



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP ve DAMAR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA MİYOKARD İSKEMİ VE REPERFÜZYON
AÇISINDAN ST. THOMAS II VE DEL NIDO
KARDİYOPLEJİ SOLÜSYONLARININ ETKİNLİĞİNİN
HİSTOPATOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Burak TOPRAK
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir BİLGİÇ**

MERSİN- 2024



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP ve DAMAR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA MİYOKARD İSKEMİ VE REPERFÜZYON
AÇISINDAN ST. THOMAS II VE DEL NIDO
KARDİYOPELJİ SOLÜSYONLARININ ETKİNLİĞİNİN
HİSTOPATOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Burak TOPRAK
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir BİLGİÇ

Bu araştırma MEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından
2023-1-TP3-4913 sayı ile desteklenmiştir.

MERSİN- 2024

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince daima yol gösterici olan, tecrübelerini her daim paylaşmaktan çekinmeyen, tez proje hipotezinin kurulmasında, tüm deney çalışmalarının yapılmasında ve tezimin tamamlanıp yazılmasında her zaman desteğini hissettiğim değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir Bilgiç'e;

Bilimsel araştırma projemin her aşamasında yol gösteren, yöntemler e teknikler öğreten ve çalışmamda desteğini her zaman hissettiğim Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Murat Özeren hocama;

Uzmanlık eğitimim boyunca tecrübelerini benimle paylaşan ve her daim yanımda olan değerli hocalarım; Prof. Dr. Nehir Sucu'ya, Prof. Dr. Davud Yapıcı'ya, Dr. Öğr. Üyesi Eren Oral Kalbisağde'ye minnet ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmam için maddi kaynak sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna;

Tez çalışmamda tüm süreçte destek olan ve laboratuvar çalışmalarımda desteğini ve bilgilerini esirgemeyen Histoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Ebru Ballı'ya;

İstatiksel analiz hesaplamalarındaki katkılarından dolayı Elif Ertaş'a;

Desteğini her daim hissettiğim Perfüzyonist Rahime Akın'a

Gelişimimdeki katkılarından dolayı tüm bilim insanlarına; beni bilgileriyle donatan bugünlere gelmemde büyük emekleri olan saygıdeğer hocalarıma;

Varlığımı adadığım, her anımda yanımda olan, dünyadaki en kıymetli varlığım eşim Dr. Çise Toprak'a;

Hayatıma anlam katan, her daim yanımda olan annem Leyla Toprak'a ve babam Mehmet İlhami Toprak'a;

Sevgi, saygı ve tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	5
ABSTRACT	7
1. GİRİŞ VE AMAÇ	9
2. GENEL BİLGİLER	10
2.1. Miyokard Koruma Tekniklerinin Tarihsel İlerlemesi	10
2.2. Miyokardın Fizyolojisi	11
2.2.1. Koroner Arter Anatomisi	11
2.2.2. Miyokardın Morfolojik Düzeni	12
2.2.3. Miyokard Kontraktilitesinin Fizyolojisi	14
2.2.4. Miyokardın Enerji Metabolizması ve Reperfüzyon Hasarı	17
2.3. Miyokart İskemi Reperfüzyon Hasarının Klinik Sonuçları	20
2.3.1. Myokard İskemisinin Hasara Duyarlılığı	20
2.3.2. Miyokardın Sersemlemesi (Stunning)	20
2.3.3. Reperfüzyon Ritim Bozuklukları	21
2.3.4. Miyosit Hücrelerinin Ölümü ve Nekrozu	21
2.3.5. Kardiyak Endotel Disfonksiyonu	21
2.4. Miyokard Koruma Yöntemleri	22
2.4.1. Kardiyopleji Çeşitleri Dışındaki Yöntemler	22
2.4.1.1. Hipotermi	23
2.4.1.2. Boş Atan Kalp	23
2.4.1.3. Fibrilasyonla Birlikte Aralıklı Olarak Aortik Kros Klemp Uygulaması	23
2.4.1.4. Devamlı Koroner Perfüzyon	24
2.4.2. Kardiyopleji Yöntemleri	24
2.4.2.1. Kan Kardiyoplejisi	26
2.4.2.2. Kristaloid Kardiyopleji	27
2.4.3. Kardiyopleji Çeşitleri	27
2.4.3.1. St. Thomas Kardiyopleji	27
2.4.3.2. Del Nido Kardiyopleji	28
2.4.4. Kardiyoplejinin Veriliş Yolları	30
2.4.4.1. Antegrad Yol	30

2.4.4.2. Retrograd Yol	31
2.5. Kardiyak İskeminin Histopatolojik Bulguları	32
2.5.1. Miyosit Ölümünün Zamanlaması: Geri Dönüşümlü ve Geri Dönüşümsüz Yaralanmanın Tanımı	35
2.5.2. No-Reflow'un Rolü	35
2.5.3. Miyosit Ölümünün Nedenleri	37
2.5.4. Ultrastrüktürel Değişiklikler	39
2.6. Ratların Kalbinin Anatomisi ve İnsan Kalbi ile Benzerlik Farklılıkları	43
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	45
3.1. Araştırmanın Tipi	45
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı	45
3.3. Çalışmanın Evreni ve Örnekleme/Çalışma Grupları	45
3.4. Araştırma Materyali	45
3.5. Çalışmanın Değişkenleri	46
3.6. Veri Toplama Araçları	46
3.6.1. Cerrahi Hazırlık	46
3.6.2. Kardiyopleji Sıvısının Hazırlanması	47
3.6.3. Örneklerin Toplanması	49
3.6.4. Dokuların İşlemi	49
3.7. Araştırmanın Planı ve Takvimi	50
3.8. Veri Toplama Araçlarının Değerlendirilmesi	50
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları	51
3.10. Etik Kurul Onayı	52
4. BULGULAR	53
4.1. Verilerin Histopatolojik Değerlendirilmesi	53
4.1.1. Gereç ve Yöntem	53
4.1.2. Işık Mikroskopik Bulgular	54
4.2. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	58
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇ	67
7. KAYNAKLAR	68
8. SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	79
9. TABLOLAR DİZİNİ	81
10. ŞEKİLLER DİZİNİ	82



ÖZET

SIÇANLARDA MİYOKARD İSKEMİ VE REPERFÜZYON AÇISINDAN ST. THOMAS II VE DEL NIDO KARDİYOPLEJİ SOLÜSYONLARININ ETKİNLİĞİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

Amaç: Açık kalp cerrahisi sonrası hastaların postoperatif dönemdeki mortalite ve morbidite oranı operasyon sırasında iskemiye bağlı oluşan reperfüzyon hasarıyla yakından ilişkilidir. Açık kalp ameliyatlarında aortik kros klemp sonrası kalbi diyastolde durdurmak, miyokardı korumak ve iskemi/reperfüzyon hasarını önlemek için kardiyopleji solüsyonuna ihtiyaç vardır. Bu çalışmada deney hayvanı üzerinde miyokardiyal iskemi/reperfüzyon modeli oluşturulup açık kalp cerrahisinde geleneksel kardiyopleji olarak kullanılan St.Thomas II kardiyopleji solüsyonu ile yeni nesil del Nido kardiyopleji solüsyonunun etkinliğini histopatolojik olarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen verilerin neticesinde cerrahi sırasında iskemi-reperfüzyon açısından mümkün olan en iyi ve en uygun yaklaşımı sunmak amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırma 24 adet Wistar Albino cinsi genç erişkin 3 aylık sıçanlarda yapıldı. Ratlar 3 ayrı gruba alındı. Grup 1 (n:8): Sham grubu (Serum Fizyolojik) (4 ml intraaotik solüsyon), Grup 2 (n:8): Geleneksel solüsyon St. Thomas II (4 ml intraaotik solüsyon), Grup 3(n:8): Yeni nesil solüsyon Del Nido (5 ml intrakardiyak solüsyon).

Asendan aortadan Sham grubu ve Del Nido grubunda insülin enjektörü ile tek sefer St. Thomas II grubunda 22G branül ile 4 sefer 20 dakikaya bir aort köküne kardiyopleji solüsyonu verildi. Kardiyak arrest geliştikten sonra ratlar kardiyopleji süresinin beklenmesi için cross klempl bölgesinden 4/0 prolent ile bağlandı ve örnek alınması için sıraya alındı. Kardiyopleji süresi olarak 90 dakika beklendi. Süresi dolan ratların kalbi çıkarılarak sol ventrikül 2 eşit parçaya bölündü. İlk parçadan ışık mikroskobu için bistüri yardımıyla örnekler alındı. İkinci grup ise daha önce hazırlanan ve termometre ile takip edilen normal vücut ısısına (36.5 C°) sahip SF içerisinde 30 dakika bekletildi ve daha sonra aynı teknikle ışık mikroskobu için örnekler alındı.

Bulgular: Deney hayvanı üzerinde miyokardiyal iskemi/reperfüzyon modeli oluşturulup açık kalp cerrahisinde geleneksel kardiyopleji olarak kullanılan St.Thomas II kardiyopleji solüsyonu ile yeni nesil del Nido kardiyopleji solüsyonunun etkinliğini histopatolojik olarak ışık mikroskopisinde inflamasyon göstergesi olarak makrofajlar sayılarak karşılaştırılmıştır. İskemi grubu ölçümlerinde; kontrol grubundaki ratların makrofaj sayısı ortalamasının 33.4 ± 7.7 , St. Thomas ortalaması 33 ± 8.7 ve Del Nido grubunda ise makrofaj sayı ortalaması 34.2 ± 6.1 idi. Reperfüzyon grubu ölçümlerinde ise; Kontrol grubundaki ratların makrofaj sayısı ortalamasının 29.1 ± 10.1 , St. Thomas ortalaması 34.1 ± 10.4 ve Del Nido grubunda ise makrofaj sayı ortalaması 32.7 ± 7.2 idi.

Sonuç: Hem St.Thomas uygulanan grupta hem de del Nido uygulanan grupta miyokardiyal iskemi/reperfüzyon açısından karşılaştırma yapıldığında anlamlı bir fark saptanmadı.

Anahtar Sözcükler: Miyokardiyal koruma, iskemi/reperfüzyon hasarı, St. Thomas Kardiyopleji, del Nido Kardiyopleji, histopatolojik inceleme, rat miyokardi

ABSTRACT

HISTOPATHOLOGICAL COMPARISON OF THE EFFICIENCY OF ST THOMAS II AND DEL NIDO CARDIOPLEGIA SOLUTIONS IN TERMS OF MYOCARDIC ICHEMIA AND REPERFUSION IN RATS

Objective: Postoperative mortality and morbidity rates of patients after open heart surgery are closely related to reperfusion injury due to ischemia during the operation. In open heart surgeries, cardioplegia solution is needed to stop the heart in diastole after aortic cross-clamping, to protect the myocardium and to prevent ischemia/reperfusion damage. In this study, a myocardial ischemia/reperfusion model was created on an experimental animal and the effectiveness of St. Thomas II cardioplegia solution, which is used as traditional cardioplegia in open heart surgery, and the new generation del Nido cardioplegia solution was compared histopathologically. As a result of the data obtained, it was aimed to present the best possible and most appropriate approach in terms of ischemia-reperfusion during surgery.

Method: The research was conducted on 24 Wistar Albino young adult 3-month-old rats. Rats were taken into 3 separate groups. Group 1 (n:8): Sham group (Serum Physiological) (4 ml intraaortic solution), Group 2 (n:8): Conventional solution St. Thomas II (4 ml intraaortic solution), Group 3 (n:8): New generation solution Del Nido (5 ml intracardiac solution).

In the ascending aorta, St. Petersburg was injected once with an insulin injector in the Sham group and Del Nido group. In the Thomas II group, cardioplegia solution was administered to the aortic root with a 22G branule 4 times for 20 minutes. After cardiac arrest developed, the rats were tied with 4/0 prolene at the cross-clamp area to wait for the cardioplegia period and were lined up for sample collection. The cardioplegia period was waited for 90 minutes. The hearts of expired rats were removed and the left ventricle was divided into 2 equal parts. Samples were taken from the first piece with the help of a scalpel for light microscopy. The second group was kept in SF with normal body temperature (36.5 C°), which was previously prepared and monitored with a

thermometer, for 30 minutes, and then samples were taken for light microscopy with the same technique.

Results: A myocardial ischemia/reperfusion model was created on the experimental animal and the effectiveness of St.Thomas II cardioplegia solution, which is used as traditional cardioplegia in open heart surgery, and the new generation del Nido cardioplegia solution was compared histopathologically by counting macrophages as an indicator of inflammation in light microscopy. In ischemia group measurements; The average macrophage number of rats in the control group was 33.4 ± 7.7 , St. The mean number of macrophages in the Thomas group was 33 ± 8.7 and in the Del Nido group was 34.2 ± 6.1 . In the reperfusion group measurements; The average macrophage number of rats in the control group was 29.1 ± 10.1 , St. The average number of macrophages in the Thomas group was 34.1 ± 10.4 and in the Del Nido group was 32.7 ± 7.2 .

Conclusion: No significant difference was detected in terms of myocardial ischemia/reperfusion in both the St.Thomas applied group and the del Nido applied group.

Key Words: Myocardial protection, ischemia/reperfusion injury, St. Thomas Cardioplegia, del Nido Cardioplegia, histopathological examination, rat myocardium

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp ameliyatlarının büyük çoğunluğunda kansız ve hareketsiz bir cerrahi alan sağlamak için kalbin durdurulması ve aortaya cross-klemp konması gereklidir. Bu süre içerisinde vücut dolaşımı ve perfüzyonu kardiyopulmoner baypas yolu ile sağlanmaktadır. Sağ atriyumdan gelen kan kardiyopulmoner baypas aracılığı ile oksijenlendirildikten sonra cross-klempin distalinden uygun basınçla aortaya verilir. Aortanın cross-klempili olduğu süre içerisinde kalp iskemik kalır ve bu durum miyokard hasarına neden olur¹.

Açık kalp cerrahisinin uygulanmaya başlandığı günden miyokardiyal koruma en fazla düşünülp araştırılan konulardan olmuştur. Kalp cerrahisinde miyokard hasarı postoperatif dönemde mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir². Bu yüzden miyokard koruması kalp cerrahisinde yüksek bir öneme sahiptir³. Miyokard hasarını önlemek için çeşitli miyokard koruma yöntemleri tanımlanmıştır. Kalbin bazal metabolizma hızını ve oksijen tüketimini azaltmak için hipotermi ve diastolik arrest en sık kullanılan yöntemlerdir⁴. Kontrollü diastolik arrest için kardiyopleji solüsyonları kullanılmakta ve içeriği değişken birçok kardiyopleji solüsyonu bulunmaktadır. Kardiyopleji solüsyonlarıyla ilgili klinik çalışmalar uzun yıllardır yapılmakta ve ideal kardiyopleji içeriği ve yöntemi ile ilgili tartışmalar devam etmektedir⁵. İyi bir miyokard koruması, kontrollü diastolik arrest döneminde hücrenin fonksiyonel yapısının ve enerji depolarının korunması, reperfüzyon hasarının önlenmesi ile miyokard hasarının engellenmesine bağlıdır.

Miyokard koruma yöntemleri, yaygın kabul gören yaklaşım ile hipotermi ile metabolik aktivitenin azaltılması ve kalpte elektromekanik aktivitenin durdurulması amaçlanır. Bu yöntemle miyokarda sunulan enerji ile miyokardın ihtiyacı olan enerji arasında denge kurulmaya çalışılır.

Bu çalışmada deney hayvanı üzerinde miyokardiyal iskemi/reperfüzyon modeli oluşturulup açık kalp cerrahisinde geleneksel kardiyopleji olarak kullanılan St.Thomas II kardiyopleji solüsyonu ile yeni nesil del Nido kardiyopleji solüsyonunun etkinliğini histopatolojik olarak karşılaştırılmıştır.

Elde edilen verilerin neticesinde cerrahi sırasında iskemi-reperfüzyon açısından mümkün olan en iyi ve en uygun yaklaşımı sunmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Miyokard Koruma Tekniklerinin Tarihsel İlerlemesi

Miyokardın perioperatif dönemde korunma fikri ilk defa Bigelow tarafından 1950 yılında ortaya atıldı. Bigelow köpeklerde hipotermi ile miyokard korumasının mümkün olduğunu göstermiştir⁶. 1953'de John Gibbon kalp-akciğer makinasını ilk defa başarılı bir şekilde kullanarak o dönemde imkânsız görünen kardiyopulmoner bypassı (KPB) hayata geçirmiştir⁷. Mayo Klinikte 1955 yılında John W. Kirklin ve arkadaşları Gibbon'un kardiyopulmoner bypassını geliştirerek dünyada ilk kez KPB eşliğinde VSD ve fallot tetralojisinde total düzeltme operasyonlarını başarılı bir şekilde gerçekleştirmiş ve açık kalp cerrahilerinin yaygın uygulanmasının önünü açmışlardır⁸. Hufnagel ve arkadaşları 1961 yılında miyokardı korumak amacıyla kardiyak perfüzyonla beraber derin kardiyak soğutmanın gerekliliğini söylemişlerdir⁹. Kardiyopulmoner bypas sırasında iskemik hasarı azaltmak için potasyum klorür ile diyastolik arrest yapılarak kalbin elektromekanik aktivitesini tam olarak durduma düşüncesi Melrose ve arkadaşları tarafından 1955'de bildirildi ve ilk çalışma 1958'de yapılmıştır¹⁰. Sealy, Melrose'un geliştirdiği solüsyona neostigmin ekledi ve ilk kez kardiyopleji ismini kullanılmıştır¹¹. Hoelscher Melrose'un geliştirdiği solüsyon içerisindeki sitratın hücre içi ve hücre dışı kalsiyum (Ca^{2+}) ve magnezyumu (Mg^{2+}) azalttığını bildirdi, magnezyum ve prokaini membran stabilizatörü olması için kullandığı kardiyopleji solüsyonu geliştirdi¹². Kristalloid kardiyopleji solüsyonlarının Bretschneider ve Kirsh kardiyopleji solüsyonlarında olduğu gibi intraselüler değil, ekstraselüler içerikli yapılması gerektiğini Londra'daki St. Thomas hastanesinden David Hearse ve Mark Braimbridge tarafından söylenmiş ve St Thomas solüsyonu hazırlanmıştır¹³. İlerleyen dönemlerde çalışmalarına ara vermeden devam eden grup solüsyonun kalsiyum miktarını azaltarak bugünde halen kullanılan kullanılan St Thomas II solüsyonunu hazırlamışlardır. Düşük potasyum klorür içerikli kardiyopleji solüsyonunun hipotermi ile birlikte verilmesi gerektiğini gösteren çalışmalar 1980 yılında Bretschneider tarafından yapılmıştır¹⁴. Ve artık günümüzde intraoperatif miyokard koruma yöntemi olarak kardiyopleji

solüsyonu kullanımdadır. Günümüzde çalışmalarda kardiyoplejinin içeriği tartışılmaktadır.

Tablo 1. Miyokardiyal Korumanın Tarihsel Gelişimi⁴

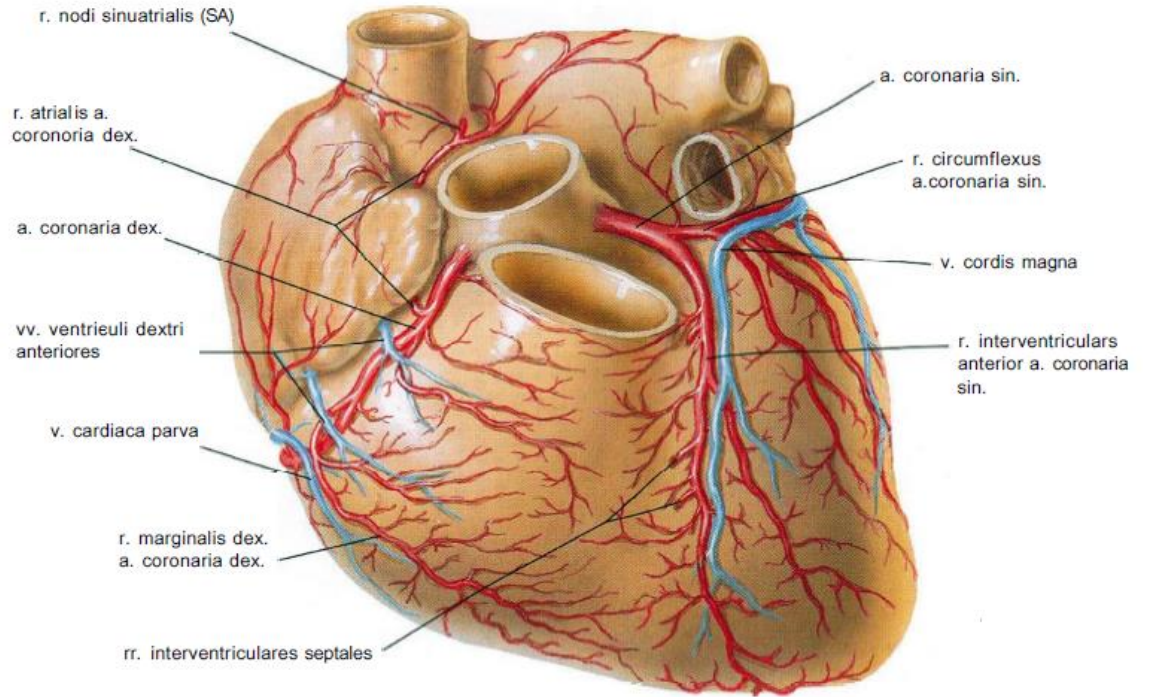
Bigelow	1950	Köpeklerde hipotermi uygulaması
Lewis, Taufic	1952	İnsanlarda hipotermi ve inflow oklüzyonla ASD tamiri
Swan H	1953	İnsanda hipotermik arrest
Melrose DG, Bentall HH	1955	Köpeklerde geri dönüşümlü kimyasal arrest
Lillehei CW	1956	Koroner arter kanülasyonu ile hipotermik kristaloid kardiyopleji
Lam CR	1957	Kardiyopleji teriminin bilinen ilk kullanımı
Gerdobe F, Melrose DG	1958	İnsanda potasyum sitrat ile kardiyak arrest oluşturma
McFarland JA	1960	Aralıklı aort oklüzyonu ile miyokardiyal koruma
Bretschneider HJ	1964	Düşük sodyumlu, kalsiyumsuz prokain içeriklisolüsyon ile kardiyak arrest
Gay WA, Ebert PA	1973	Köpek kalbinde hücrel hasar olmaksızın potasyum solüsyonu ile 60dk arrest sağlama
Hearse DJ, Braimbridge MV	1975	St Thomas I tanımlanması ve ilk klinik kullanımı
Buckberg GD	1979	Kan kardiyoplejisi kullanımı
Akins CW	1984	Kardiyoplejisiz hipotermik fibrillatuvar arrest ile koroner revaskülarizasyon
Murray CE	1986	İskemik ön hazırlama(preconditioning)
Lichtenstein SV, Salerno TA	1991	Devamlı sıcak kan kardiyoplejisinin klinik faydaları

2.2.Miyokardın Fizyolojisi

2.2.1.Koroner Arter Anatomisi

Kalbin koroner dolaşımı, kalbe ait lenfatiklerle birlikte koroner venleri ve koroner arterleri içerir. Sağ ve sol koroner arterler karşılıklı aort kapak lifletlerinin arka tarafından çıkar. Koroner arterler çıkan aortada, aortanın kalbe bağlantısının hemen üzerinde aort kökünden ayrılan aortanın ilk dallarıdır. Normalde aort kökünde üç sinüs olmasına karşın, çıkan iki koroner arter vardır. Sinüsler koroner arter çıkışına sahip olup olmadıklarına göre isimlendirilir. Sinüslerin normal dağılımları; sağ koroner, sol koroner ve nonkoroner aort sinüsü şeklindedir. Burada kullanılan sağ ve sol terimleri, vücudun sağ ve solu ile ilgili olmaktan çok, sağ ve sol koroner arterlerin çıkışına göre verilmiştir. Orifisler en sık valsava sinüsünün üst 1/3'ündedir. Bu da kişiden kişiye değişkenlik göstermektedir. Aortik kapağın oblik yerleşimi sebebiyle sol koroner arterin orifisi sağ koroner artere göre daha superiyor ve posteriyordadır. Koroner arterler, aorta ile miyokardın içerisindeki kapiller yataklar arasında bulunan damar yollarıdır. Sağ ve sol olmak üzere iki büyük koroner arter vardır.

Hangi koroner arterin baskın olduğuna, posterior desendan arterin köken aldığı yere göre karar verilmektedir. Bu durum kişiler arasında değişebilmektedir. Posterior desendan arter %90 sağ koroner arterden (RCA), %10 sirkumfleks arterden (Cx) köken alır. Kalp her diyastolde miyokardı kanlandırır ve daha sonra en son subendokardiyal miyokarda ulaşır. Sinüs nodunu besleyen SA nodun arteri insanların %50 den fazlasında RCA' dan köken alırken diğerlerinde CX' den köken alır. AV nodun arteri %90 RCA'nın dalıyken, %10 CX'in dalıdır. His demeti sol anterior desendan ve posterior desendan arterin septal dalları ile iki yoldan kanlanır^{15,16} (Şekil 1).

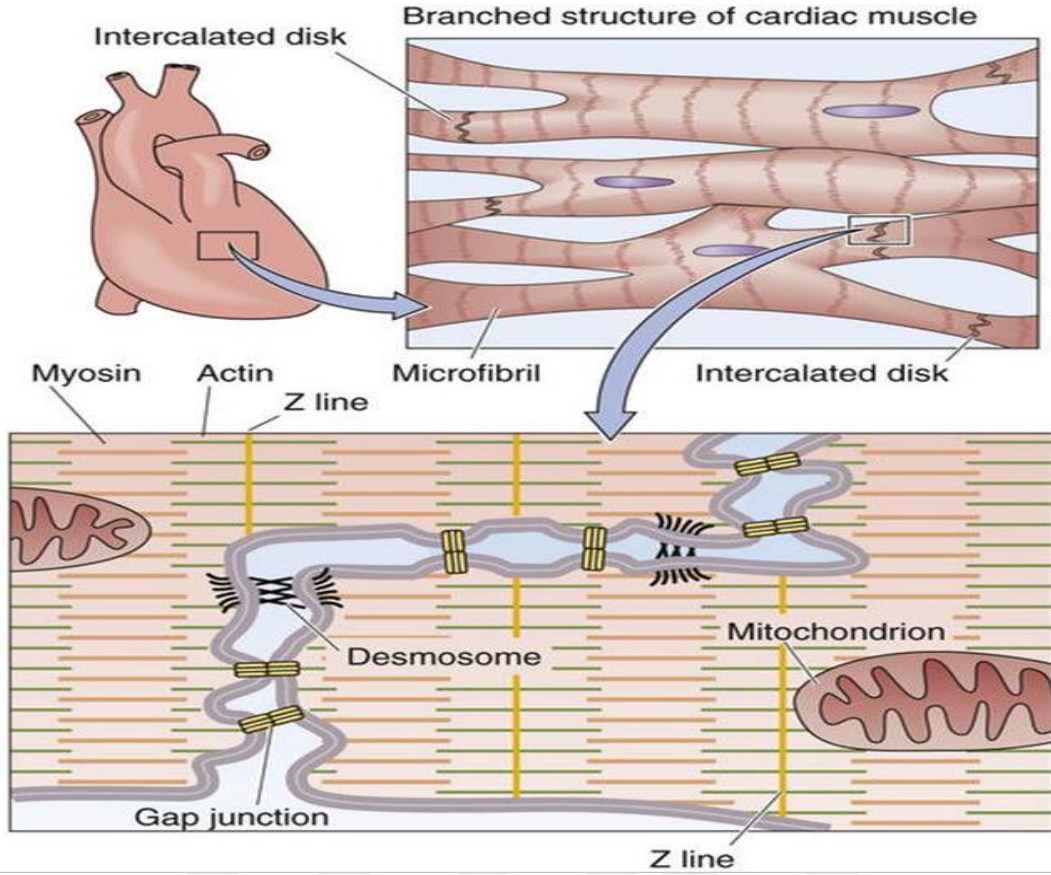


Şekil 1. Kalbin vasküler anatomisi¹⁶

2.2.2.Miyokardın Morfolojik Düzeni

Kardiyak myozitler yaklaşık olarak 25 μ çapında ve 100 μ uzunluğunda özel kas hücreleridir. Myozitler miyoflamanlar içeriğine sahip miyofibril bantlarından oluşmaktadır. Miyofibriller ise myozit'in ana kontraktıl ünitesi olan sarkomer olarak isimlendirilen, tekrarlayan farklı mikroanatomik ünitelerden oluşmaktadır. Miyofibrillerin çevresinde transvers (T) tübüleri ve sarkoplazmik retikulumdan oluşan iki ağ mevcuttur. Transvers tübül sarkolemmanın devamı gibidir ve kas lifinin eni boyunca bir ucundan diğer ucuna uzanmaktadır.

Sarkoplazmik retikulum miyofibrillere paralel olarak uzanan t b  ller ve bunların sonlandıkları sisterna alanlarından oluşmaktadır. Sarkoplazmik retikulum sisternaları transvers t b  lleri ile her iki yanda komşuluk yapmaktadır¹⁷. Sarkomerler, iki Z  izgisi arasındaki miyoflaman yapılar olarak tanımlanmaktadır (sarkomerin uzunluğu). İki Z  izgisi arasındaki sarkomer uzunluğu ise insan kalplerinde ortalama 1,6-2,2   aralığında bulunmaktadır. Kastaki en k   k kasılma birimi olan sarkomerler kalın (myozin) ve ince (aktin) filamanlardan oluşmaktadır. Aktin ve myozin arasındaki kimyasal ve fiziksel etkileşimler sarkomer'in uzaması- ksalmasına ve bu şekilde eksitasyon-kontraksiyon bileşkesinde myozitlerin kontraksiyonuna neden olmakta^{18,19} (şekil 2). Myozinler protein yapısındadır. Molek  ler ağırlıkları yaklaşık 470,000 daltondur. Her kalın filamanda ortalama 300 myozin molek  l   bulunur. İnce filamanlar    farklı proteinden oluşurlar. Bunlar aktin, tropomyozin ve troponindir. Bu    protein, d  zenleyici protein kompleksi olarak da isimlendirilirler. Her bir tropomyozinde 6-7 aktin molek  l   bulunur. Tropomyozine d  zenli aralıklarla tutunan troponin kompleksi    farklı subunitten oluşmaktadır. Bunlar; troponin T (TN-T), tropomyozin'e bağlanmışır, troponin-C (TN-C), aksitasyon-kontraksiyon bileşkesi sırasında kalsiyum'un bağlantı yeridir ve troponin-I (TN-I), myozinin aktine bağlanmasını inhibe etmektedir²¹.



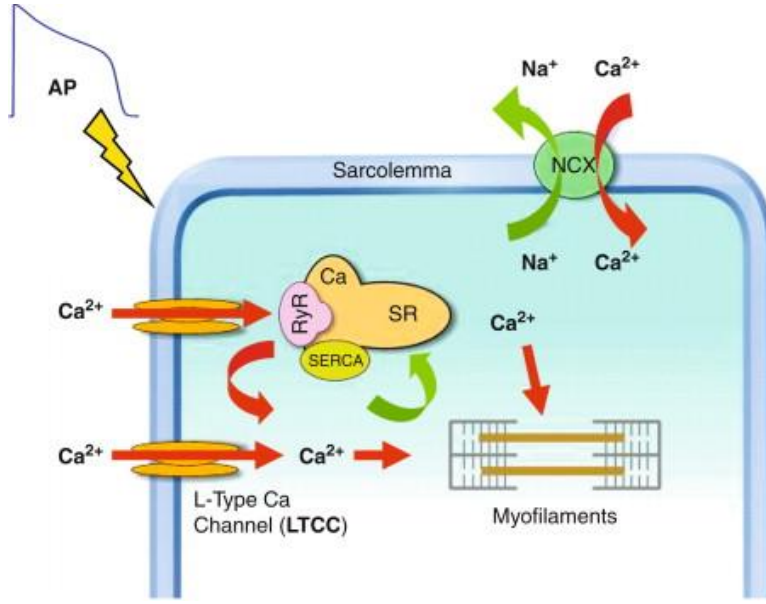
Şekil 2. Kalp Kasının Fizyolojik Yapısı²⁰

2.2.3. Miyokard Kontraktilitesinin Fizyolojisi

Kas kasılması Kayan-Filament Mekanizması ismi verilen sarkomerdeki ince ve kalın filamentlerin üst üste geçmesiyle gerçekleşir. Bu hareket sırasında filamentlerin uzunluğunda bir değişiklik meydana gelmez²².

Birçok kas hücrelerinden oluşan bir sinsityum olan bir kalp kasında hücreler birbirlerine güçlü bir şekilde bağlanmışlardır. Bu özellik bir hücredeki aksiyon potansiyelinin diğer hücrelere kolay ve hızlı geçişini ayrıca tüm kalp kasının aynı anda kasılmasını sağlamaktadır²³.

Kas kontraksiyonunu gerçekleştiren proteinlerin etkileşmesi için kalsiyum iyonunun aksiyon potansiyeli gereklidir²⁴. Kalbin kasılması hücre içi kalsiyum iyonu konsantrasyonuna bağlıdır(Şekil 3). Bundan dolayı hücre içine kalsiyum iyonunun geçişinin bozulması kasılma gücünde zayıflamaya sebep olur²⁴.

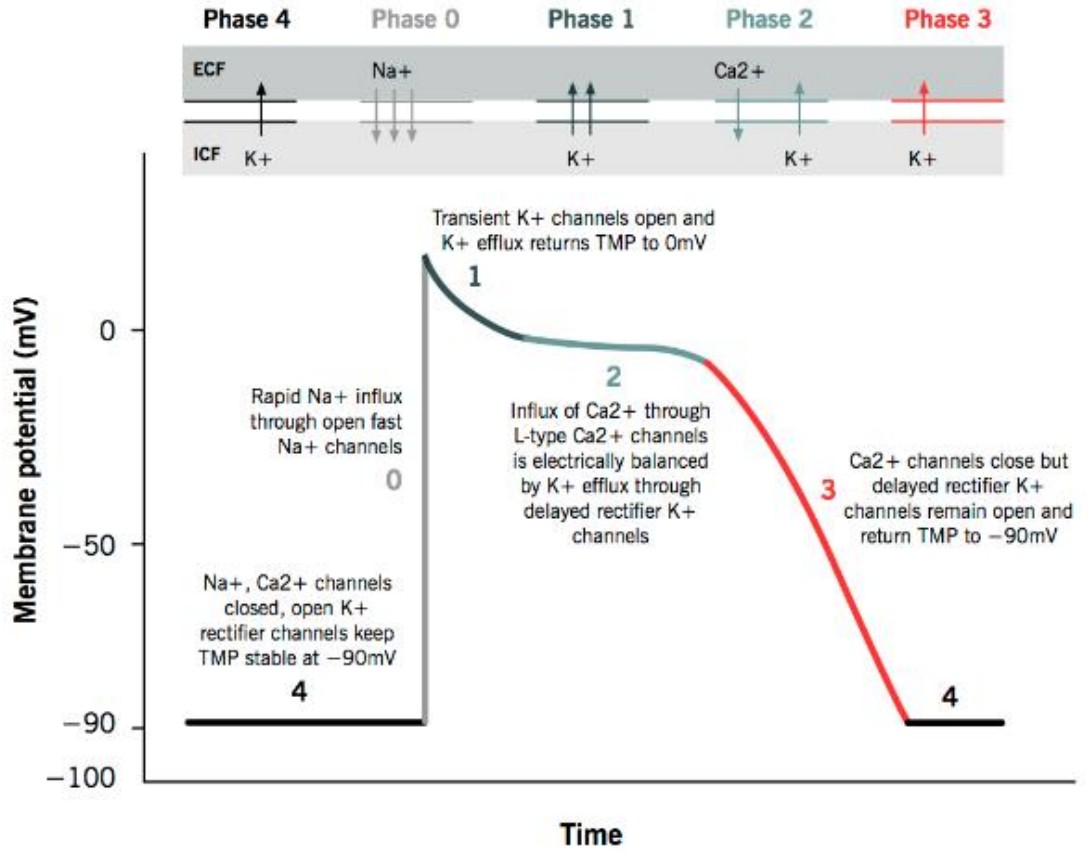


Şekil 3. Kalbin Uyarılma ve Kasılma Mekanizması²⁵

Kalp kasının iskelet kasından farkı aksiyon potansiyelinin daha uzun süren bir plato evresine sahip olmasıdır. Bunun sebeplerinden biri iskelet kasındaki aksiyon potansiyeli hemen hemen tamamen hızlı sodyum kanallarının hızlı açılması ile meydana gelirken, kalp kasında aksiyon potansiyeli iki farklı kanalın açılmasıyla meydana gelir. Bunlardan ilki hızlı sodyum kanalları ikincisi ise kalsiyum ve sodyum iyonlarının lif içerisine girişini mümkün kılan yavaş kalsiyum-sodyum kanallarıdır. Hızlı sodyum kanallarının hızlıca açılmasıyla büyük miktarda pozitif yüklü sodyum iyonu hücre içerisine girer ve bu şekilde zar potansiyeli, zar istirahat potansiyeli olan -85 milivolttan hızla pozitif yöne doğru +20 milivolta yükselir. Bu aşamaya depolarizasyon evresi denir. Yavaş kalsiyum kanallarının yavaş ve uzun süreli açılması ise depolarizasyon evresini uzatarak plato evresini oluşturmaktadır.

Plato evresinin oluşmasında diğer sebep ise; voltaj kapılı potasyum kanallarının çok yavaş açılması ve sıklıkla platonun sonuna kadar çok fazla açılmamasıdır. Bu durum iskelet kasında görülmemektedir. Kalp kası hücre zarının potasyum iyonlarına olan geçirgenliğini beşte bir oranda azaltarak artı yüklü potasyum iyonlarının hücre dışına geçişini büyük ölçüde azaltır. Ve aksiyon potansiyeli voltajının düzeyi, erkenden zar istirahat potansiyeli düzeyine dönmesi önlenmiş olur.

Yavaş kalsiyum kanallarının 0.2-0.3 saniye sonra kapanmasıyla kalsiyum ve sodyum iyonlarının hücre içine geçişi durmaktadır ve potasyum iyonlarına geçirgenlik hızla artmaktadır. Lifin içerisinde dışına doğru hızla artı yüklü potasyum iyonlarının geçişiyle zar potansiyeli yeniden normal negatif zar istirahat potansiyeline döner ve bu aşamaya repolarizasyon evresi denir. Bu şekilde aksiyon potansiyeli son bulur²⁶(Şekil 4).



Şekil 4. Kabin Aksiyon Potansiyeli²⁷

İskelet kasındaki gibi kalp kasında da aksiyon potansiyeli hücre zarı boyunca seyrederken aynı anda transvers tübüllerinin zarları boyunca da seyrederken lifin içerisine doğru yayılır. Bu şekilde sarkoplazmik retikulumun sisternalarından, sarkoplazmaya doğru kalsiyum iyonu geçişi olur. Bu kalsiyum iyonları miyofibrillerin içerisine girerek aktin ve miyozin filamentlerini aktifler. Aktifleşen filamentler, kayan filament mekanizmasıyla kasın kontraksiyonunu sağlarlar.

Kalp kasında, iskelet kasından farklı olarak aksiyon potansiyeli esnasında transvers tübüllerinden de sarkoplazmaya bol miktarda kalsiyum

iyonu geçişi olmaktadır. Bunun sebebi kalp kasının sarkoplazmik retikulumu iskelet kasına göre daha az gelişmiş olmasıdır. Bu sebeple kontraksiyon için yeterli miktarda kalsiyum iyonu içermemektedir. Diğerk taraftan kalp kasının transvers tübüllerinin çapı iskelet kası çapına göre 5 kat daha büyüktür.

Transvers tübüllerinin uçları hücre zarından geçerek hücre dışındaki alana açıldığından dolayı hücre dışı sıvısı transvers tübüllerinde de dolaşmaktadır. Bu sebeple kasılma kuvveti için gerekli olan transvers tübüllerinin içerdiği kalsiyum iyonlarının miktarı büyük oranda hücre dışı sıvısındaki kalsiyum iyon yoğunluğuna bağlıdır.

Plato evresinin sonunda lif içine olan kalsiyum iyon geçişi aniden durur ve sarkoplazmadaki kalsiyum iyonları hızla tekrar sarkoplazmik retikuluma ve transvers tübüllerine geri pompalanarak yeni bir aksiyon potansiyeli oluşuncaya kadar kontraksiyon durur²⁶.

2.2.4.Miyokardın Enerji Metabolizması ve Reperfüzyon Hasarı

Kalp kontraksiyonu ve normal hücresel fonksiyonlar için birincil yüksek enerjili fosfat olan ATP' ye ihtiyaç vardır ve ATP'nin büyük kısmı intraselüler aerobik oksidatif mekanizmalar ile sahip olunur. Bunun için gerekli temel faktör şüphesiz oksijendir²⁸. Kontraksiyon ve hücresel aktiviteler için kullanılan ATP yapısından bir fosfet alınarak adenosin difosfata (ADP) indirgenir. Oksijen varlığında ADP'ye yeniden bir fosfat ilave edilerek ATP yeniden oluşturulur. Oksijen yokluğunda ise bu yüksek enerjili fosfatlar hızla yenilenememektedir ve hücresel ATP seviyeleri dřmektedir²⁹.

Kalp yüksek enerji tüketime sahiptir ve bundan dolayı kandan çok yüksek miktarda ve sabit oksijen seviyesi ister. Miyokard oksijen tüketimi tüm vücudun oksijen kullanımının %7'sinden fazladır³⁰. Kalp oksijen varlığında ATP retimi için enerji kaynağı olarak yağ asitleri, glikoz ve aminoasitleri kullanmaktadır. Aerobik metabolizma ile 1 mol glikozdan 36 mol ATP üretilmektedir, anaerobik metabolizma ile ise yalnızca 2 mol ATP retilmektedir³¹.

Kan akımının kesildiği miyokard iskemi anında intraselüler ATP hızla azalır ve bu duruma ek olarak dokularda glikoliz ve hücresel fonksiyonları inhibe eden laktat ve hidrojen iyonları birikir³¹. Enerji depolarının azalması ve toksik

maddelerin uzaklaştırılamaması sonucu hücre ölümüne neden olan olaylar zinciri meydana gelir³².

İskemik miyokarda yeniden kan akımının sağlanmasına miyokardiyal reperfüzyon denmektedir³³. İskemi sonrası reperfüzyonla beraber tekrar enerji sağlanır ve toksik metabolitler uzaklaştırılır. Ancak iskemik miyokardın kanlanmasıyla özellikle erken evrede reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan patolojik bir süreç başlar ve reperfüzyon hasarı iskemi olduğunda oluşan hasardan daha şiddetli olabilir³⁴. Vasküler ve elektrofizyolojik fonksiyon bozukluğu ile beraber olan reperfüzyon hasarı membran yıkımı, hücre ölümü ve enflamasyonla kendini göstermektedir.

Serbest oksijen radikalleri (SOR), intraselüler kalsiyum artışının, endotel ve mikrovasküler disfonksiyonun en önemli sebebidir³⁵. Oksijenden üretilen süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri (OH^-) ve peroksinitrit anyonu ($ONOO^-$) gibi oksijen radikallerinin reperfüzyonun ilk anlarında meydana geldiği ve reperfüzyon hasarında çok önemli bir role sahip olduklarını gösteren bir çalışma Bolli ve arkadaşları tarafından 1989'da bildirilmiştir³⁶. Bu radikaller membran hasarı, DNA yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, ve sonrasında apoptozis ve nekrozla son bulan hücre ölümüne sebep olabilir³⁷. Oksijen radikalleri; katalamin katabolizması, mitokondri içinde elektron transportu, adenin nükleotid katabolizması ve normal nötrofil aktivasyonu ile meydana gelirler³⁸.

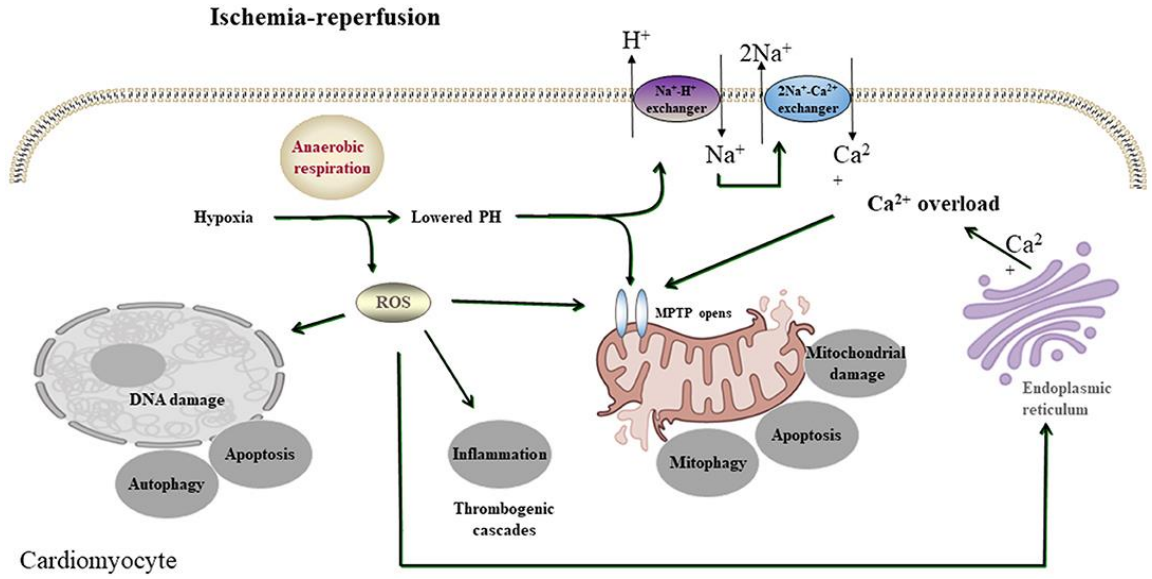
Reperfüzyonla sonrasında iskemik dokuya bir anda oksijen gelmesiyle, iskemi sırasında ATP'nin yıkımı sonucu meydana gelen hipoksantin ve ksantin gibi metabolitler çok hızlı okside olmaktadır³⁹. Oksidasyon sebebiyle meydana gelen ve göreceli olarak zararsız olan süperoksit radikalleri demir varlığında Haber Weiss ve Fenton reaksiyonlarıyla hasara sebep olan hidrojen peroksit, hidroksil ve perhidroksil gibi oksijen radikallerine dönüşür^{40, 41}.

Kalp miyokard hücrelerinde intraselüler SOR oluşumunun birincil kaynağı mitokondrilerdir³⁸. Serbest oksijen radikalleri proteinler, membran lipidleri ve nükleik asitlerin oksidasyonuna sebep olur⁴². Membran iyon kanallarının geçirgenliği değişerek intraselüler alana özellikle de mitokondriler içerisine fazla miktarda kalsiyum geçişi olur. Mitokondriler fazla kalsiyum yükü sebebiyle ATP oluşturamaz ve daha fazla SOR üretimi meydana gelir⁴⁰.

Serbest oksijen radikalleri, iskemiyle başlayan endotel fonksiyon bozukluğunu reperfüzyon ile daha da şiddetlendirirken inflamatuvar mediatörlerin ve adezyon moleküllerinin üretimini arttırmaktadır. Bu sebepten dolayı trombosit ve nötrofil aktivasyonu ortaya çıkar^{40,43}. Aktive nötrofiller hasarlı endotel hücrelerine tutunarak mikrovasküler tıkanmalara sebep olurlar⁴⁰. Ayrıca SOR'leri endotel tarafından salgılanan nitrik oksiti baskılar ve vazokonstrüksiyona sebep olur⁴³. Nitrik oksit eksikliği bu süreçte nötrofil aktivasyonunun kolay oluşmasına ve doku hasarının artmasına sebep olur⁴⁴.

Bu olayların sonrasında meydana gelen vazokonstrüksiyon ve mikrovasküler tıkanıklıklar sebebiyle iskemi sonrasında reperfüzyona rağmen miyokardın bazı kısımlarında kan akımı sağlanamaz. Bu olay no-reflow fenomeni olarak isimlendirilir⁴⁰.

İskemi ve reperfüzyon sebebiyle ortaya çıkan miyokard hasarı stunning, apoptozis ve nekroz şeklinde kendini gösterebilir⁴⁵. Miyokardiyal stunning, reperfüzyondan sonrasında irreversible yapısal hasarın olmadığı durumlarda miyokardın geçici kontraktıl fonksiyon bozukluğudur³¹. Saatlerce ve günlerce sürebilir ve bu durum mikrovasküler reperfüzyonun tam olmaması ile ilişkilendirilir⁴⁰. Hücre ölümü apoptozis ve nekroz gibi iki şekilde olabilir. Apoptozis hem fizyolojik hem patolojik koşullarda meydana gelen programlı hücre ölümüdür. Nekroz ise patolojik koşullarda, hücre hasarı sebebiyle meydana gelen hücre ölümüdür⁴⁶. Miyokard nekrozu iskemi ve reperfüzyon döneminde harekete geçen mekanizmaların sebep olduğu patofizyolojik sürecin son evresidir. Miyokardiyal nekrozun bulgusu miyokard hücrelerinde meydana gelen kontraktür varlığıdır⁴⁷.



Şekil 5. İskemi reperfüzyonda kalp hücresinin yanıtı⁴⁸

2.3.Miyokart İskemi Reperfüzyon Hasarının Klinik Sonuçları

2.3.1.Miyokard İskemisinin Hasara Duyarlılığı

İskemi ortaya çıkınca miyokard hücresinde hızlı bir metabolik bozulmaya sebep olur. Yüksek enerjiye sahip fosfat depoları hızlı bir şekilde boşalmaktadır. ATP depolarının yaklaşık olarak %50'si iskeminin ilk 10 dakikası içerisinde kaybedilmektedir. Daha sonraki dakikalarda azalmış miyokardiyal kasılma meydana gelir. Normotermik iskemi durumunda otuz dakika içerisinde irrevesibl miyokardiyal hasar oluşur⁴⁹.

Kalbin subendokardiyal kası ise iskemik hasar oluşumuna en duyarlı kısımdır. Özellikle sol ventrikül subendokardiyal bölümünde kan akımı yalnızca diyastolde gerçekleşmektedir⁵⁰.

2.3.2.Miyokardın Sersemlemesi (Stunning)

Klinik olarak reperfüzyon hasarı, no-reflow fenomeninde dâhil olduğu miyokardiyal sersemleme, reperfüzyon aritmisi, miyosit hücre ölümü ve endotelial ve mikrovasküler fonksiyon bozukluğuyla kendini belli etmektedir.

Miyokardiyal sersemleme ise reperfüzyon hasarının en net göstergesidir. 1975 yılında Heyndrickx ve arkadaşları tarafından açıklanmıştır⁵¹. Miyokardiyal nekrozun dâhil olduğu irrevesibl hasara rağmen iskemik dokunun

reperfüzyondan sonra devam eden, uzamış postiskemik mekanik fonksiyon bozukluğu olarak tanımlanabilir⁵².

Miyokardiyal sersemleme, yaygın iskemik miyokardın reperfüzyonundan sonra (kardiyak operasyonlar sürecinde kontrollü kardiyak arrest) veya bölgesel iskemi ve reperfüzyon (peruktan girişim, tromboliz, kararsız angina ve stres yaratan egzersiz ile oluşturulan angina) ile meydana gelebilir. Tekrarlayan miyokardiyal sersemleme iskemik kardiyomiyopatinin ortaya çıkmasına neden olabilir⁵³.

2.3.3.Reperfüzyon Ritim Bozuklukları

İskemik evreden sonra miyokardın reperfüzyonu potansiyel olarak öldürücü aritmilere neden olabilmektedir⁵⁴. Antegrad akımının spontan restorasyonunun ardından ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyon ani ölümlerin en önemli sebepleri arasında bulunmaktadır⁵⁵. Serbest oksijen radikallerinin ventriküler ritim bozukluklarının meydana gelmesinde önemli rol oynayabileceği öne sürülmektedir⁵⁶.

2.3.4. Miyosit Hücrelerinin Ölümü ve Nekrozu

İskemi sürecinde miyokard hücre ölümü, iskemi olarak isimlendirilir, reperfüzyon sürecinde miyokardiyal reperfüzyon hasarının bir parçası olarak bulunur.

Miyokard kontraktürünün (kontraksiyon bandı nekrozu) gelişimi, reperfüzyonun en erken bölümü olan dakikalar içinde nekrotik miyokard yaralanmasının primer sebebi gibi görünmektedir. Daha sonraki süreçte dakikalar ile saat arası dilimde çeşitli ek sebeplerle birlikte nekroz veya apoptozla hücre ölümünün daha fazla artmasına sebep olabilmektedir⁵⁷. Bunun sonucunda miyokart kardiyomiyosit ölümü olmadan şiddetli ve hatta total miyokardiyal iskeminin kısa dönemlerine (15 dakikaya kadar) dayanabilir^{58,59}.

2.3.5.Kardiyak Endotel Disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu, endotel bağımlı vazokonstriktörler ile verilen cevabın daha şiddetli endotel bağımlı vazodilatasyona neden olması olarak tanımlanmaktadır. Endotelin-1 ve oksijensiz radikaller gibi güçlü

vazokonstriktörlerin çoğalması, koroner vazokonstriksiyonu artırır ve kan akımını azaltmaktadır. Bu şekilde endotel disfonksiyonu, reperfüzyon hasarının önemli araçları olan trombositler ve nötrofillerin aktive olmasıyla bir protrombotik fenotipin tanımlanmasını kolaylaştırmaktadır⁶⁰.

2.4. Miyokard Koruma Yöntemleri

Kardiyak cerrahilerde kardiyak dolaşım devre dışı bırakıldığında kontrollü diastolik arrestin sağlanması ve iskemi-reperfüzyon hasarının en alt düzeye indirilmesi hedeflenir. Miyokardiyal koruma, cerrahi sırasında ve sonrasında miyokardda fonksiyon bozukluğu oluşumunu önlemek için kullanılan stratejileri içerir. Bu stratejilerin hedefi kansız bir cerrahi alan, hareketsiz bir cerrahi saha, miyokard fonksiyonunun korunması ve cross klemp alındıktan sonra miyokardiyal kontraktil aktivitenin hızla yeniden sağlanmasıdır⁶¹. Miyokard koruma yöntemlerinde ana prensip miyokarda sunulan enerjiyle miyokardın ihtiyacı olan enerji arasındaki dengenin korunmasıdır⁶².

Kardiyopulmoner baypas öncesinde, hipotansiyon, hipertansiyon, taşikardi, bradikardi, düşük kalp debisi gibi durumlar operasyon sonrasında miyokard disfonksiyonuna sebep olabilir. Bu sebeple KPB öncesinde tansiyonun ve ritmin uygun düzeylerde tutulması, düşük kalp debisi durumunda intraaortik balon pompası (IABP) desteği ile miyokarda oksijen sunumunun artırılması cerrahi sonrası miyokard fonksiyonlarının korunmasında önem arz etmektedir⁶³.

2.4.1. Kardiyopleji Çeşitleri Dışındaki Yöntemler

Ameliyat sırasında uygulanacak miyokard koruma yöntemi hasta daha ameliyathaneye gelmeden önce planlanır. Hastanın mevcut hastalığı ve kardiyak fonksiyon durumu dikkatlice değerlendirilmelidir. Ventrikül hipertrofisi, ejeksiyon fraksiyonu, aort yetmezliği veya sol ana koroner arter hastalığı gibi hastaya özel durumlar dikkate alınarak düzenlemeler yapılmalıdır⁶¹.

2.4.1.1. Hipotermi

Kardiyopulmoner bypass sırasında miyokardı korumak için hipotermi uygulanmaktadır. Metabolizmayı yavaşlatarak hipotermi'nin yalnızca miyokard üzerinde değil aynı zamanda tüm organlar üzerinde de iskemiden koruyucu etkisi bulunmaktadır. Miyokardın oksijen tüketimini azaltır ve perfüzyon akım oranlarının azaltılmasına yardımcı olur. Beyin koruması ve hayati organların korunmasını sağlar. Hücre içi metabolik ve enzimatik reaksiyon hızı azalır. ATP depoları korunur. Apoptozise engel olunur⁶⁴.

Hipotermi'nin faydalı etkileriyle beraber zararlı etkileri de bulunmaktadır. CO₂ çözünürlüğü artar, CO₂ parsiyel basıncını düşürerek alkalozu sebep olur. Oksihemoglobin eğrisi sola kayar ve dokulara O₂ verilmesini güçleştirir. Kanın viskozitesi artar ve kan dolaşımı yavaşlar. Hiperglisemi oluşur. Hemoraji ve yaygın damar içi pıhtılaşması (DIC) ihtimali artar⁶⁵.

Hipotermi'nin zararlı etkileri bulunmasına rağmen şu anda da kalp ameliyatlarında farmakolojik arest ile birlikte önemli bir unsur olarak uygulanmaktadır.

2.4.1.2. Boş Atan Kalp

Cerrahinin KPB altında cross klemp konulmadan atan kalpte uygulanmasıdır. Bu şekilde hem miyokardın sürekli olarak perfüzyonu sağlanır hem de ekstrakorporeal hemodinamik destek sayesinde kalp boşaltılarak ventrikülün oksijen kullanımı azaltılır. Gerekli olan hastalarda sağ üst pulmoner vene yerleştirilen vent ile sol ventrikül dekomprese edilerek miyokardın duvar geriliminin azaltılması özellikle subendokardiyal hasarı önlemek için önemli bir stratejidir⁶¹. Miyokardın oksijen kullanımı normal atan kalpte her 100 gr için dakikada 8 mlO₂ iken boş çalışan kalpte 5,6 mlO₂'dir⁶⁶. Daha çok kalsifik aortası bulunan hastalarda ve koroner baypas ameliyatlarında tercih edilen yöntemdir. Hafif veya orta hipotermiyle birlikte uygulanabilir⁶⁷.

2.4.1.3. Fibrilasyonla Birlikte Aralıklı Olarak Aortik Kros Klemp Uygulaması

Koroner arter baypas ameliyatlarında tüm distal anastomozlar sırasında orta derecede hipotermi ve ventriküler fibrilasyonla birlikte aortaya yerleştirilen kısa süreli cross klemp periyotları altında göreceli stabil cerrahi alan sağlanır⁶¹.

Bu teknikle, geleneksel kardiyoplejik tekniklerle karşılaştırıldığında sol ventrikül diyastolik fonksiyonunun daha iyi korunduğu yayınlanmıştır⁶². Raco ve arkadaşları 800 hastada bu tekniği kullanmışlar ve 2002'de bildirdikleri bu yayınlarda yöntemin güvenilir olduğunu göstermeye çalışmışlardır⁶³. Daha sonra 2004'de bildirilen benzer çalışmalarda da miyokardın korunmasında etkili bir yöntem olduğu ispatlanmaya çalışılmıştır^{64,65}.

2.4.1.4. Devamlı Koroner Perfüzyon

Kalp akciğer makşnası eşliğinde aortik cross klemp altında koroner arterlerin aort kökünden infüzyonuyla veya koroner arterlerin selektif kanülasyonu ile perfüzyonunun Kardiyopulmoner baypas aracılığıyla sağlanması ile uygulanır. Bu teknik aort kapak replasmanı veya asendan aort anevrizmalarında da uygulanabilir⁶⁶. Bu teknikte, koroner akımın hızı önemlidir. Total akım 30 derecede yaklaşık 200-250 ml/dk (120-150 ml/dk/m²) olmalıdır⁶⁷.

2.4.2 Kardiyopleji Yöntemleri

Kardiyopleji ile kardiyak arrest en sık kullanılan miyokard koruma tekniğidir. Miyokardın ihtiyacı olan enerji ile miyokarda sunulan enerji arasında dengenin sağlanabilmesi için miyokardın enerji metabolizması hipotermiyle azaltılırken ihtiyaç olan oksijen ve metabolitlerin de karşılanması gerekmektedir. Normal atan sol ventrikülde oksijen kullanımı 100 gr için 8 ml/dakikadır. Kardiyoplejik arrestle bu oran %81 azalarak 1,5 ml/dakika düzeylerine iner⁵⁶. Cross klemp ve elektromekanik arrest arasında geçen sürede ciddi miktarlarda ATP tükenebileceği sebebiyle cross klemp sonrasında kalp hızla arrest edilmelidir⁶⁸.

Bu amaçla kalbi geçici olarak kontrollü arrest etmek için farklı oran ve içeriklere sahip kimyasal ajan karışımları olan kardiyopleji solüsyonları kullanılmaktadır⁶⁰.

İyi bir kardiyopleji solüsyonundan istenen özellikleri aşağıdaki gibi sıralayabiliriz⁶⁹;

1. Etkisinin hızlı bir şekilde geri döndürülebilir olması gerekmektedir.

2. Reperfüzyondan kaynaklı hasarı sınırlamalı ve irreversibl miyokard hasarı meydana gelmesi engellemelidir.

3. Miyokard hücrelerinin ATP tüketimini azaltmak için hızla diyastolik arrest yapmalıdır.

4. Toksik etki meydana getirmemelidir.

Diyastolik arrest oluşturmak için aksiyon potansiyelinin değişik basamaklarında etkili iyon mekanizmaları hedef olarak seçilmektedir. Hedef olarak seçilen iyon mekanizmaları iki ana grupta incelenebilir. Birinci grupta hedef; hızlı sodyum (Na^+) kanallarının akışı inhibe edilerek aksiyon potansiyelinin oluşmasının engellenmesidir. Hızlı sodyum akışının önlenmesi iki yolla sağlanabilir. Bunlardan ilki istirahat membran potansiyelinin hızlı sodyum kanallarının aktivasyon eşiğinden uzaklaştırılmasıdır. Bunu sağlamak için ekstraselüler potasyumun (K^+) artışı (hiperkalemi) sağlanarak bir miktar depolarizasyon oluşturulabilir veya potasyum kanal açan etken maddeler (pinasidil, adenozin) kullanılarak hiperpolarizasyon meydana getirilebilir. İkinci yol ise sodyum kanal engelleyicileri (lidokain, prokain, esmolol) ile direkt bloke edilmesidir. İkinci gruptaki hedef ise; miyofilamentlerdeki kalsiyum (Ca^{2+}) aktivitesi engellenerek miyosit kasılmasının bloklanmasıdır. Ekstraselüler kalsiyum seviyesi azaltılabilir, L-Tipi kalsiyum kanal blokörleri ile (yüksek doz magnezyum (Mg^{2+}), diltiazem, verapamil, esmolol) sarkomer kalsiyum kanallarının direkt blokajı yapılabilir veya 2,3 butanedion monoksim (BDM) gibi etkenlerle doğrudan miyofilamentlerin inhibasyonu yapılabilir⁶⁹.

Hücre dışı yüksek miktarda potasyum(Hiperkalemi) hızla diyastolik arrest oluşturmak için en sık tercih edilen tekniktir. Yüksek miktarda potasyum istirahat membran potansiyelini daha fazla depolarize hale getirir ve potasyum yoğunluğu yükseldikçe potansiyel de değişir. Normal değeri -85 mV olan istirahat membran potansiyeli ekstraselüler potasyum konsantrasyonu yaklaşık 10 mmol/L düzeyinde olduğunda -65 mV olur. Bundan dolayı voltaj bağımlı hızlı sodyum kanallarının inhibe olmasıyla aksiyon potansiyelinin başlaması önlenir. Ekstraselüler potasyum konsantrasyonu yaklaşık olarak 30 mmol/L olacak şekilde arttırıldığında istirahat membran potansiyeli yaklaşık -40 mV olur. Bu düzeyde yavaş kalsiyum kanalları aktif duruma geçer ve bu durum çok fazla intraselüler kalsiyum artışına sebep olur⁷⁰. Bundan dolayı ekstraselüler potasyum yoğunluğunun 10-30 mmol/L aralığında olacak düzeyde tutulmalıdır.

Bu da gösteriyor ki ekstraselüler potasyum konsantrasyonunun oldukça dar bir güvenlik aralığı bulunmaktadır⁶⁰.

Kardiyak arrest oluşturma'nın diğ er bir yolu da, ekstraselüler sıvı kalsiyumdan yoksun bırakılarak L-tipi kalsiyum kanallarından intraselüler alana kalsiyum geçişini engellemektir. Bu şekilde sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum çıkışı önlenir ve uyarılma kasılma bağlantısı engellenmiş olur⁷¹. Fakat kalsiyumun olmadığı bir kardiyopleji solüsyonu kalsiyum atılımına ve sodyum yüklenmesine sebep olabilir. Kalsiyumdan yoksun olan hücreye reperfüzyonla beraber yeniden kalsiyum girişiyle fazla miktarda kalsiyum yüklenmesi olur ve ciddi miyokard hasarı oluşur. Bu durum “kalsiyum paradoksu” olarak adlandırılır. Bundan dolayı kalsiyumdan yoksun kardiyopleji solüsyonu kullanmak yerine kalsiyum kanal blokörleriyle kalsiyumun etkileri azaltılabilir^{72,27}.

Kardiyopleji solüsyon teknikleri alanında birçok yöntem yayınlanmıştır. Temel değişkenler kardiyopleji solüsyonlarının kristaloid veya kan içerikli olup olmadığı, iletim yolu ve miyokardın ısısıdır²⁷.

Kardiyopleji solüsyonları, tıbbi uygulamasındaki farklılıklar ve içeriğindeki etken maddelerinin kullanımı sebebiyle karmaşık olabilir. Kardiyoplejiye eklenen katkı maddeleri çok sık tartışılan konulardandır. Bu eklenen katkı maddelerinin çoğu iskemi-reperfüzyon hasarının oluşturduğu sebepler ile başa çıkacak şekilde seçilirler. Temel hatlarıyla kardiyoplejik solüsyonlar kan ve kristaloid kardiyopleji olarak iki grupta değerlendirilebilir²⁷.

2.4.2.1. Kan Kardiyoplejisi

Kan, iç erdiği hemoglobin (Hb) sebebiyle fazla miktarda oksijen taşıma kapasitesine sahip olması sebebiyle daha etkili kardiyoplejik ajan olabileceğ i düşünölmüş tür⁷³. Kan kardiyoplejisi kan ve kristaloidin, hematokrit 4:1 oranında olacak şekilde (kan: kristaloid) kombinasyonuyla elde edilir. En önemli faydalarından biri basit olmasıdır. Çünkü kanın tamponlama özelliğ i vardır ayrıca serbest radikalleri uzaklaştırabilir. Kan metabolik substratlar, kolloidler ve hemoglobin benzeri faydalı maddeler iç ermektedir. Bundan dolayı daha az katkı maddesi gerekmektedir²⁷.

2.4.2.2. Kristaloid Kardiyopleji

Protein ve kan gibi organik madde içeriğine sahip olmayan belli oranlarda elektrolit içeren kardiyoplejiye kristaloid kardiyopleji denir. Kristaloid kardiyopleji solüsyonları sahip oldukları elektrolit karışımına göre hücre içi ve hücre dışı olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır⁷⁴. Kristaloid kardiyopleji solüsyonlarının viskozitesi düşük olduğundan dolayı daha hızlı kardiyak arrest sağlar².

Yalnızca çözünmüş oksijen taşıdıklarından dolayı bu az miktardaki oksijen düşük ısılarda miyokardiyal koruma için yeterli olmaktadır. Bundan dolayı kristaloid solüsyonlar hipotermi sağlanarak uygulanmalıdır. Tamamı üretilebilir olduğundan dolayı içerisindeki tüm karışımlar kontrol edilebilir. İçerisine eklenen etken maddelerinden dolayı çok iyi miyokardiyal koruma sağlayabilir. Fakat eklenen her etken madde kardiyoplejinin kompleksliğini artırır²⁷.

2.4.3. Kardiyopleji Çeşitleri

Kardiyopleji solüsyonları, iyon birleşimleri ve görev aldıkları hücresel ortama (ekstraselüler veya intraselüler) dayanarak ekstraselüler veya intraselüler solüsyonlar olarak sınıflandırılırlar. Hücre dışı kardiyopleji solüsyonları içerisinde St. Thomas, Buckberg ve Del Nido bulunurken, hücre içi solüsyonlar içerisinde Custodiol® HTK Solüsyonu (Essential Pharmaceuticals, Ewing, NJ) bulunur.

Kan kardiyoplejisinin, kristaloid kardiyoplejisine göre, oksijen taşıyabilme ve çok iyi tamponlama sebebiyle daha yararlı olduğu düşünülmektedir. Elektrolit ve osmotik bileşenlerin benzer olması, serbest radikalleri ortadan kaldırarak oksidatif stresin oluşturduğu hasarı azaltması diğer yararları arasında sayılabilir⁷⁵.

2.4.3.1. St.Thomas Kardiyopleji

St. Thomas kardiyopleji solüsyonu 1980-1990'da yaygın olarak kullanılmıştır⁷⁶. İskemik miyokard, kalsiyum içeriği düşük ve içerisinde magnezyum bulunmayan potasyum içerikli kardiyopleji solüsyonuyla korunabilmektedir. Magnezyum ve kalsiyum içeriğine sahip St. Thomas kardiyopleji solüsyonunun, erken reperfüzyon evresinde miyokardın fonksiyonel

ve elektriksel olarak geri döndürülmesini sağladığı gösterilmiştir. Bunların sonucu reperfüzyonda farklı ekstraselüler kalsiyum ve magnezyum seviyeleriyle ilişkilendirilebilir⁷⁷.

2.4.3.2. Del Nido Kardiyopleji

Del Nido kardiyopleji solüsyonu, 1990 yılında, özellikle pediatrik hastalarda gelişmemiş ve olgunlaşmakta olan miyokardın ihtiyaçlarını karşılamak hedefiyle Pittsburgh Üniversitesi'nde bulunmuştur⁷⁸. İçerisinde bulunan lidokain etkeni sodyum kanallarında blokaj yapar. Troponin salınmasını düşürür. Mannitol içermesinin yararı olarak hem serbest radikalleri temizlediği hem de miyokardiyal hücre ödemi azalttığı gösterilmiştir⁷⁹. Özellikle ileri yaş hastalarda çok iyi koruma sağlar. 90 dakikalık cross klemp süresinde güvenilir koruma sağladığı yayınlanmıştır. Del Nido solüsyonunun uygulama kolaylığıyla aralıksız cerrahi sağlar, retrograd yolla uygulama gerektirmez. Daha iyi intraoperatif glukoz regülasyonu sağladığı da gösterilmiştir⁸⁰. Del Nido kardiyopleji solüsyonu kan ile 4:1 (kristaloid:kan) oranında 90 dk boyunca miyokardiyal koruma sağlamak için 20 ml/kg dozda, 100-200 mmHg basınçla ve 200-300 ml/dk akış hızıyla verilir. Hipotermi ile kombine olarak kullanılır⁸¹.

St.Thomas ve del Nido kardiyopleji solüsyonları kıyaslandığında ana farklılık kalsiyum içeriğidir. St Thomas solüsyonu iyonize kalsiyum açısından normal kalsiyum düzeylerine sahiptir ve mannitol ile lidokain içermemektedir (Tablo 2). Başka bir farklılık ise magnezyum yoğunluğudur. Miyokardiyal düzeyde artmış magnezyum, hücre içerisine kalsiyum girişini inhibe ederek St. Thomas solüsyonu içerisindeki yüksek miktarda ki kalsiyumu dengeleyecektir. Yüksek magnezyum içerikli kardiyoplejinin başka bir faydası kalp akciğer makinası sonrası aritmilerde azalmayla ilişkisinin bulunmasıdır⁸².

Günümüzde kullanılan solüsyonların içerikleri açısından genel ortak görüş olmayıp solüsyonların içerikleri kullanılan merkezlere göre farklılıklar gösterebilmektedir⁸³.

Tablo 2. St. Thomas II kardiyopleji solüsyonunun kristoloid bileşeni⁸⁴

St Thomas Kardiyopleji Solüsyonu İçeriği	
Na ⁺	129 mmol/L
Cl ⁻	140 mmol/L
K ⁺	16 mmol/L
Ca ⁺⁺	1.2 mmol/L
Mg ⁺⁺	16 mmol/L

Tablo 3. Del Nido kardiyopleji solüsyonunun kristoloid içeriği⁸⁵

Del Nido Kardiyopleji Solüsyonu		
Plasma-Lyte A 1000 ml (Baz Solüsyon)	Na ⁺ (mEq/L)	140
	K ⁺ (mEq/L)	5
	Mg ²⁺ (mEq/L)	3
	Cl ⁻ (mEq/L)	98
	Asatat	27
	Glukonat	23
%20 Mannitol(ml)		16. 3
%50 Magnezyum Sülfat(ml)		4
%8.4 Sodyum Bakarbonat(ml)		13
Potasyum Klorür(2mEq/ ml)		13
%1 Lidocain(ml)		13

Tablo 4. Kardiyoplejiye eklenen etken maddeler ve etkileri^{27,83}

Katkı Maddesi	Etkisi
Mannitol	Ozmotik diüretik, miyokardiyal ödemi azaltır.
Lidokain / Prokain	Hücre zarını sabitlet, arresti indükler, antiaritmiktir.
Kalsiyum	Membran stabilizatör etki, kalsiyum paradoksunu önler.
Magnezyum	Membran stabilizatör etki, arresti indükler.
Glutamat / Aspartat	Krebs siklusuna substrat sağlar.
Nitroglicerol	Vazodilatasyon yapar.
Kalsiyum kanal blokerleri	Membran stabilizasyonu yapar.
SOR süptürütçileri	Miyokardı serbest oksijen radikal hasarından korur.
THAM/Histidin	Tampon görevi görür, hücre içi asidozu önler.
Glukoz	Metabolik substrat sağlar.

2.4.4. Kardiyoplejinin Veriliş Yolları

Aortaya cross klemp konulduktan sonra en iyi miyokardiyal koruma sağlamak için, kardiyoplejik solüsyonun birleşiminin yanında aynı öneme sahip olan diğer bir konu ise tüm iskemik evrede diyastolik arrestin devam etmesi için tekrarlayan dozların zamanında verilmelidir. Aort kapak darlığında ve hipertrofik miyokardiyumda olduğu gibi farklı kardiyak hastalığa özęü önlemlerin alınması gerekir⁸⁶.

2.4.4.1. Antegrad Yol

Kardiyopleji solüsyonun ilk veriliş yolu olan antegrad yol bugünde en yaygın yöntemdir⁶⁰. Bu yol ile kardiyopleji solüsyonu aort kökünden, koroner ostiyumlardan veya distal anastomozlardan sonra greftlerden koronerler aracılığıyla belirlenmiş bir akım hızı ve basınçta miyokarda verilmektedir. Verilme hızı yaklaşık olarak 150 ml/dk /m² dir. Hızlı verilmesi dağınık dağılım ve yetersiz korumaya sebep olduğu gibi yetersiz perfüzyon basıncı da eşit olmayan dağılıma sebep olabilir. Bundan dolayı perfüzyon basıncı yaklaşık olarak 70-100 mmHg seviyelerinde tutulmalıdır²⁷. Bununla beraber, ödemin meydana gelmesini önlemek için arrest olan kalpte kardiyopleji solüsyonunun yeniden verilişleri sırasında, daha düşük bir basınç (50 mmHg) tavsiye edilir⁸⁶. Önemli seviyelerde koroner arter hastalığı ya da aort kapak yetmezliği durumunda aort kökü aracılığı ile verilen kardiyopleji solüsyonu yetersiz kalabilir. Eğer aort kapakta yetmezlik mevcutsa koroner arterleri perfüze etmek için yeterli basınç sağlamak zordur. Bununla birlikte kardiyopleji solüsyonunun sol ventriküle akışıyla ventrikül duvar gerginliği artmakta ve subendokardiyum perfüzyonunun bozulmasına sebep olmaktadır. Bu durumdan dolayı aort cerrahilerinde kardiyopleji solüsyonu aortotomi uygulandıktan sonra koroner ostiumlara yerleştirilen özel bir kanül aracılığıyla direkt verilebilir. Koroner arterlerde ciddi tıkanıklık varlığında aort kökünden verilen kardiyopleji solüsyonunun düzensiz dağılmasına sebep olabilir. Buna benzer durumlarda her distal anastomozdan sonra greftten ek doz kardiyopleji uygulanabilir²⁷.



Şekil 6. Antegrad kardiyopleji uygulama kanüllerin örnekleri⁸⁷

2.4.4.2. Retrograd Yol

Bu teknikte kardiyopleji solüsyonu, koroner sinüse yerleştirilen retrograd kardiyopleji kanülünden koroner venler aracılığıyla miyokarda verilir. Sol ana koroner arter hastalığı ya da aort yetmezliği aracılığıyla antegrad teknikle etkili olarak kardiyopleji solüsyonunun verilemeyeceği ön görülen hastalarda kalbin yeterli seviyelerde perfüze olmasını sağlar. En önemli faydalarından biri ameliyatın gidişatını kesintiye uğratmadan reinfüzyonun uygulanabilmesidir²⁷. Ama sağ ventrikülü drene eden koroner venlerin yapısı koroner sinüs sisteminden ayrı olduğundan dolayı sağ ventrikül yeterli miktarda perfüze edilemeyebilir. Bundan ayrı sol ventrikülde de antegrad uygulamaya kıyasla yeterli kapiller perfüzyon sağlanamaması sebebiyle tek başına kullanılması yetersiz kalabilir⁸⁸. Kardiyopleji retrograd teknikle uygulanırken perfüzyon basıncı 20-40 mmHg seviyelerinde tutulmalıdır. Bu basıncın 40 mmHg'dan fazla olması koroner sinüsün hasarlanmasına ve miyokard ödemine sebep olabilir⁸⁹.



Şekil 7. Retrograd kardiopleji uygulama kanül örneği⁸⁷

2.5. Kardiyak İskeminin Histopatolojik Bulguları

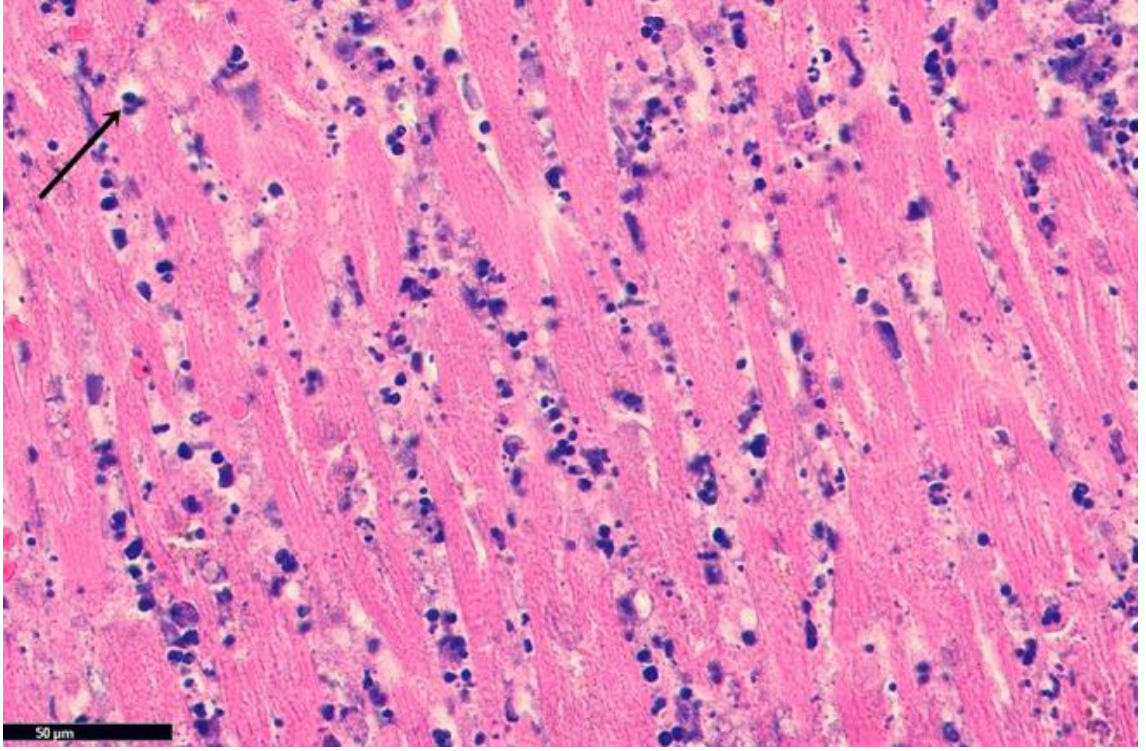
2.5.1. Miyokard İskemisinin Morfolojik Özellikleri

Miyokard iskemisineki(MI) morfolojik bulgular, Tablo 5’de gösterildiği gibi, enfarktüstten bu yana geçen süreye göre değişir. Koagülatif nekroz, iskemiye bağlı olarak meydana gelen ve yapısal proteinlerin denatürasyonuna yol açan hücre ölümüdür. MI sonrası hücrede meydana gelen ilk değişikliktir. Nekrozdaki sonra yaklaşık 12 ila 24 saat içinde nötrofilik akım görülür. Bunu 1 ila 3. günlerde çekirdek kaybı, 3 ila 7. günlerde makrofajlar tarafından fagositoz ve kenarlarda granülasyon dokusu oluşumu izler. Fibroz veya yara izi yaklaşık 2 hafta içinde başlar ve sonunda 2 ay içinde tam yara izi oluşumu meydana gelir. Brüt muayenedeki değişiklikler 12 saatten önce belli olmaz. Miyokardın ikincil nekroz değişikliklerine uğraması 6 ila 12 saat sürdüğünden, MI’ı histolojik olarak erken tanımak zor olabilir⁹⁰ (Tablo 5).

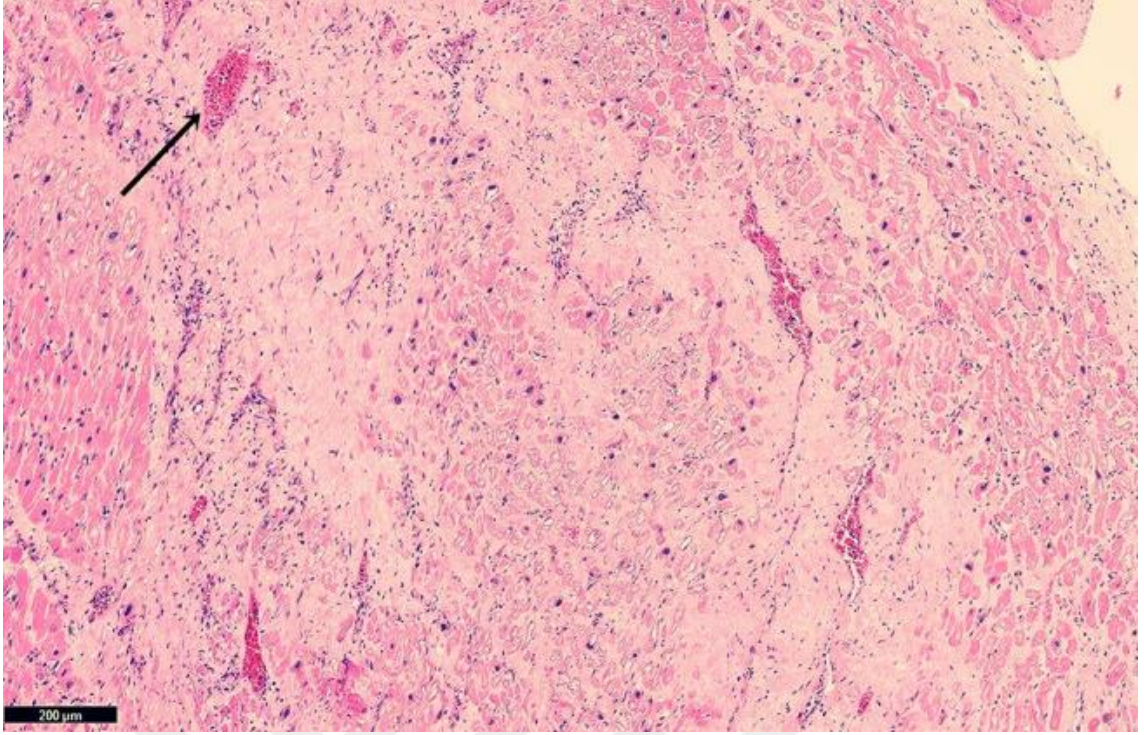
Tablo 5. Miyokard İnfarktüsü Sonrası Gross ve Mikroskopik Değişikliklerin Zamanlaması⁹⁰.

ZAMAN	GROSS BULGULAR	Işık Mikroskopisi	Elektron Mikroskopisi
Geri Dönüslü Hasar			
0-30 Dakika	Yok	Yok	Miyofibrilin gevşemesi; glikojen kaybı; mitokondri şişmesi
Geri Dönüştürme Değişiklik			
30 dakika-4 Saat	Yok	Genellikle normal; sınırdaki dalgalı lifler	Sarkolemma yıkımı; mitokondri amorf yoğunlukları
4-12 Saat	Ara sıra koyu beneklenme görülüyor	Erken koagülasyon nekrozu, ödem, kanama başlar; sitoplazmanın hipereozinofili	
12-24 Saat	Koyu beneklenme	Devam eden koagülasyon nekrozu; piknotik çekirdekler; kenarlarda kontraksiyon bandı nekrozu; nötrofil akışı	
1-3 Gün	Enfarktüsün sarı-ten rengi merkezi beneklenme ile	Çekirdek ve çizgilerin olmadığı koagülatif nekroz, interstisyel nötrofilik sızıntı	
3-7 Gün	Sınırlarda hiperemi ile birlikte merkezi sarı-ten rengi yumuşama	Miyofiberler parçalanmaya başlar; ölmekte olan nötrofil; makrofajlar nekrotik hücreleri fagosite eder	
7-10 Gün	Maksimum derecede sarı-ten rengi ve yumuşak; çökmüş kızıl kenarlar	Nekrotik hücrelerin iyi gelişmiş fagositozu; marjinal granülasyon dokusu	
10-14 Gün	Kırmızı-gri çökmüş enfarktüs sınırları	Neovaskülarizasyon ve kollajen birikimi ile iyi oluşmuş granülasyon dokusu	
2-8 Hafta	Enfarktüsün sınırından merkezine doğru ilerleyen gri-beyaz skar	Artan kollajen birikimi ve azalan hücresellik	
>2 Ay	Skar izi tamamlanır	Yoğun kollajen skar	

Mikroskopik inceleme, miyositlerin pıhtılaşma nekrozunu ve nötrofilik infiltrasyonu gösterir (Şekil 8) 12 ila 24 saatlik enfarktüse karşılık gelir. Şekil 9 ölümden önceki yaklaşık 10 ila 14 günlük enfarktüs yaşına karşılık gelen, geniş kollajen birikimi ile kenarlarda granülasyon dokusunu gösterir⁹⁰.



Şekil 8. Çekirdeksiz miyositlerin koagülatif nekrozu ve interstisyel nötrofilik sızıntı (siyah ok)⁹⁰.



Şekil 9. Kollajen birikimi ve neovaskülarizasyon (siyah ok) ile iyi oluşturulmuş granülasyon dokusu⁹⁰.

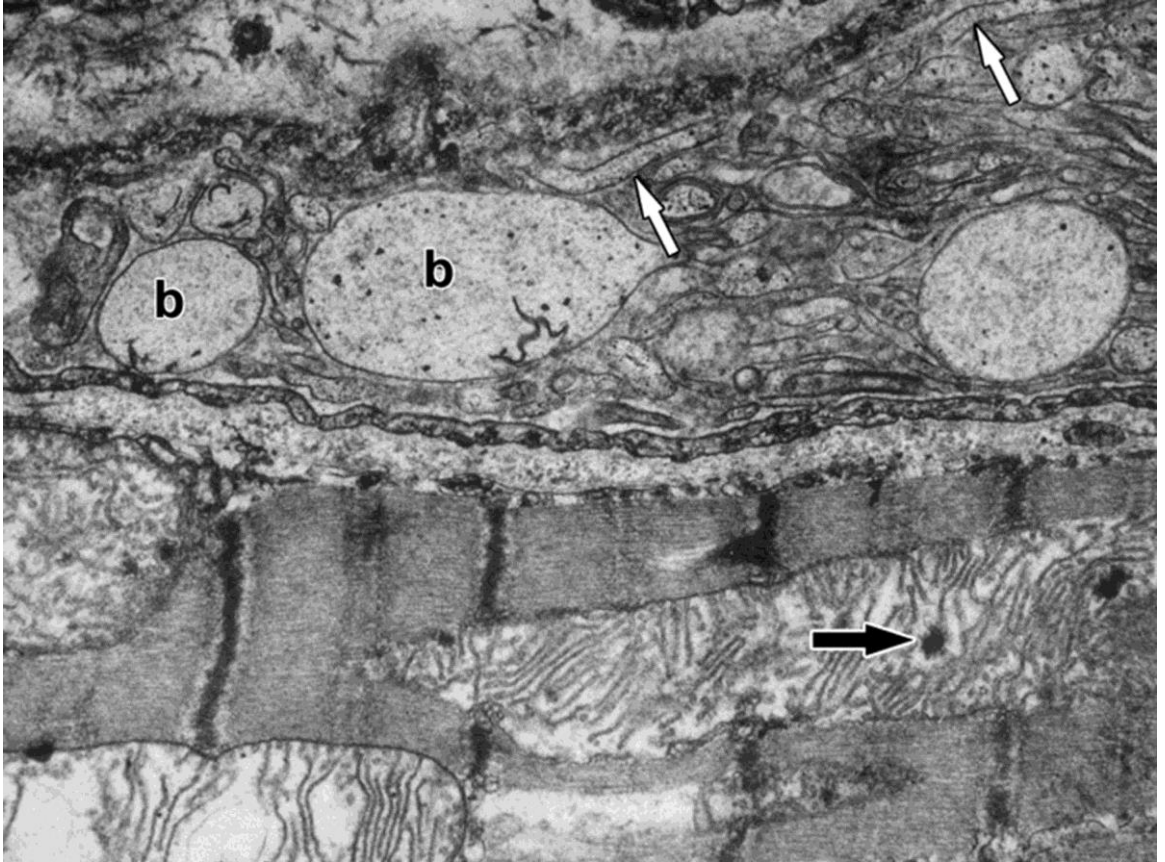
2.5.2. Miyosit Ölümünün Zamanlaması: Geri Dönüşümlü ve Geri Dönüşümsüz Yaralanmanın Tanımı

Yapılan bir çalışmanın sonuçları, şiddetli iskemik subendokardiyal miyokardiyumda 2 tür yaralanma gösterdi. İskemi epizodu ≤ 15 dakika ise tüm miyositler hayatta kaldı. Buna geri dönüşümlü yaralanma adı verildi. Bununla birlikte, iskemi epizodu 60 dakikada iskemik yatağın subendokardiyal kısmının çoğu ölünceye kadar uzadıkça artan miktarlarda nekroz gelişti. Buna geri dönüşü olmayan yaralanma adı verildi. Geri döndürülemezliğin birincil ölçüsü, miyositin yapısal bütünlüğünün kaybı ve ardından skar dokusuyla yer değiştirmesidir. Enzim kaybı, oksidatif metabolizmanın yokluğu ve elektron mikroskobu ile yapısal parçalanma gibi değişiklikler hücre ölümü için ölçütlerdendir. Son analizde ise miyosit çevresi normale döndüğünde bile miyosit geri dönüşümsüz bir şekilde yaralanır⁹¹.

2.5.3. No-Reflow'un Rolü

Şiddetli iskemi bölgelerinde miyosit ölümü, no-reflow fenomeni(Yeniden akış) olarak adlandırılan epikardiyal koroner arterde açıklığın elde edilmesine

rağmen miyokard perfüzyonunun yeterli düzeyde sağlanamaması durumu ile komplike hale gelir⁹². Bu, kapiller damarların endotel hücreleri üzerindeki şiddetli iskemi etkisine ikincil olarak mikrovaskülarite yapısının bütünlüğünün kaybı da görülür (Şekil 10). Kapiller damarların endotel hücreleri, miyositlerden daha yavaş bir zaman ölçeğinde ölür ve bu da yapısal bütünlüğü korumak için daha düşük enerji gereksinimine ihtiyaç olduğunu yansıtır. No-reflow alanlar, arteriyel kanın ve farmakolojik ajanların iskemik bölgeye girmesini engeller ve doku mevcut olan herhangi bir tedavi ile kurtarılamaz. Reperfüzyon öncesi kapiller endotel bu bölgede ödemlenir ve vakuolleşirken miyositlerde geri dönüşümsüz hasar değişiklikleri görülür. Ciddi derecede iskemik subendokardiyal miyokardın üçte biri kadarı yeniden akış göstermeyebilir. Subepikardiyal miyokardiyumdaki ciddi iskemik dokuya no-reflow pek olası görünmüyor, çünkü reperfüzyondan sonra bu tür dokularda miyokard bant nekrozu oluşur. Kontraktür gelişimi nedeniyle total iskemiye maruz kaldığında izole perfüze sıçan kalbinde no-reflow gelişmesi ilgi çekicidir^{91,93}.

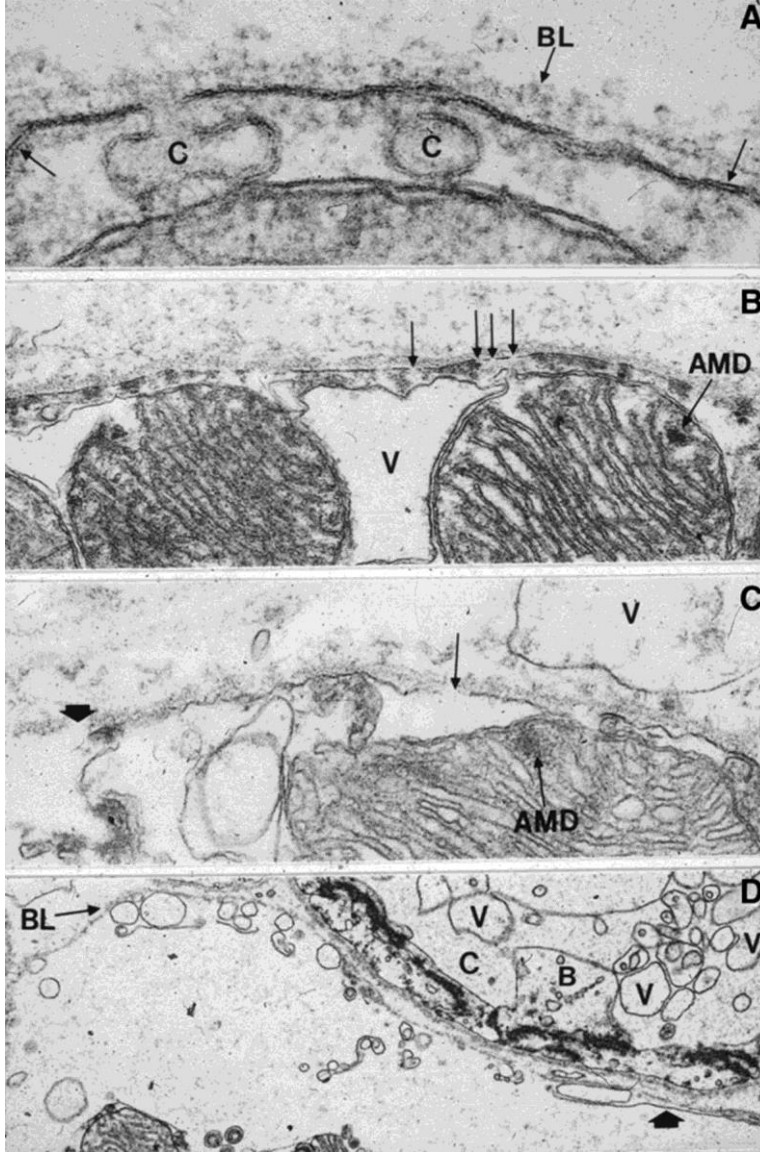


Şekil 10. Bir kapiller damarı ve geri dönüşümsüz şekilde yaralanmış bir miyositin bir kısmı gösterilmektedir. Kapillerin lümeni endotelial çıkıntılarla

(beyaz oklar) ve zara bağılı cisimlerle doludur (b). Her ikisi de reperfüze olan arteriyel kanın basıncıyla ileri doğru itilir. Resimde gösterilen **b'deki** degranüle trombositler olabilir. Damarı kaplayan endotel, kontrol miyokardiyumun kapiller damarlarında çok sayıda bulunan pinositotik veziküllerden arınmıştır. No-Reflow, gösterilen bölgenin proksimalinden çıkan hasarlı kapiller damarın ödemli ve düzensiz endoteli tarafından lümenin bloke edilmesine bağlıyoruz. Kapillerin bitişiğinde, okta genişlemiş ödemlenmiş mitokondri ve şekilsiz bir matris yoğunluğu gösteren, geri dönüşümsüz şekilde yaralanmış bir miyositin bir kısmı vardır. Bu miyofibriller gerilir ve Z bandının yanında I bantları gösterir. No-reflow alanlarda daralma bandı nekrozunun oluşmadığına dikkat edin (büyütme $\times 12\ 000$)^{91,92}.

2.5.4. Miyosit Ölümünün Nedenleri

Şiddetli iskemi sırasında miyosit ölümünün en olası nedeni, hücre zarının veya sarkolemmanın (SL) bozulmasıdır^{94,95}. Bu yaşam için gerekli intraselüler bileşenlerin ekstraselüler sıvıya geçmesine neden olur ve enerji metabolizmasını bozar (Şekil 11). Membran bütünlüğü kaybının kesin nedeni bilinmemektedir. Bağlanma komplekslerinden vinculin kaybı ile ilişkilidir⁹⁶. Ayrıca enerji metabolizmasında sarkolemmal değişikliklerle eş zamanlı olarak ortaya çıkan çok düşük seviyelerde yüksek enerjili fosfatlar ve adenin nükleotit havuzunun yıkımı gibi bazı dikkat çekici kusurlar vardır^{91,97,98}.

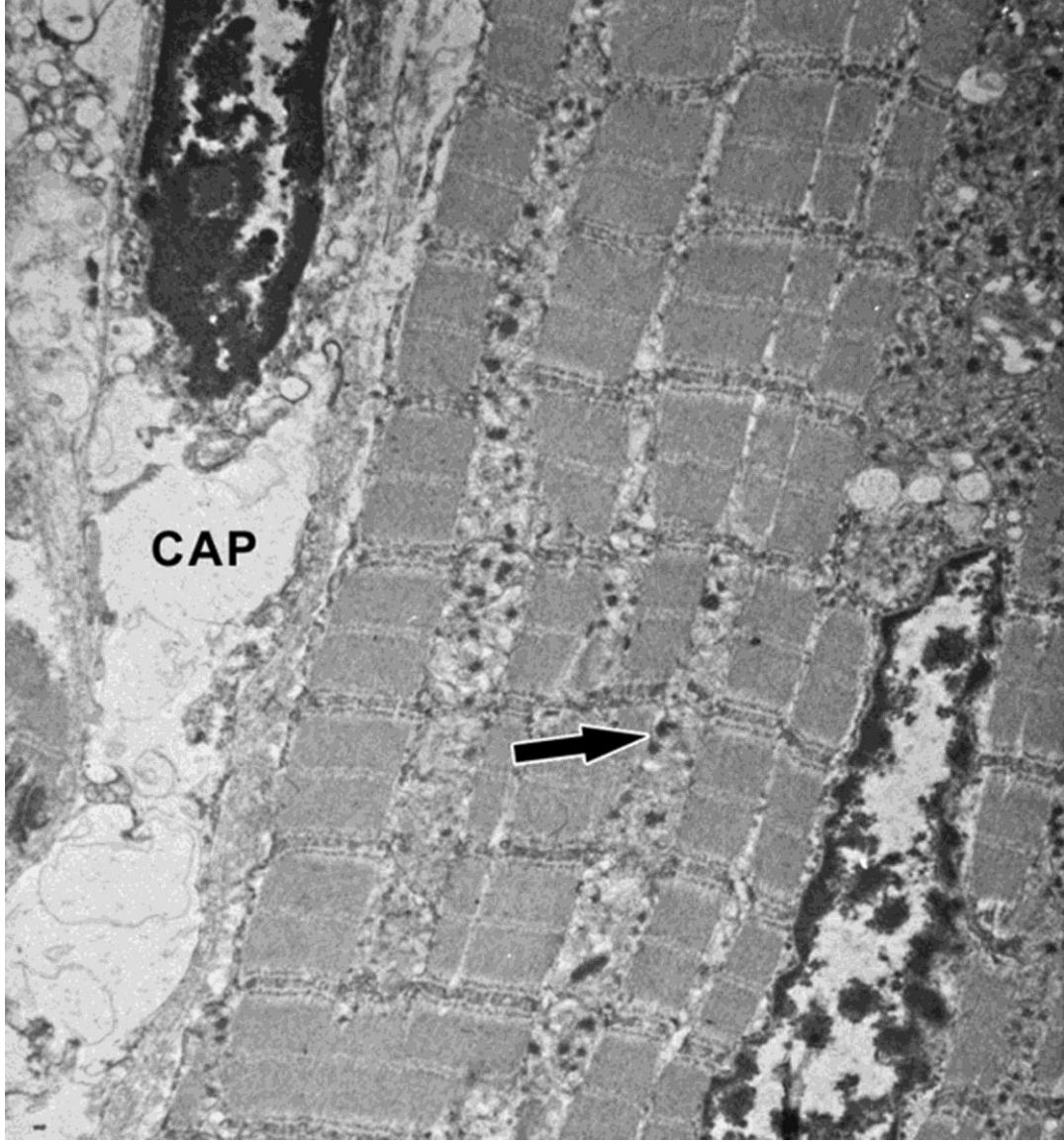


Şekil 11. A: $\times 108\ 000$ 'de iskemik olmayan sarkolemma. Sarkolemma (SL), yaklaşık 15 ila 35 nm kalınlığında bir dış katman, glikokaliks veya bazal laminadan (BL) ve esas olarak trilaminar olan fosfolipidden oluşan bir birim zardan oluşur (küçük oklar). **B:** Miyosit 30 dakikalık şiddetli iskemi nedeniyle geri dönüşümsüz olarak hasar gördü. Küçük oklarda plazmalemmada çok sayıda küçük kırılmalar olduğuna dikkat edin. Mitokondri büyütülür ve içinde şekilsiz bir matris (AMD; büyütme $\times 70\ 000$) bulunan yoğun berrak bir matrise sahiptir. **C:** 40 dakikalık iskemi ile oluşturulan SL'deki değişiklikler. 1 küçük 60-nm boşluk (küçük ok) ve birim zarın eksik olduğu ancak bazal laminanın sağlam olduğu daha büyük bir bölge vardır (kalın ok; büyütme $\times 60\ 000$). **D:** Miyokardiyumdaki bir kapiller damara (C) bitişik 3 saatlik ciddi iskemi nedeniyle geri dönüşümsüz şekilde yaralanmış bir subsarkolemmal kabarcık görünümü. Bu tür kabarcıkların sıklığı iskemi epizodunun süresi arttıkça artar. Hem miyositin hem de kapillerin bazal laminası (BL) sağlamdır. Bununla birlikte, SL'nin birim zarının çoğu, BL'nin altında veya ona bağlı dairesel profillere bölünmüştür. Kalın okta bozulmamış plazmalemma mevcuttur. Kapiller endotel şişmiştir ve doku reperfüze edilirse (büyütme $\times 15\ 000$) no-reflow sendromuna yol açabilecek kabarcıklar (B) ve veziküller (V) görülmektedir^{91,94}.

2.5.5. Ultrastrüktürel Değişiklikler

Geri dönüşümsüz duruma henüz girmiş olan miyositler, sarkolemmanın plazmalemmasında küçük kırılmalar (Şekil 11B-9D) ve ayrıca ara sıra ödem sıvısının subsarkolemmal kabarcıkları ile hücre şişmesini sergiler (Şekil 11D)^{94,98}. Bu kabarcıkların oluşabilmesi için Z bandındaki bağlanma komplekslerinin kırılması gerekir⁹⁶. Sarkolemmal bozulma özellikle bu bölgelerde yaygındır. SL bozulmasının doğrudan kanıtı ayrıca anti-miyozin antikorları içeren flüoresan kürelerin kullanılmasıyla veya doku 1 saatlik iskemiden sonra yeniden perfüze edildiğinde anti-miyozin antikorlarının intravenöz enjeksiyonuyla sağlanır^{99,100}. Küreler, geri dönüşümsüz şekilde yaralanmış miyositlerin SL'sine bağlanarak hasarlı miyokarda birikir ve işaretli antikor, hücre ölümünün gelişmesiyle aynı zaman diliminde (yani 30-60 dakikada) birikir. Oysa kontrol miyositleri hiçbir bağlanma göstermez. Çünkü SL sağlamdır ve antikorun miyofilamentlerin miyozinine ulaşmasını engeller.

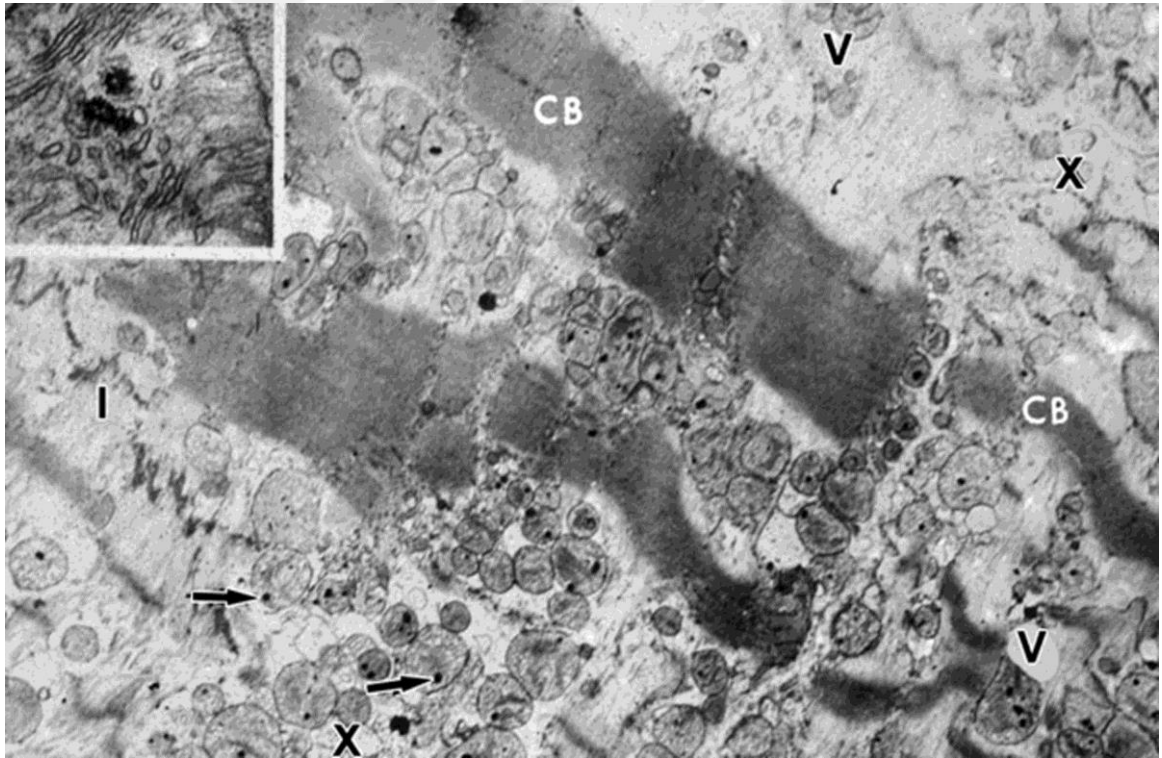
Miyositler ayrıca nükleer kromatinin periferik agregasyonunu gösterir. Kontrol miyositlerinden çok daha az glikojen içerir ve mitokondriyal mimaride bozulma gösterir. Mitokondri ödemlidir ve düzensiz kristaller sergiler^{91,97,98}. Ek olarak, matriks boşluğu, esas olarak amorf matriks yoğunlukları olarak adlandırılan lipidden oluşan bulanık ozmiofilik yoğunluklar içerir (Şekil 10-12). Bunlar tüm mitokondriyal profillerde bulunur ve iskemik kalpte hücre ölümünün karakteristiğidir. Ayrıca, tam olarak gelişmiş 24 saatlik bir enfarktüste görülen değişiklikler, 40 ila 60 dakikalık iskemiden sonra görülenlerle aynıdır ancak daha belirgindir (Şekil 12)⁹¹.



Şekil 12. Bu şekil, 24 saatlik bir enfarktüste ölü bir miyosit göstermektedir. Genel mimari, miyofibrilin Z bantları kayıta olacak şekilde iyi korunur. Miyofibriller gerilir ve belirgin I bantları sergiler. Mitokondri şişmiş ve düzensizdir ve bol miktarda büyük amorf matris yoğunlukları içerir (ok). Sarkolemma ve kapiller damar parçalanıyor. Nükleer kromatin, irrevesiblitenin önceki aşamalarında olduğu gibi periferik olarak toplanır. 30 ila 40 dakikalık iskemiden sonra geri dönüşümsüzlüğün ultrayapısal değişikliklerinin 24 saatte görülenlerle hemen hemen aynı ancak onlardan daha az belirgin olduğuna dikkat edin (büyütme $\times 9500$)¹⁰².

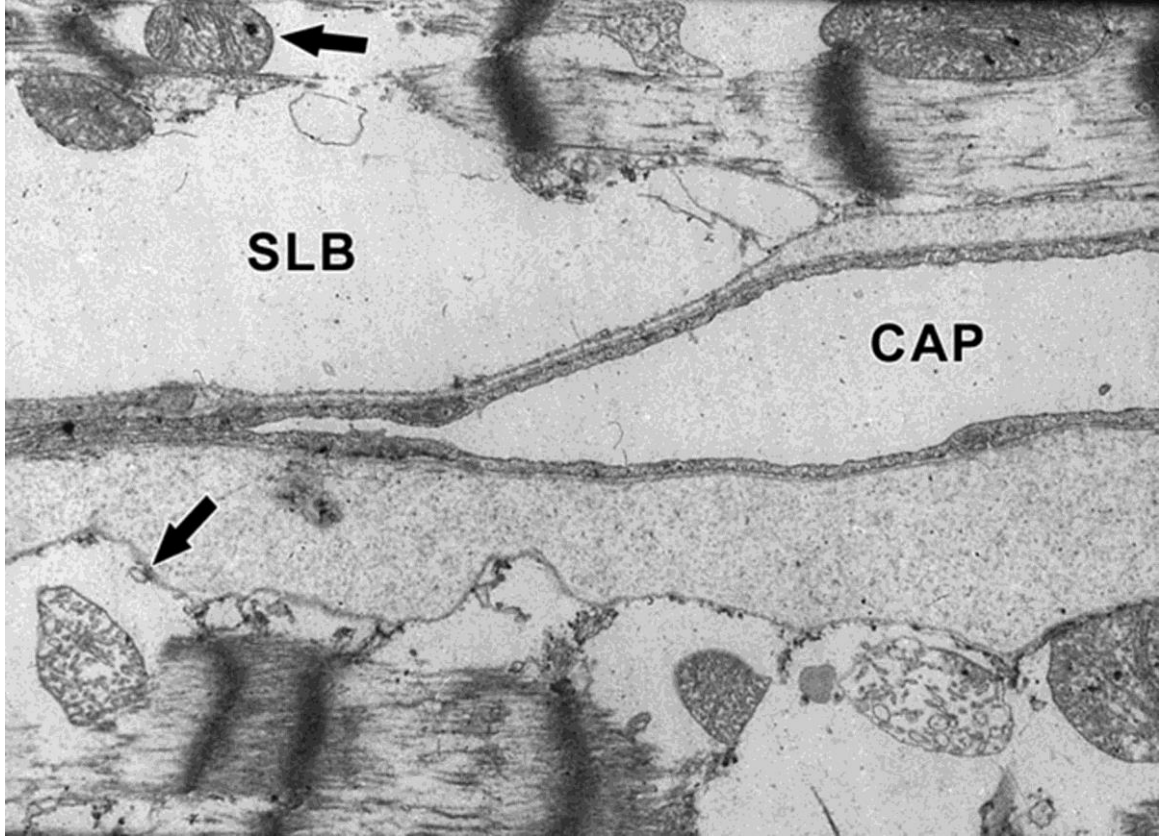
Geri dönüşümsüz olarak hasar görmüş miyositlerin reperfüzyonu belirgin reaktif hiperemi ile ilişkilidir. Önceden iskemik olan siyanotik doku arteriyel akımla beraber belirgin bir hiperemi geliştirir. Dokunun yeniden oksijenlenmesi neredeyse anında kasılma bant nekrozu ile sonuçlanır (Şekil 13). Kasılma bantları, mitokondride hidroksiapatit ve ödem yalnızca 2 dakikalık reperfüzyondan sonra iyice gelişmiştir. (Şekil 14)^{91,92,101,102,103}. Toplam doku

sıvısı reperfüzyondan 2 dakika sonra %21 ve 20 dakika sonra %43 artar^{103,104}. Reperfüze olmuş geri dönüşümsüz şekilde yaralanmış dokuda görülen en dramatik 3 ultrastrüktürel değişiklik ilk olarak, parçalanmış bir plazmalemmanın kalıntılarıyla kaplı büyük sarkolemmal ödem sıvısı ile masif hücre şişmesidir (Şekil 12)^{101,102,103}. İkinci olarak, Z bantlarının birbirine yakın olacağı şekilde 3 ila 10 veya daha fazla sarkomerin yoğunlaştığı büyük kasılma bantlarıdır (Şekil 13). Subsarkolemmal kabarcıklar genellikle kasılma bantlarının üzerinde değil arasında yer alır. Üçüncü değişiklik, karakteristik olarak içlerinde granüler hidroksiapatit yoğunluklarına sahip olan mitokondrileri ve reflow öncesi mevcut olan amorf matris yoğunluklarını içerir (Şekil 12)¹⁰². Ekstraselüler sıvı muhtemelen miyositlere sarkolemmadaki daha önce oluşan defektlerden girer ve kalsiyumu miyositlere taşır ve burada kasılmaya neden olur. Daha sonra mitokondri içinde hidroksiapatit olarak birikir¹⁰². Miyositlerde artan Ca^{2+} , dokuyu reperfüze eden plazmadaki Ca^{2+} dan kaynaklanır¹⁰⁵.



Şekil 13. 40 dakikalık iskemiyle geri dönüşümsüz şekilde yaralanan ve ardından 20 dakika arteriyel kanla reperfüze edilen 2 miyosit parçasının görünümü. Reperfüzyonun başlamasından birkaç saniye sonra kontraksiyon bandı nekrozu gelişti. Kasılma bantları, hidroksiapatit formunda kalsiyum fosfatın granüler yoğunluklarını ve reperfüzyondan önce mevcut olan amorf matris yoğunluklarını içeren şişmiş düzensiz mitokondriler gibi belirgindir. Tipik bir kalsiyum fosfat yoğunluğuna sahip bir mitokondri ekte gösterilmiştir

(büyütme $\times 24\,200$). Sarkoplazma vakuoller(V ile gösterilmiştir) içerir ve esas olarak glikojen içermez. Bu bölümde subsarkolemmal bleb görünmüyor (büyütme $\times 13\,000$)¹⁰².



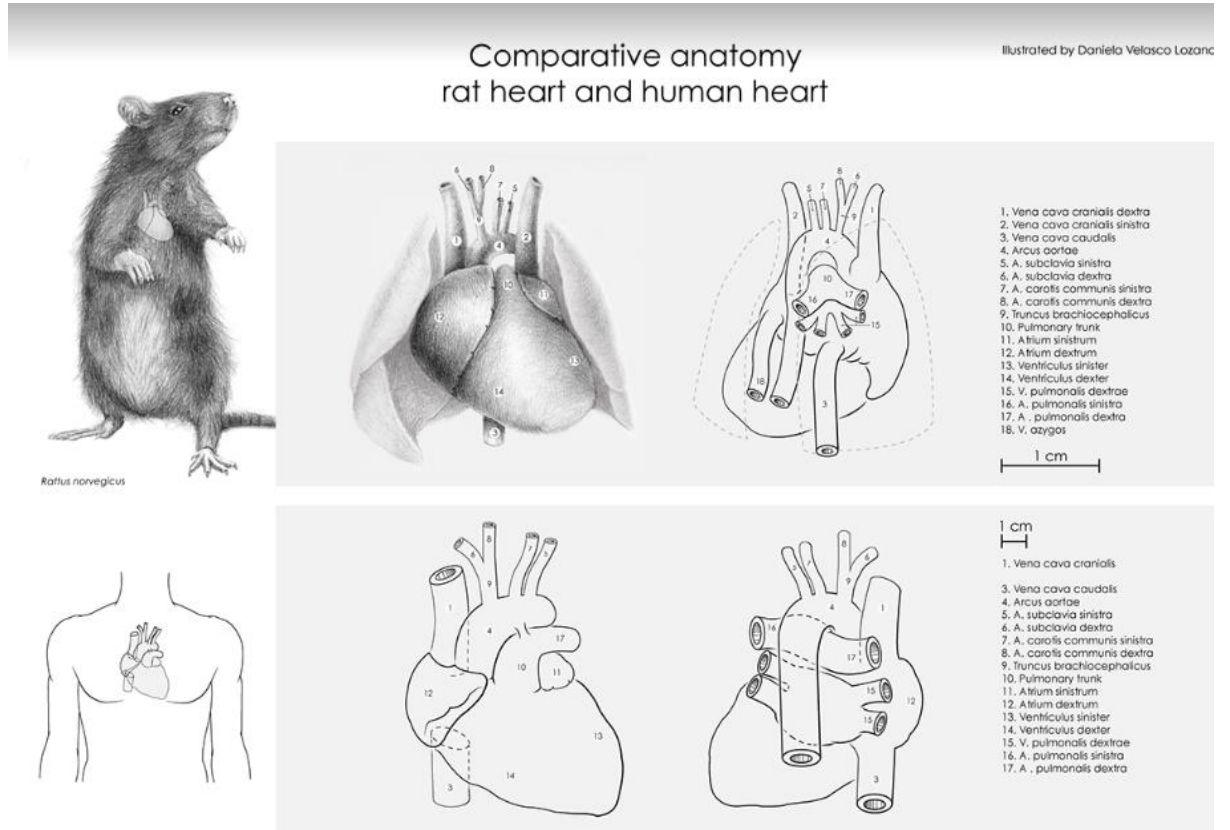
Şekil 14. 40 dakikalık iskemi ve 10 dakikalık reperfüzyondan sonra kasılma bandı nekrozu sergileyen ve bu hasarlanmadan sonra mevcut olan belirgin hücre içi ve hücre dışı ödem sergileyen 2 miyosit parçası. Ekstraselüler sıvıda olduğu kadar miyositlerde de ödem olduğuna ve ekstraselüler sıvının granüler bir materyal olan ve muhtemelen plazma proteini veya miyositlerden çözünür protein içerdiğine dikkat edin. Ödem sıvısının bir subsarkolemma kabarcığı bir kapiller damarı sıkıştırıyor. Miyofibriller, dokunun başka yerlerindeki kasılma bantları tarafından ayrılarak belirgin Z bantları ve bozulmuş miyofilamentler bırakır. Şişmiş bir mitokondride granüler bir hidroksiapatit yoğunluğu (üst ok) mevcuttur. Bazal laminaya bağlı dairesel bir plazmalemma profili alt okta gösterilmiştir (büyütme $\times 9600$)¹⁰¹.

Miyositlerin reversibl hasar fazında geç reperfüzyonu, kasılma bantları veya mitokondriyal Ca^{2+} birikiminden ziyade ince yapıda çarpıcı ancak geçici değişikliklerle sonuçlanır¹⁰⁶. Mitokondrilerin tümü reflow sırasında geniş ölçüde şişer. Ancak 20 dakika sonra, mitokondri ve miyositlerin mimarisi sağlamdır ve kontrol miyositlerinininkinden neredeyse ayırt edilemez. 24 saatlik reperfüzyondan sonra, geniş çapta dağılmış yoğunlaştırılmış mitokondri daha önceki iskemi epizodunun tek göstergesidir¹⁰⁶.

2.6. Ratların Kalbinin Anatomisi ve İnsan Kalbi ile Benzerlik Farklılıkları

Ratlar bilimsel araştırmalarda sık kullanılan deney hayvanlarıdır. İnsan anatomisi ile çoğunlukla benzerlik gösterse de bazı farklılıkları mevcuttur (Şekil 15). Ratların anatomi ve morfolojisiyle alakalı literatür yetersiz ve eski olup yeteri kadar açıklayıcı değildir. Yapılan bir çalışmada Wistar sıçanlarının hayatlarının farklı dönemlerinde kalbi hakkında henüz keşfedilmemiş olan çeşitli parametrelerin makroskopik morfometrik yönden araştırılması hedeflenmiştir. Bu ölçümler dişilerin kalplerinin morfolojik yapısının erkeklerden daha kısa, daha dar, daha küçük ve daha hafif olduğunu kanıtlamıştır. Dişilerin yaşamı boyunca, kalp kütlesi arttığında, kalp görünüşünü ve şeklini koruduğunu, erkeklerin kalplerinin gelişimleri süresince daralıp ve uzadığını göstermiştir¹⁰⁷.

Makroskobik bulguların incelenmesi için yapılan farklı bir araştırmada kalp eksize edilerek belli alanlardan ölçümler yapılmıştır. Ölçümler, atriyoventriküler oluğun (PAV) çevresi ve atriyoventriküler oluktan kalbin apexine (DGA) olan mesafeye denk gelmektedir. Her iki parametre de kalbin yüzey anatomisinin bir parçasıdır ve bu hayvanların kütle artışı durumunda, kalbin içinde meydana gelen cinsel dimorfizmin ve adaptasyonun anlaşılabilmesini sağlamıştır¹⁰⁸.



Şekil 15. Rat ve insan kalbinin karşılaştırmalı şeması¹⁰⁹



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma MEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 10/10/2022 tarihli 2022/19 sayılı kurul kararı ile gerçekleştirildi.

3.1. Araştırmanın Tipi

Araştırma deneysel niteliktedir.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırma Ocak 2023'de literatürün taranmasıyla başladı. Araştırmanın planlamaları yapıldı. Etik Kurul başvurusunun ardından Ekim 2023'de onay alındı. Etik Kurul onayının ardından bilimsel araştırma projesi başvurusu yapıldı. Haziran 2023'de projenin onayını takiben çalışmaya başlamak için gerekli hazırlıklar yapıldı. Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarında Haziran 2023'de Miyokardiyal İskemi/Reperfüzyon modeli oluşturuldu. Ratlara deney prosedüründe belirtilen basamaklar uygulandıktan sonra histolojik inceleme için alınan örnekler kurallara uygun saklandı. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Laboratuvarında saklanan örnekler çalışılarak deney verileri elde edildi. Ekim 2023'de tez savunması yapıldı.

3.3. Çalışmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Çalışmada deney hayvan modeli uygulanmıştır. İnsan üzerinde herhangi bir araştırma ve uygulama yapılmamıştır.

3.4. Araştırma Materyali

Araştırma 24 adet Wistar Albino cinsi genç erişkin 3 aylık sıçanlarda yapıldı. Mersin Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarından, BAP bütçesi kullanılarak karşılandı. Ratlar 3 ayrı gruba alındı.

→ Grup 1 (n:8): Sham grubu (Serum Fizyolojik) (5 ml intraaotik solüsyon)

i. İskemi grubu

ii. Reperfüzyon grubu

→ Grup 2 (n:8): Geleneksel solüsyon St. Thomas II (5 ml intraaortik solüsyon)

i. İskemi grubu

ii. Reperfüzyon grubu

→ Grup 3(n:8): Yeni nesil solüsyon Del Nido (5 ml intrakardiyak solüsyon)

i. İskemi grubu

ii. Reperfüzyon grubu

3.5.Çalışmanın Değişkenleri

Çalışmada ratlar 3 ana ayrı gruba bölündü ve bu gruplarda kendi içerisinde iskemi ve reperfüzyon olmak üzere 2 ayrı gruba ayrıldı. 1.grup sham (kontrol) grubu olarak değerlendirildi. 2. ve 3. gruplara kardiyopleji solüsyonları uygulandı. 1. gruba bağımsız değişken olarak serum fizyolojik verildi. 2. gruba bağımsız değişken olarak geleneksel kardiyopleji solüsyonu St. Thomas II verildi. 3. gruba bağımsız değişken olarak yeni nesil kardiyopleji solüsyonu Del Nido verildi. Gruplara verilen solüsyonlara bağlı değişken olarak histolojik olarak ışık mikroskopide hücresel miyokard iskemi değişiklikleri bakıldı.

3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1. Cerrahi Hazırlık

Tüm gruplardaki sıçanlar 100mg/kg Ketamin ve 7 mg/kg Ksilazin ile intraperitoneal uygulama yoluyla anestezi uygulandı (Tablo 6). Göğüs ve boyun bölgesinden tıraş-dezenfeksiyon işlemi uygulandı. Daha sonra denekler supin pozisyonu verilerek tespit edildi (Şekil 16).

Daha sonra sternotomi yapıldı. Sternotomiden sonra kalp ve aort çevresindeki dokular diseksiyon makası ile serbestlendi (Şekil 17). Perikard açılarak kalbe ulaşıldı. Aorta 5-0 prolene suture ile dönülerek askıya alındı. Kalp iskemiden korunarak aortaya cross clamp konuldu. Vakit kaybedilmeden asendan aortadan sırasıyla Kontrol grubu ve Del Nido grubunda insülin enjektörü ile tek sefer, St. Thomas II grubunda 22G branül ile 4 sefer 20 dakikaya bir aort köküne kardiyopleji solüsyonu verildi (Şekil 18)(Tablo 6). St.

Thomas II grubunda uygulama 20 dakikaya bir uygulandığından dolayı bu grupta 22G branül asendan aortada bırakıldı. Kardiyak arrest geliştikten sonra ratlar kardiyopleji süresinin beklenmesi için cross kelp bölgesinden 4/0 prolen ile bağlandı ve örnek alınması için sıraya alındı (Şekil 19). Kardiyopleji süresi olarak 90 dakika beklendi. Süresi dolan ratların kalbi çıkarılarak sol ventrikül 2 eşit parçaya bölündü. İlk parçadan ışık mikroskobu için bistüri yardımıyla örnekler alındı (Tablo 6). Alınan ilk parça iskemi grubu olarak kabul edildi. İkinci parça ise daha önce hazırlanan ve termometre ile takip edilen normal vücut ısısına (36.5 C°) sahip SF içerisinde 30 dakika bekletildi ve daha sonra aynı teknikle ışık mikroskobu için örnekler alındı (Tablo 6). Bu ikinci parça ise reperfüzyon grubu olarak kabul edildi. Reperfüzyon grubunu belirlerken Jung JC. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki reperfüzyon modelini örnek aldık¹¹⁰.

Tablo 6. Deney Protokolü

1. Grup(Sham)	5 Dakika	1 Dakika	90 Dakika				3 Dakika	30 Dakika	3 Dakika		
	Anestezi ve Cerrahi hazırlık	Kardiyopleji Uygulaması	İskemi				İskemi grubu örnekleri alındı	Reperfüzyon	Reperfüzyon grubu örnekleri alındı		

2. Grup(St Thomas II)	5 Dakika	1 Dakika	20 Dakika	1 Dakika	20 Dakika	1 Dakika	20 Dakika	1 Dakika	20 Dakika	3 Dakika	30 Dakika	3 Dakika
	Anestezi ve Cerrahi hazırlık	Kardiyopleji Uygulaması	İskemi	Kardiyopleji Uygulaması	İskemi	Kardiyopleji Uygulaması	İskemi	Kardiyopleji Uygulaması	İskemi	İskemi grubu örnekleri alındı	Reperfüzyon	Reperfüzyon grubu örnekleri alındı

3. Grup(Del Nio)	5 Dakika	1 Dakika	90 Dakika				3 Dakika	30 Dakika	3 Dakika		
	Anestezi ve Cerrahi hazırlık	Kardiyopleji Uygulaması	İskemi				İskemi grubu örnekleri alındı	Reperfüzyon	Reperfüzyon grubu örnekleri alındı		

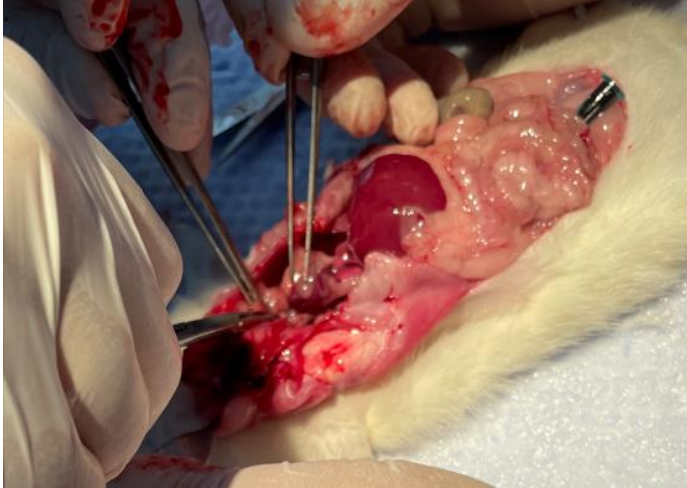
3.6.2. Kardiyopleji Sıvısının Hazırlanması

Cross-klemp konulduktan sonra kardiyak arresti sağlamak için 2. Gruba 5cc St. Thomas II kardiyopleji solüsyonu 3. grubada kan ile kombine edilmiş Del Nido kardiyopleji solüsyonu verildi. Ratlardan Del Nido kardiyoplejisi için kan, sternotomi öncesi batin açılarak vena cava inferiordan hızlı bir şekilde 1cc olacak miktarda alındı. Daha sonra kanama olmadığı görüldü. Erişkin indüksiyon dozu rutinde St. Thomas II için 20 ml /kg olarak hesaplanmaktadır. Bundan yola çıkarak ağırlığı ortalama 250 gram olan sıçanlara 5 ml kardiyopleji verildi. Del Nido kardiyopleji solüsyonu yine 20ml/kg dozunda verilmektedir. Bu dozun 1/5'i kan 4/5'i kristoloid bileşim olarak hesaplandı ve 1cc kan ile 4cc

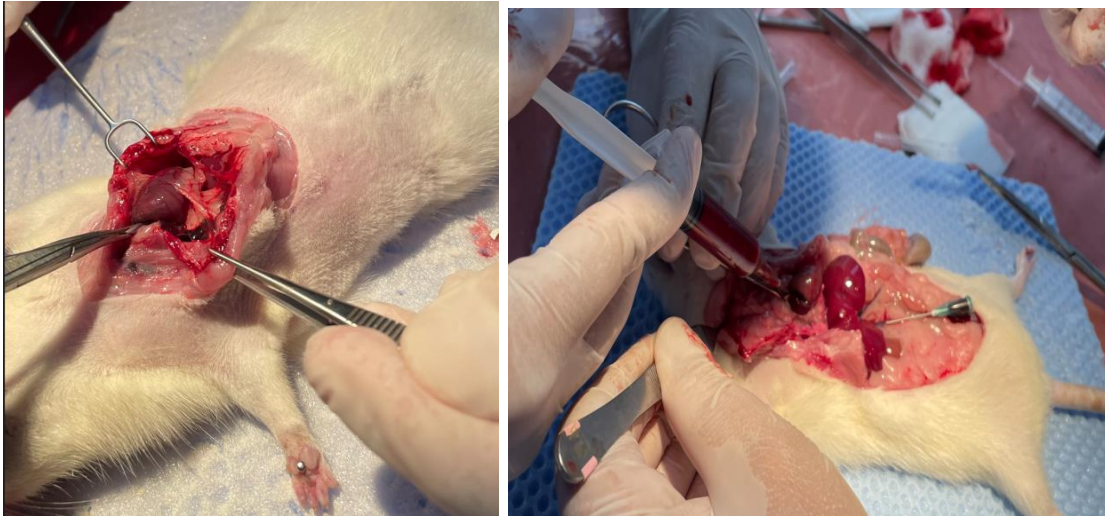
kristoloid solüsyon karıştırılarak hazırlandı. Kristoloid solüsyonlar Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Laboratuvarında hazırlanmıştır (Tablo 7).



Şekil 16. Deneklerin supin pozisyonu ve tespiti



Şekil 17. Dokuların serbestlenmesi



Şekil 18. Cross-Klemp ve Kardiyopleji uygulaması



Şekil 19. Örnek için sıraya alınan denekler

Tablo 7. Hazırlanan kardiyopleji içerikleri

İçerik	St. Thomas II(1000ml'de)	Del Nido(1000ml'de)
Temel Solüsyon	Ringer laktat 1000ml	Plasma-Lyte A 1000ml
Na	110 mEq	
Magnezyum	32 mEq	16 mEq
Potasyum	16 mEq	26 mEq
Kalsiyum	2.4 mEq	
Sodyum Bikarbonat(%8.4)	10 ml	13ml
Mannitol %20	-	16,3ml
Lidokain %1	-	13ml
PH	7.8	

3.6.3. Örneklerin Toplanması

Tüm gruplardaki sıçanlara sternotomi yapıldıktan sonra aortaya kross-klomp konularak kardiyopleji verildi. Reperfüzyondan sonra deneklerin kalpleri alındı. Deneklerin kalplerinin miyokardından örnekler alındı. Denekler sakrifiye edildi.

3.6.4. Dokuların İşlemi

Kalp dokuları alınır alınmaz sağ ve sol kalp olmak üzere bistüri yardımıyla iki parçaya daha sonra sol ventrikül 2 eşit parçaya bölündü. İlk parçadan ışık mikroskobu için bistüri yardımıyla örnekler alındı ve ışık mikroskobu örnekleri formaldehitli solüsyon içeren beher içersine alındı tüm

örnekler soğuk uygulamada saklandı. İkinci grup ise daha önce hazırlanan ve termometre ile takip edilen normal vücut ısısına (36.5 C°) sahip SF içerisinde 30 dakika bekletildi ve daha sonra aynı teknikle ışık mikroskobu için örnekler alındı.

3.7. Araştırmanın Planı ve Takvimi

Araştırma Planı	HAZİRAN 2022	AĞUSTOS 2022	EYLÜL 2022	EKİM 2022	MAYIS 2023	HAZİRAN 2023	TEMMUZ 2023	AĞUSTOS 2023	EYLÜL 2023	EKİM 2023	KASIM 2023
Tez konusu	X										
Literatür araştırması		X									
Etik kurul başvurusu		X									
Etik kurul onayı				X							
Bilimsel araştırma projesi başvurusu					X						
Bilimsel araştırma projesi onayı						X					
Deney planlama, malzeme temini						X					
Histopatolojik inceleme							X				
İstatistiksel analiz									X		
Tez yazımının tamamlanması										X	
Tez savunması											X

3.8. Veri Toplama Araçlarının Değerlendirilmesi

Sıçanların kalplerine 2 farklı kardiyopleji solüsyonu grubu ve bir serum fizyolojik grubu (St. Thomas, Del Nido ve sham) verilenlerde histolojik olarak iskemi reperfüzyon değerlendirmek için hücre ölüm miktarının araştırılması amacıyla yapılan bu çalışma için;

Grup 1 : Sham grubu (4ml serum fizyolojik) intraaortik

- i. İskemi grubu
- ii. Reperfüzyon grubu

Grup 2 : Geleneksel solüsyon St.Thomas II (4 ml solüsyon) intraaortik

- i. İskemi grubu
- ii. Reperfüzyon grubu

Grup 3 : Yeni nesil solüsyon del Nido (5 ml solüsyon) intraaortik

- i. İskemi grubu
- ii. Reperfüzyon grubu

Hayvan Deneyleri için Mead Yöntemi kullanılarak, her bir grupta çalışılması gereken sıçan sayısı 8 olarak hesaplanmıştır. Yani totalde maksimum 24 sıçan ile çalışılması planlanmıştır.

Örneklem genişliğinin belirlenmesi “www.e-picos.com”, New York, New York yazılımından yararlanılarak hesaplanmıştır.

Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir.

Gruplar arası makrofaj sayı ortalamalarını karşılaştırmada One Way ANOVA tes istatistiği kullanılmıştır.

Pre ve Post makrofaj sayı ortlamalarını karşılaştırmada Paired t test kullanılmıştır.

Çalışmada $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışmanın sonuçları bilgisayar ortamına girilmiş, verilerin değerlendirilmesinde www.e-picos.com, NY, New York yazılımı, IBM SPSS 21.0 paket programı kullanılmıştır.

Norman, G. (2010). Likert scales, levels of measurement and the “laws” of statistics. *Advances in Health Sciences Education*, 15⁵, 625-632.

3.9.Araştırmanın Sınırlılıkları

Bu çalışmada en önemli sınırlılık, çalışmanın ışık mikroskopisi ile yapılmasıdır. Ayrıca örnekler rastgele miyokard dokularından alınmıştır.

3.10.Etik Kurul Onayı

Araştırmamız Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 10/10/2022 no' lu toplantıda, 2022/19 Protokol sayılı kurul kararı ile etik açıdan uygun bulunmuştur. Etik kurul onayları eklenmiştir.



4. BULGULAR

Çalışmamız için ağırlıkları 200-300 g arasında değişen Wistar albino tipi 24 adet sıçanlardan rastgele seçilerek 3 grup oluşturuldu. Denek sayısı deney sırasında hayvan kayıpları ve istatistiksel anlamlılık dikkate alınarak belirlendi. Genç erişkin 3 aylık sıçanlar %45 lik nem ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık fotoperiyodda deneyden 1 hafta önce alıştıırıldı.

→ Grup 1 (n:8): Sham grubu (Serum Fizyolojik) (4 ml intraaotik solüsyon)

i. İskemi grubu

ii. Reperfüzyon grubu

→ Grup 2 (n:8): Geleneksel solüsyon St. Thomas II (4 ml intraaortik solüsyon)

i. İskemi grubu

ii. Reperfüzyon grubu

→ Grup 3(n:8): Yeni nesil solüsyon Del Nido (5 ml intrakardiyak solüsyon)

i. İskemi grubu

ii. Reperfüzyon grubu

Açık kalp cerrahisi vakalarında uygulanan geleneksel kardiyopleji solüsyonu St. Thomas II ile yeni nesil kardiyopleji solüsyonu del Nido uygulanan sıçanların miyokard örnekleri histopatolojik olarak ışık mikroskopisinde incelendi.

Hem St. Thomas uygulanan grupta hem de del Nido uygulanan grupta miyokardiyal koruma etkinliği açısından karşılaştırma yapıldığında anlamlı bir fark saptanmadı.

4.1. Verilerin Histopatolojik Değerlendirilmesi

4.1.1. Gereç ve Yöntem

Tüm deneklerden alınan kalp dokusu örnekleri ışık mikroskopik inceleme için %10'luk tamponlanmış formalin çözeltisinde 48 saat tespit edildi. Daha sonra tüm dokular rutin olarak uygulanan doku takip yöntemi ile takip edildi. Parafin blok haline getirilen dokulardan Rotary mikrotom (Leica RM2125RT) ile

5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ve Toluidin Mavisi ile boyandıktan sonra Olympus BX50 ışık mikroskobu ile incelendi ve Olympus LC30 dijital kamera sistemi ile fotoğrafları çekildi. Hematoksilen-Eozin ile boyalı olan kalp dokusu örnekleri ışık mikroskop ile incelenerek morfolojik olarak değerlendirildi ve inflamasyon derecesini belirlemek için lökositik infiltrasyon skorlaması yapıldı. Bu skorlama, her kesitte x400 büyütmede 10 farklı alanda aşağıdaki skala kullanılarak yapıldı:

0: ekstrasvasküler lökosit yok;

1: <20 lökosit;

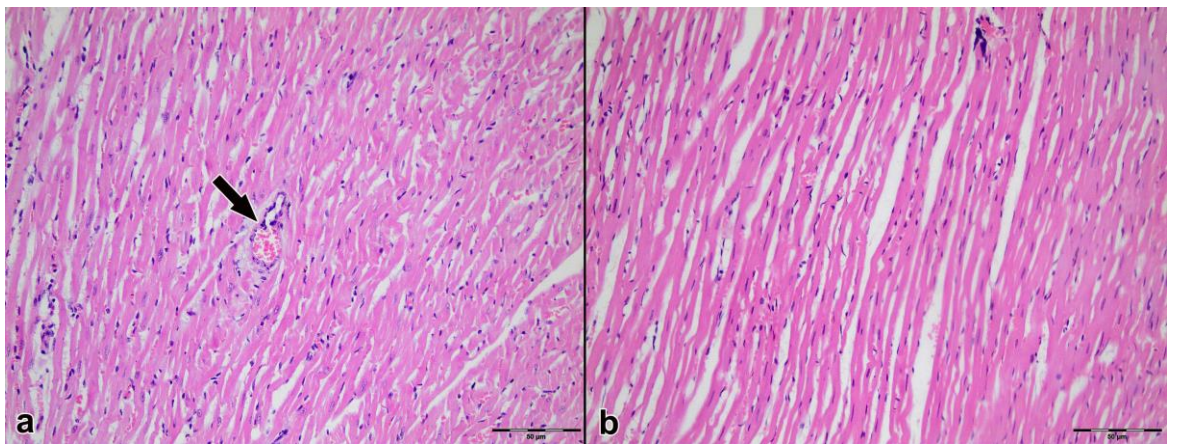
2: 20-45 lökosit;

3: >45 lökosit.

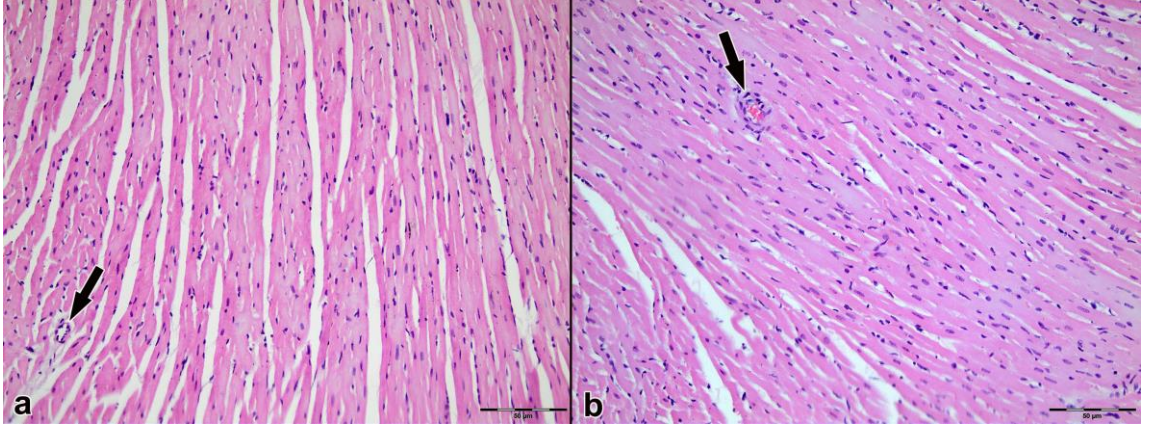
Ayrıca Toluidin Mavisi ile boyalı olan kalp dokusu kesitlerinde mast hücresi yoğunluğunu değerlendirmek amacıyla x200 büyütmede 10 farklı alanda bulunan mast hücrelerinin sayımı yapıldı.

4.1.2. Işık Mikroskopik Bulgular

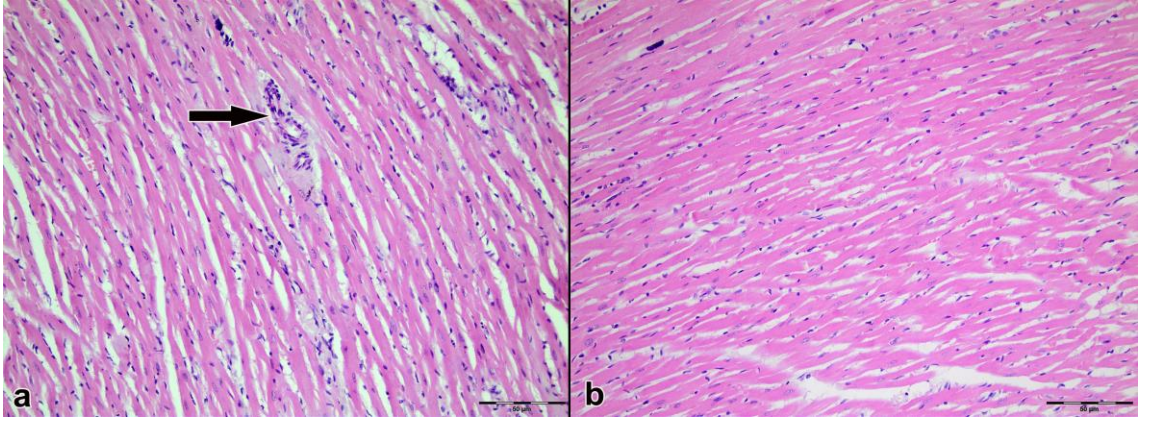
Kontrol ve deney gruplarına ait Hematoksilen-Eozin ile boyanmış kalp dokusu örnekleri ışık mikroskopik olarak incelendiğinde kalp kası hücrelerinin normal morfolojik özelliklere sahip olduğu gözlemlendi. Kalp kası hücrelerinin ve merkezi yerleşimli hücre çekirdeklerinin normal yapıda oldukları, miyofibrillerin düzenli bir dizilim gösterdikleri izlendi. Kalp kası hücreleri arasında yerleşim gösteren kan damarları da normal yapıya sahipti (Şekil 20, 21, 22).



Şekil 20. Grup 1. a; İskemi grubu, **b;** Reperfüzyon grubu. Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. Normal morfolojik özelliklere sahip kalp kası hücreleri izlenmektedir. Kan damarı (siyah ok). x200

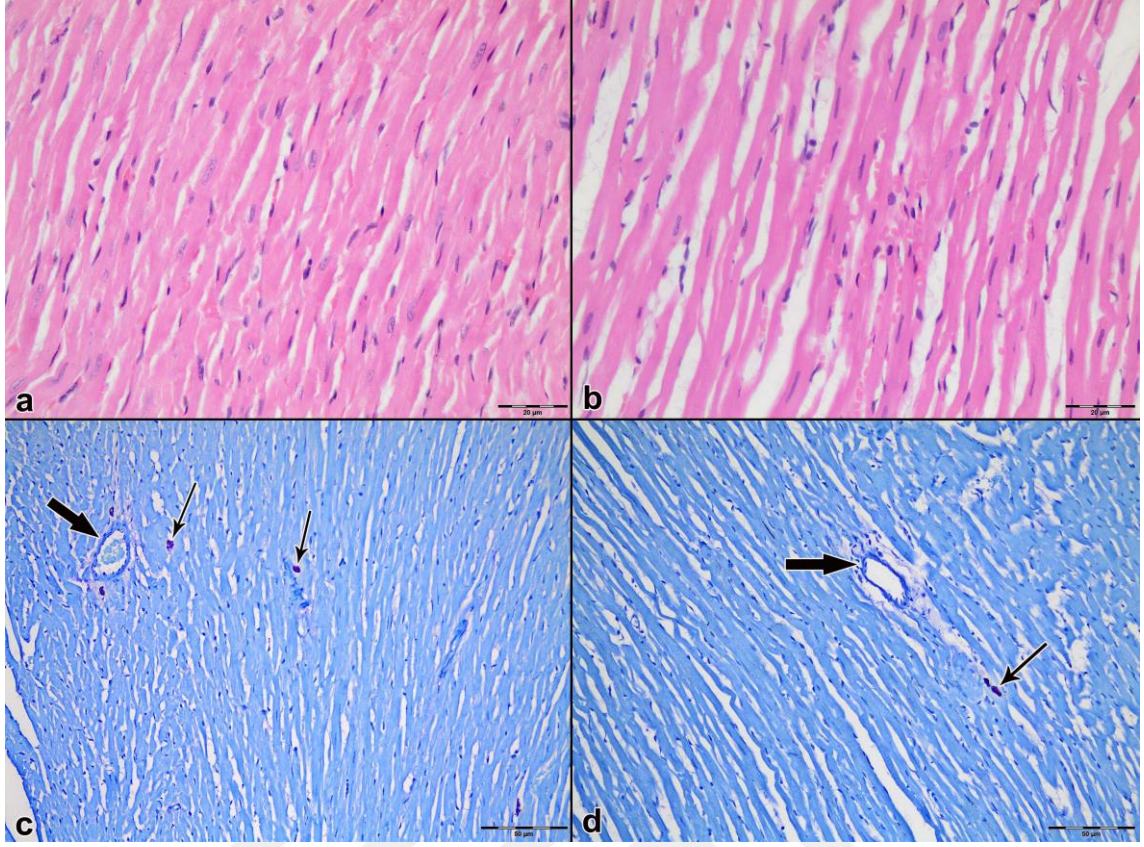


Şekil 21. Grup 2. a; İskemi grubu, **b;** Reperfüzyon grubu. Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. Normal morfolojik özelliklere sahip kalp kası hücreleri izlenmektedir. Kan damarı (siyah ok). x200

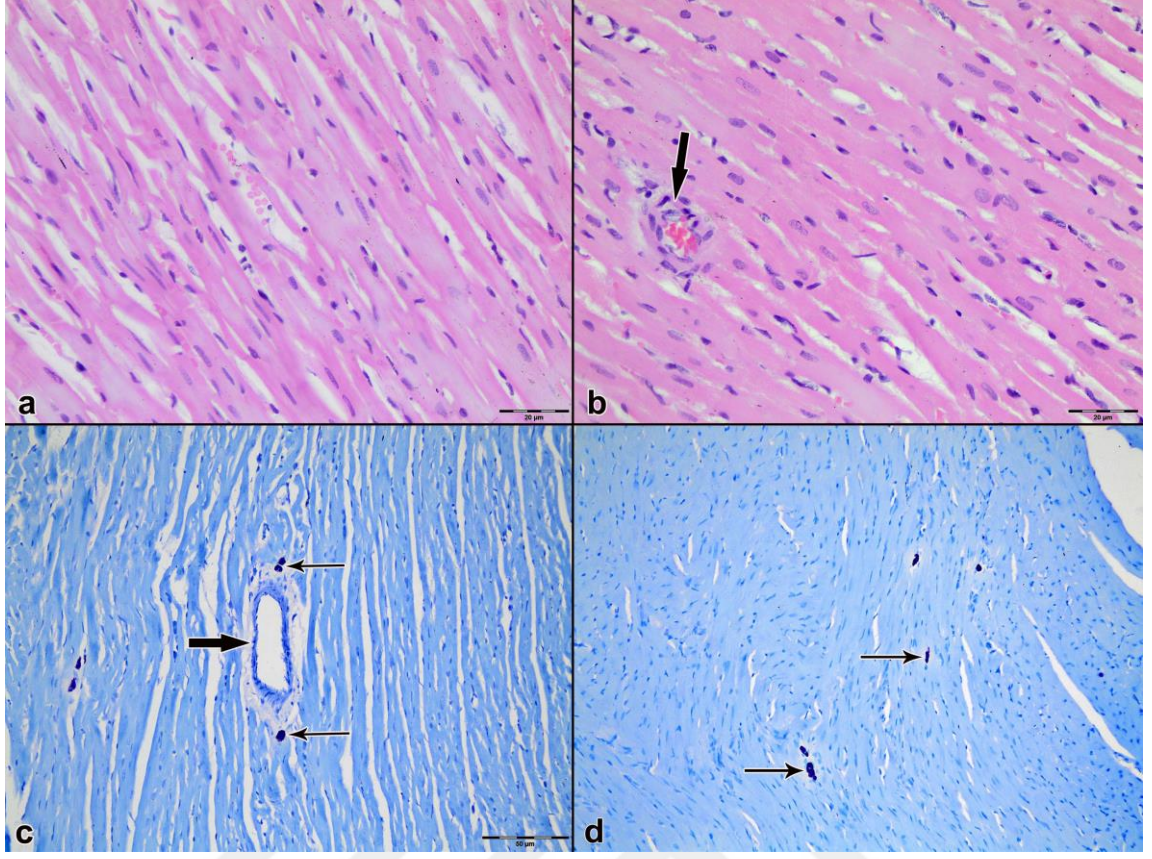


Şekil 22. Grup 3. a; İskemi grubu, **b;** Reperfüzyon grubu. Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. Normal morfolojik özelliklere sahip kalp kası hücreleri izlenmektedir. Kan damarı (siyah ok). x200

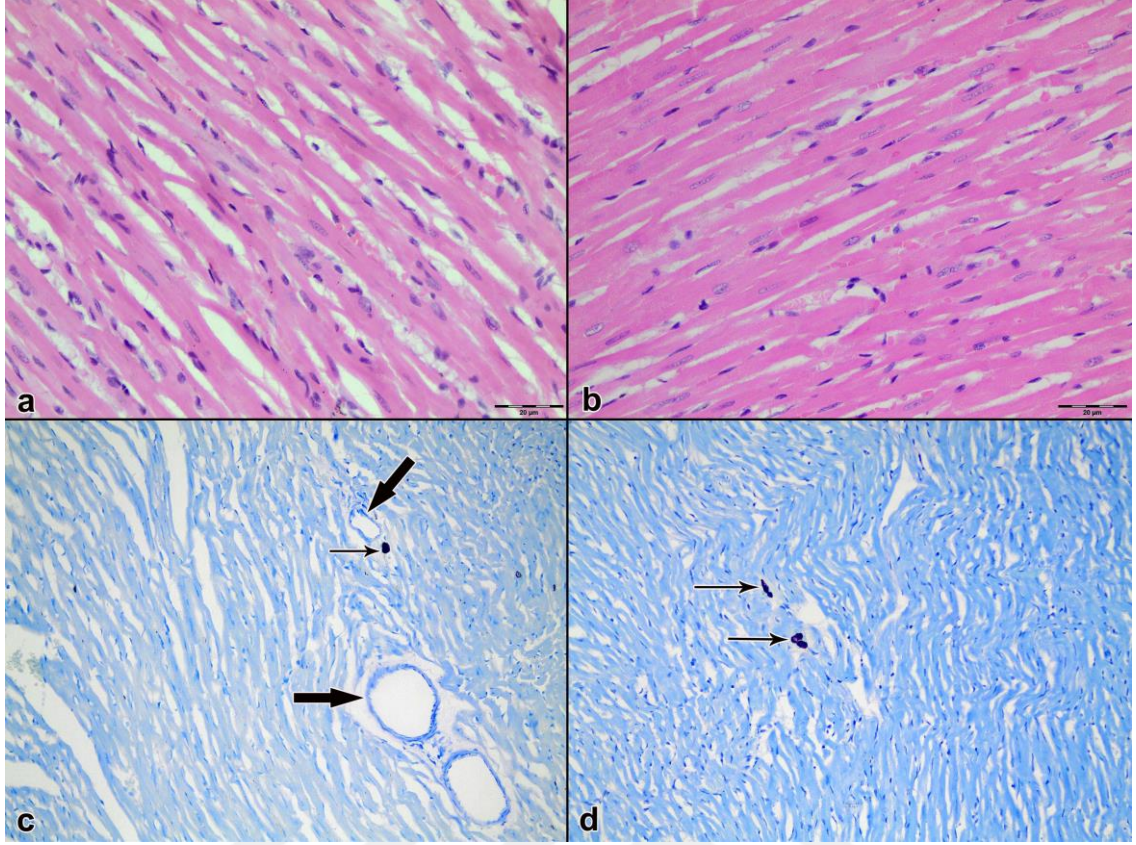
Hematoksilen-Eozin ile boyalı olan kalp dokusu örneklerinde inflamasyon derecesini belirlemek için yapılan değerlendirmeler karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Benzer şekilde Toluidin Mavisi ile boyalı olan kalp dokusu kesitlerinde mast hücresi yoğunluğunu değerlendirmek amacıyla yapılan değerlendirmeler karşılaştırıldığında kontrol grubunda reperfüzyon sonrası mast hücrelerinin anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 23, 24, 25).



Şekil 23. Grup 1. a, c; İskemi grubu, b, d; Reperfüzyon grubu. a, b; Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. c, d; Toluidin Mavisi ile boyanmış kalp dokusu. Kan damarı (kalın siyah ok), mast hücresi (ince siyah ok). a, b; x400, c, d; x200



Şekil 24. Grup 2. a, c; İskemi grubu, b, d; Reperfüzyon grubu. a, b; Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. c ,d; Toluidin Mavisi ile boyanmış kalp dokusu. Kan damarı (kalın siyah ok), mast hücresi (ince siyah ok). a, b; x400, c, d; x200.



Şekil 25. Grup 3. a, c; İskemi grubu, b, d; Reperfüzyon grubu. a, b; Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. c, d; Toluidin Mavisi ile boyanmış kalp dokusu. Kan damarı (kalın siyah ok), mast hücresi (ince siyah ok). a, b; x400, c, d; x200.

4.2. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir.

Gruplar arası makrofaj sayısı ve lökositik infiltrasyon skor ortalamalarını karşılaştırmada One Way ANOVA test istatistiği kullanılmıştır.

İskemi ve Reperfüzyon makrofaj sayısı ve lökositik infiltrasyon skor ortalamalarını karşılaştırmada Paired t test kullanılmıştır.

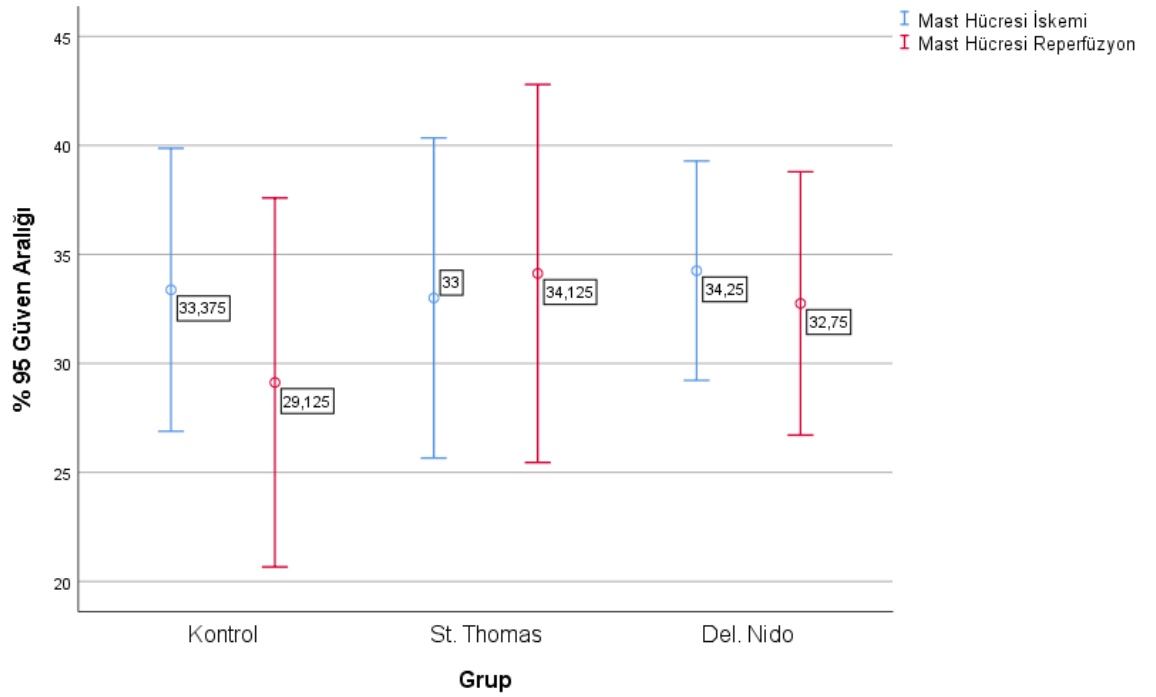
Çalışmada $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışmanın sonuçları bilgisayar ortamına girilmiş, verilerin değerlendirilmesinde IBM SPSS 21.0 paket programı kullanılmıştır.

Tablo 8. Gruplarda ve Zamana Göre Mast Hücre Sayısında Fark Değerlendirmesi

Mast Hücre Sayısı	Gruplar			p değeri*
	Kontrol	St. Thomas	Del Nido	
	(n=8) ($\bar{X} \pm SD$)	(n=8) ($\bar{X} \pm SD$)	(n=8) ($\bar{X} \pm SD$)	
İskemi	33.4±7.7	33±8.7	34.2±6.1	0.95
Reperfüzyon	29.1±10.1	34.1±10.4	32.7±7.2	0.55
p değeri**	0.02	0.19	0.61	

*One Way ANOVA**Paired t test



Grafik 1. Gruplarda ve Zamana Göre Mast Hücre Sayısı

Tablo 8'de ve Grafik 1'de Kontrol, St. Thomas ve Del Nido gruplara göre ve zamana göre ratların mast sayı ortalama $\pm$ standart sapma değerleri verilmiştir ve bu istatistiklere göre;

İskemi grubu ölçümlerinde; 1. Grupdaki (Kontrol) ratların mast sayı ortalaması 33.4 ± 7.7 , 2. Grupdaki (St. Thomas II) mast sayı ortalaması 33 ± 8.7 ve 3. Grupdaki (Del Nido) mast sayı ortalaması 34.2 ± 6.1 idi (Grafik 1).

Reperfüzyon grubu ölçümlerinde ise; 1. Grupdaki (Kontrol) ratların mast sayı ortalamasının 29.1 ± 10.1 , 2. Grupdaki (St. Thomas II) ortalaması 34.1 ± 10.4 ve 3. Grupdaki (Del Nido) ise mast sayı ortalaması 32.7 ± 7.2 idi (Grafik 1).

İskemi grubu ölçümlerinde gruplar arasında mast sayı ortalamaları arasında anlamlı fark yok idi ($p=0.95$) (Tablo 8).

Reperfüzyon grubu ölçümlerinde gruplar arasında mast sayı ortalamaları arasında anlamlı fark yok idi ($p=0.55$) (Tablo 8).

Kontrol grubundaki iskemi ve reperfüzyon grupları mast sayı ortalamalarında anlamlı fark var idi ($p=0.02$) (Tablo 8).

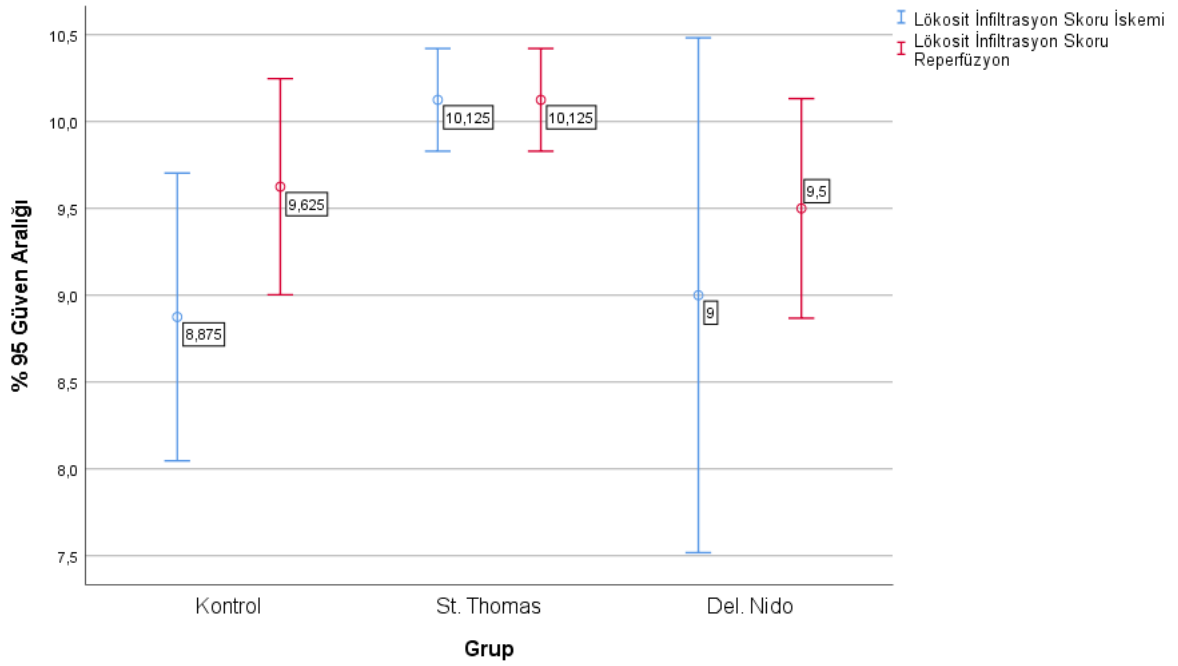
St. Thomas grubundaki iskemi ve reperfüzyon grupları mast sayı ortalamalarında anlamlı fark yok idi ($p=0.19$) (Tablo 8).

Del Nido grubundaki iskemi ve reperfüzyon grupları mast sayı ortalamalarında anlamlı fark yok idi ($p=0.61$) (Tablo 8).

Tablo 9. Gruplarda ve Zamana Göre Lökositik infiltrasyon Skorunda Fark Değerlendirmesi

	Gruplar			p değeri*
	Kontrol (n=8) ($\bar{X} \pm SD$)	St. Thomas (n=8) ($\bar{X} \pm SD$)	Del Nido (n=8) ($\bar{X} \pm SD$)	
Lökositik infiltrasyon skor				
İskemi	8.9 ± 0.9	10.1 ± 0.4	9 ± 1.8	0.1
Reperfüzyon	9.6 ± 0.7	10.1 ± 0.3	9.5 ± 0.8	0.15
p değeri**	0.11	0.99	0.49	

*One Way ANOVA**Paired t test



Grafik 2. Gruplarda ve Zamana Göre Lökositik infiltrasyon Skorlaması

Tablo 9'de ve Grafik 2'de Kontrol, St. Thomas ve Del Nido gruplara göre ve zamana göre ratların lökositik infiltrasyon skor ortalama $\pm$ standart sapma değerleri verilmiştir ve bu istatistiklere göre;

İskemi grubu ölçümlerinde; 1. Grupdaki (Kontrol) ratların Lökositik infiltrasyon skor ortalamasının 8.9 ± 0.9 , 2. Grupdaki (St. Thomas II) ortalaması 10.1 ± 0.4 ve 3. Grupdaki (Del Nido) lökositik infiltrasyon skor ortalaması 9 ± 1.8 idi (Grafik 2).

Reperfüzyon grubu ölçümlerinde ise; 1. Grupdaki (Kontrol) ratların Lökositik infiltrasyon skor ortalamasının 9.6 ± 0.7 , 2. Grupdaki (St. Thomas II) ortalaması 10.1 ± 0.3 ve 3. Grupdaki (Del Nido) lökositik infiltrasyon skor ortalaması 9.5 ± 0.8 idi (Grafik 2).

İskemi grubu ölçümlerinde gruplar arasında Lökositik infiltrasyon skor ortalamaları arasında anlamlı fark yok idi ($p=0.1$) (Tablo 9).

Reperfüzyon grubu ölçümlerinde gruplar arasında Lökositik infiltrasyon skor ortalamaları arasında anlamlı fark yok idi ($p=0.15$) (Tablo 9).

Kontrol grubundaki iskemi ve reperfüzyon grupları Lökositik infiltrasyon skor ortalamalarında anlamlı fark yok idi ($p=0.11$) (Tablo 9).

St. Thomas grubundaki iskemi ve reperfüzyon grupları Lökositik infiltrasyon skor ortalamalarında anlamlı fark yok idi ($p=0.99$) (Tablo 9).

Del Nido grubundaki iskemi ve reperfüzyon grupları Lökositik infiltrasyon skor ortalamalarında anlamlı fark yok idi ($p=0.49$) (Tablo 9).



5. TARTIŞMA

Kardiyopulmoner bypassın klinik kullanımı kansız ve hareketsiz bir ortam sağlayarak cerrahiyi mümkün hale getirmiştir. Bununla beraber miyokardiyal koruma açık kalp cerrahisinin başarı oranını önemli ölçüde etkileyen bir faktördür.

Bu yüzden miyokardiyal korumanın doğru yönetimi operasyonun başarısında önemli rol oynar ve cerrahlar için zorlu bir süreçtir. Tek başına veya kombine olarak kullanılan çeşitli yöntemler olsa da ideal miyokard korunması için en uygun yöntem hala tartışma konusudur.

Miyokardiyal korumanın temelini oluşturan kavramlar; hipotermi ve kardiyoplejik arrestir. Bunlar kalp cerrahisinin başlangıcından itibaren kullanılmakla birlikte, kardiyopleji solüsyonunun içeriği, sıcaklığı, sıklığı ve verilme yolu ile ilgili halen günümüzde birden fazla uygulama olduğu görülmektedir³.

St Thomas II çözeltisi potasyum temelli hücre dışı kristaloid bir kardiyopleji solüsyonudur. Kristaloid olarak ya da kan ile kombine edilerek uygulanabilir. St Thomas II kullanan birçok merkez çözeltiye daha fazla potasyum ekler ve tipik olarak 4:1 (kan: kristaloid) oranında kan ile kombine ederek kullanır. Kan ile kombine edilmesi KPB sırasındaki hemodilüsyonu azaltır. Ayrıca kan ilavesi doğal asit-baz tamponlarının kullanılmasına, miyokarda oksijen dağıtımının iyileştirilmesine, hücrel ödemden kaçınmak için kolloidal onkotik basıncın artmasına ve ATP gibi yüksek enerjili fosfatların daha iyi korunmasına imkan verir¹¹.

Del Nido kardiyoplejisi 1990'larda "Pedro del Nido" tarafından pediyatrik kalp cerrahisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş bir kardiyopleji solüsyonudur. İçeriğinde serbest radikalleri temizleyen ve ödemi azaltan mannitol, kalsiyum kanallarını bloke eden magnezyum sülfat ile antiaritmik ajan ve sodyum kanal blokeri olan lidokain vardır. Bu bileşenler reperfüzyon sırasında kalsiyum iyon akışına toleransı daha az olan immatür miyokardda başarılı miyokardiyal koruma sağlamış ve pediyatrik cerrahide güvenle kullanılmıştır. Son zamanlarda erişkin kalp cerrahisinde de kullanımı yaygınlaşmıştır. Erişkin hastalar üzerindeki etkileri ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda del Nido

solüsyonunun miyokardiyal koruma için güvenli olduğu ve kan kardiyoplejisine kıyasla ameliyat maliyetini azalttığı rapor edilmiştir¹¹².

Del Nido kardiyoplejisine atıfta bulunan ilk klinik çalışma 2009 yılında Halifax'ta O' Brien tarafından yapılmıştır. Pediatrik hastalarda uygulanan çalışmada del Nido ile modifiye Buckberg kardiyoplejisi kıyaslanmış ve del Nido kardiyoplejisinde daha az troponin T salınımı ve daha iyi kalsiyum yönetimi gözlenmiştir⁸¹.

Joseph Lamelas minimal aortik kapak replasmanı ameliyatlarında del Nido kardiyopleji solüsyonunu 4: 1 (kan: kristaloid) oranında modifiye ederek uygulamıştır¹¹¹. Michele Gallo kalp transplantasyonu sırasında aynı şekilde 4: 1 (kan: kristaloid) oranında modifiye del nido kardiyopleji solüsyonunu kullanmıştır¹¹⁴. Loberman ise 8:1 (kan: kristaloid) oranında modifiye ederek kullanmış ve erişkin kalp cerrahisinde modifiye del Nido kardiyopleji solüsyonunun etkin ve güvenli olduğunu göstermiştir¹¹⁵.

Cleveland klinikte 2012'den itibaren erişkin kalp cerrahisinde minimal invaziv ve robotik cerrahi tekniğiyle uygulanan ameliyatlarda del Nido solüsyonu kullanılmaya başlanmıştır. Koroner arter hastalarında ise tek doz kardiyoplejinin yeterli ve etkili şekilde dağılımının garanti edilemeyeceği kaygısıyla KABG ameliyatlarında kullanımı önerilmemiştir¹. Fakat düşük ve yüksek riskli KABG ameliyatlarında del Nido solüsyonunun uygulanmasıyla ilgili yayınlar del Nido kardiyoplejisinin güvenle kullanılabileceğini göstermiştir¹¹⁶.

Daha kısa kros klemp ve KPB sürelerinin erişkin hastalarda ameliyat sonrası mortalite ve morbidite oranlarını azalttığı gösterilmiştir¹¹². Bu sebeptendir ki kros klemp ve KPB sürelerini kısaltmak için çaba gösterilmektedir. Aynı cerrahi uygulamalar için kardiyopleji yöntemleri ve sıklığı merkezlere göre değişkenlik gösterirken, tek doz kardiyopleji uygulamalarının güvenli olduğu ve kros klemp ve KPB sürelerini, multidoz kardiyopleji uygulamalarına göre azalttığı gösterilmiştir¹¹⁶.

Yongnan Li ve arkadaşları erişkin hastalarda del Nido ile kan kardiyoplejisinin kıyasladığı mevcut araştırmalara dayanarak del Nido kardiyopleji solüsyonunun kardiyoprotektif etkilerini analiz ettiler. Dokuz çalışmadan oluşan bu meta analizde del Nido kardiyopleji solüsyonu anlamlı derecede daha kısa kros klemp ve KPB süreleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir³.

Niv Ad ve arkadaşları tarafından 2018'de erişkin hastalarda del Nido ve tam kan kardiyoplejisinin kıyaslandığı kontrollü randomize bir çalışma yapılmıştır. Çalışmaya del Nido grubunda 48, kontrol grubunda 41 hasta olmak üzere KABG, kapak replasmanı veya hem KABG hem de kapak replasmanı yapılan toplam 89 hasta dâhil edilmiştir. Del Nido grubunda kros klemp ve KPB süreleri daha kısa olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır¹¹⁷.

Çayır ve ark. sadece izole KABG ameliyatlarında del Nido ile St Thomas II kardiyoplejisini karşılaştırmıştır. Toplam 200 hastanın bulunduğu çalışmada her bir grup 100 hastadan oluşmaktadır. Çalışmada del Nido kardiyoplejisi kros klemp ve KPB sürelerini önemli ölçüde azaltmıştır¹¹⁶.

Geleneksel kardiyoplejiyle karşılaştırıldığında del Nido solüsyonu kullanılırken operasyonun daha az kesintiye uğraması ve daha az kardiyopleji hacmi ile benzer sonuçlar elde edilebilmektedir. Çalışmamızda geleneksel solüsyon ile karşılaştırılan del Nido kardiyopleji sonuçları arasında anlamlı fark bulunmaması bu bulguları desteklemektedir. Uzamış iskemi aralıklı tek veya seyrek olarak verilen del Nido kardiyoplejisi, kalp ameliyatı sırasında daha uzun vaka sürelerine sahip özellikle konjenital kalp cerrahisinde alternatif bir seçenek olarak kullanılabilir^{118,119}.

Tüm kalp ve hayvan prelinik çalışmaları, iskemi sırasında ortaya çıkan yararlı etkilerin ve erken reperfüzyonun, artmış kardiyak fonksiyona dönüşüp dönüşmediğini saptamak için gerekli olacaktır. St. Thomas kardiyoplejisine kıyasla del Nido kardiyoplejik solüsyonu uygulanan hastalarda kros-klemp oranlarında anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu düşüş, del Nido'nun daha etkili bir alternatif olduğunu düşündürmektedir¹²⁰. Randomize prospektif çalışmalar, doz rejimleri ve redüksiyon aralıkları gibi diğer en uygun miyokardiyal koruma koşullarının belirlenmesinde avantajlı olabilir.

Del Nido kardiyopleji solüsyonu, 60 dakikaya kadar dayanan bir depolarize hiperkalemik arrest sağlar ve lidokain ilavesi hücre içi kalsiyum girişini sınırlayabilir. Tek doz del Nido kardiyoplejisi, akut miyokard enfarktüsünü takiben çok dozlu soğuk tam kan kardiyoplejisine alternatif bir miyokard koruma stratejisi sunabilir. Akut miyokard enfarktüsünde del Nido kardiyoplejisi, negatif inotropik etki olmadan mevcut kardiyoplejiye eşit miyokardiyal koruma sağlayabilmektedir¹²¹.

Çalışmamız geleneksel ve yeni nesil kardiyopleji solüsyonlarının deneysel yöntemle, doku ve hücre düzeyinde histopatolojik olarak ışık mikroskopu ile incelenerek literatüre katkı açısından önem taşımaktadır. Literatür taramasında çalışmamıza benzer nitelikte hayvan modeli kullanılarak histopatolojik olarak yapılan benzer çalışma görülmemiştir. Gruplar arasında anlamlı farklılık görülmedi. Bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte gözlemsel olarak Del Nido grubunda diğer 2 gruba göre skorlama daha iyi bulundu.

Mast hücre sayımında yapılan istatistik incelmede 1. Gruptaki(Kontrol) iskemi ve reperfüzyon grupları arasında anlamlı fark var idi. Bu sonuçlar St Thomas II ve del Nido'nun kontrol grubuna göre reperfüzyon hasarını önlemede daha üstün olduğunu gösterdi. Fakat del Nido ve St Thomas II grubunun birbirine üstünlüğü yoktu. Bunu da reperfüzyonun akut gerçekleşmesi, iskemi-reperfüzyon süresinin kısa olmasına ve rat miyokardının daha dayanıklı olmasına bağlı olduğunu düşündük.

Açık kalp cerrahisinde miyokart koruma yöntemleri ve uygulanan kardiyopleji solüsyonları hala güncel tartışma ve araştırma konuları arasında yer almaktadır. Her iki kardiyopleji solüsyonun uygulamasından sonra dokularının ışık mikroskopik ile incelemesinde makrofaj sayıları ve lökositik infiltrasyon skorları benzerdi. Etkin miyokardiyal koruma için St.Thomas II solüsyonun her yirmi dakikada bir idame dozları ile desteklenmesi gerekmektedir. Çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak St.Thomas II protokolünü kullanan kliniklerde de, yeni nesil kardiyopleji solüsyonu Del Nido kullanılan kliniklerde de miyokardiyal koruma sonrası yanıtlar benzer bulunmuştur.

Her iki koşulda da hem geleneksel solüsyon St.Thomas II ile hem de yeni nesil solüsyon del Nido ile benzer klinik sonuçlar sağladığı için her iki solüsyon da çeşitli merkezlerde kabul görmektedir. Solüsyonların birbirine avantajları hakkında kesin kanıya varabilmek için daha fazla parametre değerlendirmesi içeren ve elektron mikroskopisi ile deneysel çalışmalara ve deney hayvanı modellerine ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Açık kalp cerrahisi ameliyatlarında kardiyopulmoner bypass ve kros klemp altında kalp dokusunun iskemini olumsuz etkilerine maruz kalması kaçınılmazdır. Fizyolojik olmayan koşullara maruz kalan kalpte iskemi ve reperfüzyon hasarını önlemek, kalp cerrahisinin yapılmaya başlandığı zamandan bugüne kadar üzerinde çalışılan bir konu olmuştur.

Kalp cerrahisi kliniklerinin miyokardiyal korumadaki sonuçları preoperatif bakım, anestezi uygulama ve yöntemleri, perfüzyon yönetimi, cerrahi teknik gibi birçok değişkenlerden etkilenmektedir. Çok değişkenli parametreler sonuçları kıyaslamada zorluk yaratmaktadır. Çok sayıda kardiyopleji protokolü olması ve bu konuyla ilgili bilimsel birikimlerin devam etmesi, bu yönde çalışmaların yapılmaya devam edeceğinin göstergesidir.

Kardiyopleji solüsyonları bakımından deney hayvanları modellerinin elektron mikroskopisi incelemesi ile hücresel ve doku düzeyinde daha çok karşılaştırma yapmak ve bu solüsyon içeriklerini, etki mekanizmalarını, sinyal yollarına etkilerini daha kapsamlı bir şekilde tartışmak için etkili bir yol olabilir. Literatürlerin ışığında deneysel çalışmalar ve vaka düzeyindeki prospektif ve retrospektif veriler dikkate alınarak en iyi kardiyopleji solüsyonu yaklaşımına ulaşılabileceği sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Kim K, Ball C, Grady P, Mick S. (2014). Use of del Nido Cardioplegia For Adult Cardiac Surgery at The Cleveland Clinic: Perfusion implications. The Journal of ExtraCorporeal Technology, 46: 317-325.
2. Tapar H, Kaya Z, Süren M, Arıcı S, Karaman S. (2011). Açık Kalp Cerrahisi Ameliyatlarında Kullanılan Farklı Kardiyopleji Solüsyonlarının Retrospektif Değerlendirilmesi. GKDA Derg, 17(4):81-90.
3. Li Y, Lin H, Zhao Y, et al. (2018). Del Nido Cardioplegia For Myocardial Protection in Adult Cardiac Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis. ASAIO J, 64(3):360-367.
4. Peker M, Karabayırlı S, Özanbarcı A, Çolak N, Demircioğlu RG, Muslu B. (2014). Koroner Arter Baypas Cerrahisinde Soğuk Kan Kardiyopleji Potasyum Konsantrasyonu Üzerine Hipoterminin Etkisi. GKDA Derg, 20(1):16-20.
5. De Jonge M, van Boxtel AG, Saliman Hamad MA, et al. (2015). İntermittent Warm Blood Versus Cold Crystalloid Cardioplegia For Myocardial Protection: A Propensity Score-Matched Analysis of 12-Year Single-Center Experience. Perfusion, 30(3):243-249.
6. Bigelow, W. G., Lindsay, W. K., & Greenwood, W. F. Hypothermia: its possible role in cardiac surgery: an investigation of factors governing survival in dogs at low body temperatures. *Annals of surgery*, 1950, 132(5), 849.
7. Gibbon JH JR, Application Of A Mechanical Heart And Lung Apparatus To Cardiac Surgery. *Minn Med*, 1954, 37:171-85
8. Kirklin JW, DuShane JW, Patrick RT, et al. (1955). Intracardiac Surgery With The Aid of Mechanical Pump-Oxygenator System(Gibbon Type): Report of Eight Cases. *Proc Staff Meet Mayo Clin*, 30(10):201-216.
9. Hufnagel CA, Conrad PW, Schanno J, Pifarre R. (1961). Profound Cardiac Hypothermia. *Ann Surgery*, 153:790-796.
10. Gerbode F, Melrose D. (1958). The Use of Potassium Arrest in Open Cardiac Surgery. *Am J Surg*, 96(2):221-227.
11. Sealy WC, Young WG Jr, Brown IW Jr, et al. (1958). Potassium, Magnesium and Neostigmine For Controlled Cardioplegia: Studies on The Dog Using Extracorporeal Circulation and Hypothermia. *AMA Arch Surg*, 77(1):33-38.

12. Hoelscher B. (1967). Studies By Electron Microscopy on The Effects of Magnesium Chloride-Procaïne Amide or Potassium Citrate on The Myocardium in Induced Cardiac Arrest. J Cardiovasc Surg, 8(2):163-166.
13. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV.(1976). Cellular Protection During Myocardial Ischemia: The Development and Characterization of A Procedure For the Induction of Reversible Ischemic Arrest. Circulation, 54(2):193-202.
14. Bretschneider HJ. (1980). Myocardial Protection. J Thorac cardiovasc Surg, 28(5):295-302.
15. Benson R. Wilcox, Andrew C. Cook, Robert H. Anderson, Kalbin Cerrahi Anatomisi 3. baskı, (2010), Ankara, Güneş Tıp Kitapevi, s:83
16. Netter Atlas of Human Anatomy 7th edition 2006, Elsevier ,GmbH , Munich
17. Guyton AC, Hall JE. (2007). Medical Physiology. Tıbbi Fizyoloji. 11th ed, Çeviren: Çavuşoğlu H, Çağlayan B, Yüce Yayınları A.Ş Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., İstanbul.
18. Forbes M J Ultrastructure of mammalian cardiac muscle. Physiology and patophysiology of the heart, 1984, pp:3-42
19. Sommer JR, Jennings RB. Ultrastructure of cardiac muscle. The Heart and Cardiovascular System. New York, Raven Press, 1986;p:61.
20. Medical Physiology, 3rd Edition Cardiac Muscle (<https://doctorlib.info/physiology/medical/49.html>)
21. Herzig JW, Ruegg JC, Solaro RJ. Myocardial excitationcontraction coupling as influenced through modulation of the calcium sensitivity of the contractil proteins. Heart Failure 1991;6:244.
22. Vardar SA, Kaymak K, Altun A. (2002). Kalp Kasının Kasılmasında Kalsiyum ve Sarkoplazmik Retikulumun Rolü. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 22:630-634.
23. Barry WH, Bridge JH. (1993). Intracellular Calsium Homeostasis in Cardiac Myocytes. Circulation, 87(6):1806-1815.
24. Judith A. Heiny, Gerhard Meissner, in Cell Physiology Source Book (Fourth Edition), 2012
25. Physiology of cardiac conduction and contractility – McMaster Pathophysiology Review (<http://www.pathophys.org/physiology-of-cardiac-conduction-and-contractility/>)

26. Szocs K. (2004). Endothelial Dysfunction and Reactive Oxygen Species Production in Ischemia /Reperfusion and Nitrate Tolerance. *Gen Physiol Biophys*, 23(3):265- 295.
27. Entwistle JWC, Wechsler AS. (2004). İntraoperative Myocardial Protection. In: *Techniques in Extracorporeal Circulation*. Eds: Kay PH, Munsch CM, 4nd, Arnold, London, p.184-206.
28. Demir A. (2015). Miyokard Korumanın Patofizyolojisi. İçinde: *Kalp ve Anestezi*. Eds: Dönmez A, Özer Z, Kararmaz A, Intertıp, Ankara, s.141-161.
29. Park JL, Lucchesi BR. (1999). Mechanisms of Myocardial Reperfusion Injury. *Ann Thorac Surg*, 68(5): 1905-1912.
30. Balakumar P, Rohilla A, Singh M. (2008). Pre-Conditioning and Postconditioning To Limit Ischemia-Reperfusion-Induced Myocardial Injury: What Could Be The Next Footstep. *Pharmacological Research*, 57(6):403- 412.
31. Grace PA. (1994). Ischemia-Reperfusion Injury. *British Journal Of Surgery*, 81(5):637- 647.
32. Verma S, Fedak PW, Weisel RD, et al. (2002). Fundamentals of Reperfusion Injury For The Clinical Cardiologist. *Circulation*, 105(20):2332- 2336.
33. Bolli R, Jeroudi MO, Patel BS, et al. (1989). Direct Evidence That Oxygen-Derived Free Radicals Contribute To Postischemic Myocardial Dysfunction in The Intact Dog. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86(12):4695-4699.
34. Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Wenbo QI. (1998). Melatonin As A Pharmacological Agent Against Oxidative Damage To Lipids and DNA. *Proc West Pharmacol Soc*, 41:229-236.
35. Czyrko C, Steigman C, Turley DL, Drott HR, Ziegler M. (1989). The Role of Reperfusion Injury in Occlusive Intestinal Ischemia of The Neonate: Malonaldehyde Derived Fluorescent Products and Correlation of Histology. *Journal Of Surgical Research*, 51(1): 1-4.
36. Halliwell B. (1989). Superoxide, On, Vascular Endotelium and Reperfusion İnjury. *Free Radic Res Common*, 5(6):315-318.
37. Harman AW, Maxwell MJ. (1995). An Evaluation of The Role of Calcium in Cell Injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 35: 129-144.

38. Granger DN. (1999). Ischemia-Reperfusion: Mechanisms of Microvascular Dysfunction and The Influence of Risk Factors For Cardiovascular Disease. *Microcirculation*, 6(3):167-178.
39. Clancy RM, Leszczynska-Piziak J, Abramson SB. (1992). Nitric Oxide, An Endothelial Cell Relaxation Factor, İnhibits Neutrophil Superoxide Anion Production Via A Direct Action on The NADPH Oxidase. *J Clin Invest*, 90(3): 1116–1121.
40. Morales AR, Fine G, Taber RE. (1967). Cardiac Surgery and Myocardial Necrosis. *Arch Pathol*, 83(1):71-79.
41. Öztürk F. (2002). Apoptoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9 (2): 143-148.
42. Akkoç H. (2008). Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Dicle Tıp Dergisi*, 35(3):211-215.
43. Chen C, Yu L-T, Cheng B-R, et al. (2022) Promising Therapeutic Candidate for Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: What Are the Possible Mechanisms and Roles of Phytochemicals? *Front. Cardiovasc. Med.* 8:792592. doi: 10.3389/fcvm.2021.792592
44. Brazier, J., Cooper, N., Buckberg, G The adequacy of subendocardial oxygen delivery: the interaction of determinants of flow, arterial oxygen content and myocardial oxygen need. *Circulation*, 1974, 49(5), 968-977.
45. Sarnoff, S. J., Braunwald, E., Welch Jr, et al. Hemodynamic determinants of oxygen consumption of the heart with special reference to the tension-time index. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 1957, 192(1), 148-156.
46. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 1975;56(4):978–85.
47. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982;66(6): 1146– 9.
48. Kloner RA, Arimie RB, Kay GL, Cannom D, Matthews R, Bhandari A, et al. Evidence for stunned myocardium in humans: a 2001 update. *Coron Artery Dis* 2001;12(5):349– 56.
49. Manning AS, Hearse DJ. Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol* 1984;16(6): 497–518

50. Tzivoni D, Keren A, Granot H, Gottlieb S, Benhorin J, Stern S. Ventricular fibrillation caused by myocardial reperfusion in Prinzmetal's angina. *Am Heart J* 1983;105(2):323–5.
51. Bernier M, Manning AS, Hearse DJ. Reperfusion arrhythmias: dose-related protection by anti-free radical interventions. *Am J Physiol* 1989;256(5 Pt 2):H1344–52
52. Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia–reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 2003;75(2):S644 –8
53. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 2. *Circulation* 2001;104(25):3158–67
54. Lefer, A. M., Tsao, P. S., Lefer, D. J., Ma, X. L. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of reperfusion injury after myocardial ischemia. *The FASEB Journal*, 1991, 5(7), 2029-2034
55. Aral A.(2004). Miyokardiyal Korumanın Fizyolojik Temelleri. *Anadolu Kardiyolog Derg*, 4:120-123.
56. Erdim F. (2010). Açık Kalp Cerrahisi Uygulanan Pediatrik Hastalarda Miyokard Hasarının Biyokimyasal Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. E Dayıoğlu).
57. Kurth, C. D., Priestley, M., Golden, J., McCann, J., Raghupathi, R. Regional patterns of neuronal death after deep hypothermic circulatory arrest in newborn pigs. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 1999, 118(6), 1068-1077
58. Schubert, A. Side effects of mild hypothermia. *Journal of neurosurgical anesthesiology*, 1995 7(2), 139-147.
59. Buckberg GD, Brazier JR, Nelson RL, Goldstein SM, McConnell DH, Cooper N. (1977) Studies of The Effects of Hypothermia on Regional Myocardial Blood Flow and Metabolism During Cardiopulmonary Bypass. I. The Adequately Perfused Beating, Fibrillating, and Arrested Heart. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 73(1):87-94.
60. Yağar S.(2015). Miyokard Koruması Tarihçesi ve Yöntemler. İçinde: Kalp ve Anestezi. Eds: Dönmez A, Özer Z, Kararmaz A, İntertıp, Ankara, s.163-184.
61. Bonchek LI, Burlingame MW, Vazales BE, Lundy EF, Gassmann CJ. (1992) Applicability of Noncardioplegic Coronary Bypass To High-Risk Patients:

Selection of Patients, Technique and Clinical Experience in 3000 Patients. J Thorac Cardiovasc Surg, 103:230-237.

62. Casthely PA, Shah C, Mekhjian H, et al. (1997). Left Ventricular Diastolic Function After Coronary Artery Bypass Grafting: A Correlative Study With Three Different Myocardial Protection Techniques. J Thorac Cardiovasc Surg, 114(2):254-260.

63. Raco L, Mills E, Millner RJ. (2002). Isolated Myocardial Revascularization With Intermittent Aortic Cross-Clamping: Experience With 800 Cases. Ann Thorac Surg, 73:1436-1439.

64. Boethig D, Minami K, Lueth JU, El-Banayosy A, Breymann T, Koerfer R. (2004). Intermittent Aortic Cross-Clamping for Isolated CABG Can Save Lives and Money: Experience With 15307 Patients. Thorac Cardiovasc Surg, 52(3):147-151.

65. Korbmacher B, Simic O, Schulte HD, Sons H, Schipke JD. (2004) Intermittent Aortic Cross-Clamping for Coronary Artery Bypass Grafting: A Review of a Safe, Fast, Simple, and Successful Technique. J Cardiovasc Surg (Torino), 45(6):535-543.

66. Hirose T, Bailey CP. (1969). Coronary Arterial Perfusion on During Aortic Valve Surgery. J Thorac Cardiovasc Surg, 57(2):164-70.

67. Ömeroğlu SN, Güler M, Yakut C. (2004). Miyokardiyal Koruma. Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Surg, 5: 166-174.

68. Peyton R B, Van Trigt P, Pellom GL, Jones RN, Sink JD, Wechsler AS. (1982). Improved Tolerance to Ischemia in Hypertrophied Myocardium by Preischemic Enhancement of Adenosine Triphosphate J Thorac Cardiovasc Surg, 84(1):11-15.

69. Chambers DJ, Fallouh HB. (2010) Cardioplegia and Cardiac Surgery: Pharmacological Arrest and Cardioprotection During Global Ischemia and Reperfusion. Pharmacol Ther, 127(1):41-52.

70. Chambers DJ. (2003). Mechanisms and Alternative Methods of Achieving Cardiac Arrest Ann Thorac Surg, 75(2):661-666.

71. Bers DM. (2002). Cardiac Excitation-Contraction Coupling. Nature, 415(6868):198-205.

72. Korun O. (2011). Bretschneider HTK ve Konvansiyonel Kristaloit Kardioplejinin Miyokard Üzerine Etkilerinin Doku Düzeyinde Karşılaştırılması.

Bağkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Ankara, (Danışman: Yrd. Doç. Dr. M Özkan).

73. Mauney MC, Kron IL.(1995). The Physiologic Basis of Warm Cardioplegia. *Ann Thorac surg*, 60(3): 819-823.

74. M Ağırgöl. (2009). Ėzole Sıçan Kalbinde Kardiyoplejik Solüsyona Atorvastatin Ėlavesinin Miyokard Koruması Üzerine Etkisinin Ėncelenmesi. Ėstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ėstanbul, (Danışman: Prof. Dr. B.Sönmez Uydeğ Doğan).

75. Guru, V., Omura, J., Alghamdi, A. A., Weisel, R., Fremes, S. E. Is blood superior to crystalloid cardioplegia?: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Circulation*, 2006, 114(1 suppl), I-331.

76. Bilfinger TV, Moeller JT, Kurusz M, Grimson RC, Anagnostopoulos CE. Pediatric myocardial protection in the United States: A survey of current clinical practice. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1992;40:214–8.

77. Kinoshita, K., Oe, M., & Tokunaga, K.Superior protective effect of low-calcium, magnesium-free potassium cardioplegic solution on ischemic myocardium. Clinical study in comparison with St. Thomas' Hospital solution. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*,1991, 101(4), 695-702.

78. Turkoz R. Myocardial protection in pediatric cardiac surgery. *Artif Organs*. 2013;37:16–20

79. Powell, W. J. Dibona, D. R., Flores, J., The protective effect of hyperosmotic mannitol in myocardial ischemia and necrosis. *Circulation*,1976, 54(4), 603-615

80. Szekely A, Levin J, Miao Y. Impact of hyperglycemia on perioperative mortality after coronary artery bypass graft surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011;142:430–7

81. Sanetra K, Pawlak I, Cisowski M. (2018). Del Nido Cardioplegia-What Ės The Current Evidence? *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska*, 15(2):214-218.

82. Thoren, E. Postoperative Atrial Fibrillation after Coronary Artery Bypass Grafting. 2017

83. Demmy TL, HaggertySP, BoleyTM, CurtisJJ.(1994). Lack of Cardioplegia Uniformity in Clinical Myocardial Preservation. *Ann Thorac Surg*, 57(3):648-651.

84. Darryl H., Berkowgtz, J. Pediatrik Kardiyopulmoner Baypas Yönetimi Bölüm 10 Pediatrik Kalp Cerrahisi 4.Baskı Ed: Constantine Mavroudis ,2013 Carl Backer
85. Matte GS, del Nido PJ.(2012). History and use of del nido cardioplegia solution at boston children"s hospital. The J Extra Corpor Technol, 44(3):98-103.
86. Von Opell UO.(1992). Myocardial Protection During Cardiac Surgery. University of Cape Town, Department of Cardiothoracic Surgery, PhD Thesis, Cape Town, (PhD: Professor LH Opie).
87. Akdeniz, Fatma. St Thomas II Kardiyopleji Solüsyonu İle Modifiye Del Nido Kardiyopleji Solüsyonunun Miyokardiyal Etkileri. Yüksek lisans tezi, Karabük Üniversitesi, 2020.
88. Rao V, Weisel RD. (1997). Intraoperative Protection of Organs: Hypothermia, Cardioplegia, and Cerebroplegia. In: Cardiac Surgery in The Adult. Ed: Edmunds LH, McGraw-Hill, New York, p. 295-318.
89. Ekim H, Yılmaz YK, Ekim M.(2015). Öztermik Hiperkalemik Kan Kardiyoplejisinin Miyokard Korumasında Önemi. Bozok Tıp Derg, 5(2):56-64.
90. Ghafoor M, Kamal M, Nadeem U, Husain AN. Educational Case: Myocardial Infarction: Histopathology and Timing of Changes. Acad Pathol. 2020 Dec 17;7:2374289520976639. doi: 10.1177/2374289520976639. PMID: 33415186; PMCID: PMC7750744.
91. Robert B. Jennings. Historical Perspective on the Pathology of Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. Circulation Research. Wolters Kluwer Health, Inc. 2013(<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.300987>)
92. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. **J Clin Invest.** 1974; 54:1496–1508.
93. Humphrey SM, Gavin JB, Herdson PB. The relationship of ischemic contracture of vascular reperfusion in the isolated rat heart. **J Mol Cell Cardiol.** 1980; 12:1397–1406.
94. Jennings RB, Steenbergen C, Kinney RB, Hill ML, Reimer KA. Comparison of the effect of ischaemia and anoxia on the sarcolemma of the dog heart. *Eur Heart J.* 1983; 4(suppl H):123–137.

95. Steenbergen C, Hill ML, Jennings RB. Volume regulation and plasma membrane injury in aerobic, anaerobic, and ischemic myocardium in vitro. Effects of osmotic cell swelling on plasma membrane integrity. *Circ Res.* 1985; 57:864–875.
96. Steenbergen C, Hill ML, Jennings RB. Cytoskeletal damage during myocardial ischemia: changes in vinculin immunofluorescence staining during total in vitro ischemia in canine heart. *Circ Res.* 1987; 60:478–486.
97. Jennings RB, Reimer KA. Lethal myocardial ischemic injury. *Am J Pathol.* 1981; 102:241–255.
98. Jennings RB, Hawkins HK, Lowe JE, Hill ML, Klotman S, Reimer KA. Relation between high energy phosphate and lethal injury in myocardial ischemia in the dog. *Am J Pathol.* 1978; 92:187–214.
99. Khaw BA, Scott J, Fallon JT, Cahill SL, Haber E, Homcy C. Myocardial injury: quantitation by cell sorting initiated with antimyosin fluorescent spheres. *Science.* 1982; 217:1050–1053.
100. Frame LH, Lopez JA, Khaw BA, Fallon JT, Haber E, Powell WJ. Early membrane damage during coronary reperfusion in dogs. Detection by radiolabeled anticardiac myosin (Fab')₂. *J Clin Invest.* 1983; 72:535–544.
101. Kloner RA, Ganote CE, Whalen DA, Jennings RB. Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells. II. Fine structure during the first few minutes of reflow. *Am J Pathol.* 1974; 74:299–422.
102. Shen AC, Jennings RB. Myocardial calcium and magnesium in acute ischemic injury. *Am J Pathol.* 1972; 67:417–440.
103. Whalen DA, Hamilton DG, Ganote CE, Jennings RB. Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells. I. Effects on cell volume regulation. *Am J Path.* 1974; 74:381–397.
104. Jennings RB, Steenbergen C. Ca²⁺-ion shifts in vivo in reversible and irreversible ischemic injury. In: Mochizuchi S, Takeda N, Nagano M, Dhalla NS. *The Ischemic Heart* Boston, MA: Kluwer Academic Publishers; 1998:151–176.
105. Shen AC, Jennings RB. Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischemic injury. *Am J Pathol.* 1972; 67:441–452.
106. Jennings RB, Schaper J, Hill ML, Steenbergen C, Reimer KA. Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury. Changes in cell

volume, electrolytes, metabolites, and ultrastructure. *Circ Res.* 1985; 56:262–278.

107. De Carvalho, C. A. M., Thomazini, J. Study of Wistar Rats Heart at Different Stages in the Evolutionary Cycle. *Int. J. Morphol*, 2014, 32(2), 614-617.

108. De Carvalho, C. A.M., & Thomazini, J. A. Macroscopic anatomy of the surface of the heart of albino Wistar rats. *J. Morphol*, 2013, 30(4), 299-303.

109. <https://www.behance.net/gallery/70309913/Comparative-anatomy-rat-heart-and-human-heart/modules/410186785>

110. Jung JC, Kim SI, Hwang HY, et al. Serial ultrastructural evaluation of myocardial ischemic injury after infusion of del Nido cardioplegia in the human heart. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2022 Aug;164(2):528-535.e2. doi: 10.1016/j.jtcvs.2020.08.083. Epub 2020 Sep 1. PMID: 33008580.

111. Buel ST, Striker CW, O'Brien JE. (2016) del Nido Versus St. Thomas Cardioplegia Solutions: A Single-Center Retrospective Analysis of Post Cross-Clamp Defibrillation Rates. *The Journal of Extra-Corporeal Technology*, 48(2):67-70.

112. Ler A, Sazzad F, Ong GS, Kofidis T. (2020). Comparison of Outcomes of the Use of Del Nido and St. Thomas Cardioplegia in Adult and Pediatric Cardiac Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Perfusion*, 1-20

113. Lamelas J. (2015). Minimally Invasive Aortic Valve Replacement: The "Miami Method". *Ann Cardiothorac Surg*, 4(1):71-77.

114. Gallo M, Trivedi JR, Slaughter MS. (2019). Myocardial Protection With Complementary Dose of Modified Del Nido Cardioplegia During Heart Transplantation. *Journal of Cardiac Surgery*, 34(6):1-3.

115. Loberman D, Neely RC, Fitzgerald D, Siobhan MC ve ark. (2014). Modified del Nido Cardioplegia in Adult Cardiac Surgery; Safety And efficacy. *J Cardiol Curr Res*, 1(7):00042.

116. Cayir M, Yuksel A. (2020). The Use of Del Nido Cardioplegia for Myocardial Protection in Isolated Coronary Artery Bypass Surgery. *Heart Lung Circ*, 29: 301–307.

117. Ad N, Holmes SD, Massimiano PS, Rongione AJ, Fornaresio LM, Fitzgerald D. (2018). The Use of Del Nido Cardioplegia in Adult Cardiac

Surgery: A Prospective Randomized Trial. J Thorac Cardiovasc Surg, 155(3): 1011-1018.

118. Pourmoghadam, K. K., Ruzmetov M., O'Brien, et al. W. M. Comparing del Nido and conventional cardioplegia in infants and neonates in congenital heart surgery. The Annals of thoracic surgery, 2017, 103(5), 1550-1556.

119. Kotani, Y., Tweddell, J., Gruber, P., Pizarro, C., Austin III, E. H., Woods, R. K, Caldaroni, C. A. Current cardioplegia practice in pediatric cardiac surgery: a North American multiinstitutional survey. The Annals of thoracic surgery, 2013, 96(3), 923-929.

120. Buel, S. T., Striker, C. W., del Nido versus St. Thomas cardioplegia solutions: a single-center retrospective analysis of post cross-clamp defibrillation rates. The journal of extra-corporeal technology, 2016, 48(2), 67.

121. Yerebakan H., Sorabella R. A., Najjar M., et al. Del Nido Cardioplegia can be safely administered in high-risk coronary artery bypass grafting surgery after acute myocardial infarction: a propensity matched comparison. Journal of cardiothoracic surgery, 2014, 9(1), 141.

8.SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACT: Activated clotting time
ADP : Adenozin Difosfat
AKK : Aortik Kros Klemp
Asetil CoA: Asetil koenzim-A
ATP : Adenozin Trifosfat
AV: Atrioventriküler nod
Ca: Kalsiyum
Co: Kobalt
CO2: Karbon dioksit
KPB: Kardiyopulmoner bypass
Cx: Sirkumfleks arter
DIC: Yaygın damar içi pıhtılaşma
DM : Diyabetes Mellitüs
DN : Del Nido
EF : Ejeksiyon Fraksiyonu
EKD : Ekstrakorporeal Dolaşım
EKO : Ekokardiyagrafi
EPC: Endotelyal progenitör hücre
ES : Eritrosit Süspansiyonu
HT : Hipertansiyon
İABP : İntra Aortik Balon Pompası
K: Potasyum
KABG : Koroner Arter Baypas Graft
KBY : Kronik Böbrek Yetmezliği
KOAH : Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KPB : Kardiyopulmoner Baypas
LV : Sol Ventrikül
Mİ : Miyokard İnfarktüsü
MVO2 : Miyokard oksijen tüketimi
Na: Sodyum
O2: Oksijen
PAH : Pulmoner Arter Hipertansiyonu

RCA: Sağ koroner arter

SA: Sinoatrial nod

SDF: Stromal-derived faktör

SOR : Serbest Oksijen Radikali

ST II : St Thomas II

VYA : Vücut Yüzey Alanı



9. TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Miyokardiyal Korumanın Tarihsel Gelişimi(4)	11
Tablo 2. St. Thomas II kardiyopleji solüsyonunun kristoloid bileşeni(84)	29
Tablo 3. Del Nido kardiyopleji solüsyonunun kristoloid içeriği(85)	29
Tablo 4. Kardiyoplejiye eklenen etken maddeler ve etkileri(27,83)	29
Tablo 5. Miyokard İnfarktüsü Sonrası Gross ve Mikroskopik Değişikliklerin Zamanlaması (90).	33
Tablo 6. Deney Protokolü	47
Tablo 7. Hazırlanan kardiyopleji içerikleri	49
Tablo 8. Gruplarda ve Zamana Göre Mast Hücre Sayısında Fark Değerlendirmesi	59
Tablo 9. Gruplarda ve Zamana Göre Lökositik infiltrasyon Skorunda Fark Değerlendirmesi	60

10. ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Kalbin vasküler anatomisi(16)	12
Şekil 2. Kalp Kasının Fizyolojik Yapısı(20)	14
Şekil 3. Kalbin Uyarılma ve Kasılma Mekanizması(25)	15
Şekil 4. Kabin Aksiyon Potansiyeli(27)	16
Şekil 5. İskemi reperfüzyonda kalp hücrelerinin yanıtı(48)	20
Şekil 6. Antegrad kardiyopleji uygulama kanüllerin örnekleri(87)	31
Şekil 7. Retrograd kardiyopleji uygulama kanül örneği(87)	32
Şekil 8. Çekirdeksiz miyositlerin koagülatif nekrozu ve interstisyel nötrofilik sızıntı (siyah ok) (90).	34
Şekil 9. Kollajen birikimi ve neovaskülarizasyon (siyah ok) ile iyi oluşturulmuş granülasyon dokusu. (90).	35
Şekil 10. Bir kapiller damarı ve geri dönüşümsüz şekilde yaralanmış bir miyositin bir kısmı gösterilmektedir. Kapillerin lümeni endotelial çıkıntılarla (beyaz oklar) ve zara bağlı cisimlerle doludur (b). Her ikisi de reperfüze olan arteriyel kanın basıncıyla ileri doğru itilir. Resimde gösterilen b'deki degranüle trombositler olabilir. Damarı kaplayan endotel, kontrol miyokardiyumun kapiller damarlarında çok sayıda bulunan pinositotik veziküllerden arınmıştır. No-Reflow, gösterilen bölgenin proksimalinden çıkan hasarlı kapiller damarın ödemli ve düzensiz endoteli tarafından lümenin bloke edilmesine bağlıyoruz. Kapillerin bitişiğinde, okta genişlemiş ödemlenmiş mitokondri ve şekilsiz bir matris yoğunluğu gösteren, geri dönüşümsüz şekilde yaralanmış bir miyositin bir kısmı vardır. Bu miyofibriller gerilir ve Z bandının yanında I bantları gösterir. No-reflow alanlarda daralma bandı nekrozunun oluşmadığına dikkat edin (büyütme ×12 000) (91,92).	36
Şekil 11. A: ×108 000'de iskemik olmayan sarkolemma. Sarkolemma (SL), yaklaşık 15 ila 35 nm kalınlığında bir dış katman, glikokaliks veya bazal laminadan (BL) ve esas olarak trilaminar olan fosfolipidden oluşan bir birim zardan oluşur (küçük oklar). B: Miyosit 30 dakikalık şiddetli iskemi nedeniyle geri dönüşümsüz olarak hasar gördü. Küçük oklarda plazmalemmada çok sayıda küçük kırılmalar olduğuna dikkat edin. Mitokondri büyütülür ve içinde şekilsiz bir matris (AMD; büyütmeye ×70 000) bulunan yoğun berrak bir matrise	

sahiptir. **C:** 40 dakikalık iskemi ile oluşturulan SL'deki değişiklikler. 1 küçük 60-nm boşluk (küçük ok) ve birim zarın eksik olduğu ancak bazal laminanın sağlam olduğu daha büyük bir bölge vardır (kalın ok; büyütme $\times 60\ 000$). **D:** Miyokardiyumdaki bir kapiller damara (C) bitişik 3 saatlik ciddi iskemi nedeniyle geri dönüşümsüz şekilde yaralanmış bir subsarkolemmal kabarcık görünümü. Bu tür kabarcıkların sıklığı iskemi epizodunun süresi arttıkça artar. Hem miyositin hem de kapillerin bazal laminası (BL) sağlamdır. Bununla birlikte, SL'nin birim zarının çoğu, BL'nin altında veya ona bağlı dairesel profillere bölünmüştür. Kalın okta bozulmamış plazmalemma mevcuttur. Kapiller endotel şişmiştir ve doku reperfüze edilirse (büyütme $\times 15\ 000$) no-reflow sendromuna yol açabilecek kabarcıklar (B) ve veziküller (V) görülmektedir (91,94). 38

Şekil 12. Bu şekil, 24 saatlik bir enfarktüste ölü bir miyosit göstermektedir. Genel mimari, miyofibrilin Z bantları kayıta olacak şekilde iyi korunur. Miyofibriller gerilir ve belirgin I bantları sergiler. Mitokondri şişmiş ve düzensizdir ve bol miktarda büyük amorf matris yoğunlukları içerir (ok). Sarkolemma ve kapiller damar parçalanıyor. Nükleer kromatin, irrevesiblenin önceki aşamalarında olduğu gibi periferik olarak toplanır. 30 ila 40 dakikalık iskemiden sonra geri dönüşümsüzlüğün ultrayapısal değişikliklerinin 24 saatte görülenlerle hemen hemen aynı ancak onlardan daha az belirgin olduğuna dikkat edin (büyütme $\times 9500$) (102). 40

Şekil 13. 40 dakikalık iskemiyle geri dönüşümsüz şekilde yaralanan ve ardından 20 dakika arteriyel kanla reperfüze edilen 2 miyosit parçasının görünümü. Reperfüzyonun başlamasından birkaç saniye sonra kontraksiyon bandı nekrozu gelişti. Kasılma bantları, hidroksiapatit formunda kalsiyum fosfatın granüler yoğunluklarını ve reperfüzyondan önce mevcut olan amorf matris yoğunluklarını içeren şişmiş düzensiz mitokondriler gibi belirgindir. Tipik bir kalsiyum fosfat yoğunluğuna sahip bir mitokondri ekte gösterilmiştir (büyütme $\times 24\ 200$). Sarkoplazma vakuoller(V ile gösterilmiştir) içerir ve esas olarak glikojen içermez. Bu bölümde subsarkolemmal bleb görünmüyor (büyütme $\times 13\ 000$) (102). 41

Şekil 14. 40 dakikalık iskemi ve 10 dakikalık reperfüzyondan sonra kasılma bandı nekrozu sergileyen ve bu hasarlanmadan sonra mevcut olan belirgin hücre içi ve hücre dışı ödem sergileyen 2 miyosit parçası. Ekstraselüler sıvıda olduğu kadar miyositlerde de ödem olduğuna ve ekstraselüler sıvının granüler

bir materyal olan ve muhtemelen plazma proteini veya miyositlerden çözünür protein içerdiğine dikkat edin. Ödem sıvısının bir subsarkolemma kabarcığı bir kapiller damarı sıkıştırıyor. Miyofibriller, dokunun başka yerlerindeki kasılma bantları tarafından ayrılarak belirgin Z bantları ve bozulmuş miyofilamentler bırakır. Şişmiş bir mitokondride granüler bir hidroksiapatit yoğunluğu (üst ok) mevcuttur. Bazal laminaya bağlı dairesel bir plazmalemma profili alt okta gösterilmiştir (büyütme $\times 9600$) (101).

Şekil 15. Rat ve insan kalbinin karşılaştırmalı şeması(109) 44

Şekil 16. Deneklerin supin pozisyonu ve tespiti 48

Şekil 17. Dokuların serbestlenmesi 48

Şekil 18. Cross-Klemp ve Kardiyopleji uygulaması 48

Şekil 19. Örnek için sıraya alınan denekler 49

Şekil 20. Grup 1. a; İskemi grubu, **b;** Reperfüzyon grubu. Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. Normal morfolojik özelliklere sahip kalp kası hücreleri izlenmektedir. Kan damarı (siyah ok). $\times 200$ 54

Şekil 21. Grup 2. a; İskemi grubu, **b;** Reperfüzyon grubu. Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. Normal morfolojik özelliklere sahip kalp kası hücreleri izlenmektedir. Kan damarı (siyah ok). $\times 200$ 55

Şekil 22. Grup 3. a; İskemi grubu, **b;** Reperfüzyon grubu. Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. Normal morfolojik özelliklere sahip kalp kası hücreleri izlenmektedir. Kan damarı (siyah ok). $\times 200$ 55

Şekil 23. Grup 1. a, c; İskemi grubu, **b, d;** Reperfüzyon grubu. **a, b;** Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. **c, d;** Toluidin Mavisi ile boyanmış kalp dokusu. Kan damarı (kalın siyah ok), mast hücresi (ince siyah ok). **a, b;** $\times 400$, **c, d;** $\times 200$ 56

Şekil 24. Grup 2. a, c; İskemi grubu, **b, d;** Reperfüzyon grubu. **a, b;** Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. **c, d;** Toluidin Mavisi ile boyanmış kalp dokusu. Kan damarı (kalın siyah ok), mast hücresi (ince siyah ok). **a, b;** $\times 400$, **c, d;** $\times 200$. 57

Şekil 25. Grup 3. a, c; İskemi grubu, **b, d;** Reperfüzyon grubu. **a, b;** Hematoksilen–Eozin ile boyanmış kalp dokusu. **c, d;** Toluidin Mavisi ile boyanmış kalp dokusu. Kan damarı (kalın siyah ok), mast hücresi (ince siyah ok). **a, b;** $\times 400$, **c, d;** $\times 200$. 58

11. GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa No
Grafik 1. Gruplarda ve Zamana Göre Mast Hücre Sayısı	59
Grafik 2. Gruplarda ve Zamana Göre Lökositik infiltrasyon Skorlaması	61

