

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**EKSTRAKORPORAL DOLAŞIMIN OKSİDAN VE
ANTİOKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. OSMAN FUAT SÖNMEZ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. ÇİĞDEM ÖZER**

**ANKARA
EKİM 2010**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitiminin başlangıcından bugüne kadar değerli bilgileriyle bana yol gösteren, her konuda gösterdikleri hoşgörü, yardım, destek ve emekleri için, başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Aydan BABÜL olmak üzere Sayın Prof. Dr. Bilge GÖNÜL'e, Sayın Prof. Dr. Lamia PINAR'a, Sayın Prof. Dr. Deniz ERBAŞ'a, Sayın Prof. Dr. Sibel DİNÇER'e, Sayın Prof. Dr. Eser ÖZ OYAR'a, Sayın Prof. Dr. K. Gonca AKBULUT'a ve asistanı olmaktan büyük mutluluk duyduğum, içtenliğiyle beni cesaretlendiren çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Çiğdem ÖZER'e, tez çalışmalarım sırasındaki destekleri için değerli hocam Sayın Prof. Dr. Halim SONCUL ve Kalp Damar Cerrahisindeki hocalarıma ve meslektaşlarıma, asistanlığımın büyük bir bölümünde birlikte çalıştığım, laboratuvar çalışmalarını öğrenmemde büyük katkısı olan, her zaman bana destek olan arkadaşlarım ve meslektaşlarım Dr. Şevin GÜNEY'e, Araş. Gör. Ayhan KORKMAZ'a, Araş. Gör. Duygu TOZCU ALTIN'a ve Uzm. Dr. Tayfun GÖKTAŞ'a, birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, her konuda desteğini ve hoşgörüsünü eksik etmeyen, her zaman yanımda olan değerli eşim Dr. Derya SÖNMEZ'e ve bugünlere gelmemde büyük emekleri olan çok sevgili aileme ve bütün bilim insanlarına içtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ŞEKİL, GRAFİK VE TABLO DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 KARDİYOPULMONER BYPAS VE EKSTRAKORPORAL DOLAŞIM	4
2.1.1 Tanımı	4
2.1.2 Tarihçesi	5
2.1.3 Genel Özellikleri	6
2.2.1 EKSTRAKORPORAL DOLAŞIM ESNASINDA MEYDANA GELEN OLAYLAR	11
2.2.1.1 İnflamatuar Süreç	11
2.2.1.2 Temas Aktivasyonu	13
2.2.1.3 Endotel Aktivasyonu	17
2.2.1.4 İskemi Reperfüzyon Hasarı	19
2.2.1.4.1 İskemi	20
2.2.1.4.1.1 Lipoliz	24
2.2.1.4.1.2 Proteoliz	25

2.2.1.4.1.3 DNA Hasarı	26
2.2.1.4.1.4 Mitokondrial Elektron Transport Zinciri Hasarı	26
2.2.1.4.2 Reperfüzyon	26
3. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDAN SİSTEMLER	32
3.1 Serbest Radikaller	32
3.1.1 Reaktif Oksijen Ürünleri	34
3.1.2 Reaktif Nitrojen Ürünleri	37
3.1.3 Serbest Radikallerin Oluşumunu Arttıran Faktörler	38
3.1.4 Serbest Radikallerin Organizmadaki Etkileri	39
3.1.4.1 Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri	40
3.1.4.1.1 Lipid Peroksidasyonunun Organizmadaki Etkileri	42
3.1.4.2 Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri	42
3.1.4.2.1 İleri Oksidasyon Protein Ürünlerinin Oluşumu	43
3.1.4.1.3 Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri	44
3.1.4.1.4 Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	45
3.2 Antioksidan Sistemler	46
4. EKSTRAKORPORAL DOLAŞIM, OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN SİSTEMLER ARASINDAKİ İLİŞKİ	50
5. GEREÇ VE YÖNTEM	54
5. 1. Kullanılan Gereçler, Maddeler ve Denekler	54
5. 1. 1. Kullanılan Laboratuvar Cihazları ve Kimyasal Maddeler	56
5. 2. Tayin Yöntemleri	57
5. 2. 1. Plazmada Tiyoarbitürik Asid Reaktif Maddeler (TBARS)	

Tayin Yöntemi	57
5. 2. 2. Plazmada Total Sülfidril Grupları (RSH) Tayin Yöntemi	58
5. 2. 3. Plazmada Total Nitrik Oksit (NOx) Tayin Yöntemi	58
5.4. İstatistiksel Değerlendirme	59
6. BULGULAR	60
6. 1. Plazma TBARS Düzeyleri	61
6. 2. Plazma RSH Düzeyleri	62
6. 3. Plazma NOx Düzeyleri	64
7. TARTIŞMA	67
8. SONUÇ	73
9. KAYNAKLAR	74
10. ÖZET	98
11. SUMMARY	99
12.ÖZGEÇMİŞ	101

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Askorbik Asit
AOOP +	Advanced Oxidation Protein Products
BH₄	Tetrahidro Biopterin
DTNB	Di Tiyobis Nitro Benzoik Asit
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz Enzimi
ED	Ekstrakorporal Dolaşım
ETZ	Elektron Taşıma Zinciri
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	Flavin Mononükleotid
GP-x	Glutasyon Peroksidaz
GR-x	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
G6PD	Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz
HMP	Hekzosmonofosfat şantı
H₂O₂	Hidrojen peroksit
IAA	İndol Asetik Asit
ICAM	Intracelluler Adhesion Molecules
IgG	İmmünoglobülin G
IM	İntramusküler
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz Enzimi
KABG	Koroner Arter Bypass Greftleme
KPB	Kardiyopulmonerbypass
L•	Lipid Radikali
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
LOO•	Lipid Peroksit Radikalleri
LOOH	Lipid Hidroperoksitleri
MDA	Malondialdehit
NAA-NAD	Naftalen Asetik Asit + Naftalen Asit Amid
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NFκB	Nükleer Faktör Kappa B
NEDD	1-Naphetyl Ethylenediamide Dihydrochloride
nNOs	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz Enzimi
NO	Nitrik Oksit
N[•]O	Nitroksil Anyonu

NQ	Nitrosonyum Katyonu
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O₂⁻	Süperoksit Radikali
¹O₂	Singlet Oksijen Radikali
³O₂	Triplet Oksijen Molekülü
OF	Organik Fosfor
OH[•]	Hidroksil Radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit Anyonu
RNÜ	Reaktif Nitrojen Ürünleri
ROM	Reaktif Oksijen Metabolitleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiobarbitürik Asit Reaktif Maddeler
TCA	Trikloroasetikasit

ŞEKİL, GRAFİK VE TABLO DİZİNİ

Şekil 1: ED Sistemi Şeması	7
Şekil 2: ED’de Kanülasyon	7
Şekil 3: Kalp Akciğer Makinasının Görünümü	8
Şekil 4: Koagülasyon Fizyolojisi	14
Şekil 5: Lipid Peroksidasyonu	41
Tablo 1: Serbest Radikallerle İle İlişkili Bazı Hastalıklar	33
Tablo 2: Normal Süreçte Oluşan ROT Kaynakları	34
Tablo 3: Antioksidan Sistemlerde Yer Alan Moleküller	46
Tablo 4: Çalışmaya Katılan Hastaların Özellikleri	54
Tablo 5: Deneklerin KPB Evrelerindeki MDA, NO _x ve RSH Değerleri	60
Tablo 6 : Plazma MDA Düzeylerinin Evreler Arası Karşılaştırılması	62
Tablo 7 : Plazma GSH Düzeylerinin Evreler Arası Karşılaştırılması	63
Tablo 8 : Plazma NO _x Düzeylerinin Evreler Arası Karşılaştırılması	66
Grafik 1: Plazma MDA Düzeyleri	61
Grafik 2: Plazma RSH Düzeyleri	63
Grafik 3: NO _x Tayininde Standart Solusyonlara Karşılık Gelen Absorbansların Oluşturduğu Doğrusal Regresyon Grafiği	64
Grafik 4: Plazma NO _x Düzeyleri	65

1.GİRİŞ VE AMAÇ

“Kardiyopulmoner Bypass” (KPB) açık kalp cerrahisinin temel prensiplerindendir. Endovasküler girişimsel teknikleri gelişmesi ve KPB’a girilmeden (off-pomp) koroner arter bypas greftleme (KABG) yapılabilmesine rağmen KPB hala cerrahi gereksinimi olan pekçok kardiyovasküler hastalığın tedavisinde kullanılma zorunluluğu olan bir yöntemdir.

Günümüzde ortalama yaşam süresinin artması, kardiyovasküler olayların, dolayısıyla kardiyak cerrahi girişimlerin de artmasına neden olmuştur. Bu girişimler sırasında da, gerek cerrahi açıdan kolaylık sağlanması gerekse hastanın diğer organlarının da yeterli perfüzyonunun sağlanabilmesi için sıklıkla KPB desteği yapılmaktadır. Fakat operasyon sonrası dönemde, özellikle de açık kalp ameliyatları sonrasında bu yönetime bağlı olarak hemen hemen tüm organlarda gelişen komplikasyonlarla karşı karşıya kalınmaktadır. Günümüzde gelişmiş olan teknolojiye ve uygulamalara rağmen bu komplikasyonlardan tam olarak kurtulmak mümkün olamamıştır.

Kardiyopulmoner Bypass yapılarak gerçekleştirilen kardiyak cerrahi işlemler sırasında hastada sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (systemic inflammatory response syndrome, SIRS)’nın tetiklendiği bildirilmiştir. KPB’ye bağlı inflamasyonun indüklemesi kompleman sistemi, sitokinler, koagülasyon-fibrinoliz kaskadı, endotel ve hücrel immün sistem gibi birçok yolağın devreye girmesiyle gerçekleşmektedir. Literatürde KPB sırasında kan elemanlarının “Ekstrakorporal dolaşım” (ED)’ı sağlayan pompa sisteminin iç yüzeyi ile temas

etmesi, iskemi reperfüzyon (İ/R)'un olması, anestezi, endotoksemi, cerrahi stres ve hipotermi gibi etkenler SIRS tablosunun muhtemel nedenleri olarak bildirilmiştir (1-2).

İnflamasyona bağlı hücre hasarına ait teorilerin temeli çoğunlukla nötrofil ve lökosit aktivasyonuna dayanır. Nötrofil aktivasyonu serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin, intraselüler proteazların ve araşidonik asit metabolitlerinin salınmasına neden olur. Aktive nötrofillerden bol miktarda hidrojen peroksit, hidroksi radikalleri ve süperoksit anyonlar gibi toksik SOR salınır. Bu radikallerin lipid membranda değişiklik yaparak hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Malondialdehid (MDA) gibi lipid peroksidasyon ürünleri doku hasarında etkili olan SOR'nin şiddetini yansıtır. Açığa çıkan bu ürünler inflamatuvar yanıtları tetikleyerek postoperatif dönemde oluşabilecek miyokard disfonksiyonu, solunum yetmezliği, renal ve nörolojik bozukluklar, kanama diyatezi, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve hatta çoklu organ yetmezliği (multiple organ failure, MOF) gibi komplikasyonların nedeni olabilir (2-6).

Hasta morbidite ve mortalitesindeki önemli yeri nedeniyle, KPB'ın böylesi olumsuz etkilerinin önlenmesi için oluşan inflamatuvar cevabı azaltacak çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Glukokortikoidler, proteaz inhibitörleri, heparin, fosfodiesteraz inhibitörleri, antioksidanlar, sodyum nitroprussid, kompleman inhibitörleri ve monoklonal antikorlar gibi farmakolojik ajanlara ek olarak KPB devrelerinin heparinle kaplanması, pompa akım stratejilerinin değiştirilmesi, KPB esnasında ultrafiltrasyon uygulanması, uygulama esnasında

vücut ısının düşürülmesi ve biventriküler bypass uygulanması gibi birçok yöntem klinikte kullanılmıştır. (3, 7-8)

Literatürde yer alan son çalışmalarda ED'ın lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem ile ilişkileri üzerinde önemle durulduğu dikkat çekmektedir. Fakat bu araştırmalarda oksidan stresin operasyonun KPB öncesi ve sonrası ve İ/R öncesi ve sonrasına yoğunlaşmış şekilde incelenmiş olduğu ve bulguların mekanizmayı aydınlatmada tam olarak yeterli olmadığı görülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda, KPB ve buna bağlı düzenlenen ED'ın başlangıcından itibaren her evresinde kan örnekleri alınarak, oksidan antioksidan parametrelerin incelenmesi ve uygulamanın organizmadaki etkileri hakkında daha çok bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 EKSTRAKORPOREAL DOLAŞIM VE KARDİYOPULMONER BYPASS

2.1.1 Tanımı

Kardiyopulmoner Bypass ve ED iç içe geçmiş kavramlardır. “Bypass” iki damar veya kanal şeklindeki oluşum arasında ameliyatla oluşturulan yapay geçit, kestirme yol veya kısa devredir (9). KPB ise kalbin pompalama ve akciğerin solunum fonksiyonlarının geçici olarak durması ve bu organların görevlerini vücut dışındaki bir sistemin yapmasıdır. Dolaşımın vücut dışında olmasına ise ED denir (10).

Kalbin pompalama görevini ve akciğerlerin solunum görevini geçici olarak yapan cihaza kalp akciğer makinesi denir. Kalp ve akciğerlerin devre dışı kaldığı ve dolaşımın kalp akciğer makinesiyle devam ettiği sistemde dolaşım ekstrakorporeal olarak KPB ile sağlanmış olur (11).

Günümüzde modern tanı ve tedavi yöntemleri ile koroner arter hastalığının tanısı ve buna bağlı koroner arter baypas operasyonlarının sıklığı da artmaktadır.

Koroner arter bypas cerrahisinin temel amaçları;

- 1)İskemi ve semptomları azaltmak
- 2)Miyokard infarktüsü olasılığını azaltmak
- 3)Sol ventrikül fonksiyonunu korumak
- 4)Egzersiz toleransını artırmaktır (12)

Kalp akciğer makinasının geliştirilmesi ile açık kalp cerrahisi başlamış ve daha önce tedavi edilemeyen kalp anomalilerinin tedavisi mümkün hale gelmiştir (13).

2.1.2 Tarihçesi

Von Frey ve Gruber 1885’de dönen bir silindirin içine yerleştirilen ince bir film üzerinden kanın akması ile gaz alışverişinin sağlandığı bir kan pompası tarif etmişlerdir. 1895’ de Jacobi vücut dışına çıkarılmış bir hayvan akciğerinden kanı dolaştırarak oksijenlendirmeyi denemiştir. 1915’de bir tıp öğrencisi olan Jay Mclean heparini bulmuş ve 1920’deki hayvan deneylerinin olumlu sonuçları ile beraber literatürdeki yerini almıştır (13-14). Rusya’da 1926 yılında S.S. Brunkhonenko ve S. Terebinsky hayvan akciğeri ve iki pompa yardımı ile bir makine geliştirmişlerdir. Makineyi ilk olarak organ perfüzyonunda daha sonra ise tüm hayvanı perfüze etmek için kullanmışlardır.

John Gibbon kalp akciğer makinasına en fazla katkıyı yapan bilim insanıdır. 1931 yılında çalışmalara başlayan Gibbon 20 yıl boyunca çalışmalarını sürdürmüştür. 1937 yılında Gibbon ilk kez yapay bir kalp akciğer ile yaşamın devam edebileceğini yayınlamıştır. 1935’de Alexis Carrel ve Charles Lindberg 18 gün boyunca bir kedinin troid bezini perfüze etmeyi başarmışlar ve Time dergisine kapak olmuşlardır. 1951 yılında Clarence Dennis 6 yaşındaki Atrial Septal Defektli (ASD) bir hastayı başarı ile kalp akciğer makinasına bağlamış. Ancak dolaşım başarı ile sağlanmasına karşın hasta kaybedilmiştir. Aynı yıl

Mario Digliotti kalp akciğer makinasını büyük bir mediasten tümörünü çıkarmak için başarı ile kullanmıştır. 1952’de Forrest Dodrill mekanik pompa ile ilk başarılı sol ve sağ kalp bypassını gerçekleştirmiştir. Bu sırada çalışmalarına IBM firması ile devam eden John Gibbon 1953 yılında Gibbon-IBM kalp akciğer makinasını kullanarak 18 yaşında ASD li bir kızın defektini başarı ile kapatmıştır. 1955 yılında Mayo klinikte J.W. Kirklin Gibbon IBM makinasını geliştirip Mayo-Gibbon ismini vererek başarılı sonuçlar elde etmiştir. 1956 tarihinden itibaren birçok yerde açık kalp cerrahisi programları başlatılmıştır (13,15-16)

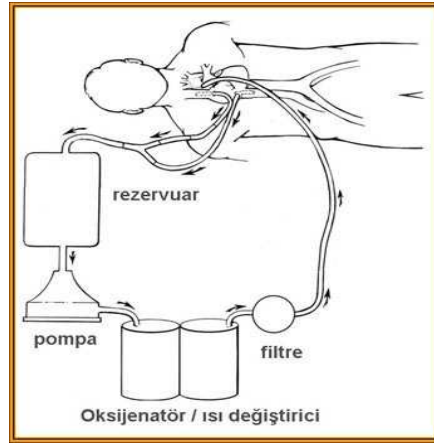
Ülkemizde ilk açık kalp ameliyatı 1960 yılında Mehmet Tekdoğan önderliğinde yapılmıştır. M.Tekdoğan ve Aydın Aytaç 1962’ de Türkiyede ilk seri halinde kalp akciğer makinasını kullanarak, açık kalp ameliyatlarını sürdürmüşlerdir. 1963 Siyami Ersek, Kemal Beyazıt ve arkadaşları Türkiye’de ilk kapak ameliyatını gerçekleştirmişlerdir. 1980-1990 yılları arasında ise kalp akciğer makineleri ülkemizde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (17-18).

John Gibbon’un 1953 yılında kalp-akciğer makinasını başarılı bir şekilde kullanmasından bu yana; zamanla geliştirilen pompalarda, kalp cerrahisi tekniklerinde ve anestezi uygulamalarında önemli ilerlemeler sağlanmıştır, özellikle kalp cerrahisinde pompa kullanımı günlük bir uygulama halini almıştır (19-20).

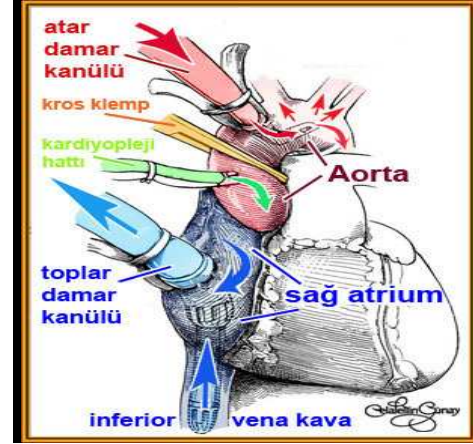
2.1.3 Genel Özellikleri

Kardiyopulmoner bypas işleminde vena kava superior, vena kava inferior veya sağ atriya tek kanül yerleştirilir ve kan yerçekimi etkisiyle venöz rezervuara alınır. Alınan kan pompa yardımı ile membran oksijenatörüne

gönderilir, oksijenlenen kan burada soğutulur veya ısıtılarak bir filtreden geçirilir ve genelde asenden aortaya yerleştirilen bir arteriyel kanül vasıtasıyla hastaya geri verilir (21).



Şekil 1: ED Sistemi Şeması (22)



Şekil 2: ED'de Kanülasyon (22)

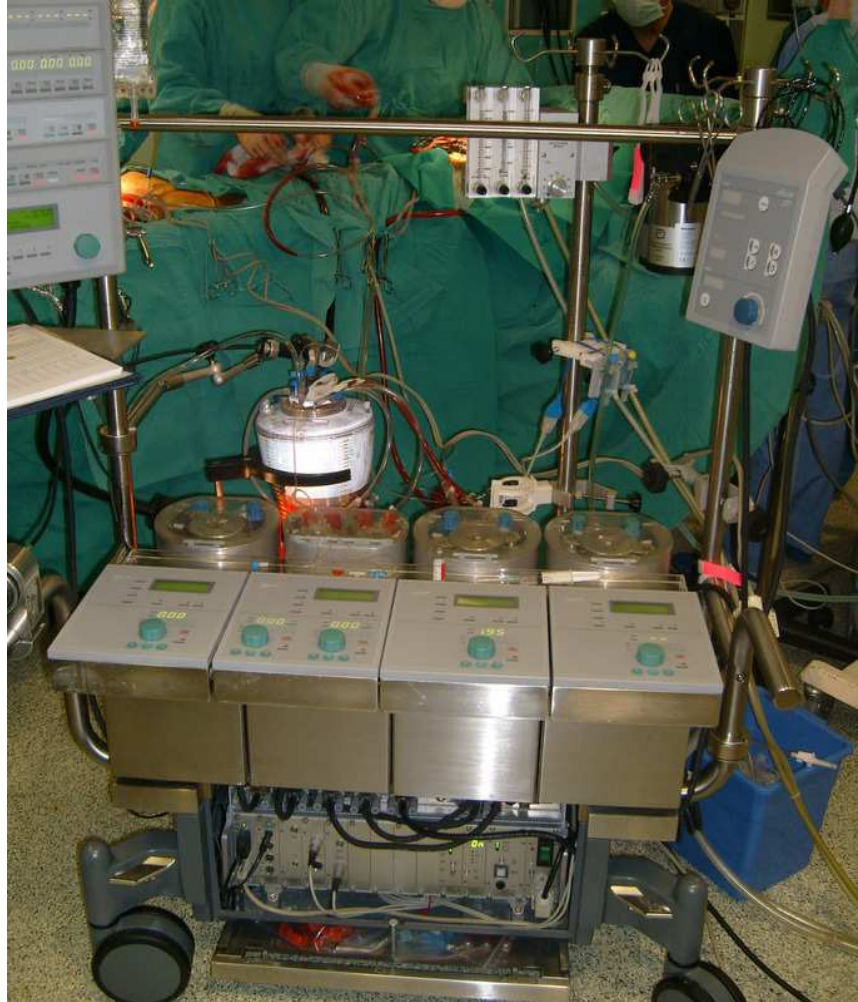
Temel olarak KPB 'dan beklenen, sistemik dolaşım ve solunum işlevinin yerine getirilmesidir.

Ekstrakorporeal dolaşımın sağlanması için öncelikle hastanın büyük arter ve venleri cerrahi olarak kanüle edilir, pompa ile hasta arasında hatlar aracılığıyla kapalı bir dolaşım sistemi oluşturulur. Çoğunlukla yerçekimine bağlı serbest akımla hastadan pompa rezervuarına gelen venöz kan, oksijenatörler kullanılarak gaz değişimi sağlandıktan sonra pompanın hatlara uyguladığı peristaltik sıkıştırma hareketi ile genellikle asenden aortaya yerleştirilen arteriyel kanülden hastaya gönderilerek dolaşım sağlanır (19-20).

Kalp-akciğer makinasının temel komponentleri:

- 1) Bir veya birden fazla venöz kanül

- 2) Venöz rezervuar
- 3) Oksijenatör (yapay akciğerler)
- 4) Isı değiştirici
- 5) Pompa (yapay kalp),
- 6) Arteriyel hat filtresi
- 7) Arteriyel kanül



şekil 3: Kalp Akciğer Makinasının Görünümü

Makine ve makinede kullanılan malzemeler sentetik, polikarbonat, polivinilklorid, teflon, polietilen, paslanmaz çelik, silikon ve poliüretan gibi nontoksik materyallerden yapılır (23).

En sık yapılan arteriyel kanülasyon yöntemi, kolay, güvenli, komplikasyon oranının az olması ve ek kesi gerektirmemesi nedeniyle asenden aorta kanülasyonudur (24-25). KPB'nin venöz bağlantısı ise genellikle sağ atriuma yerleştirilen kanül vasıtası ile sağlanır (26).

Oksijenatörlerdeki temel prensip kanı mümkün olabildiğince geniş bir yüzeye yayarak oksijen ile temasını sağlayarak, aynı akciğerler gibi kanın oksijenlenmesini ve karbondioksit eliminasyonunu sağlamaktır (23).

Isı değiştiriciler KPB esnasında vücut ısısının kontrolü için önemlidir. Vücut ısısı metabolizmayı kontrol eder ve KPB sırasında bazı nedenlerden dolayı manipüle edilir (23).

Kan filtreleri ED sistemindeki partikülleri ve gaz embolilerini yakalamak için kullanılırlar (23).

Ekstrakorporal dolaşıma başlamadan önce, tüm sistemin hasta ile devamlılığını sağlayacak ve sistem içinde emboli yaratabilecek hava kalmasına engel olunacak şekilde priming solüsyonla (başlangıç solüsyonu) doldurulur. Priming içeriğinde izotonik solüsyon (Ringer Laktat) 1300 – 1500 mL, NaHCO₃ % 8.4 60 mL (25-45 mEq) Heparin 1500 Ü, Mannitol % 20 0.5 mg / kg, CaCl₂ % 10 5 mL bulunur.

Ameliyat sırasında kalbin görevini üstlenen pompalarda amaç vena kavalardan yerçekimi ile bir rezervuarda toplanan kanın belirli bir basınçta ve

akım hızında oksijenatöre, oradan da arteriyel sisteme pompalanmasıdır. Ayrıca ameliyat bölgesindeki kanların aspire edilerek tekrar dolaşıma döndürülmesi, ameliyat sırasında sol ventrikülün dekomprese edilebilmesi ve gerektiğinde koroner arterlerin perfüze edilebilmesi için başka pompalara da ihtiyaç vardır (27-29).

Kardiyopulmoner bypass sırasında optimal akım miktarı halen tartışmalıdır. Herhangi bir ısı derecesinde akım hızının yeterliliğini gösteren en önemli kriter, hastanın organ ya da sistemlerinin yapısal ve fonksiyonel bir kayıp olmadan devam etmesidir.

Ekstrakorporal dolaşım kalp cerrahisinin gelişmesine katkı sağlamakla beraber vücuttaki pekçok sistemi olumsuz etkilemekte bu da, kullanımını ve geçerliliğini kısıtlamaktadır. Çoğunlukla post-perfüzyon sendromu ya da tüm vücut inflamatuvar cevabı olarak tanımlanan ED'nin hasar verici etkisi uzun süreli yoğun bakım desteği gerektirebilir, hastanedeki kalış süresini uzatabilir, daha nadir olarak da çoklu organ yetmezliği ve ölüme bile neden olabilir (30). Bu cevap sürecinin anlaşılması halen süregelen kalp cerrahisi araştırmalarının en önemli noktasıdır (31).

Ekstrakorporal dolaşım sırasında periferik organlarda, peroperatif hipotansiyon, I/R hasarı, inflamatuvar cevap gibi nedenlerle böbrek yetmezliği, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve serebral patolojiler oluşabilir (32). Bu nedenler, bir çok ortak noktada birbirinin hasarlayıcı etkisini artırmakta, karmaşık bir metabolik zincir üzerinden doku hasarı oluşturmaktadır (33).

2.2.1 EKSTRAKORPORAL DOLAŞIM ESNASINDA MEYDANA GELEN OLAYLAR

Ekstrakorporal dolaşım ile kanın vücut dışına alınması ve tekrar hastaya verilmesi fizyolojik olmayan bir sistemdir. Bu sistemde kan ve kan ürünlerinin yabancı bir yüzeyle teması, inflamatuvar bir süreci başlatır. Temas aktivasyonu, endotel aktivasyonu, I/R hasarı ve sisteme giren hava ve partiküller gibi istenmeyen etkiler meydana gelir. Bu nedenlerinin meydana getirdiği etkileri ortadan kaldırmak için günümüzde birçok çalışma yapılmaktadır (34).

2.2.1.1 İnflamatuvar Süreç

İnflamasyon, enfeksiyona veya harabiyet yapıcı etkene karşı dokunun kendini savunmak amacı ile gösterdiği reaksiyonlardır (35). Doku hasarına yanıt olarak kan damarları ve komşu dokularda sitolojik, kimyasal, morfolojik reaksiyonlar, zarara neden olan maddenin yok edilmesi veya uzaklaştırılması, onarım ve iyileşmeye yol açan yanıtlar gibi temel patolojik mekanizmalar çalışır. Bu tanımlama noninfeksiyöz etyolojilerin rolünü kabul etmektedir. Yani, inflamasyonun gelişiminde enfeksiyon ön koşul değildir. İnflamatuvar mediatörlerinin sistemik artışı konağın savunma mekanizmasını güçlendirir fakat primer hasara veya inflamasyondan etkilenmemiş organlarda sekonder hasara yol açarak konakta “otodestruksiyona” sebep olur.

Kardiyak cerrahiyi takiben gelişen sistemik inflamasyon multifaktöriyeldir. SIRS terimi kardiyak cerrahideki inflamasyonun patogenezi açıklamada tam anlamıyla yeterli bulunmamıştır. Kardiyak cerrahi hastalarındaki birtakım olaylar ve komplikasyonlardan sistemik inflamasyonun sorumlu olabileceği de tartışma götürmez bir konudur. KPB’de kanın yabancı yüzey ile teması, doku hasarı ve endotokseminin kardiyak cerrahi hastalarında sistemik inflamasyonu başlatan olaylar olduğu düşünülmektedir. Majör cerrahinin sistemik inflamasyon nedeni olduğunun kabul edilmesi ve KPB’nin de proinflamatuvar yanıtı arttırdığının bilinmesi gerekir.

İnflamasyona bağlı hücre hasarındaki teorilerin çoğunun temelini, nötrofil ve lökosit aktivasyonu oluşturur. Nötrofil aktivasyonu SOR’nin, intraselüler proteazların ve arasıdonik asit metabolitlerinin salınmasına neden olur. Bu ürünler makrofaj ve trombositlerden de açığa çıkarlar ve doku hasarına neden olurlar.

Aktive nötrofillerden hidroksil radikalleri ($\text{OH}^\cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit ($\text{O}_2^\cdot$) gibi toksik miktarda SOR salınır. SOR’nin lipid membranda hasarlanma yaparak hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. MDA gibi lipid peroksidasyon ürünleri doku hasarında rol alan SOR’nin şiddetini yansıtır. Royson ve arkadaşları, kardiyak cerrahi geçirenlerde peroksidasyon ürünlerinde artış olduğunu göstermiştir (36).

Perfüzyonla meydana gelen doku hasarı önceden, kan elemanlarının hasar görmesi ve bu sebeble dolaşımın ve vücudun çeşitli organlarının fonksiyonunun bozulduğu varsayımı şeklindeydi (37). Güncel yaklaşımda ise primer hasar

mekanizmasının ‘‘vücudun tüm savunma sistemlerinin aktivasyonu olduğu’’ teorisi kabul edilmektedir (38).

Enfeksiyon ve hasarlara karşı vücutta spesifik ve non-spesifik savunma mekanizmaları vardır. Bunlar acil veya geciktirilebilir yanıtlara sebep olabilirler. ED la beraber vücutta bifazik cevap meydana gelir. Erken cevaplara, dolaşımdaki kanda bulunan ve aktivasyon sırasında depolandığı sitoplazmik vakuollerden salınan proteinler neden olurlar (39-40). Belirli bir gen ile transkripsiyonun aktivasyonunu gerektiren yeni protein sentezi ise kazanılmış cevabı oluşturur (41). Bu sistemler birbiri ile bağlantılı gereğinden fazla, abartılı yanıt içeren sistemler ve kontrol mekanizmaları ile vücudun tüm fizyolojik hemostatik mekanizmalarını bozan mikrovasküler disfonksiyonellik ile sonuçlanır (42). Nötrofillerin aktive olması lökositlerin endotele tutunmasını ve mikroagregatların birikmesine neden olur. Mikroagregatlar mikrovasküler tıkanıklıklara ve bölgesel iskemi ile oksijen miktarında azalmaya yol açarak organ disfonksiyonuna neden olabilir. Kan akımının yeniden sağlanmasını takiben reperfüzyon hasarı görülebilir (7).

2.2.1.2 Temas Aktivasyonu

Temas aktivasyon sistemi; bakteriyel dış zar membranı, ED sistemleri, oksijenatörlerin negatif yüklü yüzeyleri gibi negatif yüklü maddeler ile karşılaştığında aktive olmaya hazır bir seri plazma proteinlerini kapsar.

Temas aktivasyon sisteminin komponentleri

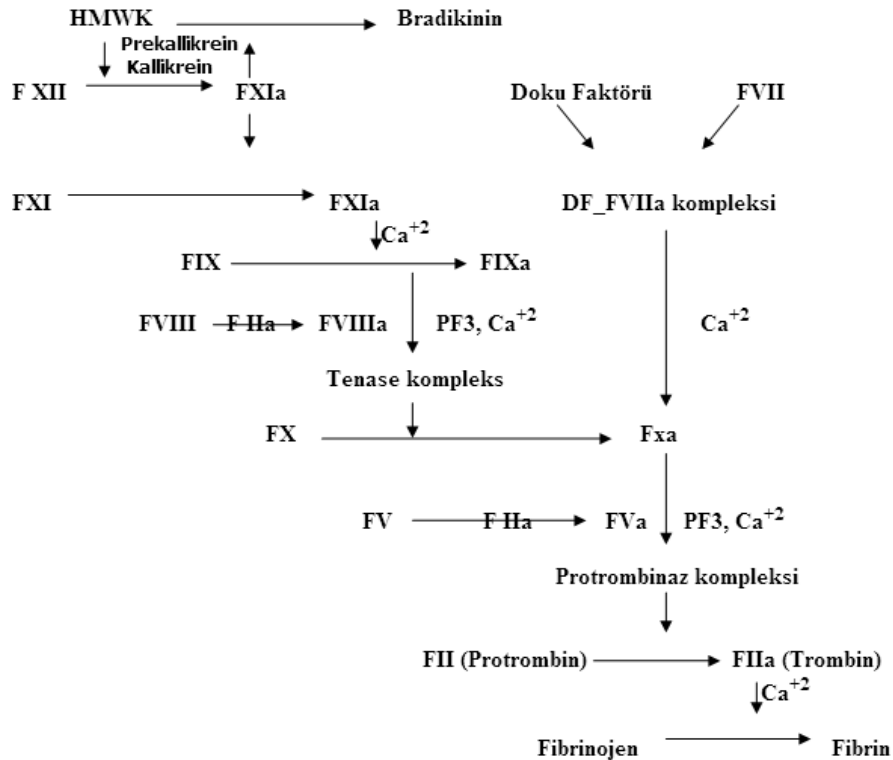
1)Koagülasyon

2)Kallikrein kaskadı

3)Kompleman aktivasyonu

4)Fibrinolizis (43)

Koagülasyon faktörlerinden faktör 12'nin (F XII, Hageman Faktörü) bu sistemdeki rolü kritiktir ve bütün sistemi etkiler (43-44). Kanın vücut dışına çıkışı ve kalp akciğer makinasının sentetik yüzeylerine teması ile bu dört plazma protein sistemi hızlı bir şekilde aktive olur. F XII pompanın yapay yüzeyleri ile karşılaşınca aktive olur, prekallikrein kallikreine dönüşür ve kallikrein yüksek molekül ağırlıklı kininojeni (HMWK) bradikinine dönüştürür. Bradikinin hücrel aktivasyonun ve vasküler permeabilitenin artışına katkıda bulunur (45).



Şekil 4: Koagülasyon Fizyolojisi

Aynı zamanda çeşitli mekanizmalarla kompleman sisteminde aktive olur. Pompanın biyolojik olmayan yüzeyleri ile kompleman 3b (C3b) nin karşılaşmasının ardından alternatif yolla aktive olur. Bu yolağın aktivasyonunun sonucunda oluşan ürünlerden bir tanesi anafatoksinler olarak bilinen kompleman 3a(C3a) ve kompleman 5a(C5a)'dır (46-47). Oluşan bu ürünler nötrofil kemotaksinleri ve erken endotelial hücre aktivatörleri için çok potent olup, önceden depolanan P selektinin (erken faz nötrofil adezyon molekülü) ve endotelial hücrelerden von Willebrand faktörünün (vWF) salınmasına, aynı zamanda koagülasyon ve inflamasyonun desteklenmesine neden olur (46,48). İntrinsik koagülasyon sistemi ED'nin negatif yüklü biyolojik olmayan yapay yüzeylerinin temas aktivasyon sistemini aktiflemesi üzerine tetiklenir. Buna ek olarak ekstrinsik koagülasyon sistemi doku faktörünün ortaya çıkması ile de aktive olabilir (49). Doku faktörü, koagülasyon faktörü VII/VIIa için reseptör görevi yapan hücre yüzeyinde transmembranel bir glikoproteindir. Aktif faktör yedi (FVIIa) ile birleşen doku faktörü faktör on (FX) u aktive eder. Koagülasyonun iki yolunun da aktive olması trombin oluşumuna neden olur. Trombin her iki yolağın birleştiği noktada protrombinin FXa tarafından ayrılması ile oluşur ve güçlü bir proteazdır. ED sırasında ve sonrasında serum konsantrasyonu artar. Trombin kanın pıhtılaşmasında, pıhtının lizisinde, ödem, inflamasyon, hücre yenilenmesi, hücre salgılar, mitogenezis ve anjiyogenezis gibi birçok durumda görev alır. Endotelial hücreler üzerinde inflamatuvar mediyatörler, fibrinolitik vazoaktif ajanlar ve büyüme faktörleri gibi maddelerin sentezini ve salınımını stimüle eder (50). ED la beraber trombin endotel

yüzeyindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu tetikler. P ve E selektin ekspresyonu ve aşırı endotelial kemokin üretimini ve nötrofil adezyonunu indükler (49). Ayrıca trombin vasküler permeabilite artışı ve intersellüler gap oluşumu gibi inflamatuvar cevaplara neden olur (42,49).

Ekstrakorporal dolaşımın başlaması ile eş zamanlı koagülasyon, kallikrein kaskadı, kompleman aktivasyonu ve fibrinolizis sistemleri aktive olur. Pompadan hastaya dönen kanda bradikinin , C5a, trombin ve plazmin vardır (47). Bu maddeler vücuda karşı hücresel cevabı güçlendirirler. ED'a karşı hücresel cevabın temel taşı monosit (dolaşım veya doku), endotelial hücre, nötrofil ve parankimal hücre kökenli sitokinlerdir (51).

İnflamasyonu ve hücre büyümesini düzenleyen çözülebilir protein ve peptitler grubunun genel ismi sitokinlerdir. Sitokinler interlekinleri, monokinleri, kemokinleri, lenfokinleri ve interferon ailesini kapsar (38,39).

Kemokinler inflamasyonda ve homeostazda lökositlere ve kök hücrelere kemotaksi yaptıran sitokinlerdir hasara karşı vasküler biyolojik yanıt katılan hemen hemen tüm hücreler, değişik durum ve stimuluslarda yanıt olarak bu spesifik proteinleri salgırlar (38-39,52). Bu proteinler lokal olarak salgılandıklarında büyüme ve gelişme için önemlidirler (38-39).

Sitokinler kanın pompadan vücuda dönmesi ile genel bir inflamatuvar yanıtı başlatırlar. Üretilen proinflamatuvar sitokinlere ek olarak artmakta olan kanıtlar antiinflamatuvar sitokinlerin down regüle olduğunu ortaya koymaktadır (53). Son zamanlarda koroner bypass operasyonu ile ilgili çalışmalar operasyon sonrası komplikasyonların inflamatuvar sitokinlerin etkisini ortadan kaldırmaya

yetemeyecek şekilde az üretilen antiinflamatuvar sitokinlerden kaynaklandığını göstermiştir (53).

2.2.1.3 Endotel Aktivasyonu

Pompadan hastaya dönen kandaki bradikinin , C5a, trombin ve sitokinler, kan ile vücudu ayıran damarların endotelyal seviyesinde en kuvvetli etkiyi gösterirler.

Endotel membran geçirgenliği, vazomotor tonus, lipit transportu, koagülasyon, inflamasyon ve vasküler yapının düzenlenmesinde ana role sahiptir. Endotelyal hücreler endotelyal hasara yanıt olarak;

1) Hücre bariyer fonksiyonunu bozacak endotel kökenli faktörlelerin salınımına

2) Aşırı vazokonstrüksiyona

3) Koagülasyona

4) Lökosit adhezyonuna

5) Düz kas hücre proliferasyonuna

neden olacak şekilde aktive olur (51).

Ekstrakorporal dolaşım endotel fonksiyonlarını çeşitli yollarla değiştirebilir. Endotel proinflamatuvar ve prokoagülan hale gelebilir. Doğal antiinflamatuvar ve antikoagülan proteinler azalır yada baskılanır. Nötrofil adezyon molekülleri ve doku faktörü gibi proinflamatuvar ve prokoagülan maddeler artar. Endotel plazma protein koruyucu sistemindeki proteinlerin interstisyel boşluğa

geçmesine izin vererek doku hasarı ve ödeme neden olacak şekilde bozulabilir. Bu durum dolaşımdaki mediatörlere yanıt olarak hücre iskelet konformasyonundaki değişiklikler ile hücreler arası gaplar oluşmaya başladığında yada nötrofil bağımlı sitotoksiste sonucu meydana gelen direk hasar sonucunda oluşur. Son zamanlarda elde edilen veriler endotelin hipoksi ve endotoksinler gibi stimuluslar ile hasarlanmakta olduğu ve apoptozis ile devam eden bir sürece girebileceğini göstermiştir (54).

Hücresel düzeyde endotelial hücreler değişik seviyelerde strese maruz kaldıklarında değişikliğe uğrarlar. Bu değişiklikler;

- 1) Büyüme faktörlerinin salınımı,
- 2) Matriks proteinlerinin üretimi,
- 3) Hücre iskeletinin ve organellerinin redistribüsyonu, proliferasyonu
- 4) Vazoaktif maddeler gibi adezyon moleküllerinin salınımıdır (55).

Tüm bu faktörler aktive olmuş, disfonksiyonel endotelial tabakada vazokonstrüksiyona, nötrofil adezyonuna ve artmış mikrovasküler trombojeniteyi arttırmaya katkıda bulunur (42).

Endotel bir kez aktive olduğunda dolaşımda nötrofiller artmaya başlar. Aktive nötrofiller endotelial permeabilityi değiştirerek, lökositlerin kapiller bağlanmasına sebep olarak, vazoaktif ürünler salarak ve oksijen radikali aracılı interstisyel ödem ve hücre disfonksiyonuyla kapiller deformasyon ve kompresyon ile hasar verme özelliğine sahiptirler (51). Dolaşımdaki C5a, bradikinin, trombin, hipoksi yada sitokinlerin endotelial hücreleri aktive etmesi ile normalde etkin olmayan endotelium selektin ve integrinler gibi nötrofil adezyon moleküllerini

eksprese ederler. Ekspresyonla dolaşımdaki nötrofiller önce selektinler tarafından bağlanırlar sonra daha sağlam bir biçimde hücreler arası adezyon molekülü (ICAM) gibi endotel kökenli adezyon moleküllerine eklenir ve endotele adeziv hale gelir. P selektin erken fazda bu cevabı düzenler (47). Nötrofiller endotelyuma yapışıp endotelyum boyunca geçince hasar verici proteazları, elastazları ve oksijen kökenli SOR salgılar (45). Bununla beraber endotelyal hücrelerin bariyer fonksiyonları bozulur, interstisyel ödeme ve vazomotor değişikliklere neden olur. Nötrofil proteazlarının ve oksijen kökenli serbest radikallerin kombine salınımı hücre membranlarında hasara ve uç organ fonksiyonlarında bozulmaya neden olur (51).

2.2.1.4 İskemi Reperfüzyon (I/R) Hasarı

Koroner arter bypass cerrahisinde daha kaliteli anastomoz için kalbin durdurulması işlemi daha çok tercih edilmektedir. Proksimal anastomozun yapılması işlemi ise kardiyak arrest sırasında yapılabildiği gibi proksimal aortaya konulan yan klemp altında da yapılabilmektedir. Operasyonun tamamlanmasından sonra yan klemp açılarak kalp dokusunun tam reperfüzyonu sağlanmaktadır. Böylece koroner bypass operasyonlarında kalp dokusunda I/R aşamaları gerçekleşmektedir. Kalp dokusunda hasarı azaltmak için bir çok yöntem geliştirilmiş olmasına rağmen operasyon sonrası kardiyak disfonksiyonlar halen yaygın olarak görülmektedir (56).

İskemik bir dokunun yeniden kanlanması sağlamak doku nekrozunu engellenmesi açısından önemlidir. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu sırasında ilk kez Hearse ve arkadaşlarının 1973’de tanımlanmış olan doku hasarı gelişmektedir (57). I/R hasarı olarak adlandırılan bu fenomenin iskemik dokunun yeniden oksijenlenmesi ile ilişkili olduğu bildirilmekte ve hasarın oluşumundan SOR sorumlu tutulmaktadır (58-59).

İn vitro ve in vivo çalışmalarda iskemik miyokarda moleküler oksijenin yeniden ulaşmasının SOR oluşumuna yol açtığı görülmüştür (60). I/R hasarının iskemik dokuya moleküler oksijenin girişi ile doku hasarının gerçekleştiği ileri sürülmektedir. Ancak pulmoner düz kas hücreleri, kardiyomiyositler ve diğer çeşitli hücre tiplerinde hipoksi döneminde SOR birikimi olduğu görülmüştür (61).

2.2.1.4.1 İskemi

Belli bir bölgede kan akımının azalması; ilgili bölgeyi besleyen damarların tıkanması ya da kasılması nedeniyle gelişen yerel anemi durumuna iskemi denir (62).

Organ veya dokuyu perfüze eden kan akımındaki azalma, geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku zedelenmesine neden olmaktadır (63). Dokuya giden kan akımı kesildiğinde, o dokuya ait hücrelerin fonksiyon bozukluğu ile başlayan ve hücrelerin ölümüne kadar ilerleyen bir dizi olay gerçekleşir.

İskemik hasarın gelişmesinde merkezi rolü hücresel enerji eksikliği oynamaktadır. Hücre fonksiyonlarının devamı için gerekli olan yüksek enerjili

fosfat bağları aerobik metabolizma ile sağlanır. Bu fonksiyonların gerçekleşebilmesi için gerekli temel yakıt oksijen (O_2) 'dir. İskemide, O_2 yokluğuyla ilişkili olarak, mitokondrial elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalmaktadır (64).

İskemi hücrenin oksidatif fosforilasyonunu bozar, hücre içi adenosin trifosfat (ATP) ve fosfokreatin sentezinde azalmaya yol açar. Bu durum ise, hücre membranının ATP'ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonunu bozarak hücreye daha fazla kalsiyum (Ca^{2+}), sodyum (Na^+) ve su (H_2O) girmesi ile sonuçlanmaktadır. Miyokard pH'sı asit tarafa kayar. Oksidatif metabolizma, elektron transportu ve mitokondrilerdeki ATP üretimi hızla azalır. O_2 yetersizliği durumunda anaerobik metabolizma devreye girer. Anaerobik glikolizle ATP üretimi baslar. Ancak, bu hem göreceli olarak yetersiz enerji üretir hem de doku asidozunun daha da derinleşmesine neden olur. Sonuçta laktik asit ve toksik metabolitlerin birikimi artar. İskemide enerji eksikliği sonucu asidoz, makromolekül sentezinin durması, iyon dengesinin bozulması ve ATP yıkım ürünlerinin birikmesi meydana gelir.

İskemi devam ettikçe laktik asit düzeyi de artmaya devam eder ve oluşan asidoz nedeniyle normal enzim kinetigi değişir ve yüksek enerjili fosfat bağlarının yapımı azalır. Bu durumda hücre kendi homeostazı için gerekli olan enerjiden yoksun kalır (65-68).

Asidoz ve yağ asidi düzeyi arttıkça enerji üretebilmek için dokunun kullandığı son çare anaerobik glikoliz de baskılanarak azalır. Bu durumda ATP de tükenince hücrede tam olarak bir enerji yokluğu ortaya çıkmaktadır. Anaerobik glikolizin istenmeyen sonuçlarından biri de laktat ve hidrojen (H^+) birikimi ile

hücre içi ve dışı asidozunun gelişmesidir (69). Laktik asid ve düşük pH değerlerinin protein denatürasyonu, enzim fonksiyon kaybı ve serbest radikallerin oluşumu gibi iskemik hasarı oluşturan etkenlerin gelişmesinde katkısı olduğu gösterilmiştir (70-71).

Na^+ - K^+ ATPaz pompası hücre membranında, ATP hidrolizi ile üç Na^+ atomunu iki K^+ atomu karşılığında hücre dışına çıkarırken, Ca^{2+} ATPaz ise iki H^+ iyonuna karşılık bir Ca^{2+} iyonunu hücre dışına çıkarmaktadır. Böylece ekstrasellüler Na^+ ve Ca^{2+} konsantrasyonları hücre içine göre sırasıyla 10 ve 10,000 kat daha fazla olmaktadır. Hücre içi K^+ konsantrasyonu ise hücre dışına oranla 40 kat fazla bulunmaktadır. Primer aktif transport ile sağlanan Na^+ gradiyenti, $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ve Na^+/H^+ antiporterleri için enerji kaynağını oluşturmaktadır. Bu sekonder aktif transport antiporterleri Ca^{2+} ve H^+ iyonlarının hücre dışına çıkmasını sağlamaktadır. Hücre membranının K^+ 'a olan geçirgenliği nedeniyle K^+ dağılımı temelde konsantrasyon gradiyenti ile oluşmaktadır (71).

Ekstrasellüler K^+ konsantrasyonu ilk dönemde yavaş yavaş artmaktadır. Aynı zamanda H^+ iyonunun bir membran katyon kanalından kısmen hücre dışına çıkması, hücre içinde birikmeye başlayan laktik asidin noniyonik difüzyon ile kısmen hücreyi terk etmesi ve karbondioksit (CO_2) birikimine bağlı olarak hücre dışı pH'sı düşmektedir. Ekstrasellüler Ca^{2+} ise bu dönemde henüz azalmaya başlamamıştır (71).

İkinci dönemde iyon pompalarındaki bozulmaya bağlı olarak K^+ hızla hücreden ayrılırken Na^+ , klor (Cl^-) ve Ca^{2+} iyonları hücre içine alınmaktadır. Symon, K^+ atılımındaki artış ile, zaten azalmış hücre enerji düzeylerinin daha

fazla iyon dengesini sağlayamayacak düzeylere indiğini ve bu noktanın aynı zamanda ekstrasellüler Ca^{2+} düzeylerinin aniden düştüğü zamana uyduğunu göstermiştir (72).

İleri enerji eksikliği ve membran depolarizasyonu bu dönemde görülür. Depolarizasyonda pompalar devre dışı kalmaya başladıkları için iyon akışı, iyonların konsantrasyon gradiyenti yönünde membrandaki basit deliklerden geçişleri ile sağlanmaktadır (71).

Üçüncü aşamada iyon pompalarının bozulmasının yanısıra hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun yükselmesine bağlı olarak, membran geçirgenliğinin artması ile ortaya çıkan iyon kaçakları oluşmaktadır. İskemi nedeniyle zaten azalmakta olan ATP bu iyon kaçaklarının önlenmesi için daha da fazla kullanılmakta ve bir kısır döngü içinde hızla tüketilmektedir (69,71)

Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu artışı, I/R hasarının gelişmesinde son derece önemlidir. Başlıca üç yoldan gerçekleşmektedir :

- 1) Hücre dışından Ca^{2+} girişi
- 2) Hücre içi Ca^{2+} depolarından Ca^{2+} salınımı
- 3) Hücre içi Ca^{2+} düzeyini kontrol eden mekanizmaların bozulması.

İskemide hücre içi serbest Ca^{2+} konsantrasyonun artışı erken dönemde fosfolipaz, lipaz, lizozomal enzimlerin de dahil olduğu proteazlar ve endonükleaz gibi enzim gruplarının aktivasyonuna neden olmaktadır (69-71,73).

Hücre içi serbest Ca^{2+} artışı ile birlikte iskemide, başlıca ;

- 1) Lipoliz
- 2) Proteoliz

3) DNA hasarı

4) Mitokondrial Elektron Transport Zinciri (METZ) Hasarı

görülmektedir.

2.2.1.4.1.1 Lipoliz

Fosfolipazlar fosfolipidlerden fonksiyonel grupları hidrolize eden ve sitozol, plazma ve mitokondri membranlarında bulunan bir enzim grubudur. Bu etkileri, membran fosfolipidlerinin lipolizi ile ortamda serbest yağ asitlerini (SYA) arttırmaktadır. Ca^{2+} ile aktive olan fosfolipaz A₂ enziminin, fosfolipidlerin beta pozisyonundan kopardığı araşidonik asid birikimi, SYA'nin reperfüzyon döneminde prostoglandin (Pg) ve lökotrienlere (Lt) metabolizmaları sırasında oluşturdukları serbest radikaller nedeni ile, iskemik hasarın ilerlemesindeki temel etiyolojik faktörlerdendir.

Fizyolojik koşullarda membran fosfolipidleri bir dizi enerji bağımlı reaksiyon ile yenilenmektedir. Bu nedenle intrasellüler SYA konsantrasyonu düşük düzeylerde tutulmaktadır. İskemide enerji depolarının tükenmesi nedeni ile bu yenilenme gerçekleşmemektedir. Ca^{2+} tetikli membran fosfolipid kaybı büyük olasılıkla membran protein/lipid oranlarının bozulmasına bağlı geçirgenlik artışına neden olarak, iskemik hücreye Ca^{2+} girişini daha da hızlandırmaktadır. Bu oranın intrasellüler organellerde de bozulması birçok hücre fonksiyonuna zarar vermektedir. Lipoliz ile artan SYA'nin asıl zararlı etkisi, reperfüzyon kısmında söz edileceği gibi zararlı metabolitlerin özellikle, İ/R hasarının en önemli nedeni olan serbest radikallerin oluşmasına yol açmasıdır (71,74-77).

Farklı yazarlara göre biriken SYA reperfüzyonda serbest radikal kaynağı olmalarının yanısıra iskemi döneminde de serbest radikal oluşumuna yol açmaktadır (71,78).

Katsura ve ark.'a göre, derin iskemide SYA konsantrasyonunu artıracak kadar ileri düzeydeki fosfolipid hidrolizi, yaklaşık olarak enerji eksikliğinin membran depolarizasyonunu tetiklediği zamana rastlamaktadır (79).

2.2.1.4.1.2 Proteoliz

Kalsiyumun hücre içi düzeyindeki artışının, hücre hasarına yönelik diğer bir önemli sonucu da proteaz aktivasyonudur. Proteaz aktivasyonuna bağlı olarak ksantin oksidaz oluşumu, nötral ve lizozomal proteazların aktivasyonu meydana gelir. Ksantin oksidaz (XO) reperfüzyon döneminde en önemli radikal kaynaklarından biridir. Ksantin dehidrogenazdan (XDH), Ca^{2+} ile aktive olan proteazlarla meydana getirilir. Bu reaksiyonun iskemik dokularda meydana geldiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (64,74,80-81).

Kalsiyuma bağımlı nötral proteazlar nöroflamanların ve hücre iskeletinin protein içeren bileşenlerinin yıkılımından, dolayısıyla tübülün bütünlüğünden sorumludur. Marimoto ve ark. 30 dakikalık kısa ve 3 saatlik uzun iskemi de nötral proteaz aşırı aktivasyonu nedeni ile poliribozomların disagregasyonunu, dolayısıyla polipeptid sentezinin durduğunu gözlemlemişlerdir (73,82).

Lizozomal proteazlar olarak adlandırılan katepsinlerin aktivasyonu ile artan proteolizin özellikle derin ve uzun süreli iskemi ve ardından gelen

reperfüzyon sırasında süregelen hücre hasarını hızlandırarak, dönüşümsüz hasar olusumunda rol oynadığı savunulmaktadır (83).

2.2.1.4.1.3 DNA Hasarı

Endonükleazların aktivasyonu ile gelisen DNA fragmantasyonunun, apopitotik hücre ölümüne benzer bir durum olabileceği öne sürülmektedir (73,84).

2.2.1.4.1.4 Mitokondrial Eletron Transport Zinciri Hasarı

İntrasellüler Ca^{2+} artışını tamponlayan mekanizmalar arasında bulunan mitokondride Ca^{2+} 'un tutulması, iskemi sırasında mitokondrinin Ca^{2+} ile aşırı yüklenmesine neden olmaktadır. İskeminin ilk dakikalarında O_2 konsantrasyonu düşüklüğüne bağlı olarak durma noktasına gelen hücre solunum fonksiyonları ve ATP sentezi mitokondrideki Ca^{2+} birikimi ile daha da bozulmaktadır. Böylece hücrede ATP eksikliği ile başlayan iskemik kaskatın gelişiminde, intrasellüler Ca^{2+} artışının bir sonucu olarak ATP sentezi giderek azalmakta ve olaylar kısır bir döngü içine girmektedir (69,71).

2.2.1.4.2 Reperfüzyon

İskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden düzenlenmesine reperfüzyon denir. İskemik dokunun reperfüzyonu, dokunun O_2 ve diğer metabolik ihtiyaçlarını karşılarken paradoksal olarak dokularda hasar oluşturur (85). İ/R hasarında serbest radikallerin oluşumu,

polimorf nüveli lökositlerin (PMNL) aktivasyonu, endotel ve kompleman sistemi gibi major komponentlerin rol oynadığı bilinmektedir (86-88).

Reperfüzyonun, iskemik dokuda enerji ihtiyacının sağlanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması gibi iki olumlu etkisi vardır. Böylelikle reperfüzyon iskemik hasarın düzeltilebilmesi için gerekli bir süreçtir. Ancak oksijenlenmiş kanın iskemik dokuya dönüşü, dokuyu daha fazla zedeleyen bir reaksiyon sürecini başlatır (65,68,85,89).

İskemik dokunun reperfüzyonu doku nekrozunun önlenmesi açısından önemli olmasına rağmen, kan akışının yeniden sağlanması ile iskemik dokuda reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır. Kısa iskemik ataklar miyositler tarafından tolere edilirler, belirgin bir hasar oluşmaz. Kısa iskemik periyotlarda kalp kasında, kontraktıl disfonksiyonda uzama gözlenebildiği gibi uzamış iskemik periyotlarda ise nekroza kadar giden hasar oluşur (90,91,92).

İskemik hasarın büyük bir kısmının reperfüzyon sırasında, post-iskemik dönemde olduğu düşünülmektedir. Geri dönüşsüz hücre hasarını önleyebilmek için organa/dokuya yeniden kan akımının sağlanması gerekmektedir. Ancak reperfüzyonun gerçekleştirilmesi, iskemik dokularda iskeminin dokuda/organda oluşturduğu hasardan daha fazla bir hasara yol açabilmektedir (93,94).

Endotel hücrelerindeki zedelenmenin hasarı asıl tetikleyen olay olduğu düşünülmektedir (67,95). Temel hasarın, hipoksi döneminde değil dokunun tekrar O₂'le karşılaştığı dönemde olduğu kabul edilmektedir (96,97).

Reperfüzyon hasarı SOR, endotelial faktörler ve nötrofillerin katıldığı karmaşık bir mekanizmayla gerçekleşir. İskemik dokuların reperfüzyonu ile iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak, bir kısım hücre nekroz veya apoptozis ile ölmeye devam eder. Etkilenen dokularda sıklıkla nötrofil infiltrasyonu gözlenir. Postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına çıkması ve lökositlerin hareketliliği başlar. İ/R sonrası dokularda mikrovasküler fonksiyon bozukluğu gelişir. Arteriyollerde endotele bağımlı dilatasyon bozulur. Kapillerlerde lökosit tıkaçları oluşur, sıvı filtrasyonu artar (88).

Mikrosirkülasyonun bütün segmentlerinde aktive olan endotel hücreleri daha fazla SOR ve daha az Nitrik Oksit (NO) üretir. İ/R hasarından SOR sorumlu tutulmaktadır. SOR, bir çok kalp hastalığında oluşur (98,99). Günümüzde artık SOR yerine daha kapsamlı olarak, Reaktif Oksijen Türleri (ROT) tanımı kullanılmaktadır (88).

Reperfüzyonda yüksek miktarda ROT üretilir. Düşük O₂ basıncında meydana gelen ROT'ne bağlı reaksiyonlar, hipokside daha da tehlikeli olur. Hücrede oluşan ROT, "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinen mekanizmalarla ortadan kaldırılırlar. Ancak bazen hücresel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla ROT oluşabilir. Organizmada hücresel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla ROT meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır (100).

İskemi sonrası reperfüzyon ve hücre içine O₂'in yeniden sunulması ile birlikte ROT hızla oluşmaktadır. İskemi aynı zamanda endotel hücrelerinde bazı

proinflamatuvar gen ürünlerinin (LAM, sitokinler vb) ve biyoaktif bileşiklerin (endotelin, tromboksan A₂ vb) sentezini artırırken, bazı koruyucu gen ürünlerinin, endotelial Nitrik Oksit sentaz (eNOS) , siklooksijenaz-2 (COX-2) ve bu enzimlerin ürünlerinin (NO, prostasiklin) ekspresyon ve sentezini baskılamaktadır (86).

Endotelial disfonksiyonundaki ilerlemenin Nitrik Oksit sentaz (NOS) ve O₂⁻ aşırı üretimi ve bunun sonucu olarak da peroksinitrit (ONOO⁻) oluşumunda bir artışla bağlantılı olduğu ileri sürülmüştür (98-100). Endotel hücrelerinde O₂⁻ ve NO arasındaki dengesizlik, inflamatuvar mediyatörlerin üretim ve salınımına öncülük ederken adezyon moleküllerinin biyosentezini de artırır (87,88).

İskemide gelişen süreçler ve temelde reperfüzyonda O₂ ve kan ürünlerinin yeniden dokuya gelmesiyle, ROT oluşumu için zemin hazırlamaktadır (71,81). Miyokard dokusunun İ/R'u sırasında O₂⁻, OH[•] ve H₂O₂ gibi toksik ROT üretiminde artış olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, İ/R uygulanan vasküler endotel hücrelerinden O₂⁻ salınımının arttığı gösterilmiştir (101). O₂⁻ normal hücre metabolizmasında, mitokondrial, endoplazmik retiküler ve nükleer membran elektron transport işlemleri sırasında oluşan bir ara üründür. İskemik koşullarda ise, hipoksantin ve ksantin katabolizması sırasında XO enziminin katalize ettiği bir reaksiyonla oluşur (102).

İskemi reperfüzyonda

1. Mitokondrial Elektron Transport Zinciri (METZ) Sızıntısı
2. Vasküler Endotel Kaynaklı XO Aktivasyonu
3. Nötrofillerin Aktivasyonu

4. Plazma ve organel membranları

5. Komplemanlar ve Sitokinler

6. NOS aktivasyonu

gibi çok çeşitli hücre, organel ve enzimler serbest radikal kaynağını oluşturmaktadır (71).

Ayrıca iskemik dokunun reperfüzyonu sonucu lipid mediyatörler, polipeptid mediyatörler ve immün kompleksler ortamda artar. Artan bu mediyatörler ile endotelial hücrelerde fonksiyon bozukluğu oluşur. Bu oluşum reperfüzyon hasarının tetikleyicisi olarak kabul edilmektedir. Endotelial hücre fonksiyon bozukluğu sonucu dokuda NO salınımı azalır ve kemotaktik faktörler ortama monosit, polimorfonükleer lökosit (PNL) ve makrofajları çeker. Ortama gelen bu kan hücreleri ile kemotaktik faktörlerin reseptör düzeyinde birleşmesi ile reaktif metabolitler oluşturan bir dizi reaksiyon ortaya çıkar (103-104)

Kardiyak operasyonlarda amaçlı veya amaç dışı iskemi ve reperfüzyon dönemleri sıklıkla.

Kardiyopulmoner bypas öncesi koroner oklüzyon veya sistemik hipotansiyona bağlı iskemiler, KPB sırasında kardiyoplejik solusyonların infüzyonları arası dönemde veya yetersiz dağılımına bağlı iskemiler ve KPB sırasında veya sonrasında reperfüzyon sonrasında gelişen iskemiler potansiyel myokard hasarı nedenleridir.

İskemik periyodlar reperfüzyon ile devam eder ve bu reperfüzyon periyodları myokardial hasar nedeni olabilir veya iskemi sırasında oluşmuş hasarın ilerlemesine neden olabilir. Reperfüzyon ile oluşabilecek ek hasar KPB

öncesi resusitasyon veya hemodinamik restabilizasyon, KPB sırasında revaskülarize edilen segmente greft yolu ile kardiyopleji verilmesi veya mammarian arter greftinde akımın başlatılması ve aortik kros klempin alınması dönemlerinde başlayabilir.

İskemi reperfüzyon periyodlarının her biri hasara neden olabilir ve üç şekilde bulgu verir.

1) Myokardial stunning: saatler, günler veya haftalar içinde gerileyen geçici kontraktıl disfonksiyondur.

2) Myokard infarktüsü: geri dönüşümsüzdür. Nekroz, hücre membran bütünlüğünde bozulma, hücre şişmesi ve DNA yıkımı olur.

3) Myokardial apoptozis: planlanmış hücre ölümü, inflamasyon olmadan fagositik aktivitede artış (105).

Hasar sadece myositlerdeki etkisiyle sınırlı kalmaz, vasküler endotelyumu da etkileyerek NO ve adenosin metabolizmalarını da bozar (106). Fizyolojik koşullarda nötrofilin ve O_2^- radikallerinin inhibisyonunu sağlayan NO reperfüzyon sırasında kardiyoprotektif etki göstermektedir (107).

Ayrıca KPB kendi başına veya KPB sırasında bazı teknik ve medikasyonlar da sitokin ve kompleman sistem aktivasyonu ile I/R hasarını arttırabilir (108). İskemik bölgelerin reperfüzyonu sonucu oksijen miktarındaki artış ile SOR oluşur (109).

3. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDAN SİSTEMLER

Serbest radikallerin biyolojik sistemler içerisindeki varlığı yaklaşık olarak 50 yıl önce ortaya atılmıştır. 1956 yılında McCord ve Fridovich'in süperoksit dismutaz (SOD) enzimini keşfetmeleriyle biyolojide serbest radikallerin önemi anlaşılmaya başlanmıştır. Daha sonra çalışmalar serbest radikallerin hücre düzeyindeki fonksiyonları, NO ve derivelerinin biyolojik sistemlerdeki önemini gösteren araştırmalarla devam etmiştir (110).

3.1 Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanırlar (111). Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen, yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapıda olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğine sahiptirler. Aerobik metabolizması olan memelilerde serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir (112).

Bilindiği gibi, oksijen canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline

dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte O_2 'in % 1-3 ' ü tam olarak suya dönüşemez, O_2^- ve OH^* oluşur (113).

Yaşam için gerekli olan O_2 , serbest radikal oluşumuna yol açtığı için toksik olabilmektedir ve çoğu hastalığın patogeneğinde, yaşlanma ve inflamasyonun açıklanmasında karşımıza çıkmaktadır (114-115).

Tablo 1: Serbest Radikaller ile İlişkili Bazı Hastalıklar (116-117)

Oksijen toksisitesi	Gastrointestinal Hastalıklar
İnflamasyon	İnfeksiyon Hastalıkları
İmmünolojik Hastalıklar	Musküler distrofi
Yaşlanma	Ürolojik Hastalıklar
Nörolojik Hastalıklar	Göz Hastalıkları
Ateroskleroz	Deri Hastalıkları
Hipertansiyon	Pulmoner Hastalıklar
İskemik Hasar	Ksenobiotiklerin Metabolizması
Karsinogenezis	Karaciğer Hastalıkları
Mutajenezis	

3.1.1 Reaktif Oksijen Ürünleri

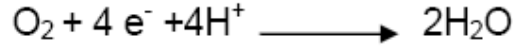
Oksijen ortamda sürekli bulunan ve elektrofilik ataklara en yatkın olan moleküldür (118). Oksijen ve onun minör metabolitleri olan O_2^- , H_2O_2 , $OH^\bullet$ ve singlet oksijen (1O_2) canlı sistemler için genellikle toksiktir. Bu ürünler kısaca ROT olarak adlandırılır (119).

Organizmada genelde ROT normal fizyolojik olaylar esnasında oluşur

Tablo 2: Normal Süreçte Oluşan ROT Kaynakları (120)

1. Solunum Mitokondriyal elektron transportu Hekzos monofosfat şanti
2. Ksenobiyotiklerin metabolizması Mikrozomal elektron transportu (sitokrom P450 ve b5) ve karışık oksidaz fonksiyonu Peroksidatif oksidasyon (MPO, prostoglandin H sentezi)
3. Doğal uyarılarla fagositik hücrelerin aktivasyonu Periferal kan PMN'ler, bazofiller ve monositler Doku makrofajları Kupffer hücreleri (karaciğer) Klara hücreleri (akciğer)
4. Biyosentez ve biyolojik parçalanma süreçleri Araşidonik asit metabolizması Yağ asit CoA oksidaz D-amino oksidaz L-α hidroksi asit oksidaz Ürat oksidaz Tirozin peroksidaz

Biyolojik sistemlerde bulunan en önemli reaktif oksijen metabolitleri, O_2^- , H_2O_2 ve $OH^\bullet$ dir. Oksijen 4 elektron alarak suyu oluşturur.

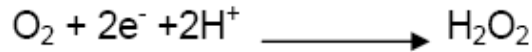


O_2^- , triplet durumdaki oksijen molekülünün ($^3\text{O}_2$) redüksiyonuyla meydana gelir (120-121).



Bu işlem NADPH oksidaz ve XO gibi enzimler aracılığıyla veya mitokondriyal elektron zincirinin semi-ubikinon içeriği gibi redoks reaktif bir yolla nonenzimatik olarak gerçekleşir (122).

O_2^- membran hasarına, lipid peroksidasyonuna ve hücre ölümüne neden olabilir. Ayrıca daha güçlü oksidanların öncüsüdür. Oksijenin iki elektron redüksiyonu ile H_2O_2 meydana gelir.



Biyolojik sistemlerde O_2^- fizyolojik pH' da spontan dismutasyonla hidrojen peroksidi oluşturabildiği gibi, reaksiyon SOD enzimi tarafından da katalizlenebilir (120-121).

Süperoksit radikali biyolojik olarak organik ve inorganik substratlarla reaksiyona girebilir. Örneğin ferrisitokrom c, kinonlar, geçişli metal komplekslerini redükleyebilir ve askorbik asit, tokoferol, katekolaminler, tetrapiroller, hemoproteinler, tioller oksitleyebilir.

H₂O₂ kuvvetli bir oksidan olmakla birlikte organik substratların çoğuyla yavaş reaksiyona girebilir. Kendisi serbest radikal değildir; (bütün elektronları çiftleşmemiştir) ancak ROT kategorisinde bulunur. Demir ve bakır iyonları gibi taşıyıcı metallerin katalizlendiği durumlarda daha güçlü bir oksidan olan OH•' ni oluşturabilir.



Bu reaksiyon demir katalizli Haber-Weiss reaksiyonu olarak bilinir. OH•, süperoksid ve H₂O₂' ten daha güçlü oksidan olup hemen hemen bütün biyolojik substratları etkileyebilir. OH• biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin en reaktif olanıdır. Serbest radikallerin oluşturduğu hücre hasarından en fazla sorumlu tutulandır. Non- katalizli Haber-Weiss reaksiyonu süperoksidin, H₂O₂ ile direkt reaksiyonudur (120-121).

Katalaz, H₂O₂ veya Glutasyon peroksidaz (GP-x) ile su oluşturulabilir. GP-x'in katalizlediği reaksiyonda glutasyon (GSH), glutasyon redüktaz (GR-x) enziminin yardımıyla Nikotinamid Adenin Dinükleotid (NADPH) harcanan bir reaksiyonla tekrar GSH'a dönüşebilen glutasyon disülfide okside olur (122).

Süperoksit radikali sentezi sırasında harcanan NADPH heksoz monofosfat şanti (HMP) ile yeniden oluşturulur (120,123).

Fagositik hücrelerin yabancı partiküller veya immün kompleksler ile karşılaştıklarında, oluşturdukları solunum patlaması en önemli ROT oluşum kaynaklarından birisidir. Solunum patlaması fagositoz sırasında meydana gelen metabolik olaylar dizisidir ve fagositozda da önemlidir (123).

Mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ) de ROT' u üretir. Mitokondriyal ETZ' den ROT üretimi substrat miktarına bağlıdır. Endotelial hücrelerde glukoz konsantrasyonunun artması ROT üretiminin artmasına neden olur (122).

3.1.2 Reaktif Nitrojen Ürünleri

Nitrik oksit, biyolojik sistemlerde üretilen çok yönlü, inorganik bir serbest radikaldir (124). NO radikali, yüksek organizmalarda L-arjinin'in terminal guanidonitrojen atomlarından birinin oksidasyonu ile oluşur. Bu reaksiyon NOS enzimiyle katalizlenir. Oluşan NO içinde bulunduğu mikro çevreye göre nitrosonyum katyonu (NO^+), nitroksil anyonu (NO^-) ya da O_2^- ile reaksiyona girerek oksidatif hasarda rol oynayan peroksinitrit (ONOO^-) gibi çeşitli reaktif nitrojen ürünlerine (RNÜ) dönüşebilir (125).

Bazı fizyolojik hallerde ara form olan S-nitrososistein ya da S-nitroso-glutatyon durumunda bulunabilir (122).

Nitrik oksit, NOS enzimlerinin kataliziyle vücutta pek çok yerde sentezlenebilir. Tanımlanmış NOS'lar:

1. Tip I nöronal (nNOS)
2. Tip II indüklenebilir (iNOS)
3. Tip III endotelial (eNOS)

Nitrik oksit sentazın üç tipi de moleküler oksijen ve L-arjinini substrat olarak kullanırken, NADPH, Flavin adenin nükleotid (FAD), flavin

mononükleotid (FMN) ve tetrahidro biopterin (BH₄)'i kofaktör olarak kullanır (126).

Nitrik oksit düşük konsantrasyonda vasküler tonusun kontrolü, nörotransmisyon, öğrenme ve hafıza gibi fizyolojik süreçlerde görev yaparken, yüksek konsantrasyonda savunma amacı ile sitotoksin gibi rol oynar (127).

Nitrik oksit aracılığıyla oluşan DNA hasarı çekirdek içinde polimeraz (ADP-riboz) aktivasyonuna neden olur. NAD tükenir ve hücre ölümüne yol açar (125,128).

3.1.3 Serbest Radikallerin Oluşumunu Arttıran Faktörler

Ekzojen Faktörler

I. Diyetel Faktörler: Doymamış yağ asitlerinden zengin diyetle beslenme, yüksek kalorili diyetle beslenme, hayvansal proteinlerce zengin diyetle beslenme, alkol ve uygun koşullarda hazırlanmamış yiyeceklerle beslenme.

II. Çevresel Faktörler: Sigara dumanı, hava kirliliği (O₃, NO₂, SO₂, Hidrokarbonlar), radyasyon ve diğer kirleticiler (asbest, pestisitler vs.).

III. İlaçlar: Anti-kanserojenik ilaçlar, glutatyon tüketen ilaçlar (112).

Endojen Faktörler

I. Sedanter yaşam

II. Stres

III. Yaşlanma

IV. Doku hasarı ve kronik hastalıklar (ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon, iskemi-reperfüzyon hasarı vs.)

V. Diyetset antioksidan alınımın etkileyen koşullar (iştahsızlık, malabsorbsiyon, kolestaz) (112)

3.1.4 Serbest Radikallerin Organizmadaki Etkileri

Serbest radikaller hücre ve dokularda bir çok hasara neden olmaktadır. Bu hasarlar şöyle sıralanabilir:

I. DNA'nın tahrip olması

II. Nükleotit yapıli koenzimlerin yıkımı

III. Lipid peroksidasyonu sonucu membran yapısı ve fonksiyonunun değışmesi

IV. Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değışiklikler

V. Protein ve lipitlerle kovalan bağlar oluşturulması

VI. Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması

VII. Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi

VIII. Proteinlerin tahrip olması ve protein “turnover” nın artması

IX. Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değışmesi

X. Kollagen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksidoredüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değışikliklerin oluşması

XI. Mukopolisakkaritlerin yıkımı (112).

3.1.4.1 Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri

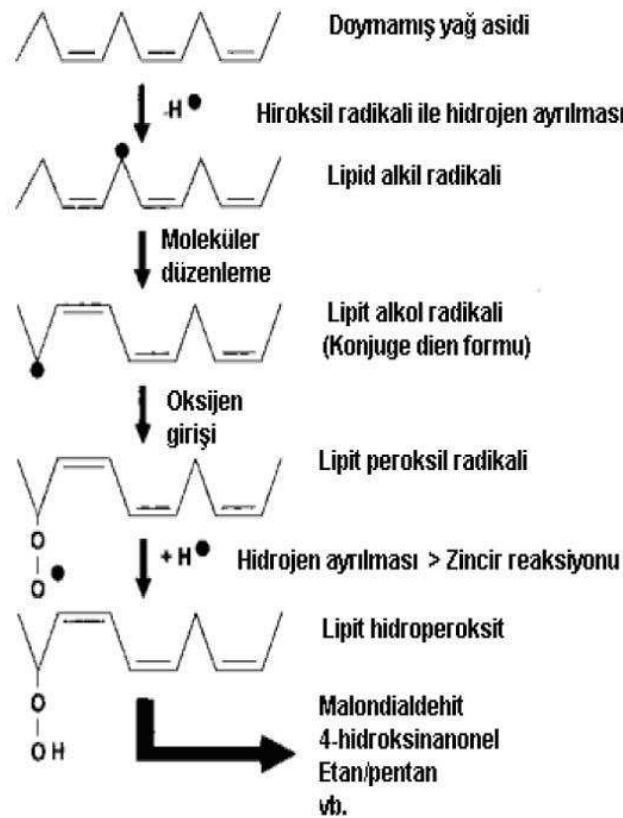
Membranlar ve hücre içi organeller (mitokondri, endoplazmik retikulum), membran fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı dolayısıyla oksidatif ataklara oldukça duyarlıdır (129). Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar.

Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve son derece zararlıdır; çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asidi zincirindeki α - metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar (130). Yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asiti zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır.

Lipid radikali ($L^{\bullet}$) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. $L^{\bullet}$ moleküler O_2 ile etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikalleri ($LOO^{\bullet}$) oluşur. $LOO^{\bullet}$, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine ($LOOH$) dönüştürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (112,130).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona ermektedir. Bu bileşiklerden biri olan MDA'nın miktarı, tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır.

Peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de, in vivo lipid peroksitlerinin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve pentan gibi gazların tayini de son yıllarda lipid peroksidasyon göstergesi olarak değerlendirilmektedir (131).



Şekil 5: Lipid Peroksidasyonu (131)

3.1.4.1.1 Lipid Peroksidasyonunun Organizmadaki Etkileri

I. Lipid peroksidasyonu sonucu membran akışkanlığı azalır ve normalde hücre içine geçemeyen maddelerin hücre içine girişleri artar.

II. Lipid peroksitler ve alkoksil radikaller, triptofan ve sistein gibi protein kısımlarına ataklar yaparak protein yapısını bozar ve hasar meydana getirirler.

III. Lipid peroksidasyonu sırasında aktiviteleri için süfhidril ve amino grubuna gereksinim duyan, özellikle hormonal uyarılara hücrenin cevap verme imkanı sağlayan yüzey reseptörlerini inhibe ederler.

IV. Hücre membranına yakın yerleşimdeki DNA molekülleri de lipid peroksidasyonundan hasar görürler ve bazen DNA'nın replikasyonu yapılamaz.

V. Bazı aldehitler biyolojik sıvılarda kemotaktik etki gösterirler.

VI. MDA gibi aldehitler, düşük dansiteli lipoproteini (LDL)' yi modifiye ederek metabolik yolu değiştirebilir (132).

3.1.4.2 Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller bazı aminoasitlerle reaksiyona girerek enzimlerin aktivitelerini ortadan kaldırarak modifiye, fonksiyon görmeyen proteinlerin oluşmasına sebep olmaktadır. En çok sorumlu tutulan aminoasitler sülfür içerenlerdir (133).

Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi

aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin reaktif oksijen metabolitleri (ROM) üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (130).

3.1.4.2.1 İleri Oksidasyon Protein Ürünlerinin Oluşumu

Protein oksidasyonunun yeni bir belirteci olan ileri oksidasyon protein ürünleri Advanced Oxidation Protein Products (AOPP) ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak tanımlanmaktadır (134).

AOPP düzeylerinin, protein oksidasyonunun göstergesi olan ditirozin ve ileri glikasyon son ürünü olan pentozidin düzeyleri ile korelasyon göstermediği belirtilmiştir (135).

Bununla birlikte protein-protein çapraz bağlanmaları proteinlerin oksidatif değişiminin bir belirteci olmakla birlikte birkaç farklı reaksiyonla gerçekleşmektedir.

Bu reaksiyonlar;

- a.** Karbon merkezli iki radikalın direkt reaksiyonu sonucu
- b.** İki tirozin radikali arasında etkileşimi sonucu
- c.** İki sistein-tiil radikalının reaksiyonu sonucu
- d.** Karbonil grubu içeren proteinlerin aynı veya farklı protein yan zincirindeki lizin bakiyeleri ile reaksiyonu sonucu
- e.** Reaktif aldehytlerin aynı veya farklı protein moleküllerinin lizin artıkları arasındaki reaksiyon sonrası
- f.** Glikasyon/glioksidasyon reaksiyonları sonucu karbonil grubuna sahip proteinlerin aynı veya farklı proteinlerin lizin veya arjinin artıkları ile reaksiyonu sonrası
- g.** Michael reaksiyonu ile lipit peroksidasyon belirteçlerinin, proteinlere eklenmesi sonucu oluşan protein aldehytlerin, aynı veya farklı proteinlerdeki lizin bakiyeleri ile reaksiyonu olarak sıralanabilir (136).

3.1.4.1.3 Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri

Serbest radikaller DNA' nın kimyasal modifikasyonu ile mutagenik etki göstermektedir. Özellikle OH• radikali, serbest radikallerin sebep olduğu bir takım değişimlere (DNA ayrılması, DNA-protein çapraz bağlanımı, pürinlerin oksidasyonu gibi) sebep olmaktadır. DNA onarım sistemi hemen DNA'yı rejenere etmezse replikasyon sırasındaki yanlış baz çifti mutasyonla sonuçlanacaktır. Bu

mekanizma oksidatif strese maruz kalmış kişilerdeki artmış kanser prevalansını açıklamaktadır.

Serbest radikal vasıtasıyla oluşan apoptozis bazı vakalarda serbest radikale bağlı DNA hasarının bir parçasıdır (133).

3.1.4.1.4 Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Glukoz, mannitol ve deoksisekalen $\text{OH}\cdot$ ile reaksiyon verirler. Glikozaminoglikan olan sinoviyal sıvının vizkozitesinde önemli rol oynayan hiyaluronik asit serbest radikallerle etkilenerek bağ dokusunun stabilitesinin bozulmasına ve sıvının vizkozitesinin kaybına neden olur (137).

3.2 Antioksidan Sistemler

Aerobik organizmalar oksijen toksisitesinden enzim sistemleri ve serbest radikal tutucuları gibi savunma mekanizmaları tarafından korunurlar. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler (Tablo 3).

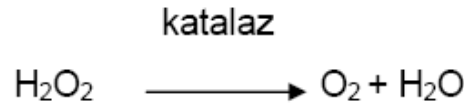
Tablo 3: Antioksidan Sistemlerde Yer Alan Moleküller (120).

1.Antioksidan Enzimler — Süperoksit Dismutaz — Katalaz — GSH – peroksidaz — GSH – redüktaz — GSH – S-transferazlar
2.Antioksidan proteinler — Seruloplazmin — Transferrin — Laktoferrin — Albumin — Haptogloblin
3.Düşük moleküler ağırlıklı antioksidan maddeler — GSH,NAD(P)H — α-Tokoferol — Askorbat,ürat — β-Karoten
5.Okside proteini parçalayan enzimler — Makroproteinazlar

Savunma mekanizmaları serbest radikal üretim hızı karşısında yetersiz kalınca serbest radikalin zararlı etkisi görülür. SOD, katalaz, Gp-x serbest radikal

birikimini önleyen başlıca enzimlerdir. SOD, O_2^- , katalaz ve Gp-x ise H_2O_2 'i metabolize ederler (116-117).

Katalaz, bütün bilinen organizmalarda bulunmaktadır. H_2O_2 'yi oksijen ve suya indirger. NADPH bağımlıdır (123,138-141).



GSH bilinen en önemli antioksidan olup, hücreleri oksidatif stresten koruma oldukça önemli bir role sahiptir (142-143).

Karaciğer GSH sentezi için oldukça önemli bir dokudur. GSH'ın yaklaşık %90' ı karaciğerde sentezlenmektedir (144).

GSH bağımlı antioksidan sistem Gp-x ve GR-x olarak iki enzim içerir. Bu sistem GSH'ın okside ve redükte formlarını içeren bir döngü ile çalışır (138).

Glutasyon peroksidaz, GSH bağımlı antioksidan sistemin bir kısmını oluşturur. GSH bağımlı sistem, hücre içindeki hidroperoksitleri indirgeyen temel mekanizmadır (145).

Enzimin selenyuma bağlı ve selenyumdan bağımsız iki tipi bulunmaktadır (123,139,145).

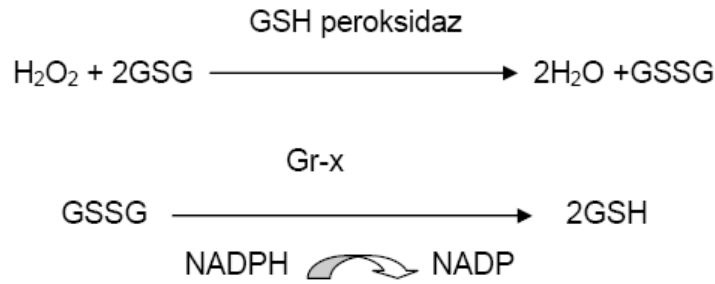
Selenyum bağımsız Gp-x organik peroksitleri detoksifiye edebilir ancak H_2O_2 'yi metabolize edemez (123,145).

Total enzim miktarının üçte ikisi sitozolde, üçte biri mitokondride bulunur. Gp-x enziminin en fazla bulunduğu bölgeler eritrositler ve karaciğerdir (145).

Glutasyon peroksidaz, H_2O_2 'yi suya indirger. Aynı zamanda lipid hidroperoksitlerini daha az reaktif olan hidroksi yağ asitlerine metabolize edebilir. Dolayısıyla membranları lipid peroksidasyonuna karşı korur (123,146).

Glutasyon peroksidazın H_2O_2 ve diğer hidroperoksitleri indirgemesi glutasyon Gr-x ve NADPH' a bağlıdır (123,139-141,145,147).

Okside glutasyon (GSSG), NADP⁺ üretilen Gr-x reaksiyonu ile redükte GSH' a çevirilir (147).



Canlıların yaşamı için glutasyonun redükte şeklinin GSH yüksek ve okside olan şeklinin (GSSG) ise düşük konsantrasyonda olması gerekir. Redükte form başlıca iki mekanizma ile oksidasyona karşı dokuyu korur. GSH, serbest radikaller için proteinlerin sülfhidril gruplarının oksidasyonu önlenir. Yüksek GSSG seviyesi, proteinleri inaktive edebilen glutasyon-protein-sülfhidril karışımını oluşturmak üzere reaksiyona girebilir, bu yüzden yüksek GSH ve düşük GSSG seviyesi önemlidir (148-149).

Kinetik incelemeler H_2O_2 'in daha çok Gp-x ile metabolize edildiğini göstermiştir. Çünkü katalaz aktivitesi hücrenin peroksizomları ile sınırlıyken Gp-x

tüm sitoplazmada bulunur ve oksidanlarla daha fazla reaksiyona girebilir (123,145).

Katalaz ve SOD başlıca membranın hidrofilik bölgelerinde etki gösterir. Gp-x ise hidrofobik membran komponentlerinde lipid peroksidasyona karşı indirekt koruyucu etki yapmaktadır. Dolayısıyla Gp-x, katalaz ve SOD'un kombine bulunduğu durumlarda serbest radikal ataklarına karşı hücre bütünlüğünün korunması daha etkili olmaktadır (140).

Bazı düşük molekül ağırlıklı bileşikler; karotenler, bilirubin ve ürik asit biyolojik antioksidanlar olarak fonksiyon görebilirler. Bu gruptakilerin en önemlileri askorbik asit (Vitamin C) ve α – tokoferol (Vitamin E)' dir. Askorbik asit suda çözünür ve doku kompartmanlarına hızla yayılır (138). Askorbik asit GSH ile birlikte sıvı fazdaki en önemli antioksidan olarak görülmektedir (123,141). α – tokoferol ve β karoten lipofilik zincir kıran antioksidanların başlıca örneğidir. Zincir kıran antioksidanlar $ROO^{\bullet}$ ve $RO^{\bullet}$ gibi lipid radikallerini tutarak oksijen veya yağ asidi ile birleşme yeteneğinde olmayan daha az reaktif türler oluşturarak lipid peroksidasyon hasarını önlerler (117,150-151).

4. EKSTRAKORPORAL DOLAŞIM, OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN SİSTEMLER İLİŞKİSİ

Ekstrakorporal dolaşımın amacı öncelikle sistemik homeostazisi sağlamaktır. Bunu da sistemik perfüzyonu, kanın oksijenlenmesini ve aynı zamanda da karbondioksitin elimine edilmesini sağlayarak gerçekleştirir. Ekstrakorporal sirkülasyon sistemi bu fonksiyonları gerçekleştirmek için pompa (yapay kalp), oksijenatör (yapay akciğerler), rezervuar, ısı değiştirici, filtre, kanüller ve bağlantı tüplerine sahiptir. KPB esnasında bu bölümlerden ve tüplerden kan akımı, gaz değişimi, kanın içinde dolaştığı nonendotelial yüzey ile etkileşimi ve bunun sonucunda retikuloendotelial sistem fonksiyonlarında meydana getirdiği etkiler sebebiyle kısmen ya da tamamen normal insan fizyolojisinde değişikliklere sebep olan bir takım yan etkiler görülür. Klinik uygulamalarda bu değişikliklere bağlı olarak başta nörolojik, renal, hematolojik, gastrointestinal sistem (GIS) fonksiyonları olmak üzere diğer birçok sistem ve organ bu işlemde etkilenmektedir (152).

Kardiyak cerrahiden sonra kompleman, makrofaj, nötrofil ve sitokinlerin aktivasyonu ile tanımlanan inflamatuvar yanıtın ana sebepleri; cerrahi manevralar, bypass devresinin yapay yüzeyi ile kan elemanlarının teması, aorta kross klemp konması, ve reperfüzyon hasarı olarak gösterilmektedir (153).

İskemi reperfüzyon sırasında oluşan O_2^- radikalleri kalpte doku hasarının önemli etmenlerindendir. Herhangi bir nedenle oluşan miyokardiyal hipoksi ve/veya iskemi sırasında ortaya çıkan serbest radikaller, sitokinler ve NO

iskeminin erken evresinde, nötrofil ve monositlerin intımayı infiltre ederek endotel hücrelerinde hasara neden olması sonucu ortaya çıkar ve lipid peroksidasyonunu indüklerler (154).

Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan MDA gibi lipid peroksidasyon ürünleri de miyokardiyal hasarda rol oynar. MDA ve karbonil grupları olarak oksidan olayların artışı, antioksidanların azalması reperfüzyonda belirgin olarak meydana gelen biyokimyasal olaylardır (155).

Miyokardın I/R hasarında SOR görölmesi moleküler oksijenin bir aracı olarak önemli role sahip olduğunu düşündürmektedir. Radikaller; yapısal proteinler, enzimler, membran lipidleri ve nükleik asitlere atak yaparlar. SOR'nin membran lipidleriyle etkileşmesi zincirleme reaksiyonlarla devam eden lipid peroksidasyonunu başlatarak; membran yapısının bozulmasına, permeabilite artışına, hücrenin iyon gradientinin sürdürülememesine ve doku hasarına yol açabilir (156).

Mitokondrial solunum zinciri, XO enzimi, lökosit aktivasyonu, Pg yolağı ve katekolamin oksidasyonu gibi kaynaklar SOR üretimine katkıda bulunabilir.

İskemi döneminde dokuda aerobik metabolizma kesintiye uğramakta, anerobik metabolizma etkin olmaktadır. Quinlan ve arkadaşları, KPB olgularında hem sıcak kan, hem de kristaloid kardioplejisi uygulaması sırasında iskemi döneminin sonunda alınan koroner sinüs kan örneklerinde hipoksantin seviyesinin arttığını göstermişlerdir (157). Carlucci ve arkadaşları da koroner arter bypass operasyonu yapılan olguların miyokard dokusunda iskemi döneminde ATP ve guanozin trifosfat (GTP) düzeyinin azaldığını, bununla beraber bu moleküllerin

katabolizma ürünlerinin biriktiğini göstermişlerdir (158). Hücresel hipoksinin membran proteinlerinde agregasyona, protein polarizasyonunda değişmeye ve membran permeabilitesinde artışa neden olduğu bildirilmektedir (159).

Bu bulgular iskemi döneminde nükleotitlerin fazla oranda katabolizmaya uğradığını göstermektedir. Ksantin oksidoredüktaz enzimi, hipoksantinin ksantine ve daha sonra ürik aside dönüşümünü katalizler. Ksantin oksidoredüktaz normal şartlarda dehidrogenaz formundadır ve enzimatik aktivitesinde kofaktör olarak okside nikotinamid adenin dinükleotit (NAD⁺) yer alır. Hipoksik koşullarda enzimin dehidrogenaz formu kısmi proteoliz, sülfidril oksidasyonu veya fosforilasyon sonucunda oksidaz formuna dönüşmektedir (160-161).

Enzimin oksidaz formu, aktivitesi sırasında elektron alıcısı olarak NAD⁺ yerine moleküler oksijeni kullanmakta, bunun sonucu olarak da O₂⁻ ve H₂O₂ üretimine yol açmaktadır.

Ekstrakorporal dolaşım esnasında oluşan iskemi-reperfüzyon hasarı ve inflamatuvar cevap ile bir çok ara yolla reaktif oksijen metabolitleri ortaya çıkmaktadır. İskemik dokuda ATP 5'nükleotidaz enziminin aktivasyonu sonucu sırası ile adenosin monofosfat (AMP) ve inozitol mono fosfat (IMP), adenosin, inozin ve hipoksantine kadar yıkılır. Bu arada hücredeki iyon dengesinin bozulması ile hücre içinde Ca²⁺ birikir. Bu birikim ve oluşan hipoksantin reperfüzyon dönemindeki reaksiyonu sonucu hücrede reaktif oksijen metabolitleri birikmeye başlar (162). ATP hidrolizi ile ROT prekürsörü hipoksantin, ksantin gibi pürin metabolitleri hücre içinde birikmektedir. Bu metabolitlerin reperfüzyon sırasında ksantin ile reaksiyonları, İ/R hasarından dokuya göre değişen

derecelerde sorumlu tutulan serbest radikallerin en önemli kaynağını oluşturmaktadır (71,81).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5. 1. Kullanılan Gereçler, Maddeler ve Denekler

Çalışma 30.05.08 ile 08.05.09 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda koroner bypass operasyonuna alınan yaşları 42 ile 70 arasında olan 22 hastada gerçekleştirildi. Deney öncesinde 26 Mayıs 2008 tarih ve 199 no'lu kararı ile Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul izni alındı .

Hastalar etik kuralları doğrultusunda yapılacak işlemlerle ilgili olarak bilgilendirildiler ve "Gönüllü Olur Formu"nu okuyarak katılmayı kabul edenler çalışmaya dahil edildiler . Araştırmaya katılan 10 kadın 12 erkek denegin yaş ortalaması $62,5 \pm$ idi ve olguların hepsi de 2 veya 3 damar hastalığı olan koroner arter hastalığı tanısı almış vakalardı.

Tablo 4: Çalışmaya Katılan Hastaların Özellikleri

Hasta sayısı	22
Kadın/Erkek Oranı	10/12
Yaş ortalaması (Yaş Aralığı)	$62,5 \pm$ (42-70)
Pompada kalma süresi ortalaması	83 dakika $\pm$ (46-129)
Aort Kross Klemp süresi ortalaması	36 dakika $\pm$ (21-54)

Hastalar kalp akciğer makinasına bağlanmadan önce uyutuldular. Anestezi indüksiyonu standardize edilerek, tüm hastalara 0.5 mikrogram/kg olacak şekilde remifentanyl ile sağlandı, 2 mg/kg propofol ile devam edildi, 0.1 mg/kg pankuronyum I.V. kas gevşetici olarak uygulandı. Entübe edilen hastalarda solunum volüm kontrollü respiratör ile devam ettirildi. (Tbird AVS-3, Model 15586-C; Bird Products Corp, Palm Springs, CA). Anestezinin sürdürülmesinde 0,25-0,50 mikrogram/kg/saat remifentanile, 2 mg/kg/saat propofol ve inhalasyon yoluyla izofluran (%0.4-1) uygulandı. Standart sternotomi sonrasında, asending aorta kanülasyonu ve iki aşamalı sağ atrium venöz kanülasyonu yapıldı. Antikoagülasyon heparin ile sağlandı (3.0 mg/kg) aktive edilmiş pıhtılaşma zamanı 400 ± 10 saniye olacak şekilde izlendi. Vücut ısı hafif hipotermiye ulaşmak için 28°C ile 32°C arasında düşürüldü. Tüm hastaları soğuk kan kardiyoplejisi uygulandı. Ekstrakorporeal oksijenizasyon membran oksijenatörü ile sağlandı. (Jostra VKMO 4200; Quadrox _ VHK 4200) ED için roller pompa kullanıldı ve devamlı akım uygulandı. (Stöckert, Munich, Germany) Total akım üst sınırı $\text{m}^2(\text{vücut yüzey alanı}) \times 2.4\text{lt}$ olacak şekilde ve yeterli organ perfüzyonunu sağlayacak şekilde ayarlandı.

KPB' da yapılan uygulamaların etkilerini aşamalı olarak gözlemleyebilmek ve karşılaştırabilmek için hastalardan 7 farklı evrede kan örnekleri alındı.

Evre I (A) : Yoğun bakımda (Operasyon öncesi)

Evre II (B) : Anestezi altında

Evre III (C) : Pompa girişi (Dolaşım pompaya girdikten sonra)

Evre IV (D) : AKE (Aorta Kros Klemp Edildiğinde)

Evre V (E) : AKK (Aort Kros Klemp Kaldırıldığında)

Evre VI (F) : Pompa çıkışı (Hastaların dolaşımı ED sisteminden çıktığında)

Evre VII (G) : Yoğun bakımda (operasyon sonrası)

Olguların ortalama pompada kalma süresi 83 dakika (en az 46 dk,en fazla 129 dk), ortalama aort kros klemp süresi 36 dakika (en az 21 dk,en fazla 54 dk) olarak hesaplandı.

Çalışmaya katılan hastalardan aşağıda sıralanan işlemler sırasında 8 mililitre kan örnekleri alındı. Kanlar Yoğun Bakımda (Operasyon öncesi) venöz sistemden , Anestezi Altında, Pompa Çıkışı veYoğun Bakım (operasyon sonrası) evrelerinde ise arteriyel sistemden alındı. Diğer evrelerde ise pompanın arteriyal hattından alındı.

Alınan örnekler 10 dk, 3000 rpm de santrifürlenerek plazmaları ayrıldı. Plazmada oksidan stresin göstergesi olan MDA , nitrit+nitrat (NOx) düzeyleri, antioksidan RSH düzeyleri spektrofotometrik yöntemle çalışıldı.

5. 1. 1. Kullanılan Laboratuvar Cihazları ve Kimyasal Maddeler

Laboratuvar Cihazları

- 1) Spektrofotometre (UV-1208 Shimadzu)
- 2) Homojenizatör (Hiedolph DiAx 900)
- 3) Soğutmalı santrifüj (MPW - 350)
- 4) Elektronik tartı (Sartorius basic)
- 5) Su banyosu (Guft DBS 12734)

6) Vorteks (Nüve NM 110-02488)

7) Mikropipet (10-100 Transferpette 01 Z 2517, 100-1000 Genex Beta CR 59389)

8) ELx 800 Bioelisa Reader

Kimyasal Maddeler

1) Triklorasetik asit (TCA, Sigma T-9759)

2) Bütilhidroksitoluen (BHT, Sigma B-1378)

3) Tiyobarbitürik asit (TBA, Sigma T- 5500)

4) Di tiyobis nitro benzoik asit (DTNB) (Sigma D-8130)

5) Vanadium (III) Klorid(VCl_3)

6) Sulfanilamid

7) Çinko sülfat (ZnSO_4)

8) NEDD(N-(1-Naphetyl) ethylenediamide dihydrochloride)

9) Sodyum hidroksit (NaOH)

5. 2. Tayin Yöntemleri

5. 3. 1. Plazmada TBARS Tayin Yöntemi

Plazmada lipid peroksid seviyesi Kurtel ve arkadaşlarının metoduyla tespit edildi (163). Lipid peroksidasyonu tiobarbituric asid reaktif maddeleri (TBARS) oluşumlarına bakılarak hesaplandı. Lipid peroksidasyon düzeyi MDA denkliğine bakılarak değerlendirildi. .

1) 500 µl plazma alındı, üzerine 1 ml TBA/TCA/HCL karışımı eklendi ve vortekslendi.

- 2) 5 dakika 10000 g'de santrifüj edildi, süpernatant cam tüplere alındı.
- 3) 10 µl BHT eklendi, tüplerin ağzı cam misketle kapatılıp 15 dk kaynatıldı, çeşme suyunda soğutuldu
- 4) Presipitasyon varsa 5 dk 10000 g'de santrifüj edildi
- 5) 532 nm'de okundu (kör distile su), sonuç: $19,2 \times \text{absorbans} = \text{nmol MDA/ml plazma}$ olarak hesaplandı.

5. 3. 2. Plazmada RSH Tayin Yöntemi

Plazma total sülfidril grupları (RSH) seviyesinin tespiti Kurtel ve arkadaşlarının metoduyla tespit edildi (163).

- 1) 500 µl plazma üzerine 1 ml 100 mM Tris HCl (pH: 8,2), %1 SDS, 2 mM EDTA eklendi.
- 2) Karışım 5 dk 25°C'de 12000 rpm'de santrifüj edildi, çökelti ayrıldı, solüsyona 0,3 mM 40 µl DTNB eklenerek 15-20 dk 37 °C'de inkübe edildi.
- 3) Absorbans 412 nm'de okundu, RSH $13000 \text{ ext coefficient}$ de molar, sonuç: $(3,18 \times \text{Absorbans})/0,0136 \text{ nmol/ml plazma}$ olarak hesaplandı.

5. 3. 3. Plazmada NOx Tayin Yöntemi

Nitrit + nitrat düzeyleri Miranda ve arkadaşlarının yöntemiyle çalışıldı (164).

1) 1 birim plazmaya 1 birim 0.3 M Sodyum hidroksit (NaOH) eklendi oda ısısında 5 dakika inkübe edilip karışıma 1 birim %10'luk Çinko sülfat (ZnSO₄) eklendi ve vortekslendi.

2) 14 000 RPM de 5 dakika santirfuj edildi.

3) Standart solusyonlar dilue edilerek hazırlandı.

4) Örneklerden 100µl alınarak ELİSA plağına yerleştirildi. Eş hacimde standart solusyonları da çukurlara yerleştirildi. Standart solusyonlar ve numunelerin üzerine NOx tayini için: 100µl vanadium III chloride (VCl₃) ve 100µl Griess reaktifleri (sulfanilamid, SULF 50µl + N-1-naphtyl, ethilenamin dihidroklorid, NEDD 50µl) ilave edildi. 37⁰C de yarım saat inkübe edildi.

5) Spektrofotometrik olarak 540 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.

5.4. İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçlar ortalama $\pm$ Standart Hata (SH) olarak verildi. Data grupları Windows 7.0 SPSS paket program kullanılarak evreler arası karşılaştırmalarda varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. İkili karşılaştırmalarda nonparametrik Mann Whitney U testi kullanıldı, $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

Ekstrakorporal dolaşım sırasında vücut dışında dolaşan kandaki oksidan ve antioksidan parametreleri incelediğimiz çalışmamızda, oksidan olayların göstergesi olarak MDA ve NOx düzeyleri ile antioksidan olarak fonksiyon gören RSH düzeyleri ölçüldü. Bu parametrelere ait bulgular toplu olarak tablo 5’ de gösterilmektedir.

Tablo 5 : Deneklerin KPB Evrelerindeki MDA, NOx ve RSH Değerleri

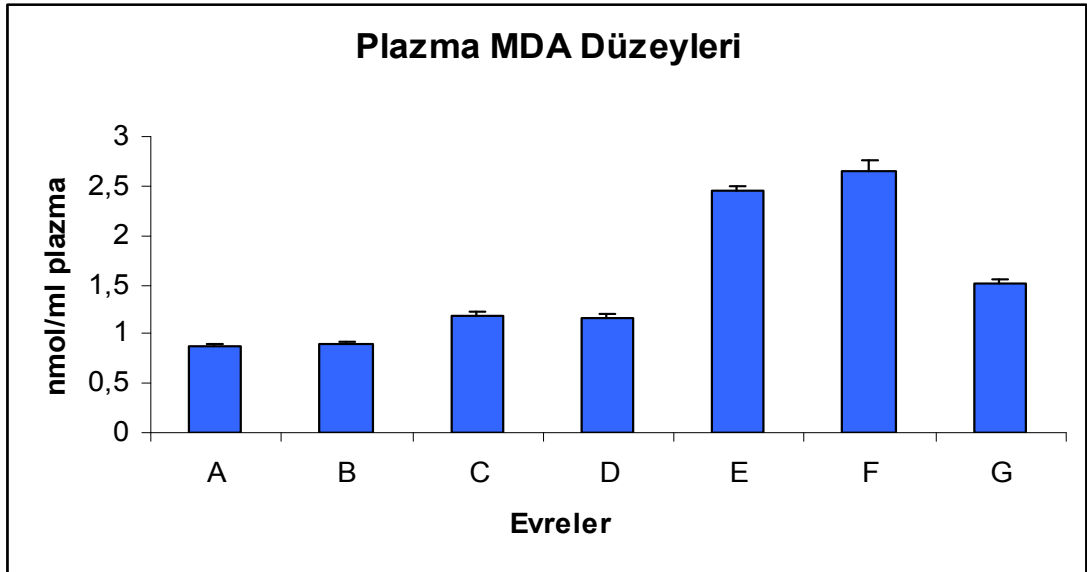
	A	B	C	D	E	F	G
MDA (nmol/ml plazma)	0,87±0,16	0,89±0,13	1,19±0,16	1,17±0,11	2,45±0,22	2,66±0,5	1,52±0,17
NOx (µmol/ml plazma)	4,22±0,8	4,26±0,74	5,45±0,97	6,18±1,13	7,86±1,38	11,02±2	5,88±1,2
RSH (nmol/ml plazma)	356,6±80,6	324,1±70	214,5±63,9	207,9±66,3	53,1±25,3	27,2±24,2	151,7±64,4

Evre I (A) :Yoğun Bakımda (Operasyon öncesi), Evre II (B) : Anestezi Altında, Evre III (C) : Pompaya Girince (Hastaların dolaşımı ED sistemine geçtiğinde), Evre IV (D) : AKE (Aorta Kros Klemp sonrası), Evre V (E) : AKK (Aort Kros Klemp kaldırıldığında), Evre VI (F) : Pompa ıkışı (Hastaların dolaşımı ED sisteminden çıktığında), Evre VII (G) : Yoğun Bakımda (operasyon sonrası)

6. 1. Plazma TBARS Düzeyleri (Grafik 1, Tablo 6)

Ekstrakorporal dolaşımın değişik evrelerine ait TBARS düzeyleri grafik 1, evreler arasındaki farkların istatistiksel karşılaştırılması tablo 6’ da gösterilmektedir.

Çalışmamızda operasyon öncesi yoğun bakım (A) ve anestezi (B) evrelerindeki MDA değerleri arasında bir fark görülmezken, bu 2 evre ile karşılaştırıldığında diğer dönemlerin MDA düzeylerinde anlamlı bir artış tespit edildi. Pompa girişi (C) ve aort klemplenmesi (D) evreleri de kendi aralarında MDA düzeyleri açısından anlamlı bir fark göstermedi. En belirgin artış pompa çıkışı (F) evresinde tespit edildi. Operasyon sonrası yoğun bakım (G) evresinde yapılan ölçümlerde MDA düzeyleri anlamlı belirgin bir düşme göstermesine rağmen operasyon öncesi yoğun bakım (A) ve anestezi (B) dönemindeki değerlerden yine de anlamlı yüksek olarak ölçüldü.



Grafik 1 : Plazma MDA Düzeyleri

A: Yoğun Bakımda (Operasyon öncesi), B: Anestezi Altında, C: Pompaya Girince, D: AKE (Aort Kros Klemp sonrası), E: AKK (Aort Kros Klemp Kaldırıldığında) F: Pompa çıkışı, G: Yoğun Bakımda (Operasyon sonrası)

Tablo 6 : Plazma MDA Düzeylerinin Evreler Arası Karşılaştırılması

EVRELER	A	B	C	D	E	F	G
A			***	***	***	***	***
B			***	***	***	***	***
C					***	***	***
D					***	***	***
E						**	***
F							***
G							

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

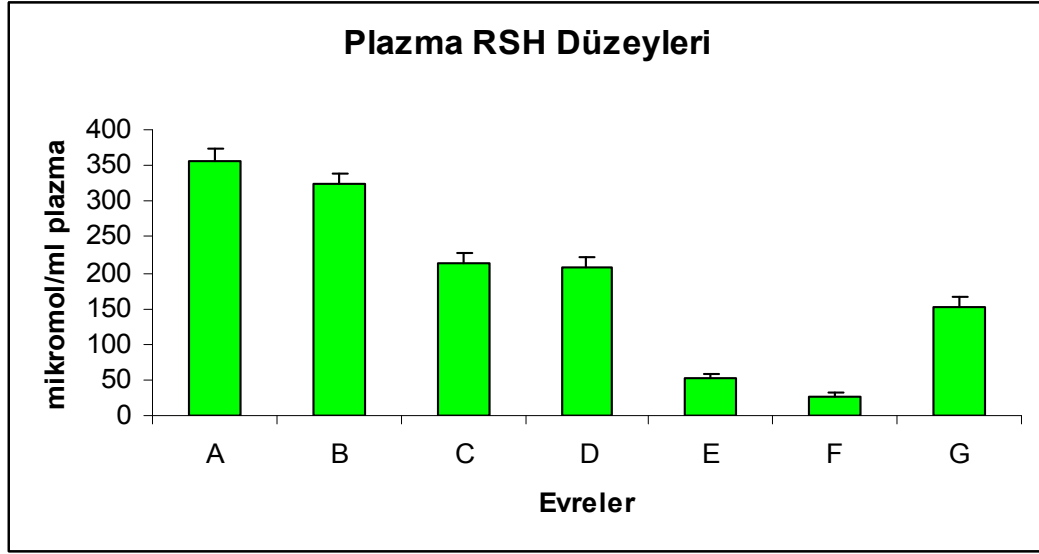
***: $p < 0.0001$

6. 2. Plazma RSH Düzeyleri (Grafik 2 Tablo 7)

Yapılan ölçümlere ait RSH düzeyleri grafik 2’de ölçümler arasındaki farkların istatistiksel karşılaştırılması tablo 7’ de görülmektedir.

Yapılan plazma RSH ölçümlerinde Preopratif Yoğun Bakım (A) ile Anestezi (B) evreleri arasında, Pompa Girişi (C) ile Aort Klemplenmesi (D) evreleri arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda anlamlı bir fark bulunamadı. Diğer evreler arası karşılaştırmalarda farklar anlamlı idi. GSH düzeyleri en fazla

Pompa Çıkışı (F) evresinde olmak üzere anlamlı olarak azalmış, Postoperatif Yoğun Bakımda (G) ise Pompa Çıkışına göre anlamlı olarak artmış görüldü.



Grafik 2 : Plazma RSH Düzeyleri

A: Yoğun Bakımda (Operasyon öncesi), B: Anestezi Altında, C: Pompaya Girince, D: AKE (Aort klemp edildiğinde), E: AKK (Aort klemp kaldırıldığında) F: Pompa Çıkışı, G: Yoğun Bakımda (operasyon sonrası)

Tablo 7 : Plazma GSH Düzeylerinin Evreler Arası Karşılaştırılması

EVRELER	A	B	C	D	E	F	G
A			***	***	***	***	***
B			***	***	***	***	***
C					***	***	**
D					***	***	**
E						**	***
F							***
G							

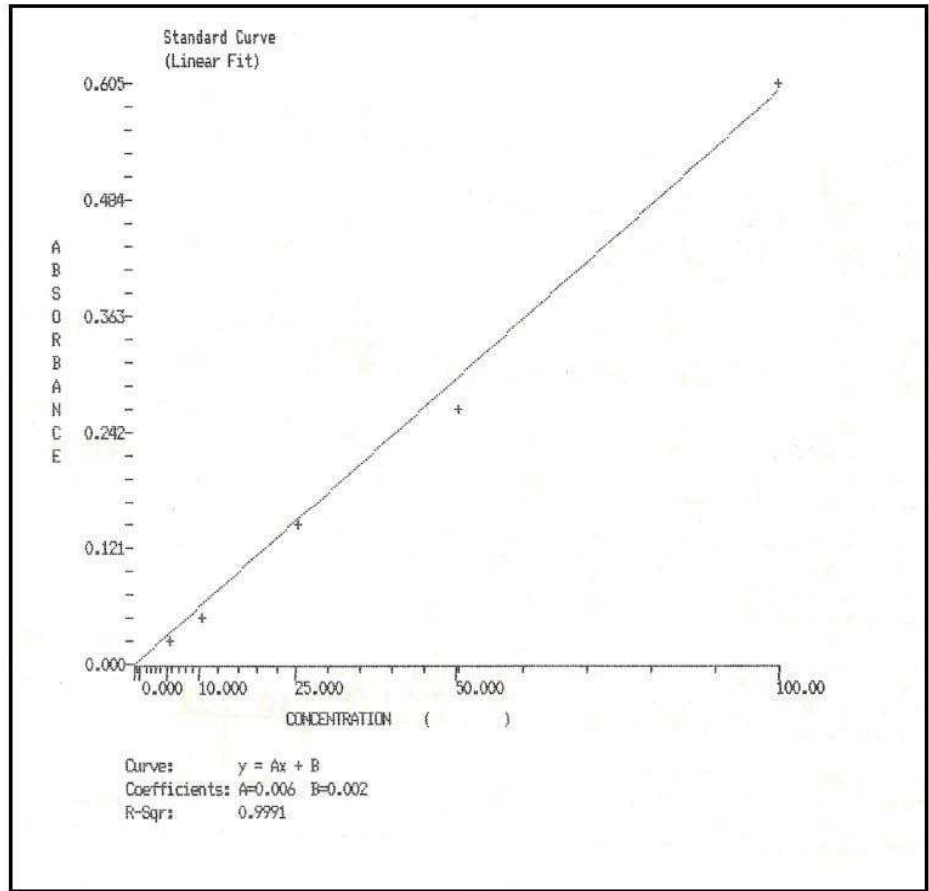
* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

***: $p < 0.0001$

6. 3. Plazma NOx Düzeyleri (Grafik 4, Tablo 8)

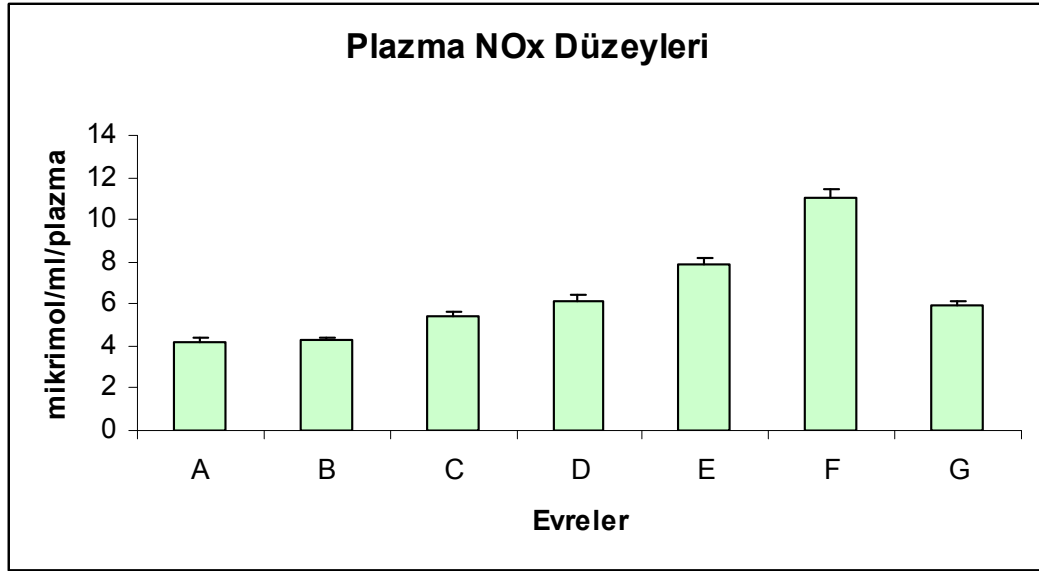
Yapılan ölçümlere ait NOx düzeyleri grafik 4’ de, NOx’in evreler arası istatistiksel karşılaştırılması tablo 8’ de görülmektedir.



Grafik 3 : NOx Tayininde Standart Solusyonlara Karşılık Gelen Absorbansların Oluşturduğu Doğrusal Regresyon Grafiği

İkili karşılaştırmalarda; Plazma NOx düzeylerinin Preoperatif Yoğun Bakım (A) ile Anestezi (B) evrelerinde ölçülen değerleri arasında, Pompa Girişi (C) ile Postoperatif Yoğun Bakım (G) evrelerindeki değerleri arasında ve Aort

klemplenmesi (D) ile Postoperatif Yoğun Bakım(G) evrelerinde ölçülen değerleri arasında anlamlı farklılık göstermediği saptandı. Diğer karşılaştırmalarda ise evreler arasındaki farklılıklar anlamlı bulundu. İşlem boyunca giderek artan NOx düzeyleri Pompa Çıkışında (F) en üst düzeye ulaştı ve Postoperatif Yoğun Bakım (G) evresinde anlamlı olarak düşme göstermesine rağmen preoperatif ölçüme göre yine de yüksekti.



Grafik 4 : Plazma NOx Düzeyleri

A: Yoğun Bakımda (Operasyon öncesi), B: Anestezi Altında, C: Pompaya girince, D: AKE (Aort Klemp Edildiğinde), E: AKK (Aort Klemp Kaldırıldığında) F: Pompa çıkışı, G: Yoğun Bakımda (operasyon sonrası)

Tablo 8 : Plazma NOx Düzeylerinin Evreler Arası Karşılaştırılması

EVRELER	A	B	C	D	E	F	G
A			***	***	***	***	***
B			**	***	***	***	***
C				*	***	***	
D					***	***	
E						***	***
F							***
G							

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

***: $p < 0.0001$

7. TARTIŞMA

KPB, kalp cerrahisi başta olmak üzere, solunum sistemi girişimlerinde, miyokardın desteklenmesini gerektiren ya da gaz değişiminin sağlanamadığı ağır akciğer hasarı olan durumlarda kullanılan, kalp ve akciğerlerin dolaşımın dışında bırakılma işlemidir. Bu yöntemle, kalp akciğer makinesi (pompa) aracılığı ile gaz değişimi vücut dışında oksijenatörler yardımıyla gerçekleştirilir ve kan diğer doku ve organların dolaşımını sağlamak üzere tekrar vücuda gönderilir (19). Burada amaçlanan sistemik dolaşım ve solunum işlevlerinin yerine getirilmesidir.

Bazı teorilere göre, doku hasarı, endotoksemi ve KPB esnasında kanın yabancı bir yüzey ile teması sistemik inflamatuvar yanıtı açan temel nedenlerdir. Buna rağmen, peroperatif dönemdeki inflamasyonun etyolojisi kadar patogenezi de hala tartışmalı bir konudur.

Literatürde KPB uygulamalarında ölçülen MDA düzeyleri artmakla beraber bu artışın uygulamanın farklı dönemlerinde olduğunu gösteren çalışmalar vardır.

Kardiyopulmoner bypas uygulanan olgularda iskemi sonunda reperfüzyonla beraber süperoksit radikal üretiminin ve MDA seviyesinin arttığı bildirilmektedir (165-166). Starkopf ve arkadaşları ise MDA seviyesinin operasyon başladıktan 15 dakika sonra artmaya başladığını , aortik çapraz klempin kaldırılmasından sonraki reperfüzyon dönemlerinde de yüksek MDA seviyesinin devam ettiğini bildirmişlerdir (167).

Cohen ve arkadaşları KPB'nin öncesinde ve KPB'nin bitiminden sonraki 1., 6., 24. ve 72. saatlerde total antioksidan kapasite ve lipid peroksidasyonunu

incelemişlerdir. Araştırmacılar total antioksidan kapasitedeki anlamlı düşüşün ve lipid peroksidlerindeki anlamlı artışın 1. saatte olduğunu ve iki parametrenin de 72. saatte normal değerlerine yaklaştığını gözlemlemişlerdir (168).

Başka bir çalışmada koroner bypass yapılan olgularda MDA seviyesinin sadece operasyondan sonraki ilk saatte yüksek olduğu; 6, 12 ve 24. saatlerde ise operasyon öncesindeki seviyelerine geri döndüğü bildirilmiştir (169).

Coghlan ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada ise sistemik dolaşımdaki TBARS düzeyindeki anlamlı artışın aortadaki kros klemin kaldırılmasından sonraki 2. ve 5. dakikalarda olduğu belirtilmiştir (170).

Berg ve arkadaşları oksidatif stresin belirteci olarak ölçtükleri 8-iso-PGF_{2α}'nın cerrahinin başlamasından sonra arttığını, ancak bu artışın KPB süresince ve aortik kros klemin kaldırılması sonrasında daha fazla yükselmediğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar oksidatif stresin multifaktoriyel olduğuna fakat en önemli nedenin cerrahi travma, daha az olarak KPB kaynaklı olaylar ve I/R'a bağlı olaylar olduğu sonucuna varmışlardır (171).

Çalışmamızda da MDA düzeylerinin dolaşımın ED sistemine girdiği andan itibaren artmaya başladığı ve bu artışın özellikle aortadaki kros klemin kaldırılması sonrasında meydana gelen reperfüzyonla ilişkili olarak hastanın pompadan çıktığı evrede maksimum düzeye ulaştığı, postoperatif yoğun bakım evresinde ise azalmaya başladığı görüldü. Artışın; dolaşımın ED pompasına girişiyle anlamlı olması kanın ED sistemindeki fizyolojik olmayan yüzeyler ile temasına bağlı inflamasyon ve diğer eş zamanlı olayların tetiklenmesi ile ilişkilendirilebilir. Pompa çıkışı evresinde ise en üst seviyeye çıkması literatürle

uyumlu olarak reperfüzyonun belirgin bir biçimde oksidatif stresi fazlası ile arttırması olarak yorumlanabilir.

İşlekel ve arkadaşları benzer hastalarda aortun klemplenmesinden itibaren GPx, GRx aktiviteleri ve GSH/GSSG oranında azalma, SOD aktivitesinde ise artış olduğunu bildirmişlerdir (172). İnal ve arkadaşları ise kardiyak cerrahi uygulanan olgularda SOD ve GRx aktivitesinde artış, katalaz aktivitesinde azalış, glutatyon ve GSH-Px düzeyinde değişiklik olmadığını bildirirken, oksidan hasar geliştiğine de dikkat çekmişlerdir. Oksidatif stresin derecesi, oksidan moleküllerin oluşum hızı ve antioksidan moleküllerin toplam etki gücü ile belirlendiği için, antioksidan moleküllerden birisinin incelenmesi net olarak oksidan stresi göstermekte yetersiz kalabilmektedir (166,173).

Luyten ve arkadaşları yaptıkları çalışmada KABG uygulanan hastalarda ED'nin 10 dakikasında, ED'nin sonunda ve cerrahi sonrasında GPx ve SOD enzimleri ile birlikte total antioksidan kapasiteyi de incelemişlerdir. Bu ölçümlerde oksidan parametrelerin ED'nin sonunda, antioksidan kapasitenin ise ED'nin 10. dakikasında en yüksek düzeyde olacak şekilde arttığı saptanmıştır (174).

Carlucci ve arkadaşları ise benzer çalışmalarında iskemik periyod döneminde hücrel NAD, GSH seviyelerinde ve plazma nitrat, nitrit ile GPx düzeylerinde azalma gözlemlemişlerdir. Reaktif oksijen metabolitlerinde anlamlı bir fark bulamayan araştırmacılar, ET1 düzeyinin reperfüzyon sonrası 30. dakikada arttığını bildirmişlerdir (158).

Cerrahinin başından itibaren ve sonrasında total antioksidan kapasitenin azalmış, oksidatif stres indeksinin ise artmış olduğunu gözlemleyen Kunt ve arkadaşları, aortadaki kros klemp periyodu ile total antioksidan kapasitenin azalması arasında negatif korelasyon olduğunu ileri sürmüşlerdir (175).

Araştırmalarda antioksidan sistemlerin incelenmesinde değişik parametrelerin kullanılmasına bağlı olarak farklı bulgulara ve değerlendirmelere rastlanabilmektedir (176-177). Çalışmamızda glutatyon değerlerinin göstergesi olan total sülfidril grupları ölçülmüştür. Deneklerimizde pompaya giriş evresi ile birlikte RSH düzeylerinin anlamlı olarak azalmaya başlaması ve pompadan çıkış evresinde bu düşüşün en üst düzeye ulaşmış olması dikkat çekmiştir. Bu bulguların uygulama sırasındaki cerrahi travmaya ve ED’deki yapay yüzeylerin kan ile temasında açığa çıkan ROT’nin etkisinin azaltılması ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. ROT kardiyak cerrahi sırasında ve sonrasında morbidite ve mortaliteyi etkileyebilir. Literatürde antioksidan destekli çalışmalarda olumlu sonuçların bulunması bulgularımızı doğrulamaktadır (178). Fakat hangi antioksidanın hangi dozda kullanılacağı veya GSH gibi endojen antioksidanların etkin bir biçimde nasıl güçlendirilebileceğine dair henüz yeterli çalışma yapılmamıştır.

Yakın zamanda açık kalp cerrahisinde incelenmekte olan parametrelerden birisi de NO’dir. Bazal koşullar altında NO’nun direkt ölçümü çok zordur. Çünkü NO’nun yarı ömrü çok kısadır ve radikal karaktere sahiptir (179).

Ekstrakorporal dolaşım sırasında NO seviyelerinin arttığı bazı yazarlar tarafından gösterilmiştir (180-181).

Clermont ve arkadaşları KABG yapılan hastalarda plazma NOx düzeylerini kros klembin sonunda ve myokardial reperfüzyon boyunca artmış olduğunu tespit etmişler ama artışı anlamlı bulmamışlardır (182).

Sharma ve arkadaşları da benzer hastalarda bypas öncesi, kros klemp sonrası 30. dakika da (iskemi) ve klemp kaldırıldıktan 10 dakika (reperfüzyon) sonra koroner sinüs kan örneklerini inceledikleri çalışmalarında, reaktif nitrojen ara ürünlerinin iskemi evresinde yükseldiğini fakat asıl anlamlı artışın reperfüzyon evresinde meydana geldiğini belirtmişlerdir (183).

Ruvolo ve arkadaşları KPB sırasındaki işlemlerde NO yapımının arttığını öne sürmüşlerdir (184). Brett ve arkadaşları ise KPB boyunca plazmada NOx ve solunum yolunda NO düzeyinin değişmediğini bildirmişlerdir (185).

Plazma NOx düzeylerini en son inceleyen gruplardan birisi de Viaro ve arkadaşlarıdır. Araştırmacılar KPB’da NOx ile, “scavenger”ı olan hemoglobin ve “doku perfüzyon biyomarker”ı olan plazma laktat düzeyleri arasında korelasyon olmadığını bildirmişlerdir. Viaro ve arkadaşları iNOS aktivasyonunun sitokin artışından 24 saat sonra başladığını gösteren çalışmalar (186) nedeniyle KPB süresince NO artışının inflamatuvar yanıtın göstergesi olamayacağı sonucuna varmışlardır (187).

Fakat KPB’da toraksın açılması ile pompaya bağlanma arasında geçen yaklaşık 30 dakikalık hazırlık evresinde yapılan cerrahi işlemlerin inflamatuvar yanıtları tetiklemiş olması beklenebilir (188). Ayrıca pompa evresinde eritrositlerde meydana gelebilecek değişikliklerinde NO artışına etkileri olabilir (189).

KPB ve hemodiyalizde sıklıkla meydana gelen hipotansiyonun mekanizmasına açıklık getirmek amacı ile Fischer ve arkadaşları KABG ve kapak replasmanı yapılan hastalarda KPB'nin 0, 20, 40, 60, ve 80 dakikalarında alınan kan örneklerinde eritrosit eNOS aktivasyonuna bakmışlar ve eNOS aktivasyonunun lineer olarak önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir. Bu bulgulara dayanarak eritrositlerin KPB süresince NO salınımı yoluyla hipotansiyona katkıda bulunabileceğini belirten araştırmacılar, ED'nin yarattığı mekanik stresin eritrositlerdeki eNOS'u "translokasyon" yolu ile aktive ettiği sonucuna varmışlardır. Bu aktivasyonun sitoplazmik membrana bağlı durumdaki eNOS'un sitozole geçişi ile olabileceğini ileri sürmüşlerdir (189).

Diğer taraftan Cosby ve arkadaşları eritrositlerin reversibl olarak nitrit ile bağlanarak S-nitrosohemoglobin veya nitrosilhemoglobin formlarında taşınabildiğini ve hemoglobinin nitrit redüktaz gibi fonksiyon göstererek NO oluşturabileceğini tespit etmişlerdir. Kleinbongard ve arkadaşları da onları destekleyecek şekilde kardiyovasküler sistem içinde eritrositlerin aktive ve fonksiyonel eNOS eksprese ettiğini göstermişlerdir (190-191).

Ayrıca ED sırasında shear strese bağlı trombosit aktivasyonu ve serotonin salgısına bağlı vazodilatasyonda da NO salınımının aracı olduğu gösterilmiştir (192-193).

Bulgularımız KPB'da pompaya giriş evresinden itibaren NOx düzeylerinin arttığını bildiren çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Ölçümlere göre NOx pompadan çıkış evresinde en yüksek düzeyine ulaşırken operasyon sonrası yoğun bakım döneminde azaldı. Fakat değerlerin operasyon öncesi yoğun bakım ve

anestezi evrelerindeki göre de yüksek olduğu saptandı. NOx değerlerine KPB sırasında yapılan işlemlerle damar duvarının mekanik olarak uyarılması ve ED'in yarattığı mekanik stresin eritrositlerdeki eNOS'u aktive etmiş olabileceği, kanın "bypass" sırasında yabancı yüzeyle temasının da önemli katkılarının olduğu kanısına varılmıştır.

8. SONUÇ

Çalışmamızdaki oksidan ve antioksidan parametreler ile ilgili sonuçlarımız literatür ile uyumlu görünmektedir. Bulgularımıza göre ED'nin başlaması ile birlikte MDA ve NOx düzeylerinde yükselme, RSH düzeylerinde ise azalma görülmektedir. NO sonuçlarımızda ilgili olarak yaptığımız yorumların doğrulanabilmesi için ise NOS düzeylerinin, eritrositlerde S-nitrosohemoglobin veya nitrosilhemoglobin düzeylerinin de ölçüldüğü daha ileri çalışmalara gereksinim olduğu saptandı.

9. KAYNAKLAR

1. Laffey JG, Boylan JF, Cheng DHC. The systemic inflammatory response to cardiac surgery. *Anesthesiology* 97; 215-52, 2002.
2. Sablotzki A, Dehne MG, Mann V, Görlach G, Mühling J, Zickmann B. Plasma levels of selectins and interleukins in cardiovascular surgery using cardiopulmonary bypass. *Thorac Cardiovasc Surg* 47;26-31,1999.
3. Paparella D, Yau TM, Young E. Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *Eur J of Card-Thorac Surg* 21;232-44, 2002.
4. Larmann J, Theilmeier G. Inflammatory response to cardiac surgery: cardiopulmonary bypass versus noncardiopulmonary bypass surgery. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2004 Sep;18(3):425-38.
5. Grawlee GP, Hornick P. Cardiopulmonary bypass principles and practise. Immune and inflammatory responses after cardiopulmonary bypass. 2000
6. Brix- Christensen V. The systemic Inflammatory response after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass in children. *Acta Anaesthesiol Scand* 45; 671-9, 2001.
7. Çelebioğlu B., Özer E. Kardiyopulmoner by-pass ve sistemik inflamatuvar yanıt *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004; 35:18-26
8. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass, mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 112; 676-92, 1997.

9. Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü 9.Baskı Kocatürk U. 2000 s.128
10. Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü 9.Baskı Kocatürk U. 2000 s.306
11. Dr. Uğur GÖÇEN Uzmanlık Tezi Konjenital Açık Kalp Ameliyatlarında Perioperatif Serum Laktat ve Kreatinin Seviyelerinin Postoperatif Sonuçlarla Korelasyonu Available from : URL <http://library.cu.edu.tr/tezler/7554.pdf>
12. Glenn's Thoracic and Cardiovascular Surgery. Editor:Arthur E. Bave. Six Edition Volume 2. 1996
13. Melrose DG A history of cardiopulmonary bypas. In: Taylor KM editor Cardiopulmonary bypas.London Chapman and Hall Ltd; 1986.p.1-7
14. Livesey SA, Lennox SC. Historical aspects. In: Kay PH editor. Techniques in extracorporeal circulation. Oxford: Butterworth-Heinemann Ltd; 1992. p.1-8
15. Stephson LW. History of cardiac surgery. In: Cohn LH, Edmunds LH, Jr editors. Cardiac surgery in adults. New York: Mcgraw-hill Medical Publishing Division; 2003. p3-31
16. Miller GW. King of Hearts: The True Story of the Maverick Who Pioneered Open Heart Surgery. Crown, 2000
17. Duran E. Dünyada kalp damar cerrahisinin tarihçesi. In: Duran E editor. Kalp Damar Cerrahisi. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004.s.3-13

18. Tokcan A, Yalınız H. Türkiye’de kalp cerrahisinin tarihçesi. In: Duran E editor. Kalp Damar Cerrahisi. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004.s.13-21
19. Esener Z. Klinik anestezi. Ed. Esener Z. Kardiyopulmoner bypass, ekstrakorporeal dolaşım. 2. baskı İstanbul: Logos Yayıncılık; 1997. s. 293
20. Nyhan D, Johns RA. Miller’s anesthesia. Ed. Miller RD. Anesthesia for cardiac surgery procedures, cardiopulmonary bypass. 6th edition Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005. p. 1071-2
21. Gravlee GP, Davis RF, Kurusz M, Utley JR: Cardiopulmonary Bypass: Principles and Practice, 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
22. <http://www.gata.edu.tr/cerrahibilimler/kalpdamar/kalp-akciger.html>
23. Demirkılıç U. Ekstrakorporal Dolaşım 2006 s184-190
24. Khonsari S, Sintek CF. Cardiac Surgery: Safeguards and Pitfalls in Operative Technique. 3th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2003
25. Hessel EA, Hill AG. Circuitry and cannulation techniques. In: Gravlee PE, Davis RF, Kurusz M, Utley JR. Cardiopulmonary bypass: principles and techniques. 2nd edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000 p.69-97
26. Demirkılıç U. Ekstrakorporal Dolaşım 2006 s17
27. Leschinsky BM, Zimin NK: Centrifugal blood pumps-a brief analysis: development of new designs. Perfusion 1991; 6:115-21

28. Bemstein EF, Gleason LR: Factors influencing hemolysis with roller pumps. *Surgery* 1967; 61 :432-5
29. Wright G: Hemodynamic analysis could resolve the pulsatile blood flow controversy [current review]. *Ann Thorac Surg* 1994; 58: 1199-28.
30. Laufer N, Merin G, Grower NB, et al. The influence of cardiopulmonary bypass on the size of human platelets. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975, 70:727-73
31. Hasbimoto K, Horikoshi H, Miyamoto H, et al. Mechanisms of organ failure following cardiopulmonary bypass: the role of elastase and vasoactive mediators. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992, 104:666
32. Kleinschmidt S, Baver M, Grundmann U, et al. Effect of gamma-hydroxybutyric acid and pentoxifylline on kidney function parameters in coronary surgery interventions. *Anaesthesiol Reanim* 1997;22:102-107.
33. Pridjian AK, Bove EL, Bolling SF, et al. Developmental differences in myocardial protection in response to 5'-nucleotidase inhibition. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;107:520-6
34. Demirkılıç U. *Ekstrakorporal Dolaşım* 2006 s394
35. *Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü* 9.Baskı Kocatürk U. 2000 s.428
36. Royson D, Fleming JS, Desai JB, et al. Increased production of peroxidation products associated with cardiac operations: Evidence for free radical generation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 91:759.

37. Faymonville ME, Deby-Dupont G, Larbuisson R, et al. Prostaglandin E2, Prostacyclin, and thromboxane changes during non-pulsatile cardiopulmonary bypass in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;91:858
38. Hamilton C, Stein J, Seidler R et al. Testing of heat exchangers in membrane oxygenators using air pressure. *Perfusion* 2006, 21 (2): 105-7
39. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, et al. Complications and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983;86:845
40. Kawahito K, Kawakami M, Fujiwara T, et al. Interleukin-8 and monocyte chemotactic activating factor responses to cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995, 110:99- 102
41. Kappelmayer J, Bernabei A, Edmunds LH Jr, Edgington TS, Colman RW.. Tissue factor is expressed on monocytes during simulated extracorporeal circulation. *Circ Res* 1993, 72: 1075- 1081
42. Hill CS, Treisman R. Transcriptional regulation by extracellular signals: mechanism and specificity. *Cell* 1994, 80: 199-211
43. Smith EEI, Naftel DC, Blackstone EH et al. Microvascular permeability after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987, 94:225
34. Smith EEJ. 1987 kitap 33
44. Co Iman RW. Surface mediated defence reactions. The plasma contact activation system. *J Clin Invest* 1984, 73: 1249

45. Ziats NP, Pankowsky DA, Tiemey BP, et al. Adsorption of hageman factor (factor XII) and other plasma proteins to biomedical polymers. *J Lab Clin Med* 1990, 116:687
46. Royston D. Preventing the inflammatory response to open-heart surgery: the role of aprotinin and other protease inhibitors. *Int J Cardiol* 1996, 53 (suppl), S i 1-37
47. Pober JS, Cotran RS. Cytokines and endothelial cell biology. *Immunol Rev* 1990, 76:427- 48
48. Pixley RA, Cassello A, De La Cadena RA, et al. Effect of heparin on the activation of factor XII and the contact system in plasma. *Thromb Haemost* 1991, 66:540
49. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med* 1981, 304:497
50. Cavarocchi NC, Schaff HY, Orszulak TA, et al. Evidence for complement activation by protamine-heparin interaction after CPB. *Surgery* 1985, 98:525-530
51. Demirkılıç U. Ekstrakorporal Dolaşım 2006 s29-31
52. Bokoch GM: Chemoattractant signalling and leukocyte activation. *Blood* 1995;86:1649-60.
53. Butler J, Chong GL, Baigrie RJ, et al. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation. *Ann Thorac Surg* 1992, 53:833-8

54. Hennein HA, Ebba H, Rodriquez IL, et al. Relationship of the preinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Sur* 1994 108:626-635
55. Markewitz A, Faist E, Lang S, et al. Successful restoration of cell-mediated immune response after cardiopulmonary bypass by immunomodulation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993, 105:15-24
56. De Vecchi, E., Pala, M.G., Di Credico, G., Agape, V., Paolini, G., Bonini, P.A., Grossi, A., Paroni, R. (1998) Relation between left ventricular function and oxidative stress in patients undergoing bypass surgery. *Heart*. 79 (3), 242-247.
57. Hearse, D.J., Humphrey, S.M., Chain, E.B. (1973) Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release. *J. Mol. Cell Cardiol*. 5 (4), 395-407.
58. McCord, J.M. (1985) Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med*. 312 (3), 159-163.,
59. Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L., McCord, J.M., Harman, D. (1987) Oxygen radicals and human disease. *Ann. Intern. Med*. 107 (4), 526-545.
60. Flaherty, J.T., Zweier, J.L. (1991) Role of oxygen radicals in myocardial reperfusion injury: experimental and clinical evidence. *Klin. Wochenschr*. 69 (21-23), 1061-1065.

61. Yao, Z., Tong, J., Tan, X., Li, C., Shao, Z., Kim, W.C., vanden Hoek, T.L., Becker, L.B., Head, C.A., Schumacker, P.T. (1999) Role of reactive oxygen species in acetylcholine-induced preconditioning in cardiomyocytes. *Am. J. Physiol.* 277 (6 Pt 2), H2504-2509.
62. Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü 9.Baskı Kocatürk U 2000 s.443
63. Siemionow M, Arslan E.: Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*, 24, 468-475 (2004)
64. Winyard PG, Morris CJ, Winrow VR, Zaidi M, Blake DR. In: Rice-Evans CA, Burdon RH. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Press,1994; 361-81.
65. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *British J of Surgery* 1994; 81: 637-647
66. Lin E, Lowry SF, Calvano SE. The systemic response to injury. Schwartz SI (ed), *Principles of Surgery*. Mc Graw-Hill 7th Edition 1999; Vol I: 13-32.
67. Semenza GL. Cellular and molecular dissection of reperfusion injury ROS within and without. *Circ Res.* 2000;86: 117-118.
68. Basım S. Alt ekstremitede iskemi-reperfüzyon olusturulan ratlarda ginkgo biloba egb 761'in barsak anastomoz iyilesmesi üzerine etkisi [online] 2005 [cited 95 2005] Available from : URL : http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/genel_cerrahi/dr_serdar_basim.pdf
69. Siesjö BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia part I: Pathophysiology. *J Neurosurg* 1992; 77:169-84

70. Siesjö BK. Historical overview. Calcium, ischemia, and death of brain cells. *Ann NY Acad Sci* 1988; 522: 638-61
71. İslkel H. Biochemical mechanism and tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion [online] 2000 [cited 2005] Available from : URL : <http://med.ege.edu.tr/~norolbil/2000/NBD09100.html>.
<http://med.ege.edu.tr/~norolbil/2000/NBD09200.html>.
72. Symon L. The scientific basis of cerebral infarction. In: Suzuki J. *Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke, Sendai, Springer-Verlag Press, 1987; pp.237-9.*
73. Siesjö BK, Katsura KI, Zhao Q, Folbergrova J, Pahlmark K. Mechanisms of secondary brain damage in global and focal ischemia: a speculative synthesis. *J. Neurotrauma* 1995; 12 (5): 943-56.
74. Garcia JH. and Anderson ML. *Physiopathology of cerebral ischemia. CRC Critical Reviews in Neurobiology, 1989; 4 (4): 303-24*
75. Kilgore KS, Lucchesi BR. Reperfusion injury after myocardial infarction: The role of free radicals and the inflammatory response. *Clin Biochem*; 26:359–70, 1993.
76. O'Donnell VB, Eiserich JP, Chumley PH, Jablonsky MJ, Krishna NR, Kirk M, Barnes S, Darley-Usmar VM, Freeman BA. Nitration of unsaturated fatty acids by nitric oxide derived reactive nitrogen species peroxynitrite, nitrous acid, nitrogen dioxide and nitronium ion. *Chem Res Toxicol* 1999; 12:83-92

77. White BC, Grossman LI, Krause GS. Brain injury by global ischemia and reperfusion: a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurology*; 43,1656–65, 1993.
78. Schmidley JW. Free radicals in central nervous system ischemia *Stroke* 1990; 21 (7): 1086-90.
79. Katsura K, Rodriguez de Turco EB, Folbergrova J, Bazan NG, Siesjö BK. Coupling among energy failure, loss of ion homeostasis and phospholipase A2 and C activation during ischemia. *Neurochem* 1993; 61: 1677-84.
80. Mc Cord JM. Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-61.
81. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkey GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*. 1991; 161: 488-502.
82. Morimoto K, Yanagihara T. Cerebral ischemia in gerbils: polyribosomal function during progression and recovery *Stroke* 1981; 12: 105-10
83. İlekel H, İlekel S, Güner G. Lizozomal proteolitik aktivitenin beyin dokusunda penumbral ve derin iskemi-reperfüzyonunda karşılaştırılması *Ege Tıp Dergisi* 1998; 37(3-4): 163-6.
84. Frei B. Molecular and biological mechanisms of antioxidant action *FASEB J* 1999 ; 13:963-4
85. Zimmerman B. J., Granger N.: Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 72:65-83, 1992.

86. Carden D. L., Granger D. N.: Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. J Pathol, 190: 255-66, 2000.
87. Chamoun F., Burne M., O' Donnell M., Rabb H.: Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. Front Biosci 5: E103-E109, 2000.
88. Ozel Y. Ratlarda karaciger iskemi/reperfüzyon hasarında grape seed proanthocyanidin koruyucu etkilerinin incelenmesi 2006 Available from : URL: http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/genel_cerrahi/dr_yahya_ozel.pdf.
89. Kuzu MA, Köksoy C, Kale _T, Tanık A, Terzi C, Elhan AH, Reperfusion injury delays healing of intestinal anastomosis in a rat. Am J of Surgery 1998; 176:348-351.
90. Birincioglu M. İskemi-reperfüzyon tekniklerine genel giriş [online] 2005 [cited 2005] Available from : URL : <http://www.ctf.edu.tr/farma/tfd/gaziantepbirincioglu.pdf>
91. Kloner RA, Bolli R, Marban E, Reinlib L, Braunwald E. Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop. Circulation. 1998;97(18):1848-67.
92. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. Circulation. 2001;104(24):2981-9. part 2. Circulation. 2001;104(25):3158-67.
93. Collard C.D., Gelman S.: Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. Anest. 94: 1133-1138, 2001.

94. Kandilci HB. Akcigerlerde iskemi-reperfüzyon hasarı ve iskemik önkosullanma [online] 2005 [cited 2005 June 15] Available from : URL : http://www.eczfakder.hacettepe.edu.tr/Arsiv/EskiDergiler/01_2005/35-01-2005.pdf.
95. Terzi C, Kuzu A, Tanık A, Kale T, Aslar K, Elhan A. Sıçanlarda intestinal iskemi modelinde profilaktik kısa ve uzun süreli yüksek doz Allopurinol kullanımının mortaliteye etkisi. Klinik ve Deneysel Cerrahi 2000, 8;1: 10-16
96. Hall ED, Wolf DL. A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanisms of post-traumatic spinal cord ischemia. J Neurosurg 64; 951–961, 1986.
97. Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory aminoacids as a final common pathway for neurological disorders. N Eng J Med 330: 613–622, 1994.
98. Bkaily, G., D’orleans-Juste, P. (1999) Cytokine – induced free radicals and their roles in myocardial disfunctions. Cardiovascular Research. 42: 576-577.
99. Nurzen Sezgin, Alpay Turan Sezgin, Hakan Güllü, Aysun Karabulut, Fatma Özyalın, Ergün Topal, Engin M. Gözükara The Effects of Cytokines, Nitric Oxide and Superoxide Dismutase on Myocardial Function. Turk J Biochem 2004; 29 (2); 178-182.
100. Gaballa MA. (1999) Effects of endothelial and inducible nitric oxide synthases inhibition on circulatory function in rats after myocardial infarction. Cardiovascular Research. 42: 627-635.

101. Terada LS. Hypoxia-reoxygenation increases O₂-. efflux which injures endothelial cells by an extracellular mechanism. *Am J Physiol* 1996;270(3 Pt 2):H945-50.
102. Vento AE, Ramö OJ, Nemlander AT et al. Nitecapone is of benefit to functional performance in experimental heart transplantation. *Res Exp Med* 1997;197:137-146.
103. Farber JL. Membrane injury and calcium homeostasis in the pathogenesis of coagulative necrosis. *Lab Invest* 1982;47:114
104. Tauber AI, Babior BM. Neutrophil oxygen reduction: The enzymes and the produceds. *Adv Free Rad Biol Med* 1985; 1:265
105. Abbate A, De Falco M, Morales C, et al: Electron microscopy characterization of cardiomyocyte apoptosis in ischemic heart disease. *Int J Cardio* 2007; 114:118
106. Vinten-Johansen J, Zhao Z-Q. Adenosine: Cardioprotection and Clinical Application. In: Mentzer, Kitakaze, Downey, Hori, eds. Kluwer Academic Publishers 1997:49-70.
107. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic post-conditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 2: H579-H588
108. Chenoweth DE. Pathophysiology and techniques of cardi opulmonary bypas. In: Utley, Betleski, eds. 2 ed. Baltimore: Williams & Wilkins 1983: 49-60
109. Flitter WD Free radicals and myocardial reperfusion injury. *Br Med Bull.* 1993; 49:1456-1462

110. Halliwell B. Guttridge JMC. Free radicals in biology and medicine, 2nd ed., Oxford, Clarendon Press, 1995.
111. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi , YYU Vet Fak Derg. 2004; 15 (1-2):91-96
112. Uysal M. Serbest radikaller, lipit peroksitleri organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. Klinik gelişim. 1998; 11: 336-341
113. Nakazawa H, Genka C, Fujishima m. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. Jpn J Physiol. 1996; 46: 15-32
114. Barnett AH. Origin of the microangiopathic changes in diabetes. Eye 1993; 7:218-22.
115. Gey KF. Prospects for the prevention of free radical disease. Regarding cancer and cardiovascular disease. Br Med Bull 1993; 49:679-99.
116. Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. Biochem Cell Biol. 1990;68:989-98.
117. Weiss SJ. Oxygen, ischemia and inflammation. Acta Physiol Scand 1986; 548(Suppl):9-37
118. Bingöl, F., Aydın S. Açıkgoz Ş. Serbest Radikaller ,Ankara Hastanesi Tıp Dergisi, 1993; 28(2), 1-23
119. Gilbert D.L.: Fifty Years of Radical Ideas in Reactive Oxygen Species, Ed Chiueh C.C. , Ann. N. Y. Acad. Sci. , 2000; 899:1-14
120. Frenkel, K.: Carcinogen-mediated oxidant formation and oxidative DNA damage, Pharmacol. Ther. 1992; 53, 127-166.

121. Schoenberg MH, Beger HG. Oxygen radicals in intestinal ischemia and reperfusion. *Chem Biol Interactions* 1990; 76:141-61.
122. Dröge, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function, *Physiol Rev* . 2002; 82, 47-95
123. Fantone, J.C., Ward, P.A.: Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leucocyte-development inflammatory reactions, 1982; 107(3), 397-418.
124. Kelce WR, Wilson EM. Antianrogenic Effects of Environmental Endocrine Disruptors: The Book of Environmental Chemistry, Endocrine Disruptors Part 1, Meltzer M(ed), Springer- Verlag Berlin Heidelberg. 2001; S. 39-61.
125. Stamler JS, Singel D, Loscalzo J: Biochemistry, of nitric oxide and its redox activated forms, *Science*. 1992; 258:1898-1902.
126. Knight DC., Eden JA. A Review Of The Clinical Effects Of Phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 87:897-904, (1996).
127. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH: Nitric oxide: A physiologic messenger, *Ann Intern Med*. 1994; 120:227-237.
128. Radons J, Heller B, Bürkle A, Hartmann B, Rodriguez ML, Kroncke KD, Burkart V, Kolb H: Nitric oxide toxicity in islet cell involves poly(ADP-ribose) polymerase activation and concomitant NAD⁺ depletion, *Biochem Biophys Res Commun*. 1994; 199: 1270-1277.
129. Weuve J, Sanchez BN, Calafat AM, Schettler T, Green RA, Hu H, Hauser R. Exposure to phthalates in neonatal intensive care unit infants: urinary

concentrations of monoesters and oxidative metabolites. Environ Health Perspect. 2006; 114: 1424-1431.

130. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı, Konya: Mimoza Yayınları, 1995; 1-110

131. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals antioxidants and human disease: Where are we now? J Lab Cl Med 1992; 119(6): 598-620.

132. Baykal Y., Kocabalkan F. Serbest radikalleri ve hücre hasarı. Sendrom. 2000; 9:31-36

133. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. Free Radic. Biol Med. 2001; 31:1287-1312

134. Alderman CJ, Shah S, Foreman JC, Chain BM, Katz DR. The role of advanced oxidation protein products in regulation of dendritic cell function. Free Radic Biol Med. 2002; Mar 1; 32,5:377-85

135. Friedlander MA, Witko-Sarsat V, Nguyen AT, Wu YC, Labrunte M, Verger C, Jungers P, Descamps- Latscha B. The advanced glycation endproduct pentosidine and monocyte activation in uremia. Clin Nephrol. 1996 Jun; 45,6:379-82.

136. Stadman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. Amino acids. 2003 Dec; 25 3-4: 207-18. Epub 2003 Jul 29

137. Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in inflammation. Second messengers and mediators tissue destruction. BrMed Bull 1993; 49:506-2

138. Babior, B.M.: Superoxide : a two – edged sword, Barz J. Med. Biol.Res., 1997; 30, 141-155.
139. Freeman, B.A., Carpo, J.D.: Biology of disease free radicals and tissue injury, Lab . Invest. 1982; 47(5), 412-426.
140. Michiels , C., Raes, M., Toussaint, O., Remacle, J.: Importance of Se- Glutathione peroxidase, catalase and Cu/ Zn-SOD for cell survival aganst oxidative stres, Free Radic. Biol. Med. 1994; 17(3), 235-248.
141. Sies, H.: Biochemistry of oxidative stres, Angnew. Chem. Int. Ed. Engl. 1986; 25,1508- 1071.
142. Itoh H, Ohkuwa T, Yamamoto T, et al: Effect of endurance physicaltraining on hydroxyl radical generation in rat tissues. Life Sci. 1998; 63:1921- 1929.
143. Yamamoto T, Ohkuwa T, Itoh H, et al: Effect of gender differences and voluntary exercise on antioxidant capacity in rats. Com Biochem Physiol Part C. 2002; 132: 437-444.
144. Lee MM. Endocrine Disrupters. A Current Review of Pediatric Endocrinology. 2007; 109- 118.
145. Yavuz,Ö: Gerbillerde deneysel olarak oluşturulan iskemireperfüzyon modelinde 2-kloroadenozinin beyin dokusu lipid peroksit düzeyleri ve glutatyon peroksidaz aktivitesine etkisi, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fkültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara;1994.
146. Messina M., Gugger ET., Alekel DL. Soy Protein, Soybean Isoflavones, And Bone Health: A Review Of The Animal And Human Data.

“Nutraceuticals And Functional Foods” (Ed. Wildman RE.) 1st ed. CRP Press, USA, 2001; s.77-99.

147. Babior, B.M. : Oxygen- dependent microbial killing by phagocytes, New Engl. J. Med. 1978; 298(12), 659-668.

148. Yazıcı A.E., Paşaoğlu H., Yücel D., Çelebi N., Bakır F, Özkaya M. Tip II Diabetes Mellituslu Hastalarda Plazma Total Tiyo ve Eritrosit Redükte Glutasyon Düzeyleri T Klin. Tıp Bilimleri 2002, 22:487-492

149. Akbulut, K.G.: Melatoninin yaşlanma ile antioksidan mekanizmalar ve humoral immun sistem arasındaki ilişkiler üzerindeki etkileri, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara (1997)

150. Halliwell B. Oxidative stres, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. Free Radic Res. 1996; 25:57-74.

151. Leibovitz B, Hu ML, Tappel AL. Dietary supplements of vitamin E, carotene, coenzyme Q and selenium protect tissues against lipid peroxidation in rat tissue slices. J Nutr 1990; 120:97-104

152. Dignan RJ, Kadletz M, Dyke CM, Lutz HA, Yeh T, Wechsler AS. Microvascular dysfunction after myocardial ischemia. J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 109:892-898

153. Mariani MA, Gu YJ, Boonstra P, Grandjean JG, van Oeveren W, Ebels T. Procoagulant activity after off-pump coronary operation: is the current anticoagulation adequate? Ann Thorac Surg 1999; 67:1370-5.

154. Das UN. Free radicals , cytokines and nitric oxide in cardiac failure and myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 2000,215:145-152.
155. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev.*1994;52:253-265.
156. Li, C., Jackson, R.M. (2002) Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 282 (2), C227-241.
157. Quinlan, G.J., Westerman, S.T., Mumby, S., Pepper, J.R, Gutte-ridge, J.M. (1999) Plasma hypoxanthine levels during crystalloid and blood cardioplegias: warm blood cardioplegia increases hypoxanthine levels with a greater risk of oxidative stress. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*. 40 (1), 65-69
158. Carlucci, F., Tabucci, A., Biagioli, B., Simeone, F., Scolletta, S., Rosi, F., Marinello, E. Cardiac surgery: myocardial energy balance, antioxidant status and endothelial function after ischemia–reperfusion /(2002) *Biomed. Pharmacother.* 56, 483-491.
159. Fridovich, I. (1978) The biology of oxygen radicals. *Science*. 201 (4359), 875-880.
160. Kayyali, U.S., Donaldson, C., Huang, H., Abdelnour, R., Hassoun, P.M. (2001) Phosphorylation of xanthine dehydrogenase/oxidase in hypoxia. *J. Biol. Chem.* 276 (17), 14359-14365.
161. Wiezorek, J.S., Brown, D.H., Kupperman, D.E., Brass, C.A. (1994) Rapid conversion to high xanthine oxidase activity in viable Kupffer cells during hypoxia. *J. Clin. Invest.* 94 (6), 2224-2230.

162. Grisham MB, Granger N. Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia with reperfusion. Clin Chest Med 1989;10:71-81.
163. Kurtel H, Granger DM, Tso P, Grisham MB. Vulnerability of intestinal interstitial fluid to oxidant stress. Am J Physiol 263:573-78; 1992
164. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. Nitric oxide: Biology and chemistry 2001;5(1): 62-71
165. Kim, K.B., Chung, H.H., Kim, M.S., Rho, J.R. (1994) Changes in the antioxidative defensive system during open heart operations in humans. Ann. Thorac. Surg. 58 (1), 170-175.
166. Inal, M., Alatas, O., Kural, T., Sevin, B. (1994) Oxygen free radicals in erythrocytes during open heart operation. J. Cardiovasc. Surg. (Torino). 35 (2), 147-150.
167. Starkopf, J., Zilmer, K., Vihalemm, T., Kullisaar, T., Zilmer, M., Samarutel, J. (1995) Time course of oxidative stress during open-heart surgery. Scand.J.Thorac.Cardiovasc.Surg. 28 (4), 181-186.
168. Cohen AS, Hadjinikolaou L, McColl A, Richmond W, Sapsford RA, Glenville BE. Lipid peroxidation, antioxidant status and troponin-T following cardiopulmonary bypass. A comparison between intermittent crossclamp with fibrillation and crystalloid cardioplegia Eur J Cardiothorac Surg. 1997 Aug;12(2):248-53.

169. Hadjinikolaou L., Alexiou C., Cohen A.S., Standbridge Rde L., McColl A.J., Richmond W. Early changes in plasma antioxidant and lipid peroxidation levels following coronary artery bypass surgery: a complex response. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 23 (6), 2003 969-975.

170. Coghlan JG, Flitter WD, Clutton SM, Ilsley CD, Rees A, Slater TF. Lipid peroxidation and changes in vitamin E levels during coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993 Aug;106(2):268-74.

171. Berg K, Haaverstad R, Astudillo R, Björngaard M, Skarra S, Wiseth R Oxidative stress during coronary artery bypass operations: importance of surgical trauma and drug treatment. *Scand Cardiovasc J.* 2006 Oct;40(5):291-7.

172. İşlekel, H., Uğurlu, B., Hazan, E., Saydam, N., Saydam, O., Oto, Ö., Güner G. (1999) Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant status in myocardial tissue and coronary sinus blood of patients under-going cardiopulmonary bypass. *Türk Biyokimya Dergisi* 24 (4),5-13.

173. Inal, M., Alatas, O., Kanbak, G., Akyuz, F., Sevin, B. (1999) Changes of antioxidant enzyme activities during cardiopulmonary bypass. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)* 40 (3),373-376.

174. Luyten CR, van Overveld FJ, De Backer LA, Sadowska AM, Rodrigus IE, De Hert SG. Antioxidant defence during cardiopulmonary bypass surgery. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 27 (2005) 611–616

175. Kunt AS, Selek S, Celik H, Demir D, Erel O, Andac MH Decrease of total antioxidant capacity during coronary artery bypass surgery *Mt Sinai J Med.* 2006 Sep;73(5):777-83

176. Akila et al. Oxidative injury and antioxidants in coronary artery bypass graft surgery: Off-pump CABG significantly reduces oxidative stress Clinica Chimica Acta 375 (2007) 147–152

177. Kedziora-Kornatowska K, Bartosz M, Mussur M, Zaslonka J, Kedziora J, Bartosz G. The total antioxidant capacity of blood plasma during cardiovascular bypass surgery in patients with coronary heart disease Cell Mol Biol Lett. 2003;8(4):973-7

178. Sucu N, Cinel I, Unlu A, Aytacoglu B, Tamer L, Kocak Z, Karaca K, Gul A, Dikmengil M, Atik U, Oral U. N-Acetylcysteine for Preventing Pump-Induced Oxidoinflammatory Response During Cardiopulmonary Bypass Surg Today (2004) 34:237–242

179. Dejam A, Hunter CJ, Schechter AN, Gladwin MT. Emerging role of nitrite in human biology. Blood Cells Mol Dis 2004;32:423–9. Laver JR, Stevanin TM, Read RC. Chemiluminescence quantification of NO and its derivatives in liquid samples. Methods Enzymol 2008;436:113–27.

180. Yokokawa K, Mankus R, Saklayan MG, et al. Increased nitric oxide production in patients with hypotension during hemodialysis. Ann Intern Med 1995;123:35–7.

181. Ruvolo G, Speziale G, Greco E, Tritapepe L, Mollace V, Nistico G Nitric oxide release during hypothermic versus normothermic cardiopulmonary bypass. Eur J Cardiothorac Surg 1995;9:651–4.

182. Clermont G, Vergely C, Jazayeri S, Lahet JJ, Goudeau JJ, Lecour S, David M, Rochette L, Girard C. Systemic Free Radical Activation Is a Major

Event Involved In Myocardial Oxidative Stress Related to Cardiopulmonary Bypass Anesthesiology. 2002 Jan;96(1):80-7.

183. Madhulika Sharma, Nirmal Kumar Ganguly, Gaurav Chaturvedi, Shyam K.S. Thingnam, Siddhartha Majumdar¹ and Rajendar Krishan Suri. Release of pro-inflammatory mediators during myocardial ischemia/reperfusion in coronary artery bypass graft surgery Molecular and Cellular Biochemistry 247: 23–30, 2003

184. Ruvolo G, Greco E, Speziale G, Tritapepe L, Marino B, Mollace V Nitric oxide formation during cardiopulmonary bypass. Ann Thorac Surg 1994;57:1055–6.

185. Brett SJ, Quinlan GJ, Mitchell J, Pepper JR, Evans TW. Production of nitric oxide during surgery involving cardiopulmonary bypass Crit Care Med. 1998 Feb;26(2):272-8.

186. Raja SG, Dreyfus GD: Impact of Off-Pump Coronary artery bypass surgery on post-operative pulmonary dysfunction: Current best available evidence. Ann Card Anaesth 2006;9:17-24.

187. Viaro, et al. Plasma Nitrate/Nitrite (NOx) Is Not a Useful Biomarker to Predict Inherent Cardiopulmonary Bypass Inflammatory Response J Card Surg 2008;23:336-338

188. Çelebioğlu B, Özer E. Kardiyopulmoner by-pass ve sistemik inflamatuvar yanıt. Hacettepe tıp dergisi 35;18-26, 2004

189. Fischer et al. Extracorporeal Circulation Activates Endothelial Nitric Oxide Synthase in Erythrocytes Ann Thorac Surg 2007;84:2000 –3

190. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, Patel RP, Reiter CD, Martyr S. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med*. 2003 Dec;9(12):1498-505. Epub 2003 Nov 2
191. Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T et al. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase *Blood*. 2006 Apr 1;107(7):2943-51. Epub 2005 Dec 20.
192. Chen LY, Mehta JL. Evidence for the presence of L-arginine/nitric oxide pathway in human red blood cells: relevance in the effects of red blood cells on platelet function. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32:57– 61
193. Kang ES, Ford K, Grokulsky G, Wang YB, Chiang TM, Acchiardo SR. Normal circulating adult human red blood cells contain inactive NOS proteins. *J Lab Clin Med* 2000; 135:444–51

10.ÖZET

EKSTRAKORPORAL DOLAŞIMIN OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ

Kardiyopulmoner bypas (KPB) günümüzde cerrahi gereksinimi olan pekçok kardiyovasküler hastalığın tedavisinde kullanılma zorunluluğu bulunan bir yöntemdir.

Kardiyak cerrahi ve KPB sonrasında morbidite ve mortalitenin temel belirleyicilerinden biri işlemler sırasında ve sonrasında oluşan oksidan strestir. Bu süreçlerdeki mekanizmalar halen net olarak açıklığa kavuşmamıştır.

Çalışma G.Ü.T.F Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Koroner Arter Bypass Graftleme operasyonuna alınan yaşları 42 ile 70 arasında değişen 22 hastada gerçekleştirildi.

Hastalardan sırasıyla operasyon öncesi yoğun bakım (A), anestezi altında (B), dolaşımın pompaya girişinden sonra (C), aortaya kros klemp konulması sonrası (D), aortadan kros klembin kaldırılması sonrası (E), dolaşımın pompadan çıkışı sonrası (F) ve operasyon sonrası yoğun bakım (G) evresi olmak üzere operasyonun yedi farklı döneminde kan örnekleri alındı.

Oksidan stresi göstermesi açısından Malonildialdehid (MDA) ve NOx (Nitrit+Nitrat), antioksidan göstergesi olarak Total Sülfidril Grubu (RSH) düzeylerine bakıldı.

MDA ve NOx düzeyleri A ve B evrelerinde düşük iken, C evresi ile beraber artmaya başladı, F evresinde en üst düzeye ulaştı ve G evresinde azalma gösterdi. RSH düzeylerinde ise evrelerdeki MDA ile negatif korelasyon gösteren

azalmalar görüldü. En düşük RSH değeri F evresinde tespit edildi. G evresinde ise değerler yükselmeye başladı.

Malondialdehit ve RSH düzeyleri, cerrahi travmanın ve Ekstrakorporal dolaşımın (ED) fizyolojik olmayan yüzeylerinin yarattığı oksidan stres ve antioksidan kapasite azalması ile uyumlu idi. NOx düzeylerinin artışı ise yapılan cerrahi işlemler sonucu endotelin mekanik olarak uyarılması ve ED'ın yapay yüzeylerinde dolaşan eritrositlerin mekanik strese maruz kalarak eNOS eksprese etmesi sonucunda olabilir. İleriki çalışmalarda NOS, S-nitrosohemoglobin ya da nitrosilhemoglobinin de araştırılması daha kesin yorumların yapılabilmesi açısından faydalı olacaktır.

10.SUMMARY

THE INFLUENCE OF EXTRACORPOREAL CIRCULATION ON OXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEMS

Cardiopulmonary bypass (CPB) is a compulsory method presently used for treatment of many cardiovascular diseases which need surgery.

Oxidant stress formed during and after operations are one of the main determinants of morbidity and mortality after cardiac surgery and CBP.

Mechanisms that occur during these processes are still not clear.

This study was performed on the 22 patients (ages: between 42 and 70) who were admitted for coronary bypass grafting operation to the Department of Cardiovascular Surgery at Gazi University Medical Faculty Hospital.

Blood samples were taken from patients at seven different stages of operation. These stages were, in turn, pre-operative intensive care stage (A), during anesthesia (B), after pump-in phase (C), after aortic cross-clamping stage (D), after release of the aortic cross-clamping (aortic declamping) stage (E), after pump-out phase (F) and post-operative intensive care stage (G).

Malondialdehyde (MDA) and NO_x (Nitrite + Nitrate) levels were measured as an indicator of oxidant stress and Total sulfhydryl group (RSH) levels as antioxidant.

While MDA and NO_x levels were low at the A and B stage, they started to rise with the C stage and reached their peak levels at the F stage. Later, their levels showed decrease at the G stage. There was a decrease at the RSH levels and a negative correlation between RSH levels and the MDA levels at all stage. The lowest level of RSH was observed at the F stage and started to rise at G stage.

The data obtained from the MDA and RSH levels were concordant with the oxidant stress and decreasing antioxidant capacity resulted from the surgical trauma and the artificial surface of extracorporeal circulation (EC).

Increasing NO_x levels may result from the mechanical irritation of endothelium because of the surgical operations and from the expression of eNOS by red blood cells exposed to mechanical stress because of circulation in the artificial surfaces of EC.

The investigation of NOS, S-nitrosohemoglobin or nitrosilhemoglobin may be useful for further studies.

12.ÖZGEÇMİŞ

Adı : Osman Fuat

Soyadı : SÖNMEZ

Doğum Yeri : İstanbul

Tarihi : 15.06.1980

Eğitimi : 1998-2004 Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi

1994-1998 Muğla Tugut Reis Lisesi

1991-1994 Ortaca İlköğretim Okulu

1987-1991 Ortaca Cengiz Topel İlköğretim Okulu

Yabancı Dili : İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar : Türk Fizyolojik Bilimler Derneği

Kongre Tebliğleri

1. O.F. Sönmez, Ç. Özer, E. Yeşilkaya, A. Pideci, P. Cinaz 4-Klorofenoksi Asetik Asitin Sıçan Böbrek Dokusunda Oksidan Antioksidan Ollaylar Üzerine Etkisi 34. Ulusal Fizyoloji Kongresi Erzurum 06-10 Ekim 2008

2. T.Göktaş, S.Dinçer A.Korkmaz, O.F. Sönmez Ana Safra Kanalı Bğlanması ile Oluşturulan Sıçanlarda Taurin Uygulamasının Karaciğer Oksidatif Stres Üzerine Etkisi 34. Ulusal Fizyoloji Kongresi Erzurum 06-10 Ekim 2008

3. O.F. Sönmez, Ç. Özer, E. Yeşilkaya, A. Pideci, P. Cinaz The Effects of 4-CPA On The Oxidants Facts in Kidney 9.th International Symposium On Pharmaceutetical Sciences Ankara 23-26 June 2009

Katıldığı Bilimsel Toplantılar ve Kurslar

1. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu, G.Ü.T.F., Ankara, 23

Mart-01 Nisan, 2009