

Koroner Arter Bypass Ameliyatında Kullanılmak Üzere Hazırlanan Büyük Safen Veninde Gelişen Endotel Hasarının Histopatolojik Sonuçları

Histopathological Results of Endothelial Injury in Great Saphenous Vein Harvested For Coronary Artery Bypass Surgery

Muhammet Murat CANTÜRK ¹ Hayrettin TEKÜMİT ²

¹Bandırma Onyedi Eylül University, Department of Cardiovacular Surgery, Bandırma, Turkey

²Bandırma Teaching Hospital, Cardiovacular Surgery, Bandırma, Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence:

Hayrettin TEKÜMİT

T: +90 266 738 00 22 E-mail : htekumit@bandirma.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 18.11.2021 Kabul Tarihi / Accepted: 29.11.2021

Orcid

 Hayrettin TEKÜMİT <https://orcid.org/0000-0002-5157-3592>

 Muhammet Murat CANTURK <https://orcid.org/0000-0003-2367-0800>

(Hippocrates Medical Journal / Hippocrates Med J 2021, 1(1):15-22) DOI:

Abstract

Objective The most important determinant of the success of coronary bypass surgery is the long-term remaining open of primary autograft conduit, vena saphenous magna. Endothelial injury is to be accepted as leading reason of greft occlusion. In this study, we aimed to displace histopathological consequences of endothelial injury occurred on great saphenous vein.

Materials and Methods Between May 2011 and June 2011, 10 patients who underwent coronary artery bypass surgery were included to the study. Great saphenous vein samples were taken before and after harvesting the vessel. Samples were investigated histopathologically, immunohistochemically and via tunel studies to displace endothelial injury.

Results Endothelial cell shapes were broken in harvested vessels. Thickness of subendothelial layer and number of stoplasmic vacouls and collagenous fibers in subendothelial layer was increased. Also, endothelial cell eNOS positivity, CD-34 positivity and TUNEL positive endothelial cell number were much more higher in harvested vessels.

Conclusion In order to minimize the endothelial injury in great saphenous vein during coronary artery bypass surgery; different harvesting, preserving and usage ways are to be compared with each other with prospective studies.

Keywords CD34 Positive, TUNEL Positive, Endothelial Cell, Bypass Surgery, Histopathology

Öz

Amaç Koroner arter bypass greft operasyonlarında birincil venöz otogreft olarak kullanılan büyük safen veninin uzun süre açık kalabilmesi yapılan girişimin başarısını tayin eden en önemli faktördür. Greft başarısızlığında en büyük neden endotel hasarı olarak bildirilmektedir. Bu çalışmamızda otogreft olarak kullanılmak üzere hazırlanan büyük safen veninde görülen endotel hasarının histopatolojik sonuçlarını araştırdık.

Gereç ve Yöntemle Mayıs - Haziran 2011 tarihleri arasında opere edilen 10 hasta çalışmaya alındı. Hastalardan alınan büyük safen ven örneklerinden çalışma ve kontrol grupları oluşturuldu. Bu gruplar histopatolojik incelenmeye alındı. Çalışmadaki; histopatolojik (ışık mikroskopik inceleme), immünohistokimyasal (Nitrik oksid sentetaz ve CD34 reaktivitesi) ve tunel çalışmaları ile oluşan endotel hasarının sonuçları tespit edildi.

Bulgular Işık mikroskopi incelemesinde çalışma grubunda endotel hücre şekillerinin bozulmuş olduğu ayrıca subendotelial tabakadaki sitoplazmik vakulollerin sayısının, subendotelial tabakanın kalınlığının ve subendotel katmanda kollagen liflerin sayısında artma olduğu izlendi. Yapılan incelemelerde çalışma grubuna ait safen ven dokusunda, kontrol grubuna göre endotel hücrelerindeki eNOS pozitifitesinin daha da artmış olduğu gözlemlendi. Endotel hücrelerindeki CD-34 pozitifitesinin çalışma grubunda artmış olduğu tesbit edildi. Yapılan incelemelerde çalışma grubuna ait safen ven dokusunda çok daha fazla sayıda TUNEL pozitif endotel hücresi gözlemlendi.

Sonuç Otogreft olarak kullanılmak üzere hazırlanan büyük safen veninde oluşması muhtemel endotel hasarının en aza indirilmesi amacıyla; otogreftin çıkarılması, saklanması ve kullanım koşullarının optimize edilebilmesi amacı ile karşılaştırmalı çalışmaların yapılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler CD34 Pozitif, TUNEL Pozitif, Endotel Hücresi, Bypass Cerrahisi, Histopatoloji

GİRİŞ

Koroner arter bypass greft operasyonu (KABG), gelişmiş ülkelerde yapılan en sık majör operasyondur ve tüm dünyada her yıl yaklaşık 1 milyon hastaya yapılmaktadır (1). İlk olarak 1968 yılında Dr. Favoloro büyük safen venini- vena safena magna (VSM)- otogreft olarak kullanarak aortokoroner bypass ameliyatlarını yayınlamış ve sonrasında VSM bu amaçla yaygın kullanım alanı bulmuştur (2). Koroner arter hastalığında miyokardın revaskularizasyonu için cerrahi tedavi en etkili ve uzun süreli bir çözümdür (3). Cerrahi sonuçlar kısa ve orta dönemde iyi iken uzun dönemde greft yetmezliği ile etkilenmektedir (4). Aortokoroner bypass greftlerinin cerrahi girişim sonrası ilk 3 ayda tıkanma hızları %7-12, birinci yılda %10-20 arasındadır ve yıllık %2-5 oranında ilerler. Beşinci yılda aortokoroner greftlerin %25'i, onuncu yılda ise %35'i tıkanır (5). Ven duvarında oluşabilecek hasar, intimal hiperplazi gelişimine yol açarak greftin erken dönemde stenozuna neden olan en önemli faktördür (6-8). Endotel hasarı greft başarısızlığında en büyük neden gibi görünmektedir. Bu hasar venin cerrahi olarak çıkartılması sırasında yapılan aşırı germe, kaba cerrahi travma, uygunsuz solüsyonlarla bekletme veya anastomoz öncesi vücut dışında uzun süre bekletmeye bağlı serbest oksijen radikalleri ve iske-miye bağlı olarak ortaya çıkar. Erken, orta ve geç dönem olmak üzere 3 tip greft başarısızlığı mevcuttur.

Erken greft başarısızlığı operasyondan ilk 30 gün içerisinde görülür. Hızlı greft trombozu olur.

Orta dönem greft başarısızlığı özellikle anastomoz bölgesinde ve greft duvarında ilk iki yıl içinde görülen fibröz hiperplazi nedeniyle ortaya çıkar.

Geç dönem greft başarısızlığı ise beş yıldan sonra ven greftlerinde, hızlanmış ateroskleroz gelişmesine bağlıdır. Endotel kaybı luminal yüzde fibrin birikimine neden olur, erken greft açıklığını azaltan faktörlerden olan plateletler ve nötrofiller ortamda artar, doku plazminojen aktivatör üretimi azalır (9).

Endotel kaybı eksojen koagülasyon kaskatını aktive ederek trombozu başlatır. İntimal hiperplazi, düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriksin intimal kompart-

manda birikmesi olarak tanımlanabilir ve implante ven greftlerinde ilk 1 ay-2 yıllık dönemde gelişen majör greft hastalığıdır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmaya Mayıs - Haziran 2011 tarihleri arasında aortokoroner bypass ameliyatı uygulanan, 2 bayan, 8 erkek toplam 10 hasta rızaları alınarak dahil edildi (Ek 2). Çalışmaya katılan hastaların ortalama yaşı 58,5 (32-77 yaş arası) idi (Tablo 2). Çalışmada bu hastalardan greft olarak kullanılması planlanan safen venlerden alınan yaklaşık 10cm'lik artık veya yan dal ven örnekleri kullanıldı. KABG cerrahisinin klasik safen ven hazırlama tekniği ile aynı cerrahlar tarafından safen ven explore edildi. Explore edilen VSM greftinin distal bölgesinden atravmatik müdahaleyle 10cm kadar parçası greft endotelini korumak için serum fizyolojik ile şişirilme işlemi yapılmadan kontrol grubu örneği olarak alındı. Histopatolojik inceleme için fiksasyonu yapıldı.

Kalan safen ven grefti otogreft olarak kullanılmak üzere heparinli serum fizyolojik solüsyonu içeren sıvı ile şişirilerek harveste edildi ve 100mL SF solüsyonu içine 1000UI heparin konularak hazırlanan solüsyonun içine konuldu. 15 dakika bekletildikten sonra solüsyon içindeki safen ven greftinden yine 10 cm.lik parçası alındı ve histopatolojik inceleme için fiksasyonu yapıldı, fiksasyonu yapılan örnekler TÜTF Histoloji Anabilim Dalı'nda, ışık mikroskopik inceleme (İM), immünohistokimyasal inceleme ve Tunel boyama çalışması yapılması için hazırlandı.

Tablo 1. Hastaların peroperatif verileri

No	Cins	Yaş	Greft Sayısı	Safen Ven
1	E	60	5	4
2	E	65	3	2
3	E	49	4	3
4	K	62	3	2
5	E	59	3	2
6	E	61	4	3
7	E	32	3	2
8	E	60	3	2
9	K	60	3	2
10	E	77	2	1

HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Işık Mikroskopik İnceleme;

Işık mikroskopik incelemeler için alınan safen ven örnekleri, TÜTF Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvarı'nda işlemlendirildi. Bu amaçla safen ven dokuları Bouin fiksatoründe 4 gün fikse edildikten sonra yıkama işlemine geçildi. Dokular 2 gün %70'lik alkolde yıkanarak, dehidratasyon işlemine geçildi. Dokular artan alkol serilerinde (%70, 90, 96, 100) 1'er saat tutuldu. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 3 seri 15'er dk toluol ile muamele edildi. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde 1 gece tutuldu. Bir sonraki gün safen ven örnekleri yumuşak parafinden alınarak 1 saat sıvı sert parafinde tutularak, bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindirik mikrotom kullanılarak 6µm (mikrometre) kalınlığındaki kesitler alındı. Safen ven dokusunun genel özelliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler hematoksilin eozin (HE) ile boyandı.

İmmünohistokimyasal İnceleme;

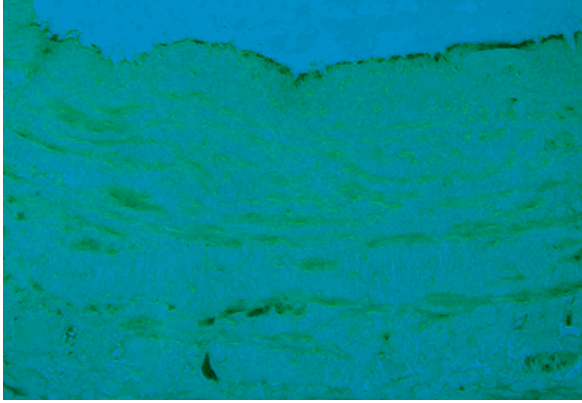
İmmünohistokimyasal inceleme için safen ven örneklerinden 6µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemini takiben kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20dk kaynatıldı. Oda ısısında 20dk soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler PBS ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Häen 24229) hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20dk muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler Fosfat Buffer Solusyonu (PBS; pH 7.6) ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile 1 saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan antikorlar, rabbit polyclonal eNOS antibody (ab66127, Abcam, USA), ve rabbit polyclonal CD 34 antibody (CD34-250591, Abbiotec, USA) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20dk sekonder antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision,

TM-015-BN) tutuldu. PBS'de 3 kez yıkanan kesitlere 20dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulandı. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10dk 3-amino 9 etil karbazol (AEC) kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5dk Mayer hematoksilin uygulanarak zıt boyama yapıldı. Akarsuda 5dk yıkanan kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, LabVision, TA-060-UG) konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı. Tüm gruplarda eNOS ve CD-34 immunreaktivitelerinin yoğunluğu semikantitatif olarak saptandı (Tablo 2). Semikantitatif değerlendirme, aşağıdaki biçimde yapıldı;

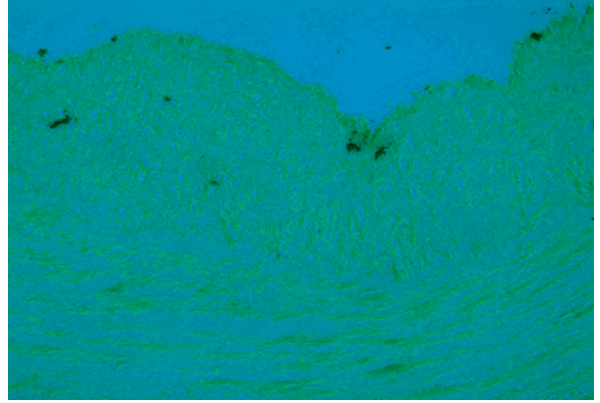
yok (-), zayıf (±), hafif (+), orta (++) , güçlü (+++), çok güçlü (++++).

Tunel Boyama;

Parafin bloklardan lam üzerine alınan 6µm'lik kesitler 1 gece 37°C'lik etüvde tutulduktan sonra toluolde 3x5dk bekletilerek parafinden iyice arındırılarak azalan alkol serilerinden (%100, %95, %70) 3'er dk geçirilip distile suya indirildi. Distile suda 5dk tutulan kesitlere daha sonra antijen iyileştirme amacıyla 15dk oda ısısında proteinaz K (20µg/ml, Chemicon, 21627) uygulandı. Distile su ile yıkanan kesitler endojen peroksidazı bloklamak için metanolde hazırlanan %3'lük H₂O₂'de 5dk bekletildi. Distile su ve PBS ile çalkandıktan sonra lam üzerinde kesitlerin etrafı hidrofobik kalem (Zymed, 00-8899) ile çizilerek havuz oluşturuldu ve kesitlere 5dk oda ısısında dengeleme tamponu uygulandı. Daha sonra kesitler 37°C'de terminal deoksinükleotidil transferaz enziminde 1 saat bekletildikten sonra durdurma/yıkama tamponuyla 15 saniye çalkalandı ve oda ısısında 10dk bekletildi. PBS'de 3 kez yıkanan kesitlere antidioksijenin konjüğü uygulandı ve oda ısısında 30dk tutuldu. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10dk diamin benzidin (DAB) kromojen solüsyonu (LabioVisn, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 10dk Methyl green uygulanarak zıt boyama yapıldı. Distile sudan hızla geçirilen kesitler %100 N-Butanolden de hızla geçirildi. Dehidrate edilen kesitler 3x2dk toluolde tutulduktan sonra kapatma solüs-



Şekil 1. Kontrol grubuna ait histolojik görünüm (Hematoksilen Eozin, X200)



Şekil 2. Çalışma grubuna ait histolojik görünüm (Hematoksilen Eozin, X200)

yonu konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) incelenerek, bulguların fotoğrafları çekildi. Ayrıca tüm gruplarda TUNEL pozitif hücre sayıları semikantitatif olarak saptandı (Tablo 3). Semikantitatif değerlendirme, aşağıdaki biçimde yapıldı; yok (-), nadir (\pm), az(+), orta (++) , fazla (+++), çok fazla (++++).

İstatistiksel Analiz;

İstatistiksel değerlendirme, AXA507C-775506FAN3 seri numaralı STATISTICA AXA 7.1 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Ölçülebilen verilerin normal dağılıma uygunlukları tek örnek Kolmogorov Smirnov testi ile bakıldıktan sonra normal dağılım göstermediği için gruplar arası kıyaslamalarda Kruskal-Wallis varyans analizi ve sonrası ikili kıyaslamalarda Mann Whitney U testi kullanıldı.

Tanımlayıcı istatistikler olarak Median (Min-Max) değerleri ve aritmetik ortalama \pm standart sapma verildi. Tüm istatistikler için anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak seçildi.

SONUÇLAR

Çalışmamızda kontrol grubundaki HE boyalı safen ven kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; normal yapıda tunika intima, media ve adventisya görüldü. Endotel hücrelerinin normal yapıda olduğu izlendi. Subendotel katmanın oldukça dar olduğu ayırt edildi. İç elastik membranın girintili çıkıntılı olduğu görülürken

düz kas hücreleri ve kollagen lifler normal yapıda seyrediyordu. (Şekil 1).

HE boyalı çalışma grubundaki safen ven kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; endotelial yüzeyde kopmalar ve ayrılmalara bağlı olarak bölgesel endotel hücre kaybı belirgindi. Dökülen bazı endotel hücrelerine ise subendotel tabakada rastlandı. Mevcut endotel hücre şekillerinin kontrol grubuna göre bozulmuş olduğu saptandı. Ayrıca subendotelial tabakadaki sitoplazmik vaküollerin sayısının kontrol grubuna göre daha da arttığı dikkati çekti. Subendotelial tabakanın kalınlığının da oldukça artmış olduğu tespit edildi. Subendotel katmanda kollagen liflerde de artma olduğu izlendi. (Şekil 2).

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR;

Endotelial Nitrik Oksit Sentaz

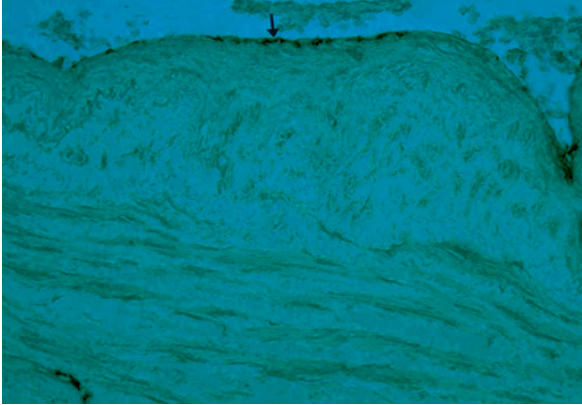
Kontrol grubuna ait safen ven dokusunda yapılan incelemelerde, endotel hücrelerinde zayıf bir eNOS pozitif reaksiyonun olduğu gözlemlendi (Şekil 3.).Yapılan incelemelerde çalışma grubuna ait safen ven dokusunda ise, kontrol grubuna göre endotel hücrelerindeki eNOS pozitivitesinin daha da artmış olduğu gözlemlendi (Şekil 4.).

CD-34

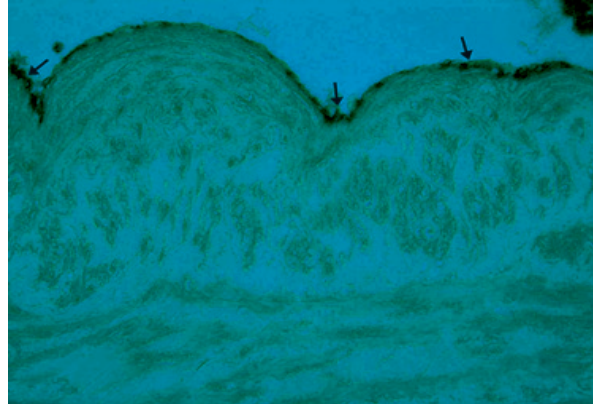
Kontrol grubuna ait safen ven dokusunda yapılan incelemelerde, endotel hücrelerinde zayıf bir CD-34 reaktivitesinin olduğu gözlemlendi (Şekil 5.).

Tunel Boyama Bulguları

Kontrol grubuna ait safen ven dokusunda yapılan ince-



Şekil 3. Kontrol grubuna ait eNOS immünboyanması. Ok: Endotel hücrelerindeki eNOS pozitif immünreaktivite (İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyaması, X400)



Şekil 4. Çalışma grubuna ait eNOS immünboyanması. Ok: Endotel hücrelerindeki eNOS pozitif immünreaktivite (İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyaması, X400)

melerde, nadir sayıda TUNEL pozitif endotel hücresi görüldü (Şekil 7).

Yapılan incelemelerde çalışma grubuna ait safen ven dokusunda ise, çok fazla sayıda TUNEL pozitif endotel hücresi gözlemlendi (Şekil 8 ve Tablo 3).

Tablo 2. Gruplar arasındaki endotelial nitrik oksit sentaz ve CD-34 immüreaktivitelerinin yoğunluğunun semikantitatif olarak değerlendirilmesi

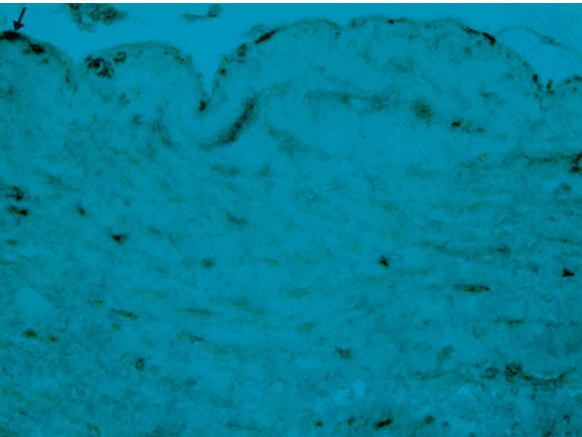
	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu
eNOS	±	++++
CD-34	±	++++

eNOS : Endotelial nitrik oksit sentaz, .
Semikantitatif değerlendirme: yok (-), zayıf (±), hafif (+), orta (++) , güçlü (+++), çok güçlü (++++).

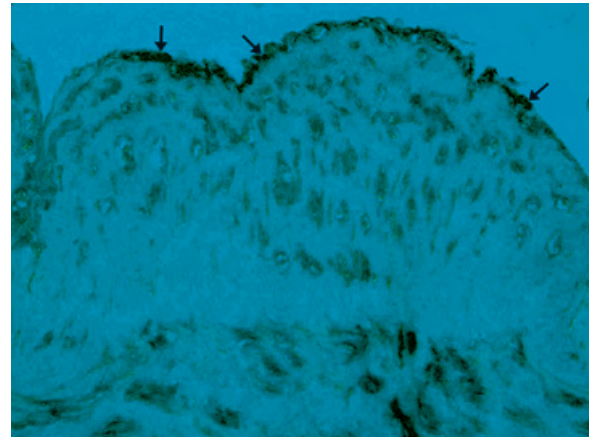
Tablo 3. Tüm gruplar arasındaki TUNEL pozitif hücre sayılarının semikantitatif olarak değerlendirilmesi

	Kontrol grubu	Çalışma grubu
TUNEL	±	++++

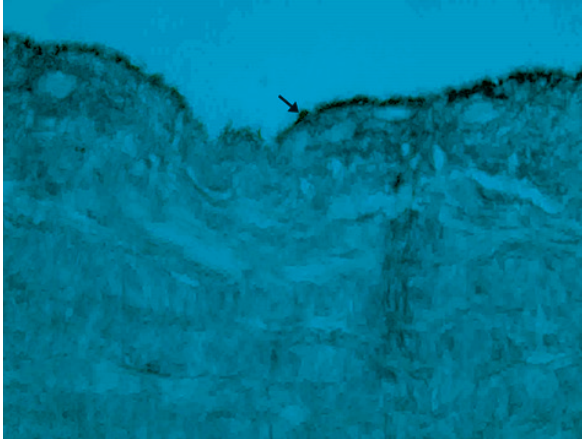
Semikantitatif değerlendirme: yok (-), zayıf (±), hafif (+), orta (++) , güçlü (+++), çok güçlü (++++).



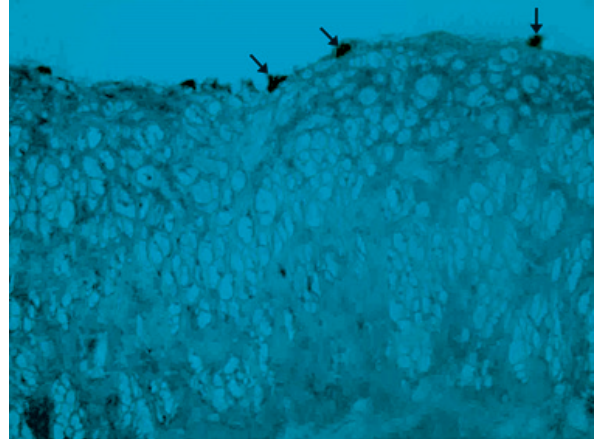
Şekil 5. Kontrol grubuna ait CD-34 immünboyanması. Ok: Endotel hücrelerindeki CD-34 pozitif immünreaktivite. (İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyaması, X400)



Şekil 6. Çalışma grubuna ait CD-34 immünboyanması. Ok: Endotel hücrelerindeki CD-34 pozitif immünreaktivite (İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyaması, X400)



Şekil 7. Kontrol grubuna ait TUNEL boyanması.
Ok: TUNEL pozitif endotel hücreler (X400)



Şekil 8. Çalışma grubuna ait TUNEL boyanması.
Ok: TUNEL pozitif endotel hücreler (X400)

TARTIŞMA

Koroner bypass cerrahisinin başarısı bütün vasküler girişimlerde olduğu gibi greftlerin uzun süreli açık kalmalarına bağlıdır. Bu nedenle hedef en uzun süre açık kalacak greftlerin seçimidir. KABG ameliyatlarında greft seçiminde hastanın yaşı, klinik durum, bypass yapılacak damarlar, greftin kullanılabilirliği ile birlikte cerrahın deneyimi de belirleyici olmaktadır.

Safen ven; çapının geniş olması, anatomik olarak uzun seyretmesi, spazm olmaması ve çıkarılmasındaki kolaylık nedeniyle koroner bypass cerrahisinde en çok kullanılan greftlerin başında gelmektedir. Safen ven ayak bileği seviyesinde medial malleolun önünde hazırlanıp, kanüle edilerek düşük bir basınç (<100mmHg) ile şişirilir ve çevreleyen doku venin üzerinde kalmayacak şekilde diseksiyon yapılır. İşlem sırasında endotel hasarını önlemek için ven sadece adventisyadan atravmatik vasküler bir penset ile tutulur. Yan dallar için mümkün olduğunca klip tercih edilmeyip ven hafif şişirilmiş halde duvara 1mm mesafede bağlanır.

Safen ven greft yetersizliğine yol açan birçok faktör mevcuttur. Venin arteriyel basınca maruz kalması ve ven duvarına kan akımını sağlayan vazovazorumların kesintiye uğraması önleyemeyeceğimiz faktörlerdendir. Bunun yanında veni uygun solüsyonlarla şişirmek ve bekletmek, hazırlama esnasında aşırı distansiyondan kaçınmak da önlenebilir faktörlerdendir. Aşırı distansiyon ven

duvarında dejeneratif değişikliklere ve endotel hasarına sebep olmaktadır. Oluşan endotel hasarı o bölgede trombosit ve fibrin birikimi ile tromboza zemin hazırlar. Aynı zamanda trombositlerden açığa çıkan büyüme faktörü subintimal dokuda düz kas hücre proliferasyonuna ve lümen çapının daralmasına sebep olur. Bu olaylar uzun sürede ven duvarında lipid birikimini artırarak greft aterosklerozunu hızlandırır (6,10).

1999 yılında Souza ve ark. (11,12) yaptıkları bir çalışmada safen venin geleneksel yöntemle çıkartılması, aralıklı kesilerle çıkartılması ve çevre destek dokusuyla birlikte çıkartılmasını karşılaştırmışlardır. Greft endotelinde en iyi korunmayı, çevre destek dokularla birlikte safen vene temas edilmeden yapılan çıkartma yönteminin sağladığını ve bu yolla endotel bütünlüğünün tam olduğunu savunmuşlardır. Greft hazırlama esnasında yapılan germe, çekme, yüksek basınçla şişirerek yan dallardan olan kaçakların tespiti işlemleri ve uygun olmayan şartlarda bekletme greftte intimal hasara yol açmakta ve oluşan bu hasar da o bölgede vazospazma, trombosit kümelenmesine, subendotelial fibröz hiperplazi gelişimine ve sonuçta greftin tıkanmasına neden olmaktadır (13). Bizim çalışmamızda; bu biyomekanik hasar elde ettiğimiz safen ven örneklerinde, safen ven kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; endotelial yüzeyde kopmalar ve ayrılmalara bağlı olarak bölgesel endotel hücre kaybı belirginliği, dökülen bazı endotel hücrelerinin subendotel tabakada tespit edil-

mesi olarak saptanmıştır. Ayrıca subendotelial tabakadaki sitoplazmik vakuollerin sayısının arttığı da dikkati çekmektedir. Subendotelial tabakanın kalınlığının da oldukça artmış olduğu tesbit edilmiş ve subendotel katmanda kolagen liflerde de artma olduğu izlenmiştir.

Koroner bypass cerrahisinde safen ven grefti hazırlanırken oluşan spazmın giderilmesi için uygulanan mekanik distansiyon sırasındaki basınca bağlı endotel hasarı gelişebilmektedir. Basıncın 100mmHg üzerinde tutulduğu uygulamalarda önemli derecede endotel hasarı olduğu, 100mmHg altındaki uygulamalarda ise hasarın daha az olduğu belirlenmiştir (14). Aşırı basınçla şişirmenin anlık etkisi endotelyum kaybı ve media hasarıdır (15,16). Gecikmiş etkisi ise ven duvarındaki lipid alımının artması ve açık kalma oranının azalmasıdır (7). Tüm çalışmalarda ortaya konmuş olmasına rağmen vasküler endotel harabiyetinin nedenleri tam olarak bilinmemektedir. Çeşitli teorilerin geliştirildiği bu konuda intrinsik venöz duvar anormallikleri vasküler endotel harabiyetinin en önemli sebebi olarak gösterilmektedir. Bu yapısal anormallikler; incelmış ve düzensizleşmiş düz kas tabakası, fibröz dejenerasyona uğramış media tabakası, şişmiş ve helikal kırılmış kollajen fibriller olarak tanımlanmıştır. Damarların tunika mediasındaki ekstraselüler matriks, elastik lameller ve kollajen fibrillerin ven histopatolojisinde önemli role sahip olduğu tespit edilmiştir (17). Yapılan çalışmalarda duvar dejenerasyonunda bu dağılımının homojen olmadığı, bazı segmentlerin kalınlaşmış ve fibrotikleşmişken bazı segmentlerin anevrizmalastığı görülmüştür. Bu sonuçlar venlerin elastin, kollajen ve düz kas hücre içeriğiyle ilgili yapılan morfolojik ve histokimyasal çalışmalarda da saptanmıştır (18). Günümüzde yapılan araştırmalar vasküler endotel harabiyeti ve histopatolojisi için yeni ve oldukça önemli bilgiler vermektedir. Normal vasküler duvar gelişimi ve yeniden yapılanmasını etkileyen doku kitle ve yapısını düzenleyen programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan "Apoptozis" güncel konuların başında gelmektedir. Biz de bu çalışmamızda; 15dk ve 45dk, LR ve SF solüsyonlarında beklettiğimiz safen ven örneklerinin, endotel ve düz kas hücrelerinde Tunel metoduyla boyanmış

apoptotik hücre sayılarında geçen süre ile birlikte belirgin bir artış olduğunu gözlemledik.

Sonuç olarak;

Bu araştırma sonucunda, klasik yöntemle hazırlanan safen ven greftlerinde oluşan endotel hasarını histopatolojik olarak göstermiş olduk. Bu hasarı en aza indirmek için farklı harvest metodları, farklı saklama solüsyonları ve greftin bekleme sürelerinin karşılaştırmalı çalışmalarının yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

Bu şekilde greftte intimal ve medial koruma sağlayarak, erken dönemde trombus oluşumunu, geç dönemde ise subendotelial fibromusküler hiperplazi ve ateroskleroz gelişimini azaltarak erken ve geç dönem greft başarısızlığı oranlarını azaltabileceğini düşünmekteyiz.

Çıkar çatışması: Çıkar çatışması bildirilmemektedir.

Finansal destek: Çalışma için finansal destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Taggart DP, D'Amico R, Altman DG. Effect of arterial revascularisation on survival: a systematic review of studies comparing bilateral and single internal mammary arteries Lancet, 2001;358:870-5.
2. Favaloro RG. Saphenous vein autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion: operative technique. Ann Thorac Surg. 1968;5(4):334-9.
3. Duran E, Halıcı Ü. Dünyada kalp-damar cerrahisinin tarihçesi. Duran E (Editör). Kalp ve Damar Cerrahisi'nde. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004. s.3-13.
4. Fitzgibbon GM, Kafka HB, Leach HA, Keon WJ, Hooper GD, Burton JR. Coronary bypass graft fate and patient outcome: angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival in reoperation in 1,388 patients during 25 years. J Am Coll Cardiol, 1996;28:616-26
5. Fulton GJ, Davies MG, Hagen PO. Preservation of the endothelium in venous bypass grafts: relevance for graft patency. Asia Pacific Heart J, 1997;6(2):98-106.
6. Tsui JC, Souza DS, Filbey D, Karlsson MG, Dashwood MR. Localization of nitric oxide synthase in saphenous vein grafts harvested with a novel "no-touch" technique: potential role of nitric oxide contribution to improved early graft patency rates. J Vasc Surg, 2002;35(2):356-62.
7. Boerboom LE, Bonchek LI, Kissebah AH, Werner PH, Pepper JR, Olinger GN et al. Effect of surgical trauma on tissue lipids in primate vein grafts: relation of plasma lipids. Circulation, 1980;62:142-7.
8. Bonchek LI. Prevention of endothelial damage during preparation of saphenous veins for bypass grafting. J Thorac Cardiovasc Surg, 1980;79(6):911-5.
9. Angelini GD, Williams HM, Morgan R, Newby AC. Distention promotes platelet and leukocyte adhesion and reduces short-term patency in pig arteriovenous bypass grafts. J Thorac Cardiovasc Surg, 1990;99(3):433-9.
10. He G, Rosenfeldt FL, Angus JA. Pharmacological relaxation of the saphenous vein during harvesting for coronary artery bypass grafting. Ann Thorac Surg, 1993;55:1210-7.
11. Souza DSR, Christofferson RHB, Bomfim V, Filbey D. "No-touch" Technique using Saphenous Vein Harvested with its Surrounding Tissue for Coronary Artery Bypass Grafting Maintains an Intact Endothelium. Scand Cardiovasc J, 1999;(33):323-9.
12. Souza DS, Bomfim V, Skoglund H, Dashwood MR, Borowiec JW, Bodin L et al. High early patency of saphenous vein graft for coronary artery bypass harvested with surrounding tissue. Ann Thorac Surg, 2001;71:797-800.
13. Thatte HS, Khuri SF. The coronary artery bypass conduit: I. Intraoperative endothelial injury and its implication on graft patency. Ann Thorac Surg, 2001;72:2245-52.
14. Karabulut H, Karabulut O, Arbak S, Şan T, Sokullu O, Korukçu A ve ark. Koroner bypass cerrahisinde kullanılan safen veninin hazırlanmasında endotel hasarı: Işık ve elektron mikroskopik inceleme Türk Kardiyoloji Dern Arş, 1998,26:416-24.
15. Angelini GD, Passani SL, Breckenridge IM, Newby AC. Nature and pressure dependence of damage induced by distension of human saphenous vein coronary artery bypass grafts. Cardiovasc Res, 1987;21(12):902-7.
16. Cambria RP, Megerman J, Abbott WM. Endothelial preservation in reversed and in situ autogeneous vein grafts: a quantitative experimental study. Ann Surg, 1985;202:50-5.
17. Kosugi I, Urayama H, Kasashima F, Ohtake H, Watanabe Y. Matrix metalloproteinase-9 and urokinase-type plasminogen activator in varicose veins. Ann Vasc Surg, 2003;17:234-8.
18. O'Donnell TF, Iafrati MD. Varicose veins. In: Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (Eds). Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques. 4th Ed. Cambridge Massachusetts, USA: Blackwell Science Inc; 1996. p.1187-98.