



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DİAZOKSİT TABANLI NORMOKALEMİK KARDİYOPELJİ İLE
ST THOMAS NO-2 VE CUSTODİOL-HTK
KARDİYOPELJİLERİNİN MİYOKARDİYAL KORUMA
ETKİNLİKLERİNİN İZOLE SIÇAN KALBİNDE
KARŞILAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

SEDAT GÜNDÖNER

**TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. HALİL FATİH AŞGÜN**

ÇANAKKALE – 2025



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DİAZOKSİT TABANLI NORMOKALEMİK KARDİYOPELJİ İLE ST
THOMAS NO-2 VE CUSTODİOL-HTK KARDİYOPELJİLERİNİN
MİYOKARDİYAL KORUMA ETKİNLİKLERİNİN İZOLE SIÇAN KALBİNDE
KARŞILAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

SEDAT GÜNDÖNER

Tez Danışmanı

PROF.DR. HALİL FATİH AŞGÜN

BU ÇALIŞMA, ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL
ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ VE TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA KURUMU TARAFINDAN DESTEKLENMİŞTİR.

BAP PROJE NO: TSA-2024-4895

TUBİTAK PROJE NO: 324S919

ÇANAKKALE – 2025



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Sedat GÜNDÖNER tarafından Prof. Dr. Halil Fatih AŞGÜN yönetiminde hazırlanan ve **12/08/2025** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan **“Diazoksit Tabanlı Normokalemik Kardiyopleji ile St Thomas No-2 ve Custodiol-HTK Kardiyoplejilerinin Miyokardiyal Koruma Etkinliklerinin İzole Sıçan Kalbinde Karşılaştırılması”** başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Halil Fatih AŞGÜN

.....

(Danışman)

Prof. Dr. Emine GAZİ

.....

Prof. Dr. Hayrettin TEKÜMİT

.....

Prof. Dr. Ali KOCAİLİK

.....

Doç. Dr. Sonay OĞUZ

.....

Tez No : 10600066

Tez Savunma Tarihi : 12/08/2025

Prof. Dr. Melis ULU DOĞRU

Enstitü Müdürü

.././20..

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Sedat GÜNDÖNER

12/08/2025

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında, akademik hayatımda önemli bir dönüm noktası olan bu süreçte, bana sadece bilgi ve yön göstermeyen, aynı zamanda araştırmacı kimliğimi kazanmama da vesile olan danışmanım Prof. Dr. Halil Fatih AŞGÜN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Kıymetli Hoca'm, sadece akademik nosyonumu kazandırmakla kalmadı, aynı zamanda derin akademik kimliği ve yol göstericiliğiyle bana ışık oldu. Tez sürecinde her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen danışman hocamın emeği, bu yolculuğun başlangıcından sonuna kadar benim için paha biçilmezdir.

Tüm tez sürecinde gerçekleştirdiğim araştırmalar boyunca, çalışmaların sağlıklı bir şekilde ilerlemesine verdikleri katkı ve yardımlar için kıymetli arkadaşlarım Leyla KAYA, Mustafa EREN ve Turgut ASLANER'e çok teşekkür ederim.

Deneysel süreçlerin eksiksiz yürütülmesi için, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne TSA-2024-4895 no'lu, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 324S919 numaralı projeleri kapsamında aldığım destekler için sonsuz minnetlerimi sunarım.

Son olarak bu uzun serüvende sevgi, sabır, destek ve yardımlarını benden esirgemeyen biricik eşim Şeyma GÜNDÖNER, çocuklarım Mehmed ve Öykü GÜNDÖNER'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Sedat GÜNDÖNER

Çanakkale, Ağustos 2025

ÖZET

DİAZOKSİT TABANLI NORMOKALEMİK KARDİYOPLEJİ İLE ST THOMAS NO-2 VE CUSTODİOL-HTK KARDİYOPLEJİLERİNİN MİYOKARDİYAL KORUMA ETKİNLİKLERİNİN İZOLE SIÇAN KALBİNDE KARŞILAŞTIRILMASI

Sedat GÜNDÖNER

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Halil Fatih AŞGÜN

12/08/2025, 74

Hiperkalemik kardiyoplejik solüsyonlar, 20 yıldan uzun süredir kalp cerrahisi sırasında miyokardiyal korumanın temel taşı ve altın standardı olmuştur. Bununla birlikte, yüksek potasyum tarafından istirahat membran potansiyelinin depolarizasyonunun indüklenmesi sorunsuz değildir. Bazı çalışmalar, ATP'ye duyarlı potasyum kanal açıcı ajanların, iskemik miyokard üzerinde yararlı etkiler uyguladığını ve kalp koruyucu bir etki sağladığını göstermiştir. Bu ajanlar hiperkalemik kardiyoplejik solüsyonlarla birlikte kullanılmış ve çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Diazoksit bu maddelerden biridir ve mitokondriyal ATP kanallarını aktive ederek miyokard koruyucu etki gösterdiği çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir. Bu çalışmada diazoksit birincil kardiyoplejik madde olarak kullanıldı ve normokalemik bir solüsyon ile uygulanarak, izole sıçan kalplerinde iskemi-reperfüzyon hasarını azaltma ve miyokardiyal fonksiyonları koruma potansiyeli araştırıldı. Çalışmada, Langendorff perfüzyon sisteminde izole sıçan kalpleri üzerinde yapılan deneyde diazoksit, Custodiol-HTK, St. Thomas ve kontrol kalpleri ile karşılaştırıldı. Çalışmada, kalp ağırlığı, aort basıncı, sol ventrikül gelişmiş basıncı, kalp hızı, dp/dt max-min değerleri, troponin, caspase-3 ve interlökin-6 parametreleri değerlendirildi. Çalışmada ayrıca, iskemi-reperfüzyon hasarının, ultrastrüktürel düzeydeki etkilerini değerlendirmek için transmisyon elektron mikroskopisi kullanıldı. Elde edilen verilere göre; diazoksitin kardiyoplejik ajan olarak kullanımının, klinikte mevcut durumda kullanılan kardiyoplejik solüsyonlar ile kardiyak parametreler açısından benzer etki gösterdiği tespit edildi. İskemi sonrası diazoksit

içerikli gruplarda troponin düzeylerinin, caspase-3 ve interlökin-6 seviyelerinde diğer gruplar ile benzer olduğu saptandı. Ek olarak diazoksit grubuna ait transmisyon elektron mikroskobu görüntülerinde ise düzenli sarkomer yapısı ve organize mitokondri lokalizasyonu tespit edildi. Çalışma sonuçlarımız, diazoksitin bağımsız bir kardiyoplejik ajan olarak kullanımının potansiyel faydaları olabileceğini ortaya koymakta ve bu alanda daha araştırma yapılması gerektiğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diazoksit, Kardiyopleji, Langendorff, İskemi-reperfüzyon hasarı



ABSTRACT

COMPARISON OF MYOCARDIAL PROTECTION EFFICACY OF DIAZOXIDE-BASED NORMOKALEMIC CARDIOPLEGIA WITH ST. THOMAS NO-2 AND CUSTODIOL-HTK CARDIOPLEGIA IN ISOLATED RAT HEARTS

Sedat GÜNDÖNER

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Doctoral Dissertation in Cardiovascular Surgery

Advisor: Prof. Dr. Halil Fatih AŞGÜN

12/08/2025, 74

Hyperkalemic cardioplegic solutions have been the cornerstone and gold standard of myocardial protection during cardiac surgery for more than 20 years. However, the induction of depolarization of the resting membrane potential by high potassium is not without problems. Several studies have shown that ATP-sensitive potassium channel opening agents exert beneficial effects on ischemic myocardium and provide a cardioprotective effect. These agents have been used in combination with hyperkalemic cardioplegic solutions with conflicting results. Diazoxide is one of these agents and has been reported in several studies to exert cardioprotective effects by activating mitochondrial ATP channels. In this study, diazoxide was used as the primary cardioplegic agent and its potential to reduce ischemia-reperfusion injury and preserve myocardial function in isolated rat hearts was investigated by administration with a normokalemic solution. In the study, diazoxide was compared with Custodiol-HTK, St. Thomas and control hearts in an experiment performed on isolated rat hearts in the Langendorff perfusion system. In the study, heart weight, aortic pressure, left ventricular developed pressure, heart rate, dp/dt max-min values, troponin, caspase-3 and interleukin-6 parameters were evaluated. Transmission electron microscopy was also used to evaluate the effects of ischemia-reperfusion injury at the ultrastructural level. According to the data obtained, it was determined that the use of diazoxide as a cardioplegic agent showed similar effects in terms of cardiac parameters with the cardioplegic solutions currently used in the clinic. Post-ischemia troponin levels, caspase-3 and interleukin-6 levels in diazoxide-containing groups were found to be similar to those in other groups. In addition,

regular sarcomere structure and organized mitochondria localization were detected in transmission electron microscopy images of the diazoxide group. Our results suggest that the use of diazoxide as an independent cardioplegic agent may have potential benefits and suggest that further research is needed in this field.

Keywords: Diazoxide, Cardioplegia, Langendorff, Ischaemia-reperfusion injury



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

İKİNCİ BÖLÜM

KURAMSAL ÇERÇEVE

3

2.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Tanımlanması.....	3
2.2. Miyokardiyal I/R Hasarının Patogenezi.....	4
2.3. Kalp Cerrahisi Sırasında I/R Yaralanması.....	7
2.4. Açık Kalp Cerrahisinin Başlangıcı.....	7
2.5. Kardiyoplejinin Tarihçesi ve Klinik Kullanımı.....	8
2.6. Kardiyopleji Solüsyonlarının Karakteristik Özellikleri.....	12
2.6.1. Kristalloid Kardiyopleji.....	12
2.6.2. Kan Kardiyoplejisi.....	13
2.6.3. Kardiyopleji İletiminin Modifikasyonları.....	13
2.6.4. Kardiyopleji Sıcaklığı.....	14
2.6.5. Dilüsyonel ve Non-dilüsyonel Kardiyopleji.....	15
2.7. Kardiyak Uyarılma Kasılma ve Kardiyoplejik Arrestin Mekanizması.....	16
2.8. Ekstrasellüler Hiperkalemi (Depolarize Arrest).....	18
2.9. Hiperkalemik Kardiyopleji ile İlgili Endişeler.....	19

2.10	Hiperkalemik Kardiyoplejiye Alternatifler.....	21
2.11	Diazoksit.....	23
2.11.1.	Genel Bilgiler.....	23
2.11.2.	Klinik Kullanım.....	23
2.11.3.	Diazoksit ile KATP Kanalı Aktivasyon Mekanizması.....	24
2.11.4.	Diazoksitin Mitokondriyal KATP Kanalları Üzerindeki Etkisi.....	25
2.11.5.	Diazoksitin Miyokard Koruyucu Etkisi.....	25
2.12	Langendorff Perfüzyon Sistemi.....	26

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA YÖNTEMİ

29

3.1.	Deney Hayvanları.....	29
3.2.	Deney Grupları.....	29
3.3.	Sıçan Kalbi İzolasyonu.....	31
3.4.	Langendorff Perfüzyonun Başlatılması ve Sürdürülmesi.....	33
3.5.	Kardiyoplejik Arrestin Sağlanması.....	35
3.6.	Deneyler Sırasında Ölçülen Değişkenler.....	35
3.7.	Koroner Atık Sıvısından Troponin Salınımının Ölçülmesi.....	37
3.8.	İmmünohistokimyasal (IHC) Analiz.....	37
3.9.	Transmisyon Elektron Mikroskopisi (TEM).....	38
3.10	İstatistiksel Analiz.....	39

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

40

4.1.	İskemi Öncesi Ve Sonrası Kalp Ağırlığı.....	40
4.2.	Hemodinamik Ölçümler.....	40
4.3.	İskemi Öncesi Ve Sonrası Troponin Ölçümleri.....	42
4.4.	İskemi Sonrası İmmünohistokimyasal Analiz.....	43
4.5.	Transmisyon Elektron Mikroskopisi Analizi.....	45

BEŞİNCİ BÖLÜM

TARTIŞMA

48

5.1.	Limitasyonlar.....	55
------	--------------------	----

ALTINCI BÖLÜM
SONUÇ VE ÖNERİLER

57

KAYNAKÇA	58
EKLER	I
EK 1. Hayvan Deneyleri Etik Kurul Kararı.....	I



SİMGE VE KISALTMALAR

AB	Aort basıncı
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
CABG	Koroner arter bypass greftleme
Ca ⁺²	Kalsiyum
CPD	Sitrat fosfat dekstrozu
ÇOMÜDAM	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
DLM	Diazoksit-Lidokain-Magnezyum
DMSO	Dimetil sülfoksit
dP/dt max	LV basıncının maksimum artış hızı
dP/dt min	LV gevşerken ventrikül basıncının maksimum düşüşü
DZX	Diazoksit
Em	Membran istirahat potansiyeli
FDA	Food and Drug Administration
g	Gram
Hb	Hemoglobin
HCO ₃	Bikarbonat
HR	Kalp hızı
HTK	Histidin Triptofan Ketogluterat
IHC	İmmünohistokimyasal
ICa-L	L-tipi kalsiyum kanalı
IL-6	İnterlökin-6
INa	Hızlı sodyum kanalı
IPC	İskemik ön koşullandırma
I/R	İskemi-Reperfüzyon
İÖ	İskemi öncesi
İS	İskemi sonrası
K ⁺	Potasyum
K/H	Krebs-Henselit
KATP	Adenozin trifosfata duyarlı potasyum kanalı
Kir	İçe Doğru Düzeltici Potasyum Kanalları

KPB	Kardiyopulmoner bypass
LAD	Sol ön inen arter
LV	Sol ventrikül
LVDP	Sol ventrikül gelişmiş basıncı
LVEDP	Sol ventrikül diyastol sonu basıncı
LVSP	Sol ventrikül sistolik basıncı
mM	Milimol
mPTP	Mitokondriyal geçiş gözenekleri
mV	Milivolt
μ M	Mikromol
NO	Nitrik oksit
ROS	Reactive Oxygen Species
Na ⁺	Sodyum
SDH	Süksinat dehidrojenaz
SERCA	Sarkoplazmik retikulum kalsiyum ATPaz
SR	Sarkoplazmik retikulum
STH	St. Thomas hospital
SUR	Sulfonilüre
TnI	Troponin I
TEM	Transmisyon elektron mikroskopisi
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
IVC	İnferiyör vena kava

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Kardiyoplejik çözeltilerin içerdikleri bileşenler ve gruplar	31
Tablo 2	İskemi öncesi ve sonrası kalp ağırlığı	40
Tablo 3	İskemi öncesi ve sonrası hemodinamik ölçümler	41
Tablo 4	İskemi öncesi ve sonrası troponin değerleri	43
Tablo 5	İskemi sonrası immünohistokimyasal parametreler	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	I/R hasarının patofizyolojik mekanizmaları	5
Şekil 2	Kardiyoplejik solüsyonların gelişim süreci	12
Şekil 3	Kardiyoplejik arrest için hücresel hedefler ve farmakolojik ajan örnekleri ile aksiyon potansiyeli üzerindeki etkisi	16
Şekil 4	Deney sürecine ait resimler-1	32
Şekil 5	Langendorff perfüzyon sistemi	33
Şekil 6	DeneySEL protokolün genel akışı	34
Şekil 7	Deney sürecine ait resimler-2	36
Şekil 8	İskemi sonrası IHC boyama ile elde edilen Caspase-3 ve IL-6 ekspresyonu	44
Şekil 9	DZX grubu TEM görüntüsü	45
Şekil 10	DLM grubu TEM görüntüsü	45
Şekil 11	HTK grubu TEM görüntüsü	46
Şekil 12	STH grubu TEM görüntüsü	46
Şekil 13	Kontrol grubu TEM görüntüsü	47

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Yeterli düzeyde miyokardiyal korumanın kalp cerrahisinin başarısı için önemli bir rolü vardır. Kardiyak cerrahide kardiyopulmoner bypass (KPB), miyokard iskemisine ve reperfüzyon hasarına neden olarak kardiyak fonksiyonların bozulmasına neden olabilir. KPB sırasında miyokardiyal koruma için farklı yöntemler vardır. En sık tercih edilen yaklaşım ise kardiyopleji uygulamalarıdır. Uygulama şekilleri ve etki mekanizmalarına göre farklı tip kardiyopleji solüsyonları mevcuttur. Bu solüsyonların büyük bir kısmı miyokardiyal hücre zarını yaklaşık -85 mV ila -50 mV arasındaki dinlenme voltajında depolarize eden 15 mEq/L üzerinde potasyum konsantrasyonları içerir (Dobson vd., 2013a). Ağırlıklı olarak hiperkalemik formda olan bu solüsyonlar ile ilgili ameliyat sonrası aritmiler, ventriküler sersemleme, reperfüzyon sonrası bölgesel iskemi ve vasküler spazma neden olma gibi çeşitli endişeler mevcuttur (Francica vd., 2021a).

1983'te Noma'nın kalpteki adenosin trifosfata duyarlı potasyum kanallarını (KATP) keşfetmesini takiben, KATP ajanları hiperkalemiye alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Bu ajanların miyokard dahil olmak üzere bir dizi dokuda hücre zarını hiperpolarize etme özelliği tespit edilmiştir (Dobson vd., 2013a). KATP kanalının farmakolojik aktivasyonu, potasyum kanal açıcılar olarak adlandırılan çeşitli ajanlar kullanılarak gösterilmiştir. Açılan potasyum kanalı, ventriküler hücre membranını hiperpolarize eden dışa doğru bir potasyum akımına neden olur. İskemi sırasında hücreden potasyum çıkışı, büyük ölçüde bu kanalın aracılık ettiği aksiyon potansiyeli süresinin belirgin bir şekilde kısalmasına neden olmaktadır. Bu ajanların çeşitli miyokardiyal iskemi hayvan modellerinde miyokard koruyucu oldukları gösterilmiştir (Lawton vd., 1996). Potasyum kanal açıcıları ayrıca miyositin membran dinlenme potansiyeline yakın hiperpolarize arrest avantajı da sunmaktadır (Lawton vd., 1996).

Çeşitli araştırmalarda potasyum kanal açıcıların kardiyoplejik solüsyonlara eklenmesinin miyosit fonksiyonları üzerinde faydası bildirilmiştir (Menasch vd., 1996). Farmakolojik olarak KATP kanal açıcı olan diazoksit (DZX), stres anında miyosit volüm dengesini ve kontraktilitesini koruyarak miyokard koruyucu etki gösterir. DZX spesifik olmayan potasyum kanal açıcılardan farklı olarak mitokondriyal ATP'ye duyarlı potasyum

kanalı için çok daha yüksek düzeyde spesifiktir. DZX'in miyokard koruma aktivitelerinden biri, hücreler için tehlikeli serbest oksijen radikalleri üreten süksinat dehidrojenazın (SDH) inhibisyonu olarak düşünülmektedir (Anastacio vd., 2013).

DZX'in stres kaynaklı ödem ve azalmış kontraktiletiyi, fare, tavşan ve insan dokularında iyileştirdiği tespit edilmiştir (Maffit vd., 2012; Mizutani vd., 2006). Mizutani ve ark. yaptıkları çalışmada izole tavşan miyositlerini 20 dakika boyunca St. Thomas solüsyonu ve bu solüsyona ilave edilen 100 µmol/L DZX ile ayrı ayrı perfüze ettikten sonra miyosit şişmesinin DZX uygulanan grupta önlendiğini belirtmişlerdir (Mizutani vd., 2006). Bir başka çalışmada araştırmacılar domuz KPB modellemesinde 12 domuza 30 dakika süreyle sol ön inen arter (LAD) oklüzyonu uygulamış, ardından hiperkalemik kardiyopleji solüsyonuna DZX ilaveli/ilavesiz reperfüzyon uygulamışlardır. Çalışma sonucunda DZX grubunda miyokardiyal sersemleme daha az olduğunu ve iskemi sonrası KPB'den ayrılmanın daha kolay olduğunu vurgulamışlardır (A. K. Velez vd., 2022).

Önceki çalışmalarda DZX'in mevcut kardiyoplejik solüsyonlara additif olarak kullanılmasının olumlu sonuçları bildirilmesine rağmen tek başına etkinliği belirsizdir. Ancak DZX tarafından sağlanan miyokardiyal koruma mekanizması tam olarak ve hiperkalemiye alternatif olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir (Dobson vd., 2013a). Bu araştırma sonucunda hiperkalemik kardiyopleji solüsyonlarına alternatif bir solüsyon elde etmek ve DZX'in miyokardiyal korumaya ne ölçüde katkı vereceği hedeflenmektedir. Çalışmamızda diazoksit tabanlı, kardiyopleji solüsyonunun, hiperkalemik depolarizan St. Thomas-2 ve hiperpolarizan Custodiol-HTK kardiyoplejik solüsyonlarına karşı Langerdorff sıçan kalbi perfüzyon sisteminde enzimatik, fonksiyonel ve hücresel düzeyde miyokardiyal koruma etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

İKİNCİ BÖLÜM

KURAMSAL ÇERÇEVE

2.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Tanımlanması

İskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı, bir iskemik dönem sonrasında kan akışının yeniden sağlanması sırasında ortaya çıkan fonksiyonel ve yapısal değişiklikleri tanımlamak için kullanılan bir terimdir. İskemi durumunun tersine çevrilmesinin yanı sıra, kan akışının onarımı, geri dönüşü olmayan hasar görmüş hücrelerin nekrozu, belirgin hücre ödemi ve dokunun tüm bölgelerine eşit şekilde kan akışının sağlanamaması gibi potansiyel olarak çok zararlı etkilere de yol açabilir. Doku akışının bu düzensiz şekilde yeniden sağlanması” yeniden akış fenomeni” olarak adlandırılır ve bölgesel perfüzyonun azalması, yoğun disfonksiyonel değişiklikler, ödem ve daha pek çok komplikasyonla sonuçlanan bir dizi vasküler, endotelyal ve mitokondriyal disfonksiyonun kısır döngüsünün bir sonucu olarak ortaya çıkar (Soares vd., 2019).

İskemi veya doku hipoksisi sırasında meydana gelen metabolik bozukluklar günümüzde iyi bir şekilde tanımlanmış olsa da klinik ve deneysel kanıtlar, hücre ve doku disfonksiyonuna yol açan en önemli olayların esas olarak reperfüzyonla ilişkili olduğunu göstermektedir. Son 40 yılda, reperfüzyon hasarının patogenezi tanımlamak için birçok çalışma yapılmıştır ve güncel terapötik teoriler, I/R sonrası gözlenen endotel işlevinin bozulması, serbest radikallerin etkisinin sınırlanması, nötrofil aktivasyonu ve adezyonunun engellenmesi gibi çeşitli faktörleri ele almaya çalışmaktadır (Soares vd., 2019).

Reperfüzyonun ilk aşaması, iskemi başladıktan kısa bir süre sonra başlar ve 6 saate kadar sürebilir. Reperfüzyon hasarının agresif bir şekilde başlaması için belirli bir minimum iskemi süresinin gerçekleşmesi gereklidir. Ancak bu eşikler, farklı türler ve dokular arasında önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Fare miyokardında kritik güvenli iskemi süresi 20-25 dakika olarak tanımlanmıştır, ancak onarılamaz hasar oluşmadan önce bu sınırın daha yüksek olabileceği düşünülmektedir (Q. D. Wang vd., 2001). İnsanlarda oksidatif hasarın başlangıcı henüz net bir şekilde tanımlanmamıştır. Bununla beraber, koroner oklüzyondan sonra 9 saate kadar miyokardiyal doku kurtarımı ve işlevsel iyileşmenin gerçekleşebileceği kanıtlanmıştır. Benzer şekilde, köpek miyokardında farmakolojik veya cerrahi müdahale ile

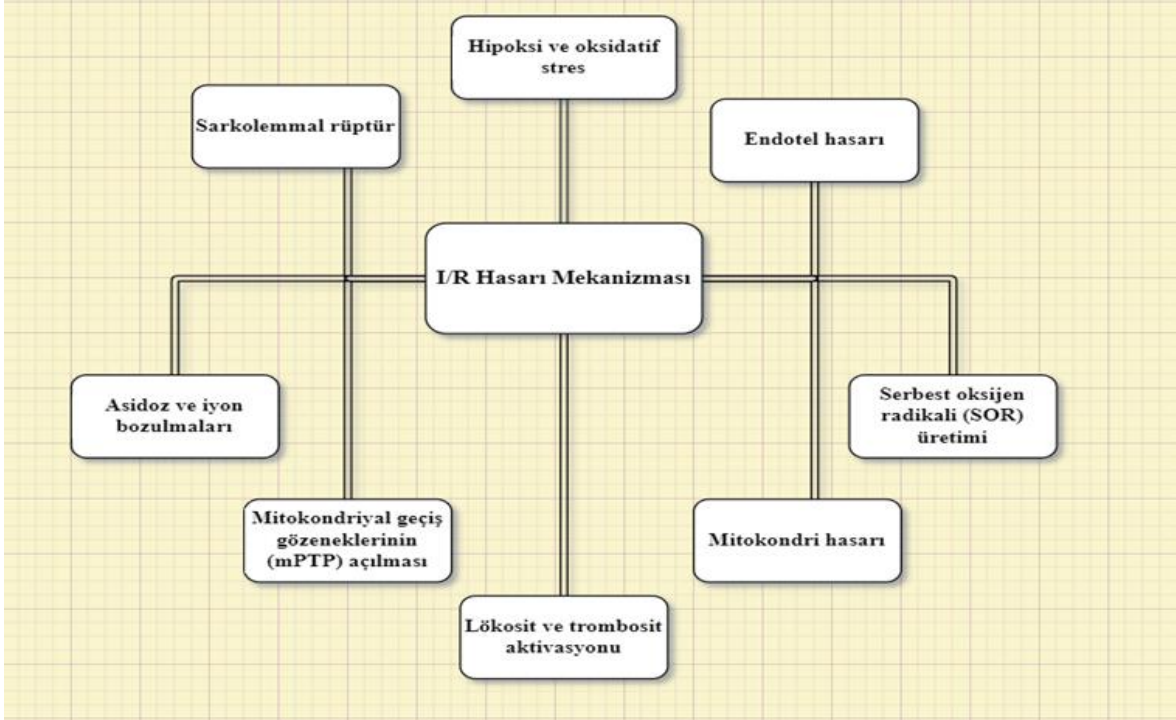
doku kurtarımı, oklüzyondan sonra 3 saate kadar güvenli bir şekilde sağlanabilmektedir (Soares vd., 2019).

2.2. Miyokardiyal I/R Hasarının Patogenezi

Kardiyak cerrahi prosedürlerinde genellikle hareketsiz ve kansız çalışma alanı tercih edilmektedir. Bunu elde etmenin en kolay yolu, aortun klemplenmesiyle (koroner arter perfüzyonunu engelleyerek) kalbe global iskemi uygulamak ve sistemik kan dolaşımını bir kalp akciğer makinesine aktarmaktır. Bu cerrahi ekip için uygun bir ortam sağlasa da kalpte genel iskemi yaratması zararlıdır; bu durumun etkilerini azaltmaya yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır.

İskemi ilerleyen bir süreçtir; süre arttıkça, hücresel ve moleküler değişiklikler daha kritik hale gelir ve reperfüzyon sağlanmazsa hücre ölümüne yol açar. Kısa süreli iskemi sonrası reperfüzyon tam iyileşme sağlayabilirken, uzun süreli iskemi geri dönüşü olmayan hasar ve reperfüzyon hasarına yol açabilir. Bu nedenle cerrahi sırasında kalbi korumaya yönelik önlemler kritik öneme sahiptir.

Kardiyak cerrahide kullanılan kardiyopleji yöntemleri sırasında oluşabilen I/R hasarı, hastaların postoperatif süreçlerini olumsuz etkileyen önemli bir sorundur. İskemi ve reperfüzyon hasarı, bir organa kan akışının başlangıçta kısıtlanması ve ardından perfüzyonun ve eş zamanlı reoksijenasyonun yeniden sağlanması ile karakterize patolojik bir durumdur (Hausenloy ve Yellon, 2013). I/R hasarı mekanizmasının altında yatan moleküler ve hücresel olaylar karmaşıktır ve farklı biyolojik yolların bir araya gelmesini temsil eder. Ayrıca hayvan modelleri insanlardaki I/R hasarı sürecini her zaman tam olarak yansıtmadığından, bu yolların her birinin insan hastalığı ile ne ölçüde ilgili olduğu belirsizliğini korumaktadır. Bu sınırlamalara rağmen I/R hasarının klinik olarak anlamlı bazı patofizyolojik özellikleri ortaya çıkmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. I/R hasarının patofizyolojik mekanizmaları

İskemi, hücre içi sodyum, hidrojen ve kalsiyum iyonlarının birikmesine neden olur ve doku asidozuna neden olur. Reperfüzyon ise iyon akışında hızlı değişikliklere yol açar ve bazı kanıtlar pH'ın hızlı yeniden normalleşmesinin paradoksal olarak artmış sitotoksositeye yol açtığını göstermektedir (Bond vd., 1993). $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ değiştirici ve $\text{Na}^+ - \text{HCO}_3^-$ taşıyıcısı dahil olmak üzere sodyuma bağlı pH düzenleyici mekanizmalar aktive olur ve sonuç olarak hücre içi sodyum birikimine yol açar. Yüksek sodyum konsantrasyonları ise $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ değişimi yoluyla sarkoplazmik retiküler Ca^{+2} artışına neden olur (Park vd., 2009). Sarkolemmal L-tipi Ca^{+2} kanalları yoluyla gelişmiş Ca^{+2} ve SERCA $\text{Ca}^{+2} - \text{ATPaz}$ tarafından sitozolik Ca^{+2} 'ın sarkoplazmik retiküluma eksik aktarımı Ca^{+2} yüklenmesini daha da artırır (Kaplan vd., 1992). Bunun sonucunda miyofibriller hiperkontraktilite, ATP tükenmesi, mitokondride ultrastrüktürel hasar ve miyokardiyal sersemleme meydana gelir (Kusuoka vd., 1987).

Kardiyak miyositler çok fazla enerji tüketir ve bu ihtiyacı karşılamak için hücrelerde yoğun miktarda mitokondri bulunmaktadır. Mitokondriler, enerji üretiminin yanı sıra, reaktif ara ürünler ve hücre ölümüne yol açan sinyaller içerir, bu yüzden I/R hasarında önemli bir rol oynarlar. Bu süreçte mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözenekleri (mPTP) ön plana çıkmaktadır. Normal şartlarda iç mitokondriyal membran iyonlara ve proteinlere karşı

geçirgen değildir ve transmembran potansiyeli korur. Bu potansiyelin kaybı ‘‘geçirgenlik geçişi’’ olarak adlandırılır ve mPTP tarafından gerçekleştiği düşünülmektedir. Gözenegin açılması ile mitokondrinin iç membranı ve sarkoplazma arasında selektif olmayan bir kanal oluşur. Bu durum elektrokimyasal gradyanın kaybına, reaktif oksijen türlerinin salınımına ve apoptoz oluşumuna yol açar. mPTP’yi tetikleyen faktörler arasında Ca^{+2} ’nin aşırı yüklenmesi, pH’nın hızla normale dönmesi ve oksidatif stres yer alır (Katoshevski vd., 2022)

I/R hasarı sadece kardiyomiyositlerde meydana gelen olaylara bağlı değildir. Damar iç yüzeyini oluşturan endotel de bu sürece aktif olarak katılır. Endotel, nitrik oksit (NO) adı verilen geçici bir molekülün ana kaynağıdır. Normal şartlarda, NO üretimi vazodilatasyon yaparak I/R sırasında oksijen tüketimi (Zhao vd., 2005), trombosit kümelenmesi (Radomski MW, Palmer RM, 1987), lökosit adezyonu (Aguilar vd., 2020) ve serbest radikallerin temizlenmesi gibi koruyucu etkiler sağlar (Beckman vd., 1990). Ancak, yüksek konsantrasyonlarda NO, peroksinitrit gibi reaktif maddelerin oluşumunu tetikleyerek serbest oksijen radikalleri aracılı toksisiteyi artırabilir (Beckman vd., 1990). NO dışında, koroner endotelin I/R’de vazoaktif maddeleri üretme, sitokinler, kemokinler ve adezyon moleküllerini eksprese etme yoluyla bağışıklık sistemini aktive etme gibi farklı patofizyolojik rolleri de vardır.

Endotel aktivasyonu ve hasarı, damar geçirgenliği ve inflamatuvar mediatörlerin katılımını artırır. Hasarlı endotelden salınan adezyon molekülleri (ICAM-1, VCAM-1, E-selektin) inflamatuvar hücrelerin dokuya girmesini kolaylaştırır. Bu hücreler, özellikle nötrofiller, proteazlar salgılayarak ve mikrodolaşımı tıkayarak miyokarda zarar verirler. Doğal bağışıklık sisteminin komponentleri, Toll benzeri reseptörler (Chao, 2009), mannoz bağlayıcı lektin (Busche vd., 2009) ve kompleman sistemi de I/R hasarının gelişiminde rol oynar. Ayrıca T hücreleri ve makrofajlar gibi hücre aracılı bağışıklık sisteminin de reperfüzyon sonrası kalp hasarında önemli bir rol oynadığı ifade edilmektedir (Yang vd., 2006).

2.3. Kalp Cerrahisi Sırasında I/R Yaralanması

Kardiyak cerrahi sırasında ortaya çıkan I/R stresi, kendiliğinden gelişen miyokard infarktüsünde oluşan stresten farklıdır. Kardiyak cerrahide iskemi, aortun klemplenmesiyle yapay olarak başlatılır ve iskemik periyotta miyokard koruma stratejileri kullanılır. Bu stratejilerden biri olan kardiyopleji hiperkalemik ve hipotermik, genellikle kanla karışmış olarak antegrad veya retrograd yollar ile iletilir. Bu yöntemler, kalbin oksijen ihtiyacını ve metabolik aktivitesini azaltarak, iskemi sırasında kalbi korumayı amaçlar.

Kalp cerrahisinde miyokardiyal korumanın temel bileşeni kardiyopleji solüsyonlarıdır. Bu solüsyonlar çoğunlukla yüksek oranda potasyum içermekle beraber, magnezyum, sodyum, kalsiyum, mannitol, lidokain gibi additif maddeler de içerebilmektedir. Temel olarak görevleri kalbi iskemiden korumak ve metabolik ihtiyaçlarını en aza indirmektir. Dünya çapında en yaygın kullanılan kardiyoplejik solüsyonlardan biri hiperkalemik, kan tabanlı kardiyoplejilerdir (Ali vd., 2018). Bununla beraber I/R hasarının postkardiyoplejik hasar olarak tanımlandığı araştırmalar da mevcuttur (Longchamp vd., 2017).

2.4. Açık Kalp Cerrahisinin Başlangıcı

Kalp cerrahisinin evrimi, hareketsiz ve kansız bir ameliyat alanına olan ihtiyaç ile miyokardın sürekli oksijen ve substrat tedarikine olan ihtiyacı arasındaki bir ikilemi yansıtmaktadır. Bu ikilemin bir sonucu olarak, özel çözümlerin geliştirilmesi bu iki kutup arasında bir uzlaşma sağlamıştır.

Klinik açık kalp cerrahisinin başlangıcı 1953 yılında Lewis ve Taufic'in Chicago'da bir atriyal septal defekti inflow oklüzyon ve yüzey soğutmalı orta derecede sistemik hipotermi kullanarak kapatmasına dayanmaktadır (John Lewis vd., 1955). Ancak 1954 yılında Gibbon tarafından yaklaşık yirmi yıl süren kalp-akciğer makinesinin geliştirilmesinden sonra açık kalp prosedürlerinin geliştirilmesi ve bugünkü seviyeye çıkarılması mümkün olmuştur. Ancak 1954 yılında Minneapolis'te Lillehei tarafından Fallot tetralojisinin yine bir donörden kontrollü çapraz dolaşım kullanılarak düzeltilmesi, açık kalp cerrahisinin çarpıcı gelişimini başlatmıştır (Gott, 1990). Rochester'da modifiye Gibbon

ekranlı oksijenatör kullanan Kirklin (Holman vd., 2022) ve kalp cerrahisinde kabarcıklı oksijenatör kullanan Cooley, daha fazla gelişmenin önünü açmıştır (Cooley vd., 1956).

Hipotermi ve Gibbon kalp akciğer makinesinin tanıtılmasıyla sağlanan devrim niteliğindeki ilerlemelere rağmen sorunlar devam ediyordu. Yapısal kalp hastalıklarını düzeltmeye yönelik girişimlerin neredeyse tamamı atan kalpte veya soğuk fibrilasyon tekniği ile gerçekleştirilmişti ve bu durum miyokardda zayıf bir korumaya neden olmuştu (Brewer vd., 1973). Bu sorun cerrahların operasyon sırasında acele etmelerini gerektiriyor ve olası sorunların artmasına neden oluyordu.

2.5. Kardiyoplejinin Tarihçesi ve Klinik Kullanımı

Kardiyoplejik solüsyon formülasyonuna ilişkin araştırmalar, Dennies Melrose'u Londra'daki Lisansüstü Tıp Okulu'nda hipotermik köpeklerde (25°C) yüksek konsantrasyonda potasyum sitratın (200 mM'nin üzerinde) aort köküne enjeksiyonu yoluyla elektif geri dönüşümlü kalp durmasını sağladığı 1955 yılına dayanmaktadır. Bu kardiyopleji, kısa süreli anatomik onarım için ideal bir durum olan ani bir kalp durması sağlamıştır (de Oliveira vd., 2014). Bununla birlikte, bu solüsyon refrakter ventriküler fibrilasyon, kasılma disfonksiyonu ve miyokardiyal nekroza neden olmuştur (Dobson vd., 2013b). Bu bulgular, yüksek K⁺ kardiyoplejinin yaklaşık 15 yıl boyunca "klinik bekleme" alınmasına neden olmuştur. Bu süre zarfında, kalbi korumak için bir yöntem olarak topikal hipotermi veya normotermik iskemi, doğrudan koroner perfüzyon veya aralıklı aortik oklüzyon test edildi (Kirklin JW, 1979).

1960'ların başında Hoelscher vd., solüsyonunun zararlı etkilerinin potasyum iyonundan değil, sitratın kalsiyum ve magnezyum şelatlama özelliğinden kaynaklandığını ilk kez bildirmiştir (Shiroishi, 1999). Hoelscher'in bulgularına paralel olarak, bir başka Alman bilim adamı Bretschneider vd., 1964 yılında bugün HTK olarak bilinen ilk kristalloid solüsyonlardan birini geliştirdi. Bu kardiyoplejinin sodyum oranı düşüktü ve kalsiyum içermiyordu, polarize bir hücre zarı oluşturarak kalp durmasını tetikliyordu. Bu solüsyon o zamandan beri klinik başarı ile rutin olarak kullanılmaktadır (Edelman vd., 2013). Bununla birlikte, iskemi sırasında kalplerin sıfır kalsiyum içeren bir solüsyonla perfüzyonu "kalsiyum

paradoksu" riski taşır (Hoyer vd., 2019). Kalsiyum içeren kan ile reperfüzyon sırasında, kalsiyum paradoksu postoperatif miyokardiyal disfonksiyon için yüksek bir risktir.

1970'lerin ortalarında, potasyum klorür formundaki potasyum kardiyoplejisine ilgi yeniden ortaya çıkmaya başladı. 1970'lerden 1980'lere kadar olan dönem Kardiyoplejinin Altın Çağı olarak adlandırılabilir. Çok sayıda makale, dozaj stratejileri ve solüsyon formülasyonu da dahil olmak üzere kardiyopleji tekniğindeki birçok özelliği rapor etti. Multidoz stratejisi olarak bilinen aşamalı kardiyopleji uygulaması, 1976 yılında tamamen kristaloid kardiyoplejiyle başlamıştır. Aynı yıl, biyokimyacı Dr. David Hearse, kardiyotorasik cerrah Dr. Mark Braimbridge ile bugün St. Thomas solüsyonu olarak bilinen hücre dışı hiperkalemi solüsyonunu geliştirdi (Bradić vd., 2023). Bu çözelti, 20 mmol/L K⁺ konsantrasyonuna (No.1 çözeltisi), normal iyonize Ca²⁺ konsantrasyonuna ve 16 mmol/L Mg²⁺ konsantrasyonuna sahip temel bileşenlerle optimize edilmiştir. St. Thomas solüsyonu No.1 klinik olarak ilk kez 1975 yılında kullanılmıştır (Salameh ve Dhein, 2015).

"Plegisol" olarak da bilinen 16.0 mM potasyum klorür içeren No.2 St. Thomas çözeltisi 1981 yılında geliştirilmiştir. No.2 solüsyonunun temel özellikleri, No.1 solüsyonu ile karşılaştırıldığında, Na⁺ veya K⁺ konsantrasyonunda küçük bir azalma, Ca²⁺'da %50 azalma ve prokainin çıkarılması, ancak düşük bir bikarbonat fraksiyonunun dahil edilmesi ve pH'nın 7.8'e ayarlanmasıdır. No.2 solüsyonu 1982 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde ticari olarak piyasaya sürülmüş ve o zamandan beri dünya çapında kullanılmaktadır. Popülerliğine rağmen hiperkalemi, 16 mM potasyum konsantrasyonu ile indüklenen non-inaktive "pencere" akımı nedeniyle kardiyak miyositlerde Ca²⁺ ve Na⁺ birikimine neden olur (Chambers ve Fallouh, 2010). Sonuç olarak anormal miyokardiyal iyonik gradientler ve miyokardiyal iyileşmede gecikme meydana gelebilir.

1970'lerin sonlarında Kirklin vd., Alabama Üniversitesi'nde randomize klinik çalışmalar gerçekleştirerek hipotermik potasyum kardiyoplejisini miyokardiyal korumanın baskın şekli olarak belirlemişlerdir. 2-3 yıl içinde, kristaloid tampon bazlı kardiyopleji kullanımı tüm dünyada birincil miyokard koruyucu teknik haline geldi ve St. Thomas en yaygın kullanılan kristaloid solüsyon oldu (Robinson vd., 1995). Bir yıl sonra, Follette ve Buckberg meslektaşlarıyla iş birliği içinde, çok dozlu bir uygulama protokolünde araç olarak kan kullanma fikrini popüler hale getirmiştir (Follette vd., 1978). Kristaloid kardiyoplejiyle

karşılaştırıldığında, kan kardiyoplejisinin ideal onkotik basınç, daha fazla oksijen sağlama kapasitesi, daha iyi asit-baz dengesi kapasitesi ve kırmızı kan hücreleri ve plazma bileşenleri tarafından serbest radikal temizleme yeteneği dahil olmak üzere bir dizi olumlu etkisi vardır. Kan bazlı kardiyoplejinin iskemi ve reperfüzyon sırasında miyokardiyal hasara karşı güçlü koruyucu etkileri olmuştur (Barner, 1991). Kan kardiyoplejisi günümüzde hiperkalemik kardiyoplejinin baskın şeklidir.

Erken dönem kardiyak arrest stratejilerinin çoğunda, hipoterminin iskemi sırasında metabolizmayı yavaşlatarak koruyucu etki sağlaması nedeniyle soğuk kardiyopleji tercih edilmiştir (Braithwaite vd., 1977). Ancak pH dengesizlikleri, trombosit ve lökositlerin aktivasyonu ve ödem gibi olumsuz etkilerden dolayı 1983 yılında sıcak kan kardiyoplejisine olan ilgi şekillenmiştir (James vd., 2020). Bununla beraber aort stenozuna bağlı hipertrofik kalplerde koruma stratejisinin, kardiyopleji infüzyon sıcaklığını değiştirerek manipüle edilmesi, aralıklı antegrad soğuk kan kardiyoplejisinin sıcak kan kardiyoplejisinden daha iyi olduğu ifade edilmiştir (Ascione vd., 2002).

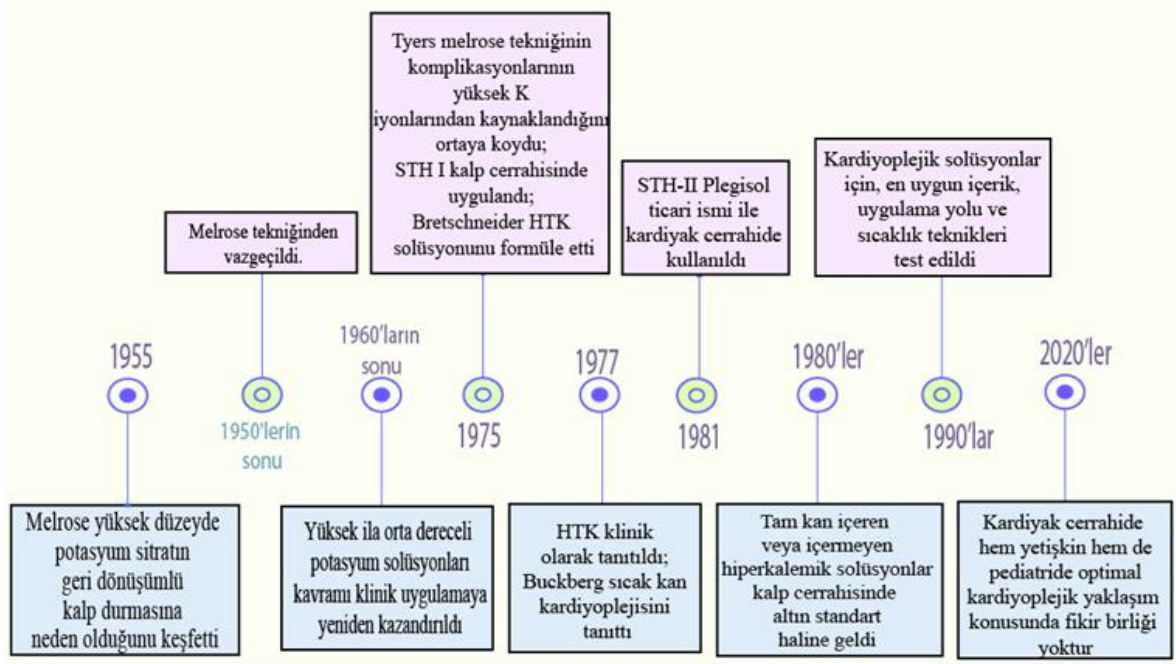
Kardiyoplejik yaklaşımlar stabil olmayan anjina ve ST-segment yükselmesiz miyokard enfarktüsü nedeniyle acil koroner arter bypass grefti (CABG) cerrahisi geçiren hastalarda da incelenmiştir. Bu incelemede, antegrad ve retrograd sıcak (34 °C) kan kardiyoplejisi kombinasyonunun yalnızca antegrad uygulamaya göre üstün olduğu ve atan kalp (off-pump) cerrahi ile eşdeğer koruma sağladığı vurgulanmıştır (Hwang vd., 2022). Benzer şekilde, akut koroner sendrom nedeniyle acil CABG geçiren hastalarda, atan kalp cerrahisi stratejisinin hastane sonuçlarını ve uzun dönem sağkalımı, HTK çözeltisi veya hiperkalemik kan kardiyoplejisi kullanılarak yapılan kardiyoplejik arreste göre iyileştirdiği belirlenmiştir (Rastan vd., 2006).

Tam kan (mikropleji) 1990'lerden itibaren dikkat çekmeye başlamıştır. Buckberg vd., kan kardiyoplejisini popüler hale getirmenin yanı sıra, koroner olmayan kollateral perfüzyondan kaynaklanan yıkanma nedeniyle kardiyoplejik solüsyonun aralıklı yeniden infüze edilmesinin önemini de vurgulamışlardır (Buckberg, 1995). Bununla beraber farklı araştırmacılar indüksiyon aşamasında ılık kan kardiyoplejisi önermişlerdir (S. Li vd., 2001).

Uzun bir süre boyunca pediatrik hasta grubu için ideal bir kardiyopleji yoktu. Erişkin kardiyak cerrahisinde kullanılan kardiyoplejik solüsyonların aynısı, sadece hacim, akış hızı ve basınç yoluyla doz ayarlanarak pediatrik hastalar için kullanılıyordu (Allen, 2004). Bununla birlikte, 80'li ve 90'lı yılların başında popüler olan kardiyopleji olan St. Thomas solüsyonu, genç hastalarda tutarsız sonuçlara sahipti (Susheel Kumar, 2020). Dr. Pedro Del Nido ve ekibi 1990'larda Pittsburgh Üniversitesi'nde Del Nido kardiyoplejisini geliştirmiştir. Bu solüsyon 1994'ten beri Boston Çocuk Hastanesi ve diğer enstitülerde pediatrik kalp cerrahisi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Matte ve Del Nido, 2012).

O'Brien vd., Del Nido kardiyoplejisi üzerine ilk laboratuvar araştırmasını in vitro izole sıçan kardiyomiyositleri ve in vivo kalp ameliyatı geçiren pediatrik hastalar kullanarak 2009 yılında gerçekleştirmiştir (O'Brien vd., 2009). Birincil sıçan miyositlerinin Del Nido kardiyoplejisine veya yetişkin kardiyoplejisine ve ardından reperfüzyona maruz bırakılmasından sonra, Del Nido ile perfüze edilen miyositlerin kardiyopleji ve erken reperfüzyon sırasında yetişkin kardiyoplejisine göre daha düşük diyastolik Ca^{2+} 'ya sahip olduğunu bulmuşlardır (O'Brien vd., 2009). Pediatrik hasta grubunda Del Nido kardiyoplejisi ile St. Thomas kardiyoplejisinin karşılaştırıldığı farklı bir randomize çalışmada Del Nido grubunun daha yüksek kardiyak indekse, daha kısa süreli mekanik ventilasyona ve daha kısa yoğun bakım ünitesi veya hastane kalış süresine sahip olduğu gösterilmiştir (Sanetra vd., 2018). Del Nido kardiyoplejisi 2003 yılından bu yana yetişkin kalp cerrahisinde de başarıyla kullanılmakta ve üstün miyokardiyal koruma sağlamaktadır (Szpytma vd., 2024).

Geçmişten günümüze ideal kardiyoplejik yaklaşımı tespit etmek birçok farklı uygulama denenmiştir (Şekil 2). Mevcut durumda kalp cerrahisinde miyokardiyal koruma için birçok yöntem bulunmaktadır. Bunlar arasında kristalloid veya kan bazlı kardiyopleji, sıcaklık düzenlemesi (soğuk, ılık veya orta sıcaklık), kardiyopleji uygulama yolu (antegrad veya retrograd), tek doz veya çoklu doz infüzyon, aralıklı veya sürekli infüzyon, soğuk veya sıcak indüksiyon, farmakolojik ön hazırlık veya kardiyoplejiye eklenen katkı maddeleri ile yapılan koruyucu işlemler yer almaktadır.



Şekil 1. Kardiyoplejik solüsyonların gelişim süreci

2.6. Kardiyopleji Solüsyonlarının Karakteristik Özellikleri

2.6.1. Kristalloid Kardiyopleji

Tarihsel olarak, Avrupa'da klinik kullanım için iki tür kristalloid kardiyopleji solüsyonu geliştirilmiştir. Bunlar hücre içi ve hücre dışı solüsyonlardır. Hücre içi tiplerden biri olan Bretschneider solüsyonu, kalsiyum içermez, düşük sodyum ve prokain içeriğine sahiptir (Lira vd., 2024). Bu solüsyon hücre membranındaki sodyum gradyanını azaltarak hücre uyarılabilirliğini düşürür ve kalbi durdurur. Reidemeister vd., bu solüsyonu 1967'de klinik olarak kullanmıştır (Yamamoto ve Yamamoto, 2013).

Hücre dışı tip solüsyonlar ise 1970'lerde geliştirilmiş ve hücre dışı iyon konsantrasyonlarına dayandırılmıştır. Bu solüsyonlar temelde, 20-40 mM potasyum içeriğiyle hızlı kardiyak arrest ve güvenli miyokardiyal koruma sağlamıştır. Bu yaklaşım, Melrose'un yüksek potasyum içeren (yaklaşık 200 mM) solüsyonunun miyokardiyal hasar riskini azaltmak için geliştirilmiştir. Gay ve Ebert, 1973'te potasyum içeren hücre dışı tip kristalloid solüsyonların iskemi ve reperfüzyon sırasında miyokardiyal koruma üzerindeki etkinliğini deneysel olarak bildirdiler. Hearse vd., izole sıçan modelinde yüksek magnezyum ve potasyum (16 mM magnezyum klorür, 16 mM potasyum klorür) içeren kristalloid kardiyopleji için ideal iyon bileşimini belirlemiştir. Bu solüsyon, St. Thomas Hastanesi

Solüsyonu No. 2 olarak adlandırılmış ve dünya çapında ticari olarak mevcuttur (Yamamoto ve Yamamoto, 2013).

2.6.2. Kan Kardiyoplejisi

Kan kardiyoplejisi, Buckberg vd., tarafından önerilmiş ve deneysel ve klinik olarak iskemi ve reperfüzyon sırasında miyokardiyal hasara karşı güçlü ve koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu etkinin, kristalloid kardiyopleji kıyasla daha yüksek oksijen taşıma kapasitesi (daha fazla aerobik metabolizma), daha yüksek ozmotik basınç, daha iyi asit-baz dengesi kapasitesi ve birçok başka olumlu etki ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Yamamoto ve Yamamoto, 2013). 1978 yılında Follette vd., açık kalp cerrahisi geçiren 77 hastayı içeren klinik bir çalışmada, kan içeren kardiyoplejik solüsyonun kristalloid kardiyoplejik solüsyona kıyasla ek bir kalp koruyucu etki sağladığını bildirmiştir (Sanetra vd., 2024). Buckberg'in soğuk kan kardiyoplejisi, hızlı kardiyak arrest sağlamak için kana 26 mmol/L potasyum eklenmesi, kalsiyum düzeyinin sitrat fosfat dekstrozu (CPD) ile azaltılması, viskoziteyi düşürmek için hematokritin düşürülmesi ve pH'ı 7,8'e yükseltmek için Tris tamponu eklenmesiyle üretilmiştir (Mick vd., 2015). Ancak soğuk kan bazı dezavantajlara sahipti. Bunlar, hipotermik kardiyoplejinin kalp fonksiyonu ve metabolizması üzerindeki olumsuz etkileri, artan viskozitenin koroner mikrosirkülasyonu bozması, oksijen disosiyasyon eğrisinin sola kaymasıyla periferik dokularda oksijen taşınmasının azalması ve 4 °C kristalloid kardiyoplejiye kıyasla asistoliyi sürdürmek için daha sık yeniden infüzyon gereksinimi gibi sorunları içermektedir (Kaijsers vd., 1985).

2.6.3. Kardiyopleji İletiminin Modifikasyonları

Retrograd kardiyoplejik uygulama, 1980'lerin başında Menasche vd., tarafından, antegrad kardiyoplejik perfüzyon sırasında koroner yaralanma riskinden kaçınabildiği için yeniden gündeme getirilmiştir (Yamamoto ve Yamamoto, 2013). Ancak bu yöntemin iki ana sorunu vardır. Birincisi, sağ ventrikül ve posterior interventriküler septuma yetersiz dağılımı (Yılık vd., 2004), ikincisi ise kardiyoplejik solüsyonun büyük bir kısmının Thebesian sistemi üzerinden sağ ventriküle gitmesi, bu nedenle yetersiz besleyici akışın oluşmasıdır (Caldarone vd., 1994).

Salerno vd., retrograd sürekli normotermik kan kardiyoplejisinin, aerobik diyastolik arresti sürdürebildiğini önermişlerdir (Salerno vd., 1991). Bu yöntemin özellikle sol ventrikül disfonksiyonu ve koroner oklüzyonu olan yüksek riskli hastalarda yararlı etkiler sağladığı kanıtlanmıştır (Horsley vd., 1993). Aldea vd., normotermik kardiyoplejik çözeltinin miyokardiyal dağılımının hem antegrad hem de retrograd uygulamada homojen olmadığını rapor etmiş ve potansiyel postiskemik hasarı en aza indirmek için her iki yöntemin birlikte kullanımı önermiştir (Aldea vd., 1994) Benzer şekilde, Backberg ve Salerno, antegrad ve retrograd kardiyoplejik infüzyonların dönüşümlü veya eş zamanlı kullanımının yüksek riskli hastalarda kardiyoplejik dağılım eksikliklerini telafi etmek için uygun bir yöntem olduğunu belirtmiştir (Yamamoto ve Yamamoto, 2013).

2.6.4. Kardiyopleji Sıcaklığı

1980'lerde, Buckberg'in laboratuvarı, miyokardiyal koruma için çeşitli uygulamaları içeren sıcak kardiyopleji strateji kavramını geliştirdi. Bu strateji, sıcak indüksiyon, terminal sıcak kan kardiyoplejisi ve substrat desteği (glutamat ve aspartat) gibi yöntemleri içeriyordu (James vd., 2020). Lichtenstein vd., sürekli notmotermik kan kardiyoplejisinin güvenliğini ve etkinliğini önererek "sıcak kalp cerrahisi" kavramını geliştirdiler (Lichtenstein vd., 1991).

Daha sonra, sürekli normotermik kan kardiyoplejisi sırasında miyokardiyal metabolizma, miyokardiyal oksijen tüketimi, laktat üretimi veya koroner venöz pH açısından incelendi. Bu incelemeler, miyokardi korumak için antegrad kardiyopleji uygulamasında (akış hızı ≥ 80 ml/dk, Hb $\geq 8,0$ g/dl) veya retrograd kardiyopleji uygulamasında (akış hızı ≥ 200 ml/dak) optimal akış hızını ve hemogloblin konsantrasyonunu belirlemek amacıyla yapıldı (Ikonomidis vd., 1994).

Bununla beraber Hayashida vd., miyokardiyal koruma için güvenli ve etkili bir yöntem olarak ılık kan kardiyoplejisini tanıttılar. Bu sıcaklık yaklaşımının arkasındaki gerekçe, hipotermik uygulama nedeniyle soğuk kanın metabolizmayı baskıladığı ve postiskemik dönemde kalp fonksiyonlarının iyileşmesini geciktirdiği düşüncesi idi (Hayashida vd., 1994).

2.6.5. Dilüsyonel ve Non-Dilüsyonel Kardiyopleji

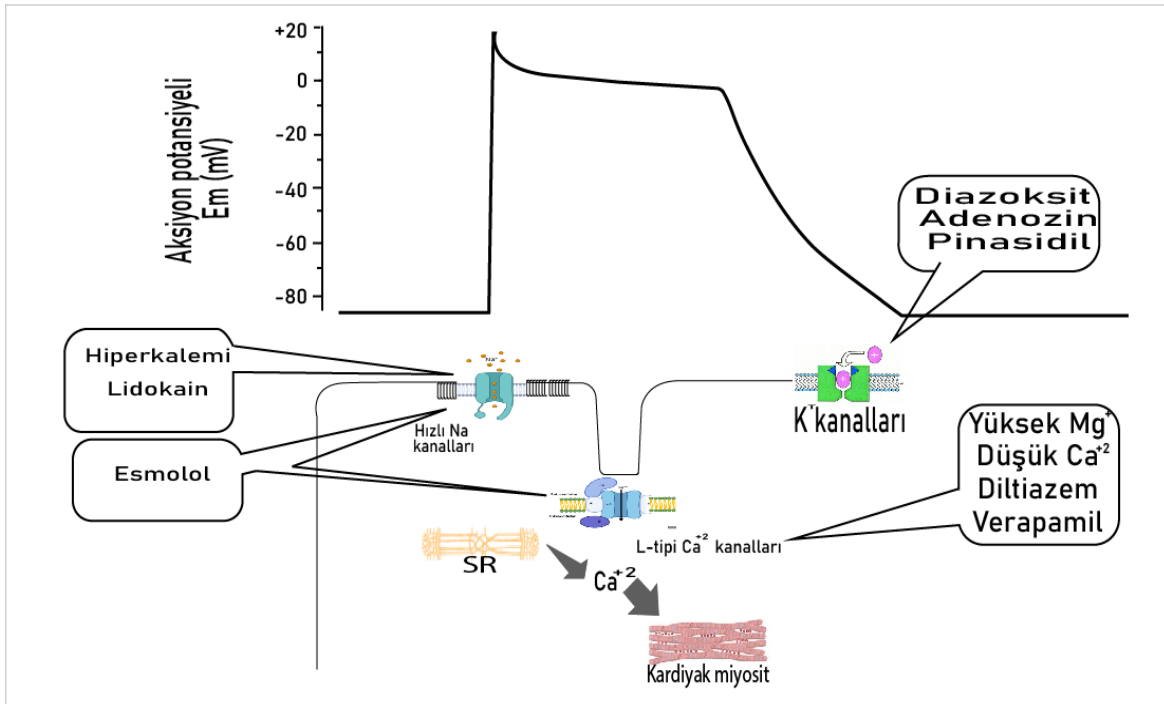
Buckberg tarafından 1995'te önerilen entegre miyokard yönetimi, çeşitli koruma tekniklerinin avantajlarını birleştirirken, bunların bireysel eksikliklerini telafi eden bir stratejidir. Bu yaklaşım zamanla gelişmiş ve günümüzde soğuk/ılık/sıcak kan kardiyoplejisi, substrat destekli/desteksiz kardiyopleji, antegrad/retrograd uygulama ve sürekli/aralıklı perfüzyon/hot shot kombinasyonlarını tek bir aort klembi periyodunda birleştiren teknikleri içermektedir (Buckberg, 1995). Belirtilen bu teknik ve bunların kombinasyonları genellikle devre kanı ve çeşitli oranlarda kardiyopleji solüsyonunun karışımı ile dilüe edilmiş kan kardiyopleji çözeltilerini kullanır. Ancak normotermik sürekli kardiyopleji uygulamalarında, bu yöntem hemodilüsyona bağlı olarak sistemik vazodilatasyon ve doku ödemi gibi olumsuz etkiler riski taşıyabilir.

Mini kardiyopleji yöntemi ilk olarak Menasche tarafından tanıtılmış ve bu teknikte kardiyopleji hacminin azaltılmasının sıcak kalp cerrahisinde sistemik vazodilatasyon insidansını azalttığı bildirilmiştir (Menasché vd., 1993).

Kardiyoplejik solüsyonların dilüsyon oranları ile ilgili bir görüş birliği yoktur. En yaygın kullanılan oran Buckberg ve Gundry tarafından popüler hale getirilen 4 birim kan ve 1 birim kristalloid olarak ayarlanan (4:1) tekniktir. Buckberg bu tekniği daha az dilüsyon olacak şekilde 8:1 kan-kristalloid olarak düzenlemiştir. Bununla beraber daha az dilüsyon yapılarak kullanılan solüsyonların 4:1 oranında dilüe edilmiş kardiyoplejiye göre majör bir faydasının olup olmadığı konusunda kesin bir sonuca varılamamıştır (D. A. Velez vd., 2001). Farklı bir araştırmada 80 kararsız anjinası olan CABG hastasını içeren randomize bir çalışmada, dilüe edilmemiş kardiyopleji grubunun daha iyi miyokard koruyucu özellikler gösterdiği (ameliyat sonrası daha düşük enzim salınımı), daha az transfüzyon hacmi gerektirdiği, daha iyi postoperatif kalp fonksiyonu sağladığı ve hastanede yatış süresinin daha kısa olduğu bildirilmiştir (Onorati vd., 2013) Ek olarak Del Nido kardiyoplejisi, 1:4 kan-kristalloid gibi daha seyreltik bir oran kullanır ve bolus uygulamayla uzun süreli bir arrest sağlayabilmektedir (Matte ve Del Nido, 2012).

2.7. Kardiyak Uyarılma Kasılma ve Kardiyoplejik Arrestin Mekanizması

Membran istirahat potansiyeli (E_m), potasyum iyonlarının hücre içi ve hücre dışındaki konsantrasyon farkı ile membrandaki seçici geçirgenlik sayesinde korunur. Kardiyak miyositlerde bu potansiyel, -85 mV civarındadır ve potasyumun denge potansiyeline yakındır. Bu hücre zarının istirahat durumunda potasyum iyonlarına oldukça geçirgen olduğunu ve E_m 'nin büyük ölçüde potasyum gradyanına bağlı olduğunu gösterir (Chambers ve Fallouh, 2010) Kardiyak miyositler uyarıldığında membran potansiyeli hızla değişir. Bu uyarı, ya dışarıdan gelen bir sinyalle (komşu hücreden, dış uyarıcıdan veya mekanik bir etkiyle) ya da kalbin kendi pacemaker hücreleri (Purkinje lifleri) tarafından başlatılan spontan bir elektriksel sinyalle oluşur. Bu sinyaller, hücre membranındaki potansiyelin belirli bir eşik değerine ulaşmasını sağlar. Eşik değere ulaşıldığında, hücre membranı hızla depolarize olur ve bu, aksiyon potansiyelini tetikleyerek kalp kasının kasılmasını başlatır (Şekil 3).



Şekil 3. Kardiyoplejik arrest için hücresel hedefler ve farmakolojik ajan örnekleri ile aksiyon potansiyeli üzerindeki etkileri.

Bu durum membrandaki çeşitli iyon kanalları ve pompalarının aktivasyonu ile oluşan iyonik akımların net sonucudur; bunlar arasında hızlı sodyum kanalı (I_{Na}), L-tipi kalsiyum kanalı (I_{Ca-L}) ve çeşitli potasyum kanalları bulunur. Bu kanallar voltaj bağımlı olarak çalışır ve kardiyak arrest amacıyla farmakolojik ajanlarla hedeflenebilmeleri açısından kritik bir öneme sahiptir. Hücre stimüle edildiğinde aksiyon potansiyeli başlar ve bu süreçte sodyum kanalları açılır. Sodyum kanallarının açılması, hücre membran potansiyelinde hızlı bir değişime (depolarizasyon) yol açar ve bu potansiyel yaklaşık + 20 mV'a yükselir. Bu olay, aksiyon potansiyelinin başlangıç noktasıdır (Chambers ve Fallouh, 2010).

Membran potansiyeli yaklaşık -40 ila 35 mV seviyesine ulaştığında, L-tipi kalsiyum kanalları aktive olur ve hücreye kalsiyum girişine izin vererek aksiyon potansiyelinin plato fazı sırasında depolarize membran potansiyelinin korunmasını sağlar. Plato fazı sırasında membranın potasyuma dışarı doğru olan geçirgenliği azalır. Ancak potasyum kanallarının aktivasyonu, sodyum ve kalsiyum girişini dengelemek için yeterli dışa doğru potasyum akımı oluşturur. Plato fazında L-tipi kalsiyum kanalı aktivasyonu yoluyla hücre içerisindeki kalsiyumda hafif bir artış meydana gelir. Bu artış, sarkoplazmik retikulumda (SR) bulunan ve "ryanodin reseptörü" olarak bilinen bir kompleksin bir parçası olan hücre içi kalsiyum kanallarını aktive eder (Emerson vd., 2023). Ryanodin reseptörünün aktivasyonu, SR içerisindeki kalsiyum depolarından sitozole önemli miktarda kalsiyum salınmasına neden olur. Bu süreç "kalsiyum kaynaklı kalsiyum salınımı" olarak adlandırılır ve miyofilament kasılmasını başlatır. L-tipi kalsiyum kanalları hem depolarize membran potansiyelleri hem de sitozolik kalsiyum konsantrasyonundaki hızlı artış nedeniyle inaktive olur. Daha sonra çeşitli potasyum kanallarının aktivasyonu ile membran potansiyeli yeniden polarize olur ve başlangıçtaki istirahat değerine geri döner (Chambers ve Fallouh, 2010).

Uyarılma-kasılma bağlantısı zincirinde, bu bağlantıyı önlemek ve kalbin arrestini sağlamak için çeşitli farmakolojik ajanlarla etkilenebilecek bir dizi iyonik mekanizma bulunmaktadır. Bu etki esasen iki ana kategoriye ayrılabilir. İlk olarak hızlı sodyum kanallarının aktivitesini inhibe etmek ve aksiyon potansiyeli başlamasını önlemek için bu kanalları hedef alan ajanlar kullanılabilir. Bu etki şu yollarla gerçekleştirilebilir: (i) membran potansiyelini sodyum kanal aktivasyon eşiğinden uzaklaştırarak. Bu yöntem, hücre dışı hiperkalemi ile depolarizasyon indüksiyonu (St. Thomas kardiyoplejisi) veya potasyum kanal açıcıları (adenozin, pinasidil, diazoksit) ile hiperpolarizasyon ya da polarizasyon

indüksiyonu olarak uygulanabilir. (ii) Hızlı sodyum kanallarının doğrudan bloke edilmesiyle de bu etki sağlanabilir. Bu amaçla sodyum kanal blokerleri (tetrodotoksin, lidokain, prokain ve esmolol) kullanılır (Şekil 3).

İkinci ana kategoride ise; kalsiyumla aktive olan mekanizmaları inhibe eden ajanlar, miyosit kasılmasını önlemek için kullanılır. Bu da üç şekilde gerçekleştirilebilir: (i) Bretschneider solüsyonunda olduğu üzere sıfır hücre dışı kalsiyum kullanımı ile hipokalsemi oluşturarak. (ii) Sarkolemmal kalsiyum kanallarının bloke edilmesiyle, örneğin yüksek magnezyum, diltiazem, verapamil ve esmolol gibi kalsiyum kanal blokerleri kullanarak. (iii) Miyofilamentlerin doğrudan inhibisyonu ile (2,3 bütanedion monoksim) kalsiyuma duyarlılığın azaltılması yoluyla gerçekleştirilir (Chambers ve Fallouh, 2010).

2.8. Ekstrasellüler Hiperkalemi (Depolarize Arrest)

Ekstrasellüler potasyum düzeyindeki artış, normal membran istirahat potansiyelini (yaklaşık -85 mV) depolarize eder ve bu potansiyel, daha pozitif bir değerde yeni bir dinlenme seviyesi oluşturur. Bu yeni seviye ekstrasellüler potasyum konsantrasyonuna bağlıdır. Önemli eşik değerlerden biri, ekstrasellüler potasyum konsantrasyonunun yaklaşık 10 mmol/L olduğu durumdur. Bu durum membran potansiyeli yaklaşık -65 mV'ye ulaşır ve voltaj bağımlı sodyum kanalları inaktive olur. Bu durum aksiyon potansiyelinin sodyumla tetiklenen hızlı yükselme fazını engeller ve diyastolik arrest meydana gelir. Bir diğer eşik değeri hücre dışı potasyum düzeyinin yaklaşık 30 mmol/L olmasıdır. Bu durumda membran potansiyeli -35 mV civarına gelir ve bu seviye kalsiyum kanallarını aktif hale getirir. Bu aktivasyon miyositlere kalsiyum girişine neden olur ve aşırı kalsiyum yüklenmesine neden olarak iskemi perfüzyon hasarını tetikler (Eisner vd., 2017).

Bu nedenle, hiperkalemik kardiyoplejik solüsyonlar için kullanılan ekstrasellüler potasyum konsantrasyonları nispeten dar bir güvenlik aralığı içerisinde tutulmalıdır. St. Thomas kardiyopleji No. 1 ve 2'de (sırasıyla 20 ve 16 mmol/L) kullanılan potasyum konsantrasyonları bu aralıkta yer almaktadır (Ledingham vd., 1987). Ancak, bu potasyum konsantrasyonlarının oluşturduğu membran potansiyellerinde, hücrel iyon akımları devam eder ve bu da olumsuz etkilere yol açabilir.

2.9. Hiperkalemik Kardiyopleji ile İlgili Endişeler

Hiperkalemik kardiyopleji solüsyonları uzun süredir kalp cerrahisinde kullanılmaktadır. Ancak hiperkaleminin membran istirahat potansiyelini depolarize etmesi bazı sorunlara neden olabilir. Hiperkalemik kardiyopleji solüsyonları genel olarak 12 ile 25 mmol arasında değişen oranlarda potasyum konsantrasyonlarına sahiptir (Diao vd., 2023). Bu durum kalp dokusunda yaklaşık -80 mV olan membran istirahat potansiyelini yaklaşık -50 mV düzeyine depolarize eder (Diao vd., 2023). Bu depolarize olmuş potansiyelde, hızlı sodyum kanalları inaktive olur ve diastolik arrest meydana gelir. Sodyum-kalsiyum değiştiricisinin ters potansiyeli de -50 mV'da ortaya çıkar. Bu değiştirici yoluyla "pencere" akımları oluşur ve hücre içerisinde kalsiyum artışı meydana gelir (Diao vd., 2023). Membranı daha da depolarize (yaklaşık -40 mV'a kadar) eden daha yüksek potasyum konsantrasyonları yavaş kalsiyum kanallarını aktive etme eğiliminde olur ve miyosite kalsiyum girişine yol açar (Song ve Belardinelli, 2017). Bu membran potansiyelinde, özellikle sodyum pompasının inhibisyonu, hipotermi ve iskeminin sonucu olarak hücre içi sodyum yüksek ise, sodyum-kalsiyum değiştiricisi tersine çevrilir ve hücre içerisine net bir kalsiyum girişi olabilir. Bu durum kontraktüre, kalsiyum yüklenmesi ve özellikle reperfüzyon sırasında miyokardiyal hasarla sonuçlanır. Ayrıca, sodyum-hidrojen değişimi gibi diğer iyonik mekanizmalar da sodyum girişine neden olur (Avkiran, 1996).

Potasyuma bağlı koroner vazokonstriksiyon, kardiyopleji akışını ve hastalıklı miyokarda dağılımını sınırlayarak miyokard korumada eksikliğe neden olabilir (Leicher FG, 1983). Yüksek potasyum ayrıca yetişkin ve pediatrik hastalarda koroner vazospazmla da bağlantılıdır (Ruel vd., 2004). Vazokonstriksiyon, vasküler düz kasın veya endotelin doğrudan depolarizasyonundan kaynaklanabilir. Kardiyoplejik potasyum konsantrasyonlarının (15 mM) kobay karotis ve domuz koroner arterlerinde vasküler düz kas membranlarını -53 ila -45 mV arasında depolarize ettiğini ve bunun da kasılmaya yol açtığını gösterilmiştir (Nelli vd., 2003). Endotel kaynaklı vazokonstriktör olan Endotelin-1, hiperkalemik arrest sonrası I/R hasarı, spazm ve geçici sol ventrikül disfonksiyonunda rol oynadığı için vazokonstriksiyona katkıda bulunabilir (Hugh Dorman vd., 2000). Hiperkalemik solüsyonlara ilave edilen magnezyum, iskemi sırasında hücre kalsiyum yüklenmesini azaltmak ve potasyum kaynaklı vazokonstriksiyonu önlemek amacıyla kullanılır (He, 2005; Nguemo vd., 2014).

Hiperkaleminin vazokonstrüktif ve spazmodik etkilerinin yanı sıra 10 mM K⁺ gibi düşük K⁺ seviyeleri, trombosit aktivasyonu, nötrofil adezyonu, enflamasyon, kapiller kaçış ve bozulmuş koagülasyon durumu gibi endotel hasarı ile ilişkilendirilmiştir (Francica vd., 2021b). İzole edilmiş sıçan aortik halkalarının 24.saat boyunca Bretschneider solüsyonunda (HTK, Custodiol) bekletildiği bir çalışma sonucunda endotel hasarı geliştiği bildirilmiştir (Radovits vd., 2008). Farklı bir çalışmada sıçan endotel hücreleri normokalemik (5,9 mEq K⁺) bir solüsyondan hiperkalemik (24 mEq K⁺) bir solüsyona alınması ile serbest oksijen radikalleri oluşumu rapor edilmiştir (Matsuzaki vd., 2005). İnsan endotel hücrelerinin yüksek potasyum ile (90mM) depolarize edildiği bir çalışmada, membranın depolarizasyon derecesinin süperoksit (O₂⁻) üretiminden direkt sorumlu olduğu tespit edilmiş ve hiperpolarize edici bir KATP kanal açıcı (HOE 234) varlığında etkinin inhibe edildiği bulunmuştur (Sohn vd., 2000). Bu araştırmalar hiperkalemik kardiyopleji, endotel aktivasyonu ve oksidatif stres arasında, ameliyat sonrası vasküler disfonksiyona yol açabilecek bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Depolarize edici potasyum iletim bozukluklarına da yol açabilmektedir (Taggart vd., 2000). Ameliyat sonrası aritmiler hasta morbiditesi açısından bir sorun olmaya devam etmektedir. En sık görülen aritmiler atriyal fibrilasyon ve supraventriküler taşikardilerdir. Bu anormal ritmlerin etiyolojileri çok farklıdır ve kardiyoplejide yüksek potasyum konsantrasyonu (25 mEq/L) kullanımı olası sebeplerden biri olarak açıklanmıştır (Hicks, 1986). Farklı bir raporda araştırmacılar kardiyak cerrahi sırasında plazma potasyum düzeyi ile ameliyat sonrası atriyal fibrilasyon arasında bir bağlantı olduğunu belirlemişlerdir (Tran vd., 2009).

Sol ventrikül disfonksiyonu, kardiyak cerrahi sonrası hasta sonucunu belirleyen önemli bir faktördür. Ameliyat sonrası sol ventrikül disfonksiyonunun bir türü, I/R hasarına bağlı olarak apoptoz olmadan gelişen miyokardiyal sersemleme veya kontraktilite kaybıdır (Francica vd., 2021a). Kardiyak cerrahi sonrası miyokardiyal sersemleme erişkin hastaların yaklaşık %10'unda, pediatrik hastaların ise %10-15'inde meydana gelmektedir (Moh'd vd., 2021). Miyokardiyal sersemleme erişkin ve pediatrik hastalarda düşük kardiyak debi sendromuna katkıda bulunabilir (Allen, 2004). Düşük kalp debisi sendromu, koroner arter bypass cerrahisi hastalarının %3-14'ünde ortaya çıkar ve mortalitede 10-17 kat artışla

ilişkilidir (Algarni vd., 2011) ve pediatrik kalp cerrahisi hastalarının yaklaşık %25’inde görülür (Jones vd., 2005).

Hiperkalemik kardiyopleji, yüksek potasyum düzeylerinin ve I/R hasarının kalsiyum yüklenmesi, vazokonstriksiyon, aritmi ve endotel disfonksiyon üzerindeki etkileri nedeniyle miyokardiyal sersemleme ve düşük kardiyak debi sendromuna neden olabilir (Åmark vd., 2005). Hayvan deney modellerinde, soğuk hiperkalemik kardiyoplejinin miyokardiyal sersemlemeye neden olan bir faktör olduğu bildirilmiştir (Khaliulin vd., 2011) Bununla beraber yüksek potasyum seviyelerinin, miyokardiyal sersemlemenin patofizyolojisinde doğrudan veya dolaylı etkilerinin belirlenmesi daha fazla araştırmayı gerektirmektedir.

Hiperkalemik kardiyoplejilerin kardiyak cerrahide yaygın kullanımı devam etmektedir. Gelecekteki herhangi bir alternatif kardiyoplejik çözeltinin, arrest sağlama, geri döndürülebilirlik ve düşük toksisite açısından benzer bir güvenlik profili sunması ve miyokardiyal koruma açısından gelişmiş özelliklere sahip olması beklenir.

2.10. Hiperkalemik Kardiyoplejiye Alternatifler

1960’ların sonlarında Bretschneider vd., kalbi durdurmak için güvenli ve etkili bir yöntem geliştirmeye çalıştı. 1967’de yaptıkları çalışmada, sodyumu miktarını büyük ölçüde azaltmanın (~130 mM’den 12 mM’ye), kalsiyumu neredeyse sıfıra yakın düzeye düşürmenin, potasyum miktarını azaltmanın ve antiaritmik bir ajan olan prokain (%0,2) kullanarak aksiyon potansiyelini engellemenin etkili bir yöntem olabileceğini öne sürdüler (Yamamoto ve Yamamoto, 2013). Aynı dönemde Hoelscher, prokaini non-depolarizan bir ajan olarak test etmiş ve Melrose’un potasyum sitrat kullanan tekniğinin proaritmik olduğu olduğunu ve ciddi miyokardiyal hasara yol açtığını bildirmiştir. Sitratın hem hücre içi hem de hücre dışı ödeme yol açtığı düşünülüyordu (Shiroishi, 1999). 1972’de Kirsch, prokain, magnezyum aspartat ve sorbitol içeren yeni bir kardiyopleji formülasyonu önerdi (Norman, 1978). Ancak 1977’de Jynge vd., bu formülasyonları St. Thomas Hastanesi çözeltisiyle karşılaştırmış ve St.Thomas’ın fonksiyonel iyileşmede daha üstün olduğunu ifade etmişlerdir (Dobson vd., 2013b).

1975 yılında Tyers vd., izole sıçan kalbinde tetrodoksini kardiyopleji ajanı olarak denediler. Tetrodoksinin, sodyum kanallarını bloke ederek hücre zarını polarize ettiği gösterildi (Campos-Ríos vd., 2021). 1983'te Leicher vd., kan kardiyoplejisinde yalnızca 1,5 mM lidokain, 1,5 mM lidokain ile 30 mM potasyum ve yalnızca 30 mM potasyum olacak şekilde farklı kombinasyonları test etti. Bu çalışmalar sonucunda yüksek potasyumlu kardiyoplejinin belirgin vazokonstrüksiyona neden olduğu, kardiyoplejik dağılımı ve iletimi bozduğu sonucuna varıldı (Leicher FG, 1983). Lidokain birincil bir kardiyopleji ajanı olarak cerrahi uygulamalara tam anlamıyla geçmemiştir. Ancak ilaç, reperfüzyon sırasında ventriküler aritmileri azaltmak amacıyla, genellikle magnezyumla birlikte veya tek başına düşük konsantrasyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Yamaguchi vd., 2007).

1990'larda KATP kanal açıcı ajanlar hiperkalemiye alternatif olarak araştırmacıların ilgisini çekmeye başladı. Noma'nın 1983 yılında kalpte KATP kanalını keşfetmesinin ardından bir dizi KATP kanal açıcı ilaç geliştirildi (Noma, 1983). Bu ilaçların ortak özelliği, miyokardiyum dahil olmak üzere birçok dokunun hücre membranını hiperpolarize etmesiydi (Ye vd., 2018). Yüksek konsantrasyonlarda, KATP kanal açıcılar, hızlı sodyum kanallarının eşik değerine ulaşmasını engelleyerek kalbi diyastolde durdurabilmektedir (Chambers ve Hearse, 2001). KATP kanallarının açılması, sarkolemma boyunca potasyum akışının artmasını sağlar ve bu da membran istirahat potansiyelini -90 mV civarında olan potasyum denge potansiyeline doğru kaydırır (Chambers ve Fallouh, 2010). Bu durum membran potansiyelinde daha negatif bir değer (hiperpolarizasyon) oluşturur ve bu potansiyeli hızlı sodyum kanalı aktivasyon eşiğinden uzak tutar.

Çeşitli KATP kanal açıcılarla yapılan çalışmalarda, bu ajanların arrest indüklemesi incelenmiş ve hiperkalemik depolarize arreste eşdeğer veya daha iyi bir miyokardiyal koruma sağladığı bildirilmiştir (Lawton vd., 1996; Y. Li vd., 2000). Ayrıca KATP'lerin hiperkalemik kardiyoplejik solüsyonlara katkı maddesi olarak kullanıldığı çalışmalarda iskemi sonrası fonksiyonu iyileştirdiği bildirilmiştir. Ancak bu araştırmalar tartışmalıdır, nitekim diğer bazı çalışmalar herhangi bir fayda görülmediğini bildirmiştir (Chambers ve Fallouh, 2010). Hiperkalemik solüsyonlara KATP kanal açıcıların eklenmesinin, yalnızca hiperkalemik çözeltilerde görülen hücre içi kalsiyum artışlarını önlediği gösterilmiştir (Lopez vd., 1996). Bu etki, KATP kanallarının yerleşimi ile de ilişkili olabilir; örneğin mitokondriye özgü KATP kanal açıcı diazoksit ile gelişmiş koruma sağlandığı bildirilmiştir

(McCully ve Levitsky, 2003). Sonuç olarak KATP kanal açıcılar gibi hiperpolarizan etki gösterebilecek ajanlar, ağırlıklı olarak hiperkalemik kardiyopleji çözeltilerine ek olarak kullanılmıştır. Bu ajanların birincil kardiyoplejik ajan olarak kullanıldığı deneysel ve klinik çalışma bulunmamaktadır. Ek olarak kardiyopleji uygulama ve infüzyon koşullarını değiştirmek esasen yüzeysel değişikliklerdir; gerçek bir değişim, optimal miyokardiyal koruma sağlamak amacıyla yenilikçi yaklaşımlar gerektirir.

2.11. Diazoksit

2.11.1. Genel Bilgiler

Diazoksit (CAS Numarası: 364-98-7; 7-kloro-3-metil-2H-1,2,4-benzotiadiazin 1,1-dioksit) 230.6 g/mol molekül ağırlığı ve $C_8H_7ClN_2O_2S$ moleküler formüle sahiptir. Suda çözünmeyen, ancak organik çözücülerde (örneğin DMSO'da 10 mg/mL) çözünen beyaz renkli bir tozdur. Son yıllarda (özellikle miyokard koruma literatüründe) kullanılması ile ön plana çıkmıştır. 1960'ların başlarında, benzotiadiazinlerin kan basıncını düşürme mekanizmalarını araştırmak için bir çalışma yapıldı ve bu çalışmada, diazoksitin diüretik etkilerden bağımsız olarak doğrudan kan damarlarında vazodilatasyona neden olduğu tespit edildi (Nichols, 2023). Ancak ilk araştırmalar, diazoksit gibi bazı hipotansif ilaçların kan glukozu düzeyini de artırdığını ortaya çıkardı (Okun vd., 1964) Ardından diazoksit inatçı hipogliseminin tedavisinde oral olarak ve hipertansif acillerin yönetiminde intravenöz olarak kullanılmak üzere kabul edildi. 1990'ların ortalarında diazoksitin güçlü kalp koruyucu özelliklere sahip olduğunun keşfedilmesi ile diazoksit ile araştırmalarda artış yaşandı (Coetzee, 2013).

2.11.2. Klinik Kullanım

Tablet formunda (Proglycem, FDA tarafından 1976'da onaylanmıştır) diazoksit semptomatik hipogliseminin kontrolü için tercih edilir. İntravenöz olarak (Hyperstat) diazoksit, hastaneye yatırılan erişkinlerde şiddetli, malign ve malign olmayan hipertansiyonda kan basıncının acil düşürülmesinde kısa süreli kullanım için periferik vazodilatör olarak ve hastaneye yatırılan çocuklarda akut dirençli hipertansiyonda, diyastolik basıncın hızlı düşürülmesinde endikedir. Diazoksit ayrıca bebeklik dönemindeki konjenital hiperinsülinizmden kaynaklı hipoglisemiye tedavi etmek için kullanılır (Coetzee, 2013).

2.11.3. Diazoksit ile KATP Kanalı Aktivasyon Mekanizması

KATP kanalları, birbirine benzemeyen iki proteinin benzersiz kombinasyonundan oluşur. Birincisi; İç Doğru Düzeltici Potasyum Kanalları (Kir), potasyum iyonlarının hücre içerisine akışını kolaylaştırır ve hücre zarının elektriksel potansiyelini düzenler. KATP kanallarında, Kir alt birimleri Kir6.1 ve Kir6.2'dir. İkincisi; Sülfonilüre reseptörü (SUR), KATP kanallarında regülatör rol oynar. KATP kanalları dört Kir6.1 ve Kir6.2 alt biriminin, SUR alt birimleriyle bir araya gelmesiyle oluşur. Bu SUR alt birimleri, iki gen (ABCC8 ve ABCC9) tarafından üretilir ve en yaygın formları SUR1, SUR2A ve SUR2B'dir (Nichols, 2006). Diazoksitin farklı KATP kanal kombinasyonları (Kir6.2/SUR1, Kir6.2/SUR2A veya Kir6.2/SUR2B) üzerindeki etkisi, sitozolik ADP seviyelerine bağlıdır. Diazoksit, SUR1 ve SUR2B içeren kanalları düşük ADP seviyelerinde bile güçlü bir şekilde aktive eder. Ancak SUR2A (kalpte bulunan prototipik KATP kanalı) içeren kanallar üzerinde yüksek ADP seviyelerinde aktive olur. Bu durum, geçmişte yanlış bir şekilde kardiyak KATP kanallarının diazoksite duyarsız olduğu düşüncesine yol açmıştır (Coetzee, 2013)

Erken iskemi sırasında sitozolik ADP seviyelerinin önemli ölçüde yükseldiği göz önüne alındığında, kardiyak ATP kanallarının iskemik dönemde diazoksitin hedefi olabileceği ve miyokardiyal korumada etkin bir rol oynayabileceği düşünülmelidir (Coetzee, 2013). Nitekim, diazoksitin izole sıçan kalbinde iskemi başlangıcındaki ilk 10 dakikada aksiyon potansiyelini daha belirgin bir şekilde kısalttığı bildirilmiştir (Suzuki vd., 2003) Farklı bir araştırmada diazoksit ile önceden inkübe edilen miyositlerde metabolik inhibisyon sırasında KATP kanallarının daha kolay açıldığı ifade edilmiştir (Coetzee, 2013). Bununla beraber, diazoksitin iskemi sonrası fonksiyonel iyileşmeyi artırma yeteneği Kir6.2 eksikliği olan farelerde kaybolur; bu farelerde sarkolemmal KATP kanalları bulunmamaktadır (Wojtovich vd., 2013). Bu argümanlar, sarkolemmal KATP kanallarının diazoksit efektörleri olduğuna ilişkin güçlü kanıtlar sunmaktadır.

Diazoksitin iskemik koşullar altında Kir6.2/SUR2A kanallarını etkileyebilmesinin yanı sıra, son gelişmeler kardiyak KATP kanalının mutlak bu iki alt birimden oluştuğu iddiasını sorgulamıştır. Örneğin sıçan ventrikül miyositlerinde diazoksite duyarlı, 22 pS iletkenliğe sahip yeni bir KATP kanalı bildirilmiştir (Wu vd., 2007). Ayrıca, kemirgen atriyumlarında, insan ventriküllerinde ve kemirgen kardiyak ileti sisteminde bulunan KATP

kanallarının diazoksite yüksek duyarlılık gösterdiği rapor edilmiştir (Coetzee, 2013). Bu duyarlılığın, muhtemelen SUR1 veya SUR2B alt birimlerinin varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

2.11.4. Diazoksitin Mitokondriyal KATP Kanalları Üzerindeki Etkisi

Adenozin trifosfat (ATP) tarafından 800 μ M IC₅₀ ile bloke edilen bir potasyum kanalı, ilk olarak sıçan karaciğer mitokondrilerinin iç membranından elde edilen büyük mitoplastlarda tanımlandı (Coetzee, 2013). Benzer bir mitokondriyal KATP (mKATP) kanalı, sıçan karaciğeri veya sığır kalbinin saflaştırılmış membranları, lipid çift katmanlı membranlarda yeniden oluşturulduğunda kaydedilmiştir (Krajewska vd., 2023). Ayrıca insan T-lenfositlerinin mitokondriyal iç membranında yapılan çalışmalarda, milimolar düzeyde ATP ile bloke edilen bir mKATP kanalının varlığı gösterilmiştir (Dahlem vd., 2004).

mKATP kanalı diazoksit tarafından mikromolar aralıkta (2,3–27 μ M) aktive edilmektedir. Ancak farklı bir raporda 50 μ M diazoksitin mKATP kanallarını aktive etmediği gösterilmiştir (Dahlem vd., 2004; Nakae vd., 2003). Gerçek mKATP aktivitesinin daha doğrudan bir ölçüsü olan mitokondriyal talyum akışı (Tl⁺) testi yapılan çalışmada, 10 μ M diazoksitin izole edilmiş mitokondrilerde potasyum akışını doğrudan arttırdığı tespit edilmiştir (Wojtovich vd., 2013). Farklı bir araştırmada, diazoksitin hücre membranı ve sarkoplazmik retikulumdaki KATP kanallarına kıyasla mKATP kanallarına karşı 2000 kat daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (Garlid vd., 1996). Ek olarak mKATP kanallarının elektrojenezik doğası göz önüne alındığında, bu kanalların açılmasının mitokondriyal membran potansiyelini ($\Delta\Psi$ m) etkilemesi beklenir. Ancak bu konuda çelişkili sonuçlar mevcuttur; bazı veriler hiçbir etki olmadığını, bazı veriler ise $\Delta\Psi$ m'nin depolarize olduğunu ifade etmektedir (Coetzee, 2013).

2.11.5. Diazoksitin Miyokard Koruyucu Etkisi

Hipotansiyonu olan hastaların tedavisi sırasında yapılan çalışmalarda, muhtemelen ilacın hipotansif etkisinden dolayı, diazoksit ile miyokardiyal hasarın arttığı öne sürülmüştür (Coetzee, 2013). Ancak, bugüne kadar yapılan çoğu kontrollü hayvan çalışması ve insan kalp dokularıyla yapılan in vitro çalışmalar, diazoksitin miyokard koruyucu etkisini göstermiştir

(Lin, 2002; Y. Wang vd., 1999). Miyokard koruyucu etkiler, sıçan, tavşan, köpek ve insan gibi çeşitli türlerde hem ex vivo hem de in vivo yöntemlerle ve yaklaşık 10-100 μM konsantrasyon aralığında gözlemlenmiştir. Bir çalışmada, izole sıçan kalplerinde 30 dakikalık global iskemiye maruz bırakıldığında, kasılmanın başlaması için geçen süreyi artırarak diazoksitin koruyucu etkisini gösteren EC25 konsantrasyonu yaklaşık 10 μM olarak rapor edilmiştir (Coetzee, 2013). Başka bir çalışmada, I/R uygulanan izole sıçan kalplerinde optimal koruyucu konsantrasyonun 80 μM olduğu bildirilmiştir (Y. Wang vd., 1999). Farklı bir araştırmada köpek deneysel modelinde, 80 μM diazoksitin, iskemi sonrası enfarkt gelişimine karşı koruma sağladığı rapor edilmiştir (Coetzee, 2013).

Diazoksitin koruyucu etkisi, iskemik ön koşullandırma (IPC) etkisine eşdeğer olup, diazoksit genellikle farmakolojik bir ön koşullandırma yöntemi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca hem IPC ile hem de diazoksit ile indüklenen koruma, çeşitli KATP kanal tiplerini bloke eden tolbutamid, HMR-1883 veya glibenklamid gibi sülfonilüre bileşikler ya da mitokondriyal KATP bloke edici olarak kullanılan 5HD'nin uygulanmasıyla önemli ölçüde azalabilmektedir (Coetzee, 2013). Bu durum, diazoksitin etkileri ile IPC mekanizmaları arasında doğrudan bir bağlantı olabileceğini göstermektedir.

Diazoksitin kalp korumadaki etkisi, büyük ölçüde mitokondriyal işlevlerin iyileştirilmesine dayanmaktadır. Diazoksit, mitokondriyal kompleks II proteini olan süksinat dehidrojenazı (SDH) inhibe eder ve bu etki, miyokard korumada kullanılan konsantrasyonlarda gözlemlenir. SDH inhibisyonu flavoprotein floresansını artırır ve diğer SDH inhibitörleri gibi, miyokardiyal koruma etkisi gösterebilir. Bu miyokard koruyucu mekanizmalar, oksidatif fosforilasyonun kısmi inhibisyonu veya reaktif oksijen türlerinin (ROS) modülasyonu ile ilişkili olabilir. Diazoksit ayrıca mitokondriyal enerji işlevini korur ve kalsiyum bağımlı oksidatif fosforilasyon inhibisyonunu engelleyerek I/R hasarını azaltabilir (Coetzee, 2013).

2.12. Langendorff Perfüzyon Sistemi

Kardiyoplejik solüsyonların etkinliğini değerlendirmek için klinik öncesi hayvan modellerinin kullanılması, bu solüsyonların insan popülasyonuna uygulanmadan önce kritik bir adımdır. Koyun, tavşan, köpek, sıçan ve fare gibi hayvan modelleri, mevcut kardiyoplejik

solüsyonların etkinliğini doğrulamak amacıyla birçok çalışmada kullanılmıştır. 1895 yılında Alman fizyolog Oscar Langendorff, kalp fizyolojisini araştırmak için izole edilmiş memeli kalplerini retrograd olarak perfüze etmek için bir teknik geliştirmiştir. Daha sonra bu yöntem farmakolojik bileşikler test etmek, I/R hasarı oluşturmak ve kardiyak performansı değerlendirmek için klinik öncesi çalışmalarda yaygın olarak kullanılmıştır. Bu teknik ‘retrograd kalp perfüzyonu’ olarak bilinir. Bu teknikte kalp, normal fizyolojik akışın tersi bir yönde, asendan aortadan kanüle edilerek perfüze edilir (Bell vd., 2011). Aortadaki bu retrograd akış basınç altında aort kapak yaprakçıklarını kapatır ve perfüzyon sıvısının sol ventriküle girmesini engeller. Daha sonra koroner arterler, sağ ve sol koroner ostium yoluyla perfüze olur. Vasküler yataktan geçen perfüzyon sıvısı koroner venler aracılığıyla koroner sinüse gelir (Bell vd., 2011).

Retrograd kalp perfüzyonunun sabit basınç ve sabit akış olmak üzere iki yöntemi vardır. Sabit basınç yönteminde, rezervuar belirli bir yüksekliğe yerleştirilerek sabit bir hidrostatik basınç sağlanır. Örneğin, rezervuar sıvısı, kanülün ucundan belli bir mesafede tutulur. Bu yöntem, Langendorff cihazının en basit ve ekonomik şeklidir. Ayrıca, kapalı bir basınç haznesi ve manometre kullanılarak da sabit basınç sağlanabilir. Modern basınç kontrol sistemleri, kullanılan sıvı miktarını azaltarak, ilaçlı tamponlar veya kan gibi maliyetli ve sınırlı kaynaklar için avantaj sağlar. Sabit basınç modu, kalbin koroner tonusunu oto-regüle etmesine güvenilen durumlar için idealdir. Özellikle, perfüzyon yatağının bir kısmının bağlandığı ‘bölgesel miyokardiyal iskeminin modellendiği’ senaryolarda faydalıdır (Bell vd., 2011).

Sabit akış yönteminde ise, peristaltik bir pompa kullanılarak koroner damarlardan sabit bir akış sağlanır. Akış hızına göre perfüzyon basıncı, bir basınç transdüseri aracılığıyla kolaylıkla ölçülebilir. Bu yöntem esas olarak vasküler tonus, düz kas ve endotel fonksiyonlarını incelemek için kullanılır (Bell vd., 2011). Görüldüğü üzere farklı perfüzyon modları, çalışmanın amaçlarına göre kullanılabilir.

Langendorff perfüzyon sisteminde birçok kardiyak parametre ölçülebilir. Koroner akış hızı, aort basıncı, sol ventrikül sistol ve diyastol basınçları, kalp hızı ve elektrokardiyogram kaydedilebilir (Bell vd., 2011). Bu sistemin başlıca avantajları, tekrarlanabilirlik, düşük maliyet ve en önemlisi, kalbin diğer organ sistemlerinden izole

edilerek performansını etkileyebilecek faktörlerden arındırılmasıdır. Ancak kalbin izole edilmesi, klinik bağlamdan uzaklaşılması açısından dezavantajlı bir durum gibi görülse de bu model ilaç geliştirme, yeni solüsyonların test edilmesi veya farklı müdahalelere verilen kardiyak yanıtların değerlendirilmesi gibi senaryoların kolaylıkla uygulanmasını sağlamaktadır.



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA YÖNTEMİ

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (ÇOMÜDAM) deney hayvanları laboratuvarından alınan, ortalama 300-350 gram ağırlığında toplam 30 adet erkek Wistar albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar ÇOMÜDAM deney hayvanları ünitesinde sabit koşullarda (12 saat aydınlık/12 saat karanlık gece gündüz döngüsü, $22\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, nem oranı %50), yiyecek ve suya erişimi olan kafeslerde barındırıldı. Tüm hayvanlara Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu'na uygun olarak insancıl bakım uygulandı ve tüm deney prosedürleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (Etik Kurul Tarihi ve Karar No: 26.01.2023 – 2023/1) onayı ile gerçekleştirildi.

3.2. Deney Grupları

Çalışmamızda sıçanlar 5 deney grubuna ayrıldı (Tablo 1).

- Grup I (Diazoksit [DZX] grubu; n=6)

DZX (7-Chloro-3-methyl-2H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide; Merck SA, Darmstadt, Germany) 200 $\mu\text{mol/L}$ olacak şekilde hazırlandı. DZX % 0,1'lik dimetil sülfoksit (DMSO; Merck SA, Darmstadt, Germany) içerisinde çözülmesiyle bir stok DZX çözeltisi hazırlandı. DMSO'nun bu konsantrasyonun antioksidan etkisi önemsizdir ve hücre hacmi üzerinde etkisi yoktur (Man vd., 2014). Bu grupta normokalemik dengeli elektrolit solüsyonu (Polifleks İzolen Dengeli, Polifarma, İstanbul, Türkiye) (İçeriği mmol/L cinsinden; sodyum 140 mmol, klorür 103 mmol, potasyum 10 mmol, kalsiyum 5 mmol, magnezyum 3 mmol, sodyum asetat 8 mmol, sodyum sitrat 47 mmol) 500 mL içerisine 100 μmol DZX ilave edilerek hazırlandı.

- Grup II (Diazoksit-Lidokain-Magnezyum [DLM] grubu; n=6)

DLM grubunda kardiyoplejik çözelti, dengeli elektrolit 500 mL solüsyonu içerisine 100 µmol DZX, Magnezyum sülfat %15 ampul (Osel İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş. İstanbul, Türkiye) 7 mL, Lidokain %2 ampul (Osel İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş. İstanbul, Türkiye) 3,25 mL ilave edilerek hazırlandı.

- Grup III (Custodiol [HTK] grubu; n=6)

Bretschneider Histidin-Triptofan-Ketogluterat (HTK) solüsyonu (Custodiol, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Frankfurt, Almanya) ticari olarak hazırlanmış çözelti olarak temin edildi. Bileşen konsantrasyonu şu şekildeydi: sodyum 15 mmol/L, potasyum 9 mmol/L, magnezyum 4 mmol/L, kalsiyum 0,015 mmol/L, ketogluterat 1mmol/L, histidin 198 mmol/L, triptofan 2 mmol/L, mannitol 30 mmol/L.

- Grup IV (St. Thomas No-2 [STH] grubu; n=6)

STH (Plegisol, Pfizer, New York, ABD) ticari olarak hazırlanmış solüsyon temin edildi. Bileşen konsantrasyonu şu şekildeydi: % 5 dekstrozu sıvı, sodyum 120 mmol/L, potasyum 16 mmol/L, magnezyum 16 mmol/L, kalsiyum 1,2 mmol/L, sodyum bikarbonat 10 mmol/L. Plegisol, uygulamadan hemen önce üretici tavsiyesine uygun 1 ampul sodyum bikarbonat ile tamponlandı.

- Grup V (Kontrol grubu; n=6)

Dengeli elektrolit solüsyonu (Polifleks İzolen Dengeli, Polifarma, İstanbul, Türkiye) (İçeriği mmol/L cinsinden; sodyum 140 mmol, klorür 103 mmol, potasyum 10 mmol, kalsiyum 5 mmol, magnezyum 3 mmol, sodyum asetat 8 mmol, sodyum sitrat 47 mmol) 500 mL olarak belirlendi.

Tablo 1

Kardiyoplejik çözeltilerin içerdikleri bileşenler ve deney grupları

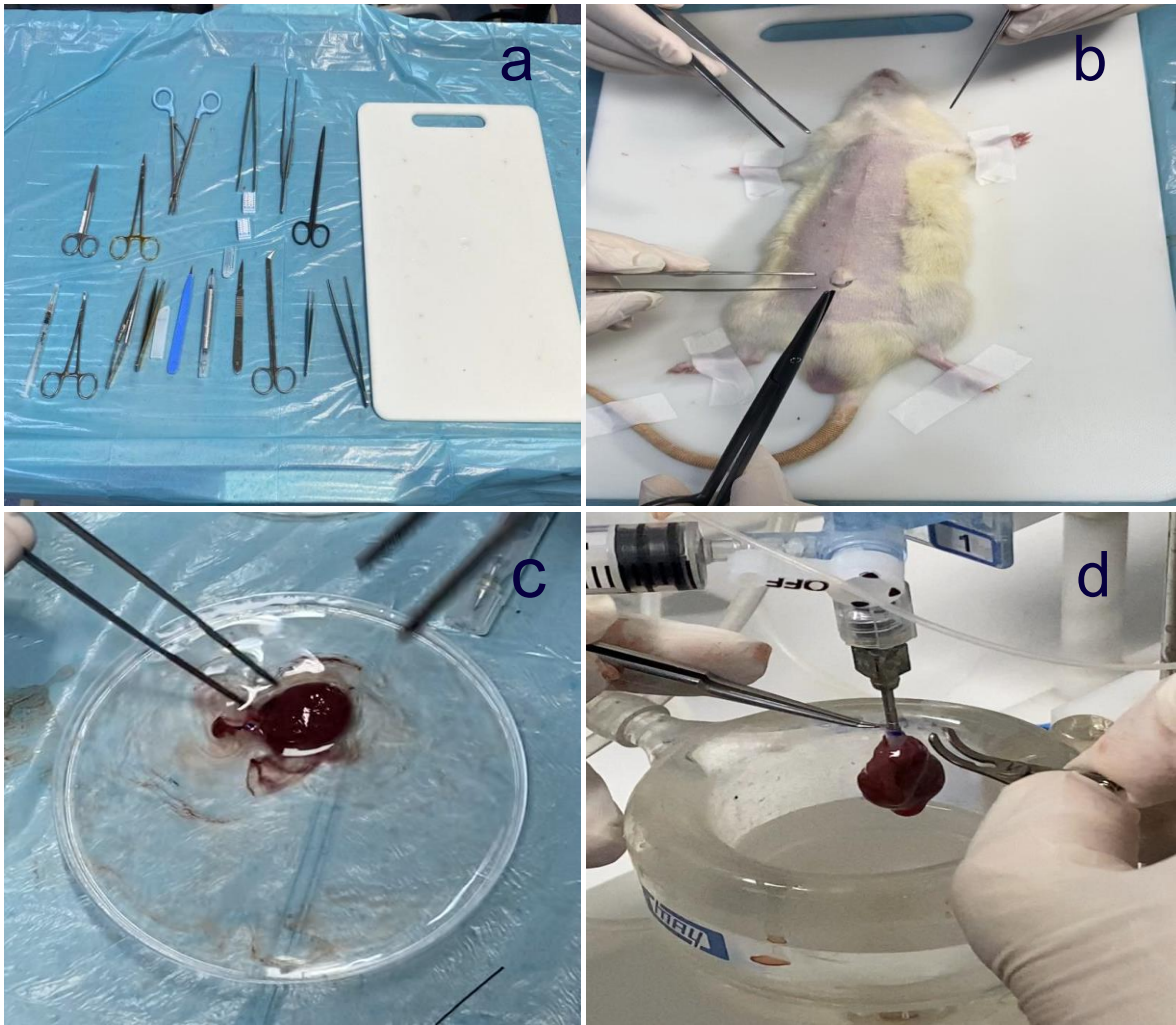
Bileşenler (mmol/L)	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Diazoksit	200 µmol	200 µmol	-	-	-
Magnezyum	-	32 mmol	4 mmol	16 mmol	3 mmol
Lidokain	-	1 mmol	-	-	-
Potasyum	10 mmol	10 mmol	9 mmol	16 mmol	10 mmol
Sodyum	140 mmol	140 mmol	15 mmol	120 mmol	140 mmol
Kalsiyum	5 mmol	5 mmol	0,015 mmol	1,2 mmol	5 mmol
Histidin	-	-	198 mmol	-	-
Triptofan	-	-	2 mmol	-	-
Ketogluterat	-	-	1 mmol	-	-
Mannitol	-	-	30 mmol	-	-

3.3. Sıçan Kalbinin İzolasyonu

Her deneyden 30 dakika önce, bir sıçan temiz bir kafes içerisinde laboratuvara taşındı. Ardından intramüsküler enjeksiyon yoluyla 5-10 mg ksilazin (%2 Xylazinbio, Bioveta, Ankara, Türkiye) ve 80 mg/kg ketamin (%10 Ketamol, Richter Pharma, Wels, Avusturya) ile anestezi altına alındı. Anestezi sonrası elektronik tartı ile ağırlık ölçümüne tabi tutuldu ve sternum bölgesi tıraşı yapıldı. Her vaka öncesi cerrahi masa hazırlandı (Şekil 4-a).

Denekler ameliyat masasına sırtüstü yatırıldıktan sonra dört ekstremit ve kuyruktan sabitlendi. Deneklere herhangi bir cerrahi işlem yapılmadan önce çekilme refleksleri test edildi. Cilt kesisine karın bölgesinden başlanarak göğüs bölgesine kadar açıldı (Şekil 4-b). Diyafram görüldükten sonra kaburgalardan ayrılacak şekilde kesildi. Daha sonra her iki tarafta kaburgalara paralel şekilde lateral kesiler yapıldı ve göğüs kafesi baş yönünde katlanarak kalp açığa çıkarıldı. Antikoagülasyon için inferior vena kava (IVC) yoluyla, sıçanın işlem öncesi ağırlığı baz alınarak 500 U/kg heparin (Poliparin 5 ml/25.000 IU flakon, Polifarma İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş., Türkiye) insülin enjektörü ile uygulandı. Kalbi net bir şekilde görmek için perikard ve bağ dokuları çıkarıldı, aort, pulmoner arter ve sol atriyum marker kalemi ile işaretlendi. Daha sonra hassas penset ve makas yardımıyla asendan aort

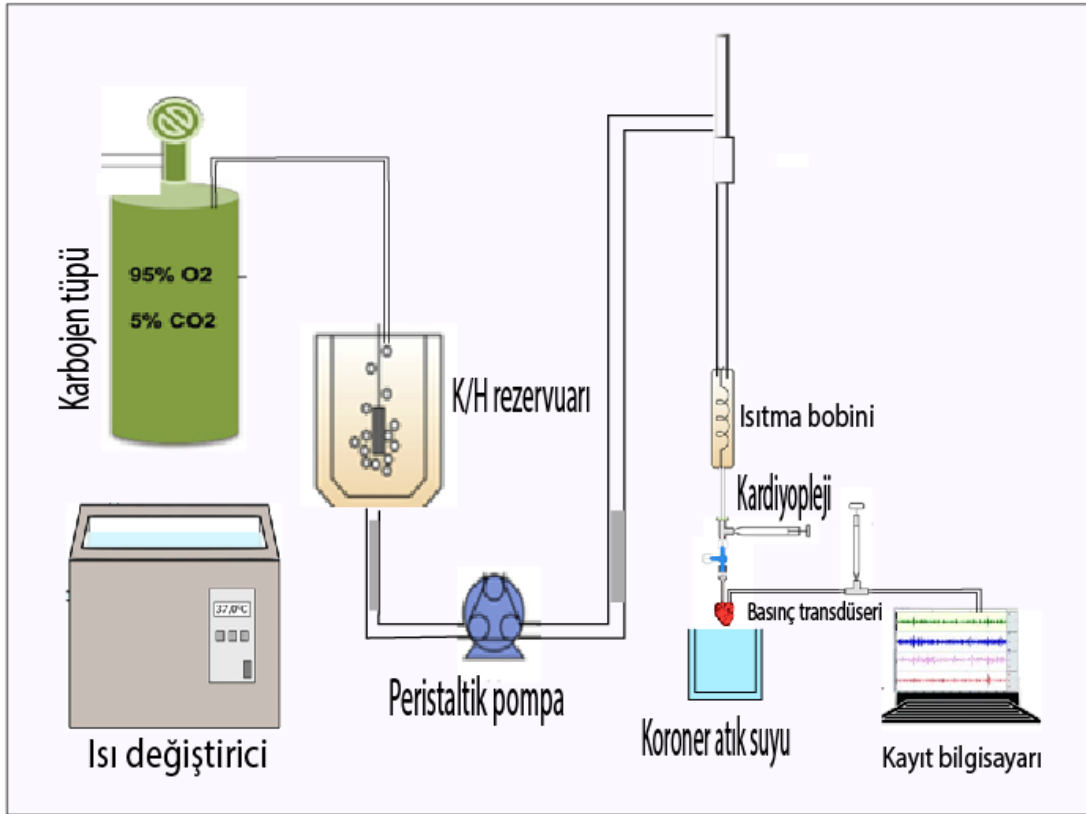
çevre dokulardan ayrılarak hızlıca eksize edildi. Eksize kalp laboratuvarında hazırlanmış soğuk Krebs-Henseleit (K/H; pH 7,4) solüsyonuna daldırıldı (Şekil 4-c). Bu aşamada hızlı bir şekilde hassas terazi ile kalp ağırlığı ölçüldü ve kaydedildi. Ardından kalp aort vasıtasıyla Langendorff perfüzyon sistemine (May LS 09, Commat Ltd., Türkiye) monte edildi ve 3-0 ipek dikiş sabitlendi (Şekil 4-d). Kanülün aortaya çok derin yerleştirilmemesine dikkat edildi; aksi halde bu durum aort kapağını zedeleyebilir ve koroner perfüzyona engel olabilir. Kalbin eksizyonu ile Langendorff kanülüne monte edilme süresi 5 dakikayı aşan kalpler çalışma dışı bırakıldı.



Şekil 4. Deney sürecine ait resimler-1; a) Cerrahi masa düzeni, b) Sıçan insizyonunun başlaması, c) Sıçan kalbinin K/H solüsyonuna alınması, d) Kalbin Langendorff kanülüne asılması.

3.4. Langendorff Perfüzyonun Başlatılması ve Sürdürülmesi

Langendorff düzeneği sıçan kalbinin aort üzerinden retrograd perfüzyonu için kullanıldı. Şekil 5'te gösterilen bu düzenek, termal sirkülasyon için ısı değiştirici cihaz, su ceketli rezervuar, peristaltik pompa, basınç transdüserleri, aort kanülü ve hava kabarcık tuzaklarından oluşmaktadır.



Şekil 2. Langendorff perfüzyon sistemi.

Rezervuardaki perfüzyon sıvısı K/H solüsyonu günlük olarak hazırlandı ve içeriği şu şekildeydi; distile su içerisine 6,95 g/L sodyum klorür (NaCl), 2,1 g/L sodyum bikarbonat (NaHCO_3), 0,34 g/L potasyum klorür (KCL), 0,19 g/L potasyum fosfat (KH_2PO_4), 0,3 g/L magnezyum sülfat (MgSO_4), 0,26 g/L kalsiyum klorür (CaCl_2), 2,18 g/L glukoz. K/H için kullanılan tüm elementler Merck SA, Darmstadt, Almanya'dan temin edildi. Hazırlanan K/H solüsyonu 37 °C sıcaklıkta manyetik karıştırıcıda pH 7,4 olacak şekilde karıştırıldı. Ardından Langendorff sistemine rezervuarına alınan K/H sıvısı, karbojen (%95 O_2 - %5 CO_2) ile kabarcıklandırıldı ve tüm sistemin havası çıkarılacak şekilde aort kanülüne yönlendirildi.

3.5. Kardiyoplejik Arrestin Sağlanması

Deneydeki her grup için kardiyoplejik arrest bölüm 3.2.de açıklanan solüsyonlar ile yapıldı. Kardiyopleji miktarı gruplardaki her denek için 20 mg/kg olacak şekilde ağırlık hesabına göre ayarlandı. Stabilizasyon periyodu bitmesine yakın kalp Langendorffa asılı durumda iken, kanülün üzerindeki üç yollu musluğa kardiyoplejik solüsyon içeren enjektör takıldı. Peristaltik pompa durdurulup, perfüzyon akışı engellendi. Üç yollu musluğun açık kısımları kalbe yönlendirildi ve hesaplanan kardiyopleji dozu aort kanül vasıtasıyla, yaklaşık 2 dakika boyunca ve 50 mmHg basınçla koroner sinüslerden iletilerek arrest sağlandı (Şekil 7-c).

3.6. Deneyler Sırasında Ölçülen Değişkenler

Farklı kardiyak fonksiyonel parametreler Biopac Student Lab (BIOPAC MP36® Systems Inc, Goleta, ABD) yazılımı kullanılarak ölçüldü ve analiz edildi (Şekil 7-d). Ölçülen her bir kardiyak parametre için değerler, farklı zaman noktalarında 20 saniyelik bir kayıt süresi boyunca ortalaması alınarak hesaplandı. İskemi öncesi ve sonrası ölçülen parametreler şu şekilde idi;

- Aort basıncı (AB)

Aort basıncı, peristaltik pompanın hızına bağlı olarak ölçüldü. Akış hızı ayarlandığında, basınç ölçümü de yapılarak kaydedildi ve mmHg cinsinden ifade edildi.

- Sol ventrikül sistolik basınç (LVSP)

LVSP, sol ventrikül sistolik basınç olarak ifade edildi. mmHg cinsinden ölçüldü.

- Sol ventrikül diyastolik basınç (LVEDP)

LVEDP, sol ventrikül diyastol sonu basınç olarak ifade edildi. mmHg cinsinden ölçüldü.

- Sol ventrikül gelişmiş basıncı (LVDP)

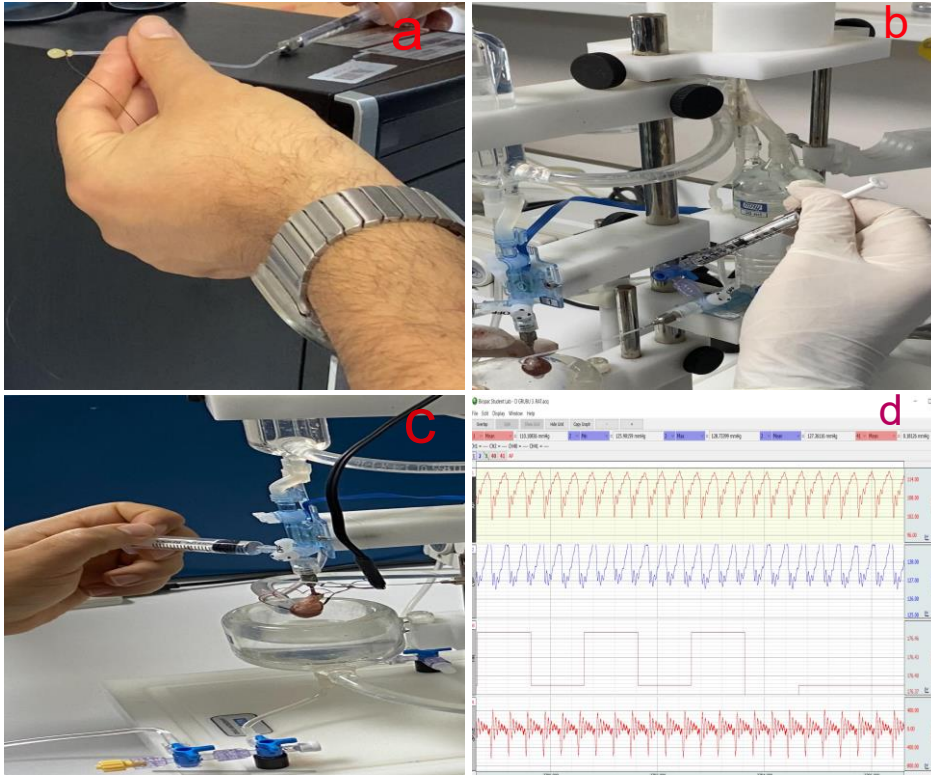
LVDP, sol ventrikül sistolik basınçtan (LVSP), sol ventrikül diyastol sonu basıncın (LVEDP) çıkarılması ile hesaplandı. mmHg cinsinden ifade edildi.

- Kalp hızı (HR)

Kalbin bir dakikadaki kasılma sayısı, LV basınç dalgalarından hesaplandı. Beats per minute (bpm) olarak ifade edildi.

- dP/dt (max) ve $-dP/dt$ (min)

dP/dt (max), LV basıncının maksimum artış hızıdır. dP/dt min, LV gevşerken ventrikül basıncının maksimum düşüşünü yansıtan LV basınç-zaman eğrisinin en dik negatif eğimini temsil eder. Her iki değer de mmHg/saniye cinsinden ifade edildi (Pugsley vd., 2017).



Şekil 7. Deney sürecine ait resimler-2; a) LV balonunun hazırlanması, b) Balonun LV'ye yerleştirilmesi, c) Kardiyoplejik solüsyonun verilmesi, d) Ölçümlerin kaydedilmesi.

3.7. Koroner Atık Sıvısından Troponin Salınımının Ölçülmesi

Koroner atık sıvısındaki kardiyak troponin I (cTnI) miktarı, kalbin iskemi ve reperfüzyon sırasında maruz kaldığı miyokard hasarını değerlendirmek için kullanılan bir parametredir. Koroner atık sıvısı örnekleri, deney sırasında iskemi öncesi stabilizasyon periyodunun 15.dakikasında ve reperfüzyon sonrası stabilizasyonun 15.dakikasında toplandı. Alınan numuneler Eppendorf tüplerine 1,5 mL olacak şekilde konuldu. Tüpler denek numarasına göre kodlanarak -20°C'de muhafaza edildi son olarak analiz edilene kadar -80 °C'de saklandı. Alınan numuneler yüksek hassasiyetli cTnI ELİSA kiti (Cobas 6000 c501-e601, Roche Diagnostics Corporation, Basel, İsviçre) ile Merter Medikal Patoloji ve Histoloji Laboratuvarı (Eskişehir, Türkiye) tarafından ölçümleri yapıldı.

3.8. İmmünohistokimyasal (IHC) Analiz

IHC analizi iskemi sonrası prosedürleri tamamlanan her kalp için yapıldı. Langendorff aparatından alınan kalpler, IHC analizi için tam orta hattın ikiye bölünerek formaldehit içerikli kaplara konularak analiz yapılacak merkeze -Merter Medikal Patoloji ve Histoloji Laboratuvarı (Eskişehir, Türkiye)- transfer edilene kadar muhafaza edildi. IHC ile miyokardda caspase-3 ve interlökin-6 (İL-6) değerlendirildi. Caspase-3 programlı hücre ölümünde rol alan bir proteindir. IL-6 ise inflamasyon ve immün yanıtın bir göstergesi olarak kullanılır (Hua vd., 2023).

Deney sonunda uygulanan IHC protokolü şu şekildedir; deney gruplarından alınan lam kesitleri 4 µm kalınlığında alındı. Kesitler, 60°C etüvde 1 saat bekletildikten sonra, 3x5 dakika ksilole ile deparafinizasyon işlemi yapıldı. Daha sonra, lamalar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip rehidrate edildi (%100, %96, %80, %70). Kesitler, alkolden arındırılmak amacıyla iki kez 1'er dakika distile sudan geçirildi. Antijen maskesini kaldırmak için 1/50 oranında seyreltilmiş EnVision FLEX Target Retrieval Solution High Ph (GV804 Dako) PT Modülü cihazı ile (A80400012 LabVision) uygulandı. IHC boyama cihazında rack yuvalarına lamalar coverplate ile takıldı. Fosfat buffer saline (PBS) ile 5 dakika yıkama yapıldı. Endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük hidrojen peroksit (TA-125-HP ThermoScientific) ile 10 dakika bloke edildi. PBS ile yıkandıktan sonra, 10 dakika protein bloke (TA-125 PBQ Thermo Scientific) edildi. Caspase-3 antikoru (Biorbyt; orb382909) ve

IL-6 antikor (Biorbyt; orb539985) oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi. PBS ile 5 dakika yıkama yapıldı. Amplifier Quanto (TL-125-QPB Thermo Scientific) 20 dakika bekletildi. HRP Polymer Quanto (TL-125-QPH Thermo Scientific) 30 dakika bekletildi. Her aşamada PBS ile yıkama yapıldı. Pozitif hücreleri belirleyebilmek için DAB Chromogen (TA-125-HA Thermo Scientific) ile boyama yapıldı. Zemin boyaması için 1 dakika süreyle Hematoksilen (HHS32 Sigma) uygulandı. Distile su ile 2x1 dakika yıkandıktan sonra, lamalar artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%70, %80, %96, %100) dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. 2x1 dakika ksilole alındıktan sonra, lamalar entellan ile kapatıldı. Boyama, Sequenza Immunostaining Center Each (Shandon/Thermo Scientific) IHC cihazında gerçekleştirildi.

Örnekler, Olympus mikroskobu (BX41, Japonya) ile incelendi. İşaretli hücre sayıları rastgele seçilen 3 alanda pozitif hücre sayılarak belirlendi. Sayım, iki bağımsız araştırmacı tarafından kör olarak gerçekleştirildi. Boyanmış doku kesitlerinde protein ekspresyonu, standartlaştırılmış bir yöntem olan h-skor ile değerlendirildi. Bu ölçek, immünohistokimyasal reaksiyonun iki parametresini birleştirmiştir; -boyamanın yoğunluğu ve -reaktif doku yüzdesi. Hücrelerde 0 ile 3 arasında değişen boyanma yoğunluğu (0: boyanma yok; 1: zayıf boyanma; 2: orta boyanma; 3: güçlü boyanma), ilgili doku bölümünün reaksiyon yoğunluğu yüzdesi ile çarpıldı ve 0 ile 300 arasında değişen nihai bir h-skoru elde edildi (Light vd., 2024).

3.9. Transmisyon Elektron Mikroskopisi (TEM)

Transmisyon elektron mikroskopisi (TEM) ile biyolojik örneklerin hücresel yapısı, çok yüksek çözünürlük ve detayda görüntülenebilmektedir (Tizro vd., 2019). Çalışmamızda iskemi sonrası Langendorff aparatından indirilen kalplerden çok küçük parçalar şeklinde alınan kesitler, zaman kaybetmeden 0,1 M PBS içeren % 2,5'luk gluteraldehit içerisinde primer fiksasyona alındı. Ardından numunenin inceleneceği Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne (Eskişehir, Türkiye) aynı gün transfer edildi. Ardından TEM işlemi için uygulanan prosedür şu şekildedir; TEM işlemi için her gruptan birer adet örnek seçilmiştir. Doku örnekleri 0,1 M fosfat tampon içeren %1'lik osmiyum tetroksit içinde, oda sıcaklığında ve rotatorda 2 saat boyunca sekonder fiksasyona tabi tutuldu. Devamında dokular tamponla 3 kez yıkandı.

Dokudaki fazla suyun alınması (dehidrasyon) için örnekler, giderek artan derecelerde ve 4°C’de ikişer kez belirli sürelerde etil alkol serilerinden (%30, %50, %70, %90, %96, %100 (son yıkama ve sonraki işlemler oda sıcaklığında) ve ardından 30 dakika boyunca (iki kez) propilen oksitte geçirerek şeffaflaştırma işlemine tabi tutuldu.

Örnekler, 1/1 oranında propilen oksit-araldite karışımında 2 saat rotatorda bekletildikten sonra saf araldite alındı ve bir gece boyunca rotatorda tutularak, ertesi gün araldite gömüldü ve 60°C’de 48 saat boyunca polimerize edildi. Elde edilen bloklardan ultramikrotomda (Leica Ultracut R) 60 nm kalınlığında tam ince kesitler alındı. 300 meshlik bakır gridlere alınan bu kesitler, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandıktan sonra elektron mikroskopta (Hitachi HT 7800) incelendi (Özatic vd., 2016). Elde edilen görüntülerde mitokondriyal membran hasarı, mitokondri krista belirsizliği, mitokondriyal ödem, miyofibril yoğunlaşması, çekirdek hasarı ve sarkomer yapıları incelendi.

3.10. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler deney aşamasında Microsoft Excel 365 (Microsoft Corp., Redmond, WA, ABD) programında düzenlendi. Ardından IBM SPSS Statistics v27.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) ve GraphPad Prism 8.0 (Graph Pad Software, Inc. San Diego, USA) programları kullanılarak analiz edildi. Sayısal değişkenler Kruskal-Wallis testi kullanılarak değerlendirildi. Post-hoc analiz için Bonferroni düzeltmesi değerlendirildi. İskemi öncesi ve sonrası değerlendirmeler için Wilcoxon eşleştirilmiş örnek testi kullanıldı. Grafik ve görseller Inkscape 1.2 (The Inkscape Project, www.inkscape.org) ile oluşturuldu. Tüm veriler, ortalama $\pm$ SEM (standart hata) olarak sunuldu ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. İskemi Öncesi ve Sonrası Kalp Ağırlığı

İskemi öncesi (İÖ) ve iskemi sonrası (İS) kalp ağırlıkları grup bazında karşılaştırıldığında, iskemi öncesi kalp ağırlığı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($\chi^2 = 4.014$, $p = 0.404$). Benzer şekilde, iskemi sonrası değerler arasında da anlamlı bir fark saptanmamıştır ($\chi^2 = 1.708$, $p = 0.789$). Grupların iskemi öncesi ve sonrası değerleri arasındaki farklar karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($\chi^2 = 1.460$, $p = 0.834$). (Tablo 2).

Tablo 2

İskemi öncesi ve sonrası kalp ağırlığı

		DZX	DLM	HTK	STH	Kontrol	χ^2	^a p
Kalp ağırlığı (gr)								
İÖ	Ort±Ss	1.41±0.1	1.42±0.12	1.7±0.1	1.53±0.8	1.42±0.1	4.014	0.404
İS	Ort±Ss	1.54±0.14	1.62±0.23	1.83±1.72	1.7±0.9	1.71±0.2	1.708	0.789
Fark (Δ)	Ort±Ss	0.14±0.1	0.2±0.4	0.13±0.3	0.16±0.2	0.3±0.3	1.460	0.834
Artış (%)		%9.9	%14.1	%7.6	%10.5	%20.4	-	-

^aKruskal Wallis test, İÖ: İskemi öncesi, İS: İskemi sonrası, Ort±Ss: Ortalama ± Standart sapma, DZX: Diazoksit, DLM: Diazoksit-Lidokain-Magnezyum, HTK: Histidin-Triptofan-Ketoglutarat, STH: St. Thomas

4.2. Hemodinamik Ölçümler

Tablo 3'te beş farklı deney grubunda iskemi öncesi ve sonrası değerlendirilen aort basıncı, LVDP, LVSP, LVEDP, kalp hızı, dp/dt max ve dp/dt min gibi kardiyak fonksiyon değişkenlerine ait ortalama değerler ve istatistiksel analiz sonuçları sunulmuştur. İskemi öncesi ve sonrası aort basınçları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (İ.Ö: $\chi^2=2.456$, $p=0.653$; İ.S: $\chi^2=4.625$, $p=0.328$). Reperfüzyon sonrası en yüksek aort basıncı DLM grubunda gözlenmiş (152.1 ± 81.6 mmHg) ancak bu artış

istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (fark: $\chi^2=6.946$, $p=0.139$). LVSP değerleri de iskemi öncesi ve sonrası gruplar arasında anlamlı fark göstermemiştir (İ.Ö: $\chi^2=0.542$, $p=0.969$; İ.S: $\chi^2=1.686$, $p=0.793$; fark: $\chi^2=4.869$, $p=0.301$). LVEDP yönünden ise yalnızca iskemi öncesi değerlerde gruplar arası anlamlı fark izlenmiştir ($\chi^2=9.962$, $p=0.041$), ancak iskemi sonrası LVEDP değerlerinde benzerlik mevcuttur ($\chi^2=2.095$, $p=0.718$). LVDP değerlerinde anlamlı fark bulunmamakla birlikte (İ.S: $\chi^2=4.621$, $p=0.328$), özellikle DLM grubunda reperfüzyon sonrası ciddi bir düşüş gözlenmiştir ($70.8\pm55.3 \rightarrow 2.4\pm2.7$ mmHg). Kalp hızı açısından da gruplar arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir (İ.Ö: $\chi^2=2.337$, $p=0.674$; İ.S: $\chi^2=2.190$, $p=0.701$) ve tüm gruplarda reperfüzyon sonrası kalp hızında hafif bir azalma eğilimi olmuştur. Sistolik fonksiyonu yansıtan dp/dt max (İ.S: $\chi^2=2.891$, $p=0.576$) ve diyastolik gevşemeyi gösteren dp/dt min (İ.S: $\chi^2=4.980$, $p=0.289$) değerlerinde de istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 3

İskemi öncesi ve sonrası hemodinamik ölçümler

Değişkenler		DZX	DLM	HTK	STH	Kontrol	χ^2	^a p
AB (mmHg)								
İÖ	Ort±Ss	76.8±26.8	79±43.7	75.3±42.8	74.6±44.1	66.3±48.2	2.456	0.653
İS	Ort±Ss	106.1±37.8	152.1±81.6	84.6±31.7	83.7±42.4	133.2±92.1	4.625	0.328
Fark (Δ)	Ort±Ss	29.3±26.3	73.1±74.7	9.3±12.7	9.2±16.1	66.8±75.1	6.946	0.139
Kalp hızı (atım/dk)								
İÖ	Ort±Ss	183.2±40.9	173±30.3	168.2±53.1	157.8±29.7	155.5±13.5	2.337	0.674
İS	Ort±Ss	176.2±43.8	162.6±23.1	148.3±24.7	157.8±50.6	151±16.6	2.190	0.701
Fark (Δ)	Ort±Ss	-7±39.1	-10.3±52.5	-19.8±33.2	0.0±55.3	-4.5±21.9	0.522	0.971
LVSP (mmHg)								
İÖ	Ort±Ss	87.1±48.2	83.1±57.2	84.1±50.2	72±29.2	73.6±29.8	0.542	0.969
İS	Ort±Ss	89.6±46.3	84.4±75.6	61.9±41.6	64.3±40.1	76.2±54.1	1.686	0.793
Fark (Δ)	Ort±Ss	2.6±56.4	1.4±51.7	-22.3±17	-7.8±28.7	2.7±38.4	4.869	0.301

Tablo 3'ün devamı

LVDP (mmHg)								
iÖ	<i>Ort±Ss</i>	67.2±44.7	70.8±55.3	64.2±51.3	43.8±33.5	57.1±33.7	1.395	0.845
İS	<i>Ort±Ss</i>	28.6±34.9	2.4±2.7	27.1±28.5	14.1±18.9	35.4±53.7	4.621	0.328
Fark (Δ)	<i>Ort±Ss</i>	-38.6±57.6	-68.5±52.9	-37.1±30.5	-29.8±28.1	-21.6±41.2	3.316	0.506
Dp/dt _{max} (mmHg/sn)								
iÖ	<i>Ort±Ss</i>	487.5±230.2	393.2±302.1	350.8±167.8	495.3±427.8	393.9±206.6	2.269	0.759
İS	<i>Ort±Ss</i>	535.9±283.3	491.4±342.8	456.1±391.4	330.1±159.7	817.2±803.5	2.891	0.576
Fark (Δ)	<i>Ort±Ss</i>	48.4±96.2	98.2±251.7	519±1436.2	-165.2±420	423.3±663.9	3.776	0.437
Dp/dt _{min} (mmHg/sn)								
iÖ	<i>Ort±Ss</i>	-709.8±400	-566.2±430.3	-691.9±413.4	-774.7±596.4	-1073.6±1364	1.026	0.906
İS	<i>Ort±Ss</i>	814.1±416.7	750.6±488.5	224.2±691.2	554.5±283.1	1053±813.4	4.980	0.289
Fark (Δ)	<i>Ort±Ss</i>	-104.3±81.2	184.4±392.4	467.7±1026	220.3±585.5	20.6±674.6	5.915	0.206

^aKruskal Wallis test, *iÖ*: İskemi öncesi, *İS*: İskemi sonrası, *Ort±Ss*: Ortalama ± Standart sapma, *DZX*: Diazoksit, *DLM*: Diazoksit-Lidokain-Magnezyum, *HTK*: Histidin-Triptofan-Ketoglutarat, *STH*: St. Thomas, *AB*: Aort basıncı, *LVDP*: Sol ventrikül gelişmiş basıncı, *LVSP*: Sol ventrikül sistolik basıncı, *LVEDP*: Sol ventrikül diyastol sonu basıncı, **p*<0.05

4.3. İskemi Öncesi ve Sonrası Troponin Ölçümleri

Araştırmamızda iskemi öncesi ve sonrası koroner atık suyundan troponin ölçümleri yapılmıştır. İskemi sonrası troponin düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmış olup (*p*=0.028), özellikle kontrol grubunda troponin seviyesi en yüksek düzeyde izlenmiştir (415.4 ± 56.5 ng/L) (Tablo 4).

Tablo 4

İskemi öncesi ve sonrası troponin değerleri

Troponin	Gruplar	Ort±Ss	χ^2	^a p	İkili karşılaştırma
İÖ	DZX	358.2±47.9	1.080	0.897	-
	DLM	365.8±24.9			
	HTK	347.1±44.2			
	STH	354.9±60.6			
	Kontrol	364.7±47.1			
İS	DZX	304.5±146.2	10.880	0.028*	^bDLM < Kontrol
	DLM	310.5±47.9			
	HTK	388.7±79.9			
	STH	341.9±31.8			
	Kontrol	415.4±56.5			
Fark (Δ)	DZX	-53.7±124.8	10.228	0.037*	-
	DLM	-55.4±39.6			
	HTK	41.6±57.1			
	STH	-13.1±83.8			
	Kontrol	50.7±76.5			

^aKruskal Wallis test, ^bBonferroni düzeltmesi, İÖ: İskemi öncesi, İS: İskemi sonrası, Ort±Ss: Ortalama ± Standart sapma, DZX: Diazoksit, DLM: Diazoksit-Lidokain-Magnezyum, HTK: Histidin-Triptofan-Ketogluterat, STH: St. Thomas

İskemi öncesi ve sonrası troponin düzeyleri karşılaştırıldığında, reperfüzyon sonrası kontrol grubunda en yüksek troponin düzeyi izlenirken, DZX ve DLM gruplarında daha düşük seviyeler kaydedilmiştir. İskemi sonrası troponin düzeylerine ilişkin post-hoc analiz sonuçlarına göre, yalnızca DLM ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p = 0.021). Bu sonuç, DLM grubunda troponin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük olduğunu göstermektedir. Diğer tüm grup çiftleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p > 0.05) (Tablo 4).

4.4. İskemi Sonrası İmmünohistokimyasal Analiz

Çalışmamızda IHC analiz sonuçlarına göre; iskemi sonrası Caspase-3 ve IL-6 ekspresyon düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Caspase-3: p = 0.345; IL-6: p = 0.454) (Tablo 5).

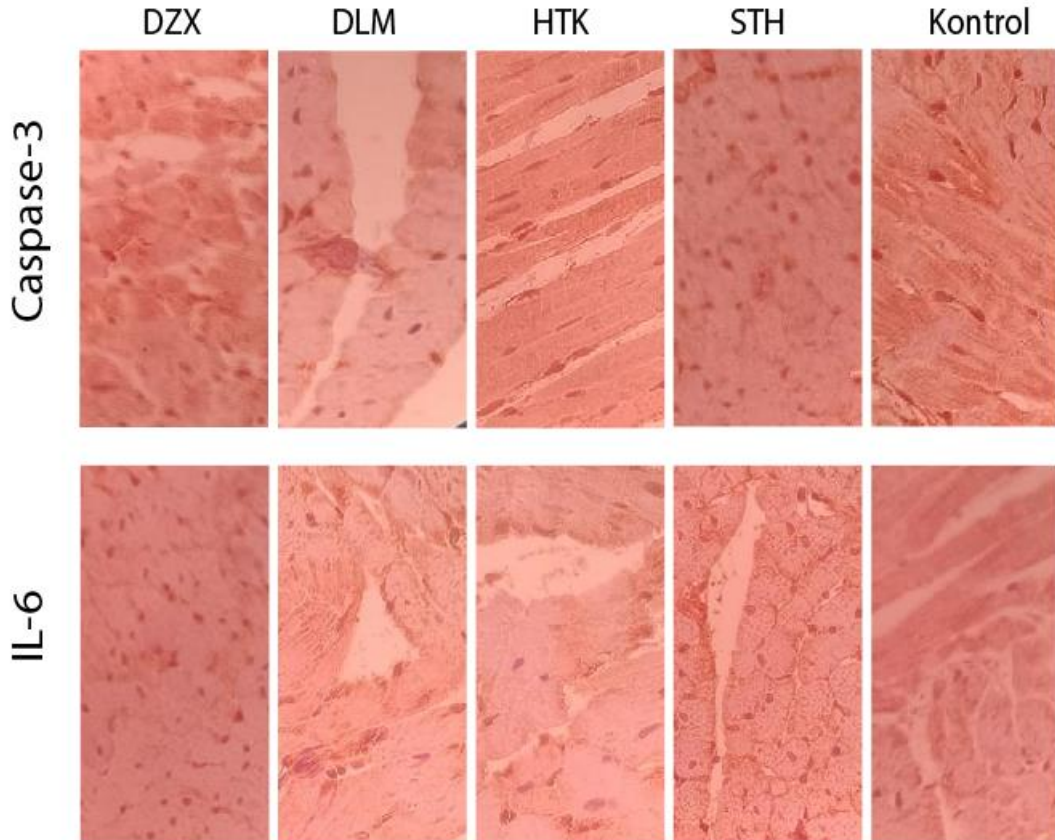
Tablo 5

İskemi sonrası immünohistokimyasal parametreler

Değişkenler		DZX	DLM	HTK	STH	Kontrol	χ^2	^a p
Caspase-3								
İS	Ort±Ss	245.8±13.6	243.3±18.9	188.3±35	193.3±34	185±38.4	4.476	0.345
İL-6								
İS	Ort±Ss	230.8±23.5	247.5±13.8	193.3±37.2	200±35.6	173.3±39.3	3.663	0.454

^aKruskal Wallis test, İS: İskemi sonrası, Ort±Ss: Ortalama ± Standart sapma, DZX: Diazoksit, DLM: Diazoksit-Lidokain-Magnezyum, HTK: Histidin-Triptofan-Ketogluterat, STH: St. Thomas, IL: İnterlökin

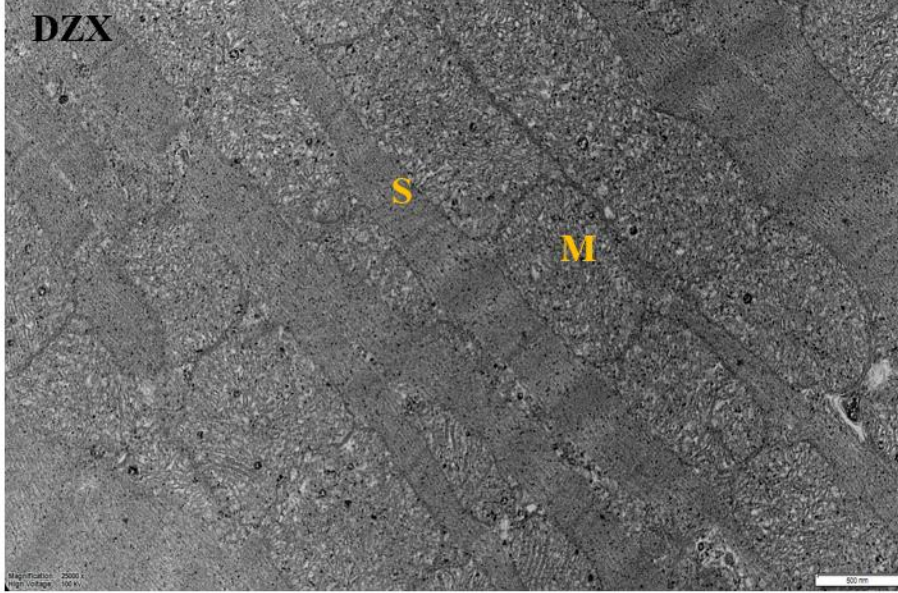
IHC sonuçları grafiksel olarak değerlendirildiğinde, DZX ve DLM gruplarında hem Caspase-3 hem de IL-6 ekspresyonunun daha yüksek olduğu, buna karşın HTK, STH ve Kontrol gruplarında bu düzeylerin daha sınırlı olduğu görülmektedir (Şekil 8). Ancak, bu farkların istatistiksel anlamlılık taşımadığı gözükmemektedir.



Şekil 3. İskemi sonrası IHC boyama ile elde edilen caspase-3 ve IL-6 ekspresyonu

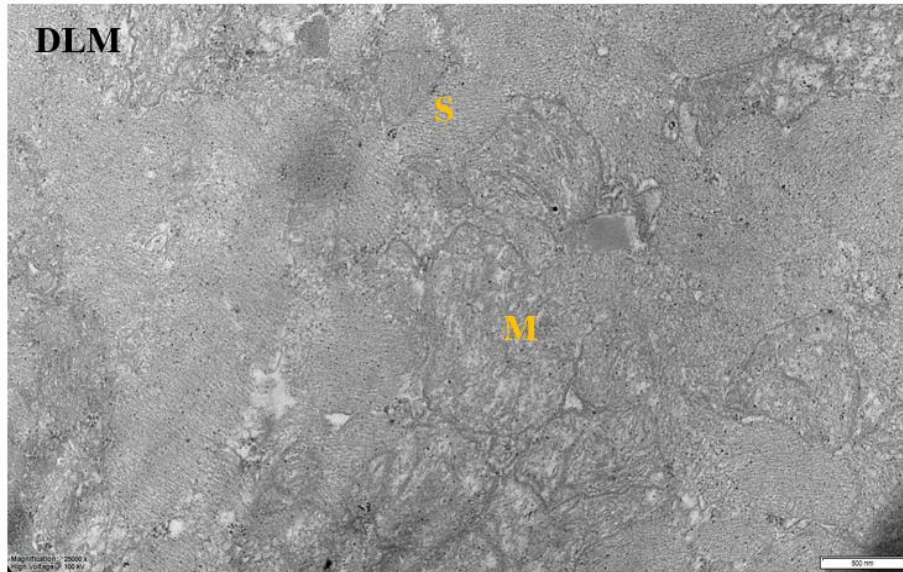
4.5. Transmisyon Elektron Mikroskopisi Analizi

DZX grubuna ait TEM görüntülerinde düzenli sarkomer yapısı, organize mitokondri lokalizasyonu gözlenmiş; ödem ve yağ damlacığı varlığına rastlanmamıştır (Şekil 9).



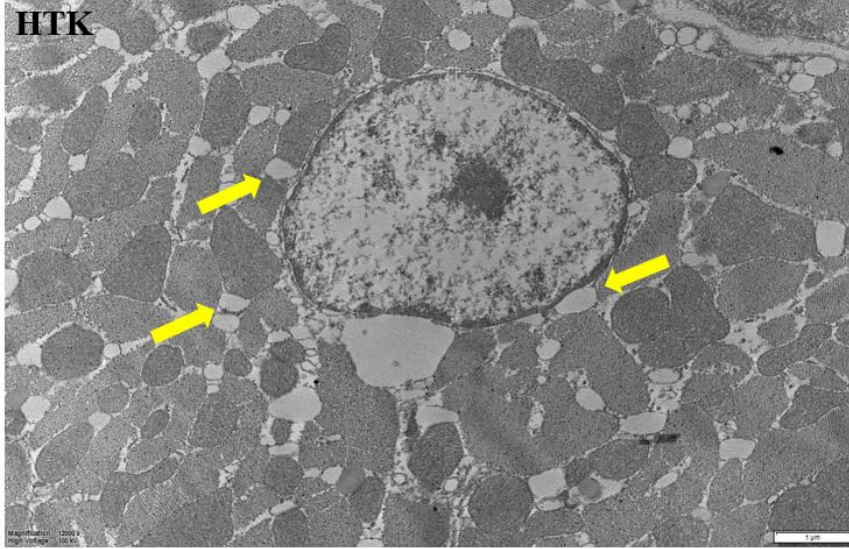
Şekil 4. DZX grubu TEM görüntüsü (M=Mitokondri, S=Sarkomer).

DLM grubuna ait TEM görüntülerinde mitokondriyal zar erimeleri, sarkomer yapılarında belirsizlik, şekilsel bozulmalar ve kristalarda parçalanmalar gözlenmiştir (Şekil 10).



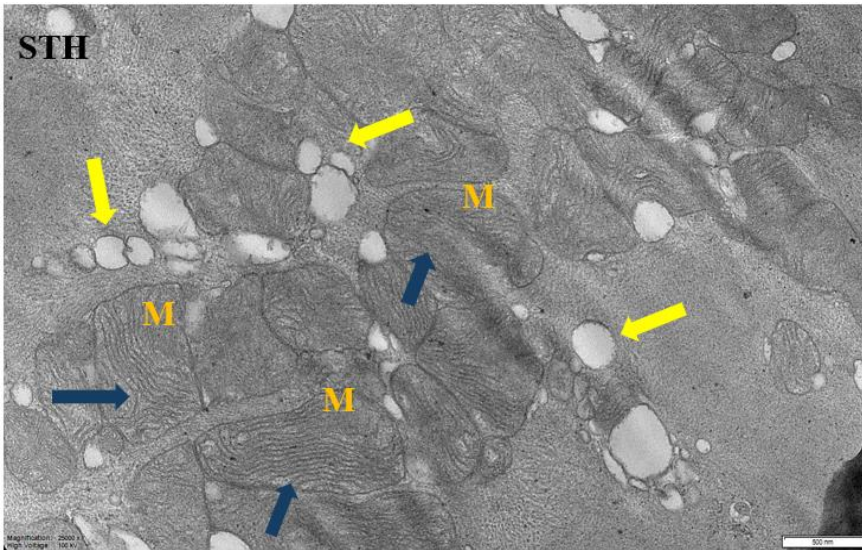
Şekil 5. DLM grubu TEM görüntüsü (M=Mitokondri, S=Sarkomer).

HTK grubuna ait TEM görüntüsünde mitokondri sayısında ileri derecede artış gözlenmiş olup, mitokondriler genel olarak düzenli morfolojilerini korumuştur. Ayrıca sitoplazmada lipid damlacıklarında belirgin bir artış dikkat çekmektedir (Şekil 11).



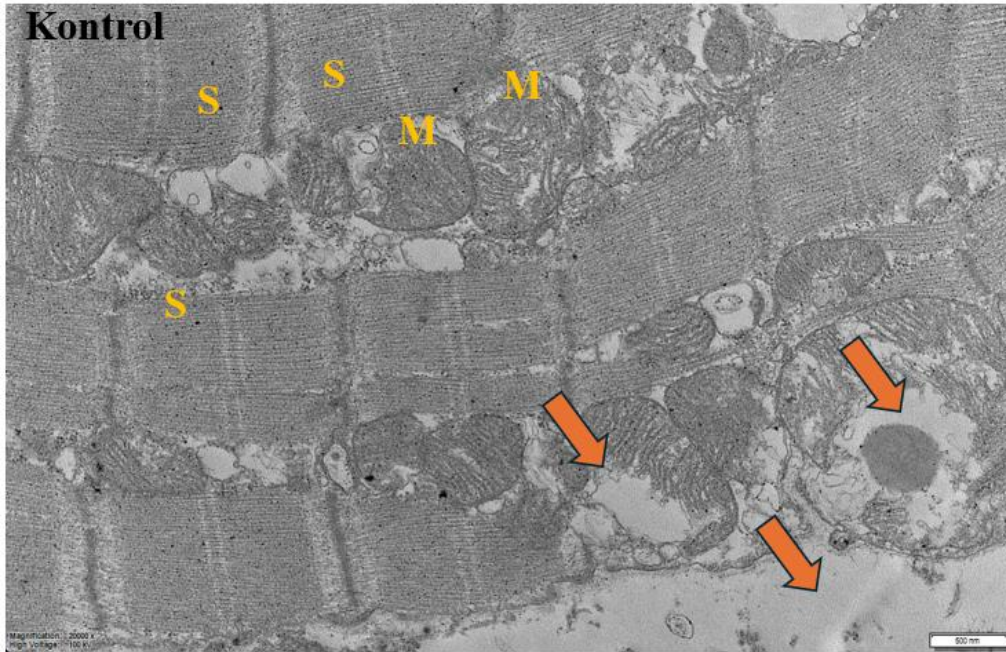
Şekil 6. HTK grubu TEM görüntüsü (Sarı ok uçları=Lipid damlacıkları).

STH grubuna ait TEM görüntülerinde mitokondrilerde hacimsel artışlar ve şekil bozuklukları dikkat çekmekte; ayrıca farklı büyüklüklerde lipid damlacıkları izlenmektedir. Mitokondri iç yapısında krista düzensizlikleri ve dış zar bütünlüğünde erimeler gözlenmiştir (Şekil 12).



Şekil 7. STH grubu TEM görüntüsü (M=Mitokondri, Sarı ok uçları=Lipid damlacıkları, Mavi ok uçları=krista düzensizlikleri).

Kontrol grubuna ait TEM analizinde, miyofibril sıraları arasında lokalize mitokondrilerde ileri derecede yapısal hasarlar gözlenmiştir. Bazı mitokondrilerde belirgin hacimsel artışlar saptanmış; zar erimeleri, krista kayıpları, kristalarda düzensizlikler, kırıklar ve yer yer krista belirsizlikleri izlenmiştir. Ayrıca atipik mitokondri morfolojileri ile bu bölgelerde vakuoler artışlar dikkat çekmiştir. Buna karşın, sitoplazmada paralel çizgilenmeler gösteren miyofibril organizasyonu ve sarkomer yapıları genel olarak düzenli morfolojilerini korumuştur (Şekil 13).



Şekil 8. Kontrol grubu TEM görüntüsü (M=Mitokondri, S=Sarkomer, Turuncu ok uçları= Ödem).

BEŞİNCİ BÖLÜM

TARTIŞMA

Bu çalışmanın temel hipotezi, diazoksit içeren normokalemik kardiyoplejinin, klasik hiperkalemik depolarizan ve hiperpolarizan kardiyopleji solüsyonlarına kıyasla I/R hasarını azaltabileceği ve miyokardiyal fonksiyonların korunmasına katkı sağlayabileceğidir. Bu amaçla diazoksit tabanlı kardiyopleji solüsyonu izole sıçan kalbinde, klinikte yaygın olarak kullanılan St. Thomas ve Custodiol HTK solüsyonları ve bir kontrol grubu ile karşılaştırılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Mitokondriyal ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının (mitoKATP) kalp koruma fiziolojisi ve kardiyak iskemi ile ilgili belirtilerin ayrılmaz bir parçası olduğuna inanılmaktadır (Chambers ve Fallouh, 2010). Diazoksit gibi çeşitli miyokard koruyucu ilaçların mitoKATP üzerinden etki ettiği ve dolayısıyla iskemik önkoşullama ve I/R hasarı sonrası enfarktüs boyutunda azalma olmak üzere kalp korumada rol oynadığı düşünülmektedir (Garlid vd., 1996).

Araştırmamızda kardiyak ödemin bir göstergesi olarak iskemi öncesi ve sonrası kalp ağırlığı parametreleri incelenmiştir. Elde edilen veriler iskemi öncesi ve sonrası kalp ağırlıkları karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). İskemi öncesi kalp ağırlığının gruplar arasında benzer olması, deney gruplarının iskemi – reperfüzyon hasarını değerlendirmek açısından başlangıçta homojen bir dağılıma sahip olduğunu göstermektedir. Bununla beraber, tüm gruplarda iskemi sonrası kalp ağırlığında artış gözlenmiş olup, bu artış DZX grubunda %9.2, DLM grubunda %14.1 ve kontrol grubunda %20.4 olarak hesaplanmıştır. Bu artış, reperfüzyon ilişkili doku ödemi olarak açıklanabilir ve reperfüzyon sürecinde gelişen ödemin en belirgin şekilde kardiyopleji verilmeyen kontrol grubunda ortaya çıktığını göstermektedir. İskemi sonrası artan kapiller geçirgenlik ve hücrel düzeyde iyon dengesizliği, miyokardiyal dokuda sıvı birikimine neden olarak kalp ağırlığını hafifçe artırabilir. Diazoksit içeren gruplar, iskemi sonrası dönemde ağırlık artışı açısından diğer gruplara benzer seyretmiştir. Bu sonuç, diazoksitin miyokard koruyucu etkisinin ödem açısından belirgin bir katkı sunmadığını düşündürmektedir. Yaygın bir varsayıma göre, potasyum kanal açıcılar, venlerden ziyade arterleri genişletme eğiliminde olduklarında, kapiller basıncı yükselterek

ödem gelişimine neden olurlar (Garner vd., 2021). Farklı bir raporda 100 mikromol diazoksitin St. Thomas kardiyoplejisine eklenmesi ile elde edilen solüsyonunun miyosit şişmesini ve buna bağlı gelişen kontraktilite kaybını önlediği bildirilmiştir (Mizutani vd., 2006). Ayrıca çalışmamızda TEM incelemesinde diazoksit grubunda hücre düzeyinde ödem bulgusuna rastlanmadığı saptanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan 200 $\mu\text{mol/L}$ DZX dozu, literatürde sıklıkla bildirilen 30-100 $\mu\text{mol/L}$ aralığının üzerindedir. Bunun temel nedeni, diazoksitin standart uygulamalardan farklı olarak ilk kez birincil ve tek başına kardiyoplejik ajan olarak kullanılmasıdır. Bu nedenle maksimum etkinin sağlanabilmesi amacıyla deneysel olarak nispeten yüksek bir konsantrasyon tercih edilmiştir. Elde edilen verilerde, DZX grubunda reperfüzyon sonrası kalp ağırlığında gözlenen artış, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık yarı düzeyde seyretmiş, HTK grubundan sonra en düşük ikinci oran olarak dikkat çekmiştir. STH grubu ile benzer düzeyde bulunması, diazoksitin ödem gelişimini sınırlandırıcı bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Literatürde, diazoksitin 30-100 $\mu\text{mol/L}$ aralığında farklı modellerde kalp koruyucu etkiler sağladığı, infarkt boyutunu azalttığı ve ventriküler fonksiyonları koruduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (Coetzee, 2013). Ancak yüksek dozlarda, mitokondriyal zar potansiyelinde dengesizlik, ATP üretiminde azalma ve iyon dengesizliği istenmeyen etkiler meydana gelebileceği de vurgulanmaktadır (Coetzee, 2013). Araştırmamızda tercih ettiğimiz 200 $\mu\text{mol/L}$ doz, literatürde sıklıkla önerilen 30-100 $\mu\text{mol/L}$ aralığının üzerinde olsa da, DZX grubunda ödem gelişimi açısından kontrol grubuna göre daha sınırlı bir artış gözlenmesi, bu dozun olası bir koruyucu etkiyi tamamen ortadan kaldırmadığını düşündürmektedir. Ancak yine de yüksek dozların mitokondriyal fonksiyonlar üzerindeki olası yan etkileri göz önüne alındığında, farklı konsantrasyonlarda yapılacak karşılaştırmalı çalışmaların gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, diazoksitin birincil kardiyoplejik madde olarak farklı konsantrasyonlarda, karşılaştırıldığı yeni deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda iskemi öncesi ve sonrası aort basıncı değerleri incelendiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (İÖ $p=0.653$, İS $p=0.328$). Diazoksit, KATP kanallarını aktive ederek damar düz kaslarında arteriyel vazodilatasyon yapan bir maddedir ve bu özelliği ile hipotansiyona yol açtığı bilinmektedir (Nichols, 2023). Ancak çalışmamızda, diazoksit içeren gruplarda, istatistiksel farklılık olmamakla beraber,

reperfüzyon sonrası aort basıncının beklenenin aksine yükseldiği gözlenmiştir. Bu durum kullanılan Langendorff izole kalp modelinde sistemik dolaşımın bulunmaması nedeniyle diazoksitin hipotansif etkisinin yansımamasına bağlanabilir. Bununla beraber, Langendorff perfüzyon sisteminde debi manuel olarak ayarlanabilmektedir. Bu sistemde debi sabit iken aort basıncındaki değişimler, koroner yataktaki direnç tarafından belirlenir. Debi sabit olduğunda, aort basıncındaki değişiklikler direkt olarak koroner vasküler tonustaki değişimleri yansıtır. Bu bağlamda diazoksit içeren gruplarda gözlenen görece yüksek aort basıncı, koroner direnç artışına işaret etmektedir. Bu durum, yüksek konsantrasyondaki diazoksitin KATP kanallarını aşırı aktive ederek hücre içi potasyum ve bunun sonucunda iyon dengesinin bozulmasına neden olabileceğini; bu dengenin bozulmasının ise endotel disfonksiyonuna ve dolaylı olarak koroner vasküler tonusta artışa yol açabilme ihtimalini düşündürmektedir.

Çalışmada gruplar arası iskemi öncesi ve sonrası LVDP değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Ancak DLM grubunda reperfüzyon sonrası LVDP değeri, diğer gruplara istatistiksel benzerlik göstermesine rağmen, belirgin şekilde azaldığı görülmüştür ($70.8 \rightarrow 2.4$ mmHg). Bu düşük LVDP değerinin ardında yatan nedenin sistolik fonksiyon kaybından çok diyastolik disfonksiyon olabileceği görülmektedir. Çünkü bu grupta LVSP değerleri büyük ölçüde korunmuş, ancak LVEDP yüksek bulunmuş ve dp/dt min değeri düşmüştür. Bu durum, kalbin yeterli kasılma gücü üretebildiği, fakat gevşeyemediğini, yani aktif diyastolik relaksasyonun bozulduğunu düşündürmektedir. Bu tabloyu ATP eksikliği ile açıklamak mümkündür. Diyastolik gevşeme aktif bir süreçtir ve sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum geri alımını sağlayan Ca^{2+} ATPaz enzimine bağlıdır. Bu enzimin aktivitesindeki azalmanın, diyastolik fonksiyondaki bozulmaya katkıda bulunduğu ifade edilmiştir (Nikolaienko vd., 2023). DLM grubunda gözlenen troponin düzeylerinin anlamlı düşük olması, bu olasılığı destekler niteliktedir; yani hücre hasarı azdır ancak enerji üretme kapasiteleri yeterli değildir. Bu tablo, mitokondriyal enerji yetersizliği kaynaklı hibernasyon ihtimalini de akla getirmektedir. Hibernasyon durumunda hücreler canlı kalır fakat kasılma-gevşeme fonksiyonları geçici olarak durabilir. Fonksiyonel baskılanmanın bir diğer muhtemel nedeni ise DLM solüsyonunun içeriğinde bulunan lidokainden kaynaklı olabilir. Lidokain, sodyum kanallarını bloke ederek elektriksel iletimi yavaşlatır, bu da geçici olarak kasılma fonksiyonunun baskılanmasına yol açabilir. Bu mekanizma sıçan kardiyak miyositlerinde yapılan çalışmalarda da ifade edilmiştir; özellikle

neonatal sıçanlarda lidokainin sodyum kanal blokajı üzerindeki etkisinin daha güçlü olduğu, dolayısıyla kasılmanın daha belirgin şekilde baskılandığı bildirilmiştir (Xu vd., 1991).

Öte yandan DLM grubunda Caspase-3 ve IL-6 düzeylerinin diğer gruplara göre istatistik olarak anlamlı olmasa da nispeten yüksek bulunması, hücresel düzeyde apoptoz ve inflamatuvar yanıtın başladığını düşündürmektedir. Ancak bu bulgularla birlikte troponin düzeylerinin düşük olması, bu süreçlerin henüz klasik nekroz veya yapısal yıkımla sonuçlanmadığını, daha çok fonksiyonel baskılanma düzeyinde kaldığını düşündürmektedir. İnflamasyonun oluşturduğu sitokin yükü ve oksidatif stres, mitokondri fonksiyonunu baskılayarak enerji üretimini azaltabilir; bu da dolaylı olarak kasılma-gevşeme kapasitesini sınırlayabilir (van Horssen vd., 2019). Ayrıca, TEM bulgularında DLM grubunda otolizozom benzeri yapılar, mitokondriyal hasar ve lipid damlacıkları izlenmiş olması, bu durumun ultrastrüktürel karşılığını yansıtmaktadır.

Tüm bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, DLM grubunda kas hücresi ölümü yerine enerji eksikliği, inflamasyon ve geçici iyon dengesizlikleri nedeniyle ortaya çıkan bir diyastolik disfonksiyon tablosu olduğu ve bu durumun multifaktöriyel bir mekanizma yoluyla geliştiği söylenebilir.

DZX grubunda ise iskemi sonrası LVDP değerinin 28.6 mmHg düzeyinde seyretmiş olması, bu grupta sistolik fonksiyonun korunduğunu göstermektedir. Dahası, aynı grupta Caspase-3 ve IL-6 ekspresyonlarının düşük, troponin düzeylerinin sınırlı olduğu, TEM analizinde ise düzenli sarkomer yapısı, düzgün mitokondri lokalizasyonu, ödem ve yağ damlacığı gözlenmediği tespit edilmiştir. Tüm bu veriler, diazoksitin hem fonksiyonel hem hücresel hem de ultrastrüktürel düzeyde koruyucu etkiler sağlayabildiğini düşündürmektedir.

Çeşitli araştırmalarda diazoksit genellikle, hiperkalemik solüsyonlara veya Krebs Henselit gibi solüsyonlara ilave edilerek kullanılmış ve LVDP'nin reperfüzyon sonrası daha iyi korunduğu rapor edilmiştir (McCully ve Levitsky, 2003). Bizim çalışmamız ise literatürdeki bu yaklaşımlardan farklı olarak, diazoksiti tek başına kardiyoplejik ajan olarak uygulayan tek çalışmadır. Bu yönüyle çalışmamız, diazoksitin bağımsız etkinliğini değerlendirme açısından literatüre yeni bir katkı sunmaktadır.

DZX ve DLM gruplarında aynı oranda (200 µmol/L) diazoksit uygulanmasına rağmen, sonuçların oldukça farklı olması dikkat çekicidir. DZX grubunda ventrikül fonksiyonunun korunmuş olması, troponin düzeylerinin, IHC ve TEM bulgularının olumlu olması, diazoksitin tek başına etkili bir kalp koruyucu madde olabileceğini düşündürmektedir. Ancak aynı konsantrasyonda diazoksit içeren DLM grubunda, fonksiyonel bozulmanın belirginleşmesi ve apoptoz/inflamasyon düzeylerinin yüksek olması, bu etkinin formülasyondaki diğer bileşenler tarafından baskılanmış olabileceğini göstermektedir. Bu bağlamda önceki paragrafta da ayrıntılı olarak ele alınan lidokainin sodyum kanal blokajı etkisinin yanı sıra DLM formülasyonunda bulunan magnezyumun kalsiyum kanal aktivitesi üzerindeki etkisi de dikkate alınmalıdır. Magnezyum kardiyak miyositlerde L tipi kalsiyum kanallarını inhibe ederek hücre içi kalsiyum girişini azaltmakta ve böylece kasılmanın şiddetini düşürmektedir. Bu etki, fizyolojik aralıktaki intraselüler magnezyum konsantrasyonlarındaki küçük değişikliklerde dahi belirgin hale gelebilmekte ve kardiyak kasılma dinamiği üzerinde önemli bir rol oynamaktadır (Agus ve Morad, 1991). Bu durum, DLM grubunda görülen fonksiyonel baskılanmanın, magnezyumun kalsiyum dinamiği üzerindeki etkileriyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Özetle DLM solüsyonunda yer alan lidokain ve magnezyum gibi yardımcı ajanların, diazoksitin olası miyokard koruyucu etkisini sınırlamış olabileceği ve bu tür kompleks formülasyonlarda bileşenler arası etkileşimin dikkatle değerlendirilmesi gerektiği anlaşılmaktadır.

Çalışmamızda, iskemi öncesi ve sonrası kalp hızı değişimleri incelenerek, deneyde kullanılan kardiyoplejik solüsyonların kardiyak ritim üzerinde etkileri değerlendirildi. Elde ettiğimiz veriler, iskemi öncesi ve sonrası kalp hızı değerlerinin gruplar arasında istatistiksel düzeyde bir farklılık olmadığını göstermiştir. Tüm gruplarda reperfüzyon sonrası kalp hızında hafif bir azalma eğilimi gözlenmiş, ancak bu azalma istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. Bununla beraber DZX kullanılan gruplarda, kalp hızı değerinin hali hazırda klinikte kullanılan diğer kardiyoplejik solüsyonlarla benzer değişim göstermesi, diazoksitin içerikli solüsyonların kardiyak ritim stabilizasyonu üzerinde koruyucu etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamıza paralel olarak McCully vd., tarafından yapılan bir çalışmada, diazoksitin hiperkalemik kan kardiyoplejisine eklenerek kullanıldığı ve 30 dakikalık bir iskemi protokolü uygulandığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ortalama arter basıncı ve kalp hızı parametrelerinde iskemi öncesi duruma göre anlamlı bir değişiklik olmadığı vurgulanmıştır (McCully vd., 2002).

Çalışmamızda, McCully çalışmasından farklı olarak diazoksiti birincil kardiyoplejik ajan olarak ve normokalemik bir formülasyonla kullanılmış; ayrıca iskemi süresi 90 dakika olarak belirlenmiştir. Bu farklılık, diazoksitin doğrudan ve bağımsız miyokard koruyucu etkilerini daha zorlu bir I/R modelinde değerlendirme fırsatı sunmuştur. Bu yönüyle çalışmamız, diazoksitin klinik uygulamalardaki potansiyel kullanımına dair farklı bir bakış açısı sağlamaktadır.

Kalbin kasılma hızı ve kasılma yeteneği ile ilişkili olan hemodinamik parametrelerden biri dp/dt max değeridir. İntraventriküler basınçtaki artışın maksimum hızını ifade eder. Yüksek dp/dt max, iyi bir kontraktilite hakkında fikir verirken, düşük bir dp/dt max değeri zayıf kontraktilite ve kardiyak fonksiyon bozukluklarını yansıtabilir. Bir diğer önemli parametre olan dp/dt min değeri; sol ventrikül gevşerken ventrikül basıncının maksimum düşüşünü yansıtır. Çalışmamızda gruplar arasında iskemi sonrası, dp/dt max ve min değerlerinde istatistiksel fark bulunmamakla beraber, özellikle izole diazoksit grubunda bu iki değer iskemi öncesine göre nispeten stabil kaldığı gözlenmiştir. Bu durum, sistolik ve diyastolik fonksiyonun birlikte korunduğuna dair fikir verme potansiyeline sahiptir. Suarez-Pierre vd., yaptıkları çalışmada, hiperkalemik kardiyoplejiye diazoksit eklenmesi ile dp/dt max değerinin %41, dp/dt min değerinin ise %33 oranında korunduğu bildirmişlerdir (Suarez-Pierre vd., 2022).

Kardiyak troponin, iskemi sonrası miyokardiyal hasarı tanımlamak için kullanılan biyobelirteçlerden biridir. Çalışmamızda iskemi sonrası troponin değerlerinde gruplar arasında farklılık bulunması nedeni ile yapılan post-hoc analizde, DLM grubu ile kontrol arasında anlamlı farklılık belirlenmiştir. Ancak DLM grubundaki bu farklılığın aynı oranda fonksiyonel parametrelere yansımaması, kontraktil fonksiyonlar üzerinde hemodinamik, hücresel ve biyokimyasal süreçlerin bütüncül olarak ele alınması gerektiğini göstermektedir. Benzer bir değerlendirme Suarez-Pierre vd.,nın yaptıkları deneysel çalışmada ifade edilmiştir. Bu çalışmada hiperkalemik kardiyopleji solüsyonuna diazoksit eklenmesinin ve eklenmeksizin uygulanan kardiyoplejik iskemi modelinde, troponin değerleri arasında fark bulunmadığını, buna karşın diazoksit eklenen grupta dp/dt min değerlerinin daha iyi korunduğu bildirilmiştir (Suarez-Pierre vd., 2022).

Çalışmamız kapsamında yapılan immünohistokimyasal analizde ölçülen caspase-3 ekspresyonu, I/R sürecinde gelişen apoptozun göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Farklı bir çalışmada hiperkalemik kardiyopleji solüsyonuna 50 µmol diazoksit eklenmesinin caspase-3 aktivitesini, diazoksit içermeyen gruplara göre azalttığı bildirilmiştir (McCully vd., 2002). Araştırmamızda özellikle diazoksit gruplarında iskemi sonrası caspase-3 değerlerinin, mevcut durumda kullanılan STH ve HTK solüsyonları ile karşılaştırıldığında benzer düzeyde kalması, apoptozun bu gruplarda sınırlı kaldığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda I/R sürecinde gelişen inflamatuvar yanıtı değerlendirmek amacıyla IL-6 düzeyleri ölçülmüştür. IL-6 gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemekle beraber, DZX ve DLM gruplarında diğer gruplara göre nispeten yüksek seyretmiştir. Ancak özellikle DZX grubunda, troponin düzeyleri, kontraktıl parametreler ve mitokondriyal bütünlüğün gözlemlendiği TEM bulguları, gözlenen inflamatuvar yanıt yüksekliğinin fonksiyonel ve yapısal bozulmaya yol açmadığını düşündürmektedir. Bu bulgular, diazoksitin inflamatuvar süreci baskılamasa da, oluşan inflamatuvar yanıtın kardiyak işlevi bozmadan tolere edilebildiğini göstermektedir. Bununla beraber, Chen vd.,nın bir hücre kültürü modeli ile yaptıkları çalışmada, 45 dakikalık hipoksi sonrası 3 dakikalık diazoksit (50 µmol/L) tedavisinin, IL-6 düzeylerini anlamlı şekilde azalttığını bildirmişlerdir (Chen vd., 2021). Benzer şekilde Nogueira vd.,nın çalışmasında, bir karaciğer I/R modelinde uygulanan diazoksit (3.5 mg/kg) sonrası, 4. saatte IL-6 düzeylerinin diazoksit grubunda anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir (Nogueira vd., 2014). Ancak bu çalışmaların doku tipi iskemi süresi, diazoksit dozu ve uygulama zamanlaması bakımından farklılık göstermesi nedeniyle, bizim çalışmamızdaki IL-6 artışı literatürde bildirilen azalma arasındaki çelişki, kullanılan model ve deney ile ilişkili koşullardan kaynaklanıyor olabilir. Bu durum diazoksitin inflamatuvar süreç üzerindeki etkisinin, doz, süre ve hedef dokuya bağlı olarak değişebileceğini göstermekte; konunun daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç duyduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda transmisyon elektron mikroskopisi (TEM) analizi, iskemi reperfüzyon hasarı ve mitokondriyal disfonksiyonun ultrastrüktürel düzeydeki göstergelerinden biri olarak kullanılmıştır. Çalışma kapsamında elde ettiğimiz verilere göre; DZX grubunda, mitokondriyal yapılar düzenli, kristalar korunmuş ve kalsiyum birikimi sınırlı bulunmuştur. Bu bulgular, diazoksitin mitokondriyi stabil duruma getiren etkisini ve I/R hasarını

sınırladığını göstermektedir. Benzer bir şekilde McCully vd., tarafından yapılan bir domuz KPB modelinde, diazoksit eklenen hiperkalemik kardiyopleji kullanılan grupta mitokondri yapısının korunduğu, kalsiyum granüllerinin daha az olduğu ve korunmuş miyofilament yapısı gözlemlendiği bildirilmiştir (McCully vd., 2002).

Farklı bir araştırmada Pan vd., bir sıçan Langendorff perfüzyon sisteminde, 40 dakikalık iskemi sonrası 2 dakika boyunca 50 μ M diazoksit içeren KH solüsyonuyla reperfüze etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda diazoksit tedavisi verilen grupta TEM sonuçlarına göre; mitokondriyal granüllerin daha az olduğu, kristalların sağlam olduğu ve mitokondri zarlarının bozulmadığı gözlemlenmiştir (Pan vd., 2021). Farklı bir Langendorff tavşan kalbi perfüzyon deneyinde Rousou vd., kalplere kardiyopleji vermek suretiyle 30 dakikalık iskemi uygulamışlardır. Çalışma sonucunda elde edilen TEM sonuçlarına göre hiperkalemik kardiyopleji kalplerinde, şişmiş ve elektron yoğun mitokondriler; diazoksit ilaveli kardiyopleji kalplerinde ise benzer görüntüler olmakla beraber, mitokondriler içerisinde daha az kalsiyum granülü olduğu ifade edilmiştir (Rousou vd., 2004).

5.1. Limitasyonlar

Çalışmamızın bazı kısıtlamaları mevcuttur. Öncelikle, deneysel model olarak kullanılan Langendorff izole sıçan perfüzyon modeli, sistemik dolaşımdan bağımsız olması nedeniyle hemodinamik değişimlerin ve kullanılan solüsyonların sistemik etkilerini değerlendirmede kısıtlayıcıdır. Bu çalışma, oksijen iletimi için kristalloid tamponlar kullanan bir ex-vivo perfüzyon cihazı ile perfüze edilen izole fare kalplerinde gerçekleştirildi. Hemoglobın ve plazma proteinlerinin yokluğu, kapiller sistemi düşük onkotik basınca maruz bırakırken yüksek seviyelerde parsiyel oksijen basıncı sağlamayı gerektirir. Koroner hastalık ve miyokardiyal iskemi, yaşla birlikte daha yaygın hale gelen çok faktörlü süreçlerdir, ancak bu çalışmada kullanılan kalpler sağlıklı farelerden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan diazoksit konsantrasyonu sabit tutulmuş, farklı dozların karşılaştırılmalı etkileri incelenmemiştir. Oysa literatürde diazoksitin doz bağımlı etkileri olduğu belirtilmektedir; bu nedenle farklı konsantrasyonların değerlendirilmesi miyokard koruyucu etkinliğin daha kapsamlı bir şekilde analizine olanak sağlayabilirdi. Öte yandan DLM grubunun içeriğindeki diğer bileşenlerin diazoksit üzerindeki etkileri izole edilememiştir; bu da formülasyona özgü etkilerin ayrıştırılmasını güçleştirmektedir. Son

olarak örneklem büyüklüğünün sınırlı olması bazı parametrelerde istatistiksel anlamlılık elde edilmesini engellemiş olabilir. Bulguların daha güçlü şekilde desteklenebilmesi için daha geniş örnekleme sahip çalışmalar yapılması gerekmektedir.



ALTINCI BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu deneysel çalışma, diazoksit tabanlı normokalemik kardiyoplejinin, kalp koruma stratejisi olarak hem fonksiyonel hem de hücresel düzeyde potansiyel avantajlar sunabileceğini göstermektedir. Bulgularımız DZX grubunda kardiyak kontraktilite ile ilişkili fonksiyonların mevcut solüsyonlardan aşağı olmadığını, troponin düzeyleri, apoptoz ve inflamasyon belirteçleri açısından benzer olduğu ve mitokondriyal yapıların ultrastrüktürel düzeyde daha iyi korunduğunu göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, diazoksitin izole olarak kullanıldığında kardiyak hücreleri yapısal ve fonksiyonel düzeyde koruma potansiyeline sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu doğrultuda diazoksitin klinik uygulamalarda mevcut solüsyonlara alternatif bir kardiyoplejik madde olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek üzere, farklı dozlarda, farklı formülasyonlarla ve klinik gerçekliğe daha yakın modellerde yapılacak ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Aguilar, G., Koning, T., Ehrenfeld, P., ve Sánchez, F. A. (2020). “Role of NO and S-nitrosylation in the Expression of Endothelial Adhesion Proteins That Regulate Leukocyte and Tumor Cell Adhesion”. *Frontiers in Physiology*, 11(November), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.595526>
- Agus, Z. S., ve Morad, M. (1991). “Modulation of cardiac ion channels by magnesium”. *Annual Review of Physiology*, 53(1), 299–307. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.53.1.299>
- Aldea, G. S., Hou, D., Fonger, J. D., ve Shemin, R. J. (1994). “Inhomogeneous and complementary antegrade and retrograde delivery of cardioplegic solution in the absence of coronary artery obstruction”. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 107(2), 499–504. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(94\)70095-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(94)70095-8)
- Algarni, K. D., Maganti, M., ve Yau, T. M. (2011). “Predictors of low cardiac output syndrome after isolated coronary artery bypass surgery: Trends over 20 years”. *Annals of Thoracic Surgery*, 92(5), 1678–1684. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.06.017>
- Ali, J. M., Miles, L. F., Abu-Omar, Y., Galhardo, C., ve Falter, F. (2018). “Global Cardioplegia Practices: Results from the Global Cardiopulmonary Bypass Survey”. *The Journal of ExtraCorporeal Technology* 50(2), 83-93.
- Allen, B. S. (2004). “Pediatric myocardial protection: Where do we stand?” *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 128(1), 11–13. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2004.03.017>
- Åmark, K., Berggren, H., Björk, K., Ekroth, A., Ekroth, R., Nilsson, K., ve Sunnegårdh, J. (2005). “Blood cardioplegia provides superior protection in infant cardiac surgery”. *Annals of Thoracic Surgery*, 80(3), 989–994. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2005.03.095>
- Anastacio, M. M., Kanter, E. M., Makepeace, C., Keith, A. D., Zhang, H., Schuessler, R. B., Nichols, C. G., ve Lawton, J. S. (2013). “Cardioprotective mechanism of diazoxide involves the inhibition of succinate dehydrogenase”. *Annals of Thoracic Surgery*, 95(6), 2042–2050. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2013.03.035>

- Ascione, R., Caputo, M., Gomes, W. J., Lotto, A. A., Bryan, A. J., Angelini, G. D., ve Suleiman, M. S. (2002). "Myocardial injury in hypertrophic hearts of patients undergoing aortic valve surgery using cold or warm blood cardioplegia". *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 21(3), 440–446. [https://doi.org/10.1016/S1010-7940\(01\)01168-X](https://doi.org/10.1016/S1010-7940(01)01168-X)
- Avkiran, M. (1996). "Sodium-hydrogen exchange in myocardial ischemia and reperfusion: a critical determinant of injury?" *Exs*, 76, 299–311. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8988-9_18
- Barner, H. B. (1991). "Blood cardioplegia: A review and comparison with crystalloid cardioplegia". *The Annals of Thoracic Surgery* (52(6), 1354–1367). [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(91\)90034-N](https://doi.org/10.1016/0003-4975(91)90034-N)
- Beckman, J. S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A., ve Freeman, B. A. (1990). "Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide (endothelium-derived relaxing factor/desferrioxamine/ischemia/superoxide dismutase). In Proc. Nati. Acad. Sci. USA (Vol. 87).
- Bell, R. M., Mocanu, M. M., ve Yellon, D. M. (2011). "Retrograde heart perfusion: The Langendorff technique of isolated heart perfusion". *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 50(6), 940–950. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2011.02.018>
- Bond, J. M., Chacon, E., Herman, B., ve Lemasters, J. J. (1993). "Intracellular pH and Ca²⁺ homeostasis in the pH paradox of reperfusion injury to neonatal rat cardiac myocytes". *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 265(134-1). <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1993.265.1.c129>
- Bradić, J., Andjić, M., Novaković, J., Jeremić, N., ve Jakovljević, V. (2023). "Cardioplegia in Open Heart Surgery: Age Matters". *Journal of Clinical Medicine* (Vol. 12, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jcm12041698>
- Braimbridge, M. V., Chayen, J., Bitensky, L., Hearse, D. J., Jynge, P., ve Canković-Darracott, S. (1977). "Cold cardioplegia or continuous coronary perfusion? Report on preliminary clinical experience as assessed cytochemically". *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 74(6), 900–906.

- Brewer, D. L., Bilbro, R. H., ve Bartel, A. G. (1973). Myocardial Infarction as a Complication of Coronary Bypass Surgery Address for reprints. Erişim Tarihi: 24.06.2025, <http://ahajournals.org>
- Buckberg, G. D. (1995). "Update on Current Techniques of Myocardial Protection". *Ann Thorac Surg* 60, 805– 14. 44
- Busche, M. N., Pavlov, V., Takahashi, K., ve Stahl, G. L. (2009). "Myocardial ischemia and reperfusion injury is dependent on both IgM and mannose-binding lectin". *am j physiol heart circ physiol*, 297, 1853–1859. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00049.2009.-Com>
- Caldarone, C. A., Krukenkamp, I. B., Misare, B. D., ve Levitsky, S. (1994). "Perfusion deficits with retrograde warm blood cardioplegia". *The Annals of Thoracic Surgery*, 57(2), 403–406. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(94\)91006-5](https://doi.org/10.1016/0003-4975(94)91006-5)
- Campos-Ríos, A., Rueda-Ruzafa, L., Herrera-Pérez, S., Rivas-Ramírez, P., ve Lamas, J. A. (2021). "Tetrodotoxin: A new strategy to treat visceral pain?" *Toxins*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/toxins13070496>
- Chambers, D. J., ve Fallouh, H. B. (2010). "Cardioplegia and cardiac surgery: Pharmacological arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion". *Pharmacology and Therapeutics* 127(1), 41–52). <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.04.001>
- Chambers, D. J., ve Hearse, D. J. (2001). "Cardioplegia and Surgical Ischemia. In Heart Physiology and Pathophysiology" (Fourth Edi). ACADEMIC PRESS. <https://doi.org/10.1016/b978-012656975-9/50053-5>
- Chao, W. (2009). "Toll-like receptor signaling: a critical modulator of cell survival and ischemic injury in the heart Chao W. Toll-like receptor signaling: a critical modulator of cell survival and ischemic injury in the heart". *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 296. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00995.2008.-Toll-like>
- Chen, X. Y., Wang, J. Q., Cheng, S. J., Wang, Y., Deng, M. Y., Yu, T., Wang, H. Y., ve Zhou, W. J. (2021). "Diazoxide post-conditioning activates the hif-1/hre pathway to induce myocardial protection in hypoxic/reoxygenated cardiomyocytes". *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8(December), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.711465>

- Coetzee, W. A. (2013). "Multiplicity of effectors of the cardioprotective agent, diazoxide". *Pharmacology and Therapeutics*, 140(2), 167–175. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.06.007>
- Cooley, D. A., Belmonte, B. A., De Baxey, M. E., ve Latson, J. R. (1956). Temporary Extracorporeal Circulation in the Surgical Treatment of Cardiac and Aortic Disease Report of 98 Cases *.
- Dahlem, Y. A., Horn, T. F. W., Buntinas, L., Gonoï, T., Wolf, G., ve Siemen, D. (2004). "The human mitochondrial KATP channel is modulated by calcium and nitric oxide: A patch-clamp approach". *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1656(1), 46–56. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2004.01.003>
- de Oliveira, M. A. B., Brandi, A. C., dos Santos, C. A., Cortez, J. L. L., ve Braile, D. M. (2014). "Modes of induced cardiac arrest: Hyperkalemia and hypocalcemia-literature review". *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 29(3), 432–436. <https://doi.org/10.5935/1678-9741.20140074>
- Diao, H., Gu, H., ve Chen, Q. M. (2023). "Hyperkalemic or low potassium cardioplegia protects against reduction of energy metabolism by oxidative stress". *Antioxidants*, 12(2), 452 <https://doi.org/10.3390/antiox12020452>
- Dobson, G. P., Faggian, G., Onorati, F., ve Vinten-Johansen, J. (2013a). "Hyperkalemic cardioplegia for adult and pediatric surgery: end of an era?" *Frontiers in Physiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00228>
- Edelman, J. J. B., Seco, M., Dunne, B., Matzelle, S. J., Murphy, M., Joshi, P., Yan, T. D., Wilson, M. K., Bannon, P. G., Vallely, M. P., ve Passage, J. (2013). "Custodiol for myocardial protection and preservation: a systematic review". *Annals of Cardiothoracic Surgery*, 2(6), 717–728. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2225-319X.2013.11.10>
- Eisner, D. A., Caldwell, J. L., Kistamás, K., ve Trafford, A. W. (2017). "Calcium and excitation-contraction coupling in the heart". *Circulation Research*, 121(2), 181–195. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.310230>

- Emerson, J. I., Ariel, P., Shi, W., ve Conlon, F. L. (2023). “Sex differences in mouse cardiac electrophysiology revealed by simultaneous imaging of excitation-contraction coupling”. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/jcdd10120479>
- Follette, D. M., Mulder, D. G., Maloney, J. V., ve Buckberg, G. D. (1978). “Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion or intermittent ischemia. Experimental and clinical study”. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 76(5), 604–619. [https://doi.org/10.1016/s0022-5223\(19\)41007-6](https://doi.org/10.1016/s0022-5223(19)41007-6)
- Francica, A., Tonelli, F., Rossetti, C., Tropea, I., Luciani, G. B., Faggian, G., Dobson, G. P., ve Onorati, F. (2021a). “Cardioplegia between evolution and revolution: From depolarized to polarized cardiac arrest in adult cardiac surgery”. *Journal of Clinical Medicine* (Vol. 10, Issue 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jcm10194485>
- Francica, A., Tonelli, F., Rossetti, C., Tropea, I., Luciani, G. B., Faggian, G., Dobson, G. P., ve Onorati, F. (2021b). “Cardioplegia between evolution and revolution: From depolarized to polarized cardiac arrest in adult cardiac surgery”. *Journal of Clinical Medicine* (Vol. 10, Issue 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jcm10194485>
- Garlid, K. D., Paucek, P., Yarov-Yarovoy, V., Sun, X., ve Schindler, P. A. (1996). “The mitochondrial KATP channel as a receptor for potassium channel openers”. *Journal of Biological Chemistry*, 271(15), 8796–8799. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.15.8796>
- Garner, B. R., Stolarz, A. J., Stuckey, D., Sarimollaoglu, M., Liu, Y., Palade, P. T., Rusch, N. J., ve Mu, S. (2021). “KATP channel openers inhibit lymphatic contractions and lymph flow as a possible mechanism of peripheral edema”. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 376(1), 40–50. <https://doi.org/10.1124/jpet.120.000121>
- Gott, V. L. (1990). “C. Walton Lillehei and total correction of tetralogy of Fallot”. *The Annals of Thoracic Surgery*, 49(2), 328–332. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(90\)90167-5](https://doi.org/10.1016/0003-4975(90)90167-5)
- Hausenloy, D. J., ve Yellon, D. M. (2013). “Myocardial ischemia-reperfusion injury: A neglected therapeutic target”. *Journal of Clinical Investigation*, 123(1), 92–100. <https://doi.org/10.1172/JCI62874>

- Hayashida, N., Ikonomidis, J. S., Weisel, R. D., Shirai, T., Ivanov, J., Carson, S. M., Mohabeer, M. K., Tumiat, L. C., ve Mickle, D. A. G. (1994). "The optimal cardioplegic temperature". *The Annals of Thoracic Surgery*, 58(4), 961–971. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(94\)90439-1](https://doi.org/10.1016/0003-4975(94)90439-1)
- He, G. W. (2005). "Endothelial function related to vascular tone in cardiac surgery". *Heart Lung and Circulation* 14(1), 13–18). *Australasian Society of Cardiac Thoracic Surgeons*. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2004.11.003>
- Hicks, G. L. (1986). "Cardioplegia and Pharmacokinetics Verapamil-Pbtassium Cardioplegia: A Two-Year Experience with 470 Patients". *Texas Heart Institute Journal*, 13(1), 69–75.
- Holman, W. L., Timpa, J., ve Kirklin, J. K. (2022). "Origins and Evolution of Extracorporeal Circulation: JACC Historical Breakthroughs in Perspective". *Journal of the American College of Cardiology*, 79(16), 1606–1622. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.02.027>
- Horsley, W. S., Whitlark, J. D., Hall, J. D., Gott, J. P., Pan-Chih, Huang, A. H., Park, Y., Jones, D. P., ve Guyton, R. A. (1993). "Revascularization for acute regional infarct: Superior protection with warm blood cardioplegia". *The Annals of Thoracic Surgery*, 56(6), 1228–1238. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(93\)90658-5](https://doi.org/10.1016/0003-4975(93)90658-5)
- Hoyer, E., Knöppel, J., Liebmann, M., Steppert, M., Raiwa, M., Herczynski, O., Hanspach, E., Zehner, S., Göttfert, M., Tsushima, S., Fahmy, K., ve Oertel, J. (2019). "Calcium binding to a disordered domain of a type III-secreted protein from a coral pathogen promotes secondary structure formation and catalytic activity". *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42898-0>
- Hua, T., Chu, Y., Wang, M., Zhang, Y., Shi, W., Huang, Q., Zhang, L., ve Yang, M. (2023). "Protective effect of canagliflozin on post-resuscitation myocardial function in a rat model of cardiac arrest". *Intensive Care Medicine Experimental*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s40635-023-00562-y>
- Hugh Dorman, B., Brent New, R., Bond, B. R., Mukherjee, R., Mukhin, Y. V, McElmurray, J. H., Spinale, F. G., ve Dorman, H. (2000). "Myocyte endothelin exposure during cardioplegic arrest exacerbates contractile dysfunction after reperfusion". In *Anesth Analg* (Vol. 90). <http://journals.lww.com/anesthesia-analgesia>

- Hwang, B., Williams, M. L., Tian, D. H., Yan, T. D., ve Misfeld, M. (2022). “Coronary artery bypass surgery for acute coronary syndrome: A network meta-analysis of on-pump cardioplegic arrest, off-pump, and on-pump beating heart strategies”. *Journal of Cardiac Surgery*, 37(12), 5290–5299. <https://doi.org/10.1111/jocs.17149>
- Ikonomidis, J. S., Yau, T. M., Weisel, R. D., Hayashida, N., Fu, X., Komeda, M., Ivanov, J., Carson, S., Mohabeer, M. K., Tumiati, L., ve Mickle, D. A. G. (1994). “Optimal flow rates for retrograde warm cardioplegia”. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 107(2), 510–519. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(94\)70097-4](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(94)70097-4)
- James, T. M., Nores, M., Rousou, J. A., Lin, N., ve Stamou, S. C. (2020). “Warm blood cardioplegia for myocardial protection: Concepts and controversies”. *Texas Heart Institute Journal*, 47(2), 108–116. <https://doi.org/10.14503/THIJ-18-6909>
- John Lewis, F., Taufic, M., VARco, Ri. L., ve NiAZI, S. (1955). The Surgical Anatomy of Atrial Septal Defects: Experiences with Repair Under Direct Vision’.
- Jones, B., Hayden, M., Fraser, J. F., ve Janes, E. (2005). “Low cardiac output syndrome in children”. *Current Anaesthesia and Critical Care*, 16(6), 347–358. <https://doi.org/10.1016/j.cacc.2006.02.011>
- Kaijser, L., Jansson, E., Schmidt, W., ve Bomfim, V. (1985). “Myocardial energy depletion during profound hypothermic cardioplegia for cardiac operations”. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 90(6), 896–900. [https://doi.org/10.1016/s0022-5223\(19\)38515-0](https://doi.org/10.1016/s0022-5223(19)38515-0)
- Kaplan, P., Hendrikx, M., Mattheussen, M., Mubagwa, K., ve Flameng, W. (1992). Effect of Ischemia and Reperfusion on Sarcoplasmic Reticulum Calcium Uptake. Erişim Tarihi: 15.06.2025, <http://circres.ahajournals.org/>
- Katoshevski, T., Bar, L., Tikochinsky, E., Harel, S., Ben-Kasus Nissim, T., Bogeski, I., Hershinkel, M., Attali, B., ve Sekler, I. (2022). “CKII Control of Axonal Plasticity Is Mediated by Mitochondrial Ca²⁺ via Mitochondrial NCLX”. *Cells*, 11(24), 1–19. <https://doi.org/10.3390/cells11243990>
- Khaliulin, I., Halestrap, A. P., ve Saadeh Suleiman, M. (2011). “Temperature preconditioning is optimal at 26°C and confers additional protection to hypothermic cardioplegic ischemic

- arrest". *Experimental Biology and Medicine*, 236(6), 736–745. <https://doi.org/10.1258/ebm.2011.010357>
- Kirklin, J.W. , C. V. B. E. (1979). "Prevention of myocardial damage during cardiac operations". *N Engl J Med.*, 301(3), 135–141. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/377074/>
- Krajewska, M., Szewczyk, A., Kulawiak, B., ve Koprowski, P. (2023). "Pharmacological characterization of a recombinant mitochondrial ROMK2 potassium channel expressed in bacteria and reconstituted in planar lipid bilayers". *Membranes*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/membranes13030360>
- Kusuoka, H., Porterfield, J. K., Weisman, H. F., Weisfeldt, M. L., ve Marban, E. (1987). Pathophysiology and Pathogenesis of Stunned Myocardium Depressed Ca^{2+} Activation of Contraction as a Consequence of Reperfusion-induced Cellular Calcium Overload in Ferret Hearts.
- Lawton, J. S., Sepic, J. D., Allen, C. T., Hsia, P. W., ve Damiano, R. J. (1996). "Myocardial protection with potassium-channel openers is as effective as St. Thomas' solution in the rabbit heart". *Annals of Thoracic Surgery*, 62(1), 31–39. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(96\)00260-3](https://doi.org/10.1016/0003-4975(96)00260-3)
- Ledingham, S. J. M., Braimbridge, M. V., ve Hearse, D. J. (1987). "The St. Thomas' Hospital cardioplegic solution. A comparison of the efficacy of two formulations". *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 93(2), 240–246. [https://doi.org/10.1016/s0022-5223\(19\)36446-3](https://doi.org/10.1016/s0022-5223(19)36446-3)
- Leicher FG, M. P. L. P. D. W. B. M. A. WG. (1983). "Kan kardioplejisi uygulaması. Potasyumun lidokaine karşı zararlı etkileri". *Ann Surg.*, 198(3), 266–272. <https://doi.org/doi:10.1097/00000658-198309000-00003>.
- Li, S., Long, C., Chang, Q., Zhang, D., Strickler, A. G., ve Nussmeier, N. A. (2001). "Myocardial protection of warm blood cardioplegic induction during cardiopulmonary bypass". *Journal of Extra-Corporeal Technology*, 33(2), 106–110. <https://doi.org/10.1051/ject/2001332106>
- Li, Y., Iguchi, A., Tsuru, Y., Nakame, T., Satou, K., ve Tabayashi, K. (2000). "Nicorandil pretreatment and improved myocardial protection during cold blood cardioplegia". *The*

Japanese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery : Official Publication of the Japanese Association for Thoracic Surgery = Nihon Kyōbu Geka Gakkai Zasshi, 48(1), 24–29. <https://doi.org/10.1007/BF03218081>

Lichtenstein, S. V., Abel, J. G., ve Salerno, T. A. (1991). “Warm heart surgery and results of operation for recent myocardial infarction”. *The Annals of Thoracic Surgery*, 52(3), 455–460. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(91\)90905-6](https://doi.org/10.1016/0003-4975(91)90905-6)

Light, M., Phosphorylation, C., Bil-lula, I., ve Hało, A. (2024). RhoA / ROCK Pathway Is Upregulated in Experimental Autoimmune Myocarditis and Is Inhibited by Simvastatin at the.

Lin, J., M. I. T. T. G. N. I. N. (2002). NII-Electronic Library Service. Chemical Pharmaceutical Bulletin, 43, 2091. Erişim Tarihi: 14.06.2025, <http://www.mendeley.com/research/geology-volcanic-history-eruptive-style-yakedake-volcano-group-central-japan/>

Lira, K. B., Delvaux, R. S., Spadini, F. A., Hauschild, L. H., Ceron, R. O., Anschau, F., Kopittke, L., Rode, J., Rey, R. A. W., Wittke, E. I., Rombaldi, A. R., Cambruzzi, E., Lopes, E. R. C., ve Almeida, A. S. (2024). “Myocardial protection: comparing histological effects of single-dose cardioplegic solutions—study protocol for a secondary analysis of the CARDIOPLEGIA trial”. *Journal of Thoracic Disease*, 16(2), 1480–1487. <https://doi.org/10.21037/jtd-23-1442>

Longchamp, A., Harputlugil, E., Corpataux, J. M., Ozaki, C. K., ve Mitchell, J. R. (2017). “Is overnight fasting before surgery too much or not enough? how basic aging research can guide preoperative nutritional recommendations to improve surgical outcomes: a mini-review”. *Gerontology*, 63(3), 228–237. <https://doi.org/10.1159/000453109>

Lopez, J. R., Jahangir, R., Jahangir, A., Shen, W. K., ve Terzic, A. (1996). “Potassium channel openers prevent potassium-induced calcium loading of cardiac cells: Possible implications in cardioplegia”. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 112(3), 820–831. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(96\)70070-3](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(96)70070-3)

Maffit, S. K., Sellitto, A. D., Al-Dadah, A. S., Schuessler, R. B., Damiano, R. J., ve Lawton, J. S. (2012). “Diazoxide maintains human myocyte volume homeostasis during stress”. *Journal of the American Heart Association*, 1(2). <https://doi.org/10.1161/jaha.112.000778>

- Man, W., Ming, D., Fang, D., Chao, L., ve Jing, C. (2014). “Dimethyl sulfoxide attenuates hydrogen peroxide-induced injury in cardiomyocytes via heme oxygenase-1”. *Journal of Cellular Biochemistry*, 115(6), 1159–1165. <https://doi.org/10.1002/jcb.24761>
- Matsuzaki, I., Chatterjee, S., DeBolt, K., Manevich, Y., Zhang, Q., ve Fisher, A. B. (2005). “Membrane depolarization and NADPH oxidase activation in aortic endothelium during ischemia reflect altered mechanotransduction”. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 288(1 57-1). <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00025.2004>
- Matte, G. S., ve Del Nido, P. J. (2012). History and Use of del Nido Cardioplegia Solution at Boston Children’s Hospital.
- McCully, J. D., ve Levitsky, S. (2003). “The mitochondrial KATP channel and cardioprotection”. *Annals of Thoracic Surgery*, 75(2). [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(02\)04689-1](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(02)04689-1)
- McCully, J. D., Wakiyama, H., Cowan, D. B., Federman, M., Parker, R. A., ve Levitsky, S. (2002). “Diazoxide amelioration of myocardial injury and mitochondrial damage during cardiac surgery”. *Annals of Thoracic Surgery*, 74(6), 2138–2146. [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(02\)04348-5](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(02)04348-5)
- Menasché, P., Mouas, C., ve Grousset, C. (1996). Is Potassium Channel Opening an Effective Form of Preconditioning Before Cardioplegia?
- Menasché, P., Fleury, J. P., Veyssié, L., Le Dref, O., Touchot, B., Piwnica, A. H., ve Gérard, B. (1993). “Limitation of vasodilation associated with warm heart operation by a “mini-cardioplegia” delivery technique”. *The Annals of Thoracic Surgery*, 56(5), 1148–1153. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(95\)90033-0](https://doi.org/10.1016/0003-4975(95)90033-0)
- Mick, S. L., Robich, M. P., Houghtaling, P. L., Gillinov, A. M., Soltesz, E. G., Johnston, D. R., Blackstone, E. H., ve Sabik, J. F. (2015). “Del Nido versus Buckberg cardioplegia in adult isolated valve surgery”. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 149(2), 626-636.e5. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2014.10.085>
- Mizutani, S., Al-Dadah, A. S., Bloch, J. B., Prasad, S. M., Diodato, M. D., Schuessler, R. B., Damiano, R. J., ve Lawton, J. S. (2006). “Hyperkalemic cardioplegia-induced myocyte

- swelling and contractile dysfunction: Prevention by diazoxide”. *Annals of Thoracic Surgery*, 81(1), 154–159. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2005.06.057>
- Moh’d, A. F., Khasawneh, M. A., Al-Odwan, H. T., Alghoul, Y. A., Makahleh, Z. M., ve Altarabsheh, S. E. (2021). “Postoperative cardiac arrest in cardiac surgery—how to improve the outcome?” *Medical Archives*, 75(2), 149–153. <https://doi.org/10.5455/medarh.2021.75.149-153>
- Nelli, S., Wilson, W. S., Laidlaw, H., Llano, A., Middleton, S., Price, A. G., ve Martin, W. (2003). “Evaluation of potassium ion as the endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) in the bovine coronary artery”. *British Journal of Pharmacology*, 139(5), 982–988. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705329>
- Nguemo, F., Semmler, J., Reppel, M., ve Hescheler, J. (2014). “Modulation of L-type calcium current by intracellular magnesium in differentiating cardiomyocytes derived from induced pluripotent stem cells”. *Stem Cells and Development*, 23(12), 1316–1327. <https://doi.org/10.1089/scd.2013.0549>
- Nichols, C. G. (2006). “KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism”. *Nature*, 440(7083), 470–476. <https://doi.org/10.1038/nature04711>
- Nichols, C. G. (2023). “Personalized therapeutics for k atp-dependent pathologies HHS public access”. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 63, 541–563. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-051921-123023>. Personalized
- Nikolaienko, R., Bovo, E., Yuen, S. L., Treinen, L. M., Berg, K., Aldrich, C. C., Thomas, D. D., Cornea, R. L., ve Zima, A. V. (2023). New N-aryl-N-alkyl-thiophene-2-carboxamide compound enhances intracellular Ca²⁺ dynamics by increasing SERCA2a Ca²⁺ pumping. *Biophysical Journal*, 122(2), 386–396. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2022.12.002>
- Nogueira, M. A., Coelho, A. M. M., Sampietre, S. N., Patzina, R. A., Da Silva, F. P., D’Albuquerque, L. A. C., ve Machado, M. C. C. (2014). “Beneficial effects of adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel opener on liver ischemia/reperfusion injury”. *World Journal of Gastroenterology*, 20(41), 15319–15326. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i41.15319>

- Noma, A. (1983). "ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle". *Nature*, Vol. 305, Issue 5930, pp. 147–148). <https://doi.org/10.1038/305147a0>
- Norman, J. C. (1978). "Notes of a cardioplegia-watcher: Antiquities and state-of-the-art". *Cardiovascular Diseases*, 5(4), 323–327.
- O'Brien, J. D., Howlett, S. E., Burton, H. J., O'Blenes, S. B., Litz, D. S., ve Friesen, C. L. H. (2009). "Pediatric cardioplegia strategy results in enhanced calcium metabolism and lower serum troponin". *Annals of Thoracic Surgery*, 87(5), 1517–1523. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2009.02.067>
- Okun, R., Wilson, W. R., ve Gelfand, M. D. (1964). "The hyperglycemic effect of hypotensive drugs". *Journal of Chronic Diseases*, 17(1), 31–39. [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(64\)90037-2](https://doi.org/10.1016/0021-9681(64)90037-2)
- Onorati, F., Santini, F., Dandale, R., Ucci, G., Pechlivanidis, K., Menon, T., Chiominto, B., Mazzucco, A., ve Faggian, G. (2013). "Polarizing" microplegia improves cardiac cycle efficiency after CABG for unstable angina. *International Journal of Cardiology*, 167(6), 2739–2746. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.06.099>
- Özatik, O., Koçman, A. E., Dağ, İ., Köse, A. A., Musmul, A., ve Şengel, T. (2016). "Periferik sinirde kronik konstruksiyon hasarı tedavisi uzerine dekompresyonun etkisi". *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 22(4), 597–604. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.15126>
- Pan, Y., Wang, Y., Shi, W., Liu, Y., Cao, S., ve Yu, T. (2021). "Mitochondrial proteomics alterations in rat hearts following ischemia/reperfusion and diazoxide post-conditioning". *Molecular Medicine Reports*, 23(2), 1–9. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11800>
- Park, K. S., Poburko, D., Wollheim, C. B., ve Demarex, N. (2009). "Amiloride derivatives induce apoptosis by depleting ER Ca²⁺ stores in vascular endothelial cells". *British Journal of Pharmacology*, 156(8), 1296–1304. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00133.x>
- Pugsley, M. K., Guth, B., Chiang, A. Y., Doyle, J. M., Engwall, M., Guillon, J. M., Hoffmann, P. K., Koerner, J. E., Mittelstadt, S. W., Pierson, J. B., Rossman, E. I., Sarazan, D. R., ve Parish, S. T. (2017). "An evaluation of the utility of LVdP/dt40, QA interval, LVdP/dtmin and Tau

as indicators of drug-induced changes in contractility and lusitropy in dogs”. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 85, 1–21.
<https://doi.org/10.1016/j.vascn.2017.01.002>

Radomski MW, Palmer RM, M. S. (1987). “Endojen nitrik oksit, insan trombositlerinin vasküler endotele yapışmasını engeller”. *Lancet*, 7(2), 1057–1058.

Radovits, T., Lin, L. ni, Zotkina, J., Koch, A., Rauen, U., Köhler, G., Karck, M., ve Szabó, G. (2008). “Endothelial dysfunction after long-term cold storage in htk organ preservation solutions: effects of iron chelators and n- α -acetyl-l-histidine”. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, 27(2), 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2007.11.002>

Rastan, A. J., Eckenstein, J. I., Hentschel, B., Funkat, A. K., Gummert, J. F., Doll, N., Walther, T., Falk, V., ve Mohr, F. W. (2006). “Emergency coronary artery bypass graft surgery for acute coronary syndrome: Beating heart versus conventional cardioplegic cardiac arrest strategies”. *Circulation*, 114(SUPPL. 1).

Robinson, L. A., Douglas Schwarz, G., Goddard, D. B., Fleming, W. H., ve Galbraith, T. A. (1995). “Myocardial protection for acquired heart disease surgery: results of a national survey”. *Ann Thorac Surg* (Vol. 59).

Rousou, A. J., Ericsson, M., Federman, M., Levitsky, S., ve McCully, J. D. (2004). “Opening of mitochondrial KATP channels enhances cardioprotection through the modulation of mitochondrial matrix volume, calcium accumulation, and respiration”. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 287(5 56-5), 1967–1976.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00338.2004>

Ruel, M., Khan, T. A., Voisine, P., Bianchi, C., ve Sellke, F. W. (2004). “Vasomotor dysfunction after cardiac surgery”. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 26(5), 1002–1014).
<https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2004.07.040>

Salameh, A., ve Dhein, S. (2015). “Strategies for pharmacological organoprotection during extracorporeal circulation targeting ischemia-reperfusion injury”. *In Frontiers in Pharmacology* (Vol. 6). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00296>

- Salerno, T. A., Houck, J. P., Barrozo, C. A. M., Panos, A., Christakis, G. T., Abel, J. G., ve Lichtenstein, S. V. (1991). "Retrograde continuous warm blood cardioplegia: A new concept in myocardial protection". *The Annals of Thoracic Surgery*, 51(2), 245–247. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(91\)90795-R](https://doi.org/10.1016/0003-4975(91)90795-R)
- Sanetra, K., Gerber, W., Mazur, M., Kubaszewska, M., Pietrzyk, E., Buszman, P. P., Kaźmierczak, P., ve Bochenek, A. (2024). "Del Nido vs. cold blood cardioplegia for high-risk isolated coronary artery bypass grafting in patients with reduced ventricular function". *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 39(1). <https://doi.org/10.21470/1678-9741-2022-0346>
- Sanetra, K., Pawlak, I., ve Cisowski, M. (2018). "Del Nido cardioplegia - What is the current evidence?". *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska*, 15(2), 114–118. <https://doi.org/10.5114/kitp.2018.76477>
- Shiroishi, M. S. (1999). Historical Perspectives Myocardial Protection The Rebirth of Potassium-Based Cardioplegia.
- Soares, R. O. S., Losada, D. M., Jordani, M. C., Évora, P., ve Castro-E-Silva, O. (2019). "Ischemia/reperfusion injury revisited: An overview of the latest pharmacological strategies". *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20). <https://doi.org/10.3390/ijms20205034>
- Sohn, H. Y., Keller, M., Gloe, T., Morawietz, H., Rueckschloss, U., ve Pohl, U. (2000). "The small G-protein Rac mediates depolarization-induced superoxide formation in human endothelial cells". *Journal of Biological Chemistry*, 275(25), 18745–18750. <https://doi.org/10.1074/jbc.M000026200>
- Song, Y., ve Belardinelli, L. (2017). "Basal late sodium current is a significant contributor to the duration of action potential of guinea pig ventricular myocytes". *Physiological Reports*, 5(10), 1–8. <https://doi.org/10.14814/phy2.13295>
- Suarez-Pierre, A., Lui, C., Zhou, X., Kearney, S., Jones, M., Wang, J., Thomas, R. P., Gaughan, N., Metkus, T. S., Brady, M. B., Cho, B. C., Dodd-o, J. M., ve Lawton, J. S. (2022). "Diazoxide preserves myocardial function in a swine model of hypothermic cardioplegic arrest and prolonged global ischemia". *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 163(6), e385–e400. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2020.08.069>

- Susheel Kumar, T. K. (2020). "Practical conduct of open heart procedures for congenital heart lesions". *Journal of Thoracic Disease*, 12(3), 1235–1259. <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.11.80>
- Suzuki, M., Saito, T., Sato, T., Tamagawa, M., Miki, T., Seino, S., ve Nakaya, H. (2003). "Cardioprotective effect of diazoxide is mediated by activation of sarcolemmal but not mitochondrial ATP-sensitive potassium channels in mice". *Circulation*, 107(5), 682–685. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000055187.67365.81>
- Szpytma, M., Gimpel, D., Ross, J., Newland, R. F., Crouch, G., Rice, G. D., Bennetts, J. S., ve Baker, R. A. (2024). "Outcomes of Del Nido and hyperkalemic blood cardioplegia in adult cardiac surgery with prolonged aortic cross-clamp times". *Journal of Extra-Corporeal Technology*, 56(4), 149–158. <https://doi.org/10.1051/ject/2024029>
- Taggart, P., Sutton, P. M., Opthof, T., Coronel, R., Trimlett, R., Pugsley, W., ve Kallis, P. (2000). "Inhomogeneous transmural conduction during early ischaemia in patients with coronary artery disease". *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 32(4), 621–630. <https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1105>
- Tizro, P., Choi, C., ve Khanlou, N. (2019). "Sample preparation for transmission electron microscopy". *Methods in Molecular Biology*, 1897, 417–424. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_33
- Tran, C. T., Schmidt, T. A., Christensen, J. B., ve Kjeldsen, K. (2009). "Atrial Na,K-ATPase increase and potassium dysregulation accentuate the risk of postoperative atrial fibrillation". *Cardiology*, 114(1), 1–7. <https://doi.org/10.1159/000209264>
- van Horssen, J., van Schaik, P., ve Witte, M. (2019). "Inflammation and mitochondrial dysfunction: A vicious circle in neurodegenerative disorders?". *Neuroscience Letters*, 710, 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.06.050>
- Velez, A. K., Etchill, E., Giuliano, K., Kearney, S., Jones, M., Wang, J., Cho, B., Brady, M. B., Dodd-O, J., Meyer, J. M., ve Lawton, J. S. (2022). "ATP—Sensitive Potassium Channel Opener Diazoxide Reduces Myocardial Stunning in a Porcine Regional With Subsequent Global Ischemia Model". *Journal of the American Heart Association*, 11(23). <https://doi.org/10.1161/JAHA.122.026304>

- Velez, D. A., Morris, C. D., Budde, J. M., Muraki, S., Otto, R. N., Guyton, R. A., ve Vinten-Johansen, J. (2001). All-Blood (Miniplegia) Versus Dilute Cardioplegia in Experimental Surgical Revascularization of Evolving Infarction. <http://www.circulationaha.org>
- Wang, Q. D., Swärdh, A., ve Sjöquist, P. O. (2001). "Relationship between ischaemic time and ischaemia/reperfusion injury in isolated Langendorff-perfused mouse hearts. *Acta Physiologica Scandinavica*, 171(2), 123–128. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201x.2001.00788.x>
- Wang, Y., Hirai, K., ve Ashraf, M. (1999). "Activation of mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel for cardiac protection against ischemic injury is dependent on protein kinase C activity". *Circulation Research*, 85(8), 731–741. <https://doi.org/10.1161/01.RES.85.8.731>
- Wojtovich, A. P., Urciuoli, W. R., Chatterjee, S., Fisher, A. B., Nehrke, K., ve Brookes, P. S. (2013). "Kir6.2 is not the mitochondrial KATP channel but is required for cardioprotection by ischemic preconditioning". *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 304(11). <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00972.2012>
- Wu, S. N., Wu, A. Z., ve Sung, R. J. (2007). "Identification of two types of ATP-sensitive K⁺ channels in rat ventricular myocytes". *Life Sciences*, 80(4), 378–387. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.09.042>
- Xu, Y. Q., Pickoff, A. S., ve Clarkson, C. W. (1991). "Evidence for developmental changes in sodium channel inactivation gating and sodium channel block by phenytoin in rat cardiac myocytes". *Circulation Research*, 69(3), 644–656. <https://doi.org/10.1161/01.RES.69.3.644>
- Yamaguchi, S., Watanabe, G., Tomita, S., ve Tabata, S. (2007). "Lidocaine-magnesium blood cardioplegia was equivalent to potassium blood cardioplegia in left ventricular function of canine heart". *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 6(2), 172–176. <https://doi.org/10.1510/icvts.2006.137240>
- Yamamoto, H., ve Yamamoto, F. (2013). "Myocardial protection in cardiac surgery: A historical review from the beginning to the current topics". *General Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 61(9), 485–496. <https://doi.org/10.1007/s11748-013-0279-4>

- Yang, Z., Day, Y. J., Toufektsian, M. C., Xu, Y., Ramos, S. I., Marshall, M. A., French, B. A., ve Linden, J. (2006). "Myocardial infarct-sparing effect of adenosine A2A receptor activation is due to its action on CD4⁺ T lymphocytes". *Circulation*, 114(19), 2056–2064. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.649244>
- Ye, P., Zhu, Y. R., Gu, Y., Zhang, D. M., ve Chen, S. L. (2018). "Functional protection against cardiac diseases depends on ATP-sensitive potassium channels". *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22(12), 5801–5806. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13893>
- Yilik, L., Ozsoyler, I., Yakut, N., Emreca, B., Yasa, H., Calli, A. O., ve Gurbuz, A. (2004). "Passive infusion: A simple delivery method for retrograde cardioplegia". *Texas Heart Institute Journal*, 31(4), 392–397.
- Zhao, X., He, G., Chen, Y. R., Pandian, R. P., Kuppusamy, P., ve Zweier, J. L. (2005). "Endothelium-derived nitric oxide regulates postischemic myocardial oxygenation and oxygen consumption by modulation of mitochondrial electron transport". *Circulation*, 111(22), 2966–2972. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.527226>

EKLER

EK 1

HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Karar Tarihi : 26.01.2023

Karar No :2023/01

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	:26.01.2023
TOPLANTI SAYISI	:2023/01
DOSYA KAYIT NUMARASI	:2023- 2300007635
KARAR NUMARASI	:2023/01-03
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	: Sedat Gündöner
HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	: <i>Wistar albino</i> türü sıçan, 30+5 adet, Erkek

Proje yürütücüsü Prof. Dr. H. Fatih AŞGÜN, tarafından Etik Kurulumuza sunulan “Diazoksit Tabanlı Normokalemik Kardiopleji İle St Thomas No-2 ve Custodiol-HTK Kardioplejilerinin Miyokardiyal Koruma Etkinliklerinin İzole Sıçan Kalbinde Karşılaştırılması” başlıklı proje Hayvan Deneylerine ilişkin ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna; oybirliği ile karar verilmiştir.