ \cdot)	Peroksinitrit

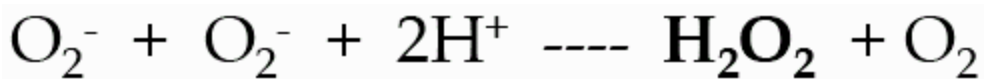
2.8.1.1. Süperoksit Radikalleri(O²⁻)

Süperoksit radikalleri (O²⁻), hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile üretilmektedirler. Süperoksit oluşumu; a-) elektron taşıyıcısının redoks durumuna ve b-) ortamdaki oksijen derişimine bağlıdır. Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikalinin kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir. Ancak süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir (98). Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O₂ ve H₂O₂ demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO[•] radikalini oluşturmaktadırlar.



Üretilen bu OH[•] Radikalleri oldukça reaktif olup DNA gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açar (101).

O₂⁻ radikalleri, hücre içi demir depolarından demiri serbest hale getirir. Serbest hale geçen demir iyonu Haber-Weiss gibi radikal üreten reaksiyonlarda veya diğer serbest radikal aracılıklı hücre hasarında rol oynayabilir. Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip



olup dismutasyon reaksiyonu ile H₂O₂ ve oksijen oluştururlar.

Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelmekte ve reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalizlenmektedir.

2.8.1.2. Hidroksil Radikalleri (OH[•])

Hidroksil radikali (OH[•]), biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Yaşayan canlı hücrelerin başlıca bileşeni su olduğundan bu hücrelerin X-ışını veya gama ışını

gibi iyonize edici radyasyona maruz kaldıklarında su moleküllerinden H[·] ve OH[·] radikalleri meydana gelmektedir.



Hidrojen peroksit (H₂O₂)'nin Fe⁺² ve muhtemelen de Cu⁺² ile reaksiyona girmesiyle de OH[·] radikali oluşmaktadır. H₂O₂ toksisitesinin büyük çoğunluğunun temelinde bu oluşan OH[·] radikali olduğu düşünülmektedir. Bu reaksiyon ilk defa 1894 yılında Fenton tarafından gözlenmiş ve günümüzde de Fenton Reaksiyonu olarak bilinmektedir.

OH[·] radikalleri başta lipid, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) olmak

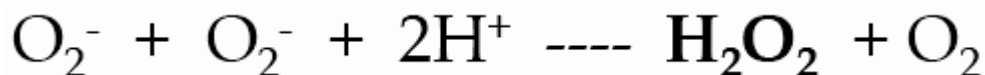
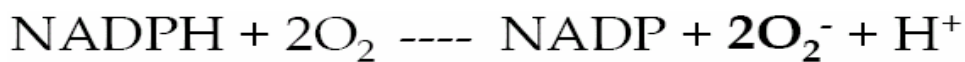


üzere hemen hemen bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. OH[·] radikali DNA da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür. Yine OH[·] radikalleri aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Örneğin: timine katılarak timin radikalini oluşturur ve bu radikal oksijenle reaksiyona girerek son derece reaktif olan timin peroksil radikalini oluştururlar. Bu gibi bir dizi reaksiyona katılabilen OH[·] radikalleri DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (8).

2.8.1.3.Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından aslında bir radikal değildir. Süperoksit anyonunun (O₂⁻) hidrojenle yaptığı reaksiyona Dismutasyon reaksiyonu adı verilir ve Dismutasyon hızı asidik pH değerlerinde hızlanır (88). Reaksiyon şu şekilde ifade edilir;

Bazı enzimler ya tekli (NADPH oksidaz) ya da çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesini katalize ederek O₂⁻ veya H₂O₂ oluşmasını sağlarlar.



2.8.1.4.Hipoklorik Asit (HOCL)

Hipokloröz asit de radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) içinde yer almaktadır. Fagositik hücrelerin bakterileri öldürülmesinde önemli rol oynarlar. Aktive olan nötrofiller, monositler makrofajlar ve eozinofiller süperoksit radikallerini (O_2^-) üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem arz etmektedir. Özellikle nötrofiller miyeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce O_2^- 'in oluştururlar ve daha sonra dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'i meydana getirirler.



2.8.1.5.Singlet O_2 ($O_2^{\uparrow\downarrow}$)

Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmadığından serbest radikal değil ancak serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Singlet O_2 , oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi süperoksit radikalinin dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça olduğu tespit edilmiştir.

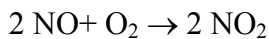
Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle peroksil radikalleri ($ROO\cdot$), alkoksil radikalleri ($RO\cdot$) karbon merkezli radikaller ($R\cdot$) veya tiol radikalleri ($RS\cdot$) oluşur. Bu radikaller oksijenle tekrar reaksiyona girerek yeni serbest radikaller üretirler (30).

2.8.2.Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO⁺, NO⁻)

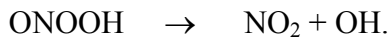
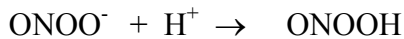
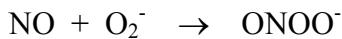
Biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen türevlerinin en önemlisi oksidasyon değeri +2 olan nitrik oksittir. NO; bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır. Bu lipofilik serbest radikal damar endotel hücrelerinde Nitrik Oksid Sintaz (NOS) enzimi

aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NOS'ın birçok izoformu tanımlanmıştır. NO'nun yarı ömrü 10-20 saniyedir. Kolayca düz kasa geçerek Guanilat Siklaz (GC) enziminin "hem" demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. Sentezlenen NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren akonitaz enzimine de bağlanır. Bu enzim hücre içi demir trafiğini kontrol eder. NO, akonitaz enzimine mRNA bağlanmasını artırır ve enzimin aktivitesini düşürür.

NO metabolize olurken moleküler oksijen ile bağlanıp nitrojen dioksidi (NO₂) oluşturur:



NO'nun ROS'leri ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOOH) oluşturduğu ve bunun da ileri dekompozisyonla OH⁻ radikalinin oluşumuna yol açtığı ifade edilmektedir:



OH⁻ radikali ise biyolojik olarak yıkıcı bir moleküldür. Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibi fenolik amino asitleri nitrolayarak toksik nitro- türevlerini (nitrotirozin) oluşturmaktadır. Sonuç olarak NO, endotel hücre disfonksiyonu ve buna bağlı ateroskleroz, hipertansiyon ve DM gibi bazı önemli hastalıklarda rol oynayabilmektedir.

2.8.3. Başlıca Serbest Radikal Oluşum Kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında olduğu gibi çeşitli dış kaynaklı etkilerin etkisiyle de oluşabilir. Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna sebep olurlar. Bunların yanı sıra radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırmaları. Sitokrom P 450, sitokrom b5, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, lipid peroksidasyonu, oksidatif stress yapan iskemi, travma ve intoksikasyon gibi durumlar, mitokondrial elektron transport sistemi (ETS), moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücrel serbest radikalleri oluştururlar (12) .

2.8.3.1.Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

2.8.3.1.1.Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi

Mitokondri'deki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçığının olmasıdır. Beklenilen aksine, oksijenin mitokondri solunumu sırasında bağlandığı ve suya indirgendiği sitokrom oksidaz basamağında radikal yapımı gösterilememiştir. Sitokrom oksidaz Fe:Cu:Zn:Mg atomlarını 2:2:1:1 oranında içeren bir protein olup, süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz aktivitelerine sahiptir. Bu sayede, sitokrom oksidaz üzerinde süperoksit veya H_2O_2 oluşsa bile, içerdiği enzimatik aktivite sayesinde hızla ortamdan temizlenir.

2.8.3.1.2.Endoplazmik Retikulum

Endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P-450 moleküler oksijeni kullanarak bir çok substratı oksitler. Oksijen molekülünün bir atomu substrata bağlanır, diğer atomu ise su oluşturur. Bu reaksiyon monooksijenaz veya karışık fonksiyonlu oksidaz reaksiyonu olarak adlandırılır.

Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmaları, mikrozomal sitokrom P-450 sistemi ile aktivasyonudur. Bu sistem, moleküllere bir elektron ilave ederek (indirgeme olayı) veya molekülden bir elektron çıkararak (oksidasyon olayı) serbest radikal oluşturur. Son durumda bir elektron eksikliği vardır ve elektrofilik bileşik oluşur. Oluşan bu elektrofilik ürün bir nükleofil ile reaksiyona girer. Bu elektrofilik bileşiği çeken en önemli bileşik sistein kalıntıları üzerindeki tiyol (-SH) grubudur. Tiyol grubu ise pek çok endojen makromolekülde (DNA, RNA, enzimler gibi) bulunduğu için reaktif ara ürünler bu moleküllerle kovalent bağlanarak toksisite gösterebilirler (86).

2.8.3.1.3.Redoks Döngüsü

Ksenobiyotiklerden serbest radikal oluşumu sadece mikrozomal reaksiyonlarla olmamaktadır. Menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin, gibi bileşikler alternatif bir redoks siklusuna girerler. Bu bileşikler, ilave bir çiftlenmemiş elektron kazanma eğilimindedirler. Bu ajanlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönüşmek için kolayca oksijenle oksitlenir ve süperoksit radikalini oluştururlar (93).

Oluşan ksenobiyotik ve süperoksit radikalleri intra sellüler ferritin depolarından demiri serbest hale getirirler. Sitozole salınan demir, serbest radikaller arasında en reaktif olan ve dolayısıyla daha yıkıcı olan hidroksil radikali gibi ikincil radikallerin oluştuğu Fenton reaksiyonunda katalitik rol oynar (98).

2.8.3.1.4.Araşidonik Asit Metabolizması

Hücre membranlarında prostaglandin için en önemli doymamış yağ asidi prekürsörü araşidonik asittir. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonu, plazma membranlarında araşidonik asidin salınımına yol açar. Araşidonik asidin siklooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu prostaglandinleri, lipooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu ise lökotrienleri verir ve bu tepkimeler sırasında serbest radikaller oluşur (103).

Araşidonik asid oksidasyonu başlatılmış bir serbest radikal reaksiyonudur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin her ikisi de aktiviteleri için peroksitlere ihtiyaç duyarlar. Siklooksijenaz aktivitesi daha sonra prostaglandinlerin sentezi içinde gerekli olan endoperoksitlerin oluşumuyla sonuçlanır. Öte yandan lipooksijenaz lipid peroksitleri üzerinden lökotrienlerin oluşumunu katalize eder (38). Aynı zamanda bazı ksenobiyotiklerden bu esnada reaktif ara ürünler oluşmaktadır. Bu ara ürünler hedef yapılarla etkileşerek toksisite gösterir.

2.8.3.1.5.Fagositoz

Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırmırlar. Aktive fagositler intrasellüler radikal oluşumuna neden olurlar. Aktive olmuş fagositlerde üretilen serbest radikaller patojenlerle savaşta önemli rol oynar. Kan monositleri, doku makrofajları (kupfer hücreleri, alveolar makrofajlar) gibi fagositik hücreler ve nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler immunojenik veya özel bir uyararla uyarıldıktan sonra lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (respiratory burst) olur. Fagosit edilmiş, patojenler oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamanın (respiratory burst) amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanısıra myeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz sistemine etkiyerek de güçlü bir antimikrobiyal aktivite

gösterir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahip oksidan ajanlardır. Membran peroksidasyonu, membran proteinlerinin dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna yol açıp membran bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek parçalayabilir. Fagositik kaynaklı oksidan ajanlar; ototoksik, immunosupresif ve mutojenik etki oluşturabilirler.

2.8.3.1.6.Otooksidasyon

Doku bileşenlerinin çoğu molekülleri oksijenin varlığında kimyasal olarak stabil değildirler ve metabolik şartlar altında az yada çok otookside olurlar. Kolayca otookside olabilen bu bileşenler doku ve hücrelerin son derece önemli komponentleridirler (40) . Bunlar arasında, Hemoglobin gibi metalloproteinler hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipitleri sayılabilir.

Bütün otooksidasyonlar sırasında serbest radikal intermediyerleri kadar aktive oksijen türleri de üretilir. Böylece otooksidasyonlar vücudun radikal kaynaklarına katkıda bulunurlar.

2.8.3.1.7.Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları

Aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksid anyonu meydana gelebilir. Glikojen oksidaz, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, ürat oksidaz gibi enzimlerden bazılarıdır.

Üzerinde en çok çalışılan enzim Ksantin oksidaz (XOD) aslında ksantin dehidrogenaz (XDH) olarak sentezlenmekte ve bu şekilde dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu enzim elektronlarını moleküller oksijene değil NAD'ye verir ve süperoksit anyon radikali oluşturmaz. Fakat XOD sülfidril oksidasyonu ya da sınırlı proteolizis ile dehidrogenaz formunda oksidaz formuna dönüşebilir. XOD moleküller oksijeni kullanarak H_2O_2 ve O^{2-} oluşturmaktadır (50).

2.8.3.2.Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller, ekzojen nedenlerle de oluşabilir. Radyasyon, sigara dumanı, zehirli gazlar, ilaçlar, karsinojen maddeler, pestisitler Bunlar en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynakları olarak bilinirler (72).

2.8.4.Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

2.8.4.1.Lipitlere Etkileri

Serbest radikaller biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine atak yaparak lipit peroksidasyonun oluşumuna neden olurlar. Reaksiyonlar zincirleme gelişir ve dönüşümsüzdür. Toksik etki lipit peroksidasyonunun düzeyi ölçülerek belirlenir. Doymamış yağ asitlerindeki bir hidrojen atomunun çıkması peroksidasyonun başlamasına neden olur böylece yağ asiti zinciri lipit radikali niteliği kazanır. Radikal dayanıksız olup, çift bağların yerini değiştirir ve oksijenle reaksiyonu sonucu lipit peroksil radikaline dönüşür. Lipit peroksil radikalleri bir yandan diğer doymamış yağ asitlerine etki ederek yeni radikalleri oluşturur, diğer yandan da hidrojen atomlarını salarak hidrojen peroksidasyonunun oluşumunu sağlarlar. Hidrojen peroksidasyonunun parçalanmasıyla lipit alkoksil radikalleri açığa çıkar. Lipit peroksidasyonu Fe ve Cu gibi redoks yapan metaller varlığında artar.

Lipit peroksidasyon ürünleri olarak açığa çıkan lipit peroksidleri, hidroperoksidleri ve aldehitleri membran yapısına direkt olarak, diğer hücre bileşenlerine ise aldehit üreterek indirekt zarar verir. Bu da pek çok hastalığın ve doku hasarının oluşmasına neden olur (82). Membranın yapısının bozulması sonucu malondialdehit (MDA) oluşur.

2.8.4.2.Proteinlere Etkileri

Proteinler, radikallerin etkilerine lipitlere oranla daha az hassastırlar ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmunglobülin G ve albümin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur (84).

2.8.4.3.Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksil ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanmaya neden olurlar (82).

2.8.4.4.Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açarlar. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür.

ROS ve RNS ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak meydana gelmektedir (38). DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksid veya nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit (ONOO^-), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitrik asit (HNO_3) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Farklı ROS farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar. Örneğin O^{2-} ve H_2O_2 hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH^\cdot radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açar. Singlet oksijen(O^{2-}) ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (84).

Hidroksil radikali, DNA'da ve diğer moleküllerde hasarlara neden olmaktadır. Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır (91).

C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. C8-OH-pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxo-pürinler) ve formamidopirimidinler oluşur. 8-hidroksiguanin (7,8-dihidroksi-8-oxoguanin: 8-OH-Gua) ve 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) oluşum mekanizmaları görülmektedir. Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir. İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu artırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak ölçülmektedir. Çoğu zaman 8-hidroksideoksiguanozin(8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir (76).

Hidroksil radikali fraksiyonunun DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır. Şeker radikalleri birçok farklı reaksiyonla meydana gelmektedir. Oksijensiz sistemlerde C4' merkezli

radikaller parçalanmaya uğrarlar ve DNA zincirleri kırılarak sağlam baz ve değişikliğe uğramış şeker serbest kalır. Cl merkezli radikallerin oksidasyonu ile şeker laktonu oluşumu ve sağlam bazın salınımı gerçekleşir. Oksijen yokluğunda, baz radikalleri kendilerine komşu olan şeker grubundan H atomu alarak şeker radikallerini oluştururlar ve sonuçta zincir kırılmalarına neden olurlar. Oksijenli sistemlerde karbon merkezli şeker radikaline moleküler oksijenin eklenmesi sonucu peroksil radikalleri oluşmaktadır. Şeker peroksil radikallerinin en karakteristik özelliği karbon-karbon bağını kırarak alkali bölge oluşturmalarıdır. C5' merkezli peroksil radikali oksil radikaline dönüştürülerek parçalanma ile DNA zincirinin kırılmasına sağlam bazın ve değişmiş şekerin serbest kalmasına yol açmaktadır. DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları DNA zincirinden salınabilir ya da fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir.

Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları; değişik modifiye baz ve şekerler, kontrolsüz baz dizilimi, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağlarını meydana getirirler. Oksidatif DNA hasarları da denilen bu tip hasarlar mutagezise, kanserogeneze ve yaşlanmaya yol açmaktadır.

2.9. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve neden oldukları hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar ‘‘antioksidan savunma sistemleri’’ veya ‘‘antioksidanlar’’ olarak adlandırılır. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya serbest oksijen radikallerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler.

Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısmında bulunabilirler.

2.9.1. Endojen antioksidanlar;

- Enzim olanlar;

Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Katalaz (CAT), Glutasyon -S- transferaz (GST), Glutasyon redüktaz (GSH-Rx), mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi,

-**Enzim olmayanlar**; α -tokoferol (E vitamini), β -karoten, askorbik asit, melatonin, ürik asit, bilirubin, glutasyon, seruloplazmin, albumin, transferin, ferritin gibi.

2.9.2. Eksojen antioksidanlar; Allopürinol, folik asit, C vitamini, trolox, C, asetilsistein, mannitol, adenozin gibi.

2.9.3. Antioksidan Etki Mekanizmaları

Antioksidanlar dört farklı şekilde etki ederler.

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

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

3- Onarıcı etki (repair etki)

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

2.9.4. Total Antioksidan Durum (TAD)

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stress ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını

sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Kan, antioksidanların bütün vücuda taşınmasını ve dağıtılmasını sağlar.

Total antioksidan duruma en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan durumun % 85'inden fazlasını oluşturur. Bu fark kanda bilirubin, indirgenmiş glutatyon (GSH), flavinoidler, α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidan durumun komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır. Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek olarak; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması verilebilir. Total antioksidan durumun ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır.

3.MATERYAL VE METOD

Çalışma grubunun oluşturulması

Bu çalışmamızda Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Devlet Hastanesi Göğüs Kalp Damar Cerrahisi bölümünde çeşitli sebeplerden dolayı kardiyopulmoner bypass cerrahisi ile ameliyat olan 8 erkek ve 17 bayan toplam 25 hasta seçildi. Bu hastalardan kardiyopulmoner bypass öncesinde, pompa (kalp akciğer makinesi) giriş esnasında, kros klemp'in konulması sırasında, kros klemp'in çıkarılması sırasında ve kardiyopulmoner bypass sonrasında olmak üzere her hastadan 5 tüp kan alınarak çalışma grubu oluşturulmuştur. Çalışma grubu yaş ortalaması 45.88 bulundu.

3.1. Örneklerin Hazırlanması

Hastalardan kan örnekleri kardiyopulmoner bypass öncesinde, pompa (kalp akciğer makinesi) giriş esnasında, kros klemp'in konulması sırasında, kros klemp'in çıkarılması sırasında ve kardiyopulmoner bypass sonrasında olmak üzere her hastadan 5 tüp olacak şekilde kan alındı. Alınan kanlar heparinli tüplere aktarıldı. Heparinize tüplere alınan taze kan örneklerinde mononükleer lökositler separe edilip (ayrılarak) DNA hasarı çalışıldı. Daha sonra arta kalan kanlar 3000 rpm de santifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalardan Lipidperoksit,Lipidhidroperoksit,Miyeloperoksidaz,TAO(TotalAntioksidanKapasite),Seruloplazmin,Total Peroksit ve bunların değerlendirilmesi sonucunda total oksidatif stres (TOS),Total Antioksidan Kapasite (TAK), Oksidatif Stres İndeksi (OSİ=total Oksidatif Stress (TOS) / Total Antioksidan Kapasite (TAK) şeklinde bölünerek) çalışılmak üzere -80 °C'de saklandı.

3.2.Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında rutin olarak kullanılan cihazlardan yararlanılmıştır.

1-Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)

2- Flöresan mikroskop (Nikon, Japon)

- 3-Spektroflorometre (Shimadzu RF–1501 MODEL, Japon)
- 4- Derin dondurucu (New Brunswick Scientifi, C54285 model)
- 5- Vorteks (Nüve, NM 110 model, Türkiye)
- 6-Hassas terazi (Sartorius marka 0,0001 g'a duyarlı)
- 7-Su banyosu (Nüve, BM 402 model, Türkiye)
- 8- Dijital pH-metre (Hanna, pH 211 model Japon)
- 9- Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset, USA)
- 10- Işık mikroskobu (Nikon, Japon)
- 11- Lanset (İSOLAB, Almanya)
- 12- Lam ve lamel
- 13- Elektroforez düzeneği

3.3.Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 1- Xlenol orange tetra sodium salt (Sigma)
- 2- Orto dianizidine dihydrochloride (Sigma)
- 3- NaCl (sodium chloride) (Sigma)
- 4-Ferrous ammonium sulfate hexahydrate (Ammonium iron(II) sulfate hexahydrate) (Sigma)
- 5- Sulfuric acid (H₂SO₄) (Sigma)
- 6- Ethylenglykol (Fluka)
- 7- Potassium phosphate dibasic (Sigma)
- 8- Sodium phosphate dibasic dihydrate (Fluka)

3.4. Alkali Tek Hücre Elektroforez (Comet Assay) Yöntemi ile DNA Hasarı Tayini

3.4.1.Yöntemin Prensibi

Comet assay yöntemi, alkali ortamda elektrik alanına maruz bırakılan DNA zincirinin agaroz jelde yüklerine ve molekül büyüklüklerine göre taşınması prensibine dayanmaktadır. Tek hücreler veya çekirdekçikler agar jele yerleştirilir ve lizisten sonra serbest kalan ve hasara uğramamış DNA'lar elektriksel alanda birlikte göç edeceklerinden kuyruk (comet) oluşturmazlarken, hasara uğramış kırılmış DNA parçacıkları farklı yükler ve molekül

ağırlıklarına sahip olduklarından dolayı elektriksel alanda farklı derecelerde hareket edeceklerinden kuyruk formatı oluştururlar.(61,62,63,64,65)

3.4.2.Yönteminin Uygulanışı

Mononükleer hücrelerin seperasyonu: 0.5 ml heparinize 1 ml mononükleer hücre seperasyon medyumu (Histopaque, Sigma) üzerine tabakalandırıldı ve 30 dakika 700 x g de oda ısısında santrifüj edildi. Santrifüjden sonra mononükleer hücreden zengin ara tabaka pipetle çekilerek başka bir tüpe aktarıldı. üzerine 1 ml tuzlu fosfat tamponu (PBS), (pH 7.4) ilave edilip tekrar 700 x g de santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra aynı işlem tekrar edildi. Daha sonra 0.5 ml PBS ile dilüe edildi.

3.4.3.Slaytların Hazırlanması

% 1,0 'lik normal erime noktasına sahip (NMP, 65 °C) agar eritilerek kenarları kumlanmış mikroskobik slaytlarının üzerine düzgün bir şekilde yayılarak üzerine lamel kapatmak suretiyle buzdolabında 5 dakika kadar bekletilmek suretiyle katılaşması sağlandı. Daha sonra lameller jelin üzerinden kaldırıldı ve nemli kutularda bekletildi. . Dilüe edilen hücrelerden 5 µl alınarak. 80 µl % 0,5 lik düşük erime noktasına sahip (LMP, 37°C) agaroz jel ile karıştırılarak NMP jel ile kaplanmış lamalar üzerine tabakalandırıldı. Üzeri lamel ile kapatılarak 5 dakika buzdolabında bekletildi. lamalar üzerinde lameller kaldırılarak tekrar aynı konsantrasyonda 80. µl LMP jel lam üzerine ile üçüncü bir tabaka olarak döküldü ve buzdolabında 5 dakika bekletilerek donduruldu. Lameller kaldırılarak lizis için hazır hale getirildi. (61,62,63,64,65)

3.4.4.Lizis

Agaroz jel kuruduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizis solüsyonunda bekletildi. Lizis solüsyonunun içeriği 100 mM EDTA, 2,5 M Sodyum klorid, 10 mM trizma base ve %1 oranında triton X-100'den oluşmaktadır. Bu solüsyonun pH 'sı 10'a ayarlandı. Lizis tamponu ile hücre ve çekirdek zarı lizise uğratıldı. (61,62,63,64,65)

3.4.5.Elektroforez Tamponu

Elektroforezde yürütmeden önce DNA'da alkali-labil bölgeler elde etmek için slaytlar alkali elektroforez tamponunda (1mM EDTA ve 300 mM NaOH, pH>13) 20-30 dakika inkübasyona bırakılır. Alkali çözeltisi 1mM EDTA ve 300 mM sodyum hidroksit içermektedir. (61,62,63,64,65)

3.4.6.Elektroforezde yürütme

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar hazırlanan tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 5-25 °C'de 30 dakika yürütülür. (61,62,63,64,65)

3.4.7.Nötralizasyon

Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdaki uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötral fosfat tamponu (tris HCl, pH 7,4) ile yıkanarak nötralizasyon işlemi gerçekleştirildi. (61,62,63,64,65)

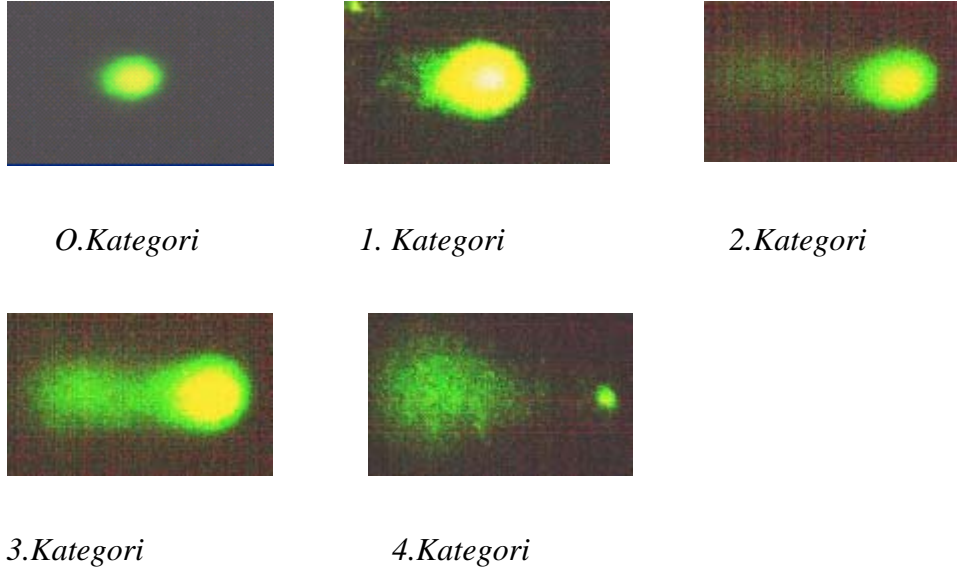
3.4.8.Boyama

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra slaytlar nemli ortamda buzdolabında bekletildi. İncelemeden önce 5 g/ml konsantrasyonda hazırlanan 80 g/ml etidyum bromid boyası ile boyandıktan sonra floresan mikroskopta (Nikon, Japon) Excitasyon: 546 nm, Emisyon: 580 nm dalga boylarında 20 x objektif ile oluşan görüntüler incelendi.

3.4.9.Analiz

Bu yöntemde DNA migrasyonu vizüel olarak değerlendirildi. Migrasyonun derecesine bağlı olarak hasar 5 katagoriye ayrıldı. Migrasyonun uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali-labil bölgelerin seviyelerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (113). Hiç hasarı olmayan DNA lar 0. maksimum hasarı olan DNA lar 5. kategoride değerlendirildi. Herbir slayttan toplam 100 hücre değerlendirildi. Maksimum hasar 400 olacak şekilde sonuçlar arbitraty unit olarak (AU) hesaplandı.

Şekil 6. Oksidatif DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların floresan mikroskop altındaki görüntüleri.



3.5. Protein oksidasyonu (PO)

Reaktifler

DNPH çözeltisi: 2 molarlık HCl içinde 10 milimolar 2,4-dinitrofenilhidrazin.

TCA çözeltisi: Deiyonize su içerisinde % 10 trikloroasetikasit.

Guanidin HCl çözeltisi: 6 molar guanidin HCl 20 milimolarlık potasyum fosfat tamponu (pH=2,3) içinde çözülür.

Prosedür

15 µl plazma 0,5 ml DNPH çözeltisi ile karıştırılarak oda ısısında 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üzerine 0,5 ml TCA çözeltisi eklenerek vortekslendi ve 15000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atılarak pellet 2 kez 1/1 oranında etanol/etil asetat ile yıkandı. Kalan pellet üzerine 0,6 ml Guanidin HCl çözeltisi ilave edip 15 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakarak pelletin çözünmesi sağlandı. Oluşan rengin absorbansı 365 nm'de ölçüldü. Çıkan absorbans absorpsiyon katsayısı ($\epsilon_{\max}=22000/\text{M}/\text{cm}$) ile çarpıldıktan sonra sonuçları mg protein başına nmol (nmol/mgprot) şeklinde verildi (19).

3.6. Plazma Lipit Peroksidasyonu Ölçümü

Reaktifler

DETBA çözeltisi: 10mmol/L 1,3-diethylthiobarbitirik asid 75 mol/L fosfat tamponu (pH=3) içerisinde çözünerek hazırlandı.

Prosedür

25 µl plazma 0,5 ml DETBA çözeltisi içerisinde karıştırılıp 96 °C'de bir saat inkübasyona bırakıldı. Örnekler 5 dakika buz banyosunda bırakıldıktan sonra 2,5 ml n-bütanol eklendi. Karışım vortekslenerek 1500 x g de 4 C° de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant alınıp florometrede (Schimatzu, Japan) okutuldu. Extasyon= 539 ve emisyon= 553. (19)

3.7. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Reaktifler

Erel (125) tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur.

Reaktif-1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 AM $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ çözülerek hazırlandı. Bu reaktif

Reaktif-2: 7,5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır.

Prensip

Fe^{2+} -o-dianisidine kompleksihidrojen peroksid ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir (34).

3.8. Total Oksidant Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

Reaktifler

Reaktif-1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisinde 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif-2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-Dianisidine dihydrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (32).

3.9. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total Oksidatif Stres (TOS) / Total Anatioksidan Kapasite (TAK) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı (53).

3.10. Yapılan İstatistiksel Analizler

İstatistik programı olan SPSS 11.0 kullanılarak gerekli istatistiksel analizler ve şekiller yapıldı. $p < 0.05$ olması anlamlı olarak kabul edildi. Grupların arasındaki farkı değerlendirmek için tekrarlı ölçüm varyans analizi ve student t-test kullanıldı. Parametrelerin arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için ise korelasyon analizi yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda; kardiyopulmoner bypass cerrahisi ile ameliyat olan toplam 25 hastadan alınan kan ve plazma örneklerinden Lipid Peroksit, Lipid Hidroperoksit, Miyeloperoksidaz, TAO (Total Antioksidan Kapasite), Seruloplazmin, Total Peroksit ve bunların değerlendirilmesi ile total antioksidan kapasite (TAK) total oksidatif stres (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ=total Oksidatif Stress (TOS) / total Antioksidan Kapasite (TAK) şeklinde bölünerek) ve Comet Assay yöntemi ile DNA oksidasyon seviyeleri ölçüldü. DNA oksidasyonu ölçmek için alınan heparinize kandan mononükleer lökositleri ayırmak için eşit miktarlarda heparinli kan ve histopaque-1077 alınarak santrifüj edildi. Ayrılan mononükleer lökositlerde Comet Assay (alkali mononükleer elektroforez) yöntemi ile çalışıldı. Kalan kan santrifüj edilerek plazma ve eritrositlerine ayrılarak -80°C 'de saklandı. Çalışılacağı zaman eritilerek plazmada florometrik yöntemle protein oksidasyonu ve MDA; fotometrik yöntemle total oksidatif stres ve toplam antioksidan kapasite seviyeleri ölçüldü. Oksidatif stres indeksi total oksidatif stres / toplam antioksidan kapasiteye bölünerek hesaplandı. Demografik ve karakteristik bilgiler tabloda verilmektedir. Tabloda hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet, yaş, uzunluk, ağırlık ve BMI değerleri verilmiştir.

Tablo 4. Hasta gruplarında fiziksel değerlerin karşılaştırılması

	Hasta (n=25) Ortalama
Cinsiyet (E/K)	8/17
Yaş (yıl)	45.88
Uzunluk (cm)	161.52
Ağırlık (kg)	68.12
BMI (kg/m^2)	1.71

Aşağıda bulunan tabloda hasta gruplarının, total oksidatif stres (TOS), total antioksidan kapasite (TAK), oksidatif stres index seviyeleri (OSİ) ve mononükleer lökosit DNA hasarı gösterilmektedir.

Tabloda görüldüğü gibi TOS 1.saatten (pompa öncesi) 2.saate (pompa giriş) geçerken düşmüş ama 2.saatten sonra (pompaya girişten sonra) artmıştır ($P<0.005$). TAK seviyesi 4.saate kadar (kros klemp kaldırıldıktan sonra) sürekli azalmış, 5.saate (pompa çıkış) ise biraz artmıştır ($P<0.001$). OSİ seviyesi 3.saate kadar (kros klemp konulduğu zaman) sürekli artmış, 5.saate biraz azalma olmuştur ($P<0.001$). OSİ seviyesindeki bu artış kros klemp kaldırıldıktan sonra (4.saat) maksimum olmuştur. DNA hasarı ise 1.saatten (pompa öncesi) 5.saate kadar (pompa çıkış) sürekli artmıştır ($P<0.001$). Bu tabloya göre genel olarak TOS, OSİ, DNA hasarı artmış ama TAK seviyesi azalmıştır.

Parametreler	1.Kan	2.Kan	3.Kan	4.Kan	5.Kan	P
TOS (Total Oksidatif Stres) ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L)	7.56 \pm 4.17	5.23 \pm 3.54 ^a	5.41 \pm 2.32 ^b	7.19 \pm 3.35 ^{fh}	9.38 \pm 5.92 ^{gi}	<i>P</i> <0.005
TAK(Total Antioksidan Kapasite) (mmol Trolox Eqv./L)	1.45 \pm 0.41	1.02 \pm 0.25 ^a	0.98 \pm 0.33 ^b	0.83 \pm 0.29 ^{cf}	0.97 \pm 0.38 ^d	<i>P</i> <0.001
OSİ (Oksidatif stres İndeksi) (Arbötrary Ünitesi (AU))	4.92 \pm 1.73	5.20 \pm 2.69	5.70 \pm 2.06	9.88 \pm 4.88 ^{cfh}	9.57 \pm 4.54 ^{dgi}	<i>P</i> <0.001
DNA (Arbötrary Ünitesi (AU))	28.48 \pm 11.30	29.04 \pm 9.43	31.44 \pm 11.74 ^b	33.92 \pm 7.96 ^{cfj}	38.56 \pm 6.20 ^{dgiij}	<i>P</i> <0.001

Tablo 5. Hastalarda DNA hasarı ve Oksidan/Antioksidan parametrelerin karşılaştırılması

- a- 2 ile 1 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)
- b- 3 ile 1 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)
- c- 4 ile 1 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)
- d- 5 ile 1 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)
- e- 3 ile 2 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)
- f- 4 ile 2 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)
- g- 5 ile 2 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)
- h- 4 ile 3 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)
- i- 5 ile 3 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)
- j- 5 ile 4 arasında anlamlı düzeyde fark bulundu. (*P*<0.05)

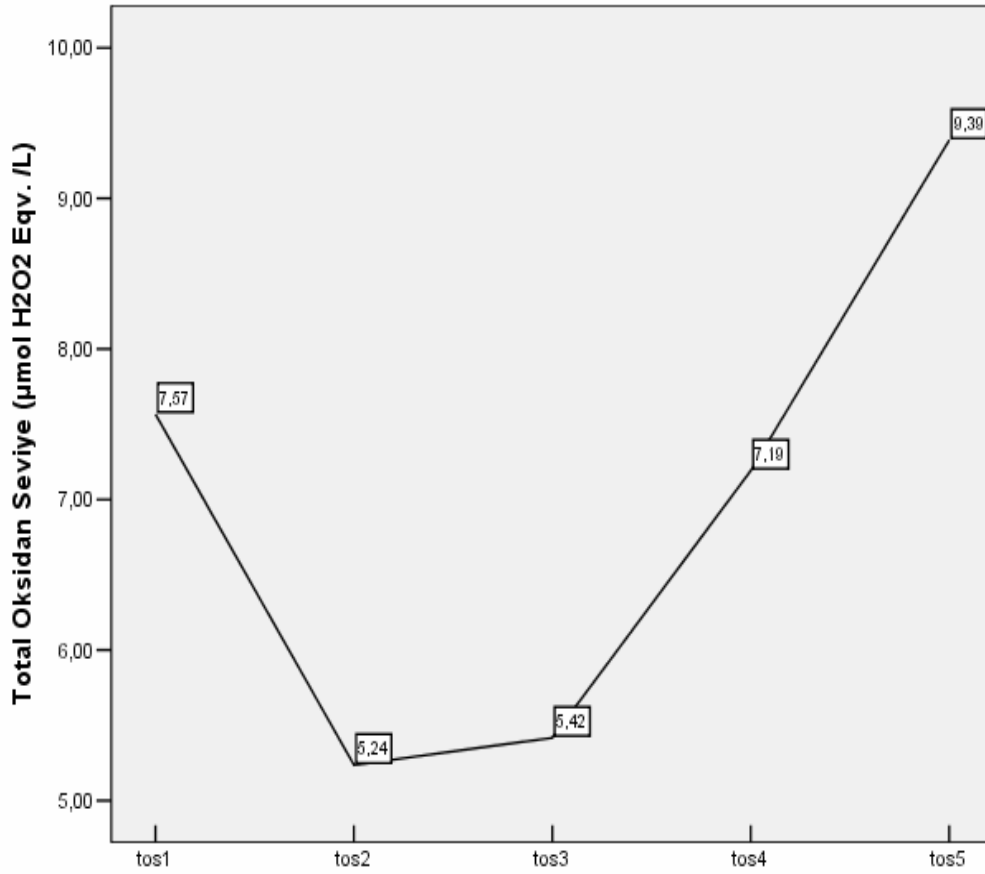
- 1.Kan-Pompa öncesi alınan kan
- 2.Kan-Pompaya girişte alınan kan
- 3.Kan-Kros klemp konulduğu zaman alınan kan
- 4.Kan-Kros klemp kaldırıldıktan sonra alınan kan
- 5.Kan-Pompadan çıkışta alınan kan

Tablo 6. DNA hasarı ve Oksidan / Antioksidan parametreler arasındaki ilişki düzeyleri

		TOS Total Oksidatif Stres	TAK Total Antioksidan Kapasite	OSi Oksidatif Stres İndeksi	DNA
TOS Total Oksidatif Stres					
TAK Total Antioksidan Kapasite	r	-0,058			
	p	0,926			
OSi Oksidatif Stres İndeksi	r	-0,330	-0,661		
	p	0,587	0,224		
DNA	r	-0,335	-0,576	0,882(*)	
	p	0,581	0,309	0,048	

* $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olanlar

Yukarıda bulunan korelasyon tablosuna göre Oksidatif Stres İndeksi ve DNA hasarı arasında pozitif bir ilişki mevcuttur ($r=0,882$ $p=0,048$).



Şekil 7. Total oksidan seviye değişimi ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L)

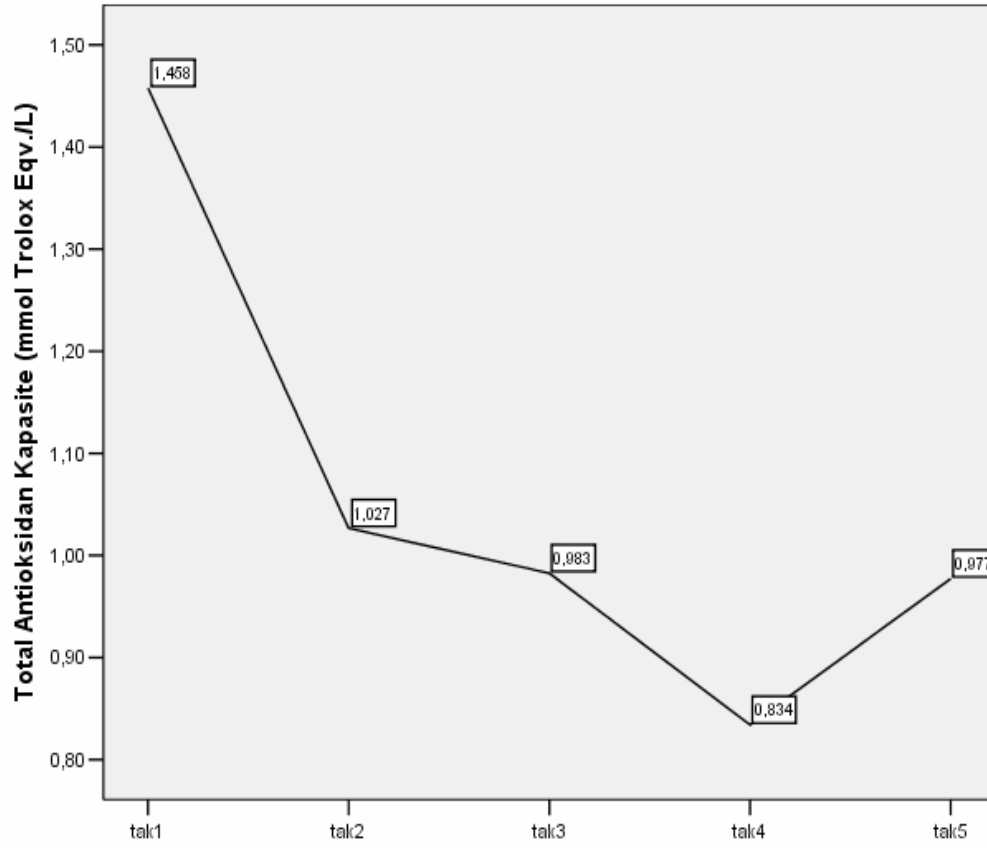
TOS1. Kan-Pompa öncesi alınan kan

TOS2. Kan-Pompaya girişte alınan kan

TOS3. Kan-Kros klemp konulduğu zaman alınan kan

TOS4. Kam-Kros klemp kaldırıldıktan sonra alınan kan

TOS5. Kan-Pompadan çıkışta alınan kan



Şekil 8. Total Antioksidan Kapasite değişimi (mmol Trolox Eqv./L)

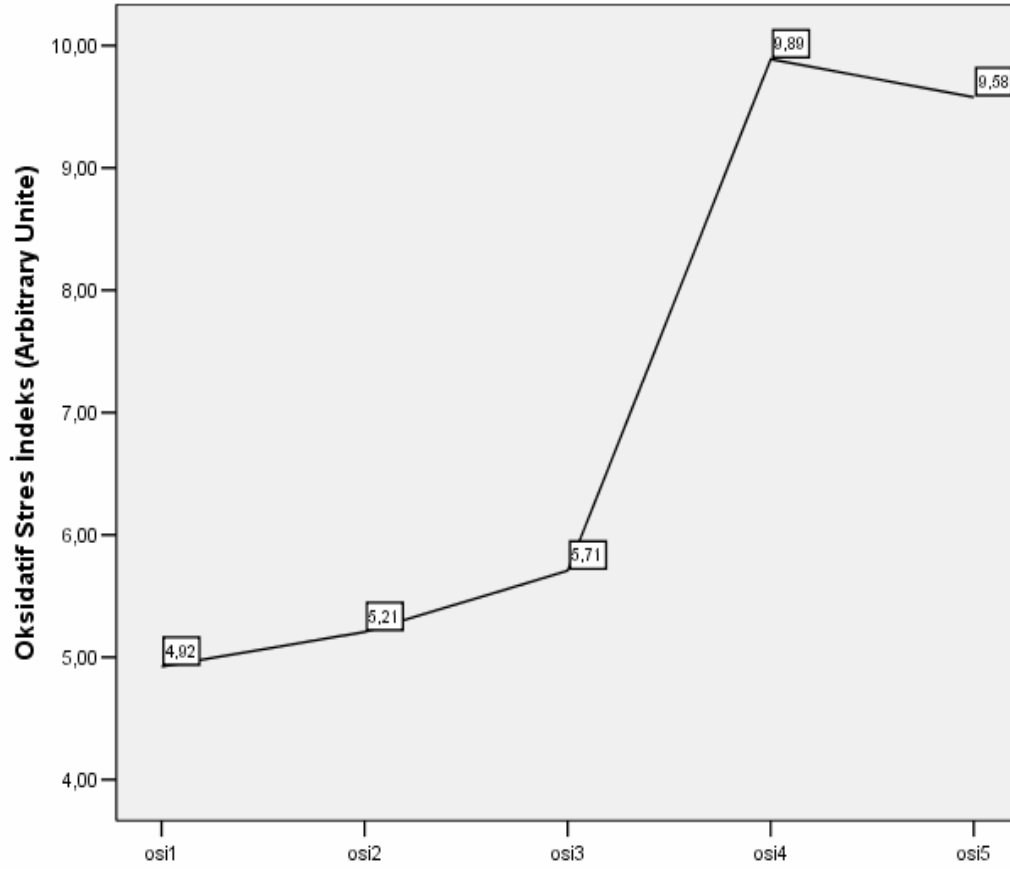
TAK1. Kan-Pompa öncesi alınan kan

TAK2. Kan-Pompaya girişte alınan kan

TAK3. Kan-Kros klemp konulduğu zaman alınan kan

TAK4. Kan-Kros klemp kaldırıldıktan sonra alınan kan

TAK5. Kan-Pompadan çıkışta alınan kan



Şekil 9. Oksidatif stres indeks değışimi (Arbötrary Ünitesi (AU))

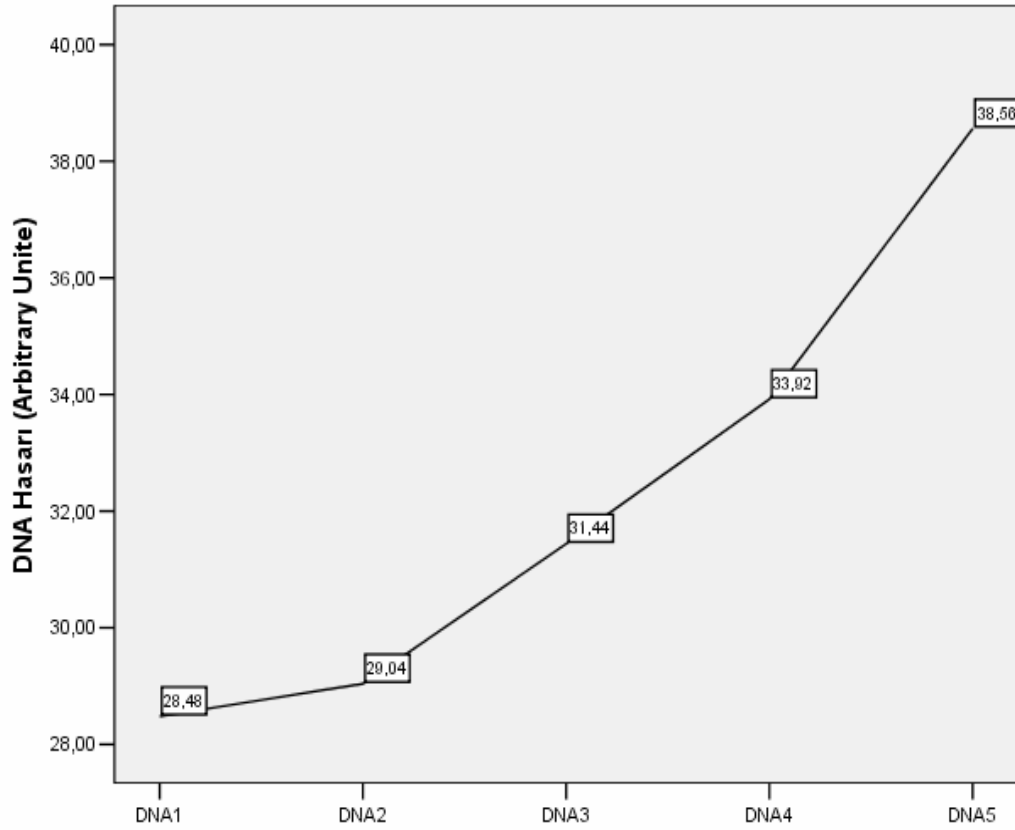
OSİ1. Kan-Pompa öncesi alınan kan

OSİ2. Kan-Pompaya girişte alınan kan

OSİ3. Kan-Kros klemp konulduğu zaman alınan kan

OSİ4. Kam-Kros klemp kaldırıldıktan sonra alınan kan

OSİ5. Kan-Pompadan çıkışta alınan kan



Şekil 10. DNA hasarı değışimi (Arbötrary Ünitesi (AU))

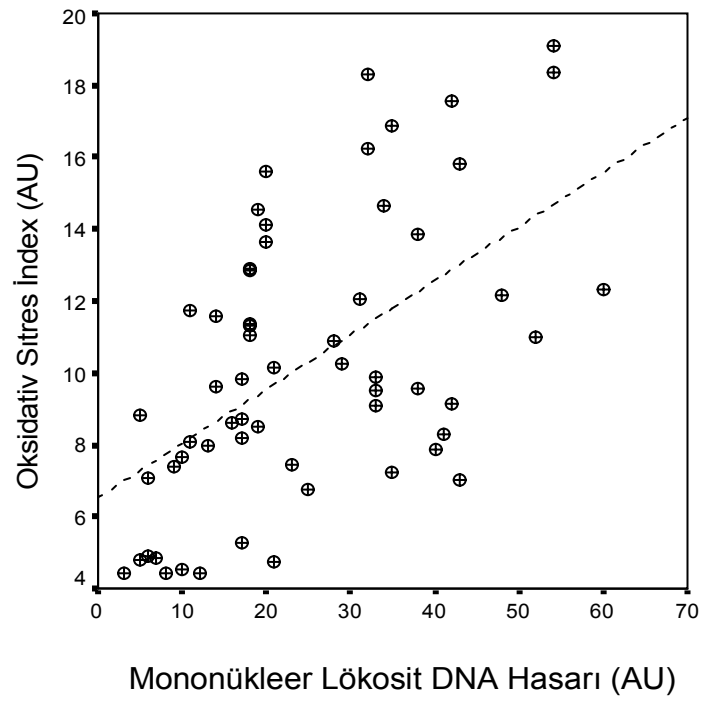
DNA1. Kan-Pompa öncesi alınan kan

DNA2. Kan-Pompaya girişte alınan kan

DNA3. Kan-Kros klemp konulduğu zaman alınan kan

DNA4. Kam-Kros klemp kaldırıldıktan sonra alınan kan

DNA5. Kan-Pompadan çıkışta alınan kan



Şekil 11. Mononükleer lökosit DNA hasarı ile oksidatif stres indeks seviyeleri arasındaki ilişkinin dağılımı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kalp ve damar cerrahisinin uygulanabilmesi ancak kardiyopulmoner bypass ile mümkün olmaktadır. Bu teknik günümüzde kardiyak patolojilerin cerrahisini olanaklı kılan ve alternatifi olmayan bir yöntemdir. Kardiyopulmoner bypass sırasında bazı organ ve sistemlerde geçici disfonksiyon olmakla birlikte, CPB kalp cerrahisinde vazgeçilmez bir tekniktir. Kardiyopulmoner bypass uygulanan hastalarda az ya da çok yan etkiler oluşmaktadır. Bu yan etkiler 4 kaskad sonucunda oluşmaktadır. 1.Fibrinolitik kaskad 2.Koagülasyon kaskad. 3.Kompleman kaskad 4.Kinin-Bradikinin, kallikrein gibi vazoaaktif ürünlerin salınımı ile gerçekleşen kaskad.

Bu yan etkiler kan pıhtılaşma bozuklukları, kırmızı kan hücreleri ve plazma proteinlerinde ekstrakorporeal sistemden geçerken oluşan bozukluklar ve kanın yabancı yüzeylere temasıyla değişik vazoaaktif ve biyolojik aktif maddelerin salınımı sayılabilir (Fibrinolitik kaskad, Kompleman kaskad)

Lohrer ve Ark., CPB öncesi ve sonrasında Kalp Akciğer Makinesinden kaynaklanan mekanik travmanın, eritrositlerin membran proteinleri üzerine etkilerini araştırmışlar ve hemoliz olayına sadece mekanik travmanın neden olamayacağı, diğer etkenlerinde rol oynadığı sonucuna varmışlardır (45).

Kardiyopulmoner bypass sırasında miyokard belli bir süre içinde perfüze edilememekte, dolayısıyla global iskemik hasara maruz kalmaktadır. Miyokardiyal, özellikle de subendokardiyal oluşan bu hasar başarılı olarak gerçekleşen kalp ameliyatlarını takiben görülen mortalite ve morbiditenin en önemli sebebidir.

Miyokard'da oluşan bu hasara temelde reperfüzyon sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri ve oksidatif stres neden olmaktadır. Serbest radikal, dış orbitalinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron taşıyan, yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdaki kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler.

Kardiyopulmoner bypass sırasında kanın sirkülasyonu için nonpulsatil akım uygulanmaktadır. Uygulanan nonpulsatil akım fizyolojik olmadığından birçok organ

yeterince perfüze edilememekte ve organların perfüzyon oranı ve miktarı bu işlemde etkilenmektedir.

Kardiyopulmoner bypass sırasında uygulanan heparinizasyon ve heparin nötralizasyonu için kullanılan protamin, ve kanın fizyolojik olmayan ortamlarda sirkülasyonu nedeniyle de şekilli kan elemanları, trombositler, pıhtılaşma faktörleri ve ilgili kan proteinleri hasar görür ve oksidatif stres oluşur. Ayrıca kardiyak cerrahi sonrası başlayan immün yanıt, organ disfonksiyonuna neden olmaktadır. İmmün yanıtın başlaması ve/veya sürmesinde; Katekolaminler, Nötrofiller, Kompleman sistemi, Sitokinler, İskemi reperfüzyon sürecinde açığa çıkan Serbest Oksijen Radikalleri, Endotel hasarı ve Endotoksin etkilidir.

Serbest Oksijen Radikalleri, çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan biyolojik reaksiyonlarla meydana gelerek DNA'nın yanı sıra lipid, protein ve karbonhidrat gibi çeşitli makro moleküller ile reaksiyona girmektedir.

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipitler üzerine yaptığı etkidir. Lipit peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikali başlatmaktadır. Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Karbonhidratlara etkisi ise monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelirler ve bunlar karbonhidratlara kolayca zarar verirler. Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Fenn ve arkadaşlarının (20) ortaya attığı hipoteze göre oksijenin mutajenitesi serbest radikal üretiminin artışından kaynaklanan kromozomal hasara bağlıdır. Çeşitli reaksiyonlar sonucu oluşan bir radikal değişik yollar ile sürekli olarak başka yeni radikallerin oluşmasına neden olmaktadır.

Çeşitli klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar, serbest radikaller, lipid peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile DNA hasarı ve karsinogenezis arasında bir ilişki bulunduğunu göstermiştir (18,23,32,34,77,97,100). Serbest radikallerin DNA'ya bağlandığı ve mutasyona sebep olarak kanseri başlatabildiği gösterilmiştir (9,11,31,89).

DNA ile etkileşime giren oksijen kaynaklı radikaller baz artıkları ve eksilmeleri, iplik kırılmaları, çatı kaymaları ve DNA-protein çapraz bağları oluşturur. Bu oluşan

DNA lezyonlarının tamirinin bozulması mutasyonlar, transkripsiyon ve replikasyonun baskılanması ve kromozomal kırıklar gibi kalıcı genetik değişikliklere yol açar

Serbest radikallerin ve oksidatif stresin DNA hasarı ve mutajenik kapasitesinin son derece reaktif ve toksik bir radikal olan hidroksil radikaline bağlı olduğu düşünölmektedir. Günümüzde artık OH[•] radikalleri ile DNA arasındaki ilişkinin varlığı yaygın olarak kabul edilmektedir. Artmış serbest oksijen radikalleri oksidatif stres oluşturmakta ve buna bağlı olarak hücresele proliferasyonda çeşitli seviyelerde hasarlar meydana gelmektedir. Bu hasarların tetikleyici ya da kümülatif etkileri ile de kanser gibi çok ciddi hastalıklara zemin oluşmaktadır (11, 37,39,49,87,92,104,).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta “antioksidan savunma sistemi” adı verilen birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bütün hücreler güçlü savunma sistemlerinin varlığı ile oksidatif strese karşı savaşmaktadırlar savunma sistemlerini serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır ve savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi etkili olmaktadır. Oksidatif hasarı önlemek için dokular glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi çok sayıda antioksidan enzim içerirler.

Serbest radikallerin uyardığı oksidatif strese karşı antioksidan defans sistemi bir bütün olarak mücadele eder. Tüm vücuttaki antioksidan durumu değerlendirmek için total antioksidan kapasite ölçümleri yapılmaktadır. Total antioksidan kapasiteye majör katkı, plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Albumin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan durumun %85’inden fazlasını oluşturmaktadır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda CPB kompleman sistemini etkileyerek; C3a ve C5a anaflatoksinlerinin oluşması, Araşidonik asit metabolitlerinin salınımı ve serbest oksijen radikallerinin salınımını artırdığını göstermiştir. C3a ve C5a anaflatoksinlerinin oluşması nötrofillerin damar duvarına göç etmesine sebep olmaktadır. Araşidonik asit metabolitleri de salınmakta ve damar geçirgenliğinin artmasına sebep olmaktadırlar. Bu da akciğerlerde kapillerlerden kaçağa yol açmaktadır (Kompleman kaskadı).

Kardiyovasköler hastalıklarda serbest oksijen radikallerin etkileri önemli bir yer tutmaktadır. Bu bileşikler oksidatif stres adlı kimyasal işlemlerle genetik materyal DNA'

yı hasara uğratarak hücre ölümünü artırır. Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hatta hücre ölümlerine yol açar. Hidroksil radikalleri bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girerler. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA' ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür.

CPB nin yukarıdaki sayılan sebeplerden dolayı oksidatif stresi de artırdığı gösterilmiştir. Ancak, CPB oluşturduğu oksidatif stres ve DNA hasarı ile aralarında bir ilişkinin olup olmadığına dair yeterli bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan olan bu çalışmada, kardiyopulmoner bypass sırasında oluşan oksidatif stres ve DNA hasarını araştırarak bunlar arasındaki ilişkiye açıklık getirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma sonucuna göre kros klemp dönemine kadar (3.kana kadar) total oksidan seviye (TOS) ve total antioksidan kapasite (TAK) değeri giderek düşmüş ve ikisi arasında pozitif bir ilişki oluşmuş, kros klemp döneminden sonra (3.kandan sonra) kalbin tekrar kanlanması sonucunda total oksidan seviye (TOS) artmış ama total antioksidan seviye (TAK) azalma eğilimine devam etmiş ve bu iki parametre arasında negatif bir ilişki oluşmuştur.

Total oksidan seviye (TOS) ile oksidatif stres indeksi (OSİ) arasında kros klemp dönemine kadar negatif bir ilişki olmuş (TOS azalmış OSİ artmış (kalbin tekrar kanlanması sonucunda)),kros klemp döneminden sonra pozitif bir ilişki oluşmuştur (TOS ve OSİ artmış).

Total oksidan seviye (TOS) ile DNA hasarı arasında kros klemp dönemine kadar negatif bir ilişki olmuş (TOS azalmış DNA artmış), kros klemp döneminde sonra pozitif bir ilişki oluşmuştur (TOS ve DNA hasarı artmış).

Total antioksidan kapasite (TAK) ile oksidatif stres indeksi (OSİ) arasında sürekli bir negatif ilişki olmuştur (TAK azalmış OSİ artmış).

Total antioksidan kapasite (TAK) ile DNA arasında sürekli bir negatif ilişki olmuştur (TAK azalmış DNA hasarı artmış).

OSİ seviyesi kros klemp konulduğu zamana sürekli artmış, kros klemp kaldırıldıktan sonra artış maksimum olmuştur. OSİ seviyesindeki bu artışa; kros klemp döneminde kalbin dolaşımı durması ve kros klemp döneminden sonra kalbin tekrar

kanlanması sonucunda oksijen türevi radikaller neden olmaktadır. Oksijen türevi radikaller oksidatif strese neden olmuştur. Ayrıca antioksidan seviyesinin pompa süresince azalmasından dolayı oksidan seviye ve oksidatif stres artmıştır. DNA hasarı ise 1.saatten (pompa öncesi) 5.saate kadar (pompa çıkış) sürekli artmıştır.

Bu çalışma sonucuna göre pompa süresince; oksidatif stres indeksi (OSİ) ve DNA hasarı giderek artmış ve bu iki parametre arasında pozitif bir ilişki oluşmuştur. Kros klemp süresi ve pompa süresi uzadıkça da oksidatif stres artmakta ve DNA hasarı fazla olmaktadır.

Starkopf ve ark (105), koroner bypass sırasında iskemi ve reperfüzyon dönemlerinde TAOK' un azaldığını ve oksidan hasar oluştuğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, koroner arter bypass yapılan olgularda ameliyattan sonra 72 saat boyunca TAOK' un baskılanmış, lipid peroksidasyonunun artmış olduğu ve TAOK' daki baskılanmanın LPO (Lipid peroksidasyonu) ile ters ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (105).

Taşkıran A. ve ark., koroner arter bypass cerrahisi öncesindeki plazma TAOK düzeylerinin iskemi- reperfüzyon hasarı ile ilişkisi üzerine yaptıkları çalışmaya göre; ameliyat öncesindeki düşük TAOK değerlerinin iskemi-reperfüzyon hasarı ve miyokard hasarının şiddeti ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Kunt A. S. ve Ark., koroner arter bypass ameliyatları sırasında TAOK üzerine çalışmışlar. Bu çalışmanın sonucunda TAOK, ameliyatın başlamasıyla düşmüş. anastomoz ve cross-clemp süresi uzadıkça, TAOK değerleri daha da düşük seviyelerde bulmuşlardır (62).

Castillo Caparros A. ve Ark., pompa kullanılan ve kullanılmayan kalp ameliyatları süresince antioksidan korunmasının karşılaştırmalı analizini yapmışlardır. Bu çalışmaya göre, pompa kullanılmayan kalp ameliyatı geçiren hastalar daha iyi bir antioksidan profiline sahiptirler. Bundan, pompa kullanılan kalp ameliyatı geçiren hastaların, miyokard iskemi de daha az zararlı etki gösterdiği sonucuna varmışlardır (25).

Akila ve ark yaptığı çalışmalarda., KAM kullanılan kalp ameliyatlarında oksidatif hasar ve oksidantlar artarken; KAM kullanılmayan kalp ameliyatlarında oksidatif stresin önemli bir biçimde azaldığını göstermişlerdir. Sonuç olarak; KAM kullanılan kalp ameliyatlarına dahil olan hastalarda önemli bir şekilde oksidatif stres artışı gözlenmiştir, bunun aksine; oksidatif stres Kalp Akciğer Makinesi kullanılmayan

kalp ameliyatlarına dahil olan hastalarda daha göstermiştir. GSH seviyeleri düşmüştür ve CAT aktivitesi KAM kullanılan ve KAM kullanılmayan kalp ameliyatlarına dahil edilen hastaların hepsinde de gözle görülür biçimde artmıştır (8).

Lutyen ve Ark. (69), CPB cerrahisi esnasında antioksidan miktarının azalması üzerine çalışma yapmışlardır. Kardiyak cerrahi oksidatif strese yol açar. Bu da iskemi ve reperfüzyon esnasında oksidatif madde üretir. Oksidatif stresin etkilerinin hücre aktivasyonundaki, antioksidan ve markerları üzerine etkisini araştırmışlardır. Kardiyak cerrahisi sonucunda, sistemik enflamasyon ve oksidatif stresin şiddeti artmıştır. Bu çalışmanın sonucu olarak, insanda doğuştan olan antikorların, oluşan oksidatif stresin hasarını yeteri kadar engellemediği ortaya çıkarmışlardır.

Bizim yaptığımız çalışma sonuçları da yukarıda örnek verilen çalışmalar ile paralel sonuçlar vermiştir.

DNA hasarında serbest oksijen radikallerin oluşturduğu oksidatif stres önemli bir yer tutmaktadır. Oksidatif stres oluşturan diğer etmenler ise nonpulsatil akım, kanın endotelial olmayan yüzeylerde temas halinde olması, kros klemp ile kalbin kan akımının kesilmesi, anestezi ilaçları, miyokard hasarı, reperfüzyon, kompleman sistemidir. Bu çalışma sonucuna göre yukarıda sayılan etmenler oksidatif stresi artırarak DNA hasarını artırdığı görülmüştür.

DNA hasarı ile oksidanlar arasındaki pozitif ilişki antioksidanlarla negatif ilişkili olması CPB sırasında oluşan oksidanların DNA'da büyük hasarlar oluşturabileceğine dair hipotezimizi desteklemektedir.

Sonuç olarak CPB'nin yan etkilerini minimum seviyeye indirecek yöntemler bulunmadığı takdirde DNA hasarı gibi sekonder etkilerin ortaya çıkabileceği açıktır. Ancak oksidatif stres ile DNA hasarı arasındaki ilişkiyi açıkça ortaya koymak için daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

1. Addonizio, V. P., Jr., Macarak, E. J., Nicolaou, K.C., et al: Effects of prostacyclin and albumin On platelet loss.during in vitro simulation of extracorporeal circulation. J. Am. Soc. Hematol., 53: 1033, 1979a.
2. Akkuş İdris, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri p : 1-3,5 (1995)
3. Ali MA. Response of some biophysical properties of blood to changes in the perfusion flow rate during cardiopulmonary bypass. Physcol Meas 2002; 23:11-22.
4. Anesthesia. Edited by Ronald D.Miller. Fourth Edition. Churchill Livingstone, 1994.
5. Arıcıoğlu Aysel. Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı Doktor 2/3. p : 139-242. (1994)
6. Bacci V,Di Paolo N,Borrelli E at al. Ozonation of blood during extracorporeal circulation. Comparative analysis of several oxygenator-ozonators and selection of one type. Int J Artif Organs 2001; 24: 890-7.
7. Bast A, Goris RJA Oxidative stres, Biachemistry anahuman disease. Pharm weekbl (sci) 11(6): 199-206. (1989).
8. Beckera K.(at all); Oxidative stress in malaria parasite-infected erythrocytes: host-parasite interactions International Journal for Parasitology 2004; 34: 163–89pp.
9. Beckera K.(at all); Oxidative stress in malaria parasite-infected erythrocytes: host-parasite interactions International Journal for Parasitology 34: 163–189 (2004).
10. Bilim ve Teknik Dergisi , Ekim 347:98-100. (1996).
11. Birnboim H.C; DNA strand breakage in human leukocytes exposed to a tumor promotor phorbol myristate acetate. Science 215:1247-1249 (1982).
12. Birnboim HC: DNA strand breakage in human leukocytes exposed to a tumor promotor phorbol myristate acetate. Science1982; 215:1247–9pp.
13. Cardiac Anesthesia. Edited by Kaplan J A. Wb.Saunders Company. Third Edition, 1993.
14. Cardiac Anesthesia: Stephen J. Thomas Jon. L. Kromer.
15. Cavarocchi. N. C., Pluth. J. R.,Schaff. H. V.. et al: Complement activation during cardiopulmonary bypass. J. Thorac. Cardiovasc. Sırg.9/:252. 1986
16. Cheng W, Hartmann JF, Cameron DE, et al. Cerebral blood flow during cardiopulmonary bypass: influence of temperature and pH management strategy. Ann Thorac Surg 1995; 59: 880-6.

17. Chenoweth, D. E., Cooper. S. W., Hugli, T. E., et al: Complement activation during cardiopulmonary bypass: Evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N. Engl. J. Med.*, 304:497.
18. Clark I.A., Hunt N.H., Evidence for reactive oxygen intermediates causing hemolysis and parasite death in malaria. *J. Infect. Immun.* 39: 1–6 (1983).
19. Conti M, PC Marond, Levillion P, Lemonnici A. Improved Fluorometric Determination of Malonaldehyde: 1991; 37: 1273-75.
20. Conti M., Marond P.C., Levillion P., Lemonnici A.: Improved Fluorometric Determination of Malonaldehyde: 37/7 1273-1275 (1991).
21. Coselli, J. S., Crawford, E. S., Beall, A. c., Jr., et al: DeterminatiOn of brain temperatures for safe circulatory arrest during cardiovascular operation. *Ann. Thorac. Surg.*, 45:638, 1988.
22. Cross, CE., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W A., Ames, BN., SauL. R.L.. McCord. J.M., Harman, D. (1987) Oxygen radicals and human disease.*Ann. intern Med.* 107 (4), 526-545.
23. Das B.S., Thurnham D.I., Patnaik J.K., Das D.B., Satpathy R., Bose T.K.; Increased plasma lipid peroxidation in riboflavin-deficient, malaria-infected children. *Am. J. Clin. Nutr.* 51, 859–863 (1990).
24. Davies LK. Hypothermia: physiology and clinical use. In: Gravlee GP, Davis RF, Utley JR, editors. *Cardiopulmonary Bypass*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1993. p. 140.
25. Edmunds LH Jr, Ellison N, Colman RW, et al. Platelet function during open heart surgery: Comparison of the membrane and bubble oxygenators. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982; 83: 805-12.
26. Edmunds LH Jr, Saxena NC, Hillyer P, Wilson TJ. Relationship between platelet count and cardiotomy suction return. *Ann Thorac Surg* 1978; 25: 306-10.
27. Edmunds LH, Jr: *Cardiac Surgery in Adult*. New York: McGraw Hill; 1997. p.255.
28. Edmunds LH. Jr. *Cardiopulmonary bypass for open heart surgery*. In: Baue AE, Geha AS, Hammond GL, editors. *Glenn's Thoracic and Cardiovascular Surgery*. Appleton and Lange; 1996. p.1631-1653.

29. Ellis SG, Henschke CI, Sandor T, Wynne J, Braunwald E, Kloner RA. Time course of functional and biochemical recovery of myocardium salvaged by reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1:1047-1055.
30. Erel O, Kocyigit A, Avci S, Aktepe N, Bulut V. Oxidative Stress and antioxidative status of Plasma and Erythrocytes in Patient with Vivax Malaria. *Clinical Biochemistry* 1997; 30: 632–9pp.
31. Erel O., Kocyigit A., Avci S., Aktepe N., Bulut V.; Oxidative Stress and antioxidative status of Plasma and Erythrocytes in Patient with Vivax Malaria. *Clinical Biochemistry* 30: 632-639 (1997).
32. Erel O.; A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* (2005).
33. Erel O.; A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* (2005).
34. Erel O.; A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry* 37; 112– 119 (2004). 3pp
35. Erel O.; A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry* 37; 112– 119 (2004).
36. Ereth MH, Nutall GA, Clarke SH et al. Biocompatibility of Trillium Biopassive Surface coated oxygenator versus uncoated oxygenator during cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2001; 15: 545-50.
37. Fenn W.O., Gerschman R., Gilbert D.C. and et. al; Mutagenic effects of high oxygen tension on *E.coli* . *Proc Natl Acad Sc* 43:1027-1032 (1957).
38. Fenn WO, Gerschman R, Gilbert DC. and et. al; Mutagenic effects of high oxygen tension on *E.coli*. *Proc Natl Acad Sc* 1957; 43: 1027–32pp.
39. Fisher S.M., Flayd R.A., Copeland E.S.; Workshop report from the divisions of research grants, national institute health. Oxyradicals in carcinogenesis a chemical pathology study section workshop. *Cancer Res* 43:5631-5632 (1983).
40. Fisher SM, Flayd RA, Copeland ES; Workshop report from the divisions of research grants, national institute health. Oxyradicals in carcinogenesis – a chemical pathology study section workshop. *Cancer Res* 1983; 43: 5631–2pp.

41. Fosse, E., Mollness, T. E., Ingvaldsen. B.: Complement activation during major operations without cardiopulmonary bypass. *J. Thorac Cardiovasc. Surg.*, 93:860, 1987.
42. Fox, L. S., Blackstone. E. H., Kirklin. J. W., et al: Relationship of brain blood flow and oxygen consumption to perfusion flow rate during hypothermic cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*,87:658. 1984.
43. Fox.L.S.,Blackstone.E.H.,Kirklin,J.W.et al:Relationship of whole body-oxygen consumption to perfusion on flow rate during hypotermic bypass.*J.Thorac.Cardiovas.surg.*83:239,1982
44. Freeman BA., Crapo JD.; Free radicals and tissue injury-*Lab-Invest.* 47: 412-5 (1982).
45. Fridovich. I. The biology of oxygen radicals. *Science.* 201 (4359),875-880. (1978)
46. Gibbon JH. Jr. Application of a mechanical heart and lung apparatus in cardiac surgery. *Minn Med* 1954; 37: 171.
47. Gravlee GP. Anticoagulation for cardiopulmonary bypass. In: Gravlee GP, Davis RF, Utley JR, editor. *Cardiopulmonary Bypass.* Baltimore: Williams & Wilkins; 1993. p. 340.
48. Guiraudon GM, Campbell CS, McLellan DG, et al. Retrograde coronary sinus versus aortic root perfusion with cold cardioplegia: randomized study of levels of cardiac enzymes in 40 patients. *Circulation* 1986; 74 (suppl III):III105-15.
49. Gyton K.Z., Kersler T.W.; Oxidative mechanism in carcinogenesis *Br Med Bull* 49:523-44 (1993).
50. Gyton KZ, Kersler TW; Oxidative mechanism in carcinogenesis *Br Med Bull* 1993; 49:523-44pp.
51. Halliwell B (Sept 1994) Free radicals, antioxidants, and human disease curiosity, cause, or consequence *The Lancet* 344 (8924) ; 721-4.
52. Halliwell B.; Gutteridge JMC.: Lipid peroxidation oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *The lancet* June 23: 1396-97 (1984).
53. Harma M., Harma M., Kocyigit A., Erel O.; Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutation Research* 583; 49–54 (2005).
54. Hochstein P. Atallah AS.: The nature of oxidant and antioxidant systems in the inhibition of mutation and cancer. *Mut. Res.* 202 : 363-75 (1988).

55. İnal, M., Alatas, O., Kural, T., Sevin, B. (1994) Oxygen free radicals in erythrocytes during open heart operation. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)* 35 (2),147-150.
56. İnal, M., Alatas, O., Kurdl, T., Sevin, B. (1994) Oxygen free radicals in erythrocytes during open heart operation. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*. 35 (2). 147-150.
57. İsbir T. Antioksidan Sistemler. Endotel, İzmir Tabip Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu, İzmir 1994:92-98.
58. İşlekel, H., Uğurlu, B., Hazan, E., Saydam, N., Saydam, O., Oto, Ö., Güner G. (1999) Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant status in myocardial tissue and coronary sinus blood of patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Türk Biyokimya Dergisi* 24 (4),5-13.
59. Janssen, M., van der Meer, P., de Jong, J'w. (1993) Antioxidant defences in rat, pig, guinea pig, and human hearts: comparison with xanthine oxidoreductase activity. *Cardiovasc. Res.* 27 (11), 2052-2057.
60. Jobs DR, Aitken GL, Shaffer GW. Increased accuracy and precision of heparin and protamine dosing reduces blood loss and transfusion in patients undergoing primary cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110: 36-45.
61. Kamboj VP, and Kar AB. Antitesticular effect of metabolic and rare earth salts. *J. Reprod. Fert.* 1964; 7:21–28 pp.
62. Karlik SJ, Eichorn GL, and Crapper McLachlan DR. Molecular interaction of aluminum with DNA. *Neurotoxicology* 1980; 1:83–8 pp.
63. Kausz AT, Antonsen JE, Hercz G, Pei Y, Weiss NS, Emerson S, and Sherrard DJ. Screening plasma aluminum levels in relation to aluminum bone disease among asymptomatic dialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 1999; 34:688–93 pp.
64. Kavoussi LR, Gelstein LD, and Andriole GL. Encephalopathy and an elevated serum aluminum level in patients receiving intravesical alum irrigation for severe urinary hemorrhage. *J. Urol.* 1986; 136:665–7 pp.
65. Kerr DN, Ward MK, Ellis HA, Simpson W, and Parkinson IS. Aluminium intoxication in renal disease. *Ciba Found. Symp.* 1992; 169: 123–35 pp.
66. Kim, K.B., Chung, H.B., Kim, M.S., Rho, J.R. (1994) Changes in the antioxidative defensiye system during open heart operations in humans. *Ann. Thorac. Surg.* 58 (1), 170-175.

67. Kirklin JW, DuShane JW, Patrick RT, et al. Intracardiac surgery with the aid of a mechanical pump-oxygenator system (Gibbon type): report of eight cases. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1955; 30: 201.
68. Kirklin, J. K. Westaby, S., Blackstone, E. H., et al: Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*,86:845. 1983.
69. Kirklin, J. K., Kirklin, J. W., Pacifico, A. D: Deep hypothermia and total circulatory arrest. In Arcinegas, E. [ed]: *Pediatric Cardiac Surgery*. Chicago. Year Book Medical Publishers.
70. Kirklin. J. K., Kirklin. J. W., Pacifico. A. D.: Cardiopulmonary bypass. In Arcinegas. E. ledl: *Pediatric Cardiac Surgery*. Chicago. Year Book Medical Publishers. 1985.
71. Kirklin. J. K.. Chenoweth. D. E.. Naftel. D. C. el al: Efects of protamine administr. I lion arter cardiopulmonary bypass on complement. blood elements and the hemodynamic state. *Ann. Thorac. Sllrg.* 41.193. 1986.
72. Lane DP; p53 and human cancers. *Br Med Bull* 1994; 50(3): 582–89pp.
73. Lillehei, C. W.Cohen, M. Warden, H. E., and Varco, R. L.: The direct vision intracardiac correction of congenital anomalies by controlled cross circulation. *Surgery.* 38: 11, 1955.
74. Inal,M., Alatas, O., Kanbak, G., Akyuz,F., Sevin, B. (1999) Changes of antioxidant enzyme activities during cardiopulmonary bypass. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)* 40 (3),373-376.
75. Logani, M.K., Davies, R.E. Lipid Oxidation: Biolojic effects and antioxidants *Lipids.*Vol 15, No 6. .(1985)
76. Lowy DF, Base R, Simo AA; Evidence for a high free radical state in low-grade astrocytomas. *Neurosurgery* 1997; 41: 46–50pp.
77. Marsh K., Forster D., Waruiru C., Mwangi I., Winstanley M., Marsh V., Newton C., Winstanley P., Warn P., Peshu N., Pasvol G., Snow R.; Indicators of life-threatening malaria in African children. *N. Engl. J. Med.* 332: 1399–1404. 1995
78. Mccord JM, Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 26: 351-7. (1993)
79. Mccord JM (1993) Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 26: 351-7.

80. McCord, JM. (1985) Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.* 312 (3), 159-163.
81. Mezrow CK, Midulla PS, Sadeghi AM, et al. Quantitative electroencephalography: a method to assess cerebral injury after hypothermic circulatory arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109: 925-34.
82. Moraes EC, Keyse SM, Tyrell RM; Mutagenesis by hydrogen peroxide treatment of mammalian cells: a molecular analysis. *Carcinogenesis* 1990; 31: 283–93pp.
83. Notarjan, D, Oxidants and signal transduction in vascular endothelium. *J Intern. Med.* 125: 26-37. (1994)
84. Oberley LW, Oberley TD. Free radicals, aging and degenerative diseases, Alan R Liss, New York, 1986; 325–71pp.
85. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95 (2), 351-358.
86. Olinski R, Jaruga P, Zastawny TH; Oxidative DNA base modifications as factors in carcinogenesis. *Acta Biochem Polonica* 1998; 45: 551–57pp.
87. Olinski R., Jaruga P., Zastawny T.H.; Oxidative DNA base modifications as factors in carcinogenesis. *Acta Biochem Polonica* 45: 551-57 (1998).
88. Pabón A (et al); Oxidative stress in patients with non-complicated malaria *Clinical Biochemistry* 2003; 36: 71–8pp.
89. Pabón A (et al); Oxidative stress in patients with non-complicated malaria *Clinical Biochemistry* 36: 71–78 (2003).
90. Prasad, K., Karla, J., Bharadwaj, B., Chaudhary, AK. (1992) Increased oxygen free radical activity in patients on cardiopulmonary bypass undergoing aortocoronary bypass surgery. *Am. Heart. J.* 123 (1), 37-45.
91. Rao GM, Rao AV, Raju A; Lipid peroxidation in brain tumors. *Clin Chim Acta* 2000; 302: 205–11.
92. Rikans L.E., Hornbrook L.R.; Lipid peroxidation, antioxidant and aging *Biochim Biophys Acta* 1362:116-127 (1997).
93. Rikans LE, Hornbrook LR; Lipid peroxidation, antioxidant and aging *Biochim Biophys Acta.* 1997; 1362:116-27pp.

94. Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids I, and The Oxidative Strees Study Graup (1997) Oxidative strees in chronic obstructive pulmorary disease Am J Respir Crit Care Med 156: 341-347.
95. Rosenberg RD, Bauer KA. The heparin-antithrombin system: A natural anticoagulant mechanism. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, editors. Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia: Lippincott; 1994. p. 837.
96. Rudy LW Jr, Boucher JK, Edmunds LH Jr. The effect of deep hypothermia and circulatory arrest on the distribution of systemic blood flow in rhesus monkeys. J Thorac Cardiovasc Surg 1972; 64: 706-13.
97. Sanni L.A., Fu S., Dean R.T., Bloomfield G., Stocker R., Chaudhri G., Dinauer M.C., Hunt N.H.; Are reactive oxygen species involved in the pathogenesis of murine cerebral malaria. J. Infect. Dis. 179: 217–222 (1999).
98. Sanni LA, Fu S, Dean RT, Bloomfield G, Stocker R, Chaudhri G, Dinauer MC, Hunt NH. Are reactive oxygen species involved in the pathogenesis of murine cerebral malaria. J. Infect. Dis. 1999; 179: 217–22pp.
99. Seven A,Candan G (1995)Radikal Ve Lipid Peroksid Düzeyini Artıran Etkenler. Biyokimya Dergisi 4:43-56.
100. Sies H.; Biochemistry of oxidative stress. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 25: 1058–1071 (1986).
101. Sies H.Biochemistry of oxidative stress. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1986; 25: 1058–171pp.
102. Smith, E. E. J., Naftel, D.C, Blackstone, E. H., and Kirklin, J. W. Microvascular permeability af ter cardiopulmonary bypass. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 94:225, 1987.
103. Soruga P, Zastawny TH, Skakowski J. and et. al; Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer. FEBS Lett. 1997; 341: 59–6pp.
104. Soruga P., Zastawny T.H., Skakowski J. and et. al; Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer. FEBS Lett. 341:59-64

105. Starkopf, J., Zilmer, K., Vihalemm, T., KulHsaar, T., Zilmer, M., Samarotel. J. (1995) Time course of oxidative stres during open-heart surgery. Scandl.Thorac.Cardiovasc.Surg. 28 (4),181-186
106. Stocks, J., Gutteridge, JM., Sharp, Rl., Dormandy, TL. (1974) Assay using br.iin homogenate for measuring the antioxidanal activily of biological fluids. Clin. SeL Mol. Med. 47 (3),215-222.
107. The New England Journal of Medicine, Vol. 304, p. 497, 1981.
108. Toker, N.K., Seçkin, S, Sever, M., Kocak N. (1990) Ertythrocte lipid peroxidation and Ca^{+2} ATP ase activity in chronic renol failure. Turk O. Med. Biol. Res vol 1 No 1.
109. Treasure, t.Naftel,D.C.,Conger,K.A.,et al:The effect of hypotermic circulatory arrest time on cerebral fonction morphology and bischemistry.J.Thorac.cardiovasc.Surg.,86:761,1983
110. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Cemiyeti Mecmuası, Cilt 22, Ekim 1994.
111. Ünaldı, M. (1982) Doçentlik tezi s.14.
112. Wallach. R.. Karp. R. B. Reves. J. G., et al: Pathogenesis of paroxysmal hypertension developing during and after coronary artery bypass surgery: A study of hemodynamic and humeral factors. Am. J. Cardiol. 46:559. 1980.
113. Yüksel BA. Kalp Hastalıkları ve Cerrahisi. Ankara: Ayyıldız Matbaası; 1985.p.103-123.