BİŞAR AMAÇ PERFÜZYON TEKNOLOJİSİ DOKTORA ŞANLIURFA - 2022

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
PERFÜZYON TEKNOLOJİSİ PROGRAMI

TOTAL SİRKÜLATUAR ARREST MODELİ UYGULANAN RATLARDA TULBAGHİA VİOLACEA EKSTRAKTININ KARDİYAK HASAR ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİ

Bişar AMAÇ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Nazım KANKILIÇ

Doç. Dr. Fatih GÜNGÖREN (İkinci Tez Danışmanı)

ŞANLIURFA 2022

T.C.
HARRAN ÜNVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
PERFÜZYON TEKNOLOJİSİ PROGRAMI

TOTAL SİRKÜLATUAR ARREST MODELİ UYGULANAN RATLARDA TULBAGHİA VİOLACEA EKSTRAKTININ KARDİYAK HASAR ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİ

Bişar AMAÇ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Nazım KANKILIÇ

Doç. Dr. Fatih GÜNGÖREN (İkinci Tez Danışmanı)

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21130 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA 2022

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi, emek ve desteklerini esirgemeyen Harran Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı başkanımız Doç. Dr. M. Salih AYDIN'a, tez danışman hocam Kalp Damar Cerrahisi Uzmanı Dr. Öğr. Üyesi Nazım KANKILIÇ'a, ikinci tez danışman hocam Kardiyoloji Uzmanı Doç. Dr. Fatih GÜNGÖREN'e ve Perfüzyon eğitimime emek ve katkıları olan hocalarım Doç. Dr. Aydemir KOÇARSLAN'a, Prof. Dr. Abdussamet HAZAR'a ve Prof. Dr. Mustafa GÖZ'e;

Doktora eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen Dr.Öğr.Üyesi Reşat DİKME'ye, Öğr.Gör. Mahmut PADAK'a, Öğr.Gör. Ömer GÖÇ'e, Öğr.Gör. Ezhar ERSÖZ'e ve Perf. Yasemin HACANLI'ya;

Proje desteği sağlayan HRÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü ve başta Ahmet AKTİMUR ve Cenap ALAYBEYİ olmak üzere çalışanlarına;

Harran Üniversitesi Tıbbi Biyokimya ABD, Tıbbi Patoloji ABD, Deney Hayvanları Laboratuvarı ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü hocaları ve çalışanlarına;

Şanlıurfa M.Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi'de değerli meslektaşlarım olan Perfüzyonist arkadaşlarım başta olmak üzere Kalp Damar Cerrahisi Ailesine;

Bugünlere gelmemde en büyük katkıyı sağlayan ve beni ne olursa olsun hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme;

Ve burada sayamadığım emeği geçen herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bişar AMAÇ

Haziran 2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **i**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **iv**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
ÖZET ..... **viii**
ABSTRACT ..... **x**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Tarihsel Gelişim 3
2.1.1. Modern Kalp Cerrahisi: Ekstrakorporeal Dolaşım Tarihçesi 4
2.1.2. Kardiyopleji (Farmakolojik Arrest) Tarihçesi 5
2.2. Kalp 7
2.2.1. Koroner Dolaşım Yapısı 10
2.2.2. Miyokardın (Kalp Kası) Yapı ve Metabolizması 12
2.2.3. Kardiyak Uyarı İleti Sistemi 16
2.3. Ekstrakorporeal Dolaşım Sistemi (Perfüzyon Sistemi) 18
2.4. Total Sirkülatuar Arrest Yöntemi 19
2.5. Aortik Kross Klemp Uygulaması 20
2.6. Miyokardiyal Koruma ve Kardiyopleji 21
2.6.1. Miyokardiyal Koruma 21
2.6.2. Kardiyopleji 22
2.7. Kardiyak Hasar 23
2.7.1. İskemik Hasar 24
2.8. Antioksidanlar ve Oksidatif Stres 25
2.8.1. Antioksidanlar 25
2.8.2. Antioksidanların Etki Mekanizmaları 26
2.8.2. Oksidatif Stres 27
2.8.3. Oksidatif DNA Hasarı ve 8-hidroksi-2’-deoksiguanozin (8-OHdG) 29
2.9. Tulbaghia violacea Bitki Türü Özellikleri 31
2.9.1. T.violacea Bitki Türü 31
2.9.2. T.violacea Türünün Fitokimyası 33
2.9.3. T.violacea Ekstraktının Farmakolojik Özellikleri 34
3. GEREÇ VE YÖNTEM **35**

3.1. Araştırmanın Tipi, Yeri ve Zamanı 35
3.2. Deney Hayvanları ve Uygulamalar 35
3.2.1. Deney Hayvanları 35
3.2.2. Anestezi -Cerrahi Prosedür ve Total Sirkülatuar Arrest Modeli 36
3.2.3. Çalışma Grupları (Deney Grupları) ve Çalışma Yöntemi 39
3.3. Biyokimyasal Değerlendirme 41
3.3.1. Oksidatif Stres Seviyesi (TAS, TOS, OSİ) Ölçümü 41
3.3.2. Oksidatif DNA Hasar Seviyesi (8-hidroksi-2'- deoksiguanozin) 42
3.4. Histopatolojik İnceleme 42
3.5. İstatistiksel Analizler 43
4. BULGULAR 44
4.1. Biyokimyasal Bulgular 44
4.2. Histopatolojik Bulgular 50
4.2.1. Kalp Dokusu Histopatolojik Bulguları 50
4.2.2. Diğer Organ Dokularının Histopatolojik Bulguları 53
5. TARTIŞMA 60
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 69
KAYNAKLAR 1
EKLER ..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
-Etik Kurul Kararı
-İntihal Raporu
-Orjinallik Raporu ve Beyan Formu
-Tez Veri Giriş Formu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Mayo-Gibbon Kalp-Akciğer Makinesi (21). 5
Şekil 2.2. Kalbin Anatomisi (27). 8
Şekil 2.3. Kalbin Tabakaları (25). 9
Şekil 2.4. Koroner Dolaşım ve Anatomisi (27). 12
Şekil 2.5. Kalp Kasının Yapısı (27). 14
Şekil 2.6. Kardiyak İleti Sistemi (27). 17
Şekil 2.7. Kardiyopulmoner Bypass Sistemi Şeması (37). 19
Şekil 2.8. KPB İşlemi İçin Aortik Kross Klemp Uygulanması (40). 21
Şekil 2.9. T.violacea Bitki Türü (61). 32
Şekil 2.10. T.violacea Ekstraktlarında Kaemferol (Şekil A) ve Glukopiranosid "Metil-alfa-D-glukopiranosid (MDG)" (Şekil B) Varlığını (61). 33
Şekil 2.11. T.violacea'da (RsRc) -S (Metiltiometil) Sistein-4-oksitten 1 Marasmisin Oluşumu (60) 33
Şekil 3.1. Ratların Cerrahi İşleme Hazırlanması; A: Ratın Tartılması, B,C: Ratın Sedatize Edilmesi, D,E: Ciltlerin Traş Edilmesi, F: Cildin Povidion İyot ile Aseptiğinin Sağlanması. 37
Şekil 3.2. Ratlara Cerrahi İşlemin Uygulanması; A,B: Ratların Stabilizasyonunun Sağlanması, C,D,E: Rat Cildinin Kesilmesi, E: Rata Orta Hat Laparotomi Yapılması. 38
Şekil 3.3. Ratlara Sternotomi ve Sirkülatuar Arrest Uygulanması; A,B: Sternotomi Yapılması, C,D,E,F: Sirkülatuar Arrest Uygulaması (Heparinizasyon, Aortik Kross Klemp Uygulaması, Potasyum Klorür ile Kardiyak Arrest). 39
Şekil 3.4. Kesitlerin Nikon Eclipse® Nİ DS-Fİ2, JAPAN Marka Mikroskop ile İncelenmesi 43
Şekil 4.1. Deney Gruplarının Ortalama 8-OHDOG(ng/mL) Düzeylerinin Karşılaştırılması. 47
Şekil 4.2. Deney Gruplarının Ortalama TOS (μmol H2O2 Eqv/1) Düzeylerinin Karşılaştırılması. 48
Şekil 4. 3. Deney Gruplarının Ortalama OSİ (aμ) Düzeylerinin Karşılaştırılması. 49
Şekil 4.4. Deney Gruplarının Ortalama TAS (mmol Trolox Eqv/1) düzeylerinin Karşılaştırılması. 50
Şekil 4.5. Sham Grubu Erkek (A) ve Dişi (B) Rata Ait Örnekte Düzenli Yapıda Kalp Kası İzlenmesi (H&Ex200). 51
Şekil 4.6. Nekroz (A): Hasar Grubuna Ait Örnekte Kas Liflerindeki Fokal Nekroz Alanlarının İzlenmesi (H&Ex600). Ödem+Nekroz (B): Hasar Grubuna Ait Örnekte Doku Kesitlerinde Fokal Ödem ve Nekroz Alanlarının Birlikte İzlenmesi (H&Ex600). 51

Şekil 4.7. Tedavi+Hasar Grubu Erkek (A) ve Dişi (B) Rata Ait Örnekte Düzenli Yapıda Çizgili Kas Dokusunun İzlenmesi (H&Ex400). 52
Şekil 4.8. Tedavi Grubu Erkek (A) ve Dişi (B) Rata Ait Örnekte Düzenli Yapıda Kas Liflerinin İzlenmesi (H&Ex400). 52
Şekil 4.9. Sham Grubunda Düzenli Histopatolojik Yapıda a) Hepatik (Karaciğer), b) Renal (Böbrek) ve c) Akciğer Parankiminin İzlenmesi. 53
Şekil 4.10. Hasar Grubunun Dişi ve Erkek Karaciğer Dokusunda a,b) Fokal Litik Nekroz (Mavi-Yeşil Ok) (H&Ex400), c) Hepatositlerde Apopitozis (Halka) (H&Ex400), d) Portal İnflamasyon (H&Ex200), ve e) Tromboze Vasküler Yapıların (H&Ex100) İzlenmesi. 54
Şekil 4.11. Hasar Grubunun Dişi Akciğer Dokusunda a) Abseleşen İltihap, b) apse Formasyonuna Eşlik Eden Amfizematöz Değişiklikler ve c) Alveoler Hemoraji Alanlarının (H&Ex100) İzlenmesi. 55
Şekil 4.12. Hasar Grubunun Erkek Akciğer Dokusunda a) Peribronşial İltihabi İnfiltrasyon ve Yaygın Amfizematöz Değişiklikler (H&Ex200), b) İntrestisyel Histiyositik İnfiltrasyon ve c) Parankimde Yaygın Hemoraji (H&Ex100) İzlenmesi. 56
Şekil 4.13. Hasar Grubunun Dişi ve Erkek Böbrek Dokusunda a) Renal Parankimde Tübüller Arası İnterstisyel Dokuda Hemoraji, b) Glomerüloskleroz (Mavi Ok), Stromada İltihabi İnfiltrasyon (Sarı Ok) (H&Ex100), c) İnterstisyel İltihabi İnfiltrasyon ve Tromboze Vasküler Yapılar (H&Ex200) ve d) Tübüllerde Tiroidizasyon (Halka) (H&Ex100) İzlenmesi. 57
Şekil 4.14. Tedavi+Hasar Grubunun Karaciğer Dokusunda: a) Portal İnflamasyonda Gerileme, b) Periportal Fibrozisde Belirgin İyileşme; Akciğer Dokusunda: c) Peribronşial İltihabi İnfiltrasyonda Gerileme, d) Fokal Amfizematöz Değişiklikler; Böbrek Dokusunda: e) Minimal Tromboze Vasküler Yapılar İçeren Düzenli Glomerül Yapıları İçeren Renal Parankimin (H&Ex100) İzlenmesi. 58
Şekil 4.15. Tedavi Grubunun Histopatolojik İncelemesinde a) Düzenli Portal Alanlar İçeren Hepatik Doku, b) Akciğer Dokusunda Fokal Amfizematöz Değişiklikler ve c) Düzenli Renal Parankim Dokusunun (H&Ex100) İzlenmesi. 59

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması (49). 26
Tablo 4.1. Deney Gruplarına Ait Oksidatif Parametrelerin Gruplara Göre Değişimi.... 44
Tablo 4.2. Deney Gruplarına Ait Verilerin Subgrup Analizleri. 45
Tablo 4.3. Grup İçi Erkek ve Dişi Ratların Verilerinin Karşılaştırılması. 46

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

MI : Myocardial Infarction (Miyokard Enfarktüsü)
KPB : Kardiyopulmoner Bypass
TCA : Total Circulator Arrest (Total Sirkülatuar Arrest)
TVE : Tulbaghia Violacea Ekstraktı
TAS : Total Antioksidan Seviye
TOS : Total Oksidan Seviye
OSİ : Oksidatif Stres İndeksi
DNA : Deoksiribo Nükleik Asit
8-OHdG : 8-hidroksi-2'- deoksiguanozin
EKD : Ekstrakorporeal Dolaşım
ASD : Atriyal Septal Defekt
RCA : Right Coronary Artery (Sağ Koroner Arter)
Cx : Circumflex (Sirkumfleks)
SA : Sinoatriyal
AV : Atriyoventriküler
Asetil CoA : Asetil Coenazim-A
H_2O : Su
CO_2 : Karbondioksit
ATP : Adenosine Triphosphate (Adenozin Trifosfat)
DPTI : Diastolic Pressure Time Index (Diyastolik basınç zaman indeksi)
TTI : Time Tension Index (Zaman gerginlik indeksi)
EVR : Endocardial Viability Rate (Endokardiyal Canlılık Oranı)
ROS : Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
pH : Power of Hydrogen (Potansiyel Hidrojen)
OH : Hidroksil
İ.p. : İntraperitoneal
KCL : Potasyum Klorür
mRNA : Messenger Ribonükleik Asid
PT : Protrombin Time (Protrombin Zaman Testi)
APTT : Activated Partial Thromboplastin Time (Aktifleştirilmiş Kısmi Tromboplastin Süresi)
IC : Clotting Time (Pıhtılaşma Süresi)
LDL : Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
VLDL : Very Low Density Lipoprotein (Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
HDL : High Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein)
LDH : Laktat Dehidrogenaz
AST : Aspartat Aminotransferaz
ALT : Alanin Aminotransferaz
ALP : Alkalen Fosfataz

ÖZET

TOTAL SİRKÜLATUAR ARREST MODELİ UYGULANAN RATLARDA TULBAGHİA VİOLACEA EKSTRAKTININ KARDİYAK HASAR ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİ

Bişar AMAÇ

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Perfüzyon Teknolojisi Programı, Doktora Tezi

Günümüzde en yaygın görülen hastalık grubu kalp hastalıklarıdır. Kalp hastalıklarının tedavisinde birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler gerek medikal gerekse de cerrahi yöntemlerdir. Bazı cerrahi operasyonlarda kardiyopulmoner bypass yöntemi ile beraber total sirkülatuar arrest tekniğide kullanılmaktadır. Bu yöntemlere bağlı kardiyak hasar ve olumsuz etkilerde gerçekleşebilmektedir. Bu deneysel çalışmanın amacı total sirkülatuar arrest (TCA) ile deneysel kardiyak hasar modeli oluşturulan ratlarda Tulbaghia violacea ekstraktı (TVE) verilmesi ile kalp dokusunda histopatolojik ve serum düzeyinde oksidatif stres parametreleri ve oksidatif DNA hasarı düzeyi değişikliklerinin incelenmesidir. Bu deneysel çalışmada; Wistar Albino cinsi 48 adet yetişkin rat kullanıldı ve bu ratlar randomize olarak dört gruba ayrıldı. Her grupta 6 erkek, 6 dişi rat kullanıldı. Ratlarda total sirkülatuar arrest (TCA) ile deneysel kardiyak hasar modeli oluşturuldu. Çalışmamızda Grup 1'e (Sham grubu) herhangi bir şey verilmedi. Grup 2'de (Hasar grubu (TCA grubu)), total sirkülatuar arrest ile deneysel kardiyak hasar modeli oluşturuldu. Grup 3'e (Tedavi+Hasar grubu (TVE+TCA grubu)), T.violacea ekstraktı verildi ve total sirkülatuar arrest ile deneysel kardiyak hasar modeli oluşturuldu. Grup 4'e (Tedavi grubu (TVE grubu)) ise sadece T.violacea ekstraktı verildi. Tüm gruplardaki ratlar 16. gün derin anestezi altında sakrifiye edilerek, kan ve dokuları alındı. Çalışmamız da histopatolojik inceleme için kalp ve diğer dokularda; interstisyel ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve nekroz değerlendirildi ve serum düzeyinde oksidatif stres parametreleri (TAS, TOS, OSİ), oksidatif DNA hasarı düzeyi (8-OHdG (8-hidroksi-2'- deoksiguanozin)) değişiklikleri incelendi. Bu deneysel çalışmada grupların biyokimyasal 8-OHdG, TOS, OSİ, TAS düzeylerindeki değişim

istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,001). Verilerin subgrup analizlerinde Hasar grubu (Grup 2)'nun 8-OHdG, TOS, OSİ düzeyi Sham (Grup 1), Tedavi+Hasar(Grup 3) ve Tedavi grup (Grup 4)'larından daha yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (Sırasıyla 8-OHdG; P<0.001, P=0.027, P<0.001). (Sırasıyla TOS; P<0.001, P=0.003, P<0.001). (Sırasıyla OSİ; P<0.001, P<0.001, P<0.001). Sham (Grup 1), Tedavi+Hasar(Grup 3) ve Tedavi grubun (Grup 4)'daki Total antioksidan seviye (TAS) düzeyi ise Hasar grubun (Grup 2)'dan daha yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (Sırasıyla P<0.001, P=0.004, P<0.001). Kalp dokularının histopatolojik incelemesinde hasar grubunun (Grup 2) miyokard dokusunda yer yer nekroz ve ödem alanları izlendi. Diğer gruplarda düzenli yapı ve belirgin iyileşme olduğu izlendi. Histopatolojik incelemede hasar grubu (Grup 2) ile diğer grrupların akciğer, karaciğer ve böbrek dokuları karşılaştırıldığında diğer gruplarda düzenli yapı ve belirgin iyileşme olduğu izlendi. Bu çalışmanın sonucunda total sirkülatuar arrest ile oluşturulan hasar modelinin kalp ve diğer organlar üzerinde oluşturduğu değişiklikler saptanmış oldu. Bu değişikliler üzerinde de T.violacea ekstraktının düzenleyici ve koruyucu rolü ve etkinliği ortaya konmuş oldu. Bu değerlendirmeler ışığında T.violacea ekstraktının, TCA'nın oluşturduğu kardiyak hasar ve olumsuz değişiklikleri azaltmak için terapötik bir ajan veya ilaç ham madde adayı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Total sirkülatuar arrest, Tulbaghia violacea ekstraktı, Kardiyak hasar, Antioksidan.

ABSTRACT

PROTECTIVE EFFECT OF TULBAGHIA VIOLACEA EXTRACT ON CARDIAC DAMAGE IN THE TOTAL CIRCULATORY ARREST MODEL APPLIED RATS

Bişar AMAÇ

Department of Cardiovascular Surgery, Perfusion Technology Program, Thesis Of Doctorate

Today, the most common disease group is heart diseases. Many methods are employed in the treatment of heart diseases. These methods can be both medical and surgical methods. In some surgical operations, total circulatory arrest technique is adopted alongside cardiopulmonary bypass method. Cardiac damage and adverse outcomes may occur due to these methods.The aim of this experimental study was to investigate the histopathological alongside serum level oxidative stress parameters and oxidative DNA damage level changes in the heart tissue by applying Tulbaghia violacea extract (TVE) on rats with total circulatory arrest (TCA) experimental cardiac damage model. In this empirical study, Wistar Albino type 48 adult rats were employed and randomly divided into four groups with each group consisting of 6 male and 6 female rats. An experimental cardiac damage model was created with total circulatory arrest (TCA) in rats. Group 1 (Sham group) was not given anything in our study. In group 2 (Damage group (TCA group)), an experimental cardiac damage model was created with total circulatory arrest. Group 3 (Treatment+Damage group (TVE+TCA group)) was provided with T.violacea extract and an experimental cardiac damage model was created with total circulatory arrest. Group 4 (Treatment group (TVE group)) was given only T.violacea extract. The rats in all groups were sacrificed under heavy anesthesia on the 16th day and their blood as well as tissues were collected. In our study, interstitial edema, inflammatory cell infiltration and necrosis in the heart and other tissues were evaluated for histopathological examination and changes in serum level of oxidative stress parameters (TAS, TOS, OSI) and oxidative DNA damage level (8-OHdG (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine)) were examined. In this empirical research, the changes in

the biochemical 8-OHdG, TOS, OSI and TAS levels of the groups were found to be statistically significant ($p<0.001$). In the subgroup analyzes of the data, damage group (Group 2) had higher 8-OHdG, TOS and OSI levels than Sham (Group 1), Treatment+Damage (Group 3) and Treatment groups (Group 4) and there was a statistically significant difference (respectively 8-OHdG; $P<0.001$, $P=0.027$, $P<0.001$), (respectively TOS; $P<0.001$, $P=0.003$, $P<0.001$), (respectively OSİ; $P<0.001$, $P<0.001$, $P<0.001$).Total antioxidant level (TAS) in Sham (Group 1), Treatment+Damage (Group 3) and Treatment group (Group 4) was higher than Damage group (Group 2) and there was a statistically significant difference (respectively $P<0.001$, $P=0.004$, $P<0.001$), (respectively TOS; $P<0.001$, $P=0.003$, $P<0.001$, respectively), (respectively OSI; $P<0.001$, $P<0.001$, $P<0.001$). In the histopathological examination of the heart tissues, localized areas of necrosis and edema were observed in the myocardial tissue of the damage group (Group 2). In the other groups, regular structure and significant improvement were observed. In the histopathological examination, when the lung, liver and kidney tissues of the damage group (Group 2) and the other groups were compared, regular structure and significant improvement were observed in the other groups. As a result of this study, the changes triggered by the damage model that total circulatory arrest caused on the heart and other organs were determined. The regulatory and protective role and effectiveness of T.violacea extract on these changes were demonstrated. In the light of these results, it is thought that T.violacea extract may be a therapeutic agent or drug raw material candidate to reduce cardiac damage and adverse changes caused by TCA.

Keywords: Total circulatory arrest, Tulbaghia violacea extract, Cardiac damage, Antioxidant.

1. GİRİŞ

Kardiyak hastalıklar tüm dünyada morbidite ve mortalite nedenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır (1). Yakın gelecekte de önemli bir sağlık sorunu olmaya devam edecektir (2). Miyokard enfarktüsü (MI) kardiyak hastalıklar içerisinde en sık görülen sağlık problemidir. Miyokard'ın iskemik nekrozu olarak tanımlanan miyokart enfarktüsü, genellikle akut dönem sonrası ortaya çıkan komplikasyonlar sonucu ciddi sağlık sorunlarına yol açan ve ölümle sonuçlanabilen önemli bir toplum sağlığı sorunudur (3). Kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde ise medikal ve cerrahi yöntemler kullanılmaktadır. Cerrahi yöntemlerin başında ise kardiyopulmoner bypass (KPB) gelmektedir. KPB, kalp ve büyük damar ameliyatları sırasında kalbin ve akciğerlerin fonksiyonlarını belirli bir süre için yerine getiren kalp-akciğer makinesinin kullanılarak yapıldığı işlemdir. Bu cihaz ile hem akciğerlerin görevi olan solunum hem de kalbin görevi olan dolaşım gerçekleştirilmektedir. Ayrıca total sirkülatuar arrest (TCA) tekniğide, özellikle arkus aorta cerrahisi başta olmak üzere KPB eşliğinde yapılan kardiyak cerrahide kullanılan bir yöntemdir (4). Kalp cerrahisinde, KPB ve kardiyak arrest yöntemlerinin uygulanması, hareketsiz ve kansız ortamı sağlamak için büyük önem taşımaktadır. Ancak bu cerrahi teknikler beraberinde bazı olumsuz sonuçlar ve istenmeyen durumlar oluşturmaktadır. KPB'ın neden olduğu olumsuz durumlar, kalp cerrahisi sırasında veya sonrasında oluşabilmektedir (5). Bu istenmeyen durumların başında; kardiyak hasar ve diğer organ hasarları gelmektedir (6). Kardiyak hasarı ve olumsuz durumları önlemek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (7). Bu yöntemlerden biride miyokardın korunmasıdır. Miyokardiyal koruma hem operasyon esnasında hemde operasyon sonrası hemodinamik durumları korumak ve morbidite ve mortalite durumlarını önlemek açısından önemlidir. Çünkü kardiyak cerrahide miyokard uzun süreli iskemiye maruz kalmaktadır. Miyokardiyal koruma mekanik ve farmakolojik yöntemler ile sağlanmaktadır. Kardiyak cerrahide iskemi nedeni ile oluşabilen miyokard işlev bozukluğunun önlenmesi için farmakolojik yöntem olarak kardiyopleji (farmakolojik arrest) solüsyonları kullanılmaktadır. Kalp, böylece güvenli bir şekilde durdurularak, enerji üretiminin devamlılığı sağlanmakta ve iskeminin kalp üzerindeki olumsuz etkileri önlenmektedir. Ancak uygun kardiyopleji solüsyonun seçilmesi, miyokard hasarını önlenmek ve zararlı etkileri ortadan kaldırılmada önemli

bir yere sahiptir (8). Miyokardiyal korumada kullanılan kardiyopleji yöntemleri ve içeriklerinin farklılık göstermesi sonucunda bu alandaki çeşitlilik ve araştırmalar artarak devam etmektedir. İlk olarak 1955 yılında Melrose ve ark. tarafından kalbin potasyumla durdurularak, diastolik arrestin sağlanması bildirilmiştir (9). Günümüzde çeşitli solüsyonlar ve içerikler kullanılmaktadır. Ayrıca kardiyoplejik solüsyonlarda antioksidan maddelerin kullanımı ile ilgili çalışmalar da önemini korumaktadır. Bu çalışmaların başında da Mickle ve ark. yaptıkları çalışmalar gelmektedir (10,11). Tulbaghia violacea ekstraktı (TVE)'da bu antioksidan maddelerden biri olma potansiyeline sahiptir. T.violacea ekstraktının, miyokard hasarına karşı koruyucu rolünün olduğu düşünülmektedir (12). Bazı bilimsel çalışmalarda antioksidan özelliği kanıtlanan T.violacea ekstraktı ayrıca bu tarz cerrahilerde hasar üzerindeki etkinliğinin kanıtlanması durumunda antioksidanlar için etken maddelerden biri olma potansiyeline sahiptir (13-15).

Bu deneysel çalışmanın amacı; total sirkülatuar arrest ile deneysel kardiyak hasar modeli oluşturulan ratlarda T.violacea ekstraktı (TVE) verilmesi ile kalp dokusunda histopatolojik ve serum düzeyinde oksidatif stres parametreleri (Total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ)) ve oksidatif DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) hasar düzeyi (8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)) değişikliklerinin incelenmesidir. Dolayısıyla; T.violacea ekstraktının kalp hasarına karşı oksidatif hasarı ve oksidatif DNA hasarını azalttığının, total sirkülatuar arrest modelinin kalp üzerine etkisinin ve total sirkülatuar arrest modelinin kalp üzerinde oluşturduğu değişikliklere karşı T.violacea ekstraktının düzenleyici rolü ve etkinliğinin ortaya konması amaçlanmaktadır.

Bu deneysel çalışmanın hedefleri arasında şu üç amaç bulunmaktadır:

1- Tulbaghia violacea ekstraktının kardiyak hasara karşı oksidatif ve oksidatif DNA hasarını azalttığını göstermek,

2- Total sirkülatuar arrest modelinin kalp ve diğer dokular üzerine etkisini göstermek,

3- Total sirkülatuar arrest modelinin kalp ve diğer dokular üzerinde oluşturduğu değişikliklere karşı T.violacea ekstraktının düzenleyici rolü ve etkinliğini göstermek.

2. GENEL BİLGİLER

Kalp cerrahisinde KPB veya ekstrakorporeal dolaşım (EKD) yönteminin kullanımı bir dizi tarihsel gelişim sonucu ortaya çıkmıştır. KPB yöntemi ile kalp ve akciğerlerin fonksiyonları devre dışı bırakılmakta, kalp-akciğer makinesi veya perfüzyon cihazı ile bu fonksiyonlar gerçekleştirilmektedir. Ancak KPB sırasında kalbin durdurulması beraberinde miyokaldiyal korumayı gerektirmektedir. Bunun içinde tarihte birçok yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerden biride farmakolojik ajanların kullanımasıdır.

2.1. Tarihsel Gelişim

Tıp tarihinde kardiyak cerrahinin başlaması ile tıpta ciddi bir ilerleme gerçekleşmiş, yalnızca yeni cerrahi tekniklerin gelişmesini sağlamakla kalmamış, ayrıca teknoloji ve tıbbın her alanında yeni gelişmeleri beraberinde getirmiştir. Tarih içerisinde kalp daima korkulan ve uzak durulması gereken bir organ olarak kabul edilmiştir. Özellikle cerrahi açıdan hep bir gizem noktası olmuştur. "Kardiyak yaralara dokunulamaz" ilkesi 16. ve 17. yüzyıllarda yavaş yavaş ortadan kalkmaya başlamıştır. 19. yüzyılın sonları ile 20. yüzyılın başlarında bilim ve teknolojideki gelişmelerin bir sonucu olarak kardiyak cerrahide de büyük bir gelişme yaşanmıştır. Kalp cerrahisinin gelişimine katkı sağlayan önemli olaylar ise; kalp hastalıklarının kesin tanısında 1895'de radyografik tekniklerin kullanılmaya başlanması, Trendelenburg tarafından 1869'da insanlar üzerinde modern anestezinin ilk başarılı uygulaması ve klinikte kan transfüzyonunun kullanılmaya başlanmasıdır. 1828'de James Blandell tarafından ilk başarılı kan transfüzyonu gerçekleştirilmiştir. Kan transfüzyonundaki en önemli gelişme ise 1900'de Karl Landsteiner tarafından kan grupları ABO'ın keşfi olmuştur. Bu gelişme ile kan transfüzyonlarındaki önemli klinik reaksiyonların ortadan kaldırılması sağlanmıştır (16-19).

2.1.1. Modern Kalp Cerrahisi: Ekstrakorporeal Dolaşım Tarihçesi

Yapay kan dolaşımı fikri ilk kez 1813'te Le Gallois tarafından ortaya konmuştur. 1828 yılında Kay, kasın kasılmasının kan ile perfüze edilerek düzeltilebileceğini ortaya koymuştur. 1868 yılında Ludwig ve Schmidt, basınç altında kanı infüze edebilecek ve izole edilmiş organların daha iyi perfüzyonunu sağlayacak bir cihaz yapmışlardır. 1882 yılında Von Schroeder, venöz kan içeren bir bölmeden oluşan ilkel kabarcık oksijenatörünün ilk prototipini geliştirmiştir. Bu şekilde venöz kanın oksijenlenmesini sağlamıştır. 1885 yılında von Frey ve Gruber tarafından silindir oksijenatörlerin öncüsü olarak kabul edilen ilk başarılı dönen bir silindir oksijenatör geliştirmişlerdir. Silindir oksijenatörler, EKD yönteminin evriminde önemli bir dönüm noktasıdır. Diğer keşifler ile beraber KPB ameliyatlarının gelişmesi ilerlemiştir (16).

Ancak modern kalp cerrahisi, EKD yönteminin klinikte kullanımı ile başlamıştır. EKD yönteminin klinikte kullanımı ise önemli iki keşif ile gerçekleşebilmiştir. Bu keşiflerden ilki 1929 yılında Werner Frossman tarafından kalp kateterizasyonu tekniğinin geliştirilmesidir. Bu teknik 1953 yılında Seldinger tarafından perkütan yöntem ile daha da kolaylaştırılmıştır (17). Diğer önemli keşif ise heparinin 1916 yılında tıp öğrencisi Jay Mc. Lean tarafından bulunmasıdır. Heparin 1930'lu yıllarda saflaştırılmış ve klinikte kullanılmaya başlanılmıştır. Aynı yıllarda, heparinin etkisinin protamin ile nötralize edilebileceği Chargoff ve Olson tarafından gösterilmiştir (16,20).

Dünyada EKD tekniği kullanılarak gerçekleştirilen ilk başarılı kalp ameliyatı John Gibbon tarafından gerçekleştirilmiştir. John Gibbon 1953 yılında EKD tekniğini kullanarak 18 yaşındaki kadın bir hastaya başarıyla atriyal septal defekt (ASD) kapatma ameliyatı gerçekleştirmiştir. Bu gelişme kalp cerrahisinde büyük bir devrim olmuştur. Ancak daha sonraki olumsuz sonuçlar Gibbon'ı bu teknikten uzaklaştırmıştır. 1955 yılında Minnesota Üniversitesi'nden Lillehei ve ark. ile Mayo klinikten John W. Kirklin ve ark. Gibbon'un geliştirdiği kalp-akciğer makinesi üzerinde yeni modifikasyonlar gerçekleştirmişlerdir. Bu modifikasyonlar sonrası açık kalp cerrahisinde başarılı bir seri ameliyat gerçekleştirmişlerdir. Kirklin, geliştirdikleri "Mayo Gibbon-IBM" isimli kalp-akciğer makinesine o dönemdeki üstünlüğü yüzünden "Rolls-Royce" ismini vermiştir. Yine 1955 yılında Minnesota Üniversitesi'nde De Wall tarafından kabarcık oksijenatör

geliştirilmiş ve klinikte kullanılmaya başlanmıştır. EKD tekniği kullanılarak birçok kardiyak cerrahi operasyonu gerçekleştirilmiştir (17-19).

Modern kalp cerrahisinde ki önemli olaylardan biride derin hipotermik TCA yönteminin aort cerrahisinde kullanımasıdır. Bu fikir ilk olarak 1975 yılında Griepp ve ark. tarafından ortaya koyulmuş ve arkus aorta cerrahisi esnasında kullanılmıştır. Griepp ve ark.'nın bu konudaki başarılı uygulamaları bu alanda önemli bir devrimdir. Bunun yanında ayrıca kardiyovasküler alanda cerrahisi mümkün olmayan bazı olguların cerrahiside mümkün hale gelmiştir. Daha sonraları akut aort diseksiyonunun cerrahi tedavisinde açık cerrahi yönteminin Cooley tarafından 1981 yılında ortaya konması tüm assendan ve arkus aorta diseksiyonlarının cerrahi tedavisinde TCA yönteminin kullanımını rutin hale getirmiştir. Derin hipotermik TCA yöntemi, arkus aorta anevrizmalarının cerrahi tedavisinde ilk olarak kullanıldığı 1975 yılından bügüne kadar en kabul görmüş yöntemdir (4).



Şekil 2.1. Mayo-Gibbon Kalp-Akciğer Makinesi (21).

2.1.2. Kardiyopleji (Farmakolojik Arrest) Tarihçesi

Kardiyopleji kardiyak cerrahinin temellerinden birini oluşturmaktadır. Bu konudaki çalışmalar 1950'li yıllarda başlamıştır. Kardiyopleji kavramının gelişmesine öncülük eden bilim insanları Bretschneider, Spieckman, Kirsch ve Hoelscher'dır. O dönemde kardiyoplejik solüsyon olarak kullanılan ajan Melrose tarafından

geliştirilmiştir. Melrose tarafından geliştirilen bu ajan yüksek potasyum içermekteydi ve kalbin durdurulup tekrar çalıştırılabilmesini sağlayan bir solüsyondu (22,23).

Kardiyopleji konusunda Sealey ise deneysel çalışmalar yapmıştır. Bu deneysel çalışmalarında; potasyum, magnezyum ve neostigminden oluşan bir solüsyon kullanmıştır. Başarılı gördüğü bu solüsyonu daha sonra kendi cerrahi vakalarında kullanmıştır. Kalp cerrahisi tarihinde ilk defa bu tür solüsyonlar için "kardiyopleji" kelimesini kullanan kişi de Sealey'dir. Miyokard koruma yöntemine topikal hipotermiyi ise Shumway eklemiştir. Shumway bu yöntemi perikard boşluğunu soğuk ringer solüsyonu ile sürekli yıkayarak yapmıştır. 1970'li yılların başlarında Bretschneider, Kirsch ve Hoelscher kardiyopleji solüsyonları içerisine değişik ajanlar ekleyerek kardiyak arrest sağlamaya çalışmışlardır. Normotermik koşullarda basit aortik kross klemp tekniğini ise Cooley gerçekleştirmiştir. Bu teknik ile gerçekleştirdiği cerrahi ameliyatlarda "stone heart" olarak nitelendirdiği iskemik kontruktur durumu ile karşılaşmış ve bunu 1972 yılında yayımlamıştır. Miyokard korumanın hücresel düzeydeki mekanizmalarının ortaya konması St.Thomas Hastanesi'nden Hearse'nin 1976 yılında St. Thomas I solüsyonu adı verilen kardiyopleji solüsyonu sonuçlarını yayınlanması ile başlamıştır (17). St.Thomas kardiyopleji solüsyonu 1980-1990 yıllarında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (24). Bu alana Hearse ile birlikte büyük katkılar sunan diğer bir önemli isim ise Buckberg'dir. Buckberg; aralıklı-devamlı ve sıcak-soğuk kan kardiyoplejisi çalışmalarının da öncüsüdür. Retrograd koroner sinüs perfüzyonu yöntemini 1957 yılında Gott kullanmıştır. Bu yöntemi 1970'li yılların sonunda Solarzona ve ark. yeniden gündeme getirmişler ve klinik uygulamalarda kullanmışlardır. 1984 yılında ise koroner cerrahide Akins tarafından kardiyopleji solüsyonu kullanılmadan hipotermik fibrilasyon tekniği ilk defa kullanılmıştır (17). Tek doz olarak uygulanan del Nido kardiyoplejisi ise Boston Çocuk Hastanesi'nde ilk kez kullanılmaya başlanılmıştır. Bu kardiyopleji solüsyonu ilk başta pediyatrik ve çocuk kalp cerrahisinde kullanılmak için geliştirilmiştir. 1990'lı yılların başında Pittsburgh Üniversitesi'ndeki araştırmacılar tarafından bu kardiyopleji solüsyonu geliştirilmiştir. Bu araştırma ekibinde; Pedro del Nido, K. Eric Sommers, Hung Cao-Danh ve Akihiko Ohkado yer almıştır (22). Del Nido kardiyopleji solüsyonu 2003 yılından bu yana yetişkin kalp cerrahisinde de başarıyla kullanılmaktadır (23). Kardiyopleji solüsyonlarında veya miyokard korumada antioksidan ajanların yararlı

etkilerini gösterebilmek amacıyla birçok klinik ve deneysel çalışma da yapılmıştır. Bu çalışmaların başında da Mickle ve ark.'nın yaptıkları çalışmalar gelmektedir (10,11).

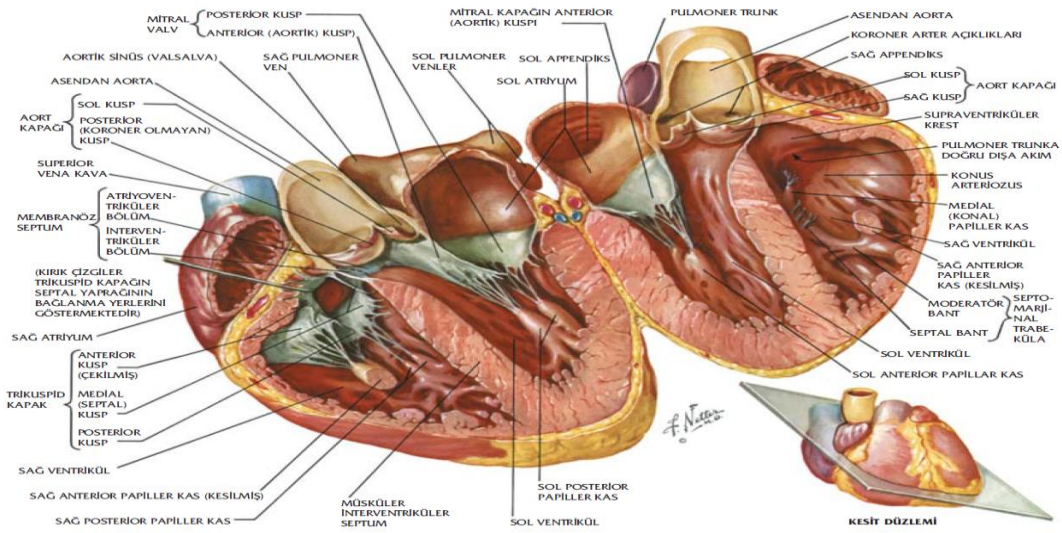
2.2. Kalp

Kanın vücuda dağılmasını sağlayan sistem kardiyovasküler sistemdir. Bu sistem geniş bir ağdan oluşmaktadır. Kardiyovasküler sistemin merkezi organı kalptir. Kardiyovasküler sisteminin temel olarak iki önemli görevi bulunmaktadır (25). Kardiyovasküler sistem oksijen, besin maddeleri ve diğer esansiyel moleküllerin dokulara dağılımını sağlarken; ortaya çıkan atık maddelerini de (karbondioksit, metabolik yıkım ürünleri) atılımlarından sorumlu organlara (akciğer, böbrek, karaciğer) taşımaktadır. Bu fonksiyonların gerçekleşebilmesi için vücutta iki adet (Pulmoner ve sistemik) dolaşım sistemi gelişmiştir. İki yönlü gaz alışverişini sağlayan spesifikleşmiş, rezistansı düşük ve kapasitesi yüksek olan damar yatağı pulmoner dolaşım sistemidir. Oksijen ve besin maddelerinin taşınmasını, karbondioksit ve metabolik atık gibi maddelerin atılmasını sağlayan spesifikleşmiş, rezistansı oldukça yüksek olan damar yatağı ise sistemik dolaşımdır. Kalp ise her bir yanı atriyum adını verdiğimiz ince duvarlı, venöz kanın alındığı ve ventrikül adını verdiğimiz kalın duvarlı, kanın pompalandığı iki bölümden oluşmaktadır (26).

Kalp, sternokostal olarak perikardiyumun içinde "boş, kaslı, dört odalı bir organ" olarak bulunur. Kalp, tabanında bulunan büyük damarlar tarafından boşluğa tutunmuştur. Kalbin pozisyonu asimetriktir. Dört odası fonksiyonel olarak benzer iki çift bölmeye ayrılmıştır ve bu çiftler birbirinden kardiyak septumla ayrılmaktadır. Çiftler ince duvarlı atriyum ve daha kalın duvarlı ventrikülden oluşur. Sol atriyumun major ve önemli bölümü doğrudan posteriorda ve omurganın ve özefagusun önünde, orta hatta bulunur. Anterior göğüs duvarı ortadan kaldırılıp perikardiyum açıldığında kalbin karşımıza çıkan kısmı büyük oranda sağ ventriküldür. Bunun sağında sağ atriyum vardır. Sağ atriyum ve sağ ventrikül birbirinden sağ atriyoventriküler (koroner) sulkus ile ayrılmaktadır. Sağ koroner arter bu sulkusun içinden ilerlemektedir. Sağ ventrikülün solunda, sol ventrikülün küçük bir kısmı görülebilmektedir. Sol ventrikül sağ ventrikülden anterior interventriküler sulkus ile ayrılır. Sol koroner arterin anterior interventriküler (desandan) dalı bu çukurda bulunmaktadır. Superior olarak pulmoner

trunkus sağ ventrikülden köken alır ve ana dallarına ayrılmadan hemen önce perikarduyumdan çıkar. Pulmoner trunkusun sağında asendan aortanın intraperikardiyal bölümü bulunmaktadır. Asendan aortanın intraperikardiyal bölümünün tabanı büyük oranda sağ atriyal appendiks ile çevrilidir. Sağ koroner arter ve aortanın tabanı yağ dokusu lobülleri ile çevrilidir ve bu yapılara Rindfleisch katlantısı denilmektedir (27).

Kalbin, posterior ve diyaframatik bölümleri perikardiyumdan çıkıldıktan sonra incelenebilir. Vena kava superiyor ve inferiyor, sağ atriyuma dökülmektedir. Sulkus terminalis, vena kava superiyorun sağ bölümünü sağ appendiksin tabanından ayırmaktadır. Sağ akciğerden gelen sağ pulmoner venler sağ atriyumun posteriyorundan geçerek sağ taraftan sol atriyuma girerler. Sol iki pulmoner ven sol atriyuma soldan girerler. Sol atriyumun posterior duvarı oblik perikardiyal sinüsün anteriyor duvarını oluşturur. Normalde sol atriyumun diyafram ile teması bulunmamaktadır. Pulmoner trunkusun çatallanması sol atriyumun kökü üzerindedir. Sol pulmoner arter çatallanmadan hemen sonra sol akciğere yönelir. Sağ pulmoner arter ise proksimal vena kava superiyorun arkasında ve sağ pulmoner venlerin üzerinde, sağ akciğere doğru ilerlemektedir. Aortik kemer, üç ana dala ayrıldıktan sonra pulmoner arter çatalını geçer (brakiyosefalik arter, sol ortak karotid ve sol subklaviyen arter). Sol atriyum ve sol ventrikül arasında, sol atriyoventriküler çukurun posteriyor kısmında, koroner sinüs bulunmaktadır. Bu sinüs yapısına kardiyak venler girmektedir (27).



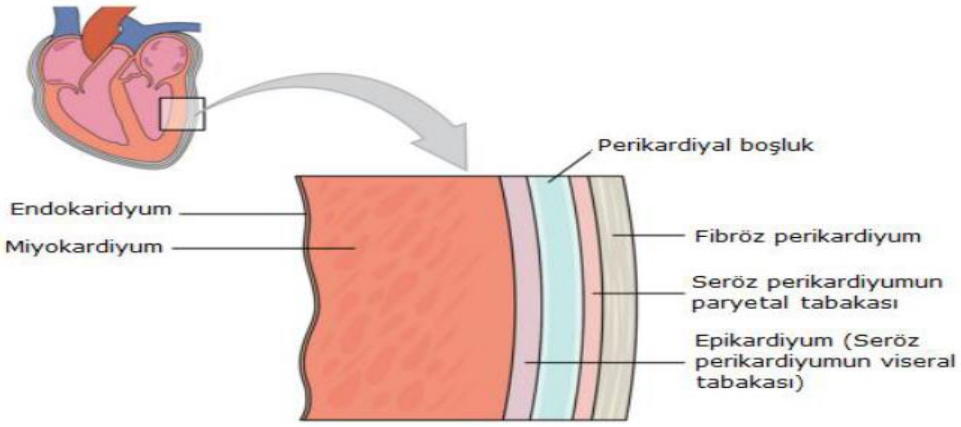
Şekil 2.2. Kalbin Anatomisi (27).

Kalbin dört odacığının duvarını oluşturan kalp kası ritmik olarak kasılarak kanı sistemik dolaşıma pompalamaktadır. Kalbin dört odacığının duvarları: en içteki endokard, ortadaki miyokard ve en dıştaki epikard adını almaktadır (28).

Endokard: İçte endotel ve destek bağ dokusundan ibaret çok ince bir katman, ortada düz kas liflerinden ve bağ dokusundan oluşan miyoelastik bir tabaka ve bunun da altında subendokardiyal tabaka adı verilen ve miyokardla birleşen derin bir tabakadan oluşmaktadır. İletim sistemini oluşturan ve değişikliğe uğramış kalp kası liflerinden meydana gelen liflerinin dalları da subendokardiyal tabakada yer almaktadır (28).

Miyokard: En kalın tabakadır ve esas olarak her kalp boşluğunu spiral olarak saran kalp kas liflerinden oluşmaktadır. Sistemik ve pulmoner dolaşımda kanı pompalamak için yüksek güce gereksinim duyulması nedeniyle miyokard, özellikle sol ventrikül duvarında olmak üzere ventriküllerde atriyum duvarlarına kıyasla daha kalındır (28).

Epikard: Kan damarları ve sinirler içeren gevşek bir bağ dokusu tabakası ile desteklenen, tek katlı bir mezoteldir. Epikard, kalbi saran zar olan perikardın viseral tabakasına karşılık gelmektedir. Büyük damarların kalbe girdiği ve kalbi terk ettikleri yerlerde epikard perikardın pariyetal tabakasına denk gelmektedir. Kalp hareketleri sırasında epikardın içindeki yağ dokusu kümeleri, altındaki yapılara destek görevi görür ve seröz mezotelin her iki tabakası tarafından üretilen kayganlaştırıcı sıvı perikard içindeki sürtünmeyi engellemektedir (28).



Şekil 2.3. Kalbin Tabakaları (25).

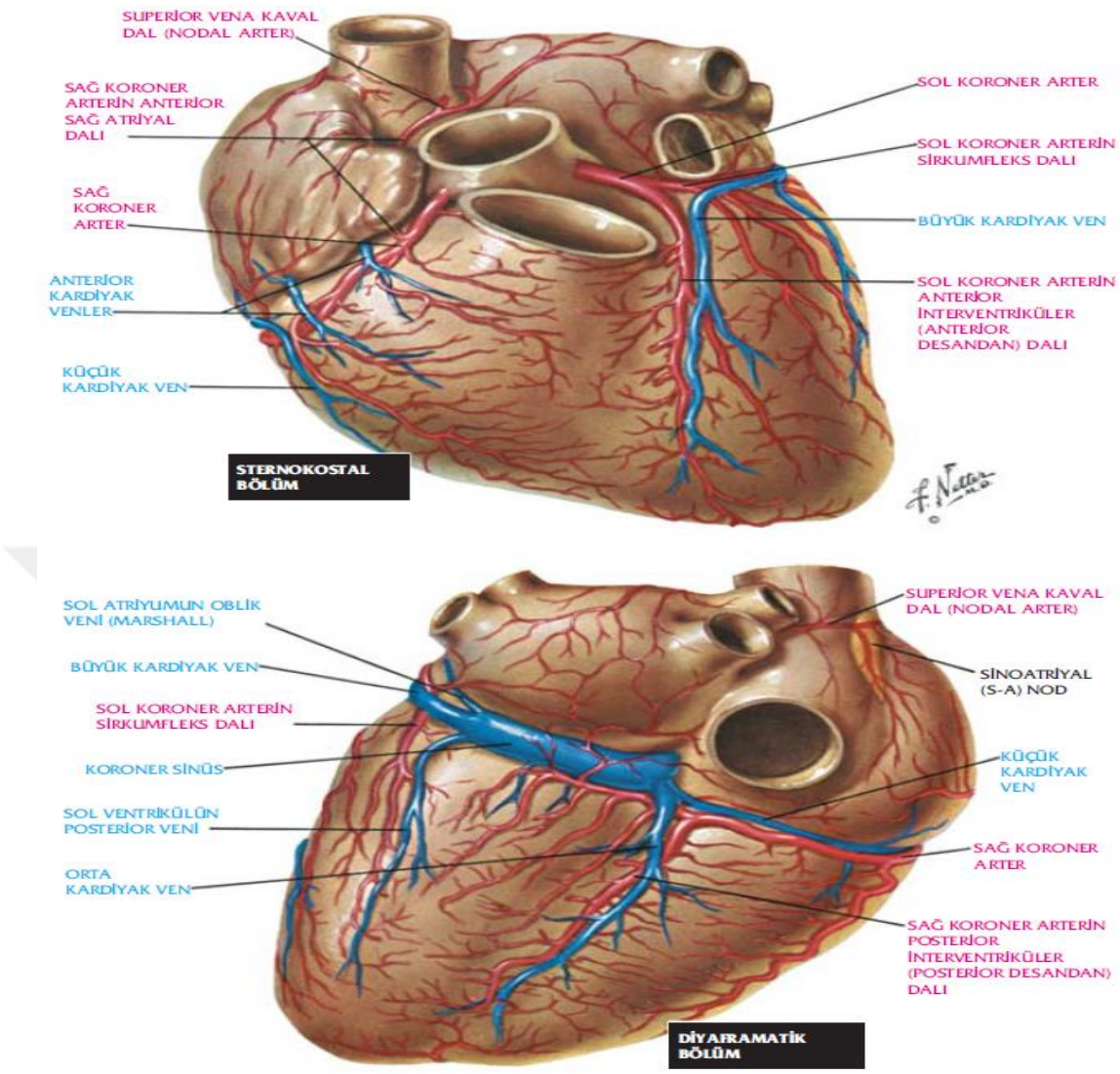
2.2.1. Koroner Dolaşım Yapısı

Kalbin koroner dolaşım yapısı, venöz sistemler, arteriyel sistemler ile bu venöz ve arteriyel sistemler arasındaki bağlantı yapılarından oluşmaktadır. Aorttan kapiller ağlara uzanan damar yolları ise koroner arterleri oluşmaktadır. İki ana büyük koroner arter damarı bulunmaktadır. Bunların biri kalbin sağında diğeri ise solundadır. Kalbi asıl besleyen kan epikardiyal koroner arterler yoluyla kalbe ulaşmaktadır. Posteriyor desendan arterin köken aldığı yere bakılarak koroner arterlerin hangisinin baskın olduğuna karar verilmektedir. Bu durum insandan insana değişebilmektedir. Posteriyor desenden arter genellikle %90 oranında sağ koroner arterden (Right Coronary Artery=RCA) ya da %10 oranında sirkumfleks arterden (Circumflex=Cx) köken almaktadır. Miyokard her diyastol evresinde kanlanır. İnsanların yarısından (+%50) fazlasında sinoatriyal (SA) nod arteri sağ koroner arterin dalıyken, diğer insanlarda ise sinoatriyal nod arteri sirkumfleks arterin dalıdır. Atriyoventriküler (AV) nod arteri ise genellikle %90 sağ koroner arterden köken alır, diğer %10'luk kesimde ise sirkumfleks arterden köken alabilmektedir. Çilt yoldan kanlanan his demeti ise hem sol anteriyor desendan hemde posteriyor desendan arterlerin septal dallarından beslenmektedir (29).

Sol koroner arter sol Valsalva sinüsünden orijin alır. Orijin noktası sinüsün üst sınırına yakın, kapak kuspının serbest kenarı seviyesindedir. Bu koroner damarların genellikle kısa ortak bir kökleri bulunmaktadır (0,5cm ile 2cm arasında). Bu kök iki veya üçe ayrılmaktadır. Bu dallardan bir tanesi olan anteriyor interventriküler dal (desendan), anteriyor interventriküler boşluk içinde aşağıya doğru inmektedir. Bu dal daha sonra apeksin hemen sağından kalbin akut sınırını dönmekte, ordanda posteriyor interventriküler boşluğa doğru kısa bir mesafe yukarı doğru çıkmaktadır. Sol koroner arterin anteriyor interventriküler dalı (desendan), komşusu olan anteriyor sağ ventriküler alana dal vermektedir. Bu dal sağ koroner arterden gelen dallar ile genellikle anastomoz yapmaktadır. Ayrıca sol koroner arter, septal dallara ve sol ventrikülün anteroapikal dallarına da kayanaklık yapmaktadır. His demeti ve iletim sistemini, anteriyor interventriküler daldan köken alan diğerlerinden daha büyük olan septal dal beslemektedir. Sol koroner arterin sirkumfleks dalı ise sol atriyoventriküler alan içinde ilerlemekte ve sol ventriküler duvarın üst lateraline ve sol atriyumuna dallar vermektedir. Sirkumfleks arter genellikle kalbin künt kısmında sonlanmaktadır. Sol

koroner arter bazen üç dala ayrılabilmektedir. Bu durumlarda, sirkumfleks arter ile anteriyor interventriküler dal arasındaki bu ana arterden köken alan üçüncü dal sol ventrikül dalıdır (27).

Sağ koroner arter aortanın sağ anteriyor valsalva sinüsünden köken almakta ve yağ içinde gömülü olarak sağ atriyoventriküler sulkus boyunca ilerlemektedir. Posteriyor interventriküler dal (desandan) ise, posteriyor interventriküler boşluk içinde aşağıya doğru inmekte ancak apekse ulaşmamaktadır. Bu dal interventriküler septumun arka bölümünün yarıya yakın bir kısmını beslemektedir. Sağ ventrikülün diyafragmatik bölümü genellikle anadamarın kendisi tarafından beslenmemekte, aksine marjinal ve posteriyor desendan arterlerin paralel olan küçük dalları tarafından beslenmektedir. Posteriyor desendan arterler genellikle kruksu geçer, ordanda posteriyor interventriküler dala ve atriyoventriküler noda birer küçük dal verirler. Ordanda sol ventrikülün duvarında dallar oluşturarak sonlanırlar. Sol ventrikülün posteriyor papiller kasının genelde hem sol hem de sağ koroner arterden gelen çift kan desteği vardır. Sağ koroner arterin sağ atriyal dalları arasında büyük öneme sahip olan bir dal bulunmaktadır. Bu önemli dal, başlangıcından hemen sonra sağ koroner arterden köken almakta ve anteromediyal duvar boyunca yukarı doğru çıkmaktadır. Daha sonra atriyal septumun üst bölümüne varmakta, ordan da vena kava superiyorun posteriyor tarafında ve sol tarafında vena kava superiyor dalı olarak ortaya çıkmakta, bu açıklığın etrafını dolaşmakta ve sinoatriyal noda yakın seyretmekte, bu esnada krista terminalise ve pektinat kaslara dallar vermektedir (27).



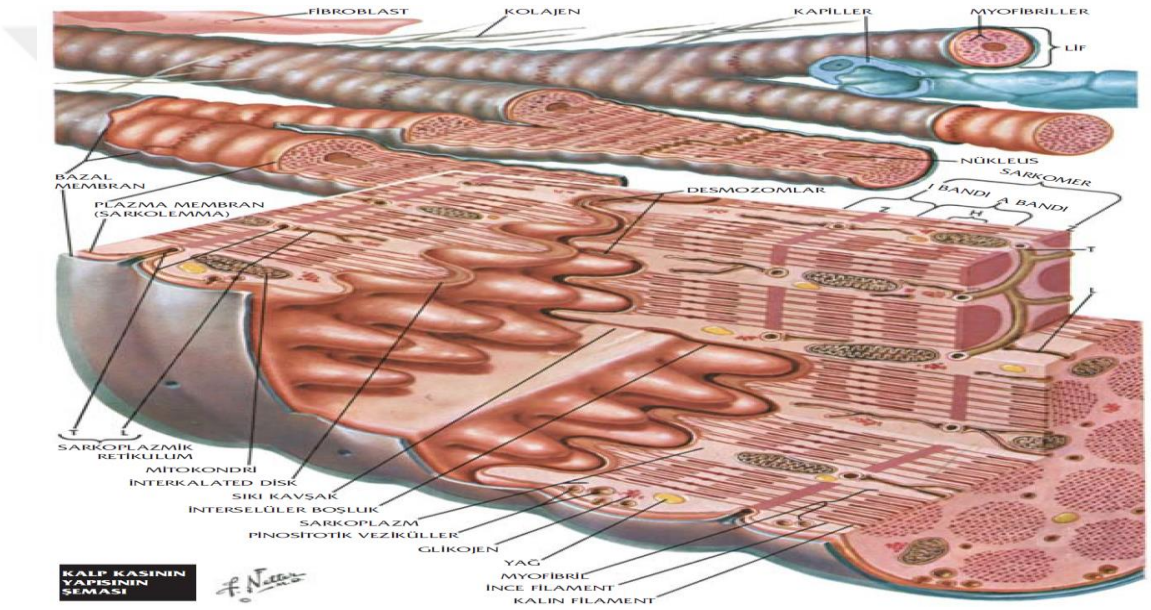
Şekil 2.4. Koroner Dolaşım ve Anatomisi (27).

2.2.2. Miyokardın (Kalp Kası) Yapı ve Metabolizması

Kalp kası hücreleri silindirik yapıdadırlar ve tipik bir memeli hücresinden farkları hücreye bağlanmış olan ayrıntılı bir protein iskeleti içermeleridir. Matriksin içindeki proteinler ise; kuvvet oluşturmaya, hücrelerin büzülmesine ve kalbin kan pompalamasına yol açmaktadır (30). Kalp kası hücreleri, iskelet kasının gelişiminde olduğu gibi çok çekirdekli hücreler oluşturmak üzere birleşmek yerine, birbirine kenetlenmiş kompleks bağlantılar oluşturmaktadırlar. Bir lif içindeki hücreler, sık olarak komşu lifteki hücrelere dallar vermekte ve bağlantı kurmaktadır. Buna bağlı

olarak kalp, hücrelerin sıkı örgülü dallanmalarından oluşmaktadır. Bu örgülenme şekli kalp ventriküllerinde, kıvırılıp sıkma şeklinde kasılma dalgalarının oluşumunu sağlamaktadır. Olgun kalp kası hücreleri yaklaşık 15 µm çapında ve 85-100 µm uzunluğundadır. İskelet kasına benzer çapraz-çizgili bantlı yapı göstermektedirler. Bununla beraber, çok çekirdekli çizgili kastan farklı olarak, her bir kalp kası hücresi santral yerleşimli, açık boyanan yalnızca bir (veya iki) çekirdeğe sahiptir. Kas hücreleri zengin kapiller ince endomisyum tabakası ile çevrilidirler. Kalp kasının benzersiz ve ayırt edici özelliklerinden biri, hücrelerin bağlantı yaptığı yerleri gösteren, kalp hücre dizilerini düzensiz aralıklarla kesen, koyu boyanmış yatay çizgilerin bulunmasıdır. Bu interkalar diskler komşu kas hücrelerinin ara yüzünü oluşturmakta ve pek çok bağlantı kompleksi içermektedir. Bu basamak benzeri disklerin yatay bölgelerinde çok sayıda dezmozom ve fasya adherens bulunmaktadır. Bunlar epitel hücreleri arasındaki zonula adherense benzemektedirler. Ayrıca bunlar birlikte kalp kası hücrelerinin kasılma sırasında birbirlerinden farklı yönlere çekilmesini önleyecek şekilde sıkıca bağlanmayı sağlamaktadırlar. Her bir diskin uzunlamasına yönlendirilmiş bölümleri, hücreler arasında iyon sürekliliğini sağlayan pek çok aralık bağlantısına sahiptir. Bunlar elektriksel sinapslar olarak işlev görmekte ve tıpkı iskelet kasında olduğu gibi kalp kası hücrelerinin kasılma sinyallerinin hücreden hücreye bir dalga halinde geçmesine izin vermektedirler. Kalp kasındaki kasılmayı sağlayan proteinlerin yapı ve işlevi temel olarak iskelet kasındaki proteinlerle aynıdır. Bununla birlikte T tübülleri ve sarkoplazma retikulumu kalp kası liflerinde düzenli bir şekilde dağılmamamıştır. Kalp kasındaki T tübülleri daha fazla sayıda ve daha büyüktür ve sarkoplazrna retikulumu ise daha az sayıdadır. Kalp kası hücreleri çok sayıda mitokondri içermektedir, bunlar sitoplazma hacminin %40'ını veya daha fazlasını doldurmaktadır. Bu durum sürekli aerobik metabolizmaya duyulan gereksinimi yansıtmaktadır. Lipoproteinler tarafından kalp kası hücrelerine taşınan yağ asitleri kalbin başlıca yakıtıdır ve bunlar kalp kası hücreleri içerisinde bulunan çok sayıda lipit damlası içinde trigliseridler şeklinde depolanmaktadır. Aynı zamanda sitoplazmada glikojen granülleri de bulunabilmektedir. Lipofuskin pigmenti granülleri sık olarak kalp kası hücrelerinin çekirdeklerinin yakınında bulunmaktadır. Kalbin ventrikül kasları, atriyum kaslarına göre daha kalındır ve bu durum sistemik kanın pompalanmasında ventriküllerin kullanıldığını göstermektedir. Atriyumu oluşturan kas hücreleri daha küçüktür ve dikkati çekecek

kadar az T tübülü içermektedir. Her biri yaklaşık 0,2 ile 0,3 μm çapında olan zarla sarılı sitoplazmik granüller atriyal kas çekirdeğinin yakınında bulunmaktadır. Kalp kası liflerinin kasılması intrensek ve kendiliğinden gerçekleşmektedir. Ritmik kasılma veya kalp atımı için uyarılar, uyarı üretimi ve iletimi oluşturmak için özelleşmiş miyokard liflerinde bulunan düğümler tarafından başlatılmakta, düzenlenmekte ve bölgesel olarak koordine edilmektedir. İskelet kasındaki gibi, tek tek kalp kası liflerinin kasılması da ya hep ya hiç şeklindedir. Kasılma miktarı uyarılan hücrelerdeki düğümlerin otonom sinir bağlantıları ile değiştirilmekte, uyarıların sıklığını sempatik sinir artırmakta, parasempatik sinir ise azaltmaktadır (31).



Şekil 2.5. Kalp Kasının Yapısı (27).

Kalp kasının kasılma mekanizmasının farklılığı kalp kasının yapısal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Kalp kası iskeletini oluşturan matriksin içindeki proteinler; kuvvet oluşturmaya, hücrelerin büzülmesine ve kalbin kan pompalamasını sağlamaktadır. Kuvveti üreten esas alan hücrenin uzun eksenidir. Sarkomerleri oluşturan aktin (İnce olan) ve miyozin (Kalın olan) flamentleri arasında kimyasal ve fiziksel etkileşimler olmaktadır. Bu etkileşimler ise miyozitlerin kontraksiyonuna sebep olmaktadır (30). Aktin, üç farklı proteinden oluşmaktadır. Düzenleyici kompleks bir yapısı olan bu yapı aktin, tropomiyozin ve troponinden oluşmaktadır. Troponinler düzenli olarak tropomiyozinlere bağlanmaktadır. Ayrıca troponin kompleksinin de üç

farklı alt ünitesi bulunmaktadır. Bunlar; troponin-T, troponin-C ve troponin-I'dır. Bu ünitelerden Troponin-T, tropomiyozine bağlanmaktadır. Troponin-C, kasılma ve gevşeme sırasında kalsiyumun bağlantı yaptığı yerdir. Troponin-I ise miyozin ve aktinin bağlanmasını inhibe etmektedir. Kalp kasındaki kasılmayı, miyozitlerin yüzeyinde gerçekleşen aksiyon potansiyeli oluşturmaktadır. Bu olayın gerçekleşmesinde kalsiyum iyonunun önemli bir rolü bulunmaktadır (32). Kalp kasındaki kasılmayı gerçekleştiren aksiyon potansiyeli, eş zamanlı olarak hem zar üzerinde ilerler hemde transvers tübüllerin zarları boyunca (kas liflerinin iç kısımlarına kadar) ilerlemektedir. T tübüllerinde bulunan aksiyon potansiyeli, sarkoplazmik retikulum zarlarını etkilemekte ve bunun sonucunda kalsiyum iyonları serbest kalmaktadır. Daha sonra saniyeler içinde gerçekleşen kalsiyum iyonlarının miyofibrillere difüzyonu, miyozin ve aktinin birbirleri üzerinde kaymasını sağlayan kimyasal olayları başlatmaktadır. Kasılma kuvveti kalsiyum iyonu ile ilişkilidir. Kalbin aksiyon potansiyelinde bulunan platonun bitiminde, kalsiyum iyonlarının liflere akışı son bulmakta ve sarkoplazmada bulunan kalsiyum iyonları hızlı bir şekilde sarkoplazmik retikuluma geri pompalanmaktadır. Gerçekleşen bu olay aktif taşıma şeklinde olup, bu sayede kalp kasında gerçekleşen kasılma durmakta ve bir sonraki gerçekleşek aksiyon potansiyeline hazırlanmış olacaktır (33).

Kalp, bütün vücut ağırlığının %0,5'inden daha azını oluşturmasına rağmen, istirahat esnasındaki kalbin oksijen tüketimi, tüm vücut oksijen tüketiminin %7'sinden fazladır. Kalp kası kendisine gelen kandaki oksijeni diğer organlara göre daha yüksek oranda alabilmektedir. Bu şekilde miyokardın artan oksijen ihtiyacı koroner kan akımının arttırılması ile sağlanabilmektedir. 100 gr sol ventrikül istirahat esnasında dakikada 8 ml oksijen tüketmektedir. Potasyum ile gerçekleştirilen kardiyak arrest esnasında ise oksijen tüketimi 100 gr miyokard dokusu başına dakikada 1,5 ml'ye kadar inmektedir. Bu durum oksijen tüketiminde %80 oranda bir azalmaya denk gelmektedir (9). Miyokardın oksijen sunumu ile oksijen ihtiyacı arasında bir dengesizlik meydana geldiğinde miyokard iskemisi oluşmaktadır. Bu oluşan miyokard iskemisi, sistemi anaerobik metabolizmaya kaydırmaktadır. Anaerobik metabolizma sonucunda hızlı bir asidoz oluşmakta ve ardından miyokard hasarına neden olmaktadır. Aerobik glikoz metabolizmasında ise glikoz ilk olarak pirüvata, daha sonra asetil koenazim-A (Asetil CoA)'ya dönüşmektedir. Asetil koenazim-A mitokondride krebs döngüsüne katılmakta,

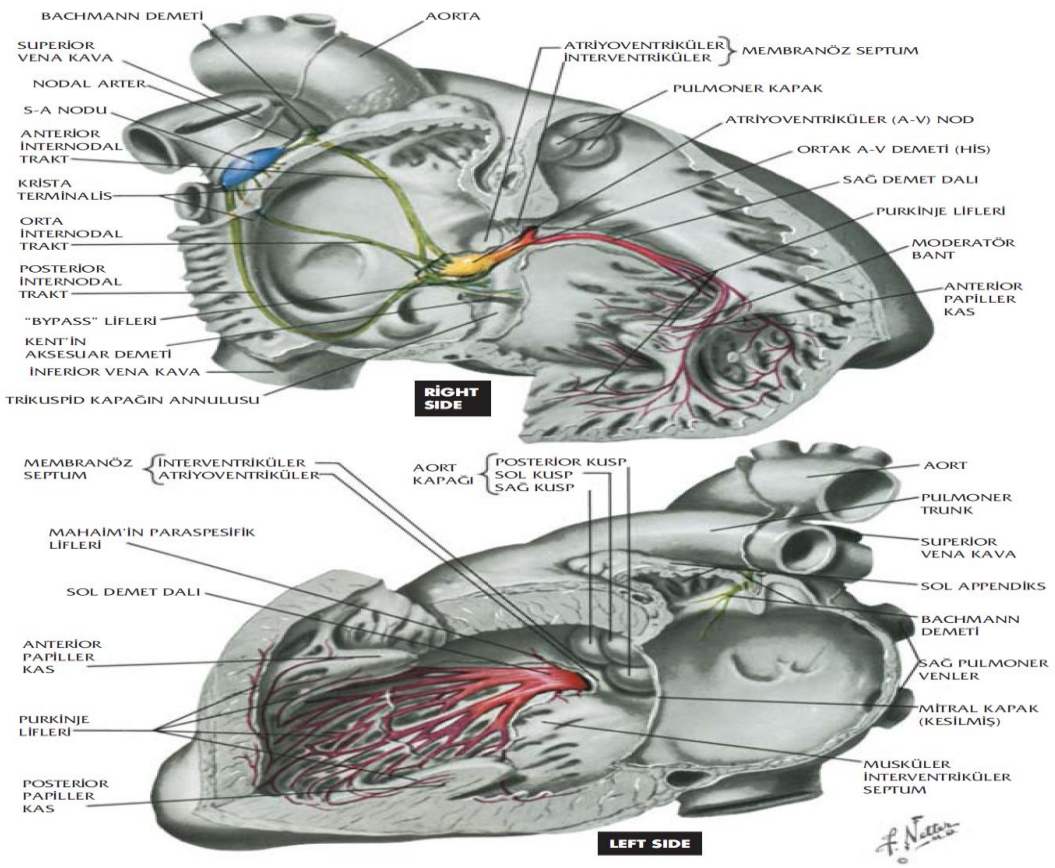
su (H_2O) ve karbondioksit (CO_2) olarak parçalanmakta ve enerji elde edilmektedir. Her bir glikoz molekülü yıkımından 38 Adenozin trifosfat (Adenosine Triphosphate=ATP) elde edilmektedir. Bunun 36 ATP'si oksidatif fosforilasyon ile 2 ATP'si ise glikoliz yolu ile gerçekleşmektedir. Sistemde anaerobik metaolizma gerçekleştiğinde, yalnızca 2 ATP elde edilmekte ve son ürün olarak laktat açığa çıkmaktadır. Miyokardın tükettiği oksijen miktarının belirlenmesi bazı durumların bilinmesiyle hesaplanabilmektedir. Bunlar; koroner kan akımı, koroner sinüs kan içeriği ve arteriyel kan içeriğidir. Ayrıca miyokadın tükettiği oksijen kalbin hızına, sistol sırasında damarlara pompalanan kan volümüne ve diğer faktörlere bağlı olmaktadır (34).

EKD eşliğinde yapılan kardiyak cerrahide miyokardın oksijen tüketimi değişiklik göstermektedir. Kardiyak cerrahi esnasında miyokardın oksijen tüketimi önemli değişiklikler göstermektedir. Miyokardın en düşük oksijen tüketimi kalbin arrest olduğu dönemde gerçekleşmektedir. Kalbin oksijen tüketiminin maksimum düzeye çıktığı dönem ise kardiyopulmoner bypass sonrası dönemdir. Fibrile kalp, boş atan kalp ve arrest halindeki kalbin oksijen tüketimlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada en yüksek oksijen tüketiminin normotermik fibrilasyon sırasında, en düşük oksijen tüketiminin ise hipotermik hiperkalemik arrest durumunda ortaya çıktığı belirtilmektedir (35).

2.2.3. Kardiyak Uyarı İleti Sistemi

Değişikliğe uğramış kalp kası hücreleri, subendokardiyal tabakanın ve bitişiğindeki miyokardın içinde, miyokard boyunca ritmik kasılmaları tetikleyecek depolarizasyon dalgalarını üreten ve ileten kalbin uyarı iletim sistemini oluşturmaktadır. Bu sistem sağ atriyumda bulunan özelleşmiş kardiyak dokudan oluşan iki düğümdür: sinoatriyal (SA) düğüm (veya pacemaker) ve atriyoventriküler (AV) düğüm. Bunlar AV demet (His demeti) ve subendokardiyal iletim ağı ile devam etmektedir. Sağ atriyum duvarında üst vena kavanın yakınında bulunan SA düğümün kütlesi 6-7 mm^3'tür; komşu kas liflerine göre daha küçük boyutta kas hücreleri, daha az sayıda miyofibril içermekte ve daha az tipik interkalar disk bulundurmaktadır. Bu hücrelerden kaynaklanan uyarılar her iki atriyumun miyokardiyal lifleri boyunca iletilmekte ve atriyumları kasılmaları için uyarmaktadır. Uyarılar, AV kapağın yakınında sağ atriyumun tabanında bulunan ve SA düğümdekine benzeyen hücrelerden oluşan, biraz daha küçük AV düğüme

ulaştığında bu hücrelerin depolarizasyonunu sağlamaktadır. AV düğümün oluşturduğu iletiyi taşıyan kas lifleri AV demeti oluşturmakta; bu demet kalp iskeletinin içindeki bir açıklıktan interventriküler septuma geçmekte ve her iki ventrikül duvarının içine uzanan iki dala ayrılmaktadır. Kalbin tepe noktasında (apeks) dalların dahada dallanarak oluşturdukları subendokardiyal kas liflerinden oluşan ileti ağı, Purkinje lifleri olarak adlandırılmaktadır. Purkinje lifleri distalde her iki ventrikülün de kasılabilen lifleri ile karışmakta ve her iki ventrikül boyunca kasılma dalgalarını eşzamanlı olarak tetiklemektedir. Kalp hem parasempatik hem de sempatik sinir bileşenleri tarafından inerve edilmektedir. Ganglionik sinir hücreleri ve sinir lifleri, SA ve AV düğümlerine yakın bölgelerde bulunmakta ve kalp hızı ve ritmini etkilemektedirler. Parasempatik bölümün (vagus sinirinin) uyarılması kalp atımını yavaşlatmakta, oysa sempatik sinir uyarısı pacemaker etkinliğini hızlandırmaktadır. Ayrıca miyokard liflerinin arasında, ağrıyı algılayan serbest aferent sinir uçları bulunmaktadır (28).



Şekil 2.6. Kardiyak İleti Sistemi (27).

İleti sisteminin özel düzeni sayesinde, kalp uyarısının atriyumlardan ventriküllere geçişi saniyeden daha uzun süren bir gecikme ile gerçekleşmektedir. Bu gecikme ile atriyumlar ventriküllerden önce kasılmakta ve ventriküllerin kuvvetli kasılmasından önce kanın ventriküllere pompalanması sağlanmaktadır. Her kalp atımının başlangıcı ile bir sonraki kalp atımının başlangıcına kadar geçen sürede gerçekleşen kalp olaylarına kardiyak döngü (Kardiyak siklus) denilmektedir. Her bir kardiyak döngü, sinüs düğümündeki bir aksiyon potansiyelinin kendiliğinden oluşması ile başlamaktadır (36).

Diyastol ve Sistol: Kardiyak döngü sırasında, kalp gevşeme (diyastol) sırasında kan ile dolar ve ardından kasılma (sistol) ile süreci tamamlar. Kardiyak döngünün toplam süresi ise, sistol ve diyastol dönemleri dahil olmak üzere, l/kalp hızı'dır. Örneğin, kalp atım hızı 75 atım/dakika ise kardiyak döngünün süresi; 1/75 atım/dakika veya yaklaşık olarak her atım için 0,0133 dakika veya 0,8 saniyedir (36).

2.3. Ekstrakorporeal Dolaşım Sistemi (Perfüzyon Sistemi)

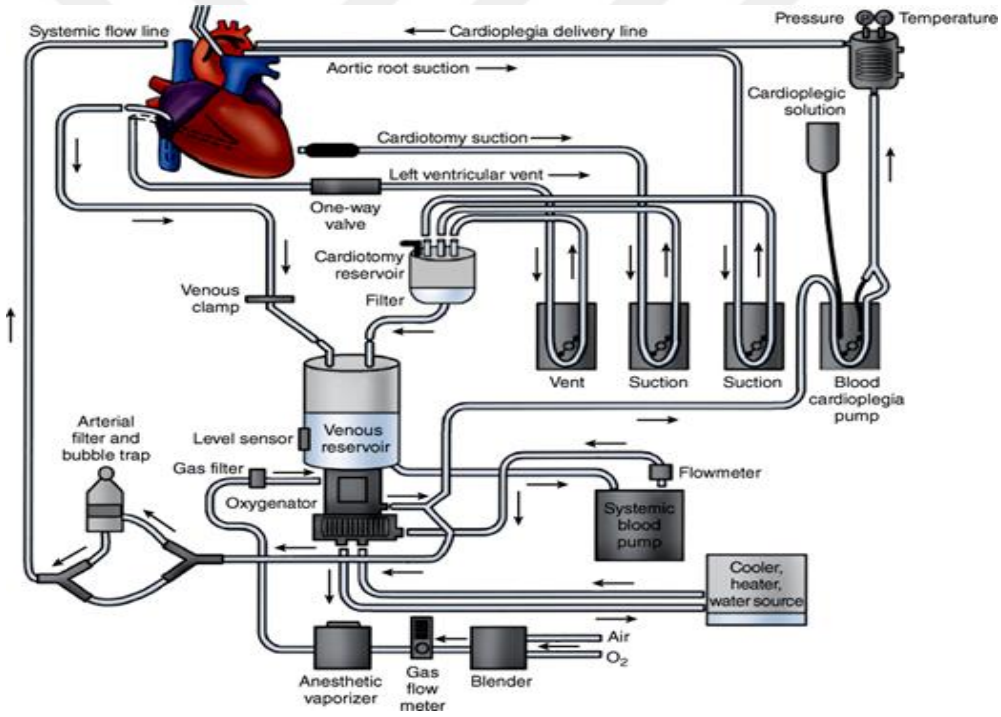
Kardiyovasküler cerrahide maksimum cerrahi görüşün sağlanması ve güvenliğin arttırılması amacı ile kardiyopulmoner sistemin izole edilmesi gerekmektedir. Bu amaçlar için kalbin ve akciğerlerin fonksiyonlarının gecici olarak devre dışı bırakılması gerekmektedir. Dolayısı ile, kalbin pompa ve akciğerlerin oksijenasyon fonksiyonları bu geçici sürede kalp-akciğer makinesi (Perfüzyon cihazı) adı verilen bir cihaz ile sağlanmaktadır. Kalp-akciğer makinesi ile sağlanan işleme KPB veya EKD denilmektedir (18).

KPB sisteminin birçok modifikasyonu bulunmaktadır. Ancak KPB sistemindeki ana prensip, santral bir ven ile alınan kanın bir rezervuarda toplanması, ardından toplanan bu kanın oksijenize edilerek bir filtreden geçirilmesi ve arteriyel sistem ile tekrar vücuda geri verilmesi şeklindedir (18).

KPB sisteminin ana komponentleri; pompalar, rezervuar, oksijenatör, ısı değiştirici, hatlar, venöz ve arteriyel kanüller ve arteriyel hat filtresinden oluşmaktadır. Modern KPB cihazlarında; sıcaklık, basınç, oksijen satürasyonu, hemoglobin, hematokrit, kan gazları ve elektrolitlerin ölçümünü sağlayan sistemlerde bulunmaktadır. Bunların yanı sıra; kabarcık dedektörü (Bubble sensör), oksijen sensörü

ve rezervuar seviye algılama sensörü gibi güvenlik özellikleri, alarm ve izleme sistemleri de bulunmaktadır (5).

KPB sistemindeki ana komponentlerin yanı sıra birçok yardımcı sistemde bulunmaktadır. Bunlar; kardiyopleji sistemi, manifold sistemi, cell saver sistemi ve hemakondansantörler'dir. Bu yardımcı sistemlerin çeşitli görevleri bulunmaktadır. Örneğin; kardiyopleji sistemi ile kalbin durdurulması ve miyokardiyal koruma sağlanmakta, manifold sistemi ile gerekli ilaçların uygulaması ve kan numunesi alımı gerçekleştirilmekte, cell saver sistemi ile ortamdaki dilüe olmuş kan yıkanıp konsantre edilmekte ve daha sonra hastaya geri kazandırılmakta ve hemakondansantörler ile de KPB sisteminde artan sıvı ve elektrolitlerin sistem dışına çıkarılması sağlamakta ayrıca trombosit ve birçok kan parametresinin korunmasında yardımcı olmaktadır (18).



Şekil 2.7. Kardiyopulmoner Bypass Sistemi Şeması (37).

2.4. Total Sirkülatuar Arrest Yöntemi

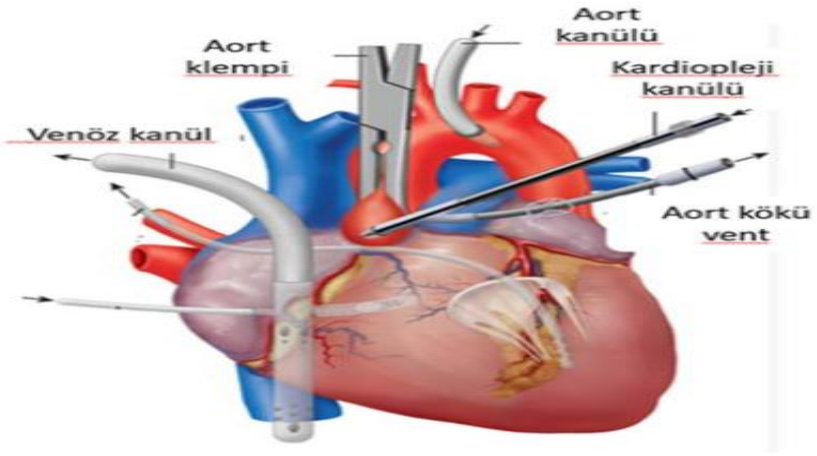
Derin hipotermik TCA yöntemi, vücut ısısının 20 ^{o}C altına düşürüldüğü ve kan dolaşımının geçici olarak durdurulduğu yöntemdir. Arkus aorta ile ilişkili torasik aort lezyonları, kompleks konjenital patolojiler, pulmoner tromboembolektomi ve bazen de

kardiyovasküler cerrahi dışında intraserebral anevrizma ameliyatlarında tercih edilmektedir. Kardiyak cerrahide TCA yöntemi ile berabaer hipoterminin uygulanması hipoterminin koruyucu etki mekanizmasının olmasıdır. Bu koruyucu mekanizma yalnızca beyin metabolizmasının korunmasını sağlamak ile kalmamakta ayrıca serbest oksijen radikallerinin ve sitotoksik aminoasitlerin salınımının önlenmesinide sağlamaktadır. Hipotermik sirkülatuar arrest sonrası nörolojik ve kardiyak hasar gibi birçok hasar ve olumsuz durumda ortaya çıkmaktadır. Bu olumsuz durumlar; lokalize strok, enfarkt, yetersiz akım ya da koruma sonucu global iskemi veya emboli sonucu gelişen lokalize iskemik enfarktlardır. KPB açısından önemli konu ise soğuma zamanının uzun tutulması ve böylece kraniyel hipoterminin sağlanmasıdır. Bu süre 30 dakikanın altına inmemeli tercihen 45 dakika olmalıdır. Isınma esnasında dikkat edilecek önemli nokta hava mikroembolisi riski nedeniyle vaka ile perfüzat ısısı arasında 10 derecenin üzerinde bir ısı farkına izin verilmemesidir. Isı değişimi vücut hacmi, perfüzyon akımı ve perfüzat ile vaka arasındaki ısı farkına bağlıdır. Soğuma viskoziteyi arttırmakta ancak bu durumun önüne geçebilmek için hemodilüsyonun derecesi arttırılmalıdır. Hiperglisemi, sirkülatuar arrest sırasında beyin koruması açısından tehlikelidir. Ayrıca arrest zamanının uzaması ile paralel olarak morbidite ve mortalitede yükselmektedir. Yöntemin sağladığı en büyük avantaj komleks aort patolojilerinin tamirinde zaman kısıtlılığını önemli ölçüde azaltmasıdır (18).

Derin hipotermik TCA süresinin 40 dakikayı aşması sonrası felç durumu, 65 dakikayı aşması durumunda ise mortalite oranı belirgin şekilde artmaktadır (38). Vücut ısısı ve beynin oksijen ihtiyacı için gerekli olan metabolik hız arasındaki ilişki değerlendirildiğinde güvenli hipotermik TCA süresinin 15°C'de 30 dakika, 10°C'de 40 dakika olduğu saptanmıştır (39).

2.5. Aortik Kross Klemp Uygulaması

KPB ve elektif kardiyak arrest yöntemlerinin uygulanması kalp cerrahisinde cerrahi operasyonların gerçekleştirilmesinde kansız bir ortam ve daha rahat bir süre imkanı sağlamaktadır. Bu amaçla kansız bir ortamın sağlanabilmesi için aortaya klemp uygulanmaktadır. Aortaya kross klemp uygulanması sırasında miyokardın korunması gerekmektedir. Aksi durumda iskemi ve hasar durumları ortaya çıkmaktadır.



Şekil 2.8. KPB İşlemi İçin Aortik Kross Klemp Uygulanması (40).

2.6. Miyokardiyal Koruma ve Kardiyopleji

2.6.1. Miyokardiyal Koruma

Miyokardiyal koruma hem operasyon esnasında hemde operasyon sonrası hemodinamik durumları korumak ve morbidite ve mortalite durumlarını önlemek açısından önemlidir. Kardiyak fizyoloji, metabolizma ve iskemi-reperfüzyon hasarlarının anlaşılması ile miyokardiyal korumada da önemli gelişmeler sağlanmıştır. Miyokardiyal koruma mekanik ve farmakolojik yöntemler ile sağlanmaktadır. Bu yöntem veya teknikler arasında hipotermi, iskemik arrest veya farmakolojik arrest (kardiyopleji) bulunmaktadır. Kardiyak cerrahi sırasında ve sonrasında iskemi nedeni ile miyokard işlev bozukluğunun önlenmesi için kardiyoplejik solüsyonlar kullanılmaktadır. Uygun kardiyopleji solüsyonun seçilmesi, iskemi-reperfüzyon hasarını önlenmek ve zararlı etkileri ortadan kaldırılmada önemli bir yere sahiptir (8). Bu nedenle miyokardiyal korumayı sağlamak için antioksidan ajanların kullanımıda ön plana çıkmıştır ve bu alanda da çalışmalar devam etmektedir (11,12,41).

Miyokardiyal koruma kalp cerrahisinde KPB öncesi, sırası ve sonrasını kapsamaktadır. KPB öncesi oluşan subendokardiyal iskemi postoperatif miyokardiyal performansı etkileyen ve ciddi olmadığında tanınması güç olan önemli bir sorundur. Hipertansiyon, hipotansiyon, bradikardi, taşikardi ve düşük kardiyak debi KPB öncesi

miyokardiyal disfonksiyona neden olan önemli bir sorundur (9). KPB sırasında miyokard teorik olarak hasar görme riski taşımaktadır. Özellikle uzamış EKD, küçük partikülat embolileri ve diğer nedenlerle subendokardiyal mikro dolaşımı bozmaktadır. Oksijen sunum/ihtiyaç dengesizliğinin EKD sırasında da oluşması ve buna karşı gerekli önlemlerin alınmaması miyokard hasarına yol açan en önemli nedendir. Oksijen sunum/ihtiyaç dengesini etkilediği bilinen faktörler arasında en önemlileri ventrikülün fibrilasyonu, distansiyonu ve kollapsı, yetersiz miyokard perfüzyonu, koronerlere partikülat veya hava embolisi, aşırı inotropik destek, uzamış KPB ve aortik kross klemp süresi sayılabilir (9). Yeterli miyokard koruması uygulandığı düşünülen vakalarda KPB sonrası bozulmuş miyokard performansının izlenmesi operasyonda teknik bir hatanın bulunduğunu veya metabolik bir bozukluk ile karşı karşıya kalındığı düşüncesini ortaya çıkarmaktadır. Eğer teknik bir neden veya metabolik bir bozukluk yok ise miyokardın özellikle de subendokardın operasyondan önce veya operasyon sırasında iskemik hasar gördüğünü göstermektedir (9).

2.6.2. Kardiyopleji

Kardiyak operasyonlar, kalp durduğu ve kansız bir ortam sağlandığı takdirde çok kolay yapılabilmektedir. Ancak bu süre içinde miyokard fonksiyonlarının korunması, kalp tekrar çalıştırıldığında tüm fonksiyonlarını geri kazanması açısından çok önemlidir. Günümüzde kalbin durdurulması için kardiyoplejik solüsyonlarla farmakolojik arrest tercih edilmektedir (9). Kardiyopleji miyokardiyal koruma yöntemlerinden biri olarak güncelliğini ve önemini korumaktadır (42). Kardiyoplejik solüsyonlar hiperkalemiktir ve bu hiperkalemik solüsyonlar arresti sağlayan depolarize pozitif değerli bir dinlenme membranı oluştururlar. Kardiyoplejik arrest miyokardın oksijen ve enerji tüketimini azaltmaktadır. Kardiyopleji solüsyonu diyastolde kalbi hızlı bir şekilde durdurur. Buna bağlı olarak da miyokard hücrelerinin enerji tüketimini ve iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmaktadır (43).

Kardiyoplejik bir solüsyonun başarılı ve etkin sayılabilmesi için bazı gerekli mekanizmaları bulunmalıdır. Bu mekanizmalar şunlardır (44):

- **Arrest:** Enerji tüketimini azaltmak ve miyokardı rahatlatmak için diyastolik arresttin hızlı ve etkili olması gerekmektedir (44).

- **Koruma:** Miyokardı koruması için iskemi-reperfüzyon hasarının en aza indirilmesini ve geri dönüşsüz hasarın önlenmesini sağlaması gerekmektedir (44).
- **Geri döndürülebilirlik:** Kalbin fonksiyonlarının hızlı, kolay ve etkili bir şekilde tekrardan başlamasını sağlayabilmelidir (44).
- **Minimum toksisite:** Postoperatif kardiyak ve diğer tüm organlar üzerine minimum toksik etki oluşturmalıdır (44).

Klinikte kardiyoplejinin uygulaması üç faza ayrılabilir. Bu uygulama fazları; başlangıçta verilen kardiyopleji, kardiyoplejinin sürdürülmesi ve dağılımı fazı ve reperfüzyon sırasında verilen sıcak kardiyopleji (hot-shot)'dir (9). Ancak bu durum her zaman geçerli olmayabilir, tek doz kardiyopleji uygulaması şeklinde de yapılabilmektedir (45).

Miyokardiyal korumada uzun yıllardır kullanılan kardiyopleji solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılan içeriklerin farklılık göstermesi ve bu alandaki çeşitlilik miyokardiyal koruma alanında araştırmalarıda arttırmıştır (46,47).

Kardiyoplejide Antioksidanların Kullanımı: Kardiyoplejide antioksidan ajanların yararlı etkilerini gösterebilmek amacıyla birçok klinik ve deneysel çalışma yapılmıştır (12). Suda eriyen askorbik asid ve alfa tokoferol gibi antioksidanların serbest radikallere bağlı hasarı azalttığı deneysel olarak saptanmıştır (11). Ayrıca köpekler üzerinde bölgesel miyokardiyal iskeminin oluşturulduğu çalışmada da suda eriyen askorbik asid ve alfa tokoferol gibi antioksidanların enfarkt alanını azalttığıda gösterilmiştir (10). Vitamin E (alfa tokoferol) ve sitozolik enzim glutatyon peroksidaz serbest radikal hasarını önleyen önemli endojen inhibitörlerdir. Fakat vitamin E'nin suda eriyen formu henüz klinik kullanılıma sunulmuş değildir. Yau ve ark.'nın yaptığı çalışmada 2 hafta süreyle yüksek doz vitamin E alan hastalarda serbest radikal hasarının azaldığını göstermişlerdir (48). Miyokardiyal korumanın önemi ve kardiyoplejide antioksidanlar üzerine yapılan çalışmalar, antioksidanların bu alanda ki önemini artırmaktadır.

2.7. Kardiyak Hasar

Kardiyak hasar birçok nedene bağlı oluşabilir. Bunlar miyokard infarktüsü, KPB operasyonları yada ilişkili faktörler olabilir (41). Miyokard infarktüsü geliştiğinde

kaçınılmaz bir miyokard disfonksiyonu oluşmaktadır. Miyokard infarktüsü koroner damarlarda oluşan tıkanmalar sonucu oluşmaktadır. Bu tıkanmalar sonucu miyokard beslenememekte ve iskemik bölgelerin oluşmasına ve bu bölgelerde ciddi hasarların oluşmasına neden olmaktadır (3). Miyokardiyal hasar, çeşitli derecelerde KPB ile de ilişkilendirilmekte ve morbidite ve mortaliteyi etkilemektedir. Miyokard hasarı KPB operasyonlarının kısa veya uzun olmasına bağlı olarak ortaya çıkabilmekte, ancak belirli klinik koşullarda daha olası olmaktadır. Bunlar arasında uzamış aortik kross klemp süreleri, bozulmuş ventriküler fonksiyon, eşlik eden kapak veya koroner bypass ile aort cerrahisi, akut koroner iskemi sırasında yeniden operasyon yer almaktadır. KPB sırasında, aort genellikle iyi bir cerrahi görüş alanı ve kansız bir ameliyat alanı sağlamak için klemplenmektedir. Kalp, aortik kross klemp sırasında atmaya (çalışmaya) devam eder ise, yüksek enerjili fosfatların hücre içi tükenmesi ortaya çıkar ve işlevin geri kazanılmasında bozulmaya neden olur. Kansız bir alan ve atmayan bir kalp sağlamak için kardiyoplejiyi kullanmaya alternatif bir yöntem olarak aortik kross klemp ve fibrilasyon tekniği, çok sayıda kısa süreli iskemi ve ardından reperfüzyon meydana getirmektedir. Savunmasız subendokardiyal kastan uzaklaşan akışın yeniden dağıtılması meydana geldikçe, bu, iskemik hasarı önlemek yerine daha da güçlendirmektedir. Ameliyat sonrası miyokardiyal hasarın tespit edilmesi önemli bir durumdur. Miyokardiyal hasarın klinik belirtileri, bozulmuş miyokardiyal kontraktilite, disritmiler, azalmış ventriküler uyumluluk veya segmental miyokardiyal duvar hareket anormallikleri nedeniyle düşük kardiyak output sendromu olarak ortaya çıkabilmektedir (5,41). Kardiyak hasarı belirlemede oksidatif stres belierteçleri TAS, TOS, OSİ ve DNA hasar belirteç düzeyi 8-OHdG gibi parametrelerin değerlendirilmesi oldukça duyarlı ve özgül göstergeler olarak değerlendirilmektedir.

2.7.1. İskemik Hasar

İskemi, miyokardiyumda hızlı bir metabolik ve ultra strüktürel bozulmaya neden olmaktadır. Yüksek enerjili fosfat depoları hızlı bir şekilde boşalmakta ve ATP depolarının yaklaşık yarısı (%50'si) 10 dakika içinde kaybedilmektedir. Sonraki 1-2 dakika içinde ise azalmış miyokardiyal kontraktilite ortaya çıkmaktadır. Normotermik iskemi durumunda ise 30 ile 40 dakika içinde geri dönülmez miyokardiyal hasar

oluşmaktadır. Histolojik çalışmalarda infarktüsten en erken 4 saat sonra miyokardiyumda koagülasyon nekrozu, nötrofilik infiltrasyon ve ödem saptanmıştır. Bunu 24 saat içinde şiddetli bir nötrofilik infiltrasyon, miyositlerin parçalanması ve fibrositlerin proliferasyonu izlemektedir. Fibrin birikimi ise 7 gün içinde başlamaktadır. Kalbin subendokardiyal kası iskemik hasara karşı en hassas olan bölümdür. Özellikle sol ventrikülün subendokardiyal kısmının kan akımı sadece diyastol sırasında olmaktadır. Miyokarda diyastol sırasında dağılan oksijen miktarını ve miyokarda sunulan enerjiyi belirlemek için kullanılan DPTI (Diastolic Pressure Time Index=Diyastolik basınç zaman indeksi) koroner kan akımı için gerekli gücü ifade etmektedir. Miyokard tarafından alınan oksijen miktarı ve sistol sırasında miyokardın ihtiyacı olan enerji ise TTI (Time Tension Index=Zaman gerginlik indeksi) olarak ifade edilmektedir. DPTI/TTI oranına endokardiyal canlılık oranı (EVR=endocardial viability rate) denilmektedir. Bu oran 0,8'in altına indiği zaman subendokardiyal iskemiden söz edilmektedir. Yani böyle bir durumda diyastol sırasında miyokarda sunulan enerji, sistol sırasında miyokardın ihtiyacı olan enerjiden daha azını oluşturmakta ve iskemi ortaya çıkmaktadır. Subendokardın iskemiye duyarlılığı özellikle koroner arter hastalığı veya ventriküler hipertrofisi olan vakalarda daha da artmaktadır. Miyokardın oksijen sunumu ve ihtiyacı arasında bir dengesizlik oluştuğunda miyokard iskemisi oluşmakta, oluşan bu iskemik durum anaerobik metabolizmanın başlamasına sebep olmaktadır. Anaerobik metabolizma sonucunda ortaya çıkan son ürünler ise miyokardiyal fonksiyon bozukluğuna, hızlı bir asidoz gelişmesine ve miyosit nekrozuna neden olmaktadır (9).

2.8. Antioksidanlar ve Oksidatif Stres

2.8.1. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin veya oksidatif stresin oluşumunu ve oksidatif stresin oluşturduğu veya meydana getirdiği hasarı önlemek için organizmada oluşan savunma mekanizmalarına antioksidan denir. Antioksidanlar ikiye ayrılmaktadır. Bunlar endojen ve eksojen kaynaklı olanlardır. Endojen antioksidanlarda kendi içinde ikiye ayrılmaktadır. Bunlar; enzim olmayan (nonenzimatik) ve enzim olarak görev yapan antioksidanlardır. Enzim olmayan (nonenzimatik) endojen antioksidanlar, albumin,

bilirubin, ürik asit, β-karoten, α-tokoferol (E vitamini), seruloplazmin, askorbik asit, glutatyon, ferritin ve transferrin gibi maddelerdir. Enzim olan endojen antioksidanlar ise, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon transferaz, katalaz, mitokondrial oksidaz ve glutatyon redüktaz sistemidir. Eksojen antioksidanlar ise vitaminler ve ilaç antioksidanları olarak sınıflandırılır. Bu eksojen kaynaklı antioksidanlar C vitamini, folik asit, allopürinol, troloxC, N-asetilsistein, adenozin, mannitol gibi maddelerdir (49).

Tablo 2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması (49).

Endojen Antioksidanlar		**Eksojen Antioksidanlar**	
Enzim Antioksidanlar	**Enzim Olmayan (Nonenzimatik) Antioksidanlar**	**Vitamin Antioksidanlar**	**İlaç Antioksidanlar**
Süperoksit Dismutaz	Melatonin	Vitamin E (α-tokoferol)	Allopurinol, Oksipurinol, Pterin aldehit, Tungsten
Glutatyon Peroksidaz	Seruloplazmin	B-karoten	Adenozin, Nonsteroid Antiinflamatuarlar, Kalsiyum kanal blokerleri, Lokal anastezikler
Glutatyon Redüktaz	Transferrin	C Vitamini (askorbikasit)	Trolox-C
Glutatyon S-Transferaz	Laktoferrin	Koenzim Q (ubikinon)	Ebselen, Asetilsistein
Katalaz	Glutatyon		Mannitol
Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz	Sistein		Desferroksamin
	Ürik asit		Demir şalatörleri
	Glikoz		
	Albumin		
	Bilirubin		

2.8.2. Antioksidanların Etki Mekanizmaları

Antioksidanların birçok etki mekanizması bulunmaktadır (49). Bunlar:

Toplayıcı etki: Antioksidan enzimler serbest oksijen radikallerini tutarak işlev göstermektedirler. Ya da serbest oksijen radikallerini daha zayıf moleküllere dönüştürerek etki göstermektedirler (49).

Bastırıcı etki: Antioksidan enzimler serbest oksijen radikallerine bir hidrojen eklemekte ve bu şekilde aktivitelerini azaltmakta veya inaktif hale dönüştürmektedirler. Bu şekilde etki gösteren antioksidanlar flavanoidler ve vitaminlerdir (49).

Zincir kırıcı etki: Antioksidan enzimler serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıcı etki göstermektedirler. Mineraller, seruloplazmin ve hemoglobin zincir kırıcı etki göstermektedir (49).

Onarıcı etki: Antioksidan enzimler serbest radikallerin oluşturduğu hasarı onarıcı ve düzenleyici etki göstermektedirler (49).

Hücresel kinaz kayıplarını önleme: Antioksidan enzimler oksidasyon reaksiyonlarını durdurucu etki göstermektedirler (49).

Enzimatik etki: Süperoksit Dismutaz gibi antioksidan enzimler ile enzim olmayan (Nonenzimatik) antioksidan maddelerin sentezini arttırarak etkilerini göstermektedirler (49).

2.8.2. Oksidatif Stres

Vücutta metabolizma esnasında oluşan serbest radikaller son derece etkin kimyasal ürünlerdir. Oksijenden oluşan radikaller biyolojik sistemlerde meydana gelen en önemli serbest radikallerdir. Bu oksijenden oluşan radikallere reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species=ROS) adı verilmektedir. Hücrelerde eksojen ve endojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak serbest radikaller oluşmaktadır. Organizmada normal olarak gerçekleşen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları ile endojen etmenler oluşmaktadır (50).

Vücutta doğal metabolik yollar ile meydana gelen serbest radikallerin ortadan kaldırılması normalde radikal parçalayan antioksidan sistemler ile gerçekleşmektedir. Ancak, çeşitli sebeplerden dolayı bazen reaktif oksijen türleri artmakta ve buna karşın antioksidan sistemler yetersiz kalabilmektedir. Bu durumda bir dizi patolojik olay meydana gelmektedir. Bu olaylar sonucunda oksidatif stres oluşmaktadır (50).

Oksidatif stres ise; sağlıklı bir organizmada serbest radikallerin oluşum ve ortamda birikim hızının artması, buna karşın antioksidanların bu serbest radikalleri ortamdan kaldırma hızının düşmesi ve bunun sonucunda organizmanın yapıtaşları olan

protein, lipid, nükleik asit, karbonhidrat ve enzimlerin yapısının bozularak doku hasarının oluşmasıdır (51,52).

KPB esnasında kanın KPB devre elemanlarının nonendotelyal yüzeylere teması sonucunda aktif hale geçen; nötrofiller, katekolaminler, kompleman sisteminin aktivasyanu, nötrofillerin aktifleşmesi sonucu salınan sitokinler, iskemi-reperfüzyon sürecinde ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri, kallikrein kaskadı, endotel hasarı, endotoksinin salıverilmesi oksidatif stresin başlamasına neden olmaktadır (53). Oksidatif stres götergeleri; total antioksidan seviye, total oksidan seviye ve oksidatif stres indeksi'dir.

Total Antioksidan Seviye (TAS): Normal koşullarda, endojen ve eksojen nedenler ile meydana gelen serbest radikaller ve bunlar sonucunda ortaya çıkan oksidatif stresin ortadan kaldırılması için mücadele eden kompleks bir savunma sistemi (antioksidan kapasite) bulunmaktadır. Bu savunma sistemine en büyük katkıyı dolaşım sistemi ve dolaşım sistemindeki plazma sağlamaktadır. Çünkü plazmada birçok endojen ve eksojen antioksidan molekül bulunmaktadır. Bu antioksidan moleküllerin her birinin tek başına ayrı ayrı etkileri bulunmaktadır. Ancak plazmada bulunan bu antioksidan moleküller etkileşim halinde bulunmaktadırlar. Bu etkileşimleri, her birinin tek başına oluşturduğu etkinin toplam etkilerinden fazla olmasını sağlamaktadır. Yani etkileşimleri etkilerinde sinerjik etki oluşturmaktadır. Ayrıca bir antioksidan maddedeki azalma diğer bir antioksidan madde ile dengelenebilmektedir. Bundan dolayı total antioksidan seviyenin ölçülmesi antioksidanların her birinin ayrı ayrı ölçülmesinden daha önemlidir. Total antioksidan seviye ölçüm yöntemi Erel tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem güçlü serbest radikallerin oluşumuna karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen tam otomatik bir yöntemdir (54). Bu ölçüm yönteminde ferröz-o-dianisidine hidrojen peroksid ile tepkimeye girerek fenton tipi reaksiyon göstererek hidroksil radikalini meydana getirmektedir. Oluşan bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenmiş düşük pH (Power of Hydrogen=Potansiyel Hidrojen)'da renksiz o-dianisidine molekülü ile tepkimeye girmekte ve sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluşturmaktadır. İleri oksidasyon reaksiyonlarına katılan dianisidyl radikalleri renk oluşumunu artırmaktadır. Ancak numunedeki antioksidanlar bu oksidasyon tepkimelerini bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadır. Bu tepkimeler otomatik analizörde spektrofotometrik yöntem ile ölçülmektedir (55).

Total Oksidan Seviye (TOS): Metabolizmada mevcut oksidatif ile antioksidatif denge oksidanlar lehine bozulduğu durumda çeşitli patolojik durumlar meydana gelmekte ve oksidatif stres oluşmaktadır. Oluşan bu oksidatif stresin toplam değerine total oksidan seviye denilmektedir. Total oksidan seviye, reaktif oksijen radikallerinin veya nitrojen türlerinin aşırı üretimi veya antioksidan savunma mekanizmasının yetersizliği sonucu meydana gelmektedir. Nitrojen ürünleri ve reaktif oksijen radikalleri toksik ürünler olup, hücrenin protein, lipit ve DNA gibi biyomoleküllerine hasar vermektedir. Kısmen damar endotelide bu durumdan etkilenmektedir. Ayrıca bu yöntem Erel tarafından geliştirilmiş tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (56).

Bu yöntemin prensibi; numunede bulunan oksidanlar ferröz iyonodianisidine kompleksini ferrik iyonlara oksitlemektedir. Ortamda bulunan gliserol reaksiyonun hızını yaklaşık üç katına çıkararak hızlandırır. Asidik ortamda ferrik iyonlar, xylenol orange ile renkli bir durum oluşturmaktadır. Numunede bulunan oksidanların miktarı rengin şiddeti ile ilişkilidir ve spektrofotometrik yöntem ile ölçülmektedir (55).

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ): Total oksidan seviye'nin, total antioksidan seviye'ye bölünerek elde edildiği oksidatif stres indeksi oransal bir indeks olup, oksidatif stres indeksi'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını göstermektedir (55,57).

2.8.3. Oksidatif DNA Hasarı ve 8-hidroksi-2’-deoksiguanozin (8-OHdG)

Vücutta doğal metabolik yollar ile oluşan serbest radikallerin antioksidan sistemlerle ortadan kaldıramadığı veya antioksidan mekanizmaların yetersiz kaldığı durumlarda oksidatif stres meydana gelmektedir. Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile deoksiribo nükleik asit (DNA) üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, abazik bölgeler, tek ve çift zincir kırıkları, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara neden olduğu bilinmektedir (50).

Endojen veya ekzojen faktörlerin etkisi ile bir genetik materyalin moleküler bütünlüğünde meydana gelen tüm değişikliklere DNA hasarı denilmektedir. Çevresel faktörlerin etkisinden dolayı genomik DNA'nın bütünlüğü sürekli olarak tehdit altında bulunmaktadır. DNA replikasyonu/ikileşmesi ve DNA rekombinasyonu/çeşitlenmesi

gibi hücresel olaylar esnasında da endojen olarak DNA'nın yapısında değişiklikler meydana gelebilmektedir (50).

DNA hasarı, hücrenin yaşamı boyunca yaygın olarak görülebilmektedir. Ayrıca DNA hasarı; yaşlanma, kanser, mutasyon ve sonuçta hücre ölümüne sebep olabilen bir olaydır. Yaşam boyunca DNA, eksojen ajanlar ve hücresel metabolitler (Reaktif Oksijen Türleri) tarafından sürekli olarak değişime maruz kalmaktadır. Sonuç olarak bu değişimler tek hücreli organizmalarda hücresel ölüme ve çok hücreli organizmalarda yaşlanmaya ve dejenerasyona neden olabilmektedir (50).

Oksidadif hasarın sadece çekirdek DNA'da değil ayrıca mitokondriyal DNA'da da çeşitli nedenlere bağlı oluştuğu belirtilmektedir. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri, memeli hücrelerindeki en önemli ROS kaynaklarından biridir. Çekirdek DNA'nın aksine mitokondriyal DNA mitokondride serbest radikal meydana getiren bölgelere çok yakın yerleşim göstermekte ve histonlar tarafından korunmamaktadır. Mitokondriyal DNA'da oksidatif baz hasarının çekirdek DNA'ya göre daha fazla gerçekleşmesinin olası nedenleri, mitokondriyal DNA'da DNA hasarı onarım sisteminin çekirdek DNA'ya göre yetersiz olması, mitokondriyal DNA'nın en önemli hücre içi ROS kaynağı olması ve yaşa bağlı olarak mitokondriyal DNA'da mutasyonlarda artış görülmesi olarak belirtilmektedir. Ancak çekirdek DNA'da meydana gelen endojen oksidatif hasara, mitokondrinin etkisinin önemsiz düzeyde olduğu belirtilmektedir (50).

Birçok yöntemle oksidatif DNA hasarı belirlenebilmektedir. Bu yöntemlerin çoğu ile sadece bir hasar ürünü ölçülebilmekte, ancak kütle spektrometrik yöntemler ile hem tanımlama hem de oluşan baz hasar ürünlerinin miktarı tayin edilebilmektedir (50). Reaktif oksijen türleri DNA'da yirmiden fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına neden olmaktadır. 8-hidroksi-2’- deoksiguanozin bu hasara uğrayan bazlar arasında oldukça duyarlı olan ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirtecidir (50,58).

Ayrıca 8-hidroksi-2’- deoksiguanozin, hem kardiyovasküler hastalıklar ile hem de diğer aterosklerotik süreç türleri (inme, periferik arter hastalığı ve karotis aterosklerozu) ile önemli ölçüde ilişkilidir (59).

8-hidroksi-2’-deoksiguanozin (8-OHdG)’in Oluşum Mekanizması: Oksidatif stresin bir belirteci olarak "8-hidroksi-2’-deoksiguanozin"; DNA, protein ve lipid peroksidasyonları ile ilişkili alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. 8-OHdG'nin keşfi ilk olarak 1984 yılında Kasai ve Nishimura tarafından ısıtılmış glikozdaki (pişmiş

gıda modelinde) mutajenleri inceleme ve izole etme girişimlerinde rapor edilmektedir (58). DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan baz guanin'dir. Reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı yirmiden fazla oksidatif baz hasar ürününden biri olan 8-OHdG, modifiye bir baz olup guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşmuş oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. Reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı bu tür baz hasar ürünlerinden en sık görülen ve mutajenitesi en iyi bilinen 8-OHdG'dir. Bu ürün yani 8-OHdG, normal oksidatif metabolizma esnasında üretilen endojen veya eksojen kaynaklı reaktif oksijen türleri tarafından DNA'da şekillenen bir mutajendir. Hidroksil (OH) radikali, guaninin 4, 5 ve 8. pozisyonlarındaki karbon atomları ile reaksiyona girmekte ve DNA ürün radikallerini oluşturmaktadır. OH radikalinin C-8'e katılması ile meydana gelen katılma ürünü radikali (C8-OH) bir elektron ve proton kaybederek 8-OHGua'e okside olmaktadır. DNA replikasyonu/ikileşmesi esnasında G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona yönelimi artırmaktadır. Bu nedenle 8-OHdG'un ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmektedir. Ayrıca 8-OHdG'un ölçümü oksidatif DNA hasarını belirlemede de en sık kullanılan yöntemdir (50).

2.9. Tulbaghia violacea Bitki Türü Özellikleri

2.9.1. T.violacea Bitki Türü

Yaprakları ve çiçekleri ovuşturulduğunda sarımsak kokusu veren, yenilir, sarımsak lezzetine sahip, yaz kış yeşil yapraklı, uzun ömürlü bir süs bitkisi türüdür. Soğan ve sarımsak gibi T.violacea'da Amaryllidaceae familyasındaki çiçekli bitki türüdür. Fakat onlar gibi sadece serinde aktif olma özelliği yoktur. Yaz sıcaklarında yemyeşil yapraklarıyla gelişime devam eder ve sürekli çiçek açar. Kışın hava dondurucu soğuk olmadıkça yine yeşil yapraklı kalır. T.violacea (Alliaceae), kayalık otlaklarda yetişen anavatanı Afrika kıtasının en güneyinin doğu kıyı kesimleri olan bir bitki türüdür. T.violacea'nın yaprak dökmeyen yaprakları, çürümeye başladıklarında sarımsak benzeri bir koku sergiler ve bazı kültürlerde sarımsak ve frenk soğanı yerine kullanılmıştır. Bilimsel adı T.violacea olan bu bitki türünün İngilizcede iki ayrı yaygın

adı bulunmaktadır. Bunlar; society garlic (sosyal ortam veya dernek sarımsağı) ve wild garlic (yabani sarımsak)'tir. Türkçe'de bitki türü, "sosyete sarımsağı", "tatlı sarımsak" ve "yabani sarımsak" gibi birçok yaygın adla bilinir. Bu isimler, sarımsak benzeri tadına rağmen, T.violacea tüketiminin gerçek sarımsak (Allium sativum L.) tüketiminde olduğu gibi ağız kokusunun gelişmesine eşlik etmediği inancından kaynaklanmaktadır. T.violacea geleneksel olarak ateş ve soğuk algınlığı, astım, tüberküloz ve gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu bitkinin yoğun tüketimi, karın ağrısı, iltihaplanma ve gastroenterit gibi çeşitli istenmeyen semptomlarla ilişkilendirilmiştir. Bugüne kadar T.violacea ile ilgili sistematik bir araştırma yapılmamıştır. T.violacea'nın kimyasal bileşenlerini ele alan ilk çalışmalar Jacobsen ve ark. (1968) ve Burton ve Kaye (1992)'nin yaptıkları çalışmalardır. Jacobsen ve ark. (1968) bir C–S liyazını ve üç tanımlanmamış S-ikameli sistein sülfoksit türevinin varlığını bildirirken, Burton ve Kaye (1992) ise T.violacea'nın yapraklarından 2,4,5,7 tetrathiaoktan-2,2-dioksit ve 2,4,5,7-tetrathiyoktan izole etmiştir (60). Ayrıca iki flavonol'ün varlığını da izole etmiştir. Bunlar: kaempferol ve quercitin'dir. Burton, diğer Allium türlerinde bulunanlardan farklı olsalar da, kükürt bileşiklerinin varlığınıda doğrulamıştır ve bunların T.violacea'ya özgü olduğunu göstermiştir (61).

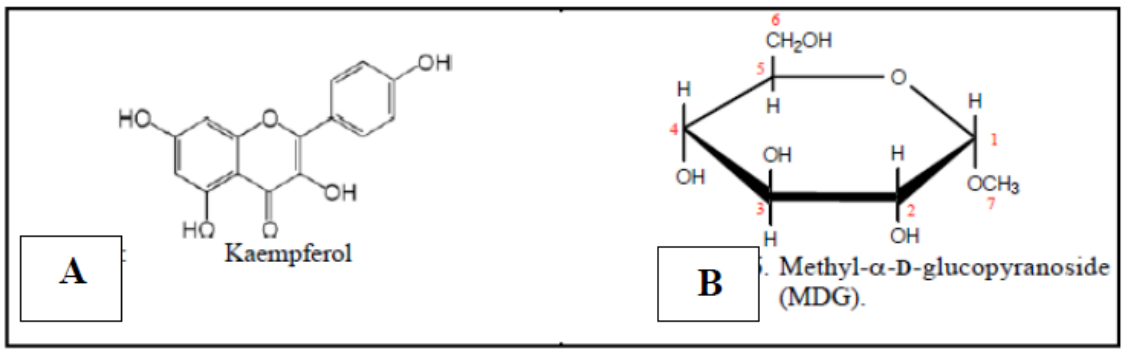


Şekil 2.9. T.violacea Bitki Türü (61).

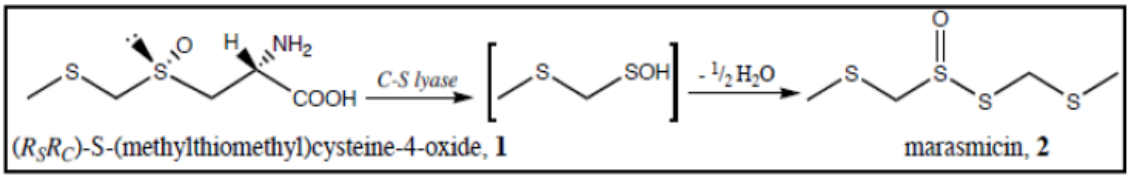
2.9.2. T.violacea Türünün Fitokimyası

T.violacea'da; tanninler, terpenoidler, flavonoidler, saponinler, proteinler, steroidler, kardiyak glikozitler, fenoller ve kumarinler gibi aktif bileşikler bulunmaktadır (62). Ayrıca T.violacea'da; kaempferol, marasmicin, Methyl-%-D-glucopyranoside, (RSRC)-S-(methylthiomethyl)cysteine-4-oxide içerdiğini ve antioksidan olduğu bildirilmektedir (61).

- Birçok bölgede T.violacea geleneksel tedavinin bir parçası olarak kullanılmaktadır (14).
- T.violacea'nın antioksidan kapasiteyi arttırdığı, kan basıncını regüle ettiği (ACE ve beta 1 adrenoreseptörler), lipit peroksidi azalttığı, aterosklerozu azaltığı gösterilmiştir (14).
- T.violacea'nın antioksidan etkinliğinin içeriğindeki fenolik asit ve flavonoidler sayesinde olduğu çalışmalar ile gösterilmiştir (14).
- Tulbaghia türleri içerisinde antioksidan kapasitenin en fazla olduğu tür T.violacea'dır (1 gramında fenolik asit: 11.1 mg, flavonoid: 9.65 mg) (14).



Şekil 2.10. T.violacea Ekstraktlarında Kaemferol (Şekil A) ve Glukopiranosid "Metil-alfa-D-glukopiranosid (MDG)" (Şekil B) Varlığını (61).



Şekil 2.11. T.violacea'da (RsRc) -S (Metiltiometil) Sistein-4-oksitten 1 Marasmisin Oluşumu (60).

2.9.3. T.violacea Ekstraktının Farmakolojik Özellikleri

T.violacea ekstraktı miyokardiyal nekroz üzerinde kalp kası hasarını azaltma ve oksidatif stresi önleme rolü bulunmaktadır (12). T.violacea ekstraktının kardiyovasküler faydaları ile ilgili olarak kalp hızı ve basıncı üzerine olumlu etkisi bulunmaktadır (63-66). Aort patolojisi üzerideki hasarı azalttığı ve antioksidan, antikoagülan ve antitrombüs etkisi olduğu ve antihipertansif etki gösterdiği bildirilmiştir (13,67,68). Ayrıca T.violacea ekstraktının, doğal antioksidan, anti-parazitik, antimikrobiyal, sitotoksik ve proapoptotik etkileri bulunmaktadır (14,15,69,70). Bu özelliklerinin yanısıra, T.violacea ekstraktı antikanser özelliklerde göstermektedir (71). T.violacea'nın antikanser özelliği, kanser hücre dizilerinde p53'e bağlı mekanizmaların ekspresyonunu düzenlemektedir (72). Ayrıca T.violacea ekstraktından elde edilen metil-α-D-glukopiranosid, kanser hücrelerinde in vitro apoptozu indüklemektedir (73).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi, Yeri ve Zamanı

Bu araştırma Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kalp Damar Cerrahisi Anabilim dalı Perfüzyon Teknolojisi Doktora programı tarafından yapıldı. Araştırma deneysel nitelikte olup deney hayvanı modeli kullanıldı. İnsanlar üzerinde herhangi bir çalışma yapılmadı.

Araştırma Ağustos 2020'de literatür taraması ile başladı. Çalışma için planlamalar yapıldı. Çalışma öncesinde, Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 11/12/2020 tarihinde onay alındı (Oturum no:2020/0006, Karar:01-17) (Ek-1). Etik Kurul onayının ardından bilimsel araştırma projesi hazırlandı. Proje başvurusu yapıldı. Çalışmanın proje desteği 29/04/2021 tarihinde Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından onayladı (Hübak Proje No:21130.). Proje onayını takiben çalışmalara başlamak için gerekli hazırlıklar yapıldı. Harran Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında 17/06/2021-02/07/2021 tarihleri arasında deneysel çalışma yapıldı. Deneysel çalışma sonucunda alınan kan ve patoloji numuneleri uygun koşullarda saklanarak Harran Üniversitesi Tıbbi Biyokimya ve Tıbbi Patoloji laboratuvarlarında çalışılarak veriler elde edildi.

3.2. Deney Hayvanları ve Uygulamalar

3.2.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Harran Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edilen 24 adet dişi ve 24 adet erkek toplam 48 adet Wistar Albino cinsi yetişkin rat kullanıldı. Dişi ratların ortalama ağırlıkları 250-300 gr, erkek ratların ortalama ağırlıkları 450-500 gr idi. Bu ratlar randomize olarak dört gruba ayrıldı. Her grupta 6 erkek, 6 dişi rat kullanıldı (Grup 1:6 erkek+6 dişi, Grup 2:6 erkek+6 dişi, Grup 3:6 erkek+6 dişi, Grup 4:6 erkek+6 dişi). Çalışmamızda her iki cinsiyetin kullanılmasının sebebi kalp hastalıklarında cinsiyetin risk faktörleri arasında bulunması ve cinsiyete göre kalp hastalıkları insidansının farklılık göstermesidir (74).

Ratlar, sıcaklığın 22±2 ^{0}C, nisbi nem oranının %50 olduğu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda, sabitlenen ve şeffaf içi görülebilen yem-su ataçmanlarının eklenebileceği şekilde tasarlanmış kafeslerde barınması sağlandı. Tüm ratlar standart koşullar altında şebeke suyu ve standart rat yemi ile beslendi ve girişimden 8 saat önce tüm ratların yem ile beslenmesi kesildi. Araştırmamız için kullanılan hayvan sayısı 3R (Reduction, refinement, replacement) ilkesine göre belirlendi ve gereksiz hayvan kullanımına dikkat edilerek sayılar belirlendi. Araştırmamız için uygun olan biyolojik testlerde en alt seviyede kullanılabilecek omurgalı hayvan olan rat türü deneyimiz için uygun görüldü.

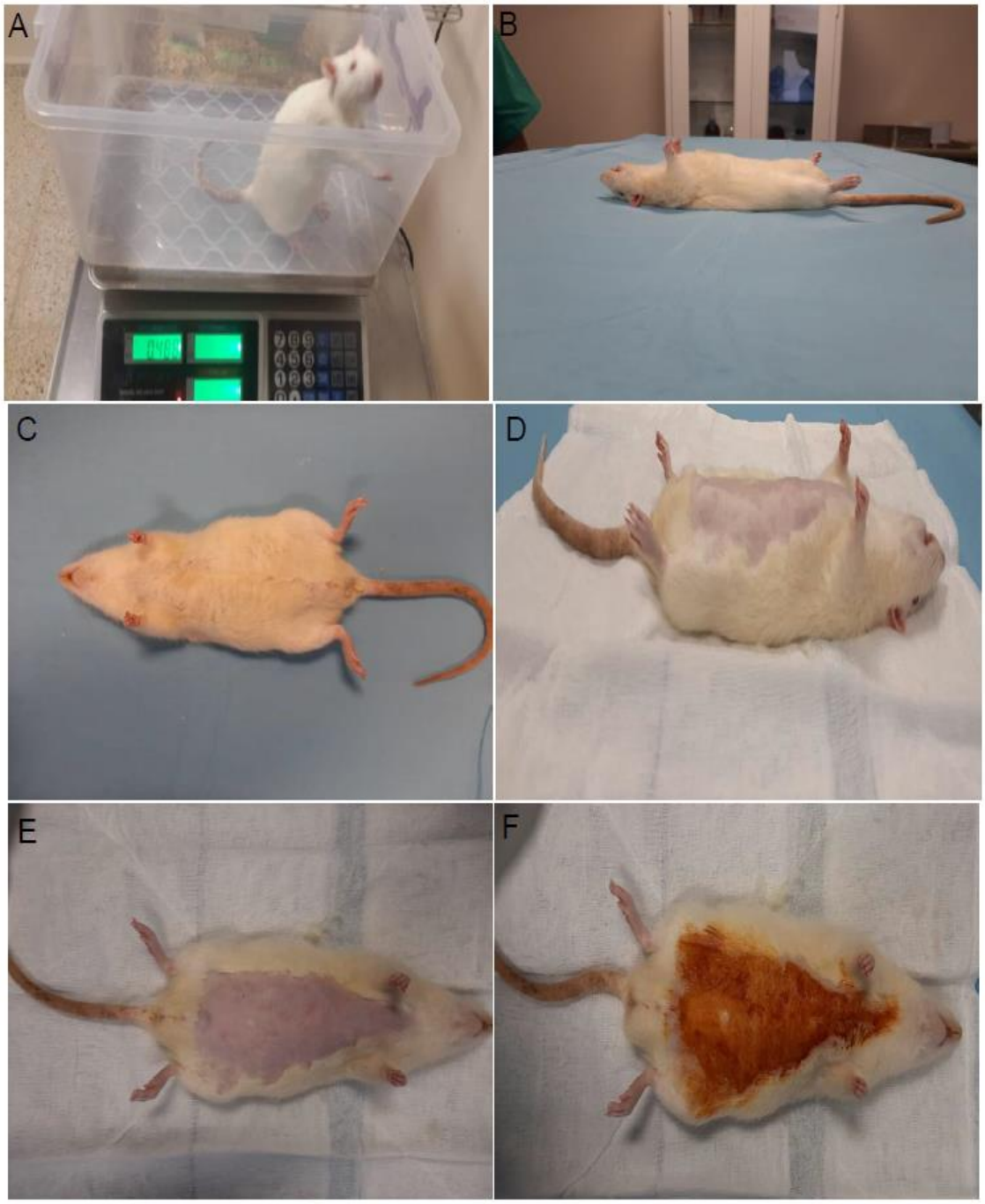
Hayvan deneyi ve tüm ratların bakımları, "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul Ve Esaslarına Dair Yönetmelik" esaslarına ve Tıbbi Araştırmalar Ulusal Derneği tarafından biçimlendirilen "Deney Hayvanlarının Bakım Prensipleri"ne uygun olarak yapıldı.

3.2.2. Anestezi -Cerrahi Prosedür ve Total Sirkülatuar Arrest Modeli

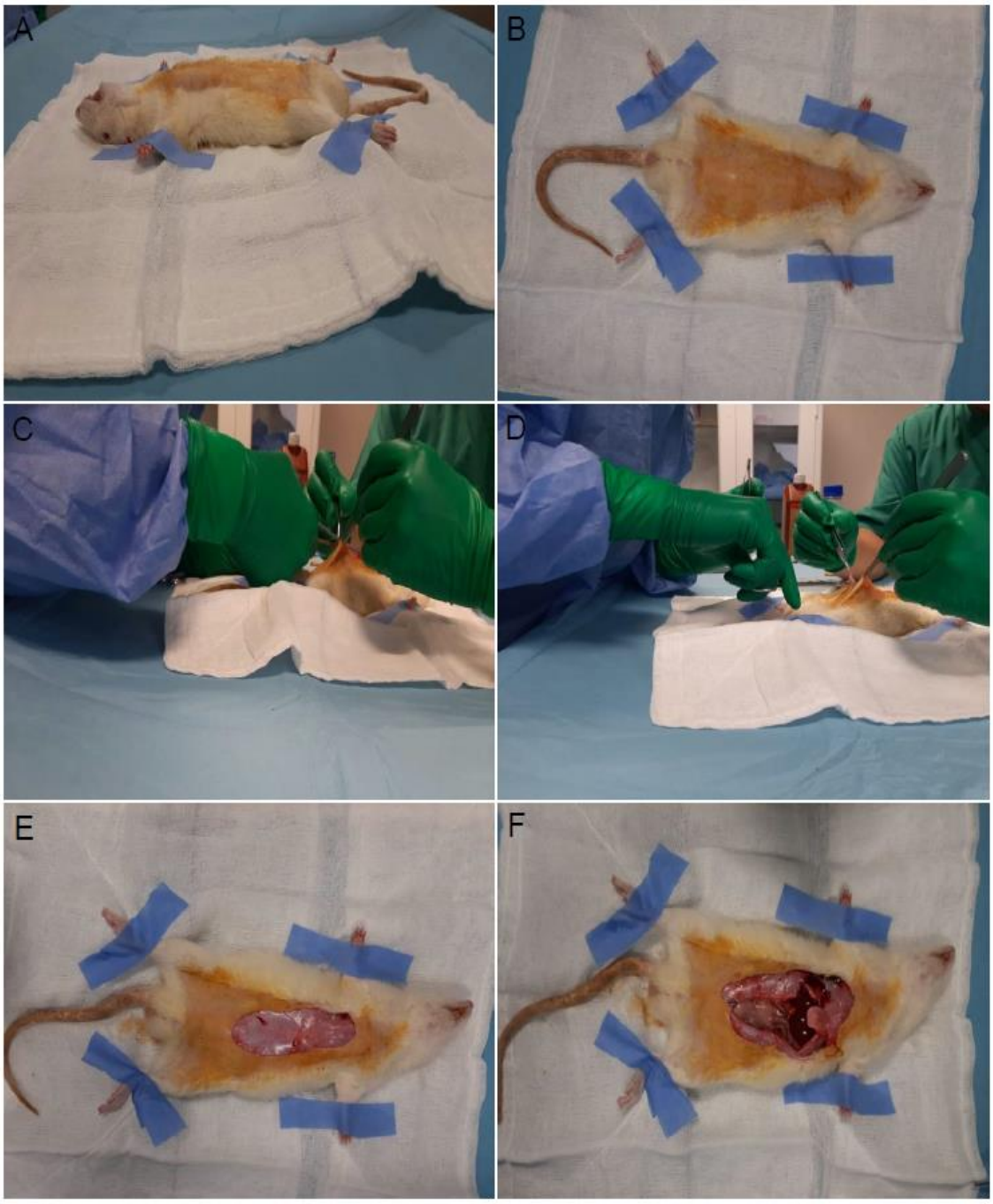
Çalışma öncesi ratlar 8 saat süreyle aç bırakıldı. Bu süre içinde su içmelerine izin verildi. Tüm uygulamalar anestezi altında yapıldı. Anestezi amacıyla intraperitoneal (i.p) olarak ketamin (60mg/kg) (Ketasol® %10, 10ml, Richter Pharma AG 4600 Wels, Avusturya) ve ksilazin (40mg/kg) (Rompun® %2, 25ml, Bayer Healthcare LLC. Kansas 66201, ABD) uygulandı. Gerekli durumlarda uygulama dozunun 3/1'i kadar ek doz uygulanması planlandı. Ciltleri aseptik olarak hazırlanan (Karın cildi traş edildikten sonra povidon iyot ile temizlendi) ratlara orta hat laparotomi ve sternotomi yapıldı.

Ratlarda TCA ile deneysel kardiyak hasar modeli şu şekilde yapıldı: Ratlar sedatize (Ketamin (60mg/kg) ve ksilazin (40mg/kg)-İntraperitoneal) edildi. Anestezi altındaki ratlara daha sonra orta hat laparotomi ve sternotomi yapılarak kalbe ulaşıldı. Kardiyak arrestten önce tüm ratlara 0,1 ml heparin (Koparin® 25000 IU/5ml, Koçak Farma İlaç ve Kimya Sanayi AŞ. Kapaklı, Tekirdağ) kalp çalışırken sağ atriyumdan insülin enjektörü ile uygulandı (75). Daha sonra aortaya kros-klemp konularak kalpte kontrollü iskemi oluşturuldu. Aortaya kross-klemp uygulamasından hemen sonra ratlara 0,2ml sağ atriyumdan veya aort kökünden insülin enjektörü ile potasyum klorür (KCL) (Turktıpsan Potasyum Klorür® 750mg/10ml, Turktıpsan Turizm Eğitim ve Tic. AŞ.

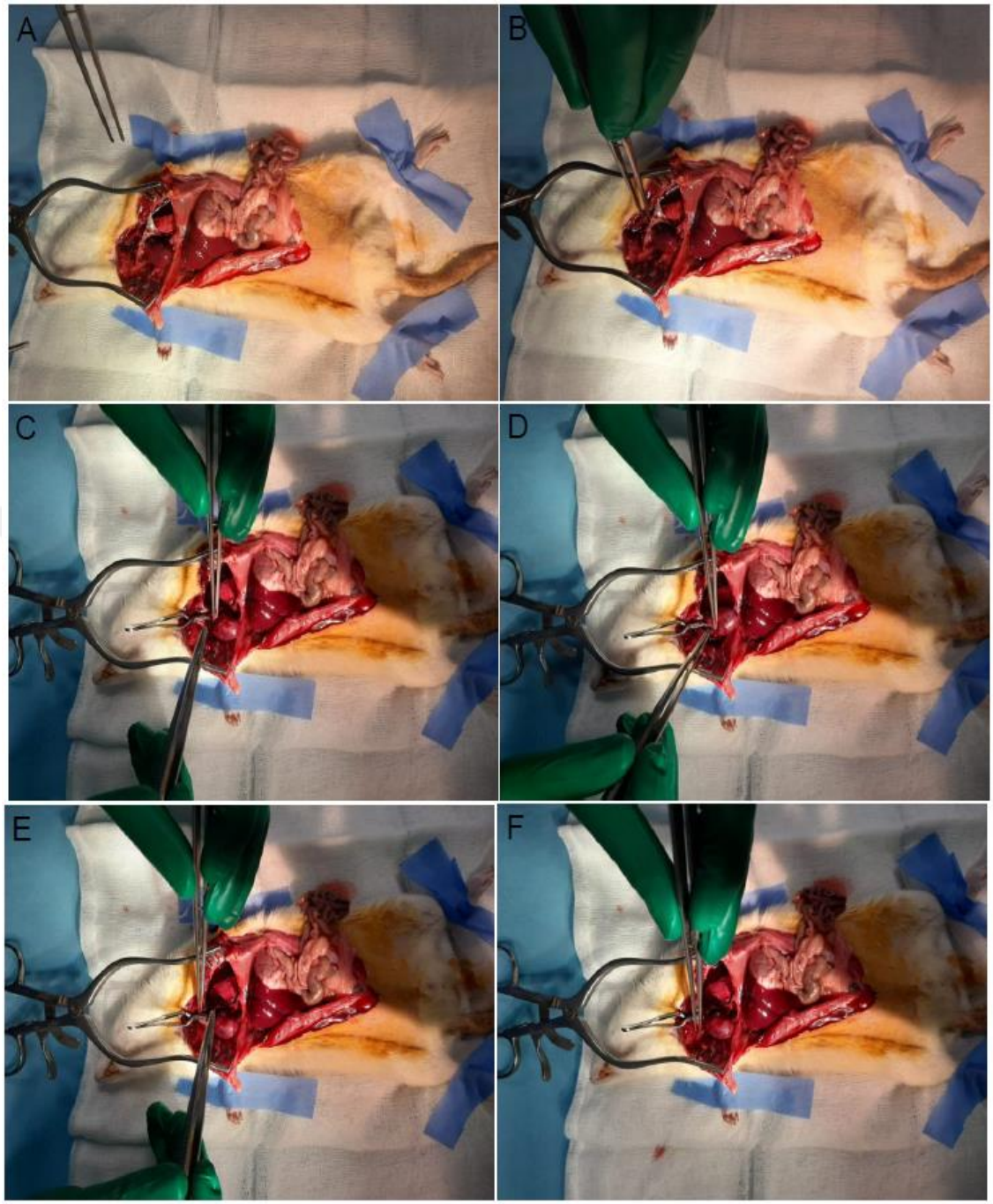
Akyurt, Ankara) verilerek kardiyak arrest sağlandı (76,77). Yirmi dakika boyunca total sirkülatuar arrest oluşturuldu. Oluşturulan bu sirkülatuar arrest ile kardiyak hasar oluşturuldu (78,79). Daha sonra tüm ratların kalplerinden (sağ atriyumdan) kan alındı ve cerrahi olarak kalpleri çıkartıldı. Dokular ve kan numuneleri histopotolojik ve biyokimyasal çalışmalar için çalışma anına kadar -80 ^{o}C'de saklandı.



Şekil 3.1. Ratların Cerrahi İşleme Hazırlanması; A: Ratın Tartılması, B,C: Ratın Sedatize Edilmesi, D,E: Ciltlerin Traş Edilmesi, F: Cildin Povidion İyot ile Aseptiğinin Sağlanması.



Şekil 3.2. Ratlara Cerrahi İşlemin Uygulanması; A,B: Ratların Stabilizasyonunun Sağlanması, C,D,E: Rat Cildinin Kesilmesi, E: Rata Orta Hat Laparotomi Yapılması.



Şekil 3.3. Ratlara Sternotomi ve Sirkülatuar Arrest Uygulanması; A,B: Sternotomi Yapılması, C,D,E,F: Sirkülatuar Arrest Uygulaması (Heparinizasyon, Aortik Kross Klemp Uygulaması, Potasyum Klorür ile Kardiyak Arrest).

3.2.3. Çalışma Grupları (Deney Grupları) ve Çalışma Yöntemi

Çalışmamızdaki gruplar ve yöntemler literatürdeki ilgili çalışmalar referans alınarak planlandı (12,13).

Grup 1: Sham grubu (n=12), 15 gün boyunca standart rat yemi ve şebeke suyu ile beslenildi. 16. gün derin anestezi altında (Ketamin (90mg/kg) ve ksilazin (10mg/kg)-i.p) bu gruptaki tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan ve tüm dokuları çıkarıldı.

Grup 2: Hasar grubu (TCA grubu (n=12)), 15 gün boyunca standart rat yemi ve şebeke suyu ile beslenildi. 16. günde derin anestezi altında (Ketamin (90mg/kg) ve ksilazin (10mg/kg)-i.p), ratlarda TCA ile deneysel kardiyak hasar modeli oluşturuldu. TCA sonrası kan numunesi ve tüm dokuları çıkarıldı.

Grup 3: Tedavi+Hasar grubu (TVE+TCA grubu (n=12)), 15 gün boyunca standart rat yemi ve şebeke suyu ile beslenildi ayrıca bu gruba 15 gün boyunca %0,9 salin içinde çözündürülen T.violacea ekstraktı (500mg/kg/gün) oral yoldan gavaj yöntemi ile direk mideye verildi. 16. günde derin anestezi altında (Ketamin (90mg/kg) ve ksilazin (10mg/kg)-i.p), ratlarda TCA ile deneysel kardiyak hasar modeli oluşturuldu. TCA sonrası kan numunesi ve tüm dokuları alınarak uygun koşullarda saklandı.

Grup 4: Tedavi grubu (TVE grubu (n=12)), 15 gün boyunca standart rat yemi ve şebeke suyu ile beslenildi ayrıca bu gruba 15 gün boyunca %0,9 salin içinde çözündürülen T.violacea ekstraktı (500mg/kg/gün) oral yoldan gavaj yöntemi ile direk mideye verildi. 16. gün derin anestezi altında (Ketamin (90mg/kg) ve ksilazin (10mg/kg)-i.p) bu gruptaki tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan ve tüm dokuları çıkarıldı.

Ratlara verilecek TVE miktarı; 15 gün boyunca günlük 500mg/kg olarak belirlendi (13). Belirlenen TVE miktarı %0,9 salin içinde çözündürülerek (500mg/kg/gün) oral yoldan gavaj yöntemi ile verildi (12).

Ratlara oral yoldan gavaj yöntemi ile TVE şu şekilde verildi: Deney hayvanı uygun şekilde tutularak kaldırıldı ve baş arkaya ve düz pozisyona getirildi, diğer elle deney hayvanının ağız yolundan gavağ iğnesi ile enjektörün içindeki maddenin oral yolla verilebilmesi için gavaj iğnesi mideye kadar sokuldu. Uygun yerleştirme sonunda mideye uygulama yapıldı (80).

Çalışmamızda kullanılan T.violacea ekstraktı hazır olarak satın alındı (Naturalya Kimya İlaç Ltd Şti®, Türkiye). Hazır alınan ekstraktın özellikleri şu şekildeydi: T.violacea ekstraktı ratio formunda (toz) idi. %100 T.violacea bitkisinden elde edilmiş, 30:1 oran ve %3,3 verim ile hazırlanmıştı, %30 su+%70 metanol ile çözündürülmüş ve konsantre edilmiş toz formundaki T.violacea ekstraktı idi. Ekstrakt ile ilgili veriler

T.violacea ekstraktı satışını gerçekleştiren Naturalya Kimya İlaç Ltd Şti® firmasının T.violacea ekstraktı analiz raporu referans alındı. Ayrıca bu hazır ekstrakt literatürdeki ilgili çalışmalarda kullanılan T.violacea ektraktı içerikleri ile de benzerlik göstermektedir (65,66).

3.3. Biyokimyasal Değerlendirme

Deneysel çalışma sonucunda ratlardan alınan kanlar gruplandırılarak ve numaralandırılarak heparinize edilen sarı kapaklı jelsiz tülerde toplandı. Toplanan kanlar 4000 rpm'de 10 dakika boyunca satrifüj edildi. Santrifüjlenen kanlardan serum kısmı eppendorf tüplerine aktarıldı ve -(eksi)80 ^{o}C'de çalışma gününe kadar saklandı. Daha sonra kan serum düzeyinde oksidatif stres parametreleri (TAS, TOS, OSİ) ve oksidatif DNA hasar düzeyi (8-OHdG) değişiklikleri incelendi/ölçüldü.

3.3.1. Oksidatif Stres Seviyesi (TAS, TOS, OSİ) Ölçümü

Total Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü: Total Antioksidan Seviye ölçümü için piyasada bulunan kitler (Rel Assay Diagnostics, Lot. No: HN20106A, Türkiye) kullanıldı. Serum TAS seviyeleri, Erel tarafından geliştirilen yeni bir otomatik ölçüm yöntemi kullanılarak belirlendi (81). Bu yöntemde Fenton Reaksiyonu ile en güçlü radikal olan hidroksil radikali üretilir. Klasik Fenton reaksiyonunda, hidroksil radikali, demir iyonu çözeltisi ile hidrojen peroksit çözeltisinin karıştırılmasıyla üretilir. Erel'in en son geliştirdiği deneyde de aynı reaksiyon kullanılmaktadır. Testte, Reaktif 1'de bulunan demir iyon çözeltisi, Reaktif 2'de bulunan hidrojen peroksit ile karıştırılır. Hidroksil radikali tarafından üretilen kahverengi renkli dianisidinil radikal katyonu gibi sıralı üretilen radikaller de güçlü radikallerdir. Bu tahlilde, üretilen hidroksil radikali tarafından başlatılan güçlü serbest radikal reaksiyonlarına karşı numunenin antioksidatif etkisi ölçülür. Tahlil, %3'ten daha düşük olan mükemmel kesinlik değerlerine sahiptir. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/1 olarak ifade edildi.

Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü: Total Oksidan Seviye ölçümü için piyasada bulunan kitler (Rel Assay Diagnostics, Lot. No: OK20115O, Türkiye) kullanıldı. Serum TOS seviyeleri, Erel tarafından geliştirilen yeni bir otomatik ölçüm

yöntemi kullanılarak belirlendi (56). Bu yöntemde, numunede bulunan oksidanlar, demir iyon-o-dianisidin kompleksini demir iyonuna oksitler. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri tarafından güçlendirilir. Ferrik iyon, asidik bir ortamda ksilenol turuncu ile renkli bir kompleks oluşturur. Sonuçlar μmol H_2O_2 Equivalent/1 olarak ifade edildi.

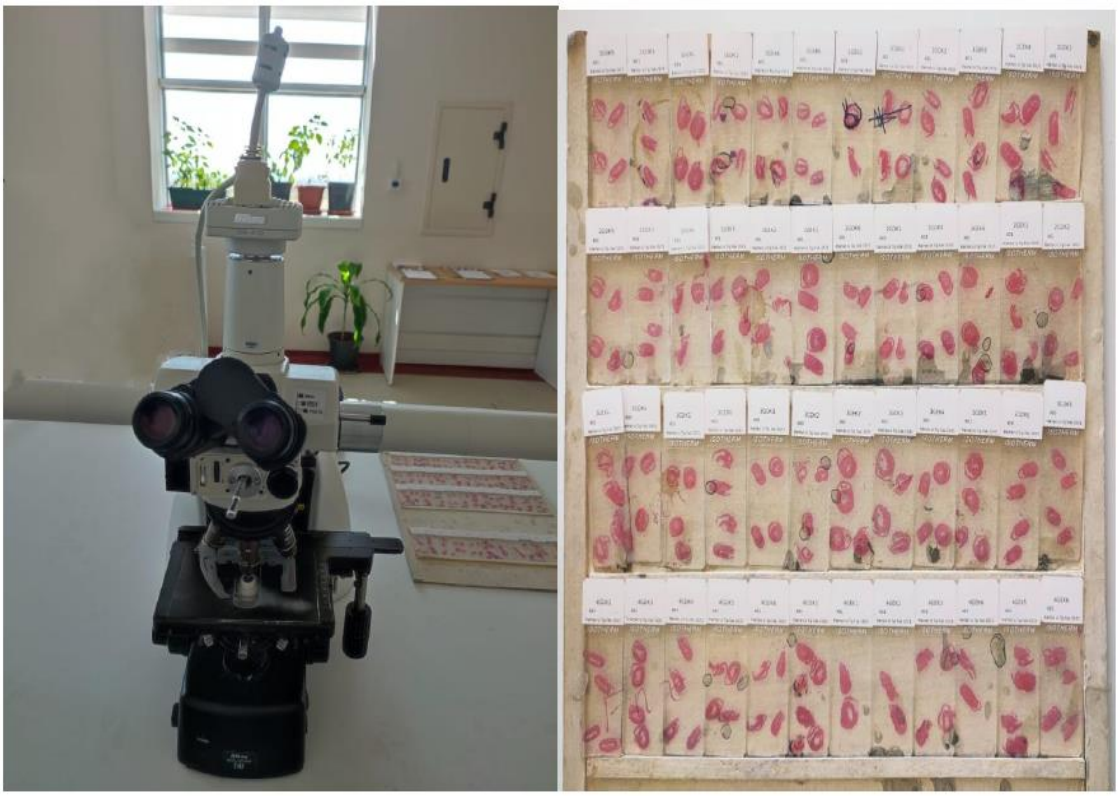
Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Ölçümü: Oksidatif Stres İndeksi değeri; Total Oksidan Seviye'nin, Total Antioksidan Seviye'ye yüzde oranı ile elde edildi (56,81). Hesaplamanın yapılabilmesi için TAS'nin sonuç birimi mmol Trolox Equivalent/1, μmol Equivalent/1'e dönüştürülmüş ve OSİ değeri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır; OSİ = [(TOS, μmol/l)/(TAS, mmol Trolox Equivalent/1) x 100].

3.3.2. Oksidatif DNA Hasar Seviyesi (8-hidroksi-2'- deoksiguanozin)

Numunelerin 8-hidroksi-2'- deoksiguanozin (8-OHdG) serum düzeyinin ölçümü için OxiSelectTM Oksidatif DNA Hasarı ELISA kiti (BT LAB, Cat.No.E0031Ra) üretici talimatları kullanıldı. Numunelerin absorbansı, bir Thermo Scientific™ Multiskan™ GO Mikroplaka Spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific, MA, ABD) ile 450 nm'de ölçüldü . Sonuçlar ng/mL olarak ifade edildi.

3.4. Histopatolojik İnceleme

Deneysel çalışma sonucunda ratlardan alınan dokular gruplandırılarak ve numaralandırılarak histopatolojik inceleme için kalp dokuları ayrı ayrı %10'luk tamponlu nötral formaldehit çözeltisinde fikse edildi. Daha sonra örnekler parafin bloklara gömülerek 5 mikronmetrelik kesitler alındı. Bu kesitler hematoksilen eozin boyası ile boyanıp Nikon Eclipse® Nİ DS-Fİ2, JAPAN marka mikroskop ile incelendi (Şekil 3.4). Histopatolojik incelemede interstisyel ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve nekroz varlığı değerlendirildi. Bu değerlendirmeye göre dokular normal, hafif, orta ve ağır hasarlı olarak skorlandı.



Şekil 3.4. Kesitlerin Nikon Eclipse® Nİ DS-Fİ2, JAPAN Marka Mikroskop ile İncelenmesi.

3.5. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS® paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Sürekli ve sıralı veriler için ortalama ve standart sapmalar hesaplandı. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verildi. Normallik dağılımını değerlendirmek için Kolmogorov Smirnov testi ve Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Dört grubun karşılaştırılmasında One Way ANOVA testi kullanıldı. Verilerin subgrup analizlerinde Tukey testi kullanıldı. Aynı grup içerisindeki erkek ve dişi ratların verilerinin karşılaştırılmalarında Student-t testi kullanıldı. İstatistiksel olarak $P<0,05$ olan değerler anlamlı kabul edildi. Grafikler "Etkileşim (İnteractive) yöntemi" ile oluşturuldu.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Bu deneysel çalışma sonucunda; Tablo 4.1.'de de görüldüğü gibi grupların biyokimyasal 8-OHdG, TOS, OSİ, TAS düzeylerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,001).

Tablo 4.1. Deney Gruplarına Ait Oksidatif Parametrelerin Gruplara Göre Değişimi.

	Grup 1 (Sham)	**Grup 2 (Hasar)**	**Grup 3 (Tedavi+Hasar)**	**Grup 4 (Tedavi)**	**P**
8-OHDOG (ng/mL)	1,8±0,59	6,22±1,5	4,58±2,14	1,55±0,47	<0,001
TOS (μmol H2O2 Eqv/1)	10,66±2,15	15,85±1,71	13,13±1,81	10,29±1,32	<0,001
OSİ (aμ)	0,69±0,17	1,4±0,23	0,93±0,18	0,65±0,11	<0,001
TAS (mmol Trolox Eqv/1)	1,57±0,27	1,14±0,12	1,41±0,13	1,6±0,17	<0,001

Dört grubun karşılaştırılmasında One Way Anova testi kullanıldı. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verildi. p<0,05. 8-OHdG=8-hidroksi-2'- deoksiguanozin, TOS=Total oksidan seviye, OSİ=Oksidatif stres indeksi, TAS=Total Antioksidan Seviye.

Bu deneysel çalışma sonucunda Tablo 4.2.'de de görüldüğü gibi verilerin subgrup analizlerinde; hasar grubu (Grup 2)'nun oksidatif DNA hasar belirteci olan 8-OHdG düzeyi Sham (Grup 1), Tedavi+Hasar (Grup 3) ve Tedavi grup (Grup 4)'larından daha yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (Sırasıyla P<0,001, P=0,027, P<0,001). Hasar grubu (Grup 2)'nun TOS düzeyi Sham (Grup 1), Tedavi+Hasar (Grup 3) ve Tedavi grup (Grup 4)'larından daha yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (Sırasıyla P<0,001, P=0,003, P<0,001). Hasar grubu (Grup 2)'nun OSİ düzeyi Sham (Grup 1), Tedavi+Hasar (Grup 3) ve Tedavi grup (Grup 4)'larından daha yüksekti

ve istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (Sırasıyla P<0,001, P<0,001, P<0,001). Sham (Grup 1), Tedavi+Hasar (Grup 3) ve Tedavi grubun (Grup 4)'daki TAS düzeyi Hasar grubun (Grup 2)'dan daha yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (Sırasıyla P<0,001, P=0,004, P<0,001).

Tablo 4.2. Deney Gruplarına Ait Verilerin Subgrup Analizleri.

8-OHDOG (ng/mL)	Grup 1 vs Grup 2 P<0,001	Grup 1 vs Grup 3 P<0,001	Grup 1 vs Grup 4 P=0,973
	Grup 2 vs Grup 3 P=0,027	Grup2 vs Grup 4 P<0,001	Grup 3 vs Grup 4 P<0,001
TOS (µmol H2O2 Eqv/1)	Grup 1 vs Grup 2 P<0,001	Grup 1 vs Grup 3 P=0,007	Grup 1 vs Grup 4 P=0,956
	Grup 2 vs Grup 3 P=0,003	Grup2 vs Grup 4 P<0,001	Grup 3 vs Grup 4 P=0,002
OSİ (aµ)	Grup 1 vs Grup 2 P<0,001	Grup 1 vs Grup 3 P=0,01	Grup 1 vs Grup 4 P=0,949
	Grup 2 vs Grup 3 P<0,001	Grup2 vs Grup 4 P<0,001	Grup 3 vs Grup 4 P=0,002
TAS (mmol Trolox Eqv/1)	Grup 1 vs Grup 2 P<0,001	Grup 1 vs Grup 3 P=0,175	Grup 1 vs Grup 4 P=0,988
	Grup 2 vs Grup 3 P=0,004	Grup2 vs Grup 4 P<0,001	Grup 3 vs Grup 4 P=0,091

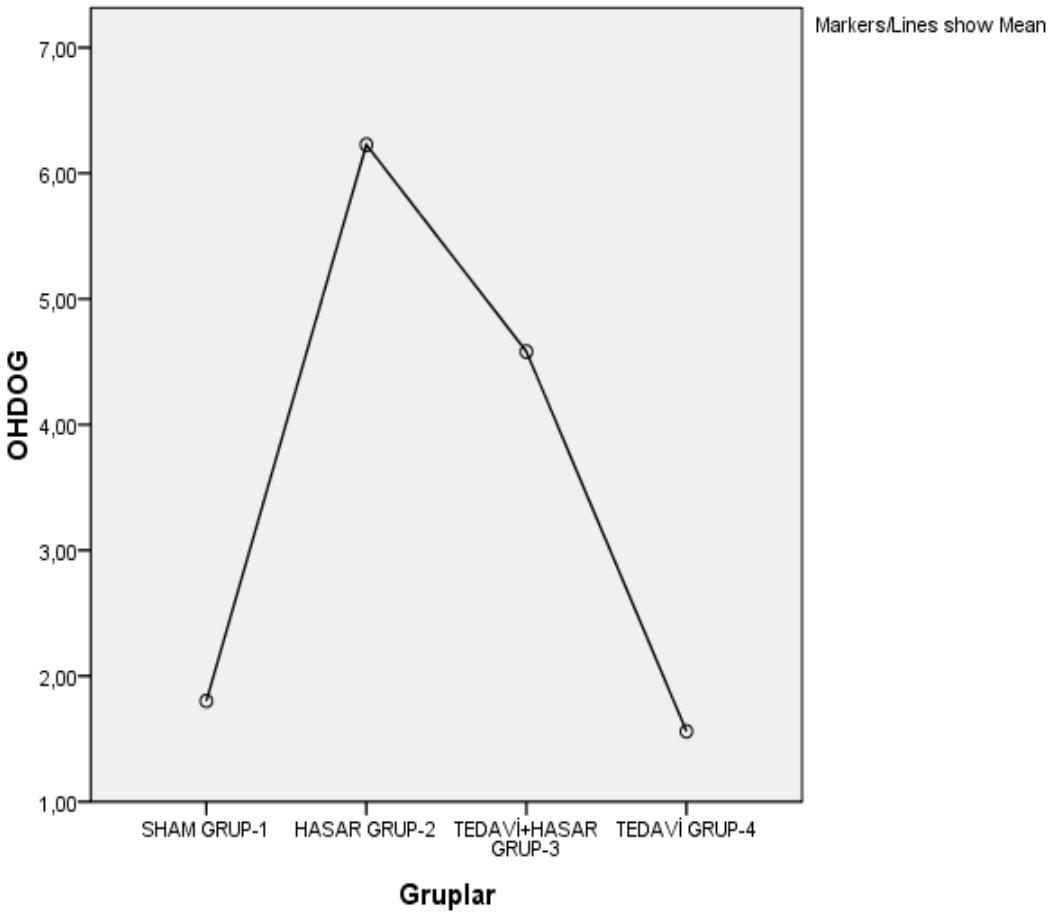
Verilerin subgrup analizlerinde Tukey testi kullanıldı. p<0,05. 8-OHdG=8-hidroksi-2'- deoksiguanozin, TOS=Total oksidan seviye, OSİ=Oksidatif stres indeksi, TAS=Total Antioksidan Seviye.

Bu deneysel çalışma sonucunda Tablo 4.3.'te de görüldüğü gibi aynı grup içerisindeki erkek ve dişi ratların verileri karşılaştırıldığında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05).

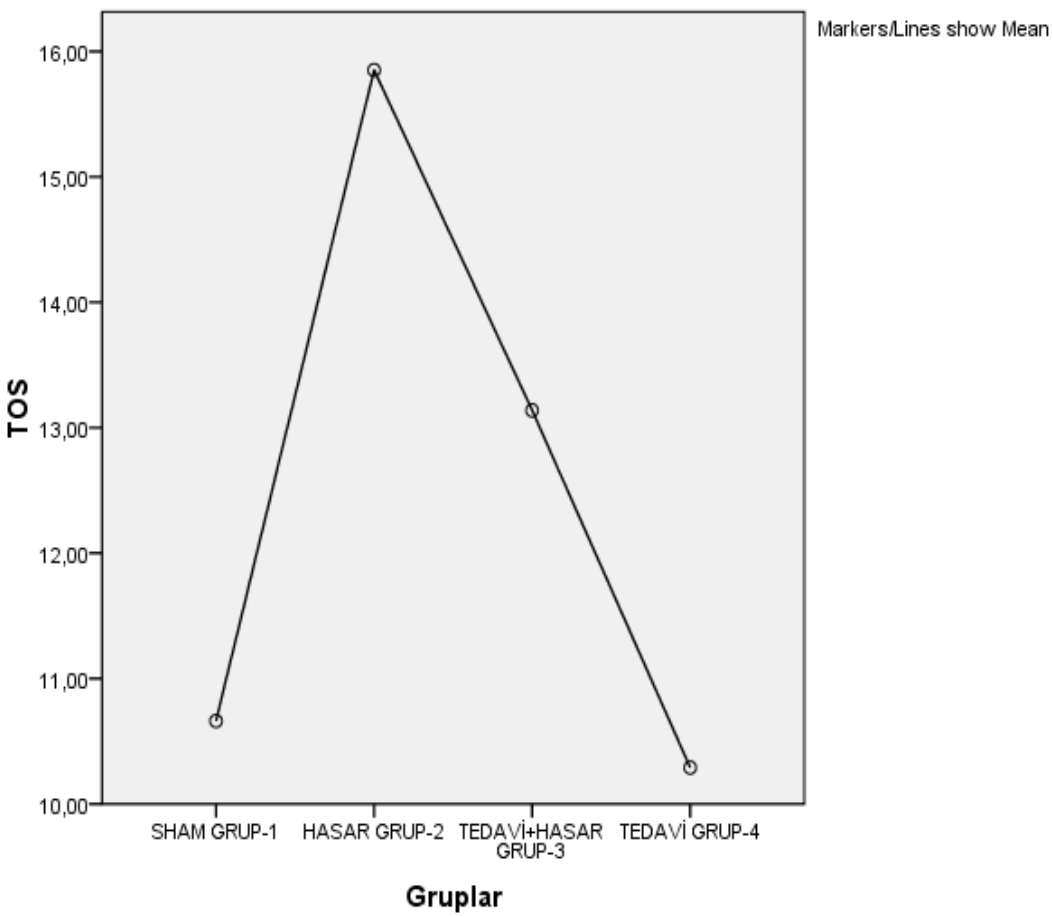
Tablo 4.3. Grup İçi Erkek ve Dişi Ratların Verilerinin Karşılaştırılması.

Gruplar	Biyokimyasal Parametreler	Cinsiyet		P
		Erkek	Dişi	
Grup 1 (Sham)	**8-OHDOG** (ng/mL)	1,57±0,19	2,03±0,77	0,192
	TOS (μmol H2O2 Eqv/1)	11,70±2,13	9,61±1,75	0,094
	OSİ (aμ)	0,80±0,16	0,58±0,10	0,410
	TAS (mmol Trolox Eqv/1)	1,50±0,36	1,65±0,15	0,353
Grup 2 (Hasar)	**8-OHDOG** (ng/mL)	6,33±1,64	6,11±1,60	0,823
	TOS (μmol H2O2 Eqv/1)	16,05±2,36	15,64±0,88	0,697
	OSİ (aμ)	1,39±0,28	1,41±0,20	0,887
	TAS (mmol Trolox Eqv/1)	1,16±0,12	1,11±0,13	0,541
Grup 3 (Tedavi+Hasar)	**8-OHDOG** (ng/mL)	5,20±2,71	3,95±1,32	0,343
	TOS (μmol H2O2 Eqv/1)	13,15±2,12	13,12±1,66	0,982
	OSİ (aμ)	0,92±0,18	0,95±0,19	0,815
	TAS (mmol Trolox Eqv/1)	1,43±0,06	1,40±0,18	0,733
Grup 4 (Tedavi)	**8-OHDOG** (ng/mL)	1,72±0,47	1,39±0,44	0,242
	TOS (μmol H2O2 Eqv/1)	10,99±0,93	9,58±1,33	0,061
	OSİ (aμ)	0,69±0,09	0,60±0,12	0,190
	TAS (mmol Trolox Eqv/1)	1,59±0,18	1,61±0,19	0,877

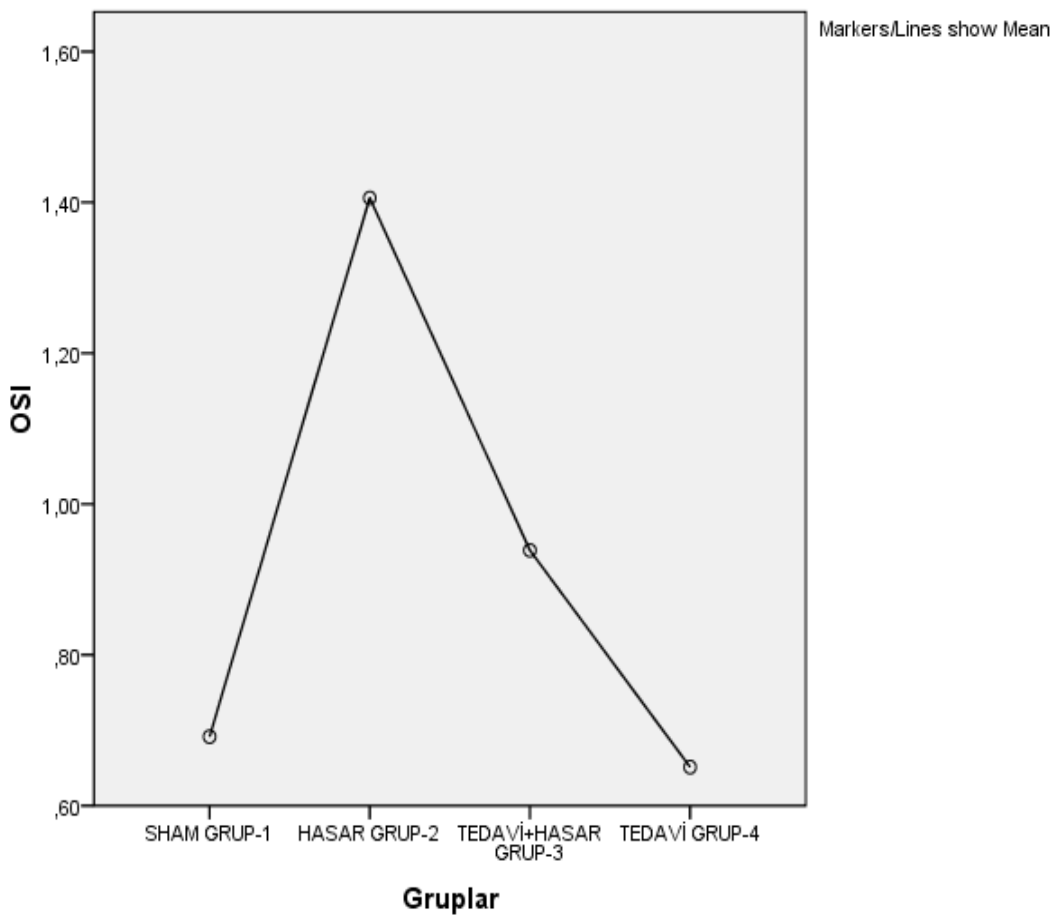
Aynı grup içerisindeki erkek ve dişi ratların verilerinin karşılaştırılmalarında Student-t testi kullanıldı. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verildi. p<0.05. 8-OHdG=8-hidroksi-2'- deoksiguanozin, TOS=Total oksidan seviye, OSİ=Oksidatif stres indeksi, TAS=Total Antioksidan Seviye.



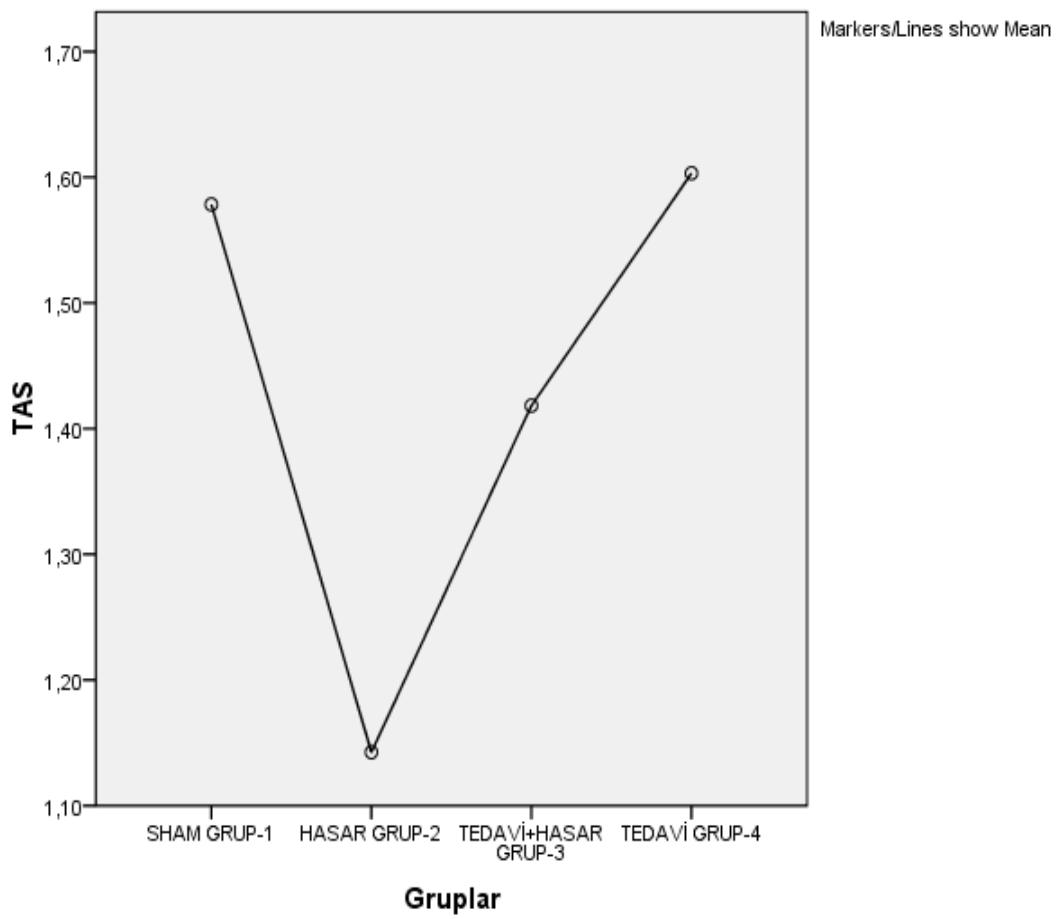
Şekil 4.1. Deney Gruplarının Ortalama 8-OHDOG(ng/mL) Düzeylerinin Karşılaştırılması.



Şekil 4.2. Deney Gruplarının Ortalama TOS (µmol H2O2 Eqv/1) Düzeylerinin Karşılaştırılması.



Şekil 4.3. Deney Gruplarının Ortalama OSİ (aμ) Düzeylerinin Karşılaştırılması.



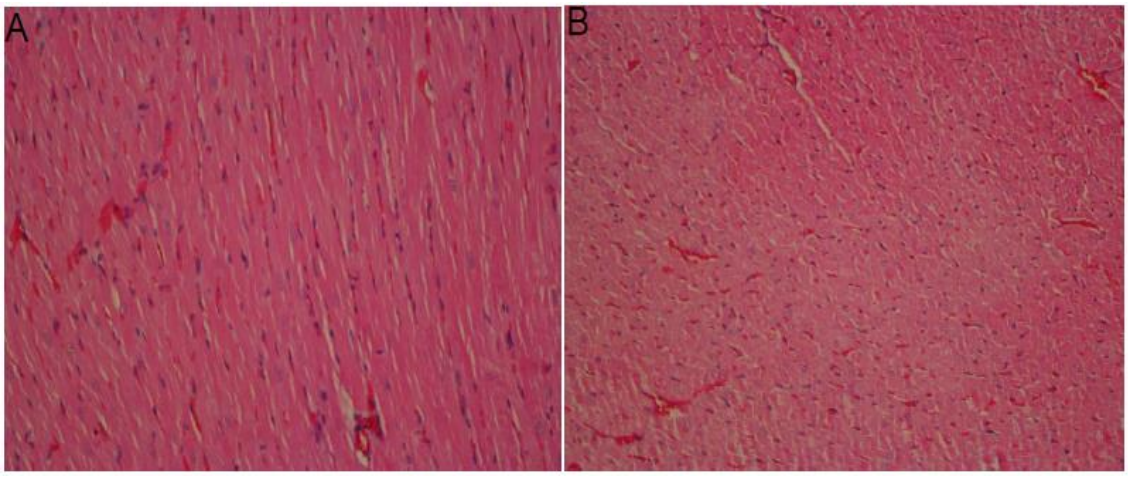
Şekil 4.4. Deney Gruplarının Ortalama TAS (mmol Trolox Eqv/1) düzeylerinin Karşılaştırılması.

4.2. Histopatolojik Bulgular

4.2.1. Kalp Dokusu Histopatolojik Bulguları

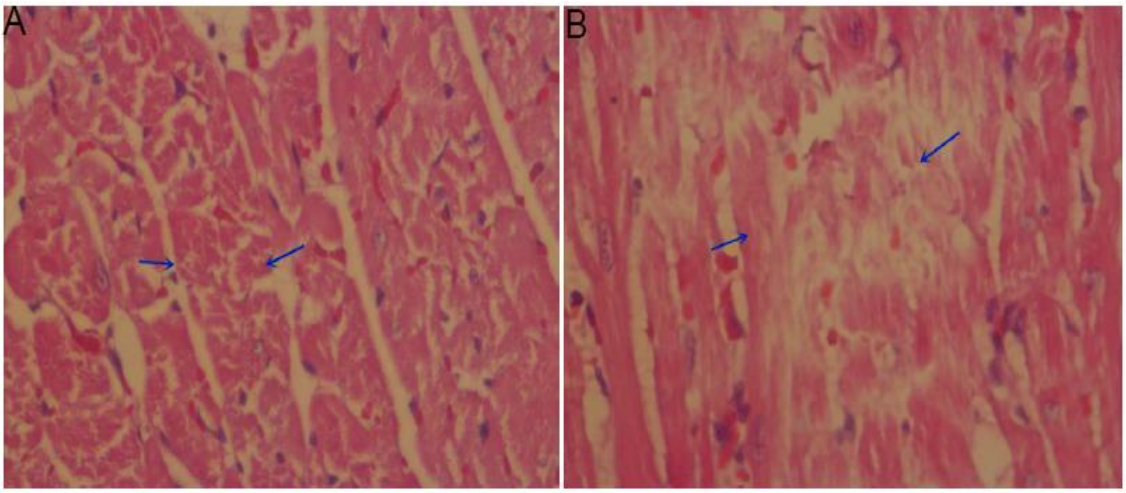
Deneysel çalışma sonucunda ratlardan alınan kalp dokularının histopatolojik incelemesinde her grup ayrı ayrı incelendi. Histopatolojik görüntüler her gruptan erkek ve dişi ratlardan birer adet randomize (rastgele) olarak seçildi.

Sham grubunun (Grup 1) histopatolojik incelemesinde erkek ve dişi ratların kalp dokusunda düzenli yapı incelenmiştir. Patolojik bulgu saptanmamıştır. Şekil 4.5. A-B (Erkek-Dişi): Sham grubuna (Grup 1) ait örnekte düzenli yapıda kalp kası izlenmektedir (H&Ex200).



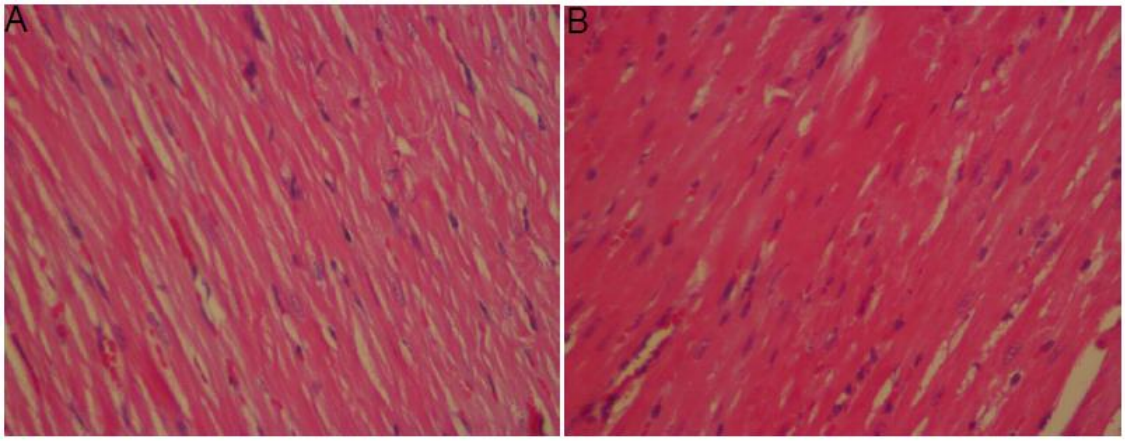
Şekil 4.5. Sham Grubu Erkek (A) ve Dişi (B) Rata Ait Örnekte Düzenli Yapıda Kalp Kası İzlenmesi (H&Ex200).

Hasar grubunun (Grup 2) histopatolojik incelemesinde doku kesitlerinde miyokard dokusunda yer yer nekroz ve ödem alanları izlenmektedir (H&Ex600). Şekil 4.6. A (Nekroz): Hasar grubuna (Grup 2) ait örnekte kas liflerinde fokal nekroz alanları izlenmektedir (H&Ex600). Şekil 4.6. B (Ödem+Nekroz): Hasar grubuna (Grup 2) ait örnekte doku kesitlerinde fokal ödem ve nekroz alanları birlikte izlenmektedir (H&Ex600).



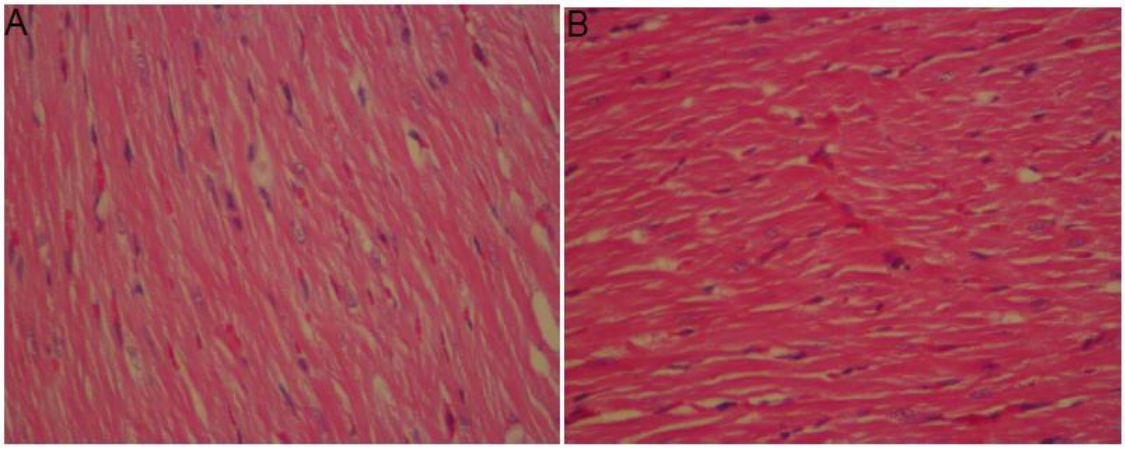
Şekil 4.6. Nekroz (A): Hasar Grubuna Ait Örnekte Kas Liflerindeki Fokal Nekroz Alanlarının İzlenmesi (H&Ex600). Ödem+Nekroz (B): Hasar Grubuna Ait Örnekte Doku Kesitlerinde Fokal Ödem ve Nekroz Alanlarının Birlikte İzlenmesi (H&Ex600).

Tedavi+Hasar grubunun (Grup 3) histopatolojik incelemesinde ödem ve kas fibrillerindeki fokal nekroz alanlarında belirgin iyileşme olduğu izlenmektedir. Şekil 4.7. A-B (Erkek-Dişi): Tedavi+hasar grubuna (Grup 3) ait örnekte düzenli yapıda çizgili kas dokusu izlenmektedir (H&Ex400).



Şekil 4.7. Tedavi+Hasar Grubu Erkek (A) ve Dişi (B) Rata Ait Örnekte Düzenli Yapıda Çizgili Kas Dokusunun İzlenmesi (H&Ex400).

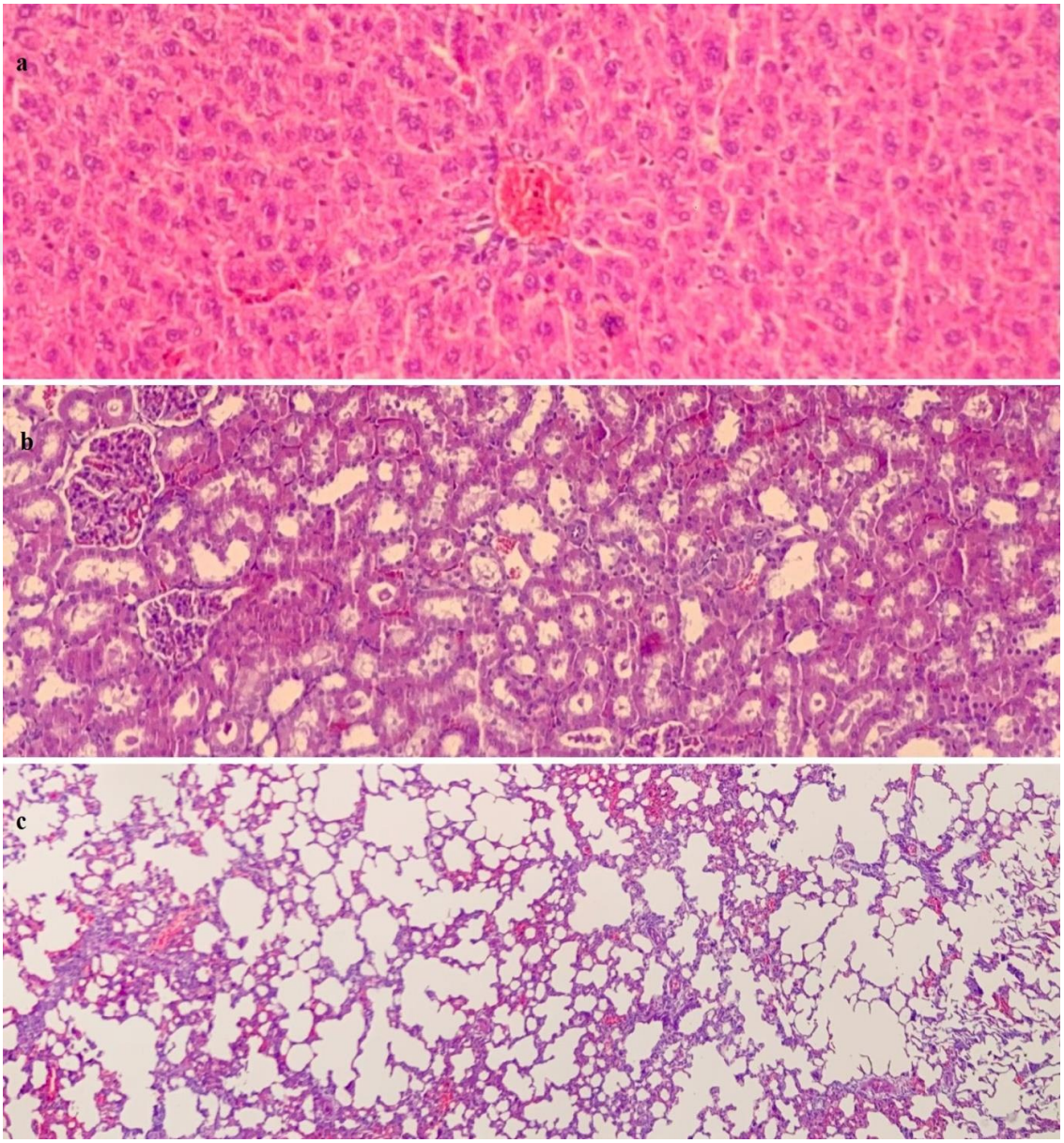
Tedavi grubunun (Grup 4) histopatolojik incelemesinde düzenli yapıda kas lifleri izlenmektedir. Şekil 4.8. A-B (Erkek-Dişi): Tedavi grubuna (Grup 4) ait örnekte düzenli yapıda kas lifleri izlenmektedir (H&Ex400).



Şekil 4.8. Tedavi Grubu Erkek (A) ve Dişi (B) Rata Ait Örnekte Düzenli Yapıda Kas Liflerinin İzlenmesi (H&Ex400).

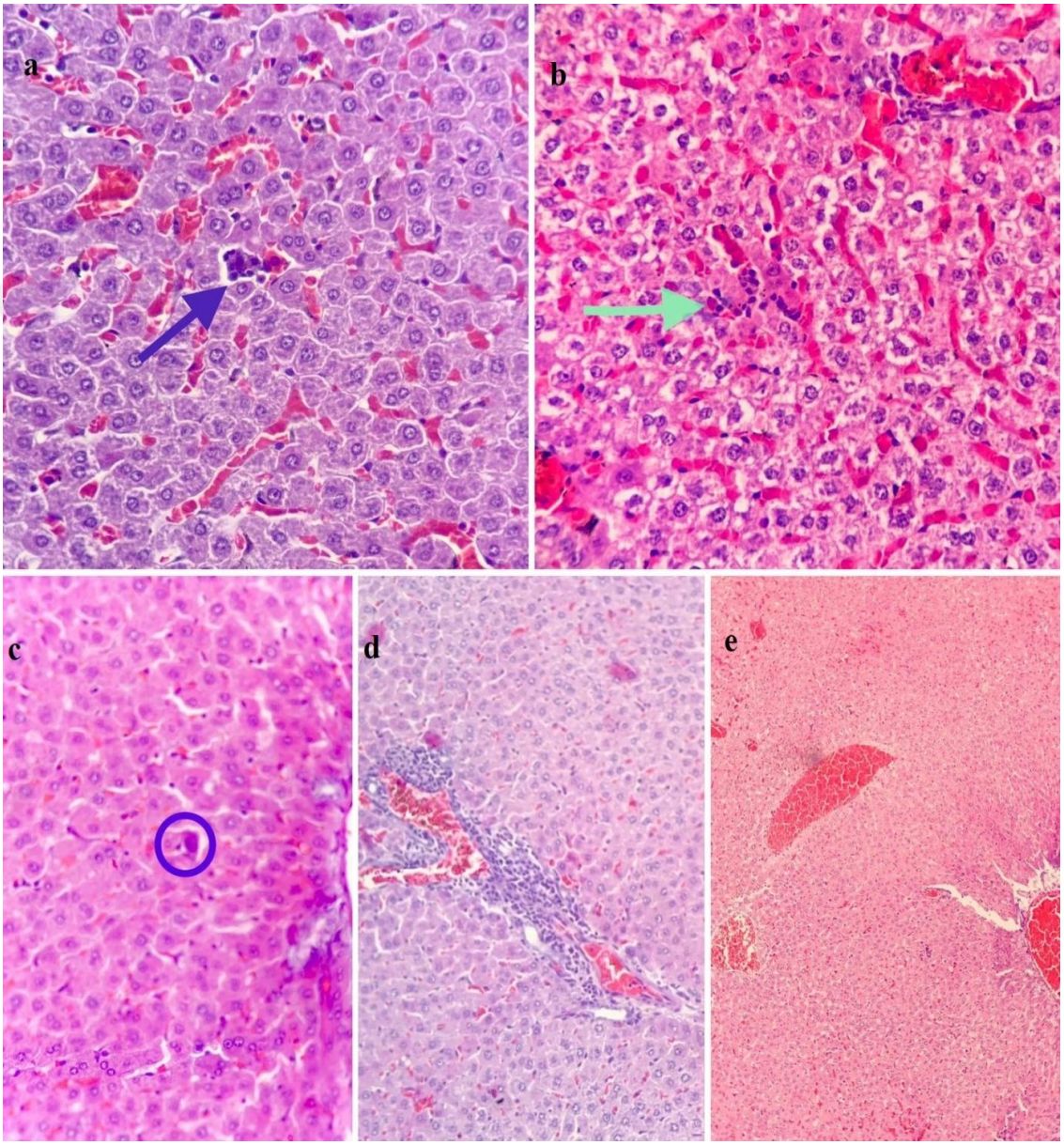
4.2.2. Diğer Organ Dokularının Histopatolojik Bulguları

Sham grubunda (Grup 1) düzenli histopatolojik yapıda Şekil 4.9.'da da görüldüğü gibi a) hepatik (Karaciğer), b) renal (Böbrek) ve c) akciğer parankimi izlenmektedir.



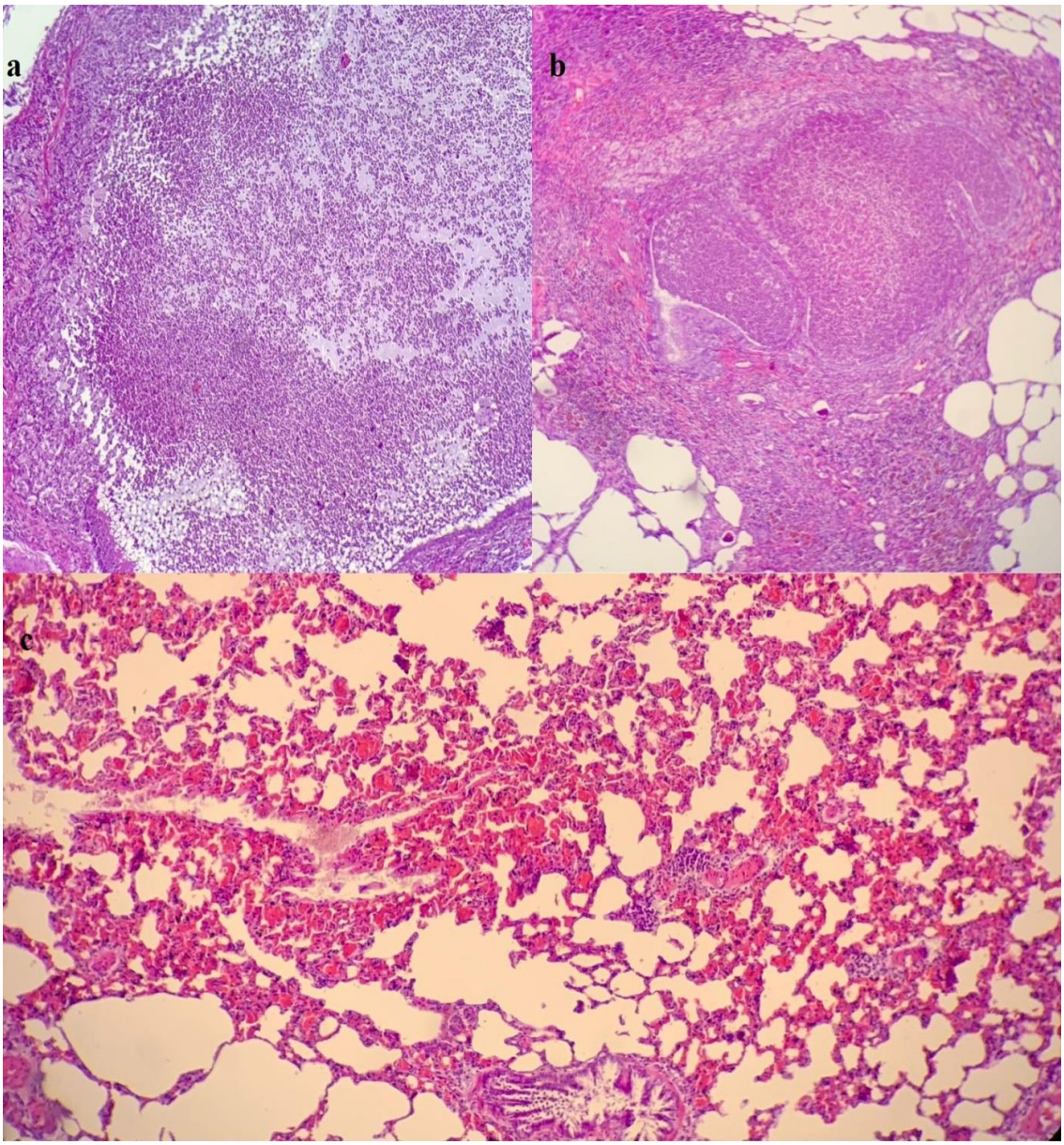
Şekil 4.9. Sham Grubunda Düzenli Histopatolojik Yapıda a) Hepatik (Karaciğer), b) Renal (Böbrek) ve c) Akciğer Parankiminin İzlenmesi.

Hasar grubunun (Grup 2) dişi ve erkek karaciğer dokusunda Şekil 4.10.'da da görüldüğü gibi a,b) fokal litik nekroz (Mavi-yeşil ok ile gösterilmektedir) (H&Ex400), c) hepatositlerde apopitozis (Halka ile gösterilmiştir) (H&Ex400), d) portal inflamasyon (H&Ex200) ve e) tromboze vasküler yapılar (H&Ex100) izlenmektedir.



Şekil 4.10. Hasar Grubunun Dişi ve Erkek Karaciğer Dokusunda a,b) Fokal Litik Nekroz (Mavi-Yeşil Ok) (H&Ex400), c) Hepatositlerde Apopitozis (Halka) (H&Ex400), d) Portal İnflamasyon (H&Ex200), ve e) Tromboze Vasküler Yapıların (H&Ex100) İzlenmesi.

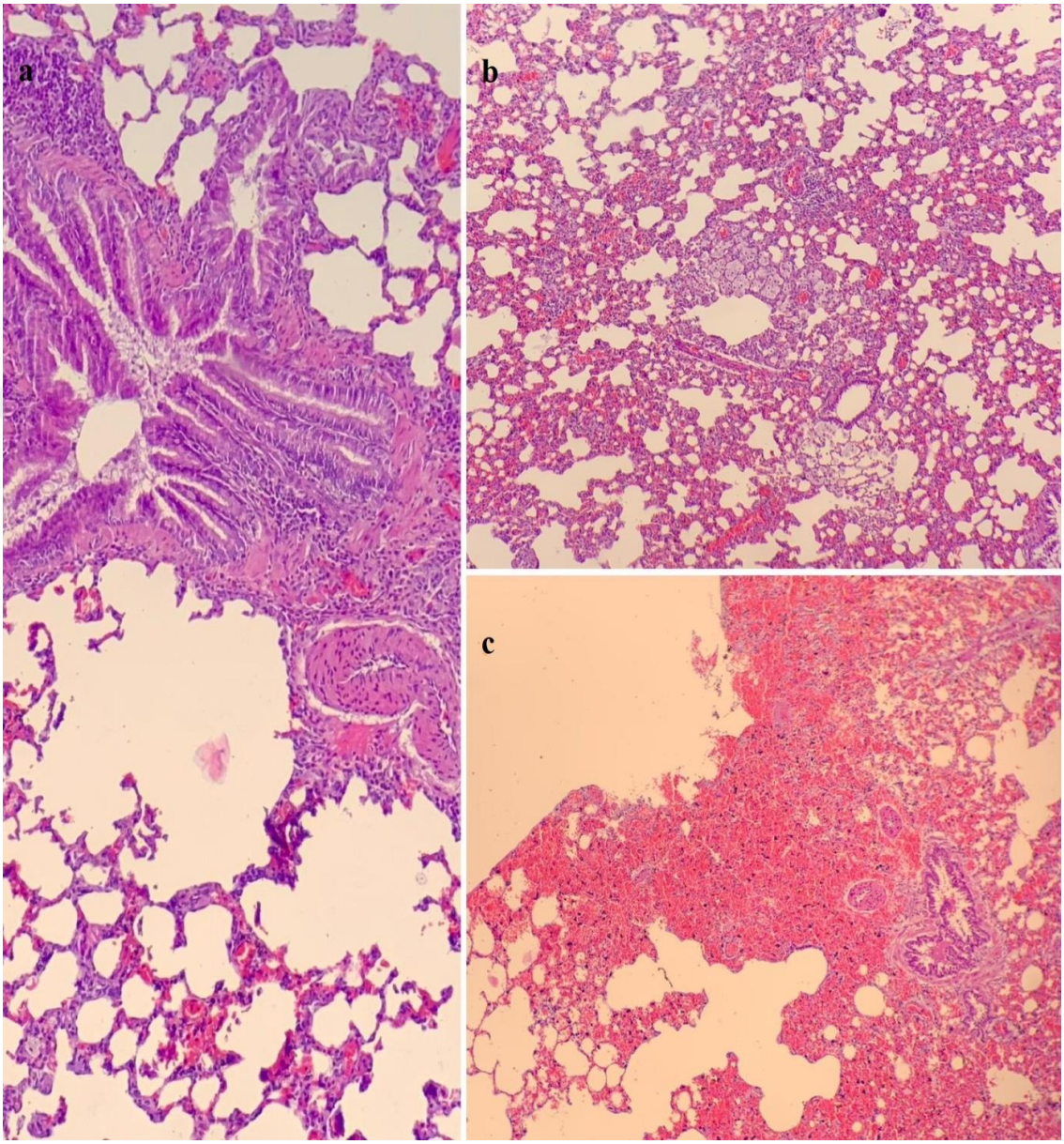
Hasar grubunun (Grup 2) dişi akciğer dokusunda Şekil 4.11.'de de görüldüğü gibi a) abseleşen iltihap, b) apse formasyonuna eşlik eden amfizematöz değişiklikler ve c) alveoler hemoraji alanları (H&Ex100) mevcuttur.



Şekil 4.11. Hasar Grubunun Dişi Akciğer Dokusunda a) Abseleşen İltihap, b) apse Formasyonuna Eşlik Eden Amfizematöz Değişiklikler ve c) Alveoler Hemoraji Alanlarının (H&Ex100) İzlenmesi.

Hasar grubunun (Grup 2) erkek akciğer dokusunda Şekil 4.12.'de de görüldüğü gibi a) peribronşial iltihabi infiltrasyon ve yaygın amfizematöz değişiklikler

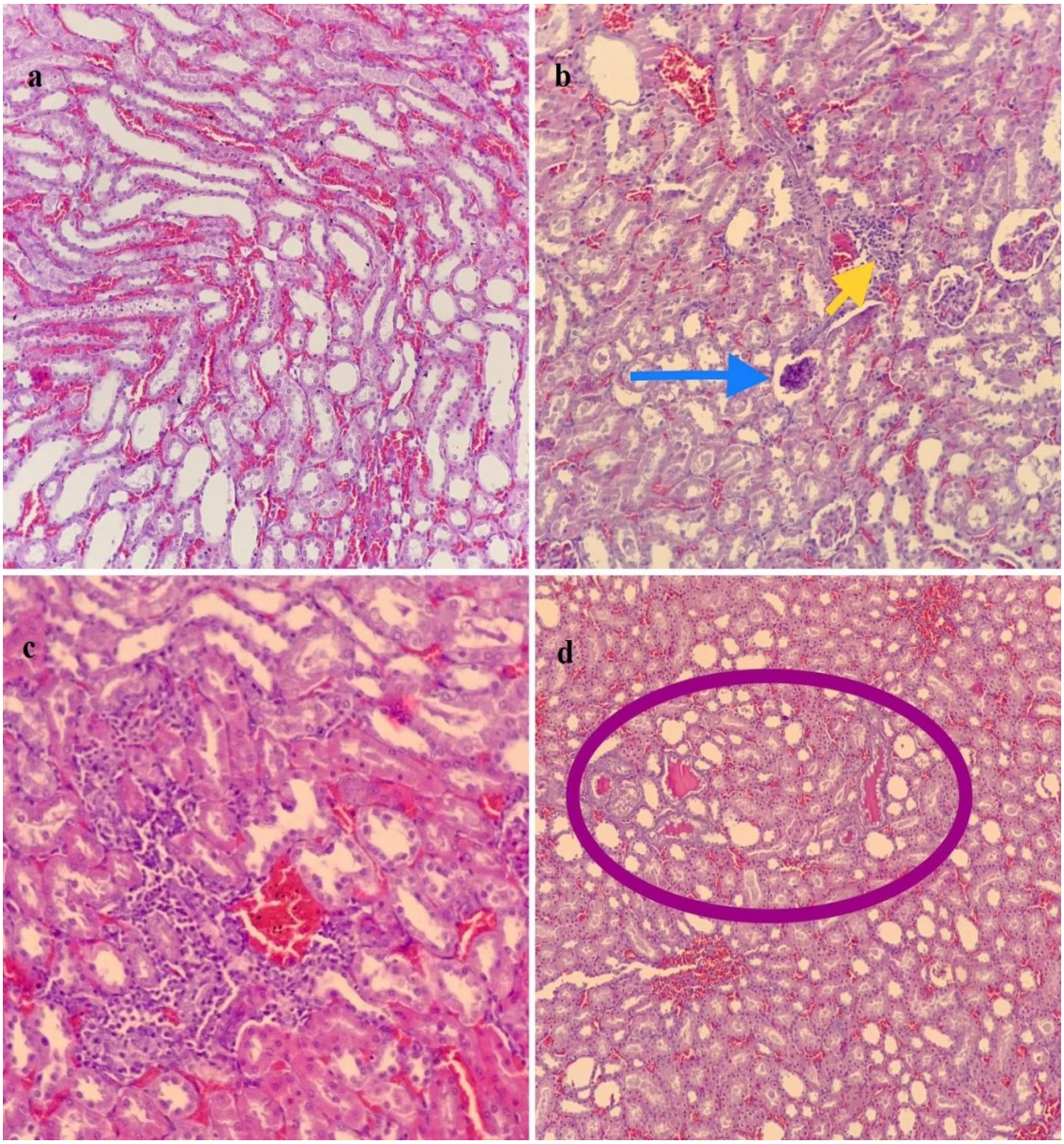
(H&Ex200), b) intrestisyel histiyositik infiltrasyon ve c) parankimde yaygın hemoraji (H&Ex100) görülmektedir.



Şekil 4.12. Hasar Grubunun Erkek Akciğer Dokusunda a) Peribronşial İltihabi İnfiltrasyon ve Yaygın Amfizematöz Değişiklikler (H&Ex200), b) İntrestisyel Histiyositik İnfiltrasyon ve c) Parankimde Yaygın Hemoraji (H&Ex100) İzlenmesi.

Hasar grubunun (Grup 2) dişi ve erkek böbrek dokusunda Şekil 4.13.'te de görüldüğü gibi a) renal parankimde tübüller arası interstisyel dokuda hemoraji, b) glomerüloskleroz (Mavi ok ile gösterilmiştir), stromada iltihabi infiltrasyon (Sarı ok ile gösterilmiştir) (H&Ex100), c) interstisyel iltihabi infiltrasyon ve tromboze vasküler

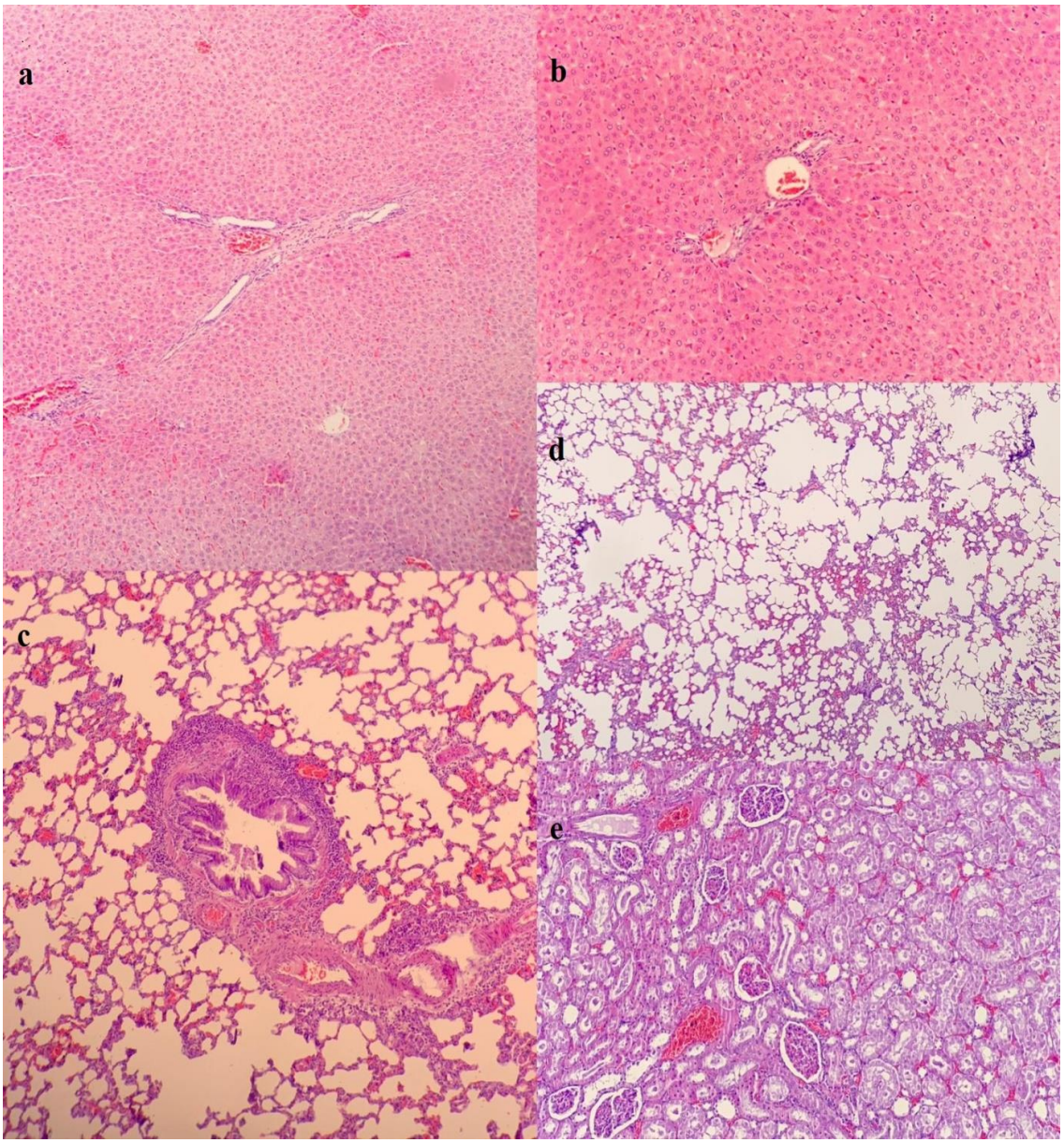
yapılar (H&Ex200) ve d) tübüllerde tiroidizasyon (Halka ile gösterişmiştir) (H&Ex100) izlenmektedir.



Şekil 4.13. Hasar Grubunun Dişi ve Erkek Böbrek Dokusunda a) Renal Parankimde Tübüller Arası İnterstisyel Dokuda Hemoraji, b) Glomerüloskleroz (Mavi Ok), Stromada İltihabi İnfiltrasyon (Sarı Ok) (H&Ex100), c) İnterstisyel İltihabi İnfiltrasyon ve Tromboze Vasküler Yapılar (H&Ex200) ve d) Tübüllerde Tiroidizasyon (Halka) (H&Ex100) İzlenmesi.

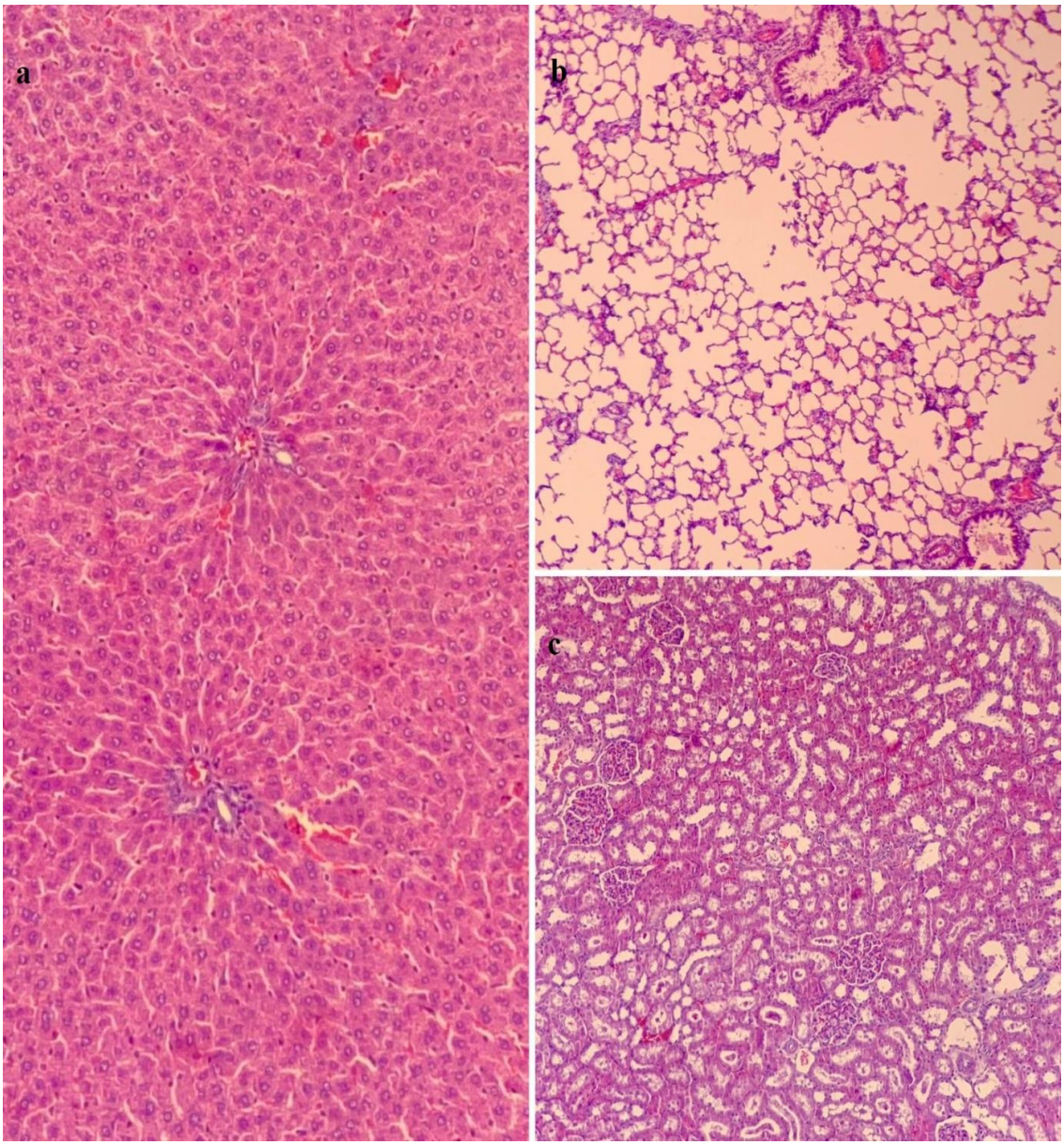
Tedavi+Hasar grubunun (Grup 3) histopatolojik incelemesinde Şekil 4.14.'te de görüldüğü gibi: Karaciğer dokusunda a) portal inflamasyonda gerileme, b) periportal fibrozisde belirgin iyileşme; akciğer dokusunda c) peribronşial iltihabi infiltrasyonda

gerileme, d) fokal amfizematöz değişiklikler; böbrek dokusunda ise e) minimal tromboze vasküler yapılar içeren düzenli glomerül yapıları içeren renal parankim (H&Ex100) izlenmektedir.



Şekil 4.14. Tedavi+Hasar Grubunun Karaciğer Dokusunda: a) Portal İnflamasyonda Gerileme, b) Periportal Fibrozisde Belirgin İyileşme; Akciğer Dokusunda: c) Peribronşial İltihabi İnfiltrasyonda Gerileme, d) Fokal Amfizematöz Değişiklikler; Böbrek Dokusunda: e) Minimal Tromboze Vasküler Yapılar İçeren Düzenli Glomerül Yapıları İçeren Renal Parankimin (H&Ex100) İzlenmesi.

Tedavi grubunun (Grup 4) histopatolojik incelemesinde Şekil 4.15.'te de görüldüğü gibi a) düzenli portal alanlar içeren hepatik doku, b) akciğer dokusunda fokal amfizematöz değişiklikler ve c) düzenli renal parankim dokusu (H&Ex100) mevcuttur.



Şekil 4.15. Tedavi Grubunun Histopatolojik İncelemesinde a) Düzenli Portal Alanlar İçeren Hepatik Doku, b) Akciğer Dokusunda Fokal Amfizematöz Değişiklikler ve c) Düzenli Renal Parankim Dokusunun (H&Ex100) İzlenmesi.

5. TARTIŞMA

Kardiyak hastalıklar günümüzde önemini korumaktadır (1,2). Bu hastalıkların tedavisinde KPB cerrahisi gibi yöntemlerde uygulanmaktadır. KPB operasyonlarında aortik kross klemp ve TCA uygulamaları sıkça yapılmaktadır. Bu operasyonlar başarıyla gerçekleştirilmekte olup olası risk faktörleri ve olumsuz etkilerinin ortadan kaldırılması gerekmektedir. Bu olası olumsuz etkiler arasında kardiyak hasar ve end-organ hasarları görülmektedir. Bu deneysel çalışmada; TCA modeli ile deneysel kardiyak hasar oluşturulan ratlara T.violacea ekstraktı verilmesi sonrası serum düzeyinde oksidatif stres parametreleri (TAS, TOS, OSİ), oksidatif DNA hasar düzeyi (8-OHdG) ve kalp dokusunda oluşan histopatolojik değişikliklerin incelenmesi amaçlandı.

Kardiyak hasar sonucu oksidatif stres oluşmaktadır. Oksidatif stres, metabolizmada serbest radikallerin oluşum ve ortamda birikim hızının artması, buna karşın antioksidanların bu serbest radikalleri ortamdan kaldırma hızının düşmesi ve bunun sonucunda organizmanın yapıtaşları olan protein, lipid, nükleik asit, karbonhidrat ve enzimlerin yapısının bozularak doku hasarının oluşmasıdır (51). KPB sırasında da oksidatif stres oluşmaktadır. KPB esnasında oluşan oksidatif strese ise; kanın nonendotelyal devre elemanları ile teması sonucunda aktif hale geçen; nötrofiller, katekolaminler, kompleman sisteminin aktivasyanu, nötrofillerin aktifleşmesi sonucu salınan sitokinler, iskemi-reperfüzyon sürecinde ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri, kallikrein kaskadı, endotel hasarı, endotoksinin salıverilmesi neden olmaktadır (53). Oksidatif stres götergeleri ise; total antioksidan seviye, total oksidan seviye ve oksidatif stres indeksi'dir. Çalışmamızda oksidadif stresin (TAS, TOS ve OSİ sonuçları), T.violacea ekstraktı verilmeyen ve TCA uygulanarak kardiyak hasar oluşturulan grupta oluştuğu görülmektedir. Ayrıca T.violacea ekstraktı verilen rat gruplarında ise T.violacea ekstraktının oluşan oksidadif stresi önlediği ve buna bağlı olarak da kardiyak hasarın önlendiğini düşünmekteyiz.

Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile deoksiribo nükleik asit üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, abazik bölgeler, tek ve çift zincir kırıkları, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara neden olduğuda bilinmektedir. Endojen veya ekzojen faktörlerin etkisi ile bir genetik materyalin moleküler

bütünlüğünde meydana gelen tüm bu değişikliklere DNA hasarı denilmektedir. Birçok yöntemle oksidatif DNA hasarı belirlenebilmektedir (50). Reaktif oksijen türleri DNA'da yirmiden fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına neden olmaktadır. 8-hidroksi-2'- deoksiguanozin bu hasara uğrayan bazlar arasında oldukça duyarlı olan ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirtecidir (50,58). Oksidatif DNA hasar belirteci olan 8-OHdG; çalışmamızda hasar grubun (Grup 2)'da diğer gruplardan daha yüksek bulundu. Bu durumun, iskemi ve TCA sonucu mevcut antioksidan mekanizmalarının yetersiz kalmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. T.violacea ekstraktı verilen gruplarda ise 8-OHdG düzeyinin daha düşük görülmesinin T.violacea ekstraktının eksternal antioksidan etkisiyle açıklayabiliriz.

Yapılan bilimsel ve deneysel çalışmalar, T.violacea ekstraktının kardiyak hasarı önlediğini göstermektedir (12). Sonuçlarımız da benzer olumlu sonuçlar göstermektedir. Ayrıca T.violacea ekstraktının, doğal antioksidan, anti-parazitik, antimikrobiyal (antibakteriyel ve antifungal aktivite), sitotoksik, antikanser ve proapoptotik etkilerini gösteren birçok çalışma da bulunmaktadır (14,15,69-73).

Murugesan ve ark. (12) yaptıkları çalışmada ratlarda izoproterenol ile indüklenen miyokardiyal nekroz üzerinde T.violacea ekstraktının koruyucu rolünü araştırmışlardır. Çalışmalarında ratları 30 gün boyunca günlük T.violacea ekstraktı (60 mg/kg vücut ağırlığı) ile tedavi etmişler. Miyokardiyal nekrozu, ratlarda 29. ve 30. günlerde subkutan izoproterenol (85 mg/kg vücut ağırlığı) enjeksiyonu ile oluşturmuşlar. 31. günde ratları anestezi altında sakrifiye ederek kan ve dokularını almışlardır. Çalışmalarında izoproterenol ile indüklenen miyokardiyal nekroz sonuçlarında; kardiyak belirteçlerin, lipid peroksidasyon ürünlerinin ve kalp hızı seviyelerinin önemli ölçüde arttığını, plazma enzimatik antioksidanlarının ise önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca miyokardiyal nekrotik mRNA (Messenger Ribonükleik Asid) genlerinin de bu gruplarda arttığını belirtmişlerdir. Çalışma sonuçlarında miyokardiyal nekrozun TVE ile tedavisinde tüm biyokimyasal ve moleküler çalışmalar üzerinde önemli etkiler gösterdiğini belirtmişlerdir. T.violacea ekstraktının, kalp hızını azalttığını, oksidatif stresi önlediğini ve ratlarda miyokardiyal nekrozda Fas reseptörü ve kaspaz aracılı apoptoz sinyal yolunu ve kalp kası hasarını aşağı yönde regüle ettiğini belirtmişlerdir. T.violacea ekstraktından gelen spesifik hedef proteininin [disülfid, bis (2-sülfhidriletil] koruyucu etkilere aracılık ettiğini de

söylemişlerdir. Ayrıca T.violacea ekstraktının antioksidan üretimini arttırdığını ve ratlarda izoproterenol kaynaklı miyokardiyal nekroz üzerinde koruyucu etki gösterdiğini saptamışlardır (12). Bu çalışma sonuçları yaptığımız deneysel çalışma sonuçlarını desteklemektedir. TCA ile oluşan kardiyak hasar (oksidadif stress ve oksidatif DNA hasarı) üzerinde T.violacea ekstraktının olumlu etkileri ciddi şekilde görülmektedir.

Ayrıca T.violacea ekstraktının kalp üzerine olumlu etkisini (Kalp hızı ve kan basıncı üzerine olumlu etkisi) de gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (63-66,68).

Moodley ve ark. (63) yaptıkları çalışmada Dahl tuzuna duyarlı ratlarda T.violacea metanolik ekstraktının kardiyovasküler etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında Dahl tuzuna duyarlı ratlara gruplar halinde intraperitoneal olarak: kontrol grubuna distile su (3ml/kg); bir gruba kaptopril (25mg/kg); ve bir grubada 7 hafta boyunca T.violacea metanolik ekstraktı (50mg/kg) vermişlerdir. Çalışmalarının sonucunda birçok olumlu etkinin yanında, uzun süreli uygulandığında T.violacea ekstraktının Dahl tuzuna duyarlı ratlarda antihipertansif etki gösterdiğini belirtmişlerdir (63).

Mackraj ve ark. (64) yaptıkları çalışmada Dahl tuzuna duyarlı ratlarda T.violacea ekstraktının sistemik arteriyel kan basıncı ve renin-anjiyotensin sistemi üzerindeki in vivo etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında ratlara 14 gün boyunca periton içinden bir gruba T.violacea ekstraktı (50mg/kg), diğer gruba kaptopril (10mg/kg) vermişlerdir. Çalışmalarının sonucunda bazal kan basınçlarını karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak T.violacea ekstraktının Dahl tuzuna duyarlı ratlarda renal AT1 reseptör gen ekspresyonunu azalttığını ve dolayısıyla sodyum ve su homeostazını düzenleyerek sistemik arteriyel kan basıncını düşürdüğü belirtmişlerdir (64).

Raji ve ark. (65) yaptıkları çalışmada yaşlanan normotansif ratlar ile yetişkin spontan hipertansif ratlarda T.violacea ekstraktının kan basıncı ve kalp hızı üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. Ayrıca bu sonuçları her iki grup arasında karşılaştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda T.violacea ekstraktının, her iki rat grubunda da sistolik, diyastolik kan basıncını, ortalama arter basıncını önemli ölçüde ve doza bağlı olarak azalttığını belirtmişlerdir. Bununla birlikte, iki rat grubununun kan basıncı ve kalp hızındaki değişiklikler karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir (65).

Raji ve ark. (66) yaptıkları çalışmada erkek spontan hipertansif ratlarda T.violacea ekstraktının kan basıncı ve kalp hızı üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamışlar ayrıca etki ettiği mekanizmayı veya mekanizmaları bulmaya çalışmışlardır. Çalışmalarında ratlara 5-150 mg/kg T.violacea ekstraktını intravenöz olarak infüze etmişlerdir. Diğer rat gruplarına ise anjiyotensin I human asetat tuzu hidrat (Ang I, 3,1-100 uq/kg), anjiyotensin II human (Ang II, 3,1-50 uq/kg), fenilefrin hidroklorür (Fenilefrin, 0,01-0,16 mg/kg) ve dobutamin hidroklorür (Dobutamin, 0,2-10,0 uq/kg) intravenöz olarak infüze etmişlerdir. Çalışmalarında T.violacea ekstraktının; sistolik, diyastolik ve ortalama arteriyel kan basıncını ve doza bağımlı olarak kalp hızını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir ($p<0,01$). Ang I, ang II, fenilefrin ve dobutaminin ise kan basıncını doza bağlı olarak arttırdığını belirtmişlerdir. Ang I'in hipertansif etkisi ve dobutaminin kalp hızını arttırıcı etkisi, T.violacea ekstraktı (60 mg/kg) infüzyonu ile birlikte yapıldığında önemli ölçüde azaldığını belirtmişler. Bununla birlikte, ang II veya fenilefrinin, T.violacea ekstraktı (60 mg/kg) infüzyonu ile birlikte yapıldığında, kan basıncı ve kalp hızı üzerinde önemli bir değişiklik üretmediğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak çalışmalarında T.violacea ekstraktının spontan hipertansif ratlarda kan basıncı ve kalp hızını azalttığını, bu sonuçların da T.violacea ekstraktının ang I dönüştürücü enzim ve ß1 adrenoseptör üzerindeki etkilerinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (66).

Raji ve ark. (68) yaptıkları çalışmada, muskarinik reseptörlerin ve plazma aldosteron seviyelerindeki değişikliklerin T.violacea ekstraktının antihipertansif etkisine katkısını değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Yaptıkları çalışmalarında spontan hipertansif ratlarda T.violacea ekstraktının doza bağlı olarak kan basıncı ve kalp hızını azalttığını belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmalarının sonucunda, muskarinik reseptörlerin uyarılmasının ve plazma aldosteron düzeylerindeki azalmanın T.violacea ekstraktının antihipertansif etkisine katkıda bulunduğunu belirtmişlerdir (68).

Yapılan bazı çalışmalarda da T.violacea ekstraktının antitrombotik ve antikoagülan etkilerinin olduğu gösterilmiştir (67,82).

Davison ve ark. (67) yaptıkları çalışmada T.violacea ekstraktının trombositler üzerindeki etkilerini belirlemek için trombosit agregasyonu, yapışması ve protein salgılanması gibi özellikleri hem in vitro hem de ex vivo rat modellerde araştırmışlardır. Çalışmalarında T.violacea ekstraktının trombosit agregasyonu ve yapışması üzerinde

pozitif kontrol aspirinden daha yüksek bir inhibisyona sahip olduğu belirtmişlerdir. Protrombin zaman testinde (PT) ise pıhtılaşma sürelerini azalttığını, ancak antitrombotik kabiliyetini gösteren ex vivo modelde aktifleştirilmiş kısmi tromboplastin süresi (APTT) deneyinde pıhtılaşma süresini uzattığını belirtmişlerdir. Ekstraktın, in vitro modelde D-dimer ve fibrinojen-C konsantrasyonlarını arttırdığını, ancak D-dimer konsantrasyonları üzerinde hiçbir etkisi olmadığını ve ex vivo modelde ise fibrinojen-C sonuçlarını düşürdüğünü belirtmişlerdir. Sonuç olarak çalışmalarında T.violacea ekstraktının, fibrinojen seviyelerini azaltarak, APTT süresini artırarak ve trombositlerde bulunan GPIIb reseptörü aracılığıyla trombosit aktivasyonunun modülasyonu yoluyla kardiyovasküler sistem üzerinde faydalı bir etkiye sahip olduğunu ve antikoagülan ve antitrombüs etki gösterdiğini belirtmişlerdir (67).

Bungu ve ark. (82) yaptıkları in vitro çalışmada T.violacea ekstraktının antitrombotik ve antikoagülan özelliklerini ortaya koymayı amaçlamışlardır. Yaptıkları çalışmada T.violacea'nın kök ve yaprak ekstraktlarının yüksek antitrombotik aktiviteler sergilediğini göstermişlerdir. Yaprak ve kök ekstraktları için trombin kaynaklı pıhtılaşma süresi (Clotting time=IC) IC200 değerlerini sırasıyla 0,4 ve 0,3 mg/ml olduğunu belirtmişler. T.violacea'nın kök ekstraktı için IC50 değerini 1,73 mg/ml bulmuşlar ancak T.violacea'nın yaprak ekstraktı için IC50 değerinin elde edilmediğini belirtmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda T.violacea ekstraktının biyolojik aktiviteler sergilediğini, farmasötik uygulamalara ve informal sağlık hizmetlerine katkı sağlayabileceğini belirtmişlerdir (82).

T.violacea ekstraktının diğer organlar (Böbrek, karaciğer) ve dokular (Aort dokusu) üzerinde de koruyucu etkisini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (13,83,84). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde akciğer, karaciğer ve böbrek dokularının histopatolojik değerlendirmesinde T.violacea ekstraktının olumlu etkileri görülmüştür. Yapılan tüm bu çalışma sonuçları çalışmamızı desteklemektedir.

Olorunnisola ve ark (13) yaptıkları çalışmada aterosklerojenik diyetle (%4 kolesterol, %1 kolik asit ve %0,5 thiouracil) beslenen ratların serum lipid profilindeki düzensizliklerine, doku antioksidan enzim tükenmesine, endotel disfonksiyonuna, aort ve karaciğerlerindeki histopatolojik değişikliklerine karşı T.violacea ekstraktının koruyucu etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında iki hafta boyunca T.violacea ekstraktı (250 ve 500 mg/kg vücut ağırlığı) ile tedavi edilenler ile aterojenik kontrol

grubundakiler karşılaştırıldığında, doza bağımlı bir şekilde yükselmiş serum trigliserit, toplam kolesterol, LDL (Low Density Lipoprotein=Düşük yoğunluklu lipoprotein)-kolesterol, VLDL (Very Low Density Lipoprotein=Çok düşük yoğunluklu lipoprotein)-kolesterol ve düşük HDL (High Density Lipoprotein=Yüksek yoğunluklu lipoprotein) kolesterol düzeylerinin önemli ölçüde korunduğunu belirtmişlerdir. T.violacea ekstraktının ayrıca yüksek tiobabutrik reaksiyona giren maddeyi azalttığı, endotelyal disfonksiyon parametrelerini (fibrinojen ve toplam nitrik oksit seviyeleri) ve doku antioksidan enzim aktivitelerini normale yakın bir seviyeye çevirdiğini belirtmişlerdir. Aterojenik kontrol grubuna kıyasla T.violacea ekstraktı ile tedavi edilen gruplarda; karaciğer (Laktat dehidrogenaz (LDH), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), bilirubin) ve böbrek (Kreatinin ve bilirubin) hasarının serum belirteçlerinin aktivitelerinde önemli düzeyde azalma olduğunu, bu sonucun da T.violacea ekstraktının koruyucu özelliğini doğruladığını belirtmişlerdir. Ayrıca, aort kesitlerinin histopatolojik değerlendirmelerinde, T.violacea ekstraktının yağlı çizgi plaklarının (aort) gelişimine ve hepatositlerdeki yağ değişikliklerine karşı koruduğunu da belirtmişlerdir. T.violacea ekstraktının gözlenen aktiviteleri ile standart ilaç olan atorvastatin ile olumlu bir şekilde karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak T.violacea ekstraktının aterosklerozun erken başlangıcına karşı koruma sağlayabileceğini belirtmişlerdir (13).

Moodley ve ark. (83) yaptıkları çalışmada T.violacea ekstraktının antioksidan, antidiyabetik ve hipolipidemik etkilerini diyabetik rat modelinde ortaya koymayı amaçlamışlardır. Çalışmalarında kullandıkları erkek ratlarda diyabeti tek bir intraperitoneal streptozotosin (40 mg/kg) enjeksiyonu ile oluşturmuşlardır. Beş gruba ayırdıkları ratları (Diyabetik kontrol, diyabetik olmayan kontrol, T.violacea ekstraktı-60mg (60mg/kg), T.violacea ekstraktı-120mg (120mg/kg) ve glibenklamid (10mg/kg) ile tedavi edilen diyabetik gruplar) 7 hafta sonra, aşırı dozda halotan ile sakrifiye etmişlerdir. Plazma insülini, karaciğer glikojen içeriği, lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim düzeyleri, plazma nitrik oksit düzeyleri ve serum lipid ve karaciğer enzim düzeylerinin belirlenmesi için testler yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda T.violacea ekstraktının vücut ağırlıklarını iyileştirdiği, açlık kan şekeri düzeylerini önemli ölçüde azalttığı, glikoz toleransını iyileştirdiği ve plazma insülin ve karaciğer glikojen içeriğini önemli ölçüde artırdığını belirtmişlerdir. T.violacea ekstraktının

karaciğer tiyobarbitürik asit reaktif madde düzeylerini, karaciğer süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz düzeylerini ve plazma nitrik oksit düzeylerini de yükselttiğini belirtmişler. Ayrıca, T.violacea ekstraktının serum trigliseritlerini, VLDL'yi, toplam kolesterol düzeylerini azalttığını; serum karaciğer enzimleri, ALT ve AST düzeylerini de düşürdüğünü ve HDL kolesterol düzeylerini artırdığınıda belirtmişlerdir. Sonuç olarak streptozotosin ile indüklenen diyabetik ratlarda T.violacea ekstraktının hipoglisemik, antioksidan, hepatoprotektif ve hipolipidemik etkileri gösterdiğini belirtmişlerdir (83).

Moodley ve ark. (84) yaptıkları çalışmada T.violacea ekstraktının Dahl tuzuna duyarlı ratlarda böbrek fonksiyonu ve morfolojisi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında bu bitki ekstraktının anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitör aktivitesine atfedilen antihipertansif özelliklere sahip olduğunu, bu nedenle, hipertansiyon ile ilişkili böbrek patolojisini iyileştirmede faydalı olabileceğini düşünmüşlerdir. Çalışmalarında ratlara T.violacea ekstraktını 50mg/kg olarak vermişler. Ratları 49. günde sakrifiye etmişler. Çalışmalarının sonucunda T.violacea ekstraktının, ortalama arter basıncını ve diyastolik kan basıncını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir. T.violacea ekstraktının, idrarda kan üre nitrojenini, serum kreatinini ve toplam proteinini azalttığını ayrıca serum total proteininde de artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. T.violacea ekstraktının, tiobarbitürik asit reaktif maddelerini azalttığını ve glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz aktivitesini ve nitrik oksiti önemli ölçüde artırdığını belirtmişlerdir. T.violacea ekstraktı ve kaptopril 25mg/kg ile tedavi edilen ratlarda NF-kβ ve TGF-β) gen ekspresyonlarının önemli ölçüde azaldığını ayrıca, T.violacea ekstraktı ve kaptopril ile tedavi edilen ratlarda böbrek morfolojisinin de önemli ölçüde iyileştiğini belirtmişlerdir (84).

Yapılan in vitro çalışmalarda T.violacea ekstraktının antikanser etkileri olduğu da belirtilmiştir (71-73). Motadi ve ark. (72) yaptıkları in vitro çalışmada T.violacea ekstraktının çeşitli kanser hücre hatlarında apoptozun indüksiyonunu destekleyen morfolojik değişiklikleri araştırmışlardır. T.violacea ekstraktının heksan ekstraktlarının apoptozun indüksiyonunda aktif olarak yer aldığını belirtmişlerdir. T.violacea ekstraktı, test edilen tüm kanserlerde, özellikle rahim ağzı kanserlerinde apoptozla ilişkili gen ekspresyonunu arttırdığını belirtmişler. Ayrıca T.violacea ekstraktının antikanser özellikleri, kanser hücre hatlarında p53'e bağlı mekanizmaların ekspresyonunu

düzenlediğini belirtmişlerdir (72). Lyantagaye ve ark.'nın (73) yaptığı in vitro çalışmada ise T.violacea ekstraktından elde ettikleri metil-α-D-glukopiranosid'inin, kanser hücrelerinde in vitro olarak apoptozu indüklediğini belirtmişlerdir. Çalışmaları ile ilk kez T.violacea'nın Çin hamster yumurtalık hücrelerinde, östrojene bağımlı insan meme tümörü 'adenokarsinom' (MCF7) hücrelerinde ve insan serviks epiteloid karsinom (HeLa) hücrelerinde seçici olarak apoptozu indükleyen metil-α-D-glukopiranosid içerdiğini belirtmişlerdir (73).

Bu çalışmalar ile uyumlu olarak yaptığımız bu çalışmada TCA uygulanan hasar grubunun (Grup 2) histopatolojik incelemesinde miyokard dokusunda yer yer nekroz ve ödem alanları görüldü. Ayrıca kas liflerinde fokal nekroz ve fokal ödem alanları görüldü. TCA uygulayarak hasar oluşturduğumuz ancak öncesinde 15 gün boyunca T.violacea ekstraktı ile tedavi edilen grupta (Grup 3) ise kas liflerinin düzenli yapısının korunduğu ve T.violacea ekstraktının hasara karşı kalbi koruduğu görüldü. Benzer şekilde biyokimyasal değerlendirmede oksidatif stres parametreleri TOS, OSİ ve oksidatif DNA hasar belirteci olan 8-OHdG'in hasar grubunda (Grup 2) anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü. Buna paralel şekilde TAS değerinin hasar grubunda düşük olduğu tespit edildi. Hasar grubundaki bu TOS, OSİ ve 8-OHdG düzeylerindeki yükseklik ile TAS düzeyindeki düşüklük TCA uygulamasının kardiyak hasar oluşturduğunu desteklemektedir. T.violacea ekstraktı verilen gruplarda (Grup 3 ve Grup 4) ise TAS düzeyinin yüksek olması ve TOS, OSİ ve 8-OHdG düzeylerinin düşük olması kardiyak hasara karşı T.violacea ekstraktı tedavisinin başarılı olduğunu göstermektedir. Aycıca histopatolojik değerlendirmede, TCA uygulanan hasar grubunun (Grup 2) akciğer, karaciğer ve böbrek dokuları ile Tedavi+Hasar grubunun (Grup 3) akciğer, karaciğer ve böbrek dokuları karşılaştırıldığında T.violacea verilen gruplarda hasar seviyesinin oldukça düşük olduğu görüldü.

Bu deneysel hayvan çalışmasında TCA'nın 20 dakikada Grade I veya hafif düzeyde kardiyak hasar ve diğer organlar (Akciğer, karaciğer ve böbrek) üzerinde hasar oluşturduğu görüldü. Bu sürenin uzamasına bağlı olarak TCA'nın hasar düzeyinin arttıracağını düşünmekteyiz. Bu sonuçlar doğrultusunda miyokardiyal koruma ve diğer organların korunması için çeşitli teknik ve uygulamaların yapılması kaçınılmaz görülmektedir. Bu koruma seçenekleri içerisinde antioksidanların kullanımı önemli bir yer tutmaktadır. T.violacea ekstraktının kardiyak hasarı ve diğer organ hasarlarını

önlemede önemli bir rol alacağını, ayrıca klinikteki uygulamalarda TCA süresinin uzamasından kaçınılacak tekniklerin kullanılmasının miyokardiyal hasarı azaltacağını öngörmekteyiz. Çalışmada eşit sayıda erkek ve dişi rat randomize olarak kullanıldı. Tüm gruplardaki erkek ve dişi ratların biyokimyasal verileri grup içi erkek ve dişi olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Bu doğrultuda cinsiyete bağlı oluşabilecek faktörlerin konu kapsamında etkilerinin olmadığı gösterildi. Dolayısıyla ortaya çıkan sonuçların daha kapsayıcı olduğu düşünüldü.

Çalışmanın üstünlükleri arasında; aortik kross klemp, TCA uygulamasının ve T.violacea ekstraktının etkilerinin ortaya konması bulunmaktadır. Bu sonuçlar ile TCA yöntemiyle kardiyak hasar oluştuğu, oluşan bu hasara karşı miyokardiyal koruma amaçlı T.violacea ekstraktının etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca, TCA'ya bağlı gelişen akciğer, karaciğer ve böbrek dokularındaki hasara karşı da T.violacea ekstraktının koruyucu etkilerinin olduğu saptanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kardiyak cerrahide KPB eşliğinde yapılan vakalarda aortik kros klemp ve TCA yöntemlerinin uygulanması kalp dokusunda iskemiye bağlı kardiyak hasar belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Kardiyak cerrahinin başlangıcından bugüne bu istenmeyen etkilerin ortadan kaldırılması, hep çalışma konusu olmuştur. Non-fizyolojik durumlar, iskemi ve reperfüzyon hasarı kardiyak hasar nedenleri arasında yer almaktadır. Ayrıca miyokardiyal koruma amaçlı birçok yöntem ve kardiyopleji solüsyonu kullanılmaktadır. Miyokardiyal korumada son zamanlarda antioksidanların da önemi artmıştır. Yaptığımız bu hayvan deneyi çalışmasında önemli iki sonuç ön plana çıkmaktadır. Bunlardan birincisi TCA süresinin uzamasının kardiyak hasara ve diğer organlar üzerinde olumsuz etkilere neden olduğudur. İkinci önemli sonuç ise T.violacea ekstraktının TCA'ya bağlı oluşan oksidatif stres ve oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu rolünün olduğudur. Miyokardiyal korumanın temelini kardiyopleji solüsyonları oluştursa da bütüncül bir yaklaşım sergilemenin gerektiği aşikardır. Bu amaçla preoperatif, intraoperatif ve postoperatif tüm değişkenlerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu sonuçlar ışığında T.violacea ekstraktının kardiyak hasara ve diğer organ hasarlarına karşı koruyucu etkisi olduğunu ve potansiyel terapötik bir ajan olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca bu verilerin ileri deneysel ve klinik çalışmalara temel oluşturacağını düşünmekteyiz. Ayrıca literatürde bu konu ile ilgili bilimsel verilerin devam etmesi bu alanda çalışmaların devam edeceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Roth GA, Huffman MD, Moran AE, et al. Global and regional patterns in cardiovascular mortality from 1990 to 2013. Circulation. 2015;132(17):1667-1678. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.114.008720

2. Roth GA, Nguyen G, Forouzanfar MH, Mokdad AH, Naghavi M, Murray CJ. Estimates of global and regional premature cardiovascular mortality in 2025. Circulation. 2015;132(13):1270-1282. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016021

3. Halıcı Z, Bayır Y, Süleyman H, Çadırcı E, Keleş MS, Bayram E. Amiodaron'un Sıçanlarda İsoproterenol ile Oluşturulan Akut ve Kronik Miyokard İnfarktüsü Modelinde Eritropoetin Seviyeleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Avrasya J Med. 2006;38(3):68-72.

4. Büket S, Özbaran M, Alayunt A, Hamulu A, Kayaaltı B, Yekginer A, et al. Deep Hypothermic Total Circulatory Arrest Application During Aortic Surgery. Turk Gogus Kalp Dama. 1994;2:91-94

5. Sarkar M, Prabhu V. Basics of cardiopulmonary bypass. Indian J Anaesth. 2017;61(9):760-767. doi:10.4103/ija.IJA_379_17

6. van Waes JA, van Klei WA, Wijeysundera DN, van Wolfswinkel L, Lindsay TF, Beattie WS. Association between intraoperative hypotension and myocardial injury after vascular surgery. Anesthesiology. 2016;124(1):35–44. doi:10.1097/ALN.0000000000000922

7. Özocak O, Bozoğlan O, Serhatlıoğlu F, Meşe B, Erdem K, Kahraman C. Koroner arter bypass cerrahisi uygulanan hastalarda n-asetil sisteinin miyokardiyal reperfüzyon hasarını önlemedeki rolü. Abant Tıp Derg. 2014;3(2):138-144. doi:10.5505/abantmedj.2014.80774

8. Vinten-Johansen J. Whole Blood Cardioplegia: Do We Still Need to Dilute?. J Extra Corpor Technol. 2016;48(2):P9-P14.

9. Atay Y, Okur FF, Ayık MF. Kalp Cerrahisinde Miyokard Koruması. İçinde: Kalp ve Damar Cerrahisi. Paç M, Akçevin A, Aka SA, Büket S, Sarıoğlu T (Ed.). 2. Baskı, Medikal Network Nobel Kitabevi, Ankara, Türkiye; 2013. S:1-23.

10. Mickle DA, Li RK, Weisel RD, Birnbaum PL, Wu TW, Jackowski G, et al. Myocardial salvage with trolox and ascorbic acid for an acute evolving infarction. Ann Thorac Surg. 1989;47(4):553-557. doi:10.1016/0003-4975(89)90431-1

11. Mickle DA, Li RK, Weisel RD, Tumiati LC, Wu TW. Water-soluble antioxidant specificity against free radical injury using cultured human ventricular myocytes and fibroblasts and saphenous vein endothelial cells. J Mol Cell Cardiol. 1990;22(11):1297-1304. doi:10.1016/0022-2828(90)90065-a

12. Murugesan S, Pandiyan A, Saravanakumar L, Moodley K, Mackraj I. Protective role of wild garlic on isoproterenol-induced myocardial necrosis in wistar rats. J Ethnopharmacol. 2019;237:108-115. doi:10.1016/j.jep.2019.03.049

13. Olorunnisola OS, Bradley G, Afolayan AJ. Protective effect of Tulbaghia violacea Harv. on aortic pathology, tissue antioxidant enzymes and liver damage in diet-induced atherosclerotic rats. Int. J. Mol. Sci. 2012;13(10):12747-12760. doi:10.3390/ijms131012747

14. Olorunnisola OS, Bradley G, Afolayan AJ. Antioxidant properties and cytotoxicity evaluation of methanolic extract of dried and fresh rhizomes of Tulbaghia violacea. Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2011;5(22):2490-2497. doi: 10.5897/AJPP11.620

15. Samkeliso T, Michael P, Fanyana M. Analysis of the phytochemical contents and antioxidant activities of crude extracts from Tulbaghia species. J Tradit Chin Med. 2018;38(2):272-279.
16. Passaroni AC, Silva MA, Yoshida WB. Cardiopulmonary bypass: development of John Gibbon's heart-lung machine. Rev Bras Cir Cardiovasc. 2015;30(2):235-245. doi:10.5935/1678-9741.20150021
17. Örer A, Oto Ö. Dünden bugüne kalp cerrahisi. Göğüs ve Kalp Damar Cerrahisi Dergisi. 1999;7:1-6.
18. Buket S, Engin Ç, Uç H, Ayık F. Kardiyopulmoner Hastalık. İçinde: Kalp ve Damar Cerrahisi. Paç M, Akçevin A, Aka S.A, Büket S, Sarıoğlu T (Ed.). 2. Baskı, Medikal Network Nobel Kitabevi, Ankara, Türkiye; 2013. S:1-42.
19. Mulpur AK, Munsch CM. A brief history of bypass. İn: Techniques in extracorporeal circulation. Kay PH, Munsch CM (Ed.). 4th Edition, Oxford University Press, London, UK; 2004. P:1-6.
20. Barrowcliffe TW. History of heparin. Handb Exp Pharmacol. 2012;(207):3-22. doi:10.1007/978-3-642-23056-1_1
21. Arghami A, Dearani JA, Schaff HV, Puga FJ, Daly RC. Origins of Cardiovascular Surgery at the Mayo Clinic. Semin Thorac Cardiovasc Surg. 2016;28(3):666-673. doi:10.1053/j.semtcvs.2016.10.012
22. Matte GS, del Nido PJ. History and use of del Nido cardioplegia solution at Boston Children's Hospital. J Extra Corpor Technol. 2012;44(3) 98-103.
23. Sanetra K, Pawlak I, Cisowski M. Del Nido cardioplegia - what is the current evidence?. Kardiochir Torakochirurgia Pol. 2018;15(2):114-118. doi:10.5114/kitp.2018.76477
24. Bilfinger TV, Moeller JT, Kurusz M, Grimson RC, Anagnostopoulos CE. Pediatric myocardial protection in the United States: a survey of current clinical practice. Thorac Cardiovasc Surg. 1992;40(4):214-218. doi:10.1055/s-2007-1020153
25. İlhan AO. Ratlarda isoproterenol ile oluşturulan kalp krizi modelinde kronik alkol kullanımının miyokardiyal apoptoz üzerine etkisi ve kalpain inhibitörü 1'in (N-Asetil-Lösin-Lösin-Norlösinal) kardiyoprotektif rolünün araştırılması. (Yayınlanmamış doktora tezi). Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye; 2016.
26. Umaroğlu S. Deneysel aortik iskemi reperfüzyon modelinde gelişen kardiyak hasar üzerinde L-karnitin'in etkisi. (Yayınlanmamış uzmanlık tezi). İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye; 2011.
27. Netter FH. The netter collection of medical illustrations Cilt 5 Kalp. (Erol Ç, Çeviri Ed.). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, TR; 2007. (Orijinal çalışma basım tarihi 1969).
28. Kervancıoğlu E. Dolaşım Sistemi. İçinde: Junqueira Temel Histoloji Atlas Kitap. Mescher AL (Ed.) (Solakoğlu S, Çeviri Ed.). Tıpkı Basım, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye; 2016. S:212-215.
29. Solak H, Görmüş N. Kalbin Cerrahi Anatomisi. İçinde: Kalp ve Damar Cerrahisi. Paç M, Akçevin A, Aka S.A, Büket S, Sarıoğlu T (Ed.). 2. Baskı, Medikal Network Nobel Kitabevi, Ankara, Türkiye; 2013. S:1-22.
30. Forbes MS, Sperelakis N. Ultrastructure of mammalian cardiac muscle. In: Physiology and Pathophysiology of the Heart. Springer, Boston, MA; 1989. p. 3-41. doi:10.1007/978-1-4757-1171-4_1
31. Bilir A, Ergüven M. Kalp Dokusu. İçinde: Junqueira Temel Histoloji Atlas Kitap. Mescher AL (Ed.) (Solakoğlu S, Çeviri Ed.). Tıpkı Basım, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye; 2016. S:205-206.

32. Langer GA. The role of calcium in the control of myocardial contractility: an update. J Mol Cell Cardiol. 1980;12(3):231-239. doi:10.1016/0022-2828(80)90037-1
33. Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. 13. Baskı. (Yeğen BÇ. Çeviri Ed.). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, TR; 2017. S:104.
34. Krukenkamp IB, Silverman NA, Sorlie D, Pridjian A, Feinberg H, Levitsky S. Characterization of postischemic myocardial oxygen utilization. Circulation. 1986;74(5 Pt 2):III125-III129.
35. Buckberg GD, Brazier JR, Nelson RL, Goldstein SM, McConnell DH, Cooper N. Studies of the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. I. The adequately perfused beating, fibrillating, and arrested heart. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 1977 Jan;73(1):87-94.
36. Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. 13. Baskı. (Yeğen BÇ. Çeviri Ed.). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, TR; 2017. S:109-122.
37. Hessel EA II, Edmunds LH Jr. Extracorporeal Circulation: Perfusion Systems. In: Cohn LH, Edmunds LH Jr (Ed.). Cardiac Surgery in the Adult. McGraw-Hill, New York, USA; 2003:317338.
38. Svensson LG, Crawford ES, Hess KR, et al. Deep hypothermia with circulatory arrest. Determinants of stroke and early mortality in 656 patients. J Thorac Cardiovasc Surg. 1993;106(1):19-31.
39. McCullough JN, Zhang N, Reich DL, et al. Cerebral metabolic suppression during hypothermic circulatory arrest in humans. Ann Thorac Surg. 1999;67(6):1895-1921. doi:10.1016/s0003-4975(99)00441-5
40. Miller RD (Editor), Eriksson LI, Fleisher LA, Wiener-Kronish JP, Young WL (Associate Editors). Miller's Anesthesia. 7th Edition, Philadelphia, Churchill Livingstone, 2010.
41. Athanasuleas C, Buckberg GD. Myocardial protection and cardioplegia. İn: Cardiopulmonary Bypass: Ghosh S, Falter F, Cook DJ (Ed). Cambridge University Press, Cambridge, UK; 2009. P:80-91.
42. Yamamoto H, Yamamoto F. Myocardial protection in cardiac surgery: a historical review from the beginning to the current topics. Gen Thorac Cardiovasc Surg 2013;61:485–96.
43. Durandy YD. Is there a rationale for short cardioplegia re-dosing intervals?. World J Cardiol. 2015; 7(10):658-664. doi:10.4330/wjc.v7.i10.658
44. Comentale G, Giordano R, Palma G. Comparison of the different cardioplegic strategies in cardiac valves surgery: who wins the "arm-wrestling"? J Thorac Dis. 2018;10(2):714-717. doi:10.21037/jtd.2018.01.133
45. Kim K, Ball C, Grady P, Mick S. Use of del Nido Cardioplegia for Adult Cardiac Surgery at the Cleveland Clinic: Perfusion Implications. J Extra Corpor Technol. 2014;46(4):317-323.
46. Talwar S, Bhoje A, Sreenivas V, Makhija N, Aarav S, Choudhary SK, Airan B. Comparison of del Nido and St Thomas Cardioplegia Solutions in Pediatric Patients: A Prospective Randomized Clinical Trial. Semin Thorac Cardiovasc Surg. 2017;29(3):366-374. doi:10.1053/j.semtcvs.2017.08.017
47. Ramani J, Malhotra A, Wadhwa V, Garg P, Tarsaria M, Pandya H. Single-Dose Lignocaine-Based Blood Cardioplegia in Single Valve Replacement Patients. Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery. 2017 Mar-Apr;32(2):90-95. DOI: 10.21470/1678-9741-2016-0025.

48. Yau TM, Weisel RD, Mickle DA, et al. Vitamin E for coronary bypass operations. A prospective, double-blind, randomized trial. J Thorac Cardiovasc Surg. 1994;108(2):302-310.
49. Aydemir B, Sarı E. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile ilişkisi. Kocatepe Veterinary Journal. 2009;2(2):56-60.
50. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi. YYU Vet Fak Derg. 2009;20(2):79-83.
51. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. Am J Med. 1991;91(3C):14S-22S. doi:10.1016/0002-9343(91)90279-7
52. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool?. Redox Rep. 2004;9(3):145-152. doi:10.1179/135100004225004814
53. Liberman M, Bassi E, Martinatti MK, et al. Oxidant generation predominates around calcifying foci and enhances progression of aortic valve calcification. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008;28(3):463-470. doi:10.1161/ATVBAHA.107.156745
54. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clin Biochem. 2004;37(2):112-119. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.10.014
55. Süner A , Polat M , Sezen H , Şavik E , Kaya H , Köroğlu S . Uzun süreli sigara kullanımının oksidatif stres üzerine etkisi. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2014;11(2):138-145.
56. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem. 2005;38(12):1103-1111. doi:10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008
57. Harma M, Harma M, Erel O. Measurement of the total antioxidant response in preeclampsia with a novel automated method. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005;118(1):47-51. doi:10.1016/j.ejogrb.2004.04.012
58. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2' -deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2009;27(2):120-139. doi:10.1080/10590500902885684
59. Di Minno A, Turnu L, Porro B, et al. 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine Levels and Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of the Literature. Antioxid Redox Signal. 2016;24(10):548-555. doi:10.1089/ars.2015.6508
60. Kubec R, Velíšek J, Musah RA. The amino acid precursors and odor formation in society garlic (Tulbaghia violacea Harv.). Phytochemistry. 2002;60(1):21-25. doi:10.1016/S0031-9422(02)00065-1
61. Lyantagaye SL. Ethnopharmacological and phytochemical review of Allium species (sweet garlic) and Tulbaghia species (wild garlic) from Southern Africa. Tanz. J. Sci. 2011;37(1).
62. Madike LN, Takaidza S, Pillay M. Preliminary phytochemical screening of crude extracts from the leaves, stems, and roots of Tulbaghia violacea. Int J Pharmacogn Phytochem Res. 2017;9(10):1300-1308. doi: 10.25258/phyto.v9i10.10453
63. Moodley K, Mackraj I, Naidoo Y. Cardiovascular effects of Tulbaghia violacea Harv. (Alliaceae) root methanolic extract in Dahl salt-sensitive (DSS) rats. J Ethnopharmacol. 2013;146(1):225-231. doi:10.1016/j.jep.2012.12.036

64. Mackraj I, Ramesar S, Singh M, et al. The in vivo effects of Tulbhagia violacea on blood pressure in a salt-sensitive rat model. J Ethnopharmacol. 2008;117(2):263-269. doi:10.1016/j.jep.2008.01.040
65. Raji I, Obikeze K, Mugabo P. Comparison of the acute effects of Tulbaghia violacea William Henry Harvey (Alliaceae) on blood pressure and heart rate of ageing male normotensive Wistar kyoto rats and adult male spontaneously hypertensive rats. Trop J Pharm Res. 2016;15(11):2429-2434. doi: 10.4314 / tjpr.v15i11.18
66. Raji IA, Mugabo P, Obikeze K. Effect of Tulbaghia violacea on the blood pressure and heart rate in male spontaneously hypertensive Wistar rats. J Ethnopharmacol. 2012;140(1):98-106. doi:10.1016/j.jep.2011.12.034
67. Davison C, Levendal RA, Frost CL. Cardiovascular benefits of an organic extract of Tulbaghia violacea: Its anticoagulant and anti-platelet properties. J. Med. Plants Res. 2012;6(33):4815-4824. doi: 10.5897/JMPR12.607
68. Raji I, Mugabo P, Obikeze K. The contributions of muscarinic receptors and changes in plasma aldosterone levels to the anti-hypertensive effect of Tulbaghia violacea. BMC Complement Altern Med. 2013;13(1):13. doi.org/10.1186/1472-6882-13-13
69. Krstin S, Sobeh M, Braun MS, Wink M. Tulbaghia violacea and Allium ursinum extracts exhibit antiparasitic and antimicrobial activities. Molecules. 2018;23(2):313. doi:10.3390/molecules23020313
70. Saibu GM, Katerere DR, Rees DJ, Meyer M. In vitro cytotoxic and pro-apoptotic effects of water extracts of Tulbaghia violacea leaves and bulbs. J Ethnopharmacol. 2015;164:203-209. doi:10.1016/j.jep.2015.01.040
71. Bungu L, Frost CL, Brauns SC, van de Venter M. Tulbaghia violacea inhibits growth and induces apoptosis in cancer cells in vitro. African Journal of Biotechnology. 2006;5(20):1936-1943.
72. Motadi LR, Choene MS, Mthembu NN. Anticancer properties of Tulbaghia violacea regulate the expression of p53-dependent mechanisms in cancer cell lines. Sci Rep. 2020;10(1):12924. doi:10.1038/s41598-020-69722-4
73. Lyantagaye SL. Methyl-α-D-glucopyranoside from Tulbaghia violacea extract induces apoptosis in vitro in cancer cells. Bangladesh Journal of Pharmacology. 2013;8(2):93-101. doi:10.3329/bjp.v8i2.13717
74. Appelman Y, van Rijn BB, Ten Haaf ME, Boersma E, Peters SA. Sex differences in cardiovascular risk factors and disease prevention. Atherosclerosis. 2015;241(1):211-218. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.027
75. Lee RH, Silva AC, Possoit HE, et al. Palmitic acid methyl ester is a novel neuroprotective agent against cardiac arrest. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2019;147:6-14. doi:10.1016/j.plefa.2018.11.011
76. de Garavilla L, Babbs CF, Tacker WA. An experimental circulatory arrest model in the rat to evaluate calcium antagonists in cerebral resuscitation. Am J Emerg Med. 1984;2(4):321-326. doi:10.1016/0735-6757(84)90127-X
77. Boening A, Assling-Simon L, Heep M, Boengler K, Niemann B, Grieshaber P. Buckberg's blood cardioplegia for protection of adult and senile myocardium in a rat in vitro model of acute myocardial infarction. Exp Gerontol. 2018;104:98-104. doi:10.1016/j.exger.2018.02.003
78. Akalın B, Yılmaz Z, Artış T. The Effect of Met-Rantes on Liver Damage in a Controlled Experimental Non-Heart Beating Donor Model. Erciyes Med J. 2012;34(2):69-72. doi:10.5152/etd.2012.17

79. Vognsen M, Fabian-Jessing BK, Secher N, et al. Contemporary animal models of cardiac arrest: a systematic review. Resuscitation. 2017;113:115-123. doi:10.1016/j.resuscitation.2017.01.024
80. Küçük M, Çevik A, Kalaycı R. Deney Hayvanlarında Temel Uygulamalar. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi. 2013;2(4):39-47.
81. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin Biochem. 2004;37(4):277-285. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015
82. Bungu L, van de Venter M, Frost C. Evidence for an in vitro anticoagulant and antithrombotic activity in Tulbaghia violacea. African Journal of Biotechnology. 2008;7(6): 681-688. doi:10.5897/AJB07.785
83. Moodley K, Joseph K, Naidoo Y, Islam S, Mackraj I. Antioxidant, antidiabetic and hypolipidemic effects of Tulbaghia violacea Harv. (wild garlic) rhizome methanolic extract in a diabetic rat model. BMC Complement Altern Med. 2015;15:408. Published 2015 Nov 17. doi:10.1186/s12906-015-0932-9
84. Moodley K, Naidoo Y, Mackraj I. Effects of Tulbaghia violacea Harv. (Alliaceae) rhizome methanolic extract on kidney function and morphology in Dahl salt-sensitive rats. J Ethnopharmacol. 2014;155(2):1194-1203. doi:10.1016/j.jep.2014.07.003