

T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI



UZUN İSKEMİ SÜRELERİNDE, FARKLI KARDİYOPLEJİ
SOLÜSYONLARININ MİYOKARD VE ENDOTEL KORUMASI ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİ

Dr. Emrah UĞUZ

Uzmanlık Tezi

ANKARA

2007

T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI



UZUN İSKEMİ SÜRELERİNDE, FARKLI KARDİYOPLEJİ
SOLÜSYONLARININ MİYOKARD VE ENDOTEL KORUMASI ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİ

Dr. Emrah UĞUZ

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Atilla SEZGİN

ANKARA

2007

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Özet ve Anahtar sözcükler	4
Kısaltmalar	7
Şekiller ve Tablolar	8
1. Giriş ve Amaç	9
2. Genel Bilgiler	10
2.1. Tarihçe	10
2.1.1. Miyokardiyal koruma	10
2.1.2. Kardiyak transplantasyon	13
2.2. Genel kardiyak fizyoloji	14
2.3. Miyokardiyal korumanın genel prensipleri	17
2.3.1. Hipotermi	18
2.3.2. Kardiyopleji solüsyonları	18
2.3.3. HTK solüsyonu ve özellikleri	21
2.3.4. Kristalloid kardiyopleji solüsyonu ve özellikleri	22
2.3.5. Endotel fonksiyonları, nitrik oksit ve uzun süreli iskeminin endotel fonksiyonlarına etkisi	28
2.3.6. Uzun süreli iskeminin papiller adale fonksiyonlarına etkisi	33

Sayfa

3.	Materyal ve Yöntem	35
3.1.	Cerrahi Teknik	36
3.1.1.	Asendan Aort preparatlarının hazırlanması	37
3.1.2.	Papiller kas preparatlarının hazırlanması	38
3.2.	İlaçlar ve kimyasal maddeler	39
3.3.	İstatistiksel analiz	39
4.	Bulgular	40
5.	Tartışma	45
6.	Sonuç ve Öneriler	54
7.	Kaynaklar	56

ÖZET

Açık kalp cerrahisinde en önemli sorunlardan biri, iskemi sırasında, miyositlerin ve vasküler endotel hücrelerinin hasara uğraması sonucunda gelişen fonksiyon kaybıdır. Bu istenmeyen etki, iskemik süresinin arttığı durumlarda daha belirgin hale gelmektedir. Günümüzde, iskemik hasarın en aza indirilmesi amaçlanarak geliştirilen kardiyopleji solüsyonları ve diğer teknikler ile bu sorun kısmen giderilmiş olsa da, kalp cerrahları için özellikle aort klemp zamanının ve dolayısı ile de iskemik sürenin uzadığı durumlarda, kötü myokardial tolerans hala endişe vericidir.

Bu çalışmanın amacı, farklı kardiyoplejik solüsyonların [Potasyumlu soğuk kristalloid kardiyopleji, HTK solüsyonu (Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate solüsyonu = Brethscheider solüsyonu = Custodiol® solüsyonu)] uzun süreli iskemik dönemde kalbin korunmasına olan katkıları ve kardiyak fonksiyonlara etkisini karşılaştırmalı olarak incelemektir.

Bu amaçla; “grup H1” HTK solüsyonu kullanılarak 1 saatlik iskemik sürenin oluşturulduğu ratlar (n=8), “grup H8” HTK solüsyonu kullanılarak 8 saatlik iskeminin oluşturulduğu ratlar (n=8), “grup P1” potasyumlu soğuk kristalloid kardiyoplejisi kullanılarak 1 saatlik iskeminin oluşturulduğu ratlar (n=8), “grup P8” potasyumlu soğuk kristalloid kardiyoplejisi kullanılarak 8 saatlik iskeminin oluşturulduğu ratlar (n=8) ve kontrol grubu (n=8) olmak üzere 5 grup oluşturuldu.

Her grupta 12 hafta üzerinde ve erkek cinsiyette olan Sprague Dawley türündeki toplam 40 adet rat randomize düzende planlanan çalışmada kullanıldı. Çalışmada kullanılan farklı iki kardiyoplejik solüsyonlardan miyositlerin ne derece etkilendiğini göstermek amacı ile papiller adale, endotel hücrelerinin ne derece etkilendiğini göstermek için ise asendan aorta kullanıldı.

H1 ve H8 grupları, içerisinde +4 derecedeki HTK solüsyonunda 1 ve 8 saat, P1 ve P8 grupları ise içerisinde +4 derecedeki kristalloid solüsyonunda 1 ve 8 saat saklandılar. Kontrol grubundaki ratlarda saklama olmaksızın, izole edilen papiller adale ve aorta hemen

çalışmaya alındı. Bekleme süreleri tamamlanan papiller adaleler ve aortik halkalar izole organ banyosunda asıldılar. İstirahat tonusuna ulaşan aortik halkaların fenilefrin ile doz bağımlı olarak kasılmaları sağandı. Daha sonra ortama asetilkolin eklenerek gevşeme oluşturuldu. Gevşeme cevabı olan damarlarda endotel intakt olarak kabul edildi. Bu gevşeme cevapları L-NAME (N-nitro-L- arginin methyl ester, nitrik oksit sentaz inhibitörü) ve indometazin varlığında tekrarlandı. Değişiklikler, sodyum nitroprussid eklendiğinde oluşacak olan gevşeme ile karşılaştırıldı. Papiller adalelerde ise İzoproterenol'ün artan dozları ile oluşturulan kontraksiyonlar kaydedildi. Farklı kardiyoplejik solüsyonun uygulandığı dokulardan alınan cevaplar kendi aralarında ve kontrol grup ile karşılaştırıldı.

Gruplar arası farkın önem kontrolü tek yönlü varyans analizi (ANOVA), doz bağımlı cevapların karşılaştırılması ise tekrarlayan veriler için varyans analizi ve her iki varyans analizi sonrasında *post hoc* Bonferroni testi kullanılarak hesaplandı. $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışmamızda, 1 saatlik iskemi sonrasında HTK solüsyonu kullanılan grupta, konvansiyonel kristalloid kardiyopleji verilen grup arasında miyokardiyal kontraktilite ve endotelyal hücre fonksiyonları açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Sekiz saatlik iskemi sonrasında gruplar arasında HTK solüsyonunun kullanımının reseptör duyarlılığı ve yoğunluğunun korunması üzerine olumlu etkileri gösterildi ($p<0,05$). HTK solüsyonu 8 saatlik iskemi süresinde de 1.saat sonunda olduğu kadar etkin koruma sağladı.

Daha uzun süreli iskemi durumunda bu solüsyonların sağlayacağı korumanın etkinliği ve güvenilirliği bilinmemektedir. İçeriğindeki maddelerin sağladığı avantajlar nedeniyle, HTK solüsyonunun 8 saatlik iskemi periyodunda sağladığı korumaya benzer şekilde daha uzun süreli iskemi periyodlarında da konvansiyonel kristalloid kardiyoplejiye göre miyokardiyal ve endotelyal korumada daha etkin olacağı düşünülmektedir.

Temel papiller adale maksimum kasılma ve aortik maksimum gevşeme cevaplarında ise iki grupta da etkin koruma sağlanmış, gruplar arasında 1. ve 8. saat sonunda belirgin farklılık gösterilememiştir ($p>0,05$). HTK solüsyonunun kristalloid kardiyopleji solüsyonuyla aynı miktarda kullanılması ve infüzyonların aynı sürede verilmesi bunda etkin olmuş olabilir.

Sonuç olarak, kısa süren iskemi durumunda miyokardı ve endoteli korumak amacıyla kullanılan HTK ve potasyumlu kristalloid kardiyopleji solüsyonları arasında fark görülmemekle beraber, uzun süren iskemi durumunda HTK solüsyonunun avantajları mevcuttur. Bu nedenle uzun süreli iskemi gerekliliğinde HTK tercih edilmelidir.

Anahtar Sözcükler:

Kalp cerrahisi, Kardiyopleji solüsyonları, Organ saklama solüsyonları, Bretschneider (HTK) solüsyonu, Miyokardiyal koruma, Endotelial koruma, Uzun süreli iskemi

KISALTMALAR

Ach	Asetilkolin
Arg	Arjinin
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
EDHF	Endotel Kaynaklı Hiperpolarize Edici Faktör
EDRF	Endotel Kaynaklı Relaksan Faktör
EFS	Elektrik Alan Stimülatörü
EKG	Elektrokardiyografi
E _{maks}	Maksimum yanıt
EC ₅₀	Maksimum yanıtın %50'sini gerçekleştiren madde konsantrasyonu
HTK	Histidin Triptofan Ketogluterat (Custodiol®) solüsyonu
Hz	Hertz
INDO	İndometazin
KPB	Kardiyopulmoner Bypass
L-NAME	N-nitro-L- arjinin metil ester
M	Molar
mM	Milimol
ms	Milisaneye
NO	Nitrik Oksit
PE	Fenilefrin
PGI ₂	Prostasiklin
SNP	Nitroprusside
THAM	Trihidroksi ammina metamin
UW	University of Wisconsin Solüsyonu

ŞEKİLLER VE TABLOLAR

	Sayfa
Şekil 1	
L-arjininin NO sentetaz tarafından L-sitrulin ve NO'e metabolize edilmesi	32
Şekil 2	
Farklı solüsyonlarda saklanan aortik dokuların artan asetilkolin konsantrasyonlarına karşı gevşeme cevaplarındaki değişim	45
Şekil 3	
Farklı solüsyonlarda saklanan papiller kas dokularının artan isoproterenol konsantrasyonlarına karşı kasılma cevaplarındaki değişim	45
Tablo 1	
HTK (Bretschneider) solüsyonunun içeriği	24
Tablo 2	
Çalışmada kullanılan iki farklı perfüzyon (kardiyopleji ve organ saklama amaçlı) solüsyonunun (H ve P gruplarında) içerikleri	37
Tablo 3	
Farklı solüsyonlarda saklanan aortik dokuların artan asetilkolin konsantrasyonlarına maksimum gevşeme cevapları (E_{max}) ve maksimum gevşeme cevabının %50'sini gerçekleştiren asetilkolin konsantrasyonları (EC_{50}) ve bu sonuçların gruplar arasında istatistiki olarak karşılaştırılmalarının sonuçları	43
Tablo 4	
Farklı solüsyonlarda saklanan papiller kasların artan isoproterenol konsantrasyonlarına maksimum kasılma cevapları (E_{max}) ve maksimum kasılma cevaplarının %50'sini gerçekleştiren isoproterenol konsantrasyonları (EC_{50}) ve bu sonuçların gruplar arasında istatistiki olarak karşılaştırılmalarının sonuçları	44

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Uzun süren miyokardiyal iskemi periyodunda, gerek miyokardiyal gerekse vasküler endotel hücrelerinde iskemi ve reperfüzyon hasarına bağlı olarak meydana gelen metabolik değişiklikler hem miyokardiyal hem de endotel hücre fonksiyonlarında bozulmaya yol açarlar. Bu durum, erken ve geç postoperatif dönemde fonksiyonel düzelmeyi, sağkalımı ve hayat kalitesini olumsuz olarak etkilemektedir (1,2). Gerek miyokardiyal gerekse endotel hücre fonksiyonlarındaki bozulma özellikle uzun iskemi süresi gerektiren kalp ameliyatlarında ve kalp transplantasyonu vakalarında daha ön plana çıkmaktadır (3).

Günümüzde, geliştirilen kardiyoplejik solüsyonlar ve/veya organ saklama solüsyonları ile başarılı sonuçlar elde edilmesine rağmen yapılan bir çok çalışmada kalp transplantasyon cerrahisinde güvenli iskemik sürenin 6 saati geçmediği gösterilmiştir (3-5). Bu çalışmaların çoğunda miyokardiyal hücre ve endotel hücre fonksiyonları eş zamanlı olarak değerlendirilmemiştir (4,5). Miyosit ve endotel fonksiyonlarının birarada değerlendirildiği nadir çalışmalardan olan Saitoh ve Kuhn-Reigner'in yaptıkları çalışmalarda çalışmamızdan farklı olarak intraselüler solüsyonlar olan HTK ve UW solüsyonları karşılaştırılmıştır. Ayrıca Kuhn-Reigner ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada temel olarak koroner oksijen persüflasyon yönteminin güvenli iskemik süreyi uzatıp uzatmadığı araştırılmıştır. Genelde çalışmalarda temel olarak miyokard fonksiyonları üzerine araştırma yapılmış olup diğer bazı çalışmalarda ise endotel fonksiyonlarının miyokard fonksiyonları üzerinde oynadığı kilit rol vurgulanarak dolaylı olarak miyosit fonksiyonlarına değinilmiştir (2-4).

Bu bilgilerden yola çıkarak HTK kardiyoplejisinin ve konvansiyonel kristalloid kardiyoplejinin; organ saklama solüsyonu olarak kullanıldığında uzun süreli iskeminin miyokard hücre kontraktilitesine, vasküler endotel hücrelerinin bütünlüğüne ve fonksiyonlarına olan etkilerini eş zamanlı ve karşılaştırmalı olarak araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

2.1.1. Miyokardiyal koruma

Kalp cerrahisinde, yapılan işlemin güvenli bir şekilde yapılabilmesi postoperatif mortalite ve morbiditeyi azaltan en önemli etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle; kalbin, kardiyoplejik solüsyonlar ile diastol fazında durdurulması ve aortun klemplenmesiyle cerrahi ekibe kansız bir ortam ve operasyon için uygun şartlar sağlanması amaçlanmıştır. Ancak bu durum istenmeyen bir takım fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri beraberinde getirmektedir. Bu değişiklikler reperfüzyon hasarı ve iskeminin neden olduğu olumsuz değişikliklerdir (1,2,6).

Kalp cerrahisinin ilk yıllarında, erken postoperatif dönemde düşük kardiyak debinin, operasyonun kendisine ait bir komplikasyon olabileceği konusunda belirgin bir görüş birliği yoktu. Gerçekten de 1965 yılında Williams JF ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada erken postoperatif dönemde düşük kardiyak debi gelişmesinin sebepleri ayrıntılı bir şekilde tartışılmış olmasına rağmen, cerrahi sonrası dönemde görülen geçici miyokard disfonksiyonunun ya da miyokardiyal nekrozun operasyonun kendisine ait bir komplikasyon olup olmadığı vurgulanmamıştır (7). Takip eden dönemlerde, 1969 yılında, Henson DE ve arkadaşları, kapak replasmanı yapılan ve erken dönemde mortal seyreden hastalarda akut yaygın subendokardiyal infarktın sıklıkla saptandığını ve sebebinin de intraoperatif dönemde miyokardiyal korunma ile ilişkili olabileceğini belirterek miyokardın oksijen talebi ile miyokarda sunulan oksijen arasındaki dengenin bozulduğunu göstermişlerdir (8). Ayrıca kardiyopulmoner by-pass sırasında subendokardiyal dokunun uygun ve yeterli perfüze edilememesinin en önemli problem olduğunu belirtmişlerdir. 1973 yılında Hultgren ve arkadaşları kardiyak cerrahi geçiren hastaların %7 sinde akut transmural miyokard infarktüsü görüldüğünü saptadılar (9). Robert WC ve arkadaşları yapmış oldukları

çalışmayla, preoperatif dönemde normal koroner arter yapısına sahip olan hastalarda yaptıkları otopsi çalışmalarında, kardiyak cerrahi sonrası akut transmural miyokard infarktüs ve subendokardiyal nekroz bulunduğunu teyid etmişlerdir (10). Richardson ve arkadaşları 1975 yılında; erken postoperatif kardiyak debinin, miyokardiyal nekroz miktarı ile ters orantılı olduğunu göstermişler ve bu yüzden miyokardiyal nekrozunun derecesinin, postoperatif morbidite ve mortaliteyi etkileyen esas belirleyici faktör olduğunu bildirmişlerdir (11). İskemik hasarın nadir bir sonucu olarak ortaya çıkan “stone heart” durumu o günlerde tanımlanmış ve reperfüzyon sırasında meydana gelen masif miyokardiyal infarktüse sekonder olduğu anlaşılmıştır (11). Koroner arter hastalığı sonrası meydana gelen bölgesel miyokardiyal iskeminin kalp cerrahisi sonrası da meydana geldiği gösterilip, bu duruma “miyokardiyal stunning” adı verilmiştir (12).

Miyokardiyal hasarın belirlenmesinde kullanılan metodlardaki gelişmeler ve bu hasarın yaygınlığının belirli ölçülerde belirleyebilmenin sonucunda bu konu üzerinde bilgi birikimi artmıştır. Transmural ve non-transmural hasarın saptanmasında kullanılan EKG değişiklikleri belirlenip, postoperatif dönemde hastaların takibinde kullanılmıştır. Kardiyak spesifik enzimlerin plazma seviyelerinin artmasının miyokardiyal infarktüsün diğer belirleyicileriyle korele olduğu ve miyokardiyal enzimlerin konsantrasyonlarının hasar gören kas kitlesiyle doğrudan ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (13). Koh ve arkadaşları KPB sonrası miyokardiyal hasarın belirlenmesinde troponin-I ve troponin-T'nin izoformlarının sensitif ve spesifik göstergeler olduğunu, troponin seviyelerinin kardiyopleji sırasındaki iskeminin süresiyle korele olduğunu ve artmış serum seviyelerinin klemp sonrası ventriküler yenilenmedeki gecikme ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (13,14). Radyonükleer görüntüleme, perioperatif miyokardiyal hasarın belirlenmesinde ve yaygınlığının saptanmasında bu dönemde kullanılmaya başlanan diğer bir metod olmuştur (15). Otopsi çalışmaları, yukarıda adı geçen diğer metodlarla yapılan klinik çalışmalarla desteklenmiştir.

1956 yılında Lillehei ve takiben Gott tarafından ortaya konan, aortik kapak cerrahisi sırasında kullanılan retrograd koroner perfüzyon yöntemi, kalbi korumak için geliştirilen ilk metod olarak sayılabilir (16,17). Melrose 1955 yılında elektif kardiyak arrest yöntemini ortaya atmıştır (18).

O sırada bu yöntem Londra'da Cleland ve ekibi tarafından miyokardiyal koruma amacıyla değil intrakardiyak exposure sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (19). Kalbi perfüze etmenin yanında korumaya dair ilk metod 1961 yılında Hufnagel ve ark. tarafından önerilmiş olup, ice-slush kullanarak derin kardiyak soğutmayı gündeme getirmişlerdir (20). Takip eden yıllarda Shumway ve Griepp aynı amaçla soğuk salin kullanmışlardır (21,22). Bu amaçla uygulanan farmakolojik yöntemler ise 1970'li yıllarda piyasaya sunulmuştur (23). 1970'li yılların sonunda Clark bir kalsiyum kanal blokörü olan nifedipinin faydalı etkilerini göstermiştir (24). Daha önceki yıllarda da, ilk olarak Mayo Clinic'te Melrose solüsyonu kullanılarak kalbin elektromekanik aktivitesinin durdurulması ile global miyokardiyal iskemik hasarın azaltılabileceği konsepti ayrıntılı bir şekilde tartışılmış olmasına karşın, belirgin bir avantajının gösterilememesi nedeniyle kardiyoplejik solüsyonlar kullanım alanı bulamamıştır.

ABD'de uzun süre bu yöntem kullanılamamış ancak Avrupa'da Bretschneider, Kirsch Hoelscher ve Spieckerman, kardiyopleji üzerine çalışmaya devam etmişlerdir (25-28). Sondergaard 1967 yılında Bretschneider solüsyonunu klinikte kullanmıştır (29). 1972 yılında Kirsch, Rodewald Kirsch kardiyopleji solüsyonunu klinik olarak kullanıma almışlardır (26). 1979 yılında Bleese ve arkadaşları soğuk prokaine-magnezyum kardiyopleji kullandıkları ve global iskemi süresi 150 dakikadan uzun olan 26 hastada yaptıkları kompleks operasyonlarda %11,5 mortalite oranı sağlamışlardır (30). Aynı tarihlerde Hearse ve Braimbridge Londra'da geri dönüşlü kardiyak arresti keşfetmiş ve klinikte kullanmışlardır (31,32). Bu yöntem günümüze kadar kullanılagelmiştir. 1973 yılında Gay ve Ebert ve 1977 yılında Roe potasyum ile tetiklenen kardiyopleji üzerine çalıştılar (33,34). Daha sonra yapılan randomize çalışmalar soğuk kardiyoplejinin avantajlarını doğrulamıştır. 1979 yılında Buckberg kanın optimal kardiyoplejik ajan olduğunu belirtmiştir (35). Daha sonraki birkaç yılda Cohen ve Maskal hiperkalemik membran depolarizasyonu yerine aprikalim ve pinacidil gibi ajanları kullanarak ATP duyarlı potasyum kanallarını açarak membran hiperpolarizasyonu sağlamışlardır (36,37).

1960 yılında Danforth, Neagle ve Bing araştırmalarında göstermiştir ki iskemi sonrasında elektromekanik sessizlik birkaç dakikalığına reperfüzyon periyodunun içine uzatıldığında

miyokardiyal enerji açığı hızla kapatılır (38). Bu önemli gözlem uzun süre kullanılmamıştır. Buckberg 1978 yılında bu gözlemden bağımsız olarak bu fenomeni göstermiş ve deneysel olarak hiperkalemik reperfüzasyon sıvısı kullanarak miyokardiyal enerji açığının kapatılabileceğini saptamıştır (39). Akut olarak enerji açığı olan kalplerde kardiyopleji, sıcak şekilde zenginleştirilmiş, modifiye edilmiş hiperkalemik reperfüzasyon ile beraber uygulanmıştır. Reperfüzyon sırasında perfüzyon basıncının kontrolü ve tam iyileşmeye kadar bu kontrolün devamı kardiyopleji ve reperfüzyon tekniklerine katkıda bulunmaktadır.

Kardiyoplejik ajanın verilme yöntemi de verilen solüsyon kadar önemlidir. Kuzey Amerika'da Buckberg ve Avrupa'da Menasche retrograd ve kombine antegrad ve retrograd infüzyonun koroner ve kapak cerrahisinde etkinliğini ve güvenilirliğini göstermişlerdir (40,41). Devamlı potasyum infüzyonuyla sağlanan arrestte normotermik bile olsa kalbin metabolik ihtiyaçları yaklaşık %85 azalmaktadır. Buckberg, Menasche, Lichtenstein ve Salerno sıcak olarak devamlı verilen kan kardiyoplejisinin minimal miktarda potasyum ile birlikte verilirse yeterli oksijen ve substrat sağlayacağını ve çalışmayan, arrest durumundaki kalbi tamponedeceğini savunmuşlardır (42,43).

2.1.2. Kardiyak transplantasyon

Kalp transplantasyonunun doğuşunun izleri 1905 yılında köpeklerde ilk heterotopik kalp transplantasyonu gerçekleştiren Fransız cerrahlar Carrel ve Guthrie'ye kadar takip edilebilir (44). 1946 yılında Sovyetler Birliği'nden Vladimir Demikhov intratorasik heterotopik kalp allograftını implante etmiştir (45). Daha sonra yine Demikhov kalp-akciğer ve izole akciğer nakillerinin de teknik olarak mümkün olduğunu gösterdi. 1960 yılında Lower ve Shumway, köpek modelinde orta derecede hipotermi, KPB ve atrial cuff kullanılarak yapılan anastomoz tekniği ile ortotopik kalp transplantasyonunu gerçekleştirirken birçok engelin üstesinden gelmeyi başarmışlardır (46). Hardy 1964 yılında şempanze xenograftı kullanarak insanlarda ilk kardiyak transplantasyonu gerçekleştirmiştir (47). Teknik olarak Lower-Shumway yöntemi başarılı olsa da transplante edilen kalp alıcının dolaşım yükünü kaldıramamış ve saatler sonra alıcı kaybedilmiştir. Cerrahlar arasında insanlarda kalp naklinin gerçekleştirilmesi

üzerine olan yoğun şüpheye rağmen 1967 yılında Christian Bernard insandan insana ilk kalp naklini gerçekleştirmiştir (48).

Kardiyak allograft rejeksiyonu Mann tarafından yine heterotopik köpek allograftlarının sonuçta yetmezliğe gitmesiyle tanımlanmıştır (49). Rejeksiyonu, miyokard içinde önemli miktarda lökosit infiltrasyonu gözlenen alıcı ve verici arasında bir biyolojik uyumsuzluk olarak tanımlamıştır.

Takip eden yıllarda erken dönem sonuçların kötü olması kalp transplantasyonunun bırakılmasına ve sadece kendini bu konuya adanmış merkezlerde deneysel ve klinik çalışmalara devam edilmesine yol açtı. Shumway ve ekibinin Stanford Üniversitesinde yaptığı öncü ve yenilikçi çalışmalar 1970'li yılların sonunda kardiyak transplantasyonun önünü tekrar açmıştır. Caves tarafından allograft rejeksiyonunun belirlenmesinde güvenilir bir yöntem olan transvenöz endomiyokardiyal biyopsi 1973 yılında tanımlanmıştır (50). 1981 yılında ise siklosporinin kullanıma girmesi modern ve başarılı kalp transplantasyonu çağını başlatmıştır (51). Yetersiz donör organ sayısı nedeniyle Birleşik Devletler'de yıllık kalp ameliyatı sayısı yaklaşık 2200'lerde sınırlı kalmaktadır (52). Ülkemizde kalp transplantasyonu 30 yılı aşkın bir süredir yapılmasına rağmen toplam kalp transplantasyonu sayısı 200 civarındadır (53).

Az sayıda donör olması, bu organların farklı şehirlerden taşınması gerekliliğini doğurur ve bu süreç donör organ saklanması ve korunması koşullarının önemini daha da artırır (53).

2.2. GENEL KARDİYAK FİZYOLOJİ

Miyokard dokusu işlevlerini yerine getirebilmek, canlılığını korumak ve gerekli olan enerjiyi üretmek için oksijene gereksinim duyar. Miyokard dokusuna sağlanan enerji her zaman tüketilenden fazla veya en azından dengede olmalıdır. Miyokardın enerji dengesini anlayabilmek için buna etki eden faktörleri ve koroner fizyolojiyi bilmek gerekir.

Miyokarda oksijen sunumunu belirleyen faktörler

1. Kalp hızı
2. Kanın oksijen içeriği
 - Hemoglobin düzeyi
 - Arteriyel kanın oksijen satürasyonu
 - Arteriyel kanın oksijen basıncı
3. Koroner kan akımı

Miyokardın oksijen tüketimini belirleyen faktörler

1. Kalp hızı
2. Kontraktilite
3. Duvar Gerilimi
 - Ardyük
 - Önyük

1. Kalp hızı

Miyokardın oksijen tüketiminde ve miyokarda oksijen sunumunda en önemli faktörlerdendir. Kalbin iş yükünün artmasıyla birlikte kalbin hızlanması (>100atım dakika) diyastol süresini kısaltarak sistol/diyastol sürelerinin oranını 1/3'ten 1/2'ye yükseltecektir bu da kalbin enerji tüketimini arttıracaktır. Kalp daha çok diyastolde beslendiğinden sistol süresinin oransal olarak uzaması kalbe oksijen sunumunu bozacaktır. Kalbin aşırı derecede hızlanması diyastolde kalbin dolumu için gerekli süreyi kısaltıp kardiyak debi ve koroner kan akımını azaltacaktır. Kalp hızının çok düşmesi durumunda ise yine kardiyak debi düşeceğinden koroner kan akımı azalacak ve kalbe oksijen sunumu bozulacaktır. Bu sebeplerden dolayı kalbi optimum hızlarda tutmak enerji dengesi için çok önemlidir.

2. Kanın oksijen içeriği

Kanın oksijen içeriği hemoglobin, arteriyel oksijen satürasyonu ve arteriyel oksijen basıncı ile belirlenir. Mevcut koroner patolojiye eklenen hipoksemi ve anemi sorun oluşturmakla birlikte miyokard iskemisi sıklıkla koroner kan akımının azalmasına bağlı oluşmaktadır.

3. Koroner kan akımı

Sol ventrikülün koroner kan akımı, sistol sırasındaki ventrikül içi yüksek basının koroner kan akımını engellemesi nedeniyle diyastol sırasında olur. Ventrikül basıncının özellikle endokarda yansması nedeniyle endokarda iskemi daha belirgin olur. Sağ ventrikül koroner kan akımı ise ventrikül içi basınç çok yükselmeyeceği için hem sistolde hem de diyastolde olur. Koroner vasküler rezistansın sistoldeki kompresif güçlere ve diyastoldeki otoregülasyon meknazimalarına bağlı artması da koroner kan akımını azaltır. Miyojenik, nörohumoral ve metabolik bileşenlerin etkilediği otoregülasyon koroner perfüzyon basıncı 60-160 mmHg değerleri arasındayken aktiftir.

Oksijen, karbondioksit, pH, laktat ve potasyumun metabolik otoregülasyonundan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Koroner kan akımının azalması veya oksijen tüketiminin artması ile ortamda adenozin miktarı artar ve damarlarda dilatasyona yol açar. Artan kan akımı ile adenozin temizlenir ve damarlar eski haline döner.

Miyojenik otoregülasyonda artan koroner damar içi kan basıncı damarları genişletir, gerer ve sonuç olarak refleks vazokonstriksiyona neden olur.

Humoral otoregülasyonda asetilkolin, prostoglandinler, bradikininler gibi maddeler damar endotelinden nitrik oksit salınmasını ayarlayarak damar direncini değiştirirler. Nitrik oksit hücre içi guanozin monofosfat seviyesini ayarlayarak vazodilatasyon sağlar. Nöral otoregülasyonda β reseptör stimülasyonu ile vazodilatasyon, α reseptör ve parasempatik stimülasyon ile vazokonstriksiyon sağlanır.

4. Kalbin kasılma gücü

İnotroplarla kalbin kasılma gücünün artırılması ile kalbin oksijen tüketimi artabilir. Ancak, inotroplar aynı zamanda ventrikül duvar gerilimini de azaltırlar ve taşikardi ortaya çıkmadığı sürece miyokardın oksijen tüketimi değişmeyebilir. Miyokard kitlesinin ciddi oranda arttığı hipertrofi durumunda enerji gereksiniminin fazlalığından dolayı normal koroner kan akımı sağlanamayabilir.

5. Kalbin duvar gerilimi

Kalbin duvar gerilimi Laplace yasasında belirtildiği gibi ventrikül sistolik basıncı ve ventrikül çapı ile ilişkilidir. Ventrikül çapının ve kalbe gelen volümün (önyük) veya ventrikülden aortaya olan akıma impedansın ve direncin (ardyük) artması duvar geriliminde ve dolayısıyla oksijen gereksiniminde artışa neden olur. Aksine kalbe gelen kan volümünün yetersiz olması durumunda da yeterli koroner perfüzyon basıncı oluşmayacaktır.

2.3. MİYOKARDİYAL KORUMANIN GENEL PRENSİPLERİ

Kalp operasyonlarının çoğu koroner kan akımının engellenip kalbin durdurulması, kansız ve hareketsiz bir ortamın yaratılması ile mümkündür. Kardiyopleji kalbi güvenli bir şekilde durdurmalı, iskeminin zararlı etkilerini önlemeli, enerji üretimine uygun bir ortam hazırlamalıdır. KPB sırasında miyokard hasarının altında yatan mekanizma iskemidir. İskemi, sonucu yüksek enerji bağı içeren fosfatların tükenmesine ve kalsiyum homeostazisinin bozulmasına neden olur. Hücre içinde parsiyel oksijen basıncının 5-10 mm Hg'nin altına düşmesiyle oksidatif fosforilasyon azalır. Kreatinin fosfat ve anaerobik metabolizma enerjisinin ana kaynakları haline gelirler. Kreatinin fosfat ADP'ye enerjisini aktararak acil enerji kaynağı olarak çalışır. Ancak bu kaynak kısıtlıdır ve oluşan laktat ile inhibe olur. Oluşan laktat gibi metabolik atıklar enzim sistemlerini inhibe eder. Enerji depolarının tükenmesi ile kalp hücreleri kalsiyumu hücre dışına çıkaramaz . Hücre içi kalsiyumun artmasıyla hücre bütünlüğü ve fonksiyonu bozulur.

Miyokard korunması 4 ana başlıkta incelenebilir.

- Miyokardın arrest öncesi iskemiye hazırlanması
- Arrest süresince kalbin metabolik gereksinimlerinin azaltılması
- Arrest sırasında metabolik gereksinimlerinin sağlanması
- Reperfüzyonun modifikasyonu

2.3.1. Hipotermi

Miyokardı korumada halen en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Hücre metabolizmasını yavaşlatması sayesinde enerji tüketimini ve toksik metabolitlerin üretimini azaltır. Miyokardın soğutulması değişik şekillerde yapılabilir. Doğrudan soğuk (topikal hipotermi) uygulanması, kardiyoplejik solüsyonun koroner dolaşıma soğuk olarak verilmesi ve sistemik hipotermi yardımıyla miyokardiyal hipotermi sağlanabilir.

2.3.2. Kardiyopleji Solüsyonları

Uzamış soğuk iskemiye karşı yetersiz miyokardiyal tolerans kalp transplantasyonunda halen temel sorunlardan biridir. Uygun bir saklama solüsyonunun seçilmesinin ve saklama tekniklerindeki yeniliklerin günümüzde organ korunmasındaki güvenli iskemi süresini uzatmasına ve potansiyel donör kalp sayısını arttırmasına rağmen kabul edilebilir organ saklama süresi 4-6 saati henüz geçmemektedir (5). Donör kalp prosedürünün tüm süreçlerinde hasara açıktır. Suboptimal donör organ korunması, yetersiz veya çok derin hipotermi, iskemi perfüzyon hasarı, enerji depolarının tükenmesi, postoperatif miyokardiyal disfonksiyonun temel sebepleridir. Çoğu transplant merkezinde tek doz kardiyopleji yada organ saklama solüsyonunun verilmesini takiben statik hipotermik saklama tercih edilir. 30 yıllık araştırma sürecine rağmen günümüz güvenli iskemi limitleri içinde herhangi bir koruma yönteminin diğerine miyokardiyal koruma açısından sürekli bir üstünlük sağlayamadığı görülmüştür (54). Organın saklandığı optimal sıcaklık, solüsyonun içeriği, veriliş yolu, eklenen maddeler ve reperfüzyon modifikasyonları konusunda tartışmalar devam etmektedir (55). İdeal saklama sıcaklığı bilinmemekle beraber çoğu merkezde 4-10°C arasında değişmektedir (56).

Kalp metabolizmasının durdurulması elektromekanik arreste yol açar. Bunun için değişik kimyasal ajanlar vardır. Miyokard dokusunda hiperkalemi yaratılması en çok kullanılan yöntemdir. Hücre dışı yüksek potasyum düzeyi transmembran potasyum gradientini azaltır (57). Hücre depolarizasyon durumunda kalacağı için elektromekanik çalışması diyastolde durur. Bu işlem için kullanılan potasyum iyon konsantrasyonu oldukça önemlidir. Melrose

tarafından ilk defa kullanılan hiperkalemik solüsyon, çok yüksek potasyum iyon konsantrasyonundan dolayı miyokard dokusunda kontraktür ve hasara yol açmıştır. Düşük konsantrasyonlarda ise arrest oluşumu gecikmektedir. En uygun potasyum iyon konsantrasyonu olarak 15-20 mM/lit önerilmektedir (58).

Temel hücre içi katyonlardan olan magnezyum yüksek enerjili fosfat molekülleri ve hücre sel enzim sistemleri için önemli bir iyondur. Magnezyum kardiyoplejik solüsyonlar içerisinde sıklıkla kullanılır. Hipermagnezemi hücre içerisine kalsiyum girişini önleyerek olumlu etkisini gösterir. 15-20mM/lit'nin en uygun magnezyum iyon konsantrasyonu olduğu belirtilmiştir (59). Kalsiyum varlığında aktin miyozin köprüsü kurularak ATP molekülünün kimyasal enerjisi mekanik enerjiye çevrilir. Membran bütünlüğünün sağlanmasında ve hücre içi pek çok enzim sisteminin çalışmasında kalsiyum iyonu gereklidir. Reperfüzyon hasarında hücre içinde kalsiyum iyonu biriktiği ve çökeltiler oluşturduğu saptanmıştır (60). Kalsiyumun varlığı miyokardiyal korunmada olumsuz bir faktördür ama ortamdan tamamen uzaklaştırılması da zararlıdır. Düşük kalsiyum konsantrasyonu hücre içine kalsiyum girişini azaltarak, iskemik yaralanmayı azaltır, bu da fonksiyonların geri dönmesini kolaylaştırır (61). Az miktarda kalsiyum hücre bütünlüğü için gereklidir. Kalsiyum bulunmayan solüsyonlarla uygulanan kardiyopleji sonrasında, miyokard hücresi tekrar kalsiyum iyonu ile karşılaştığında çok daha şiddetli bir reperfüzyon hasarı gelişebilir. Bu olaya "kalsiyum paradoksu" denir (62). Kalsiyum içermeyen bir ortamda miyokard hücresi membranının tersiyer yapısı bozulur. Bunun sonucunda hücre içerisine aşırı sodyum iyonu girişi olur. Hücre bu biriken sodyum iyonunu atabilmek için sodyum-kalsiyum iyon pompasını çalıştırır. Böylece hücre dışarıya atmaya çalıştığı kadar kalsiyum iyonunu içeriye alır. Hücre içerisinde özellikle mitokondrilerde kalsiyum iyonu çöker, hücre membranı parçalanır. Bu mekanizma ile olduğu düşünülen kalsiyum paradoksu, reperfüzyon hasarından sorumlu olaydır. Kardiyoplejide 0,5-1 mM/lit kalsiyum iyonu konsantrasyonunun olması önerilmektedir (63).

Kardiyopleji solüsyonlarındaki optimal sodyum konsantrasyonu ile ilgili olarak iki değişik görüş vardır. İyon içeriğine göre organ koruma solüsyonları intraselüler ve ekstraselüler olmak üzere iki gruba ayrılırlar (64-66). Bretschneider ve Kirsch'e göre sodyum iyon

konsantrasyonu hücre içi kompozisyonu uygun olmalıdır. Orta veya yüksek potasyum ve düşük sodyum konsantrasyonları içeren intraselüler solüsyonlar hücre içi ortamı taklit ederek hipotermiye sekonder hücre içi ödemi azaltmak amacıyla geliştirilmişlerdir. Bu tip solüsyonların sık kullanılanları arasında UW solüsyonu, Euro-Collins ve HTK solüsyonları sayılabilir. Düşük yada orta derecede potasyum ve yüksek sodyum içeren solüsyonlar ise hiperkalemiye bağlı hücre hasarının ve artmış vasküler rezistansın önüne geçmek için geliştirilmişlerdir. Bu ekstraselüler solüsyonların en sık kullanılanları arasında Stanford, Hopkins ve St. Thomas solüsyonları vardır.

Düşük sodyum içeren yada hiç içermeyen solüsyonlar depolarizasyona sebep olurken kalsiyumun hücre içine girmesine neden olur. Bu yüzden günümüzde daha fizyolojik olan, hücre dışı sodyum konsantrasyonuna uygun olan solüsyonlar tercih edilmektedir. En uygun sodyum oranı olarak 100-130 mM/lit önerilmektedir (67,68).

İskemi sırasındaki doku asidozunu tamponlamak için bikarbonat, fosfat, histidin, THAM gibi maddeler kullanılmaktadır. Her 10 derecelik soğumada pH 0,15 artacağı için hipoterminin uygulandığı cerrahi girişimlerde nötr pH olması gerektiğinden daha yüksek değerlerde olmalıdır. Miyokard fonksiyonlarının kolayca düzeldiği en uygun pH 7,6-7,8 olarak belirlenmiştir (69).

İyi koruma yapılmış kalpte ödem minimal olur. Solüsyonun osmolaritesi ödem oluşmasını önlemede önemlidir. Hipotonik solüsyonlar ödem oluşmasına, hipertonic solüsyonlar ise dehidratasyon ve hücre hasarına sebep olur (70,71). Solüsyonun hafif hipertonic olması tavsiye edilmektedir. Bu amaçla albumin yada mannitol kullanılmaktadır. Birçok farmakojik madde kardiyopleji saklama solüsyonlarına eklenmesine karşın gelecekte rutin kullanıma girme potansiyeli en fazla olanlar impermeanlar, substratlar ve antioksidanlardır. Günümüzde kullanılan impermeanlar (mannitol, laktobiyonat, rafinoz, histidin) intraselüler ozmotik basınca karşı etki göstererek hipotermiye bağlı hücresel ödemi azaltırlar. Substrattan zengin solüsyonların kullanılmasının amacı yüksek enerjili miyokardiyal fosfatların iskemi döneminde saklanması (kontraktür band oluşumunu önlemek için) ve reperfüzyon sırasında hızlı rejenerasyonlarının sağlanmasıdır. Adenozin, L-piruvat ve L-glutamat üzerinde yoğun

olarak çalışılmaktadır (72). Nötrofillerin ve serbest oksijen radikallerinin miyokardiyal reperfüzyon hasarının önemli medyatörleri olduğunun anlaşılmasından beri bu olumsuz etkileri azaltabilmek için allopurinol, glutatyon, superoksit dismutaz, katalaz, mannitol ve histidin gibi antioksidan maddeler kullanılmaktadır. Lökosit inhibisyonu veya azaltılması için de çeşitli farmakolojik ve mekanik stratejiler üzerinde çalışılmaktadır (73,74).

Ekstraselüler kardiyak ödem ve kompleks perfüzyon tekniklerinin getirdiği lojistik sebepler nedeniyle devamlı perfüzyon tekniklerinin potansiyel faydaları gölgelenmektedir. Deneysel düşük-basınç (mikroperfüzyon) ve aralıklı flush teknikleri önemli miktarda ödeme yol açmadan teorik olarak temel ihtiyaçları karşılayacak kadar yeterli oksijen ve substrat sağlarlar (76).

Açık kalp cerrahisinde en önemli sorunlardan biri kardiyak arrest sırasında, iskeminin neden olduğu myosit ve vasküler endotel hücrelerinin fonksiyonlarındaki olumsuz etkilenmelerdir. Bu istenmeyen etki, iskemik sürenin arttığı durumlarda ve kalp transplantasyon cerrahisinde daha belirgin hale gelmektedir. Günümüzde, iskemik hasarın en aza indirilmesi amaçlanarak geliştirilen kardiyoplejik solüsyonlar ve diğer teknikler (cold storage) ile bu sorun kısmen giderilmiş olsa da, özellikle aort klemp zamanının ve dolayısı ile de iskemik sürenin uzadığı durumlarda, kötü myokardial tolerans kalp cerrahları için hala endişe vericidir.

Peroperatif ölümlerin %20'sinin kardiyak disfonksiyona bağlı olduğu düşünülünce bu konudaki tartışmaların çözülebilmesi için bizim çalışmamız ve benzer birçok çalışmaya ve araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (77).

2.3.3. HTK solüsyonu ve özellikleri

İntraselüler kardiyoplejik bir solüsyondur. İçerisinde anaerobik glikolizin etkilerinden olan asidozun tamponlanmasını sağlayan histidin, Krebs siklusunda rol alan ve nikotinamid adenin dinükleotid prekürsörü olan ketogluterat ve triptofan içerir. Triptofan ayrıca hücre membran stabilizatörü olarak da rol oynamaktadır. Kardiyak ödemi azaltmak amacı ile

30mM/lit mannitol içerir. Potasyum iyon miktarı rutin kullanılan kardiyoplejiden daha düşüktür (10mM/lit). Sodyum iyonu miktarı 15mM/lit, klor iyonu miktarı 50 mM/lit, magnezyum iyonu Miktarı ise 4mM/lit'dir. Kalsiyum iyonu içermemektedir. Osmolaritesi ise 310 mOSm/lit'dir (78,80).

2.3.4. Kristalloid solüsyonu ve özellikleri

Ekstraselüler kardiyoplejik bir solüsyondur. İçerisinde enerji prekürsörü olarak 2 gr glukoz mevcuttur. İçerisinde elektrolit olarak 154 mMol/lit sodyum iyonu, 179 mM/lit klor iyonu, 5mM/lit kalsiyum iyonu, 25 mM/lit potasyum iyonu ve tampon olarak 25 mM/lit bikarbonat iyonu bulunmaktadır. Osmolaritesi 345 mOsm/lit'dir. 6mM/lit magnezyum iyonu bulunmaktadır.

İskemiye bağlı miyokard hasarını sınırlandırmaya yönelik solüsyonlara eklenen maddeler

- Elektromekanik arrest
 - Depolarizasyon: potasyum, kalsiyum kanal blokörleri
 - Hiperpolarizasyon: sodyum-potasyum kanalı açıcı ajanlar
- Hipotermi
 - Perfüzasyon
 - Eksternal soğutma
 - Soğuk infüzyon
- Substrat ile zenginleştirme
 - Kanın veya kristalloidin oksijenlenmesi
 - Glukoz-insülin
 - Glutamat-aspartat
- Tamponlama
 - Bikarbonat
 - THAM
 - Histidin
 - İmidazol tamponları
 - Kan

- Metabolitlerin yıkanması
 - Tekrarlanan infüzyonlar
 - Retrograd kardiyopleji
- Kalsiyum akışının kontrolü
 - CPD'li kan
 - Düşük kalsiyum iyonu
- Antioksidanlar
 - Mannitol
 - Allopurinol
- Kontrollü ve planlı kardiyopleji verilmesi
 - Antegrad
 - Retrograd
 - Antegrad ve Retrograd

Tablo 1 HTK (Bretschneider) solüsyonunun içeriği

HTK Bretschneider solüsyonu

0.8766 g	Sodyum klorid	=	15,0	mmol/l
0.6710 g	Potasyum klorid	=	9,0	mmol/l
0.1842 g	Potasyum hidrojen 2- Ketoglutarat	=	1,0	mmol/l
0.8132 g	Magnesium klorid · 6 H ₂ O	=	4,0	mmol/l
3.7733 g	Histidin · HCl · H ₂ O	=	18,0	mmol/l
27.9289	Histidin	=	180,0	mmol/l
g				
0.4085 g	Triptofan	=	2,0	mmol/l
5.4651 g	Mannitol	=	30,0	mmol/l
0.0022 g	Kalsium klorid - 2H ₂ O	=	0,015	mmol/l

* pH 7.02-7.20 25°C'de (pH 7.4-7.45 4°C'de) Osmolarite: 310 mosmol/kg

University of Wisconsin (UW) solüsyonu böbrek, karaciğer, pankreas gibi organların saklama sürelerini uzatmış olmasına rağmen, donör kalp saklanması klinik olarak organ viabilitesi 4-6 saatle sınırlıdır (81). HTK (Custodiol) Bertschneider ve ekibi tarafından ilk olarak bir kardiyopleji solüsyonu olarak geliştirilmiştir. Böbrek ve karaciğer transplantasyonunda efektif olarak kullanılmaktadır. HTK'nın insan atrial miyokardının korunmasında da etkin olduğu bildirilmiştir (78-80).

Endotel fonksiyonları tarafından düzenlenen koroner kan akımının hayati önemine rağmen uzamış iskemiye takiben endotel fonksiyonlarını inceleyen az sayıda çalışma vardır.

Kober ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada UW solüsyonu ile karşılaştırıldığında HTK solüsyonunu tüm sıcaklıklarda etkin miyokardiyal koruma sağladığı, bu yüzden orta derecede hipotermide, rutin kardiyak cerrahide miyokardiyal koruma için oldukça etkin ve güvenli bir seçenek olabileceği belirtilmiştir. Uzun dönem depoda bekletilmesi halinde bile içeriğinin etkinliği koruduğu belirlenmiştir. UW solüsyonundan çok daha ucuz bir solüsyondur (82).

HTK solüsyonunun etkinliğinin, içerdiği histidin/ histidin hidrokloridin uzun dönemli ve yüksek tamponlama kapasitesiyle iskemiye takiben ortaya çıkan asidozu baskılamasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Azalmış asidoz ATP yıkımının önüne geçebilir ve hipotermik saklama koşullarında enerji metabolizmasını olumlu yönde etkiler. Saitoh ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada HTK solüsyonunda saklanan kalplerde miyokardiyal ATP seviyelerinin kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. ATP seviyesinin korunması ve asidozun engellenmesi miyokard fonksiyonlarının korunmasını sağlar. Bu çalışmada basit soğuk saklama dönemini takiben koroner damar endotel fonksiyonlarını ve kardiyak fonksiyonları incelemişler ve HTK solüsyonunun kullanıldığı grupta, UW solüsyonu kullanılan gruba oranla kardiyak fonksiyonların daha iyi korunduğunu göstermişlerdir (83). Bu koroner endotelinin ve dolayısıyla koroner kan akımı regülasyonunun korunmasına yada miyokardiyal kontraktilitenin iyi durumda olmasına bağlı olabilir. Biz de çalışmamızda endotel hasarını ve buna bağlı gelişen disfonksiyonu hangi kardiyopleji ve saklama solüsyonunun kullanılmasıyla

azaltılabileceğini saptamak için in vitro olarak uzun dönem iskemi sonrasında endotel fonksiyonlarını araştırdık.

Mankad ve arkadaşları hiperkalemik kardiyoplejik solüsyonların endotel hücrelerinin endotel kaynaklı relaksan faktör (EDRF) yapımını azalttığını vurgularken, UW solüsyonu gibi yüksek viskozitesi olan solüsyonların perfüzyon sırasında vasküler rezistansı ve gerilim stresini arttırdığını saptamışlardır (84).

Ku ve arkadaşları iskemi ve reperfüzyonun koroner vasküler tonusu etkilediğini (85), Quillen ve ekibi ise iskeminin koroner mikrovasküler reaktivitede hafif değişikliklere yol açtığını, perfüzyonun takip ettiği iskemi döneminin ise belirgin ve selektif olarak endotel bağımlı koroner mikrosirkülasyonda disfonksiyona yol açtığını saptamışlardır (86).

Saitoh ve arkadaşları saklama dönemini takiben reperfüzyonunda iskemiye takip eden reperfüzyon gibi koroner vasküler yanıtı değiştirdiğini göstermişler ve reperfüzyon döneminin transplantasyon için saklanan kalplerde koroner sirkülasyonun en fazla hasara uğradığı dönem olduğunu belirtmişlerdir (83).

Mizukava ve arkadaşları histidinin endotel bağımlı relaksasyonu süperoksit radikallerine karşı koruduğunu göstermişlerdir. Histidinin yüksek tamponlama kapasitesi, triptofan ve α -keto glutaratın membran koruyucu ve enerji sağlayıcı özellikleri de reperfüzyonu takip eden dönemde gelişen serbest oksijen radikallerine bağlı membran hasarına karşı etkindir (87).

HTK solüsyonu saklama döneminde hem vasküler endoteli hem de miyokardiyumu korur. Saklama süresini takip eden döneme iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koroner sirkülasyonun korunmuş bir şekilde gelmesini sağlar. Genellikle erişkinlerde 80-120 ml/dakika 8-10 dakika boyunca, infant ve çocuklarda ise 30-40ml/kg dozunda kullanılır.

Bretschneider'in HTK solüsyonu ilk olarak 1964 yılında içeriğindeki bir iki ufak değişiklikle kardiyopleji solüsyonu olarak geliştirilmiştir ve klinik olarak miyokardiyal koruma amacıyla 4°C sıcaklıkta 4-5 saatlik iskemi süreleri için kardiyak transplantasyonda kullanıldığı gibi (88), 28°C'de gerçekleştirilen rutin kardiyak cerrahi için de kullanılmaktadır (89,90). HTK solüsyonu, düşük sodyum konsantrasyonu (15nmol/L), hafif derecede yüksek potasyum konsantrasyonu (10nmol/L) içeren, kalsiyum içermeyen intraselüler tipte bir solüsyondur.

İçerdiği yüksek histidin konsantrasyonu (198nmol/L) nedeniyle yüksek tamponlama kapasitesiyle ekstra ve intraselüler Ph'ın korunmasında rol oynar. Koher ve arkadaşları UW solüsyonu ile karşılaştırıldığında HTK solüsyonu kullanılan grupta kreatinin fosfat, laktat seviyesi, ATP yıkımında anlamlı farklılık saptanmıştır (82). HTK solüsyonunda bulunan mannitol, düşük sodyum konsantrasyonu ve kalsiyumun olmamasının, sodyumun hücre içindeki aktivasyonunu en aza indirip hücrenin şişmesinin önüne geçebileceği ve miyokardiyal ödemini önleyebileceği öne sürülmektedir.

Reperfüzyon sonrasında normal iyon gradiyentlerinin yeniden dengelenmesine olan ihtiyacı minimize ettiği için intraselüler solüsyonların ekstraselüler olanlara oranla potansiyel olarak üstünlüğü vardır. Diğer taraftan yüksek potasyum seviyeleri ısınma sırasında membran potansiyelinin normalizasyonunu geciktirir ve elektromekanik olarak dengesiz olan dönemi uzatır.

Kober ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada HTK solüsyonu kullanılan hastalarda UW solüsyonu kullanılan hastalara oranla reperfüzyonu takiben kalpte elektriksel aktivitenin hemen başladığı görülmüştür. UW solüsyonu kullanılan hastalarda 6 saniye gecikme izlenmiştir. Ayrıca yüksek potasyum konsantrasyonları kalsiyumun hücre içine girmesine yol açar bu da duvar gerilimini ve koroner vasküler rezistansı artırır. Sonuç olarak perfüzyon solüsyonunun heterojen dağılımına, yüksek enerjili fosfat yıkımının hızlanmasına ve miyokardiyal kontraktür gelişimine neden olabilir (82).

Kliniğimizde yakın dönemde yapılan bir çalışmada koroner arter hastalarında kısa kros klemp sürelerinde HTK solüsyonunun konvansiyonel kristalloid kardiyopleji ile karşılaştırıldığında, düşük dozda (15ml/kg) etkin ve güvenli olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir. HTK solüsyonu kullanılan grupta kros klemp sonrası fibrilasyon süresi istatistikî önem taşımamakla beraber daha uzun olmuş fakat bu süre biyokimyasal (malondialdehit, laktat, kreatinin kinaz, kreatinin kinaz MB, troponin-I) ve klinik herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır (91).

Uzamış iskemi ve derin hipotermiyi takiben HTK solüsyonunun saklama amaçlı kullanıldığı durumlarda, ATP'ye duyarlı potasyum kanallarını açan bir ajan olan pinacidilin eklenmesiyle miyokardiyal koruma daha etkin olarak sağlandığı ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada

gösterilmiştir (92). Bir kalsiyum kanal blokörü olan gallopamilin kardiopleji solüsyonlarına (HTK, St. Thomas) eklenmesiyle kardiyak fonksiyonların ve artan miyokardiyal kan akımına rağmen oksijen alımının azaldığı saptanmıştır. Bu da yetersiz miyokardiyal korumanın bir göstergesidir (93).

Yine deneysel çalışmalarda iskemi ve reperfüzyon hasarını azaltmakta NO kullanımının etkili olabileceği gösterilmiştir.

Careaga ve arkadaşları elektif açık kalp ameliyatı geçiren 30 hasta üzerinde yaptıkları randomize bir çalışmada konvansiyonel kristalloid kardiopleji le karşılaştırıldığında HTK solüsyonunun aritmi insidensini, inotropik ajana olan ihtiyacı ve yoğun bakım kalış süresini efektif olarak azalttığını göstermişlerdir (79).

HTK solüsyonu ve UW solüsyonu kullanımına ek olarak koroner oksijen persüflasyonu uygulanmasını sadece solüsyonların kullanımıyla karşılaştırıldığı domuzlar üzerinde yapılan bir çalışmada, koroner oksijen persüflasyonunun güvenli iskemi süresini 14 saate kadar uzatabildiği ve metabolik veya klinik herhangi bir sorunla karşılaşılmadığı saptanmıştır (94).

Marten ve arkadaşları çalışmalarında miyokardiyal proteksiyon amacıyla farklı gruplarda HTK, UW ve St. Thomas solüsyonları kullanmışlar ve endotel hücrelerinin yapısı üzerine olan etkilerini araştırmışlardır (95). St. Thomas solüsyonu kullanılan grupta endotel hücre ödemi daha fazla iken, HTK ve UW solüsyonu kullanılan gruplarda endotel yapısı daha iyi korunmuştur. HTK ve UW solüsyonu kullanılan gruplar birbiriyle karşılaştırıldığında ise HTK kullanılan grupta endotel yapısı bir miktar daha iyi korunurken UW kullanılan grupta endotel hücre ödemi daha azdır. Yine domuzlar üzerinde yapılan bir çalışmada HTK solüsyonu ve koroner oksijen persüflasyonunun beraber kullanılmasının sıradan soğuk saklama yöntemlerine göre miyokardiyal fonksiyonları daha iyi koruduğu böylelikle postoperatif hemodinaminin daha iyi seyrettiği, miyokardiyal ATP miktarının belirgin olarak yüksek olduğu saptanmıştır (96).

Sunderdiek ve arkadaşlarının yaptığı prospektif randomize bir çalışmada ise koroner arter bypass cerrahisinde miyokardiyal fibrilasyon ve hipotermik intermittan aortik kros klemp ile ve

HTK solüsyonu ile kardiyoplejik arrest sağlanan iki grup karşılaştırılmıştır. Kırk dakikadan uzun süren miyokardiyal iskemi durumunda HTK solüsyonu kullanılan hastalarda daha etkin miyokardiyal korunma sağlandığı gösterilmiştir (97).

Koroner arter bypass cerrahisi ve transplantasyon cerrahisinin yanı sıra mitral kapak cerrahisinde de HTK solüsyonunun başarılı sonuçları bildirilmiştir. Kırkaltı hastada yapılan bir çalışmada tekrarlanan soğuk kan kardiyoplejisi ile tek yüksek doz HTK kardiyoplejisi karşılaştırıldığında pace kullanımı gereksinimi, aritmi ve spontan defibrilasyon, HTK grubunda belirgin olarak daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. İnotrop ihtiyacı ve kreatinin kinaz ihtiyacı açısından her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (98).

2.3.5. Endotel fonksiyonları, nitrik oksit ve uzun iskemi süresinin endotel fonksiyonlarına etkisi

Kalp transplantasyonu, medikal tedaviye yanıt vermeyen son dönem kalp hastalıklarında %70'in üzerinde 5 yıllık sağkalım oranıyla tercih edilen temel tedavi yöntemi olmasına rağmen, transplatasyonu takip eden ilk yıl sonrasında sessiz enfarktlara, greft yetmezliğine ve erken ölüme yol açan greft koroner vaskülopatisi gelişebilmekte ve bu durum uzun dönem sağkalımın önündeki temel engel olarak görülmektedir (99). Günümüzde bunun etkin bir tedavisi bulunmamaktadır. Kardiyak transplantasyon sonrası koroner endotelyal disfonksiyon ateroskleroz oluşumuna katkıda bulunur ve insanlarda bu durum kalp transplantasyonundan sonra görülen intimal hiperplazinin ve kardiyak olayların habercisi olabilmektedir (100,101). Kalp transplantasyonu sonrasında koroner endotelyal disfonksiyonun altında yatan mekanizma üzerinde tartışmalar halen devam etmektedir (102). Klinik olarak kanıtlanmıştır ki, kardiyak transplantasyon sonrası bradikinine yanıt veren vazodilatasyon korunurken asetilkoline yanıt veren endotel bağımlı vazodilatasyon selektif olarak olumsuz etkilenmiştir.

Transplantasyon sonrası dönemde; hücrel ve humoral rejeksiyon, hiperlipidemi, sitomegalovirüs reaktivasyonu, immünsupresif ajanlar, kardiyoplejik arreste maruz kalma, soğuk iskemi, organ saklama solüsyonları ve reperfüzyon gibi bir çok faktör

endotelial disfonksiyonu tetikleyebilmektedir (103). Bu zarar verici etkenler endotelin patolojik aktivasyonu ile birlikte, endotelin damar duvarının homeostazı üzerine olan düzenleyici etkisinin kaybına yol açmaktadır (104).

Normal şartlarda bu homeostaz endotelden salgılanan üç temel vazorelaksan medyatör aracılığı ile sağlanmaktadır. Bunlar Nitrik oksid (NO), Prostosiklin (PGI₂), Endotel Kaynaklı Hiperpolarize Edici Faktör (EDHF) dır. Kalp transplantasyonu sonrası immünsüpresif ajanların kullanımının eşlik ettiği artmış oksidatif stres durumu endotelial NO'ı tüketir, etkin bir sitoprotektör olan prostasiklin üretimini baskılar ve anti-aterojenik etkisini azaltarak koroner greft vaskülopati gelişimine katkıda bulunur. Endotel, anti-trombotik ve anti-agregan özellikleri olan ve vasküler düz kas hücresi proliferasyonunu engelleyen NO salınımı yoluyla, vasküler duvar üzerine koruyucu etki gösterir (104-109).

Endotel hücrelerinin, arteriyel tonüs ve vasküler duvar homeostazının regülasyonundaki rolü 1980'lerden beri bilinmektedir (100). Koroner arterlerdeki vazodilatasyon endotele bağımlı ve endotelden bağımsız olmak üzere iki mekanizma ile ortaya çıkmaktadır (110,111). Endotel bağımlı relaksasyon mutlak suretle fonksiyonel bir endotel gerektirir (104). Endotelial disfonksiyon greft arter vaskülopatinin gelişiminde etken olaylardan biridir (112).

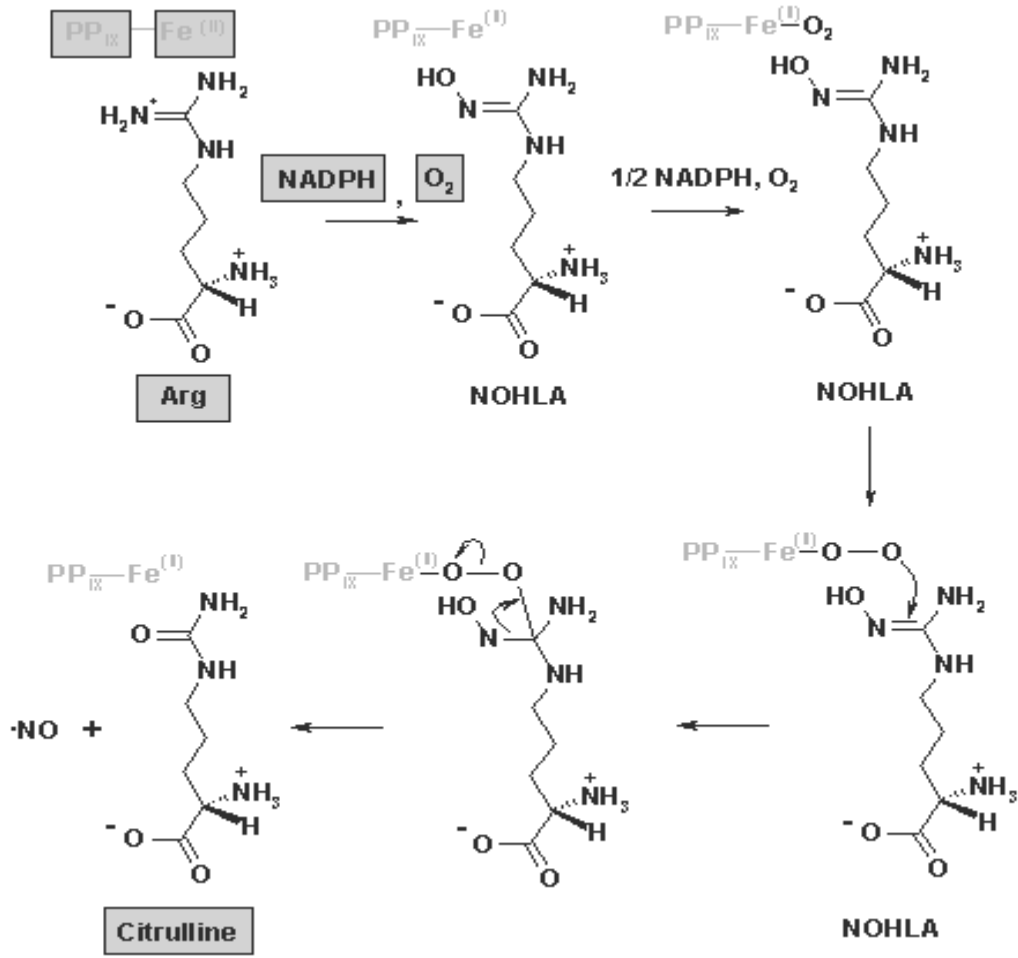
Endotel disfonksiyonu, Gi protein yolunu da içeren hücre içi sinyal transdüksiyonun bozulması ile başlar sonrasında genel NO aktivitesi kaybı gelişir. Gi-proteine bağımlı relaksasyonun erken dönemdeki bu selektif kaybı hiperlipidemi ve ateroskleroz durumlarında izlenen kayba benzerdir. Koroner intimal hiperplazinin gelişmesi, endotel disfonksiyonundaki progresif bozulmayla paralel bir seyir izler bu da aterosklerozun, bu hızlanmış formunda, endotel disfonksiyonunun önemli rol oynadığını gösterir. NO üretimindeki azalma, damar lümeninde lökosit ve monosit adezyonunu, trombosit agregasyonunu hızlandırır, tromboza yol açabilir, vasküler düz kas proliferasyonunu, migrasyonu ve intimal hiperplazinin ilk basamaklarını stimüle eden büyüme faktörlerini ve sitokinlerin üretimini artırır (104,113).

Akut rejeksiyonda, genelde progresif endotel hücre hasarına sekonder Gi-proteine bağımlı relaksasyonun bozulmasının yol açtığı koroner endotel disfonksiyonu izlenir. Vasküler endotelin hafif derecede rejeksiyonuna ise siklik guanozin monofosfatın bazal üretiminde

azalma eşlik eder. Transplantasyonu takip eden ilk 60 gün içinde endotelial NO sentetaz ekspresyonunda ise bir azalma izlenmez (114).

NO yolunun endotel fonksiyonları üzerinde olan önemli etkisi domuz koroner arterleri içine NO sentezi inhibitörü olan L-NAME infüzyonu ile gösterilmiştir (104). L-arjinin eklenmesi hiperkolestrolemik tavşan modelinde kalp transplantasyonu sonrası greft koroner vaskülopatisini önleyebilmiştir fakat koroner endotel üzerine olan etkisi üzerine çalışmalar sürmektedir (115). İntrakoroner Doppler ultrason ölçümleriyle L-arjininin transplant alıcılarında epikardiyal ve mikrodamar yatağında endotelial disfonksiyonu tersine çevirebildiği gösterilmiştir (115). NO yolunun inhibe edilmesi kalp transplantasyonu sonrası endotel disfonksiyonuna yol açar. İntimal kalınlaşmayı hızlandırarak endotel bütünlüğünün bozulmasına, greft koroner vaskülopatisine ve sonuçta rejeksiyona yol açar (104).

Kardiyopulmoner bypass NO salınmasında azalmayla sonuçlanacak olan endotel disfonksiyonuna yol açan sistemik inflamatuvar yanıtı sebep olmaktadır (116). Bu sistemik inflamatuvar yanıt, kompleman aktivasyonu ve sitokin salınımıyla saptanmıştır. Kardiyoplejik arrest döneminde koroner yataktan NO salınması azalır. İlk olarak NO sentezinin substratı olan L-arjinin, kardiyoplejik arrest sürecinde tükenmiş olabilir. L-arjinin NO sentetaz tarafından L-sitrulin ve NO'e metabolize edilir (117).



Şekil 1 L-arjininin NO sentetaz tarafından L-sitrulin ve NO'ye metabolize edilmesi

Bir diğer sebep olarak, kardiyoplejik arrest döneminde endotelial disfonksiyonun gelişmesi gösterilebilir. Daha önceki çalışmalarda belirtildiği üzere hiperkalemik kardiyoplejik solüsyonlar vasküler endotel üzerinde histolojik ve fonksiyonel hasara yol açarlar (118). Aksine, Sellke ve arkadaşları göstermişlerdir ki 1 saatlik kardiyoplejik arrest, vazodilatatör maddelere endotel bağımlı yanıtta az miktarda azalmaya yol açmaktadır (119). Dignan ve ekibi ise 2 saatlik iskemi süresini takiben endotel bağımlı yanıtta minimal düzeyde azalma saptamışlardır. Daha uzun süren iskemi sürelerinin endotel bağımlı yanıtta etkileri üzerine yeterli veri yoktur (120).

Son olarak soğuk (4°C) kardiyoplejik solüsyonların kullanımı sırasında ortaya çıkan miyokardiyal sıcaklık düşüşü, NO sentetaz aktivitesini baskılıyor olabilir.

Reperfüzyonu takiben kalbin muhtemelen L-arjinin taşıyan kan ile perfüze edildiği ve NO donörü olan nitrogliserin ve nitroprussidin kullanıldığı dönemde koroner yataktan NO salınımı azalmaya devam eder. Kardiyoplejik arresti takiben reperfüzyon döneminde de endotel bağımlı vazodilatasyonda meydana gelen sorun devam eder (119).

Hipoksik endotel oksijenlenmiş kan ile reperfüze edildiğinde, nötrofiller endotele yapışırlar ve serbest radikaller, tromboksanlar, lökotrienler, elastazlar ve proteazlar gibi hücre zararını zedeleyen maddelere bağlı olarak nötrofil bağımlı endotel hasarı ortaya çıkar (121,122).

Lefer ve Tsao göstermiştir ki, NO bağımlı vazodilatasyonun kaybı reperfüzyonu takip eden 2,5. dakikada başlar (123). Buna ek olarak, NO'in bir kısmı hemoglobine bağlı kalabilir. Kardiyoplejik arrest ve reperfüzyon endotel disfonksiyonuna yol açabilir ve bu da postoperatif erken dönemde yetersiz kardiyak fonksiyona sebep olur (124).

NO daha çok implante edilen kalbin nativ koroner arterlerinde ve koroner arter bypass ameliyatlarında kullanılan konduitlelerde endotele bağımlı vazodilatasyonda rol alırken NO haricindeki diğer faktörler daha çok mikrovasküler yataktaki yanıtta rol alırlar. Bu NO sentetaz aktivitesinin konduit arterlerine oranla rezistans arterlerinde daha az olduğunu belirten yayınlarla uyumlu bir veridir (125).

Endotel, vasküler duvar üzerine salgılamış olduğu NO vasıtası ile protektif olarak etki eder ki bu da trombosit agregasyonunu önleyerek anti trombotik etki gösterir ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunu önler (104). Azalmış NO üretimi, damar lümeninde lokosit ve monosit adezyonunu ve trombosit agregasyonunu stimüle eder ve sonuç olarak tromboza ve vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyona yol açan büyüme faktörü ve sitokinlerin üretimine yol açarlar (104). Bu durum intimal hiperplazi gelişiminde ilk basamaktır.

Koroner, sistemik, mezenterik , pulmoner ve serebral arterlerde endotel bağımlı vazorelaksasyonda en fazla katkı NO üretimi ile olmaktadır. Bunun önemi hem hayvanlarda hem de insanlarda in vivo olarak, endotel NO sentetazın inhibisyonunun bir çok vasküler yatakta vazokonstriksiyona ve sistemik arteriyel basınçta artışa yol açtığı belirlenerek gösterilmiştir (113).

Vasküler fonksiyonların farmakolojik olarak korunmasının lökosit adezyon inhibitörleri, kalsiyum kanal blokörleri, endotelin reseptör antagonistleri ve serbest oksijen radikali oluşumu inhibitörleri gibi ajanlarla sağlanabileceğini gösteren başarılı çalışmalar vardır fakat iskemi sırasında ve sonrasında endotelial, vasküler ve miyokardiyal koruma protokollerinin rafine edilebilmesi için daha geniş, randomize ve detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.3.6. Uzun iskemi süresinin papiller adale fonksiyonlarına etkisi

Papiller adalelerin in situ gerilim şeklini ve buna etkileyen faktörleri saptamak için bir çok çalışma yapılmış ve sonuçta kas gerilim paterni olarak 3 temel faz belirlenmiştir: sistol başlangıcında ortaya çıkan izovolemik kontraksiyon sırasında oluşan izometrik faz, ventriküler ejeksiyon sırasında gerçekleşen kısalma fazı ve gevşemiş ventrikülün dolumuna denk gelen yeniden uzama fazı (126-128). İn situ çalışmalarda papiller kas gerilim paternlerinin belirlenmesi güncel teknolojinin yardımıyla in vitro çalışmalarda da canlandırılabilen, aynı sonuçlar alınabilmektedir (129) ve böylelikle bizim çalışmamızda da olduğu gibi ventriküler kas modeli olarak papiller kas in vitro çalışmalarda rutin olarak kullanılmaktadır.

İskemik preconditioning miyokardın iskemiye bağlı hasarını sınırlandırmakla birlikte reperfüzyon hasarı arttığı için damar yatağı daha az korunur ve bu da vazodilatasyon kapasitesini azaltır.

Miyositlerde, iskemi ve reperfüzyondan endotel hücrelerine benzer şekilde daha önceki bölümlerde belirttiğimiz üzere etkilenir. Kardiyopulmoner bypassın, iskemik arrestin, reperfüzyonun, hatta kardiyopleji ve organ koruma solüsyonlarının içeriğinin miyokard üzerine olumsuz etkileri bilinmektedir. Miyokardiyal hasarın yaygınlığının hastanın postoperatif durumunun ve muhtemelen sağkalımının belirleyicisi olduğu gösterilmiştir.

Hücre ödeminin gelişmesi, aktin miyozin ilişkisinin bozulması, hücre içi kalsiyum miktarının artması sonuçta hücre ölümüne neden olabilir.

Ackerman ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmalarda potasyum-insulin-glukoz içerikli solüsyon ile HTK solüsyonunu karşılaştırdıklarında, HTK solüsyonu kullanılan hayvanlarda

reperfüzyon aritmilerinin iskeminin 4-12. saatlerinde daha az oluştuğunu göstermişler bunu da HTK solüsyonunda ATP bağımlı Na-K pompasının çalışmasına bağlı olarak intraselüler potasyum miktarının korunmasına dayandırmışlardır. Yapılan hayvan ve insan çalışmalarında HTK solüsyonu kullanılan grupta kardiyak yıkım enzimleri düşük olarak tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda ortalama klemp süresi minimum 45 dakikadır.

Bu çalışmanın amacı farklı kardiyoplejik solüsyonların, (Potasyumlu soğuk kristalloid kardiyopleji, HTK solüsyonu) myositlerin ne derece etkilendiğini göstermek amacı ile papiller adale, endotel hücrelerinin ne derece etkilendiğini göstermek için ise asendan aorta kullanılarak, uzun süreli iskemik dönemde hem kalp transplantasyonuna hem de aort klemp süresinin uzun olduğu diğer kardiyak cerrahilere örnek teşkil edecek şekilde, kalbin korunmasına olan katkıları ve kardiyak fonksiyonlara olan etkisini karşılaştırmalı olarak incelemektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada, Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi, Üretim Ünitesi'nden sağlanan 40 adet Sprague Dawley, erişkin, erkek rat kullanılmıştır. Hayvanlar, optimum laboratuvar koşullarında, $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında, $\%50\pm 10$ nemli ortamda 12 saatlik aydınlık / karanlık periyodu (8.00 – 20.00) uygulanan bakım odalarında, polikarbon kafeslerde (Ehret, Almanya ve Techniplast, İtalya) standart kuru peletler halindeki sıçan yemi (Purina®) ile beslenmişlerdir.

Deney protokolü Başkent Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Etik Kurulu onayı sonrasında Araştırma Kurulu tarafından DA 04/31 proje numarası ile desteklenmiş, deneysel çalışmalar Başkent Üniversitesi, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi, Araştırma Ünitesi Ameliyathanelerinde ve Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. 12 hafta üzerinde, ortalama ağırlıkları 437 ± 35 gr olan Sprague Dawley türündeki toplam 40 erkek rat randomize düzende planlanan çalışmaya dahil edildi. Grup H1, HTK solüsyonu kullanılarak 1 saatlik iskemik sürenin oluşturulduğu ratlar (n=8), grup H8, HTK solüsyonu kullanılarak 8 saatlik iskeminin oluşturulduğu ratlar (n=8), grup P1 potasyumlu soğuk kristalloid kardiyopleji kullanılarak 1 saatlik iskeminin oluşturulduğu ratlar (n=8), grup P8 potasyumlu soğuk kristalloid kardiyopleji kullanılarak 8 saatlik iskeminin oluşturulduğu ratlar (n=8) ve bekletilmeden çalışmaya alınan kontrol grubu (n=8) olmak üzere 5 grup oluşturuldu.

Tablo 2 : Çalışmada kullanılan iki farklı perfüzyon (kardiyopleji ve organ saklama amaçlı) solüsyonunun (H ve P gruplarında) içerikleri

	<u>P (potasyumlu konvansiyonel kardiyopleji)</u>	<u>H (HTK)</u>
<u>İçerik</u>		
Sodyum (mmol/l)	154	15
Klor (mmol/l)	179	50
Potasyum (mmol/l)	25	10
Kalsiyum (mmol/l)	5	-
Magnezyum (mmol/l)	6	4
Ketogluterat (mmol/l)	-	1
Triptofan (mmol/l)	-	2
Histidin (mmol/l)	-	180
Mannitol (mmol/l)	-	30
Histidin HCl (mmol/l)	-	18
Dekstroz (gr/l)	2	-
Sodyum bikarbonat (mmol/l)	25	-
Osmolarite (mOsm/l)	345	310

3.1. Cerrahi Teknik

Ratlar bir gece önceden aç bırakıldı. İntraperitoneal Xylazine(10 mg/kg), Ketamin (60 mg/kg) intraperitoneal olarak uyguladıktan sonra fizyolojik recorder kullanılarak EKG monitörizasyonu yapıldı. İntraperitoneal 100 mg için 500 U olacak şekilde heparin verildi. Trakeostomi yoluyla, 16 numara gri intraket kullanılarak, trakeanın entübasyonunu ve mekanik ventilatöre bağlanmasını takiben usulüne uygun olarak sternotomi yapıldı. İnsizyon angulus mandibularise uzatılarak sağ karotid arter eksplore edildi. Perikard açıldı. Arkus aorta İnnominate arter ile sol ana karotid arter arasından dönüldü. Sağ ana karotid arterin 22 numara mavi intraket ile kanülasyonunu takiben manifold sistemi ile kan basıncı kaydedildi. Topikal soğutmanın ardından arkus aorta, innominate arter sonrasında klemlenerek kardiyoplejik arrest sağlandı. Kardiyoplejik arrest, 16 ratta HTK kardiyoplejisi ile, 16 ratta ise kristalloid kardiyopleji ile sağlandı. Tüm gruplarda kardiyopleji solüsyonu 10 cc verildi. Kendi

ağırlığıyla, basınç uygulanmadan 15 cm seviye farkı oluşturacak şekilde verildi. İnfirior vena kava sağ atriyuma doğru kesilerek kalpte distansiyon gelişmemesi için kardiyopleji boşaltıldı. Tüm gruplarda perikardiyal kese 4°C'deki kardiyopleji solüsyonu ile dolduruldu. Kontrol grubunda kardiyoplejik solüsyon kullanılmadı, perikardiyal kese içerisine sadece 4°C'deki serum fizyolojik boşaltıldı. Her üç grupta da kalp, durduktan sonra çıkarıldı. Cerrahi prosedür operasyon mikroskobu (OPML 9-FC, Zeiss, Almanya) altında gerçekleştirildi. Tüm ratlarda sağ ventrikül serbest duvardan ventrikülotomi yapılarak septal papiller adale izole edildi ve aort klemp proksimalindeki assendan aort sinotübüler bileşke üzerinden dikkatli bir şekilde izole edildi.

İzole edilen assendan aorta üzerindeki dokular mikroskop altında dikkatli bir şekilde diseke edildi ve 3-4 mm uzunluğunda silindirik halkalar oluşturmak üzere kesildi. Bu aşamada endotele zarar vermemeye özen gösterildi. H1 ve H8 grupları, +4°C'deki HTK solüsyonunda 1 ve 8 saat, P1 ve P8 grupları ise +4°C'deki kristalloid solüsyonunda 1 ve 8 saat saklandı. Kontrol grubundaki ratlarda ise dokular bekletilmeden, izole edilen papiller adale ve aorta hemen çalışmaya alındı. Bekleme süreleri tamamlanan papiller adale ve aorta izole organ banyosunda asıldı.

3.1.1. Asendan aort preparatlarının hazırlanması:

İzole edilen asendan aort çevre dokularından temizlendikten sonra 3-4 mm uzunluğunda ringler hazırlandı. Her bir ring içerisinde 38°C'de Krebs Ringer solusyonu (mM): NaCl 135; KCl 5; NaHCO₃ 20; Glucose 10; KH₂PO₄ 1.2; CaCl₂·2H₂O 2.5; MgSO₄·6H₂O 1.3; EDTA 0.026; bulunan 10 ml'lik organ banyolarına iki adet paslanmaz çelik kanca aracılığı ile tutturuldu. Kancalardan biri ile doku banyo içerisine sabitlendi, diğeri ise transducer'a bağlanarak dokunun izometrik cevapları bilgisayar kontrollü bir veri kayıt sistemi (BIOPAC, MP 100A model izole organ bayosu sistemi, CA, USA) ile kaydedildi. Banyo içerisi % 95 O₂ + % 5 CO₂ ile havalandırılmış ve ortam pH'sı 7.35 – 7.45 aralığında tutulmuştur. Ringler 1 saat boyunca 1g gerim altında dinlenmeye bırakıldı, bu süre içerisinde 15 dakika aralarla banyo solusyonu yenilendi. Dinlenim süresi sonunda ortama 10⁻⁶ M fenilefrin (PE) verilerek elde

edilen kasılma cevabı kaydedildi. Ortamdan PE'in uzaklaştırılması ile dinlenme gerimine geri dönen ringlere aynı protokol tekrar uygulanarak dokunun canlılığı ve cevap verirliliği test edildi. PE ile 1g'ın altında kasılma oluşturan dokular (3 ratta) deney dışı bırakıldı. Dinlenme süresi ve canlılığının test edilmesinden sonra deney protokolüne geçildi, doku, 10^{-6} M PE ile oluşturulan kasılma platosunda iken Asetilkolin (ACh) 10^{-8} - 10^{-4} M aralığında kümülatif olarak artacak şekilde uygulandı ve doz bağımlı gevşeme cevapları kaydedildi. Banyonun yıkanması ardından dinlenme durumuna geri dönen doku 10^{-4} M L-NAME ile 30 dk. inkübe edildikten sonra ACh'e verdiği cevaplar tekrarlanmış, aynı protokol, dokuların L-NAME (10^{-4} M) ve INDO (10^{-5} M) varlığında yineleni. Deney sonunda dinlenme gerimine tekrar geri dönen dokulara gevşeme yanıtlarının standardizasyonu için endotelden bağımsız olarak gevşeme cevabı oluşturan NO donörü sodyum nitroprussid (SNP, 10^{-5} M) uygulandı.

3.1.2. Papiller kas preparatlarının hazırlanması:

Sağ atrium yoluyla, triküspid kapak içinden, sağ ventrikül serbest duvardan açılarak septal papiller adale izole edildikten hemen sonra içerisinde 25°C 'de Tyrode solusyonu (mM): NaCl: 136; KCl: 2.68; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 1.36; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0.49; NaH_2PO_4 : 0.42; NaHCO_3 : 11.9; Glucose: 5.55 bulunan 10 ml'lik organ banyosuna iki ucundan ip ile bağlanan doku, yuvarlak şekildeki elektrodların arasında elektrodla temas etmeyecek şekilde asılmıştır. Kontrol grubunda işlem bu şekilde gerçekleştirilirken, diğer gruplarda papiller adaleler solüsyonlarda bekleme sürelerini takiben organ banyosunda asılmıştır. Dokuya bağlı iplerden birinin ucu banyo içerisine sabitlenmiş, diğeri ise transducer'a bağlanarak dokunun izometrik cevapları bilgisayar kontrollü bir veri kayıt sistemi (BIOPAC, MP 100A model izole organ banyosu sistemi, CA, USA) ile kaydedilmiştir. Banyo içerisi % 95 O_2 + % 5 CO_2 ile havalandırılmış ve ortam pH'sı 7.35 – 7.45 aralığında tutulmuştur. Papiller kas dokusu 1 saat boyunca 500 mg gerim altında dinlenmeye bırakılmış, bu süre içerisinde 15 dakika aralarla banyo solusyonu yenilenmiştir. Dinlenme süresinin başlangıcından itibaren ve uygulama boyunca dokuya, *delay (gecikme)*: 4 milisaniye, *duration (süre)*: 5 milisaniye, *interval (aralık)*: 1,00 Hz olacak şekilde 30 voltluk elektrik alan stimülasyonu (EFS) uygulanmıştır. Dinlenme süresi sonunda

banyo ortamına Isoproterenol 10^{-9} – 10^{-4} M aralığında kümülatif olarak uygulanmış ve papiller kas kasılma gücündeki doz bağımlı değişiklikler kaydedilerek değerlendirilmiştir.

3.2. İlaçlar ve kimyasal maddeler:

İzole organ banyosunda kullanılan kimyasal maddeler Sigma firmasından alınmış, Distile su içerisinde hazırlanan stok solusyonlardan her gün taze olarak distile su ile dilüe edilmiş solusyonlar kullanılmıştır.

3.3 İstatistiksel Analiz:

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Asendan aortaya ait maksimum gevşeme cevabı (E_{maks}) 10^{-5} M SNP ile alınan gevşeme cevaplarına göre yüzdelenerek standardize edilmiş, EC_{50} değerleri ise maksimum gevşeme cevabının %50'sini gerçekleştiren ACh konsantrasyonunun negatif logaritması ($-\text{Log M}$) olarak verilmiş ve her bir doku için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Papiller kasın kasılma gücünü değerlendirmek için her isoproterenol uygulaması sonrasında saptanan amplitüdün dinlenim amplitüdüne göre farkı dinlenim amplitüdüne göre yüzdelenmiştir. Kümülatif uygulama sonucunda elde edilen doz bağımlı cevaplar kullanılarak yukarıda belirtildiği şekilde EC_{50} değerleri hesaplanmış ve $-\text{Log M}$ olarak ifade edilmiştir.

"n" sayısı her grup içerisinde deneye alınan doku sayını göstermektedir. Gruplar arası farkın önem kontrolü tek yönlü varyans analizi (ANOVA), doz bağımlı cevapların karşılaştırılması ise tekrarlayan veriler için varyans analizi ve her iki varyans analizi sonrasında *post hoc* Bonferroni testi kullanılarak hesaplanmıştır. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Farklı kardiyoplejik solüsyonların [Potasyumlu soğuk kristalloid kardiyopleji, HTK solüsyonu (Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate solüsyonu = Brethscheider solüsyonu = Custodiol® solüsyonu)] uzun süreli iskemik dönemde kalbin korunmasına olan katkıları ve kardiyak fonksiyonlara etkisini karşılaştırmalı olarak incelemek amacıyla bu çalışmayı gerçekleştirdik. Bu çalışmada oluşturulan 5 grup (kontrol, P1, P8, H1, H8) arasında istirahat tonusuna ulaşmış olan ve takiben fenilefrin ile doz bağımlı olarak kasılmaları sağlanmış aortik ringlerin ortama asetilkolin eklenerek sağlanan gevşeme cevapları, L-NAME (N-nitro-L- arginin methyl ester, nitrik oksit sentaz inhibitörü) ve ortamda indometazin varlığında gerçekleşen değişiklikler, sodyum nitroprussid eklendiğinde oluşan gevşeme karşılaştırıldı. Papiller adalelerde ise isoproterenolün artan dozları ile oluşturulan kontraksiyonlar kaydedildi. Farklı kardiyoplejik solüsyonun uygulandığı dokulardan alınan cevaplar kendi aralarında ve kontrol grup ile karşılaştırıldı.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde; aortik halkaların 10^{-8} - 10^{-4} M aralığında kümülatif olarak artan asetilkolin konsantrasyonlarına maksimum gevşeme cevapları (E_{max}) arasında gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Diğer tüm gruplarla (kontrol, P1, H1, H8), P8 grubu karşılaştırıldığında, aortik dokuların artan asetilkolin konsantrasyonlarına maksimum gevşeme cevabının %50'sini gerçekleştiren asetilkolin konsantrasyonları (EC_{50}) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar (E_{max} değerleri arasında $p > 0,05$, EC_{50} değerleri arasında $p < 0,001$) saptandı. P8 haricindeki gruplar arasında ise herhangi bir farklılık saptanmadı (Tablo 3, Şekil 2).

Papiller kas yanıtları incelendiğinde ise, 10^{-8} - 10^{-4} M aralığında kümülatif olarak artan isoproterenol konsantrasyonlarına maksimum kasılma cevapları (E_{max}) arasında gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmazken, diğer tüm gruplarla (kontrol, P1, H1, H8), P8 grubu karşılaştırıldığında, maksimum kasılma cevabının %50'sini gerçekleştiren isoproterenol konsantrasyonları (EC_{50}) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar ($p < 0,05$)

saptandı. P8 haricindeki gruplar arasında ise herhangi bir farklılık saptanmadı (Tablo 4, Şekil 3).

En yüksek maksimum kasılma ($104,52 \pm 8,46$) ve gevşeme ($43,48 \pm 6,74$) cevapları kontrol grubunda izlendi. İskemi süresi kısa olduğu için miyokard ve endotel fonksiyonlarının göreceli olarak korunmuş olması beklenen bir sonuçtur. En düşük maksimum kasılma ($98,59 \pm 12,45$) ve gevşeme ($32,59 \pm 4,64$) cevaplarının ise istatistiki olarak anlamlı olmamakla beraber P8 grubunda izlenmesi dikkat çekicidir. Kısa süreli iskemiye takiben çalışmaya alınan H1 ve P1 gruplarının, en yüksek maksimum kasılma ve gevşeme değerleri incelendiğinde ise, birbirilerine çok yakın değerlerle karşılaşıldı (Tablo3,4). Kısa süreli iskemi döneminde (çalışmamızda 1 saat) her iki solüsyon da, birbirinden ve kontrol grubundan istatistiki açıdan farklı olmayan ($p>0,05$) etkinlikte miyokard ve endotel koruması sağladı.

Maksimum gevşeme ve kasılma cevaplarının %50'sini gerçekleştiren asetilkolin ve isoproterenol konsantrasyonları (EC_{50}) incelendiğinde ise P8 grubundaki belirgin yüksek değerler dikkat çekicidir. Endotel ve miyokard fonksiyonlarının korumasında, bu değerler göz önüne alındığında, HTK solüsyonu ile karşılaştırıldığında, uzun süreli iskemide (çalışmamızda 8 saat), potasyumlu kristalloid kardiyoplejinin, 1 saatlik iskemi dönemindeki performansından farklı olarak, kullanımın güvenilir ve etkin olmadığı açıktır ($p<0,001$) (Tablo3,4).

Aort gevşeme ve papiller adale kasılma eğrileri incelendiği zaman (Şekil 2,3), P8 haricindeki tüm grupların (kontrol, H1, H8, P1) eğrilerinin birbirine yakın seyrettiği izlenirken, P8 grubuna ait değerlerin oluşturduğu eğrilerin, yukarıda vurguladığımız sonuçlarla uyumlu olarak, farklı asetilkolin ve isoproterenol konsantrasyonlarında, diğer grupların değerlerinin oluşturduğu eğrilerden belirgin olarak farklı olduğu görüldü.

Tablo 3: Farklı solüsyonlarda saklanan aortik dokuların artan asetilkolin konsantrasyonlarına maksimum gevşeme cevapları (E_{max}) ve maksimum gevşeme cevabının %50'sini gerçekleştiren asetilkolin konsantrasyonları (EC_{50}) ve bu sonuçların gruplar arasında istatistiki olarak karşılaştırılmalarının sonuçları

AORT	E_{max} (N=8)	EC_{50} (N=8)
KONTROL	43,48 ± 6,74 ²	5,58 ± 0,03 ¹
P1	38,83 ± 5,07 ²	6,02 ± 0,13 ¹
P8	32,59 ± 4,64	7,48 ± 0,30
H1	40,31 ± 3,49 ²	5,86 ± 0,12 ¹
H8	36,35 ± 2,56 ²	6,15 ± 0,18 ¹

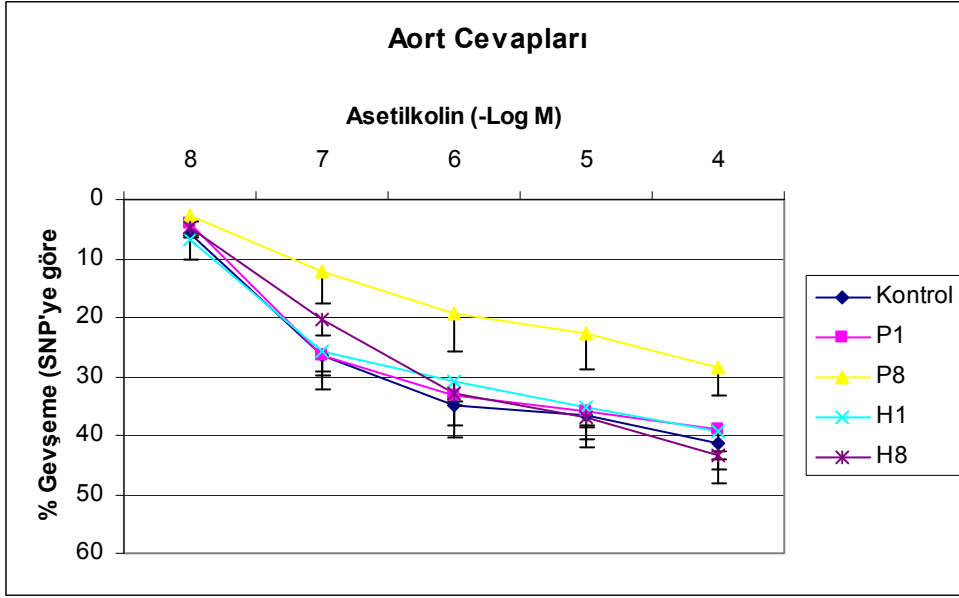
¹ P8 ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$

² P8 ile karşılaştırıldığında $p > 0,05$

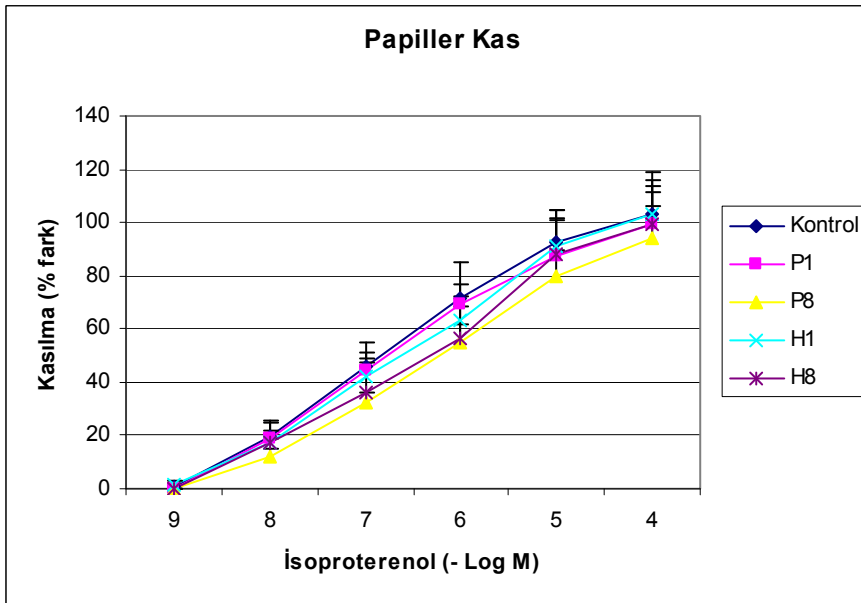
Tablo 4: Farklı solüsyonlarda saklanan papiller kasların artan isoproterenol konsantrasyonlarına maksimum kasılma cevapları (E_{max}) ve maksimum kasılma cevaplarının %50'sini gerçekleştiren isoproterenol konsantrasyonları (EC_{50}) ve bu sonuçların gruplar arasında istatistiki olarak karşılaştırılmalarının sonuçları

PAPİLLER KAS	E_{max} (N=8)	EC_{50} (N=8)
KONTROL	104,52 ± 8,46	5,62 ± 0,18 ^a
P1	101,48 ± 19,71	5,98 ± 0,17 ^a
P8	98,59 ± 12,45	7,01 ± 0,16
H1	102,86 ± 13,11	5,85 ± 0,26 ^a
H8	99,65 ± 14,38	6,08 ± 0,25 ^a

^a P8 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$



Şekil 2 Farklı solüsyonlarda saklanan aortik dokuların artan asetilkolin konsantrasyonlarına karşı gevşeme cevaplarındaki değişim



Şekil 3 Farklı solüsyonlarda saklanan papiller kas dokularının artan isoproterenol konsantrasyonlarına karşı kasılma cevaplarındaki değişim

5. TARTIŞMA

1953 yılında Gibbon ve 1954 yılında Lillehei tarafından açık kalp cerrahisinin pratikte kullanılmaya başlanmasıyla tıpta yeni bir çağ açılmıştır. Daha önce tedavi edilemeyen kardiyak anomaliler cerrahi yaklaşımla tedavi edilebilir hale gelmişlerdir. Başlangıçta ekstrakorporeal dolaşımın cerrahlara operasyonu gerçekleştirmek için sınırsız bir zaman sağlayacağı düşünülmüştür. Operasyon şartlarındaki zorlukların devamı ve hava embolisi tehdidi cerrahları zorlamaya devam ederken, 1955 yılında Denis Melrose elektif kardiyak arresti tanımlamıştır (18). Melrose'un potasyum sitrat solüsyonu güvenli, hareketsiz, kansız bir cerrahi ortam yaratma konusunda etkin görünmüştür. Fakat tanımlanmasını takip eden yıllarda yapılan yayınlarda bu yöntemin güvenilirliği sorgulanmaya başlanmış ve 1960'lı yılların başlarında bu yöntem terk edilmiştir. Potasyum bazlı kardiyopleji solüsyonlarının yeniden popülerite kazanması ve gündeme gelmesi için 15 yıla yakın bir süre geçmesi gerekmiştir. Bu süreçte topikal hipotermi, aralıklı aortik oklüzyon ve koroner perfüzyon ve normotermik iskemi gibi yöntemler kullanılmış, üzerinde tartışılmış ve gündemden kalkmıştır. Hoelscher, Bretschneider ve Kirsch gibi birkaç Avrupalı araştırmacının kimyasal kardiyoplejiye olan ilgileri devam etmiş ve onların çalışmaları ve çabaları sayesinde (25-28), Hearse ve Gay gibi araştırmacılar bugün kalp cerrahlarının miyokardiyal koruma yöntemlerinin temelini oluşturan ve operatif mortaliteyi, sağkalım ve hayat kalitesini belirgin olarak etkileyen potasyum bazlı kardiyoplejinin dönüşünün öncüsü olmuşlardır (31-33).

İntraoperatif miyokardiyal korumanın amacı; kardiyopulmoner bypass sırasında miyokardiyal hipotermi, elektromekanik arrest, oksijen ve başka substratların değişimi, onkotik manüplasyon ve tamponlama gibi birkaç kombinasyonu bir arada kullanarak iskemi ve reperfüzyon sırasında miyokard fonksiyonuna ve yapısına hasar gelmesinin önlenmesidir. Endotel fonksiyonlarının miyokard fonksiyonları üzerinde ne kadar önemli bir rolü olduğunun anlaşılmasından sonra endotel koruması da temel hedeflerden biri haline gelmiştir. Bugün kullanımda olan hiçbir yöntem tek başına bu korumayı garanti edememektedir. Birçok metod

cerrahlar tarafından kullanılmakta ve iyi sonuçlar vermektedir. Cerrahlar, hemen her seferinde hangi metodu kullanacaklarına ilişkin kararı verirken hangisinin daha etkin ve güvenilir olduğuna dair sonu gelmeyen tartışmalardan ziyade önceki deneyimlerini göz önünde bulundurlar. Bu seçim için spesifik cerrahi teknik, aort klemp zamanını doğrudan etkileyebilecek olan vakanın seyri, cerrahın ne kadar hareketsiz ve kansız bir kalpte çalışmayı istemesi, miyokard nekrozu ve rezidüel stunning olmaması için ameliyatta karşısına çıkabilecek ek külfetlerin altına girme cesareti, koruma yöntemlerinin fiyatları, kurumun imkanları gibi faktörler rol oynar.

Uzamış soğuk iskemiye karşı yetersiz miyokardiyal tolerans kalp transplantasyonunda halen temel sorunlardan biridir. Uygun bir saklama solüsyonunun seçilmesinin ve saklama tekniklerindeki yeniliklerin günümüzde organ korunmasındaki güvenli iskemi süresini uzatmasına ve potansiyel donör kalp sayısını arttırmasına rağmen kabul edilebilir organ saklama süresi 6 saati henüz geçmemiştir.

Çalışmaların çoğunda iskemiye takiben miyokard ve endotel fonksiyonları eş zamanlı olarak değerlendirilmemiştir (4,5). Miyosit ve endotel fonksiyonlarının bir arada değerlendirildiği nadir çalışmalardan olan Saitoh ve Kuhn-Reigner'in yaptıkları çalışmalarda ise çalışmamızdan farklı olarak her ikisi de intraselüler solüsyonlar olan HTK ve UW solüsyonları karşılaştırılmış, ayrıca Kuhn-Reigner ve ark. yapmış olduğu çalışmada temel olarak koroner oksijen persüflasyon yönteminin güvenli iskemik süreyi uzatıp uzatmadığı araştırılmıştır (83,94). Genelde çalışmalarda temel olarak miyokard fonksiyonları üzerine araştırma yapılmış olup (79,91,92,97) diğer bazı çalışmalarda ise endotel fonksiyonlarının miyokard fonksiyonları üzerinde oynadığı kilit rol vurgulanarak dolaylı olarak miyosit fonksiyonlarına değinilmiştir (95). Bu çalışmanın amacı, farklı kardiyoplejik solüsyonların kullanımıyla, [Potasyumlu soğuk konvansiyonel kristalloid kardiyopleji, HTK solüsyonu (Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate solüsyonu = Brethscheider solüsyonu = Custodiol® solüsyonu)] miyositlerin ne derece etkilediğini gösterebilmek amacı ile papiller adale, endotel hücrelerinin ne derece etkilendiğini gösterebilmek için ise asendan aorta kullanılarak, uzun süreli iskemik dönemde hem kalp transplantasyonuna hem de aort klemp süresinin uzun

olduğu diğer kardiyak cerrahilere örnek teşkil edecek şekilde, kalbin korunmasına olan katkıları ve kardiyak fonksiyonlara etkisini karşılaştırmalı olarak incelemektedir.

Uzamiş soğuk iskemiye karşı yetersiz miyokardiyal tolerans kalp transplantasyonunda halen temel sorunlardan biridir. Bu çalışmada farklı iki solüsyonun 8 saat gibi uzun bir iskemi süresinde endotel ve miyokard fonksiyonları üzerine olan etkileri araştırılmıştır ve sonuç olarak, kısa süren iskemi durumunda miyokardı ve endoteli korumak amacıyla kullanılan HTK ve potasyumlu kristalloid kardiyopleji solüsyonları arasında fark görülmezken, uzun süren iskemi durumunda HTK solüsyonunun avantajları gösterilmiştir. Bu nedenle uzun süreli iskemi gerekliliğinde HTK tercih edilmelidir.

İdeal bir kardiyoplejik solüsyon; kardiyak arresti temin etmeli, iskemi sırasında optimal doku pH'ını sağlamalı, hücre devamlılığı için gerekli enerjiyi temin etmeli, miyokardiyal ısıyı azaltmalı, hücre ödemini engellemeli ve serbest oksijen radikallerini azaltmalıdır.

Kalp transplantasyonu, medikal tedaviye yanıt vermeyen son dönem kalp hastalıklarında %70'in üzerinde 5 yıllık sağkalım oranıyla tercih edilen temel tedavi yöntemi olmasına rağmen, transplantasyonu takip eden ilk yıl sonrasında sessiz enfarktlara, greft yetmezliğine ve erken lme yol açan greft koroner vaskülopatisi gelişebilmekte ve bu durum uzun dönem sağkalımın önündeki temel engel olarak görülmektedir (99). Günümüzde bunun etkin bir tedavisi bulunmamaktadır. Kardiyak transplantasyon sonrası koroner endotel disfonksiyonu ateroskleroz oluşumuna katkıda bulunur ve insanlarda bu durum kalp transplantasyonundan sonra görülen intimal hiperplazinin ve kardiyak olayların habercisi olmaktadır. Kalp transplantasyonu sonrasında koroner endotel disfonksiyonunun altında yatan mekanizma üzerinde tartışmalar halen devam etmektedir (100,101). Bu yüzden, çalışmamızda sadece miyokard fonksiyonlarını değerlendirmekle yetinmeyip endotel fonksiyonlarının nasıl etkilendiğini de araştırdık.

Kros klemp sonrası kalbin elektrofizyolojik olarak durması kalbin varolan enerji rezervinin korunmasında önemlidir. İskemi, yüksek enerji bağı içeren fosfatların tükenmesine ve kalsiyum homeostazının bozulmasına neden olur. Kreatinin fosfat ve anaerobik metabolizma enerjinin ana kaynakları haline gelirler. Ancak bu kaynaklar kısıtlıdır ve oluşan laktat ile

inhibe olur. Enerji depolarının tükenmesi ile kalp hücreleri kalsiyumu hücre dışına çıkaramaz, hücre içi kalsiyumun artmasıyla hücre bütünlüğü ve fonksiyonu bozulur. Reperfüzyon hasarında hücre içinde kalsiyum iyonu biriktiği ve çökeltiler oluşturduğu saptanmıştır. Kalsiyumun varlığı kalbin korunmasında olumsuz bir faktördür ancak ortamdan tamamen uzaklaştırılması da zararlı olabilir. Düşük kalsiyum konsantrasyonu hücre içine kalsiyum girişini azaltır, iskemik yaralanmayı azaltıp fonksiyonların geri dönüşünü kolaylaştırır. Az miktarda kalsiyum hücre bütünlüğü için gereklidir. Kalsiyum bulundurmeyen solüsyonlar kullanıldığında miyokard hücresi kalsiyum ile karşılaştığında çok daha şiddetli reperfüzyon hasarı oluşabilir. Bu olaya "kalsiyum paradoksu" denir. HTK solüsyonunda kalsiyum iyonu yokken, kristalloid kardiyoplejide 5mM/lt kalsiyum iyonu vardır. Kardiyoplejilerde 0,5-1 mM/lt kalsiyum iyonu olması önerilmektedir. Çalışmamızda HTK solüsyonu kullanılan grup ile konvansiyonel kristalloid kardiyopleji kullanılan grup arasında papiller adalelerin maksimum kasılma cevaplarında bir fark saptanmamış olup ($p>0,05$), HTK solüsyonunun papiller adale kasılmasında 8 saatlik iskemi döneminde kristalloid kardiyoplejiye oranla belirgin fayda sağlamaması içeriğinde kalsiyum bulunmamasına bağlı olabilir. Papiller adale kasılmasını sağlayan isoproterenolün EC_{50} değerleri arasında, içinde hiç kalsiyum bulunmamasına rağmen, 8 saatlik iskemi sonucunda HTK lehine gelişen farklılık ise ($p<0,05$) magnezyum iyonunun varlığının kalsiyum paradoksunu maskeleymesine bağlı olabilir.

Temel hücre içi katyonlardan olan magnezyum yüksek enerjili fosfat molekülleri ve hücresel enzim sistemleri için önemli bir iyondur. Magnezyum kardiyoplejik solüsyonlar içerisinde sıklıkla kullanılır. Hipermağnezemi hücre içerisine kalsiyum girişini önleyerek olumlu etki gösterir. Magnezyum iyon konsantrasyonunun en uygun değerlerinin 15-20 mM/lt olduğu belirtilse de Engelman ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada miyokard korumasında ek bir etkisi olmadığı vurgulanmıştır (130). Çalışmamızda kullanılan her iki solüsyonun magnezyum içerikleri birbirine yakın değerlerdedir.

Hücre dışı yüksek potasyum düzeyi transmembran potasyum gradientini azaltır. Hücre depolarizasyon durumunda kalacağı için elektromekanik çalışması diyastolde durur. Bu işlem için kullanılan potasyum iyon konsantrasyonu oldukça önemlidir. Melrose tarafından ilk defa

kullanılan hiperkalemik solüsyon çok yüksek potasyum iyon konsantrasyonundan dolayı miyokard dokusunda kontraktür ve zedelenmeye yol açmıştır. Düşük konsantrasyonlarda ise arrest oluşumu gecikmektedir. Bu gecikme erken dönemde enerji depolarının tükenmesine neden olabilir. En uygun potasyum iyon konsantrasyonu olarak 15-20 mM/lit önerilmektedir. HTK solüsyonundaki potasyum 10 mM/lit, konvansiyonel kristalloid kardiyoplejideki potasyum miktarı ise 25 mM/lit'dir.

Çeşitli çalışmalarda 30-60 ml/kg dozunda HTK 7-10 dakikada verilmiş olup, uzun kros klemp süresi gerektiren, kötü ventrikül fonksiyonu olan hastalarda ve organ korumasında etkin olabileceği belirtilmiştir (78-80). Çalışmamızda her iki solüsyonda eşit miktarlarda ve eşit sürede verilmiş olup, bu HTK solüsyonundan 8 saatlik iskemi döneminde papiller adalelerin maksimum kasılma ve aort halkalarının maksimum gevşeme yanıtlarında beklenen yararın tam olarak elde edilememesine yol açmış olabilir. HTK solüsyonunun kısa süreli iskemi döneminde düşük dozda kullanılmasının da etkin olduğunu gösteren çalışmalar olmasına rağmen (91), HTK solüsyonunu; kalp cerrahisinde, konvansiyonel potasyumlu kristalloid kardiyoplejiye oranla daha fazla miktarda ve daha uzun süreli infüzyonla verilerek kullanılmaktadır. Yüksek volümde verilmesi özellikle kardiyak distansiyona yol açarak istenmeyen sonuçlar doğurabilir. Bu yüzden düşük dozda HTK kullanımının etkin olup olmadığı araştırılmaktadır. Arslan ve ark. yaptıkları çalışmada elektif koroner arter bypass cerrahisi geçiren hastalarda düşük doz HTK solüsyonunun konvansiyonel kristalloid kardiyopleji kadar etkin miyokard koruması sağladığını göstermişlerdir (91).

Hachida ve ark. yaptığı deneysel çalışmada potasyumlu kristalloid kardiyoplejisi içinde histidin kullanılanlar ve kullanılmayanlar arasında ilk 30 dakika içinde fark olmadığını, 60. dakikadan sonra ise histidinin tamponlama gücünün yeterli ve etkin olduğunu göstermişlerdir (133). Ku ve ark. yaptıkları çalışmada histidinin tamponlama gücünün bikarbonattan daha iyi olduğunu göstermişlerdir. Histidin pH 6,0'a kadar etkin bir tamponlama sağlarken bikarbonat pH 7,0'a kadar etkili olabilmektedir (134). HTK solüsyonunda konvansiyonel kristalloid solüsyonundan farklı olarak hücre içi ödemi azaltan ve birer antioksidan olan histidin ve mannitol bulunmaktadır. Yine HTK solüsyonun Krebs siklusunda rol alan ve nikotinamid

adenin dinükleotid prekürsörü olan ketogluterat ve triptofan içerir. Triptofan ayrıca hücre membran stabilizatörü olarak da rol oynamaktadır.

HTK solüsyonunun kullanıldığı, 1 saatlik (H1) ve 8 saatlik (H8) iskemi periyodu sonrasında çalışmaya alınan materyaller incelendiğinde; E_{maks} değerleri göz önüne alındığında H1 ve H8 grupları arasında papiller adalelerin maksimum kasılma ve aort halkalarının gevşeme cevaplarında herhangi bir farklılık saptanmamıştır. Yine aynı şekilde papiller adale ve aortik halkaların EC_{50} değerleri arasında da herhangi bir farklılık saptanmamıştır. Bu da β_1 ve asetilkoline ait muskarinik reseptör duyarlılığında ve yoğunluğunda azalma olmadığını göstermektedir. HTK hem 1. hem de 8. saatlik iskemi periyodlarında miyokard ve endotel fonksiyonlarında kontrol grubuyla herhangi bir farklılık göstermeyecek şekilde ($p>0,05$) efektif olarak korumuştur.

Konvansiyonel kristalloid kardiyopleji kullanılan P1 ve P8 gruplarında, papiller adalelerin kasılma ve aortik halkaların gevşeme E_{maks} değerleri göz önüne alındığında; bu gruplar arasında belirgin bir farklılık saptanmamıştır.

Yine aynı şekilde papiller adale ve aortik halkaların EC_{50} değerlerinin karşılaştırılması sonucunda P8 grubunda β_1 reseptör ($p<0,05$) ve asetilkoline ait muskarinik reseptör ($p<0,001$) duyarlılığında ve yoğunluğunda azalma saptanmıştır. Bu sonuçlar uzun süreli iskemi durumunda konvansiyonel kristalloid kardiyopleji solüsyonu kullanımı ile sağlanan endotel ve miyokard korunmasının etkinliği konusunda şüphelere yol açmaktadır.

Bu solüsyonun hastalarda uzun süreli iskemi durumunda kullanılması, hastaların postoperatif dönemde inotrop ajanların etkili olabilmesi için daha yüksek dozlarda kullanılması gerekliliğine yol açabilir. HTK solüsyonunun 8 saatlik iskemi sonrasında reseptör duyarlılığını ve yoğunluğunu korumasının, postoperatif dönemde daha düşük dozlarda inotrop kullanımıyla istenilen terapötik etkinin elde edilmesini sağlayacağı ortadadır.

Donörlerde explantasyon öncesi, ortalama arteriyel kan basıncı 80-90 mm Hg arasında tutulmaya çalışılmaktadır. Hipotansif bir donörde; sıvı replasmanı, kan basıncının istenilen düzeylerde tutulmasını sağlayamazsa, inotropik destek amacıyla dopamin infüzyonu başlanılabilir (135,136). Katekolamin tedavisinin uzun süreli kullanımı (dopamin $> >10-15 \mu\text{g/}$

kg/min), miyokardiyal norepinefrin depolarını tükettiği için transplant sonrası dönemde kardiyak fonksiyon bozukluğuna yol açabilir (137,138). Geçmişte bu grup hastalar kalp donörü olarak seçilmezken, günümüzde donöre yüksek doz inotrop destek tedavisi uygulanmış olması artık bir kesin kontraendikasyon olarak görülmemektedir (139). Bu grup hastalarda $\beta 1$ reseptör duyarlılığında ve yoğunluğunda azalma olmaması, transplant sonrası erken dönemde inotropik tedavi kullanılması gerektiğinde büyük avantaj sağlayacaktır.

Papiller adale ve endotel fonksiyonlarında belirgin fark görülmese de, postoperatif dönemde yüksek doz inotrop tedavi gereksiniminin erken ve geç postoperatif morbidite ve mortaliteyi arttırdığı bir çok çalışmada gösterilmiş bir gerçektir (131,132).

Endotelin asetilkoline ait muskarinik reseptör yoğunluğunda ve duyarlılığında olan azalma nedeniyle hastaların tedavileri düzenlenirken endotelden bağımsız olarak etki gösteren ajanların kullanımı tercih edilebilir.

Careaga ve ark. açık kalp cerrahisi geçiren 30 hasta üzerinde yaptıkları randomize bir çalışmada, HTK solüsyonunun peroperatif dönemdeki klinik etkisini saptamak amacıyla, HTK solüsyonu kullanılan hastalar ve konvansiyonel kristalloid kardiyopleji kullanılan hastalar olmak üzere iki grup üzerinde çalışmışlardır. Sonuç olarak, çalışmamızdaki sonuçlarla uyumlu olarak, $\beta 1$ reseptör düzeyinde oluşan duyarsızlığa bağlı olarak inotrop tedaviye yanıt konvansiyonel kardiyopleji kullanılan hasta grubunda azalırken, HTK solüsyonu kullanılan gruptaki hastalarda belirgin olarak daha düşük inotrop dozlarıyla istenilen terapötik etki sağlanmışdır (79). Kalbin ileti sistemindeki hücreler yapısal olarak özelleşmiş miyokard hücreleridir. Bu hücrelerin iskemi döneminde yeterince korunamaması postoperatif dönemde aritmiyle sonuçlanabilir. Yine aynı çalışmada (79) HTK kullanılan hastalarda postoperatif dönemde aritmi sıklığında ve eksternal pace ihtiyacında belirgin azalma saptanmıştır.

Yeterli derecede koruma yapılan kalplerde ödem minimal olur. Solüsyonun ozmolaritesi ödem oluşmasını önlemede en önemli faktörlerden biridir. Hipotonik solüsyonlar ödem oluşmasına, hipertonic solüsyonlar ise dehidratasyon ve hücrenin zedelenmesine neden olur. Solüsyonun hafif hipertonic olması tavsiye edilmektedir. Bu amaçla genellikle albümin yada

mannitol kullanılmaktadır. Çalışmamızda kullanılan her iki solüsyonun ozmolaritelerinin yakın olması ve hafif hiperozmolar olmaları nedeniyle ideal kabul edilebilirler.

Kardiyopleji solüsyonlarındaki optimal sodyum konsantrasyonu ile ilgili olarak iki değişik görüş vardır. Bretschneider ve Kirsch'e göre sodyum iyon konsantrasyonu hücre içi kompozisyona uygun olmalıdır. Bu tip düşük sodyum içeren yada hiç içermeyen solüsyonlar transmembran gradientini yok ettiği için depolarizasyona neden olur. Kalsiyum ise hücre içine yönelir. Bu yüzden bazı araştırmacılar sodyum konsantrasyonu 100-130 mM/l olan, içeriği hücre dışı sodyum konsantrasyonuna yakın solüsyonlar önermektedirler. Hücre içi bir solüsyon olan HTK solüsyonunda 15 mM/l, ekstraselüler vasıftaki konvansiyonel kristalloid kardiyopleji solüsyonumuzda ise 154 mM/l sodyum iyonu bulunmaktadır. HTK solüsyonunun 8 saatlik iskemi dönemi sonrasında β 1 ve asetilkoline ait muskarinik reseptör duyarlılığında ve yoğunluğunda sağladığı olumlu katkılara rağmen papiller adale ve endotel fonksiyonlarının korumasında beklenen katkıyı sağlayamaması intraselüler vasıfta bir solüsyon olmasına bağlı olabilir. HTK solüsyonunun endotel ve miyokard korumasında farklı solüsyonlarla karşılaştırılıp etkinliğinin gösterildiği çalışmalar incelendiğinde, çalışmaların çoğunda HTK solüsyonunun yine intraselüler solüsyonlarla karşılaştırılmış olması dikkat çekicidir (82,83,94).

Bir saatlik kısa süreli iskemi durumunda HTK solüsyonu ve konvansiyonel kristalloid kardiyopleji solüsyonu benzer endotel ve miyokard koruması sağlamaktadır. Kontrol grubuyla aralarında istatistiki fark bulunmaması, her iki solüsyonunda kısa süreli iskemi dönemlerinde yeterli ve etkin koruma sağladığının göstergesidir.

Klinik yararlanımı benzer olan durumlarda kardiyopleji tercih nedenleri arasında maliyet miktarı önemli bir yer tutar. Kros klemp ve iskemi sürelerinin kısa olması durumunda HTK solüsyonu belirgin bir üstünlük sağlamayabilir. İki solüsyon arasındaki maliyet farkı ise belirgindir. Aynı miktar HTK solüsyonunun maliyeti konvansiyonel kristalloid kardiyopleji solüsyonunun yaklaşık 30 katıdır. Kısa iskemi veya kros klemp süresi durumunda benzer koruma sağlayan solüsyonlar arasında maliyet tercih nedeni olabilir. HTK solüsyonu diğer piyasada bulunan solüsyonlarla karşılaştırıldığında uzun dönem depoda saklanabilme

avantajıyla ön plana çıkarken, konvansiyonel kristalloid kardiyopleji de her klinikte bulunabilecek maddelerden hazırlanabilme kolaylığına sahiptir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde edilen veriler sonucunda uygulanan kardiyoplejik arrest ve hipotermim solüsyonda saklama şartları ile her iki solüsyonla da temel miyokardiyal ve endotelial koruma sağlanmış olduğu gösterildi.

Çalışmamızda beklenildiği üzere, 1 saatlik iskemi sonrasında HTK solüsyonu kullanılan grupla konvansiyonel kristalloid kardiyopleji verilen grup arasında miyokardiyal kontraktilite ve endotelial hücre fonksiyonları arasında anlamlı fark saptanmazken, 8 saatlik iskemi sonrasında; Krebs siklusunda kullanılabilir substrat içermesi, asidoz gelişimini tamponlama kabiliyetinin daha yüksek olması, hücrel ödemi azaltması, membran bütünlüğünü koruyucu ve antioksidan özellikleri olması nedeniyle; β_1 reseptörlerinin ve asetilkoline ait muskarinik reseptörlerin duyarlılığında ve yoğunluğunda HTK solüsyonu kullanımının avantajları gösterildi. HTK solüsyonu 1 saatlik iskemi süresinde olduğu kadar 8. saat sonunda da etkin koruma sağladı.

Daha uzun süreli iskemi durumunda bu solüsyonların sağlayacağı korumanın etkinliği ve güvenilirliği bilinmemekle beraber, çalışmamızda daha önce de belirtildiği üzere içeriğindeki maddelerin sağladığı avantajlar nedeniyle, HTK solüsyonunun 8 saatlik iskemi periyodunda sağladığı korumaya benzer şekilde daha uzun süreli iskemi periyotlarında da konvansiyonel kristalloid kardiyoplejiye göre miyokardiyal ve endotelial korumada daha etkin olacağı düşünülmektedir.

Temel papiller adale maksimum kasılma ve aortik maksimum gevşeme cevaplarında ise iki grupta da etkin koruma sağlanmış, gruplar arasında belirgin farklılık gösterilemedi. HTK solüsyonunun kristalloid kardiyopleji solüsyonuyla aynı miktarda kullanılması ve infüzyonların aynı sürede verilmesi bunda etkin olmuş olabilir.

Kros klemp ve iskemi sürelerinin kısa olması durumunda HTK solüsyonu belirgin bir üstünlük sağlamayabilir. İki solüsyon arasındaki maliyet farkı ise belirgindir. Kısa iskemi veya kros

klemp süresi durumunda benzer koruma sağlayan solüsyonlar arasında maliyet tercih nedeni olabilir.

Günümüzde intraselüler yada ekstraselüler özellikte, içeriğinde farklı maddeler olan bir çok solüsyon kullanılmaktadır. Bu solüsyonların her birinin kendine özgü avantajları ve kullanım sahaları vardır. Bu solüsyonların her birinin kendine has avantajını bünyesinde toplayacak olan ideal kardiyopleji ve organ saklama solüsyonunu geliştirmek için çalışmaların sürmesi gerektiği ve süreceği kesindir. İdeal solüsyona ulaşana kadar cerrahlar, bilimsel çalışmaların ve kişisel tecrübelerinin ışığında, pratikte kullanacakları solüsyona karar vereceklerdir.

7. KAYNAKLAR

1. Mangano DT: Cardiovascular morbidity and CABG surgery—a perspective: epidemiology, costs, and potential therapeutic solutions. *J Card Surg* 1995; 10:366.
2. Menninger FJ 3rd, Rosenkranz ER, Utley JR, et al: Interstitial hydrostatic pressure in patients undergoing CABG and valve replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1980; 79:181.
3. Downing SW, Savage EB, Streicher JS, et al: The stretched ventricle: myocardial creep and contractile dysfunction after acute nonischemic ventricular distention. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104:996.
4. Russo MJ, Chen JM, Sorabella RA, et al: The effect of ischemic time on survival after heart transplantation varies by donor age: an analysis of the United Network for Organ Sharing database. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007 Feb;133(2):554-9.
5. Del Rizzo DF, Menkis AH, Pflugfelder PW, et al: The role of donor age and ischemic time on survival following orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1999 Apr;18(4):310-9.
6. Blanche C, Kamlot A, Blanche DA, et al: Heart transplantation with donors fifty years of age and older. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002 Apr;123(4):810-5.
7. Williams JF, Morrow AG, Braunwald E, et al: The incidence and management of medical complications following cardiac operations. *Circulation*. 1965 Oct;32(4):608-19.
8. Henson DE, Najafi H, Callaghan R, et al: Myocardial lesions following open heart surgery. *Arch Pathol*. 1969 Oct;88(4):423-30.
9. Hultgren HN, Miyagawa M, Buch W, et al: Ischemic myocardial injury during cardiopulmonary bypass surgery. *Am Heart J*. 1973 Feb;85(2):167-76.
10. Roberts WC, Bulkley BH, Morrow AG, et al: Pathologic anatomy of cardiac valve replacement: a study of 224 necropsy patients. *Prog Cardiovasc Dis*. 1973 May-Jun;15(6):539-87.
11. Cooley DA, Reul GJ Jr, Wukasch DC, et al: Ischemic myocardial contracture ("stone heart"). A complication of cardiac surgery. *Isr J Med Sci*. 1975 Feb-Mar;11(2-3):203-10
12. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation*. 1982 Dec;66(6):1146-9. Review.

13. Koh TW, Hooper J, Kemp M, et al: Intraoperative release of troponin T in coronary venous and arterial blood and its relation to recovery of left ventricular function and oxidative metabolism following coronary artery surgery. *Heart*. 1998 Oct;80(4):341-8.
14. Pyle RB, Blomberg DJ, Burke MD, et al: CPK-MB isoenzyme: use in diagnosis of acute myocardial infarction in the early postoperative period. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1976 Jun;71(6):884-90.
15. Malek P, Vavrejn B, Ratusky J, et al: Detection of myocardial infarction by in vivo scanning. *Cardiologia*. 1967;51(1):22-32.
16. Lillehei CW, Dewall RA, Read RC, et al: Direct vision intracardiac surgery in man using a simple, disposable artificial oxygenator. *Dis Chest*. 1956 Jan;29(1):1-8.
17. Lillehei CW, Dewall RA, Gott VL, et al: The direct vision correction of calcific aortic stenosis by means of a pump-oxygenator and retrograde coronary sinus perfusion. *Dis Chest*. 1956 Aug;30(2):123-32.
18. Melrose DG, Dreyer B, Bentall HH, et al: Preliminary communication: elective cardiac arrest. *Lancet* 1955; 2:21.
19. Cleland WP, Melrose DG : The artificial heart-lung and its practical application to cardiac surgery. *Br Med Bull*. 1955 Sep;11(3):236-9.
20. Hufnagel CA, Conrad PW, Schanno J, et al: Profound cardiac hypothermia. *Ann Surg*. 1961 May;153:790-6
21. Shumway NE, Lower RR. Topical cardiac hypothermia for extended periods of anoxic arrest. *Surg Forum*. 1960;10:563-6.
22. Griep RB, Stinson EB, Shumway NE. Profound local hypothermia for myocardial protection during open-heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1973 Nov;66(5):731-41
23. Clark RE, Ferguson TB, West PN et al: Pharmacological preservation of the ischemic heart. *Ann Thorac Surg*. 1977 Oct;24(4):307-14.
24. Clark RE, Christlieb IY, Henry PD, et al: Nifedipine: a myocardial protective agent. *Am J Cardiol*. 1979 Oct 22;44(5):825-31.
25. Bretschneider HJ, Hübner G, Knoll D, et al: Myocardial resistance and tolerance to ischemia: physiological and biochemical basis. *J Cardiovasc Surg* 1975; 16:241.

26. Kirsch U, Rodewald G, Kalmar P, et al: Induced ischemic arrest. Clinical experience with cardioplegia in open-heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1972 Jan; 63(1):121-30.
27. Hoelscher B. Induced magnesium-novocamide heart arrest. *Thoraxchir Vask Chir.* 1965 jun;1395-102
28. Kubler W, Spieckermann PG, Grebe D, et al: The energy metabolism of the heart during ischemia and during post-ischemic regeneration with and without artificial cardiac arrest. *Br J Surg.* 1969 Aug;56(8):630.
29. Sondergaard T, Senn A: Clinical experience with cardioplegia according to Bretschneider *Langenbecks Arch Chir.* 1967;319:661-5.
30. Bleese N, Doring V, Kalmar P, et al : Clinical application of cardioplegia in aortic cross-clamping periods longer than 150 minutes. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1979 Dec;27(6):390-2
31. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV: Cellular protection during myocardial ischemia: the development and characterization of a procedure for the induction of reversible ischemic arrest. *Circulation* 1976; 54:193
32. Braimbridge MV, Chayen J, Bitensky L, et al: Cold cardioplegia or continuous coronary perfusion? *J Thorac Cardiovasc Surg* 1977; 74:900
33. Gay WA, Ebert PA: Functional, metabolic and morphologic effects of potassium-induced cardioplegia. *Surgery* 1973; 74: 284
34. Roe BB, Hutchinson JC, Fishman NH, et al: Myocardial protection with cold, ischemic, potassium-induced cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1977; 73:366
35. Buckberg GD: A proposed "solution" to the cardioplegia controversy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979; 77:803
36. Cohen NM, Wise RM, Wechsler AS, et al: Elective cardiac arrest with a hyperpolarizing adenosine triphosphate-sensitive potassium channel opener. A novel form of myocardial protection? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993 Aug;106(2):317-28.
37. Maskal SL, Cohen NM, Hsia PW, et al: Hyperpolarized cardiac arrest with a potassium-channel opener, aprikalim. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995 Oct;110
38. Danforth WH, Neagle S, Bing RJ, et al: Effect of ischemia and reoxygenation on glycolytic reactions and adenosine-triphosphate in heart muscle. *Circ Res.* 1960 Sep;8:965-71.

39. Folette DM, Fey KH, Steed DL, et al : Reducing reperfusion injury with hypocalcemic, hyperkalemic, alkalotic blood during reoxygenation. *Surg Forum*. 1978;29:284-6.
40. Buckberg GD. Antegrade/retrograde blood cardioplegia to ensure cardioplegic distribution: operative techniques and objectives. *J Card Surg*. 1989 Sep;4(3):216-38.
41. Menasche P, Tronc F, Nguyen A, et al. Retrograde warm blood cardioplegia preserves hypertrophied myocardium: a clinical study. *Ann Thorac Surg*. 1994 Jun;57(6):1429-34
42. Salerno TA. Retrograde warm blood cardioplegia. *Ann Thorac Surg*. 1993 Jan;55(1):196-7.
43. Lichtenstein SV, Abel JG, Panos A, et al : Warm heart surgery: experience with long cross-clamp times. *Ann Thorac Surg*. 1991 Oct;52(4):1009-13.
44. Carrel A, Guthrie CC: The transplantation of veins and organs. *Am Med* 1905; 10:1101
45. Demikhov VP: *Experimental Transplantation of Vital Organs*. Haigh B. (trans). New York, Consultants' Bureau, 1962.
46. Lower RR, Shumway NE: Studies on the orthotopic homotransplantation of the canine heart. *Surg Forum* 1960; 11:18
47. Hardy JD, Chavez CM, Kurrus FD, et al: Heart transplantation in man. *JAMA* 1964; 188:114.
48. Barnard CN: A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Capetown. *S Afr Med J* 1967; 41:1271
49. Mann FC, Priestly JT, Markowitz J, et al: Transplantation of the intact mammalian heart. *Arch Surg* 1993; 26:219.
50. Caves PK, Stinson EB, Billingham ME, et al: Percutaneous endomyocardial biopsy in human heart recipients. *Ann Thorac Surg* 1973; 16:325
51. Oyer PE, Stinson EB, Jamieson SA, et al: Cyclosporin A in cardiac allografting: a preliminary experience. *Transplant Proc* 1983; 15:1247.
52. Steinman TI, Becker BN, Frost AE, et al: Guidelines for the referral and management of patients eligible for solid organ transplantation. *Transplantation* 2001; 71:1189
53. Sezgin A, Gültekin B, Özkan S, et al: Our experience in cardiac transplantation in Baskent University. *Transplant Proc*. 2006 May;38(4):1205

54. Barnard CN: What have we learned about heart transplants. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1968; 56:457.
55. Schaal SF, Sugimoto T, Wallace AG, et al: Effects of digitalis on the functional refractory period of the AV node: studies in awake dogs with and without cardiac denervation. *Cardiovasc Res* 1968; 2:356.
56. Keon KJ, Hendry PJ, Taichman GC, et al: Cardiac transplantation: the ideal myocardial temperature for graft transport. *Ann Thorac Surg* 1988; 46:337.
57. Sabiston DC. *Surgery of the Chest* p: 1635,1990
58. Tyers GFO. Metabolic arrest of the heart. *Ann of Thoracic Surg* 1975;20:91-99
59. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV. Myocardial protection during ischemic cardiac arrest. The importance of magnesium in cardioplegic infusates. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1978 Jun;75(6):877-85.
60. Shen AC, Jennings RB. Myocardial calcium and magnesium in acute ischemic injury. *Am J Pathol.* 1972 Jun;67(3):417-40
61. Hearse DJ, O'Brien K, Braimbridge MV. Protection of the myocardium during ischemic arrest. Dose-response curves for procaine and lignocaine in cardioplegic solutions. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1981 Jun;81(6):873-9.
62. Hearse DJ, Garlick PB, Humphrey SM. Ischemic contracture of the myocardium: mechanisms and prevention. *Am J Cardiol.* 1977 Jun;39(7):986-93.
63. Hulsmann WC. Morphological changes of heart muscle caused by successive perfusion with calcium-free and calcium-containing solutions (calcium paradox) *Cardiovasc Res.* 2000 Jan 1;45(1):119-20, 122.
64. Fremes SE, Li RK, Weisel RD, et al: Prolonged hypothermic cardiac storage with University of Wisconsin solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102:666.
65. Human PA, Holl J, Vosloo S, et al: Extended cardiopulmonary preservation: University of Wisconsin solution versus Bretschneider's cardioplegic solution. *Ann Thorac Surg* 1993; 55:1123.
66. Demertzis S, Wippermann J, Schaper J, et al: University of Wisconsin versus St. Thomas' Hospital solution for human donor heart preservation. *Ann Thorac Surg* 1993; 55:1131.
67. Tyers GF, Manley NJ, Williams EH, et al: Preliminary clinical experience with isotonic hypothermic potassium-induced arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1977 Nov;74(5):674-81.

68. Craver JM, Sams AB, Hatcher CR Jr. Potassium-induced cardioplegia. Additive protection against ischemic myocardial injury during coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1978 Jul;76(1):24-7.
69. Follette DM, Fey K, Buckberg GD, et al: Reducing postischemic damage by temporary modification of reperfusate calcium, potassium, pH, and osmolarity. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1981 Aug;82(2):221-38.
70. Foglia RP, Steed DL, Follette DM, et al : Iatrogenic myocardial edema with potassium cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1979 Aug;78(2):217-22.
71. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MW. Myocardial protection during ischemic cardiac arrest. Possible deleterious effects of glucose and mannitol in coronary infusates. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1978 Jul;76(1):16-23.
72. Segel LD, Follette DM, Contino JP, et al: Importance of substrate enhancement for long-term heart preservation. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12:613.
73. Zehr KJ, Herskowitz A, Lee P, et al: Neutrophil adhesion inhibition prolongs survival of cardiac allografts with hyperacute rejection. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12:837.
74. Pillai R, Bando K, Schueler S, et al: Leukocyte depletion results in excellent heart-lung function after 12 hours of storage. *Ann Thorac Surg* 1990; 50:211.
75. Wicomb WN, Cooper DKC, Barnard CN: Twenty-four hour preservation of the pig heart by a portable hypothermic perfusion system. *Transplantation* 1982; 34:246.
76. Ferrera R, Marcsek P, Larese A, et al: Comparison of continuous microperfusion and cold storage for pig heart preservation. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12:463.
77. Hosenpud JD, Leah BE, Keck BM, et al: The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Eighteenth Official Report—2001. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20:805.
78. Hachida M, Ookado A, Nonoyama M, et al: Effect of HTK solution for myocardial preservation. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 1996 Jun;37(3):269-74.
79. Careaga G, Salazar D, Téllez S, et al: Clinical impact of histidine-ketoglutarate-tryptophan (HTK) cardioplegic solution on the perioperative period in open heart surgery patients. *Archives of Medical Research* 32 (2001) 266-9

80. Kloner RA, Ellis SG, Lange R, et al: Studies of experimental coronary artery reperfusion. Effects on infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure and microvascular damage. *Circulation*. 1983 Aug;68(2 Pt 2):18-15.
81. Stringham JC, Southard JH, Hegge J, et al: Limitations of heart preservation by cold storage. *Transplantation* 1992;53:287-94
82. Kober IM, Obermayr RP, Ehsani N, et al: HTK versus UW solution for myocardial protection during moderate hypothermia. *Eur Surg Res* 1997;29:262-272
83. Saitoh Y, Hashimoto M, Ku K, et al: Heart preservation in HTK solution: Role of coronary vasculature in recovery of cardiac function. *Ann Thorac Surg* 2000;69:107-112
84. Mankad PS, Chester AH, Yacoub MH, et al: Role of potassium concentration in cardioplegic solution in mediating endothelial damage. *Ann Thorac Surg* 1991;51:89-93
85. Ku DD. Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia. *Science* 1982;218:576-8
86. Quillen JE, Sellke FW, Brooks LA, et al: Ischemia reperfusion impairs endothelium-dependent relaxation of coronary microvessels but does not affect large arteries. *Circulation* 1990;82:586-594
87. Mizukawa H, Kobayashi Y, Ohsawa A, et al: Singlet oxygen interaction with functional vascular reactivity. *Microcirculation annual* 1995;11:161-2
88. Jeevanandam V, Auteri JS, Sanchez JA, et al: Improved heart preservation with UW solution: Experimental and preliminary human experience. *Circulation* 1991;84:III324-328
89. Simon P, Mohl W, Neumann F, et al: Effects of coronary artery bypass grafting on global and regional myocardial function. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:40-45
90. Havel M, Owen AN, Simon O, et al: Decreasing use of donated blood and reduction of bleeding after orthotopic heart transplantation by use of aprotinin. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:348-349
91. Arslan A, Sezgin A, Gültekin B, et al: Low dose HTK solution for myocardial protection *Transplantation Proceedings* 2005;37(7):3219-22
92. İközler M, Dernek S, Sevin B, et al: Improved myocardial function with the addition of pinacidil to custadiol. *Transplantation* 2000;74(12):1666-71

93. Randsbaek F, Kimose H, Hansen S, et al: Haemodynamic and metabolic effects of gallopamil as additive to calcium containing and calcium free cardioplegic solutions in mature pig hearts. *Scan Cardiovasc Jour* 1997;31(2):83-9
94. Kuhn-Regnier F, Bloch W, Tsimpoulis I, et al: Coronary oxygen persufflation for heart preservation in pigs: analyses of endothelium and myocytes. *Transplantation* 2004;77(1):28-35
95. Marten K, Schmiedl A, Schnabel P, et al: Structural protection of the myocardial capillary endothelium by different forms of cardiac arrest and subsequent in mitral global ischemia at 5 degrees C. *Thoracic & Cardiovasc Surgeon* 1999; 47(4):205-212
96. Kuhn-Regnier F, Fischer J, Jeschkeit S, et al: Coronary oxygen persufflation for long term myocardial protection. *Thoracic & Cardiovasc Surgeon* 1998; 46 Suppl 2:308-312
97. Sunderdiek U, Feindt P, Gams E. Aortocoronary bypass grafting: a comparison of HTK cardioplegia vs intermittent aortic cross-clamping. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2000;18(4):393-399
98. Sakata J, Morishita K, Ito T, et al: Comparison of clinical outcome between HTK solution and cold blood cardioplegic solution in mitral valve replacement. *Journal of Cardiac Surgery* 1998;13(1):43-7
99. Billingham ME. Cardiac transplant atherosclerosis. *Transplant Proc*. 1987 Aug;19(4 Suppl 5):19-25
100. Drexler H, Fischell TA, Pinto FJ, et al: Effect of L-arginine on coronary endothelial function in cardiac transplant recipients. Relation to vessel wall morphology. *Circulation*. 1994 Apr;89(4):1615-23.
101. Jeanmart H, Malo O, Carrier M, et al: Comparative study of cyclosporine and tacrolimus vs newer immunosuppressants mycophenolate mofetil and rapamycin on coronary endothelial function. *J Heart Lung Transplant*. 2002 Sep;21(9):990-8
102. Davis SF, Yeung AC, Meredith IT, et al: Early endothelial dysfunction predicts the development of transplant coronary artery disease at 1 year posttransplant. *Circulation*. 1996 Feb 1;93(3):457-62.
103. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980 Nov 27;288(5789):373-6.
104. Perrault LP, Malo O, Bidouard JP, et al: Inhibiting the NO pathway with intracoronary L-NAME infusion increases endothelial dysfunction and intimal hyperplasia after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2003 Apr;22(4):439-51.

105. Yang Q, Zhang RZ, Yim AP, et al: Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution maximally preserves endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated function during heart preservation: comparison with University of Wisconsin solution. *J Heart Lung Transplant*. 2004 Mar;23(3):352-9.
106. Gohra H, Fujimura Y, Hamano K, et al: Nitric oxide release from coronary vasculature before, during, and following cardioplegic arrest. *World J Surg*. 1999 Dec;23(12):1249-53.
107. Tanaka M, Kanatsuka H, Ong BH, Tanikawa T, Uruno A, Komaru T, Koshida R, Shirato K. Cytochrome P-450 metabolites but not NO, PGI₂, and H₂O₂ contribute to ACh-induced hyperpolarization of pressurized canine coronary microvessels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Nov;285(5):H1939-48. Epub 2003 Jul 24.
108. Coats P, Johnston F, MacDonald J, et al: Endothelium-derived hyperpolarizing factor : identification and mechanisms of action in human subcutaneous resistance arteries. *Circulation*. 2001 Mar 27;103(12):1702-8
109. Urakami-Harasawa L, Shimokawa H, Nakashima M, Egashira K, Takeshita A. Importance of endothelium-derived hyperpolarizing factor in human arteries. *J Clin Invest*. 1997 Dec 1;100(11):2793-9.
110. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis--an update. *N Engl J Med*. 1986 Feb 20;314(8):488-500. Review.
111. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J*. 1989 Jul;3(9):2007-18. Review
112. Flavahan NA, Vanhoutte PM. Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction. *Am J Hypertens*. 1995 May;8(5 Pt 2):28S-41S. Review.
113. Nakaïke R, Shimokawa H, Yasutake H, et al: Effects of L-arginine analogues on vasomotion of isolated porcine coronary arteries. *Am J Physiol*. 1995 May;268(5Pt 2):H1966-72.
114. Perrault LP, Bidouard JP, Janiak P, et al: Time course of coronary endothelial dysfunction in acute untreated rejection after heterotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1997 Jun;16(6):643-57.
115. Lou H, Kodama T, Wang YN, et al: L-arginine prevents heart transplant arteriosclerosis by modulating the vascular cell proliferative response to insulin-like growth factor-I and interleukin-6. *J Heart Lung Transplant*. 1996 Dec;15(12):1248-57.

116. Bonser RS, Dave JR, John L, et al: Complement activation before, during and after cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1990;4(6):291-6.
117. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S, et al: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*. 1988 Jun 16;333(6174):664-6.
118. Keller MW, Geddes L, Spotnitz W, et al: Microcirculatory dysfunction following perfusion with hyperkalemic, hypothermic, cardioplegic solutions and blood reperfusion. Effects of adenosine. *Circulation*. 1991 Dec;84(6):2485-94
119. Sellke FW, Shafique T, Schoen FJ, et al: Impaired endothelium-dependent coronary microvascular relaxation after cold potassium cardioplegia and reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993 Jan;105(1):52-8.
120. Dignan RJ, Dyke CM, Abd-Elfattah, et al: Coronary artery endothelial cell and smooth muscle dysfunction after global myocardial ischemia. *Ann Thorac Surg*. 1992 Feb;53(2):311-7.
121. Simpson PJ, Todd RF III, Fantone JC, et al: Reduction of experimental canine myocardial reperfusion injury by a monoclonal antibody (anti-Mo1, anti-CD11b) that inhibits leukocyte adhesion. *J Clin Invest*. 1988 Feb;81(2):624-9.
122. Hearse DJ. Prospects for antioxidant therapy in cardiovascular medicine. *Am J Med*. 1991 Sep 30;91(3C):118S-121S
123. Tsao PS, Lefer AM. Time course and mechanism of endothelial dysfunction in isolated ischemic- and hypoxic-perfused rat hearts. *Am J Physiol*. 1990 Dec;259(6 Pt 2):H1660-6.
124. Ruvolo G, Speziale G, Greco E, et al: Nitric oxide release during hypothermic versus normothermic cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1995;9(11):651-4.
125. Miura H, Liu Y, Gutterman D, et al: Human coronary arteriolar dilation to bradykinin depends on membrane hyperpolarization: contribution of nitric oxide and Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Circulation*. 1999 Jun 22;99(24):3132-8.
126. Mellors LJ, Barclay CJ. The energetics of rat papillary muscles undergoing realistic strain patterns. *J Exp Biol*. 2001 Nov;204(Pt 21):3765-77.
127. Gibbs CL, Chapman JB. Cardiac heat production. *Annu Rev Physiol*. 1979;41:507-19

128. Kiriazis H, Gibbs CL. Papillary muscles split in the presence of 2,3-butanedione monoxime have normal energetic and mechanical properties. *Am J Physiol*. 1995 Nov;269(5 Pt 2):H1685-94
129. Baxi J, Gibbs CL, Barclay CJ. Energetics of rat papillary muscle during contractions with sinusoidal length changes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000 May;278(5):H1545-54.
130. Engelman RM, Rousou JH, Lemeshow S, et al: A clinical comparison of potassium and magnesium-potassium crystalloid cardioplegia: metabolic considerations. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1985 Jul-Aug;26(4):343-50.
131. Gillies M, Bellomo R, Doolan L, et al: Bench-to-bedside review: Inotropic drug therapy after adult cardiac surgery -- a systematic literature review. *Crit Care*. 2005 Jun;9(3):266-79. Epub 2004 Dec 16. Review.
132. DiSesa VJ. Pharmacologic support for postoperative low cardiac output. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 1991 Jan;3(1):13-23. Review.
133. Hachida M, Bonkohara Y, Nonoyama M, Efficacy of myocardial preservation using HTK solution in continuous 120 min cross-clamping method--a comparative study with GIK method *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi*. 1993 Sep;41(9):1495-501
134. Ku K, Oku H, Alam MS, et al: Prolonged hypothermic cardiac storage with histidine-tryptophan-ketoglutarate solution: comparison with glucose-insulin-potassium and University of Wisconsin solutions. *Transplantation*. 1997 Oct 15;64(7):971-5.
135. Frist WH, Fanning WJ: Donor management and matching. *Cardiol Clin* 1990; 8:55.
136. Raferty AT, Johnson RWG: Dopamine pretreatment in unstable kidney donors. *BMJ* 1979; 1:522.
137. Rose AG, Novitzky D, Cooper DK: Myocardial and pulmonary histopathologic changes. *Transplant Proc* 1988; 20(suppl 7):29.
138. Szakals JE, Mehlman B: Pathologic changes induced by L-norepinephrine. *Am J Cardiol* 1960; 5:619.
139. Sweeney MS, Lammermeier DE, Frazier OH, et al: Extension of donor criteria in cardiac transplantation: surgical risk versus supply-side economics. *Ann Thorac Surg* 1990; 50:7.